



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 :

HASNI Ferdaous

Etude de l'inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BuChE) par des méthodes de la modélisation moléculaire.

Jury :

| | | | |
|-------------------------------|-------|-------------------------------------|--------------|
| Dr. KRIBAA Oum kaltoum | M.C.A | Université Mohamed Khider de Biskra | Président |
| Dr. DAOUD Ismail | M.C.A | Université Mohamed Khider de Biskra | Rapporteur |
| Dr. KHAMOULI Saida | M.C.A | Université Mohamed Khider de Biskra | Examinatrice |

Année universitaire : 2020-2021

REMERCIEMENTS

De prime abord, je remercie Allah le tout Puissant de m'avoir accordé la force, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation et pouvoir accomplir ce modeste travail de recherche.

*Comme je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon superviseur **Dr. DAOUD Ismail**, pour avoir accepté de diriger et superviser mon mémoire de fin d'études en Mastère, auquel je dis merci beaucoup pour votre disponibilité, votre gentillesse, votre patience et vos précieux conseils.*

Je lui suis vraiment reconnaissante pour son soutien constant, son expertise en modélisation moléculaire, la confiance qu'il m'a accordée, et pour avoir suivi et orienté l'avancement de ce travail.

*Mes vifs et sincères remerciements vont également à mon enseignant **Dr. Nadjib MELKEMI**, pour sa collaboration, ses encouragements et son soutien. Il a toujours su se rendre disponible pour répondre à mes nombreuses questions.*

Je remercie également les membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger notre travail.

Enfin, je remercie tous les enseignants et enseignantes qui ont contribué à ma formation. ainsi que toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

DÉDICACE

Je dédie ce travail à mes chers parents, qui ont été pour moi un bon exemple à suivre dans la vie, qui n'ont jamais cessé de m'encourager en m'offrant de leur patience, de leur réconfort, de leur affectueux et fructueux soutien tout au long de cette période de recherche qui m'ont été d'une très grande valeur.

A ma chère sœur Houda, A mes frères (Raouf et moatez).

A mon beau-frère, Badis.

A toute ma famille, proche soit-elle ou lointaine.

A tous mes cher (es) amis(ies) et collègues ...

Merci à tous du fond du cœur...

Ferdaous

Sommaire

| | |
|-------------------------------------|---|
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Liste des principales abbréviations | |
| Introduction générale | 1 |
| Références | 4 |

Chapitre I :

Méthodes de la modélisation moléculaire

| | |
|--|----|
| I. Introduction | 5 |
| II. Méthodes de la modélisation moléculaire | 5 |
| II.1. Les méthodes quantiques | 6 |
| II.1.1.Principe de base de la mécanique quantique | 7 |
| II.1.2.Les méthodes <i>ab initio</i> | 7 |
| II.1.3.La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) | 8 |
| II.1.4.Les bases d'orbitales | 9 |
| II.2. Les méthodes semi-empiriques | 9 |
| II.3.Méthodes non quantiques (empirique) | 10 |
| II.3.1. Mécanique moléculaire (MM) | 10 |
| a. <i>Champ de force en mécanique moléculaire</i> | 11 |
| b. <i>Energie d'interaction entre atomes liés</i> | 12 |
| 1. Energie d'élongation des liaisons (stretching) | 12 |
| 2. Déformation des angles de valences (bending) | 13 |
| 3. Energie de torsion | 13 |
| c. <i>Energie d'interaction entre atomes non liés</i> | 13 |
| 1. Energie de Van der Waals | 14 |
| 2. Energie d'interactions électrostatiques | 14 |
| 3. Energie de liaison hydrogène | 14 |
| d. <i>Différents champs de force en mécanique moléculaire</i> | 15 |
| e. <i>Minimisation de l'énergie</i> | 16 |
| II.3.2.Dynamique Moléculaire | 17 |
| a. <i>Principe de la dynamique moléculaire</i> | 17 |
| b. <i>Applications de la dynamique moléculaire</i> | 18 |
| II.3.3. Docking Moléculaire | 18 |
| a. <i>Protocole générale de docking</i> | 19 |
| b. <i>Algorithmes du docking</i> | 20 |
| c. <i>Le docking : du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité</i> | 21 |
| d. <i>Interaction protéine-ligand</i> | 21 |
| e. <i>programmes de Docking moléculaire</i> | 22 |
| III. Limitation de la modélisation moléculaire | 22 |

| | |
|---|----|
| IV. Méthodes de relations quantitatives structures activités QSAR | 23 |
| <i>a. Paramètres biologiques</i> | 23 |
| <i>b. Descripteurs moléculaires</i> | 24 |
| <i>c. Analyse de régression</i> | 24 |
| V. Définition d' ADME | 26 |
| V.1.La pharmacocinétique | 26 |
| V.1.1. Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME) | 26 |
| <i>a. Absorption</i> | 26 |
| <i>b. Distribution</i> | 27 |
| <i>c. Métabolisme</i> | 27 |
| <i>d. Elimination</i> | 27 |
| V.2. Quelques propriétés physico-chimiques..... | 27 |
| V.2.1. La masse moléculaire (M) | 27 |
| V.2.2. Nombre de liaisons rotatives (n rot b)..... | 28 |
| V.2.3. Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène | 28 |
| V.2.4. Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène | 28 |
| V.2.5. Superficie topologique de la surface polaire (TPSA) | 28 |
| V.2.6. Lipophilicité | 28 |
| V.3.Propriétés pharmacocinétiques..... | 29 |
| V.3.1.Absorption gastro-intestinale (GI) | 29 |
| V.3.2.La perméabilité BBB..... | 29 |
| V.4.Les propriétés « drug-like » | 29 |
| V.4.1.Lipinski | 29 |
| V.4.2.Ghose..... | 30 |
| V.4.3.La règle de Veber | 30 |
| V.4.4.Egan | 30 |
| V.5.La chimie médicinal | 31 |
| V.5.1.PAINS | 31 |
| V.5.2.Brenk | 31 |
| V.5.3.Lead-likeness | 31 |
| V.5.4.Accessibilité synthétique | 31 |
| Références | 32 |

Chapitre II :

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

| | |
|-------------------------------------|----|
| I. Introduction | 39 |
| 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 | 41 |
| II.3.2 Structure secondaire | 41 |
| II.3.3 Structure tertiaire | 42 |
| II.3.4 structure quaternaire | 43 |
| II.4 Evolution des structures des protéines | 43 |
| II.5 Rôle biologique des protéines..... | 44 |
| II.6 Fonctions des protéines..... | 44 |
| III. Les enzymes | 44 |
| III.1 Définition | 45 |
| III.2 Nomenclature | 45 |
| III.3 Classification des enzymes..... | 45 |
| III.4 Notions de spécificité | 46 |
| III.5 Le site actif | 46 |
| III.6 cofacteurs | 47 |
| III.7 Complexe Enzyme-Substrat | 47 |
| III.8 Inhibition Enzymatique | 48 |
| III.9 Type d'inhibition enzymatique | 48 |
| III.9.1 Inhibition réversible | 49 |
| <i>a. Inhibition compétitive</i> | 49 |
| <i>b. Inhibition incompétitive</i> | 50 |
| <i>c. Inhibition non compétitive ou mixte</i> | 50 |
| III.9.2 Inhibition irréversible | 51 |
| III.9.3 Nature des interactions substrat-enzyme | 51 |
| IV. Les acides aminés | 51 |
| IV.1. Classification des principaux acides aminés | 52 |
| IV.1.1. Polaires chargés | 52 |
| IV.1.2. Polaires non chargés | 52 |
| IV.1.3. Non polaires | 52 |
| IV.1.4. Les acides aminés aux propriétés particulières | 52 |
| IV.2. Le rôle biologique des acides aminés | 53 |
| Partie (B) : Maladie d'Alzheimer | |
| V. Introduction | 55 |
| V.1. Causes de la maladie d'Alzheimer | 56 |
| V.2. Les symptômes..... | 57 |
| V.3. Les facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer..... | 58 |
| V.4. Le diagnostic..... | 58 |
| V.5. Les lésions responsables de la maladie..... | 59 |
| V.5.1 Plaques séniles et protéine β -amyloïde..... | 59 |
| V.5.2. Dégénérescences Neurofibrillaires et protéine tau..... | 61 |
| V.6. Le système cholinergique..... | 62 |
| V.6.1. Neurotransmission..... | 62 |
| V.6.1.1. L'acétylcholinestérase..... | 63 |

| | |
|--|----|
| a. <i>Structure tridimensionnelle d'acétylcholinestérase</i> | 64 |
| b. <i>Le site actif et la triade catalytique</i> | 64 |
| c. <i>Implication de l'AChE dans la maladie d'Alzheimer</i> | 65 |
| V.6.1.2. Butyrylcholinestérase..... | 66 |
| V.7. Traitements..... | 66 |
| Références | 68 |

Chapitre III :

Résultats et discussion

| | |
|---|-----|
| I. Introduction | 74 |
| II. Méthodes et Matériels | 76 |
| II.1. Ensemble des données et modélisation moléculaire..... | 76 |
| II.1.1. Préparation des enzymes (cibles)..... | 76 |
| II.1.2. Préparation des ligands..... | 77 |
| a. <i>Structure des ligands</i> | 77 |
| b. <i>Propriétés des ligands</i> | 79 |
| II.2. Protocole de docking moléculaire..... | 79 |
| II.3. Modèle des QSAR | 80 |
| II.4. Propriétés ADME..... | 81 |
| III. Résultats et discussion | 82 |
| III.1. Simulation de docking moléculaire..... | 82 |
| III.1.1. Site actif des enzymes..... | 82 |
| III.1.2. Interaction : AChE-ligands..... | 82 |
| III.1.3. Interaction : BuChE-ligands..... | 90 |
| III.2. Modèle QSAR et sa validation..... | 97 |
| III.3. Evaluation des propriétés ADME..... | 104 |
| Références | 108 |
| Conclusion générale | 114 |
| Annexes | |

Liste des tableaux

| | | |
|------------------------|--|-----|
| Tableau I.1: | Types de données biologiques utilisées dans l'analyse QSAR | 23 |
| Tableau III.1: | Quelques informations relatives aux enzymes 4EY7 et 4BDS. | 76 |
| Tableau III.2: | Structures chimiques des ligands. | 78 |
| Tableau III.3: | Quelques propriétés des composés étudiés. | 79 |
| Tableau III.4: | Docking Score et RMSD des deux ligands native (4EY7 et 4BDS). | 82 |
| Tableau III.5: | Différentes propriétés de première cavité détectée par MOE de AChE. | 83 |
| Tableau III.6: | S-score, IC ₅₀ , RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le AChE . | 85 |
| Tableau III.7: | Différentes propriétés de première cavité détectée par MOE de BuchE. | 90 |
| Tableau III.8: | S-score, IC ₅₀ , RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE . | 92 |
| Tableau III.9: | Descripteurs utilisés pour construire les modèles de QSAR. | 97 |
| Tableau III.10: | Matrice de corrélation du modèle. | 100 |
| Tableau III.11: | Paramètres de validation croisée. | 101 |
| Tableau III.12: | Valeurs expérimentales, prédites et résiduelles de (log (1/IC ₅₀)) des dérivés de (2 hydroxy-N phenylbenzamide). | 102 |
| Tableau III.13: | Propriétés ADME pour les six meilleurs ligands de l'AChE et BuChE. | 105 |

Liste des figures

Chapitre I :

| | | |
|----------------------|---|----|
| Figure I.1 : | Illustration des principales composantes d'un champ de force. | 12 |
| Figure I.2 : | Energie d'élongation entre deux atomes liés. | 12 |
| Figure I.3 : | Déformation des angles de valence. | 13 |
| Figure I.4 : | Energie de torsion. | 13 |
| Figure I.5 : | Energie de Van der Waals | 14 |
| Figure I.6 : | Energie d'interactions électrostatiques | 14 |
| Figure I.7 : | Déterminer les minimas de l'énergie globale d'interaction | 16 |
| Figure I.8 : | Représentation schématique du docking moléculaire | 18 |
| Figure I.9 : | Principe général d'un programme de docking. | 19 |
| Figure I.10 : | Protocole général de docking. | 20 |

Chapitre II :

| | | |
|-----------------------|---|----|
| Figure II.1 : | Formation d'une liaison peptidique. | 40 |
| Figure II.2 : | Structure primaire d'une protéine. | 41 |
| Figure II.3 : | Angles dièdres Φ et ψ de la rotation de la liaison peptidique. | 41 |
| Figure II.4 : | Conformations α et β de la structures secondaires d'une protéine | 42 |
| Figure II.5 : | Structure tertiaire d'une protéine | 43 |
| Figure II.6 : | Structure quaternaire d'une protéine | 43 |
| Figure II.7: | Représentation schématique de la notion de spécificité. | 46 |
| Figure II.8 : | cofacteur apoenzymes et holoenzymes | 47 |
| Figure II.9 : | Complexe Enzyme-Substrat | 48 |
| Figure II.10 : | Mécanisme réactionnel de l'inhibition compétitive. | 49 |
| Figure II.11 : | Mécanisme réactionnel de l' inhibition incompétitive | 50 |
| Figure II.12 : | Mécanisme réactionnel de l' inhibition non compétitive | 50 |
| Figure II.13 : | Mécanisme réactionnel de l' inhibition irréversible | 51 |
| Figure II.14: | Structure générale d'un AA | 51 |
| Figure II.15 : | Diagramme de Venn regroupant les différents acides aminés par rapport à leurs propriétés physicochimiques. | 53 |
| Figure II.16: | Croquis dessiné par Alzheimer représentant des dégénérescences neurofibrillaires. | 55 |
| Figure II.17 : | Représentation schématique d'une coupe transversale de cerveau sain (a gauche) et l'atrophie massive d'un cerveau à un stade avance d'Alzheimer (a droite). | 56 |
| Figure II.18 : | A droite, IRM d'un cerveau sain. A gauche, cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer. | 59 |
| Figure II.19 : | Plaques séniles. | 59 |
| Figure II.20: | les voies impliquees dans les processus de métabolisation de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) | 60 |
| Figure II.21 : | formation des plaques amyloïdes | 60 |
| Figure II.22 : | Désintégration des microtubules et accumulation des protéines Tau | 61 |
| Figure II.23 : | Neurotransmission cholinergique. | 63 |

| | | |
|-----------------------|--|----|
| Figure II.24 : | Dégradation de l'acetylcholinesterase | 63 |
| Figure II.25 : | Structure tridimensionnelle d'un monomère de l'AChE. | 64 |
| Figure II.26 : | inhibiteurs de l'AChE | 67 |

Chapitre III:

| | | |
|------------------------|--|-----|
| Figure III.1 : | Protocole de calcul | 75 |
| Figure III.2 : | La forme dimère (a) de : AChE et monomère (b) de : BuChE. | 76 |
| Figure III.3 : | Modèle d'étude quantitative des relations structure/activité (QSAR). | 81 |
| Figure III.4 : | (a) Cavité enzymatique et (b) les résidus du site actif de l'AChE. | 83 |
| Figure III.5 : | Meilleure pose de Donepezil dans l'AChE | 84 |
| Figure III.6 : | Schéma en 2D et 3D des interactions entre les meilleurs ligands (L18, L17 et L6) et les résidus de site actif de l'AChE. | 89 |
| Figure III.7 : | (a) : Cavité enzymatique et (b) : Les résidus du site actif de BuChE | 90 |
| Figure III.8 : | Meilleure pose de Tacrine dans le BuChE | 91 |
| Figure III.9 : | Schéma en 2D et 3D des interactions entre les meilleurs ligands (L6', L30' et L4') et les résidus de site actif de le BuChE. | 96 |
| Figure III.10 : | Courbe des valeurs prédites en fonction des valeurs expérimentales de log (1/IC50) | 103 |
| Figure III.11: | Représentation graphique des valeurs résiduelles par rapport à l'observé expérimentalement de log (1/IC50). | 103 |

