Université de Nantes
Departement de Bio-informatique

Mémoire de stage au CRCI2NA : Conception de molécules *de novo in silico* à partir d'interactions protéiques.

MENARD Théo

Tuteur : Maillasson Mike

Rapport soumis d'après les exigence de
l'Université de Nantes dans le
Master 1 de Bio-informatique Bio-statistique

22 mai 2025

Abstract

Ce projet s'inscrit dans un pipeline qui a pour objectif la génération *in silico* d'inhibiteurs, dirigés contre une protéine cible, à partir d'une interaction protéine-protéine (iPP). Plus spécifiquement, ce travail se situe en amont du pipeline et a pour but d'amener à la création d'un programme qui identifie les acides aminés impliqués dans une iPP. En l'absence de ligands connus, nous proposons une stratégie de génération qui va utiliser la capacité générative d'un *autoencodeur* existant Une première étape a été d'extraire les chaînes latérales qui constituent la 'point-chaud' ou *hotspot* de l'interaction. Puis, à partir des chaînes latérales de ces acides aminés, créer une pseudo-molécule capable de se fixer à la protéine cible en reliant les chaînes latérales via d'autres fragments que nous appellerons ici *Linker* - Nous nous appuierons sur la banque de fragment *Enamine comprehensive linker* -. Cette liaison a pour but de conserver la géométrie spatiale initiale entre les deux chaînes latérales. Par la suite, une vérification par docking automatisé a été effectué pour trouver les meilleures pseudo-molécules parmi la génération d'une cinquantaine de celle-ci. Les meilleures pseudo-molécules constituent alors une base d'entrée pour *l'autoencodeur* qui va apporter des modifications aléatoires dans l'espoir d'optimiser encore plus la molécule. Les résultats sur deux interactions connues IL2/IL2Ralpha et USP7/Ubiquitine en comparaison avec deux inhibiteurs connus, respectivement FRH et EZF, ont permis de montrer la génération de molécules avec une plus haute affinité que le ligand de référence.

This project is part of a pipeline aimed at the in silico generation of inhibitors targeting a specific protein, based on a protein-protein interaction (PPI). More specifically, this work is positioned upstream in the pipeline and aims to create a program that identifies the amino acids involved in a PPI. In the absence of known ligands, we propose a generation strategy that leverages the generative capability of an existing autoencoder. The first step involved extracting the side chains that form the "hotspot" of the interaction. Then, based on the side chains of these amino acids, we generated a pseudo-molecule capable of binding to the target protein by connecting the side chains via additional fragments, referred to here as linkers—specifically sourced from the Enamine comprehensive linker library. This linking process is intended to preserve the original spatial geometry between the two side chains. Subsequently, an automated docking verification was performed to identify the best pseudo-molecules among a set of around fifty generated candidates. The top pseudo-molecules then serve as input for the autoencoder, which introduces random modifications in the hope of further optimizing the molecule. The results on two known interactions—IL2/IL2Ralpha and USP7/Ubiquitin—compared with two known inhibitors, FRH and EZF respectively, demonstrated the generation of molecules with higher binding affinity than the reference ligands.

Mots-clés : Bio-informatique, Inhibiteur, Protéines, autoencodeur, génération, *de novo*

Nombre total de mots : 3 832 mots.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement **MAILLASSON Mike**, mon tuteur de stage, pour son encadrement bienveillant, sa disponibilité et ses conseils précieux tout au long de ce projet. Son soutien constant et ses retours constructifs ont été essentiels à la progression de mon travail.

Je remercie également **GUITTENY Sarah**, ma co-stagiaire, avec qui j'ai eu le plaisir de collaborer tout au long de l'année. Nos échanges réguliers, tant sur le plan scientifique que technique, ont enrichi nos deux projets respectifs, dont les thématiques se complétaient de manière naturelle.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance à **MORTIER Erwan**, responsable scientifique du projet, pour son sourire et la compréhension dont il a fait preuve lorsque nous rencontrions des difficultés.

Un grand merci aussi à **QUEMENER Agnès**, spécialiste en modélisation moléculaire, pour le temps qu'elle m'a consacré, en particulier dans l'utilisation du logiciel *Discovery Studio*, et pour ses explications toujours claires et pédagogiques.

Enfin, je remercie l'ensemble de l'équipe 12 pour leur accueil chaleureux et leur bonne humeur au quotidien : Pierre, Coraly, Agath et Nina, merci pour vos échanges, vos conseils, et l'ambiance agréable qui a régné tout au long du stage.

Table des matières

Table des figures

Liste des tableaux

Liste des Abbreviations

CRCI2NA	Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes-Angers
DS	Discovery Studio
FMO	Fragment Molecular Orbital
GLiCID	Groupement Ligérien pour le Calcul Intensif Distribué
HBD	Hydrogen Bond Donors
HBA	Hydrogen Bond Acceptors
IMPACT	Interactions Moléculaires Puces Activités
IL2	Interleukine 2
iPP	Interaction Protéine-Protéine
LP	LogP
MW	Molecular Weight
PDB	Protein Data Bank
PROTAC	Proteolysis Targeting Chimeras
QED	Quantitative Estimate of Drug-likeness
SAS	Synthetic Accessibility Score
SDF	Standard Data Format
SMILES	Simplified Molecular-Input Line-Entry System
TPSA	Topological Polar Surface Area

Chapitre 1

Introduction et Contexte

L'objectif principal du travail a été la mise en place d'un pipeline bio-informatique semi-automatisée, allant de l'analyse d'une interaction protéique jusqu'à la génération et l'évaluation de pseudo-ligands. Ce mémoire présente les différentes étapes de cette démarche, les outils mobilisés, les difficultés rencontrées, ainsi que les résultats obtenus et les perspectives envisagées.

