



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la Matière
Chimie
Chimie pharmaceutique

Réf. : Entrez la référence du document

Présenté et soutenu par :
DAISSA Fatima

Le : mercredi 26 juin 2019

Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions :
Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase
(AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivées.

Jury :

MELKEMI Nadjib	M.C.A Université Mohamed Khider de Biskra	Président
DAOUD Ismail	M.C.A Université Mohamed Khider de Biskra	Rapporteur
LEHRAKI Faiza	M.A.A Université Mohamed Khider de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

*C'est grâce à Dieu « الله », le tout puissant qui m'a donné et
Le courage et La volonté pour achever ce modeste mémoire
Mes plus sincères remerciements vont à mon encadreur*

. Dr DAOUD Ismail

*Pour avoir accepté de diriger ma mémoire de Mastère
Je lui remercie vivement pour le temps qu'il a consacré pour
Ma mémoire.*

*Merci pour vos explications, pour vos conseils et pour votre
patience.*

*Je remercie beaucoup Dr MELKEMI Nadjib d'avoir accepté
De présider Le Jury de ma mémoire*

*Je remercie également Mme LEHRAKI Faiza d'avoir accepté
De juger mon travail*

Fatima



Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,

Leur tendresse, leur soutien et leurs prières

Tout au long de mes études, pour toute

Leur assistance et leur présence dans ma vie.

A mes frères et sœurs pour leur encouragement

permanente et leur soutien moral.

A tous mes amis et ma famille

Fatima

Sommaire

Liste de tableau	
Liste des figures	
Liste des principales abréviations	
Introduction générale	1
Référence	4

Chapitre I : Méthode de la modélisation moléculaire

I. Introduction	5
II. Méthode de la modélisation moléculaire	6
II.1 Les méthodes quantique.....	6
II.1.1 Equation de Schrödinger	7
II.1.2 L'approximation de Born-Oppenheimer.....	7
II.1.3 La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT).....	9
II.1.4. Les bases d'orbitales	9
II.1.5 Méthodes ab-initio (Hartree-fock, Roothan).....	10
II.2. Méthodes semi empiriques.....	11
II.3. Méthodes non quantiques (empirique).....	13
II.3.1. Huckel simple et étendue.....	13
II.3.2. Mécanique moléculaire.....	14
a. <i>Fonction d'énergie potentielle</i>	14
b. <i>Terme des atomes liées</i>	15
c. <i>Terme des atomes non liée</i>	17
d. <i>Terme du champ de force</i>	18
e. <i>Différents champs de force en mécanique moléculaire</i>	18
f. <i>Minimisation de l'énergie stérique</i>	20
II.3.3. Dynamique Moléculaire.....	21
a. <i>Principe de la dynamique moléculaire</i>	21
b. <i>Calcul de dynamique moléculaire</i>	22
II.3.4. Docking Moléculaire.....	23
a. <i>Protocole générale de docking</i>	25
b. <i>Le docking du rigide vers l'introduction de la flexibilité</i>	26
c. <i>Programmes de docking moléculaire</i>	27
III. Définition d' ADME	27
III.1 La pharmacocinétique.....	28
III.1.1. Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME).....	28
a. <i>Absorption</i>	29
b. <i>Distribution</i>	29
c. <i>Métabolisme</i>	30
d. <i>Elimination</i>	30
VI. Références	31

Chapitre II : Partie (A) : Protéines, Enzyme et Acide aminé Partie (B) : Maladie d'Alzheimer

Partie (A) : Protéines, Enzyme et Acide aminé

I. Introduction.....	38
II. Les protéines.....	39
II.1 Définition des protéines.....	40
II.2 la liaison peptidique.....	40
II.3 Structure des protéines.....	41
II.3.1 Structure primaire.....	42
II.3.2 Structure secondaire.....	42
a. Les hélices alpha (α).....	44
b. Les feuillets β	44
II.3.3 Structure tertiaire.....	45
II.3.4 structure quaternaire.....	46
II.4 Evolution des structure des protéines.....	46
II.5 Rôle biologique des protéines.....	47
II.6 Fonctions des protéines.....	47
III. Les enzymes.....	49
III.1 Définition.....	49
III.2 Nomenclature.....	49
III.3 Classification des enzymes.....	50
III.4 Notions de spécificité.....	51
III.5 Le site actif.....	52
III.6 cofacteurs.....	52
III.7 Complexe Enzyme-Substrat.....	52
III.8 Inhibition Enzymatique.....	53
III.9 Type d'inhibition enzymatique.....	54
III.9.1 Inhibition réversible.....	54
a. Inhibition compétitive.....	54
b. Inhibition non compétitive.....	56
III.9.2 Inhibition irréversible.....	59
III.10 Nature des interactions substrat-enzyme.....	60
IV. Les acides aminés.....	61
IV.1 Classification des acides aminés.....	61
a. Polaires chargés.....	62
b. Polaires non chargés.....	62
c. Non polaires.....	62
d. Les acides aminés aux propriétés particulières.....	63
IV.2 Les propriétés physicochimiques générales des acides aminés.....	63
a. Configuration et isomérisation.....	63
b. La solubilité des acides aminés.....	63
c. Le coloration et le spectre d'absorption des acides aminés.....	64

IV.3 Domaines d'utilisation des acides aminés.....	64
IV.4 Le rôle biologique des acides aminés	65
a. <i>Le rôle de structure</i>	65
b. <i>Le rôle métabolique</i>	65
c. <i>Les rôles de médiateurs chimiques et de neurotransmetteurs</i>	65

Partie (B) : Maladie Alzheimer

V. Introduction	66
V.1 Historique.....	67
V.2 Les causes de MA.....	67
V.3 Les premiers signes d'alerte de l'Alzheimer.....	68
V.4 Evolution de la maladie d'Alzheimer.....	69
V.5 Les différents facteurs de risque de la MA.....	70
V.6 Le diagnostic.....	71
V.7 Traitement de la maladie d'Alzheimer.....	72
VI. Références	76

Chapitre III : Résultat et discussion

I. Introduction	82
II. Méthodes de calcul	84
II.1 Préparation et optimisation des enzymes et des ligands.....	84
II.1.1 Préparation et optimisation du modèle.....	84
II.1.2 Préparation des inhibiteurs.....	85
II.2 Docking moléculaire.....	93
II.2.1 Etapes du docking moléculaire	94
II.2.1.1 principes.....	94
II.2.1.2 structure de la macromolécule (enzyme).....	98
a. <i>Sources</i>	98
b. <i>Traitement de la structure 3D du récepteur</i>	99
II.3 Simulation de la dynamique moléculaire.....	100
II.4 Propriétés ADME.....	100
III. Résultats et discussion	100
III.1 Simulation de docking moléculaire	100
III.1.1 Interaction : AChE-ligands.....	101
III.1.2 Interaction : BuChE-ligands.....	109
III.2 Dynamique moléculaire.....	116
III.2.1 Interaction : AChE-ligands.....	117
III.2.2 Interaction : BuChE-ligands.....	119
III.3 Evaluation des propriétés ADME.....	121
IV. Référence	122
Conclusion générale	127

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Fonction d'énergie associées aux atomes liés.....	16
Tableau I.2 : Fonction d'énergie associées aux atomes non liés.....	17
Tableau III.1 : Propriétés de 1EVE et 4BDS.....	85
Tableau III.2 : Données cristallographiques de l'AChE et de BuChE.....	85
Tableau III.3 : Structure chimiques des ligands L ₁ -L ₉₁	86
Tableau III.4 : Structures chimiques des ligands L ₁ '-L ₄₀ '.....	91
Tableau III.5 : Quelques propriétés des ligands L ₁ -L ₉₁	94
Tableau III.6 : Quelques propriétés des ligands L ₁ '-L ₄₀ '	97
Tableau III.7 : Différentes propriétés de première cavité détectée par MOE de AChE.....	101
Tableau III.8 : S-score, IC ₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le AChE.....	103
Tableau III.9 : Différentes propriétés de première cavité détectée par MOE de BuChE.....	109
Tableau III.10 : S-score, IC ₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE.....	112
Tableau III.11 : S-score, IC ₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le AChE après un calcul de Dynamique moléculaire.....	118
Tableau III.12 : S-score, IC ₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE après un calcul de Dynamique moléculaire.....	120
Tableau III.11 : Propriétés ADME pour les cinq meilleurs ligands de lAChE et BuChE...	121

Liste des figures

Figure I.1 : Détermination les minimas de l'énergie globale d'interaction.....	20
Figure I.2 : Représentation schématique du docking de deux molécules.....	24
Figure I.3 : Protocole générale de docking.....	25
Figure I.4 : Schéma illustrant le principe de « clé-serrure ».....	26
Figure II.1 : Formation d'une liaison peptidique.....	41
Figure II.2 : Formule développée d'une protéine de n acide aminés.....	42
Figure II.3 : Diagramme de Ramchandran.....	43
Figure II.4 : Schéma d'une hélice α	44
Figure II.5 : Schéma d'un feuillet β antiparallèle.et d'un feuillet β parallèle.....	45
Figure II.6 : Structure tertiaire d'une protéine.....	45
Figure II.7 : Structure quaternaire d'une protéine	46
Figure II.8 : Importance de la complémentarité des surfaces dans les mécanismes de reconnaissance moléculaire.....	48
Figure II.9 : Représentation schématique de la notion de spécificité.....	51
Figure II.10 : complexe Enzyme-substrat.....	53
Figure II.11 : Les différents modèles de l'inhibition compétitive	56
Figure II.12 : Mécanisme d'inhibition non compétitive.....	57
Figure II.13 : Modèles d'inhibition non compétitive mixte.....	58
Figure II.14 : Formation du complexe inactif ESI.....	59
Figure II.15 : Structure générique d'un acide aminé.....	61
Figure II.16 : La configuration et isomérisation optique d'un acide aminé.....	63
Figure II.17 : Diagramme de venne regroupant les différents acides aminés par rapport à leurs propriétés physicochimique.....	64
Figure II.18 : Représentation schématique l'hippocampe et les régions de l'implication du cerveau dans la maladie d'Alzheimer.....	66
Figure II.19 : Illustration de l'innervation cholinergique du cerveau humain.....	73
Figure II.20 : Synthèse de l'acétylcholine.....	74
Figure III.1 : Protocole de calcul.....	83
Figure III.2 : Modèle simplifié de (a) AChE, (b) BuChE.....	84
Figure III.3 : Méthode de détection de cavité Knob & hole.....	99
Figure III.4 : Modèle simplifié et la cavité choisie de l'AChE.....	101
Figure III.5 : (a) Cavité enzymatique et (b) les résidus du site actif de l'AChE.....	102
Figure III.6 : Interaction entre les ligands (L ₇ , L ₁₃ , L ₁₅ , L ₆₉ et L ₇₅) et les résidus de site actif de AChE.....	108
Figure III.7 : Modèle simplifié et la cavité choisie de BuChE.....	110
Figure III.8 : (a) Cavité enzymatique et (b) les résidus du site actif de BuChE.....	110
Figure III.9 : Interaction entre les ligands (L _{7'} , L _{9'} , L _{12'} , L _{16'} , L _{28'}) et les résidus de site actif de BuChE.....	115
Figure III.10 : Evaluation de l'énergie potentielle des 5 complexes choisi de l'AChE en fonction du temps.....	117
Figure III.11 : Evaluation de l'énergie potentielle des 5 complexes choisi de BuChE en fonction du temps.....	119

Liste des principales abréviations

3D : 3-Dimensional.

μM : Micro molaire.

Å : Angström.

AA : Acide Aminée.

AChE : Acétylcholinestérase.

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination.

BuChE : Butylcholinestérase.

Da: Dalton.

DFT : La Théorie de la Fonctionnelle de la Densité.

DM : dynamique moléculaire.

E-S : Complexe Enzyme-Substrat

HTS : High Throughput Screening

MM : Mécanique Moléculaire.

MOE : Molecular Operating Environmen

MA : Maladie d'Alzheimer.

OM-CLOA : Combinaisons Linéaire des Orbitales Atomiques.

OM : Orbitale Moléculaire.

OA : Orbitales Atomiques.

PDB : Protein Data Bank.

RHF : restricted hartree-Fock.

ROHF : restricted Open-shell Hartree-Fock.

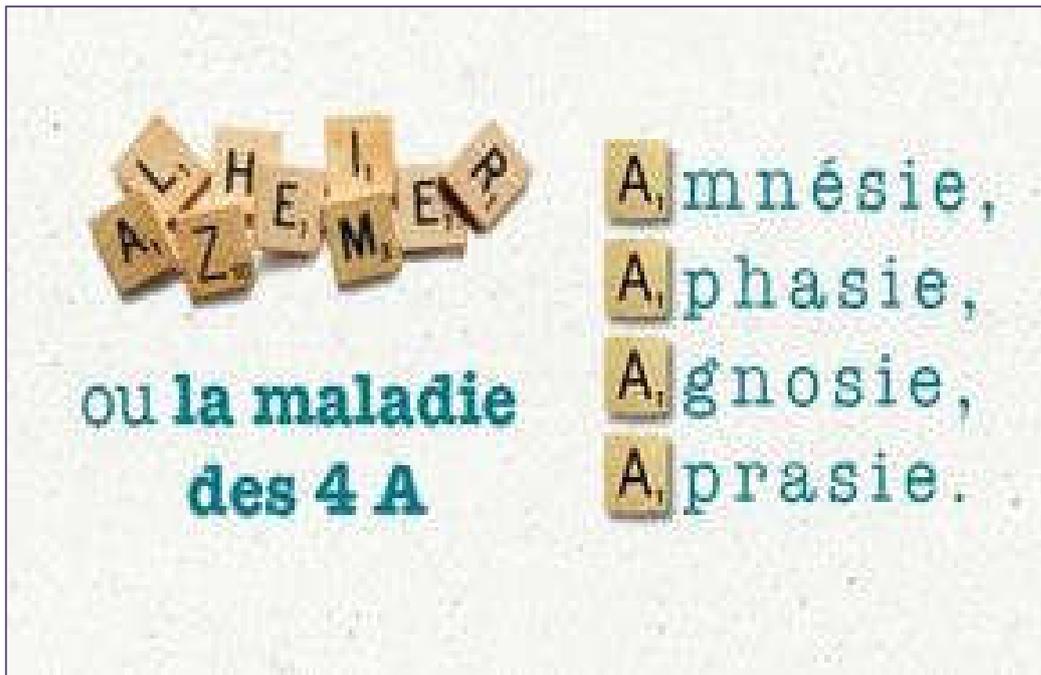
RMN : résonance magnétique nucléaire

RX : Rayons X

UV : Ultraviolet.

V.d.W : Van der Waals

Introduction générale



La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie grave qui atteint un grand nombre de personnes nécessitant une prise en charge spécifique et donc une adaptation du système sanitaire et médico-social. Elle est souvent appelée la maladie d'Alzheimer des 4A pour amnésie, aphasie, agnosie et apraxie.

La MA est une affection neuro-dégénérative qui entraîne une détérioration progressive et définitive des cellules nerveuses. Cette maladie s'accompagne progressivement d'une détérioration intellectuelle induisant des manifestations psychologiques et des troubles du comportement qui conduisent à une perte d'autonomie. C'est la plus fréquente des démences dégénératives. Elle peut toucher des adultes jeunes, mais elle atteint majoritairement les personnes âgées. Elle est en constante évolution du fait de l'augmentation générale de l'espérance de vie et sa prévalence double tous les 5 ans après 65 ans [1].

Actuellement, il n'existe aucun traitement guérissant la maladie d'Alzheimer, ni même permettant d'arrêter son évolution, mais il existe quelques médicaments susceptibles de retarder son évolution. Ils permettent d'atténuer les pertes de mémoires, les problèmes de langage et de raisonnement, ou bien tous simplement de ralentir au moins en apparence la progression de la maladie.

La cause exacte est encore inconnue, mais il est supposé que des facteurs environnementaux et génétiques y contribuent. Les plus grandes méthodes dans le traitement de la MA se focalisent sur deux aspects fondamentaux : traitement au niveau des plaques séniles ou plaque amyloïdes, et traitement de la transmission cholinergique. Ce sont les deux approches dans le traitement de cette maladie.

Dans la première approche, Il s'agit donc de lésions extracellulaires de la maladie d'Alzheimer. Ces plaques correspondent à l'accumulation d'un peptide anormal et neurotoxique de 42 acides aminés, le peptide bêta-amyloïde. Ce peptide, provient d'un mauvais clivage de la protéine APP (Amyloïde Protein Precursor). Ceci participerait à l'entrée massive de calcium dans le neurone et activerait la microglie (réaction inflammatoire), ce qui entraîne la mort du neurone par nécrose ou par apoptose. Donc il est préalable de prévenir la formation de ce peptide ou au moins diminuer sa génération ou déposition. De ce fait il est demandé de bloquer ou inhiber l'APP qui est responsable de la formation des AB peptides [2].

La plus grande partie des recherches scientifiques réalisées sur le traitement de la MA a été guidée par un constat : l'existence d'une relation dans cette maladie, entre le déficit des neurotransmissions cholinergiques et les différents symptômes, en particulier cognitifs. Les recherches en ont donc eu pour but d'augmenter l'activité cholinergique centrale. Ce qui définit la deuxième approche dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

De plus, les plus étudiés, les inhibiteurs des cholinestérases, sont les seuls à avoir obtenu jusqu'à présent une application clinique sont les premiers médicaments ayant une action démontrée dans la MA [3]. Ils augmentent la quantité d'Acétyl Choline (ACh) dans la synapse, en bloquant l'Acétylcholinestérase (AChE), qui dégrade l'ACh dans la fente synaptique mais il existe une autre enzyme de la même famille, la butyrylcholinestérase (BuChE), qui reconnaît également l'acétylcholine comme substrat [4]. L'activité de cette enzyme croît au cours de la maladie (cela étant dû probablement à une prolifération des cellules gliales) entraînant des changements de ratios AChE/BuChE, ce qui se traduit par une diminution des fonctions cognitives, suite à une diminution de l'activation des récepteurs cholinergiques muscariniques (type M) et nicotiques (type N) [5].

D'autre part, la modélisation moléculaire est devenue une nouvelle technique de compréhension des phénomènes chimiques et un outil de travail à part entière dans le domaine de la chimie structurale, dans les calculs des surfaces d'énergie potentiel des molécules organique [6]. Elles s'imposent souvent lorsque l'expérience réelle est trop difficile, trop dangereuse, trop coûteuse, trop longue ou trop rapide, éthiquement inacceptable, ou même impossible à réaliser. Elles permettent, actuellement, non seulement d'élaborer les mécanismes de complexations et les profils énergétiques mais également de justifier et prédire les conformations les plus stables ainsi que les interactions existantes entre une enzyme et un ligand.

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve le docking (amarrage) et la dynamique moléculaire. Leurs calculs de ces dernières 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, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [7].

Notre objectif de travail est d'étudier les interactions existantes entre une série nouvellement synthétisée des molécules avec deux enzymes (AChE/BChE) en combinant entre trois méthodes à savoir ; docking moléculaire, dynamique moléculaire et propriétés ADME.

Le travail de ce mémoire est présenté en trois chapitres :

Une **Introduction générale** : Dans laquelle nous avons donné un aperçu sur la MA et précisé l'objectif de notre travail.

Le premier chapitre : Il englobe tous les principales approches et les différentes méthodes de la modélisation moléculaire.

Le deuxième chapitre : Il est consacré pour deux parties :

Partie (A): Les protéines, les enzymes et les acides aminés

Partie (B): La maladie l'Alzheimer

Dans **le troisième chapitre** : Nous avons analysé et discuté les résultats obtenus.

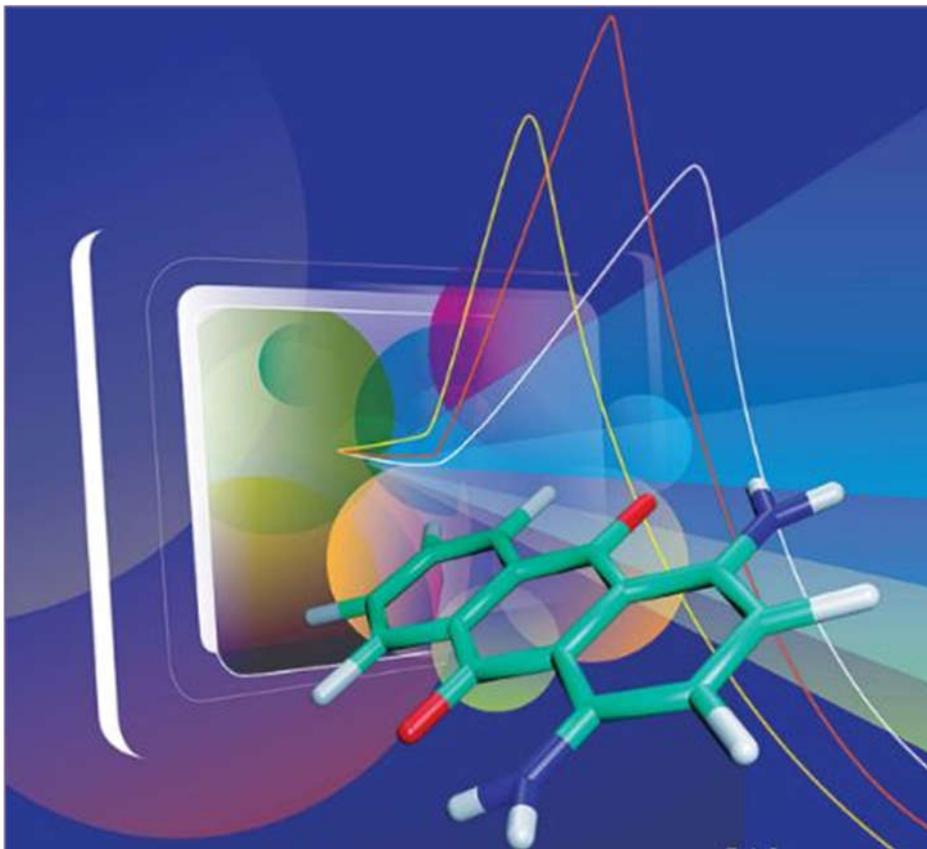
Une **Conclusion générale** : Tirer une conclusion générale à partir des résultats obtenus au cours de ce travail.

Références

- [1] Mohamed, T.; Yeung, J. C. K.; Vasefi, M. S.; Beazely, M. A.; Rao, P. P. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22 (14), 4707. **2012.**
- [2] G. V. Ferrari, M. A. Canales. L. M. Weiner, I. Silman, N. C. Inestrosa, *Biochemistry.*, 40, 10447-10457, **2001.**
- [3] Schneider LS, Tariot PN. Emerging drugs for Alzheimer's disease : mechanisms of actions and prospects for cognitive enhancing medications. *Med Clin North Am*; 78 :911-34, **1994.**
- [4] Scarpini, E.; Scheltens, P.; Feldman, H. *Lancet Neurol.* **2003**, 2, 539–54
- [5] Arendt, T.; Brückner, M. K. *Neurosci. Lett.* **1992**, 148, 63–66.
- [6] S. D. Ittel, L. K. Johnson, M. Brookhart, *Chem. Rev.*, , 100, 1169, **2000.**
- [7] Kitchen D-B et al. Docking and Scoring in virtual screening For drug discovery : methods and application , *Nat .Rev .Drug. Discov .3* :935-49. **2004.**

Chapitre I

Méthodes de la Modélisation Moléculaire



I. Introduction

La chimoinformatique, et plus spécifiquement la modélisation moléculaire, sont des techniques permettant de comparer les propriétés physico-chimiques associées aux molécules chimiques, et d'analyser les interactions supramoléculaires responsables d'un phénotype biologique, points clés pour la conception de nouveaux ligands. Plusieurs modèles mathématiques sont disponibles pour définir les conformations associées à chaque structure, des méthodes de mécanique quantique aux méthodes de mécanique moléculaire en considérant notamment la complexité de la molécule et les propriétés que l'on souhaite modéliser [1].

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 [2].

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 [3].

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve aussi l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking") [4].

Le docking moléculaire connu aussi sous le nom « amarrage moléculaire pour les puristes francophones », fait partie des méthodes de modélisation. Cette technique utilise les mêmes principes que les autres méthodes de modélisation, sauf qu'elle a la particularité de combiner deux molécules ou plus en même temps. Cette propriété fait du docking l'une des plus importantes méthodes de modélisation moléculaire. Pour cela différentes méthodes et algorithmes ont été mis au point pour l'élaboration de cette technique [5].

Le rôle principal de cette technique est étudié puis prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure de récepteur (protéine). Le docking moléculaire se déroule en deux étapes distinctes:

- ▶ La première étape consiste à positionner le ligand dans le site choisi de la protéine.
- ▶ La seconde étape de cette méthode permet l'évaluation des interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine. Ces deux étapes diffèrent chacune du programme de docking utilisé [6].

II. Méthodes de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire a pour but de prédire la structure et certaines propriétés chimiques de molécules ou de systèmes de molécules. Cependant, la nature même de ces systèmes moléculaires pose un certain nombre de problèmes : de par leur taille qui peut atteindre plusieurs milliers ou millions d'atomes, mais aussi à cause de la complexité des mécanismes et processus chimiques se déroulant en leur sein. La contrainte de taille de ces édifices peut être atténuée en utilisant des méthodes peu coûteuses en mémoire et en temps de calcul comme les méthodes de mécanique moléculaire (MM). Cette classe de méthodes a l'énorme avantage de permettre d'atteindre les phénomènes dynamiques à l'aide de la méthode de dynamique moléculaire (MD). Néanmoins, les nombreux processus et réactions chimiques intervenant dans ce genre de systèmes requièrent souvent la rigueur et la précision des méthodes quantiques (QM), le coût et le temps de ces calculs par rapport aux nombre d'atomes des systèmes étudiés étant très élevés, ainsi que les trois méthodes citées dans ce paragraphe sont ceux utilisées dans la modélisation moléculaire [7].

II.1. Les méthodes quantiques

Les méthodes de la mécanique quantique, qui font appel à la distribution des électrons répartis en orbitales autour de la molécule, impliquent des temps de calcul souvent élevés qui limitent leur usage à des petites molécules ou nécessitent le recours à de nombreuses approximations. Elles sont particulièrement adaptées au calcul des charges et des potentiels électrostatiques, à l'approche des mécanismes réactionnels ou à la polarisabilité. L'objectif de la

mécanique quantique est principalement de déterminer l'énergie et la distribution électronique [8].

La chimie quantique définit la structure moléculaire comme un noyau autour duquel gravitent des électrons, qui sont décrits par leur probabilité de présence en un point et représentés par des orbitales [9].

La chimie quantique applique les principes de la mécanique quantique aux systèmes moléculaires pour tenter de résoudre l'équation de Schrödinger [10]. En effet, le comportement électronique et nucléaire des molécules, étant responsable des propriétés chimiques, peut être décrit de façon réaliste à partir de cette équation. Différentes méthodes de résolution ont alors été développées. En particulier, le développement grandissant des moyens informatiques ont permis le développement de ces méthodes [11].

II.1.1 Equation de Schrödinger

Le calcul de l'énergie totale d'un système composé d'ions et d'électrons en interaction est obtenu dans le cas général par la résolution de l'équation de Schrödinger des états stationnaires [12].

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

\mathbf{H} : Hamiltonien, ψ : une fonction d'onde décrivant l'état du système, \mathbf{E} : son énergie totale.

Généralement, l'Hamiltonien \mathbf{H} est donné par : $\mathbf{H} = \mathbf{T}_e + \mathbf{T}_N + \mathbf{V}_{ee} + \mathbf{V}_{eN} + \mathbf{V}_{NN}$

- ▶ \mathbf{T}_e : Énergie cinétique des électrons :

$$\hat{T}_e = - \sum_{k=1}^{2n} \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_k^2$$

- ▶ \mathbf{T}_N : Énergie cinétique des noyaux :

$$\hat{T}_N = - \sum_{A=1}^N \frac{\hbar^2}{2M_A} \nabla_A^2$$

- ▶ \mathbf{V}_{ee} : Énergie potentielle d'interaction entre les électrons :

$$\hat{V}_{ee} = \sum_{k=1}^{2n} \sum_{l>k}^{2n} \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{kl}} \frac{1}{r_{kl}}$$

► V_{eN} : Energie potentielle d'interaction entre électrons-noyaux:

$$\hat{V}_{eN} = - \sum_{k=1}^{2n} \sum_{A=1}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{kA}} \frac{Z_A}{r_{kA}}$$

► V_{NN} : Energie potentielle d'interaction entre les noyaux :

$$\hat{V}_{NN} = \sum_{A=1}^N \sum_{B>1}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 R_{AB}} \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

Dans le cas d'un système composé de n électrons en interaction avec N noyaux et décrits par la fonction d'onde poly-électronique $\Psi(r_1, r_2, \dots, r_n)$, d'énergie E, l'hamiltonien total du système est défini en unités atomiques par :

$$\hat{H} = - \sum_{k=1}^{2n} \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_k^2 - \sum_{k=1}^{2n} \sum_{A=1}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{kA}} \frac{Z_A}{r_{kA}} + \sum_{k=1}^{2n} \sum_{l>k}^{2n} \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{kl}} \frac{1}{r_{kl}} - \sum_{A=1}^N \frac{\hbar^2}{2M_A} \nabla_A^2 + \sum_{A=1}^N \sum_{B>1}^N \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 R_{AB}} \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

Dans le cas général des systèmes d'intérêt chimique, qui sont le plus souvent poly atomiques et multiélectroniques, cette équation ne peut être résolue analytiquement. Des approximations ont donc été proposées [13].

II.1.2 L'approximation de Born-Oppenheimer

Une première simplification du problème est l'approximation de Born-Oppenheimer. Cette approximation consiste à considérer que les deux types de particules, électrons et noyaux, ont des vitesses d'évolution caractéristiques très différentes ; pour être précis, les électrons se déplacent beaucoup plus rapidement que les noyaux. [14] On peut alors considérer le comportement des électrons dans une molécule en supposant que les noyaux occupent les positions fixes dans l'espace. On aboutit alors à l'équation de Schrödinger électronique : [15]

$$\mathbf{H}_e \psi_e = \mathbf{E}_e \psi_e$$

Où \hat{H}_e est l'hamiltonien électronique : $\hat{H}_e = T_e + V_{e-e} + V_{eN}$. La variable scalaire E_e est l'énergie propre, associée à l'hamiltonien \hat{H}_e [16].

II.1.3 La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) :

Les bases de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) ont été élaborées en 1927 par Thomas et Fermi qui calculèrent l'énergie d'un atome en représentant son énergie cinétique en fonction de la densité électronique [17]. En 1928, Dirac introduit le terme d'échange prédit par Hartree mais il n'y a toujours aucune prise en compte de la corrélation électronique qui fût finalement ajoutée par Wigner. Dans ce modèle, les n électrons dépendants de $3n$ coordonnées d'espace sont remplacés par leur densité $\rho(r)$ qui ne dépend plus que de 3 variables.

L'état fondamental de ce système est décrit par la fonction d'onde $\Psi_0(r_1, r_2, \dots, r_n)$ qui correspond à une unique densité électronique $\rho(r)$. Cette fonction d'onde, et l'énergie E_0 qui lui est associée, sont déterminées par la minimisation de l'énergie totale du système. Le potentiel externe $V_{\text{ext}}(r)$ créé par les N noyaux du système est alors complètement déterminé et fixe donc l'hamiltonien. Ainsi, le nombre d'électron n et le potentiel $V_{\text{ext}}(r)$, définissent toutes les propriétés de l'état fondamental [18].

La DFT est capable de déterminer avec précision les propriétés moléculaires géométriques, les énergies de liaisons et différents types de spectre pour des molécules aussi complexes que des composés de coordination [19]. De plus, les surfaces d'énergie potentielle des réactions chimiques prédites par les fonctionnelles corrigées par le gradient et/ou les fonctionnelles hybrides sont aussi précises que celles prédites par les niveaux de théories ab initio les plus sophistiqués [20].

II.1.4 Les bases d'orbitales

Le choix de la base d'orbitales est aussi un critère très important pour une bonne estimation des données, bien qu'il soit moins important pour la DFT que pour les autres méthodes ab initio, en particulier post Hartree Fock, la base représente la description des orbitales atomiques.

- ▶ **La base 6-31 G*** : décrit une orbitale atomique par la combinaison de six fonctions gaussiennes par orbitale de cœur, de trois autres pour la description des électrons de valence et d'une dernière pour description des électrons de valence les plus éloignés du noyau (externe). L'astérisque signifie l'utilisation d'orbitales de polarisation pour les atomes lourds c'est à dire d pour les orbitales p, f pour les orbitales d, etc.
- ▶ **La base 3-21G** : base telles que chaque orbitale atomique interne est représentée par une gaussienne contractée qui est elle-même une combinaison linéaire de 3 gaussiennes primitives. Alors que chaque orbitale de valence est représentée par deux fonctions gaussiennes contractées l'une est combinaison linéaire de 2 primitives et l'autre 1 gaussienne simple.
- ▶ **La base 6-311G** : représente une base du type triple zêta. Dans cette base l'orbitale interne est représentée par une seule STO combinaison linéaire de 6 GTO et les orbitales de valences sont représentées par 3 STO [21].

II.1.5 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* [22].

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 [23]:

$$H_{tot} = T_e + T_N + V_{e-N} + V_{e-e} + V_{N-N}$$

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

1. Les méthodes Hartree - Fock (HF, RHF, UHF, ROHF).
2. Les méthodes post Hartree-Fock, (MPn, CAS, ...).

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 [11]. Les méthodes *ab-initio* basée sur la fonction d'onde ψ .

II.2 Méthodes Semi Empiriques

Dans les méthodes *ab-initio* la quasi-totalité du temps de calcul est consommé par les calculs des intégrales, et dans le but de réduire ce temps de calcul, il est nécessaire de simplifier les équations de Roothann. 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 (l'hamiltonien est toujours paramétré par comparaison avec des références). En générale toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits données voisines à celles utilisées pour la paramétrisation. Les méthodes semi-empiriques ne considérant que les électrons de la couche de valence ; les électrons des couches internes sont inclus dans le cœur nucléaire.

- ▶ **CNDO/2** : (Complète Neglect of Differential Overlap/version 2) la première méthode semi empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965, méthode présentant certains défauts entre autres : elle ne tient pas compte de la règle de Hund.
- ▶ **INDO** : (Intermediate Neglect of Differential Overlap) proposée par PopleBeveridge 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. La paramétrisation est effectuée en se référant aux résultats expérimentaux et non pas aux résultats *ab-initio*, de plus l'algorithme d'optimisation utilise 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, méthode 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.
- ▶ **AM 1** : (Austin Model 1) La méthode est proposée par Dewar en 1985. Il a tenté de corriger les défauts de MNDO.
- ▶ **PM 3** : (Parametric Method 3) La méthode est proposée par Stewart en 1989, elle présente beaucoup de points en commun avec la méthode AM1 ; d'ailleurs il existe toujours un débat concernant les mérites relatifs de paramétrisation de chacune d'elles.
- ▶ **SAM 1** : (Semi-*ab-initio* Model 1) La méthode la plus récente proposée par Dewar en 1993. Elle inclut la corrélation électronique [24].

L'avantage des calculs semi-empiriques est qu'ils sont donc plus rapides que les autres méthodes quantiques. Leur inconvénient réside dans le fait qu'elles sont soumises à de nombreuses approximations. En fait, peu de propriétés peuvent être prédites de manière fiable, en particulier, pour des molécules de structures trop éloignées de celles utilisées pour la paramétrisation des méthodes. En général celle-ci est réalisée afin de reproduire différentes propriétés : géométries, énergies de formation ou encore énergies de réaction, moments dipolaires, potentiels d'ionisation voire des propriétés spécifiques telles que des spectres

électroniques ou des déplacements chimiques RMN [25]. Le calcul semi-empirique est la technique la plus utilisée, notamment pour l'étude de molécules de taille intermédiaire [26].

II.3 Méthodes non Quantiques (empirique)

Les méthodes empiriques sont des méthodes de mécanique moléculaire basées sur des concepts de la mécanique classique où les atomes et leurs électrons sont confondus en une collection de points matériels. Ces derniers agissent les uns sur les autres par l'intermédiaire d'un potentiel empirique encore dit champ de forces ne dépendant que de la position relative des atomes dans l'espace. Au sein de l'ordinateur, la représentation d'une molécule consiste donc en un ensemble de coordonnées atomiques, une liste de liaisons chimiques et un jeu de fonctions et de paramètres constituant le potentiel d'interaction. Le potentiel empirique qui détermine l'énergie conformationnelle de la molécule est constitué de deux types de termes représentant, respectivement, les interactions entre les atomes liés (longueur de liaison, angle de valence, angle dièdre) et les atomes non liés (Van der Waals, électrostatique) [27].

II.3.1 Hückel simple et étendue

La méthode de Hückel simple est essentiellement une méthode topologique dans le sens où elle permet d'exprimer rapidement la forme des OM d'un système. Bien qu'elle fasse intervenir des approximations très grossières, elle conduit à des résultats étonnamment pertinents qui permettent d'obtenir, au moyen de calculs triviaux, des informations importantes sur la réactivité des molécules conjuguées. Cette méthode, aussi rustique soit elle, permet de rationaliser un grand nombre de réactions et d'observations spectroscopiques en raisonnant exclusivement sur la forme des OM et sur les poids respectifs des OA qui les composent ainsi que sur leurs énergies correspondantes.

La découverte de cette approche de Hückel a véritablement constitué une petite révolution dans le monde de la chimie et a véritablement servi de détonateur au développement de la chimie quantique [28].

II.3.2 Mécanique moléculaire

La mécanique Moléculaire (MM) ne prend en compte la structure électronique qu'implicitement et les atomes sont alors représentés par des sphères ayant des masses et des rayons différents et possédant une charge. Les liaisons sont décrites comme des ressorts de différentes constantes de force. Ces charges et constantes de force peuvent être obtenues par divers moyens (données cristallographiques ou spectroscopie vibrationnelle, calcul *ab initio*) et sont contenues dans le champ de force. Ce dernier représente l'ensemble des paramètres permettant de calculer l'énergie potentielle du système.

La Mécanique Moléculaire permet le calcul de l'énergie d'interaction d'un système en fonction des seules positions des noyaux, en ignorant ainsi le mouvement des électrons. L'approximation de Born-Oppenheimer est aussi utilisée, cependant, le mouvement des noyaux n'est plus décrit par un Hamiltonien quantique comme en Mécanique Quantique, mais par les descriptions de la mécanique classique ou les atomes sont assimilés à des points massiques (éventuellement chargés) et les liaisons chimiques à des ressorts mécaniques [29].

a. Fonction d'énergie potentielle

La fonction énergie potentielle est représentée comme une hyper-surface à 3N-6 dimensions. Elle est définie empiriquement comme étant la somme des différentes contributions traduisant les interactions physiques inter et intramoléculaires du système étudié. La fonction d'énergie est généralement décrite en termes internes reliés directement aux liaisons covalentes des atomes (interactions liantes) et en termes externes traduisant les interactions entre atomes non liés de manière covalente (interactions non liantes). L'ensemble de ces termes et ces paramètres sont utilisés pour décrire chaque type d'atome rencontré qui se traduit par un champ de forces qui comporte généralement cinq contributions principales [30].

$$\mathbf{E}_{MM} = \mathbf{E}_{\text{élongation}} + \mathbf{E}_{\text{Angles}} + \mathbf{E}_{\text{Dièdres}} + \mathbf{E}_{\text{Dièdres Impropres}} + \mathbf{E}_{\text{Elec}} + \mathbf{E}_{\text{VDW}} + \mathbf{E}_{\text{hydrogène}}$$



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 idéaux.

L'énergie stérique minimale calculée est la somme des contributions apportées par les énergies d'élongation, de flexion, de Van der Waals, électrostatique [31].

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 :

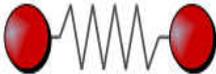
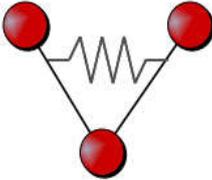
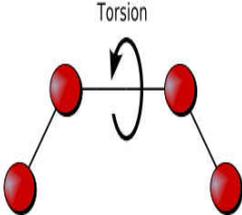
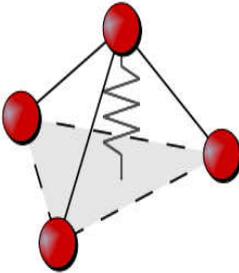
$$\mathbf{E}_{\text{potentielle}} = \mathbf{E}_{\text{atomes-liés}} + \mathbf{E}_{\text{atomes-non liés}}$$

b. 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.

$$\mathbf{E}_{\text{MM}} = \mathbf{E}_{\text{élongation}} + \mathbf{E}_{\text{Angles}} + \mathbf{E}_{\text{Dièdres}} + \mathbf{E}_{\text{Dièdres Impropres}}$$

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

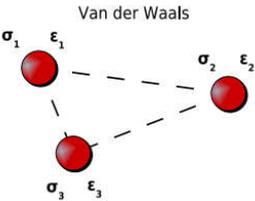
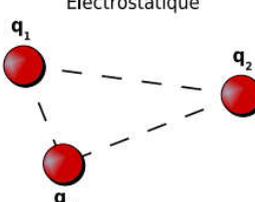
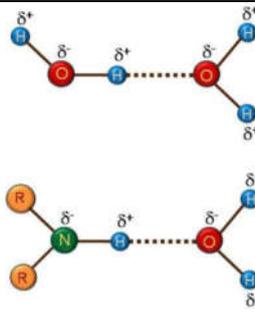
Terme du champ de force	Description	Expression générale	Illustration
Energie d'élongation des liaisons (stretching)	Définit l'énergie mise en jeu par les variations de la longueur r des liaisons l'équilibre après extension et compression à partir de leurs valeurs d'équilibre.	$E_{\text{élong}} = \sum_{\text{liaisons}} K_b (b - b_0)^2$ <p>b_0 : longueur de liaison à l'équilibre K_b : constante de force</p>	<p>Elongation</p> 
Energie de déformation des angles de valence (bending)	Définit l'énergie impliquée dans les variations d'angle θ entre deux liaisons contiguës, autour d'une valeur d'équilibre θ_0 .	$E_{\text{angles}} = \sum_{\text{angles valence}} K_\theta (\theta - \theta_0)^2$ <p>k_θ : constante de force θ : angle à l'équilibre</p>	<p>Flexion</p> 
Energie de torsion	Définit l'énergie impliquée dans la rotation d'une partie d'une molécule autour d'une liaison	$E_{\text{torsion}} = \sum_{\text{angles torsion}} K_\phi (\phi - \phi_0)^2$ <p>K_ϕ : constante de force n : périodicité ($n=1, 2, 3, 4, 6$)</p>	<p>Torsion</p> 
Energie de torsion impropre	Assure le maintien de la planéité ou de la chiralité d'un groupe d'atomes déterminé	$E_{\text{torsion impropre}} = \sum_{\text{angles torsion impropre}} K_\omega (\omega - \omega_0)^2$ <p>K_ω : constante de force ω_0 : valeur idéale définie dans le champ de force</p>	<p>Torsion impropre</p> 

c. Terme des atomes non liés

Ces termes permettent de prendre en compte les interactions de van der Waals et électrostatiques entre les atomes. En général, elles s'appliquent seulement aux paires d'atomes qui sont séparées par au moins trois liaisons chimiques

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

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

Terme du champ de force	Expression générale	Illustration
Energie de van der Waals	$E_{\text{vdW}} = \sum_{i < j} \left[\left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} \right) - \left(\frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \right]$ <p>A_{ij}, B_{ij} : paramètres dépendant de la nature des atomes i et j, distants de r_{ij}.</p>	<p>Van der Waals</p> 
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}.</p> <p>ϵ_{ij} : constante diélectrique rendant compte de l'atténuation de l'interaction électrostatique par l'environnement (solvant ou molécule elle-même).</p>	<p>Electrostatique</p> 
Energie des liaisons hydrogène	$E_{\text{hydrogène}} = \sum_{i < j} \left[\left(\frac{A'}{r_{AD}^{12}} \right) - \left(\frac{B'}{r_{AD}^{10}} \right) \right] \cos^m \theta_{A-H-D} \cos^n \theta$ <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>	

d. 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 [32]. 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 étonnant de combiner les termes et/ou les paramètres de deux champs dans l'espoir d'obtenir un meilleur ensemble [33].

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, de nucléotides ou encore de complexes organométalliques [34].

e. Différents champs de force en mécanique moléculaire

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de différents 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]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcanes, alcènes, alcynes non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [38] et MM4 (1996) [39] 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 [40].
- ✓ **GROMOS** : GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), est écrit par Van Gunsteren [41] 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. [42,43], 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 [44] 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 [45].
- ✓ **EMO** : Le programme EMO (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaive [46-47], 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 [48]. 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.

f. 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 [8].

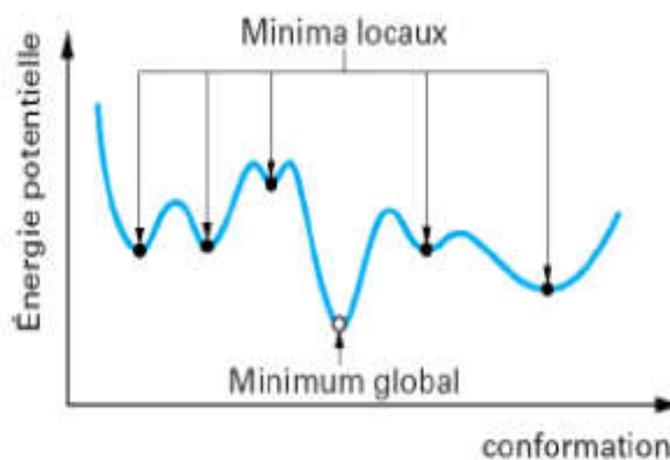


Figure I.1 : Déterminer les minima de l'énergie globale d'interaction

II.3.3 Dynamique Moléculaire

a. Principe de la dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire consiste à étudier la trajectoire d'une molécule en lui appliquant les lois de la mécanique classique newtonienne [49]. Une molécule est considérée comme un assemblage d'atomes dont les positions spatiales varient au cours du temps. Chaque atome est considéré comme une masse ponctuelle dont le mouvement est déterminé par l'ensemble des forces qui s'exercent sur elle [50]. Il en résulte un mouvement atomique correspondant à des oscillations autour d'un minimum d'énergie ou au passage d'un de ces minima à un autre. La dynamique moléculaire possède ainsi la faculté d'extraire la molécule d'un minimum local. Cette technique repose sur l'intégration des équations de mouvements de Newton pour chaque atome i :

$$\vec{F}_i(t) = m_i \cdot \vec{a}_i(t)$$

Où :

m_i : Masse de l'atome i

\vec{a}_i : Accélération de l'atome i

\vec{F}_i : Force s'exerçant sur l'atome i

L'accélération étant dérivée des coordonnées $\vec{r}_i(t)$ d'un atome i à un instant t, on en déduit que :

$$\vec{F}_i(t) = m_i \cdot \frac{d\vec{v}_i(t)}{dt} = m_i \cdot \frac{d^2\vec{r}_i(t)}{dt^2}$$

Si $\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n$ sont les coordonnées des différents atomes à un instant t, on peut déterminer la force \vec{F}_i qui s'exerce à cet instant sur un atome i par dérivation par rapport à ses coordonnées spatiales de la fonction énergie potentielle $E(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n)$.

Pour obtenir la trajectoire des atomes en fonction du temps, on va réaliser une intégration numérique sur un court intervalle de temps des équations de mouvements. Ces équations de mouvements sont déterminées. Il faut, pour réaliser une simulation de dynamique

moléculaire, partir d'une structure raisonnable du système (expérimentale ou modèle) que l'on veut étudier et on déterminera les coordonnées et vitesses initiales en procédant ainsi :

▶ Une minimisation d'énergie du système fournira le jeu de coordonnées de départ de la dynamique. Cette étape de minimisation nécessaire permet d'éviter qu'une énergie mécanique trop forte ne détériore l'assemblage moléculaire dès le début de la production de dynamique moléculaire.

▶ Les vitesses de départ des atomes sont attribuées aléatoirement à partir d'une distribution gaussienne de maxwell-Boltzman correspondant à la température T [51].

b. Calcul de dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire requiert un jeu de coordonnées et vitesses initiales. La géométrie de départ utilisée provient d'une structure établie expérimentalement lorsque c'est possible, sinon elle générée à partir du champ de force utilisé. L'énergie du système est minimisée afin d'éliminer toutes les interactions fortement défavorables, qui, si elles étaient conservées, perturberaient la simulation. Les vitesses initiales sont attribuées selon la statistique de Boltzmann.

Une dynamique moléculaire se compose de trois phases distinctes :

Thermalisation

Il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée. On utilise comme structure initiale la structure minimisée.