Liste des schémas

| | | |
|----------------------|--|----|
| Schéma II.1: | du site actif de AChE | 65 |
| Schéma III.1: | Préparation de 2 hydroxy-N-phenylbenzamide | 77 |

Liste des principales abréviations

μM : Micro molaire

| | |
|----------------|--|
| Å: | Angström |
| AA: | Acide Aminée |
| AChE : | Acétylcholinestérase |
| ADME: | Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination |
| Ala, A: | Alanine |
| AM 1: | Austrin Model 1 |
| AMBER: | Assisted Model Building with Energy Refinement |
| Arg, R: | Arginine |
| AS : | Accessibilité Synthétique |
| Asn ,N: | Asparagine |
| Asp, D: | Acide aspartique ou aspartate |
| B3LYP: | Becke 3-Parameter Lee-Yang-Parr |
| BuChE: | Butylcholinestérase |
| CHARMM: | Chemistry Harvard Macromolecular Mechanic |
| CNDO: | Complete Neglect of Differential Overlap |
| Cys, C: | Cystéine |
| Da: | Dalton |
| DFT: | La Théorie de la Fonctionnelle de la Densité |
| DM: | dynamique moléculaire |
| 2D: | deux dimension |
| 3D: | Trois dimension |
| E-S : | Complexe Enzyme-Substrat |
| EMO: | Energy Molecular |
| Gln ,Q: | Glutamine |
| Glu, E: | Acide glutamique ou glutamate |
| Gly, G: | Glycine |
| GROMOS: | Groningen Molecular Simulation Program Package |
| HBA: | Accepteurs de liaisons hydrogène |
| HBD: | Donneurs de liaisons hydrogène |
| HF : | Hartree-Fock |
| His, H: | Histidine |
| IC50 : | Concentration Inhibitrice Médiane |
| Ile, I: | Isoleucine |
| INDO: | Intermediate Neglect of Differential Overlap |

| | |
|-----------------|---|
| LDA: | Local Density Approximation |
| Leu, L: | Leucine |
| Log P: | Lipophile |
| LOO: | Leave-one-out |
| Lys, K: | Lysine |
| MA : | Maladie d'Alzheimer |
| Met, M: | Méthionine |
| MM: | La Mécanique Moléculaire |
| MLR: | Multiple linear regression |
| MOE: | Molecular Operating Environmen |
| MR: | Réfractivité moléculaire |
| MW: | Poids moléculaire |
| NDDO: | Neglect of Differential diatomic orvelap |
| NRB: | Le nombre de liaisons rotatives |
| OM-CLOA: | Combinaisons Linéaire des Orbitales Atomiques. |
| OM: | Orbitale Moléculaire |
| OA: | Orbitales Atomiques |
| OPLS : | Optimised Potentials for Liquid Simulation |
| PAINS: | Pan Assay INterference compoundS |
| PDB: | Protein Data Bank |
| PE: | Prediction Error |
| Phe, P: | Phénylalanine |
| PRESS : | Predictive Residual Sum of Squares |
| Pro, P: | Proline |
| PM3: | Parametric Method 3 |
| pC50: | Concentration of Chemical estimated to cause 50% |
| QM: | Quantum Mechanics |
| QSAR: | Quantitative Structure-Activity Relationships |
| RMN: | résonance magnétique nucléaire |
| RMSD: | Racine de la moyenne des carrés" (Root Mean Square Deviation) |
| RX: | Rayons X |
| Ser, S: | Sérine |
| SMILE: | Simplified Molecular-Input Line-Entry |
| SNC : | Système nerveux central |
| SPASIBA: | Spectroscopic Potentiel Algorithm for Simulating biomolecular Conforamtional Adaptability |
| Thr, T: | Thréonine |
| TPSA : | Topological Polar Surface Area |

| | |
|----------------|---------------|
| Trp, W: | Tryptophane |
| Tyr, Y: | Tyrosine |
| Val, V: | Valine |
| VDW: | Van Der Waals |

Two vertical bars are positioned on the left side of the page. The inner bar is dark teal and the outer bar is light gray. They are both approximately 20 pixels wide and extend from the top of the text area down to the bottom of the page.

Introduction générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les maladies neuro-dégénératives touchent le système nerveux formant un groupe hétérogène et complexe de pathologies chroniques évolutives. Certaines de ces maladies affectent l'enfant ou le jeune adulte, mais le plus souvent ce sont des pathologies qui se rencontrent après 60 ans [1].

La maladie d'Alzheimer et Parkinson sont connus comme les maladies les plus importantes parmi les troubles neurologiques qui sont communément observés [2]. Elles se caractérisent par une détérioration du fonctionnement des cellules nerveuses, en particulier les neurones, pouvant conduire à la mort cellulaire. Cette mort neuronale est plus rapide que celle observée lors du vieillissement normal et intervient dans une région précise du système nerveux central. Ces familles de maladies sont déjà fréquentes et risquent de le devenir encore plus compte tenu de l'augmentation de l'espérance de vie. Elles présentent un mécanisme pathologique commun, à savoir une agrégation et un dépôt de protéines mal repliées, provoquant la mort neuronale .

La maladie d'Alzheimer se caractérise par un déclin cognitif progressif dû à une variété de changements pathologiques dans le cerveau, principalement dans les neurones cholinergiques du cerveau antérieur basal [3]. D'autre part, La maladie de Parkinson (MP) est une maladie dégénérative caractérisée par la perte progressive des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striatale et se traduit par des symptômes multiples comportant notamment la triade parkinsonienne : tremblement, rigidité et akinésie [4].

Parmi ces pathologies neuro-dégénératives nous sommes intéressés à la maladie d'Alzheimer (MA). Cette maladie est la forme de démence la plus fréquente, s'accompagne progressivement et irréversiblement d'une détérioration intellectuelle induisant des manifestations psychologiques et des troubles du comportement qui conduisent à une perte d'autonomie [5]. Elle touche la mémoire, les émotions, l'humeur, et le langage. La compréhension des processus moléculaires de cette maladie est une nécessité pour vaincre la maladie .

Malheureusement, les seuls traitements existant actuellement sont dits symptomatiques. Il n'existe donc pas de médicaments sur le marché permettant d'empêcher leur apparition ou leur progression. Les recherches de nouvelles cibles thérapeutiques, pour un traitement curatif, deviennent donc un enjeu majeur.

Bien que ces deux dernières décennies de multiples recherches ont permis d'améliorer notre compréhension de la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, les subtilités du mécanisme ne sont pas clairement définies, cependant plusieurs hypothèses étiologiques ont été proposées, telles que l'hypothèse cholinergique, l'hypothèse de l'amyloïde et l'hypothèse de

INTRODUCTION GÉNÉRALE

la protéine Tau. Les neurones sont affectés par deux lésions principales: le dépôt extracellulaire de plaque β -amyloïde ($A\beta$) et la dégénérescence neuro-fibrillaire [6]. Ces deux lésions engendrées lors de la maladie d'Alzheimer touchent principalement les voies cholinergiques. Il en résulte une diminution parfois massive des taux de neurotransmetteurs circulant dans le cerveau. Le déficit en acétylcholine peut atteindre jusqu'à 90% dans les stades sévères de la maladie. Pour compenser le déficit en Acétylcholine, les médecins font habituellement appel aux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Tacrine, Donepezil, Rivastigmine, Galantamine) et utilise comme un traitement. Ces molécules empêchant la dégradation de l'acétylcholine au niveau de la fente synaptique ont montré leur efficacité en soulageant quelques symptômes liés à la maladie d'Alzheimer [7].

Il existe une autre enzyme de la même famille, la butyrylcholinestérase (BuChE), qui reconnaît également l'acétylcholine comme substrat. C'est à cette approche du traitement par inhibition de l'AChE et BuChE que nous nous intéressons dans le présent travail afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs en faisant appel aux différentes techniques de modélisation moléculaire.

Cette dernière est une application des méthodes théoriques et des méthodes de calcul pour résoudre des problèmes impliquant la structure moléculaire et la réactivité chimique dans les différents domaines comme : la Chimie, Biologie, Médecine,... etc [8].

Elles permettent, actuellement, non seulement d'élaborer les mécanismes de complexation 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.

Ces méthodes *in silico* permettent, entre autres, de simuler et de décrire l'affinité d'une entité moléculaire pour une protéine donnée (docking moléculaire), ou bien encore, de prédire des propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques (analyse *in silico* ADME), ainsi qu'elle permet d'identifier une relation quantitative entre l'activité mesurée expérimentalement et des descripteurs théoriques ou empiriques liés à la structure moléculaire (dans le cas de QSAR).

Dans ce travail, nous nous sommes focalisés sur l'étude de l'inhibition de l'**Acétylcholinestérase** et le **Butyrylcholinestérase** par une série des composés nouvellement synthétisée en utilisant les méthodes de la modélisation moléculaire: docking moléculaire, QSAR et propriétés ADME dans le but de traiter ou ralentir la progression de la maladie d'Alzheimer.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le travail de ce mémoire est présenté en trois chapitres :

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): Maladie d'Alzheimer

Le troisième chapitre : Nous avons analysé et discuté les résultats obtenus.

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

Références

- [1]: Parrón, Tesifón, et al. "Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases." *Toxicology and applied pharmacology* 256.3 (2011): 379-385.
- [2]: Kawamata, Hibiki, and Giovanni Manfredi. "Introduction to neurodegenerative diseases and related techniques." *Neurodegeneration*. Humana Press, Totowa, NJ, (2011): 3-8.
- [3]: Sampaio, Tuane Bazanella, et al. "Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy." *Neural regeneration research* 12.4 (2017): 549.
- [4]: Zhu, Bao Ting. "CNS dopamine oxidation and catechol-O-methyltransferase: importance in the etiology, pharmacotherapy, and dietary prevention of Parkinson's disease." *International journal of molecular medicine* 13.3 (2004): 343-353.
- [5]: Mohamed, Tarek, et al. "Development and evaluation of multifunctional agents for potential treatment of Alzheimer's disease: application to a pyrimidine-2, 4-diamine template." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 22.14 (2012): 4707-4712.
- [6]: Whalley, L. J. "The dementia of Down's syndrome and its relevance to aetiological studies of Alzheimer's disease." *Annals of the New York Academy of Sciences* 396.1 (1982): 39-53.
- [7]: Gustafson, L. "Physostigmine and tetrahydroaminoacridine treatment of Alzheimer's disease." *Acta Neurologica Scandinavica* 88.S149 (1993): 39-41.
- [8]: Ittel, Steven D., Lynda K. Johnson, and Maurice Brookhart. "Late-metal catalysts for ethylene homo-and copolymerization." *Chemical Reviews* 100.4 (2000): 1169-1204.



Chapitre I

Méthodes de la modélisation moléculaire

I. Introduction

Le nombre d'études théoriques a fortement augmenté avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années : des procédures de calculs numériques ainsi que des ordinateurs toujours plus puissants ont été mis au point, rendant ainsi possible l'étude de systèmes de plus en plus compliqués, et permettant l'utilisation de techniques de calculs et de niveaux de théorie de plus en plus poussés [1].

Les méthodes théoriques utilisées pour l'obtention de modèles permettant de comprendre et de prédire la structure, les propriétés physico-chimiques et les interactions moléculaires sont connues sous le nom de «Modélisation Moléculaire».

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules, elle exploite des lois de la chimie, de la physique et de la biologie dans des programmes informatiques spécifiques afin de calculer structures et propriétés d'entités chimiques et biochimiques (protéines, acides nucléiques, complexes moléculaires, solides, cristaux etc.) [2].

Ces techniques permettent d'analyser, d'afficher, de dessiner, de calculer, de simuler et de stocker les propriétés des composés pour imiter le comportement ou modéliser de molécules .

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimique sont aujourd'hui, souvent associées à une étude par modélisation moléculaire. Celle-ci permet de fournir des informations qui ne sont pas disponibles par l'expérience et joue donc un rôle complémentaire à celui de la chimie expérimentale. Ainsi, la modélisation moléculaire peut par exemple permettre de se faire une idée précise de la structure de l'état de transition pour une réaction donnée, ce qui est difficile, voire impossible, pour la chimie expérimentale [3].

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve [4] (docking moléculaire, dynamique moléculaire, QSAR,.....); tous ces termes appartiennent à des disciplines de recherche de la chimio- informatique et la bioinformatique structurale. Ces dernières sont bien établies avec de nombreuses applications dans le domaine des sciences du vivant et de la santé [5].

II. Méthodes de la Modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules. La taille du système

étudié peut aller d'une simple molécule diatomique jusqu'à des macromolécules biologiques de plusieurs dizaines de milliers d'atomes .

Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire elles peuvent être extrêmement complexes et demander des centaines d'heures de temps d'ordinateur, même sur un superordinateur. En plus, ces méthodes utilisent souvent des moyens infographiques très sophistiqués qui facilitent grandement la transformation de quantités impressionnantes de nombres en quelques représentations graphiques facilement interprétables .

Les méthodes de la modélisation moléculaire les plus répandues et les plus utilisées peuvent être rangées en trois catégories:

- Les méthodes quantiques.
- Les méthodes semi-empiriques.
- Les méthodes non quantiques [6].

II.1. Les méthodes quantiques

La chimie quantique applique les principes de la mécanique quantique aux systèmes moléculaires pour tenter de résoudre l'équation de Schrödinger [7]. 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. L'équation de Schrödinger non relativiste et indépendante du temps est la forme la plus utilisée en modélisation moléculaire.

Les méthodes de la mécanique quantique (*ab initio* et DFT), 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.

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 [8]. en appliquant les lois de la mécanique ondulatoire aux électrons, elle permet de déterminer l'état électronique d'un système d'atomes, mais aussi l'ensemble de ses propriétés observables (structurales : géométries, angles, longueurs... ; énergétiques : énergies de liaison...).

II.1.1. Principe de base de la mécanique quantique

Les bases du calcul quantique ont été posées en 1925 par Heisenberg, Born et Jordan, puis finalisées en 1926 par Schrödinger et sa fameuse équation (1), dont le formalisme permet de décrire rigoureusement la nature microscopique de la matière [9].

$$\mathbf{H} \Psi = \mathbf{E} \Psi \quad (1)$$

Où:

H : est l'opérateur hamiltonien du système.

Ψ : est la fonction d'onde du système.

E : est l'énergie totale du système.

L'hamiltonien d'un système moléculaire non relativiste est composé d'un opérateur d'énergie cinétique (T) et d'un opérateur d'énergie potentielle (V). Avec des notations usuelles, l'hamiltonien moléculaire s'écrit donc de la façon suivante:

$$\mathbf{H} = \mathbf{T}e + \mathbf{V}ee + \mathbf{V}eN + \mathbf{V}NN + \mathbf{T}N \quad (2)$$

Cette équation ne peut être rigoureusement résolue que pour les systèmes mono-électroniques. La description des systèmes plus complexes nécessite la mise en œuvre d'un certain nombre d'approximations.

