



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Med Khider Biskra

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

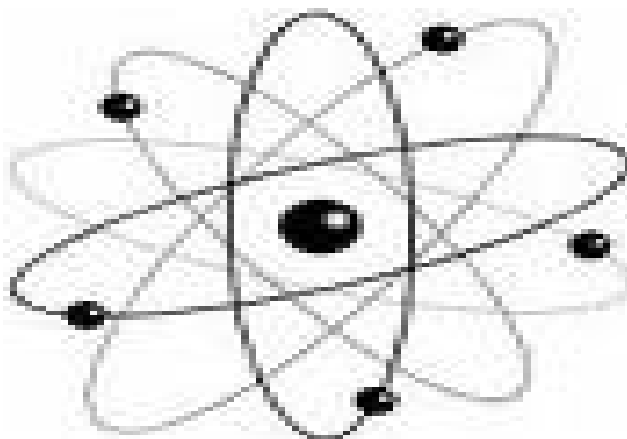


Département des Sciences de la Matière

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique



Mémoire de fin d'étude en Master

Intitulé :

Études des différentes modes d'interactions entre Protéines humaines Tyrosine Phosphatases (PTP1B) et une nouvelle classe des inhibiteurs : Approche de docking et ADME.

Présenté par :

SEKKAL GARMIA

Devant le jury :

Dr. Boumedjene Youcef

M.C.A

Président

Dr. Daoud Ismail

M.C.B

Rapporteur

Dr. Melkemi Nadjib

M.C.A

Examineur

2017-2018

Dédicaces



C'est avec honneur et énorme joie je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes Sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

A mes frères : Mohammed, Youcef, Fayçal, Ahmed.

Mes sœurs : Aicha et sa fille Hiba, Zineb, Soumia.

Mes proches amis : Merzaka, Sara, Ahlem, Aicha, Cheima, Selma.

Hakima.

A tous mes amis

A toutes la famille SEKKAL

SEKKAL GARMIA



Remerciement

الحمد لله الذي أعانني على انهاء هذا العمل، ان أحسنت فمن الله وحده وان أخطأت أو نسيت فمن نفسي او الشيطان

AVANT tout, je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir accordé la force, la santé et Les moyens afin de pouvoir accomplir ce mémoire.

Je remercie **M^r Melkemi Nadjib**, chef de spécialité de chimie, pour l'intérêt qu'il a attribué aux étudiants pour les aider à développer leur connaissance.

Ce mémoire n'aurait pas pu avoir lieu sans un encadrement de grande qualité, celui de **Dr. Daoud Ismail** pour avoir proposé et dirigé ce sujet de mémoire et pour son appui scientifique et sa disponibilité durant la préparation de mon projet de fin d'étude. Je le remercie également pour son aide précieuse et continue pendant la rédaction de ce mémoire.

C'est avec un réel plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

Au terme de ce modeste travail, nous remercions vivement, Les membres du jury :

Dr. Melkemi Nadjib

Examineur

Dr. Boumedjene Youcef

Président

Mes remerciements à tous mes professeurs, personnels du département de chimie.

Dr.Imen et Dr. Rachida.

Sans oublier également mes collègues de notre promotion.

SEKKAL GARMIA

Liste des figures

Figure I.1. interactions intramoléculaires entre atome liés et non liés.....	12
Figure I.2. Déterminer les minima de l'énergie globale d'interaction.....	19
Figure I.3. Représentation schématique du docking de deux molécules. (a) molécules de départ. (b) Complexe moléculaire.....	22
Figure I.4. Etapes de docking moléculaire.....	23
Figure II. 1. Formule développée d'une protéine de n acides aminés .Les Ri désignent les différentes chaînes latérales des résidus.....	37
Figure II. 2. Structure primaire	39
Figure II.3. Définition des angles dièdre.....	40
Figure II.4. Structure secondaire.....	40
Figure II. 5. Structure tertiaire de la porine (code PDB 1E54).....	41
Figure II 6. Structure quaternaire de l'hémoglobine humaine (code PDB:1a3N) constituée de 4 sous-unités identiques représenté en différentes couleurs.....	42
Figure II .7. Action d'un enzyme.....	44
Figure II. 8. Complexe Enzyme-Substrat.....	46
Figure II. 9. Structure commune à tous les acides aminés : Atome de carbone, O: Atome d'oxygène, H : Atome d'hydrogène, N : Atome d'azote, R : Chaîne latérale.....	49
Figure II. 10. Classification des vingt AA indispensables.....	51
Figure II. 11. Diabète de type2.....	56
Figure II. 12. Complication de diabète de type 2.....	57
Figure II. 13. Conséquence d'une hyperglycémie.....	60
Figure III. 1. Protocole de calcul.....	69
Figure III. 2. Structure 3D Protéines humaines Tyrosine Phosphatases 1B.....	70
Figure III. 3. Liaisons flexibles et rigides dans un ligand.....	76
Figure III. 4. Cavités de l'enzyme.....	80
Figure III. 5. Interaction entre les ligands et les résidus du site actif basé sur le calcul de l'énergie Mol Dock Score en utilisant le programme Ligplot+ et MVD.....	86

Liste des tableaux

Tableau I.1. Fonctions d'énergie associées aux atomes liés.....	14
Tableau I.2. Fonctions d'énergie associées aux atomes non liés.....	15
Tableau I.3. Nature de docking.....	24
Tableau II. 1. Représentation les classifications des enzymes.....	42
Tableau III.1. Quelques propriétés des chaines de l'enzyme.....	71
Tableau III.2. Structure des ligands.....	72
Tableau III.3. Représente l'énergie, angle de torsion et nombre de liaison des ligands.....	73
Tableau III. 4. Quelques propriétés des ligands.....	77
Tableau III.5. Volume et Surface pour les cinq cavités détectées par MolDock Score.....	80
Tableau III.6. Valeurs d'énergies score et distances des liaisons d'hydrogènes et stériques de docking moléculaire.....	81
Tableau III.7. Les résultats obtenus à partir d'un calcul ADME des 5 meilleurs ligands.....	87

Liste des abréviations

MQ : Méthodes Quantiques

H.F.R : Hartree-fock, Roothan

DFT : La théorie de la fonctionnelle de densité

OM-CLOA : Combinaison Linéaire d'Orbitales Atomiques).

MM : La mécanique moléculaire

AM1 : *Austin Model 1*

DM : La dynamique moléculaire

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination.

SVM : Vecteur algorithme de machine

AM : Amarrage Moléculaire

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AA : acide aminé

RMN : la résonance magnétique nucléaire

E-S : Complexe Enzyme-Substrat

MCV : Maladies cardio-vasculaires

MOD : Maladies Oculaires Diabétiques

PTP1B : Protéine Humaine Tyrosine Phosphatase 1B

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

MVD : Molegro Virtuel Docker

NDH: Nombre de liaison de donneur d'hydrogène

NAH: Nombre de liaison d'accepteur d'hydrogène

Sommaire

Dédicace

Remerciement

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des Abréviations

Introduction générale

CHAPITRE I : Méthodes de la modélisation moléculaire

I.1. Introduction	6
I.2. Méthodes de la modélisation moléculaire	6
I.2.1. Méthodes Quantiques (MQ).....	7
I.2.1.1. Méthodes ab-initio (Hartree-fock, Roothan).....	8
I.2.1.2. La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)	9
I.2.2. Méthodes Semi Empiriques.....	10
I.2.3. Méthodes non Quantiques.....	11
I.2.3.1. Mécanique moléculaire	11
a. Terme des atomes liés	14
b. Energie d'interaction entre atomes non liés.....	15
c. Terme du champ de force.....	16
d. Différents champs de force en mécanique moléculaire.....	16
e. Minimisation de l'énergie stérique.....	18
I.2.3.2. Dynamique moléculaire.....	19
a. Calcul de dynamique moléculaire.....	20
b. Applications de DM.....	20
I.2.3.3. Docking Moléculaire ou l'Amarrage moléculaire (AM).....	21
a. Protocole Générale de Docking.....	22
b. Programmes de docking moléculaire.....	24
I. 3. Définition d'ADME	25
I.3.1. La pharmacocinétique.....	25
I.3.1.1. Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME).....	26
a) Absorption.....	26

b) Distribution.....	27
c) Métabolisme.....	27
d) Elimination.....	27
I.4. Références.....	29

CHAPITRE II : Partie (A) : Protéines, Enzyme et Acide aminé,
Partie (B) : Maladie de diabète

II.1.Introduction.....	36
II.2. Les protéines.....	37
II.2.1. Définition des protéines.....	38
II.2.2. La liaison peptidique.....	38
II.2.3. Structure des protéines.....	39
II.2.3.1. Structure primaire.....	39
II.2.3.2. Structure secondaire.....	40
II.2.3.3. Structure tertiaire.....	41
II.2.3.4. Structure quaternaire.....	41
II.2.4. Les fonctions des protéines.....	42
II.3. Les enzymes.....	43
II.3.1. Classification des enzymes.....	43
II.3.2. Nomenclature.....	43
II.3.3. Notions de spécificité.....	44
II.3.4. Le Site Actif.....	44
II.3.5. Cofacteurs.....	45
II.3.6. Complexe Enzyme-Substrat (E-S).....	45
II.3.7. Inhibition Enzymatique.....	46
II.3.7.1. Les inhibiteurs réversibles.....	46
a) Inhibition compétitive.....	46
b) Inhibition incompétitive (ou anti compétitive).....	47
c) Inhibition non compétitive ou mixte.....	47
II.3.7.2. Les inhibiteurs irréversibles.....	48
II.3.8. Différentes types cinétiques d'inhibiteurs d'enzymes.....	48
II.4. Les acides aminés.....	48
II.4.1. Classification des principaux acides aminés (AA).....	50
II.4.1.1. Acides aminés non polaires.....	50

II.4.1.2. Acides aminés polaires, non chargés.....	50
II.5. Introduction.....	53
II.5.1. Le diabète.....	53
II.5.1.1. Diabète de type 1.....	54
II.5.1.2. Diabète gestationnel.....	55
II.5.1.3. Diabète de type 2 (90-95% des patients).....	56
II.5.1.4. Etiologie (causes) et immun pathologie du diabète de type 2.....	57
a) Les facteurs génétiques.....	58
b) Les facteurs environnementaux.....	58
a. L'obésité.....	58
b. La sédentarité.....	59
c) Immunologie.....	59
II.5.1.5. Conséquences.....	61
II.5.1.6 Traitement.....	62
II.6.References.....	64

CHAPITRE III : Résultat et discussion

III.1. Introduction.....	68
III.1.1.Préparation et optimisation du model.....	70
III.1.2. Ligands (Inhibiteurs).....	71
III.1.2.1. Préparation et optimisation des ligands (Inhibiteurs).....	71
III.1.3. Propriétés ADME.....	75
III.2. Docking moléculaire.....	75
III.2.1. Etapes du Docking Moléculaire.....	76
III.2.1.1.Principes.....	76
III.2.1.2. Structure de la macromolécule (enzyme).....	78
III.2.1.3. Structure du ligand.....	78
III.3. Résultats et discussion.....	79
III.3.1. Docking moléculaire.....	79
a. Interaction : PTP1B et Ligands.....	79
b. Energie d'interaction.....	81
III.3.2. Propriétés ADME.....	87
III.4.References.....	89

Annexes.

Introduction Générale

La recherche de nouveaux médicaments s'inscrit dans le cadre plus général des sciences du vivant. À Partir des ensembles d'études scientifique importantes réalisées autour de la biologie et dont les applications fondent a l'avenir. Une très grande part des découvertes en pharmacologie, médecine et en chimie donnent une naissance à une science fondamentale qui s'appelle chimie pharmaceutique (ou médicinale).

D'autre part, les ordinateurs sont devenus des outils indispensables en chimie pharmaceutique moderne, et le développement important des moyens informatiques (mémoire plus importante, calcul scientifique, infographie, ...) au cours de ces dernières années a permis à la chimie de s'enrichir d'outils informatiques spécialement dédiés à la description des molécules.

La modélisation moléculaire implique l'utilisation des méthodes de calculs théoriques permettant de déterminer :

- La représentation graphique de la géométrie.
- La configuration des atomes d'une molécule.
- Evaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée [1].

Elle est aujourd'hui mieux intégrée comme outil complémentaire. D'ailleurs, en 1998, le prix Nobel de chimie a été décerné à John. A. Pople et Walter Kohn pour leurs travaux dans les domaines de la chimie informatique et de la modélisation moléculaire [2].

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve le docking moléculaire (arrimage moléculaire). Ce dernier est utilisé pour prédire la structure du complexe intermoléculaire résultant de l'association entre au moins deux molécules. Quand il s'agit de deux protéines, on parle de docking protéine-protéine [3]. L'utilisation des programmes de docking a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [4, 5].

Le nombre des personnes atteintes de diabète est passé de 108 millions en 1980 à 422 millions en 2014. La prévalence mondiale du diabète chez les adultes de plus de 18 ans est passée de 4,7% en 1980 à 8,5% en 2014 [6].

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit le terme « diabète » comme étant un trouble métabolique à l'étiologie multiple, caractérisé par une hyperglycémie chronique accompagnée de perturbations du métabolisme des hydrates de carbone, des lipides et des

Introduction Générale

protéines dues à des désordres dans la sécrétion et/ou l'action de l'insuline (Insuline-résistance) [7,8].

Le diabète de type 2, non insulino-dépendant, résulte de l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline produite par le pancréas. Elle entraîne sur le long terme des lésions, des dysfonctionnements et des insuffisances de divers organes [7]. Cette maladie est causée par une enzyme appelée : PTP1B.

Les activités et les fonctions des protéines cellulaires sont souvent régulées par des modifications post-traductionnelles. La phosphorylation de la tyrosine est un exemple de ces modifications et la nature réversible de la phosphorylation fournit la base pour la communication entre les protéines de signalisation à l'intérieur de la cellule [9-12].

Protéine tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) est une enzyme qui joue un rôle essentiel dans la régulation négative de l'insuline par la déphosphorylation du récepteur de l'insuline. Les inhibiteurs de PTP1B ont montré une sensibilité accrue à l'insuline et normalisent le taux de glucose plasmatique et utilisent ainsi des agents thérapeutiques complets pour le traitement du diabète.

Le but de travail est de trouver une nouvelle série d'inhibiteurs qui ont une activité élevés d'inhibition de cette enzyme. En utilisant les différentes méthodes de modélisation moléculaire (précisément docking moléculaire), dont on s'intéresse à déterminer les interactions intramoléculaires conduisent à une formation de complexe stable, en se basant sur deux paramètres ; calculer l'énergie d'interaction (Score) et mesurer les distances des interactions existantes entre les résidus de site actif et les atomes de ligand.

La recherche a été réalisée en utilisant les approches de modélisation moléculaires :

- La mécanique moléculaire (MM+).
- Semi-empirique (AM1).
- Le docking moléculaire.
- ADME.

Nous avons choisi les programmes suivants :

- Molegro Virtual Docker (Version 2012): de docking moléculaire.
- HyperChem 7: pour la MM, AM1
- SwissADME pour L'ADME.

Introduction Générale

➤ Ligplot+ : pour la visualisation.

Le présent travail est organisé en trois chapitres :

✓ *Une introduction générale* : dans laquelle nous avons donné l'objectif de notre travail et la problématique.

✓ *Le premier chapitre* consacré, à un aperçu sur les principales approches de la modélisation moléculaire.

✓ Dans *le deuxième chapitre* : nous allons présenter deux parties

Partie A : un rappel sur les protéines, les enzymes et les acides aminés, ainsi que les différents types d'inhibitions est exposé.

Partie B : maladie de diabète (types, causes, conséquence, traitement...).

✓ Dans *le troisième chapitre*, nous discutons les résultats obtenus.

✓ *Une conclusion générale.*

References

- [1] G. Náray-Szabó., I. Berente, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, Computer Modeling of Enzyme Reaction, P637-644, **2003**.
- [2] D. Morgan. , Principles of CDK regulation. *Nature*; P374, **1995**.
- [3] R. Mendez., R. Leplae., M. F. Lensink., S. J .Wodak., Assessment of CAPRI prédictions in rounds 3-5 shows Progress in docking procedures. *Proteins: Struct., Funct., Bioinf*, 60 (2), 150-169. **2005**.
- [4] J. C. Alvarez., High-throughput docking as a source of novel drug leads. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 8 (4), 365-370. **2004**.
- [5] S. Ghosh; Nie, A.An., J. Z. Huang., Structure-based virtual screening of chemical libraries for drug discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 10 (3), 194-202. **2006**.
- [6] CD .Mathers. Loncar D., “Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 », *PLoS Med*, 3(11):442. **2006**.
- [7] Observatoire Régional de la santé Réunion. Le diabète. Ile de La Réunion, France: ORS Réunion; Mai **2015**.
- [8] Haute Autorité de Santé. Guide de parcours de soins: Diabète de type 2. Saint-Denis La Plaine: HAS; **2014**.
- [9] X. L. Zhan, M. J. Wishart. and K. L .Guan. Nonreceptor tyrosine phosphatases in cellular signaling: regulation of mitogen-activated protein kinases. *Chem. Rev*; 101(8), 2477-96. **2001**.
- [10] A. Östman. And F. D. Böhmer. Regulation of receptor tyrosine kinase signaling by protein tyrosine phosphatases. *Trends. Cell. Biol*; 11(6), 258–66. **2001**.
- [11] P. Cohen., The regulation of protein function by multisite phosphorylation—A 25 year update. *Trends. Biochem. Sci* ; 25(12), 596–601. **2000**.
- [12] B. G. Neel and N. K. Tonks., Protein tyrosine phosphatases in signal transduction. *Curr. Opin. Cell. Biol*; 9(2), 193–204. **1997**.

I.1. Introduction

Toute recherche théorique est sous-tendue par deux motivations essentielles : la compréhension et la prévision, c'est-à-dire la compréhension de ce qui a déjà été fait et la prévision de ce qui éventuellement réalisable. La prévision répond à des questions du type : “Que se passerait-il si... ?”, ou “Est-ce qu'on pourrait faire... ?” ou encore “Quelle serait la valeur de... ?”. La réponse traditionnelle serait de faire l'expérience. Mais à une époque où le prix des calculs par ordinateur baisse continuellement, tandis que celui des produits chimiques, des appareils, de la main-d'œuvre qualifiée, etc. ne cesse de croître, il est de plus en plus intéressant d'exploiter les modèles théoriques de toutes sortes afin d'aider à la conception de nouvelles espèces chimiques [1].

La chimie informatique est maintenant devenue un outil très important pour l'industrie et le milieu académique, avec des méthodes théoriques de calcul [2].

La modélisation par ordinateur d'une molécule implique généralement une présentation graphique de la géométrie (afficher, visualiser, simuler, analyser, calculer) ou de la configuration des atomes de la molécule, suivie de l'application d'une méthode théorique [3].

Généralement, on définit la modélisation moléculaire comme étant une activité qui consiste à construire les modèles [4].

La modélisation moléculaire se sert pour simuler des systèmes moléculaires, des méthodes de calcul théoriques telles que :

- Les méthodes quantiques.
- Les méthodes semi-empiriques.
- Les méthodes non quantiques [5].

I.2. Méthodes de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules. La taille du système étudié peut aller d'une simple molécule diatomique jusqu'à des macromolécules biologiques de plusieurs dizaines de milliers d'atomes.

La modélisation moléculaire peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire elles peuvent être extrêmement complexes et demander des centaines d'heures de temps d'ordinateur, même sur un superordinateur.

I.2.1. Méthodes Quantiques (MQ)

Les méthodes de modélisation basées sur la mécanique quantique [6], cette dernière est le prolongement de la théorie des quanta, issue des travaux de Planck, de leur interprétation par Einstein et de leur application à la théorie atomique par Bohr et Sommerfeld. Elle explique la quantification de certaines grandeurs (énergie, moment cinétique) traité les électrons de valence et de cœur.

- L'objectif de la mécanique quantique est principalement de déterminer l'énergie et la distribution électronique.
- La chimie quantique définit la structure moléculaire comme un noyau autour duquel gravitent des électrons, qui sont décrit par leur probabilité de présence en un point et représentés par des orbitales [7]. Les équations de la chimie quantique sont basées sur la résolution de l'équation de SCHRODINGER qui s'écrit pour les états stationnaires [8].

$$\mathbf{H}\Psi=\mathbf{E}\Psi$$

Ou :

H : Hamiltonien total d'une molécule comportant N noyaux et n électrons.

Ψ : Fonction d'onde de la molécule.

E : Energie totale d'une molécule.

De nos jours avec l'importance des ordinateurs et en combinant les différentes méthodes et équations on peut avoir des réponses précises à toute sorte de question concernant la géométrie et structure d'une molécule ; son énergie ; sa réactivité et ces différentes interactions. Cette discipline a développé des méthodes basées sur la mécanique quantique [9].

A côté des méthodes expérimentales, les méthodes de la mécanique quantique nous donnent l'accès aux caractéristiques structurales et énergétiques fiables à l'issue de l'application des différentes méthodes quantiques [10].

Les méthodes quantique pure (non empirique) possède les méthodes semi empirique, *ab-initio* (H.F.R) et les la DFT.

I.2.1.1. Méthodes *ab-initio* (Hartree-fock, Roothan)

Les calculs *ab-initio* tiennent seulement en compte les interactions des particules ; et puisque les noyaux sont plus lourds que les électrons on traite leurs mouvements séparément autrement dit :

Quand on considère le mouvement de l'électron, on considère que le noyau soit dans un état statique ou bien il ne bouge pas (selon l'approximation de Born-Oppenheimer on suppose que les noyaux sont fixes par rapport des électrons qui ont des vitesses très grands .Donc on traite que le système électronique.

Le mouvement des noyaux est déterminé par les forces générées lors de la réalisation de l'équilibre entre le système d'électrons et une distribution de noyaux donnée, cela représente l'élément majeur qui permet une étude *ab-initio* [11].

Les méthodes Hartree-fock-Roothan sont des méthodes non empiriques, toutes les intégrales sont rigoureuses et il n'y a pas d'approximation à faire sauf celle de Born Oppenheimer et l'approximation OM-CLOA (**Combinaison Linéaire d'Orbitales Atomiques**).

Dans les méthodes *ab-initio*, toutes les particules (noyau et électrons) sont traitées explicitement. On n'utilise aucun paramètre empirique dans le calcul de l'énergie. Avec ces méthodes toutes les intégrales sont évaluées, c'est pourquoi ces méthodes sont limitées aux petits systèmes (moins de dix atomes lourds en général) et exigent des ordinateurs puissants. L'énergie de la structure moléculaire est alors calculée à partir des orbitales moléculaires définies comme la somme des orbitales atomiques.

L'hamiltonien d'un système à n électrons et N noyaux est donné par [12]:

$$H_{tot} = T_E + T_N + V_{E-N} + V_{E-E} + V_{N-N}$$

Avec :

T_E : l'énergie cinétique des n électrons.

T_N : l'énergie cinétique des N noyaux.

V_{E-N} : l'énergie d'attraction électrons- noyaux.

V_{E-E} : l'énergie de répulsion électron- électron.

V_{N-N} : l'énergie de répulsion noyau- noyau.

Les méthodes *ab-initio* se divisent en deux sous familles :

1. Les méthodes Hartree - Fock (HF, RHF, UHF, ROHF) (Hartree, 1928; Fock, 1930).
2. Les méthodes post Hartree-Fock, (MPn, CAS, ...) (Moller, 1934).

La principale différence entre ces deux méthodes est que les interactions électroniques sont négligées dans les méthodes HF et réintroduites dans les méthodes post HF. Ces méthodes ne peuvent être appliquées qu'à des systèmes de quelques dizaines d'atomes pour les méthodes HF et d'une dizaine d'atomes seulement pour les méthodes post HF [13]. Les méthodes *ab-initio* basée sur la fonction d'onde ψ .

I.2.1.2. La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)

Dans ces dernières années, la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT de son acronyme anglais 'Density Functional Theory, est devenue l'une des méthodes les plus utilisées, pour le calcul de la structure électronique et la prédiction des propriétés physicochimiques des atomes, des molécules et même des solides [14,15]. est devenue, au fil des dernières décennies, un outil théorique qui a pris une place très importante parmi les méthodes utilisées pour la description et l'analyse des propriétés physiques et chimiques pour les systèmes complexes, particulièrement pour les systèmes contenant un grand nombre d'électrons [16,17].

La DFT trouve ses origines dans le modèle développé par Llewellyn Thomas [18] et Enrico Fermi [19-21]. Elle est basée sur le postulat référencé à la fin des années 1920. Il stipule que les propriétés électroniques peuvent être décrites en terme de fonctionnelles de la densité électronique, en représentant son énergie cinétique selon une fonctionnelle de cette grandeur. Cependant, le manque de précision ainsi que l'impossibilité de traiter des systèmes moléculaires comme un modèle trop simple. En effet, le point faible de cette approche résidait dans l'expression de l'énergie cinétique qui ne prenait pas en compte les orbitales atomiques. Et aussi la précision obtenue était inférieure à celle de Hartree-Fock à cause de l'absence du terme d'échange-corrélation.

Dirac a amélioré cette théorie en ajoutant à ce dernier une énergie d'échange fonctionnelle de la densité électronique. Mais le terme de corrélation électronique restait toujours absent dans cette nouvelle approche.

La théorie de la fonctionnelle de la densité est basée sur le théorème Hohenberg-Kohn [22]. DFT est une méthode quantique pure basée sur la densité électronique ψ_2 . Il existe trois types de fonctionnelles énergies d'échange-corrélation :

- les fonctionnelles Locales.
- les fonctionnelles à correction du gradient.
- les fonctionnelles hybridés.

I.2.2. Méthodes Semi Empiriques

Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales.

Les méthodes semi-empiriques (CNDO/2, INDO, MINDO/3, MNDO, AM1, PM3 et SAM1) ne considérant que les électrons de la couche de valence ; les électrons des couches internes sont inclus dans le cœur nucléaire.

Les termes énergétiques les plus difficile à calculer sont estimés à partir des données expérimentales. Les temps de calculs sont considérablement raccourcis, mais la méthode est liée des composés qui ont servi à l'étalonner. Selon la nature des approximations utilisées [23], on distingue plusieurs variantes.

CNDO : (*Complete Neglect of Differential Overlap*) Première méthode semi empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965. Méthode présentant certains défauts entre autres : elle ne tient compte de la règle de Hund.

INDO: (*Intermediate Neglect of Differential Overlap*) Proposée par Pople, Beveridge et Dobosh en 1967. Elle permet de distinguer entre les états singulets et les états triplets d'un système en conservant les intégrales d'échange.

MINDO/3 : Proposée par Bingham, Dewar et Lo en 1975. Paramétrisation effectuée en se référant aux résultats expérimentaux et non pas aux résultats ab-initio, de plus l'algorithme d'optimisation utilisé est très efficace (Davidon-Fletcher-Powell). Cependant, elle surestime la chaleur de la formation des systèmes insaturés et sous-estime celle des molécules contenant des atomes voisins ayant des paires libres.

MNDO : (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*) Proposée par Dewar et Thiel en 1977. Méthodes basée sur l'approximation NDDO (*Neglect of Diatomic*) *Differential Overlap*) qui

consiste à négliger le recouvrement différentiel entre orbitales atomiques sur des atomes différents. Cette méthode ne traite pas les métaux de transition et présente des difficultés pour les systèmes conjugués.

AM1 : (*Austrin Model 1*) Proposée par Dewar en 1985. Il a tenté de corriger les Défauts de MNDO.

PM 3 : (Parametric Method 3) Proposée par Stewart en 1989. Présente beaucoup de points en commun avec AM1, D'ailleurs il existe toujours un débat concernant les mérites relatifs de paramétrisation de chacune d'elles.

SAM1 : (*Semi-ab-intio Model 1*) La méthode la plus récente proposée par Dewar en 1993. Elle inclut la corrélation électronique.

Comme avantage Les calculs des méthodes semi-empirique sont plus rapides que les autres méthodes quantique pures. Leur inconvénient réside dans le fait qu'elles sont disciplinées à de nombreuses approximations.

I.2.3. Méthodes non Quantiques

I.2.3.1. Mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est apparue en 1930 [24], mais s'est développée à partir des années 1960, avec les progrès d'accessibilité et de performance des ordinateurs. Elle permet de déterminer l'énergie d'une molécule en fonction de ses coordonnées atomiques et de chercher des minima de l'énergie correspondant à des conformères stables [25,26].

La MM est une méthode basée sur la mécanique classique ; est une méthode empirique (ne sont pas considérée directement) qui traite les grosses molécules. L'avantage de la MM en comparaison avec les autres méthodes est la rapidité des calculs. C'est à cause de la simplicité des équations de champ de force (La MM est appelée aussi une méthode de champ de force) ; donc :

➤ on peut traiter un système moléculaire très grand mais la méthode ne prend pas en compte la structure électronique moléculaire donc c'est impossible d'étudier les systèmes dans lesquels les effets électroniques sont principaux [27].

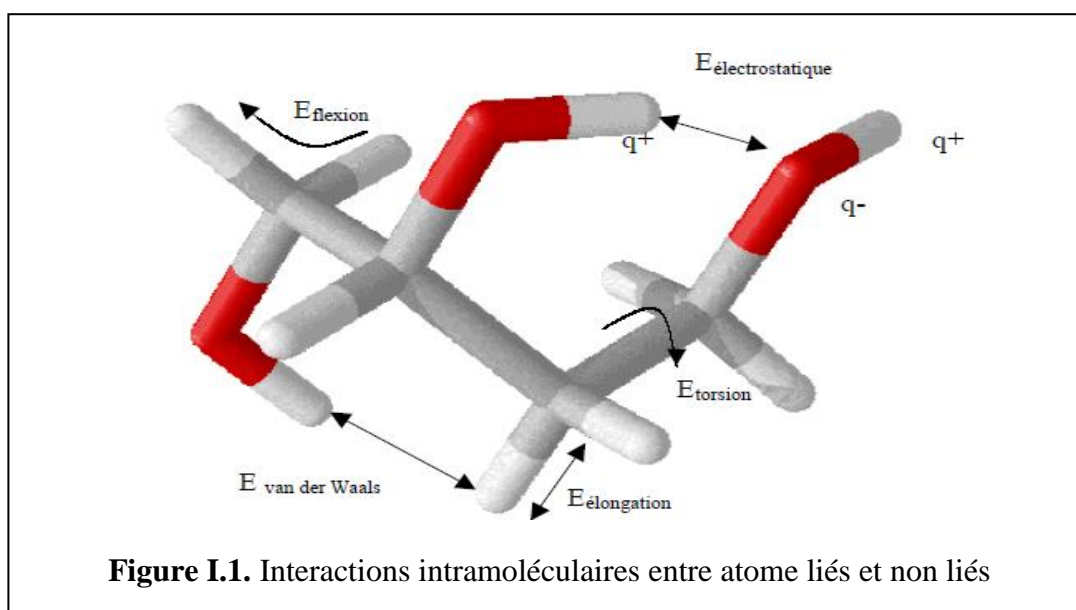
➤ nous permet de minimiser l'énergie afin d'obtenir des conformations à basse énergie de notre système moléculaire et de réduire des forces initiales trop grandes qui aboutiront à une trajectoire aberrante [28].

La mécanique moléculaire utilise les approximations suivantes ;

- ✓ Chaque atome constitue une particule ; l'atome est considéré comme une sphère rigide ayant un rayon et une charge déterminée ; les énergies sont calculées par des formules dérivées de la mécanique classique [29].
- ✓ Les méthodes de la mécanique moléculaire permettent le calcul de propriétés structurales et thermodynamiques de systèmes moléculaires comportant jusqu'à plusieurs milliers d'atomes. Les électrons n'y sont pas traités explicitement comme dans un calcul de mécanique quantique, mais les atomes y sont représentés par des masses ponctuelles chargées reliées les unes aux autres par des ressorts.

L'énergie d'une molécule lie des positions relatives de ses atomes. Cette énergie peut être approximée comme étant la somme de plusieurs contributions :

$$E_{steric} = E_{stretching} + E_{bending} + E_{torsion} + E_{vdW} + E_{elec} + E_{hydrogen}$$



Le terme « **Stretching** » représente l'élongation des liaisons.