1.1 Vision globale du projet

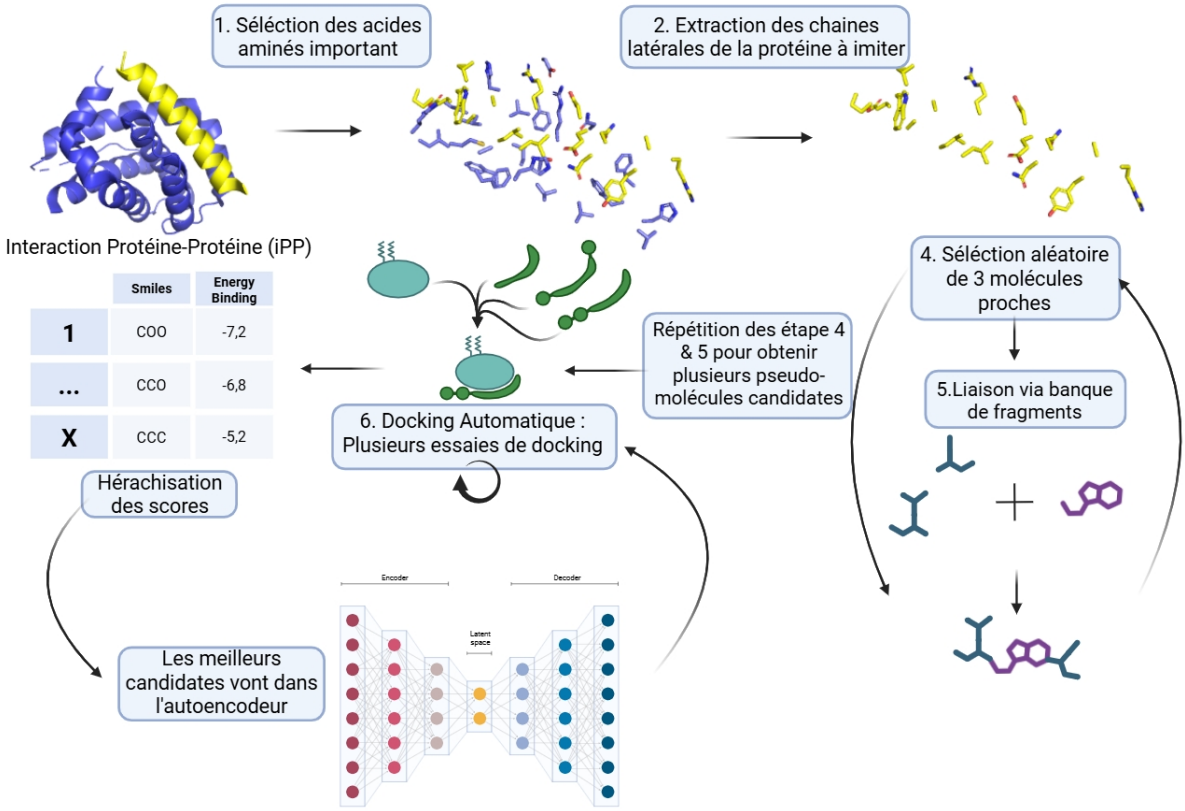


Figure 1.1 : Vu globale du pipeline

1.2 Contexte et environnement

Ce stage a été réalisé au sein de l'équipe 12 du **CRCI2NA** (Centre de Recherche en Cancérologie et Immunologie Nantes-Angers), pour la plateforme **IMPACT** (Interactions Moléculaires Puces Activités) et avec l'utilisation du service **GLiCID** (Groupement Ligérien pour le Calcul Intensif Distribué).

IMPACT : Une plateforme de protéomique regroupant plusieurs outils d'analyse et technologies dédiées à l'étude globale des interactions biomoléculaires.

L'environnement de travail reposait sur l'utilisation du langage Python et de bibliothèques spécialisées telles que **RDKit**(Chémio-informatique), **TensorFlow**(Réseaux neuronaux) ou encore Biopython, avec une manipulation régulière de fichiers structuraux au format **PDB** (Proteine Data Bank) ou de structures moléculaires **SMILES** (Simplified Molecular-Input Line-Entry System). Plusieurs programmes étaient déjà mis en place pour permettre la génération d'un modèle de *deep learning* via un réseau de neurones (*cf. chapitre Autoencodeur*).

SMILES : Notation linéaire spécifique traduisant la conformation 2D d'une molécule en utilisant les caractères ASCII.

1.3 Problématique

Les **interactions protéine-protéine** (iPP) jouent un rôle central dans de nombreux processus biologiques, qu'il s'agisse de signalisation cellulaire, de régulation enzymatique ou d'assemblage de complexes multi-protéiques.

Par exemple, l'interleukine 2 (IL2), molécule pro-inflammatoire sur laquelle il existe des ligands inhibiteurs connus et que nous utiliserons pour vérifier la pertinence du programme mis en place. Il est possible de trouver un grand nombre d'interactions protéiques et leur inhibiteur associé sur la plateforme *Inhibitors of Protein-Protein Interaction Database* [Labbé et al. (2015)].