L'approximation de Born-Oppenheimer est la première et la plus fondamentale utilisée dans toutes les méthodes de MQ [10]. Selon cette approximation, le mouvement des électrons est séparé de celui des noyaux en prenant en compte le fait que les électrons sont beaucoup plus légers, et donc peuvent réagir à chaque changement de positions des noyaux presque immédiatement. On considère les noyaux comme fixes, donc la fonction d'onde électronique dépend seulement de leurs positions (et non de leurs mouvements).

Les calculs quantiques, constituent de nos jours, des outils fiables et utiles dans l'étude de la structure et de la réactivité des systèmes moléculaires. Nous distinguons trois approches:

- Les méthodes ab-initio (Hartree-Fock...)
- Les approximations de champ moyen (DFT)
- Les modèles semi-empiriques.

II.1.2. Les méthodes ab-initio

Les méthodes ab-initio sont des méthodes non empiriques, il n'y'a pas d'approximation à faire sauf celle de Born Oppenheimer et l'approximation OM-CLOA(Combinaison Linéaire d'Orbitales Atomiques) [11]. dans les méthodes ab-initio,

toutes les particules (noyaux et électrons) sont traitées explicitement.

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 .

Les méthodes ab initio se divisent en deux sous familles : les méthodes Hartree - Fock (HF, RHF, UHF, ROHF) (Hartree, 1928 ; Fock, 1930), et les méthodes post Hartree-Fock, (MP n, CAS, ...) (Moller, 1934). La principale différence entre ces deux méthodes est que les interactions électroniques sont négligées dans les méthodes HF et réintroduites dans les méthodes post HF. Ces méthodes ne peuvent être appliquées qu'à des systèmes de quelques dizaines d'atomes pour les méthodes HF et d'une dizaine d'atomes seulement pour les méthodes post HF [12].

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

Cette méthode constitue une bonne alternative aux méthodes ab initio. L'idée de base est d'utiliser la densité électronique (mesurable par rayons X par exemple) de notre système comme point de départ afin de retrouver l'énergie exacte du système, et donc la fonction d'onde associée. Les premiers théorèmes ont été développés par Kohn et Hohenberg [13]. Ils ont réussi à démontrer que :

- Pour un potentiel externe donné V_{ext} , un système à particules interactives possédera une seule et unique densité électronique.
- Une fonctionnelle universelle de l'énergie peut être définie en terme de densité. L'énergie exacte d'un système correspond au minimum global de la fonctionnelle de densité.

En 1965, Kohn et Sham développent les équations auto-cohérentes pour décrire l'énergie d'un système en fonction de sa densité, en présence d'un potentiel externe [14].

Différents types de fonctionnelles ont été développés afin de représenter au mieux les contributions d'échange et de corrélation. Nous pouvons citer :

Les fonctionnelles LDA (Local density approximation), les fonctionnelles GGA (Generalized gradient approximation) : elles introduisent dans leur expression un gradient de densité, Les fonctionnelles de ce type sont: Becke88, PW91, P86 et LYP, Les fonctionnelles méta-GGA. et Les fonctionnelles hybrides méta-GGA. Ces fonctionnelles, dont la plus connues est B3LYP. Notamment, de nouvelles fonctionnelles de ce type ont été développées par Zhao et Truhlar [15] (M06-2X, M06-HF...) et montrent une grande précision dans le calcul de l'énergie.

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.

Il existe bon nombre de bases de gaussiens possibles. On distingue deux sortes de fonctions de bases :

➤ Le premier type de base est formé d'orbitales de type Slater (STO) : c'est une base minimale utilisant n fonctions gaussiennes pour représenter chaque orbitale atomique. Ces bases dites de Slater décrivent très bien les orbitales atomiques mais sont toutefois moins faciles à utiliser pour les calculs numériques.

La plus répandue correspond à $n = 3,6$:

- La STO-3G : c'est une base minimale utilisant 3 fonctions gaussiennes pour chaque orbitale atomique.
- La STO-6G : c'est une base minimale utilisant 6 fonctions gaussiennes pour chaque orbitale atomique [16].

➤ Le second type de bases est formé de fonctions gaussiennes faciles à calculer GTO « Gaussian-Type Atomic Orbitals »: Ces bases, ne représentent pas très bien les orbitales atomiques. Leur grand avantage est de permettre le calcul des intégrales mono et surtout bi-électroniques d'une manière analytique et non numérique.

II.2. Les méthodes semi-empiriques

Les méthodes semi-empiriques reprennent le principe des méthodes ab initio. Toutefois, contrairement à ces dernières qui ne nécessitent aucun paramètre expérimental, mais seulement les lois fondamentales de la mécanique quantique, les méthodes semi-empiriques utilisent des paramètres ajustés avec des résultats expérimentaux afin de simplifier les calculs. En ne prenant en compte que les électrons de la couche de valence ou en négligeant certaines intégrales (intégrales bi-électroniques), elles nécessitent des temps de calcul plus courts et permettent d'accéder à des systèmes de taille plus importante et l'utilisation d'un jeu réduit de fonctions de base (typiquement STO-3G) [17].

Les termes énergétiques les plus difficile à calculer sont estimés à partir des données expérimentales. Les temps de calculs sont considérablement raccourcis, mais la méthode

est tributaire des composés qui ont servi à l'étalonner. Selon la nature des approximations utilisées, on distingue plusieurs variantes :

- **CNDO** : (Complete Neglect of Differential Overlap) Première méthode semi-empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965.
- **INDO** : (Intermediate Neglect of Differential Overlap) proposée par PopleBeveridge et Dobosh en 1967.
- **MINDO/3**: Proposée par Bingham, Dewar et Lo en 1975.
- **MNDO**: (Modified Neglect of Diatomic Overlap) Proposée par Dewar et Thiel en 1977.
- **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 [18].

II.3. Méthodes non quantiques (empirique)

II.3.1. Mécanique Moléculaire (MM)

L'expression "Mécanique moléculaire" désigne actuellement une méthode de calcul qui permet, d'obtenir des résultats de géométrie d'énergie moléculaires en se basant sur la mécanique classique.

La mécanique moléculaire est apparue en 1930 [19], mais s'est développée à partir des années 1960, avec les progrès d'accessibilité et de performance des ordinateurs. Elle permet de déterminer l'énergie d'une molécule en fonction de ses coordonnées atomiques et de chercher des minima de l'énergie correspondant à des conformères stables [20].

Cette méthode décrit une molécule comme une série de sphères dures et non inter-pénétrables, reliées entre elles par des forces mécaniques généralement harmoniques : elle est basée sur les lois de la mécanique classique (newtonienne).

L'idée directrice de cette méthode est d'établir, par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, le « CHAMP DE FORCE », qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire [21].

Les valeurs de ces forces proviennent de données expérimentales de spectroscopie vibrationnelle, de données de diffraction des RX ou de valeurs obtenues par les méthodes ab-initio. Le calcul de l'ensemble de ces forces, selon les règles établies pour les oscillateurs harmoniques, permet d'obtenir l'énergie moléculaire et de déterminer la structure tridimensionnelle. Aujourd'hui, la MM est utilisée pour interpréter les données de RMN [22].

L'avantage principal de la MM par rapport aux autres méthodes est la rapidité des calculs. Ceci est dû à une simplification des équations du champ de force ; il est donc possible de traiter des systèmes moléculaires très grands. En revanche, cette méthode ne prend pas en compte la structure électronique moléculaire. Il est donc impossible d'étudier des systèmes dans lesquels les effets électroniques sont prédominants .


La mécanique moléculaire utilise les approximations suivantes [23] :

- Chaque atome constitue une particule ;
- L'atome est considéré comme une sphère rigide ayant un rayon et une charge déterminée ;
- Les énergies sont calculées par des formules dérivées de la mécanique classique.


a. Champ de force en mécanique moléculaire

Le champ de force exprime réellement la moyenne des interactions électroniques entre les atomes . Il permet d'accéder à l'hypersurface énergétique d'une molécule en établissant un lien entre les déformations structurales du système et son énergie potentielle. Il désigne à la fois l'équation mathématique (fonction d'énergie potentielle) et les paramètres qui la composent. La fonction d'énergie potentielle définit une énergie empirique, l'énergie totale étant décomposée en une somme de termes additifs représentant chacun des interactions inter atomiques. Elle est exprimée comme une somme de contributions de plusieurs types d'interaction [24].

$$E_{\text{totale}} = E_{\text{liaison}} + E_{\text{angle}} + E_{\text{dièdre}} + E_{\text{VDW}} + E_{\text{électrostatique}} + E_{\text{pont-H}}$$



E_{liée}



E_{non-liée}

Cette énergie est exprimée sous la forme d'une somme de contributions bidimensionnelles, associées aux écarts de la structure par rapport aux paramètres de références (longueur de liaison, angle de valence,..) et d'une somme de contributions 3D caractéristiques d'une énergie stérique (énergie de Van der Waals, énergie coulombienne,

....). L'énergie stérique minimale calculée est la somme des contributions apportées par les énergies d'élongation, de flexion, de torsion, de Van der Waals, électrostatique,.... [25].

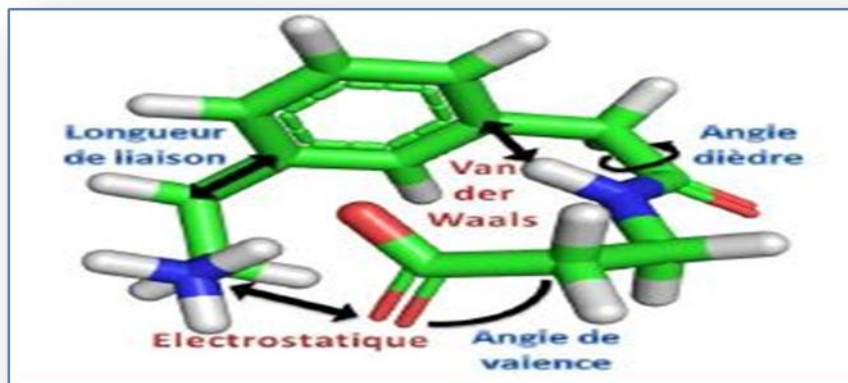


Figure I.1: Illustration des principales composantes d'un champ de force (les termes liés sont représentés en bleu et les non liés en rouge).

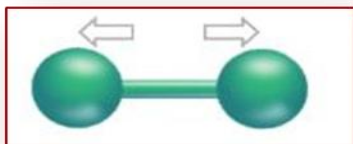
b. Energie d'interaction entre atomes liés

Les interactions intramoléculaires ne dépendent que des coordonnées internes des molécules c'est-à-dire des liaisons, des angles de valence, et de torsions. En fait pour affiner l'expression du terme potentiel et rendre plus fidèle la description du système, des termes de couplages entre différents atomes ont été introduits .

Ces déformations des liaisons et des angles sont représentées par un oscillateur harmonique avec une sommation sur toutes les liaisons covalentes ou sur tous les angles entre atomes liés par liaisons "covalentes" [26].

1-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 de ressort à partir de leurs valeurs d'équilibre . (Figure I.2). La variation d'énergie potentielle résultante de l'élongation des liaisons à la forme d'une fonction de Hooke:



$$E(L) = \frac{1}{2} K_r (L - L_0)^2$$

Où :

Figure I.2: Energie d'élongation entre deux atomes liés.

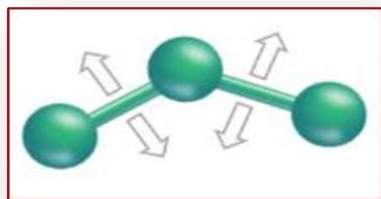
K_r : est la constante d'élongation ou constante de Hooke

L_0 : la longueur de la liaison de référence.

L : la longueur de la liaison dans le modèle.

2-Déformation des angles de valences (binding):

Définit l'énergie impliquée dans les variations d'angle θ entre deux liaisons contiguës, autour d'une valeur d'équilibre θ_0 (Figure I.3).



$$E(\theta) = \frac{1}{2} K_{\theta} (\theta - \theta_0)^2$$

Figure I.3 : Déformation des angles de valence

Où :

K_{θ} : constante de flexion.

θ_0 : angle de valence de référence.

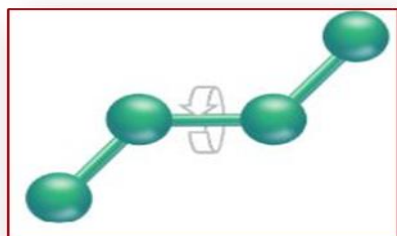
θ : angle de valence dans la molécule.

Le couple (K_{θ}, θ_0) représente ici encore un sous-ensemble du champ de force.

3-Energie de torsion:

Elle concerne l'angle dièdre formé par les atomes 1-2-3-4. Elle rend notamment compte de la structure 3D de la molécule.

L'évaluation de cette énergie $E(\Phi)$ se fait par une fonction développée en série de Fourier (Figure I.4) [27]:



$$E_{\phi} = \frac{1}{2} \sum_i A_{i,n} [1 + \cos(n\phi - \omega)]$$

Figure I.4: Energie de torsion.

Où :

$A_{i,n}$: constante de force.

n : périodicité de $A_{i,n}$.

ϕ : L'angle dièdre (Φ) définit la torsion autour de la liaison 2-3.

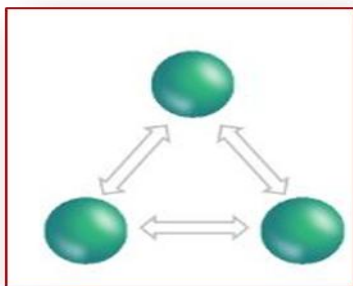
ω : Angle de phase.

c. Energie d'interaction entre atomes non liés

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

1-Energie de Van der Waals :

Le quatrième terme de la fonction d'énergie est le potentiel de Lennard-Jones qui traduit les interactions de van der Waals [28](Figure I.5).



$$E_{ij} = \sum_i \sum_j -\frac{A_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}}$$

Figure I.5: Energie de Van der Waals

Où :

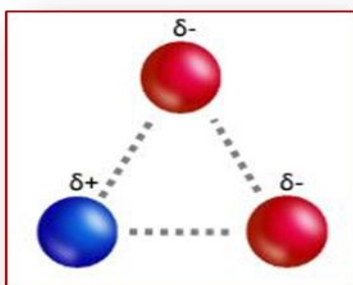
r_{ij} : La distance entre les deux atomes.

A_{ij} et B_{ij} constantes de Van Der Waals.

Il est constitué d'un terme répulsif en r_{ij}^{-12} représentant le principe d'exclusion de Pauli et la répulsion internucléaire à courte distance. Il contient également un terme attractif en r_{ij}^{-6} représentant les interactions d'origine dipolaire dues aux fluctuations des nuages électroniques de chacun des atomes (forces de London).

2-Energie d'interactions électrostatiques :

Il s'agit des interactions entre deux atomes portant chacun une charge. L'énergie de cette interaction est décrite par la loi de Coulomb :(Figure I.6)



$$E_{elec} = \sum q_i q_j / D r_{ij}$$

Figure I.6: Energie d'interactions électrostatiques

Où :

q_i, q_j : sont les charges portées par les atomes.

r_{ij} : la distance entre les deux atomes .

D : le constant diélectrique du milieu.