On tire aléatoirement le jeu de vitesse initiale, soit à Zéro à des vitesses correspondantes à quelques dizaines de Kelvin. On intègre ainsi les équations du mouvement en multipliant régulièrement les vitesses afin d'augmenter la température jusqu'à la température de référence (généralement 300K).

Une montée en température demande en général 2 à 10ps de simulation (200 à 1000 pas d'intégration Δt).

Equilibration

C'est une phase importante au cours de laquelle on stabilise la température du système, il y a alors un échange important entre énergie potentielle et énergie cinétique. C'est une phase où on contrôle régulièrement la température que l'on ramène dans la fenêtre souhaitée. La température de déviation se fait suivant un processus de relaxation ou la température est recalculée après chaque étape et ramenée à la température de référence par la formule :

$$d/dtT = \tau^{-1}(T_0 - T)$$

Avec τ : temps de relaxation

T_0 : Température de référence

T : Température du système

Durant la phase d'équilibration la valeur de τ doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement $\tau = 10$ fs) Cette phase peut durer de 10 à 20 ps.

Dynamique ou production

C'est la phase réellement exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100 ps. Au cours de cette simulation, on doit sauvegarder les conformations, énergies..., toutes les 0.05 ou 0.1 ps.

La dynamique la plus classique se fait à température constante avec un scaling des vitesses, mais un temps de relaxation plus grand (0.1 à 0.4 ps) pour permettre d'évaluer l'équilibre propre du système [52].

II.3.4 Docking Moléculaire

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le

récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [53].

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:

- ▶ 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

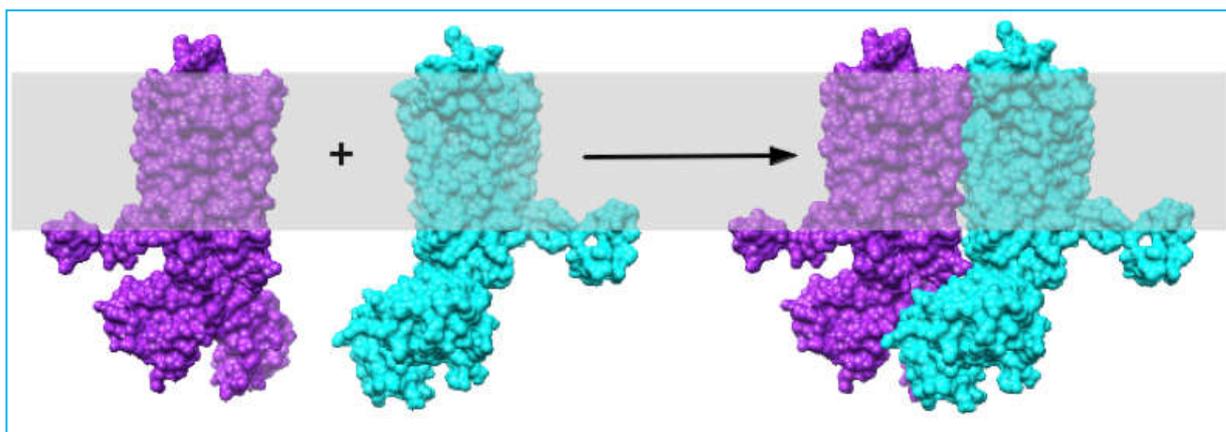


Figure I.2 : Représentation schématique du docking de deux molécules

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 [54].

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.

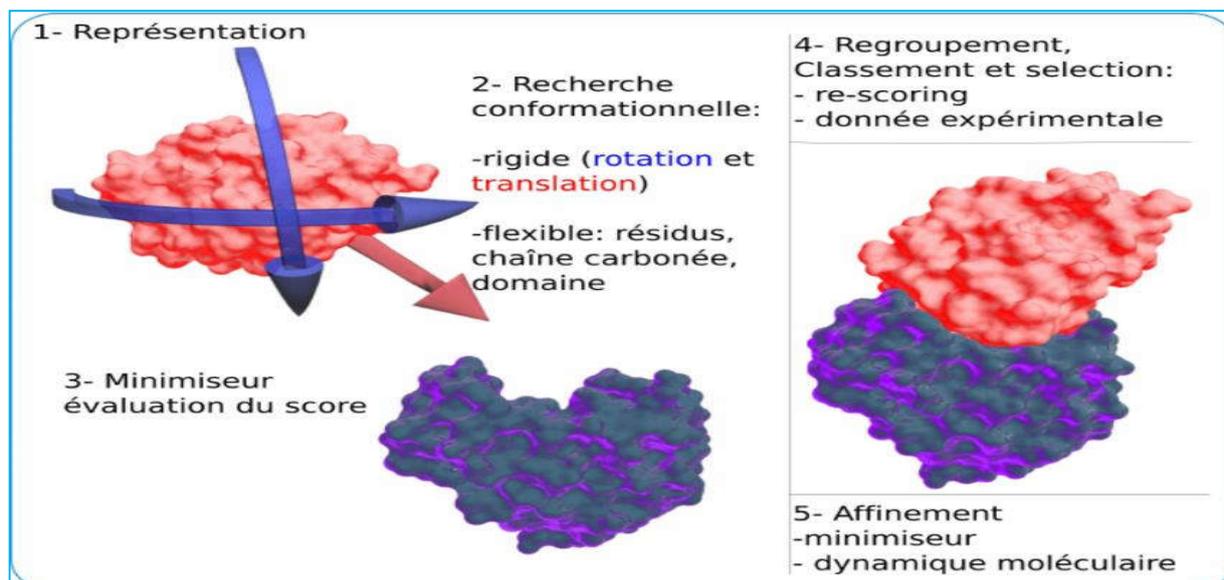


Figure I. 3: Protocole général de docking [55].

b. Le docking : du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

Les premiers logiciels de docking développés au début des années 80 considéraient le récepteur et le ligand rigides en se basant sur le modèle « clé-serrure ». C'est sans aucun doute la catégorie la plus simple et rapide de docking.

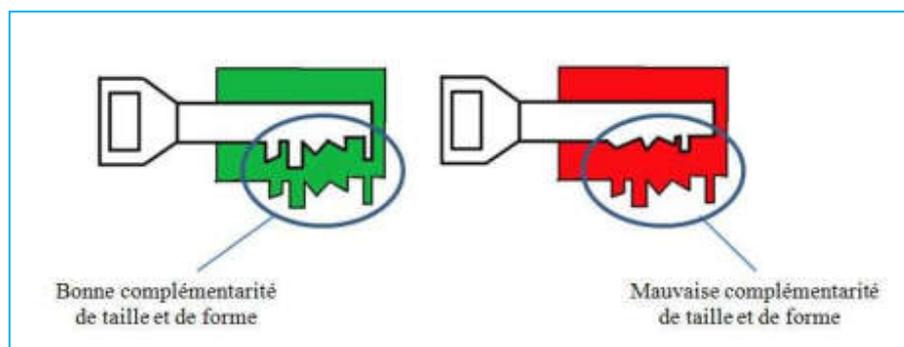


Figure I.4 : Schéma illustrant le principe de « clé-serrure ».

Ils ont distingué deux niveaux de docking :

- ✓ Le docking semi-flexible est "asymétrique" et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible, la protéine gardée rigide.
- ✓ Le docking flexible enfin, traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité permise est limitée pour simplifier les modèles.

La quasi-totalité des programmes de docking utilisés actuellement proposent une approche qui prend en compte la flexibilité du ligand, tout en considérant le récepteur rigide (docking semi-flexible).

L'utilisation de tels programmes mènent à de bons résultats, principalement quand la protéine a une flexibilité limitée. En effet, dans de tels cas, la structure cristallographique peut être considérée comme plus représentative de l'état de la protéine dans son environnement naturel, ce qui augmente les chances de simuler correctement le mode d'interaction protéine-ligand [56].

c. Programmes de docking moléculaire

En général le choix d'un programme donne pour un criblage virtuel par docking, on a besoin de connaître en combien de temps, avec quelle précision [57,58].

Parmi ces programmes d'amarrage moléculaire on peut trouver : comme GOLD [59], FlexX [60], DOCK [61], AutoDock [62], MOE [63] ou bien UCSF Chimera [64] et Molegro Virtual Docker (MVD)[65,66].

L'application des programmes d'amarrage permet de conduire à de nombreuses réussites dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [67, 68].

III. 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 [69]. 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) [70]. 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 prédiction telles que les règles de Lipinski, et le score de biodisponibilité [71]. Le Lipinski est une règle appliquée pour évaluer la drug likeness pour prédire si un composé est susceptible d'être bioactif selon certains paramètres importants tels que le poids moléculaire, LogP, le nombre de HPA et HBD. L'outil suisse ADME a utilisé le vecteur algorithmique de machine (SVM) [72] 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) dépistage aide à détecter la probabilité de drogue de composés. Le format SMILES des ligands a été chargé dans le serveur SwissADME [73], et ADME le criblage a été effectué aux paramètres par défaut.

III.1 La pharmacocinétique

Pharmacocinétique est traditionnellement définie comme l'étude du sort des médicaments dans l'organisme [74], 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.

III.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 [75].

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, ...).

IV. Références

- [1] <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesures-analyses-th1/etudes-de-structure-et-caracterisation-42386210/modelisation-moleculaire-et-conception-de-nouveaux-ligands-d-interets-biologiques-pha1015/>.
- [2] T. Clark., ‘‘Handbook of Computational Chemistry’’, Edition, Wiley., London, **1985**.
- [3] J .Debord, Introduction à la modélisation moléculaire, 37-41. **2004**.
- [4] W. Koch and M. C. Holthausen. ‘‘Chemist’s Guide To Density Functional Theory’’. Wiley VCH, Weinheim, **2000**.
- [5] <https://bioinfo-fr.net/la-modelisation-moleculaire>.
- [6] François Martz, Développement d’une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques, thèse de doctorat de l’université paris **2007**.
- [7] BOUKLI-HACENE, Faiza. Thèse de doctorat .Etude de l’interaction de quelques sels de métaux avec les sucres en solution aqueuse par modélisation moléculaire. **2016**.
- [8] DUGAS, Hermann. Principes de base en modélisation moléculaire. Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l’Université de Montréal, **1996**.
- [9] BOYD, Donald B. et LIPKOWITZ, Kenny B. Molecular mechanics: The method and its underlying philosophy. Journal of Chemical Education, **1982**, vol. 59, no 4, p. 269.
- [10] Cancès, E. C. Le Bris.Y. Maday, Méthodes mathématiques en chimie quantique. Une introduction, Springer Science & Business, **2006**.
- [11] Hladik; J. Chrysos; M. P.-E. Hladik.L.U. Ancarani, Mécanique quantique, Masson, **1997**.
- [12] HASSAINE, Roumaïssa. Etude QSAR basée sur la DFT conceptuelle des propriétés cytotoxiques de certains dérivés de chalcone . Mémoire de fin d’étude en Master **2016**.

[13] BOUNEHAS, RiMA. approche qualitative de la relation structure activité dans des dérivés bioactives de 1,2,3-TRIAZINE. Mémoire de fin d'étude en Master **2014**.

[14] Raphaël Roux., « Etude probabiliste de systèmes de particules en interaction. Application à la simulation moléculaire » ; thèse de Doctorat de l'Université Paris-Est, pp.15. **2010**.

[15] Latifa CHEBIL., « Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle » ; thèse de Doctorat de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE , pp.88. **2006**.

[16] NGUYEN Ngoc Bich., « Modélisation de structures atomiques et électroniques. Matériaux fonctionnels nano structurés pour la micro et l'optoélectronique. » ; thèse de Doctorat de l'UNIVERSITÉ DE CAEN Basse-Normandie, pp.41, **2010**.

[17] P. A. M. Dirac, Proc. Roy. Soc. London A117 (1928) 610-624. (b) P. A. M. Dirac, Proc. Roy. Soc. London A118.351-361. **1928**.

[18] POPLE, John A., SANTRY, D. Po, et SEGAL, Gerald A. Approximate self-consistent molecular orbital theory. I. Invariant procedures. The Journal of Chemical Physics, vol.43, no 10, p. S129-S135. **1965**.

[19] CHERMETTE, H. Density functional theory: a powerful tool for theoretical studies in coordination chemistry. Coordination chemistry reviews, vol. 178, p. 699-721. **1998**.

[20] VON RAGUÉ SCHLEYER, Paul. Encyclopedia of computational chemistry. Chichester, UK : Wiley, **1998**.

[21] Abiza-Fiala. Etude par modélisation moléculaire l'activité cytotoxiques d'une série de dérivés de benzimidazole (QSAR et Docking moléculaire) Mémoire de fin d'étude en Master **2018**.

[22] A. Nassour., Thèse de doctorat, université Paul Verlaine-Metz, 24-25. **2008**.

- [23] D.Young. « Computational Chemistry: A practical guide for applying techniques to real world problems », Chapitre 10., éditions Wiley Inter-Science., .78-91, **2001**.
- [24] Leach, A.R., Empirical force field models: molecular mechanics, in Molecular modeling: principles and applications, Longman, A.W., Editor: Harlow, England. **1996**
- [25] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, J. Am. Chem. Soc., pp. 107,3902-3909, **1985**.
- [26] N. Allinger, Adv. Phys. Org. Chem., 13, 1 **1976**.
- [27] Yasser KARZAZI. Structure électronique et champ de forces moléculaire des cycloimmonium ylures. Thèse de doctorat d'état, université des sciences et technologies de lille. **1996**.
- [28] L. H. Thomas, Proc. Cambridge Phil. Soc., 23, 713, **1927**.
- [29] BOUCHARÉB, Lebbad Fatima. Etude par modélisation moléculaire des mécanismes de complexation. Thèse de doctorat. 09/01/**2016**.
- [30] M. LEDECQ, Thèse de doctorat, Université de Notre-Dame de la Paix, France, **2004**.
- [31] N.L. Allinger., X. Zhou., J. Bergsma., J.Mol. Structre. (Theochem), 312. 69. **1994**.
- [32] 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**.
- [33] K. B. Lipkowitz, Abuses of molecular mechanics: Pitfalls to avoid. J. Chem., 72, 1070-1075. **1995**.
- [34] MSI. Biosym., Discover., user guide., ed. Biosym/MSI., S. Diego. **1995**.
- [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, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 8127. **1977**.
- [38] N.L. Allinger, Y.H. Yuh, J-H. Li, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 8522. **1989**.
- [39] N.L. Allinger, K. Chen., J-H. Lii., *J. Comp. Chem.*, 17., 642. **1996**.
- [40] W.L. Jorgensen., J.T. Rives., *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 1657. **1988**.
- [41] W. F. Van Gunsteren, M. Karplus, *Macromolecules.*, 15, 1528. **1982**.
- [42] B.R. Brooks., R. E. Bruccoleri., B.D. Olafson., D.J. States., S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comp. Chem.* 4, 187. **1983**.
- [43] J.C. Smith., M. Karplus., *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 805. **1992**.
- [44] T. Shimanouchi, *Pure Appl. Chem.*, 7, 131. [30] F. Tristram, V. Durier, G. Vergoten, *Journal of Molecular Structure*, 378, 249-259. **1996**.
- [45] A. Bouraoui, M. Fathallah, B. Blaive, R. Gallo, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 2, 1211- 1214. **1990**.
- [46] 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**.
- [47] S.J. Weiner, P.A. Kollman, T. Nguyen, D.A. Case, *J. Comput. Chem.* 230. P.7. **1986**.
- [48] 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**.
- [49] D. Frenkel, B. Smit, *Understanding molecular simulations: From algorithms to Applications* Academic press: San, Diego, **1996**.

[50] J.C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R.D. Skeel, L. Kale, K. Schulten. Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry* 26 1781-1802; **2005**.

[51] P. Rabinowitz, P.J. Davis. *Methods of Numerical Integration* **2007**.

[52] AYACHI, HICHAM. Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire. Thèse de doctorat. 19/03/2017.

[53] G.L. Warren, C. Webster Andrews, A.M. Capelli, B. Clark, J. LaLonde, M.H. Lambert, M. Lindvall, N. Nevins, S.F. Semus, S. Senger, G. Tedesco, I.D. Wall, J.M. Woolven, C.E. Peishoff, M.S. Head. A critical assessment of docking programs and scoring functions. *Journal of Medicinal Chemistry* 49, 5912-5931; **2006**.

[54] A. Jain. „Scoring Functions For Protein-Ligand Docking. *Current Protein And Peptide Science*, 7, 407-420. **2006**.

[55] Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, Nelson J, Burkhardt J-M, Autin L. Docking De Protéines En Réalité Virtuelle : Une Approche Hybride Et Multimodale. 2e Soumission A Rsti, **2008**, P 10.

[56] E. B. De Oliveira:“ Simulation moléculaire appliquée à l’acétylation de flavonoïdes catalysés par des lipases : influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la régiosélectivité de la bioconversion“, Thèse de doctorat d’université : Procédés biotechnologiques et alimentaires. Nancy : Institut National Polytechnique de Lorraine.France. p 187. **2009**.

[57] W.P .Walters. M.T. Stahl, and M.A. Murcko, Virtual screening - an overview. *Drug Discovery Today*, 3(4)., 160-178. **1998**.

[58] 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**.

[59] G. Jones, P. Willett, R.C. Glen, *J .Mol Biol.*,245, 43-53, **1995**.

- [60] M. Rarey., S. Wefing, T. Lengauer., *J. Comput Aided MolDes.*, 10(1), 41-54. **1996.**
- [61] I.D. Kuntz, J.M. Blaney, S.J. Oatley., R. Langridge., T.E. Ferrin, *J. Mol Biol.*, 161 269-288. **1982.**
- [62] D.S. Goodsell., A.J. Olson, *Proteins.*, 8, 195-202. **1990.**
- [63] 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.**
- [64] 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 ComputChem*; 25(13), 1605–12. **2004.**
- [65] MolegroVirtual Docker v.5.1. MolegroApS. Aarhus, Denmark, **2012.**
- [66] F. F. da. Elaine, F. B. Edilaine, A. O. Aline, C. R. Teodorico, *J. Biom. StructDyn*, 27, 619–625. **2010.**
- [67] Re-docking 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.
- [68] C. Spearman., The proof and measurement of association between two things. *Am. J. Psychol*, 15 (1), 72-101. **1904.**
- [69] S. Tian., et al. Ke application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research., *Adv Drug Deliv Rev* 86, 2–10, **2015.**

[70] 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**.

[71] A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J.J. 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**.

[72] 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**.

[73] C. Cortes., Vapnik V Support vector machine. *Mach Learn* 20: 273-297, **1995**.

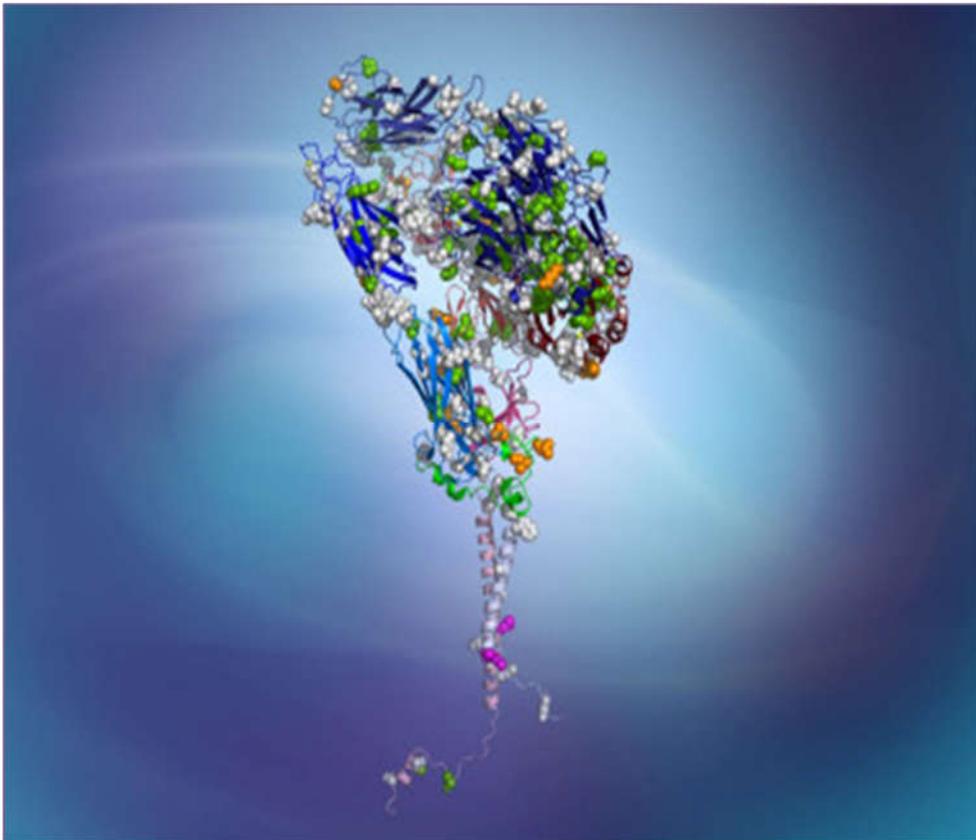
[74] H. Fatoki., D. Sanni., O. Adeoyo., B. Faleye. *J Nat Prod Plant Resour.*, 6(6), 21-25. **2016**.

[75] W.A. Ritschel. *Handbook of Basic Pharmacokinetics*. 3 ed: Drug Intelligence Publications, Inc.; **1986**.

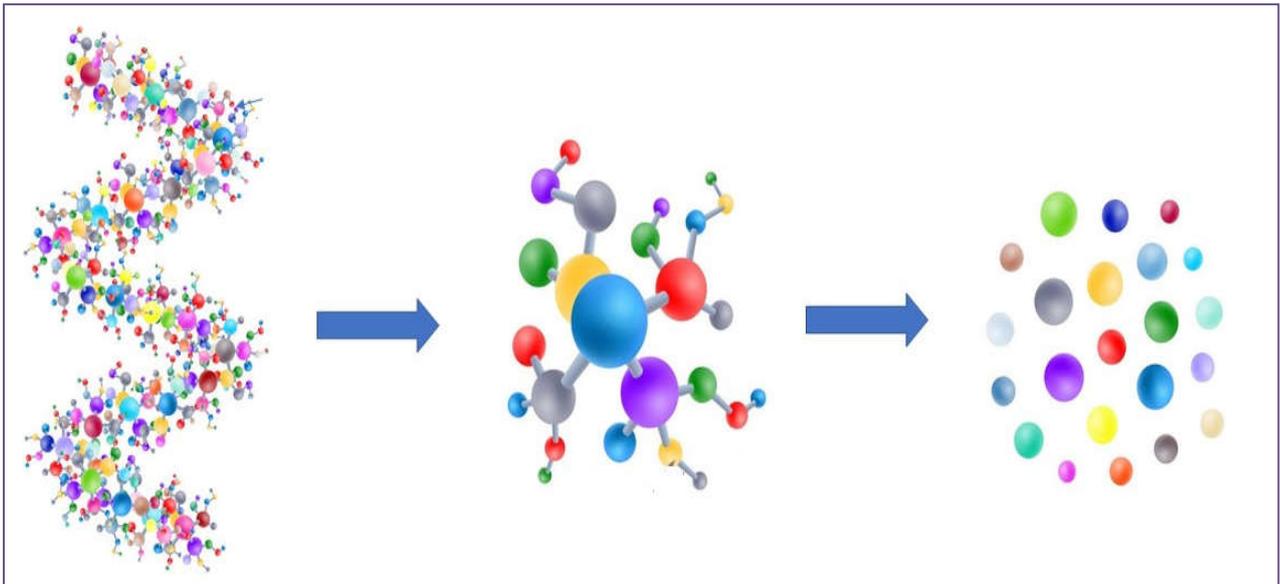
Chapitre II

Partie (A) : Les protéines, les enzymes et les acides aminés

Partie (B) : la maladie d'Alzheimer



Partie (A) : Protéines, Enzymes et Acides aminés



I. Introduction

Les organismes vivants sont constitués essentiellement de macromolécules formées de longues chaînes d'atomes qui adoptent, en se repliant, une structure spatiale bien définie.

Une molécule est un ensemble d'atomes. La taille d'un atome est environ d'une dizaine de nanomètre, soit un dix milliardième de mètre. Pour comprendre quelles sont les propriétés d'une molécule, il est notamment nécessaire de connaître les atomes qui la composent, ainsi que les liaisons qui existent entre eux [1].

Présentes chez les organismes vivants et essentiels à leur fonctionnement, ces macromolécules complexes et variées sont spécifiques à chaque espèce vivante et à chaque organe. Chaque cellule en fabrique en moyenne 15 000 sortes différentes, et un corps humain, près de 100 000, soit 50% du poids d'un être vivant.

Les protéines sont des molécules organiques complexes représentant un composant important des organismes vivants. Elles agissent comme des enzymes dans différentes réactions chimiques au sein de notre corps [2].

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation de systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques, la transmission des signaux, ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques. Comprendre et prédire la façon dont les protéines interagissent devraient permettre, à terme, d'interférer avec le processus biologique dans lequel elles sont impliquées. Ceci ouvre la voie à la prédiction de leur structure 3D constitue aujourd'hui un enjeu majeur pour l'industrie Pharmaceutique dont l'intérêt réside dans la création de nouveaux médicaments et l'étude de leurs propriétés associées.

Un médicament est généralement constitué d'un ligand et d'une protéine. Le ligand constitue la partie thérapeutique du médicament, la protéine correspond au transporteur du ligand. L'industrie pharmaceutique produit tous les jours de nouveaux ligands qui ont besoin d'un moyen d'assimilation au sein des cellules pour être efficaces médicalement. La problématique est donc de déterminer quelles sont les protéines ayant des affinités suffisantes avec le ligand pour pouvoir être utilisées comme "transporteur" [3].

Par conséquent, leur étude a une énorme importance 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 [4].

Dans ce chapitre nous allons donner quelques concepts biologiques concernant les structures des protéines, et leurs interactions.

II. Les protéines

Le terme protéine vient du grec ancien *prôtos* qui signifie premier. Ceci fait référence à leur importance primordiale dans les systèmes vivants. En effet, les mécanismes essentiels au fonctionnement des cellules et par, conséquence, au maintien de la vie, sont assurées.

Principalement par les protéines. Ces macromolécules possèdent une diversité de fonctions nécessaires aux processus responsables de l'homéostasie, du métabolisme, du développement, de la reproduction et de l'adaptation à l'environnement de tous les organismes. Aucun autre type de macromolécule biologique n'est en mesure de posséder les multitudes de fonctions que les protéines assurent et qu'elles ont accumulées durant les millions d'années d'évolution depuis l'apparition de la vie. Ces fonctions, aussi importantes que diverses, peuvent être simples comme la catalyse de réactions chimiques, à très complexes comme la réponse immunitaire coordonnée et organisée ou encore la compression et l'expression du matériel génétique [5].

Les protéines sont constituées d'acides aminés qui s'enchaînent les uns aux autres en une séquence définissant la structure primaire des protéines [6].

La structure est le support moléculaire de la fonction biologique de la protéine. L'organisation tridimensionnelle et spatiale de la « chaîne polypeptidique » est ainsi étroitement liée à sa fonction par la position des atomes qui la compose.

Les structures 3D de protéine. C'est dans ce contexte, que les approches *in silico* pour la prédiction de la structure protéique se révèlent utiles pour accéder à l'information 3D d'une protéine. En outre, les méthodes de bioinformatique nous permettent d'accroître nos connaissances sur la structure et l'architecture des protéines [7].

II.1 Définition des protéines

Les protéines sont des polymères linéaires composés d'acides aminés α ; leurs fonctions carboxyliques et amide sont portés par le même carbone (carbone α). Seulement vingt acides aminés existent et se distinguent par leur chaîne latérale. La composition et les propriétés des chaînes latérales permettent de classer les acides aminés en quatre groupes principaux: acide, basique, hydrophile et hydrophobe. La diversité des protéines réside sur la combinaison (nombre et ordre) de ces vingt acides aminés. La fonction d'une protéine est intrinsèquement liée à sa structure, elle-même déterminée par sa composition en acides aminés. Les protéines globulaires possèdent une structure tridimensionnelle compacte. En effet, les atomes composant la protéine interagissent entre eux et avec les molécules du solvant, la chaîne polypeptidique est alors contrainte à se replier dans une structure tridimensionnelle unique et stable, appelée « état natif de la protéine » [8].

Les protéines contiennent les quatre éléments : C, H, O et N; beaucoup contiennent du soufre, certaines renferment du phosphore [9].

Ils sont des éléments essentiels de la vie de la cellule. Leurs fonctions couvrent pratiquement l'ensemble des opérations réalisées au sein d'un organisme elles jouent un rôle : catalytique (l'amylase salivaire) ; de transport (l'hémoglobine) ; et de protection de l'organisme (les anticorps). En somme, l'immense majorité des fonctions cellulaires est assurée par des protéines dont la structure complexe influe sur leurs actions [10].

II.2 La liaison peptidique

La liaison entre deux acides aminés, appelée liaison peptidique [11], est représentée sur la figure II-1. Elle se forme par une réaction de condensation entre le groupe α -carboxyle d'un acide aminé et le groupe α -amine d'un autre acide aminé donnant lieu à une liaison amide. Il en résulte une chaîne d'acides aminés constituant des peptides ou des protéines suivant le nombre d'acides aminés impliqués. Le terme protéine désigne les chaînes polypeptidiques dont le nombre de résidus est supérieur à 100. Lorsque le nombre de résidus est inférieur à 50, on parle de peptides, entre 50 et 100, on parle indifféremment de peptides, de petites protéines ou de polypeptides. Les groupes libres situés aux extrémités opposées d'une chaîne peptidique sont

appelés le groupe N-terminal pour le groupe amine et le groupe C-terminal pour le groupe carboxyle.

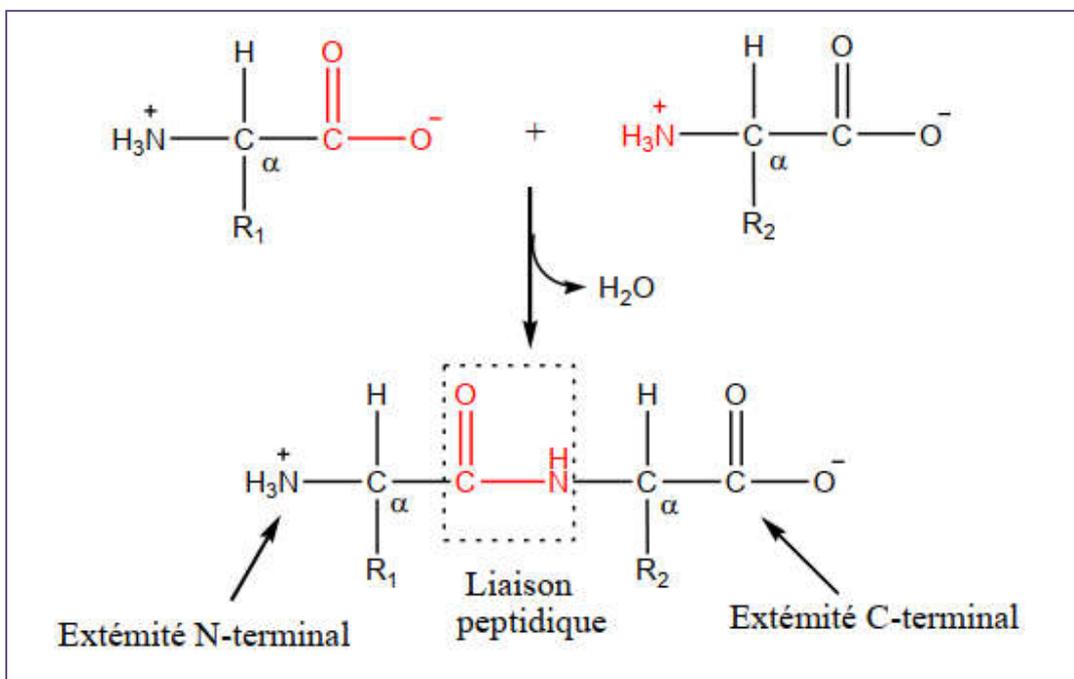


Figure II.1 : Formation d'une liaison peptidique.

Il est convenu de numérotter les acides aminés d'une chaîne peptidique en allant de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale. Du fait de la présence de nombreux groupements acido-basiques. La charge globale portée par une protéine dépend donc du nombre de résidus acides et de résidus basiques ainsi que du pH de la solution dans laquelle elle se trouve. Le pH pour lequel la protéine ne possède aucune charge nette correspond au point isoélectrique (pI) de la protéine [12]

II.3 Structure des protéines

Les protéines sont constituées d'une succession d'acides aminés (vingt types différents chez l'homme); la chaîne ainsi formée se replie pour aboutir à la forme active de la protéine. Cette conformation totalement repliée correspond à la forme la plus stable de la protéine dans des conditions normales. On distingue quatre niveaux d'organisation structurale pour une protéine, respectivement appelés structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire [13].

II.3.1 Structure primaire

Cette structure est définie par l'enchaînement polymérisé de monomères d'acides aminés. Le lien peptidique est formé par la condensation du groupement carbonyle en α d'un acide aminé et du groupement amine du prochain acide aminé.

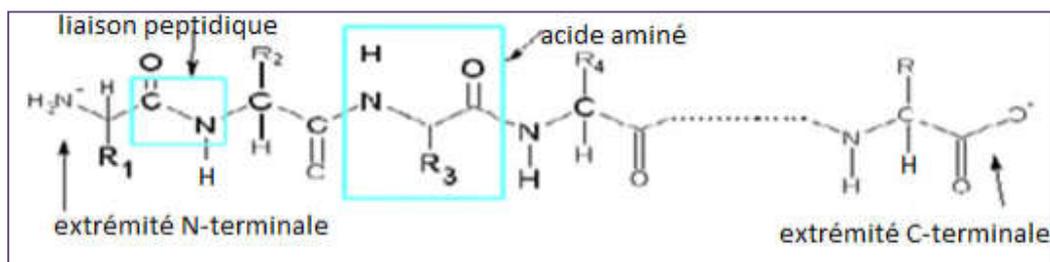


Figure II.2: Formule développée d'une protéine de n acides aminés [14].

II.3.2 Structure secondaire

La structure secondaire d'une protéine est définie comme la conformation locale de la chaîne polypeptidique. L'existence de structures secondaires, provient du fait que les repliements énergétiquement favorables de la chaîne peptidique sont limités et que seules certaines conformations sont possibles. De plus, certaines d'entre elles se trouvent nettement favorisées car stabilisées par des liaisons hydrogène entre les groupements amides (-NH) et carbonyles (-CO) du squelette peptique.

En 1951, avant la détermination de la première structure protéique, Linus Pauling, Robert Corey et Herman Branson, sur des considérations théoriques, proposent l'existence d'une forme α des structures secondaires, composée de l'hélice droite et de l'hélice gauche [6]. Par la suite ils proposent l'existence d'une autre forme appelée β , organisée sous forme de feuillets [15].

Ces structures secondaires furent observées dans la première structure protéique résolue de la myoglobine en 1958 [16], ainsi qu'en 1965 dans la structure du lysozyme confirmant les calculs de Linus Pauling et collaborateurs [17].

Deux grandes régions d'angles autorisés, correspondant aux angles Φ et Ψ adoptés par les brins β et les hélices α , sont observées dans le diagramme de Ramachandran. En effet, les hélices α et les feuillets β définissent des conformations du squelette peptidique qui se répètent de

manière régulière. La combinaison des angles Φ et Ψ du squelette polypeptidique est approximativement répétée sur la longueur de la structure secondaire.

Bien que les hélices α et les brins β satisfassent les contraintes des liaisons peptidiques, ce n'est pas le seul facteur qui explique leur présence ubiquitaire. Ces deux éléments structuraux sont stabilisés par des interactions hydrogène entre les atomes du squelette peptidique, rendant ainsi ces conformations très favorables.

Les hélices α et les feuillets β constituent une très grande partie des éléments structuraux réguliers des protéines. Cependant, des éléments de structures secondaires irréguliers sont aussi observés dans les protéines et sont tout aussi vitaux pour leurs fonctions et leurs structures.

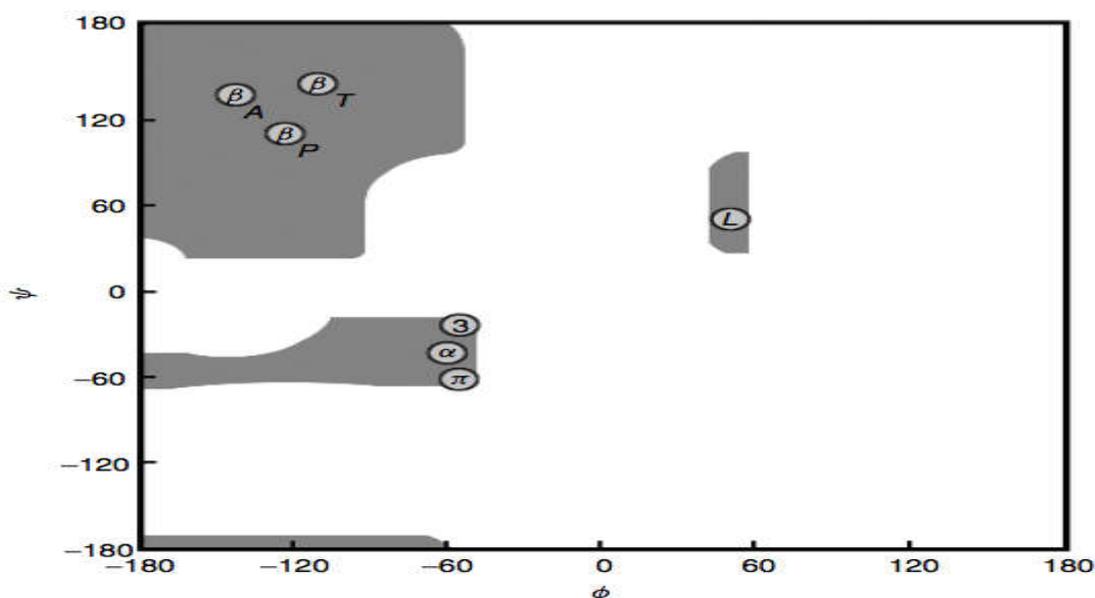


Figure II.3: Diagramme de Ramachandran.

Les régions en gris représentent les conformations dites « autorisées » du squelette peptidique. Les régions en blanc représentent donc les conformations dites « interdites ». Les cercles indiquent les paires d'angles Φ , Ψ des structures secondaires répétitives. Définitions des symboles : β_A , bêta anti parallèles ; β_P , bêta parallèles ; β_T , bêta *twist* ; α , hélice alpha droite ; L , hélice alpha gauche ; π , hélice *pi* ; 3 , hélice [18].

a. Les hélices alpha (α)

Dans l'hélice alpha, la chaîne primaire s'enroule sur elle-même peut être stabilisée par des liaisons hydrogène entre les groupes NH et CO, à tous les quatre acides aminés environ (**Figure II.4**).

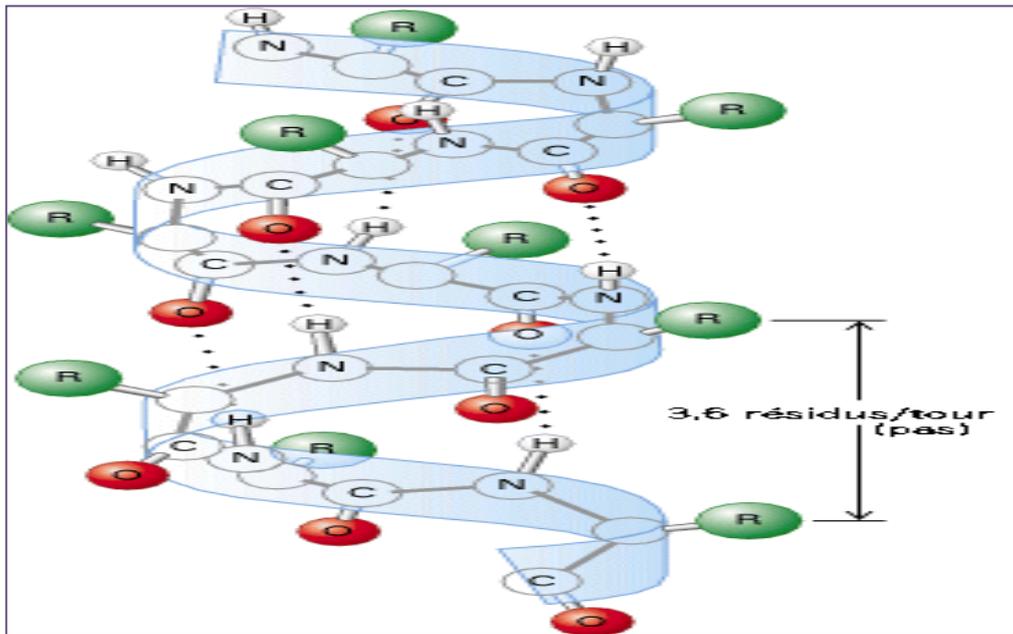


Figure II.4 : Schéma d'une hélice α

Les oxygènes, azotes, hydrogènes, et chaînes latérales des résidus sont représentés par des boules rouges, blanches, grises et vertes, respectivement. L'hélice α est stabilisée par des liaisons hydrogène internes formées entre l'oxygène du groupe carbonyle de chaque résidu i et le proton amide du résidu $i+4$ en amont de l'hélice. Elles sont représentées en pointillés. L'hélice α possède un pas de 3,6 résidus [19].

b. Les Feuillettes β

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.5**).

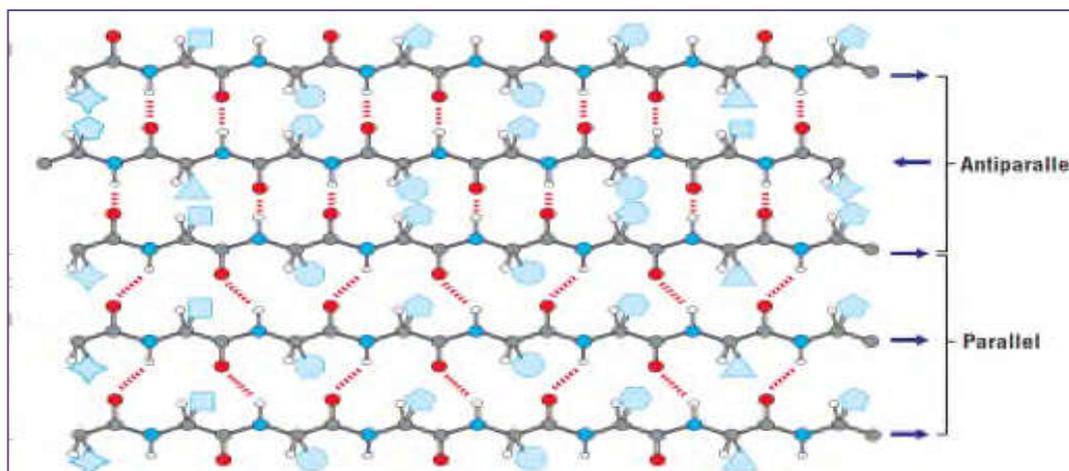


Figure II.5 : Schéma d'un feuillet β antiparallèle et d'un feuillet β parallèle [19].

II.3.3 Structure tertiaire

La structure tertiaire se définit comme étant la structure tridimensionnelle d'une protéine. Elle décrit l'interaction spatiale des structures secondaires entre elles. Un certain nombre d'interactions stabilisent les structures tertiaires : les liaisons disulfures, les liaisons hydrogènes, les ponts salins se forment entre deux acides aminés ionisés, les interactions hydrophobes sont formées entre groupements non polaires (**Figure II.6**).

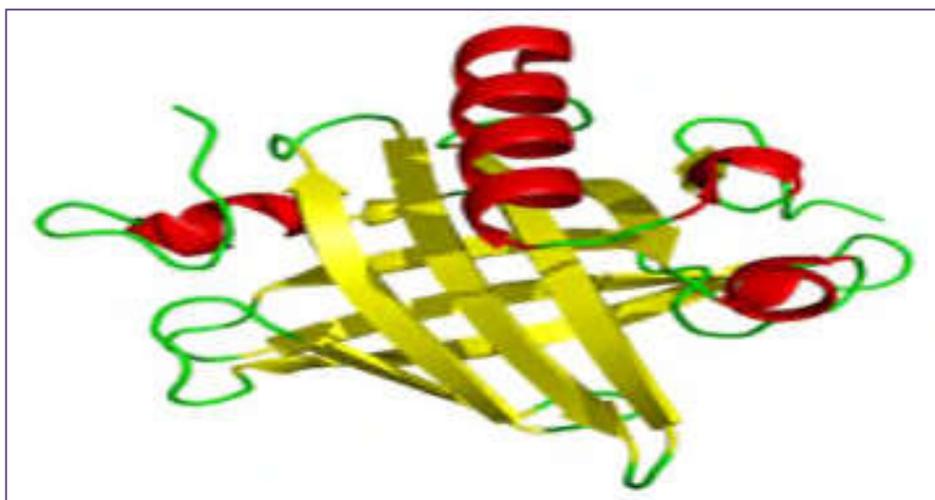


Figure II.6 : Structure tertiaire d'une protéine [14].

II.3.4 Structure quaternaire

Cette structure est le niveau le plus élevé d'organisation des protéines. Elle concerne les protéines constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques. L'assemblage de ces sous-unités entre elles par des liaisons faibles constitue la structure quaternaire de la protéine (**Figure II.7**).



Figure II.7 : Structure quaternaire d'une protéine [20]

II.4 Evolution des structures des protéines

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. Cette dernière technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures accessibles gratuitement appelée la « protein data bank» (PDB), c'est-à-dire plus de 40 000 structures protéiques (juin 2007). La RMN fournit, quant à elle, 6200 structures contre seulement 150 dans le cas de la microscopie électronique. Le nombre de structures définies est présenté dans les 30 dernières années, toutes techniques confondues. [21].

II.5 Rôle biologique des protéines

Les protéines ont un grand et large rôle dans l'organisme des êtres vivants, on peut citer comme exemples :

- ▶ La catalyse enzymatique car la protéine peut augmenter la vitesse d'une catalyse d'un facteur de 10^6 .
- ▶ Le transport membranaire, ou dans l'organisme de l'être vivant.
- ▶ La protection immunitaire (anticorps).
- ▶ Le support mécanique (collagène).
- ▶ Le mouvement (les protéines musculaires comme l'actine et la myosine).
- ▶ La création et la transmission de l'influx nerveux (système nerveux).
- ▶ Le contrôle de la croissance et la différenciation cellulaire (information génétique, hormones...).

Dans la majorité des rôles biologiques cités, la protéine joue le rôle de récepteur, et dans la conception des médicaments, elle est le site multi potentiel par rapport au mode de fixation de différents conformées d'une drogue [22].

II.6 Fonctions des protéines

La catalyse enzymatique est un facteur des rôles majeurs joués par les protéines dans les cellules. En effet les réactions favorables d'un point de vue thermodynamique ont lieu au sein des cellules mais ne se réalisent pas spontanément (ou alors à une vitesse très faible) en raison de l'existence d'une barrière énergétique difficile à franchir, ou à augmenter la vitesse de réaction [23].

Une enzyme ne catalyse en générale qu'une seule réaction, parce qu'elle n'est pas capable de se lier efficacement qu'à un seul substrat. Cette spécificité résulte du fait : lorsque deux molécules se rencontrent, leur association se stabilise grâce à plusieurs liaisons faibles (liaisons hydrogène, liaison ionique, forces de Van Der Waals, et dans une moindre mesure, interaction hydrophobe ; ces liaisons sont environ 100 fois plus faibles qu'une liaison covalente).