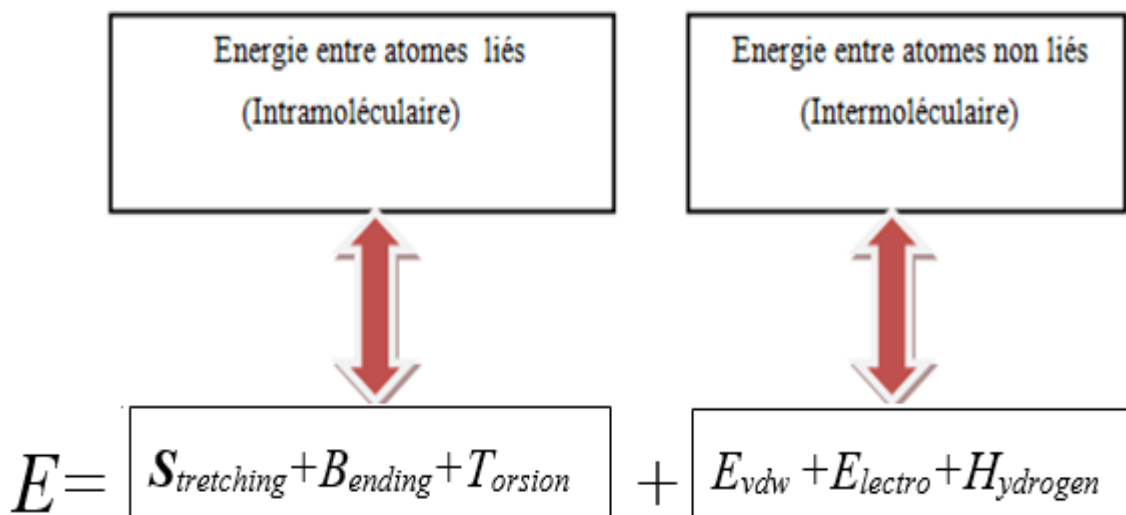
Le terme « **Bending** » représente la variation des angles.

Le terme « **Torsion** » se rapporte à l'énergie de torsion des angles dièdres.

Le terme « **VdW** » rend compte des énergies d'interaction non covalente entre atome non liés.

Le terme « **Elec** » des énergies d'interaction électrostatiques entre atomes non liés.

Le terme « **Hydrogen** » rend compte des liaisons d'hydrogènes.



On quelque fois appelée énergie stérique ou énergie potentielle. Elle dépend à la différence d'énergie entre la molécule réelle et une molécule aléatoires dans laquelle toutes les valeurs de la structure comme la longueur des liaisons et les angles de liaisons sont exactement à leur valeur idéales.

L'énergie stérique minimale calculée est la somme des contributions apportées par les énergies d'élongation, de flexion, de Van der Waals, électrostatique, ... [30].

Elle peut se devisée en termes d'interaction intermoléculaire concernant des atomes non liés chimiquement (électrostatiques, van der Waals, etc.). Et un terme d'interaction intramoléculaire concernant des atomes liés chimiquement (liaisons, angle, dièdres, etc.).

En fait pour, affiner L'expression du terme potentielle est rendre plus fidèle la description du système, des termes de couplages entre différents atomes ont été introduit.

L'énergie stérique d'un système est donnée par la relation suivante :

$$E_{potentielle} = E_{atomes-liés} + E_{atomes-non\ liés}$$

a. Terme des atomes liés

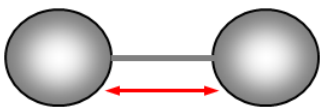
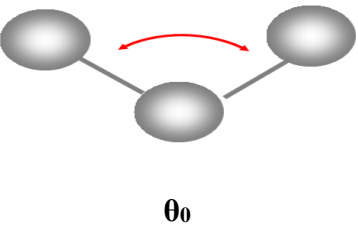
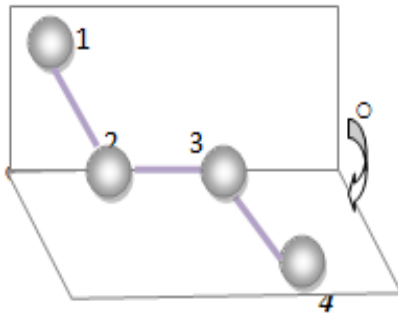
Les interactions intramoléculaires ne dépendent que des coordonnées internes des molécules.

Les potentiels utilisés sont du même type que ceux utilisés en analyse vibrationnelle.

La déformation du squelette est décrite par l'élongation des liaisons et distorsion des angles de valence.

$$E_{\text{atomes-liés}} = E_{\text{liaison}} + E_{\text{angles}} + E_{\text{dièdres}} + \dots$$

Tableau I.1. Fonctions d'énergie associées aux atomes liés

Définition d'énergie	Expression générale	Illustration
<p>Energie d'élongation des liaisons (stretching)</p> <p>est un terme destiné à réguler la distance entre deux atomes liés de façon covalente.</p>	$E_{\text{bond}} = \sum_{\text{liaisons}} k_b (b - b_0)^2$ <p>b_0 : longueur de liaison à l'équilibre K_b : constante de force</p>	
<p>Energie de déformation des angles de valence (bending)</p> <p>Définit l'énergie impliquée dans les variations d'angle θ entre deux liaisons contiguës, autour d'une valeur d'équilibre θ_0.</p>	$E_{\text{angle}} = \sum_{\text{angles valence}} k_\theta (\theta - \theta_0)^2$ <p>θ : angle à l'équilibre k_θ : constante de force</p>	
<p>Energie de torsion</p> <p>Définit l'énergie impliquée dans les variations d'angle θ entre deux liaisons contiguës, autour d'une valeur d'équilibre θ_0</p>	$E_{\text{torsion}} = \sum_{\text{angle torsion}} k_\phi [1 + \cos(n\phi)]$ <p>K_ϕ : constante de force n : périodicité ($n = 1, 2, 3, \dots$)</p>	

b. Energie d'interaction entre atomes non liés

Les interactions intermoléculaires prennent en compte les interactions qui n'interagissent pas par des termes de liaison, d'angle de courbure et d'angle de torsion.

$$E_{\text{atomes-non liés}} = E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}} + E_{\text{liaisons-hydrogène}} + \dots$$

Les deux derniers termes interprétant les interactions entre atomes non liés de manière covalente, seuls les atomes séparés de plus de trois liaisons sont considérés comme pouvant avoir des interactions non liées. Ce choix se justifie par le fait que les interactions, entre atomes séparés par une, deux ou trois liaisons, sont convenablement bien décrites par les termes de déformation des longueurs de liaisons et d'angles formes par deux liaisons covalentes.

Tableau I.2. : Fonctions d'énergie associées aux atomes non liés.

Terme du champ de force	Expression générale
a. Energie de Van der Waals	$E_{\text{vdw}} = \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right]$ <p>A_{ij}, B_{ij} : paramètres dépendant de la nature des atomes i et j. r_{ij} : La distance entre les deux atomes.</p>
b-Energie des interactions électrostatiques	$E_{\text{elec}} = \sum_{i, j} \left(\frac{q_i q_j}{\epsilon_{ij} r_{ij}} \right)$ <p>q_i, q_j : charges partielles des atomes i et j, distants de r_{ij} ϵ_{ij} : constante diélectrique rendant compte de l'atténuation de l'interaction électrostatique par l'environnement (solvant ou molécule elle-même)</p>
c-Energie des liaisons hydrogène	$E_{\text{Liaisons_hydrogène}} = \sum_{i < j} \left[\left(\frac{A'}{r_{AD}^{12}} \right) - \left(\frac{B'}{r_{AD}^{10}} \right) \right] \text{Cos}^m \theta_{A-H-D} \text{Cos}^n \theta_{AA-A-H}$ <p>A', B' : paramètres dépendant de la nature du donneur et de l'accepteur de liaisons H, distants de r_{AD}. θ_{A-H-D} : angle formé par l'accepteur (A), l'hydrogène (H) et le donneur (D). θ_{AA-A-H} : angle formé par l'antécédent de l'accepteur (AA), A et H. m, n : exposants donnés par le type de D et A, $m = 0, 2, 4$; $n = 0, 2$.</p>

c. Terme du champ de force

Le champ de force est un modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire.

Le " CHAMP DE FORCE", qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire [31]. Son but est de calculer l'énergie potentielle d'une molécule (ou d'un système de molécule) en fonction de coordonnées des atomes :

$$E_p = f(r_1, r_2, \dots, r_n)$$

Où :

r_i : représente le vecteur position de l'atome i .

E_p : Énergie potentielle.

Il est important de noter que les champs de forces constituent une approche purement empirique. Ils sont paramétrés de manière à ce que l'ensemble des différentes participations permette de reproduire une série de résultats expérimentaux. Un champ doit donc toujours être considéré comme une entité indivisible et il est éloigné de combiner les termes et/ou les paramètres de deux champs dans l'espoir d'obtenir un meilleur ensemble [32].

IL est important dans un premier temps de vérifier si le champ choisi est adapté au système à étudier puisque on peut ainsi trouver des champs destinés plus spécialement à la modélisation de petites molécules organiques de macromolécule [33], de nucléotides [34] ou encore de complexes organométallique [33].

d. Différents champs de force en mécanique moléculaire

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de différentes Paramètres. Les champs de forces en MM peuvent être groupés en trois classes principales [35] :

- ❖ Champs de force contenant uniquement les termes harmoniques.
- ❖ Champs de force utilisant les termes d'ordre supérieur (cubique, quadratique,...).
- ❖ Champs de force suggérés par *Allinger et col.* [36] ne considérant pas que les termes de la mécanique moléculaire classique mais aussi les effets chimiques comme l'électronégativité.

- **MM2/MM3/MM4** : MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col. [37-38]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [39] et MM4 (1996) [40] lui permettent de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

- **OPLS** : Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indique son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Il est écrit par W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives [41].

- **GROMOS** : GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), est écrit par Van Gunsteren [42] et conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines.

- **CHARM (Bio+)** : Développé par Karplus et col [43-44], pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force est conçu pour les acides aminés et les protéines, maintenant il traite d'autres biomolécules.

-**SPASIBA** : (Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating biomolecular conformational Adaptability), élaboré par Gérard Vergoten et col. (1995). Il combine le champ de force spectroscopique modifié de Urey-Bradley-Shimanouchi [45] et le champ de force AMBER. Il permet de trouver les structures, les énergies de conformation et les fréquences vibrationnelles au minimum énergétique d'une molécule [46].

EMO : Le programme EMO (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaise [47-50], il est basé sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :

Menu 1 : entrée de la molécule à l'aide d'un clavier.

Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.

Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire.

-AMBER: AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement), a été écrit par Kollman [51]. Le champ est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules.

e. Minimisation de l'énergie stérique

Le rôle de la minimisation est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts intra atomiques. Les structures « minimisées » correspondent généralement au minimum local le plus proche de la structure de départ plutôt qu'au minimum global d'énergie. Cette détermination de la conformation moléculaire de plus basse énergie est réalisée par minimisation de l'énergie. Elle peut se faire selon différentes méthodes mathématiques, leur principe étant d'ajuster (à partir d'une conformation initiale) les paramètres géométriques de la structure moléculaire de façon à minimiser la valeur de la fonction énergétique.

Les méthodes de minimisation ne déterminent ainsi que la conformation stable la plus proche en énergie de la conformation initiale de la structure moléculaire, celle-ci pouvant correspondre à un minimum énergétique global ou simplement local :

Les minima locaux sont inévitables car les longueurs de liaison et les angles de valence sont rapidement optimisés au stade initial de la minimisation ; mais quand ces derniers ont atteint leur valeur d'équilibre, d'autres mouvements torsionnels sont inhibés puisque pour réduire d'avantage l'énergie totale du système il faut pouvoir déplacer plusieurs atomes [52].

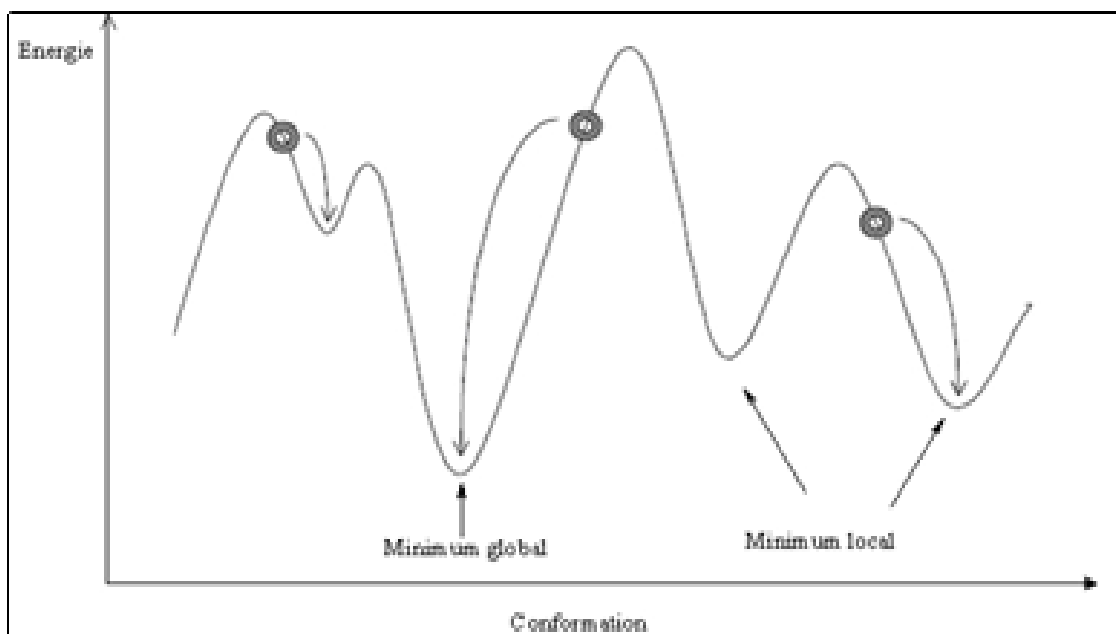


Figure I.2. Déterminer les minima de l'énergie globale d'interaction

I.2.3.2. Dynamique moléculaire

La simulation de dynamique moléculaire est un outil qui permet l'étude de l'évolution du comportement dynamique de systèmes en fonction du temps. Cette méthode peut jouer un rôle prédictif sur de nombreux phénomènes (interaction ligand-récepteur, diffusion de molécules, formation de structures biologiques complexes, etc...). Elle obéit à la loi de Boltzmann, ce qui implique que les états de haute énergie sont difficilement échantillonnés. Cela signifie que les changements de conformation (le passage d'un puits de potentiel à un autre) sont rarement observés (ils sont d'ailleurs appelés "événements rares").

Le seul moyen d'augmenter la probabilité d'observer ces transitions est d'allonger autant que faire se peut le calcul, d'où l'intérêt de réaliser de longues simulations.

Le système étant défini par la mécanique classique, la simulation de son comportement dynamique est assurée par l'application de la deuxième loi de Newton pour le déplacement des atomes. La seconde loi de Newton relie la somme des forces appliquées sur le système à son accélération.

$$\Sigma \vec{F} = m. \vec{a} . \text{ (Équation1)}$$

La dynamique moléculaire est une technique de modélisation sur ordinateur par laquelle l'évolution en fonction du temps ou trajectoire [53].

a. Calcul de dynamique moléculaire

Une simulation de DM se réalise généralement en quatre étapes :

- 1- Une étape de minimisation de la structure initiale destinée à éliminer les contacts stériques.
- 2- Une étape dite de thermalisation au cours de laquelle les vitesses des atomes sont augmentées progressivement afin d'atteindre la température finale choisie.
- 3- Une étape d'équilibration pendant laquelle les vitesses ne sont plus modifiées. L'énergie cinétique se répartit sur toute la molécule afin d'atteindre son état d'équilibre.
- 4- Enfin, pendant la dernière étape, appelée dynamique productive, les coordonnées et les vitesses sont sauvegardées pour une analyse de la dynamique.

Le protocole typique de simulation de dynamique moléculaire contient :

- La création de la structure moléculaire de départ
- La minimisation de l'énergie
- Le chauffage du système
- L'équilibration du système à la température d'étude
- La production de la trajectoire
- L'analyse de la trajectoire

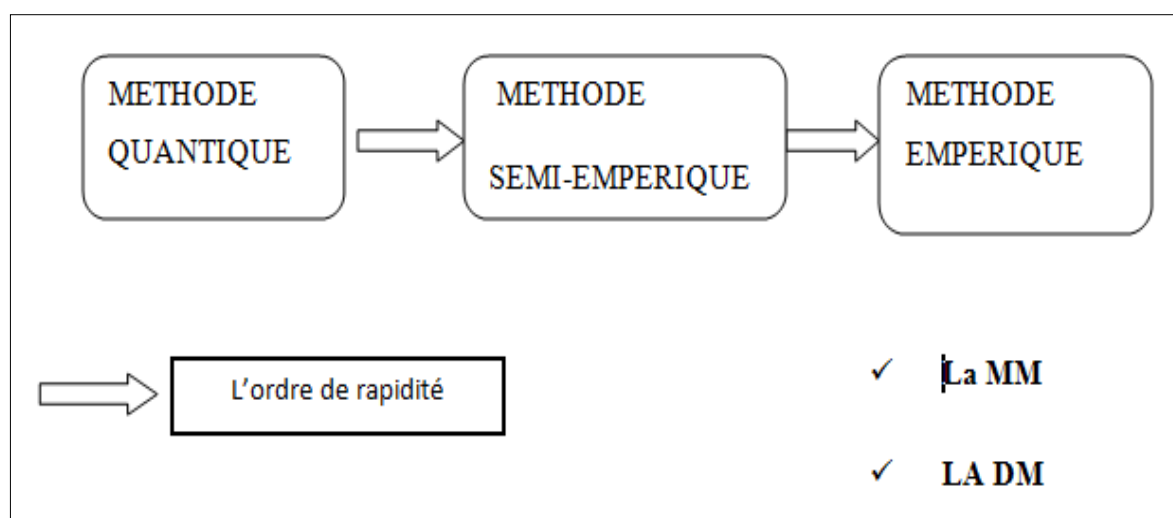
Typiquement, avant d'effectuer la simulation de dynamique moléculaire, les systèmes ont été chauffés de 0 K à 300 K pendant 20 Ps et équilibrés à la même température pendant encore 20 Ps [54].

b. Applications de DM

Une application importante de la dynamique moléculaire est :

- ✓ L'analyse des modes normaux de vibration le long de la trajectoire.

✓ L'optimisation et le raffinement des structures 3D d'après les données de la cristallographie et/ou de la RMN. La mise en œuvre de cette méthode requiert néanmoins des moyens de calcul particulièrement puissant (CRAY par exemple) et elle est coûteuse en temps et en argent. Elle se généralise cependant pour les études de peptides et de petites protéines [55].



I.2.3.3. Docking Moléculaire ou l'Amarrage moléculaire (AM)

Le docking moléculaire est une méthode qui calcule l'orientation préférée et l'interaction d'une molécule (ligand) vers une seconde (récepteur) lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable.

L'AM vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme Docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand ».

L'opération d'arrimage du ligand dans le site actif de la protéine est appelée docking moléculaire. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes :

- Le docking proprement dit et le scoring (**figure I.3**).

- La première étape (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- La deuxième étape (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées.

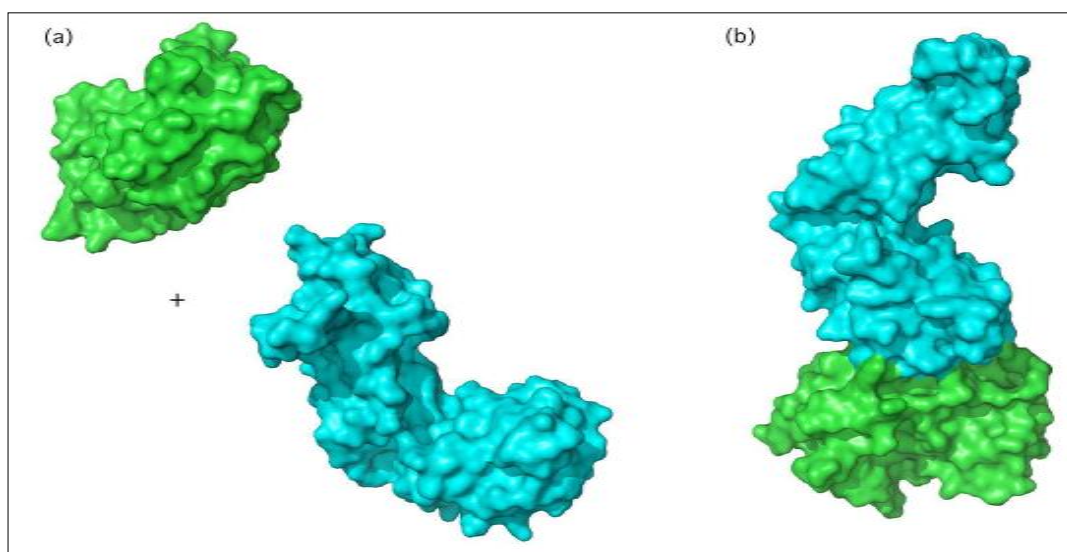


Figure I.3. Représentation schématique du docking de deux molécules. (a) Molécules de départ. (b) Complexe moléculaire.

En principe, un docking peut être fait de façon « manuelle » directement par le modélisateur, en plaçant le ligand dans le site actif de la protéine à l'aide d'une interface graphique. Ensuite, la géométrie de l'ensemble est optimisée de manière à corriger les problèmes stériques et obtenir un complexe énergétiquement stable. Cette approche est appliquée quand on a une idée précise du mode d'interaction réel du ligand [56].

a. Protocole Générale de Docking

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives.

- ✓ Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.),
- Exploration conformationnelle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou flexible position/orientation/forme du ligand).
- ✓ Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de score) des conformations issues de l'exploration,
 - ✓ Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque le score ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.
 - ✓ Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire.
 - ✓ Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison.

Le docking reste une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et par suite la conception de médicaments. Les approches dans le cadre du docking sont basées sur le concept "clé-serrure". L'étape de docking présenté dans la (Figure I.4).

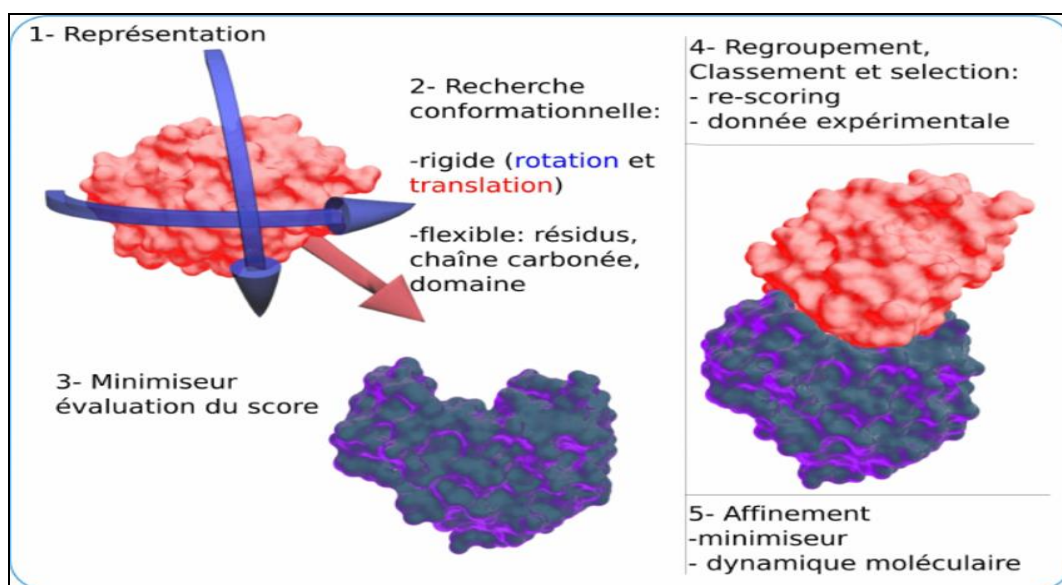





Figure I.4. Étapes de docking

L'état des lieux que nous allons redresser là est basé sur les méthodes de prise en compte de la flexibilité dans les algorithmes de docking. C'est un mal, car contrairement au docking rigide qui ne fait intervenir que 6 degrés de libertés de rotation et de translation, l'introduction de la flexibilité augmente nettement le nombre de degrés de liberté, l'espace de recherche et donc le coût de calcul.

On peut distinguer trois niveaux de docking :

Tableau I.3. Nature de docking

Docking	Nature de docking
<i>docking rigide</i> : est bien sûr le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine.	 <p>Rigid</p>
<i>docking semi-flexible</i> : est "asymétrique" généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible, la protéine gardée rigide.	 <p>Semi-rigid</p>
<i>docking flexible</i> : enfin, traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité permise est limitée, simplifiée par des modèles [57].	 <p>Flexible</p>

b. Programmes de docking moléculaire

En général le choix d'un programme donne pour un criblage virtuel par docking, on besoin de connaître en combien de temps, avec quelle précision [58,59].

Parmi ces programmes d'amarrage moléculaire on peut trouver : comme GOLD [60], FlexX [61], DOCK [62], AutoDock [63], MOE [64] ou bien UCSF Chimera [65] et Molegro Virtuel Docker (MVD)[66,67].

L'application des programmes d'amarrage permet de conduire à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [68, 69].

I.3. Définition d'ADME

Pour être efficace en tant que médicament, une molécule puissante doit atteindre sa cible dans le corps en concentration suffisante, et y rester sous une forme bioactive suffisamment longtemps pour que les événements biologiques attendus se produisent. Le développement de médicaments implique l'évaluation de l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion (ADME) de plus en plus tôt dans le processus de découverte.

Une grande variété de méthodes *in silico* partagent l'objectif de prédire les paramètres ADME à partir de la structure moléculaire [70]. À noter, le travail pionnier de Lipinski et al. a examiné des composés actifs par voie orale pour définir des intervalles physicochimiques pour une probabilité élevée d'être un médicament oral. (C'est-à-dire la ressemblance médicamenteuse) [71]. C'est ce que l'on appelle *la Rule-of-five* qui définit la relation entre les paramètres pharmacocinétiques et physicochimiques.

En outre, la pharmacocinétique (comme l'absorption, gastro-intestinale) et la pharmacorésistance prédictive telles que les règles de Lipinski, et le score de biodisponibilité [72,73]. La règle de Lipinski est une règle appliquée pour évaluer la *druglikeness* pour prédire si un composé est susceptible d'être bioactif selon certains paramètres importants tels que le poids moléculaire, LogP, le nombre de HBA et HBD. L'outil suisse ADMET a utilisé le vecteur d'algorithmes de machine (SVM) [74] avec de grands ensembles de données soigneusement nettoyés d'inhibiteurs / non-inhibiteurs connus ainsi que substrats / non-substrats. ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) de dépistage aide à détecter la probabilité de drogue de composés. Le format SMILES des ligands a été chargé dans le serveur SwissADME [75], et ADME le criblage a été effectué aux paramètres par défaut.

I.3.1. La pharmacocinétique : est traditionnellement définie comme l'étude du sort des médicaments dans l'organisme [76], depuis leur absorption jusqu'à leur élimination.

Cette discipline permet ainsi de relier les doses de médicaments administrées aux concentrations sanguines observées, et de décrire leur évolution en fonction du temps.

Parmi les notions fréquemment utilisées en pharmacocinétique, citons :

- La biodisponibilité : désigne la fraction de la dose de médicament administrée qui atteint la circulation systémique, et la vitesse à laquelle elle l'atteint. Elle reflète principalement la phase d'absorption.

I.3.1.1. Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME)

Il est possible de décomposer le circuit du médicament dans l'organisme en quatre phases :

- une phase de résorption, ou d'absorption, qui correspond au passage du médicament de son site d'administration vers la circulation systémique.
- une phase de distribution, correspondant à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme.
- une phase de métabolisme, décrivant la transformation du médicament par l'organisme.
- une phase d'élimination, s'intéressant aux processus d'élimination du médicament par l'organisme.

L'ensemble de ces quatre phases est fréquemment décrit par le sigle ADME. Certains auteurs élargissent ce concept en incluant une phase de libération du principe actif depuis la forme galénique administrée, et une phase de réponse au principe actif, décrivant l'enchaînement suivant :

Libération- Absorption – Distribution – Métabolisme – Elimination – Réponse On utilise alors le sigle LADMER pour désigner l'ensemble de ces phases [77].

a) Absorption

Dans la majorité des situations rencontrées en clinique, le site d'administration du médicament est distinct de son site d'action : administration par voie orale d'un médicament dont le site d'action pourra être le cœur, les vaisseaux, les reins par exemple. Le site de l'administration, le tube digestif dans la situation présentée ici, n'est qu'un lieu de transit, le médicament étant ensuite véhiculé dans l'organisme par la circulation sanguine. L'absorption

correspond donc au passage du médicament de son site d'administration à la circulation sanguine générale, au travers de membranes biologiques.

Avant toute absorption, il est souvent nécessaire que le principe actif soit libéré de la forme galénique : dissolution du comprimé, ou de la paroi de la gélule. Plusieurs phénomènes interviennent ensuite dans l'absorption des médicaments : d'une manière schématique, on peut distinguer des phénomènes d'absorption actifs et des phénomènes d'absorption passifs.

b) Distribution

La distribution, qui correspond à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme, est également influencée par le caractère plus ou moins lipophile du principe actif, ainsi que par son affinité pour différents tissus : os, tissu adipeux, ...

Le médicament peut se fixer de manière réversible aux protéines plasmatiques : cette fixation se fait principalement sur l'albumine et l'alpha 1 glycoprotéine acide, l'albumine fixant préférentiellement les médicaments acides, alors que l'alpha 1 glycoprotéine acide fixe davantage les médicaments basiques. On distingue alors la fraction de médicament liée aux protéines et la fraction libre. Le plus souvent, seule la fraction libre peut agir sur son site d'action, diffuser dans les tissus, ou subir les processus de métabolisme ou d'élimination, si bien que l'on peut considérer que la fraction du médicament qui est liée aux protéines plasmatiques constitue une forme de stockage du médicament.

c) Métabolisme

Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par l'organisme. Cette transformation est essentiellement réalisée par des réactions impliquant des enzymes. Pour les médicaments, il est usuel de séparer en deux groupes les réactions impliquées dans le métabolisme : les réactions de phase 1 et les réactions de phase 2. Les réactions de phases 1 précèdent habituellement celles de phase 2 dans la chronologie du métabolisme d'un médicament

d) Elimination

L'élimination d'un médicament de l'organisme peut se faire par différentes voies : urinaire, respiratoire (dans l'air expiré), cutanée (par la sueur), salivaire, ou dans le lait maternel. Les voies principales sont l'élimination par les reins dans les urines, et l'élimination

par le foie. Pour un certain nombre de voie d'élimination, un phénomène de réabsorption du médicament peut être rencontré, qui contribue à diminuer ou ralentir l'élimination du médicament. Les mécanismes décrits pour l'absorption sont également retrouvés pour l'élimination (diffusion passive, transport actif, ...).

I.4.Références

- [1] C. Larive., thèse de doctorat., Ecole nationale des ponts et chaussées., **1997**.
- [2] T. Salah., O. Afoufou., T. ziani., S. bouchekioua., Evaluation spectroscopique de l'hydrosolubilité de métronidazole, antibiotique, en présence de différents agents hydrotropiques., Université Med. Khider Biskra., **2011**.
- [3] T. Clark., 'Handbook of Computational Chemistry'., Edition, Wiley., London, **1985**.
- [4] J.P.Treuil ; A. Drogoul et J-D. Zucker : « Modélisation et simulation a base d'agents : exemples commentaires, outils informatiques et questions théoriques », ED : Dunod, Paris **2008**.
- [5] J .Debord, Introduction à la modélisation moléculaire, 37-41. **2004**.
- [6] P.S. Landis, Chemical Reviews. , 65, 237 ,**1965**.
- [7] J. Débord ., Introduction A La Modélisation Moléculaire, 37-41, **2004**.
- [8] B. Donald K. ,Boyd . Lipkowitz, Molecular Mechanics.The Method And Its Inderlying Philosophy .J . Chem .Educ. ,59,269 .**1982**.
- [9] S. Weinbreg et J.P. Mourlon : « Le rêve d'une théorie ultime », Ed Odile Jacob, **1997**.
- [10] U. Bukert, N.L.Allinger, « Molecular Mechanics», American Chemical Society monograph, Washington, DC. Washington, DC., 177. **1982**.
- [11] A. Nassour., Thèse de doctorat, université Paul Verlaine-Metz, 24-25. **2008**.
- [12] D.Young. « Computational Chemistry: A parctical guide for applying techniques to real world problems », Chapitre 10., editionsWiley Inter-Science., .78-91, **2001**.
- [13] J. Hladik., M. .Chrysos., P.-E. Hladik.L.U. Ancarani, Mécanique quantique, Masson, **1997**.
- [14] C.Corminboeuf, F.Tran, J.Weber, Journal of Molecular Structure: Theochem.762, **2006**.
- [15] Chris-Kriton.Skylaris, thèse de doctorat, The Computing Modelling of Heavy Atom Chemistry, université de Cambridge, **1999**.
- [16] F.A.Giannini., M.L. Aimar., M. Sortino., R. Gomez., A. Sturniollo., A. Juarez., S. Zacchino., R.H. de Rossi., R.D. Enriz., Il Farmaco., 58, 245. **2004**.
- [17] R. G. Parr, W. Yang, Density-Functional Theory of Atoms and Molecules, Oxford University Press, Oxford, **1989**.
- [18] L.H. Thomas, Proc. Cam. Phil. Soc., 26, 376. **1930**.
- [19] E. Fermi, Z. Phys., 48, 73, **1928**.