3-Energie de liaison hydrogène :

Les liaisons hydrogène sont le résultat des interactions électrostatiques (70%) et de Van der Waals (30%) entre un atome électronégatif (généralement un atome d'oxygène ou d'azote) portant un doublet d'électron libre et un atome d'hydrogène porté par un atome

électronégatif. Les deux atomes sont distants d'environ 3 Å. L'énergie des liaisons hydrogène est de l'ordre de 3 kcal.mol⁻¹[29].

Les phénomènes de répulsion et de délocalisation électronique interviennent. Plusieurs types de fonctions d'énergie potentielle ont été développés pour tenir compte de la directivité de la liaison hydrogène. Actuellement, les fonctions les plus utilisées permettant d'exprimer ces interactions dans des systèmes moléculaires importants sont souvent simplifiées:

La fonction $E_H = A/rij^{12} - B/rij^{10}$

La fonction $E_H = A'/rij^{12} - B'/rij^6$

Les coefficients A, B, A', B' sont spécifiques des liaisons hydrogène .

d. Différents champs de force en mécanique moléculaire

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais paramétrés de manières différentes. Depuis les années 1970, de nombreux champs de force ont été développés et commercialisés.

Dans ce qui suit on va présenter les principaux champs de forces utilisés dans les calculs de la MM:

- **MM2**: Il a été développé par Allinger et c'est le champ de force le plus utilisé par la communauté des chimistes organiciens [30]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcanes, alcènes et alcynes non conjugués, les composés carbonylés, les sulfures, les amines...), mais ses version améliorées **MM3** (1989) [31] et **MM4** (1996) [32] lui permet de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.
- **MM+** : est un champ de force robuste, il a l'aptitude de prendre en considération les paramètres négligés dans d'autres champs de force et peut donc s'appliquer pour des molécules plus complexes tels que les composés inorganiques [33].
- **AMBER** : (Assisted Model Building with Energy Refinement)[34]. Ce champ de force a été paramétrisé pour les protéines et les acides nucléiques. Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules [35].
- **OPLS**: (Optimised Potentials for Liquid Simulation) [36].
- **GROMOS**: (Groningen Molecular Simulation Program Package) [37].
- **CHARMM (Bio+)**: (Chemistry Harvard Macromolecular Mechanic) .
- **SPASIBA**: (Spectroscopic Potentiel Algorithm for Simulating Biomolecular conformational Adaptability) [38].

- **MMFF94**: C'est l'un des champs de force de mécanique moléculaire les plus récents, il a été développé par Tom Halgren.
- **UFF**: (Universal Force Field) [39].
- **EMO (Energy Of MOlecule)** : développé par B. Blaive [40], il est basé sur le champ de force MM2.

e. Minimisation de l'énergie

La mécanique moléculaire nous permet de minimiser l'énergie calculée. Le rôle de la minimisation est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts interatomiques.

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[41].

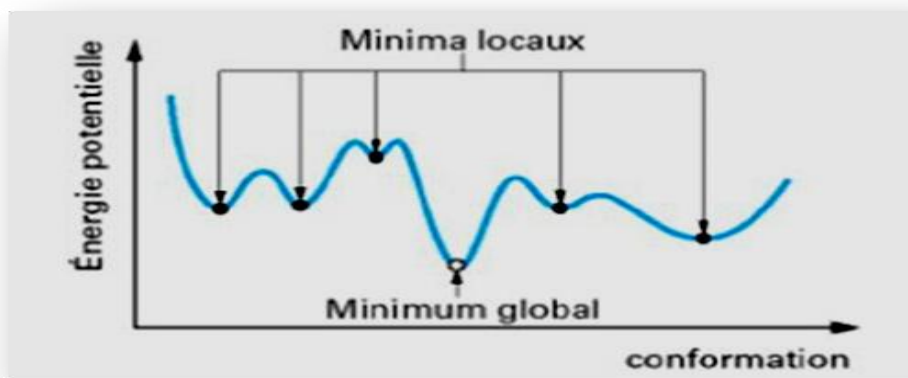


Figure I.7: Déterminer les minima de l'énergie globale d'interaction

Les différentes méthodes de minimisation les plus utilisées sont :

- La méthode du gradient conjuguée.
- La méthode de la plus grande pente appelée «Steepest descent».
- La méthode de Newton Raphson[42].

On peut dire que la mécanique moléculaire aujourd'hui est à la porte de tous les chercheurs. La mécanique moléculaire ne peut pas encore rivaliser avec la mécanique quantique dans beaucoup de domaine qui lui sont propre, mais elle reste une méthode de

choix dans l'interprétation de phénomènes sous contrôle stérique et dans le calcul de structure.

Il existe également des méthodes hybrides de Mécanique Moléculaire/Mécanique Quantique qui ont été développées pour essayer de profiter des avantages des deux méthodes. Le principe de base étant d'utiliser la Mécanique Quantique pour une zone restreinte d'intérêt comme le site actif d'une protéine et de traiter le reste du système avec la mécanique moléculaire pour gagner du temps de calcul. Bien que ces méthodes aient déjà prouvé leur efficacité, elles ne sont pas réellement adaptées à nos problématiques [43].

II.3.2. Dynamique Moléculaire

Les premières simulations de dynamique moléculaire remontent à la fin des années 1950 et au début des années 1960 pour des systèmes plus importants [44].

Les simulations de DM consistent à calculer les positions et les vitesses d'un système d'atomes. Elles sont très importantes pour la recherche du comportement structural des biomolécules en fonction du temps. En utilisant la DM, on peut étudier la flexibilité ou la rigidité des biomolécules, mesurer les interactions intermoléculaires entre la protéine et les ligands ou d'autres biomolécules, calculer l'énergie libre ou bien étudier l'effet du solvant sur la structure des biomolécules. Ainsi, au contraire de la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire produit des conformations qui dépendent moins de la structure initiale .

a. Principe de la dynamique moléculaire

En dynamique moléculaire, le mouvement des atomes d'une molécule est simulé en intégrant les équations de Newton pour chaque atome i :

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

F_i : Vecteur force agissant sur l'atome i .

m_i : Masse de l'atome i .

a_i : Vecteur accélération de l'atome i .

r_i : La position de l'atome i .

Une simulation de dynamique moléculaire se compose de quatre phases distinctes :

- Initialisation.
- Thermalisation .
- Equilibration.
- Dynamique ou production .

b. Applications de la dynamique moléculaire

Une application importante de la dynamique moléculaire est l'analyse des modes normaux de vibration le long de la trajectoire. Une autre application est l'optimisation et le raffinement des structures 3D d'après les données de la cristallographie et/ou de la RMN. La mise en œuvre de cette méthode requiert néanmoins des moyens de calcul particulièrement puissant (CRAY par exemple) et elle est coûteuse en temps et en argent. Elle se généralise cependant pour les études de peptides et de petites protéines [45].

II.3.3. 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 » [46].

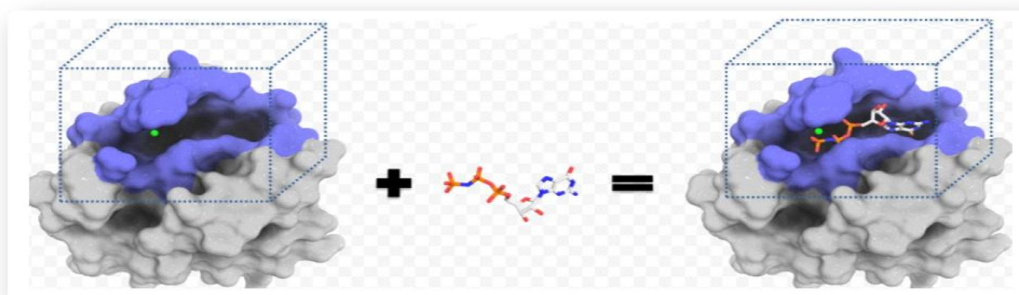


Figure I.8: Représentation schématique du docking moléculaire.

Cet outil est actuellement très sollicité dans la recherche de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux afin d'identifier une molécule pouvant avoir une forte activité sur une protéine cible ou au contraire d'identifier la cible d'une molécule ayant des activités biologiques intéressantes. D'autres parts, lorsque la structure tridimensionnelle d'une protéine cible est définie, le docking permet de mettre en évidence les régions et les résidus à explorer pour optimiser l'affinité d'un ligand avec cette cible. Ainsi, il est également utilisé pour optimiser la sélectivité d'une molécule entre deux ou plusieurs protéines .

Le Docking Moléculaire est l'étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation de complexes moléculaires telles que:

- ✓ Les interactions V.d.W.
- ✓ Les interactions électrostatiques (dipôle-dipôle, Leonard Johns).
- ✓ Les interactions Hydrogènes [47].

Une simulation de docking entre deux molécules comprend essentiellement deux étapes le docking proprement dit et le scoring (Figure I.9):

- **Le Docking** (la première étape) 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.
- **Le Scoring** (la deuxième) 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 [48].



Figure I.9 : Principe général d'un programme de docking

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 [49] (Figure I.10):

- ✓ 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.

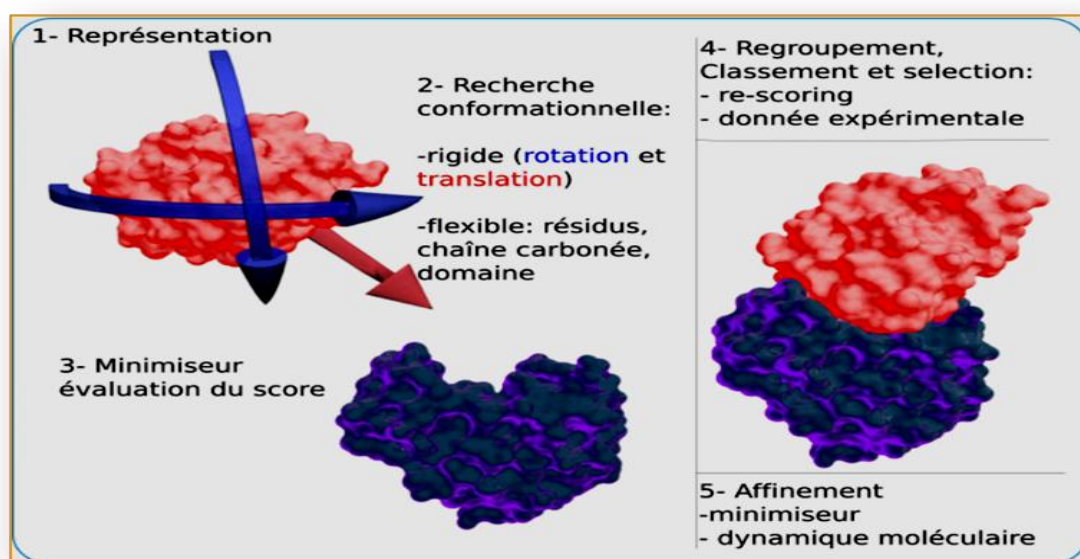


Figure I.10: Protocole général de docking.

b. Algorithmes du docking

Le plus important problème pour l'étape de Docking 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 .

Il existe différentes Algorithmes qui permettent de prendre en compte la flexibilité du ligand notamment des Algorithmes systématiques et des Algorithmes aléatoires ou stochastiques [50].

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

Le premier modèle d'amarrage moléculaire mise au point par le chimiste allemand Heinz Emil Fischer à la fin du XIXe siècle considérait le récepteur et le ligand comme corps rigide en se basant sur le modèle « clé-serrure » [51]. C'est sans aucun doute la catégorie la plus simple et rapide de docking. Mis en marche plus tard, 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.

d. Interaction protéine-ligand

Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de nouveaux médicaments [52]. Les interactions qui peuvent exister entre cette petite molécule (le ligand) et la protéine sont : des interactions polaires (liaisons hydrogène, liaisons ioniques) et des interactions hydrophobiques (contact entre des groupes hydrophobes).

Les interactions entre la protéine et le ligand suivent le concept de la complémentarité stérique. Récemment d'autres algorithmes ont été développés [53]. Ces algorithmes sont moins performants car ils modélisent les différentes interactions de la même manière. Pour contourner cette carence la technique utilisée considère trois niveaux de types d'interaction :

- ✓ Les interactions du 3^{ème} niveau concernent les liaisons hydrogène et les liaisons ioniques, elles sont les plus restrictives géométriquement à cause de leur courte distance H-accepteur ----- H-donneur = 1.9Å°.

- ✓ Les interactions du 2^{ème} niveau sont les interactions hydrophobiques entre le centre d'un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'un amide ou des groupements méthyle. La géométrie de ce type d'interaction est légèrement moins restrictive, on peut alors les séparer des interactions purement hydrophobiques. Des études sur l'interaction protéine-ligand ont montré que ce type d'interaction est le plus fréquent.
- ✓ Les interactions du 1^{er} niveau sont les contacts hydrophobiques non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatique ou aromatique. Ces interactions sont généralement sphériques avec un rayon de 4Å et elles couvrent la plus grande partie du ligand [54]. Pour le placement du ligand dans le site actif de la protéine, les interactions du 3^{ème} niveau sont utilisées en premier, ensuite celles du 2^{ème} niveau, et enfin celles du 1^{er} niveau.

e. Programmes de Docking moléculaire

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Parmi tous ces programmes d'amarrage moléculaire qui ont déjà prouvé leur efficacité, on peut trouver : comme GOLD [55], FlexX [56], DOCK [57], AutoDock [58], MOE [59] ou bien UCSF Chimera [60] et Glide [61]. R. Thomsen et al [62] ont fait une comparaison entre 4 logiciels de docking et ils ont montré que le MVD est le plus précise (MVD: 87%, Glide: 82%, Surflex: 75%, FlexX: 58%).

III. Limitation de la modélisation moléculaire

La Modélisation Moléculaire s'adresse surtout à des organiciens intéressés par des problèmes de réactivité et de structure de molécules comportant déjà un nombre significatif d'atomes, elle s'adresse aussi au biochimiste et pharmaciens préoccupés par la relation structure-activité [63]. Si l'on veut exploiter intelligemment les programmes disponibles pour le calcul et la visualisation, certains principes de base doivent être retenus, il est nécessaire de connaître les origines de la méthode, ses potentialités et ses limites.

Cette méthode empirique, ne s'applique bien que lorsqu'on étudie des molécules voisines de celles qui ont servi à établir le champ de force. Plus on sophistique le champ de force de la mécanique moléculaire (MM2----->MM3) plus on a besoin de paramètres; il est difficile d'avoir un champ de force général et on s'oriente plutôt vers des champs de force spécifiques, sur les hydrocarbures conjugués, les protéines, les peptides [64] et les polymères,...etc. Enfin il faut toujours valider une étude en Modélisation Moléculaire par confrontation avec l'expérience (RX, RMN....) sur des molécules types.

IV. Méthodes de relations quantitatives structures activités QSAR

Actuellement, la modélisation moléculaire est largement utilisée [65] pour élaborer des modèles fiables permettant de prédire les propriétés physico-chimiques et les activités biologiques. Parmi les techniques de chimie computationnelle, nous pouvons citer les techniques de QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships).