Cela ne peut se produire que si les deux surfaces moléculaires sont complémentaires (**Figure II.8-B**). Dans le cas contraire, les deux molécules ne restent pas associées et aucune réaction ne peut avoir lieu (**Figure II.8-A**)

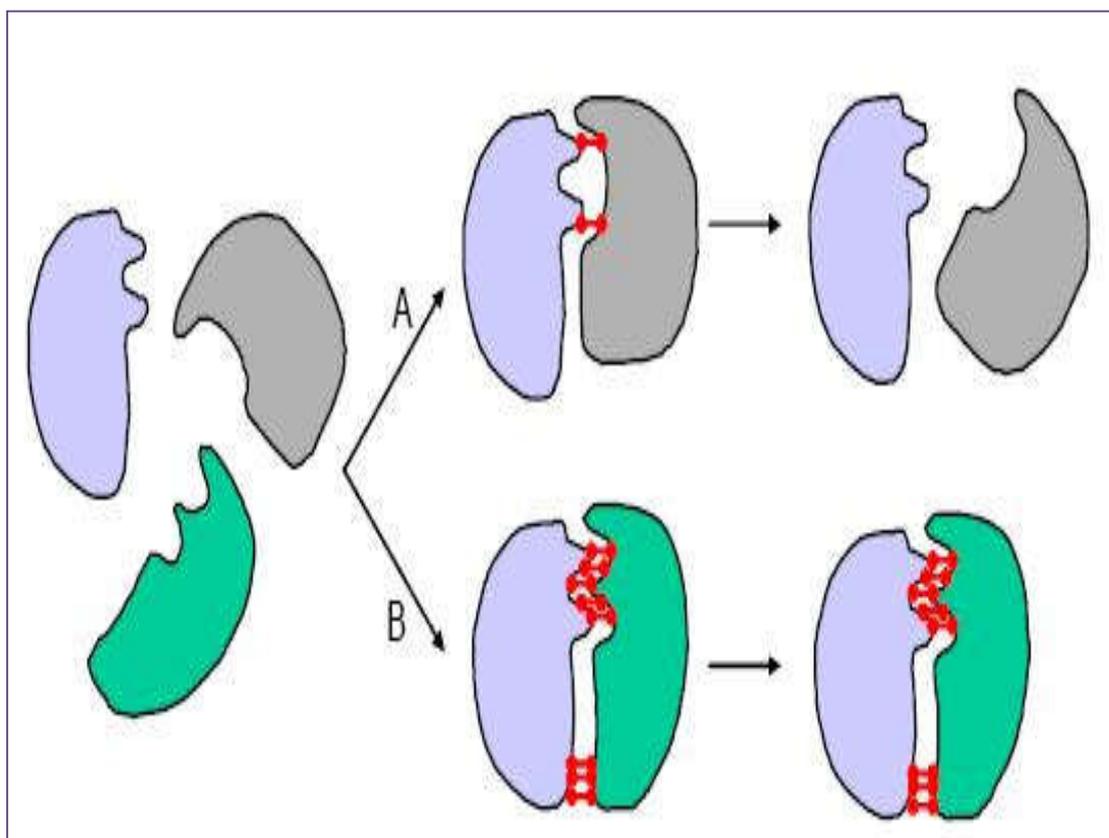


Figure II.8 : Importance de la complémentarité des surfaces dans les mécanismes de reconnaissance moléculaire.

La complémentarité (A) est faible: le nombre de liaisons non covalentes ne suffit pas pour stabiliser l'association entre les deux molécules. (B) Le grand nombre de liaisons faibles permet de stabiliser l'association entre deux molécules complémentaires [23].

III. Les enzymes

Le mot enzyme vient des racines grecques *en* (dans) *zume* (levain). Les premières enzymes identifiées ont été extraites des levures, ces microorganismes responsables de la transformation du glucose en alcool.

Dans les cellules, les enzymes permettent aux réactions de se produire avec peu d'énergie. Souvent, la seule énergie cinétique des molécules à la température ambiante est suffisante pour que la réaction se produise. La plupart des réactions qui se déroulent dans les cellules ne pourraient pas s'y produire sans les enzymes appropriées [24].

III.1 Définition

Une enzyme est une protéine de masse moléculaire élevée, thermolabile, biocatalyseur des réactions métaboliques, elle est produite par un organisme vivant et capable d'agir en dehors de cet organisme [25]. Les enzymes sont caractérisés par l'identification des molécules sur lesquelles elles agissent [26].

III.2 Nomenclature

Le nom de la plupart des enzymes est bâti en ajoutant le suffixe «-ase» au terme qualifiant la réaction ou encore la nature du substrat (par exemple, le lactate déshydrogénase). D'autres sont désignées par leur nom usuel (par exemple, la pepsine).

Chaque enzyme est désignée par un numéro donné par la Commission des Enzymes de l'Union Internationale de la Biochimie Moléculaire. Ce numéro est précédé des lettres EC et comporte quatre chiffres séparés par des points : EC (W.X.Y.Z) :

- ▶ Le 1^{er} chiffre : indique la classe de l'enzyme, il en existe six.
- ▶ Le second chiffre : la sous classe, la nature du groupement chimique donneur de groupement, type de fonction du substrat métabolisé.
- ▶ Le troisième chiffre : la sous-sous-classe, indique la nature chimique de l'accepteur.
- ▶ Le quatrième chiffre : numéro d'ordre de l'enzyme (dans la sous classe), en relation avec le substrat de l'enzyme [27].

III.3 Classification des enzymes

On peut trouver 6 classes d'enzymes :

1) Oxydoréductases : Elles catalysent les réactions d'oxydoréduction, c'est-à-dire le transfert de protons et d'électrons. C'est le cas des déshydrogénases, des réductases, des oxydases ... (par exemple, la lactate déshydrogénase permet la réduction du pyruvate en lactate ou encore l'oxydation du lactate en pyruvate).

2) Transférases : Elles catalysent les réactions de transfert d'atome ou de groupement d'atomes. C'est le cas des transaminases qui transfèrent la fonction amine d'un acide aminé sur un acide α -cétonique.

3) Hydrolases : Elles catalysent des réactions de coupure de liaison covalente nécessitant de l'eau. C'est le cas de toutes les enzymes digestives comme la trypsine (spécialisée dans la coupure des liaisons peptidiques).

4) Lyases : Elles catalysent les réactions lytiques non hydrolytiques et non oxydantes en créant des doubles liaisons. Dans la réaction inverse, les lyases catalysent l'addition d'un groupement fonctionnel sur la double liaison d'un substrat. C'est le cas de l'aldolase (qui transforme le fructose 1,6- biphosphate en deux triosesphosphate, (glycolyse)).

5) Isomérasés : Elles catalysent des réactions d'isomérisation, c'est-à-dire des remaniements intramoléculaires. C'est le cas de l'aconitase qui transforme le citrate en isocitrate (Cycle de Krebs)).

6) Ligases : Elles catalysent les réactions de ligation, de condensation, c'est-à-dire la formation de liaisons covalentes nécessitant de l'énergie chimique, le plus souvent apportée par l'hydrolyse d'ATP. C'est le cas des synthétases comme la glutamine synthétase, qui permet l'amidification de l'acide glutamique en glutamine (métabolisme azoté). [28,29].

III.4 Notions de spécificité

Chaque enzyme a une double spécificité, spécificité de reconnaissance des molécules avec lesquelles il est en interaction, spécificité de type de réaction qu'il catalyse [30].

À la fin de la réaction la structure de l'enzyme se retrouve inchangée. Leur mode d'action est basé sur la reconnaissance spécifique du substrat par un domaine particulier chez l'enzyme (site actif ou site catalytique). L'activité enzymatique est liée à la structure tertiaire de l'enzyme, et notamment à celle du site actif. Des facteurs comme le pH ou la température, pouvant influencer cette structure tridimensionnelle ou encore l'état d'ionisation du site actif, affectent fortement l'activité enzymatique. Chaque enzyme possède donc une température et un pH d'activité optimale [31].

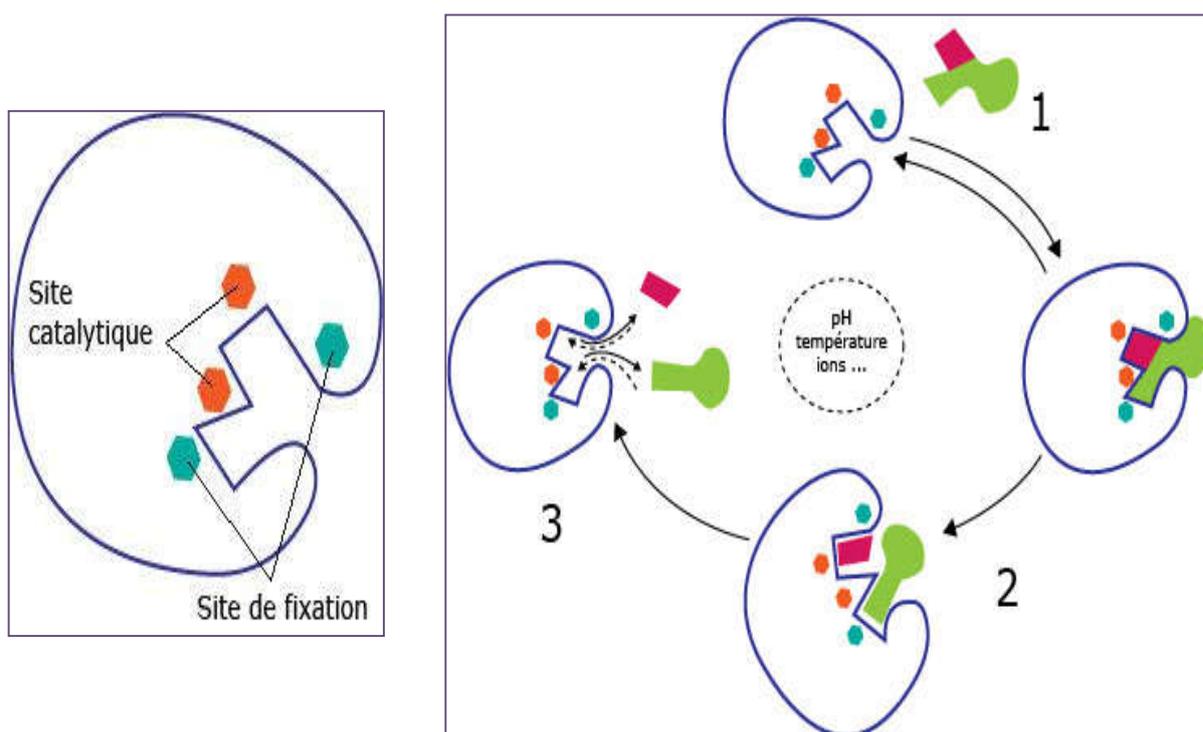


Figure II.9: Représentation schématisée de la notion de spécificité.

III.5 Le site actif

C'est la région de l'enzyme qui permet la reconnaissance et la fixation de substrat, il est aussi le siège de la catalyse (site de la catalyse). Il s'agit d'une structure spatiale : poche interne hydrophobe, qui apparaît lors du repliement de la protéine dans sa structure tertiaire. Deux modèles ont été proposés pour élucider cette spécificité :

- ▶ Modèle de Fisher (1890) : modèle de la clé et de la serrure La forme de substrat (clé) est complémentaire de celle de site actif de l'enzyme (la serrure).
- ▶ Modèle de Koshland (1985) : modèle de l'ajustement induit L'enzyme n'est pas rigide, mais flexible, l'enzyme et le substrat adaptent mutuellement leurs formes respectives, qui ne sont complémentaire qu'au sein du complexe enzyme substrat [32].

III.6 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.

III.7 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 [33].

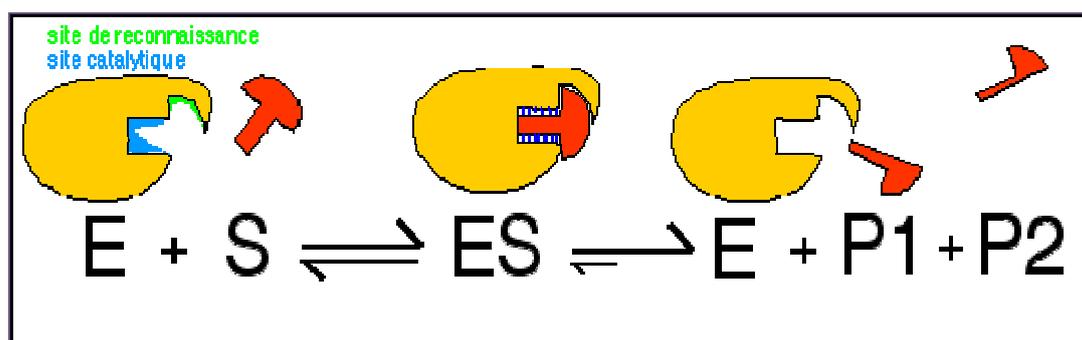


Figure II.10 : Complexe Enzyme-Substrat

III.8 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 [34]. Les inhibiteurs naturels peuvent prendre de multiples formes : antibiotiques, toxines, drogues, poison [35].

III.9 Types d'inhibition enzymatique

Si la vitesse d'une réaction enzymatique diminue dans des conditions où l'enzyme n'est pas dénaturée, cela signifie que l'enzyme est inhibée [36].

De nombreuses substances modifient l'activité d'une enzyme en s'y combinant, ce qui altère la liaison du substrat et/ou sa constante catalytique. Les substances qui diminuent ainsi l'activité d'une enzyme sont appelées des inhibiteurs.

Les inhibiteurs sont généralement des molécules de structure voisine du substrat, qui ne donnent pas de réaction ou réagissent beaucoup plus lentement que le substrat. L'étude de l'effet d'inhibiteur est fréquemment utilisée pour déterminer le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, de mieux connaître la spécificité d'une enzyme ainsi qu'obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif de l'enzyme [37].

Les inhibiteurs d'enzymes peuvent être classés en deux types : inhibiteurs réversibles et inhibiteurs irréversibles. Les inhibiteurs réversibles s'associent à l'enzyme de manière non covalente, alors que les inhibiteurs irréversibles forment des liaisons covalentes stables avec l'enzyme. L'effet net de l'inhibition correspond à une diminution de la concentration de l'enzyme active [38].

III.9.1 Inhibition réversible

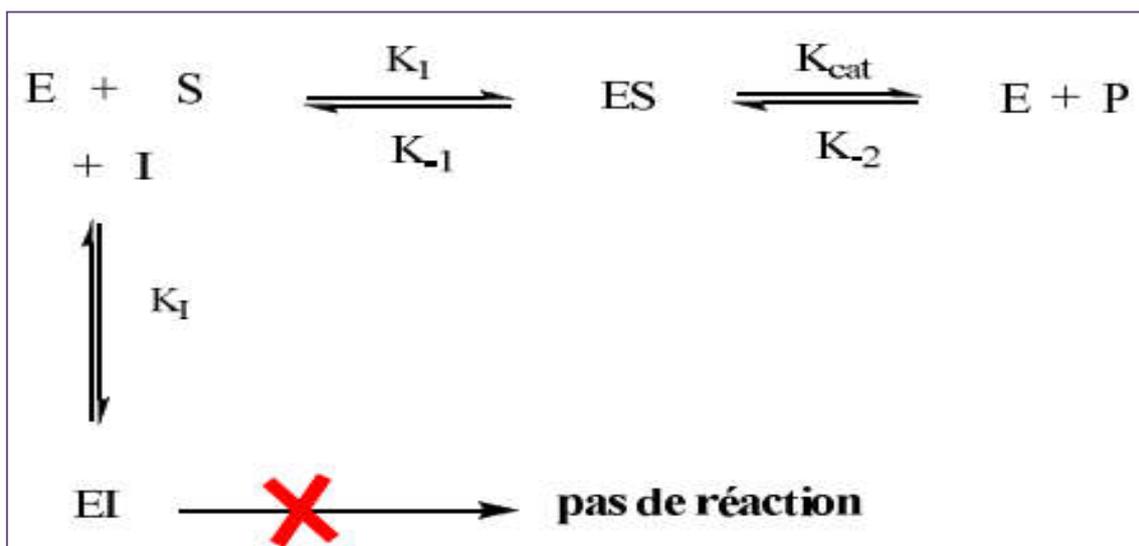
On distingue dans l'inhibition réversible trois catégories principales: les inhibiteurs compétitifs, non compétitifs et incompétitifs.

a. Inhibition compétitive

Généralement un inhibiteur compétitif ressemble structurellement au substrat à un point tel qu'il se lie au site actif de l'enzyme mais sans donner de réaction. L'inhibiteur (I) entre en compétition directement avec le substrat (S) pour un site actif de l'enzyme (E). La fixation de l'inhibiteur empêche celle du substrat et réciproquement. Leurs fixations sont mutuellement exclusives. Il y a donc formation de deux complexes (EI) et (ES). La présence du complexe (EI)

ralentit la réaction de formation de produit (P) en diminuant la concentration de l'enzyme libre (E) [39].

Le mécanisme réactionnel est représenté dans le schéma suivant :



Différents modèles rendent compte du mécanisme de l'inhibition compétitive.

a) Le substrat et l'inhibiteur ont le même site de fixation (modèle classique). Dans ce modèle il n'existe qu'un seul site de fixation pour les deux molécules (substrat et inhibiteur). La fixation exclusive résulte d'une analogie de structure entre le substrat et l'inhibiteur (figure II.11 modèle1).

b) Les sites de fixation du substrat et de l'inhibiteur sont distincts. Il existe d'autres modèles où le substrat et l'inhibiteur se fixent sur des sites distincts. Malgré la possibilité de fixation de l'inhibiteur et du substrat sur l'enzyme dans des emplacements différents, le mécanisme de l'inhibition est considéré de type compétitif, pour diverses raisons structurales, parmi lesquelles :

► L'encombrement stérique de l'inhibiteur qui empêche la fixation du substrat sur son site actif (figure II.11 , modèle2),

► Le substrat et l'inhibiteur ont un groupe en commun qui se fixe à l'enzyme sur un troisième site de fixation (figure. II.11, modèle3).

► Les sites de fixation du substrat et de l'inhibiteur se recouvrent (figure II.11, modèle4),

► La fixation de l'inhibiteur, généralement de structure différente de celle du substrat, induit un changement de conformation de l'enzyme qui déforme ou masque le site de fixation du substrat (et inversement) (figure II.11, modèle5).

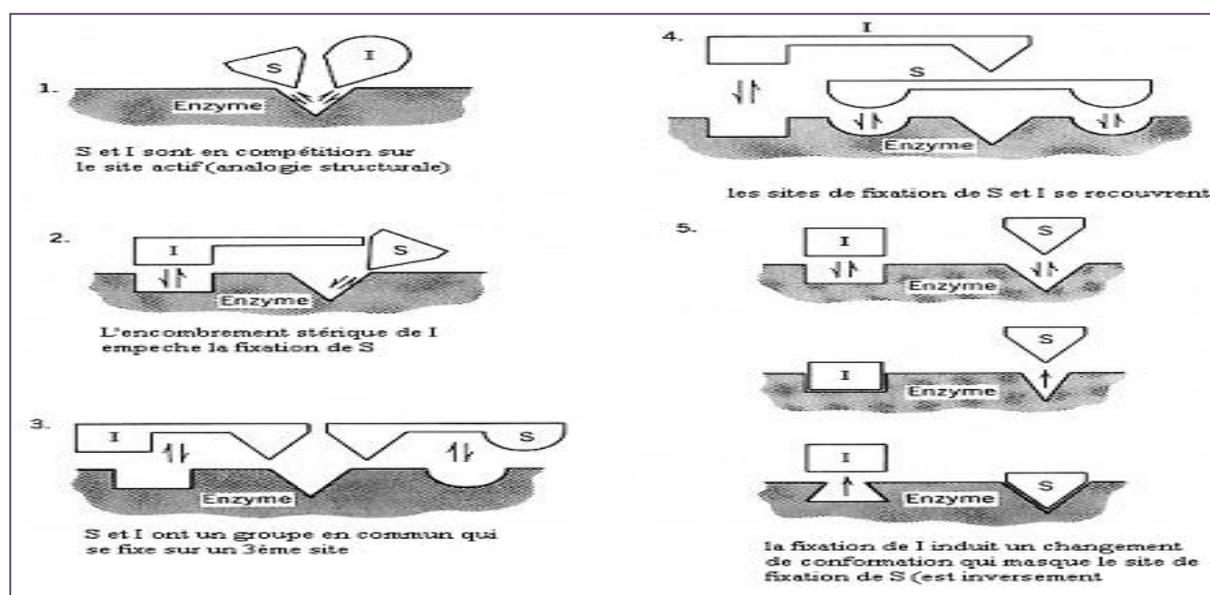


Figure II.11 : Les différents modèles de l'inhibition compétitive [39].

b. Inhibition non compétitive

Dans le cas d'inhibition non compétitive, l'inhibiteur n'a aucune influence sur la fixation du substrat (et réciproquement), les sites de fixation du substrat et de l'inhibiteur sont distincts. En conséquence, l'inhibiteur se fixe de façon réversible à la fois sur l'enzyme (E) et sur le complexe enzyme-substrat (ES), de même le substrat se fixe à l'enzyme libre (E) et au complexe enzyme-inhibiteur (EI). Les inhibiteurs non compétitifs n'ont pas d'homologie structurale avec le substrat [39].

Il existe deux types d'inhibition non compétitive : l'inhibition non compétitive pure et l'inhibition non compétitive mixte.

Inhibition non compétitive pure

Dans ce cas, la fixation de l'inhibiteur ne modifie pas la manière dont se fixe le substrat, mais empêche les ajustements conformationnelles du site actif nécessaires pour la catalyse. Dans ce cas les valeurs de K_1 et K_1' sont égales [40].

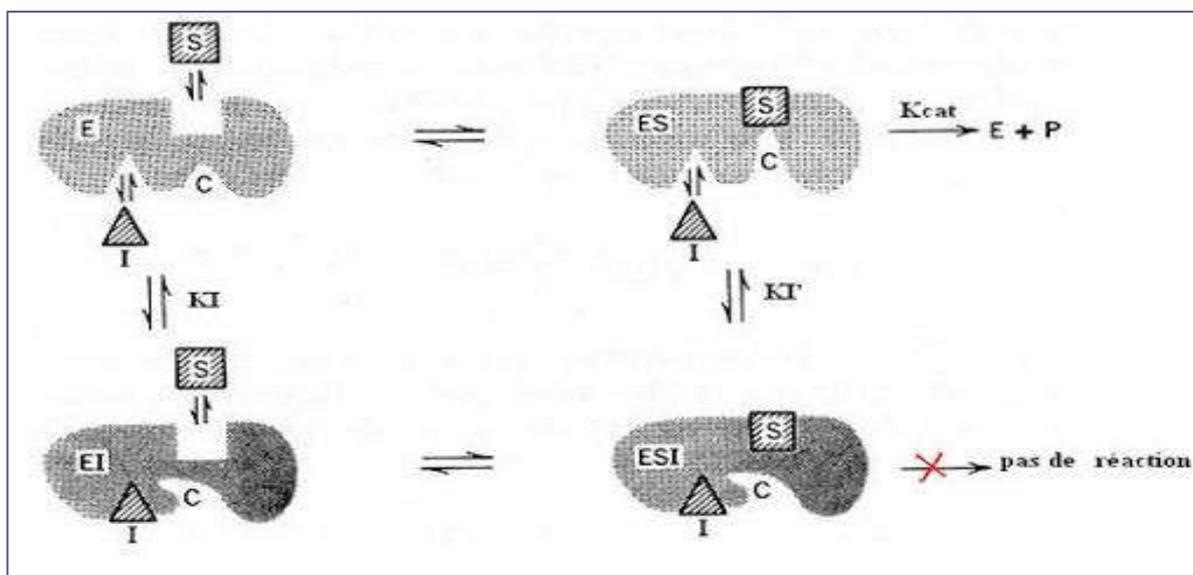


Figure II. 12 : Mécanisme d'inhibition non compétitive pure.

Inhibition non compétitive mixte

Dans ce cas, la liaison de l'inhibiteur (I) avec l'enzyme (E) influence la liaison du substrat (S) avec l'enzyme. Les valeurs de K_1 et K_2 ne sont pas égales.

Il existe deux modèles alternatifs d'inhibition non compétitive mixte (figure II.13). Le modèle 1 suggère qu'il n'y a pas de passage conformationnel possible entre les deux complexes enzymes substrat (ES) et enzyme-substrat-inhibiteur (ESI), c'est-à-dire que le complexe enzyme-inhibiteur (EI) peut fixer le substrat (S) pour donner le complexe inactif (ESI), mais le complexe (ES) ne peut pas fixer l'inhibiteur (I). Le modèle 2 suggèrent qu'il n'y a pas d'équilibre entre les deux complexes (EI) et (ESI), c'est-à-dire que le complexe (ES) peut fixer l'inhibiteur (I) pour donner le complexe inactif (ESI), en revanche le substrat (S) ne peut pas être fixé sur le complexe(EI) [37].

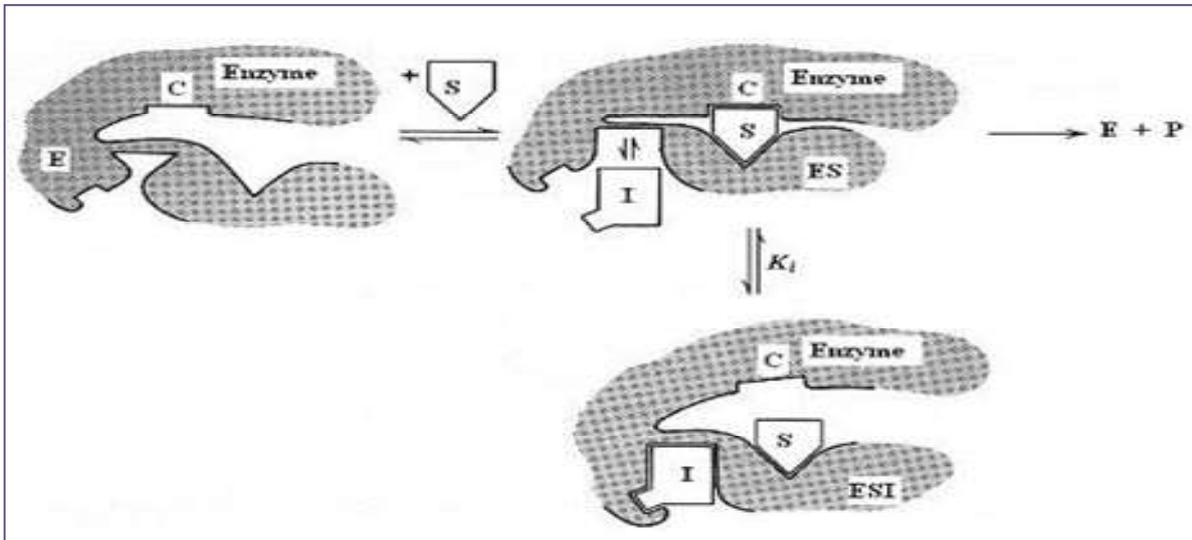
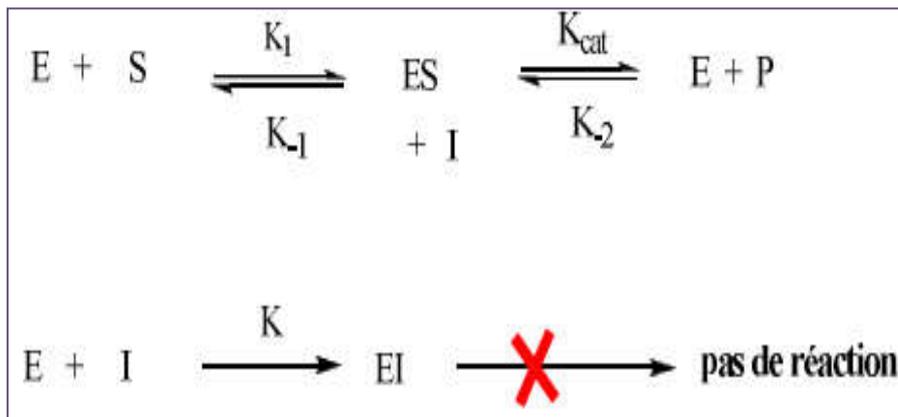


Figure II.14 : Formation du complexe inactif ESI

III.9.2 Inhibition irréversible

L'action d'un inhibiteur est irréversible quand il se forme une liaison covalente entre l'enzyme et l'inhibiteur. Ce type d'inhibiteur est appelé inactivateur.

La cinétique de la réaction est similaire à celle d'une réaction en présence d'un inhibiteur non compétitif car il y a perte d'enzyme actif (schéma 8). Mais, contrairement à ce qui se passe dans l'inhibition réversible, la dilution ou la dialyse de la solution contenant le complexe enzyme-inhibiteur (EI) ne restaure pas l'activité enzymatique car le complexe ne peut pas se dissocier.



L'étude de l'effet des inhibiteurs irréversibles est souvent utilisée pour déterminer les groupes actifs du site catalytique. Un exemple d'inactivateur est le gaz neurotoxique, employé dans la deuxième guerre mondiale, le di-isopropylfluorophosphate (DFP).

L'étude de l'effet de ce composé sur l'activité des protéases à sérine a permis d'identifier la sérine 195 et l'histidine 57, les deux résidus impliqués dans la catalyse. La sérine 195 attaque le groupe fluorophosphate du DFP en formant une liaison covalente (phosphoester) qui rend cette inhibition irréversible [41].

III.10 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 géométriques, force et spécificité. De plus, elles sont profondément affectées (de manière différente) par la présence d'eau [42].

IV. Les acides aminés

Les protéines sont constituées par un enchaînement d'acides aminés respectant un ordre précis dicté par les bases nucléotidiques des transcrits issus de leurs gènes. L'acide aminé est donc l'unité de base constituant les protéines. Ces éléments possèdent à la fois un groupe carboxyle (-COOH) et un groupe fonctionnel amine (-NH₂), reliés par un carbone central appelé carbone alpha (C_α) attaché à un hydrogène (-H) et une chaîne latérale variable (-R).

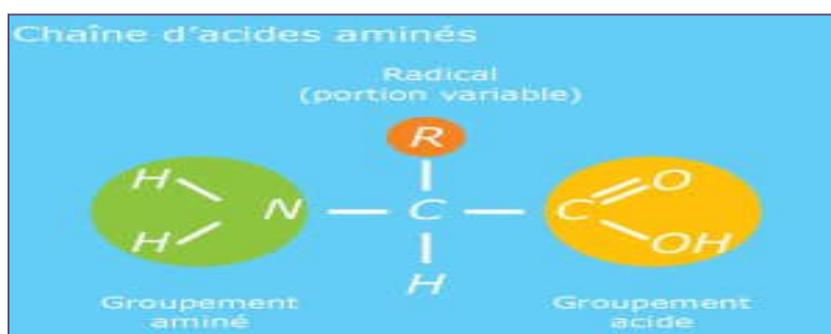


Figure II.15 : Structure générale d'un acide aminé.

Les différents groupements colorés sont reliés par un C_α central. Le groupement amine est entouré en vert, le groupement carboxyle en jaune et la chaîne latérale est représentée par le symbole R en orange [43].

À l'exception de la glycine, les acides aminés possèdent un carbone α relié à quatre groupes différents, faisant de lui un centre de chiralité. Pour un acide aminé, deux énantiomères peuvent alors exister, l'énantiomère gauche noté L (Laevo) et l'énantiomère droit D (Dextro).

Seule la forme L est la forme biologique présente dans les protéines. Cependant des acides aminés D peuvent être retrouvés dans des protéines qui ont subi des modifications post traductionnelles ou dans la paroi bactérienne de certains organismes procaryotes [44].

IV.1 Classification des acides aminés

Il est pratique de classer les acides aminés en fonction du caractère de leurs chaînes latérales, ils entrent à peu près dans quatre catégories : polaire chargés, polaire non chargés, non polaires, et acides aminés doués de propriétés particulières [45].

a. Polaires chargés

Les acides aminés de ce groupe sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, la lysine et l'arginine, ces quatre acides aminés possèdent des chaînes latérales dont la charge peut devenir complète parce qu'ils renferment des acides et bases relativement forts [45]. En prenant un pH égal à 7 comme référence. Les acides aminés « acides » comme l'acide aspartique et l'acide glutamique, possèdent des groupements carboxyle supplémentaires qui sont habituellement ionisés (chargés négativement). Les acides aminés « basique » possèdent des groupements chargés positivement [46].

b. Polaires non chargés :

Celles-ci contiennent des groupements qui forment des liaisons hydrogène avec l'eau. Associe aux acides aminés chargés, elles sont souvent décrites comme hydrophiles (attirant l'eau), ces acides aminés sont souvent assez réactifs, se trouvent dans cette catégorie l'asparagine et la glutamine (amides des acides aspartique et glutamique), la thréonine, la serine et la tyrosine [45,46].

c. Non polaires :

Les chaînes latérales de ces acides aminés sont hydrophobes et ne sont pas capables de former des liaisons électrostatiques ni de réagir avec l'eau. Les acides aminés de cette catégorie sont l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine, le tryptophane, la phénylalanine et la méthionine.

Les chaînes latérales des acides aminés non polaires sont généralement dépourvues d'oxygène et d'azote, ces acides aminés diffèrent surtout par leur taille et leur forme qui donnent à l'un ou l'autre la capacité de s'insérer avec précision dans un espace particulier au cœur d'une protéine, ou ils s'associent entre eux par des forces de Vander Waals et des interactions hydrophobes [45].

d. Les acides aminés aux propriétés particulières :

La glycine, proline et cystéine ont des propriétés particulières qui les distinguent des autres. La chaîne latérale de la glycine ne contient qu'un atome d'hydrogène, et c'est pour cela que la glycine est un acide aminé tellement important. A cause de l'absence de chaînes latérales, les résidus glycine permettent le rapprochement très étroit de deux polypeptides (ou de deux segments d'un même polypeptide).

En outre, la glycine est plus flexible que les autres acides aminés et sa présence est utile dans les parties du squelette qui doivent se déplacer ou servir de charnière (la particularité de la proline est la participation de son groupement α -amine à un cycle ce qui en fait un acide aminé). La proline est un acide aminé hydrophobe qui ne trouve pas facilement place dans une structure secondaire organisée. La cystéine possède un groupement sulfhydryle réactif (-SH) elle est souvent liée par covalence à un autre résidu cystéine par un pont disulfure (-SS-) [45].

IV.2 Les propriétés physicochimiques générales des acides aminés

a. Configuration et isomérisation optique (le carbone chiral) :

A l'exception de la glycine, les acides aminés ont ou moins un carbone asymétrique et ont deux configurations possibles (D ou L), images l'une de l'autre en miroir. Tous les acides aminés des êtres vivants sont de la série L [47].

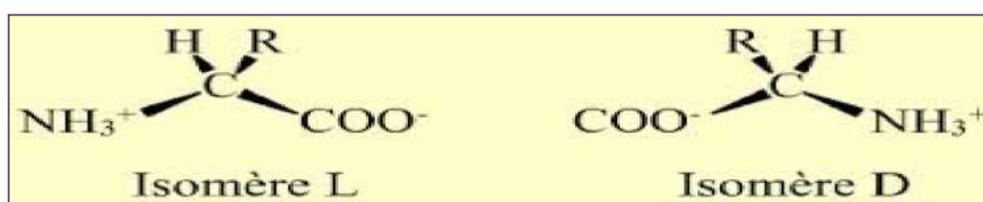


Figure II.16 : La configuration et isomérisation optique d'un acide aminé

b. La solubilité des acides aminés :

- ▶ Les acides aminés sont solubles dans l'eau, mais très faiblement à un pH autour de leur PH_i , plus fortement en milieu alcalin (formation de sels). (Ou $PH = (PK1 + PK2) / 2$)
- ▶ Ils sont plus faiblement solubles dans l'alcool.
- ▶ La solubilité dans les solvants apolaires dépend de leur chaîne latérale.

c. La coloration et le spectre d'absorption des acides aminés :

- ▶ Les solutions d'acides aminés sont incolores.
- ▶ La plupart des AA absorbent à une < 230 nm.
- ▶ Les AA aromatique absorbent vers 280 nm.

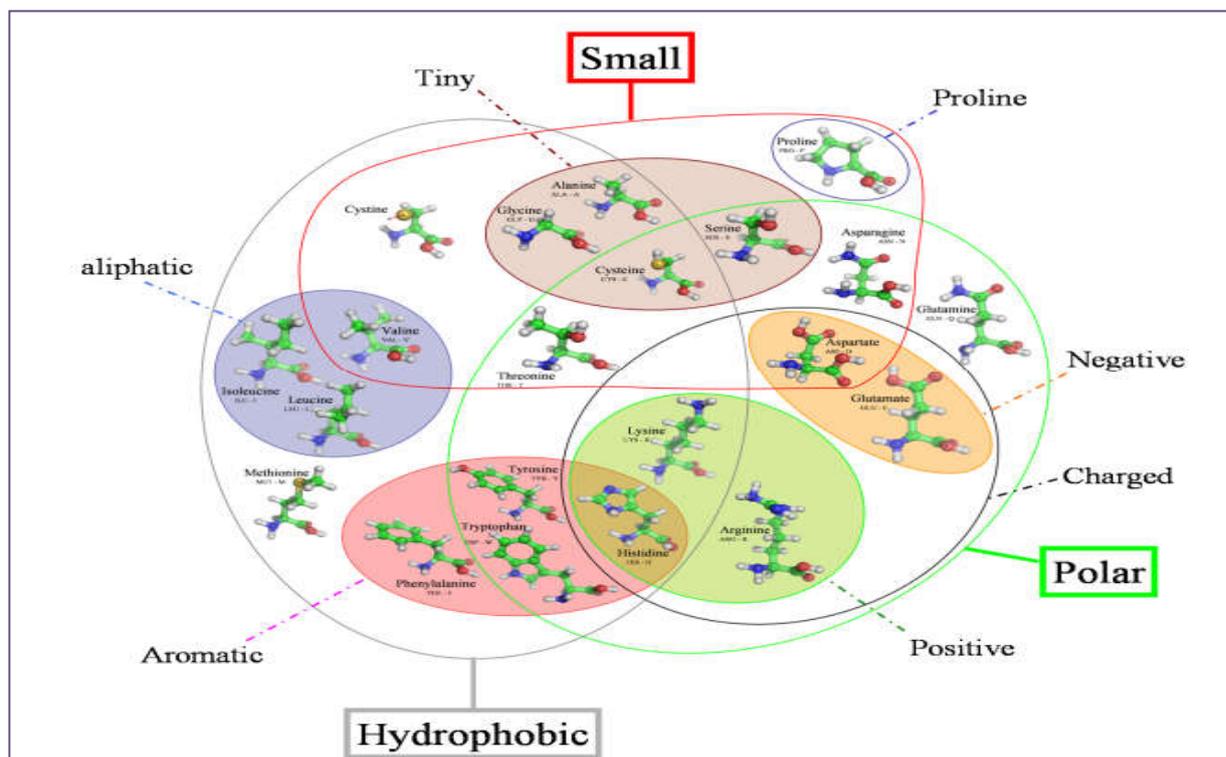


Figure II.17 : Diagramme de Venne regroupant les différents acides aminés par rapport à leurs propriétés physicochimiques. Figure adaptée de [48,49].

IV.3 Domaines d'utilisation des acides aminés

Les acides aminés sont les principaux constituants des protéines et des enzymes chez les organismes vivants, leur production répond à des besoins alimentaires et thérapeutiques.

Beaucoup d'acides aminés sont utilisés au domaine médecine, particulièrement comme ingrédients dans les infusions comme traitement post opératoire. Le tryptophane peut servir d'indicateur de sommeil, et d'antidépresseur. L'arginine est souvent prescrit lors des traitements des désordres hépatiques.

Ils sont d'importants constituants de nombreuses denrées alimentaires. La L-lysine et le tryptophane sont les principaux acides aminés ajoutés aux aliments de bétail. L-cystéine agit comme un antioxydant dans les jus de fruits [50].

IV.4 Le rôle biologique des acides aminés

a. Le rôle de structure :

Vingt acides aminés distincts entrent dans la composition des protéines. Ils sont parfois appelés acides aminés protéinogènes. La synthèse protéique a lieu dans le cytoplasme des cellules au cours de la traduction des ARN messagers. L'enchaînement des acides aminés forme la structure primaire des protéines. Plusieurs acides aminés ou leurs dérivés entrent aussi dans la constitution de molécules diverses non protéiques par exemple, L'éthanolamine (dérivé de la sérine) est un composant de phospholipides ou encore l'hème de l'hémoglobine dérive de la glycine.

b. Le rôle métabolique :

Les acides aminés, par leur fonction amine, sont les éléments de base du métabolisme azoté. Différents acides aminés exercent un rôle dans le transport de l'azote (glutamine, alanine) ou dans son élimination sous forme d'urée (ornithine et citrulline). Certains acides aminés interviennent aussi dans le métabolisme énergétique puisque leur catabolisme alimente le cycle de Krebs et constituent des substrats de la néoglucogenèse (acides aminés glucoformateurs).

c. Les rôles de médiateurs chimiques et de neurotransmetteurs :

- ▶ L'acide glutamique et l'acide aspartique sont des neurotransmetteurs excitateurs, stimulant la transmission de l'influx nerveux.
- ▶ La glycine est un neuromédiateur inhibiteur que l'on trouve essentiellement dans la moelle épinière [47].

Partie (B) : Maladie d'Alzheimer



V. Introduction

Le cerveau est l'organe le plus complexe, son étude a toujours été délicate. Plusieurs pathologies altèrent l'intégrité de cet organe essentiel. Parmi ces pathologies on retrouve les pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (MA). Cette maladie touchant un nombre ne cessant de croître de personnes est devenue en quelques années un problème de santé publique majeur [51].

Aujourd'hui, cette maladie se définit comme une affection dégénérative du cerveau qui associe des troubles prédominants de la mémoire, des troubles cognitifs et/ou du comportement ayant un retentissement sur la vie quotidienne des patients. En effet, elle conduit à une perte de l'autonomie et des fonctions intellectuelles plongeant les patients dans l'isolement. Cette démence dont l'étiologie est encore mal connue, est associée à des lésions histologiques caractéristiques qui la définissent : les plaques amyloïdes [52].

▶ La MA affecte un octogénaire sur cinq.

▶ La MA constitue un problème de santé publique majeur : avec l'augmentation de l'espérance de vie et le vieillissement de la population, près de 25 millions de personnes sont touchées actuellement dans le monde [53].

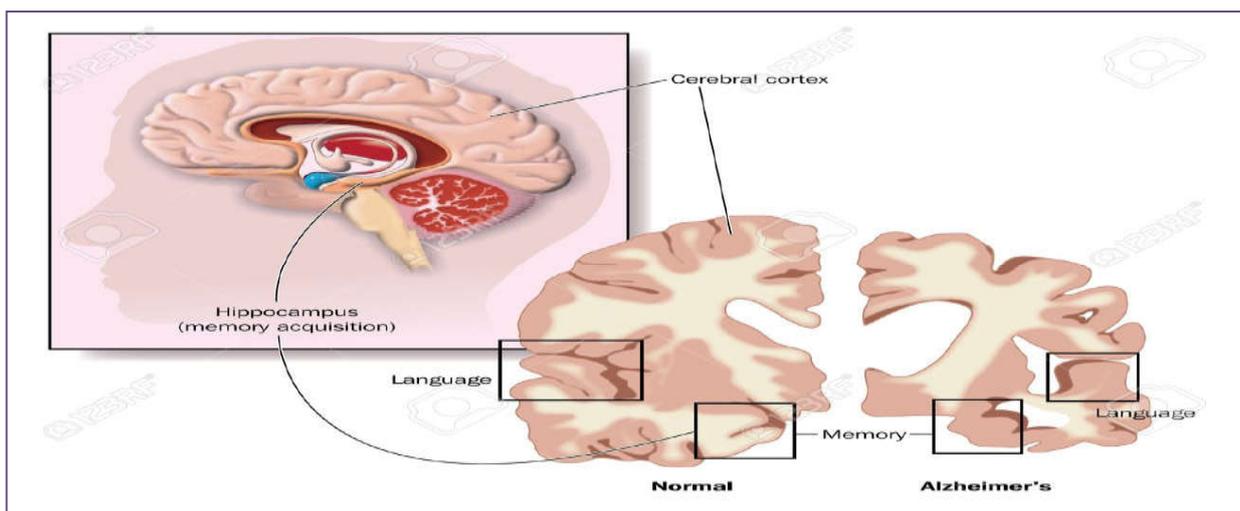


Figure II-18 : Représentation schématique l'hippocampe et les régions de l'implication du cerveau dans la maladie d'Alzheimer

V.1 Historique

Début du XXème siècle la première description de la maladie remonte au 25 novembre 1901 à l'hôpital de Francfort où Auguste Deter, une femme de 51 ans, est examinée par le Dr Aloïs Alzheimer.

Lorsqu'Auguste Deter arriva à l'hôpital de Francfort, elle souffrait de troubles de la mémoire et du langage mais aussi de désorientations et d'hallucinations. Au vu de son jeune âge et de ses symptômes, on lui diagnostiqua une démence présénile. En 1903, Aloïs Alzheimer quitta Francfort pour Heidelberg, puis rejoignit la clinique psychiatrique. Il continua de suivre le cas « Auguste D » jusqu'au 8 avril 1906 où cette dernière décéda. Aloïs Alzheimer obtint alors le consentement de la famille pour réaliser une autopsie. Après avoir constaté une atrophie cérébrale, il observa deux dépôts anormaux à l'intérieur et à l'extérieur des neurones via la technique d'imprégnation argentique mise au point quelques années auparavant par Max Bielschowsky : il s'agit des plaques amyloïdes et des dégénérescences neuro fibrillaires. Ces dépôts n'étaient pas vraiment inconnus à l'époque mais c'était la première fois qu'Aloïs Alzheimer les observait chez quelqu'un d'aussi jeune. Il présenta ses travaux le 4 novembre 1906 à la conférence des psychiatres allemands de Tübingen en Allemagne puis publia ensuite ses travaux en 1907 dans un article qui sera traduit en anglais en 1995 [54].

V.2 Les causes de MA

Une combinaison de facteurs propres à chaque individu pourrait être à l'origine de la maladie d'Alzheimer. Parmi les facteurs qui augmentent le risque de développer la maladie d'Alzheimer, notons : l'âge, les facteurs génétiques, les traumatismes crâniens, les maladies cardiovasculaires, l'obésité, le syndrome métabolique, l'hypertension non-contrôlée et le diabète. Pour comprendre comment ces facteurs opèrent, les chercheurs poursuivent leur recherche à différents niveaux:

- ▶ Les antécédents familiaux. La maladie d'Alzheimer peut se développer chez tous les individus et un seul membre d'une même famille peut être atteint. Par contre, si un membre de la famille est atteint, cela double ou même triple le risque de développer la maladie pour le reste de la famille.

▸ Le corps humain: pour déterminer si la maladie d'Alzheimer a été causée par un déséquilibre chimique, une accumulation dans le cerveau de substances toxiques pour les neurones (amyloïde, radicaux libres), ou d'un déficit immunitaire.

▸ Les nouvelles approches thérapeutiques: elles visent à ralentir ou même stopper la progression de la maladie et prévenir la maladie avant même que les symptômes ne fassent leur apparition [55].

V.3 Les premiers signes d'alerte de l'Alzheimer

1 - Pertes de mémoire

La personne oublie de plus en plus souvent des événements récents touchant sa vie personnelle et son entourage mais garde une très bonne mémoire des souvenirs anciens.

2 - Difficultés à accomplir les tâches quotidiennes

La personne rencontre des difficultés pour effectuer des travaux pourtant familiers comme par exemple les étapes de préparation d'un repas, faire ses courses, gérer les dates de péremption des aliments dans le frigidaire...

3 - Problèmes de langage

La personne ne retrouve plus des mots simples, usuels et en utilise d'autres plus ou moins appropriés.

4 - Désorientation dans le temps et dans l'espace

Le sens de l'orientation de la personne diminue. Elle peut se perdre, même dans des endroits pourtant familiers, et confondre les saisons.

5 - Difficultés dans les raisonnements abstraits

La personne rencontre des difficultés pour effectuer les formalités administratives, pour gérer ses finances, pour rédiger un chèque, pour appeler quelqu'un au téléphone.

6 - Perte d'objets

La personne a tendance à placer des objets dans des endroits insolites (une montre dans le four) sans jamais les retrouver.

7 - Altération du jugement

La personne n'arrive plus à évaluer les situations : elle porte des vêtements d'hiver en été, fait des achats démesurés de nourriture...

8 - Modification du comportement

L'entourage constate l'apparition d'une tendance dépressive chez la personne ou de manifestations d'anxiété, d'irritabilité, d'agitation...

9 - Changement de personnalité

La personne devient tout à fait différente de ce qu'elle était et perd son caractère propre : jalousie, idées obsessionnelles de préjudice, exubérance excessive... [56].

V.4 Évolution de la maladie d'Alzheimer

Chaque cas est spécifique c'est pourquoi les stades de la maladie sont ressentis à un rythme différent pour chacun. Il est pourtant possible de dégager 3 grandes étapes d'évolution de la maladie :

Stade léger : environ 25 % de l'hippocampe diminue en volume et le lien entre mémoire à court terme et à long terme se fait plus difficilement. La personne a des oublis bénins de noms ou d'évènements récents qui s'intensifient avec le temps.

Stade modéré : d'autres zones du cerveau sont touchées, ce qui engendre des troubles des gestes, du langage et de la reconnaissance. La personne a besoin d'une aide pour certaines activités (se déplacer, gérer son budget, faire à manger...).

Stade sévère : les lésions progressent et la récupération des informations est quasiment impossible : les événements et informations passés disparaissent de la mémoire. La personne a perdu son autonomie pour presque tous les actes de sa vie quotidienne [56].