La modulation de ces interactions constitue un enjeu majeur pour la découverte de nouveaux médicaments, notamment dans le cadre de pathologies impliquant des dérèglements de réseaux protéiques. Toutefois, la conception de petites molécules capables d'interférer efficacement avec une interface protéique reste un défi important, en raison de la surface généralement large et peu creusée de ces interfaces, ce qui amène à un glissement du ligand sur la molécule cible.

1.4 Objectif et tâches

Objectif : Ce stage s'est inscrit dans cette problématique, avec pour objectif de concevoir des pseudo-molécules capables de perturber une protéine cible à partir d'une interface protéine-protéine. Les informations structurales proviennent de complexes cristallisés enregistrés sur la plateforme PDB.

La démarche retenue consiste à identifier les résidus d'acides aminés impliqués dans l'interaction, à les transformer en fragments chimiques, puis à les relier par des linkers pour générer des composés synthétiquement accessibles. Ces composés sont ensuite évalués par docking moléculaire, avant d'être optimisés par des approches d'apprentissage automatique,

notamment un autoencodeur moléculaire.

Tâches : Analyse structurelle de l'interaction protéique à partir d'un fichier PDB

- **Identification des acides aminés importants** dans une iPP en s'appuyant sur des paramètres structuraux et fonctionnels (hydrophobicité, interactions non covalentes, complémentarité électrostatique, etc.)(*Cf.chapitre 2*)
- **Extraction des chaînes latérales**.(*Cf.chapitre 2*)
- **Liaison des chaînes latérales entre elles** à l'aide de l'outil RDKit, en cherchant à respecter les distances et orientations initiales des résidus dans l'espace.(*Cf.chapitre 3*)
- **Automatisation du *docking*** pour identifier les meilleurs candidats.(*Cf.chapitre 4*)

1.5 Solutions envisagées

L'utilisation de scripts Python pour automatiser la gestion des fichiers Protein Data Bank (PDB). La liaison des chaînes latérales se fait via une banque de fragments moléculaires capable de lier deux molécules (linker).

1.5.1 Approche par deep learning

Une approche par *Deep Learning* a été envisagée. Cette dernière s'inspirait de Github de références (Exemple : [Imrie et al. (2020)]). Cependant, par souci de temps et à cause de problèmes de versions ou de licences, elle a dû être écartée. Cette solution représente maintenant une piste d'amélioration.

1.5.2 Utilisation d'une banque de fragments

La seconde approche a été d'utiliser une banque de fragments pour lier les chaînes latérales entre elles. Pour ce projet, nous nous sommes basés sur la banque de données ***Enamine comprehensive linker*** comprenant 18 604 composants. Cette banque a été nettoyée et triée au préalable par un autre scripte.

Chapitre 2

Extraction des acides aminés clés

La première étape du pipeline de conception a consisté à analyser les structures de complexes protéine-protéine pour en extraire les acides aminés impliqués de manière significative dans l'interface d'interaction. Cette extraction structurelle, essentielle pour générer des pseudo-ligands pertinents, repose sur des critères géométriques et physico-chimiques.

2.1 Identification des résidus en interaction à partir de fichiers PDB

Voici la série d'étapes mise en place :

— **Séparer les chaînes protéiques du complexe** dans des fichiers PDB différents pour en faciliter l'utilisation plus tard ;

— **Filtrer les chaînes similaires** afin d'éviter les artefacts dus à la symétrie cristalline ou à la présence de multimères. Un alignement de séquence des chaînes entre elles, avec un seuil de 90% de similarité toléré, permet d'identifier quelles chaînes sont à écarter de l'analyse. Une reconnaissance du collagène est incluse au programme pour éviter d'omettre l'analyse des brins d'un même multimère collagénique ;

— **Calculer les distances inter-résidus** entre les atomes Ca(Carbone alpha) ou les atomes latéraux. Les résidus situés à une distance inférieure à 5.2 Å de la chaîne partenaire ont été retenus comme candidats à l'interaction. Ce seuil est aussi dépendant du type d'interaction (*cf. plus bas*). Il a été observé que certains fichiers PDB d'interaction protéique avaient des distances entre les 2 protéines supérieures à 8 Å, dans ce cas, le programme n'est pas en capacité d'identifier des acides aminés candidats.

— **Affinement physico-chimique**. Une étape d'affinement physico-chimique a ensuite permis de filtrer les résidus sur la base de leurs propriétés chimiques, les paramètres pris en compte sont ceux qu'utilise *Discovery Studio* :

- Interaction **hydrophobe** entre les résidus de type Leu, Ile, Phe etc. Le seuil reste 5,2 Å.
- Interactions **électrostatiques** (présence de Lys, Arg, Asp, Glu), pour un seuil de 5,0 Å.
- Capacité de liaison **hydrogène** (atomes donneurs et accepteurs) avec un seuil de 3.4 Å.

Cette approche s'inspire des critères employés par le logiciel ***Discovery Studio***, qui a également été utilisé ponctuellement à des fins de validation visuelle. Le script en Python a

été conçu pour prendre en compte ces propriétés à partir des séquences et des coordonnées atomiques extraites.

Au terme de cette étape, un sous-ensemble de résidus d'acides aminés a été identifié comme constituant l'essentiel de l'interface. Chaque résidu a été isolé dans un fichier PDB individuel, en vue de sa recombinaison ultérieure dans la génération de pseudo-molécules. Cette structuration a permis une automatisation plus simple du traitement par la suite.

Cependant, le programme reste améliorable. En effet, les interactions conservées ne prennent pas en compte l'angulation des acides aminés entre eux, ce qui peut porter préjudice quant à la quantité d'acides aminés considérés comme importants dans cette interaction, notamment pour les interactions de type hydrophobe et hydrogène.