Les méthodes QSAR ont pour objectif d'établir des relations mathématiques à l'aide de méthodes d'analyse de données, reliant des propriétés moléculaires à l'activité biologique mesurée dans les mêmes conditions expérimentales pour une série de composés, ce qui permet d'identifier et d'évaluer l'impact des propriétés influençant l'activité biologique.

a. Paramètres biologiques

Les données biologiques sont habituellement exprimées sur une échelle logarithmique en raison de la relation linéaire entre la réponse et le logarithme de dose dans la région centrale de la courbe de log dose-réponse. Les logarithmes inverses de l'activité ($\log 1/C$) sont également utilisés pour obtenir des valeurs mathématiques plus élevées lorsque les structures sont biologiquement très efficaces. Des exemples de données biochimiques ou biologiques, utilisés dans l'analyse de QSAR, sont décrits dans le tableau I.1 [66].

Tableau I.1 : Types de données biologiques utilisées dans l'analyse QSAR

| Source d'activité | Paramètres biologiques |
|---------------------------------|------------------------------------|
| 1. Récepteurs isolés | |
| Constante de vitesse | $\text{Log } k$ |
| Constante de Michaelis-Menten | $\text{Log } 1/K_m$ |
| Constante d'inhibition | $\text{Log } 1/K_i$ |
| 2. Systèmes cellulaires | |
| Constante d'inhibition | $\text{Log } 1/IC_{50}$ |
| Résistance croisée | $\text{Log } CR$ |
| Données biologiques in vitro | $\text{Log } 1/C$ |
| Mutation de gene | $\text{Log } TA_{98}$ |
| 3. Systèmes in vivo | |
| Facteur de bioconcentration | $\text{Log } BCF$ |
| Vitesses de la réaction in vivo | $\text{Log } I$ (induction) |
| Vitesses pharmacodynamiques | $\text{Log } T$ (clairance totale) |

b. Descripteurs moléculaires

L'activité biologique ne peut pas être reliée directement à la structure moléculaire ; cette dernière est codée par des grandeurs qui représentent d'une manière quantitative les informations contenues dans la structure moléculaire telles que les caractéristiques physico-chimiques et structurales. Ces grandeurs sont appelées descripteurs [67]. une fois ces derniers disponibles, il est possible d'établir des relations entre ceux-ci et une activité (ou propriété) à l'aide des outils de la modélisation[68]. On en dénombre aujourd'hui des milliers, qui peuvent être calculés ou obtenus de manière empirique. De nombreux logiciels ont été développés pour calculer les différents descripteurs moléculaires .

La classification des descripteurs moléculaires est établie en fonction :

- Leur origine (constitutionnel, géométrique, topologique, thermodynamique, quantique).
- Leur dimensionnalité (1D, 2D, 3D ou 4D).

c. Analyse de régression

La régression linéaire multiple est la plus simple méthode statistique de modélisation et la plus appliquée dans les études de la relation structure-activité . La méthode a été popularisée par *Hansch* en reliant l'activité biologique aux propriétés expérimentales lipophiliques, électroniques et stériques pour des séries de composés .

La méthode RLM repose sur l'hypothèse qu'il existe une relation linéaire entre une variable dépendante Y (dans notre cas l'activité biologique) et une série de n variables indépendantes X_i (ici, les descripteurs moléculaires) [69]. L'objectif est d'arriver à une équation mathématique de la forme :

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + \dots + a_n X_n . \quad \text{eq (01)}$$

Où a_i ($i = 0, 1, \dots, n$) sont des constantes inconnues appelées coefficients de régression et l'objectif de l'analyse de régression est d'estimer ces constantes

On suppose que toutes les variables explicatives sont indépendantes l'une de l'autre [70]. La détermination de l'équation (01) se fait alors à partir d'une base de données de p échantillons pour laquelle à la fois les variables dépendantes et la variable indépendante sont connues. Il s'agit donc de considérer un système de p équations. Le meilleur modèle de régression linéaire multiple est celui qui a des valeurs R (le coefficient de corrélation de Bravais Pearson variée entre 0 et ± 1) et F (test Fischer)

élevées, une faible erreur-type, le moins de variables et une capacité de prédiction élevée [71].

Une fois développé, le modèle doit être interprété en analysant tous les paramètres statistiques de ce modèle, sa qualité doit être aussi étudiée, cette qualité est vérifiée par ce que l'on appelle validation.

Validation interne

La validation croisée LOO (leave-one-out) est une technique de validation de modèle permettant d'évaluer comment les résultats d'une analyse statistique se généraliseront à un ensemble de données indépendantes[72], dans lequel nous utiliserons ces paramètres statistiques:

PRESSE (somme résiduelle prédite des carrés).

$$\text{PRESS} = \sum (Y_{\text{obs}} - Y_{\text{calc}})^2$$

TSS (somme totale des carrés).

$$\text{SSY} = \sum (Y_{\text{obs}} - Y_{\text{mean}})^2$$

S_{PRESS} (validation standard des erreurs de prédiction).

$$S_{\text{PRESS}} = \sqrt{\frac{\text{PRESS}}{n}}$$

R²_{CV} (coefficient de corrélation validé de façon croisée).

$$R_{\text{CV}}^2 = 1 - \frac{\text{PRESS}}{\text{SSY}}$$

R²_{adj}(ajusté R-carré).

$$R_{\text{adj}}^2 = \left([1 - (r^2)] \left(\frac{n - 1}{n - p - 1} \right) \right)$$

PE (erreur de prédiction) .

$$\text{PE} = 0.6745 (1 - r^2) / \sqrt{n}$$

Avec:

n est le nombre des observations (les molécules) ; **p** est le nombre de variables indépendantes (les descripteurs).

Validation externe

Afin de tester de manière fiable le pouvoir prédictif du modèle QSAR[73], il est nécessaire d'employer un ensemble de validation externe, non employé pour le développement du modèle. Pour se faire, soit un ensemble de molécules divisé en deux : un ensemble d'apprentissage sur lequel le modèle est développé "**Training set**" et un ensemble de validation utilisé pour déterminer sa validité externe "**Test set**". Une fois l'ensemble de validation mis en place, il suffit alors d'appliquer le modèle QSAR aux molécules qui le composent et de déterminer la corrélation existant entre les activités calculées et celles expérimentales. Plus cette corrélation est importante, plus le modèle est capable de prédire les activités pour des molécules hors l'ensemble d'apprentissage[74].cette validation est caractérisée par le paramètre Q_{test}^2 .

V. 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 [75]. À noter, le travail pionnier de Lipinski et al 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) [76]. C'est ce que l'on appelle *la Rule-of-five* qui définit la relation entre les paramètres pharmacocinétiques et physicochimiques.

V.1. La pharmacocinétique

Pharmacocinétique est traditionnellement définie comme l'étude du sort des médicaments dans l'organisme [77], 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.

V.1.1. Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME)

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

a. Absorption

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

Est la répartition du principe actif du médicament depuis son entrée dans la circulation générale jusqu'à son arrivée au site d'activité. 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 principe actif se présente sous deux formes dans le plasma : une forme libre active, qui permet au principe actif de diffuser librement et de rejoindre l'organe cible où il exercera son action ; une forme liée aux protéines plasmatiques, sous laquelle le principe actif est incapable de se diffuser, donc d'atteindre son site d'action. des organes comme le cerveau présente une mauvaise distribution, en partie à cause d'une membrane protectrice, la barrière hémato-encéphalique (BHE), qui entrave la diffusion de xénobiotiques dans le système nerveux central (SNC).

c. Métabolisme

Comprend les biotransformations ou modifications chimiques que subit une substance médicamenteuse dans l'organisme. Le résultat de ces biotransformations est généralement la réduction de la substance en une forme inerte, appelée métabolite inactif, plus facilement éliminable. Les substances médicamenteuses ne sont cependant pas toutes inactivées par le métabolisme ; certains médicaments dits précurseurs ne deviennent actifs qu'après leur biotransformation, d'autres sont bio transformés en un ou plusieurs métabolites actifs.

d. Élimination

Consiste en l'excrétion de la substance médicamenteuse hors d'organisme. Elle est assurée par divers organes : le rein le plus important, le foie et les poumons. Une portion de certains médicaments peut se retrouver dans la salive, la sueur ou le lait maternel.

Cette séparation en quatre phases du circuit du médicament dans l'organisme est rationnelle mais artificielle. En effet, il n'y a pas de réelle séparation temporelle[78].

V.2. Quelques propriétés physico-chimiques**V.2.1. La masse moléculaire (M)**

Est le rapport entre la masse d'une molécule et l'unité de masse des atomes « uma » (équivalente à un douzième, soit $1/12$, de la masse d'un atome de carbone 12), elle est donc sans unité. Elle peut être obtenue par l'addition de la masse atomique de chaque atome de la molécule multipliée par leur indice numérique dans la formule brute ou mesurée expérimentalement par spectrométrie de masse .

V.2.2. Nombre de liaisons rotatives (n rot b)

Ce paramètre topologique simple est une mesure de flexibilité moléculaire. Il a été montré pour être un descripteur de très bonne biodisponibilité orale de médicaments. Le nombre de liaisons rotatives (NRB) a été défini comme une simple liaison, non pas dans un cycle, liée à un atome non terminal (c'est-à-dire non hydrogène). Sont exclues du compte les liaisons amide C-N en raison de leur barrière à l'énergie de rotation élevée.

V.2.3. Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène

Noté (NHD), calcule le nombre de donneurs de liaison hydrogène dans la molécule. Il s'agit du nombre d'atomes possédant une case quantique vide et contenant un hydrogène acide, c'est-à-dire un atome d'hydrogène lié à un hétéroatome (comme dans les amines, alcools, thiols).

V.2.4. Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène

Noté (NHA), calcule le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène dans la molécule. Il s'agit du nombre d'atomes possédant des doublets non liants (azote, oxygène ou fluor) et capable de se lier par liaisons hydrogène à d'autres molécules.

V.2.5. Superficie topologique de la surface polaire (TPSA)

La superficie topologique de la surface polaire (TPSA : topological polar surface area) est un paramètre très utile pour la prédiction des propriétés du transport des médicaments. elle est définie comme la somme des surfaces des atomes polaires (habituellement, l'oxygène, l'azote, le soufre, le chlore et l'hydrogène ci-jointes) dans une molécule [79].

V.2.6. Lipophilicité

La lipophilie (caractéristique déterminant l'affinité chimique pour les graisses) d'une molécule est un critère extrêmement important. Elle est un paramètre qui permet de savoir si la molécule a plus tendance à être hydrophile (ayant une affinité pour l'eau), ou lipophile (donc hydrophobe). Les molécules trop lipophiles ont beaucoup plus de chances d'être instables métaboliquement, d'avoir des problèmes de toxicité et de faible solubilité aqueuse [80]. le coefficient de partage des molécules médicamenteuses est le n-octanol. Le coefficient de partage P se calcule de la manière suivante:

$$\text{Log P} = \frac{\text{Concentration du composé en solution dans l'octanol}}{\text{Concentration du composé en solution dans l'eau}}$$

Permet d'estimer la biodisponibilité d'une molécule

- $0 < \text{Log P} < 3$: Activité biologique optimale (perméabilité, solubilité).
- $\text{Log P} < 0$: Composés trop hydrophiles (mauvaise perméabilité de bicouche lipidique).
- $\text{Log P} > 3$: Composés trop lipophiles (mauvaise solubilité aqueuse).

V.3. Propriétés pharmacocinétiques

V.3.1. Absorption gastro-intestinale (GI)

Ce descripteur indique la capacité d'un composé à traverser la barrière gastro-intestinale pour accéder au sang. Elle se caractérise essentiellement par l'un des trois mécanismes qui comprennent la diffusion facilitée, la diffusion passive, et le transport actif.

V.3.2. La perméabilité BBB

La barrière hémato-encéphalique (BBB) protège le système nerveux central (SNC) en séparant le tissu cérébral de la circulation sanguine. Elle est principalement formée par l'endothélium cérébral, qui peut empêcher les molécules plus grosses et les petites molécules de pénétrer dans le SNC et permettre le transport uniquement de molécules solubles dans l'eau et des lipides et de molécules de transport sélectif.

V.4. Les propriétés « drug-like »

Le terme "Drug-likeness" apparaît comme un coefficient pour étudier en basant sur les propriétés moléculaires d'un composé qui influent sa pharmacodynamique et pharmacocinétique et permettre d'optimiser son absorption, distribution, métabolisme et élimination (ADME) dans le corps humain autant que médicament.

V.4.1. Lipinski

Lipinski a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D). Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement:

- ✓ Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 u.m.a.
- ✓ Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté Log P, doit être

inférieur à 5.

- ✓ Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5.
- ✓ Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10.

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne satisfont pas au moins 2 des règles sont fortement susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité.

La « règle des 5 » a été mise au point à partir de composés administrables par voie orale ayant passé avec succès la phase II des tests cliniques. Ce n'est donc pas une méthode pour distinguer les composés étant potentiellement des médicaments de ceux n'en étant pas, mais plutôt une méthode pour identifier les composés ayant une faible absorption ou une faible perméabilité [81].

V.4.2. Ghose

Le filtre de Ghose (Amgen) décrit les petites molécules en fonction de leurs propriétés physicochimiques, de l'existence de groupes fonctionnels et de leurs sous-structures. La plage de qualification comprend:

- ✓ Poids moléculaire entre 160 et 480
- ✓ Log P calculé entre -0,4 et 5,6
- ✓ Réfractivité molaire entre 40 et 130
- ✓ Nombre total d'atomes entre 20 et 70 [82].

V.4.3. La règle de Veber

De plus, Veber a introduit deux critères supplémentaires à ce qui est aujourd'hui communément appelé "la règle des 5". D'après l'étude de 1100 composés candidats-médicaments chez GlaxoSmithKline, la surface polaire (PSA, polar surface area) du composé doit être inférieure à 140 \AA^2 et le nombre de liaisons de rotation ("rotatable bonds" en anglais) doit être inférieur à 10 pour une bonne biodisponibilité par voie orale chez le rat [83].

V.4.4. Egan

Le filtre d'Egan (filtre Pharmacia) prévoit que les médicaments absorption dépendent des processus impliqués dans la perméabilité membranaire d'une petite molécule. Ces modèles symbolisent la molécule comme un médicament s'ils ont respectivement $WLOGP \leq 5,88$ et $TPSA \leq 131,6$. Le modèle de calcul d'Egan pour l'absorption intestinale passive humaine (HIA) de petites molécules tient compte des mécanismes de transport actif et d'efflux et est donc robuste pour prédire l'absorption de médicaments [84].

V.5. La Chimie Médicinal

V.5.1. PAINS

Les PAINS (Pan Assay Interference Compounds ou frequent hitters ou promiscuous compounds) sont les molécules qui montrent une réponse puissante dans les essais indépendamment des cibles protéiques, notamment ces composés sont signalés comme étant actifs dans de nombreux essais différents, qui peuvent être considérés comme des points de départ potentiels pour une exploration plus approfondie. SwissADME renvoie des avertissements si de tels sont trouvés dans la molécule en cours d'évaluation [85].

V.5.2. Brenk

Brenk considère les composés qui sont plus petits et moins hydrophobes et non ceux définis par la "règle des 5 de Lipinski" pour élargir les possibilités d'optimisation des pistes. Ceci après avoir exclu les composés comportant des groupes potentiellement mutagènes, réactifs et défavorables tels que les groupes nitro, les sulfates, les phosphates, les 2 - halopyridines et les thiols [86].