- [20] F. D. Murnaghan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 30: 5390, **1944**.
- [21] E. Schrödinger, "The Energy-impulse Hypothesis of Material Waves ", Ann. Phys. (Leipzi) 82: 265, **1927**.
- [22] R. M. Dreizler, E. K. U. Gross, Density Functional Theory : An Approach to the Quantum Many-Body Problem, Springer-Verlag, Berlin, **1990**.
- [23] S.S. Ansher, P. Dolan, E. Bueding, Hepatology, 3, 932. ,**1983**.
- [24] D.H. Andrews., The relation between the Raman spectra and the structure of organic molecules. Phys. Rev. 36, 544-554, **1930**.
- [25] U. Burkert., N.L. Allinger., Molecular mechanics. Am. Chem. Soc. monograph, Washington, DC., 11., **1982**.
- [26] G.M. Keserü., I. Kolossváry., Molecular mechanics and conformational analysis in drugdesign. Blackwell Publishing.,, *J. Med. Chem.*, 42 (23), 4925–4926 .,**1999**..
- [27] J. S. Lomas : « La mécanique moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire », L'actualité chimique, Mai ,.,**1986**.
- [28] M. Baaden., Outils pour étudier la structure et la dynamique des peptides et des protéines, (Institut de Biologie Physico-chimique, PARIS) CNRS UPR9080, 36. **2003**.
- [29] D. Liotta., Advances in Molecular Modeling., Ed. JAI Press., 1. 101-134., **1988**.
- [30] N.L. Allinger., X. Zhou., J. Bergsma., *J. Mol. Structre. (Theochem)*, 312. 69. **1994**.
- [31] J. S. Lomas, l'actualité chimique, La Mécanique Moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire, 7. **1986**.
- [32] K. B. Lipkowitz, Abuses of molecular mechanics: Pitfalls to avoid. *J. Chem.*, 72, 1070-1075. **1995**.
- [33] MSI. Biosym., Discover., user guide., ed. Biosym/MSI., S. Diego. **1995**.
- [34] S.J. Weiner, P.A. Kollman, D.T. Nguyen, D. A. Case, An all-atom force field for simulations of proteins and nucleic acids. *J. Comp. Chem.*, 7, 230. **1986**.
- [35] U. Dinur., A. Hagler., Reviews in computational Chemistry., (K. B. Lipkowitz, D.B. Boyd, Eds). VCH, Weinheim. 2, 99. **1991**.
- [36] N.L. Allinger, K. Chen, J.A. Katzenellenbogen, S.R. Willson, G.M. Anstead, *J. Como. Chem.*, 17, 747. **1996**.
- [37] N.L. Allinger, Adv. , Phys .Org. Chem, 13, 1. **1976**.
- [38] N.L. Allinger, *J. Am., Chem. Sos*, 99, 8127. **1977**.
- [39] N.L. Allinger, Y.H. Yuh, J-H. Li, *J. Am .Chem. Soc*, 111, 8522. **1989**.
- [40] N.L. Allinger, K. Chen., J-H. Lii., *J. Comp. Chem.*, 17., 642. **1996**.

- [41] W.L. Jorgensen., J.T. Rives., *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 1657. **1988**.
- [42] W. F. Van Gusten, M. Karplus, *Macromolecules.*, 15, 1528. **1982**.
- [43] B.R. Brooks., R. E. bruccoleri., B.D. Olafson., D.J. States., S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comp.Chem.* 4,187. **1983**.
- [44] J.C. Smith., M. Karplus., *J. Am Chem. Soc.*, 114, 805. **1992**.
- [45] T. Shimanouchi, *PureAppl. Chem.*, 7, 131. [30] F. Tristram, V. Durier, G. Vergoton, *Journal of Molecular Structure*, 378, 249-259. **1996**.
- [46] A. Bouraoui, M. Fathallah, B.Blaive, R. Gallo, *J.Chem.Soc. Perkin Trans.*, 2, 1211-1214. **1990**.
- [47] A. Bouraoui., M. Fathallah, F. M’Henni, B. Blaive., J.L. Rivail., R. Gallo., *Studies in Physical and Theoretical chemistry (Modeling of Molecular Structures and Properties. Proceeding of an International Meeting Nancy, France)*. 71, 381. **1989**.
- [48] A. Zinelabidine, A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M’Henni, B. Blaive, R. Gallo, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 286, 267. **1993**.
- [49] B. Blaive, G. Legsäi, R. Lai, *J. Mol. Struct*, 354, 245. **1995**.
- [50] S.J.Weiner, P.A.Kollman, T.Nguyent, D.A.Case, *J, Comput. Hem.* 230. P.7. **1986-1963**.
- [51] D. A. Case, D. A. Pearlman, J. W. Caldwell, T. E. Cheatham III, J. Wang, W. S. Ross, C. L. Simmerling, T. A. Darden, K. M. Mer, R. V. Stanton, A. L. Cheng, J. J. Vincent, M. Crowley, V. Tsui, H. Gohlke, R. J. Radmer, Y. Duan, J. Pitera, I. Massova, G. L. Seibel, U. C. Singh, P. K. Weimer et P. A. Kollman, **AMBER7**, **2002**.
- [52] H. Dugas., *Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques*, quatrième édition, Librairie de l’Université de Montréal, **1996**.
- [53] J. Tirado-Rives & W.L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc*, 112, 2773. **1990**.
- [54] W.P. Jorgensen, J. Chandrasekhar, and J.P. Madura. *J. Chem. Phys.*, 79, 926-935, **1983**.
- [55] J.A. Mc Cammon & S.C. Harvey, “Dynamics of Proteins and Nucleic Acids”, Cambridge, Univ. Press, **1987**.
- [56] A. Jain. .,Scoring Functions For Protein-Ligand Docking. *Current Protein And Peptide Science*, 7, 407-420. **2006**.
- [57] N. .Brooijmans., I.D .Kuntz., *Molecular recognition and dockingalgorithms. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 32, 335-373, **2003**.

- [58] W.P. Walters, M.T. Stahl, and M.A. Murcko, Virtual screening - an overview. *Drug Discovery Today*, 3(4), 160-178. **1998**.
- [59] A. Beautrait., et al. Multiple-spiritual screening Using VSM-G: overview and validation of fast geometrical matching enrichment. *Journal of Molecular Modeling*, 14(2): 135-148, **2008**.
- [60] G. Jones, P. Willett, R.C. Glen, *J. Mol Biol.*, 245, 43-53, **1995**.
- [61] M. Rarey., S. Wefing, T. Lengauer., *J. Comput Aided Mol Des.*, 10(1), 41-54. **1996**.
- [62] I.D. Kuntz, J.M. Blaney, S.J. Oatley., R. Langridge., T.E. Ferrin, *J. Mol Biol.*, 161 269-288. **1982**.
- [63] D.S. Goodsell., A.J. Olson, *Proteins.*, 8, 195-202. **1990**.
- [64] S. Vilar., G. Cozza., S. Moro., Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery, *Curr. Top. Med. Chem*, 8, 1555–1572. **2008**.
- [65] E.F. Pettersen, T.D. Goddard, C.C. Huang, G.S. Couch, D.M. Greenblatt, E.C. Meng, et al. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*; 25(13), 1605–12. **2004**.
- [66] MolegroVirtual Docker v. 5.1. MolegroApS. Aarhus, Denmark, **2012**.
- [67] F. F. da. Elaine, F. B. Edilaine, A. O. Aline, C. R. Teodorico, *J. Biom. StructDyn*, 27, 619–625. **2010**.
- [68] Redocking experiments of LXR β reference ligands present in the X-ray structures back up this hypothesis. Using GOLD, the 1PQ6 ligand redocked in the 1PQ6 binding pocket conformation yields a significantly higher score than the 1PQ9 ligand redocked in the 1PQ9 conformation. However, according to experimental data, the 1PQ9 ligand is indeed clearly more potent on LXR β than the 1PQ6 one, further indicating that the protein-ligand interaction could not be the dominant term in the free energy of binding.
- [69] C. Spearman., The proof and measurement of association between two things. *Am. J. Psychol*, 15 (1), 72-101. **1904**.
- [70] S. Tian., et al. Application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research., *Adv Drug Deliv Rev* 86, 2–10, **2015**.
- [71] C. A. Lipinski., F. Lombardo., B. W. Dominy. & P. J. Feeney., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 46, 3–26, **2001**.

- [72] C .Lipinski.,F., Lombardo ., B .Dominy., P .Feeney Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev* 46: 3-26. **2001**.
- [73] A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, JJ. A .Wendoloski., knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *J Comb Chem* 1: 55-68. **1999**.
- [74] D.F .Veber, S.R .Johnson, H.Y .Cheng, B.R. Smith, K.W .Ward, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med Chem* 45: 2615-2623. **2002**
- [75] C. Cortes., Vapnik V Support vector machine. ,*Mach Learn* 20: 273-297,**1995**.
- [76] H. Fatoki.,D. Sanni., O .Adeoyo., B. Faleye. *J Nat Prod Plant Resour.*, 6(6), 21-25. **2016**.
- [77] WA .Ritschel. *Handbook of Basic Pharmacokinetics*. 3 ed: Drug Intelligence Publications, Inc.; **1986**.

Partie (A)

Protéines, Enzyme et Acide aminé

II.1. Introduction

En chimie médicinale moderne, la découverte des petites molécules organiques susceptibles d'être optimisées en structure tridimensionnelle (mais dont la possibilité de la présence des effets indésirable et la toxicité) et par qui conduit à un futur médicament capable de moduler efficacement l'activité biologique d'une cible thérapeutique, reste un défi majeur responsables d'une maladie. En général, ces cibles sont un constituant d'une entité biologique associée à la maladie, tels un virus, une bactérie ou un parasite. Grâce à leur petite taille, ces fragments sont plus susceptibles de se lier de manière efficace dans le site actif d'une cible (enzyme, récepteur) et représentent donc une opportunité unique pour le développement [1]. De plusieurs traitements utilisée aujourd'hui se constitue principalement de peptide naturels et de protéines, il ya vingt acides amines naturelles, chacun possède une structure et propriété chimique différent. Les protéines sont des molécules organiques complexes représentant un composant important des organismes vivants. Elles agissent une sous-classe comme des enzymes qui catalysent (accélérer) les réactions chimiques de synthèse et de dégradation nécessaires au métabolisme de la cellule dans différentes réactions chimiques au sein de notre corps. Autre protéine :

Assurent un rôle structurel au sein du cytosquelette ou des tissus (actine, collagène), certaines sont des moteurs moléculaires qui permettent la mobilité (myosine).

Impliquées dans le conditionnement de l'ADN (histones), la régulation de l'expression génétique (facteurs de transcription) ou encore la transmission de signaux cellulaires (récepteurs membranaires).

Elles sont importantes dans le développement de défense immunitaire et sont souvent l'élément clé dans beaucoup de maladies. C'est pour ça leur étude très puissante .Dans la compréhension du fonctionnement du corps humain et dans la lutte contre les maladies mortelles. À cause de la très grande complexité des protéines, (la taille moyenne d'une protéine est de plusieurs milliers d'atomes), un traitement informatique est nécessaire pour analyser leur structure [2].

perturbation des liaisons, lors d'une quelconque excitation, en l'occurrence l'approche d'un ligand. Les énergies d'interaction sont modélisées, selon la précision recherchée.

Il est nécessaire de comprendre la structure des protéines pour envisager leur simulation. Ainsi, dans une première partie sont exposées brièvement leurs principales propriétés structurales. Cette description met en lumière les différentes propriétés des protéines et la complexité de modéliser de façon précise leur comportement. Les protéines sont donc souvent les cibles choisies dans l'élaboration d'un médicament. Il faut identifier de façon spécifique leur structure tridimensionnelle, qui exprime la maladie. Une fois la protéine identifiée et sa structure tridimensionnelle déterminée, par exemple par cristallographie, il s'agit de bloquer son action.

Trois méthodes expérimentales permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines : la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X.

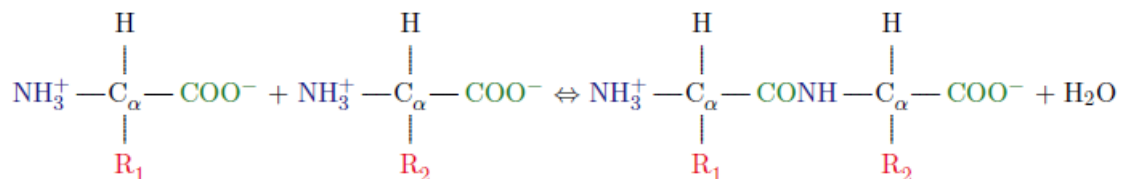
II.2.1. Définition des protéines

Chimiquement, les protéines sont des polymères non branchés d'acides aminés liés par la composition de liaisons peptidiques covalentes, entre le groupe α -carboxylique d'un acide aminé et groupe α -amine de l'acide aminé suivant [5].

En général toutes les protéines contiennent les quatre éléments : C, H, O et N; beaucoup contiennent du soufre, certaines renferment du phosphore. La teneur en azote des protéines est environs de 16% (en masse), de sorte qu'après avoir isolé des protéines on peut en estimer la quantité approximative par un simple dosage d'azote [6].

II.2.2. La liaison peptidique

Pour construire une protéine, il est nécessaire de se munir d'un mécanisme permettant de lier les acides aminés entre eux : la liaison peptidique, son principe consiste à lier le groupe α -carboxyle d'un acide aminé à la fonction α -amide d'un autre acide aminé par une liaison amide. L'équation suivante résume cette réaction [7, 8].



II.2.3. Structure des protéines

Les molécules constituant les êtres vivants peuvent être classées en quatre grandes familles : les lipides, les carbohydrates, les acides nucléiques et les protéines. Elle est définie par la composition et l'enchaînement des aminoacides.

II.2.3.1. Structure primaire

La structure primaire correspond à la séquence proprement dite de la protéine, c'est-à-dire l'enchaînement des acides aminés par la liaison peptidiques [9]. On ne dénombre pas Moins de 20 acides aminés qui ne diffère les uns des autres que par leur chaîne latérale (Groupement R) portée par le C_α . On parle de peptide lorsque le nombre de Résidus formant la molécule est inférieur à 50 et de protéine au-delà de 50 résidus.

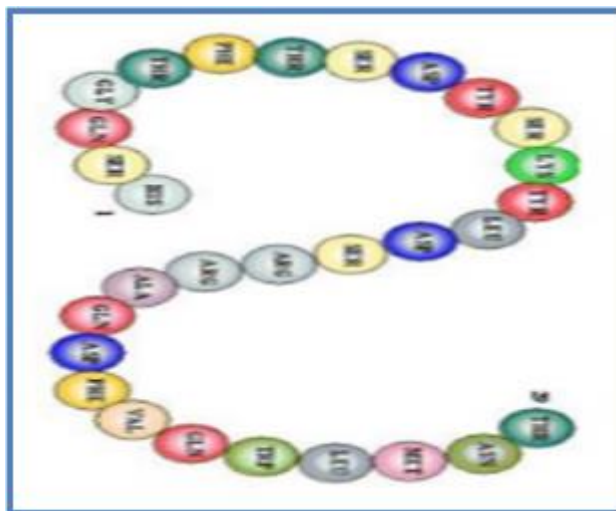


Figure II. 2. Structure primaire

II.2.3.2. Structure secondaire

La structure secondaire d'une protéine correspond aux repliements qu'adoptent-les portions partielles de la séquence protéique, caractérisées par les angles dièdres ω , ϕ , ψ de leurs résidus (Figure II-2) et par la présence de certaines liaisons hydrogène [11].

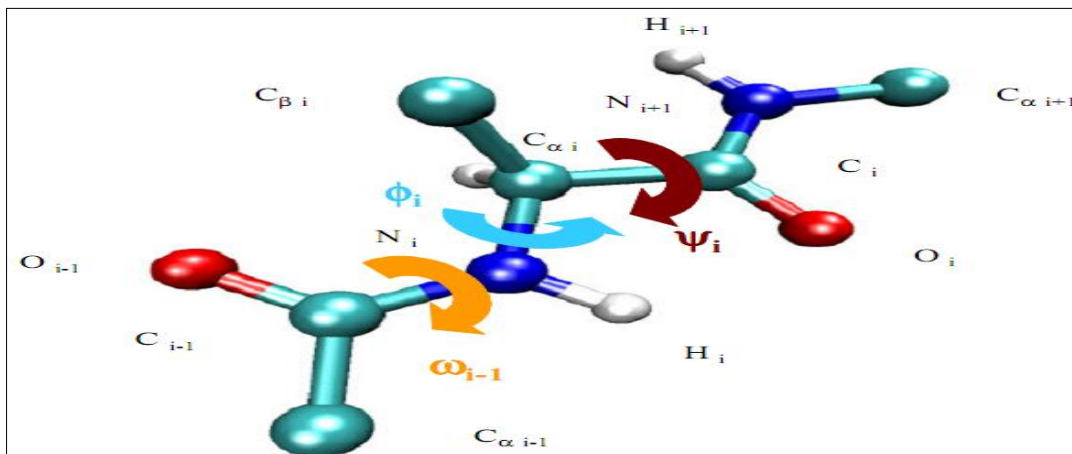


Figure II.3 .Définition des angles dièdre ω , Φ et ψ .

La structure secondaire la plus courante est celle de l'hélice alpha(α). Dans l'hélice alpha, la chaîne primaire s'enroule sur elle même puis est stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO, à tous les quatre acides aminés environ (**Figure II.4**).

Le feuillet plissé bêta (β) est une autre structure secondaire, où les chaînes polypeptidiques primaires ne s'enroulent pas mais se lient côte à côte au moyen de liaisons hydrogène et forment une sorte d'échelle pliante (**Figure II.4**).

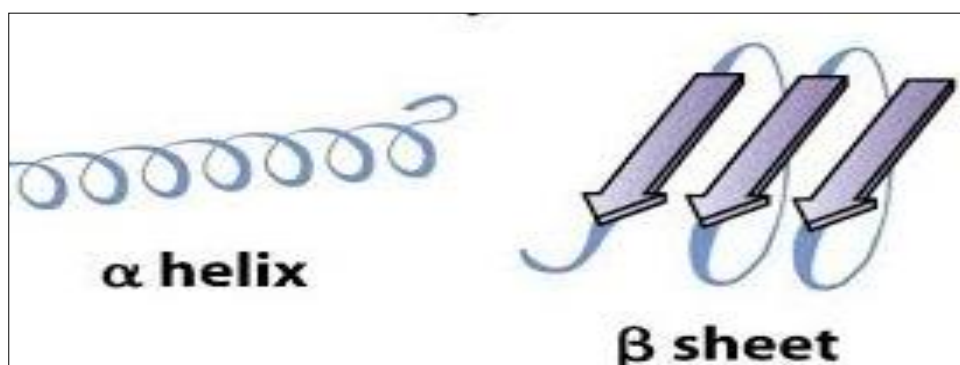


Figure II.4. Structure secondaire

II.2.3.3. Structure tertiaire

La structure tertiaire des protéines correspond au repliement et à l'assemblage des différents éléments de structures secondaire. Cette structure correspond en fait à la structure tridimensionnelle (structure3D) de la protéine (Figure II.5). Ce sont des interactions non liantes de types électrostatiques et de Van Der Waals, ainsi que les ponts salins, les liaisons hydrogènes et les ponts disulfures qui permettent de stabiliser ce type de structure [12].

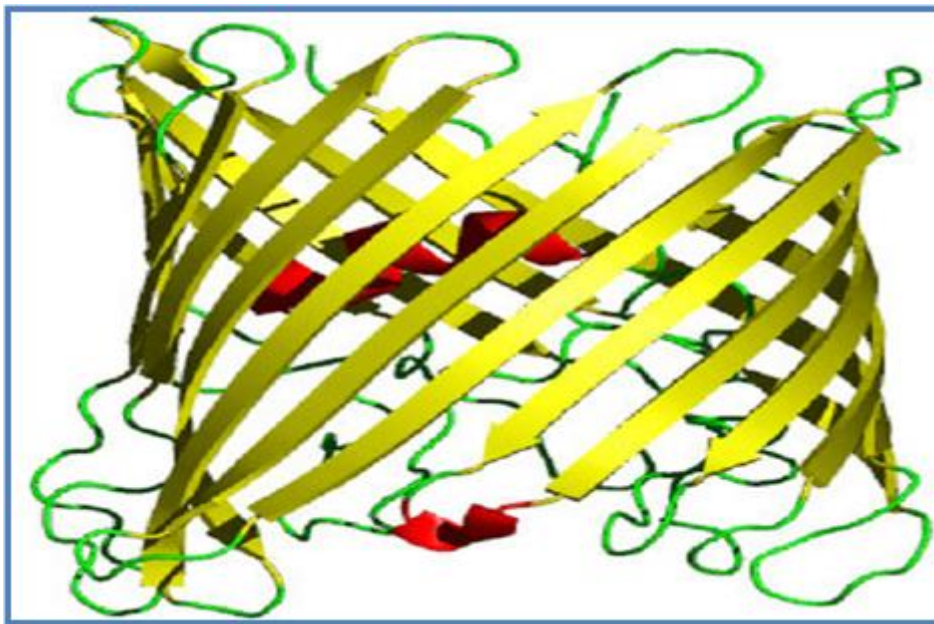


Figure II.5 .Structure tertiaire de la porine (code PDB 1E54)

II.2.3.4. Structure quaternaire

La structure quaternaire résulte de plusieurs séquences protéiques sous forme d'un ensemble de sous-unités (monomères), associées entre elles par des liaisons non covalentes, les liaisons hydrophobes étant prépondérantes [13]. Ces sous unités peuvent être identiques comme c'est le cas de l'hémoglobine (**Figure II.6**) ou bien radicalement différentes.

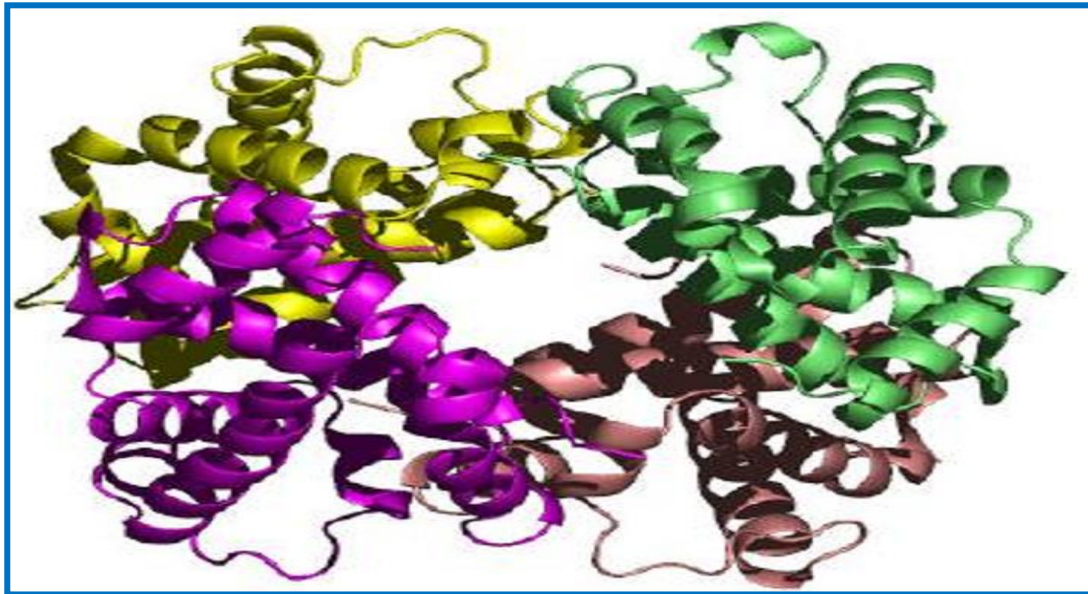


Figure II.6. Structure quaternaire de l'hémoglobine humaine (code PDB : 1a3N)
Constituée de 4 sous-unités identiques représentées en différente couleurs.

II.2.4. Les fonctions des protéines

Les protéines ont des fonctions très diverses mises en œuvre dans la cellule.

1-Elles constituent les enzymes, qui catalysent les réactions chimiques du vivant.

2-Elles sont impliquées dans le transport des molécules et des ions dans tout l'organisme et à travers les membranes cellulaires.

3-Les immunoglobulines sont des protéines importantes dans la défense de l'organisme contre les infections.

4-Protéines régulatrices ; exemple de certaines hormones telles que l'insuline, hormone du pancréas, avec une séquence de 51 AA, qui régule le taux de sucre dans le sang.

5-Protéines de structure ; Elles constituent la charpente des tissus vivants (peau, cheveux, muscles).

Les protéines sont indispensables au métabolisme actif de l'organisme et ont un rôle aussi bien intracellulaire qu'extracellulaire. Il n'existe pas dans l'organisme de stock d'acides aminés « de réserve ». Néanmoins, essentiellement par une augmentation du catabolisme protéique qui se fait au détriment de la masse maigre, c'est-à-dire principalement du muscle [14].

II.3. Les enzymes

Les enzymes sont des protéines présentes dans tous les organismes vivants [15], elles sont des protéines dotées de propriétés catalytiques leur permettant d'intervenir en faveur de certaines réactions biochimiques pour lesquelles elles sont spécifiques. La spécificité de l'enzyme est due à la présence d'une région tridimensionnelle appelée « site actif » qui reconnaît et fixe le substrat.

II.3.1. Classification des enzymes

Selon la commission des enzymes de l'I.U.B (*International Union of Biochemistry*), les enzymes se répartissent en six classes (Tableau II.1) [24].

Tableau II.1. Représente les classifications des enzymes.

<u>E.C.(Classe)</u>	<u>Classification</u>	<u>Type de réaction catalysée</u>
E.C.1	Oxydoréductases	Oxydoréduction
E.C.2	Transférases	Transfert de groupements fonctionnels
E.C.3	Hydrolases	Hydrolyse
E.C.4	Lyases	Élimination de groupement et formation de doubles liaisons
E.C.5	Isomérasés	Isomérisation
E.C.6	Ligases	Formation de liaisons couplées à l'hydrolyse de l'ATP

II.3.2. Nomenclature

Chaque enzyme est assignée un code à quatre chiffres par la Commission des Enzymes (EC) de l'union International de Biochimie et de Biochimie Moléculaire :

Nom de l'enzyme (EC W.X.Y.Z)

EC : système numérique de la Commission des Enzymes

W : Indique la réaction catalysée (1-6)

X : Indique le substrat général (ou groupe de substrats) impliqué

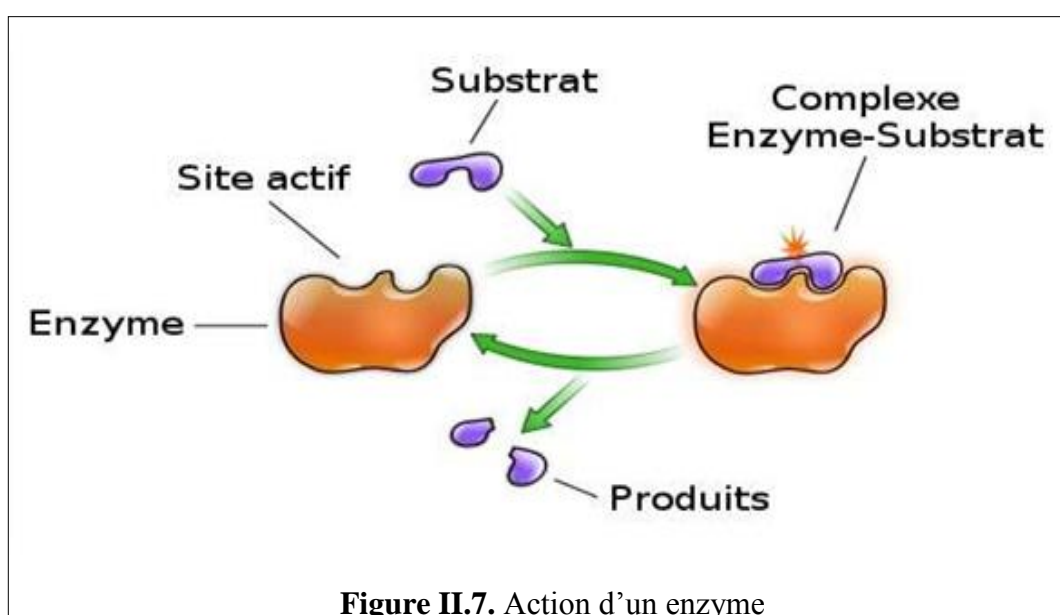
Y : Indique le substrat spécifique ou la coenzyme

Z : Le numéro de série de l'enzyme [18].

II.3.3. Notions de spécificité

La spécificité est l'une des caractéristiques principales de l'action enzymatique. Elle permet d'éviter la formation de sous-produits qui a lieu avec les catalyseurs chimique. La spécificité se manifeste, d'une part vis-à-vis de réaction catalysée par l'enzyme, d'autre part vis-à-vis du substrat de la réaction.

La spécificité de l'enzyme est due à la présence d'une région tridimensionnelle appelée « site actif » qui reconnaît et fixe le substrat (Figure II.7). Les enzymes possèdent ainsi la capacité de cibler les réactions voire même d'en empêcher d'autres indésirables.



II.3.4. Le Site Actif

L'activité des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité ou d'un sillon. Le site actif d'une enzyme est la région privilégiée de l'enzyme qui interagit avec le substrat. Les acides aminés du site actif peuvent être divisés en deux groupes :

- Ceux qui interviennent à la reconnaissance spatiale du substrat, en formant avec lui des liaisons non-covalentes (site de fixation).
- Ceux qui participent à la transformation chimique du substrat en produit (site catalytique).

Les sites actifs sont des cavités de caractère non polaire et dans lesquelles les substrats s'insèrent. L'eau est normalement exclut du site actif lorsque le substrat est lié, sauf si elle est un réactif.

Le site actif est subdivisé en deux parties : le site de liaison (qui reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique à l'enzyme) et le site catalytique (qui est responsable de la fixation de l'enzyme sur le substrat).

II.3.5. Cofacteurs

Le bon fonctionnement des enzymes nécessite la présence d'une molécule, appelée cofacteur. Le cofacteur est un corps chimique intervenant obligatoirement dans une réaction enzymatique pour transporter ou compléter un substrat, accepter un produit et comme participant à la structure de l'enzyme.

Les cofacteurs sont des petites molécules chimiques non-protéiques, nécessaires au bon fonctionnement de certaines protéines qui sont généralement des enzymes. Ces molécules participant aux transformations biochimiques catalysées par la protéine. Elles peuvent s'y lier temporairement ou de façon plus durable en fonction de leur action. Les enzymes inactives sans cofacteur sont appelées apoenzymes et lorsque le cofacteur y est fixé et que l'enzyme est fonctionnelle, elles sont appelées holoenzymes.

II.3.6. Complexe Enzyme-Substrat (E-S)

Une fois que le substrat s'est rapproché de l'E, on constate une restriction des possibilités de rotation et de translation du substrat. Ceci est dû à des interactions faibles entre enzyme et substrat. Ces interactions sont nécessaires à la réaction. En effet, les réactions intramoléculaires sont accélérées lorsque les mouvements internes des molécules sont bloqués. De plus, les enzymes favorisent l'orientation des molécules de substrat: en effet, lorsque le substrat se fixe sur l'enzyme, ceci provoque un changement conformationnel qui amène les groupements fonctionnels du site actif dans une position favorable à la catalyse. Il y a donc création d'interactions faibles entre E et S. Cette adaptation induite permet également la Formation d'interactions faibles supplémentaires qui vont stabiliser l'état de transition [20].

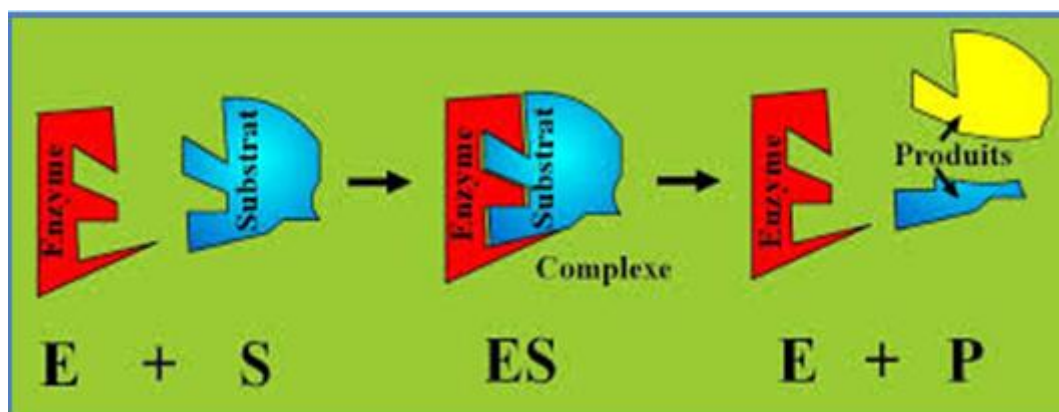


Figure II.8 .Complexe Enzyme-Substrat

II.3.7. Inhibition Enzymatique

Un inhibiteur enzymatique est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. Il peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif en se fixant à sa place et rendre l'enzyme moins active.