2.2 Comparaison avec Discovery Studio

Chaîne A		Chaîne B	
Programme	DS	Programme	DS
PRO34(1)	-	GLU1(1)	-
LYS35(3)	LYS35(2)	LEU2(2)	LEU2(1)
ARG38(6)	ARG38(3)	CYS3(1)	-
THR41(2)	THR41(1)	ASP4(3)	ASP4(1)
PHE42(5)	PHE42(2)	ASP5(1)	-
LYS43(2)	LYS43(1)	ASP6(1)	ASP6(1)
PHE44(2)	PHE44(1)	MET25(2)	MET25(2)
TYR45(3)	TYR45(2)	ASN27(2)	ASN27(2)
GLU61(1)	-	GLU29(1)	GLU29(1)
GLU62(2)	GLU62(1)	PHE34(3)	-
PRO65(3)	PRO65(1)	ARG35(3)	-
LEU66(1)	-	ARG36(5)	ARG36(1)
GLU68(4)	GLU68(2)	LYS38(4)	LYS38(1)
VAL69(2)	-	SER41(1)	-
LEU72(3)	LEU72(2)	LEU42(4)	LEU42(6)
CYS105(1)	CYS105(1)	TYR43(4)	-
GLU106(1)	GLU106(1)	ASN57(1)	GLU62(1)
-	-	-	GLU113(1)
GLU107(2)	-	TYR119(1)	TYR119(1)
-	-	HIS120(3)	HIS120(1)

Table 2.1 : Tableau de la comparaison des acides aminés retenues pour l'interaction IL2/IL2Ralpha.

Ce tableau compare les acides aminés considérés comme importants pour l'interaction par le script créé par rapport aux interactions proposées par *Discovery Studio*(DS). Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre d'interactions pour lesquelles l'acide aminé est impliqué. Par rapport à DS, le programme mis en place surestime la quantité d'interactions et le nombre d'acides aminés importants.

Chapitre 3

Génération de pseudo-molécules

L'objectif a été de transformer les chaînes latérales extraites en une molécule unique capable de mimer leur organisation spatiale et leurs interactions. Pour cela, les chaînes latérales des résidus sélectionnés ont été reliées entre elles au moyen de linkers chimiques, afin de former ce que l'on nomme ici des pseudo-molécules. Ces entités ont vocation à reproduire l'empreinte structurale de l'interaction protéique tout en restant compatibles avec les contraintes de la chimie de synthèse.

3.1 Construction par assemblage de fragments

La génération des pseudo-molécules a été réalisée à l'aide de la bibliothèque RDKit, un outil open source spécialisé dans la chimie computationnelle. Chaque chaîne latérale d'acide aminé a été représentée comme un fragment chimique autonome, et les coordonnées atomiques ont été conservées pour préserver la géométrie initiale.

3.1.1 Intégration d'une banque de linkers : Enamine

Pour améliorer la pertinence chimique des liaisons, une banque de fragments moléculaires (linkers) issue de la base de données **Enamine** a été utilisée. Ces fragments ont été importés au format ***SDF***(Standard Data Format) et intégrés dans le processus d'assemblage en tant que blocs de liaison. Cette approche permet d'explorer un espace chimique plus réaliste et de concevoir des structures potentiellement synthétisables.

Avant utilisation, un programme permet de '*nettoyer*' la banque de données. En effet, dans les banques Enamine, il existe des **atomes parasites**, ne faisant pas partie de la structure, tels que des chlorures (Cl) ou bromures (Br). Ces atomes parasites sont identifiés, car ils sont séparés de la structure par des points (*Exemple* : 'Cl.CCO').

Ensuite, la banque est triée par ordre de grandeur en Ångström. La taille des fragments est calculée en faisant la distance euclidienne entre le 1er atome et le dernier.
Note : certain fragment comporte des cycles, ce qui fausse la numérotation des atomes. Il est donc possible que certains linkers ne se trouvent pas dans la bonne catégorie de taille.

L'utilisateur peut aussi traiter sa propre banque de données et utiliser celle-ci pour la génération de ses pseudo-molécules.

L'inspiration de cette stratégie provient des approches de type **PROTAC** (Proteolysis Targeting Chimeras), dans lesquelles deux unités fonctionnelles sont reliées par un linker optimisé pour l'interaction biologique. Une analogie peut être faite ici, avec comme différence que les fragments initiaux ne sont pas des ligands existants, mais des motifs issus de résidus d'interface protéique.

3.1.2 RDKit et Openbabel

RdKit et Openbabel sont les deux outils principaux qui ont permis de mettre en place ces liaisons. RDKit est au cœur de la gestion des molécules et permet la liaison de deux molécules entre elles. Openbabel est un outil open source qui permet la génération de fichiers sous format PDB pour passer d'une molécule en 2D à une molécule en 3D, étape capitale pour la suite des analyses et le docking.

3.1.3 Contraintes et ajustements techniques

La génération d'une pseudo-molécule se fait en prenant **3 chaînes latérales** qui se suivent de manière **aléatoire**. La distance entre ces molécules est calculée afin de sélectionner le linker parmi ceux ayant une taille appropriée pour que les deux molécules d'origine gardent une distance relative similaire à leur position dans la protéine d'origine. Ce procédé est répété plusieurs fois.