V.5.3. Lead-likeness

Il existe également des composés dits " lead-like ". Le concept de molécule lead-like est basé sur le même principe que le concept de molécule drug-like, mais il est plus restrictif. Lors d'un criblage à haut débit, lorsqu'un ou plusieurs hits (molécules réagissant avec la cible) sont découverts, on cherche alors un lead, c'est à dire une molécule dont la structure est optimisée à partir de celle(s) des hits. Ce composé lead servira ensuite à trouver un composé dont l'activité sur la cible biologique est optimale. Cette étape se situant après la découverte d'activité [87].

V.5.4. Accessibilité synthétique

L'accessibilité synthétique (SA) est un facteur majeur à considérer dans ce processus de sélection. Evidemment, pour un nombre raisonnable de molécules, les chimistes médicaux sont les mieux à même de déterminer l'AS .le score SA varie de 1 (très facile) à 10 (très difficile).

Références

- [1]: Helm, L., and A. E. Merbach. "Water exchange on metal ions: experiments and simulations." *Coordination Chemistry Reviews* 187.1 (1999): 151-181.
- [2]: Leach, Andrew R., and Andrew R. Leach. *Molecular modelling: principles and applications*. Pearson education, 2001.
- [3]: Rivail, J. J. "Éléments de chimie quantique à l'usage des chimistes." *InterEditions/Editions du CNRS, Paris* (1994): 169-193.
- [4]: Koch, W., and M. C. Holthausen. "A Chemist's Guide to Density Functional Theory. WILEYVCH, Verlag GmbH." (2000).
- [5]: Yu, Wenbo, and Alexander D. MacKerell. "Computer-aided drug design methods." *Antibiotics*. Humana Press, New York, NY, (2017):85-106.
- [6]: Young, D., « Computational Chemistry: A practical guide for applying techniques to real world problems », Chapitre 10, éditions Wiley Inter-Science (2001):78-91
- [7]: Cancès, Eric, Claude Le Bris, and Yvon Maday. "Méthodes mathématiques en chimie quantique. Une introduction, Mathématiques & Applications (Berlin)[Mathematics & Applications], vol. 53." (2006).
- [8]: Boyd, Donald B., and Kenny B. Lipkowitz. "Molecular mechanics: The method and its underlying philosophy." *Journal of Chemical Education* 59.4 (1982): 269.
- [9]: Schrödinger, E. "SCHRÖDINGER 1926C." *Annalen der Physik* 79 (1926): 734.
- [10]: Hchre, W. J., et al. "Ab Initio Molecular Orbital Theory." (1986).
- [11]: Boucekkine, Ghania. *Méthodes de la chimie quantique*. Ed. Techniques Ingénieur, 2007.
- [12]: Piron, Constantin. *Mécanique quantique: Bases et applications*. PPUR presses polytechniques, 1998.
- [13]: Hohenberg, Pierre, and Walter Kohn. "Inhomogeneous electron gas." *Physical review* 136.3B (1964): B864.
- [14]: Chermette, H. "Density functional theory: a powerful tool for theoretical studies in coordination chemistry." *Coordination chemistry reviews* 178 (1998): 699-721.
- [15]: Zhao, Yan, and Donald G. Truhlar. "The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals." *Theoretical chemistry accounts* 120.1 (2008): 215-

241.

[16]: Pople, J. A., et al. "Molecular orbital studies of vibrational frequencies." *International Journal of Quantum Chemistry* 20.S15 (1981): 269-278.

[17]: Brut, Marie. Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques: les Modes Statiques. Diss. Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2009.

[18]: Leach, A.R., Empirical force field models: molecular mechanics, in *Molecular modeling: principles and applications*, Longman, A.W., Editor: Harlow, England. 1996.

[19]: Karzazi, Yasser. Structure électronique et champ de forces moléculaire des cycloimmonium ylures. Diss. Lille 1, 1996.

[20]: Burkert, U. N. L. A., and N. L. Allinger. "Molecular Mechanics, Am. Chem. Soc." (1982).

[21]: LOMAS, J. "La mécanique moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entités moléculaires." *L'actualité chimique* 5 (1986): 7-22.

[22]: Allinger, Norman L. "Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms." *Journal of the American Chemical Society* 99.25 (1977): 8127-8134.

[23]: Liotta, Dennis, ed. *Advances in Molecular Modeling*. Vol. 1. Jai Press, 1988.

[24]: Bowen, J. Phillip, and Norman L. Allinger. "Molecular mechanics: the art and science of parameterization." *Reviews in computational chemistry* (1991): 81-97.

[25]: Allinger, Norman L., Xuefeng Zhou, and John Bergsma. "Molecular mechanics parameters." *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 312.1 (1994): 69-83.

[26]: Allinger, N. L. "Calculation of molecular structure and energy by force-field methods." *Advances in physical organic chemistry*. Vol. 13. Academic Press, (1976): 1-82.

[27]: Young, David C. "A practical guide for applying techniques to real-world problems." *Computational Chemistry*, New York 9 (2001): 390.

[28]: Burkert, Ulrich, and ALLINGER NL. "Molecular mechanics." (1982).

[29]: Richard, Philippe. "Introduction à la modélisation moléculaire." *Mécanique Moléculaire*, chapitre II, (mastercmpp. u-bourgogne. fr/Modelisation_Notes_Cours2_2009. pdf) (2010).

[30]: Allinger, Norman L. "Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms." *Journal of the American Chemical Society*

99.25 (1977): 8127-8134.

[31]: Allinger, Norman L., Young H. Yuh, and Jenn Huei Lii. "Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 1." *Journal of the American Chemical Society* 111.23 (1989): 8551-8566.

[32]: Allinger, Norman L., Kuohsiang Chen, and Jenn-Huei Lii. "An improved force field (MM4) for saturated hydrocarbons." *Journal of computational chemistry* 17.5-6 (1996): 642-668.

[33]: Hocquet, Alexandre, and Morten Langgård. "An evaluation of the MM+ force field." *Molecular modeling annual* 4.3 (1998): 94-112.

[34]: Weiner, S. J., et al. "Force field calculations in computational chemistry." *J. Comput. Chem* 7 (1986): 200-230.

[35]: Weiner, Paul K., and Peter A. Kollman. "AMBER: Assisted model building with energy refinement. A general program for modeling molecules and their interactions." *Journal of Computational Chemistry* 2.3 (1981): 287-303.

[36]: J. Smith.M. Karplus, *Journal of the American Chemical Society*. 114 (1992): 801.

[37]: Van Gunsteren, Wilfred F., and Martin Karplus. "Effect of constraints on the dynamics of macromolecules." *Macromolecules* 15.6 (1982): 1528-1544.

[38]: Shimanouchi, T. "Force constants of small molecules." *Pure and Applied Chemistry* 7.1 (1963): 131-146.

[39]: Halgren, Thomas A. "Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94." *Journal of computational chemistry* 17.5-6 (1996): 490-519.

[40]: Zinelabidine, A., et al. "Molecular mechanics modelling of siderophores." *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 286 (1993): 267-274.

[41]: Baaden, M. "Outils pour étudier la structure et la dynamique des peptides et des protéines." Paris: Institut de Biologie Physico-Chimique (2003).

[42]: Brooks, Bernard R., et al. "CHARMM: a program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations." *Journal of computational chemistry* 4.2 (1983): 187-217.

[43]: Dugas, Hermann. "Principes de base en modélisation moléculaire." Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l'Université de Montréal (1996).

[44]: Rahman, Aneesur. "Correlations in the motion of atoms in liquid argon." *Physical review* 136.2A (1964): A405.

- [45]: McCammon, J. A., and S. C. Harvey. "Dynamics of proteins and nucleic acids cambridge univ." Press, New York (1987).
- [46]: Kitchen, Douglas B., et al. "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications." *Nature reviews Drug discovery* 3.11 (2004): 935-949.
- [47]: Warren, Gregory L., et al. "A critical assessment of docking programs and scoring functions." *Journal of medicinal chemistry* 49.20 (2006): 5912-5931.
- [48]: Jain, Ajay N. "Scoring functions for protein-ligand docking." *Current Protein and Peptide Science* 7.5 (2006): 407-420.
- [49]: Lam, Heidi, et al. "Empirical studies in information visualization: Seven scenarios." *IEEE transactions on visualization and computer graphics* 18.9 (2011): 1520-1536.
- [50]: Brooijmans, Natasja, and Irwin D. Kuntz. "Molecular recognition and docking algorithms." *Annual review of biophysics and biomolecular structure* 32.1 (2003): 335-373.
- [51]: Renvez, Guillaume. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines: vers un processus de docking. Diss. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2010.
- [52]: Böhm, Hans-Joachim. "The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure." *Journal of computer-aided molecular design* 8.3 (1994): 243-256.
- [53]: Rarey, Matthias, Bernd Kramer, and Thomas Lengauer. "Docking of hydrophobic ligands with interaction-based matching algorithms." *Bioinformatics (Oxford, England)* 15.3 (1999): 243-250.
- [54]: Rarey, Matthias, et al. "A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm." *Journal of molecular biology* 261.3 (1996): 470-489.
- [55]: Jones, Gareth, Peter Willett, and Robert C. Glen. "Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation." *Journal of molecular biology* 245.1 (1995): 43-53.
- [56]: Rarey, Matthias, Stephan Wefing, and Thomas Lengauer. "Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins." *Journal of computer-aided molecular design* 10.1 (1996): 41-54.
- [57]: Kuntz, Irwin D., et al. "A geometric approach to macromolecule-ligand interactions." *Journal of molecular biology* 161.2 (1982): 269-288.
- [58]: Goodsell, David S., and Arthur J. Olson. "Automated docking of substrates to

proteins by simulated annealing." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 8.3 (1990): 195-202.

[59]: Vilar, Santiago, Giorgio Cozza, and Stefano Moro. "Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery." *Current topics in medicinal chemistry* 8.18 (2008): 1555-1572.

[60]: Pettersen, Eric F., et al. "UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis." *Journal of computational chemistry* 25.13 (2004): 1605-1612.

[61]: Schrodinger, L. L. C. "The Glide 2.5 calculations used First Discovery, version 2.5021." New York (2003).

[62]: Thomsen, René, and Mikael H. Christensen. "MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking." *Journal of medicinal chemistry* 49.11 (2006): 3315-3321.

[63]: Scott, Roy A., and Harold A. Scheraga. "Conformational analysis of macromolecules. II. The rotational isomeric states of the normal hydrocarbons." *The Journal of Chemical Physics* 44.8 (1966): 3054-3069.

[64]: Mierke, Dale F., et al. "Enkephalin analogues containing β -naphthylalanine at the fourth position." *Biopolymers: Original Research on Biomolecules* 29.1 (1990): 179-196.

[65]: Akamatsu, Miki. "Current state and perspectives of 3D-QSAR." *Current topics in medicinal chemistry* 2.12 (2002): 1381-1394.

[66]: Selassie, Cynthia, and Rajeshwar P. Verma. "History of quantitative structure–activity relationships." *Burger's medicinal chemistry and drug discovery* (2003): 1-96.

[67]: Mai, Ngoc Lan, and Yoon-Mo Koo. "Quantitative prediction of lipase reaction in ionic liquids by QSAR using COSMO-RS molecular descriptors." *Biochemical Engineering Journal* 87 (2014): 33-40.

[68]: Wu, Jingheng, Yaxue Wang, and Yong Shen. "Molecular docking and QSAR analysis on maleimide derivatives selective inhibition against human monoglyceride lipase based on various modeling methods and conformations." *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 131 (2014): 22-30.

[69]: Roy, Kunal, and Partha Pratim Roy. "Comparative chemometric modeling of cytochrome 3A4 inhibitory activity of structurally diverse compounds using stepwise MLR, FA-MLR, PLS, GFA, G/PLS and ANN techniques." *European journal of medicinal chemistry* 44.7 (2009): 2913-2922.

[70]: Golchoubian, Hamid, Golasa Moayyedi, and Hakimeh Fazilati. "Spectroscopic studies on Solvatochromism of mixed-chelate copper (II) complexes using MLR

technique." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 85.1 (2012): 25-30.

[71]: Riahi, S., M. F. Mousavi, and M. Shamsipur. "Prediction of selectivity coefficients of a theophylline-selective electrode using MLR and ANN." *Talanta* 69.3 (2006): 736-740.

[72]: Zhang, Liying, et al. "QSAR modeling of the blood–brain barrier permeability for diverse organic compounds." *Pharmaceutical research* 25.8 (2008): 1902-1914.

[73]: He, Linnan, and Peter C. Jurs. "Assessing the reliability of a QSAR model's predictions." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 23.6 (2005): 503-523.

[74]: Shi, Leming M., et al. "QSAR models using a large diverse set of estrogens." *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* 41.1 (2001): 186-195.

[75]: Tian, Sheng, et al. "The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research." *Advanced drug delivery reviews* 86 (2015): 2-10.

[76]: Lipinski, C. "a, Lombardo, F., Dominy, BW & Feeney, PJ Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Adv. Drug Deliv. Rev* 46.1-3 (2001): 3.

[77]: Fatoki, H., et al. "Computational evaluation of selected ginger components therapeutic potential in relevance to human diseases." *J Nat Prod Plant Res* 6.6 (2016): 21-25.

[78]: Mangoni, Arduino A., and Stephen HD Jackson. "Age-related changes in pharmacokinetics and pharmacodynamics: basic principles and practical applications." *British journal of clinical pharmacology* 57.1 (2004): 6-14.

[79]: Durojaye, Olanrewaju A., et al. "Evaluation of 6-Gingerol and its modified analogues as therapeutic candidates against *Schistosoma mansoni* phosphofructokinase." *VaccinMonitor* 28.1 (2019): 38-47.

[80]: Taylor, P. J. "Hydrophobic properties of drugs." *Comprehensive medicinal chemistry* 4 (1990): 241-294.

[81]: Lipinski, Christopher A., et al. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 23.1-3 (1997): 3-25.

[82]: Ghose, Arup K., Vellarkad N. Viswanadhan, and John J. Wendoloski. "A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases." *Journal of combinatorial chemistry* 1.1 (1999): 55-68.

[83]: Veber, Daniel F., et al. "Molecular properties that influence the oral bioavailability of

drug candidates." *Journal of medicinal chemistry* 45.12 (2002): 2615-2623.

[84]: Egan, William J., Kenneth M. Merz, and John J. Baldwin. "Prediction of drug absorption using multivariate statistics." *Journal of medicinal chemistry* 43.21 (2000): 3867-3877.

[85]: Baell, Jonathan B., and Georgina A. Holloway. "New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays." *Journal of medicinal chemistry* 53.7 (2010): 2719-2740.

[86]: Brenk, Ruth, et al. "Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases." *ChemMedChem* 3.3 (2008): 435.

[87]: Dubois-Chevalier, Julie. *Chimiothèques; vers une approche rationnelle de la sélection de sous-chimiothèques*. Diss. Université d'Orléans, 2011.



Chapitre II

Partie (A) : Les protéines, Les enzymes et Les acide aminés

Partie (B) : Maladie d'Alzheimer



Chapitre II

Partie (A) : Les protéines, Les enzymes et Les acide aminés

I. Introduction

La biochimie se propose d'écrire en termes moléculaires les phénomènes biologiques, les premières caractéristiques des organismes vivants et leur composition chimique qualitativement différente de celle de l'environnement dans lequel vivent ces organismes. Les constituants essentiels des organismes vivants sont des molécules géantes (appelées macromolécules) [1]. Les molécules biologiques sont principalement constituées d'atomes de carbone (en raison de leur grande capacité à former différentes liaisons covalentes stables et des structures variées), d'hydrogène, mais aussi d'oxygène, d'azote et de soufre (dans le cas des protéines) ainsi que de phosphore (dans le cas des acides nucléiques). Elles sont au cœur des propriétés biologiques de par leurs multiples fonctions, telles que l'apport en énergie, la contribution à l'information, le support et la transmission de l'information génétique .