L'organisation de l'activité enzymatique peut être assurée par des composés appelés effecteurs (activateurs ou inhibiteurs) qui sont généralement de faible masse moléculaire. Ils agissent directement ou indirectement sur le site actif de l'enzyme. Les effecteurs positifs (activateurs) stabilisent la configuration catalytique active de l'enzyme et accroissent ainsi son activité. Les effecteurs négatifs (inhibiteurs) agissent au contraire en se liant à l'enzyme pour diminuer son activité catalytique [21]. Les inhibiteurs naturels peuvent prendre de multiples formes : antibiotiques, toxines, drogues, poison [22].

II.3.7.1. Les inhibiteurs réversibles

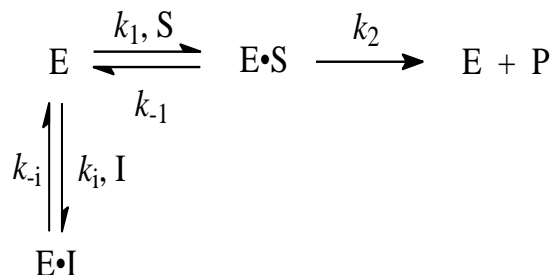
Les inhibiteurs réversibles se répartissent en deux catégories principales, les inhibiteurs compétitifs et les inhibiteurs non compétitifs (on connaît quelques autres catégories, mais moins fréquemment observées) [23].

a) Inhibition compétitive

Un inhibiteur compétitif est capable, par sa proximité de structure, de se lier compétitivement par rapport au substrat au site de liaison de l'enzyme. Cette liaison empêche

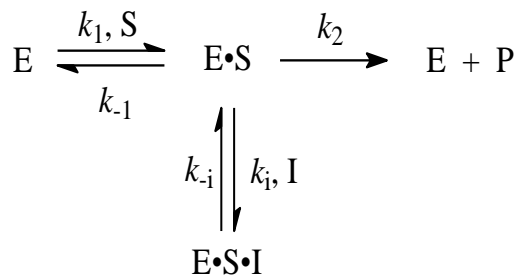
cependant la réaction catalytique du fait de la différence de structure entre le compétiteur et le substrat.

Le modèle générale d'inhibition compétitive est donné par le schéma de réaction suivant :



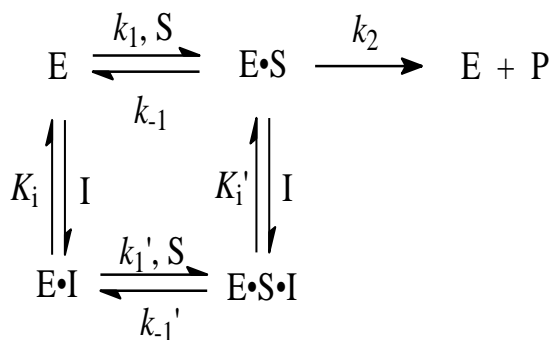
b) Inhibition incompétitive (ou anti compétitive)

Au cours d'une inhibition incompétitive, l'inhibiteur se lie au complexe Enzyme-Substrat mais pas à l'enzyme libre :



c) Inhibition non compétitive ou mixte

Si l'enzyme et le complexe enzyme-substrat lient l'inhibiteur I, on schématise la réaction par : [24].



II.3.7.2. Les inhibiteurs irréversibles : aussi appelés inhibiteurs suicides, ceux-ci forment un complexe stable avec l'enzyme et l'inactive de façon continue. L'inhibiteur est reconnu par l'enzyme comme un substrat et entame son clivage. Durant cette étape, l'inhibiteur se lie de façon stable à l'enzyme par un lien covalent [25].

Nature des interactions substrat-enzyme

Les substrats sont liés aux enzymes par des interactions faibles : constantes d'association de 10^{-2} à 10^{-8} M et ΔG d'interaction entre -3 et -12 kcal/mol (vs. -50 à -110 kcal/mol pour des liens covalents).

La liaison du substrat au site actif implique souvent de nombreuses liaisons non covalentes de types :

- *Van der Waals.*
- *Electrostatiques.*
- *Ponts Hydrogènes.*

Ces 3 types de liaisons non-covalentes diffèrent dans leurs contraintes géométrique, force et spécificité. De plus, elles sont profondément affectées (de manière différente) par la présence d'eau [26].

II.3.8. Différentes types cinétiques d'inhibiteurs d'enzymes

On peut classer les inhibiteurs d'enzymes de plusieurs façons. L'effet d'un inhibiteur sur un enzyme peut être soit réversible soit irréversible. Les inhibiteurs réversibles interagissent avec les enzymes par des réactions d'association/dissociation sans formation de liaison covalente. Au contraire, les effets des inhibiteurs irréversibles se manifestent généralement par la formation des liaisons covalentes stables avec l'enzyme. L'effet de l'inhibiteur correspond à une diminution de la concentration de l'enzyme actif. Nous verrons par la suite que les cinétiques observées sont en accord avec cette interprétation.

II.4. Les acides aminés

Les acides aminés sont des acides carboxyliques qui portent une fonction amine. Les protéines de toutes les espèces sont constituées de seulement vingt acides aminés différents. Ils sont tous constitués d'un atome de carbone (**Figure II.9**) lié à :

. Un groupement carboxylique $-\text{COOH}$.

- . Une fonction amine $-NH_2$.
- . Un atome d'hydrogène.
- . Une partie variable R.

Dans la nature, les acides les plus courants sont les 2-aminoacides, appelés les α -Aminoacides.

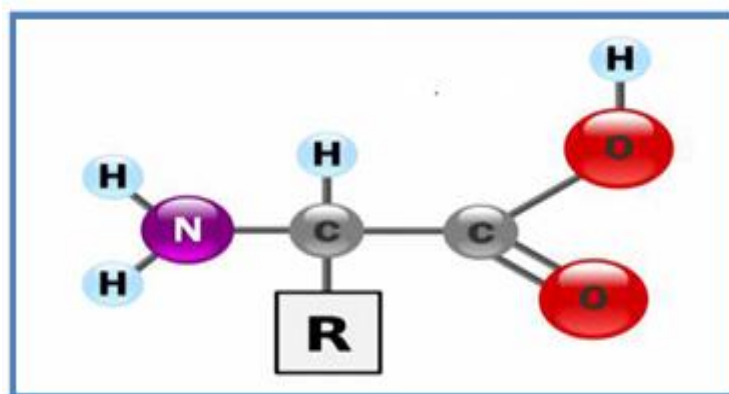


Figure II.9. Structure commune à tous les acides aminés, C : Atome de carbone, O : Atome d'oxygène, H : Atome d'hydrogène, N : Atome d'azote, R : Chaîne latérale. <http://www.science-et-vie.net> [27].

Les 20 acides aminés sont symbolisés soit par un code à trois lettres (en général les trois premiers du nom) commençant par une majuscule, soit par un code à une seule lettre.

Il est important de noter que 8 de ces acides aminés sont indispensables chez l'adulte et 9 chez l'enfant, ce sont [28] :

- | | |
|----------------------|-----------------|
| - Leucine | - Phénylalanine |
| - Isoleucine | - Thréonine |
| - Lysine | - Tryptophane |
| - Méthionine | - Valine |
| - Histidine (enfant) | |
- Les plus communs des acides aminés sont les acides α -aminés
 - Les plus communs des acides α -aminés sont ceux de la série L.
 - Seulement 21 acides α -aminés L sont utilisés pour produire les protéines.

II.4.1. Classification des principaux acides aminés (AA)**II.4.1.1. Acides aminés non polaires**

Les acides aminés non polaires comprennent ceux dont la chaîne latérale R est un alkyle (alanine, valine, leucine, isoleucine) ainsi que la proline (avec une structure cyclique peu commune), la méthionine (l'un des deux acides aminés contenant un atome de soufre) et deux acides aminés aromatiques, la phénylalanine et le tryptophane.

II.4.1.2. Acides aminés polaires, non chargés

Les acides aminés polaires non chargés, à l'exception de la glycine, contiennent une chaîne latérale qui peut former des liaisons hydrogène avec l'eau. Ces acides aminés sont généralement plus solubles dans l'eau que les acides aminés non polaires.

les vingt acides aminés

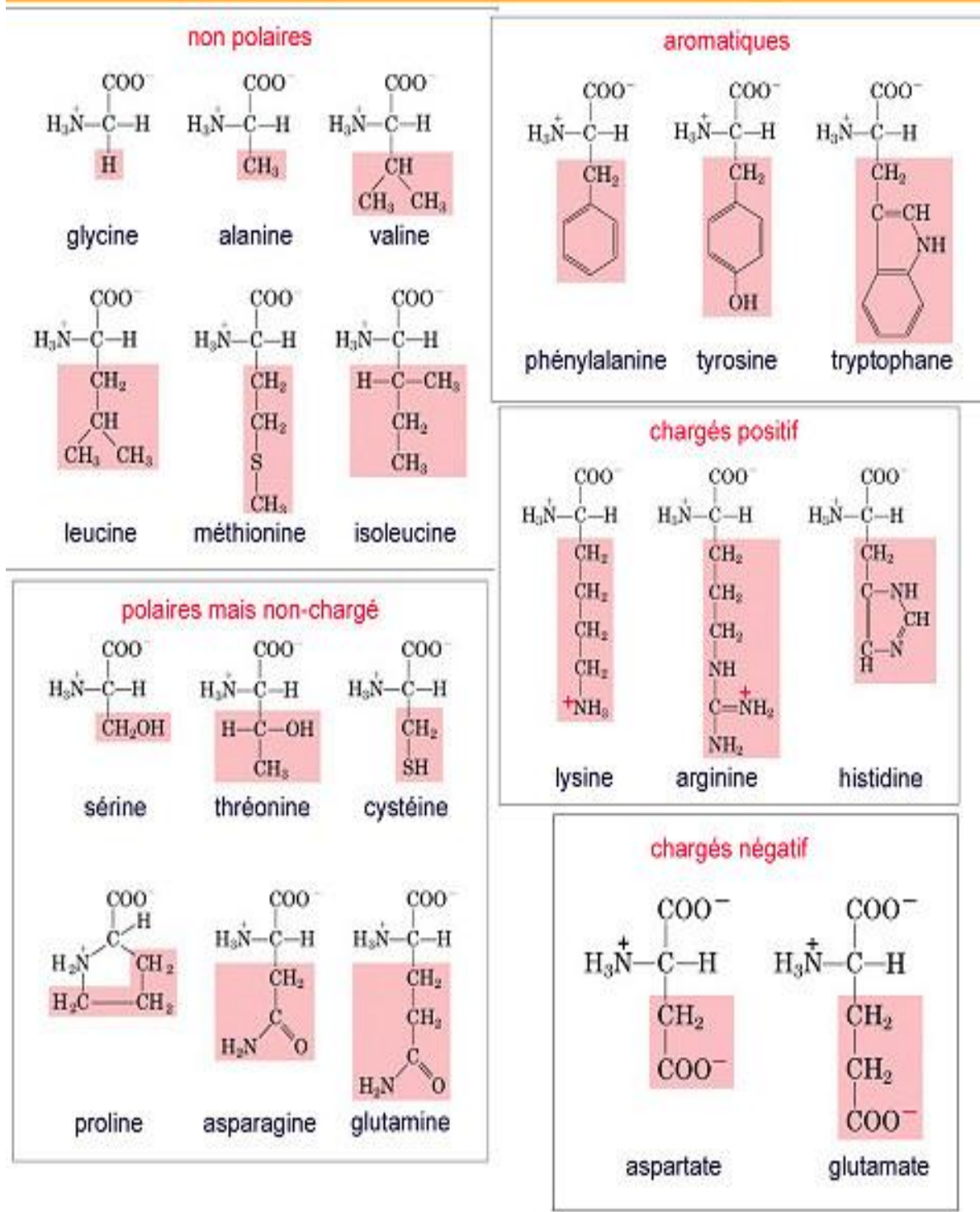


Figure II.10. Classification des vingt AA indispensables

Partie (B)

Maladie de diabète

II.5. Introduction

Le diabète est une pathologie dont les origines sont multiples. Des facteurs environnementaux (habitudes alimentaires par exemple) ou encore des prédispositions génétiques peuvent être les initiateurs de la maladie. L'insulino résistance liée à l'obésité et à la sédentarité est la première étape de la maladie. Pour contrer cette insulino résistance, le pancréas, ET plus particulièrement les cellules β -pancréatiques, sécrète plus d'insuline. Le diabète est ainsi suspecté lorsqu'els taux de glucose s'élèvent dans le sang.

Le diabète est une maladie qui survient lorsque l'organisme n'utilise ni ne conserve adéquatement les aliments pour les convertir en énergie. Cette énergie dont l'organisme a besoin est ce que l'on nomme le glucose, un type de sucre. Le glucose provient d'aliments contenant des glucides, par exemple les fruits, le lait, les féculents, le sucre et certains légumes.

En présence de diabète, le taux de glucose dans l'organisme devient trop élevé. C'est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion, d'action d'insuline, ou de ces deux anomalies.

II.5.1. Le diabète

Le diabète est défini comme une affect ion métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline, ou des deux. L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétrât ion du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut, le taux de sucre augmente dans le sang, or l'organisme est très sensible à ces variations : la Chronicité de l'hyperglycémie est responsable de compliquât ions à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux [31].

Plusieurs critères sont actuellement utilisés pour diagnostiquer le diabète :

- 1- Une mesure de la glycémie à jeun dépassant les 1,26g/L.
- 2- Une mesure de glycémie prise au hasard supérieure à 2,00g/L accompagnée de symptômes de type polyurie.

3-Une glycémie supérieure à 2,00g/L deux heures après surcharge orale de glucose. Ce test d'hyperglycémie provoquée par voie orale n'est pas recommandé en pratique clinique.

Le diabète peut avoir une évolution lente sans présenter aucun symptôme. Ceci en fait une pathologie sournoise, silencieuse qui, une fois déclarée, expose à des morbidités sévères (25% des infarctus du myocarde, 10% des accidents cardiovasculaires cérébraux, une majeure partie des cécités et 80% des amputations majeures sont des diabétiques). Les différentes étapes précédant la déclaration de la maladie se passent souvent sans manifestation.

✓ **Symptômes de diabète déséquilibré**

- Troubles de la vision
- Perte de poids
- Somnolence
- Envie fréquente d'uriner
- Soif intense
- Langue sèche
- Douleurs abdominales
- Malaise et nausées
- Fatigue
- Faiblesse
- Torpeur par exemple au niveau de pies.
- Sens croissant de la faim

Les différents types de diabète se manifestent tous cliniquement par une hyperglycémie, mais vont différer dans leurs manifestations aiguës ou chroniques, par leur sévérité et leur âge d'apparition [32]. Ils ont été classés en trois groupes, dont les deux principaux sont les diabètes de type 1 et les diabètes de type 2 [33].

II.5.1.1. Diabète de type 1 : est une maladie auto-immune correspondant à la destruction progressive des cellules β , qui normalement synthétisent l'insuline, aboutissant à une carence absolue en insuline. Ce cadre inclut le diabète dit de type 1 lent, dont l'évolution vers l'insulinopénie complète est très étalée dans le temps. (Il existe une forme beaucoup moins fréquente, dont le cadre nosologique est imprécis, appelée diabète de type 1 non auto-immun, Cette maladie, favorisée par une prédisposition génétique, apparaît dans l'enfance, à l'adolescence ou chez l'adulte jeune [34].

Ce type de diabète apparaît en général chez le sujet jeune mais peut se développer à tout âge. L'étiologie exacte reste inconnue mais une pathologie auto-immune détruisant les cellules bêta du pancréas est souvent évoquée, ainsi que des facteurs environnementaux et certains virus ou bactéries. Le pancréas ne produit plus du tout ou pas assez d'insuline ce qui provoque les symptômes classiques d'hyperglycémie:

- ✓ Soif, polyurie et polydipsie
- ✓ Perte de poids involontaire
- ✓ Fatigue
- ✓ Vision floue
- ✓ Douleurs abdominales

Ces patients nécessitent un apport exogène d'insuline pour vivre.

II.5.1.2. Diabète gestationnel (14% des femmes enceintes)

Ce diabète apparaît lors d'une grossesse. Il se développe une intolérance au glucose due à une sécrétion insuffisante d'insuline dans le cadre d'une résistance à l'action de celle-ci augmentée durant la grossesse. Ce diabète est en général asymptomatique d'où l'importance du dépistage chez la femme enceinte. Certains facteurs de risques sont associés à son apparition tels que :

- ✓ Ethnie non-caucasienne
- ✓ Obésité
- ✓ Age > 30 ans
- ✓ Anamnèse familiale de diabète de type 2 positive
- ✓ Femme ayant déjà accouché d'un nouveau-né de plus de 4kg

Ces patientes nécessitent un traitement d'insuline ainsi qu'une surveillance étroite de leur glycémie durant la grossesse et en post-partum. Le nouveau-né sera aussi encadré étroitement par une équipe multi disciplinaire [36].

II.5.1.3. Diabète de type 2 (90-95% des patients)

Est considéré aujourd'hui comme le mal du siècle. C'est une maladie répandue et connue dans le monde entier, aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement. Cette maladie métabolique chronique, liée aux changements de mode de vie et d'habitudes alimentaires de ces 30 dernières années, voit en effet son incidence croître de manière exponentielle et touche désormais plus de 350 millions de personnes à travers le monde.

Le diabète de type 2 se définit par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun Supérieure à 1,26 g/L constatée à deux reprises ou une glycémie supérieure à 2 g/L à n'importe quel moment de la journée [37].

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant, appelé aussi diabète gras est une maladie assez mal définie qui survient typiquement après la quarantaine, tout particulièrement chez les personnes en surpoids ou qui ont des antécédents familiaux de la même maladie [38].

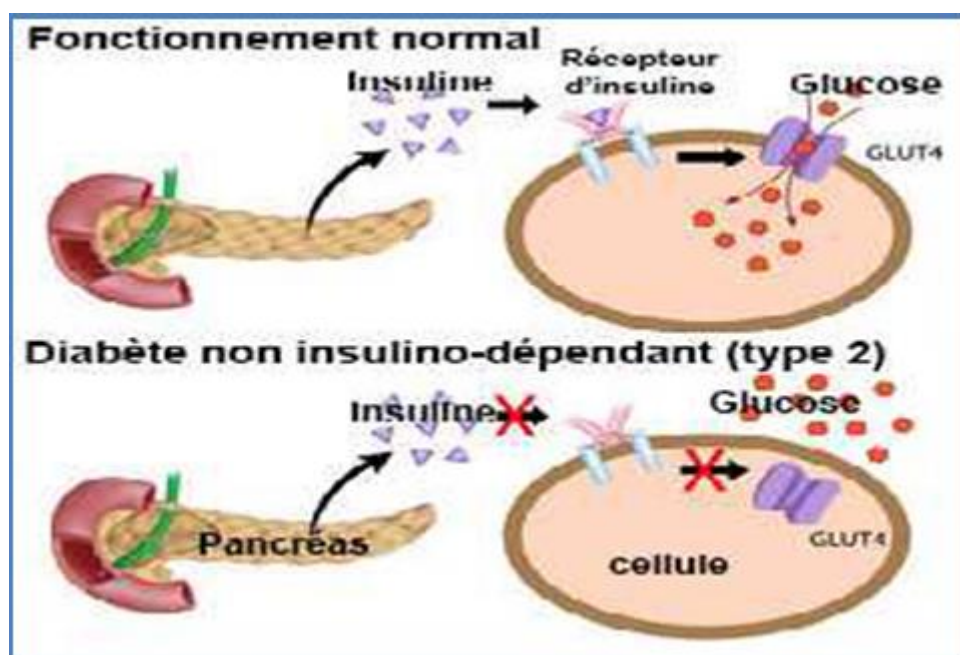


Figure II.11. Diabète de type 2

Il peut apparaître à tout âge mais se développe en général chez les adultes d'âge moyen ou les personnes âgées pouvant déjà souffrir d'un syndrome métabolique (surpoids, obésité, hypertension...). L'étiologie est inconnue mais il apparaît plus fréquemment chez certaines ethnies ou après un diabète gestationnel. Le pancréas est en général encore fonctionnel (au moins au début) mais une production insuffisante d'insuline est observée ainsi qu'une résistance des cellules à l'action de celle-ci. Les complications du diabète de type 2 présentées dans la (Figure II.12).



Figure II.12. Complications du diabète de type 2

Dans le diabète de type 2, la capacité du pancréas à libérer de l'insuline diminue progressivement. La vitesse du processus varie selon les patients. Pour maintenir une bonne régulation de la glycémie, le traitement devra être augmenté étape par étape. Il est important de l'expliquer au patient dès le moment du diagnostic, afin d'éviter qu'il ne se décourage lors de l'intensification du traitement [40].

II.5.1.4. Etiologie (causes) et immun pathologie du diabète de type 2

Le développement d'un diabète de type 2 est associé à de fortes prédispositions génétiques Combiné à des facteurs environnementaux favorisant.

a) Les facteurs génétiques

La part du déterminisme génétique dans le diabète de type 2 est très importante puisque l'on estime que le risque de développer la maladie est de 30% avec un parent atteint de diabète de type 2 et de 70% si les deux parents le sont. Cependant, au regard de l'importante prévalence du diabète de type 2 dans la population générale, il est probable que les gènes de susceptibilité soient très nombreux, très répandus et de faible pénétrance, ce qui les rend difficile à identifier. Ainsi de nombreux gènes ont été analysés notamment ceux impliqués dans la régulation de la sécrétion de l'insuline ou de son action mais les variations interindividuelles et interethniques limitent les conclusions [33,34].

b) Les facteurs environnementaux

Le facteur le plus puissant prédisposant au diabète de type 2 est l'obésité, particulièrement à répartition abdominale, puisque 80% des personnes atteintes de ce type de diabète présentent un excès pondéral. L'obésité est capable d'induire ou d'aggraver une insulino résistance, imposant au pancréas une hypersécrétion permanente d'insuline. Pour la majorité des personnes obèses le pancréas sera capable de s'adapter et de maintenir une glycémie dans les valeurs normales mais pour un tiers d'entre eux les capacités de compensation s'épuiseront et ils développeront un diabète de type 2 [33].

a. L'obésité : est un problème de santé publique à cause de sa contribution au développement d'un certain nombre de maladies chroniques qui conduisent à une augmentation de la morbidité et de la mortalité [35].

Les maladies les plus communes pour lesquelles l'obésité est un facteur de risque important sont le diabète de type 2, l'hypertension, les maladies cardiovasculaires et certains cancers.

L'augmentation de la prévalence du surpoids et de l'obésité est un problème de santé mondial. En effet, 3,4millions morent chaque année à cause de leurs surpoids ou obésité. Actuellement, on observe une augmentation de la prévalence du diabète de type 2 qui est analogue à l'augmentation de la prévalence de l'obésité [36].

b. La sédentarité : de plus en plus présente dans nos sociétés industrialisées, est également mise en cause dans l'apparition de la maladie, puisque l'activité physique améliore la sensibilité des tissus à l'insuline et donc présente un effet protecteur.

Enfin la qualité de la composition du régime alimentaire, notamment la présence d'un index glycémique élevé : alimentation riche en acides gras et pauvre en fibres double le risque de diabète.

1/ Fumer

2/ La nourriture est malsaine.

3/ Manque d'activité physique

4/ Hypertension.

c) Immunologie

Le diabète de type 2 est le résultat de deux composantes physiopathologiques : des anomalies de la sensibilité à l'insuline et des anomalies de sa sécrétion. L'inflammation est fortement mise en cause dans la pathogénie du diabète 2.

L'insuline est l'hormone qui permet l'assimilation du glucose par les cellules. Si l'organisme devient résistant à l'insuline : diabète de type 2. L'insuline doit être utilisée Chez la majorité des patients diabétiques de type 2, c'est surtout la glycémie à jeun qui reste difficilement sous contrôle.

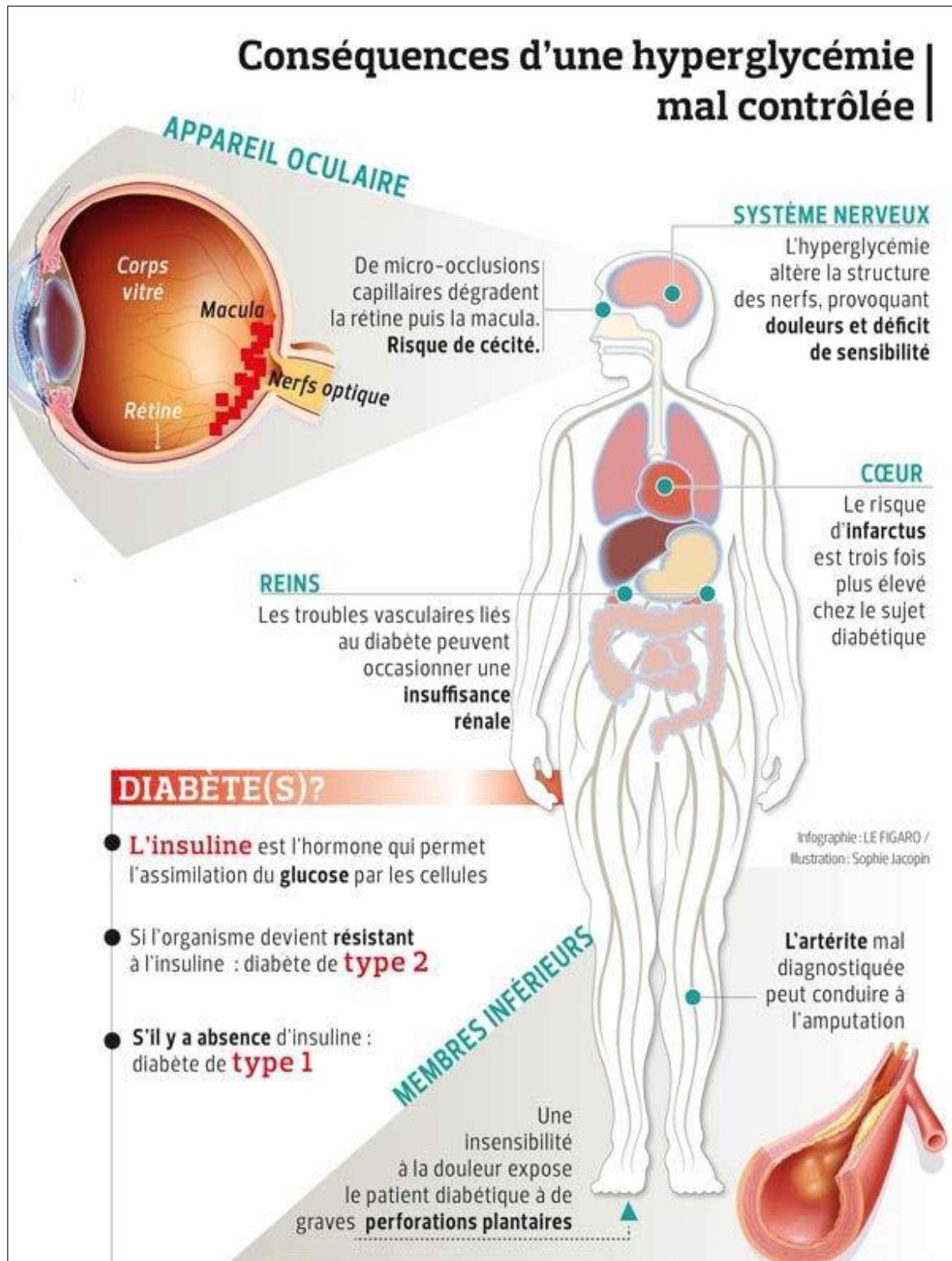


Figure II.13. Conséquences d'une hyperglycémie

II.5.1.5. Conséquences

Afin de citer quelques conséquences de diabète type 2 qu'ils sont nombreuses et très dangereuses car la repandre de cet maladie dans le monde. Parmi les maladies on a:

- **Maladies Cardio-Vasculaires(MCV)**

Les maladies cardio-vasculaires sont la première cause de mortalité dans les pays développés. Elles représentent dans le monde, un enjeu majeur de santé publique. Les changements socio-économiques observés pendant ces dernières dizaines d'années, ont amélioré les conditions de vie dans plusieurs pays du monde. Cette amélioration associée à une augmentation de la sédentarité et une accessibilité plus grande à une nourriture riche en graisses, s'est accompagnée d'une augmentation des facteurs de risque des MCV. Ainsi, dans certains pays, la moitié des patients diabétiques morent d'une MCV. Ceci résulte en partie d'une augmentation importante de la prévalence de différents facteurs de risque associés à ces maladies (obésité, insulino-résistance, diabète de type 2, hypertension), chez l'adulte comme chez l'adolescent [37].

- Gain de poids et obésité.
- Lésions nerveuses (neuropathie).
- Dommages aux reins (néphropathie), yeux, pieds.
- Les conditions de la peau. Le diabète peut vous rendre plus vulnérable aux problèmes de peau, y compris les infections bactériennes et fongiques.
- La maladie d'Alzheimer ; Le diabète de type 2 peut augmenter le risque de maladie d'Alzheimer. Plus votre contrôle de la glycémie n'est bas, plus votre risque de développer la maladie d'Alzheimer est grande. La relation entre ces deux maladies reste peu claire.
- Les plaies sont une cicatrisation lente ou des infections récurrentes. Le diabète de type II affecte votre capacité à guérir et à combattre les infections.
- Déficience auditive. Les problèmes d'audition sont plus fréquents chez les personnes atteintes de diabète.
- Les maladies oculaires diabétiques (MOD) : sont directement causées par des taux de glycémie élevé chroniques provoquant des lésions des capillaires rétiniens. ce qui entraine une

fuite capillaire et une obstruction des capillaires. Elles peuvent de boucher sur une perte de vision [38].

II.5.1.6 Traitement

La gestion du diabète de type 2 comprend :

- Nourriture saine
- Régularité dans l'exercice
- Et peut-être un traitement avec des médicaments contre le diabète ou de l'insuline
- Contrôle du sucre dans le sang

Pour une alimentation saine .Contrairement au concept commun, il n'y a pas de régime spécifique pour le diabète. Mais il est important de se concentrer sur les aliments riches en fibres et faibles en gras : Inclure des aliments riches en fibres et en glucides sains dans votre alimentation. Manger des fruits, des légumes et des grains entiers aidera à maintenir votre glycémie stable.

- 1) Activité physique.
- 2) Diet.
- 3) Surveiller la glycémie.
- 4) Mangez à intervalles réguliers et ne mangez que jusqu'à ce que vous soyez complet.
- 5) Contrôlez votre poids et gardez votre cœur en santé. Cela signifie garder les glucides raffinés, les bonbons et les graisses animales à un minimum.
- 6) Obtenez environ une demi-heure d'activité aérobique par jour pour aider à garder votre cœur en santé. L'exercice aide aussi à contrôler la glycémie.

IL existe 3 sortes de traitements : les comprimés, les incrétinomimétiques, l'insuline sous-cutanée par injection ou avec une pompe à insuline.

Le facteur le plus important du traitement du diabète de type 2 est l'aspect nutritionnel. Même si certaines personnes qui présentent ce type de diabète sont minces, la majorité de 80 % à 90 % sont obèses. Le fait de perdre du poids (même de 2 kg à 5 kg) peut contribuer à abaisser le taux de sucre sanguin, une alimentation saine et un programme d'exercices peuvent suffire à équilibrer la glycémie. Dans d'autres cas, le régime alimentaire et l'exercice ne

suffisent pas à eux seuls ; la prise de médicaments (devient alors nécessaire pour maintenir constant le taux de sucre sanguin [39]).

II.6.Reference

- [1] G.Moroy., Thèse de Doctorat de l'université de Reims Champagne-Ardenne., **2005**.
- [2] H .Lodish., A Berk., P .Matsudaira., C.A .Kaiser, M.Krieger, M.P Scott, Zipursky., S.L. Darnell J., *Biologie moléculaire de la cellule*. de Boeck Université, chap. 1, **2005**.
- [3] Jean-Louis .CUQ Professeur, BIOCHIMIE DES PROTEINES, Sciences et Technologies des Industries Alimentaires .
- [4] C. Branden, J. Tooze, Introduction to protein structure, second edition, Garland Publishing, New-York, **1999**.
- [5] H.W .Jacques.biochimie générale ,11^{ème} édition, aminoacide ;peptide ;protéine structures et principales propriétés ,paris, page 1. **2009**.
- [6] K. U. Linderstrom-Lang. The Lane Medical Lectures. Stanford University Press, **1952**.
- [7] K.U. Linderstrom-Lang and J.A. Shellman. Protein structure and enzyme activity. In P.D. Boyer, editor, The Enzymes., Academic Press. 443-510., **1959**.
- [8] E. A. Barnard, The Peripheral Nervous System, Plenum Press., New York..., 201-224. **1974**.
- [9] R. Srinivasan and G. Rose. A physical basis for protein secondary structure. PNAS, 96, 14258-14263. **1999**.
- [10] P.C. Turner, A.G. McLennan, A.D. Bates &M.R.H. White, biologie Moleculaire. Chapitre B, 22-23.**2013**.
- [11] B. Marie., Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les Modes Statiques. Thèse DE doctorat d'état, Université de Toulouse, Paul Sabatier, 104. **2009**.
- [12] P .GILLIAND .and D-R .CHRISTOPHER..physiologie humaine. 3^{ème} édition, Glucide, paris, 11. **1999**.
- [13] R. Cooke, ID.KUNTZ,Ann.Rev.Biophys.Bioeng, 3 ,95. 1974.
- [14] G.D., Roseand, R Wolfenden, Hydrogen bonding, hydrophobicity, packing, and protein folding. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 22: 381-415. **1993**.