L'assemblage des fragments a présenté plusieurs défis :

1. **La détermination automatique des points de liaison sur chaque fragment**. Pour cela, les atomes à valence libre sont repérés, c'est-à-dire, ceux qui sont reliés à au moins un hydrogène. ce sont deux atomes à valence libre qui sont reliés entre eux.
2. **La génération correcte de la conformation 3D du composé final**. La fonctionnalité intégrée de RDkit ne fonctionnant pas, c'est openbabel qui permet de générer des molécules 3D.
3. **Le contrôle de la validité chimique** des structures obtenues (absence de cycles instables, saturation des valences).

Finalement, cette étape a permis de produire automatiquement des ensembles de pseudo-molécules candidates, reproduisant les positions clés de l'interface PPI ciblée, tout en ouvrant la voie à des évaluations in silico de leur potentiel d'inhibition.

Chapitre 4

Docking automatisé

Une fois les pseudo-molécules générées, l'étape suivante a consisté à évaluer leur capacité à interagir avec la protéine cible. Cette évaluation a été réalisée à l'aide de techniques de docking moléculaire, qui permettent d'estimer l'affinité d'un ligand pour un site de liaison donné sur une protéine. L'objectif était de comparer les pseudo-molécules générées à un ligand de référence, afin d'identifier celles présentant les meilleurs scores d'interaction.

4.1 Automatisation de la procédure de docking

L'environnement initial basé sur Jupyter Lab a été transformé en un script Python automatisé, afin de faciliter le traitement de grands ensembles de molécules. Ce script réalise les étapes suivantes :

- **Préparation du ligand et du récepteur** : Les charges de *Gasteiger* sont ajoutées. Méthode d'ajout des charges partielles itérative qui ajuste les charges entre atomes voisins en fonction de leur électronégativité.
- **Définition de la zone de docking** : centrée sur les acides aminés identifiés comme importants dans l'interaction.
- **Docking des pseudo-molécules** : chaque molécule est soumise au programme de docking, et le score d'énergie d'interaction est enregistré.

Ce processus a été optimisé pour fonctionner sur la plateforme GLiCID, ce qui a permis d'exécuter les calculs en parallèle sur des ressources adaptées.

4.2 Validation par comparaison avec un ligand de référence

Pour évaluer la pertinence des pseudo-molécules générées, une molécule de référence connue pour interagir avec la cible a été utilisée comme point de comparaison. Dans le cas du complexe IL2/IL2Ralpha, le ligand SP4206 ou FRH (PDB ID : 1PY2) a servi de référence. Les scores de docking obtenus avec les pseudo-molécules ont été comparés à celui de SP4206, et les structures présentant un score supérieur ou équivalent ont été retenues comme candidates prioritaires.

4.2.1 Extraction automatique du ligand et du récepteur à partir du PDB

Un programme permet l'extraction du ligand et du récepteur dans deux fichiers PDB séparés pour pouvoir être utilisés dans le programme de *docking* et ainsi servir de références.

Gestion des cas ambigus

Certains cas ont soulevé des difficultés particulières, notamment lorsque les structures cristallines représentaient des dimères sans interaction réelle, ou incluaient des molécules parasites (e.g. NAG, HOH, FUC, ZN) faussant l'analyse. Un filtrage basé sur la présence de résidus biologiquement pertinents a été mis en place pour éliminer ces entités.

4.3 Résultats et observations

Cette étape a permis d'identifier plusieurs pseudo-molécules avec des scores d'interaction prometteurs. Toutefois, le docking étant une approximation basée sur des modèles de scoring, les résultats ont été interprétés avec prudence, et complétés par des analyses supplémentaires, notamment une comparaison des structures chimiques (cf. section suivante).

SMILES	Energie de liaison
CC(C)CC(Nc1ccc(CN2CCC(O)CC2)cc1 CCc1ccc(O)cc1)c1cc(NC(=O)OCC2c3ccccc3-c3ccccc32)ccc1C(CCCO)C(=O)N(C)CC(=O)O	-7.0
Cc1cc(CCC(=O)O)cc(CC(CCCNC(=N)N)C2CN (Cc3ccccc3)CCC2NCCc2ccccc2)c1OCCCCNC(=N)N	-7.0
N=C(N)NCCCCC1CN(Cc2ccccc2)CCC1NC (CCCNC(=N)N)c1c(OCCc2ccccc2)ccc([C@H] (NC(=O)OCC2c3ccccc3-c3ccccc32)C(F)(F)F)c1F	-6.9
Référence	
CC(C)C[C@@H](NC(N)N)C(O)NCC(O)N1CCC(C2CC(C3CCC (OCC4CCC(C(O)O)O4)C(Cl)C3Cl)NN2C)CC1	-5.7

Table 4.1 : Meilleurs SMILES

Ce tableau présente les trois meilleurs SMILES des molécules avec l'énergie de liaison la plus basse.
Cette procédure automatisée constitue une base robuste pour le criblage in silico de grandes bibliothèques de composés, et peut être facilement enrichie par l'intégration d'autres moteurs de docking ou de fonctions de scoring plus sophistiquées.

Chapitre 5

Vérification et comparaison

Les différentes étapes du pipeline — de l'analyse des interfaces PPI à l'optimisation par apprentissage automatique — ont permis de générer un ensemble de pseudo-molécules candidates et de les évaluer quantitativement et qualitativement. Cette section présente les étapes de validation et d'évaluation des résultats obtenus.