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 sont un aspect essentiel des processus biologiques. Elles sont fortement impliquées dans la formation de structures macromoléculaires, dans la signalisation, dans la régulation et dans les différentes voies métaboliques. Leur étude est donc cruciale pour la compréhension des réseaux d'interaction protéiniques, but majeur dans l'étude des systèmes biologiques[3]. La haute spécificité de ces interactions fait d'elles des cibles idéales pour les agents thérapeutiques [4].

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, un traitement informatique est nécessaire pour analyser leur structure [5]. Dans ce Partie nous allons donner quelques concepts biologiques concernant les structures des protéines, et leurs interactions.

II. Les protéines

Les protéines biomolécules indispensables aux êtres vivants, sont des constituants exceptionnellement importants des cellules vivantes, non seulement d'un point de vue quantitatif (elles représentent en générale plus de la moitié du poids sec des cellules), mais aussi du point de vue qualitatif, puisque à côté des protéines dites structurales, on trouve des protéines ayant un rôle biologique fondamental en particulier les enzymes, catalyseurs

biologiques indispensables au déroulement des réactions dans les cellules des organismes vivants [6].

II.1. Définition des protéines

Le terme « protéine » vient du grec « prôtos » qui signifie « premier, essentiel », elles sont découvertes à la fin des années 1830 par un chimiste hollandais, Gerhard Mulder [7]. Elles sont de grosses molécules ou macromolécules qu'interviennent dans de nombreuses fonctions organiques. Elles sont constituées d'acides aminés (ou résidus) liés entre eux par des liaisons peptidiques entre le groupe α - carboxylique d'un acide aminé et le groupe α -aminé de l'acide aminé suivant. Ces chaînes de résidus (acide aminé) ont une structure flexible ce qui leur permet de se replier en une forme appelée structure native [8].

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 [9].

II.2. La liaison peptidique

La liaison entre deux acides aminés, appelée liaison peptidique [10]. 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.

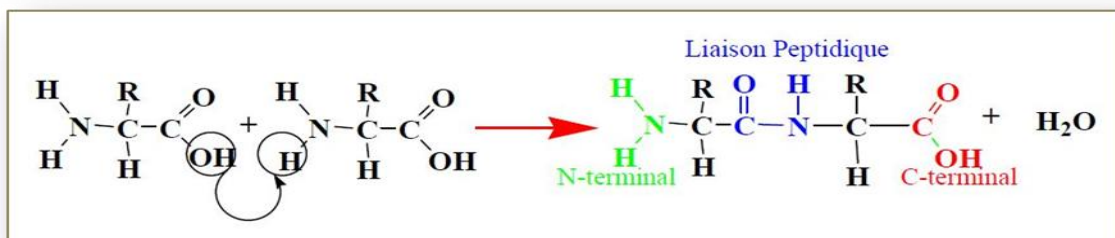


Figure II.1 : Formation d'une liaison peptidique.

II.3. Structure des protéines

La structure des protéines étant assez complexes, on distingue – pour en faciliter l'étude – plusieurs degrés d'organisation structurale, chacun dépendant du précédent. Les protéines présentent plusieurs structures différentes appelés structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire [11].

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.

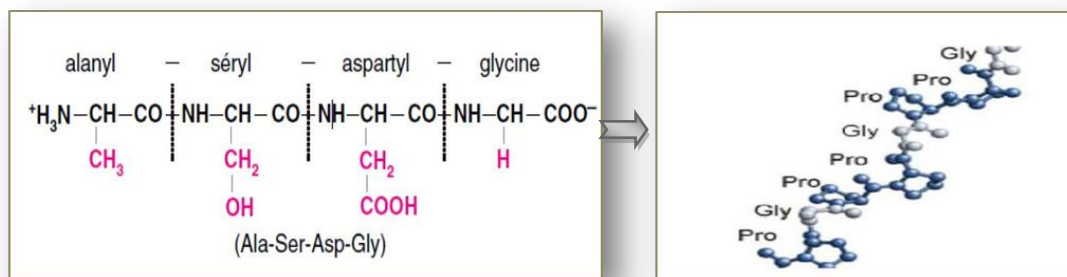


Figure II.2 : Structure primaire d'une protéine.

II.3. 2. Structure secondaire

La structure secondaire a été décrite en 1951 par Linus Pauling [12, 13]. Elle résulte de l'organisation spatiale d'une séquence d'acides aminés qui interagissent entre eux, provoquant des repliements locaux caractéristiques et énergétiquement favorables.

De tels repliements sont à la fois rendus possibles et limités par les capacités de torsion de la chaîne principale autour de deux axes : $N-C\alpha$ et $C\alpha-C$. Ces torsions sont décrites par deux angles ϕ et ψ tels que la montre (Figure II.3). en excluant les configurations non permises du fait de l'encombrement stérique, un grand nombre de conformations reste possible par des rotations libres autour des liaisons covalentes de la chaîne du squelette ; cependant, seules quelques-unes ont une signification biologique.

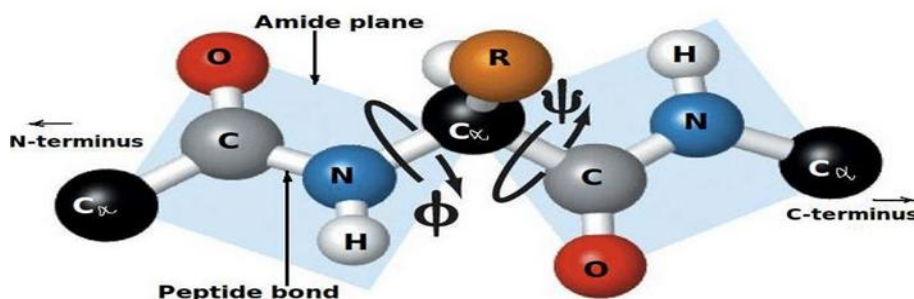


Figure II.3 : Angles dièdres Φ et ψ de la rotation de la liaison peptidique.

Il en existe principalement deux structures secondaires, ou conformations locales du squelette : les hélices alpha et les feuillets beta, conséquences de différents échafaudages de liaisons hydrogène se créant entre les groupements amide (-NH) et carbonyle (-CO) du squelette peptidique.

a. L'hélice α

Est un repliement hélicoïdal périodique dû à des liaisons hydrogène établies entre le groupement carbonyle d'un résidu n et le groupement amide d'un résidu $n+4$.

En moyenne, un tour d'hélice contient 3,6 résidus et mesure 0,54 nm. Le cœur de l'hélice est très compact, et renforcé par des interactions de van der Waals à travers l'hélice, les résidus sont rejetés à l'extérieur.

b. le feuillet β

Est stabilisé par le plus grand nombre de liaisons hydrogène possible entre les atomes d'hydrogène de l'azote et les atomes d'oxygène carbonyles des séquences de polypeptides adjacents les uns aux autres. Ils sont dits parallèles ou antiparallèles selon la direction des chaînes. Le reste des acides aminés se trouve dans des régions de coudes, de boucles ou de structures irrégulières [14].

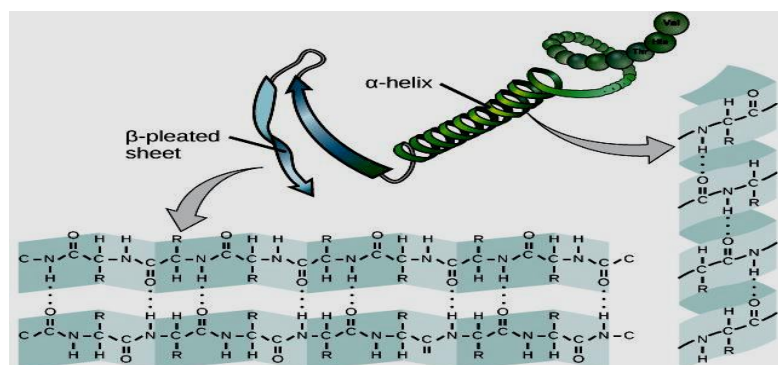


Figure II.4 : Conformations α et β de la structures secondaires d'une protéine.

II.3. 3. Structure tertiaire

Les hélices et les feuillets plissés reliés par des boucles de conformation non régulière, se ploient en des unités compactes et globulaires appelées domaines dont l'organisation tridimensionnelle constitue la structure tertiaire de la chaîne polypeptidique [15].

Elle est stabilisée par :

➤ Des liaisons hydrogène, notamment entre les groupements polaires et les molécules d'eau, mais aussi entre les résidus aminoacyles entre eux.

- Des interactions hydrophobes mettant en jeu des chaînes latérales non polaires
- Des interactions électrostatiques (ponts salins) qui se forment entre des groupes de charges opposées.
- Des interactions des Dan der Waals .

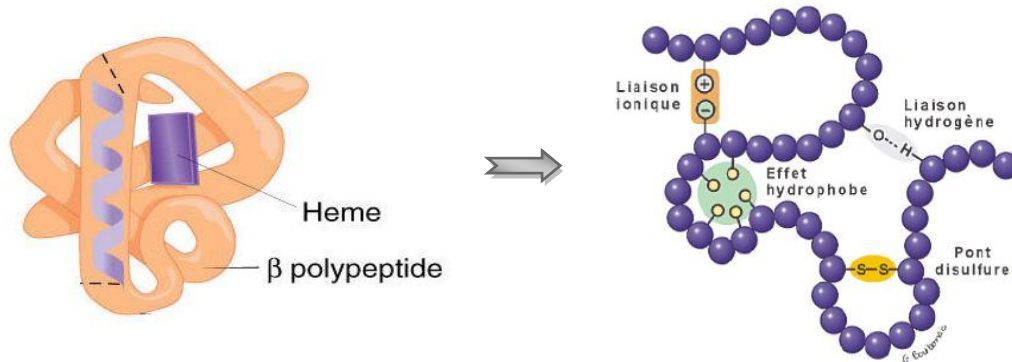


Figure II.5 : Structure tertiaire d'une protéine

II. 3.4. Structure quaternaire

Cette structure résulte de l'association de plusieurs chaînes Polypeptidiques ou sous-unités [16]. Ces sous unités peuvent être identiques comme c'est le cas de l'hémoglobine qui est constituée de 4 sous-unités identiques représentées en différente couleurs ou bien radicalement différentes comme dans le cas de la protéine du virus du tabac ou le récepteur de l'élastine. Cette structure est le niveau le plus élevé d'organisation des protéines.

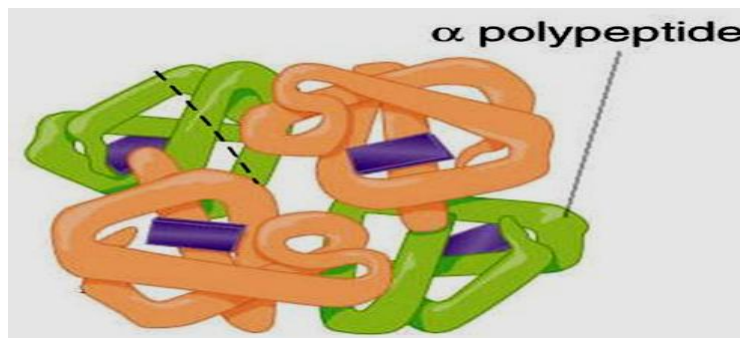


Figure II.6 : Structure quaternaire d'une protéine

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, 6 200 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 [17].

II.5. Rôle biologique des protéines

Les protéines ont de très nombreuses fonctions. Un premier rôle principal structurel avec la construction et la réparation des tissus des corps humains avec les protéines de structure (collagène...), protéines contractiles (myosine...). Un second rôle principal biochimique avec les protéines de transport (albumine...), protéines immunitaires (immunoglobulines), protéines enzymatiques, hormones, récepteurs, etc. Bien que ces structures et fonctions sont très variables, les protéines cellulaires et plasmatiques ont un renouvellement permanent tout le long de la vie [18].

II. 6. Fonctions des protéines

Les protéines assurent de nombreux rôles dans la cellule et l'organisme[19]. La catalyse enzymatique est l'un des rôles majeurs joués par les protéines dans les cellules. Beaucoup des réactions qui se déroulent dans les cellules sont favorables d'un point de vue thermodynamique mais ne se réalisent pas spontanément (ou alors à une vitesse très faible) en raison de l'existence d'une barrière énergétique. La liaison d'une enzyme à son substrat modifie la conformation de ce dernier, ce qui abaisse la barrière énergétique à franchir et augmente considérablement la vitesse de la réaction.

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).

III. Les enzymes

Les organismes vivants sont le siège d'un grand nombre de réactions biochimiques très diverses. Ces réactions s'effectuent dans des conditions « douces » ou, normalement, elles seraient très lentes. Si elles ont lieu, c'est parce qu'elles sont catalysées par des macromolécules biologiques : les enzymes[20].

Les enzymes sont des protéines qui jouent le rôle de catalyseur cellulaire. Elles sont constituées des milliers d'acides aminés liés en une chaîne linéaire. Ces acides aminés diffèrent dans leur nature chimique, sont liés entre eux par des liens covalents appelés liens

peptidiques. Un catalyseur est une substance qui modifie la vitesse d'une réaction chimique mais qui se retrouve inchangée à la fin de la réaction. En termes plus techniques, Un catalyseur est une substance qui abaisse l'énergie d'activation d'une réaction chimique.

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 Les enzymes sont caractérisés par l'identification des molécules sur lesquelles elles agissent [21].

III.2. Nomenclature

Le nom de la plupart des enzymes a été formé en ajoutant le suffixe « ase » au nom de leur substrat ou à un mot ou une phrase décrivant son activité (par exemple, le lactate déshydrogénase). Actuellement environ 3000 enzymes sont reconnues par l'Union Internationale de Biochimie .Seulement, 300 enzymes sont actuellement commercialisées. Un système international de dénomination **EC: W.X.Y.Z.** des enzymes a été adopté.

W : indique la réaction catalysée (1-6).

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

Y : indique le substrat spécifique ou la coenzyme.

Z : le numéro de série de l'enzyme [22].

III.3. Classification des enzymes

On peut trouver 6 classes d'enzymes :

1-Oxydoréductases : Réaction redox portant sur différents résidus, associant des coenzymes, des cytochromes, des accepteurs comme O₂, ...

2-Transférases : Transfert d'un groupement carboné, phosphoré, azoté, etc. d'une molécule à une autre.

3-Hydrolases : Elles catalysent la coupure d'une liaison en deux sous l'action de l'eau.

4-Lyases: Catalysent l'enlèvement ou l'addition d'un groupement autrement que par hydrolyse.

5-Isomérases : Elles catalysent les réactions d'isomérisation (changement de la formule développée sans changer la formule brute).

6-Ligases : Création d'une liaison entre 2 molécules couplée avec la dégradation d'une liaison à haut potentiel énergétique [23,24].

III.4. Notions de spécificité

Chaque enzyme a un double spécificité, spécificité de reconnaissance des molécules avec lesquelles il est en interaction, spécificité de type de réaction qu'il catalyse [25].

A 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 [26].