- [15] D.J. Holme, H. Peck, « Analytical Biochemistry », 3è ED., **1998**.
- [16] V. Henri. A. Hermann, Lois Générales de l'Action des Diastases, Edition Librairie Scientifique, Paris, **1903**.
- [17] G. Karp, et J.-c. Wissocq., *Biologie cellulaire & moléculaire*. Bruxelles: De Boeck, **2004**.
- [18] W. Jeffery., Keilor. Inhibition des reactions enzymatiques enzymologie BMC.850 . **2004**.
- [19] H.GARRETT, M.grisham charles. biochimie,reginald, ,447.,443,, **2000**.
- [20] H. george., biochimie 1^{er} cycle . , 175-177. **1995**.
- [21] R. H. P .Law., Q. Zhang, S. McGowan, A. M. Buckle, G. A. Silverman, W. Wong, C. J. Rosado,C. G. Langendorf, R. N. Pike, P. I. Bird et J. C. W hisstock.. «An overview of the serpin superfamily. » *Genome Biol*, vol. 7, no 5 . , 216. **2006**.
- [22] J.van Ryn, M.Pairet. Clinical experience with cyclooxygenase-2 inhibitors. *Inflamm. Res.*48, 247- 254. **1999**.
- [23] S. Penel., E. Hughes., AJ. Doig Side-chain structures in the first turn of the alpha-helix. *J.Mol Biol* .,287: 127–143. **1999**.
- [24] A .Lamari ., Cours de Biochimie Structurale. Chapitre 4.75. **2014**.
- [25] A.Cisse, A. Ndiaye, Lopez-Sall et al. Etude de l'activité antidiabétique de zizyphus mauritanialam(Rhamnacee) Dakar medical, 45., 105-107 ; **2000**.
- [26] World Health Organization.Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. WHO Séries N° WK810.WoldHealthOrganization. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/43588>. **2006**.
- [27] H. Fagherazzi-PagelActualités sur le diabète de type 2. Dossier du CNRS (France) publié En décembre **2002**.
- [28] Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm). Diabète de type 1 (DID).Site internet : Inserm. Paris ; **2014**.
- [29] Le diabète expliqué, Document d'éducation thérapeutique, réseau nord Broye, juin **2010**.
- [30] Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. Report of a WHO/IDF Consultation, 46; 2006.

- [31] F. Tournant, A. Heurtier, F. Bosquet, A. Grimaldi, Classification du diabète sucré, critères diagnostiques et dépistage dans. EMC Références. Diabète de type 2. Paris : Elsevier SAS, 45-82 ; **2004**.
- [32] R .Turner, C. Cull, V. Frighi, et al. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus. Progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). *JAMA* ; 281 : 2005-12. **1999**.
- [33] L. Monnier., « Diabétologie » 2ème édition, Editor by Elsevier Masson, pages: 432, **2014**.
- [34] F. Féry, N. Paquot. ET iopathogenesis and pathophysiology of type 2 diabetes]. *RevMédicale Liège*; 60: 361–8. **2005**.
- [35] C. M .Kitahara,et al.Association between Class III Obesity (BMI of 40 -59 kg/m2) and Mortality: A Pooled Analysis of 20 Prospective Studies. *PLoS medicine*11, e1001673, doi:10.1371/J..pmed.1001673. , 2014.
- [36] A. H. Mokdad. , .et al. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA : the journal of the American Médical Association*286, 1195-1200 ., **2001**.
- [37] Andersen et al. 2003; NCEP 2001;Twisk et al. **2001**.
- [38] A. Guide for Healthcare Professionals. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation .International Diabetes Federation and The Fred Hollows Foundation. Diabetes Eye Health: Available at: www.idf.org/eyehealth. **2015**.
- [39] V. Rigalleau, J. Lang, H. Gin. Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2.EMC, Endocrinologie-Nutrition, 10-366-D-10, **2007**.

III.1. Introduction

Les études sur les interactions existantes entre une enzyme (c.à.d. enzyme de Protéines humaines Tyrosine Phosphatases 1B) dépendent de la maladie de diabète type 2 ; et un inhibiteur (médicament) est une branche importante dans la chimie, pharmacie et biologie fournissant des informations aidant à la compréhension de la nature de ces interactions.

La stabilité du complexe formé par ces interactions (Van der Waals, Hydrogènes, Stérique...) dépend de l'énergie d'interaction entre les résidus du site actif et les ligands (modèle : **main- gant**) et aussi bien que la nature de ces interactions. Il existe des situations défavorables dans lequel nous avons un très grand espace « vide » entre l'enzyme et le substrat, ceci conduit qu'une parfaite complémentarité de forme entre l'enzyme et le substrat est très rare.

D'autre par, dans les travaux récents, on s'intéresse de plus en plus à la conception de médicaments formant une liaison covalente connus pour agir une inhibition de la protéine cible, avec près de 30% des médicaments commercialisés [1,2].

Ces types d'inhibiteurs dérivent leur activité à la fois des interactions non covalentes et de la formation de la liaison covalente entre l'inhibiteur et protéine. [3-8].

L'interaction covalente avec la protéine cible présente l'avantage d'une durée prolongée de l'effet biologique. Cependant, ces types d'inhibiteurs ont tendance à être associés à la toxicité en raison de la difficulté de dissociation [9].

L'atome de soufre de la cystéine (Cys) fournit une gamme considérable et remarquable de la réactivité chimique de fonctions biologiques par Cys car le soufre est stable dans des liaisons covalentes (C, H, O, N, P) [10].

Le travail consiste à étudier les interactions entre les différents inhibiteurs (28 ligands) et l'enzyme de PTP1B par les méthodes de la modélisation moléculaire (MM, AM1, et le docking moléculaire).

Dans ce chapitre nous avons englobé tous les résultats de calcul effectués dans cette étude. La discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interactions (**score**) et les distances (des liaisons Hydrogènes) entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs.

Pour ces raisons, on a schématisé un organigramme, ce dernier nous a permis de présenter tous les étapes de calcul qu'on a réalisé au cours de ce travail.

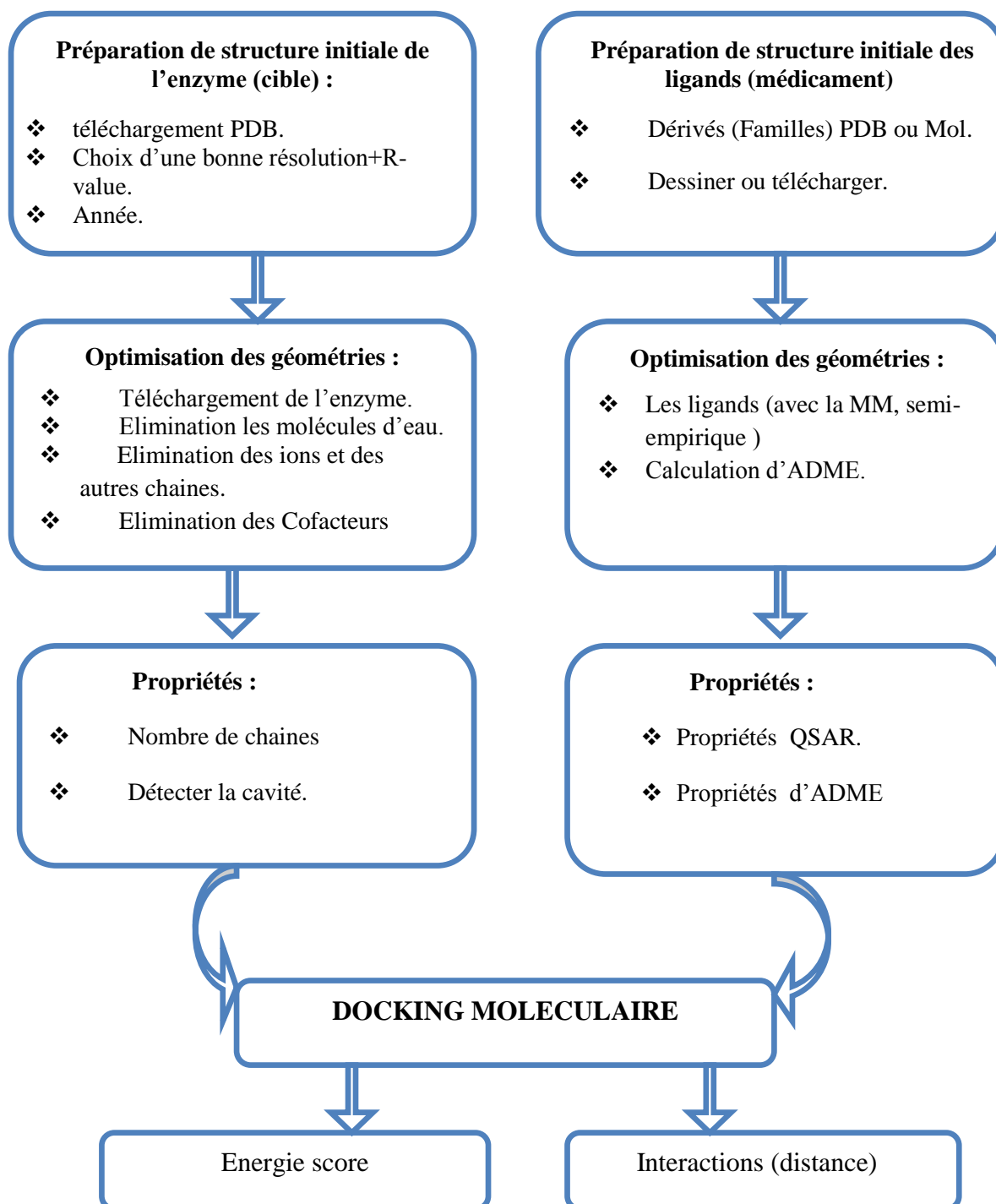


Figure III.1. Protocole de calcul

III.1.1. Préparation et optimization du model

Le téléchargement de notre enzyme (*Protéines humaines Tyrosine Phosphatases 1B*) a été exécuté a partir de la base de donnée **Bookhaven Protein Data Bank** (www.rcsb.org/pdb) (code d'accès : **1NNY**). Sachant que le 1NNY [11] est co-cristallisée avec l'inhibiteur $(3-(\{5-[(N-ACETYL-3-\{4-[(CARBOXYCARBONYL)(2-CARBOXYPHENYL)AMINO\}-1-NAPHTHYL\}-L-ALANYL)AMINO\}PENTYL\}OXY)-2-NAPHTHOIC\ ACID)$ sous la formule ($C_{40}H_{37}N_3O_{10}$) **PTP1B** : est une cible clé pour la maladie de diabète.

La structure 3D de notre enzyme a été obtenue par diffraction en rayon X avec une résolution de 2.4 Å et R-Value de 0.238 (obs) [12]. On remarque que Protéines humaines Tyrosine Phosphatases 1B(PTP1B) cristallise se forme d'un monomère : la chaine A, (Figure III.2).

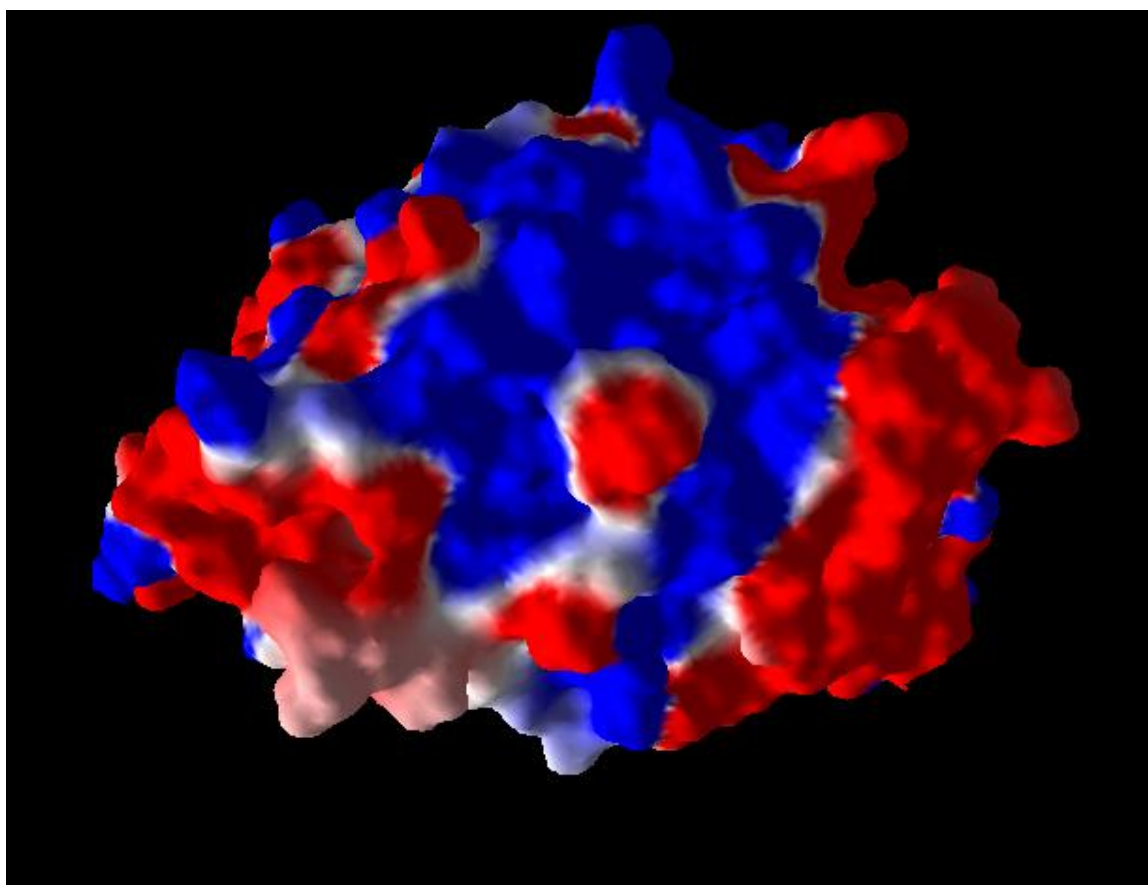


Figure III.2. Potentiel de Protéines humaines Tyrosine Phosphatases 1B

Le tableau III.1 regroupe quelques propriétés de cette chaîne : le nombre de résidus, nombres d'atomes, nombres d'atomes lourds, nombres de liaisons ainsi que la masse molaire.

Tableau III.1. Quelques propriétés des chaînes de l'enzyme.

Chaîne	Nombres des résidus	Nombres d'atomes	Nombres d'atomes lourds	Nombres des liaisons	Masse molaire (amu)
[A]	283	4579	2301	4631	32751.2

Avec l'effet réducteur de la modélisation moléculaire, nous avons simplifié le modèle et étudié la chaîne qui comporte les résidus formant le site actif.

L'optimisation de l'enzyme a été effectuée par le logiciel Molegro Virtuel Docker (MVD2012-5.5.0) [13,14] au cours du docking moléculaire.

III.1.2. Ligands (Inhibiteurs)

III.1.2.1. Préparation et optimization des ligands (Inhibiteurs)

Les inhibiteurs sont des dérivés de thiadiazole amide (Schéma III.1). Ces derniers sont préparés selon la réaction suivante :

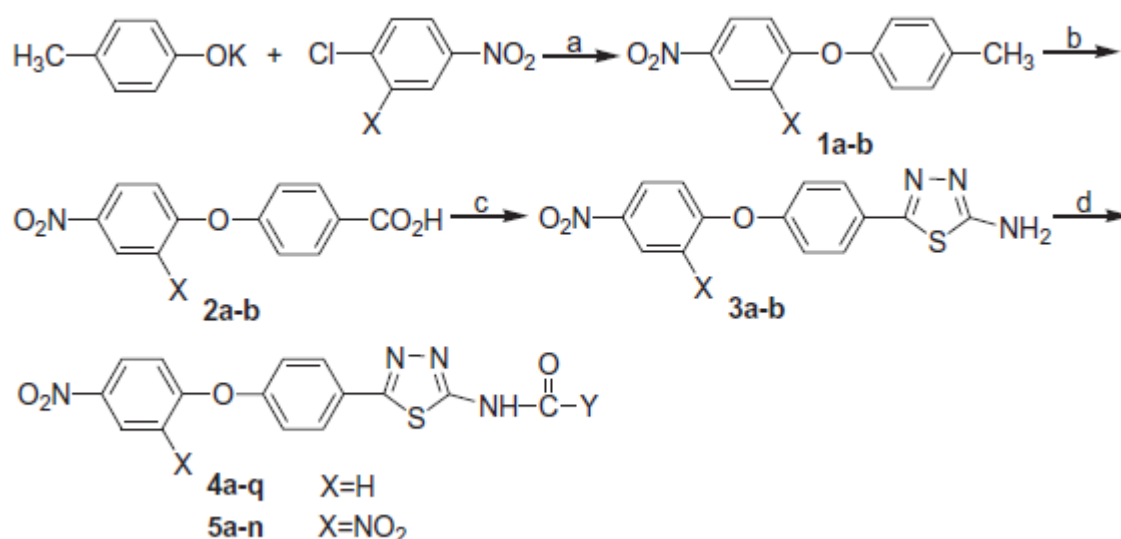
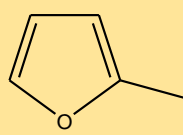
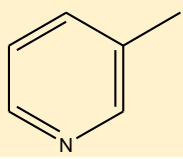
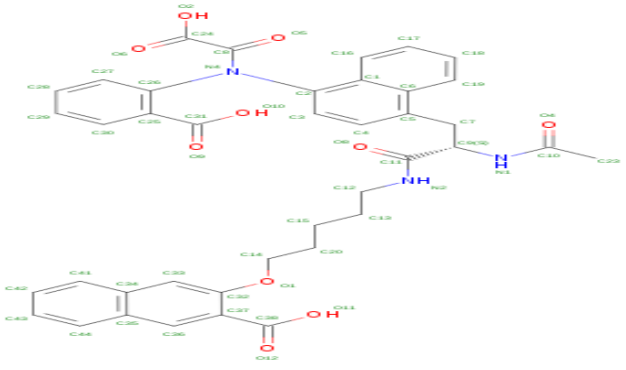


Schéma III.1. Préparation de thiadiazole amide [15].

Les structures des ligands dessinées à l'aide de logiciel ChemOffice 07 [16]. Elles sont représentées ci-dessous (Tableau III.2.).

Tableau III.2. Structure des ligands

		Substituent	
Ligands*	Ligands	X	Y
4a	L1	H	C ₆ H ₅
4b	L2	H	2-CH ₃ C ₆ H ₄
4c	L3	H	4-CH ₃ C ₆ H ₄
4d	L4	H	2-CH ₃ OC ₆ H ₄
4e	-	H	3-CH ₃ OC ₆ H ₄
4f	L5	H	4-CH ₃ OC ₆ H ₄
4g	L6	H	2-ClC ₆ H ₄
4h	L7	H	2-FC ₆ H ₄
4i	-	H	3-FC ₆ H ₄
4j	L8	H	4-FC ₆ H ₄
4k	L9	H	2-O ₂ NC ₆ H ₄
4l	L10	H	3-O ₂ NC ₆ H ₄
4m	L11	H	4-O ₂ NC ₆ H ₄
4n	L12	H	
4o	L13	H	
4p	L14	H	C ₆ H ₅ CH ₂
4q	L15	H	1-C ₁₀ H ₇ CH ₂
5a	L16	NO ₂	2-CH ₃ C ₆ H ₄
5b	L17	NO ₂	4-CH ₃ C ₆ H ₄
5c	L18	NO ₂	2-CH ₃ OC ₆ H ₄
5d	L19	NO ₂	3-CH ₃ OC ₆ H ₄
5e	L20	NO ₂	4-CH ₃ OC ₆ H ₄
5f	L21	NO ₂	3,4,5-(CH ₃ O) ₃ C ₆ H ₂
5g	L22	NO ₂	3-ClC ₆ H ₄

5h	-	NO ₂	4-ClC ₆ H ₄
5i	L23	NO ₂	2-FC ₆ H ₄
5j	L24	NO ₂	2-O ₂ NC ₆ H ₄
5k	L25	NO ₂	3-O ₂ NC ₆ H ₄
5l	L26	NO ₂	4-O ₂ NC ₆ H ₄
5m	L27	NO ₂	C ₆ H ₅ CH ₂
5n	L28	NO ₂	1-C ₁₀ H ₇ CH ₂
Lref	Lref		
* : numérotation selon la littérature [15].			

Dans notre travail on c'est basé sur 28 ligands qui sont capable de faire des interactions avec l'enzyme en question et par la suite forme des complexes stables. La structure chimique du ligand co-cristallisé (**L_{ref}**) au niveau de notre enzyme (**PTP1B**) est donnée dans le tableau (III.2).

L'optimisation des géométries des nos ligands a été effectués a l'aide du logiciel HyperChem (Version 7.0, Hypercube, USA, <http://www.hyper.com>), par la méthode de la mécanique moléculaire en utilisant le champ de force **MM⁺** [16], suivi par une optimisation de la méthode semi-empirique **AM1** [17].

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau III.3. Energie, angle de torsion et nombre de liaison des ligands.

Ligands	E (kcal/mol)	NBR des liaisons	NBR d'atomes	NBR d'atomes lourds	Ang de torsions
L₁	-4980.73	47	44	30	6(out of 6)
L₂	-5263.41	50	47	31	6(out of 6)
L₃	-5263.86	50	47	31	6(out of 6)
L₄	-5355.53	51	48	32	8(out of 8)

L5	-5356.68	51	48	32	8(out of 8)
L6	-4964.72	47	44	31	6(out of 6)
L7	-4991.96	47	44	31	6(out of 6)
L8	-4993.84	47	44	31	6(out of 6)
L9	-5155.59	49	46	33	7(out of 7)
L10	-5157.66	49	46	33	7(out of 7)
L11	-5156.89	49	46	33	7(out of 7)
L12	-4611.83	44	41	29	6(out of 6)
L13	-4861.56	46	43	30	6(out of 6)
L14	-5265.00	50	47	31	7(out of 7)
L15	-6032.83	57	53	35	7(out of 7)
L16	-5432.83	52	49	34	7(out of 7)
L17	-5431.52	52	49	34	7(out of 7)
L18	-5522.75	53	50	35	9(out of 9)
L19	-5525.65	53	50	35	9(out of 9)
L20	-5523.89	53	50	35	9(out of 9)
L21	-6261.83	61	58	39	10(out of 10)
L22	-5118.55	49	46	34	7(out of 7)
L23	-5159.21	49	46	34	7(out of 7)
L24	-5321.77	51	48	36	8(out of 8)
L25	-5324.17	51	48	36	8(out of 8)
L26	-5323.85	51	48	36	8(out of 8)
L27	-5432.75	52	49	34	8(out of 8)
L28	-6199.67	59	55	38	8(out of 8)
L _{réf}	-9982.47	94	90	53	16(out of 16)

D'après les résultats obtenus on constate que les ligands **L18**, **L19**, **L20**, **L21**, et **L_{réf}** possèdent un nombre d'angle de torsions important par rapport aux autres ligands, ceci montre que ces ligands sont plus flexibles.

D'autre part, on peut classer les énergies pour ces ligands selon l'ordre suivant :

$$L_{\text{réf}} < L_{21} < L_{28} < L_{15} < L_{19} < L_{20}$$

On note que la croissance de l'angle de torsion par augmentation de nombre de liaison de la molécule (ligand).

L'augmentation de nombres d'atomes lourds va diminuer l'énergie de ligand.

III.1.3. Propriétés ADME

Un calcul des propriétés ADME effectué pour déterminer la biodisponibilité en vérifiant les conditions de la règle de Lipinski [18] citée ci-dessous :

Masse molaire <500 Da,

Log P_{w=Oct} < 5;

NDH: Nombre de liaison de donneur d'hydrogène <5

NAH: Nombre de liaison d'accepteur d'hydrogène <10

Le site <https://www.swissadme.ch/index.php> nous a permis de calculer toutes les propriétés ADME utilisées au cours de notre travail.

III.2. Docking moléculaire

Le logiciel **MVD 2012-5.5.0** (Molegro Virtuel Docker) [19] a été utilisé pour mieux comprendre le mécanisme moléculaire de l'inhibition, le type d'interaction E-S, ainsi que la stabilité des complexes formés.

La discussion a été basée sur l'analyse des énergies de la conformation des ligands des dérivés de thiadiazole amide et l'enzyme de PTP1B.

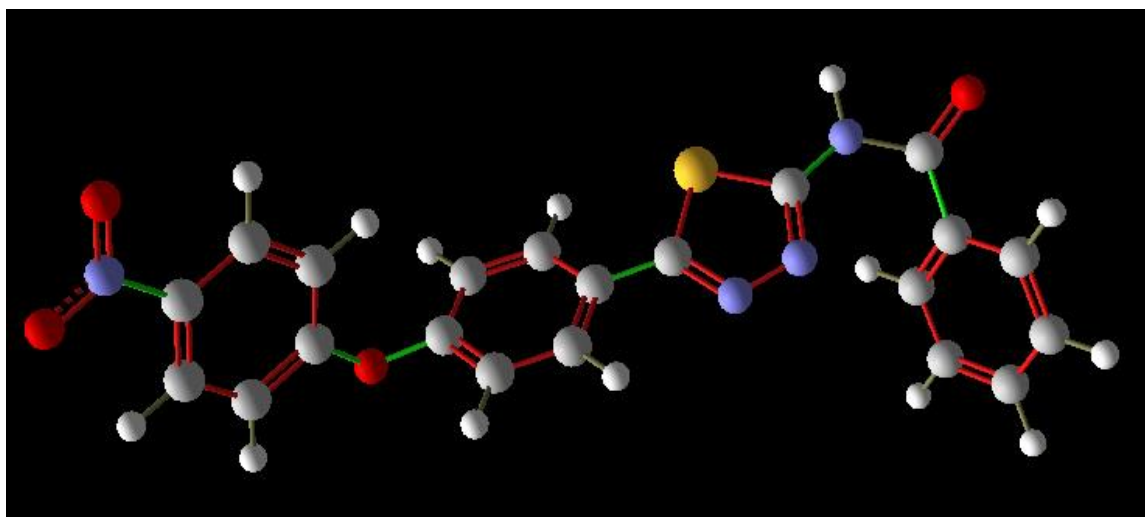
Les paramètres du calcul MVD sont :

- ✓ Les noms des fichiers contenant le récepteur et ligand.
- ✓ L'état initial du ligand (position, orientation et conformation aléatoire ou précise) ;
- ✓ Dimensions de la grille à utiliser ;
- ✓ Enfin lancer le processus de Docking ;

A la fin de chaque cycle d'exploration, **MVD 2012-5.5.0** on enregistre la meilleure interaction (pose) avec le ligand.

Toutes les molécules d'eau, co-facteurs et les ions ont été supprimés de la structure de l'enzyme de départ. Les mêmes paramètres par défaut utilisés au cours de notre calcul de docking moléculaire pour tous les ligands (Score function: MolDock Score; Ligands evaluation: Internal ES, Internal HBond, Sp2–Sp2 Torsions, all checked; Number of runs: 10 runs; Algorithm: MolDock SE; Maximum Interactions: 1500; Max. population size: 50; Max. steps: 300; Neighbor distance factor: 1.00; Max. number of poses returned: 5). La procédure d'amarrage a été effectuée en utilisant un GRID de 15 Å de rayon et une résolution de 0,30 en vue de couvrir la liaison entre le ligand et les résidus du site actif de la structure de PTP1B. Les modèles avec des caractéristiques se sont attendus être pertinents pour la liaison au ligand (4- [3-hydroxyanilino] -6,7- diméthoxyquinazoline) ont été générés pour exécuter le docking. L'algorithme de score MolDock GRID et MolDock ont été utilisées comme fonction de score [20].

Dans notre étude on utilise pour le docking moléculaire logiciel **MVD 2012-5.5.0** pour simplifier l'étude on c'est assurés qu'il n'existe qu'un monomère (une seule chaîne) de l'enzyme, sans oublier d'éliminer les molécules d'eau et tous les co-facteurs. Généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible (voir figure III.3), la protéine gardée rigide.



— : Liaison rigide

— : Liaison flexible

Figure III.3. Liaisons flexibles et rigides dans un ligand.

III.2.1. Etapes du Docking Moléculaire

III.2.1.1.Principes

Connaitre la structure 3D de la cible et des inhibiteurs afin de calculer l'énergie et d'étudier l'interaction d'une série de molécules avec l'enzyme.

Tableau III.4. Quelques propriétés des ligands

Ligands	EH (kcal/mol)	Pol (Å ³)	MM (amu)	SUR (Å ²)	VOL (Å ³)	REF (Å ³)	LogP
L ₁	-18.79	43.27	418.43	655.36	1101.75	124.58	-0.27
L ₂	-19.67	45.10	432.45	679.04	1151.98	128.86	-0.12
L ₃	-17.76	45.10	432.45	683.62	1153.63	128.86	-0.12
L ₄	-20.42	45.74	448.45	700.48	1180.40	130.76	-0.15
L ₅	-20.32	45.74	448.45	712.88	1188.69	130.76	-0.15
L ₆	-18.16	45.20	452.87	672.38	1136.12	129.30	-0.49
L ₇	-18.08	43.18	436.42	664.29	1111.15	124.71	-0.87
L ₈	-18.41	43.18	436.42	657.33	1108.01	124.71	-0.87
L ₉	-20.82	45.11	436.42	678.97	1149.62	130.30	-3.02
L ₁₀	-23.94	45.11	436.42	697.12	1160.17	130.30	-1.08
L ₁₁	-23.67	45.11	436.42	697.79	1162.37	130.30	-3.02
L ₁₂	-20.18	40.43	408.39	636.26	1054.40	115.44	-2.00
L ₁₃	-20.18	42.56	419.41	657.66	1090.53	121.09	-1.62
L ₁₄	-18.51	45.10	432.45	669.41	1139.92	129.13	-0.34
L ₁₅	-19.98	51.29	482.51	741.02	1266.30	147.33	-0.26
L ₁₆	-20.14	46.94	477.45	709.12	1205.15	134.58	-2.86
L ₁₇	-20.25	46.94	477.45	709.19	1202.98	134.58	-2.86
L ₁₈	-23.29	47.58	493.45	735.90	1243.26	136.48	-2.90
L ₁₉	-23.10	47.58	493.45	741.43	1245.15	136.48	-2.90
L ₂₀	-23.13	47.58	493.45	733.04	1245.34	136.48	-2.90
L ₂₁	-23.96	52.53	553.50	794.95	1373.23	149.42	-6.00
L ₂₂	-21.39	47.04	497.87	696.93	1188.42	135.02	-3.24

L₂₃	-20.55	45.02	481.41	674.98	1154.95	130.43	-3.62
L₂₄	-23.50	46.95	508.42	696.38	1192.76	136.02	-5.76
L₂₅	-25.30	46.95	508.42	711.26	1206.03	136.02	-5.76
L₂₆	-26.21	46.95	508.42	711.64	1208.05	136.02	-5.76
L₂₇	-20.93	46.95	477.45	684.88	1185.76	134.85	-3.08
L₂₈	-20.88	53.13	527.51	732.22	1292.84	153.05	-3.01
L_{réf}	-20.68	74.93	719.75	881.16	1732.78	207.55	-1.38

EH : Energie d'hydratation, **Pol** : Polarisabilité, **MM** : Masse molaire, **SAG** : Surface area grid, **VOL** : Volume, **REF** : Réfractivité, **LogP** : Lipophile (coefficient de partage)

III.2.1.2. Structure de la macromolécule (enzyme)

Nous avons besoins d'une structure 3D de la cible (enzyme) structures expérimentales : **PDB**.

On l'obtient grâce à trois méthodes :

- Diffraction des rayons X
- RMN
- Modélisation par homologie

Nous avons choisi la première méthode car elle possède une excellente précision et le remplissage des cages de diffraction laisse peu ou pas d'ambiguïté.

Suite aux imperfections qui existent sur la structure on peut trouver : les ions, les molécules d'eaux, détergents, glycols, et les anticorps.

Donc, il faudra nettoyer notre enzyme pour simplifier et faciliter le démarche de docking moléculaire (prend pas beaucoup du temps).

Nous avons utilisé le logiciel **MVD 2012-5.5.0** (Molegro Virtuel Docker) pour extraire les propriétés de l'enzyme étudiée et les ligands testés (voir les tableaux III.4 et III.5)

III.2.1.3. Structure du ligand

Le ligand est généralement une molécule organique synthétisé. Pour le dessiner on utilise généralement des logiciels d'interface graphiques. Lors de l'interaction, la flexibilité du ligand est engagée (Figure III.3) et la flexibilité de la protéine (cible) est rarement. Le ligand

doit avoir trop de degré de liberté pour être pris en compte directement dans un algorithme d'optimisation.

Le tableau III.4 regroupe les différentes propriétés des composés étudiés.