5.1 Analyse structurale et similarité chimique

Les molécules générées ont également été comparées à des ligands connus sur le plan structurel :

- **Calcul de similarité Tanimoto** entre empreintes moléculaires (fingerprints), Plus le score est proche de 1, plus les molécules sont similaires.
- Analyse du respect de la géométrie initiale (positions relatives des groupes fonctionnels),
- **Facteur descriptif moléculaire** comparé au ligand de référence :
  - **LP**(LogP) : Hydrophobicité, mesure de la solubilité dans les lipides par rapport à l'eau. Plus la valeur est élevée, plus la molécule est lipophile.
  - **MW** (Molecular Weight) : Poids moléculaire en Daltons (g/mol). Une valeur trop élevée (> 500) peut poser un problème pour l'absorption.
  - **TPSA** (Topological Polar Surface Area) : Surface polaire totale (en $Å^2$). Liée à la capacité de la molécule à faire des liaisons hydrogène. Important pour la perméabilité cellulaire.
  - **HBD** : Nombre d'atomes donneurs de liaisons hydrogène (souvent des -OH ou -NH). Une valeur trop élevée amène à une mauvaise perméabilité.
  - **HBA** : Nombre d'atomes accepteurs de liaisons hydrogène (ex : O, N). Une valeur trop élevée peut aussi diminuer la biodisponibilité.
- **Estimation de l'accessibilité synthétique (SAS)** via des scores de complexité chimique [Ertl and Schuffenhauer (2009)]. Plus ce score est élevé, plus la molécule est difficile à synthétiser.
- **Estimation de la ressemblance à des médicaments(QED)** par rapport à une base de données de médicament.

Les molécules issues du pipeline présentaient en général un bon alignement des fonctions chimiques principales, bien que certaines présentaient des défauts de saturation ou des conformations non réalistes dues à la flexibilité excessive des linkers.

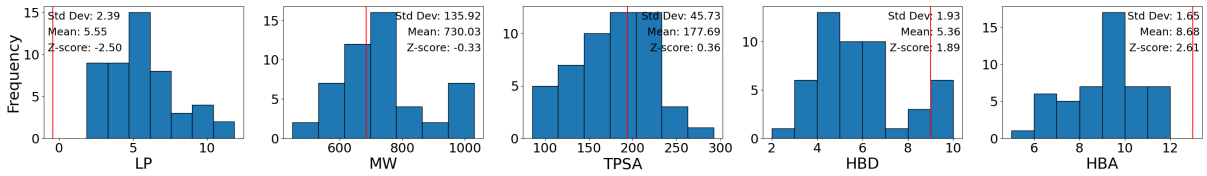


Figure 5.1 : Histogrammes descriptifs

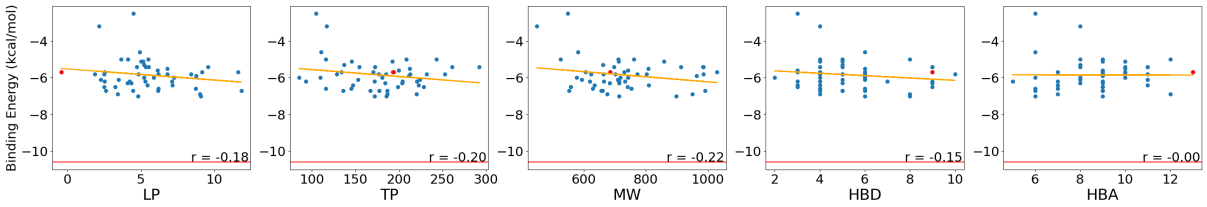
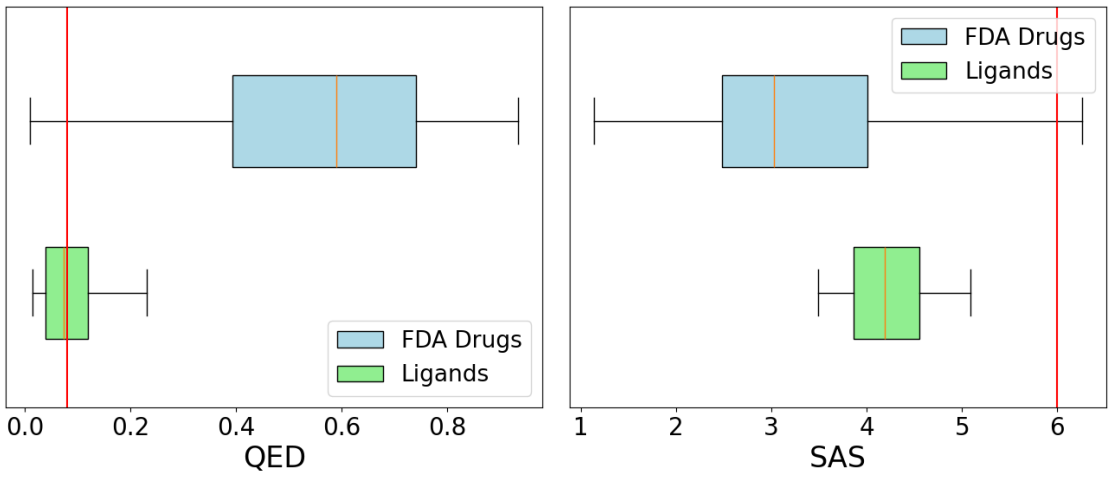


Figure 5.2 : Régression linéaire

Ces deux figures descriptives nous permettent de situer le ligand de référence (barre verticale rouge) par rapport aux pseudo-molécules générées. On y observe que le poids moléculaire et la surface polaire sont relativement similaires. Par contre, le ligand de référence présente une hydrophobicité largement inférieure et des atomes donneur/accepteur de liaisons hydrogènes plus nombreux. Tous ces paramètres, sauf les atomes accepteurs, qui semblent être légèrement corrélés avec l'énergie de liaison. Une optimisation de ces paramètres pourrait constituer une piste d'amélioration.