V.5 Les différents facteurs de risques de la MA

- **L'âge et le sexe :**

Il s'agit là du facteur de risque le plus important, une cause de la maladie d'Alzheimer que nul ne peut modifier ! En effet, plus on avance en âge, plus on risque de développer cette pathologie : elle se déclare en général autour de 60-70 ans. Les femmes sont plus souvent touchées, peut-être en raison d'une espérance de vie plus longue que celle des hommes.

- **Le facteur génétique / les antécédents familiaux :**

Dans 5 à 10 % seulement des cas de maladie d'Alzheimer, la génétique a prouvé son rôle. Si les antécédents familiaux ne sont pas une cause de la maladie d'Alzheimer, ils constituent un « facteur de risque » important du point de vue de la recherche. Avoir un proche atteint augmente le risque de développer soi-même la maladie et l'hérédité est encore à l'étude.

- **La santé mentale :**

Le stress, la dépression et l'isolement sont les causes de nombreux maux et peuvent favoriser la maladie d'Alzheimer. Du reste, des études américaines ont montré qu'un caractère optimiste, jovial, confiant et serein serait une bonne protection ! En effet, les relations sociales, ainsi que les activités physiques et intellectuelles, sont des facteurs protecteurs.

- **Les facteurs de risque cardiovasculaires :**

Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) augmentent non seulement le risque de démence vasculaire, mais également de maladie d'Alzheimer. De même, l'hypertension artérielle, le diabète de type II, un taux élevé de cholestérol, peuvent être un terrain favorable au développement de la pathologie, sans pour autant être considérés comme des causes de la maladie d'Alzheimer à proprement parler.

- **Les traumatismes crâniens :**

Les personnes qui ont été victimes d'un traumatisme crânien ou de blessures à la tête, accompagnées d'une perte de conscience, courent un risque accru de souffrir de la maladie d'Alzheimer. En témoignent des études effectuées sur des boxeurs, afin de déterminer l'origine et les causes de la maladie d'Alzheimer.

- **Les habitudes alimentaires :**

Plusieurs études se sont penchées sur le rôle éventuel de l'alimentation comme cause de la maladie d'Alzheimer. Une alimentation riche en sucre et en graisses favoriserait le développement de la démence. En revanche, le soja, le lait et la consommation d'Omega 3 auraient un effet protecteur, alors qu'une carence en vitamines B 9 et B 12 est associée avec cette maladie. D'une manière générale, l'équilibre alimentaire est recommandé [57].

- **Le niveau de scolarité :**

Plus étonnant, ce facteur de risque a été mis en évidence dans plusieurs enquêtes statistiques : il semblerait que les personnes qui ont moins de 6 ans de scolarité courent un risque plus élevé de souffrir de la maladie d'Alzheimer. Si ce facteur ne constitue pas une cause de la maladie d'Alzheimer, un faible niveau socioculturel a été évoqué dans plusieurs études.

- **Le tabagisme et obésité et certains médicaments**, comme les anxiolytiques et des somnifères ont été mis en cause. La survenue de la maladie d'Alzheimer serait majorée de 20 à 50 %. Outre ces différents facteurs de risques, les chercheurs continuent à chercher les causes de la perte progressive des neurones engendrée par la maladie d'Alzheimer. Ils examinent ainsi le cerveau et l'organisme humain : il pourrait en effet s'agir d'un virus à action lente, d'un déséquilibre chimique ou encore d'un déficit immunitaire [58].

V.6 Le diagnostic

Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer repose sur différents examens :

- Un entretien approfondi avec le patient et sa famille, afin de retracer l'historique d'apparition des troubles. Il peut s'appuyer sur des questionnaires dans lesquels la famille évalue

l'intensité des troubles et leur retentissement sur la vie quotidienne (faire sa toilette, prendre ses repas, faire les courses, prendre les transports en commun...).

- Un examen clinique approfondi. Il élimine la présence d'autres causes pouvant expliquer les troubles neurologiques.
- Des tests psychométriques. Ils permettent d'explorer la mémoire, le langage, les fonctions exécutives, l'orientation dans l'espace et dans le temps... Ils sont réalisés par un psychologue ou un médecin.
- Des examens biologiques. Ils permettent de vérifier que ce ne sont pas des facteurs somatiques qui sont à l'origine des troubles cognitifs.
- Un scanner ou un IRM viennent en général compléter ces examens.

Le diagnostic est parfois difficile à établir en début de maladie, car les symptômes sont encore peu nombreux [59].

V.7 Traitement de la maladie d'Alzheimer

Actuellement, il n'existe aucun traitement guérissant la maladie d'Alzheimer, ni même permettant d'arrêter son évolution, mais il existe quelques médicaments susceptibles de retarder son évolution. Ils permettent d'atténuer les pertes de mémoires, les problèmes de langage et de raisonnement, ou bien tous simplement de ralentir au moins en apparence la progression de la maladie.

Au-delà des nombreuses hypothèses émises dans le cadre de la physiopathologie de la MA comme la toxicité amyloïde ou les fibrilles de protéines tau hyperphosphorylées, une autre hypothèse concernant le déficit de la transmission cholinergique a également été postulée.

L'acétylcholine (ACh) est le premier neurotransmetteur qui a été découvert, au début du XXe siècle. Comme illustré dans la (Figure II.21), l'ACh est largement distribuée au niveau des systèmes nerveux périphérique et central. Les projections cholinergiques issues de régions cérébrales comme le noyau basal de Meynert et le septum médial, innervent ainsi l'ensemble des régions du cerveau prosencéphalique comme le thalamus, l'hippocampe et l'amygdale. Le complexe constitué du noyau pédonculopontin avec la région latérodorsale du tegmentum innervent quant à elles, les régions du cerveau mésencéphalique comme le striatum et le pont.

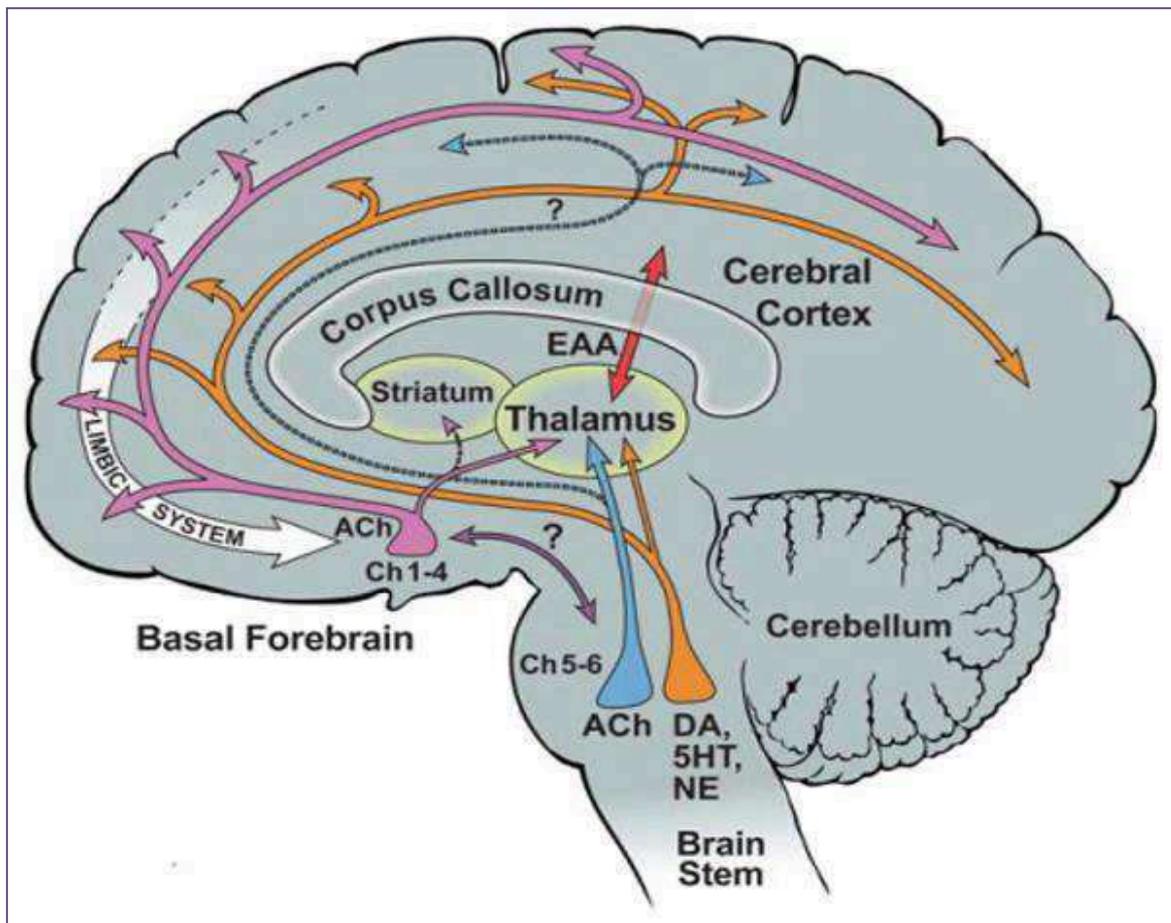


Figure II.19 : Illustration de l'innervation cholinergique du cerveau humain.

ACh : Acétylcholine, DA : dopamine, 5-HT : sérotonine, NE : norépinéphrine, EAA : acides aminés excitateurs: la voie n'est pas confirmée chez l'humain, Ch1-4 : groupes neuronaux cholinergiques du prosencéphale, Ch5-6 : groupes neuronaux cholinergiques du mésencéphale [60]. D'un point de vue métabolique, l'ACh est synthétisée au niveau des terminaisons nerveuses grâce à la choline acétyl transférase (ChAT) qui utilise la choline et l'acétyl CoA comme substrats. Une fois synthétisée, l'ACh est emmagasinée dans des vésicules pré synaptiques grâce à l'acétylcholine transporteur (AChT), et le contenu de ces vésicules est libéré dans les fentes synaptiques suite à un influx nerveux. Une fois dans la fente synaptique, l'ACh se fixe sur ses récepteurs qui sont classés en deux familles : les récepteurs muscariniques et nicotiniques

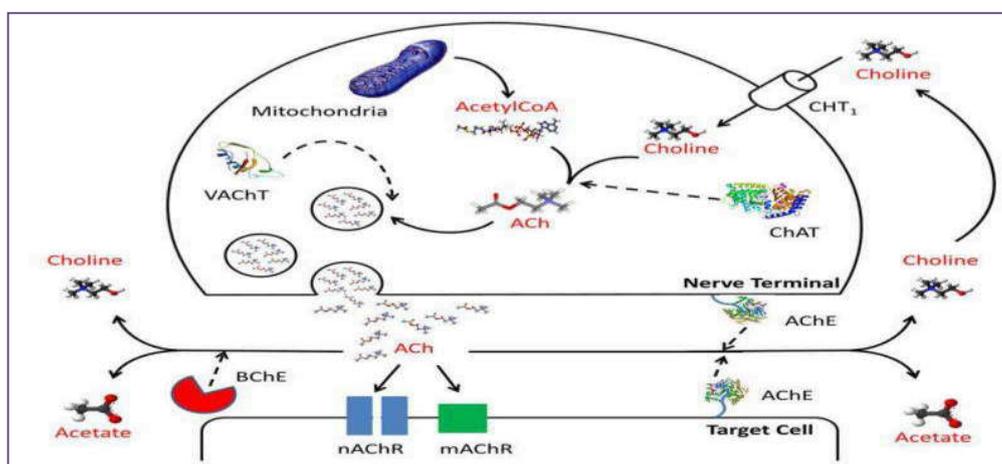


Figure II.20 : Synthèse de l'acétylcholine

Ach: Acetylcholine, ChAT: choline acetyltransferase, CHT1: high affinity choline transporter-1, VAcHT : vesicular ACh transporter, AChE : acetylcholinesterase, BChE butyrylcholinesterase, mAChR :muscarinic receptors, nAChR : nicotinic receptors [61].

Le système cholinergique (impliqué dans la cognition, l'apprentissage et la mémoire) est affecté dans la MA, comme vu précédemment. Le dysfonctionnement de ce système se traduit à plusieurs niveaux. Ainsi, les concentrations de l'enzyme choline acétyltransferase, la recapture de choline et la quantité des récepteurs cholinergiques se voient diminués [62].

Aujourd'hui, 4 inhibiteurs de cholinestérases, des agents destinés spécifiquement à stimuler l'activité cholinergique rémanente, sont, dans le meilleur des cas, partiellement effectifs dans le traitement des manifestations cliniques de la maladie. *La tacrine* (Cognex®) ; l'*Huperzine A* ou *Donépézyl* (Aricept®) ; la *Rivastigmine* (Exelon®) et la *Galanthamine* (Reminyl®) [63].



Pour le futur...

Bloquer la maladie dès son début

La maladie d'Alzheimer est provoquée par l'accumulation de protéines (bêta-amyloïde) dans le cerveau qui entraînent la mort des cellules. La protéine C activée (3K3A-APC), déjà présente dans notre corps et connue pour ses propriétés anticoagulantes, a été testée comme médicament expérimental sur des souris. En effet, les chercheurs ont choisi des souris porteuses des mutations génétiques propices à la pathologie neurodégénérative et leur ont administré une injection de 3K3A-APC afin d'empêcher le mauvais positionnement des protéines dans le cerveau et donc la formation de plaques. Résultat : les souris n'ont montré aucun déficit de mémoire et leur flux sanguin cérébral est resté normal après l'injection. Les scientifiques ont aussi découvert que la protéine 3K3A-APC réduisait l'accumulation de protéines toxiques dans le cerveau des souris. « Ces résultats suggèrent que le moment optimal pour le traitement de la pathologie est le début de l'évolution de la maladie, avant la formation généralisée de plaques bêta-amyloïde », expliquent les chercheurs. Ces premières découvertes optimistes nécessitent de nouvelles expérimentations sur d'autres animaux, puis sur des êtres humains avant d'être confirmées.

Une découverte imprévue

Ces résultats ont failli ne jamais être découverts car, à l'origine, cette expérience était destinée à vérifier l'efficacité de la protéine 3K3A-APC sur les personnes ayant eu un accident vasculaire cérébral (AVC). La protéine protège les neurones et les cellules vasculaires de la dégénération et de la mort, c'est la raison pour laquelle des chercheurs ont établi un médicament (en cours d'élaboration) pour traiter les victimes d'un AVC. Ce sont ces caractéristiques qui ont incité les chercheurs à évaluer l'impact de cette molécule dans le cas de la maladie d'Alzheimer. Le *JEM*, Journal de la médecine expérimentale en français, détaille le procédé des chercheurs [64].

VI. Références

- [1] T.E. Creighton. Proteins: structures and molecular properties. Edition W.H. Freeman, 2eme Edition, P45, **1993**.
- [2] V. Muñoz, Protein folding, misfolding and aggregation: classical themes and novel approaches. Edition Royal Society of Chemistry, P89, **2008**.
- [3] http://www.univ-usto.dz/theses_en_ligne/doc_num.php?explnum_id=1051
- [4] 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**.
- [5] O'Connor, Clare M., Jill U. Adams, and Jennifer Fairman 2010 Essentials of Cell Biology. Cambridge: NPG Education. <https://media.8ch.net/freedu/src/1456166477348.pdf>, accessed July 22, **2016**.
- [6] Pauling, L., R. B. Corey, and H. R. Branson, The Structure of Proteins; Two Hydrogen Bonded Helical Configurations of the Polypeptide Chain. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 37(4): 205–211. **1951**.
- [7] Berman, H. M., J. Westbrook, Z. Feng, et al. The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research 28(1): 235–242. **2000**.
- [8] D. Salvatore, N. Duraffourg, T. Croguennec, S. Bouhallab & V. Forge. **2009**.
- [9] K. U. Linderstrom-Lang. The Lane Medical Lectures. Stanford University Press,**1952**.
- [10] Lodish H., Berk, A., Matsudaira P., Kaiser C., KriegerA. M., Scott M. P., Zipursky S.L., Darnell J. Biologie moléculaire de la cellule. Francfort : De Boeck. 1204 p. **2005**.

- [11] C. Branden, J. Tooze, Introduction to protein structure, second edition, Garland Publishing, New-York, **1999**.
- [12] MEKHALIF, Tahar. Synthese et caracterisation de resines fonctionnalisees et etude de leur affinite Vis-à-vis de l'albumine HSA. Thèse de doctorat. **2018**.
- [13] Adrien Melquionde, Thèse de Doctorat de l'université -Paris 7 - Denis Diderot, **2007**.
- [14] Boumaza S Evaluation rapide des protéines par turbidimétrie : Application à quelques effluents agro-alimentaires avant et après un traitement de clarification. Thèse de Doctorat 3ème cycle, Biochimie Appliquée, Université Badji Mokhtar – ANNABA, P 15. **2015**.
- [15] Pauling, L., and R. B. Corey Configurations of Polypeptide Chains With Favored Orientations Around Single Bonds: Two New Pleated Sheets. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 37(11): 729–740. **1951**.
- [16] Kendrew, J. C. Architecture of a Protein Molecule. Nature 182(4638): 764–767. **1958**.
- [17] Blake, C. C. F., D. F. Koenig, G. A. Mair, et al. Structure of Hen Egg-White Lysozyme: A Three-Dimensional Fourier Synthesis at 2 [[angst]] Resolution. Nature 206(4986): 757–761. **1965**.
- [18] Gu, Jenny, and Philip E. Bourne Structural Bioinformatics. John Wiley & Sons **2009**.
- [19] Branden, Carl Ivar, and John Tooze. Introduction to Protein Structure. Garland Science **1999**.
- [20] Ansari S. et Helms V., Statistical analysis of predominantly transient protein-protein interfaces. Proteins, 61(2): 344 – 355. **2005**.

- [21] A. Arrault, "Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma", Thèse Doctorat Université d'Orleans, **2007**.
- [22] Cours d'enzymologie de Jaques Bratti.
- [23] P. Andrey. niveaux d'organisation du vivant quelques notions de base en biologie. UPMC & AMIB, INRA, Jouy en Josas
- [24] J. Wallach. Les enzymes, Edition Nathan de Paris, Vol 161, P128, **1997**
- [25] J. Pelmont, Enzymes. Catalyseurs du monde vivant, chapitre 14, 387.
- [26] m/s HISTOIRE DE LA MEDECINE ET DES SCIENCES, Eduard Buchner, ou un siècle d'enzymologie.
- [27] W. Jeffery., Keilor. Inhibition des reactions enzymatiques enzymologie BMC.850 . **2004**.
- [28] C. LARCHER « Classification enzymes », Cour, Lycée Saint-Louis Bordeaux, **2009**.
- [29] L. Michaelis, M.L. Menten, Die Kinetik der invertinwirkung Biocheui. , 9. 333-369.
- [30] Reginald H.GARRETT, Charles M.grisham, Biochimie, p428-429. **2000**.
- [31] K. P. S Adinarayana, R. P Ashoka, and B. P Ajay. Structural Studies on docking Selective COX-2 Inhibitors, Journal of bioinformatics & Research, 1(1): 21-26. **2012**.
- [32] Dr KASSOUL.A, Cours d'ENZYMOLOGIE, faculté médecine, p 4-5. , **2016**.
- [33] H. george., biochimie 1er cycle . , 175-177. **1995**.

[34] 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. Whisstock.. «An overview of the serpin superfamily. » *Genome Biol*, vol. 7, no 5., 216. **2006**.

[35] J. van Ryn, M. Pairet. Clinical experience with cyclooxygenase-2 inhibitors. *Inflamm. Res.* 48, 247- 254. **1999**.

[36] I. S. G. Bjelaković, G. B. Bjelaković, D. Pavlović, G. Kocić, A. Daković, *Med. Bio*, , 9, 201 - 206. **2002**.

[37] C. M. G. R. GARRETT, « Biochimie » De Boeck, 2ème Edition américaine. Paris, **2000**.

[38] C. d. i. d. r. e. (<http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/4EnzymologieLicence/3CoursINHIBITEURS/1CoursInhibition.h> and c. l. f. tm).

[39] h. c. b.-l. w. c. Cours de cinétique enzymatique, consulté le 18 février **2016**.

[40] B. TOUSSAINT, **2010**.

[41] D. Z. K. M. B. Čolović, T. D. Lazarević-Pašti, A. M. Bondžić, V. M. Vasić, *Curr. Neuropharm*, , 11, 315-335. **2013**.

[42] World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. WHO Série N° WK810. World Health Organization. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/43588>. **2006**.

[43] Ansari S. et Helms V., Statistical analysis of predominantly transient protein-protein interfaces. *Proteins*, 61(2): 344 - 355. **2005**.

[44] Heijenoort, Jean van Formation of the Glycan Chains in the Synthesis of Bacterial Peptidoglycan. *Glycobiology* 11(3): 25R–36R **2001**.

[45] Gerald Karp, Biologie Cellulaire et moléculaire concepts et expérience ;(ed) de Boe, Belgique, **1998**.

[46] P.C.turner, A.G. Mclauran et al, l'essentielle en biologie moléculaire,(ed), Berti, **2000**.

[47] Bernad. Sablonnière, Biochimie et Biologie moléculaire, **2006**.

[48] Michel. Seve, Chapitre 2, les acides aminés : propriétés physico-chimique, université Joseph Fourier de Grenoble, **2010/2011**.

[49] http://www.dsimb.inserm.fr/~debrevem/VENN_DIAGRAM/

[50] Mokhtari. Roza, Thèse de Magistère de l'université de Mouloud Mammeri –Tiziouzou, **2012**.

[51] Alzheimer A. (1906). "Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozeß der Hirnrinde." Neurologisches Centralblatt 23: 1129-36. **1906**.

[52] Glenner, G. G. "Amyloid beta protein and the basis for Alzheimer's disease." Prog Clin Biol Res **317**: 857-68. **1989**.

[53] Wischik, C. M., M. Novak, H. C. Thogersen, et al. "Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease." Proc Natl Acad Sci U S A **85**(12): 4506-10. **1988**.

[54] Alzheimer, A., Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N. & Murtagh, F. R. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". Clinical anatomy **8**, 429– 431 **1995**.

[55] <http://www.douglas.qc.ca/info/alzheimer>

[56] <https://www.francealzheimer.org>

[57] un rapport du GCBH propose des recommandations alimentaires pour protéger le cerveau de la maladie. Ces conseils se fondent sur une large étude de la littérature scientifique **2018**.

[58] le poisson en général pourrait améliorer la résistance du cerveau à la démence Université de Pittsburgh, **2011**.

[59] <http://www.maisons-de-retraite.fr/La-sante-des-seniors/Maladie-d-Alzheimer>

[60] Mesulam, M.-M. Cholinergic circuitry of the human nucleus basalis and its fate in Alzheimer's disease. *J. Comp. Neurol.* 521, 4124–4144. **2013**.

[61] Zoheir, N., Lappin, D.F., and Nile, C.J. Acetylcholine and the alpha 7 nicotinic receptor: a potential therapeutic target for the treatment of periodontal disease? *Inflamm. Res. Off. J. Eur. Histamine Res. Soc.* Al 61, 915–926. **2012**.

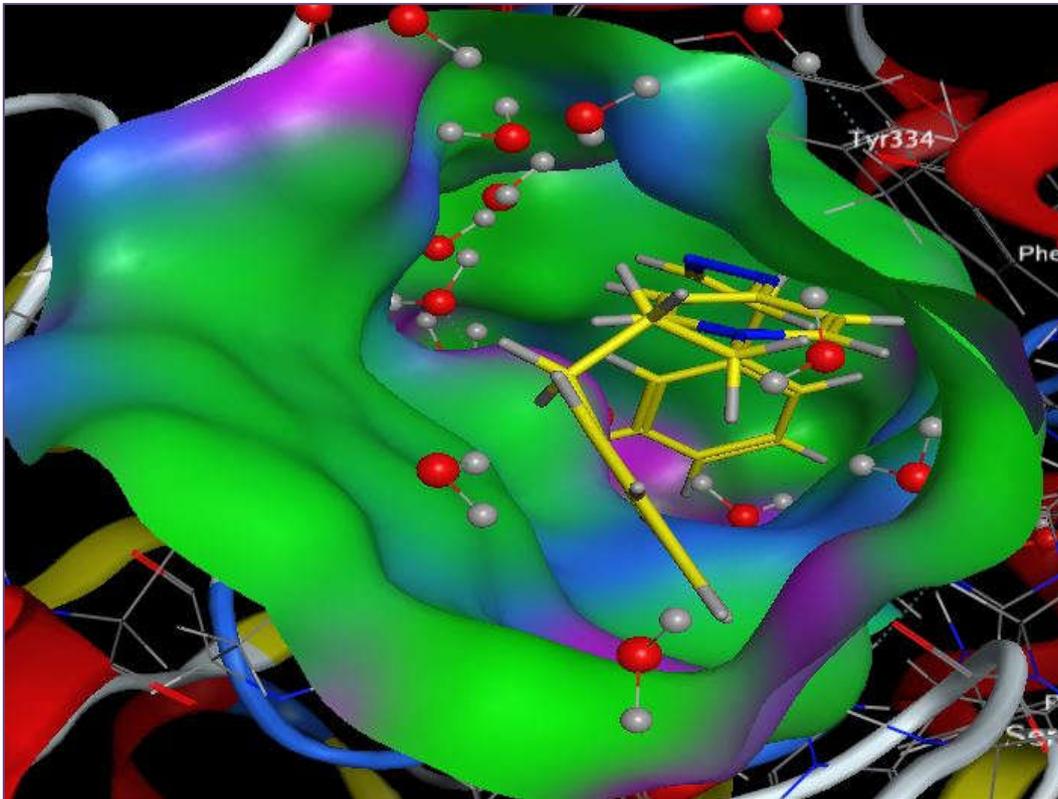
[62] Xu, Y.; Yan, J.; Zhou, P.; Li, J.; Gao, H.; Xia, Y. Wang, Q. Neurotransmitter receptors and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*, 97, 1-13. **2012**.

[63] Anand, R.; Gill, K. D. Mahdi, A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology*, 76 Pt A, 27-50. **2014**.

[64] <http://www.mutualistes.com/alzheimer-un-nouveau-medicament>

Chapitre III

Résultats et discussion



I. Introduction

La modélisation moléculaire englobe les différentes méthodes de calculs théoriques utilisées dans des différents domaines comme : Chimie, Biologie, Pharmacie et médecine. Elle permet de déterminer, la représentation graphique de la géométrie, la configuration des atomes d'une molécule et évaluer 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].

Ces dernières années les chercheurs essaient de combiner entre des différentes méthodes de la modélisation moléculaire à savoir : la dynamique moléculaire et la docking moléculaire. Ce dernier est utilisé pour prédire la structure du complexe inter moléculaire résultant de l'association entre au moins deux molécules [3], sachant que la dynamique moléculaire utilisée comme une méthode de validation des résultats de docking moléculaire. L'utilisation de ces méthodes a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives (médicaments) [4, 5].

Ce travail consiste à étudier les interactions entre une série nouvellement synthétisée contiennent 91 molécules avec l'enzyme de l'**Acétylcholinestérase** (AChE), et 40 molécules avec l'enzyme de **Butyrylcholinestérase** (BuChE) par deux méthodes de la modélisation moléculaire, docking moléculaire et la dynamique moléculaire en utilisant le logiciel MOE, et une dernière méthode pour voir les propriétés ADME pour chaque ligand.

Au niveau de ce chapitre, nous présentons la discussion des résultats obtenus au cours de calcul effectués, sachant que cette discussion est basée sur deux paramètres : l'énergie (Score) et les distances des interactions existantes entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme (résidus de site actif) et les inhibiteurs en question.

Premièrement, Nous avons, schématisé un organigramme résume tous les étapes de calcul qu'on a effectué au cours de ce travail (Figure III.1) :

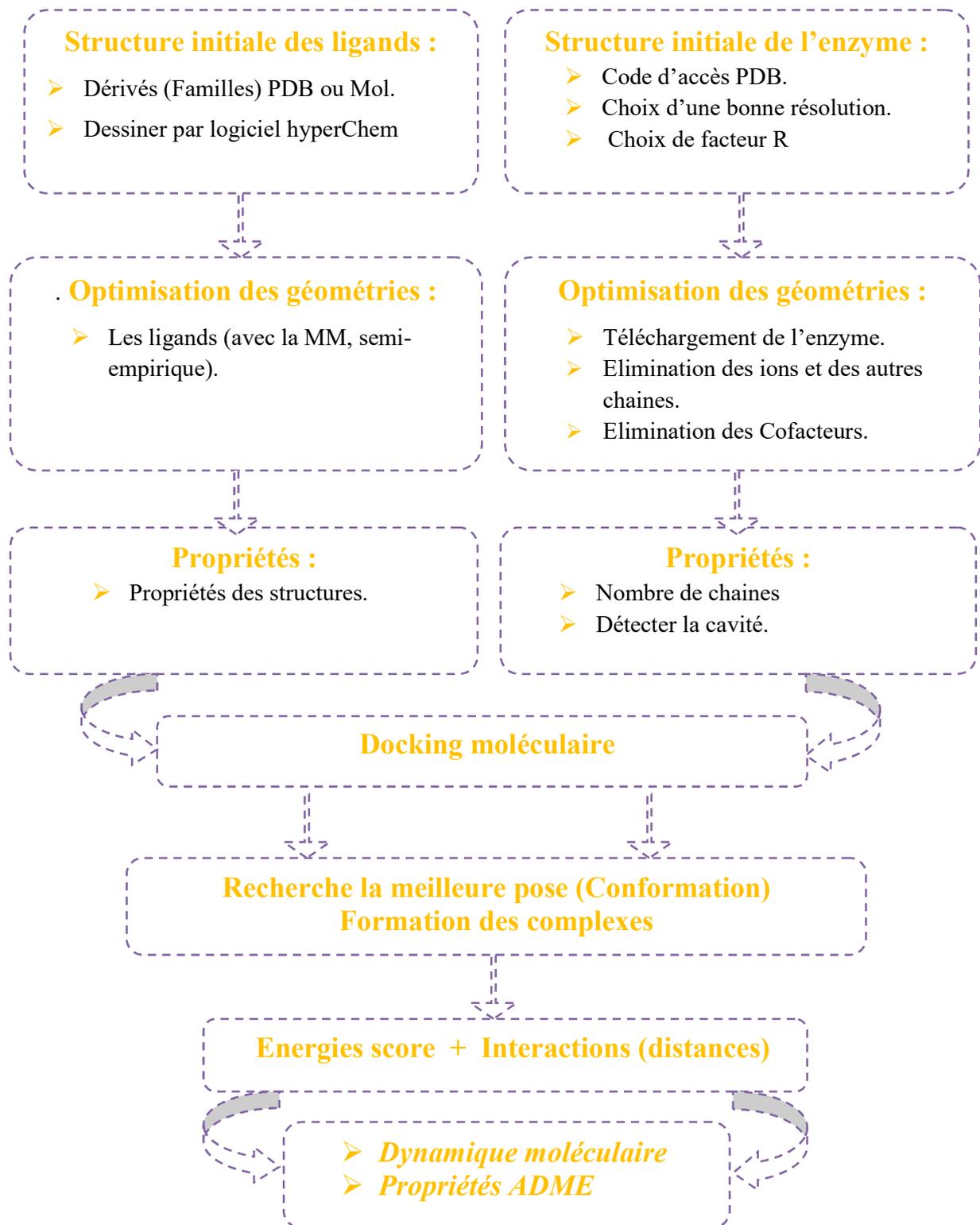


Figure III.1 : Protocole de calcul

II. Méthodes de calcul

II.1 Préparation et optimisation des enzymes et des ligands

II.1.1 Préparation et optimisation du modèle

Le téléchargement des enzymes a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb) [6].

► Acétylcholinestérase (AChE) (PDB ID: **1EVE**) [7]. Elle est Co-cristallisée avec l'inhibiteur Donépezil ($C_{24}H_{29}NO_3$: 1-benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-indanon-2 yl)methyl] piperidine) [8].

► Butyrylcholinestérase (BuChE) (PDS ID: **4BDS**) [9]. Elle est Co-cristallisée avec l'inhibiteur Tacrine ($C_{13}H_{14}N_2$ YLJREFDVOIBQDA-UHFFFAOYSA-N) [10].

Acétylcholinestérase et Butyrylcholinestérase cristallisent sous forme d'un monomère (voir figure III-2(a) et (b)).

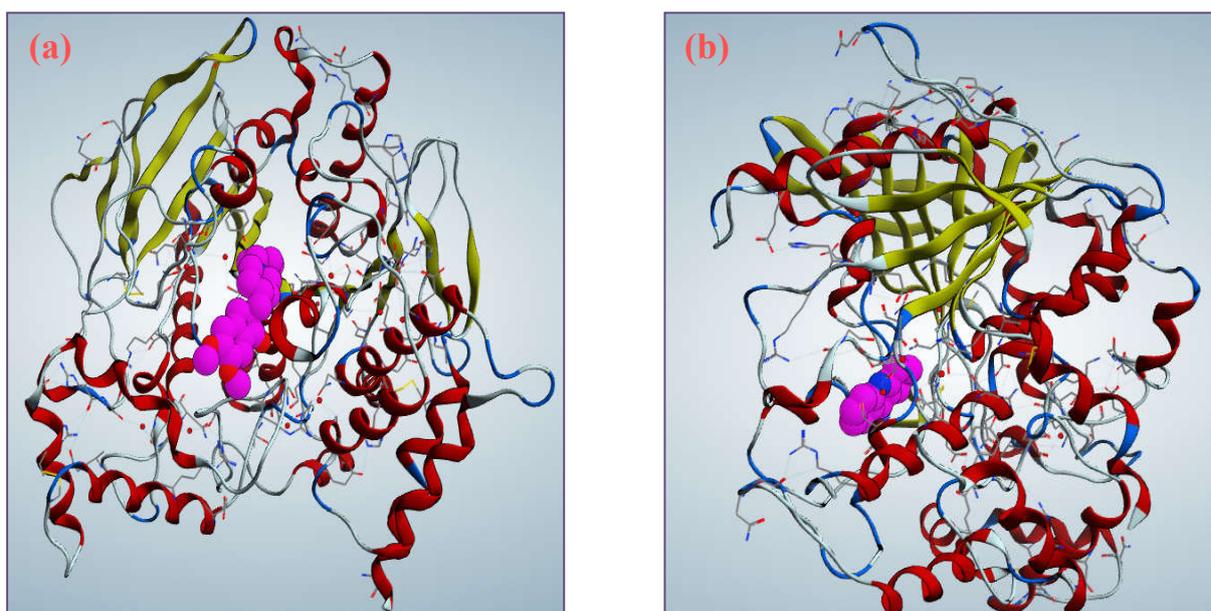


Figure III.2 : Modèle simplifié de (a) : AChE, (b) : BuChE.

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.

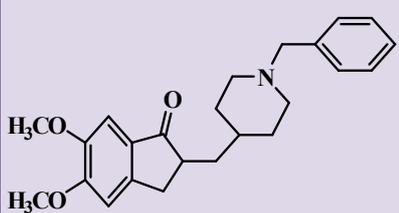
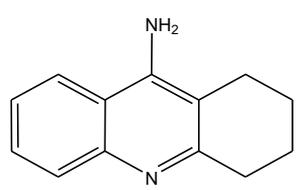
Tableau III.1 : Propriétés de 1EVE et 4BDS

	Nombres des résidus	Nombres des Atomes	Nombres des Atomes lourds	Nombres des liaisons	Masse Molaire (uma)
1EVE	534	8361	4254	8487	60238.6
4BDS	524	8267	4175	8388	58002.6

Les co-facteurs et les ions ont été éliminés; les ligands et la protéine ont été placés au pH physiologique; même les ligands ont été considérés comme flexible ; et les enzymes ont été préparées comme corps rigide.

Les structures 3D de nos enzymes ont été obtenues par diffraction en rayon X. Les données de la Co-cristallisations sont regroupées dans le tableau III-2.

Tableau III.2 : Données cristallographiques de l'AChE et de BuChE

Enzymes	Inhibiteur de co-cristallisation	Classifications	Polymère	Chaines	Résolution (Å)
AChE (PDB ID: 1EVE)	 Donépezil	Serine Hydrolase	1	A	2.50
BuChE (PDB ID: 4BDS)	 Tacrine	Hydrolase	1	A	2.10

II.1.2 Préparation des inhibiteurs

Ce sont des dérivés de 1,4-substituées 4-(1H) -pyridylène-hydrazone (Schéma) [11]. Ils sont préparés selon la réaction suivante :

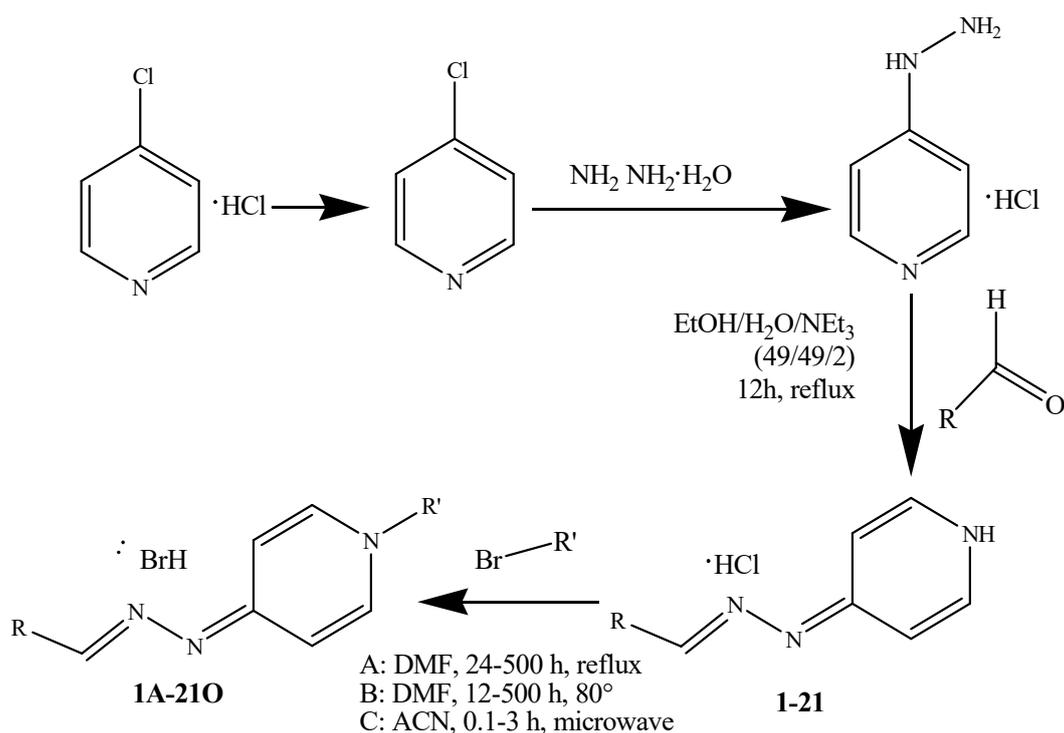


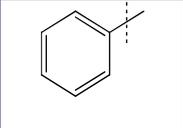
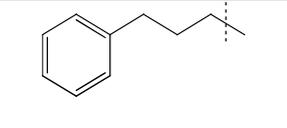
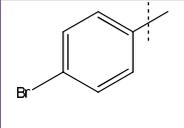
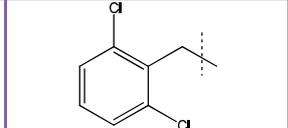
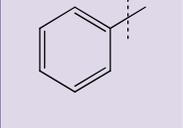
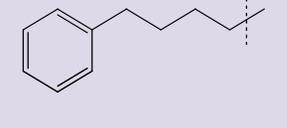
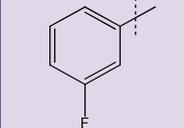
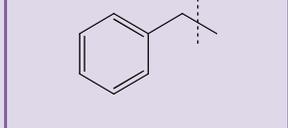
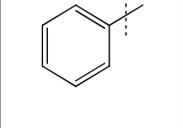
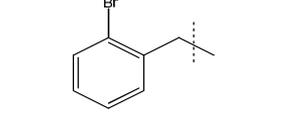
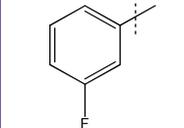
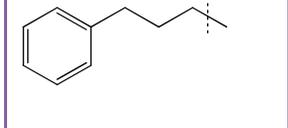
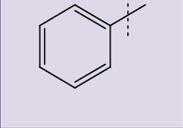
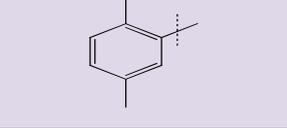
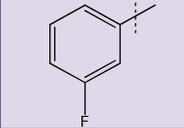
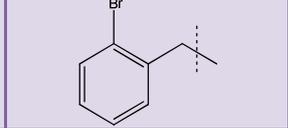
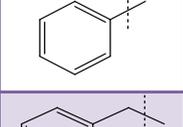
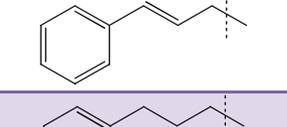
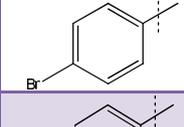
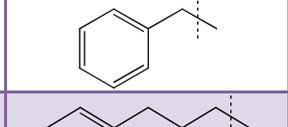
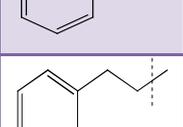
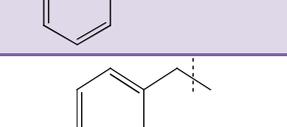
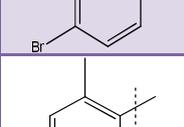
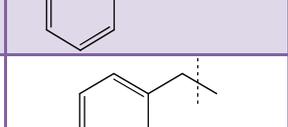
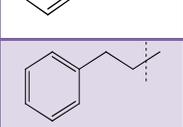
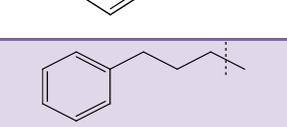
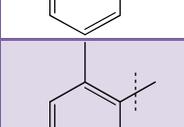
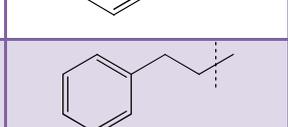
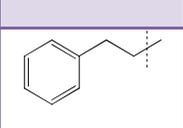
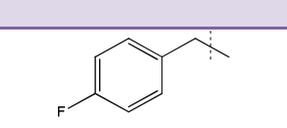
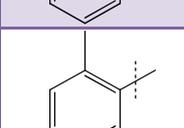
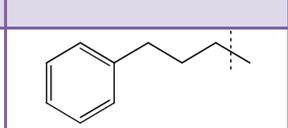
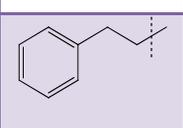
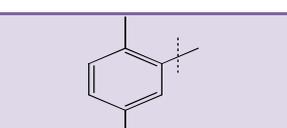
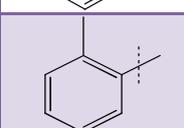
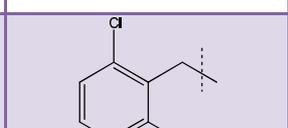
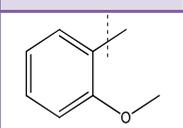
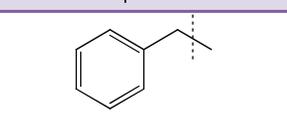
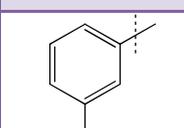
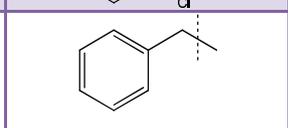
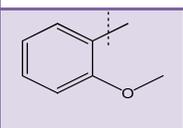
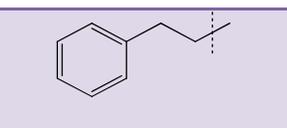
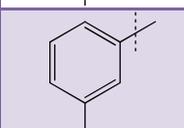
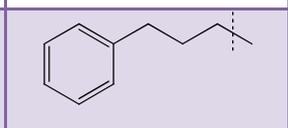
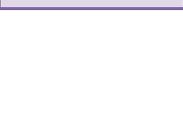
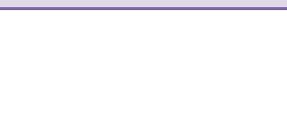
Schéma : Préparation de 1,4-substituées 4- (1H) -pyridylène-hydrazone

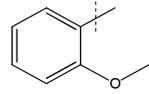
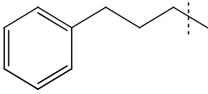
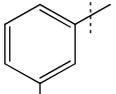
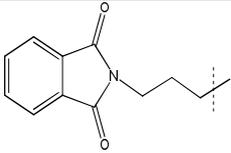
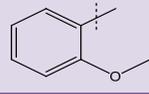
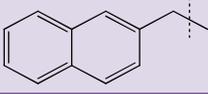
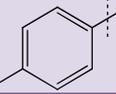
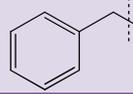
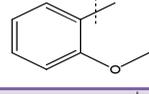
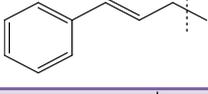
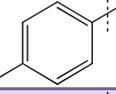
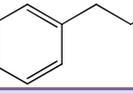
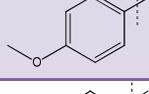
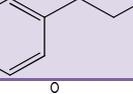
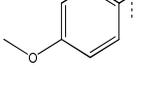
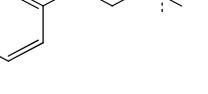
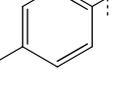
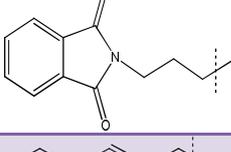
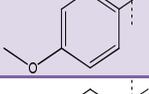
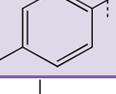
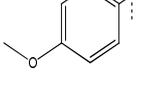
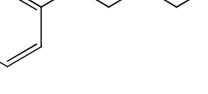
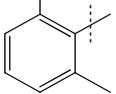
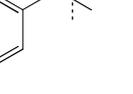
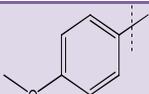
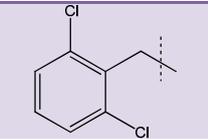
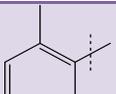
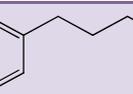
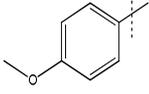
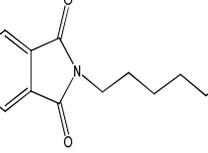
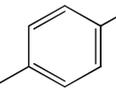
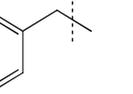
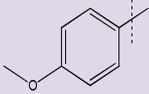
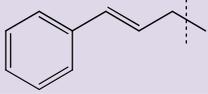
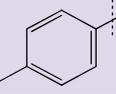
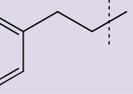
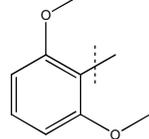
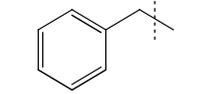
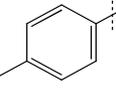
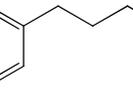
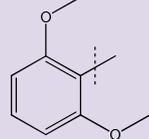
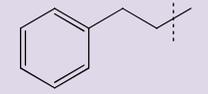
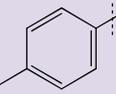
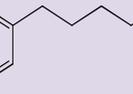
Le ligand est généralement une molécule organique. On utilise des logiciels à interface graphique ou des logiciels de la modélisation moléculaire pour dessiner la structure de départ de ces molécules.

Les structures des ligands dessinées à l'aide de logiciel ChemOffice 07 [12]. Elles sont représentées ci-dessous.