Les résultats présentés dans le tableau III.4 montrent que les ligands **L₉**, **L₂₅**, **L₂₆**, **L₂₈** ont les plus faibles valeurs d'énergie d'hydratation par rapport aux autres ligands et le ligand de référence **L_{réf}**.

D'autre part, on peut considérer le **L_{réf}** comme ligand de référence et on peut classer ces ligands selon l'ordre suivant :

$$\mathbf{L_{26} < L_{25} < L_{28} < L_9 < L_{réf}}$$

L'énergie d'hydratation(EH) en valeurs absolue, les plus importantes sont celle des ligands **L₂₆**, **L₂₅** (-26.21), (-25.30) en ordre.

La polarisabilité et la réfractivité molaire augmente avec la masse molaire et le volume .par exemple, les ligands **L₂₀** et **L₂₈** portent des substituants volumineux **L₂₀** (atome d'oxygène), **L₂₈** (2 cycles) ont des valeurs importantes de la polarisabilité (47.58Å), (53.13Å) et la réfractivité molaire (136.48 Å), (153.05 Å) respectivement. Voir le tableau III.4.

Les groupements hydrophobes dans les structures des dérivés de thiadiazole induit une diminution de l'énergie d'hydratation ; toutefois, la présence des groupements hydrophiles comme dans les ligands (**L₂₆**) et(**L₂₅**) qui possède 5 sites accepteurs des protons (5NO₂) pour chacun d'eux entraînent l'augmentation de l'EH.

Le classement de log p est donné dans l'ordre suivant :

$$\mathbf{L_{réf} < L_2 = L_3}$$

Contrairement, la lipophile augmente proportionnellement avec le caractère d'hydrophobicité des substituants. Comme on le voit dans le tableau III.4, les ligands **L₂** et **L₃** a une valeur plus importante de log p (-0.12).

III.3. Résultats et discussion

III.3.1. Docking moléculaire

a. Interaction : PTP1B et Ligands

A l'aide de logiciel MVD 2012-5.5.0 on peut détecter les cinq cavités de l'enzyme en question (figure III.4), la cavité possédant le ligand Co-cristallisé est utilisée pour notre étude.

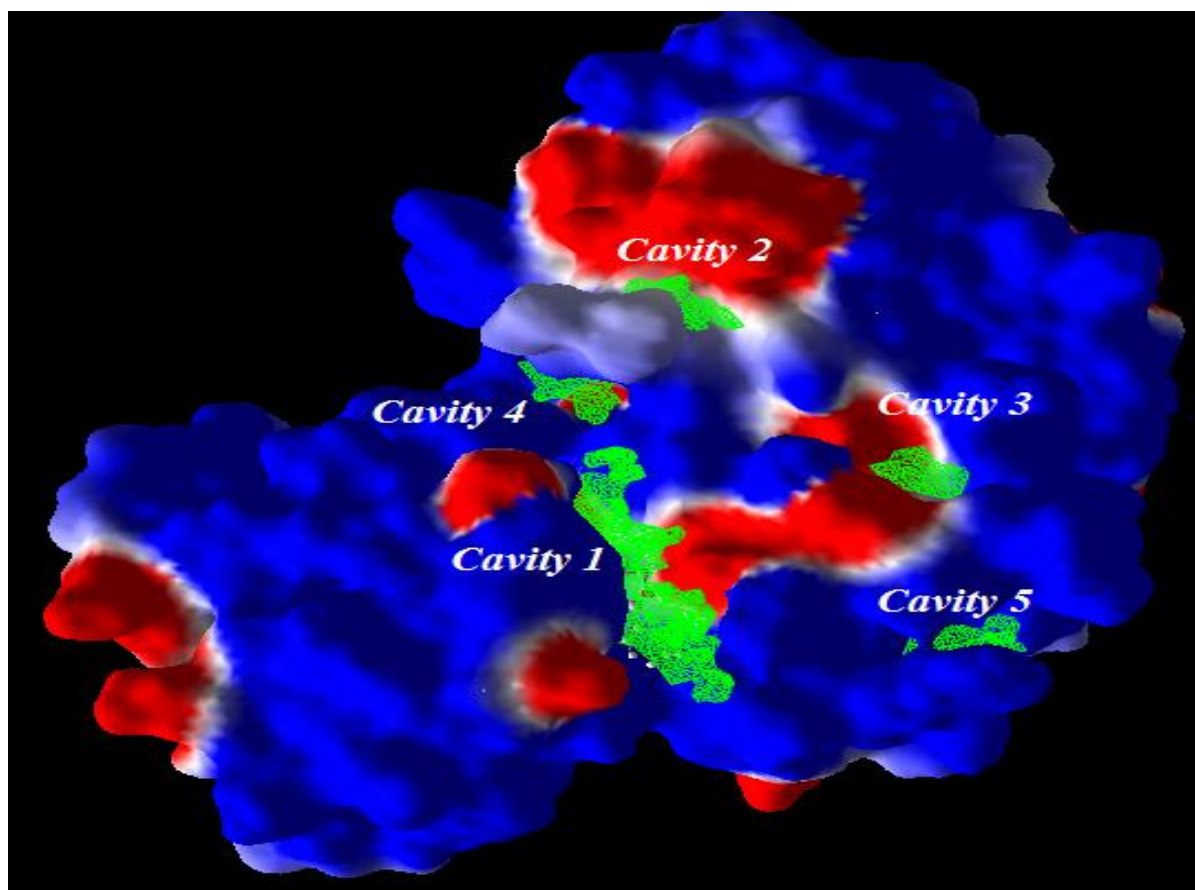


Figure III.4 .Cavités de l'enzyme.

Le volume et la surface des cinq cavités sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau III.5. Volume et Surface pour les cinq cavités détectées par MolDock Score

Cavités	Volumes (Å ³)	Surfaces (Å ²)
1	18.432	83.20
2	17.920	79.36
3	17.920	74.24
4	16.384	62.72
5	14.336	64.00

La cavité 1 a été choisie pour notre étude car elle possède le volume (surface) le plus important ainsi que le ligand Co-cristallisé (ligand de référence).

Dans notre étude l'interaction entre PTP1B et les ligands (c'est-à-dire formation du complexe), s'effectue dans le cas d'un ligand flexibilité (souvent) et une protéine cible rigide (rarement), ceci explique que lorsqu'on a un ligand a trop de degré de liberté (plusieurs angle de dièdres) signifie qu'il ya plusieurs possibilité de fixation du ligand sur le site actif.

b. Energie d'interaction

Les valeurs d'énergies (d'interaction entre les ligands et les résidus du site actif) et les distances des liaisons sont calculées au cours du Docking moléculaire sont données dans le tableau ci-dessous.

Tableau III.6. Valeurs d'énergies score et distances des liaisons d'hydrogènes et stériques de docking moléculaire

Ligands	IC ₅₀ value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liens entre les atomes de ligands et les résidus de site actif				
			Atome du Ligand	Récepteur impliqué Atomes	Récepteur impliqué résidus	Distance (Å)	Type d'interaction
L19	5.33	-154.028	O5	H ₂ N	Gly218	2.81	H-BOND
			O5	H ₂ N	Ile219	2.60	
			O1	HN	Arg221	3.01	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.89	
			O5	HS	Ile219	/	covalente
			C4	/	Gly220	3.18	STERIC
			O24		Cys215	1.96	
			O23		Ile219	2.87	
			O23		Ala217	2.69	
			O34		Arg221	2.94	
			N15		Asp265	2.95	
			C39		Ala264	3.17	
			L20	3.75	-158.768	O1	HN
O1	H ₂ N	Arg221				2.87	
O4	H ₂ N	Ile219				2.60	
O4	H ₂ N	Gly218				2.90	
S1	H ₂ N	Gly183				3.33	
O4	H ₂ S	Cys215				/	covalente
N15	/	Asp265				2.98	
C4		Gly220				2.87	
O24		Ala217				2.72	

			O24		Ile219	2.89	STERIC
			O23	/	Cys215	1.94	
			O35		Arg221	2.94	
			C37		Asp265	3.08	
L21	2.90	-153.501	O1	H ₂ N	Gly183	2.80	H-BOND
			O2	H ₂ N	Gly218	3.06	
			O2	H ₂ N	Ser216	3.10	
			O2	H ₂ N	Ala217	2.60	
			O2	HS	Cys215	2.49	
			C26		Ala217	2.92	STERIC
			N15	/	Gly220	3.08	
			O6		Phe182	2.86	
L25	1.36	-155.157	O4	H ₂ N	Gly218	3.00	H-BOND
			O4	H ₂ N	Ile219	2.61	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.85	
			N3	HO	Asp265	2.80	
			O8	H ₂ N	Val184	3.26	
			O4	HS	Cys215	/	covalente
			N15		Asp265	2.92	STERIC
			C25		Asp265	3.03	
			C24		Gly183	3.18	
			C26		Gly183	3.16	
			O47	/	Gly183	3.13	
			O29		Cys215	1.99	
			O28		Ile219	2.79	
			O28		Ala217	2.93	
			O44		Arg221	3.03	
L28	3.20	-155.551	O1	H ₂ N	Gly183	2.60	H-BOND
			N2	H ₂ N	Arg221	3.32	
			O2	H ₂ N	Gly218	3.30	
			O2	H ₂ N	Ile219	3.30	
			O2	H ₂ N	Gly220	3.10	
			O2	H ₂ N	Ala217	3.29	STERIC
			O35		Phe182	3.03	
			C21		Gly183	3.05	
			N18		Gly220	3.18	
			C19	/	Cys215	3.13	
			N15		Arg221	2.78	
			N14		Arg221	3.15	
Lref	Ki : 20-22 (nM)	-216.655	O8	H ₂ N	Lys120	2.95	H-BOND
			O8	H ₂ N	Lys120	3.31	
			O4	H ₂ N	Lys116	3.10	
			O3	H ₂ N	Arg221	2.32	
			C25		Gln266	3.15	
			C21		Gly183	2.91	
			C19		Asp265	3.14	

	C20		Thr263	2.96	STERIC
	N17		Thr263	3.17	
	N12	/	Thr263	2.83	
	C41		Lys120	3.10	
	O42		Lys120	3.13	
	O51		Tyr46	2.92	
	C28		Arg221	2.99	
	C30		Arg221	3.08	
	O31		Asp181	3.18	

Le tableau au-dessus montre que les valeurs d'énergie score sont classées dans l'ordre suivant :

$$L_{20} < L_{28} < L_{25} < L_{19} < L_{21}$$

En se basent essentiellement sur les liaisons hydrogènes, En générale on a :

- ✓ $2.5 \text{ \AA} < d < 3.1 \text{ \AA} \Rightarrow$ **Interaction forte**
- ✓ $3.1 \text{ \AA} < d < 3.55 \text{ \AA} \Rightarrow$ **Interaction moyenne**
- ✓ $d > 3.55 \text{ \AA} \Rightarrow$ **Interaction faible [21].**

Les résultats montrent que la majorité des liaisons hydrogène (O1- Arg221 : 2.96 Å, O1- Arg221 : 2.87, O4- Ile219 : 2.60, O4- Gly218 : 2.90 Å et S1- Gly183 : 3.33 Å) de ligand L₂₀ appartient à l'intervalle des interactions fortes. Par contre dans le ligand L₂₈ on trouve que la plupart des liaisons (O1-Gly183 : 2.60, N2- Arg221 : 3.32, O2- Gly218 : 3.30, O2- Ile219 : 3.30, O2- Gly220 : 3.10 et O2-Ala217 : 3.29 Å) appartient à l'intervalle des interactions moyennes.

En plus, le nombre des interactions stérique de L₂₀ (7 liaisons) (N15- Asp265 : 2.98, C4-Gly220 : 2.87, O24-Ala217 : 2.72, O24-Ile219 : 2.89, O23-Cys215 : 1.94, O35- Arg221 : 2.94, C37-Asp265 : 3.08 Å) est plus important que le nombre des interactions stérique de L₂₈(6) (voir le tableau III.7).

L'analyse de la structure L₂₀ présente que cette dernière contient un atome lourd (O), or le ligand L₂₈ possède 2 cycles aromatiques (voir le tableau III.2).

La présence des atomes lourds de L₂₀ favorise la formation des interactions hydrogène avec les résidus de site actif.

Les chimistes considèrent que les liaisons covalentes (simple, doubles et triples) sont plus fortes que les liaisons non covalentes (hydrogène, stérique, Van der Waals...) [22].

D'après les résultats obtenus le L₂₀ a une liaison covalente, alors que L₂₈ ne contient pas des liaisons covalentes (Tableau III.6 et figure III.5).

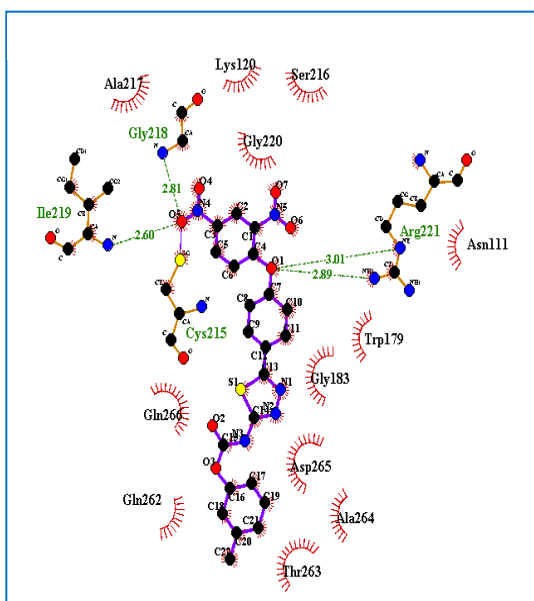
En générale, l'augmentation de la surface moléculaire (SAG) en accord avec l'augmentation de IC₅₀ (expérimentale) des ligands étudiées. Ceci justifiée par la majorité des cas (Voir les Tableaux III.4 et Tableau III.6).

Il ressort d'après l'examen de tableau III.6 que les ligands L₂₀ (IC₅₀ = 3.75 µM) et L₂₈ (IC₅₀ = 3.20µM) ont des faibles valeurs de IC₅₀ mais avec des meilleures énergies de Score.

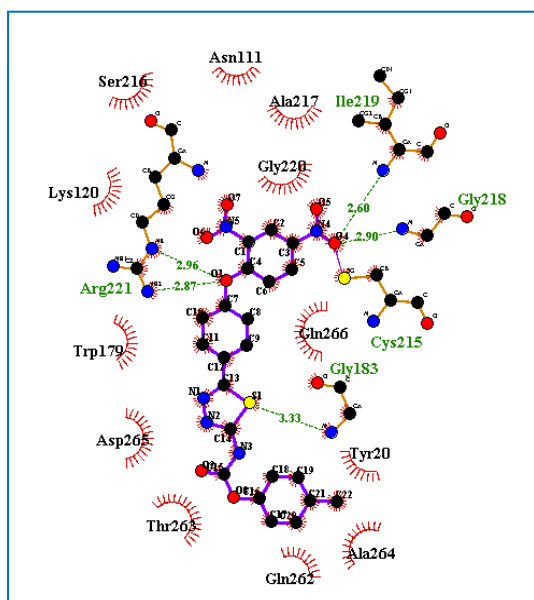
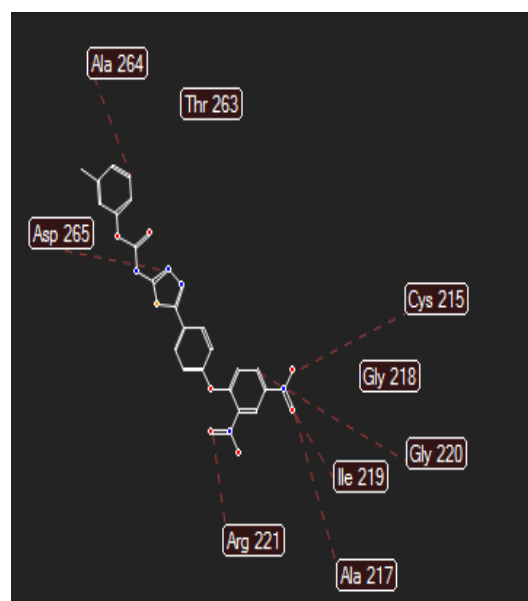
Par contre le ligand L₂₅ (IC₅₀ = 1.36 µM) possède une très faible valeur de IC₅₀ mais avec une valeur légèrement élevée de l'énergie de score par rapport aux L₂₀ et L₂₈.

Sur la base des résultats obtenus, nous remarquons qu'il n'y a pas une relation entre le IC₅₀ et l'énergie score obtenue au cours d'un calcul de docking moléculaire car les travaux de Seifert et al [23] confirment que le IC₅₀ mesure une activité des ligands et l'énergie score donne l'affinité entre le récepteur et le ligand.

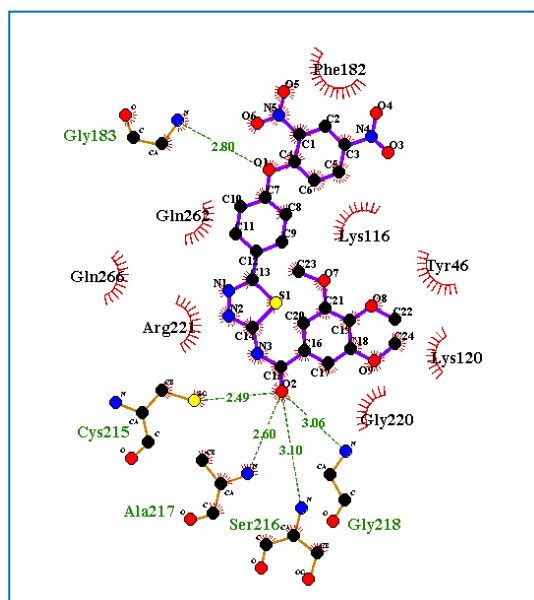
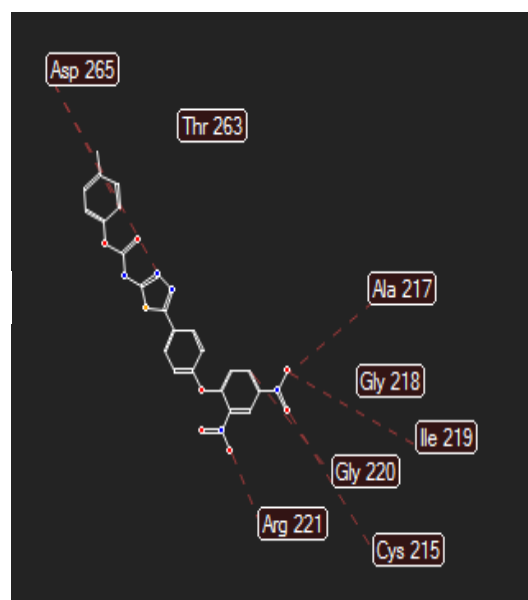
En conclure que Le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique. Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité. Il n'est donc pas réaliste de corréler une activité mesurée avec la valeur d'un score. Une mauvaise corrélation entre les affinités expérimentales et les scores ne signifie pas pour au tant que la fonction de scoring est mauvaise.



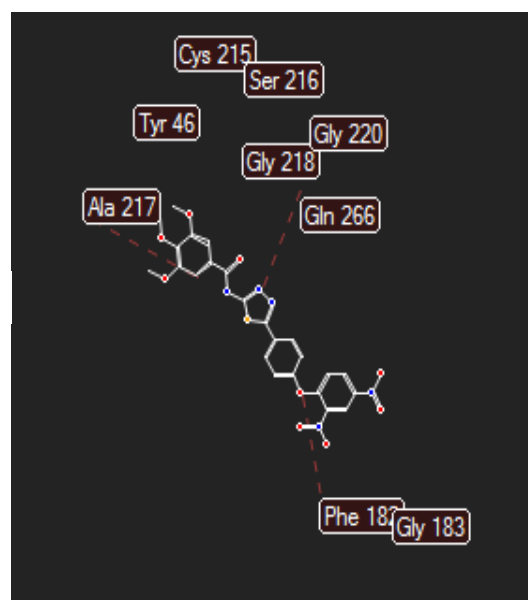
L19



L20



L21



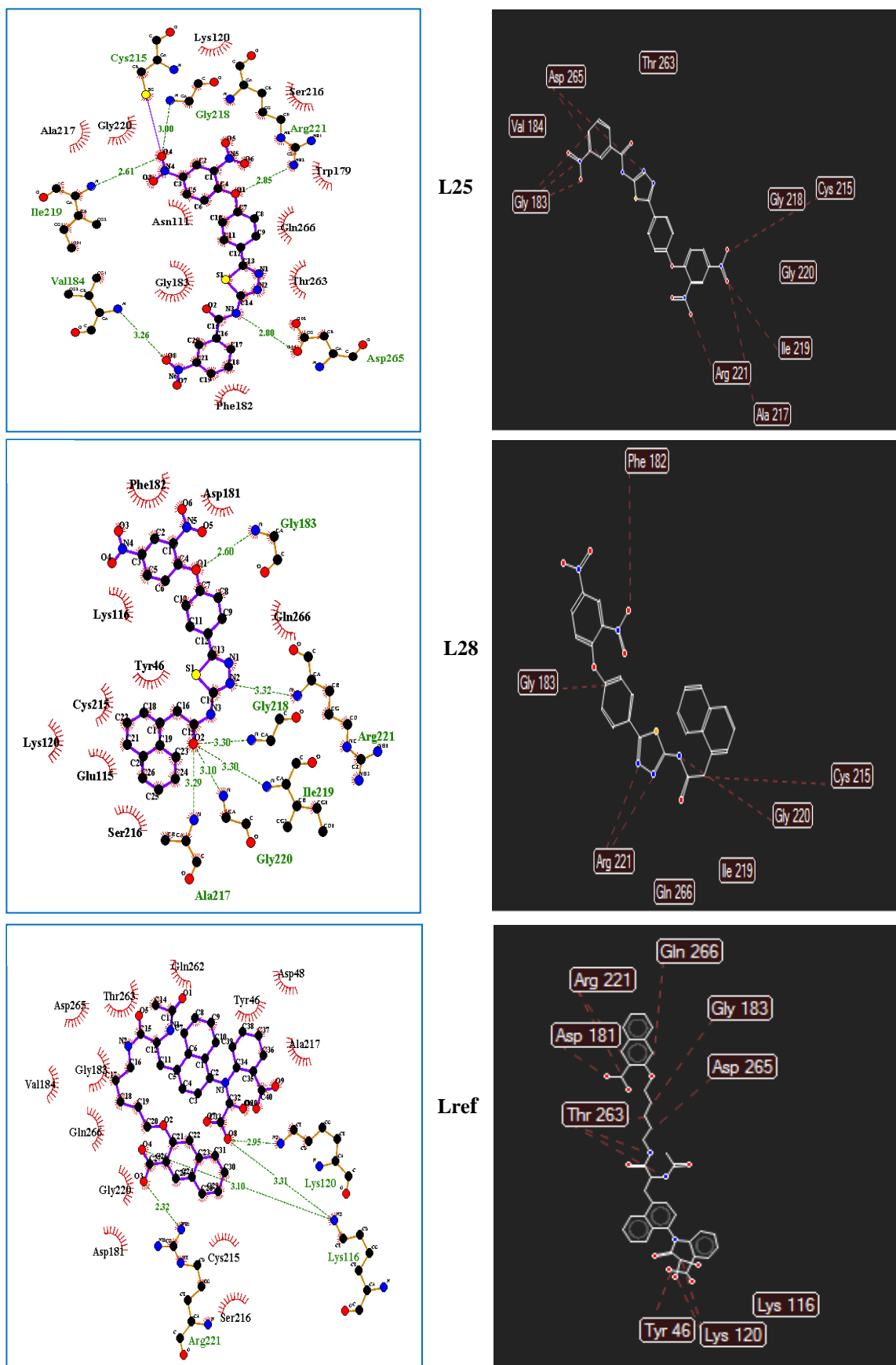


Figure III.5. Interactions entre les ligands L19, L20, L21, L25, L28 et Lref et les résidus du site actif basées sur le calcul de l'énergie Mol Dock Score en utilisant le programme Ligplot+ et

D'après les figures ci-dessus les acides aminés (Arg221, Cys215) sont sélectionnés comme des résidus actifs dans le cas des interactions hydrogènes.

D'autre part les acides aminés (Arg221, Cys215, Asp265) sont aussi joués un rôle important dans la formation des résidus de site actif dans le cas des interactions stériques.

En se basant sur les résultats de Lref, le résidu : Arg221 est la clé principale des 2 interactions (Hydrogènes, stériques).

En plus la formation de la liaison covalente entre Cys 215 et (atome de soufre) et les ligands **L19**, **L20** et **L25** justifié une bonne fixation de ces ligands avec l'atome de soufre et par la suite la formation d'une complexe stable (stabilité maximale).

Comme on a déjà cité par avant cette liaison peut provoquer une toxicité a cause de la présence de soufre et a une dissociation difficile du complexe E-S.

En fin on peut citer que le ligand **L20** possède l'énergie la plus basse (-158.768 kcal/mol) (Tableau III.6). Ainsi qu'un nombre important des liaisons (hydrogène, stérique) et la stabilité du complexe E- L20 est observé à cause de la présence de la liaison covalente.

III.3.2. Propriétés ADME

Les résultats obtenus à partir d'un calcul ADME des 5 meilleurs ligands sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau III.7. Les résultats obtenus à partir d'un calcul ADME des 5 meilleurs ligands.

Entrée	ABS	MM g/mol	Log P	n-ON accepteur	n-OHNH donneur	Violations Lipinski
Rule	-	<500	≤5	<10	<5	≤1
L19	Low	493.45	1.74	9	1	1
L20	Low	493.45	1.74	9	1	1
L21	Low	553.50	0.40	11	1	2
L25	Low	508.42	0.70	10	1	2
L28	Low	527.51	2.08	8	1	2

ABS: absorption. **MM:** masse molaire, **Log P:** algorithme du coefficient de partage du composés entre n-octanol et l'eau, **n-ON accepteur:** nombre de liaison d'accepteur d'hydrogène, **n-OHNH donneur:** nombre de liaison de donneur d'hydrogène

Une étude computationnelle de cinq composés les plus actifs a été réalisée pour évaluer les propriétés d'ADME et les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau ci-dessus.

Les résultats présentés dans le tableau III.7 ont révélé que tous les ligands avaient une faible absorption.

On peut également observer que L21, L25 et L28 ne respectent pas la règle de Lipinski, suggérant que ces composés peuvent être causés de problèmes de biodisponibilité orale.

D'autre part, nous remarquons que les deux ligands L19 et L20 sont en accord avec la règle de Lipinski, on peut donc concéder que ces ligands peuvent être des bons médicaments au futur.

III.4. Références

- [1] JG .Robertson., Enzymes as a special class of therapeutic target: Clinical drugs and modes of action, *Curr Opin Struct Biol* 17(6):674–679, **2007**.
- [2] JG. Robertson., Mechanistic basis of enzyme-targeted drugs., *Biochemistry* 44(24):8918– 8918., **2005**.
- [3] T. Doane., C .Burda., Nanoparticle mediated non-covalent drug delivery., *Adv Drug Deliv Rev* 65(5):607–621, **2013**.
- [4] NK. Jain., U. Gupta., Application of dendrimer-drug complexation in the enhancement of drug solubility and bioavailability, *Exp Opin Drug Metab Toxicol* 4(8):1035–1052, **2008**.
- [5] AS. Kalgutkar., DK. Dalvie., Drug discovery for a new generation of covalent drugs., *Expert Opin Drug Discov* 7(7):561–581, **2012**.
- [6] AEF. Nassar. , A. Lopez-Anaya., Strategies for dealing with reactive intermediates in drug discovery and development, *Curr Opin Drug Discov Dev* 7(1):126–136, **2004**.
- [7] Y. Pommier., Drugging topoisomerases: Lessons and challenges, *ACS Chem Biol* 8(1):82–95, **2013**.
- [8] SF. Zhou., E. Chan., W. Duan. , M. Huang. , YZ .Chen. Drug bioactivation, covalent binding to target proteins and toxicity relevance, *Drug Metab Rev* 37(1):41–213, **2005**.
- [9] MK. Hezekiel., B .Soumendranath, M. ESS, Theory and applications of covalent docking in drug discovery: Merits and pitfalls, *Molecules* 20(2):1984–2000, **2015**.
- [10] G .Young-Mi., DC .Joshua., PJ .Dean, The cysteine proteome, *Free Radical Biol Med* 84:227–245, **2015**.
- [11] <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3QT2>.
- [12] B.G., Szczepankiewicz. , G, Liu., P.J, Hajduk., C, Abad-Zapatero., Z ,Pei., Z, Xin., T, Lubben., J.M, Trevillyan., M.A, Stashko., S.J, Ballaron., H, Liang., F, Huang., C.W, Hutchins., S.W, Fesik., M.R, Jirousek., *Potent, Selective Protein Tyrosine Phosphatase*

- 1B Inhibitor Compound 23 Using a Linked-Fragment Strategy.*, 10., **2003.**
- [13] Molegro Virtual Docker v. 5.1. Molegro ApS. Aarhus, Denmark, **2012.**
- [14] F.F. da Cunha. Elaine. , F.B. Edilaine. , A. Aline. .:« Molecular Modeling of Mycobacterium Tuberculosis DNA Gyrase and its Molecular Docking Study with Gatifloxacin Inhibitors », *J. Biom. Struct Dyn.*, 27., 619–625, **2010.**
- [15] Li, Yingjun. , Yu, Yang ., Jin, Kun. , Gao, Lixin. , Luo, Tongchuan, Li, Sheng. , Xin Shao , Li, Jia ., Synthesis and biological evaluation of novel thiadiazole amides as potent Cdc25B and PTP1B inhibitors., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* , 24., 4125–4128., **2014.**
- [16] Hyperchem 8.0, Hypercube Inc.
- [17] L.A. Curtiss. , C. Jones, G.W. Trucks. , K. Raghavachari. , J.A. Pople. , « Gaussian-1 theory of molecular energies for second-row compounds », *J. Chem. Phys.*, 93. , 2537–2545. , **1990.**
- [18] C.A, Lipinski. F, Lombardo. , B.W, Dominy. , P.J, Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 46., 3–26. **2001.**
- [19] Molegro Virtual Docker v. 5.1. Molegro ApS. Aarhus, Denmark, **2012.**
- [20] L. Simon., A.Imane., KK.Srinivasan. , L.Pathak, I. Daoud., « In Silico Drug-Designing Studies on Flavanoids as Anticancer Agents: Pharmacophore Mapping, Molecular Docking, and Monte Carlo Method-Based QSAR Modeling” *Interdiscip Sci Comput Life Sci*, 9(3):445-458, **2017.**
- [21] A.Imberty, K.D. Hardman, J.P. Carver, S. Pérez: « Molecular of protein carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A », *Glycobiology*, 1, 631–642. **1991.**
- [22] M. Berg, Jeremy. L Tymoczko. , John., and L, Stryer. “Biochemistry”, 5th edition New York: W H Freeman; **2002.**

[23] M. H. J. Seifert., Assessing the Discriminatory Power of Scoring Functions for Virtual Screening. *J. Chem. Inf. Model* 46:1456-1465. DOI: 10.1021/ci060027n. , **2006**.

Conclusion Générale

Le travail présenté dans ce mémoire concerne principalement l'utilisation de plusieurs approches théoriques de la modélisation moléculaire dans le cadre de la découverte de nouveaux inhibiteurs (médicaments).

La modélisation moléculaire et le criblage virtuel sont des domaines de la chimie qui exigent une interaction très forte avec différents domaines afin de relier les résultats obtenus *in silico* avec des données expérimentales, Cette synergie entre les approches théoriques et expérimentales est déterminante pour une évolution idéale des connaissances en biologie, pharmacie, chimie et médecine.

En premier temps, nous avons testé la performance des trois logiciels : Hyper Chem (Version 7.0), MVD 2012-5.5.0 et un SWISSADME.

Notre intérêt a été porté sur l'étude des interactions entre l'enzyme de PTP1B (une enzyme qui provoqué la maladie de diabète type2) et une nouvelle classe des dérivés de thiadiazole amide, pour :

- Mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de cet enzyme.
- Voir l'affinité entre ces molécules et l'enzyme en question.

La discussion basée sur : le calcul de l'énergie d'interaction Mol Dock Score, les différents types d'interactions (distances) existantes entre les dérivés de thiadiazole amide et les résidus du site actif de la PTP1B, ainsi que la méthode ADME qui est appelé la règle de Lipinski pour filtrer les molécules étudiées. Ces deux paramètres sont utilisés pour expliquer la formation des complexes (Enzyme-substrat), et par la suite la fixation des ligands au niveau du site actif de PTP1B.

Les résultats décrits obtenus montrent que les ligands : **L19**, **L20** et **L21** possèdent des valeurs d'angles de torsion importants par rapport aux autres ligands, ceci confirme que ces ligands sont plus flexibles et par la suite ils peuvent établir plusieurs conformations au sein de site actif afin de former le complexe le plus stable (meilleure pose).

Nous pouvons remarquer clairement ici, que les ligands **L26** et **L25** ont une valeur d'énergie d'hydratation(EH) élevée par rapport aux autres ligands. Cette dernière diminue avec l'augmentation des groupements hydrophobes contrairement aux groupements hydrophiles ils augmentent cette énergie.