(a) (b)

Figure 5.3 : (a) QED-IL2 (b) SAS-IL2

Le QED, qui nous donne la ressemblance à une base de données de molécules pharmaceutiques, nous apprend que nos molécules ainsi que le ligand de référence sont très différentes de la structure globale d'un médicament. Le SAS quant à lui nous apprend que nos pseudo-molécules sont plus difficiles à synthétiser que les médicaments de référence, mais moins que le ligand de référence.

5.2 Candidats potentiels

En prenant compte de la QED et du SAS ainsi que de l'énergie de liaison, nous obtenons les molécules suivantes :

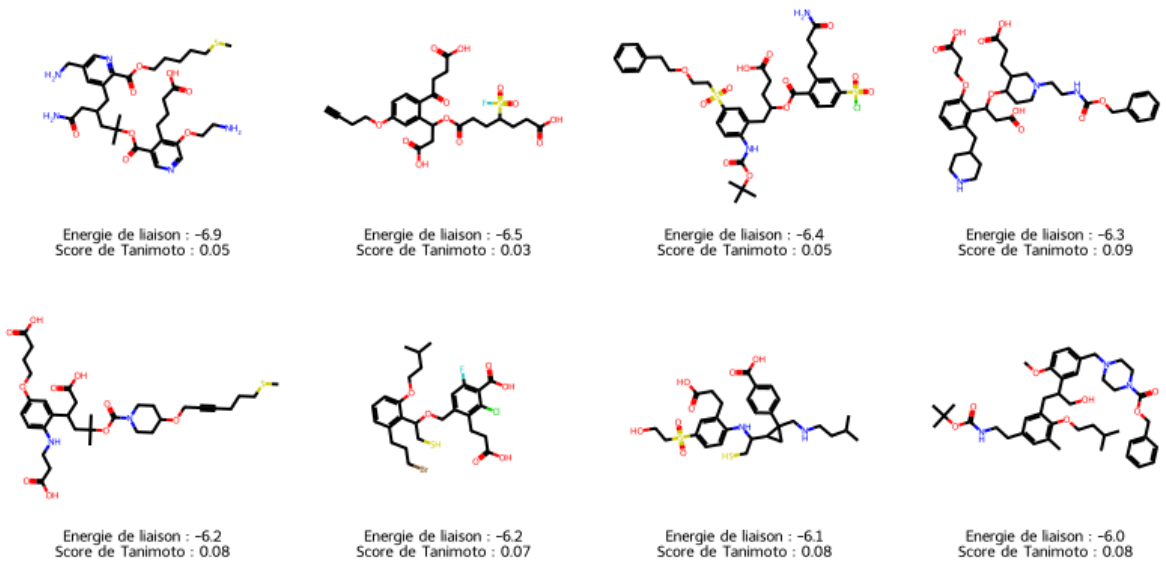


Figure 5.4 : Meilleurs candidats

On retrouve huit candidats potentiels sont identifiés parmi les molécules présentant une haute affinité dans la moitié supérieur du QED et la moitié inférieur pour le SAS. Les candidats présentent un score de Tanimoto très faible, indiquant ainsi qu'aucun d'entre eux ne présente vraiment de similarité avec le ligand d'origine. Il est donc difficile de valider complètement cette méthode.

5.3 Amélioration de la banque de fragments

Ces résultats sont très dépendants de la banque de fragments utilisés pour relier les chaînes latérales entre elles. Ainsi, un changement de cette base de données pourrait faire varier les résultats, il serait donc intéressant d'explorer d'autres banques de fragments, et éventuellement les combiner pour obtenir de meilleurs résultats. Il serait aussi possible d'améliorer la sélection de ces fragments pour qu'ils soient plus adaptés au récepteur. Pour cela, on peut faire deux choses :

— **Améliorer la classification** des banques de données en indiquant les propriétés physico-chimiques de la molécule, autre que la taille.

— **Utilisation de machine learning** pour optimiser la sélection du ligand en fonction du score de docking.

Chapitre 6

Limites, perspectives et conclusion

Ce stage a permis de développer et d'explorer une méthode innovante de conception de pseudo-ligands à partir d'interfaces protéine-protéine, en combinant des approches d'analyse structurale, de génération moléculaire et d'intelligence artificielle. Bien que les résultats obtenus soient prometteurs, plusieurs limites ont été identifiées tout au long du projet.

6.1 Limites

6.1.1 Obstacles rencontrés

La première limite est d'ordre technique. Bien que prometteur, l'intégration de certains outils issus de la communauté open source (tels que DeLinker [Imrie et al. (2020)], Protac-invent ou Reinvent) s'est révélée impossible, en raison de la nécessité de configurations matérielles spécifiques (GPU, bibliothèques incompatibles, dépendances obsolètes ou restreintes par des licences).

Ensuite, les performances du modèle d'autoencodeur ont été affectées par la taille du jeu de données d'entraînement et par les limitations en mémoire. La génération de SMILES valides n'a pas toujours été assurée, et les variations dans l'espace latent conduisaient parfois à des structures chimiquement peu plausibles.