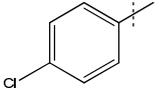
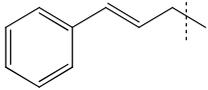
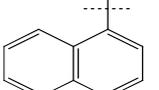
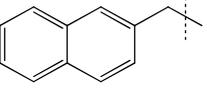
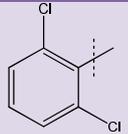
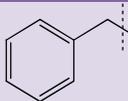
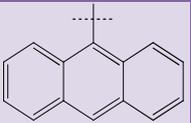
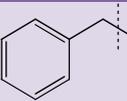
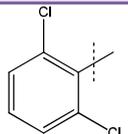
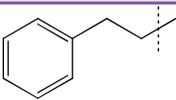
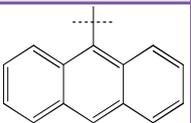
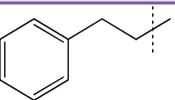
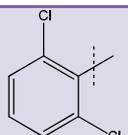
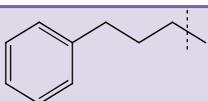
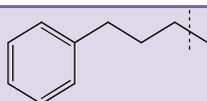
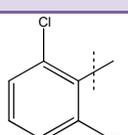
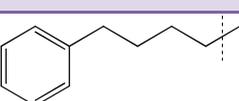
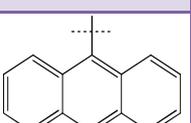
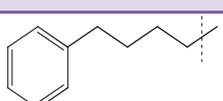
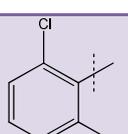
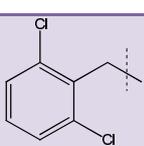
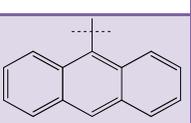
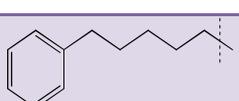
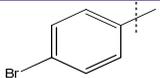
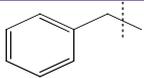
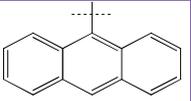
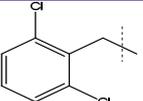
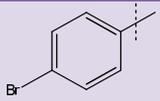
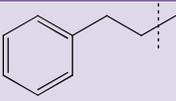
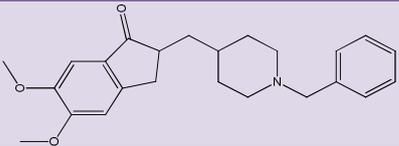
Tableau III.3 : Structures chimiques des ligands L₁-L₉₁

Ligands		Substituent		Ligands		Substituent	
(*)		R	R'	(*)		R	R'
1A	L ₁			10C	L ₄₇		
1B	L ₂			10D	L ₄₈		

1C	L3			10J	L49		
1D	L4			11A	L50		
1H	L5			11C	L51		
1K	L6			11H	L52		
1P	L7			12A	L53		
2C	L8			12C	L54		
3A	L9			13A	L55		
3C	L10			13B	L56		
3F	L11			13C	L57		
3K	L12			13J	L58		
4A	L13			14A	L59		
4B	L14			14C	L60		

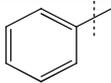
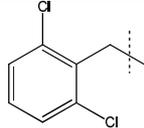
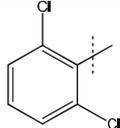
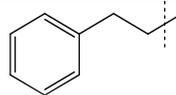
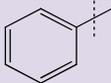
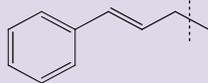
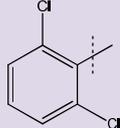
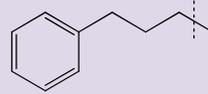
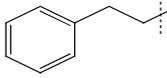
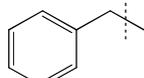
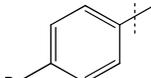
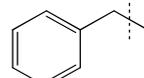
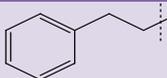
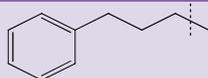
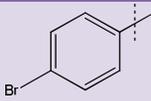
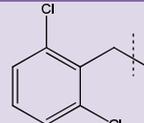
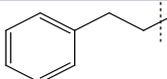
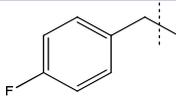
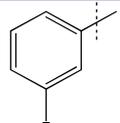
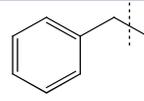
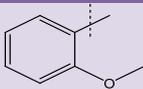
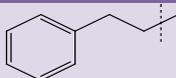
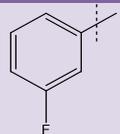
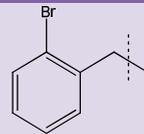
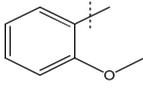
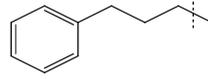
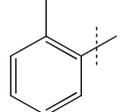
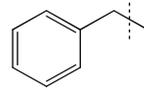
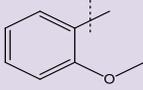
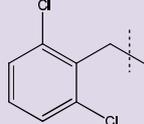
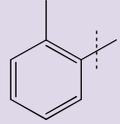
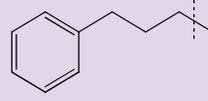
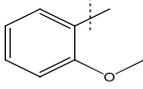
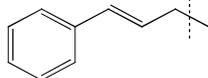
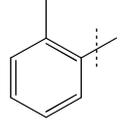
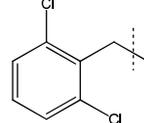
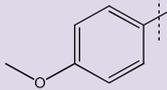
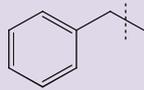
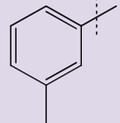
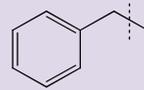
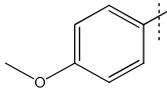
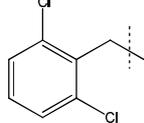
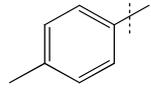
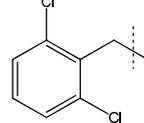
4C	L15			14N	L61		
4L	L16			15A	L62		
4P	L17			15B	L63		
5A	L18			15C	L64		
5C	L19			15N	L65		
5D	L20			15P	L66		
5E	L21			16A	L67		
5J	L22			16C	L68		
5O	L23			18A	L69		
5P	L24			18B	L70		
6A	L25			18C	L71		
6B	L26			18D	L72		

7A	L27			18E	L73		
7B	L28			18J	L74		
7C	L29			18P	L75		
7H	L30			19A	L76		
7J	L31			19C	L77		
8A	L32			19N	L78		
8C	L33			20A	L79		
8F	L34			20B	L80		
8G	L35			20C	L81		
8H	L36			20D	L82		
8I	L37			20E	L83		
8K	L38			20J	L84		

8P	L39			20L	L85		
9A	L40			21A	L86		
9B	L41			21B	L87		
9C	L42			21C	L88		
9D	L43			21D	L89		
9J	L44			21E	L90		
10A	L45			21J	L91		
10B	L46			Lréf			

(*) : Numérotation selon la littérature [11].

Tableau III.4 : Structures chimiques des ligands L₁'-L₄₀'

Ligands		Substituent		Ligands		Substituent	
(*)		R	R'	(*)		R	R'
1J	L ₁ '			9B	L ₂₁ '		
1P	L ₂ '			9C	L ₂₂ '		
3A	L ₃ '			10A	L ₂₃ '		
3C	L ₄ '			10J	L ₂₄ '		
3F	L ₅ '			11A	L ₂₅ '		
4B	L ₆ '			11H	L ₂₆ '		
4C	L ₇ '			13A	L ₂₇ '		
4J	L ₈ '			13C	L ₂₈ '		
4P	L ₉ '			13J	L ₂₉ '		
5A	L ₁₀ '			14A	L ₃₀ '		
5J	L ₁₁ '			15J	L ₃₁ '		

50	L12'			15L	L32'		
6J	L13'			15P	L33'		
7A	L14'			16J	L34'		
7B	L15'			17A	L35'		
7C	L16'			17C	L36'		
7J	L17'			17J	L37'		
8H	L18'			18J	L38'		
8I	L19'			19A	L39'		
9A	L20'			20L	L40'		
Lréf				(*) : Numérotation selon la littérature [11].			

Dans notre travail on s'est basé sur 91 ligands qui sont capable de faire des interactions avec l'enzyme AChE et par la suite forme des complexes stables. La structure chimique du ligand co-cristallisé (**L réf**) au niveau de notre enzyme (**1EVE**) et 40 ligands qui sont capable de faire des interactions avec l'enzyme BuChE et par la suite forme des complexes stables. La structure

chimique du ligand co-cristallisé ($L_{\text{réf}}$) au niveau de notre enzyme (**4BDS**) sont données dans le tableau III.2.

L'optimisation des géométries de nos ligands a été effectuée à l'aide du logiciel HyperChem (Version 7.0, Hypercube, USA, <http://www.hyper.com>) [13], par la méthode de la mécanique moléculaire en utilisant le champ de force MM+ [13], suivi par une optimisation de la méthode semi-empirique AM1 [14].

Les calculs effectués à l'aide des deux logiciels HyperChem7 et MOE2014

II.2 Docking moléculaire

Dans la mise au point de nouveaux médicaments, l'amarrage (Docking) sert souvent à déterminer l'orientation des petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité. Ainsi, l'amarrage joue un rôle important dans la conception pensée de nouveaux médicaments. En raison de sa valeur biologique et pharmaceutique, on s'est efforcé d'améliorer les méthodes qui calculent l'amarrage moléculaire.

Donc le Docking est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable [15].

Le plus important problème pour l'étape de Docking moléculaire est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique et déterministe [16].

Le programme MOE a été utilisé pour notre étude car :

1^{ère} : il est facile à manipuler.

2^{ème} : il a prouvé son efficacité dans plusieurs études, on peut citer quelque exemple des travaux :

Eman K.A. Abdelall et al [17], Matteo Aldeghi et al [18], Sarah T. A. Al-Rashood et al [19]. Khac-Minh Thai et al [20], Somaia S. Abd El-Karim et al [21], Sheng Liu et al [22]. Tamer Nasr et al [23], Jiansong Fang et al [24], Sally S. El-Nakkady et al [25]. I. daoud et al [26].

II.2.1 Etapes du docking moléculaire

II.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.5 : Quelques propriétés des ligands L₁-L₂₇

Ligands	EH (kcal/mol)	Pol (Å ³)	MM (u.m.a)	SAG (Å ²)	VOL (Å ³)	REF (Å ³)	LogP
L ₁	-9.75	35.00	287.36	555.33	917.39	100.17	2.65
L ₂	-9.20	36.84	301.39	570.92	961.21	104.92	2.90
L ₃	-9.12	38.67	315.42	597.17	1004.91	109.52	3.29
L ₄	-9.05	40.51	329.44	626.23	1055.17	114.12	3.69
L ₅	-9.39	37.63	366.26	581.11	966.00	107.70	2.70
L ₆	-8.19	36.84	301.39	572.72	953.31	104.67	2.41
L ₇	-9.66	38.48	313.40	587.12	995.84	110.49	3.18
L ₈	-6.97	40.51	329.44	606.65	1041.17	114.07	3.23
L ₉	-8.95	38.67	315.42	614.62	1023.66	109.32	2.97
L ₁₀	-8.39	42.34	343.47	656.41	1108.99	118.67	3.62
L ₁₁	-8.64	38.58	333.41	618.94	1032.86	109.44	2.37
L ₁₂	-7.50	40.51	329.44	642.86	1075.36	113.82	2.74
L ₁₃	-9.01	37.47	317.39	587.27	982.12	106.54	1.65
L ₁₄	-8.59	39.31	331.42	600.97	1035.77	111.30	1.90
L ₁₅	-8.50	41.14	345.44	620.61	1067.15	115.90	2.30
L ₁₆	-9.37	43.65	367.45	654.16	1107.54	124.74	1.73
L ₁₇	-9.18	40.95	343.43	574.25	1027.72	116.86	2.18
L ₁₈	-11.39	37.47	317.39	599.63	995.29	106.54	1.65
L ₁₉	-10.75	41.14	345.44	637.33	1080.76	115.90	2.30
L ₂₀	-10.70	42.98	359.47	664.77	1131.81	120.50	2.70
L ₂₁	-10.50	44.81	373.50	697.28	1185.58	125.10	3.09
L ₂₂	-10.79	41.33	386.28	631.52	1059.01	115.97	1.21
L ₂₃	-11.48	49.23	442.52	756.97	1296.43	136.53	1.28
L ₂₄	-11.58	40.95	343.43	634.05	1070.75	116.86	2.18
L ₂₅	-9.41	39.94	347.42	624.62	1057.46	112.92	0.66
L ₂₆	-8.88	41.78	361.44	635.88	1100.83	117.67	0.91
L ₂₇	-9.09	36.93	321.81	584.95	960.28	104.88	2.42

L28	-8.72	38.76	335.84	602.82	1009.02	109.64	2.67
L29	-8.51	40.60	349.86	619.34	1045.36	114.24	3.07
L30	-8.85	39.55	400.71	602.15	1003.15	112.42	2.47
L31	-8.57	40.78	390.70	609.73	1021.36	114.32	1.98
L32	-9.36	36.93	321.81	574.45	960.08	104.88	2.42
L33	-8.65	40.60	349.86	616.41	1043.67	114.24	3.07
L34	-9.07	36.84	339.80	580.98	969.36	105.01	1.82
L35	-9.03	41.96	447.71	617.62	1032.00	117.20	2.94
L36	-9.04	39.55	400.71	605.03	1008.42	112.42	2.47
L37	-8.79	39.46	418.70	620.68	1027.98	112.54	1.87
L38	-7.82	38.76	335.84	595.27	996.66	109.38	2.18
L39	-9.36	40.41	347.85	617.77	1042.30	115.20	2.96
L40	-8.26	38.86	356.25	599.46	996.17	109.60	2.20
L41	-7.86	40.69	370.28	626.84	1046.48	114.35	2.45
L42	-8.03	42.53	384.31	653.70	1099.02	118.95	2.85
L43	-7.62	44.36	398.33	678.34	1140.03	123.56	3.24
L44	-7.75	42.71	425.14	630.61	1062.03	119.03	1.76
L45	-9.35	37.63	366.26	587.06	979.86	107.70	2.70
L46	-8.82	39.46	380.29	607.01	1024.15	112.46	2.95
L47	-8.68	41.30	394.31	629.32	1064.14	117.06	3.35
L48	-8.66	43.13	408.34	660.20	1117.24	121.66	3.74
L49	-8.74	41.48	435.15	625.70	1044.51	117.13	2.25
L50	-9.35	34.91	305.35	560.98	926.57	100.29	2.04
L51	-8.64	38.58	333.41	599.69	1009.73	109.65	2.69
L52	-9.03	37.53	384.25	586.63	975.17	107.83	2.10
L53	-9.41	34.91	305.35	558.21	926.20	100.29	2.04
L54	-8.74	38.58	333.41	602.86	1010.27	109.65	2.69
L55	-8.34	36.84	301.39	583.98	965.03	104.45	2.80
L56	-7.72	38.67	315.42	590.02	1001.80	109.20	3.05
L57	-7.75	40.51	329.44	623.77	1052.43	113.80	3.45
L58	-7.77	40.69	370.28	608.19	1028.87	113.88	2.35
L59	-8.40	36.84	301.39	583.04	969.22	104.45	2.80
L60	-7.78	40.51	329.44	625.44	1057.15	113.80	3.45
L61	-8.71	44.92	398.46	680.87	1166.34	125.19	1.57
L62	-8.54	36.84	301.39	581.72	970.25	104.45	2.80
L63	-7.90	38.67	315.42	595.35	1011.35	109.20	3.05
L64	-7.92	40.51	329.44	624.14	1056.84	113.80	3.45
L65	-8.86	44.92	398.46	692.43	1174.28	125.19	1.57
L66	-8.57	40.31	327.43	627.88	1049.15	114.77	3.33
L67	-6.91	38.67	315.42	602.29	1007.28	108.73	2.95
L68	-6.54	42.34	343.47	654.95	1105.50	118.09	3.60
L69	-14.61	36.84	332.36	583.67	977.11	105.38	-2.03
L70	-14.13	38.68	346.39	605.40	1025.59	110.14	-1.78

L71	-13.88	40.51	360.42	627.14	1060.41	114.74	-1.39
L72	-13.91	42.35	374.44	658.08	1115.25	119.34	-0.99
L73	-13.72	44.18	388.47	691.92	1170.02	123.94	-0.59
L74	-13.99	40.70	401.25	620.14	1040.86	114.81	-2.48
L75	-14.71	40.32	358.40	626.44	1059.35	115.70	-1.50
L76	-9.92	41.18	337.42	620.70	1044.92	118.36	2.72
L77	-9.31	44.85	365.48	664.33	1131.63	127.72	3.37
L78	-10.38	49.27	434.50	728.92	1245.94	139.10	1.50
L79	-9.48	41.18	337.42	559.41	1004.45	118.36	2.72
L80	-8.53	43.02	351.45	647.06	1092.90	123.12	2.97
L81	-8.76	44.85	365.48	588.42	1079.02	127.72	3.37
L82	-8.80	46.69	379.50	623.86	1134.96	132.32	3.77
L83	-8.55	48.52	393.53	654.80	1197.72	136.92	4.16
L84	-8.93	45.04	406.31	631.74	1086.99	127.80	2.28
L85	-9.90	47.36	387.48	622.32	1134.76	136.56	2.80
L86	-9.05	47.36	387.48	689.90	1162.85	136.56	2.80
L87	-8.53	49.20	401.51	697.10	1208.80	141.32	3.05
L88	-8.41	51.03	415.54	720.93	1245.49	145.92	3.44
L89	-8.40	52.87	429.56	750.54	1301.80	150.52	3.84
L90	-8.24	54.70	443.59	787.17	1364.57	155.12	4.24
L91	-8.48	51.22	456.37	707.64	1224.10	145.99	2.35
L _{Réf}	-3.56	43.76	378.51	654.25	1138.08	119.47	2.97

EH :Energie d'hydratation, POL :Polarisabilité, MM :Masse molaire, SAG :Surface area grid, VOL :volume, REF :Réf

LogP :lipophile (coefficient de partage).

Les résultats présentés dans le tableau III.5 montrent que les ligands **L69**, **L70**, **L74**, **L75** 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 que le **L_{Réf}** comme ligand de référence et on peut classer ces ligands selon l'ordre suivant :

$$L_{75} < L_{69} < L_{70} < L_{74} < L_{Réf}$$

L'énergie d'hydratation(EH) en valeurs absolue, les plus importantes sont celle des ligands L75, L69 (-14.71), (-14.61) en ordre.

La polarisabilité et la réfractivité molaire augmente avec la masse molaire et le volume. Par exemple, les ligands L78 et L90 portent des substituant volumineux L78 (atome d'oxygène, azote

et 3 cycles), L90 (4 cycles) ont des valeurs importantes de la polarisabilité (49.27\AA^3), (54.70\AA^3) et la réfractivité molaire (139.10\AA^3), (155.12\AA^3) respectivement. Voir le tableau III.5.

Tableau III.6 : Quelques propriétés des ligands L₁'-L₄₀'

Ligands	EH (kcal/mol)	Pol (\AA^3)	MM (u.m.a)	SAG (\AA^2)	VOL (\AA^3)	REF (\AA^3)	LogP
L ₁ '	-9.13	38.86	356.25	588.58	981.03	109.60	2.20
L ₂ '	-9.66	38.48	313.40	587.12	995.84	110.49	3.18
L ₃ '	-8.95	38.67	315.42	614.62	1023.66	109.32	2.97
L ₄ '	-8.39	42.34	343.47	656.41	1108.99	118.67	3.62
L ₅ '	-8.64	38.58	333.41	618.94	1032.86	109.44	2.37
L ₆ '	-8.59	39.31	331.42	600.97	1035.77	111.30	1.90
L ₇ '	-8.50	41.14	345.44	620.61	1067.15	115.90	2.30
L ₈ '	-8.40	41.33	386.28	622.03	1052.28	115.97	1.21
L ₉ '	-9.18	40.95	343.43	574.25	1027.72	116.86	2.18
L ₁₀ '	-11.39	37.47	317.39	599.63	995.29	106.54	1.65
L ₁₁ '	-10.79	41.33	386.28	631.52	1059.01	115.97	1.21
L ₁₂ '	-11.48	49.23	442.52	756.97	1296.43	136.53	1.28
L ₁₃ '	-8.75	43.80	416.31	658.76	1126.33	122.35	0.21
L ₁₄ '	-9.09	36.93	321.81	584.95	960.28	104.88	2.42
L ₁₅ '	-8.72	38.76	335.84	602.82	1009.02	109.64	2.67
L ₁₆ '	-8.51	40.60	349.86	619.34	1045.36	114.24	3.07
L ₁₇ '	-8.57	40.78	390.70	609.73	1021.36	114.32	1.98
L ₁₈ '	-9.04	39.55	400.71	605.03	1008.42	112.42	2.47
L ₁₉ '	-9.41	39.94	347.42	624.62	1057.46	112.92	0.66
L ₂₀ '	-8.26	38.86	356.25	599.46	996.17	109.60	2.20
L ₂₁ '	-7.86	40.69	370.28	626.84	1046.48	114.35	2.45
L ₂₂ '	-8.03	42.53	384.31	653.70	1099.02	118.95	2.85
L ₂₃ '	-9.35	37.63	366.26	587.06	979.86	107.70	2.70
L ₂₄ '	-8.74	41.48	435.15	625.70	1044.51	117.13	2.25
L ₂₅ '	-9.35	34.91	305.35	560.98	926.57	100.29	2.04
L ₂₆ '	-9.03	37.53	384.25	586.63	975.17	107.83	2.10
L ₂₇ '	-8.34	36.84	301.39	583.98	965.03	104.45	2.80
L ₂₈ '	-7.75	40.51	329.44	623.77	1052.43	113.80	3.45
L ₂₉ '	-7.77	40.69	370.28	608.19	1028.87	113.88	2.35
L ₃₀ '	-8.40	36.84	301.39	583.04	969.22	104.45	2.80
L ₃₁ '	-7.90	40.69	370.28	617.98	1034.17	113.88	2.35
L ₃₂ '	-8.91	43.02	351.45	656.27	1095.51	122.65	2.87
L ₃₃ '	-8.57	40.31	327.43	627.88	1049.15	114.77	3.33
L ₃₄ '	-6.33	42.53	384.31	631.64	1073.03	118.16	2.51
L ₃₅ '	-14.76	35.64	303.36	562.80	935.34	101.77	1.62

L36'	-14.13	39.31	331.42	608.39	1023.71	111.13	2.27
L37'	-14.15	39.49	372.25	598.89	1000.94	111.20	1.18
L38'	-13.99	40.70	401.25	620.14	1040.86	114.81	-2.48
L39'	-9.92	41.18	337.42	620.70	1044.92	118.36	2.72
L40'	-9.90	47.36	387.48	622.32	1134.76	136.56	2.80
L_{RÉF}	-4.15	23.82	198.27	392.25	631.94	66.80	0.52

EH : Energie d'hydratation, POL : Polarisabilité, MM : Masse molaire, SAG : Surface area grid, VOL : volume, Ref : Réfractivité, LogP :lipophile (coefficient de partage).

Les résultats présentés dans le tableau III.6 montrent que les ligands **L35'**, **L36'**, **L37'**, **L38'** 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 :

$$L_{35}' < L_{37}' < L_{36}' < L_{38}' < L_{\text{réf}}$$

L'énergie d'hydratation(EH) en valeurs absolue, les plus importantes sont celle des ligands L75, L69 (-14.76), (-14.15) en ordre.

La polarisabilité et la réfractivité molaire augmente avec la masse molaire et le volume, par exemple, les ligands L12' et L40' portent des substituant volumineux L_{12'} (atome d'oxygène, azote et 2 cycles), L40' (4 cycles) ont des valeurs importantes de la polarisabilité (49.23Å³), (47.36Å³) et la réfractivité molaire (136.53 Å³), (136.56 Å³) respectivement. Voir le tableau III.6.

II.2.1.2 Structure de la macromolécule (enzyme)

a. Sources

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

b. Traitement de la structure 3D du récepteur

Suite aux imperfections qui existent sur la structure on peut trouver : les ions, détergents, glycols, et les anticorps. Donc, il faudra nettoyer notre enzyme pour simplifier et faciliter la démarche de docking moléculaire (prend pas beaucoup du temps).

Site d'interaction

Où est le site d'interaction?

On utilise la méthode de détection de cavité "knob & hole".

Principe

On considère le centre de la sphère de volume V qui est placé sur la surface moléculaire (Connolly)

- ✓ On fait "rouler" la sphère sur la surface moléculaire.
- ✓ On calcule le volume commun de la sphère appartenant également à la protéine : V_{com} .

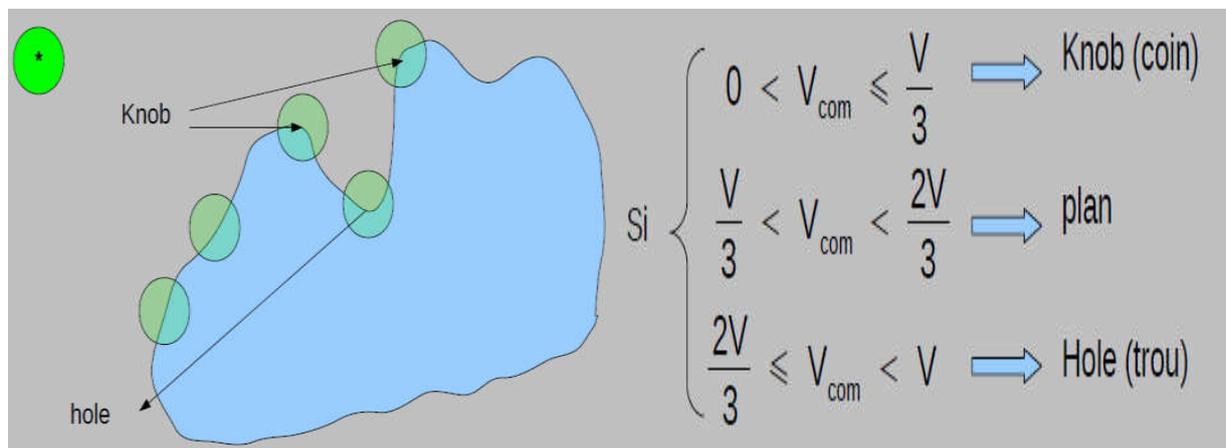


Figure III.3 : Méthode de détection de cavité knob & hole [27].

II.3 Simulation de la dynamique moléculaire

La méthode de simulation de la dynamique moléculaire est basée sur la deuxième loi de Newton ou l'équation du mouvement; c'est une simulation qui suit les mouvements atomiques / moléculaires dans les systèmes pour une période donnée. Le meilleur conformère des enzymes AChE et BuChE avec des ligands a été suivi par un calcul de dynamique moléculaire.

Le champ de force MMFF94x et l'algorithme NPA ont été utilisés pour définir les interactions du système. Les étapes et les protocoles de la dynamique moléculaire ont été sélectionnés pour optimiser l'équilibre des systèmes à 100 ps et la production a été effectuée à 900 ps en maintenant la température et la pression normales.

Tous les calculs ont été exécutés en utilisant le logiciel MOE.

II.4 Propriétés ADME

Nous notons que de nombreux agents thérapeutiques potentiels n'atteignent pas les essais cliniques en raison de leurs paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination défavorables (ADME).

III. Résultats et discussion

III.1 Simulation de Docking moléculaire

MOE est basé sur un type de docking **semi-flexible** et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible et la chaîne principale de l'enzyme a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles. Il utilise le **champ de force MMFF94x** pour optimiser les conformations au cours de calcul.

Les enzymes sont constituées de plusieurs sites actifs. Le logiciel MOE 2014 [28] nous a permis d'identifier et présenter les résidus qui forment les sites actifs (les cavités) en utilisant le module « Site Finder ».

III.1.1 Interaction : AChE –Ligands

On donne les propriétés de première cavité détectée par MOE dans le tableau III.7.

Tableau III.7 : Différentes propriétés de première cavité détectée par MOE de AChE

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	153	3.88	55	89	1:(GLN69 TYR70 VAL71 ASP72 SER81 TRP84 ASN85 PRO86 GLY117 GLY118 GLY119 TYR121 SER122 TYR130 GLU199 SER200 ALA201 TRP233 TRP279 LEU282 SER286 ILE287 PHE288 ARG289 PHE290 PHE330 PHE331 TYR334 GLY335 HIS440 GLY441)

- ▶ L'option « Site Finder » a été utilisée pour la détection des différentes cavités enzymatiques, et leurs propriétés.
- ▶ Le site le plus favorable pour faire notre étude possède le volume plus important, ainsi que le ligand Co-cristallisé au niveau d'AChE.
- ▶ Dans la figure suivante on a représenté la cavité sélectionnée pour notre étude de 1EVE.

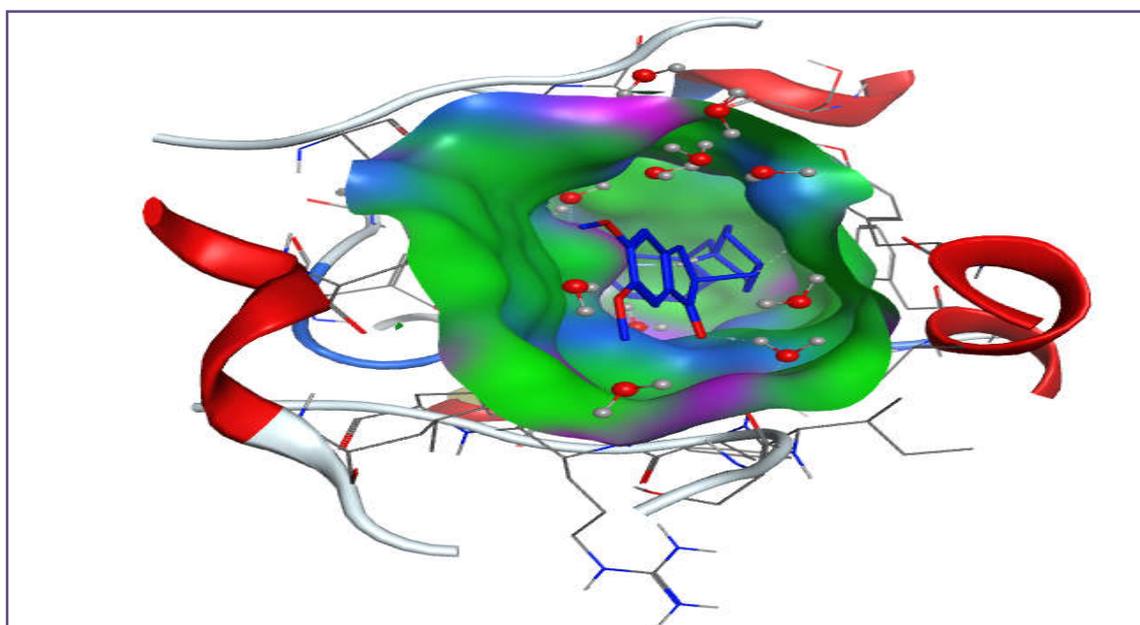


Figure III.4 : Modèle simplifié et la cavité choisie de l'AChE.

Marek Bajda et *al* [29] ont confirmé ce choix de cavité 1 et nous a donné quelques informations concernant le site actif de 1EVE et les résidus qui interviennent à la formation de complexe (figure III.5).

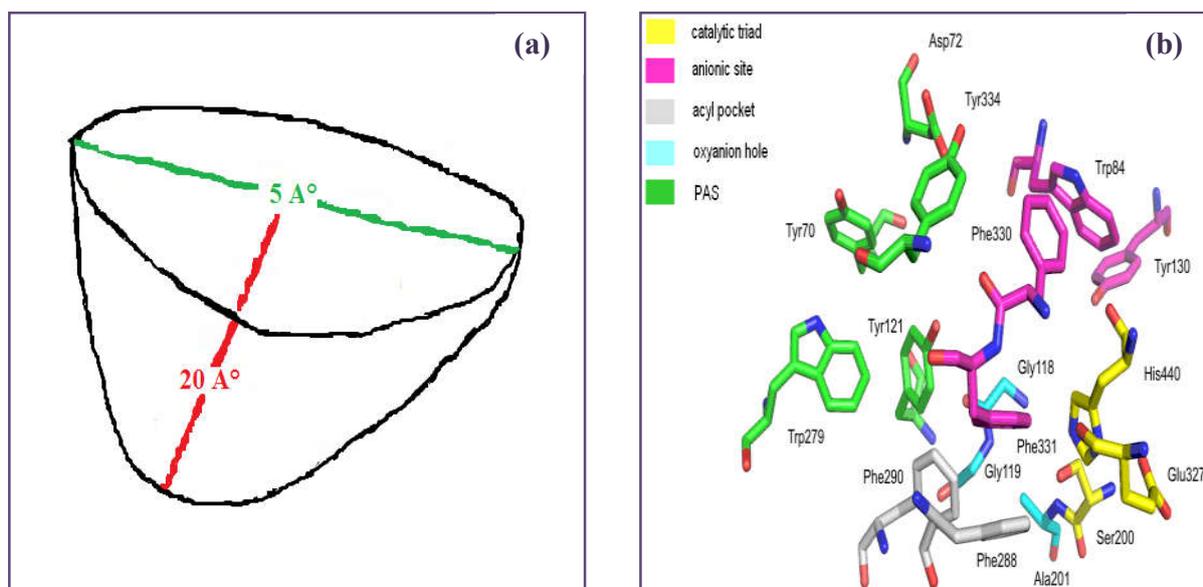


Figure III.5 :(a) Cavité enzymatique et (b) les résidus du site actif de l’AChE.

La cavité 1 a été choisie (Voir la figure III.4 et Tableau III.7) pour faire notre calcul de docking car elle possède :

1. Le ligand qui Co-cristallisé d’AChE (Donepezil).
2. Un volume important par rapport autres cavités.
3. Les mêmes résidus de site actif de la littérature.

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif, dans notre cas, la poche enzymatique possède une largeur de 5 Å et une profondeur de 20 Å (Voir figure III.5 (a)).

Les énergies de score et les distances des interactions pour les différents complexes sont reportées dans le tableau III.8

Tableau III.8 : S-score, IC₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le AChE

Ligands	IC ₅₀ value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liaison entre atomes de ligands et résidus de site actif				
			Atome de ligand	Atome amplifiée dans l'AA	résidus	Type de liaison	Distance (Å)
L1	12.00±0.15	-7.515	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3,90
L2	1.34±0.04	-7.648	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.73
L3	3.85±0.08	-7.702	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.76
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.83
L4	6.31±0.09	-7.801	C29	6-ring	TRP279	H-pi	3.79
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L5	5.67±0.07	-6.920	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.88
L6	5.78±0.07	-6.064	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.91
L7	0.82±0.03	-8.268	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L8	4.12±0.08	-8.218	C10	5-ring	TRP84	H-pi	3.68
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.85
L9	1.29±0.07	-6.331	C11	6-ring	PHE331	H-pi	4.41
			C20	6-ring	PHE331	H-pi	4.63
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.61
L10	0.24±0.05	-7.746	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.85
L11	2.98±0.09	-7.837	C11	5-ring	TRP84	H-pi	3.88
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.82
L12	8.74±0.17	-7.415	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.85
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.94
L13	12.40±0.20	-8.226	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	4.00
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L14	3.52±0.15	-6.380	/	/	/	/	/
L15	7.84±0.19	-8.222	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.76
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.83
L16	8.27±0.16	-6.458	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.70
L17	2.32±0.08	-7.227	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.83
L18	0.27±0.06	-7.263	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.93
L19	1.25±0.07	-7.007	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.90
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.69
L20	2.75±0.15	-7.395	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.84
L21	8.87±0.19	-7.818	6-ring	5-ring	TRP84	pi-pi	3.91
L22	3.84±0.12	-6.713	N8	O	HOH1254	H-acceptor	3.47
			C11	5-ring	TRP279	H-pi	3.52
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.94
L23	7.58±0.17	-8.207	C31	6-ring	TYR334	H-pi	4.57
			6-ring	O	HOH1254	pi-H	3.91
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.86
L24	4.17±0.13	-7.171	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.83
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.74

L25	4.56±0.19	-6.159	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.98
L26	3.26±0.16	-7.331	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.78
L27	1.63±0.15	-7.659	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.94
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.89
L28	1.98±0.08	-6.322	C11	6-ring	TRP279	H-pi	3.98
L29	0.83±0.09	-6.781	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.96
L30	4.66±0.15	-5.812	CL25	OD2	ASP72	H-donor	3.34
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.73
L31	7.32±0.87	-5.291	CL39	OD2	ASP72	H-donor	2.95
			C11	6-ring	TYR334	H-pi	4.35
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.91
L32	0.12±0.04	-7.852	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L33	0.51±0.03	-7.127	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.75
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.71
L34	4.65±0.11	-7.578	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.96
L35	5.76±0.18	-6.9101	N8	O	HOH1254	H-acceptor	3.39
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.86
L36	2.72±0.15	-6.875	N8	O	HOH1254	H-acceptor	3.40
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.88
L37	8.29±0.14	-6.696	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.94
			6-ring	5-ring	TRP84	pi-pi	3.90
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.87
L38	4.56±0.12	-7.020	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.75
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.92
L39	1.49±0.06	-8.198	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.89
L40	1.30±0.05	-6.549	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.82
L41	3.45±0.08	-7.676	C17	5-ring	TRP84	H-pi	3.99
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.82
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.92
L42	0.98±0.07	-7.670	C28	5-ring	TRP84	H-pi	3.87
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.93
L43	5.32±0.15	-7.780	C26	6-ring	PHE330	H-pi	3.98
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.95
L44	3.78±0.09	-4.903	CL39	OD2	ASP72	H-donor	2.94
			C11	6-ring	TYR334	H-pi	4.32
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.91
L45	1.87±0.07	-7.930	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L46	6.39±0.08	-8.100	C17	5-ring	TRP84	H-pi	3.72
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.82
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.93
L47	5.60±0.09	-7.097	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.74
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.71
L48	8.31±0.18	7.783	C26	6-ring	PHE330	H-pi	4.03
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.81
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.96
L49	4.56±0.05	-6.528	N8	O	HOH1254	H-acceptor	3.37
			C11	5-ring	TRP279	H-pi	3.51
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.89

L50	0.86±0.04	-6.916	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.93
L51	2.31±0.10	-8.113	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.91
L52	0.99±0.16	-6.755	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.99
			6-ring	5-ring	TRP84	pi-pi	3.98
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.97
L53	6.04±0.09	-7.654	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L54	1.58±0.09	-7.832	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.74
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.83
L55	3.11±0.08	-7.658	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.92
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.89
L56	2.56±0.12	-7.859	C17	5-ring	TRP84	H-pi	3.81
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.74
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.92
L57	1.21±0.08	-7.865	C24	6-ring	PHE330	H-pi	3.70
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.72
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.81
L58	8.43±0.19	-5.564	6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.80
L59	2.25±0.12	-7.568	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.87
L60	7.74±0.09	-7.647	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.91
L61	2.98±0.12	-7.132	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.79
L62	7.25±0.15	-7.911	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L63	6.95±0.19	-7.304	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.89
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.80
L64	1.19±0.08	-7.883	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.75
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.83
L65	2.49±0.10	-7.208	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.89
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.72
L66	1.08±0.04	-8.002	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.89
L67	6.78±0.15	-6.858	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.92
L68	4.98±0.18	-7.826	C28	5-ring	TRP84	H-pi	3.85
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.93
L69	0.89±0.02	-8.328	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L70	1.71±0.04	-7.618	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.94
			6-ring	5-ring	TRP84	pi-pi	3.99
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.81
L71	0.09±0.01	-8.205	C26	6-ring	TYR70	H-pi	4.62
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.77
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.83
L72	2.34±0.12	-7.754	C26	5-ring	TRP279	H-pi	3.75
L73	7.67±0.13	-7.521	C26	6-ring	TYR334	H-pi	3.84
			6-ring	5-ring	TRP84	pi-pi	3.76
L74	7.89±0.18	-6.928	6-ring	5-ring	TRP84	pi-pi	3.83
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.80
L75	1.65±0.08	-8.545	O44	N	ARG289	H-acceptor	3.07
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.90
L76	1.95±0.08	-7.371	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.98
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.89

L77	1.98±0.02	-6.858	/	/	/	/	/
L78	8.12±0.23	-7.825	C17	5-ring	TRP279	H-pi	4.12
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.85
L79	2.04±0.02	-5.673	/	/	/	/	/
L80	2.76±0.04	-6.051	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.80
L81	1.87±0.18	-6.871	6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.72
L82	3.21±0.17	-7.072	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.79
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.77
L83	5.67±0.08	-7.433	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.66
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.75
L84	8.95±0.16	-4.934	C11	6-ring	TRP279	H-pi	4.24
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.91
L85	1.12±0.06	-5.283	6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.89
L86	1.76±0.05	-5.282	/	/	/	/	/
L87	2.46±0.08	-5.645	6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.87
L88	1.87±0.18	-6.991	6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.82
L89	2.21±0.07	-7.225	C29	6-ring	PHE331	H-pi	4.49
			6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.80
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.67
L90	5.57±0.09	-7.865	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3.75
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.75
L91	7.87±0.23	-4.167	CL34	OD2	ASP72	H-donor	2.90
			C11	6-ring	TYR334	H-pi	4.30
			6-ring	6-ring	PHE330	pi-pi	3.82
Donepezil	0.0057	-10.900	N14 26	O	HOH1159	H-donor	2.90
			O24 48	O	HOH1254	H-acceptor	2.68
			C16 31	6-ring	TYR334	H-pi	4.22
			6-ring	6-ring	TRP84	pi-pi	3.88

Les résultats obtenus montrent que les ligands L7, L13, L15, L69 et L75 formant des complexes possèdent les plus petites énergies Score par rapport aux autres complexes, ceci montre que ces complexes sont plus stables.

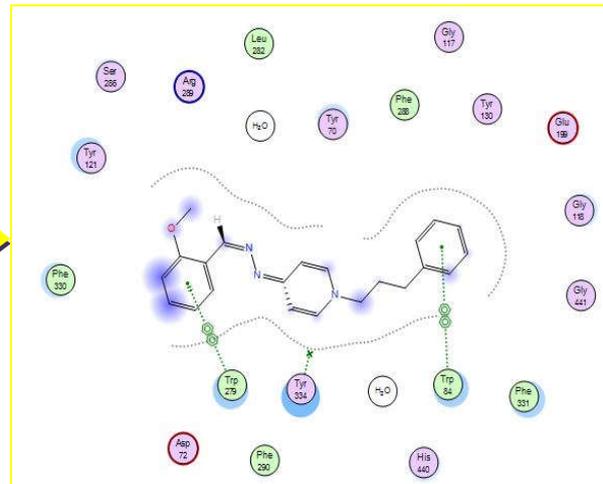
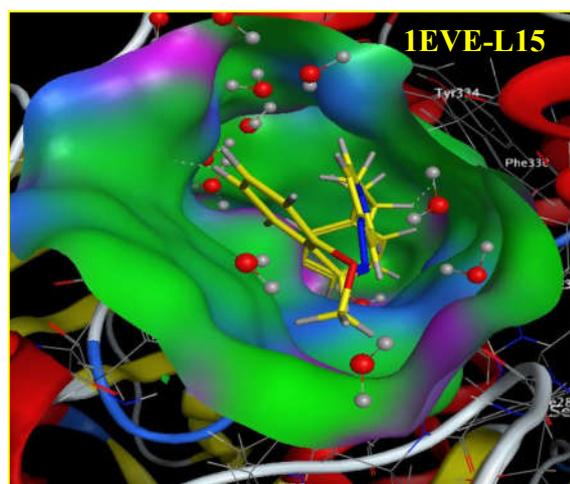
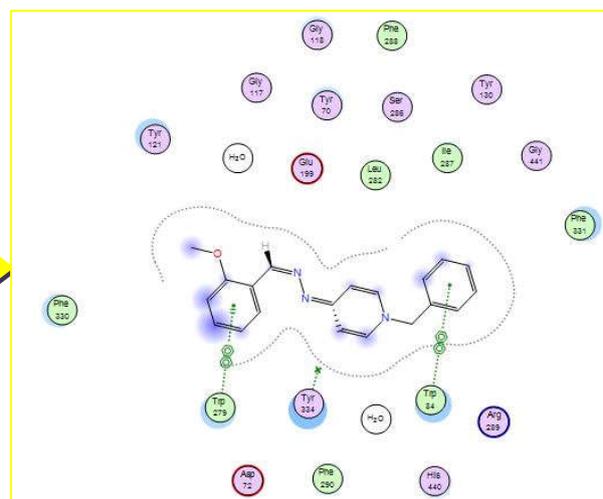
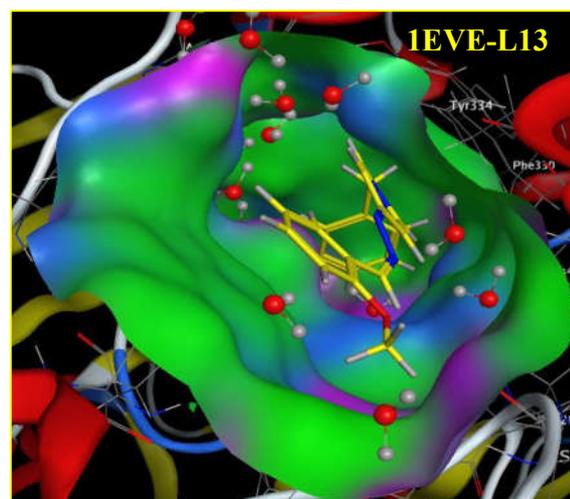
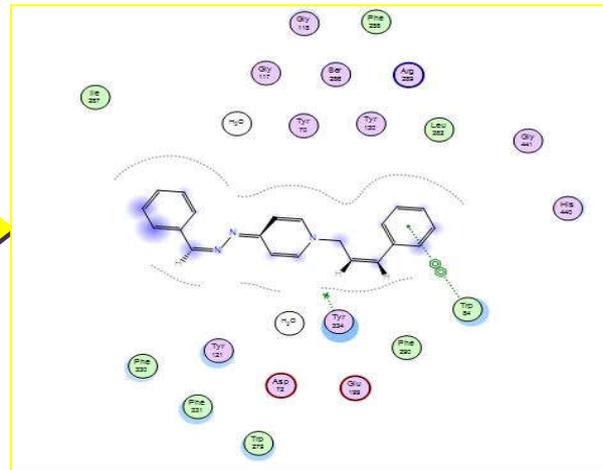
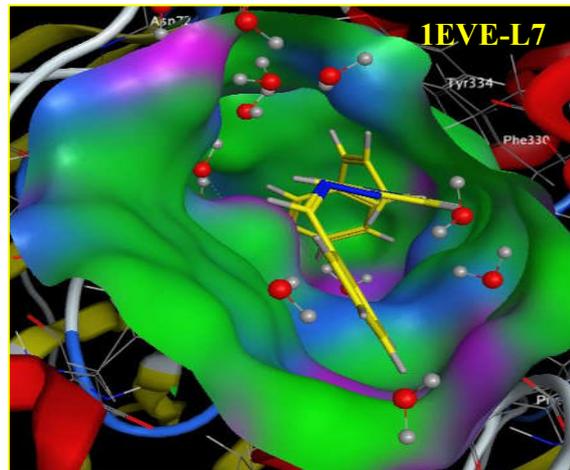
On peut les classer selon l'ordre suivant :

$$1\text{EVE-L}_{75} < 1\text{EVE-L}_{69} < 1\text{EVE-L}_7 < 1\text{EVE-L}_{13} < 1\text{EVE-L}_{15}$$

On remarque aussi que le L69 a un volume plus petit par rapport aux L13, L7, L75 et le L15 même par rapport au ligand de référence (Donepezil).

D'autre part, si on parle des ligands : L69 ($IC_{50} = 0.89 \pm 0.02 \mu\text{M}$), L13 ($IC_{50} = 12.40 \pm 0.20 \mu\text{M}$), L7 ($IC_{50} = 0.82 \pm 0.03 \mu\text{M}$), L75 ($IC_{50} = 1.65 \pm 0.08 \mu\text{M}$), L15 ($IC_{50} = 7.84 \pm 0.19 \mu\text{M}$) on peut voir qui ont

des faibles valeurs de IC₅₀ mais avec des valeurs légèrement élevées de l'énergie de Score par rapport au ligand Co-cristallisé dans AChE (L_{réf}).