Conclusion Générale

Nos études ont révélé que, Les ligands **L₂** et **L₃** ont une valeur importante de log p (-0.12), cette dernière augmente relativement avec le caractère d'hydrophobicité des substituant.

En fin, et d'après l'analyse des résultats obtenus, nous pouvons constater que les deux ligands **L₁₉** et **L₂₀** ont des faibles valeurs d'énergies score, de nombre d'interaction important (Hydrogène et stérique) ainsi qu'ils sont respectés la règle de Lipinski, donc ils peuvent être les concéder probablement comme des bons inhibiteurs (médicaments) pour traiter cette maladie (diabète) au futur.

Annexe

Ligands	IC ₅₀ value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liens entre les atomes de ligands et les résidus de site actif				
			Atome du Ligand	Récepteur impliqué Atomes	Récepteur impliqué résidus	Distance (Å)	Type d'interaction
L1	4.14	-128.167	O4	H ₂ N	Ala217	2.90	H-BOND
			O ₀	H ₂ N	Ile219	2.64	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.90	
			N3	HO	Asp265	2.66	covalente
			O ₀	HS	Cys215	/	
			N15	/	Asp265	2.82	STERIC
			N15		Asp265	3.13	
			N18		Asp265	3.14	
			O29		Ala217	2.99	
			O29		Ala217	3.15	
			O29		Ala217	2.63	
O28	Cys215	2.00					
L2	3.48	-115.795	O3	H ₂ N	Ile219	2.66	H-BOND
			O4	H ₂ N	Ala217	3.00	
			O3	H ₂ N	Arg221	3.32	
			O1	H ₂ N	Arg221	3.04	covalente
			O3	HS	Cys215	/	
			N18	/	Asp265	3.07	STERIC
			N15		Asp265	2.89	
			O24		Cys215	2.01	
			O24		Gly218	3.15	
			O23		Ile219	2.82	
			O23		Ala217	2.66	
C4	Gly220	3.13					
L3	8.26	-132.537	O4	H ₂ N	Gly218	2.62	H-BOND
			O4	H ₂ N	Ile219	2.60	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.99	
			O4	HS	Cys215	/	covalente
			C19	/	Asp265	3.18	STERIC
			O29		Ala217	3.07	
			O29		Ala217	2.68	
			O28		Cys215	2.04	
C1	Gly220	3.18					
L4	5.88	-148.006	O4	H ₂ N	Gln21	2.63	H-BOND
			O5	H ₂ N	Gln21	2.80	
			O4	H ₂ N	Arg24	2.60	
			N3	H ₂ N	Arg221	3.11	
			N3	H ₂ N	Ile219	2.75	
			N3	H ₂ N	Gly220	2.61	
			N3	H ₂ N	Cys215	3.06	
			O2	H ₂ N	Gly218	3.13	
			O2	H ₂ N	Ala217	2.71	STERIC
			C35	/	Ser216	3.05	
			C34		Ser216	3.13	
C19	Cys215	3.12					
N18	Cys215	3.06					
N18	Arg221	3.11					

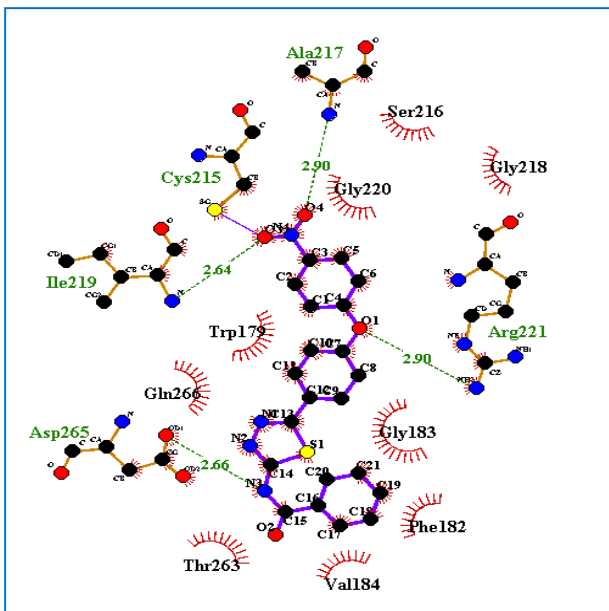
			C5		Gln262	3.16	
			C10		Thr263	2.24	
			C11		Thr263	2.79	
L5	4.07	-152.560	O1	H ₂ N	Gly183	2.54	H-BOND
			N1	H ₂ N	Gln266	2.61	
			N2	H ₂ N	Arg221	3.02	
			O2	H ₂ N	Gly220	2.60	
			O2	H ₂ N	Ile219	2.62	
			O2	H ₂ N	Gly218	3.01	
			O3	H ₂ N	Ser216	2.96	
			O3	H ₂ N	Ala217	2.79	
			N14	/	Arg221	3.11	STERIC
			C19		Cys215	3.04	
L6	6.24	-142.984	O1	H ₂ N	Gly183	2.60	H-BOND
			O2	HS	Cys215	2.60	
			O2	H ₂ N	Ala217	2.97	STERIC
			N15	/	Arg221	3.36	
			N14		Arg221	3.12	
			C7		Gly183	3.14	
			C36		Ser216	3.20	
			C38		Lys120	3.14	
L7	7.47	-138.110	O1	H ₂ N	Gly183	2.60	H-BOND
			N2	H ₂ N	Arg221	3.14	
			O2	HS	Cys215	2.59	
			O2	H ₂ N	Ala217	2.89	STERIC
			N14	/	Arg221	3.11	
			N15		Arg221	2.57	
			C13		Gln266	3.18	
			C1		Phe182	2.97	
			C7		Gly183	2.99	
			C24		Lys120	2.99	
L8	8.75	-135.429	O2	H ₂ N	Gly220	2.85	H-BOND
			O2	HS	Cys215	3.11	
			C22	/	Cys215	3.06	STERIC
			N18		Gly220	3.10	
			C13		Gln266	2.90	
			C10		Thr263	3.12	
L9	4.25	-144.345	O1	H ₂ N	Gly183	2.83	H-BOND
			N1	H ₂ N	Gln266	2.60	
			N2	H ₂ N	Arg221	3.19	
			O2	H ₂ N	Gly218	3.25	
			O2	H ₂ N	Ala217	2.79	
			O2	HS	Cys215	2.69	
			N14	/	Arg221	3.19	
			C13		Gln266	2.60	
			N15		Arg221	3.09	STERIC
			C25		Ser216	3.18	
			C26		Ser216	3.18	
			C24		Lys120	3.12	
L10	0.85	-140.839	O3	H ₂ N	Gly218	2.99	
			O3	H ₂ N	Ile219	2.60	

			O3	HS	Cys215	2.71	H-BOND
			O3	H ₂ N	Gly220	2.61	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.60	
			O1	H ₂ N	Arg221	3.16	
			O5	H ₂ N	Val184	2.86	
			C13	/	Gly183	3.19	STERIC
			C9		Gly183	3.08	
			O29		Ala217	2.45	
			C1		Gly220	2.86	
			C0		Gln266	2.89	
			C3		Arg221	3.17	
			C25		Asp265	3.04	
			C26		Gly183	3.10	
L11	1.67	-134.728	O1	HO	Thr263	3.23	H-BOND
			O5	H ₂ N	Arg221	2.59	
			O6	H ₂ N	Ile219	2.98	
			O6	H ₂ N	Gly218	2.65	
			O6	H ₂ N	Ala217	3.03	
			C5	/	Gly183	2.53	STERIC
			C0		Thr263	3.14	
			O44		Gly220	3.15	
L12	4.63	-134.773	O1	HO	Thr263	2.98	H-BOND
			O2	H ₂ N	Gly218	3.11	
			O2	H ₂ N	Ala217	2.60	
			O2	H ₂ N	Ser216	2.98	
			O2	HS	Cys215	2.43	
			C8	/	Gly183	2.82	STERIC
			C0		Gly183	2.56	
			C12		Gln266	3.16	
L13	4.20	-129.135	O1	H ₂ N	Gly183	2.60	H-BOND
			N2	H ₂ N	Arg221	3.27	
			O2	HS	Cys215	2.58	
			O2	H ₂ N	Gly218	2.81	
			O2	H ₂ N	Ala217	3.18	
			C36	/	Cys215	3.20	STERIC
			C1		Phe182	3.10	
			C35		Ser216	3.04	
			C34		Ser216	3.09	
L14	5.44	-136.364	O1	H ₂ N	Gly183	2.76	H-BOND
			N2	H ₂ N	Arg221	3.11	
			O2	H ₂ N	Ile219	3.30	
			O2	H ₂ N	Gly220	3.10	
			O2	H ₂ N	Gly218	3.32	
			O2	H ₂ N	Ala217	3.29	STERIC
			C38	/	Glu115	3.03	
			C39		Lys120	3.13	
			N18		Gly220	3.04	
			N18		Gly220	2.84	
			N14		Arg221	3.11	
			N15		Arg221	2.95	
			O6		Ph182	2.89	
L15	3.63	-147.078	O1	H ₂ N	Gly183	2.63	
			N1	HN	Arg221	2.93	

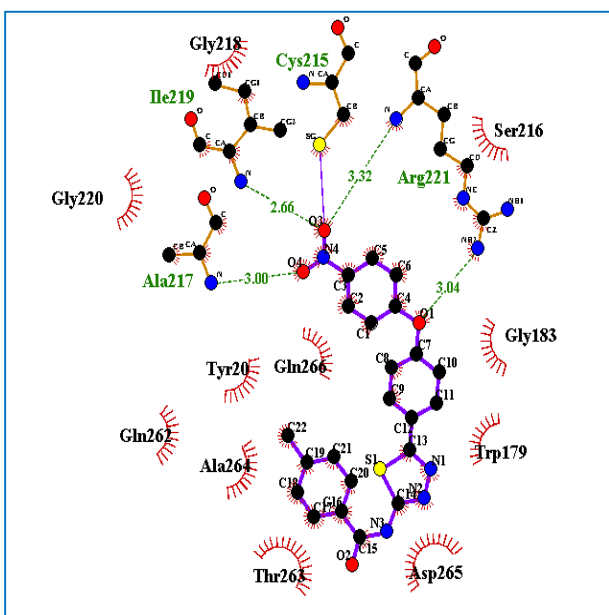
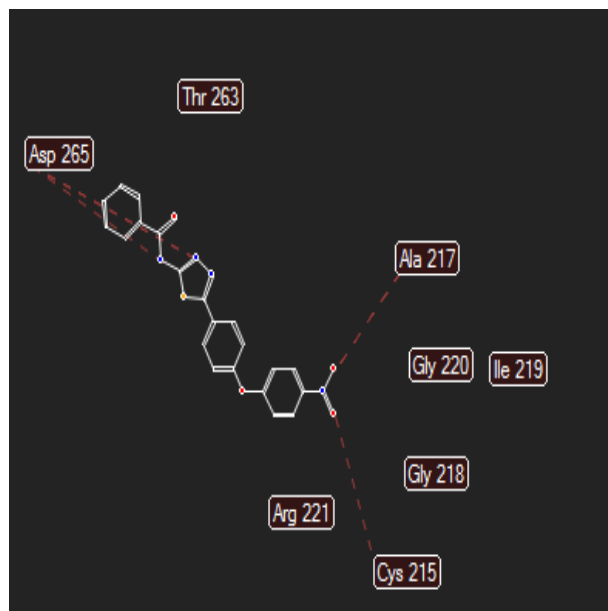
			N2	H ₂ N	Arg221	3.27	H-BOND
			O2	H ₂ N	Gly218	3.14	
			O2	H ₂ N	Ile219	3.19	
			O2	H ₂ N	Gly220	3.10	
			O2	H ₂ N	Ala217	3.25	
			N18	/	Gly220	3.10	STERIC
			C41		Arg221	2.71	
			C19		Cys215	3.16	
			N14		Arg221	3.27	
			N15		Arg221	2.93	
			C7		Gly183	3.09	
			C4		Lys116	2.86	
L16	4.03	-146.153	O3	H ₂ N	Arg221	3.33	H-BOND
			O3	H ₂ N	Ile219	2.66	
			O4	H ₂ N	Ala217	3.12	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.85	
			S	H ₂ N	Gly183	3.31	
			O3	HS	Cys215	/	covalente
			C19	/	Asp265	3.19	STERIC
			O29		Ala217	3.15	
			O29		Ala217	2.70	
			O28		Cys215	2.06	
			O44		Arg221	3.00	
L17	5.14	-145.509	O3	H ₂ N	Ile219	2.60	H-BOND
			O3	H ₂ N	Gly218	3.18	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.85	
			O3	HS	Cys215	/	covalente
			O29	/	Ala217	3.07	STERIC
			O29		Ile219	2.73	
			O28		Cys215	2.14	
			O44		Arg221	2.96	
L18	1.88	-153.135	O1	H ₂ N	Gly183	2.62	H-BOND
			S1	HN	Arg221	2.86	
			N3	H ₂ N	Arg221	2.95	
			N3	HS	Cys215	2.94	
			O3	H ₂ N	Ser216	2.77	
			O3	H ₂ N	Ala217	3.02	
			O2	H ₂ N	Gly218	3.29	
			O2	H ₂ N	Gly220	3.08	
			O2	H ₂ N	Ile219	3.27	
			N17	/	Cys215	2.94	
			C18		Cys215	2.74	
			C36		Ser216	3.09	
			N14		Gly220	3.12	
			O5		Phe182	3.08	
			S16		Arg221	2.86	
			N17		Arg221	2.95	
L22	3.34	-149.578	O3	H ₂ N	Ala217	2.41	H-BOND
			O3	H ₂ N	Gly218	2.31	
			O3	H ₂ N	Ser216	2.90	
			O4	H ₂ N	Ile219	2.63	
			O4	H ₂ N	Gly220	2.60	
			O1	H ₂ N	Arg221	3.11	

			S1	H ₂ N	Gly183	3.04		
			O3	HS	Cys215	/	covalente	
			C22	/	Asp265	3.10	STERIC	
			N15		Asp265	3.01		
			N15		Asp265	3.10		
			C4		Gly220	3.06		
			O29		Ile219	3.35		
			O28		Ala217	3.11		
			O28		Ala217	3.06		
			O28		Cys215	3.20		
			O28		Cys215	2.09		
			C2		Cys215	3.11		
			O43		Glu115	3.07		
			O43		Arg221	2.81		
			C11		Gly183	2.90		
			S17		Gly183	3.04		
L23	1.69	-145.321	O4	H ₂ N	Ile219	2.60	H-BOND	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.96		
			O4	H ₂ N	Gly218	2.78	covalente	
			O4	HS	Cys215	/		
			N15	/	Asp265	3.09	STERIC	
			O29		Cys215	1.97		
			O28		Ile219	2.87		
			O28		Ala217	2.68		
			O43		Arg221	2.96		
L24	4.13	-150.974	O4	H ₂ N	Arg221	3.31	H-BOND	
			O4	H ₂ N	Ile219	2.67		
			O3	H ₂ N	Ala217	3.10	H-BOND	
			O1	H ₂ N	Arg221	2.84		
			O8	H ₂ N	Asp265	3.10	covalente	
			O8	H ₂ N	Ala264	2.64		
			O4	HS	Cys215	/	STERIC	
			O47	/	Thr263	3.00		
			N15		Asp265	3.15		
			C19		Asp265	3.18		
			O47		Asp265	3.10		
			O43		Arg221	2.95		
			O29		Cys215	2.08		
			O28		Ala217	3.14		
			O28		Ala217	2.69		
L26	8.04	-147.264	O3		H ₂ N	Gly218		2.79
			O3		H ₂ N	Ile219	2.60	
			O1	H ₂ N	Arg221	3.04	covalente	
			O3	HS	Cys215	/		
			O29	/	Ala217	2.71	STERIC	
			O29		Ile219	2.90		
			C4		Gly220	3.07		
			O28		Cys215	1.98		
			O44		Arg221	2.90		
L27	1.96	-144.996	O4	H ₂ N	Ile219	2.60	H-BOND	
			O4	H ₂ N	Gly218	2.71		
			O1	H ₂ N	Arg221	3.02	covalente	
			O4	HS	Cys215	/		
			C38		Gly183	2.96		

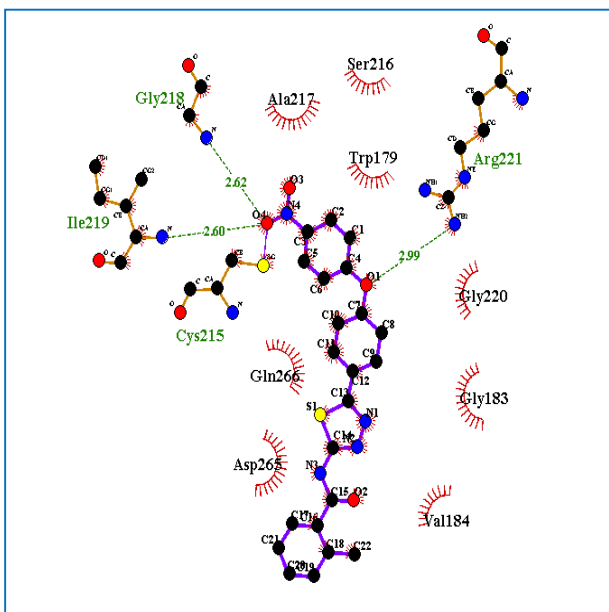
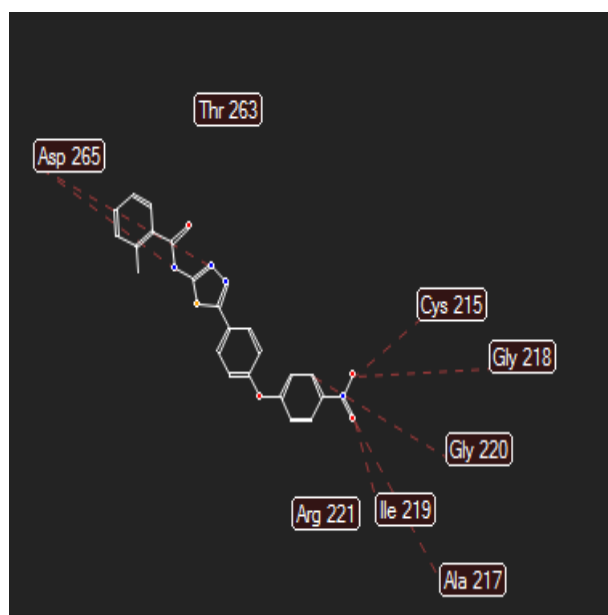
	N15	/	Asp265	2.90	STERIC
	N15		Asp265	3.16	
	C4		Gly220	3.14	
	O23		Cys215	1.93	
	O23		Gly218	3.19	
	O22		Ile219	2.85	
	O22		Ala217	2.70	
	O33		Arg221	2.94	



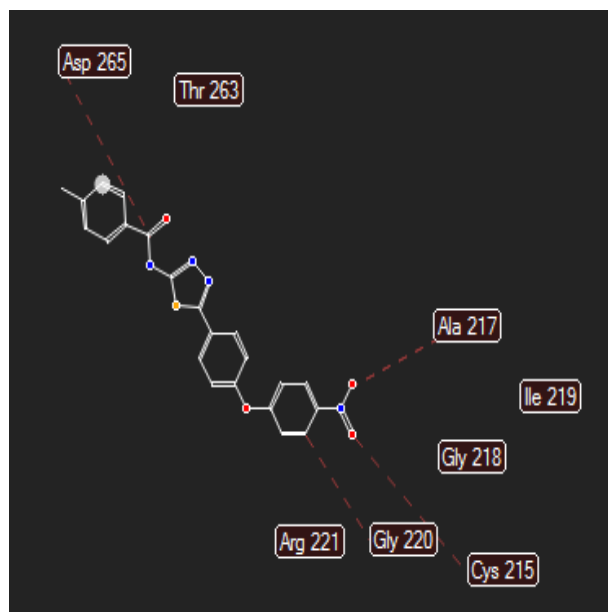
L1

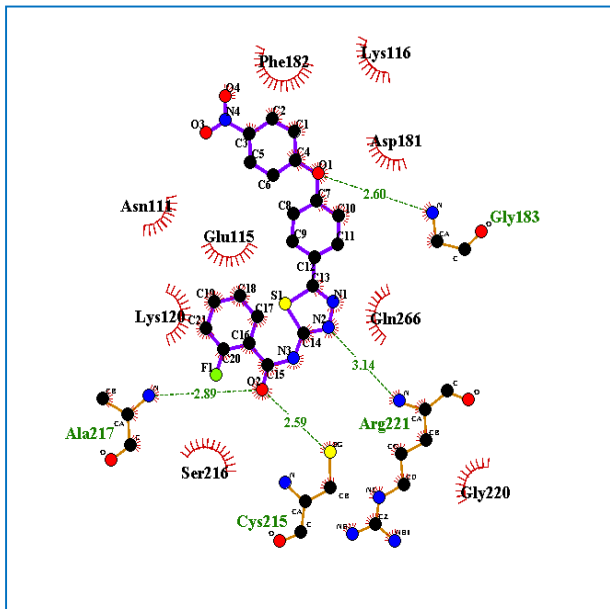


L2

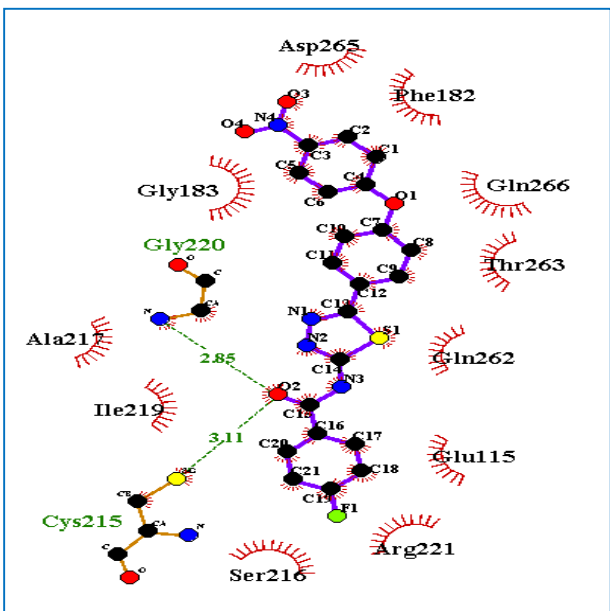
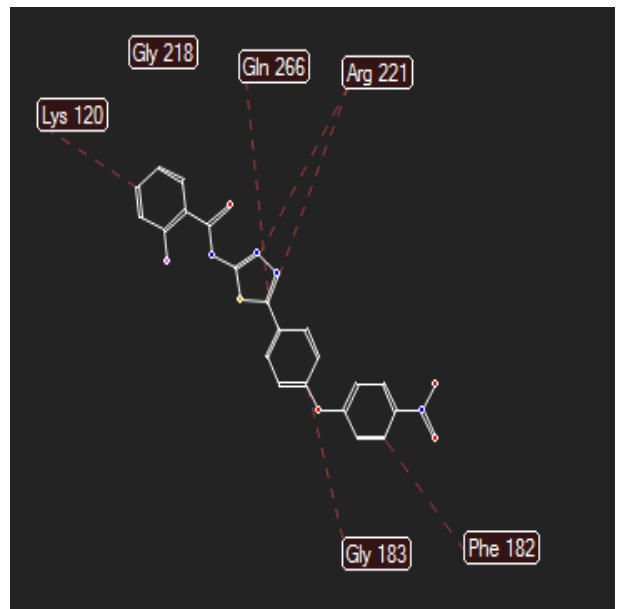


L3

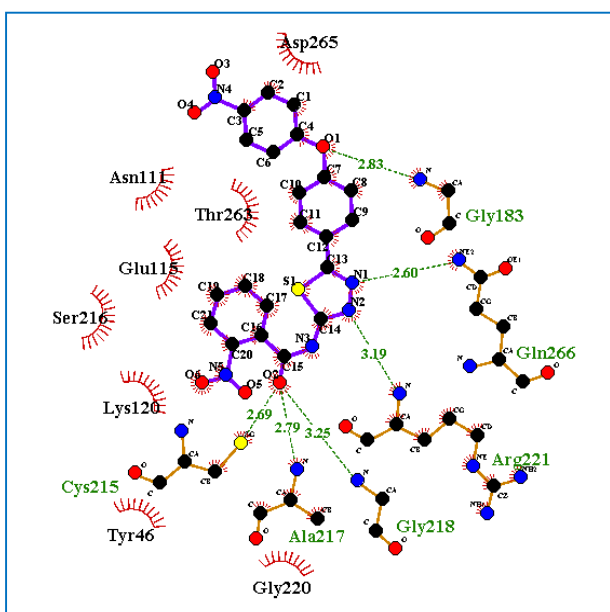
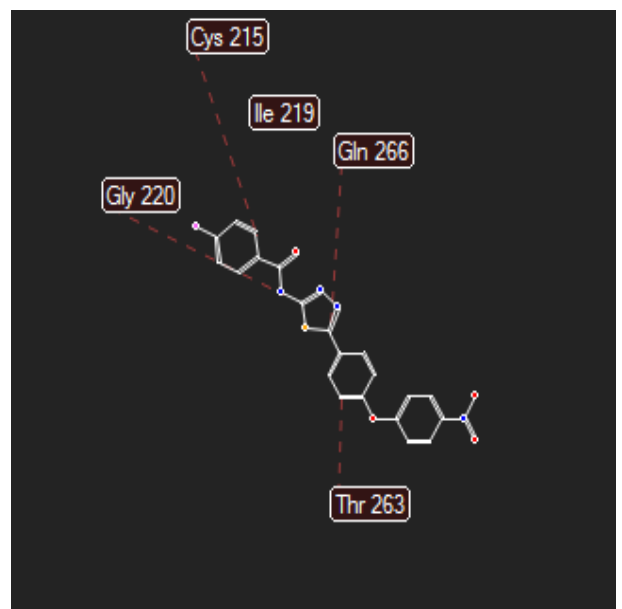




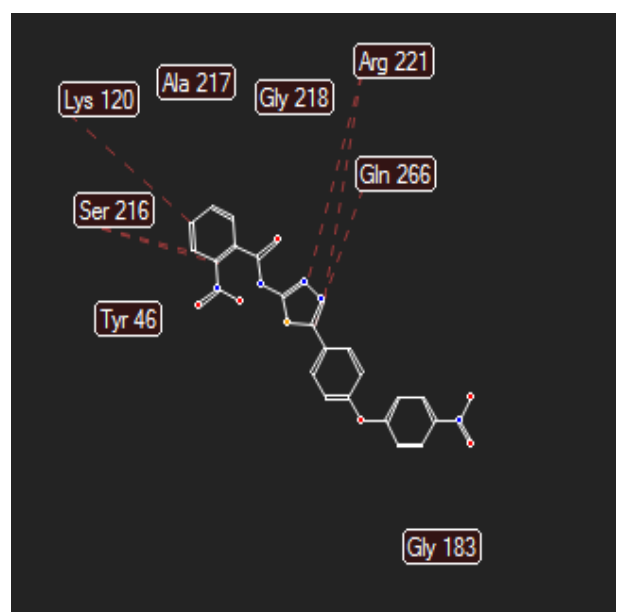
L7

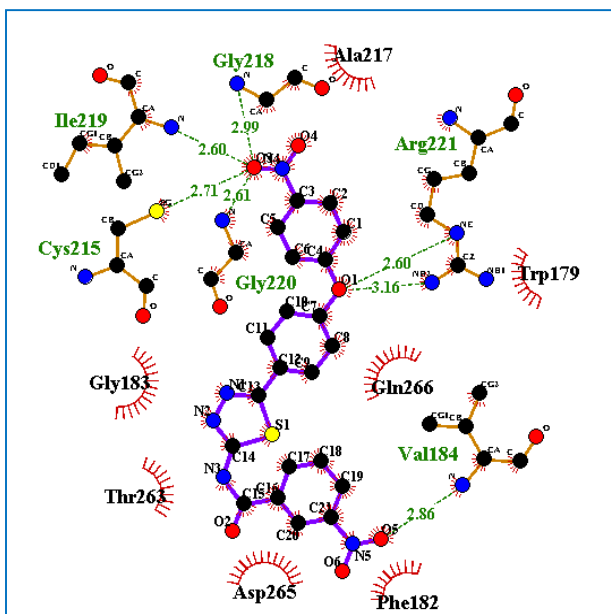


L8

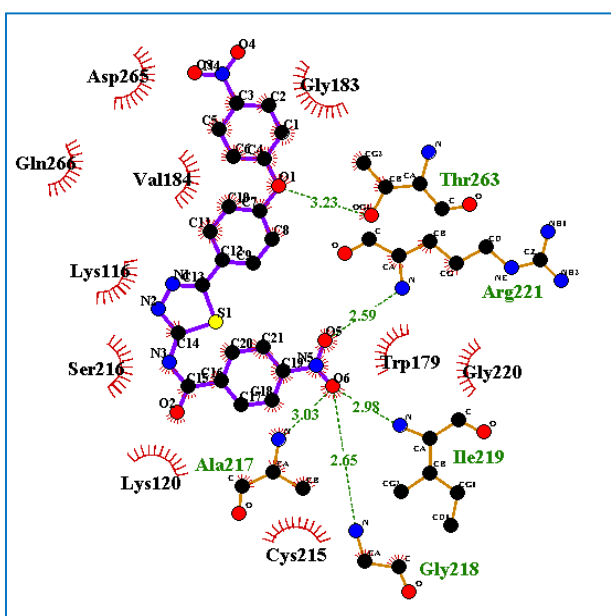
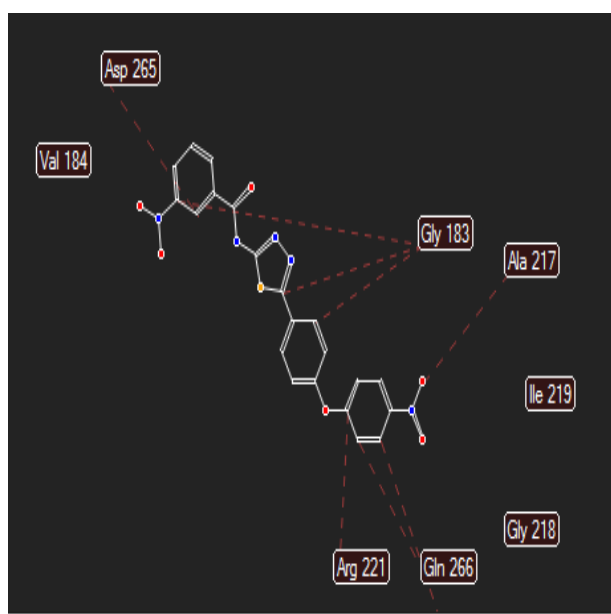


L9

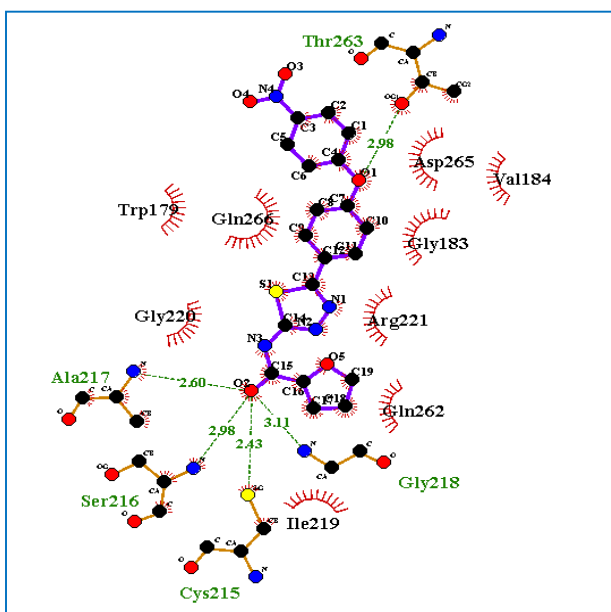
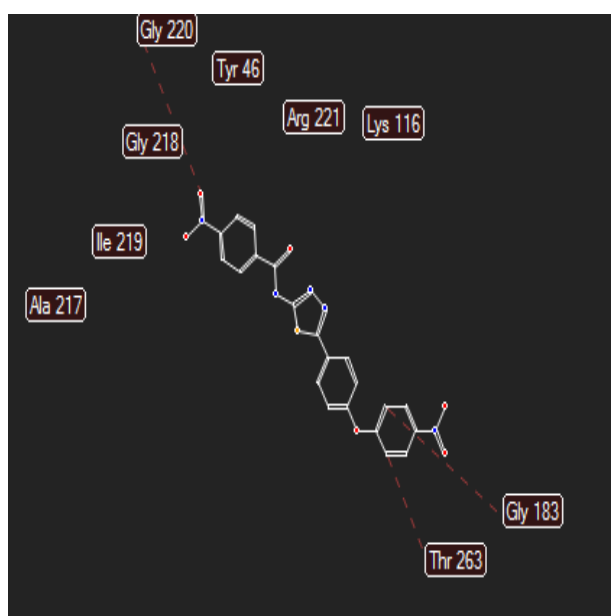