6.1.2 Limite de la méthode utilisé

Enfin, le choix des résidus d'interaction, bien qu'affiné par des critères physicochimiques, reste partiellement dépendant de seuils arbitraires (distance, hydrophobicité...), et pourrait bénéficier d'une intégration de méthodes de détéction de *hotspot* plus robustes, comme celles basées sur la méthode Fragment Molecular Orbital (FMO) [Monteleone et al. (2022)] ou des approches d'apprentissage supervisé. **Note :** Un *hotspot* (ou point chaud en français) ensemble des résidus essentiels à l'interaction.

6.2 Perspectives d'amélioration

Plusieurs pistes d'amélioration ont été identifiées :

1. Enrichissement de la bibliothèque de fragments (linkers), par l'ajout de bases de données plus larges (ZINC, ChEMBL fragments), et une meilleure catégorisation des liaisons chimiques autorisées.
2. Identification automatique des hotspots via des modèles pré-entraînés ou des méthodes de mécanique quantique, pour améliorer la sélection initiale des résidus.
3. Optimisation des modèles de génération moléculaire, notamment par l'usage de transformeurs moléculaires (e.g. SyntaLinker) ou de générateurs conditionnels.
4. Intégration de critères multi-objectifs, comme la toxicité, la solubilité ou la biodisponibilité, pour rendre le pipeline plus réaliste en contexte pharmaceutique.

6.3 Avantages et inconvénient de la méthodes

La création de petites molécules inhibitrices se présente comme une alternative à l'utilisation d'anticorps, qui est un moyen coûteux avec peu de biodisponibilité oral et avec un poids moléculaire élevé. En effet, comme décrit dans la revue *At The Interface : Small-Molecule Inhibitors of Soluble Cytokines* [Raavi et al. (2025)], les petites molécules inhibitrices sont un sujet de recherche actif dans le cas des cytokines. Elles ont pour avantages d'avoir un poids moléculaire bas, une bonne biodisponibilité et une absorption rapide, pouvant offrir une alternative thérapeutique avec plus de contrôle.

Cependant, les interface protéine-protéine se présente comme des surfaces plate, large et rigide plutôt que des cavités dans lesquelles se logent les ligands. Ainsi, le manque de *hotspot* spécifique de haute affinité rend difficile la conception de petits d'inhibiteurs sans risque qu'ils interfèrent d'autres interactions.

6.4 Conclusion générale

Ce travail a permis de concevoir et d'implémenter un pipeline de génération de pseudo-ligands ciblant les interfaces protéine-protéine (iPP), en combinant des outils de chimio-informatique, de génération moléculaire, et de criblage virtuel. À partir de triplets de résidus sélectionnés sur une interface cible, le pipeline génère des fragments connectés chimiquement plausibles, les filtre selon des critères de "drug-likeness" (QED, SAS), puis les évalue via des calculs de docking.

L'approche a montré sa capacité à produire des candidats moléculaires respectant les contraintes physico-chimiques classiques et présentant des scores de docking comparables, voire supérieurs, à ceux d'un ligand de référence. Bien que certaines étapes puissent être affinées, notamment le choix des linkers ou l'exploration plus systématique de l'espace latent, les résultats obtenus sont encourageants pour une première version du pipeline.

À terme, ce type d'approche pourrait être étendu à d'autres interfaces iPP, ou couplé à des modèles d'apprentissage automatique pour optimiser la sélection des fragments et des linkers. Le pipeline développé constitue ainsi une base flexible pour l'exploration rationalisée d'inhibiteurs d'interfaces protéiques.

Bibliographie

Ertl, P. and Schuffenhauer, A. (2009), 'Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions', *Journal of Cheminformatics* .
URL: *https ://doi.org/10.1186/1758-2946-1-8*

Imrie, F., Bradley, A. R., van der Schaar, M. and Deane, C. M. (2020), 'Deep generative models for 3d linker design', *Journal of Chemical Information and Modeling* .
URL: *https ://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b01120*

Labbé, C. M., Kuenemann, M. A., Zarzycka, B., Vriend, G., Nicolaes, G. A., Lagorce, D., Miteva, M. A., Villoutreix, B. O. and Sperandio, O. (2015), 'ippi-db : an online database of modulators of protein–protein interactions', *Nucleic Acids Research* **44**(D1), D542–D547.
URL: *https ://doi.org/10.1093/nar/gkv982*

Monteleone, S., Fedorov, D. G., Townsend-Nicholson, A., Southey, M., Bodkin, M. and Heifetz, A. (2022), 'Hotspot identification and drug design of protein–protein interaction modulators using the fragment molecular orbital method', *Journal of Chemical Information and Modeling* **62**(16), 3784–3799. PMID : 35939049.
URL: *https ://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00457*

Raavi, Koehler, A. N. and Vegas, A. J. (2025), 'At the interface : Small-molecule inhibitors of soluble cytokines', *Chemical Reviews* **125**(9), 4528–4568. PMID : 40233276.
URL: *https ://doi.org/10.1021/acs.chemrev.4c00469*

Annexe A

An Appendix

Some lengthy tables, codes, raw data, length proofs, etc. which are **very important but not essential part** of the project report goes into an Appendix. An appendix is something a reader would consult if he/she needs extra information and a more comprehensive understating of the report. Also, note that you should use one appendix for one idea.

An appendix is optional. If you feel you do not need to include an appendix in your report, avoid including it. Sometime including irrelevant and unnecessary materials in the Appendices may unreasonably increase the total number of pages in your report and distract the reader.

Annexe B

An Appendix Chapter (Optional)

...