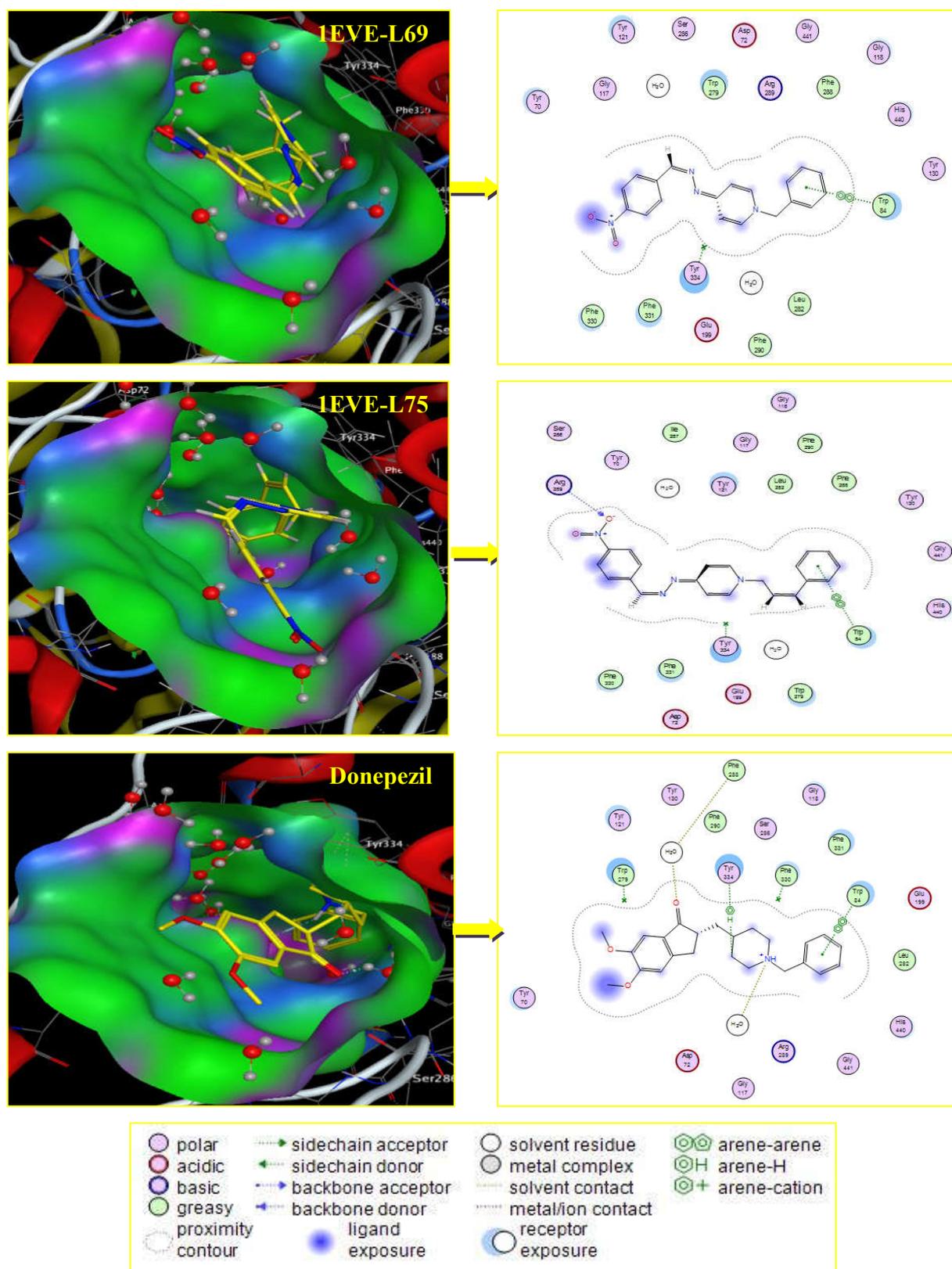


Figure III.6: Interaction entre les ligands (L7,L13,L15,L69 et L75) et les résidus de site actif de AChE

D'après A. Imberty et al [30]. Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55Å sont faibles.

Le complexe formé par le ligand L₇₅ a une faible énergie de Score (-8.545 Kcal/mol) et forme deux interactions avec les résidus de site actif d'ACHé cité ici : la première de type H-accepteur forte (entre l'atome O44 et le résidu ARG289) avec une distance 3.07 Å et la deuxième de type Pi-Pi (entre l'atome 6-ring et le résidu TRP84) avec une distance 3.90 Å

Ce ligand possède une valeur moyenne de IC₅₀=1.65±0.08 µM ce qui suggère qu'il peut inhiber l'enzyme 1EVE (Voir le tableau III.8 et Figure III.6).

On observe aussi que le complexe formé par ligand L₆₉ a une faible énergie de Score (-8.328Kcal/mol) et maintenu par une seule interaction de type Pi-Pi (entre 6-ring et le résidu TRP84) avec une distance de 3,90 Å

Ce ligand possède une valeur faible de IC₅₀=0.89±0.02 µM ce qui es proposé peut-être comme un deuxième inhibiteur de l'enzyme 1EVE (Voir le tableau III.8et Figure III.8).

Les inhibiteurs L₇ (-8.268 Kcal/mol), L₁₃ (-8.226 Kcal/mol) et L₁₅ (-8.222 Kcal/mol) ont des valeurs légèrement faible d'énergie score, ceci confirme que ces ligands forment des complexes moins stables que les complexes des ligands précédents.

III.1.2 Interaction : BuChE -Ligands

On donne les propriétés de première cavité détectée par MOE dans le tableau III.9.

Tableau III.9: Différentes propriétés de première cavité détectée par MOE de BuChE.

Site	Size ^a	PLB ^b	Hyd ^c	Side ^d	Residues
1	189	4.04	60	104	1:(ASN68 ILE69 ASP70 GLN71 SER72 GLY78 SER79 TRP82 TYR114 GLY115 GLY116 GLY117 GLN119 THR120 GLY121 THR122 LEU125 TYR128 GLU197 SER198 ALA199 TRP231 GLU276 ALA277 VAL280 GLY283 THR284 PRO285 LEU286 SER287 VAL288 ASN289 PHE290 ALA328 PHE329 TYR332 PHE398 TRP430 MET437 HIS438 GLY439 TYR440 ILE442)

a: le nombre de sphères alpha comprenant le site, **b:**le score de Propension pour le ligand [31] pour les résidus de contact dans le récepteur, **c:** le nombre d'atomes de contact hydrophobes dans le récepteur , **d:** le nombre d'atomes de contact de la chaîne latérale dans le récepteur.

- ▶ Le site le plus favorable pour faire notre étude possède le volume plus important, ainsi que le ligand Co-cristallisé au niveau d’BuChE.
- ▶ Dans la figure suivante on a représenté la cavité sélectionnée pour notre étude de 4BDS.

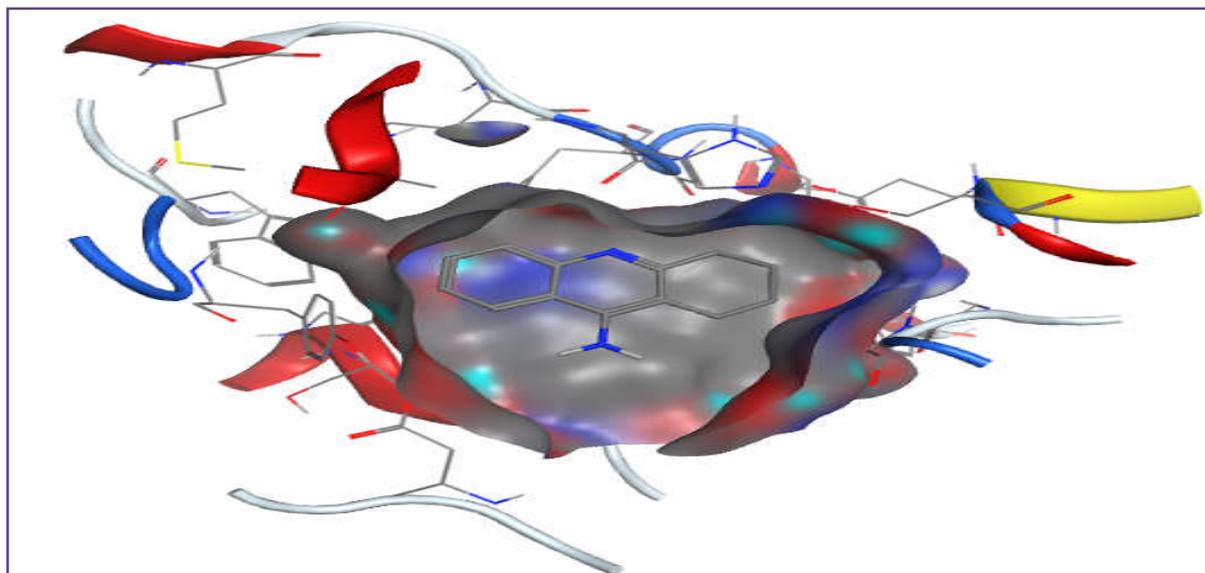


Figure III.7 Modèle simplifié et la cavité choisie de BuChE.

D’après la littérature [30] on remarque que les résidus de site actif sont ressemblés aux résidus de site actif détecté par MOE, dans ce cas la cavité 1 sélectionnée pour notre étude (figure III.8).

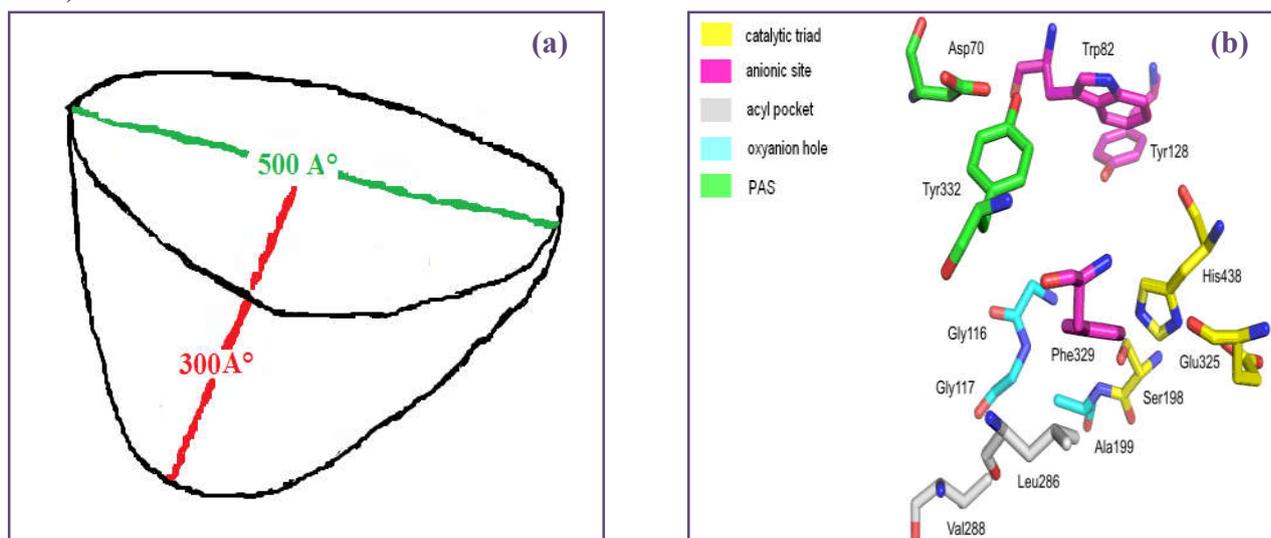


Figure III.8: (a) : Cavité enzymatique et (b) : Les résidus du site actif de BuChE.

La cavité 1 a été choisie (Voir la figure III.7 et Tableau III.9) pour faire notre calcul de docking car elle possède :

1. Le ligand qui Co-cristallisé de BuChE (Tacrine).
2. Un volume important par rapport autres cavités.
3. Les mêmes résidus de site actif de la littérature.

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif, dans notre cas, la poche enzymatique possède une largeur de 300 Å et une profondeur de 500 Å (Voir figure III.8(a)).

Les énergies de score et les distances des interactions pour les différents complexes sont reportées dans le tableau III.10.

Tableau III.10 : S-score, IC₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE .

Ligands	IC ₅₀ value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liaison entre atomes de ligands et résidus de site actif				
			Atome de ligand	Atome amplique dans l'AA	résidus	Type de liaison	Distance (Å)
L1'	4.12±0.06	-5.852	C4	6-ring	TYR332	H-pi	3.95
			6-ring	CA	PRO285	pi-H	4.66
L2'	7.89±0.14	-6.562	C5	5-ring	TRP82	H-pi	4.03
			C5	6-ring	TRP82	H-pi	4.38
L3'	3.58±0.04	-6.761	6-ring	CA	PRO285	pi-H	4.09
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.87
L4'	9.66±0.08	-7.316	6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.91
L5'	1.72±0.06	-7.161	6-ring	CE1	PHE329	pi-H	3.44
L6'	8.31±0.10	-7.048	N7	O	HOH2055	H-acceptor	3.32
L7'	8.38±0.06	-7.430	N7	O	HOH2055	H-acceptor	3.23
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.99
L8'	1.07±0.08	-6.294	6-ring	CA	PRO285	pi-H	4.26
L9'	9.82±0.16	-7.441	N7	O	HOH2092	H-acceptor	2.89
			C12	5-ring	TRP231	H-pi	3.66
			6-ring	5-ring	TRP82	pi-pi	3.57
L10'	2.60±0.10	-6.527	6-ring	CA	PRO285	pi-H	3.92
L11'	0.64±0.02	-6.384	/	/	/	/	/
L12'	9.78±0.02	-7.938	N7	O	HOH2055	H-acceptor	2.91
			O57	O	HOH2092	H-acceptor	2.90
			C51	5-ring	TRP231	H-pi	4.31
			C51	6-ring	TRP231	H-pi	4.14
L13'	3.64±0.02	-6.227	N7	O	HOH2055	H-acceptor	3.05
L14'	3.35±0.12	-6.081	6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.79
L15'	8.63±0.16	-6.394	6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.92
L16'	8.75±0.06	-8.031	6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.82
L17'	3.51±0.05	-6.062	6-ring	CA	PRO285	pi-H	4.33
L18'	8.18±0.12	-6.467	N8	O	HOH2092	H-acceptor	3.32
			6-ring	CA	PRO285	pi-H	4.04
L19'	6.01±0.07	-6.686	6-ring	O	HOH2092	pi-H	4.37
			6-ring	5-ring	TRP82	pi-pi	3.89
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.74
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.94
L21'	7.43±0.09	-5.927	CL28	OD2	ASP70	H-donor	3.79
			N8	O	HOH2092	H-acceptor	3.00
L22'	9.12±0.11	-6.386	CL24	O	SER287	H-donor	2.96
			N8	O	HOH2092	H-acceptor	2.74
			C13	5-ring	TRP231	H-pi	3.62
			6-ring	5-ring	TRP82	pi-pi	3.61
L23'	8.34±0.09	-6.137	6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.85

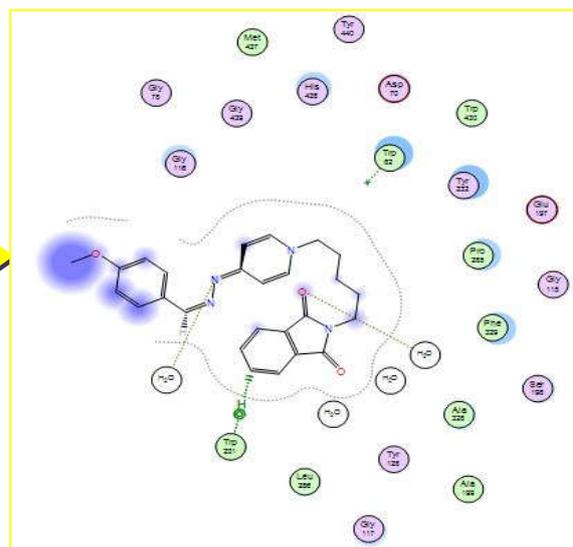
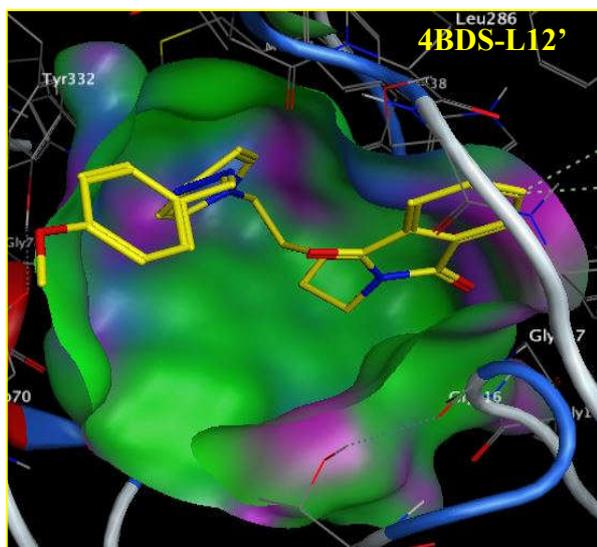
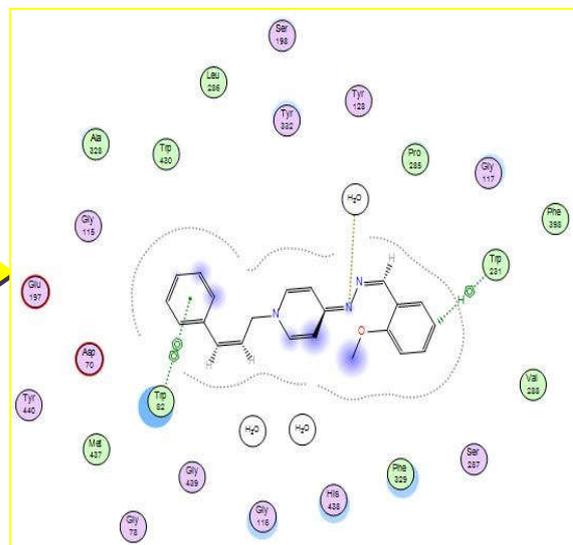
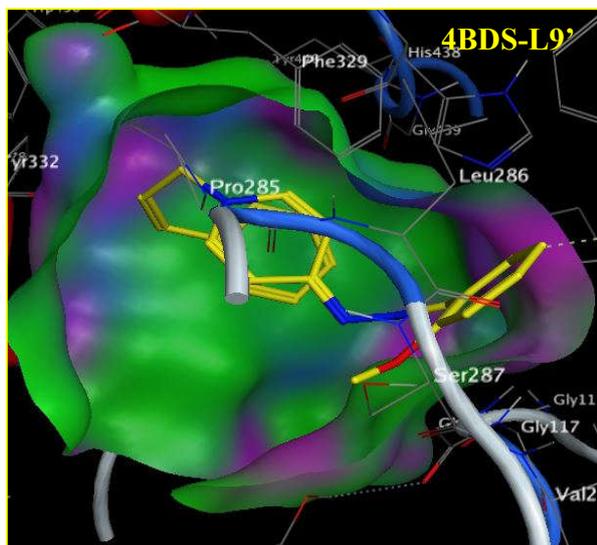
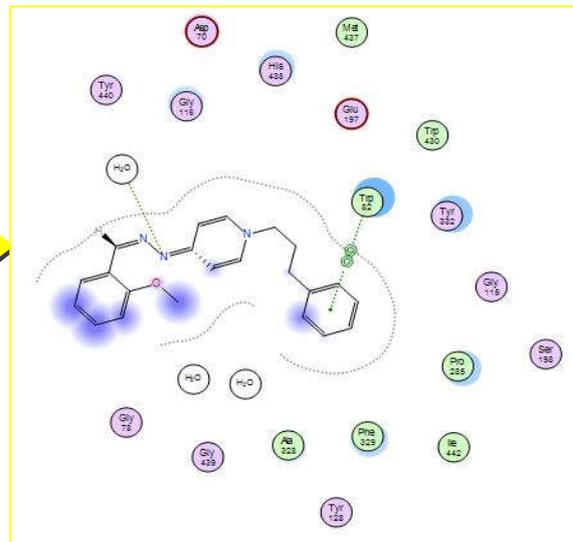
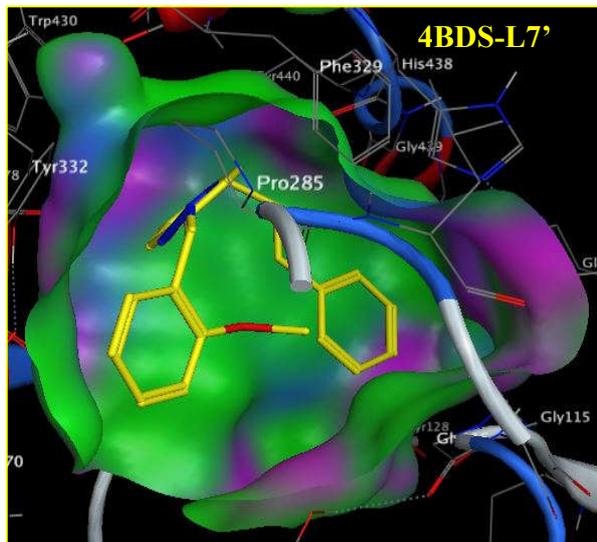
L24'	9.34±0.09	-6.459	CL35	O	TYR332	H-donor	3.33
L25'	2.40±0.03	-6.607	N7	O	HOH2055	H-acceptor	3.22
			C11	5-ring	TRP82	H-pi	4.16
L26'	1.64±0.06	-6.355	6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.97
L27'	4.22±0.04	-6.649	N7	O	HOH2055	H-acceptor	3.31
L28'	8.76±0.12	-8.144	6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.86
L29'	1.49±0.14	-6.220	6-ring	CA	PRO285	pi-H	4.68
L30'	1.42±0.07	-6.295	C11	5-ring	TRP82	H-pi	3.94
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.79
L31'	0.63±0.08	-6.430	CL33	O	TYR332	H-donor	3.30
L32'	7.31±0.04	-7.054	/	/	/	/	/
L33'	2.82±0.16	-6.785	/	/	/	/	/
L34'	2.67±0.06	-5.516	CL36	O	HIS438	H-donor	2.76
			N8	O	HOH2092	H-acceptor	2.66
			C14	5-ring	TRP231	H-pi	3.60
L35'	5.71±0.08	-6.315	O38	O	HOH2093	H-donor	3.13
			6-ring	O	HOH2092	pi-H	4.12
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.75
L36'	5.55±0.13	-6.850	N7	O	HOH2055	H-acceptor	3.15
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	3.98
L37'	3.90±0.10	-5.934	6-ring	5-ring	TRP82	pi-pi	3.94
L38'	5.94±0.17	-6.448	/	/	/	/	/
L39'	2.99±0.07	-6.361	6-ring	CB	ALA328	pi-H	4.17
L40'	2.32±0.05	-7.166	/	/	/	/	/
Tacrine	0.025	-6.210	N15 27	O	HOH2093	H-donor	3.07
			6-ring	6-ring	TRP82	pi-pi	4.00
			6-ring	5-ring	TRP82	pi-pi	3.76

Les résultats obtenus montrent que les ligands **L28'**, **L16'**, **L12'**, **L9'** et **L7'** formant des complexes possèdent les plus petites énergies Score par rapport aux autres complexes, même au complexe de ligand co-cristalliser ceci montre que ces complexes sont plus stables.

On peut les classer selon l'ordre suivant :

$$4BDS-L_{28'} < 4BDS-L_{16'} < 4BDS-L_{12'} < 4BDS-L_{9'} < 4BDS-L_{7'}$$

D'autre part, si on parle des ligands : **L28'** ($IC_{50} = 8.76 \pm 0.12 \mu M$), **L16'** ($IC_{50} = 8.75 \pm 0.06 \mu M$), **L12'** ($IC_{50} = 9.78 \pm 0.02 \mu M$), **L9'** ($IC_{50} = 9.82 \pm 0.16 \mu M$) et **L7'** ($IC_{50} = 8.38 \pm 0.06 \mu M$) on peut voir qui ont des faibles valeurs de IC_{50} mais avec des valeurs légèrement faibles de l'énergie de Score par rapport au ligand Co-cristallisé dans BuChE (**L_{réf}**).



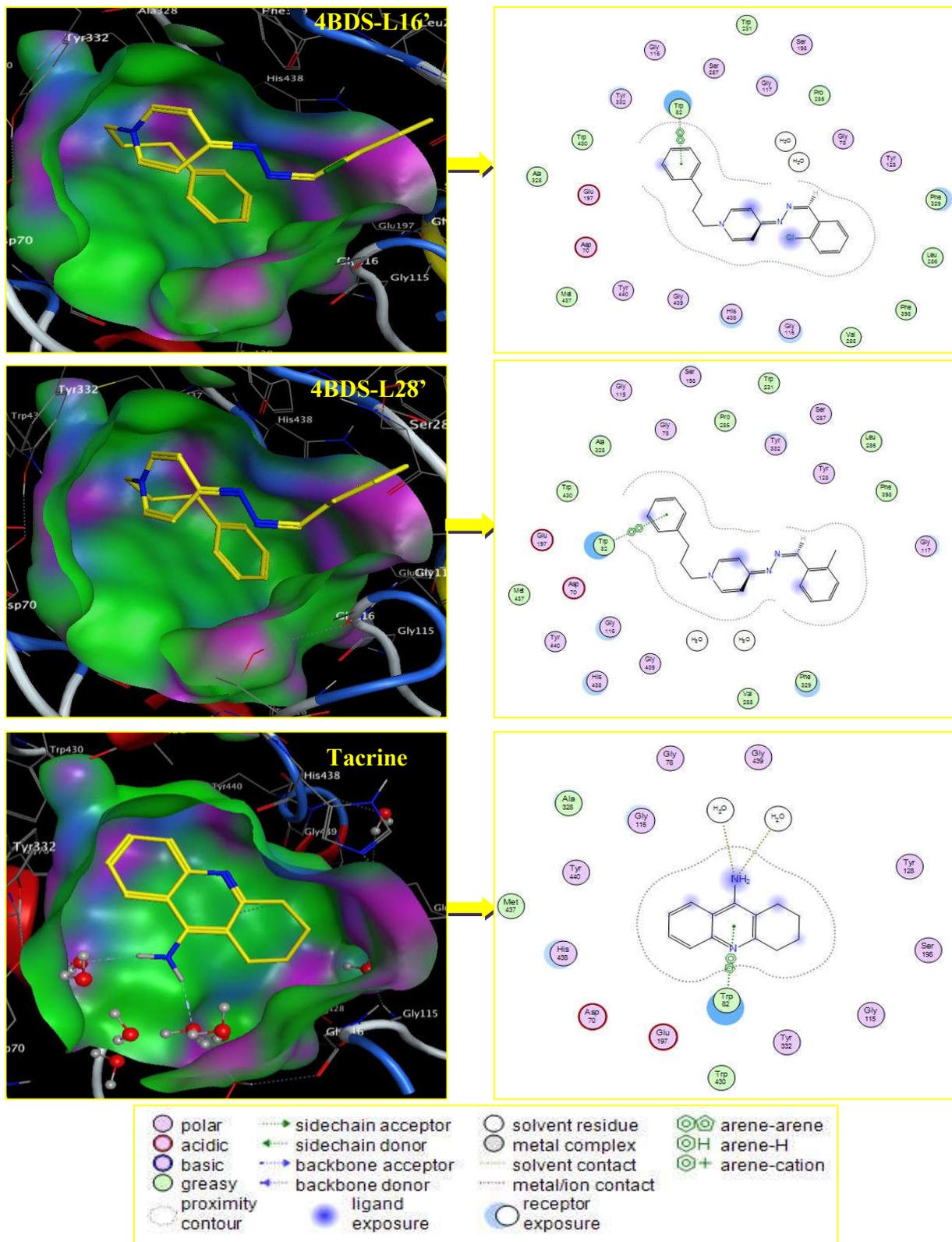


Figure III.9 : Interaction entre les ligands (L7, L9, L12, L16' et L28') et les résidus de site actif de BuChE

D'après A. Imberty et *al* [30]. Nous pouvons constater que le ligand L28' est maintenu par une seule interaction de type Pi-Pi (entre l'atome 6-ring et le résidu TRP82), avec une distance de 3,86 Å, (voir le tableau III.10 et la figure III.9).

En plus, le tableau III.10 montre que le complexe 4BDS-L28' a une faible énergie de Score (-8.144 Kcal/mol), ceci confirme que ce ligand forme un complexe stable avec le BuChE, et par la suite il peut inhiber ce dernier. D'autre part ce ligand possède une valeur moyenne de $IC_{50}=8.76\pm 0.12 \mu M$.

L'observation des résultats suggère que le complexe formé par le ligand L16' a une faible énergie de Score (-8.031 Kcal/mol). Le L16' forme une seule interaction de type Pi-Pi (entre l'atome 6-ring et le résidu TRP82), avec une distance de 3,82 Å

Concernant ce ligand (L16') possède une faible valeur de $IC_{50}=8.75\pm 0.06 \mu M$ ce qui est proposé peut-être comme un deuxième inhibiteur de l'enzyme 4BDS (Voir le tableau III-9 et Figure III-10).

Les inhibiteurs L12' (-7.938 Kcal/mol), L9' (-7.440 Kcal/mol), L7' (-7.430 Kcal/mol) ont des valeurs légèrement faibles d'énergie score, ceci confirme que ces ligands forment des complexes moins stables que les complexes des ligands précédents.

Enfin et d'après Seifert [32] Le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique (docking moléculaire). 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 autant que la fonction de scoring est mauvaise.

III.2 Dynamique moléculaire

Les interactions entre chaque composé et les deux cibles mentionnées ci-dessous peuvent ne pas être stables dans des conditions de la dynamique moléculaire. Pour cela les résultats obtenus de docking moléculaire ont été confirmés par un calcul de dynamique moléculaire et le processus de simulation a été exécuté pendant 1000 ps (100 ps d'équilibre et 900 ps de production) afin de vérifier la stabilité des complexes Enzyme-ligand.

III.2.1 Interaction : AChE–Ligands

La figure III.10 montre la variation de l'énergie potentielle des complexes 1EVE-L7, 1EVE-L13, 1EVE-L15, 1EVE-L69 et 1EVE-L75 respectivement en fonction du temps lors de la simulation de la dynamique moléculaire.

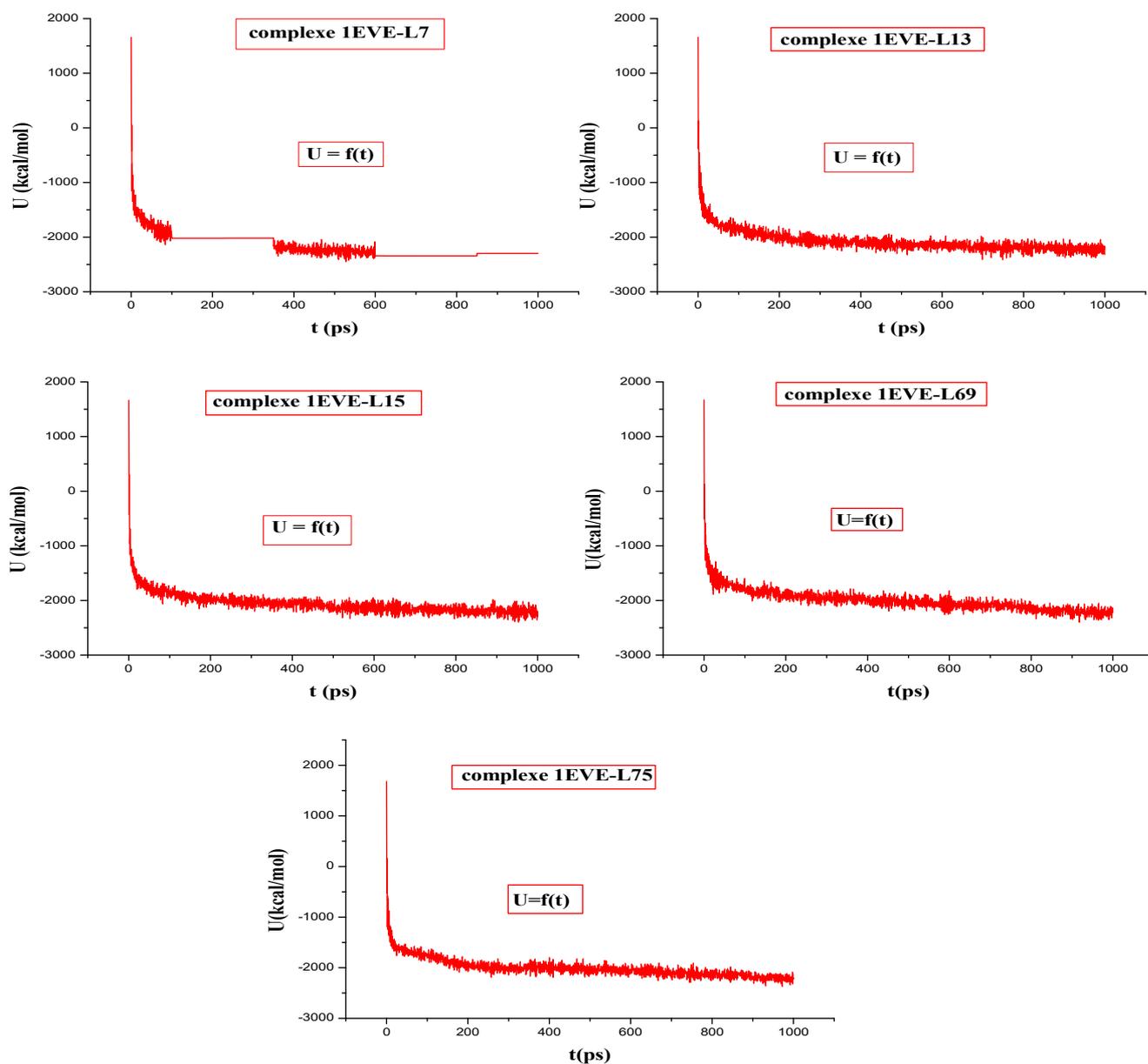


Figure III.10: Evaluation de l'énergie potentielle des 5 complexes choisis de l'AChE en fonction du temps

Les courbes des différents complexes montrent que la majorité des complexes ayant une énergie potentielle variant de 1700 à -2000 kcal / mol au cours des premières 200 Pico secondes, nous notons également une variation de l'énergie potentielle: -2000 à -2200 kcal / mol dans la deuxième partie de l'intervalle entre 200 et 600 Pico secondes, et finalement, dans le dernier intervalle entre 600 et 1000 Pico seconde, nous avons une variation d'énergie potentielle: -2200 à -2350 kcal / mol.

Ces courbes montrent que la stabilité de ces complexes commence après 600 ps.

Tableau III.11 regroupe les résultats de dynamique moléculaire pour les 5 meilleur pose obtenus par le docking moléculaire.

Tableau III.11 : S-score, IC₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le AChE après un calcul de Dynamique moléculaire.

Ligands	IC ₅₀ value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liaison entre atomes de ligands et résidus de site actif				
			Atome de ligand	Atome impliqué dans l'AA	Résidus	Type de liaison	Distance (Å)
L7	0.82±0.03	-8.268	/	/	/	/	/
L13	12.40±0.20	-8.226	6-ring	O	HOH1159	pi-H	3.83
			6-ring	5-ring	TRP84	pi-pi	3.67
L15	7.84±0.19	-8.222	C26	6-ring	PHE330	H-pi	4.17
L69	0.89±0.02	-8.328	/	/	/	/	/
L75	1.65±0.08	-8.545	O44	N	ARG289	H-acceptor	2.88
			O45	O	HOH1251	H-acceptor	3.21

D'après le tableau ci-dessus, nous avons remarqué facilement que selon la dynamique moléculaire, les cinq composés conservent presque les mêmes types d'interactions avec les résidus de sites actifs de la cible (AChE) comparant avec les résultats de docking moléculaire. (Voir l'Annexe).

III.2.2 Interaction : BuChE –Ligands

La figure III.11 montre la variation de l'énergie potentielle des complexes 4BDS-L7, 4BDS-L9, 4BDS-L12, 4BDS-L16 et 4BDS-L28 respectivement en fonction du temps lors de la simulation de la dynamique moléculaire.

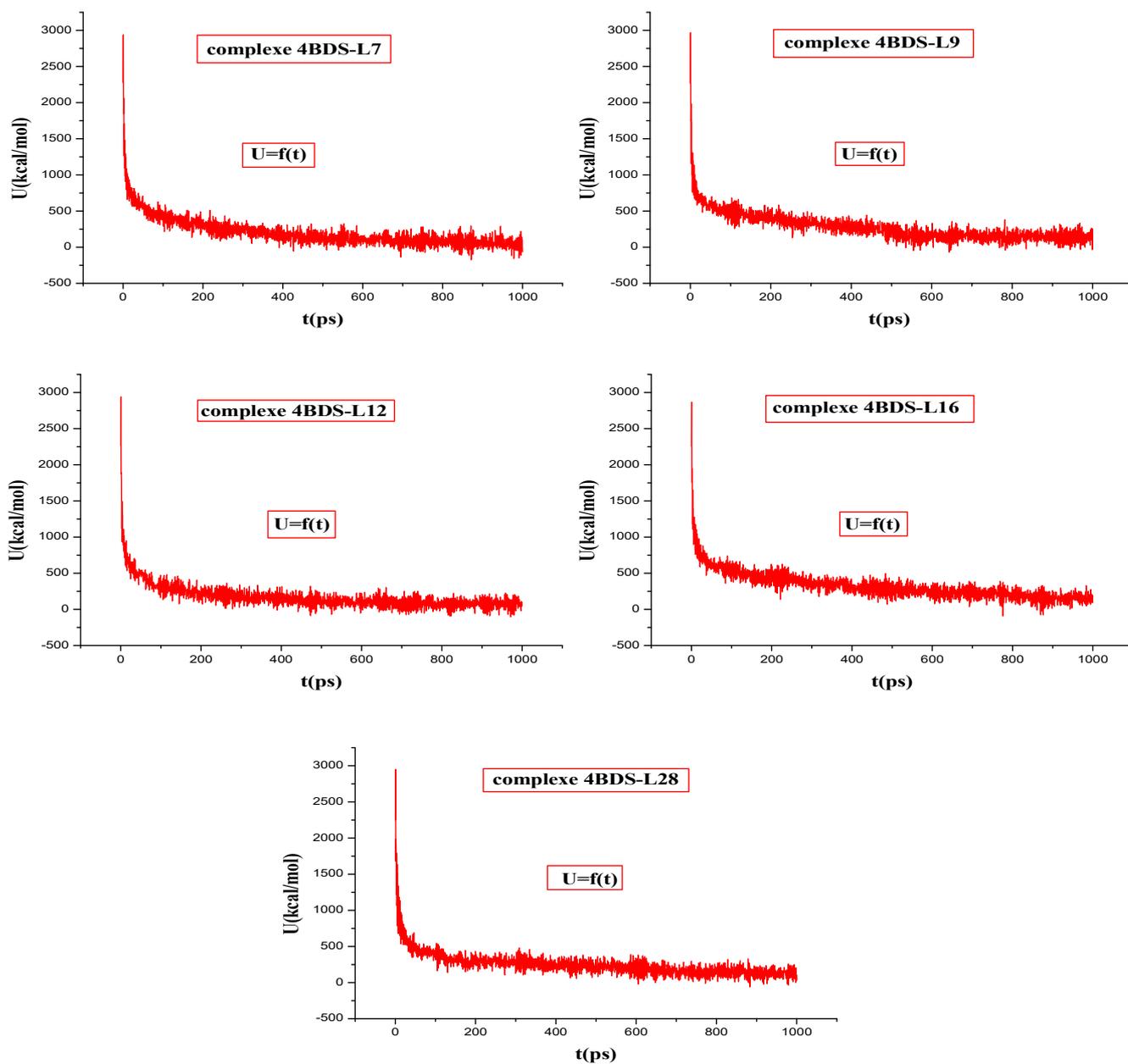


Figure III.11: Evaluation de l'énergie potentielle des 5 complexes choisis de BuChE en fonction du temps

Les courbes des différents complexes montrent que la majorité des complexes ayant une énergie potentielle variant de 2900 à 450 kcal / mol au cours des premières 200 Pico secondes, nous notons également une variation de l'énergie potentielle: 450 à 200 kcal / mol dans la deuxième partie de l'intervalle entre 200 et 600 Pico secondes, et finalement, dans le dernier intervalle entre 600 et 1000 Pico seconde, nous avons une variation d'énergie potentielle: 200 à 100 kcal / mol.

Ces courbes montrent que la stabilité de ces complexes commence après 600 ps.

Tableau III.11 regroupe les résultats de dynamique moléculaire pour les 5 meilleur pose de obtenus par le docking moléculaire.

Tableau III.12 : S-score, IC₅₀ et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE après un calcul de Dynamique moléculaire.

Ligands	IC ₅₀ value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liaison entre atomes de ligands et résidues de site actif				
			Atome de ligand	Atome amplifiée dans l'AA	résidus	Type de liaison	Distance (Å)
L7	8.38±0.06	-7.430	N7	O	HOH2153	H-acceptor	3.17
L9	9.82±0.16	-7.441	/	/	/	/	/
L12	9.78±0.02	-7.938	O54	O	HOH2089	H-acceptor	2.61
			O57	O	HOH2055	H-acceptor	3.10
L16	8.75±0.06	-8.031	N7	O	HOH2153	H-acceptor	2.58
			C27	5-ring	TRP82	H-pi	4.11
L28	8.76±0.12	-8.144	/	/	/	/	/

D'après le tableau ci-dessus, nous avons remarqué facilement que selon la dynamique moléculaire, les cinq composés conservent presque les mêmes types d'interactions avec les résidus de sites actifs de la cible (BuChE) comparant avec les résultats de docking moléculaire. (Voir l'Annexe).

III.3 Évaluation des propriétés ADME

ADME est une dernière méthode a été proposé pour sélectionner les ligands respectant les différentes règles à savoir : Règle de Lipinski [33], Règle de Veber[34] Règle de Egan [35]. Ces calculs ont été effectués en utilisant le lien suivant : <http://www.swissadme.ch/index.php> [36-38].

Une étude de calcul de dix composés sélectionnées qui ont une affinité la plus élevée avec les deux cibles a été réalisée pour évaluer les propriétés de l'ADME et les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau III.13.

Tableau III.13 Propriétés ADME pour les cinq meilleurs ligands de l'AChE et BuChE.

Entry	ABS	TPSA (Å ²)	n-ROTB	MW	MLog P	n-ON acceptors	n-OHND donors	Lipinski's violations	Veber violations	Egan violations
AChE										
Rule	-	-	-	<500	≤5	<10	<5	≤1	≤1	≤1
L7	High	29.65	5	313.40	3.17	2	0	0	0	0
L13	High	38.88	5	317.38	2.44	3	0	0	0	0
L15	High	38.88	7	345.44	2.88	3	0	0	0	0
L69	High	75.47	5	332.36	1.71	4	0	0	0	0
L75	High	75.47	6	358.39	2.09	4	0	0	0	0
BuChE										
Rule	-	-	-	<500	≤5	<10	<5	≤1	≤1	≤1
L7'	High	38.88	7	345.44	2.88	3	0	0	0	0
L9'	High	38.88	6	343.42	2.81	3	0	0	0	0
L12'	High	76.26	9	442.51	2.48	5	0	0	0	0
L16'	High	29.65	6	349.86	3.73	2	0	0	0	0
L28'	High	29.65	6	329.44	3.46	2	0	0	0	0

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

Les résultats présentés dans le tableau III.13 ont révélé que tous les composés (AChE et BuChE) présentaient une absorption élevée.

En outre, on peut observer que tous les composés respectent la règle de Lipinski (où tous les valeurs de logP <5, poids moléculaire <500, HBA ≤ 10 et le HBD < 5), ainsi que la règle de Veber et enfin la règle de Egan.

Selon ces résultats, nous pouvons confirmer que ces composés ne causent aucuns problèmes de biodisponibilité orale et ayant de bonnes propriétés analogues à celles des médicaments pour les deux cibles.

III. Références

- [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] [www.rcsb.org/pdb /](http://www.rcsb.org/pdb/)
- [7] G. Kryge, I. Silman, JL. Sussman. *Structure. Fold. Des.*, 7, 297-307. **1999**.
- [8] M. Bryson, P. Benfield.; « Donepezil: New Drug Profile ». *Drugs and Aging*; 10(3): 234–9, **1997**.
- [9] Nachon, F., Carletti, E., Ronco, C., Trovaslet, M., Nicolet, Y., Jean, L., Renard, P.-Y. » Crystal Structures of Human Cholinesterases in Complex with Huprine W and Tacrine: Elements of Specificity for Anti-Alzheimer'S Drugs Targeting Acetyl- and Butyrylcholinesterase” *Biochem.J.* 453, 393-399, **2013**.
- [10]_Patrick Hof Charles Mobbs. “Functional Neurobiology of Aging” *Edition 1, Academic Press*, 960. **2001**.
- [11] Michaela Prinz, Sülünay Parlar, Güls_ah Bayraktar, Vildan Alptüzün, Ercin Erciyas, Adyary Fallarero, Daniela Karlsson, Pia Vuorela, Malgorzata Burek, Carola Förster, Ezgi Turunc ,Guliz Armagan, Ayfer Yalcin, Carola Schiller, Kristina Leuner, Manuel Krug, Christoph A. Sottriffer ,Ulrike Holzgrave. “ 1,4-Substituted 4-(1H)-pyridylene-hydrazone-type inhibitors

of AChE, BuChE, and amyloid- β aggregation crossing the blood–brain barrier”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 49 603–613. **2013**.

[12] R.E Buntrock . ChemOffice Ultra 7.0. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 42(6) , 1505-6. **2002**.

[13] Hyperchem 7.0, Hypercube Inc

[14] 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**.

[15] G. Jones, P. Willett, R.C. Glen,: « Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation », *J Mol Biol.*, , 245, 43–53. **1995**.

[16] chikhi abdelouahab calculs et modelisations des interactions peptide deformylase substances antibacteriennes a l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moleculaire, these de doctorat d'etat en microbiologie, universite mentouri constantine, **2007**.

[17] Eman K.A. Abdelall, Phoebe F. Lamie, Waleed A.M. Ali Cyclooxygenase-2 and 15-lipoxygenase inhibition, synthesis, anti-inflammatory activity and ulcer liability of new celecoxib analogues: Determination of region-specific pyrazole ring formation by NOESY *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2016**.

[18] Matteo Aldeghi, Alexander Heifetz, Michael J. Bodkin, Stefan Knapp, and Philip C. Biggin *J. Am. Chem. Soc* Predictions of ligand selectivity from Absolute binding free energy calculations, Publication Date (Web): 23 Dec 2016 Downloaded from <http://pubs.acs.org> on December 25, **2016**.

[19] Sarah T. A. Al-Rashood a, Ghada S. Hassan b, Shahenda M. El-Messery c, Kamal E. H. El-Taher d, Mohamed M. Hefnawy a, Mahmmmed A. Al-Omar a, Hussein I. El-Subbagh b,e, Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of some new

thiazolodiazepine analogs as CNS active agents , *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2015**.

[20] Khac-Minh Thai n, Duy-PhongLe,Nguyen-Viet-KhoaTran,Thi-Thu-HaNguyen, Thanh-Dao Tran,Minh-TriLe Computational assayofZanamivirbindingaffinity withoriginal and mutantinfluenza neuraminidase9usingmoleculardocking *Journal of Theoretical Biology* 385, 31–39 , **2015**.

[21] Somaia S. Abd El-Karim a, Manal M. Anwar a, ↑, Neama A. Mohamed a, Tamer Nasr b, Samia A. Elseginy c,d Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of novel benzofuran–pyrazole derivatives as anticancer agents *Bioorganic Chemistry* 63, 1–12 **2015**.

[22] Sheng Liu a, Wanxing Wei a, *, Yubin Li b, Xu Liu a, Xiaoji Cao c, Kechan Lei a, Min Zhou a Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of phenylpropanoid derivatives as potent anti-hepatitis B virus agents *European Journal of Medicinal Chemistry* 95 ,473e482 , **2015**.

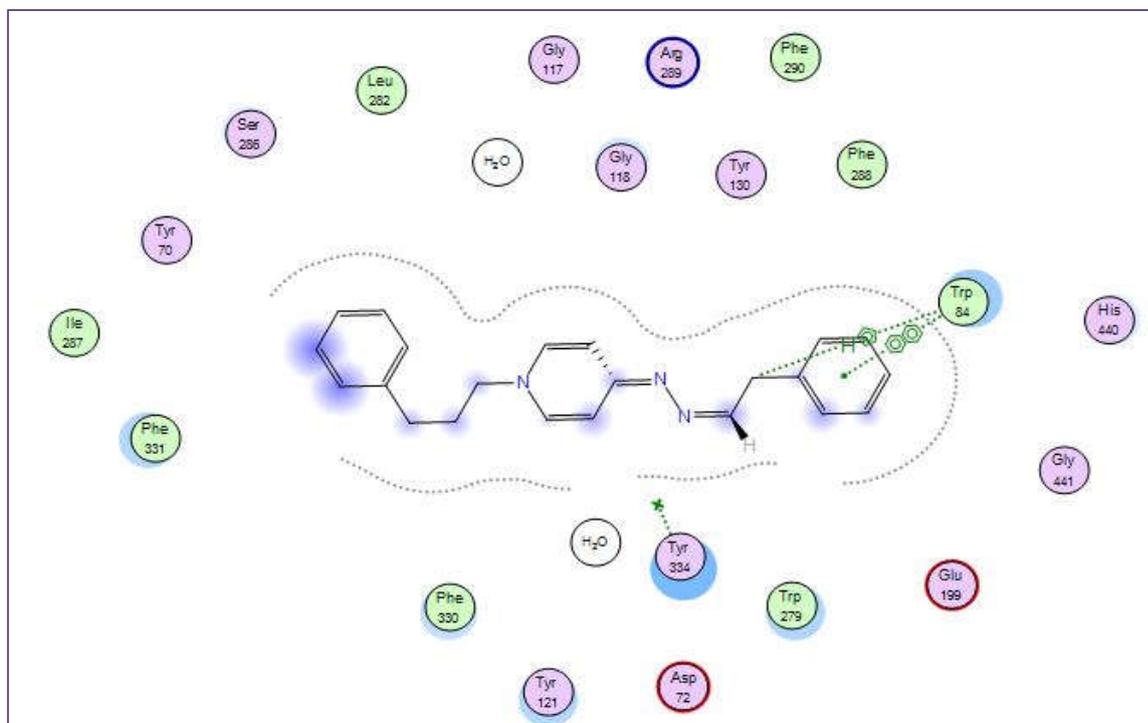
[23] Tamer Nasr a, *, Samir Bondock b, c, Sameh Eid d Design, synthesis, antimicrobial evaluation and molecular docking studies of some new thiophene, pyrazole and pyridone derivatives bearing sulfisoxazole moiety *European Journal of Medicinal Chemistry* 84 ,491e504 **2014**.