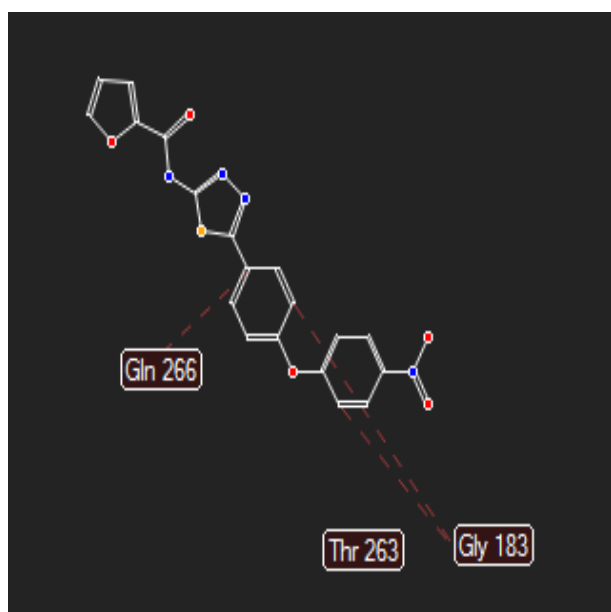
L10

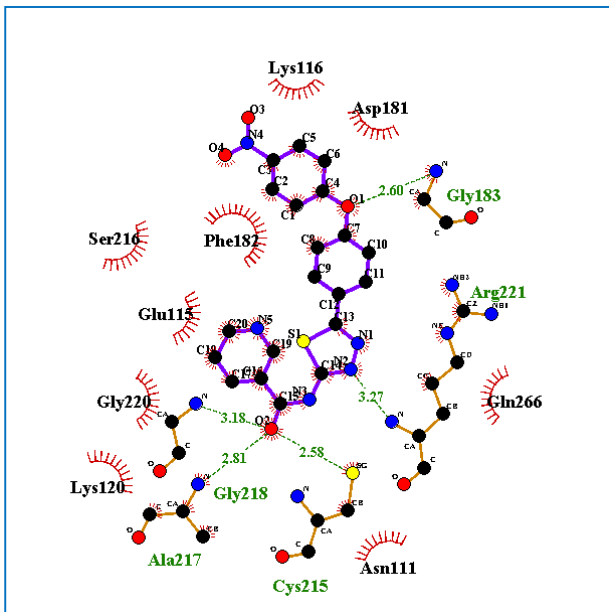


L11

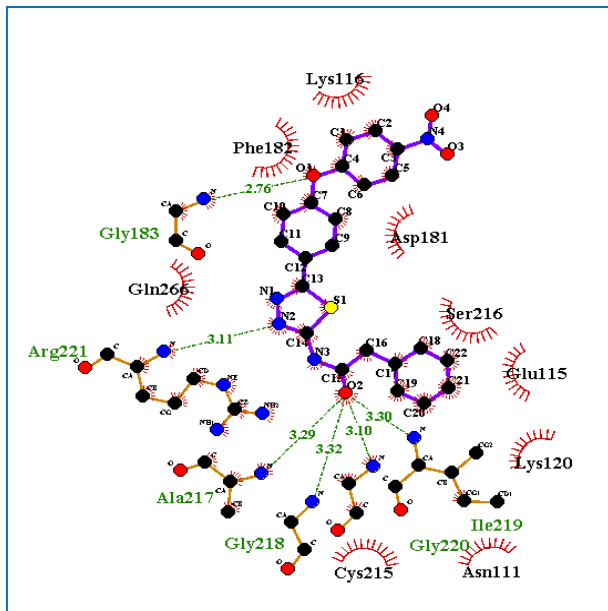
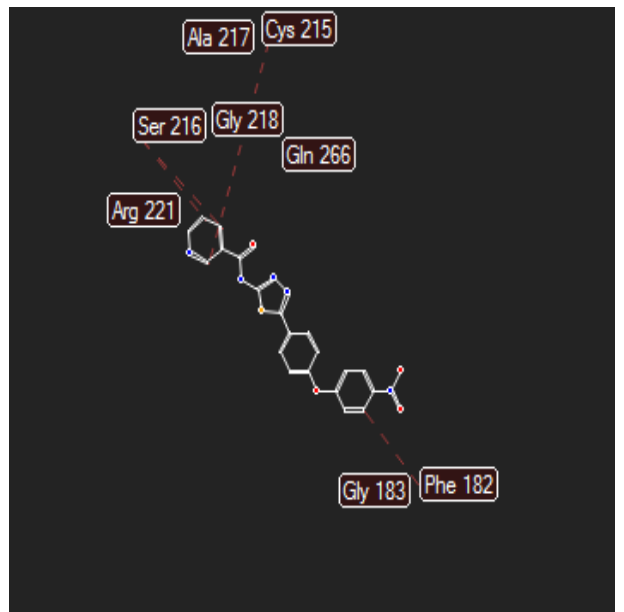


L12

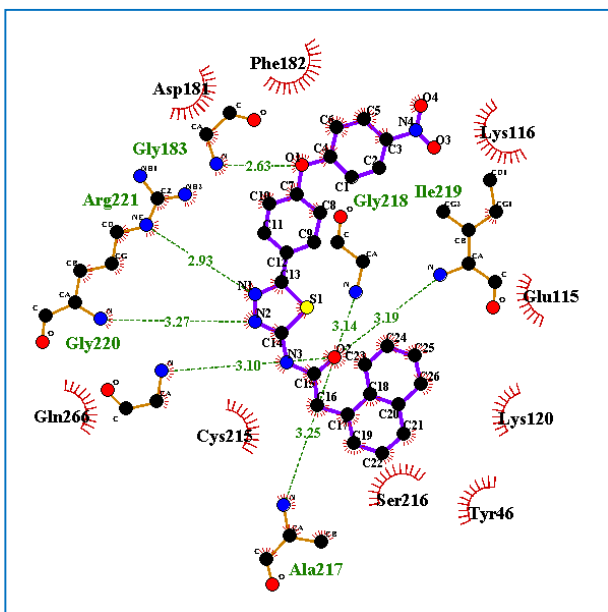
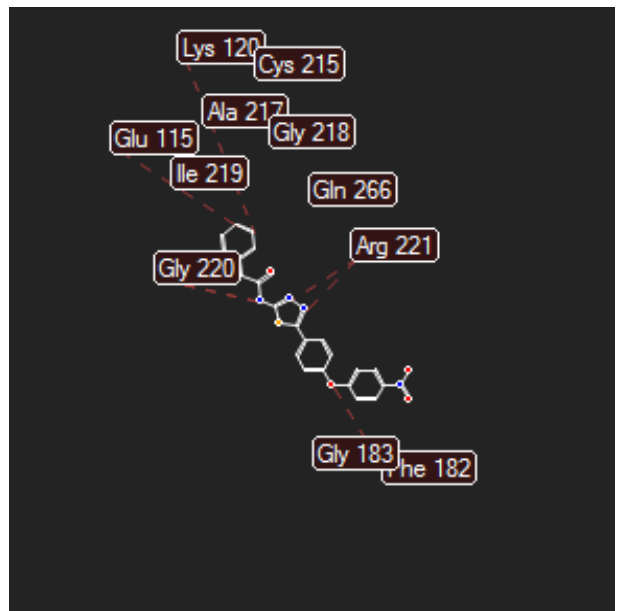




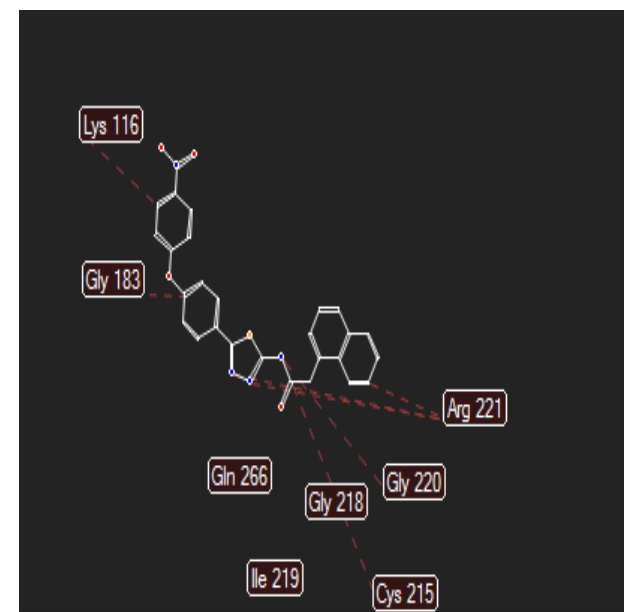
L13

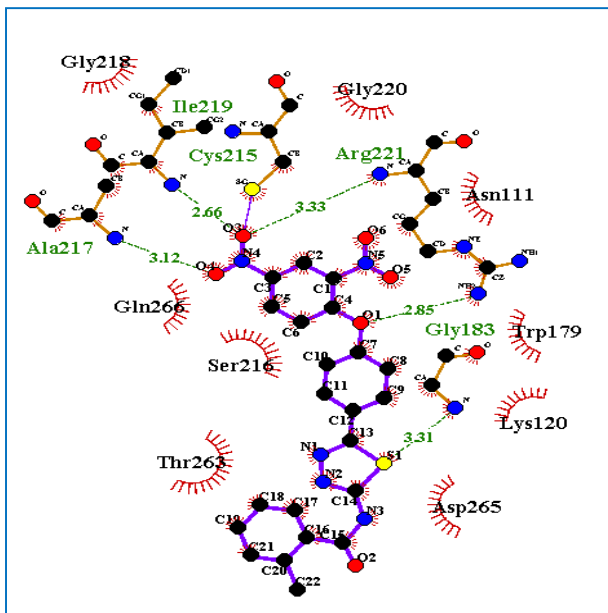


L14

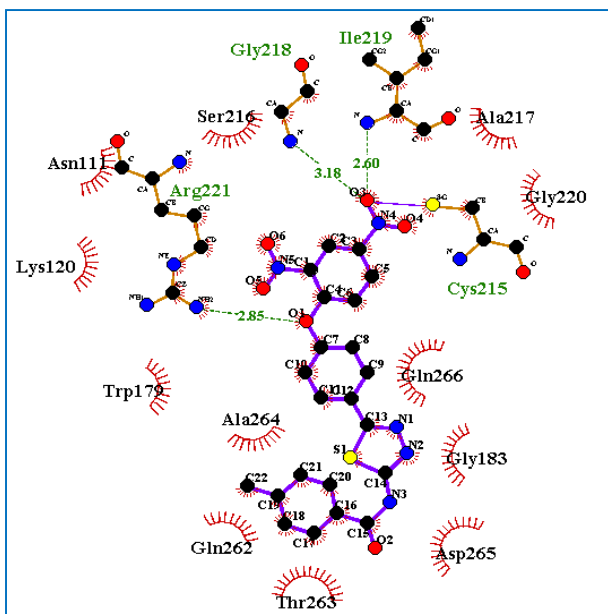
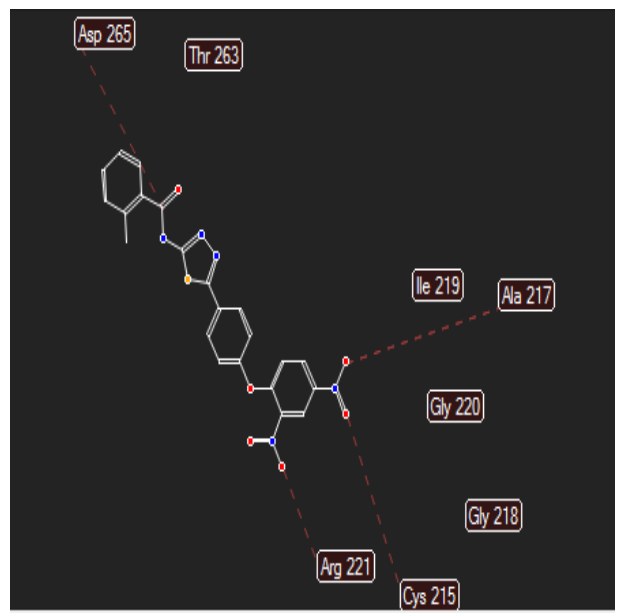


L15

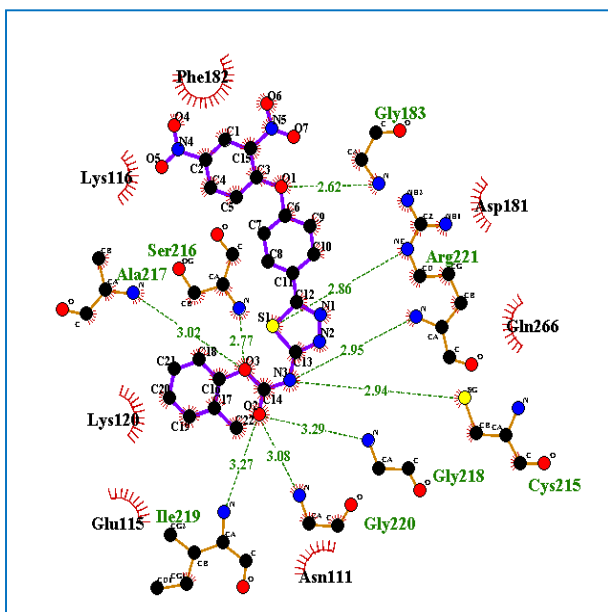
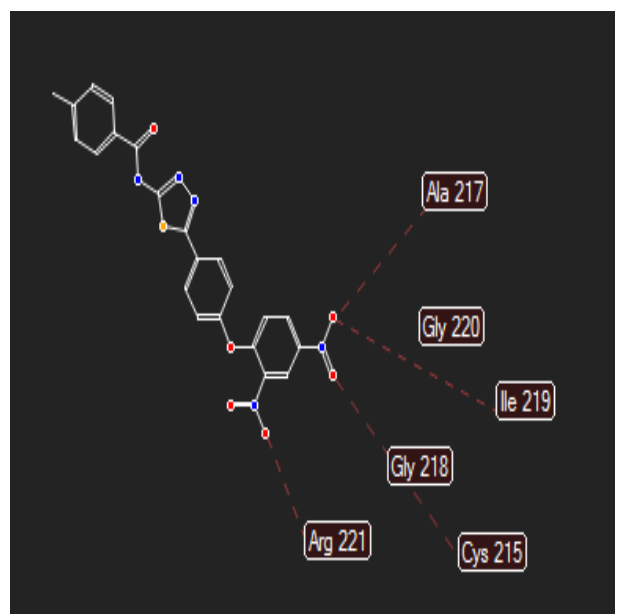




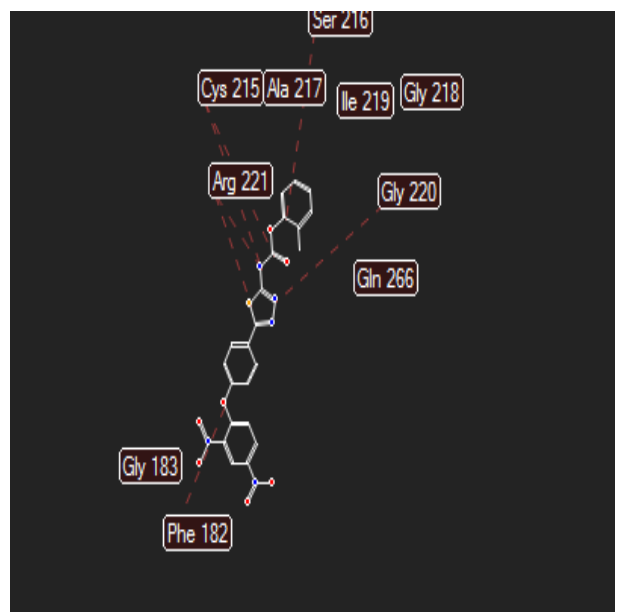
L16

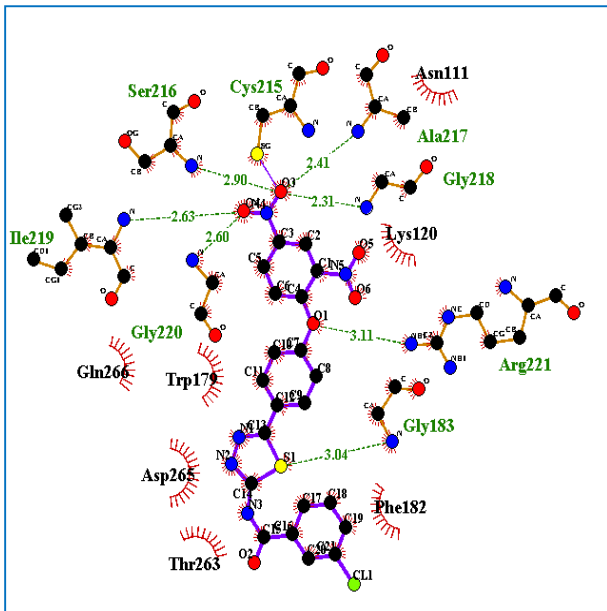


L17

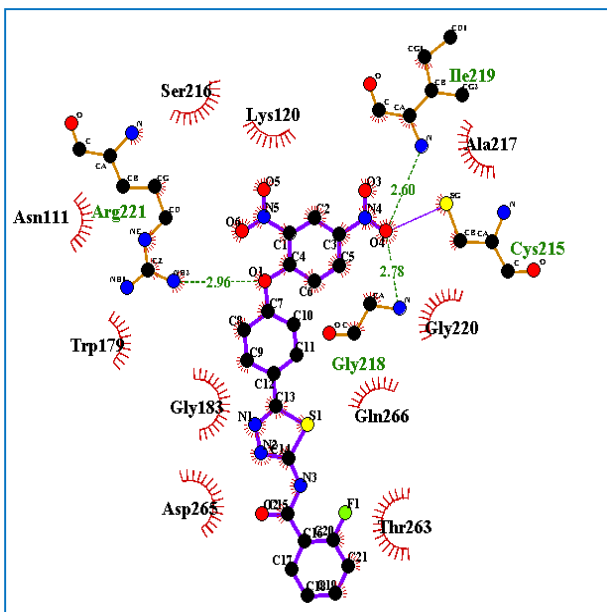
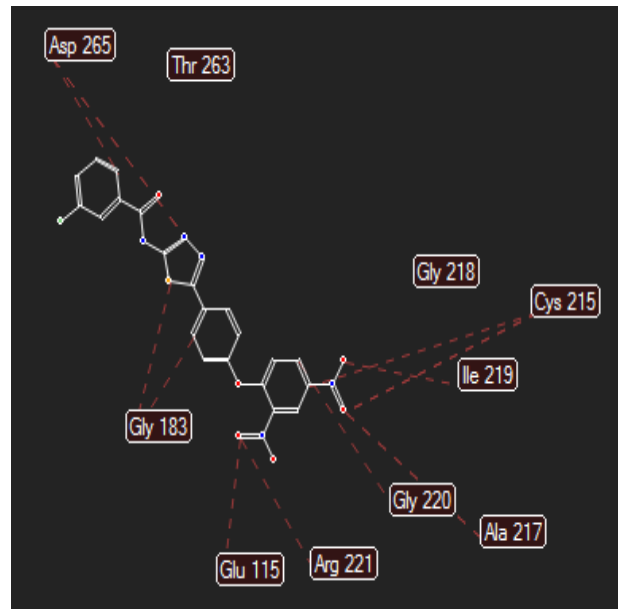


L18

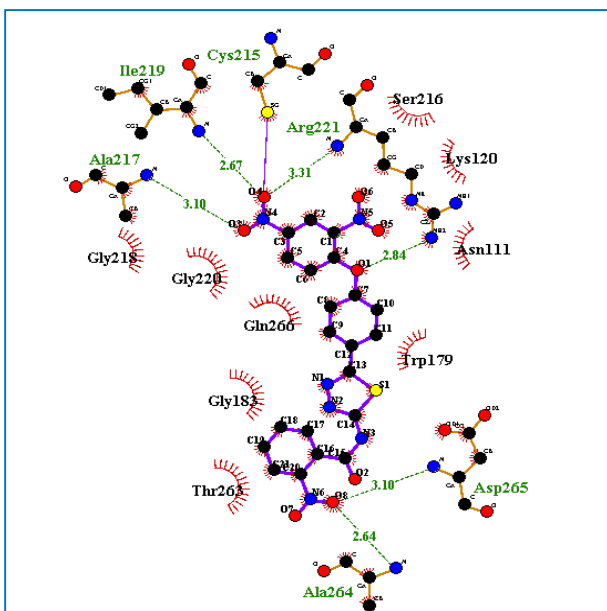
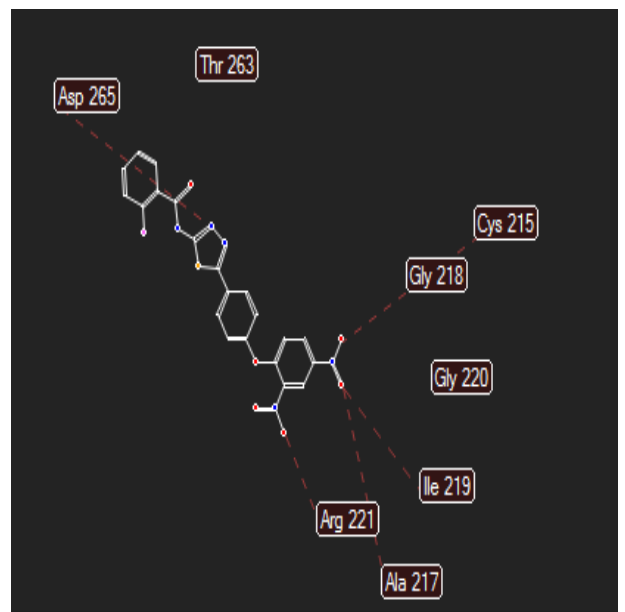




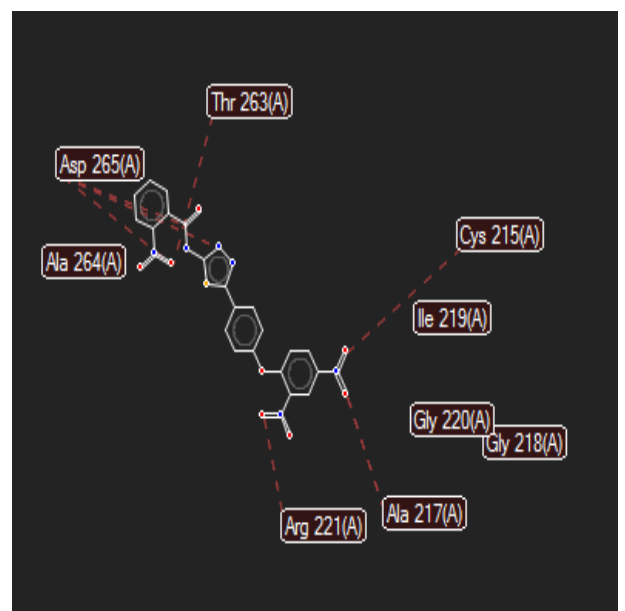
L22

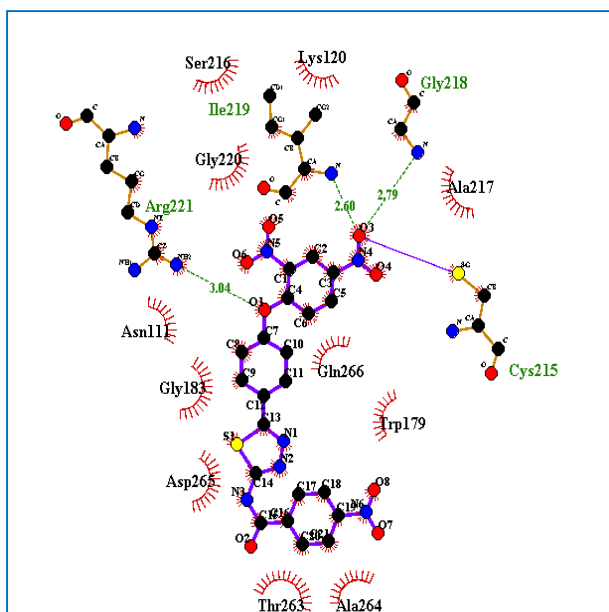


L23

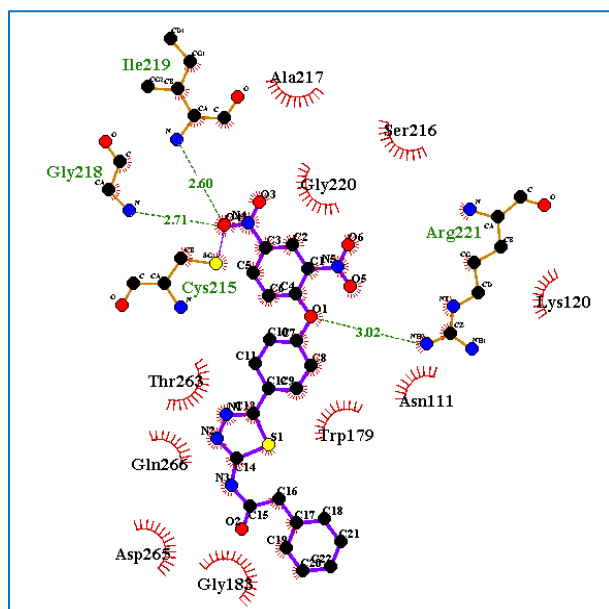
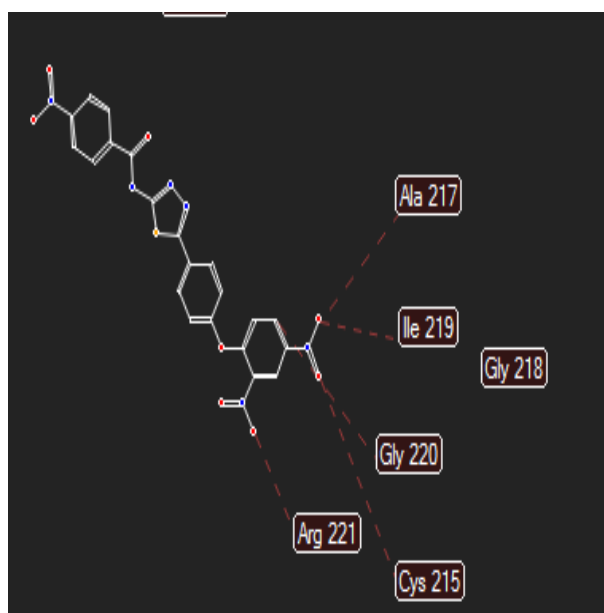


L24





L26



L27

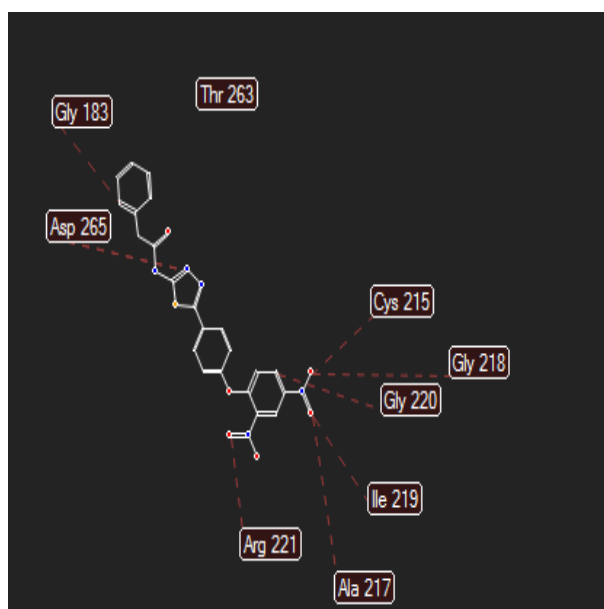


Figure. Interactions entre les ligands et les résidus du site actif basées sur le calcul de l'énergie Mol Dock Score en utilisant le programme Ligplot⁺ et MVD.

Tableau. ADME properties for all compounds of PTP1B.

Entry	ABS	TPSA (Å ²)	n-ROTB	MW g/mol	MLog P	n-ON accepteur	n-OHND donneur	Violations de Lipinski
Règle	-	-	-	<500	≤5	<10	<5	≤1
L1	Low	138.17	7	418.43	2.29	6	1	0
L2	Low	138.17	7	432.45	2.50	6	1	0
L3	Low	142.01	7	432.45	2.50	6	1	0
L4	Low	147.40	8	448.45	2.54	7	1	0
L5	Low	147.40	8	448.45	2.54	7	1	0
L6	Low	138.17	7	452.87	2.77	6	1	0
L7	Low	138.17	7	436.42	2.66	7	1	0
L8	Low	138.17	7	436.42	2.66	7	1	0
L9	Low	183.99	8	463.42	1.46	8	1	1
L10	Low	183.99	8	463.42	1.46	8	1	1
L11	Low	183.99	8	463.42	1.46	8	1	1
L12	Low	151.31	7	408.39	1.09	7	1	0
L13	Low	151.06	7	419.41	1.28	7	1	0
L14	Low	138.17	8	432.45	2.24	6	1	0
L15	Low	138.17	8	482.51	2.91	6	1	0
L16	Low	183.99	8	477.45	1.68	8	1	1
L17	Low	183.99	8	477.45	1.68	8	1	1
L18	Low	193.22	9	493.45	1.74	9	1	1
L22	Low	183.99	8	497.87	1.95	8	1	1
L23	Low	183.99	8	481.41	1.84	9	1	1
L24	Low	229.81	9	508.42	0.70	10	1	2
L26	Low	229.81	9	508.42	0.70	10	1	2
L27	Low	183.99	9	477.45	1.41	8	1	1

ABS: absorption, **TPSA:** topological polar surface area, **n-ROTB:** number of rotatable bonds, **MW:** molecular weight, **MLog P:** logarithm of partition coefficient of compound between n-octanol and water, **n-ON** acceptors: number of hydrogen bond acceptors, **n-OHND** donors: number of hydrogen bonds donors.

Résumé

Le docking moléculaire est une technique permettant le positionnement d'un ligand dans le site actif de l'enzyme à travers des différents types d'interactions non-covalentes (hydrogènes, Stériques, V.d.W...). Ces dernières permettent de rechercher les meilleures conformations (poses) du ligand au sein du site actif afin de provoquer une inhibition de la cible étudié, pour cela les différents outils de la modélisation moléculaire sont utilisés pour mener à bien ce travail : Mécanique Moléculaire, Semi-empirique, Docking Moléculaire et ADME. Nous sommes particulièrement basés sur trois paramètres : Énergie Mol Dock Score, les interactions non-covalentes (hydrogènes et stérique) ainsi que la règle de Lipinski. En fin, le but de notre étude est réalisé pour identifier des nouveaux ligands qui ont une meilleure inhibition. D'après les résultats obtenus, les ligands L₂₀, L₂₁ possèdent la meilleure inhibition de l'enzyme PTP1B, et par la suite ils seront probablement les meilleurs inhibiteurs.

Mots-clés : PTP1B, dérivés de thiadiazole amide, Docking Moléculaire, ADME, Affinité

Abstract

Molecular docking is a technique allowing the positioning of a ligand in the active site of the enzyme through different types of non-covalent interactions (hydrogen, steric, V.d.W ...). These interactions make it possible to search for the best conformations (poses) of the ligand within the active site in order to cause an inhibition of the studied target, for that the different tools of the molecular modeling are used to carry out this work: Molecular Mechanics, Semi - Empirical, Molecular Docking and ADME. We are particularly based on three parameters: Energy Mol Dock Score, non-covalent interactions (hydrogen and steric) as well as the Lipinski rule. Finally, the purpose of our study is to identify new ligands that have better inhibition. According to the results obtained, the ligands L₂₀, L₂₁ have the best inhibition of the enzyme PTP1B, and subsequently they will probably be the best inhibitors.

Key words: PTP1B, Derivatives of thiadiazole amide, Molecular Docking, ADME, Affinity.

المخلص

الالتحام الجزيئي هو تقنية تسمح بتحديد موضع الرابطة في الموقع النشط للإنزيم من خلال أنواع مختلفة من التفاعلات غير التساهمية (الهيدروجين، الاستاتيكية، V.d.W...). يتيح هذا الأخير البحث عن أفضل مطابقة (poses) للرابطة داخل الموقع النشط من أجل إثارة تثبيط الهدف المدروس، حيث تستخدم الأدوات المختلفة للنماذج الجزيئية لتنفيذ هذا العمل: الميكانيكا الجزيئية، شبه-التجريبية، الإرساء الجزيئي وADME. نحن نركز بشكل خاص على ثلاثة معايير: درجة مولدات الطاقة، التفاعلات غير التساهمية (الهيدروجين والستريك) بالإضافة إلى قاعدة ليبينسكي. وأخيراً، فإن الغرض من دراستنا هو تحديد بروابط جديدة لديها تثبيط أفضل. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، فإن ligands L₂₀، L₂₁ لديها أفضل تثبيط للإنزيم PTP1B، وبعد ذلك على الأرجح أنها ستكون أفضل مثبطات.

الكلمات المفتاحية: PTP1B، مشتقات من ثياديازول أميد الإرساء الجزيئي، ADME، التقارب