[24] Jiansong Fanga, Ping Wua, Ranyao Yanga, Li Gaoa, Chao Lia, Dongmei Wanga, Song Wua,c, Ai-Lin Liua,b,c,n, Guan-Hua Dua,b,c,n Inhibition of acetylcholinesterase by two genistein derivatives: kinetic analysis, molecular docking and molecular dynamics simulation *Acta Pharmaceutica Sinica B*;4(6):430–437 **2014**.

- [25] Sally S. El-Nakkady a, Mona M. Hanna b,* , Hanaa M. Roaiah a, Iman A.Y. Ghannam a
Synthesis, molecular docking study and antitumor activity of novel 2-phenylindole
derivatives *European Journal of Medicinal Chemistry* 47 387e398 ,**2012** .
- [26] Ismail Daoud , Nadjib Melkemi, Toufik Salah, Said Ghalem, “Combined QSAR, molecular
docking and molecular dynamics study on new Acetylcholinesterase and
Butyrylcholinesterase inhibitors” *Computational Biology and Chemistry* 74 304–326. **2018**.
- [27] B. Florent, Cours on line: le docking moléculaire, Université de Paris7, ITODYS (CNRS
UMR 7086). **2014**.
- [28] M.A. Ajay, J. Murcko. Computational methods to predict binding free energy in ligand
receptor complexes. *J.Med.Chem* 38,P4953-4967.**1995**.
- [29] Soga, S., Shirai, H., Kobori, M., Hirayama, N.; Use of Amino Acid Composition to Predict
Ligand-Binding Sites; *J. Chem. Inf. Model.* 47 400-406. **2007**.
- [30] A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Perez:” Molecular of protein-carbohydrate
interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A”, *G L Y C
O B I O L O G Y* , 1, 631–642. **1991**.
- [31] Marek Bajda, Anna Więckowska, Michalina Hebda, Natalia Guzior, Christoph A. Sotriffer
and Barbara Malawska,” Structure-Based Search for New Inhibitors of Cholinesterases” *Int.
J. Mol. Sci.*, 14, 5608-5632. **2013**.
- [32] Seifert M.H. JAssessing the Discriminatory Power of Scoring Functions for Virtual
Screening. *J. Chem. Inf. Model* 46:1456-1465. DOI:10.1021/ci060027n. **2006**.
- [33] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J., Experimental and
computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and
development settings, *Adv. Drug Delivery Rev.* 46, 3-26. **2001**.

- [34] Veber DF¹, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.* Jun 6;45(12):2615-23. **2002.**
- [35] Egan WJ¹, Merz KM Jr, Baldwin JJ. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *J Med Chem.* Oct 19;43(21):3867-77. **2000.**
- [36] SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 7:42717. **2017.**
- [37] iLOGP: a simple, robust, and efficient description of *n*-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *J. Chem. Inf. Model.* 54(12):3284-3301. **2014.**
- [38] A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem* 11(11):1117-1121. **2016.**

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).

L'objectif principal est d'élucider les interactions existantes entre une nouvelle classe des molécules (dérivés de 1,4-substituées 4- (1H) -pyridylène-hydrazone) et deux enzymes (Acétylcholinestérase et la Butyrylcholinestérase) qui sont impliquées dans la maladie d'Alzheimer afin d'étudier les mécanismes régissant l'évolution de cette dernière.

Pour mieux comprendre ce phénomène, nous avons focalisé notre discussion sur deux paramètres :

- L'énergie score formée par le complexe E-S.
- Les interactions moléculaires (non-covalentes) existantes entre ces deux enzymes étudiées et 91 composés pour l'AChE et 40 composés pour le BuChE.

Ces deux paramètres sont utilisés pour expliquer la formation des complexes (Enzyme-Substrat).

Pour mener à bien cette étude, nous avons combiné entre deux méthodes de la modélisation moléculaire (docking moléculaire et dynamique moléculaire) et une troisième méthode qu'il s'agit de calcul des propriétés ADME pour la validation de ces derniers et mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de cette maladie.

L'étude de docking moléculaire a révélé que les cinq ligands **L7**, **L13**, **L15**, **L69** et **L75** sont les meilleurs inhibiteurs dans le cas de **AChE** et que les ligands **L28'**, **L16'**, **L12'**, **L9'** et **L7'** dans le cas de **BuChE**, ceci justifier par la présence des différentes types d'interactions et en plus ces ligands possèdent les plus basses énergies de score par rapport aux autres.

Les résultats de dynamique moléculaire obtenus confirment que majorité des complexes formés dans les deux cas AChE et BuChE possèdent presque le même type d'interactions.

Sachant que le complexe **1EVE-L75** a une énergie de Score la plus basse (-8.545 Kcal/mol) par rapport ou autre complexes et que ce ligand forme deux interactions avec les résidus de site actif d'AChE cité ici : la première de type H-accepteur forte (entre l'atome O44 et le résidu ARG289) avec une distance 3.07 Å et la deuxième de type Pi-Pi (entre l'atome 6-ring et le résidu TRP84) avec une distance 3.90 Å.

En plus dans le cas de BuChE, nous avons remarqué que le complexe **4BDS-L28'** a une faible énergie de Score (-8.144 Kcal/mol) par rapport ou autre complexe, et que ce ligand est maintenu par une seule interaction de type Pi-Pi (entre l'atome 6-ring et le résidu TRP82), avec une distance de 3,86.

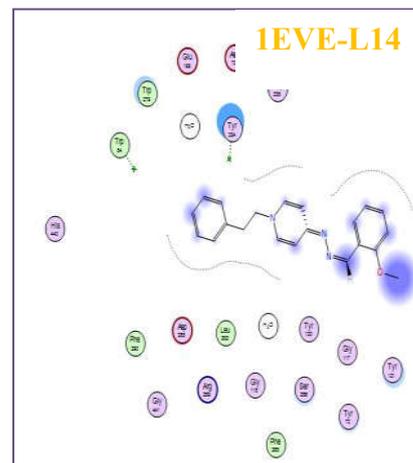
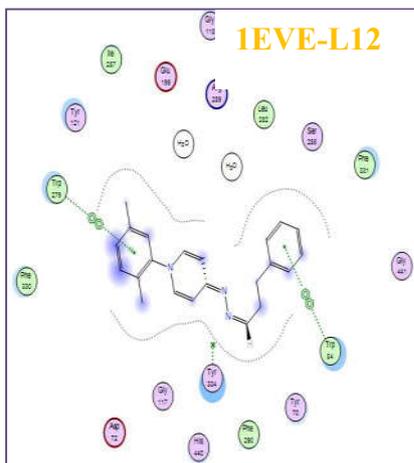
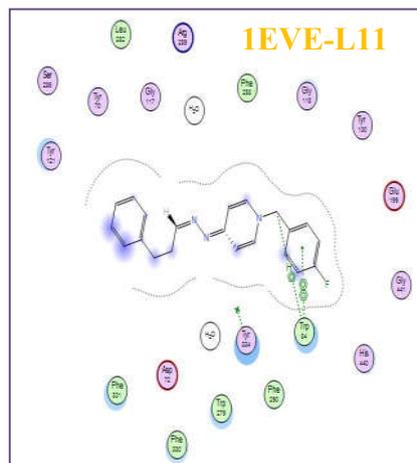
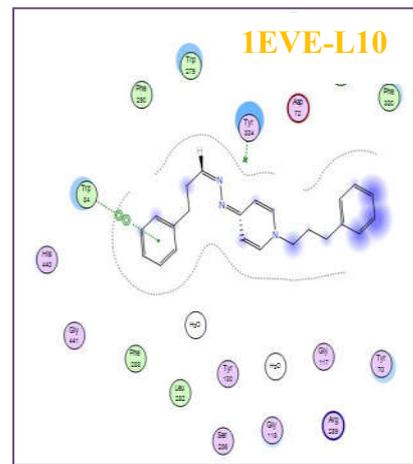
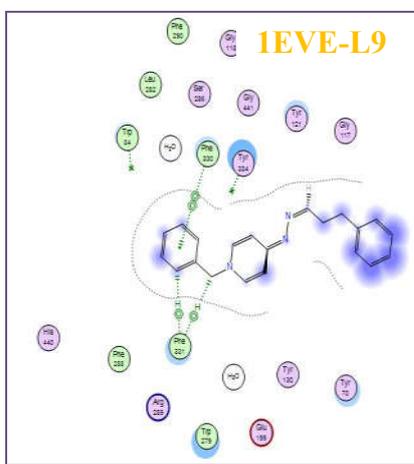
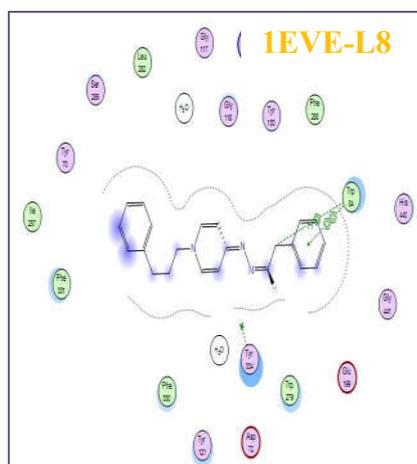
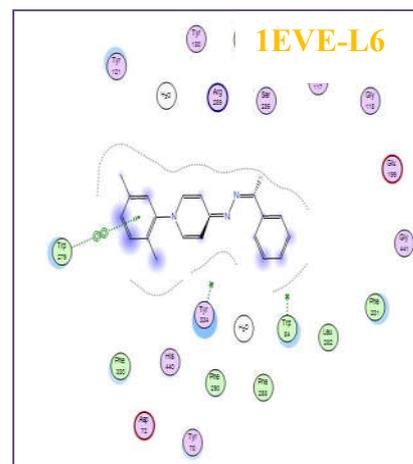
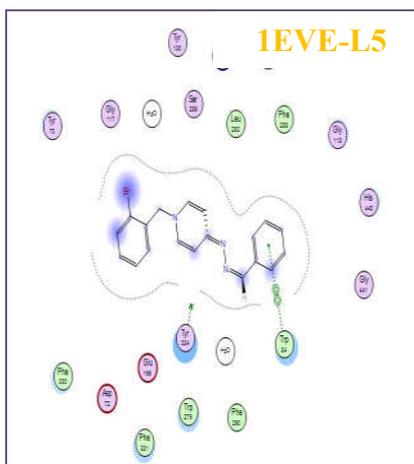
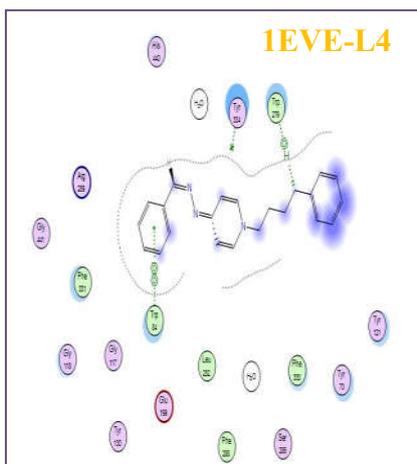
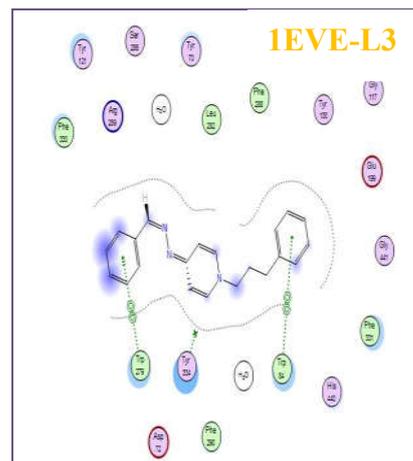
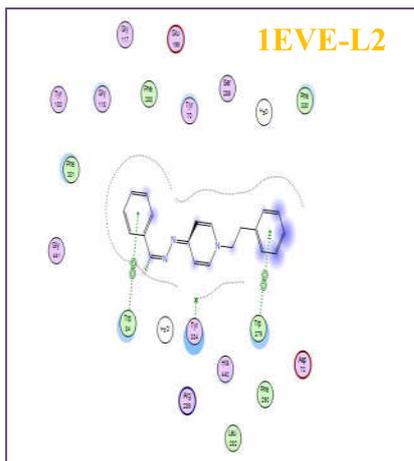
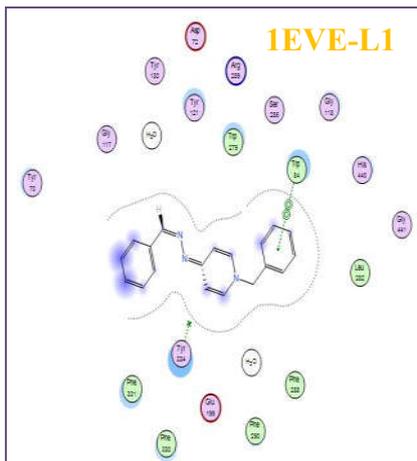
Le calcul des propriétés ADME nous a permis de valider les deux méthodes précédentes et confirmé que ces meilleurs ligands obtenus au cours des calculs de la modélisation moléculaire respectant les trois règles à savoir : Lipinski, Veber and Egan.

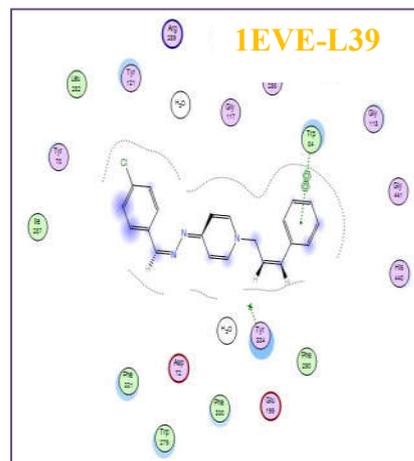
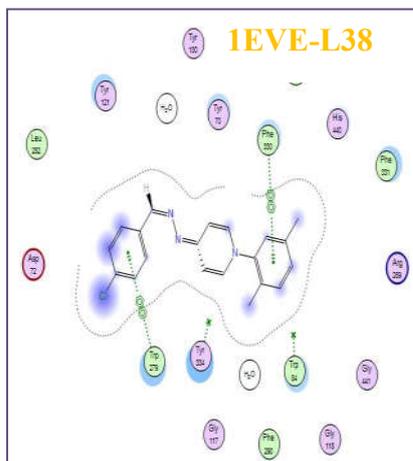
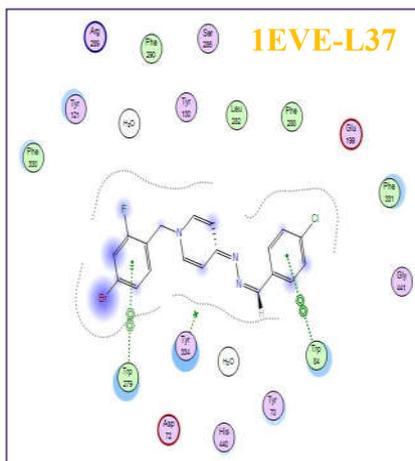
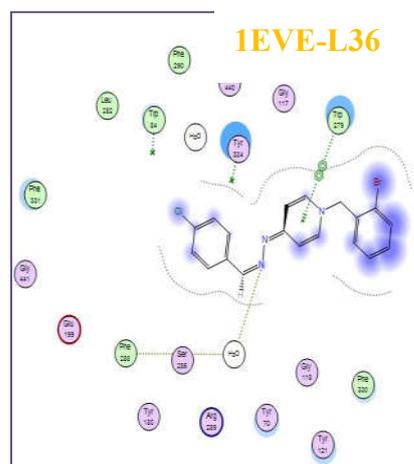
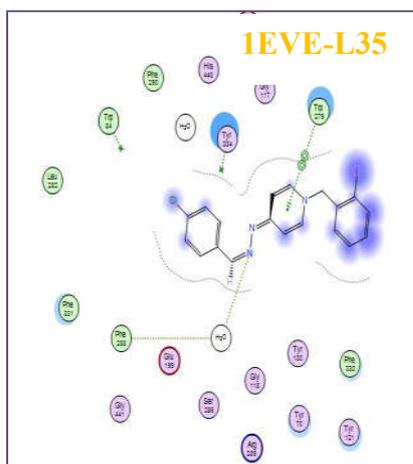
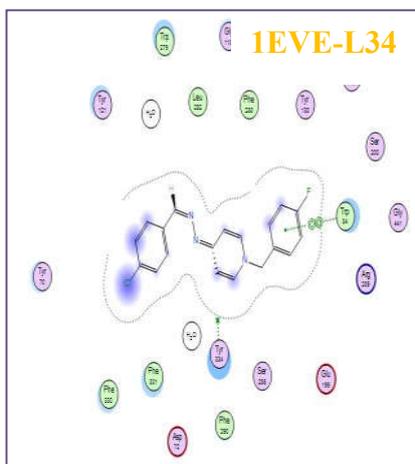
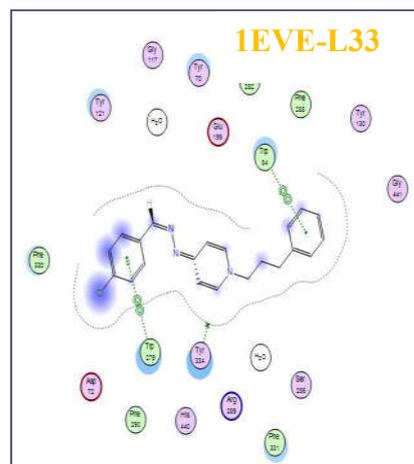
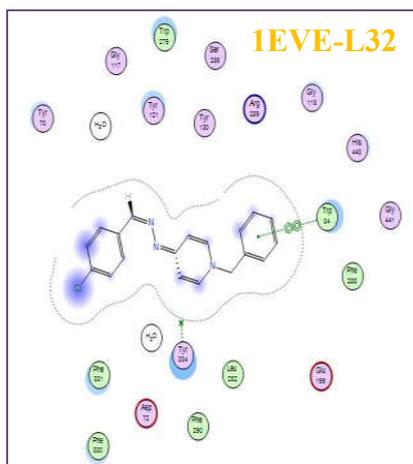
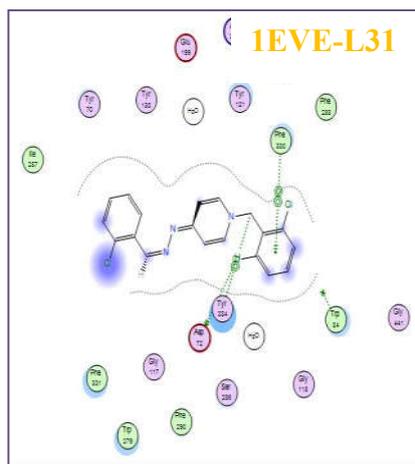
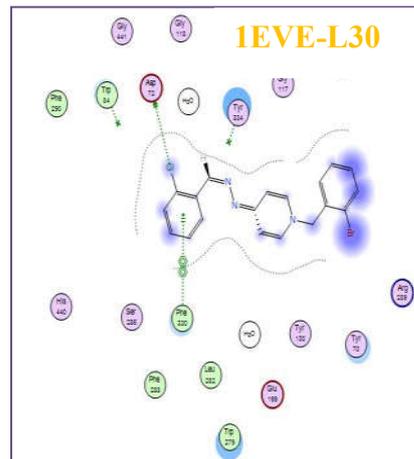
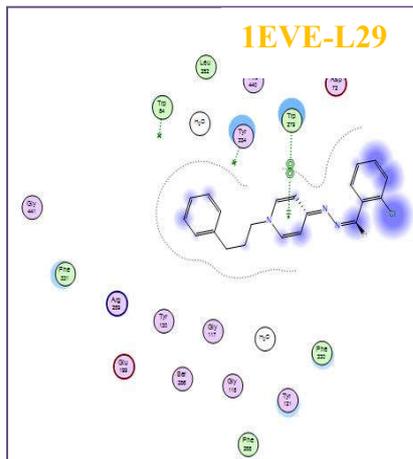
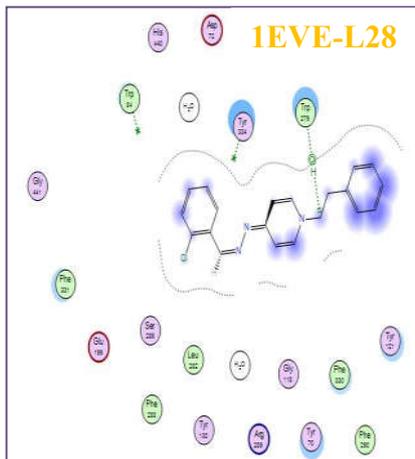
Notre étude montre que la combinaison entre plusieurs méthodes de modélisation moléculaire peuvent être utile dans l'intérêt de découvrir de nouveaux médicaments anti-Alzheimer, et ces méthodes nous ont permis de identifier des nouveaux inhibiteurs ont potentiels élevés contre cette maladie.

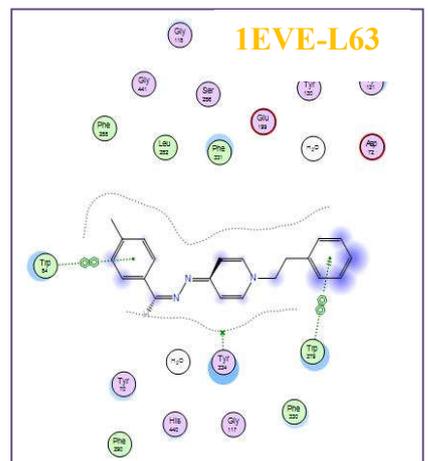
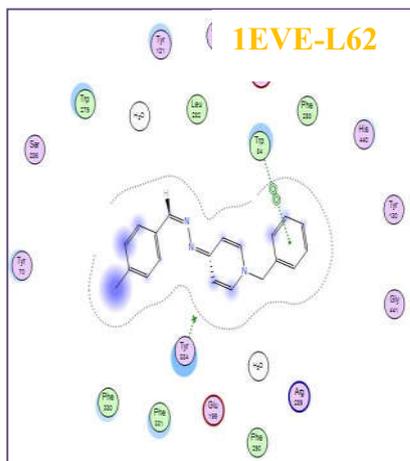
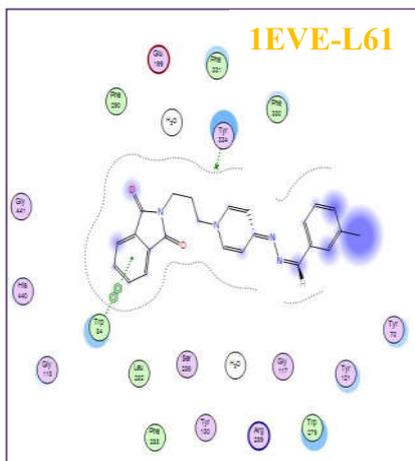
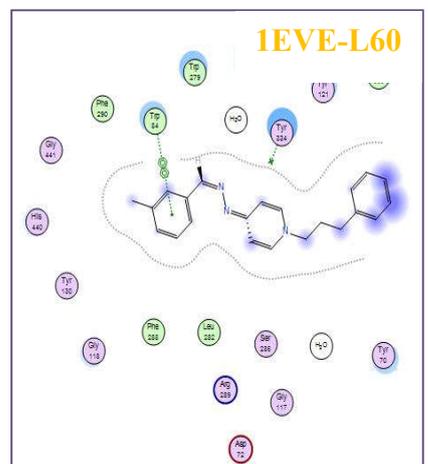
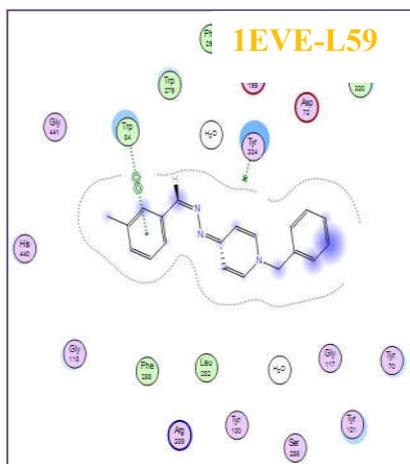
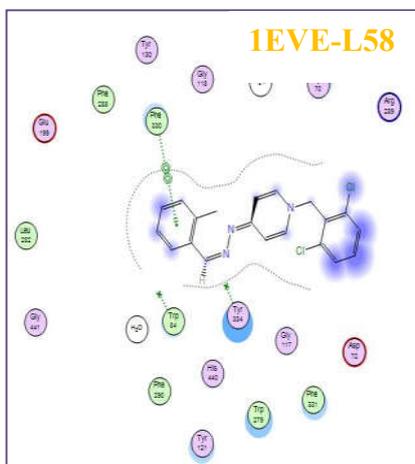
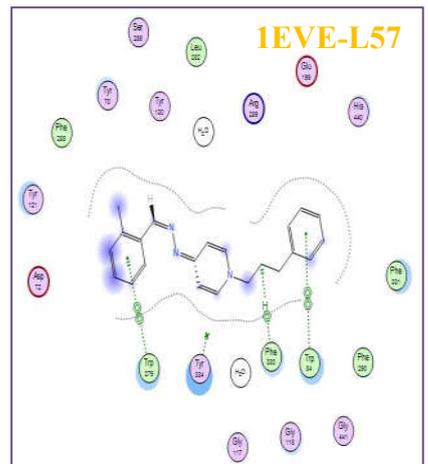
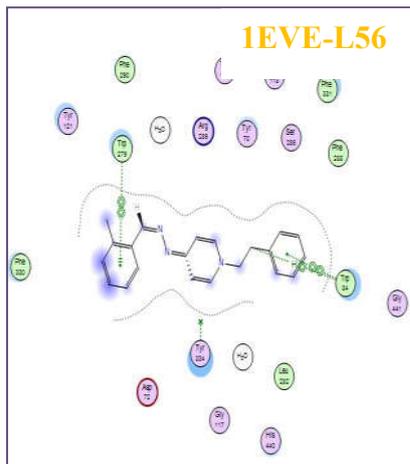
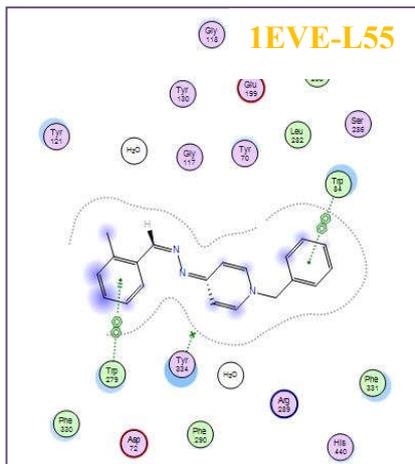
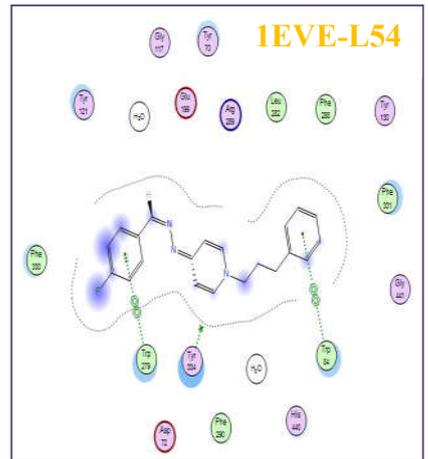
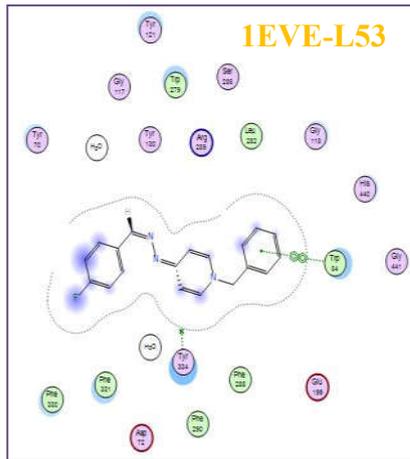
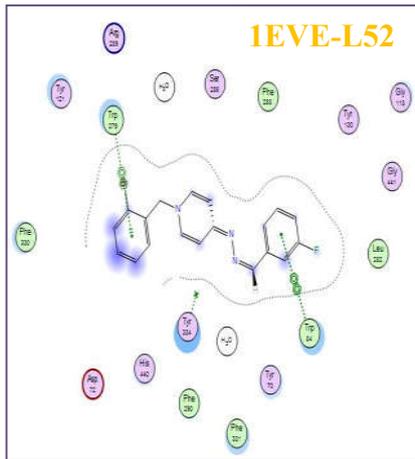
Finalement, d'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que les cinq composés **L7, L13, L15, L69 et L75** dans le cas de l'**AChE** et les cinq composés **L28', L16', L12', L9' et L7'** dans le cas de **BuChE** seraient probablement les meilleurs inhibiteurs pour ralentir l'évolution de la MA, et il peut être suggéré comme des nouveaux médicaments.

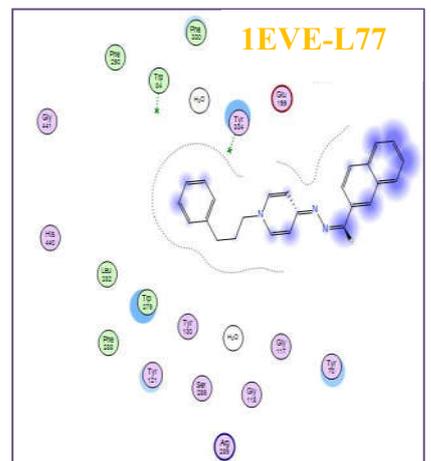
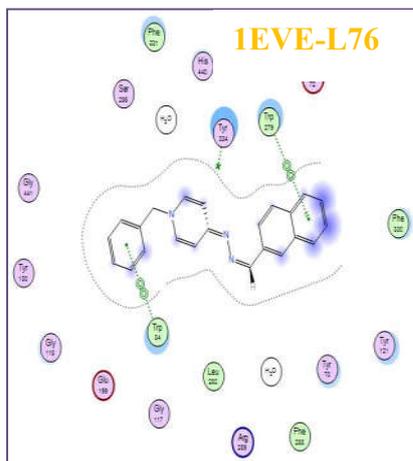
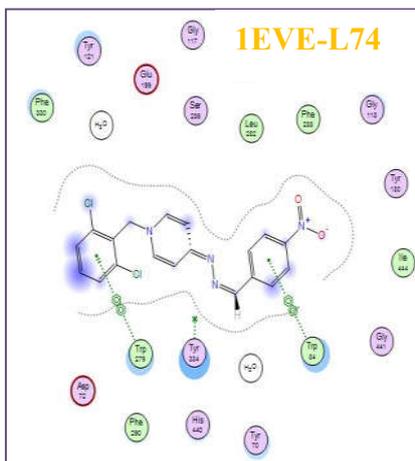
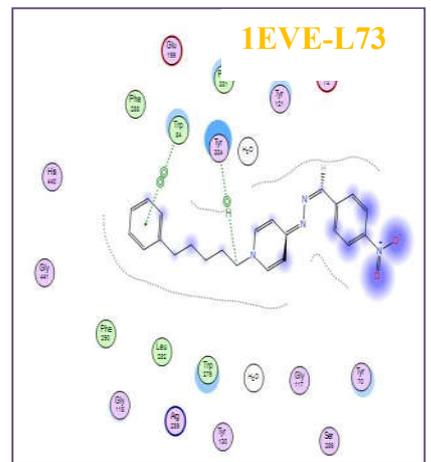
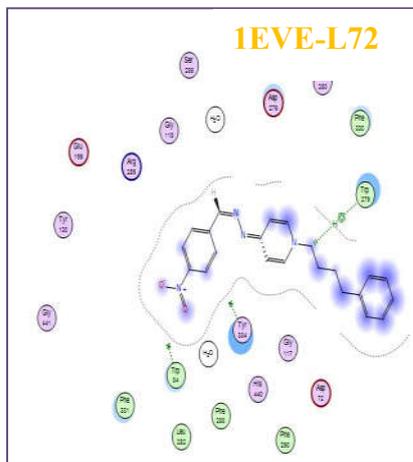
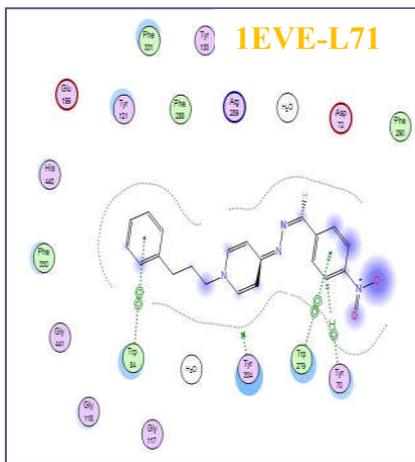
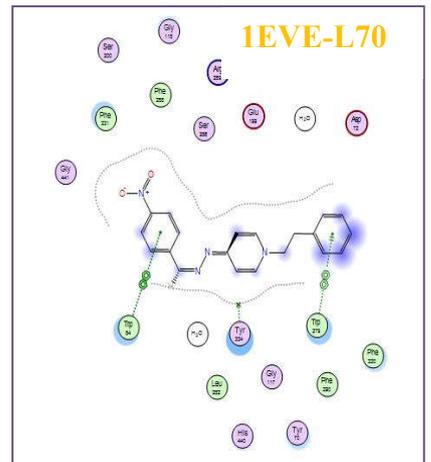
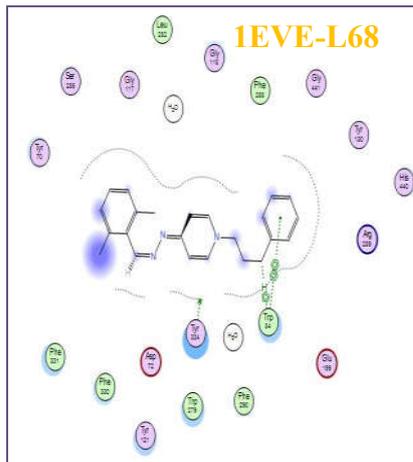
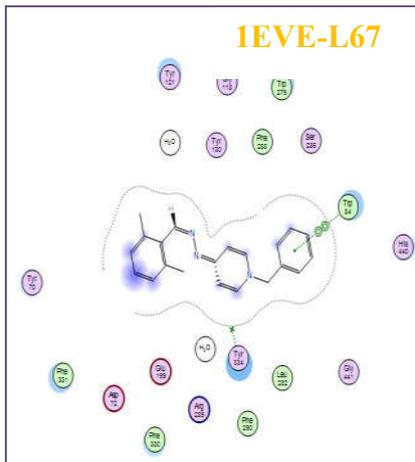
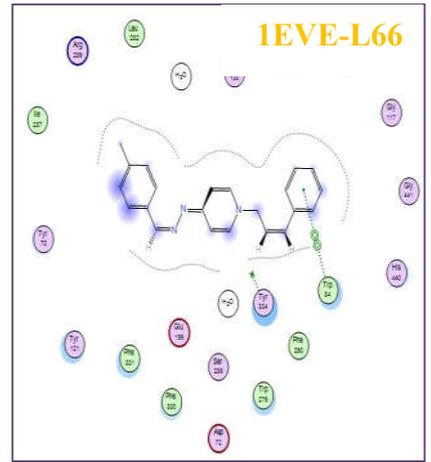
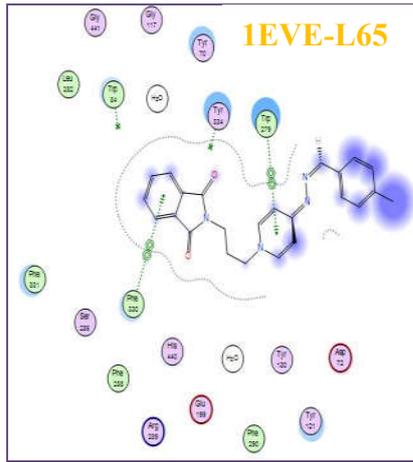
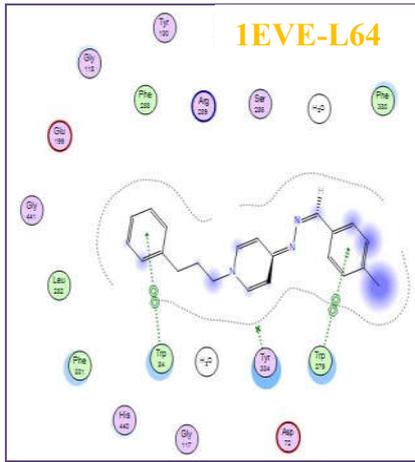
Annexe

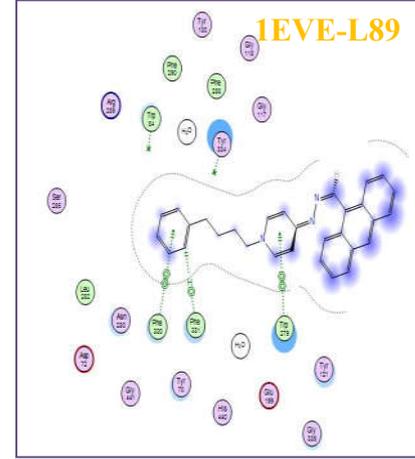
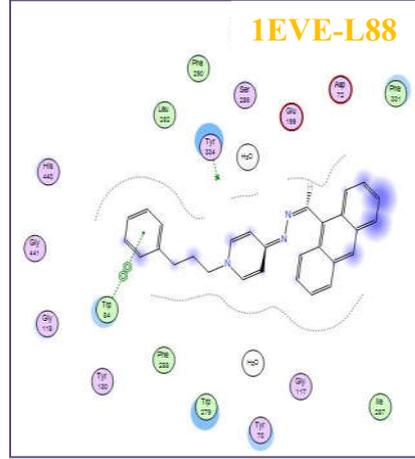
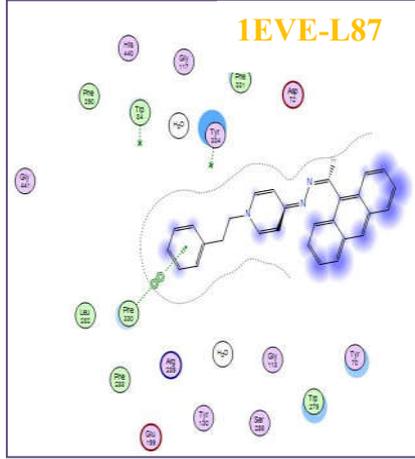
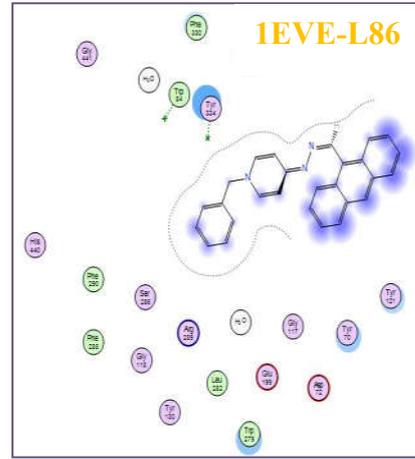
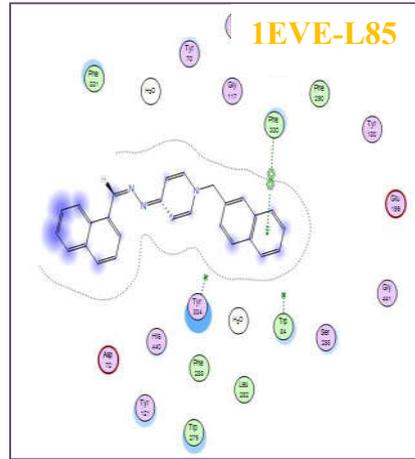
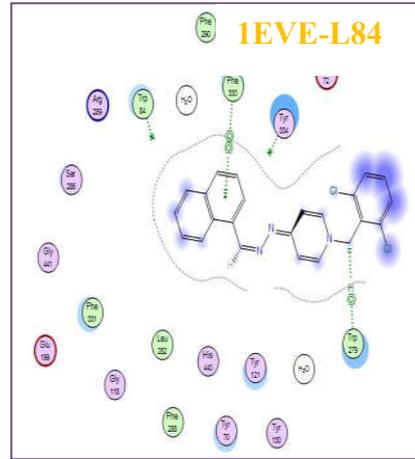
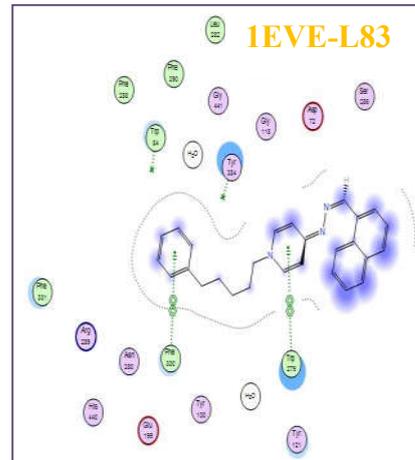
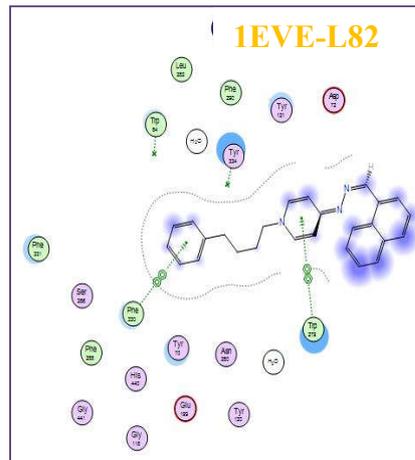
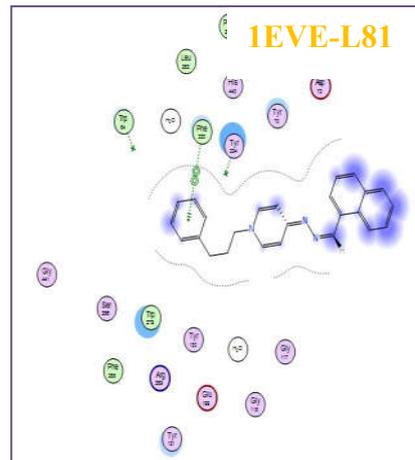
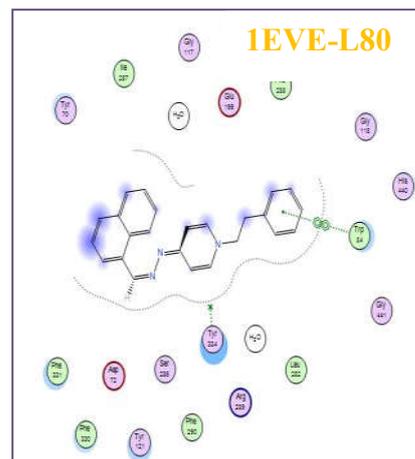
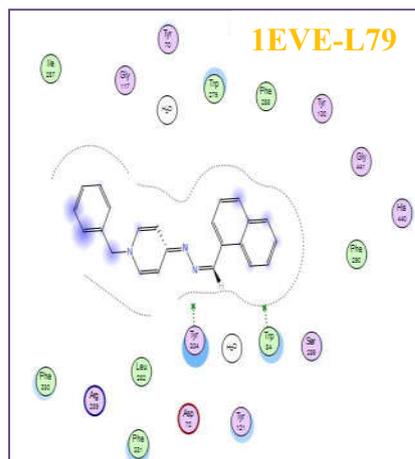
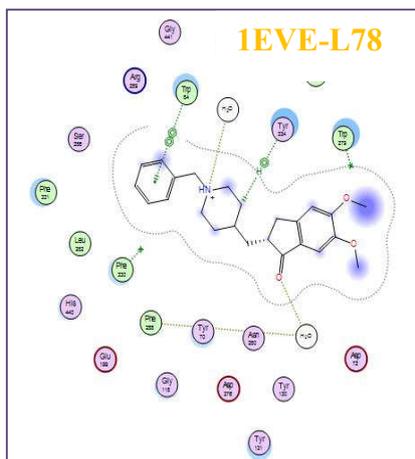
Les interactions entre les ligands
et les résidus de site actif pour les deux enzymes
AChE et BuChE.

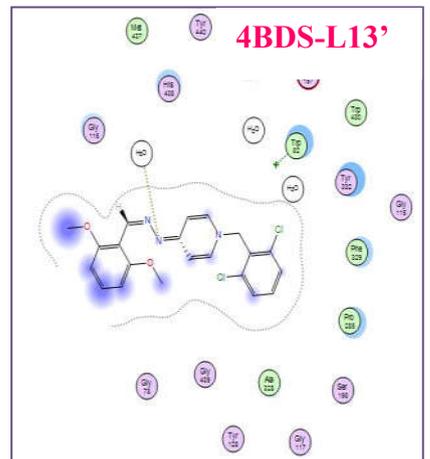
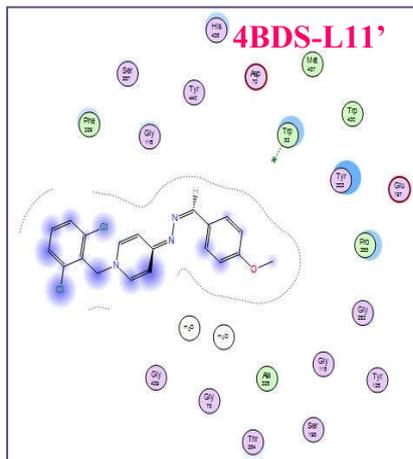
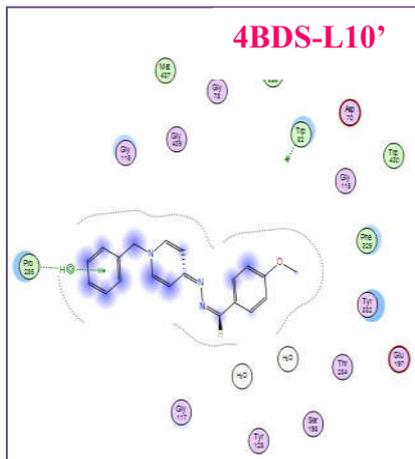
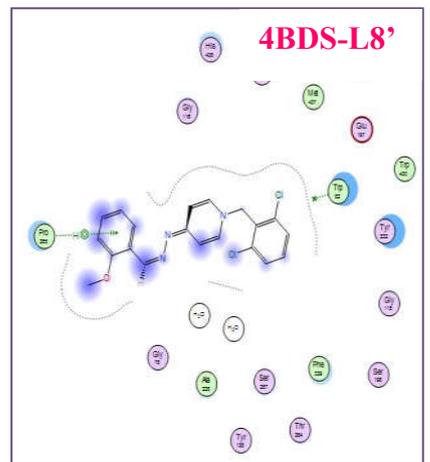
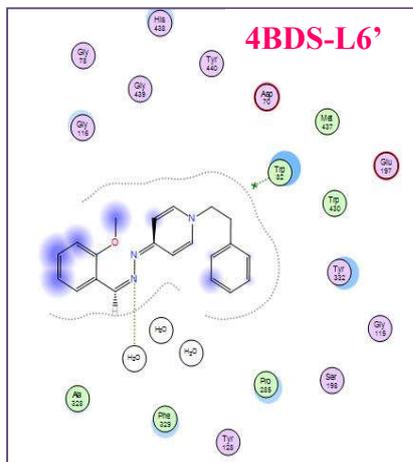
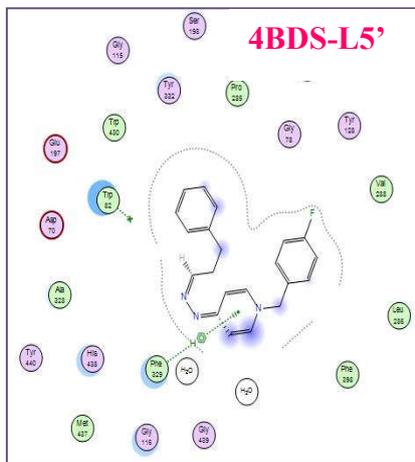
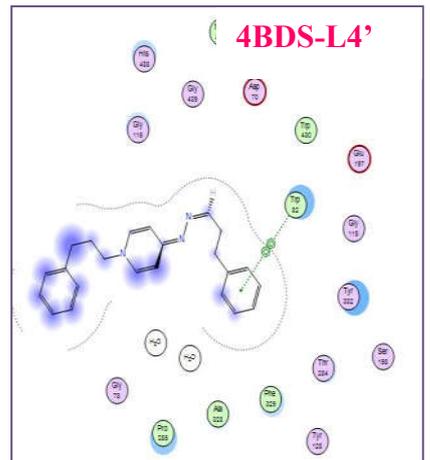
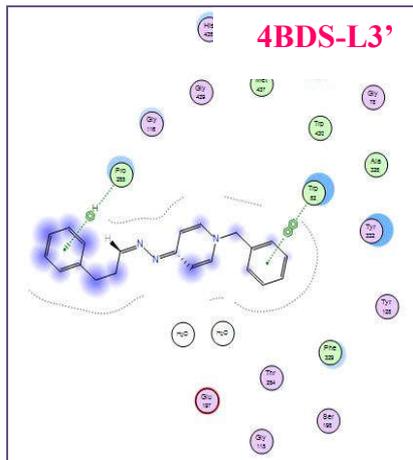
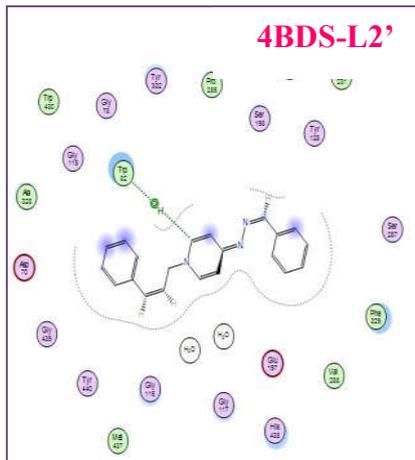
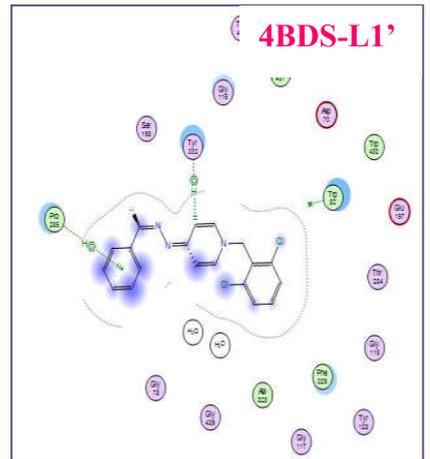
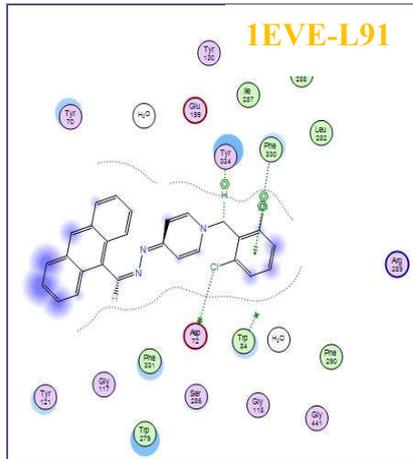
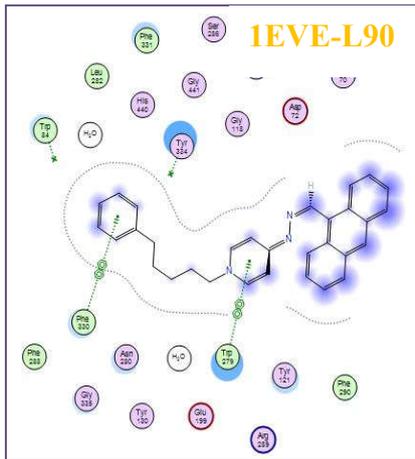


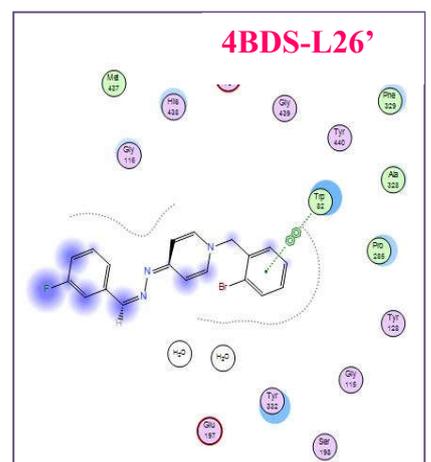
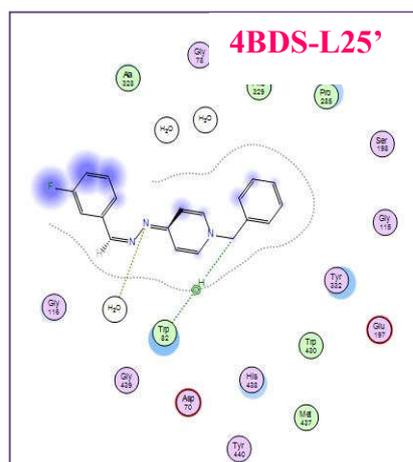
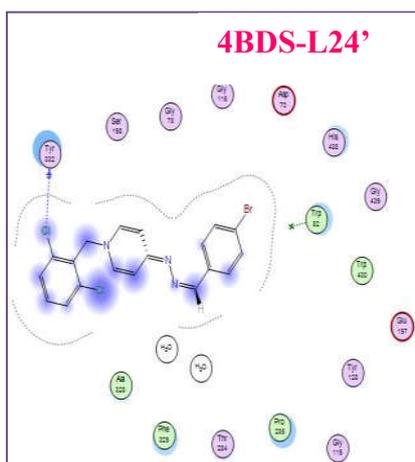
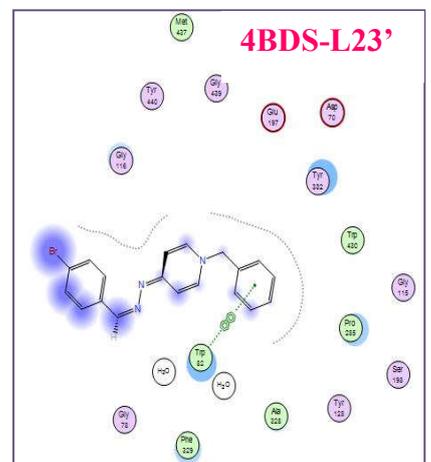
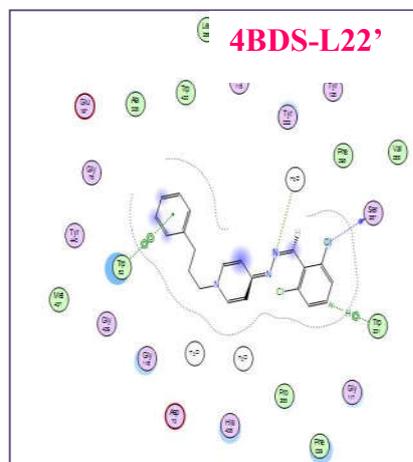
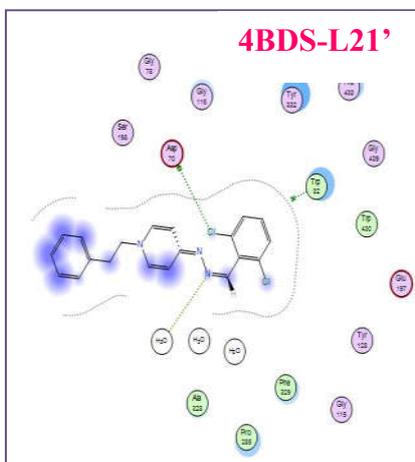
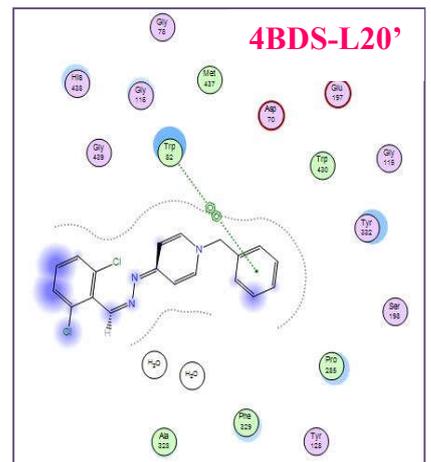
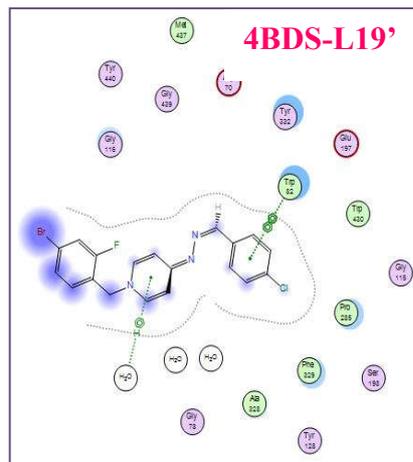
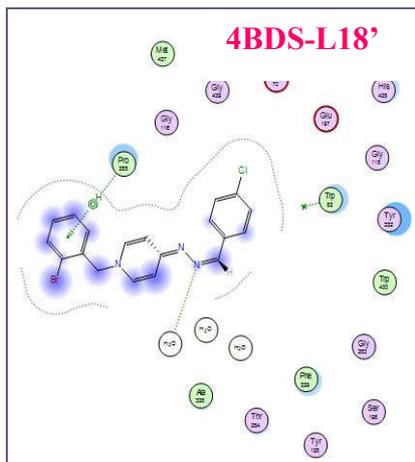
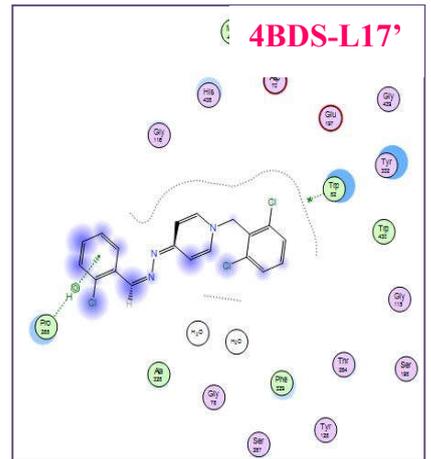
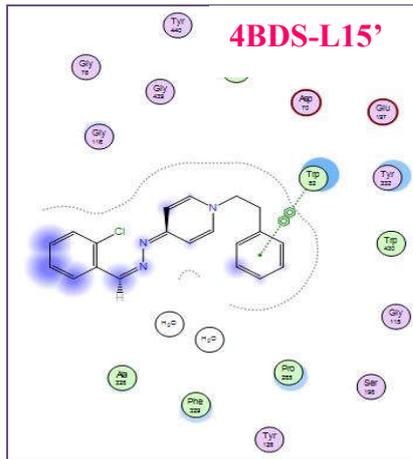
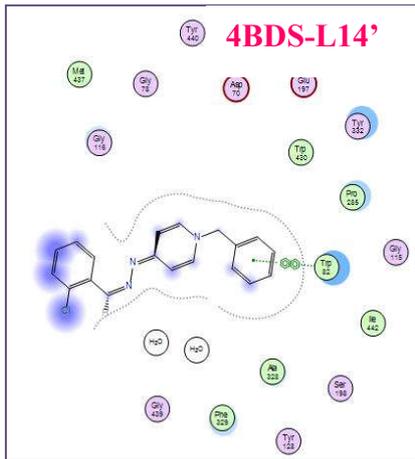


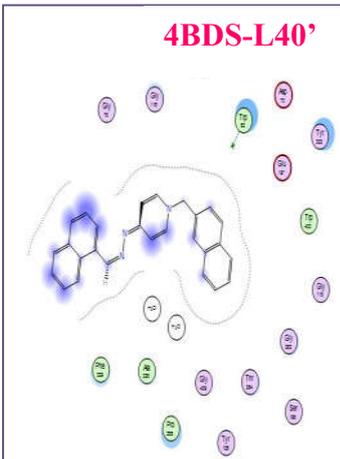
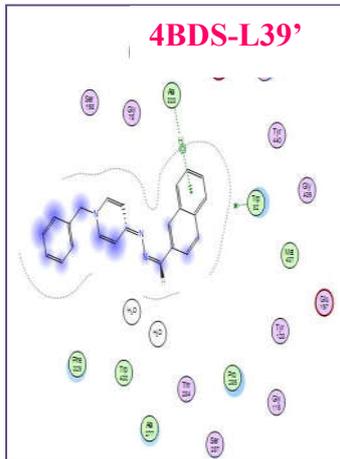
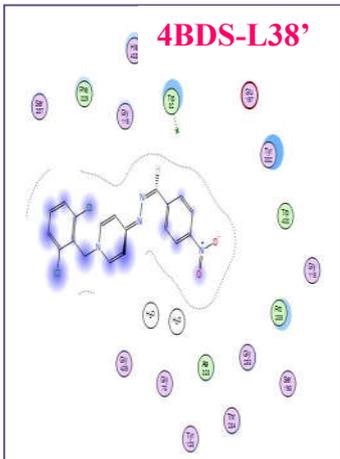
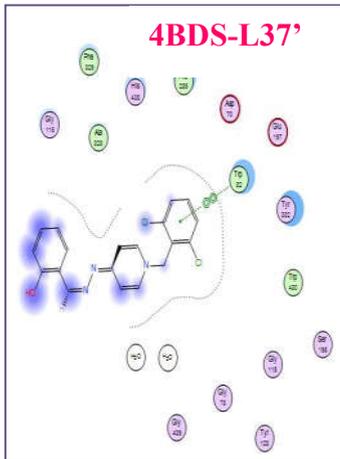
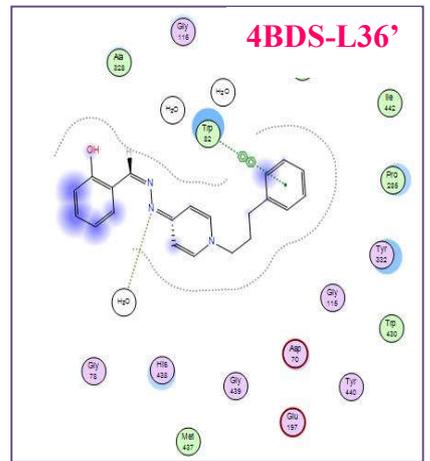
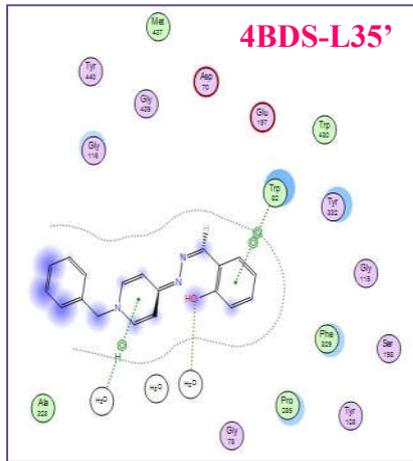
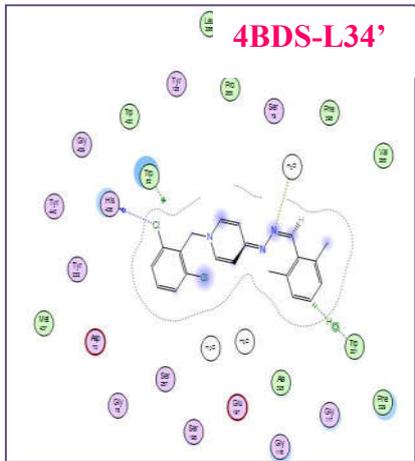
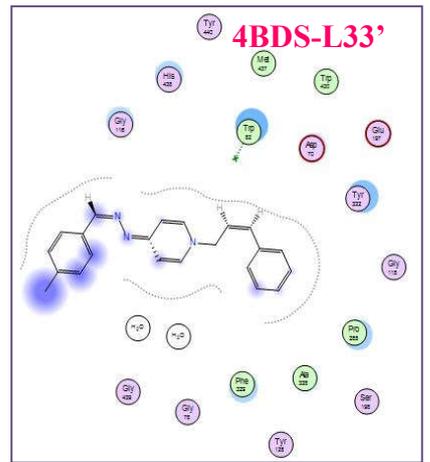
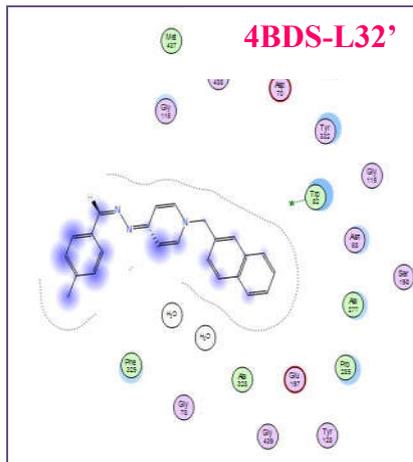
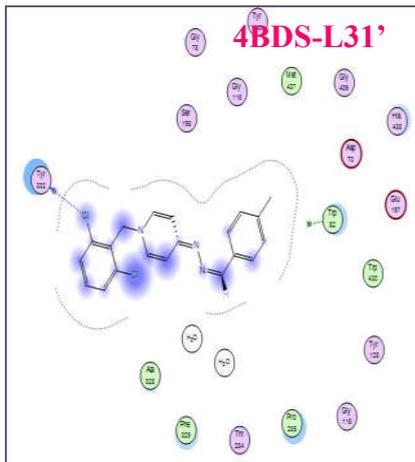
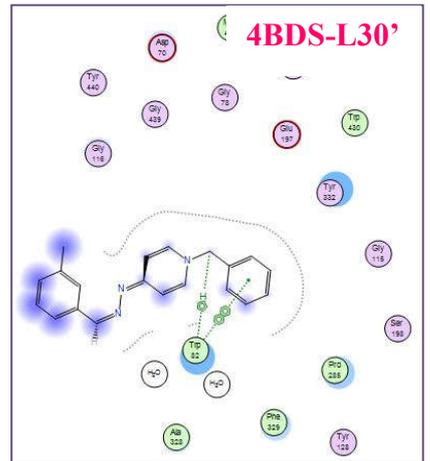
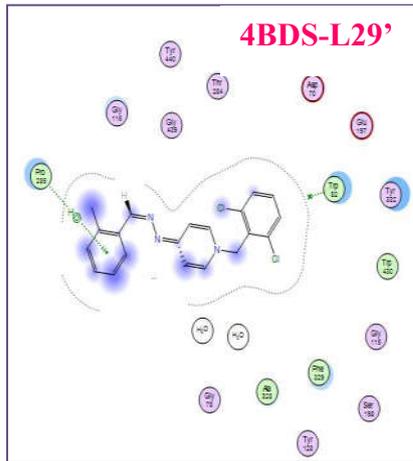
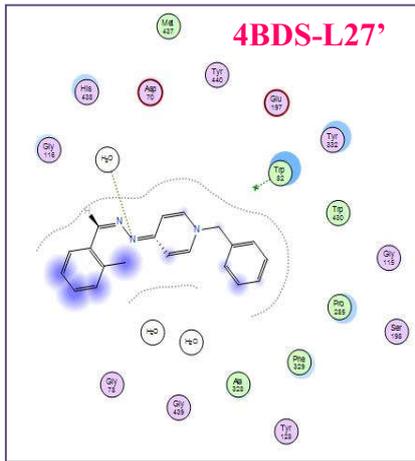












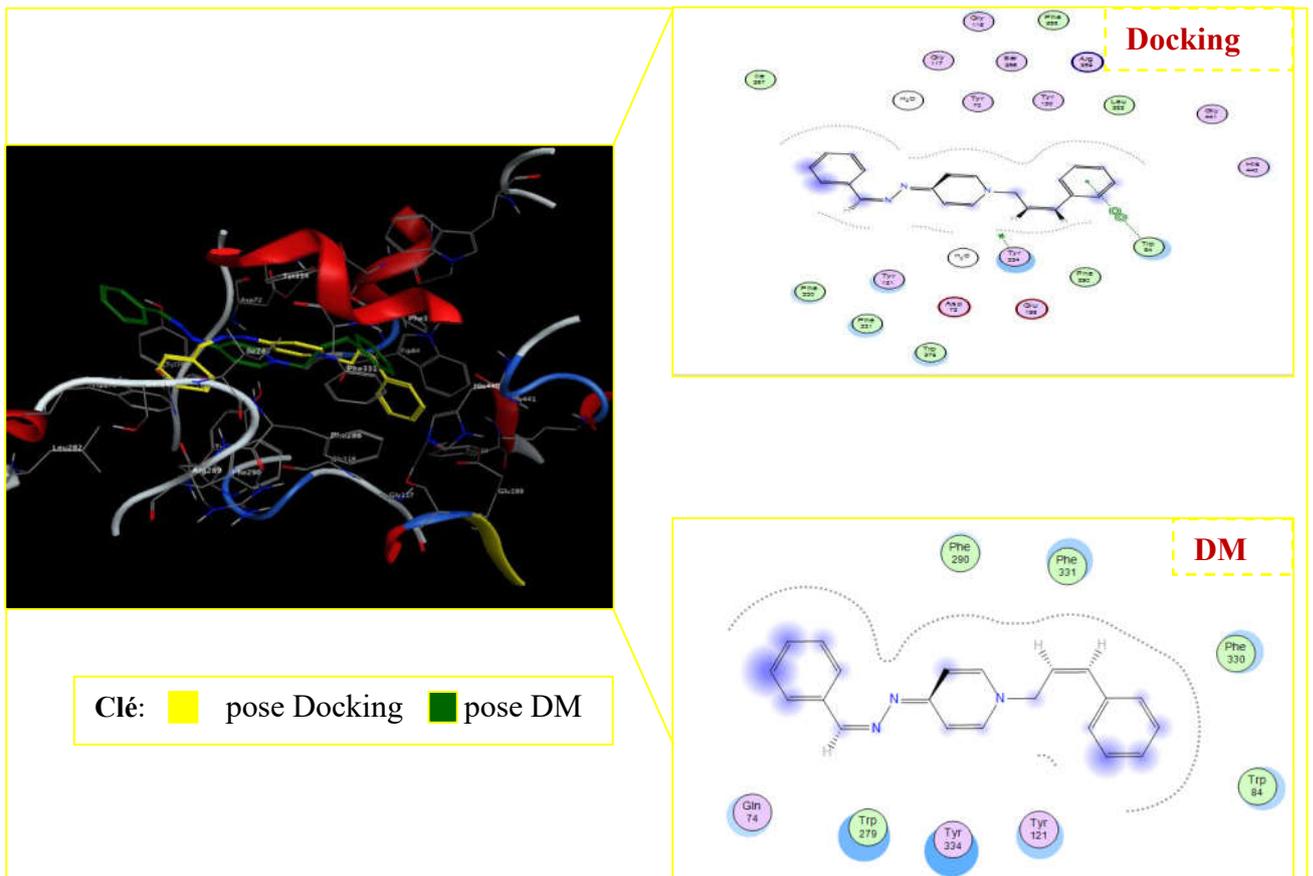


Fig Le composé 7 est bien ancré dans le site de la protéine AChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

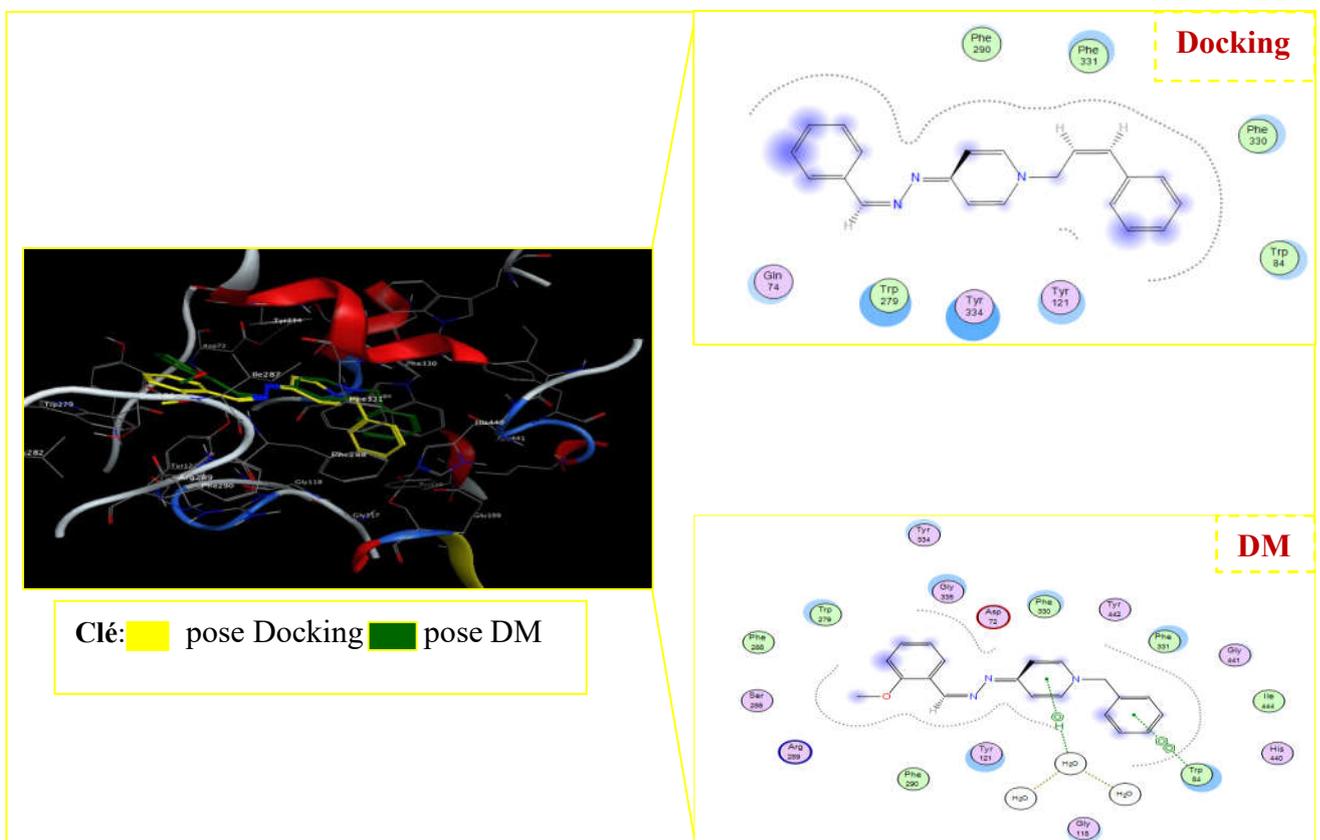


Fig Le composé 13 est bien ancré dans le site de la protéine AChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

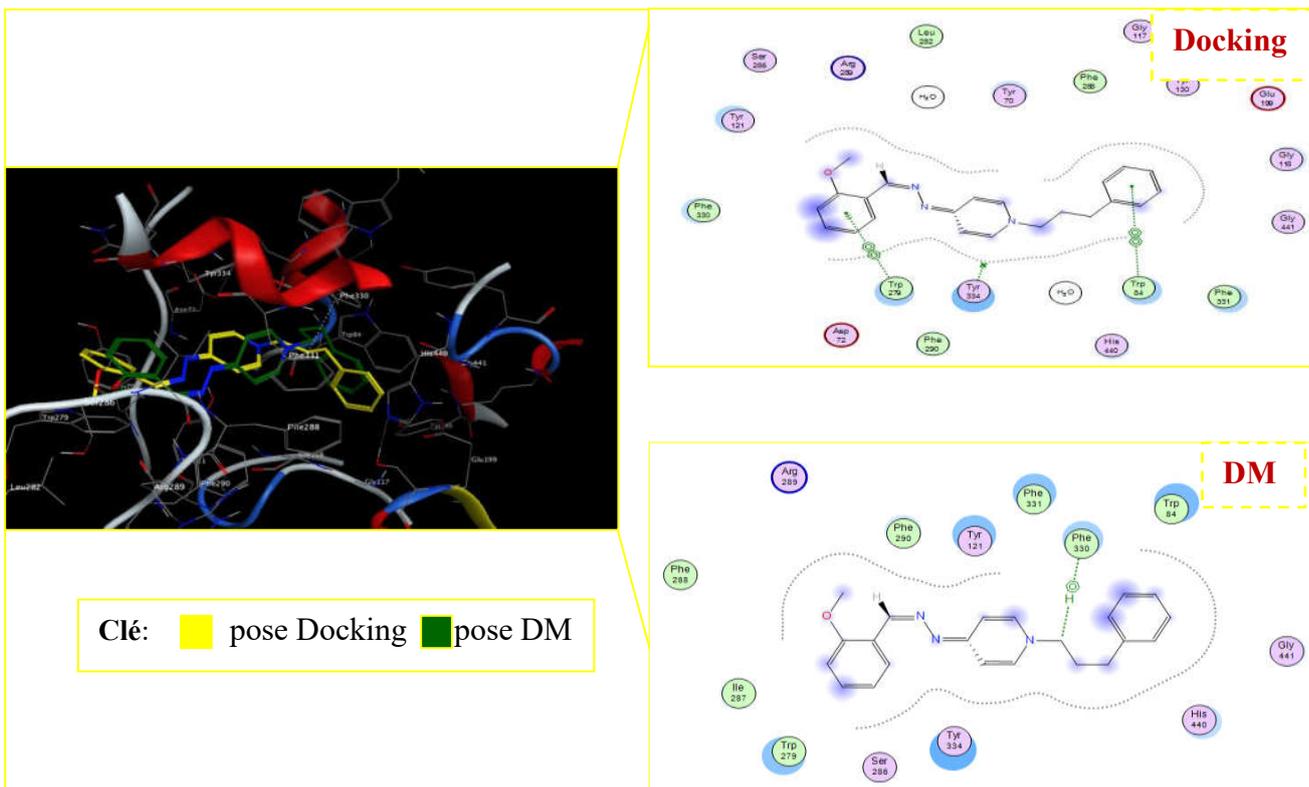


Fig Le composé 15 est bien ancré dans le site de la protéine AChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

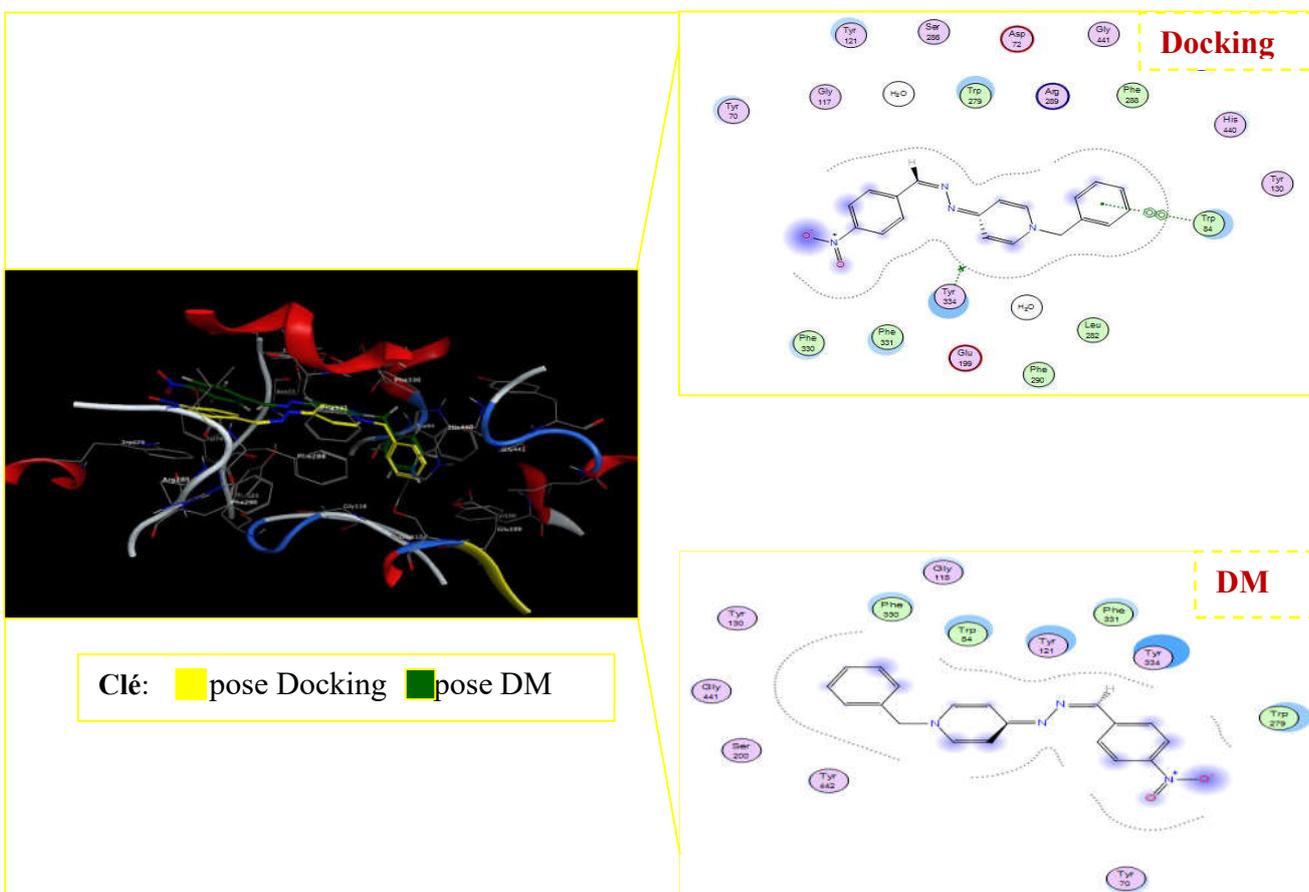


Fig Le composé 69 est bien ancré dans le site de la protéine AChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

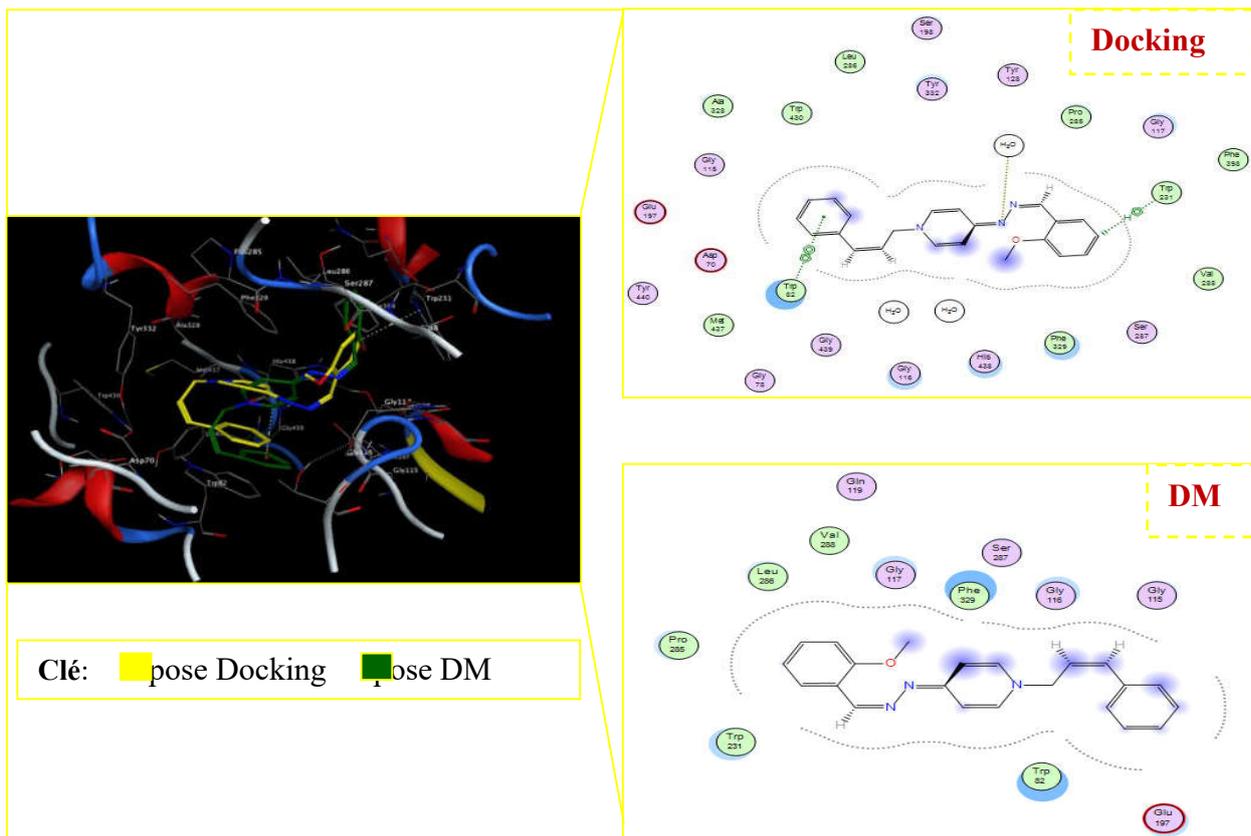


Fig. Le composé 9' est bien ancré dans le site de la protéine BuChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

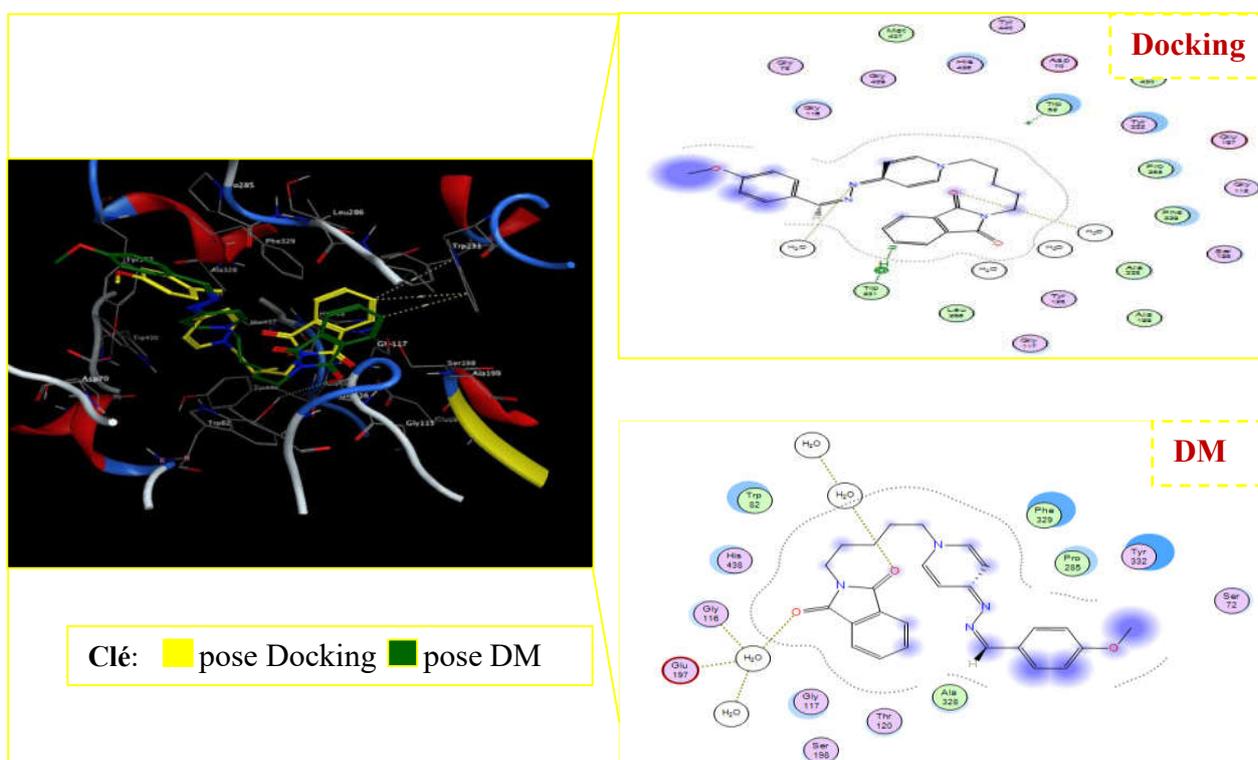


Fig. Le composé 12' est bien ancré dans le site de la protéine BuChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

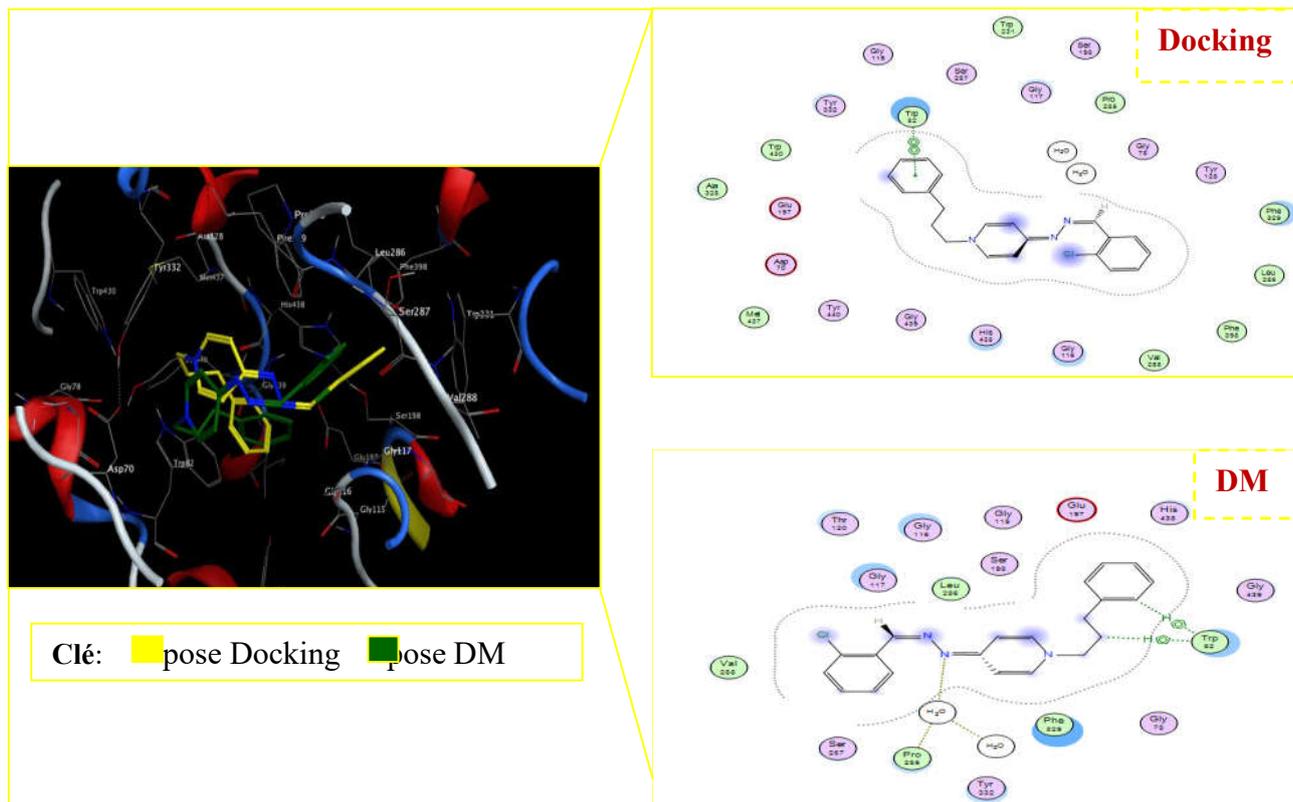


Fig. Le composé 16' est bien ancré dans le site de la protéine BuChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

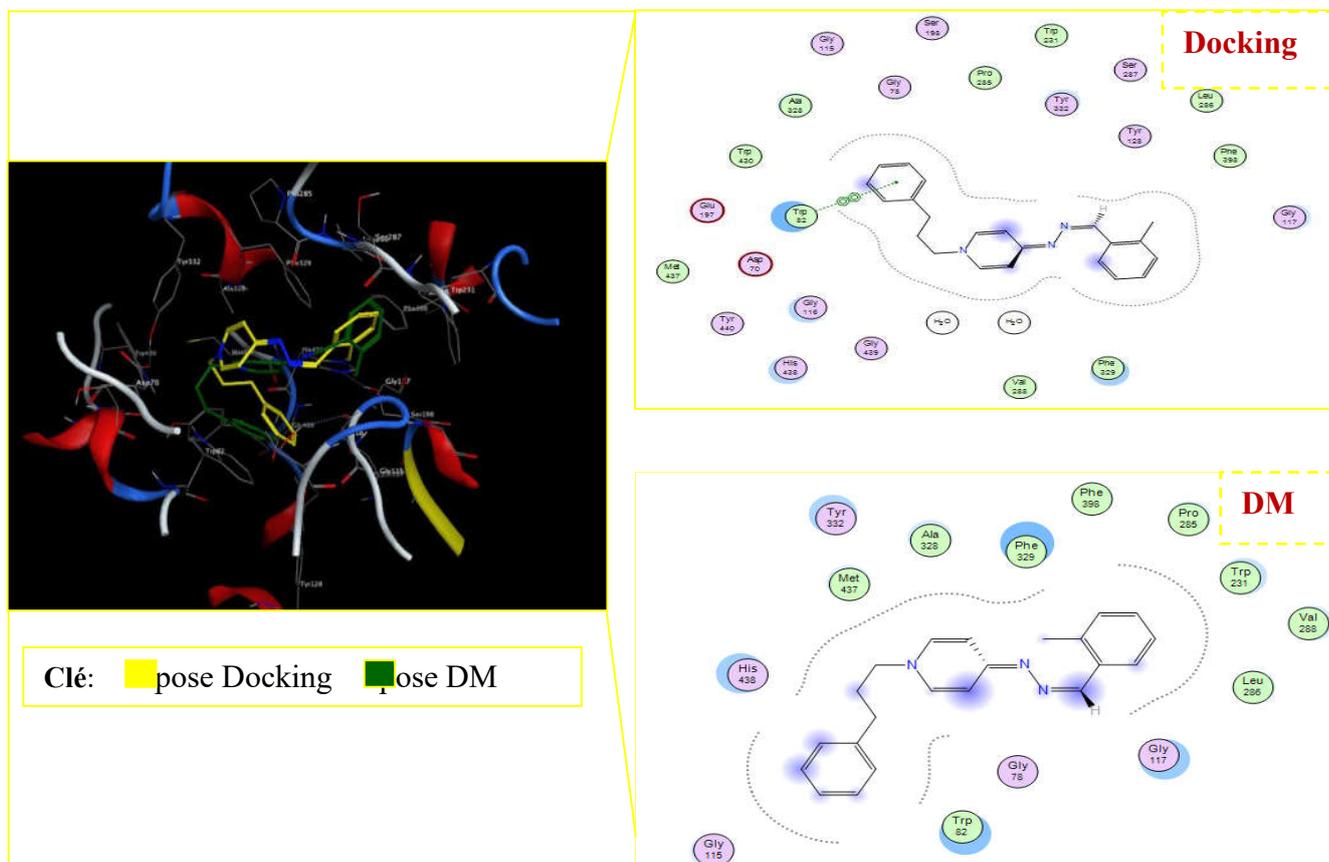


Fig. Le composé 28' est bien ancré dans le site de la protéine BuChE et présente le score le plus élevé au dock. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 1000 ps.

Résumé

Notre travail consiste à étudier l'interaction entre les deux enzymes : l'AChE et le BuChE qui sont impliquées dans la *maladie d'Alzheimer* avec des dérivés de 1,4-substituées 4-(1H)-pyridylène-hydrazone en utilisant deux méthodes de la modélisation moléculaire (docking et dynamique moléculaire) suivi par un calcul des propriétés ADME.

En premier lieu, Nous sommes particulièrement basés sur les deux paramètres : énergie de score et les distances des interactions entre les ligands et les résidus du site actif. En suite, valider les deux méthodes précédentes et confirmé que ces meilleurs ligands obtenus au cours des calculs de la modélisation moléculaire respectant les trois règles à savoir : Lipinski, Veber and Egan.

L'analyse des résultats obtenus montre que les cinq composés L₇, L₁₃, L₁₅, L₆₉ et L₇₅ and le cas de l'AChE et les cinq composés L_{28'}, L_{16'}, L_{12'}, L_{9'} et L_{7'} dans le cas de BuChE possèdent une meilleure inhibition, ceci nous a permet de les sélectionner comme étant probablement les meilleurs inhibiteurs.

Mots-clés : AChE/ BuChE, dérivés de 1,4-substituées 4-(1H)-pyridylène-hydrazone, Docking /Dynamique Moléculaire, ADME, Interactions.

Abstract

Our work consists in studying the interaction between the two enzymes: AChE and BuChE that are involved in Alzheimer's disease with 1,4-substituted 4-(1H)-pyridylène-hydrazone derivatives using two methods of molecular modeling (docking and molecular dynamics) followed by a calculation of the ADME properties.

First, we are particularly based on the two parameters: score energy and distances of interactions between ligands and active site residues. Then, validate the two previous methods and confirm that these best ligands obtained during calculations of molecular modeling respecting the three rules namely: Lipinski, Veber and Egan.

The analysis of the results obtained shows that the five compounds L₇, L₁₃, L₁₅, L₆₉ and L₇₅ and the case of AChE and the five compounds L_{28'}, L_{16'}, L_{12'}, L_{9'} and L_{7'} in the case of BuChE have a better inhibition, this allowed us to select them as probably the best inhibitors.

Keywords: AChE/BuChE, 1,4-substituted 4- (1H) -pyridylène hydrazone derivatives, Molecular Docking/Dynamics, ADME, Interactions.