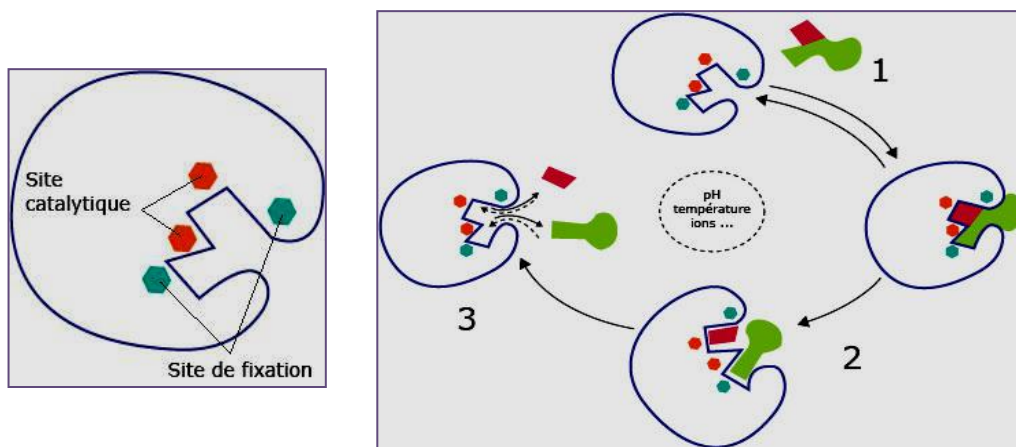


Figure II.7: Représentation schématique de la notion de spécificité.

III.5. Le site actif

Dans les enzymes, se trouve une région particulière appelée site actif. Il s'agit d'une région bien déterminée qui joue un rôle direct dans l'activité enzymatique. Le site actif est constitué d'un petit nombre d'acides aminés qui le plus souvent ne se suivent pas dans la séquence polypeptidique. La spécificité de reconnaissance entre l'enzyme et le substrat et la réaction enzymatique sont basées sur des interactions entre les groupements chimiques des deux partenaires. Il s'établit principalement des liaisons non covalentes de types hydrogènes, électrostatiques ou hydrophobes, mais parfois aussi des liaisons covalentes .

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 [27].

III.6. Co-facteurs

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 peuvent être organique (flavine, hème) ou inorganiques (ion métallique, fer, soufre) .Certaines cofacteurs sont des molécules plus complexes synthétisées par les cellules nous les appellerons coenzymes.

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 [28].

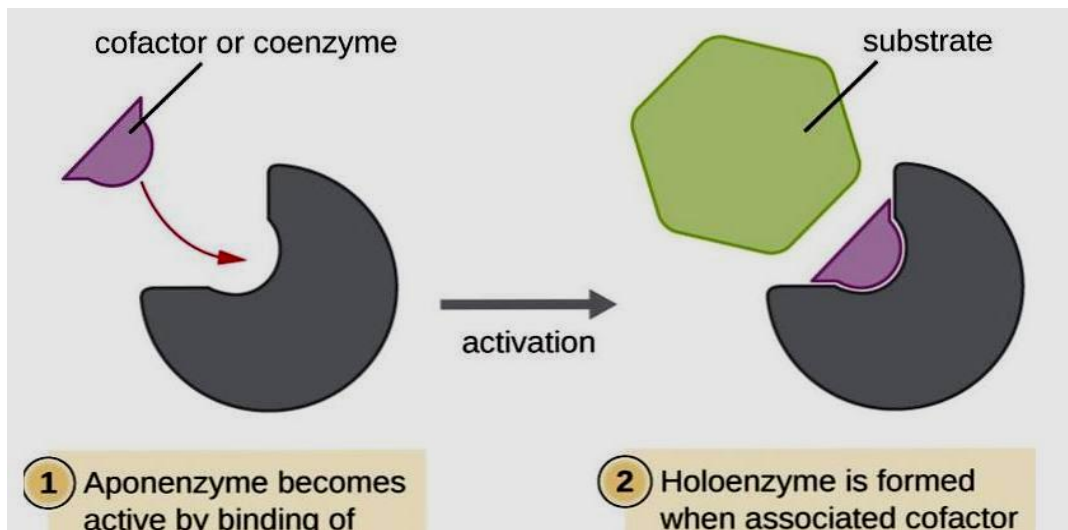


Figure II.8 : Co-facteur apoenzyme et holoenzyme

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 [29].

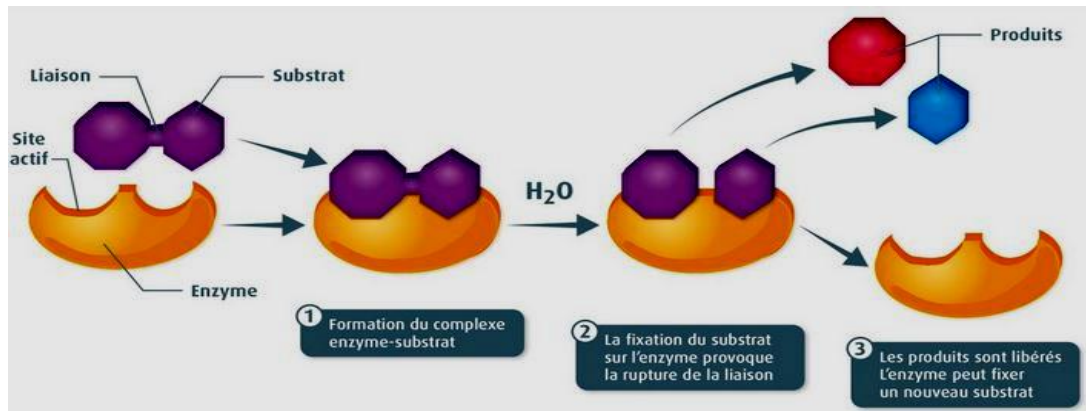


Figure II.9 : Complexe Enzyme-Substrat

III.8. Inhibition Enzymatique

Un inhibiteur enzymatique est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. Un inhibiteur peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif en se fixant à sa place, ou provoquer une déformation de l'enzyme qui rend celle-ci inactive (inhibiteur allostérique).

L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes biologiques, et notamment dans la régulation des voies métaboliques. Puisque l'inhibition d'une enzyme peut tuer un pathogène ou corriger un déséquilibre métabolique, des applications existent dans de nombreux autres domaines : beaucoup de médicaments, pesticides ou insecticides sont des inhibiteurs enzymatiques. En enzymologie, les inhibiteurs sont très utilisés pour déterminer le mécanisme d'action d'une enzyme. Toutes les molécules se liant à une enzyme ne sont pas des inhibiteurs, les activateurs enzymatiques existent également et accroissent l'activité de l'enzyme [30].

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.

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.

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 [31].

III.9.1. Inhibition réversible

Les inhibiteurs réversibles sont classés en :

- Inhibiteur compétitif,
- Inhibiteur incompétitif,
- Inhibiteur non compétitif.

a. Inhibition compétitive

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 [32]. 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).

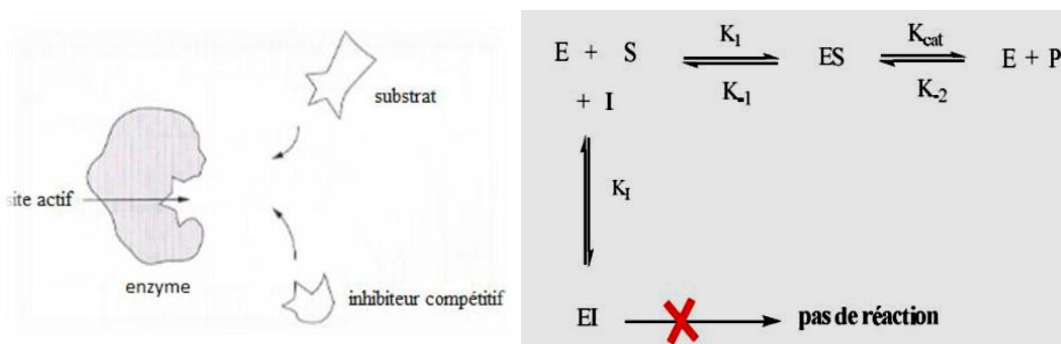


Figure II.10 : Mécanisme réactionnel de l'inhibition compétitive.

b. Inhibition incompétitive

Les inhibiteurs incompétitifs, quant à eux, ne se fixent jamais à l'enzyme libre mais seulement au complexe enzyme-substrat (ES). La formation du complexe ES est nécessaire pour la liaison et l'inhibition. Les inhibiteurs incompétitifs n'ont alors aucune affinité pour l'enzyme libre. Lorsque le substrat se lie à l'enzyme, la modification de structure permet la formation d'un nouveau site de fixation pour l'inhibiteur incompétitif. Celui-ci en se liant empêche la réaction en modifiant la conformation du site de liaison du substrat [33].

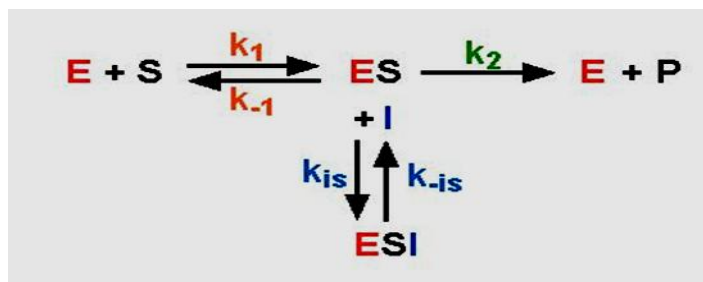


Figure II.11: Mécanisme réactionnel de l'inhibition incompétitive

c. Inhibition non compétitive ou mixte

Les inhibiteurs non-compétitifs se lient avec l'enzyme libre ou le complexe enzyme-substrat avec la même affinité. Dans ce type d'inhibition, il n'y a aucune compétition entre le substrat et l'inhibiteur pour le même site; le substrat se lie au site actif tandis que l'inhibiteur non-compétitif se lie à un autre site distinct. L'inhibition non-compétitive ne peut donc pas être surmontée par une augmentation de la concentration en substrat. Lorsque l'inhibiteur se fixe à l'enzyme, cela cause une modification de conformation du site actif qui empêche la reconnaissance entre l'enzyme et le substrat [34].

Les inhibiteurs mixtes peuvent se lier à l'enzyme au même moment que le substrat. Dans ce cas, la liaison de l'inhibiteur affecte la liaison du substrat et vice-versa. Même s'ils se lient au site actif, ces inhibiteurs causent généralement un effet allostérique en se liant à un site différent [35].

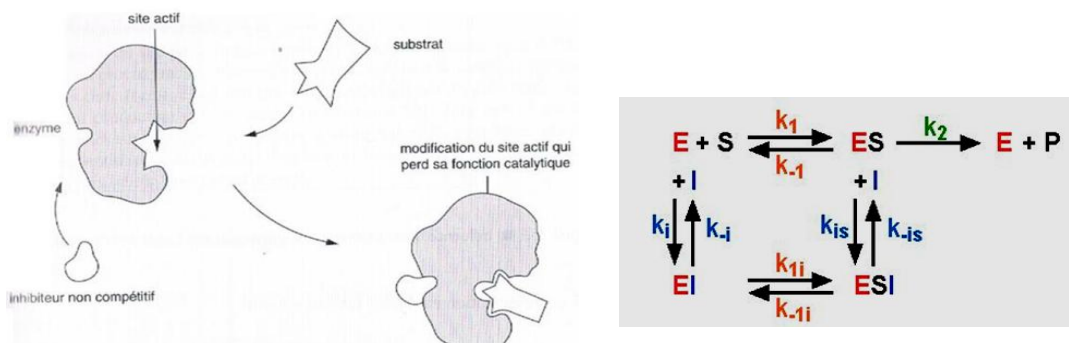


Figure II.12: Mécanisme réactionnel de l'inhibition non compétitive

III.9.2 Inhibition irréversible

D'un autre côté, les inhibiteurs irréversibles (aussi appelés inhibiteurs suicides) se lient de manière covalente et permanente à l'enzyme. L'inhibiteur est alors reconnu comme un substrat et subit une modification chimique permanente. Durant cette étape, l'inhibiteur peut soit agir sur le site catalytique de l'enzyme ou sur un site distinct.

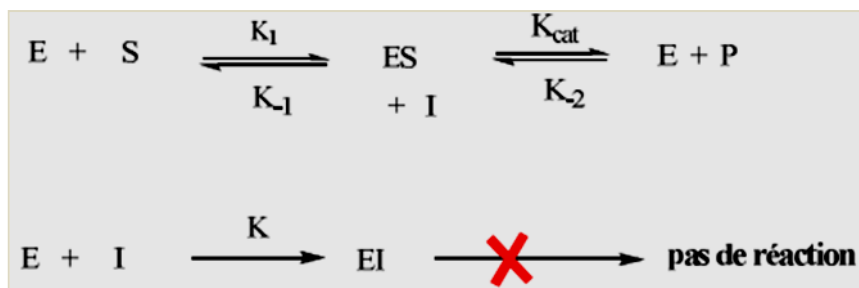


Figure II.13: Mécanisme réactionnel de l'inhibition irréversible

III.9.3 Nature des interactions substrat-enzyme

Les substrats sont liés aux enzymes par des interactions faibles, la liaison du substrat au site actif implique souvent de nombreuses liaisons non-covalentes de types : Van der Waals, Electrostatique et la Liaison hydrogène.

Ces 3 types de liaisons non-covalentes diffèrent dans leurs contraintes géométrique, force et spécificité. De plus, elles sont profondément affectées (de manière différente) [36-38].

IV. Les acides aminés

Un acide aminé est une petite molécule qui possède une fonction acide et une fonction amine primaire. En effet, les acides aminés sont des composés organiques bifonctionnels qui contiennent un groupe amine basique (-NH₂) et un acide carboxylique (-COOH), dont l'enchaînement compose les protéines : on dit qu'une protéine est un polymère d'acides aminés (les monomères). Dans la nature, il existe 20 acides aminés différents[39].et qui possèdent des fonctions et propriétés diverses en fonction de la nature de la chaîne latérale -R [40].

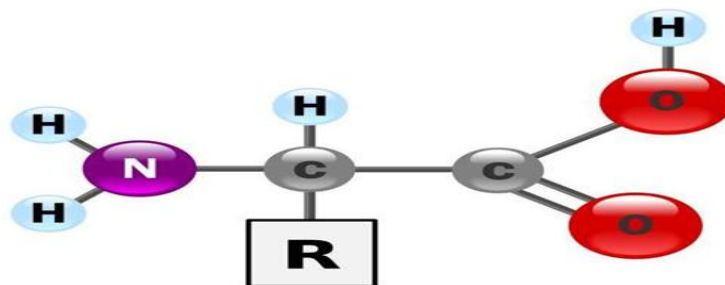


Figure II.14: Structure générale d'un AA.

IV.1. Classification des principaux acides aminés

Les acides aminés peuvent être classés d'après la structure et la complexité de leur chaîne latérale R. Parmi les différentes classifications possibles, l'une des plus intéressantes repose sur la polarité et les possibilités d'ionisation de cette chaîne.

IV.1.1. 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. 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 [41].

IV.1.2. Polaires non chargés

Celles-ci contiennent des groupements qui forment des liaisons hydrogène avec l'eau. Associées 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.

IV.1.3. 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 Van der Waals et des interactions hydrophobes.

IV.1.4. 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. À 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-) [42].

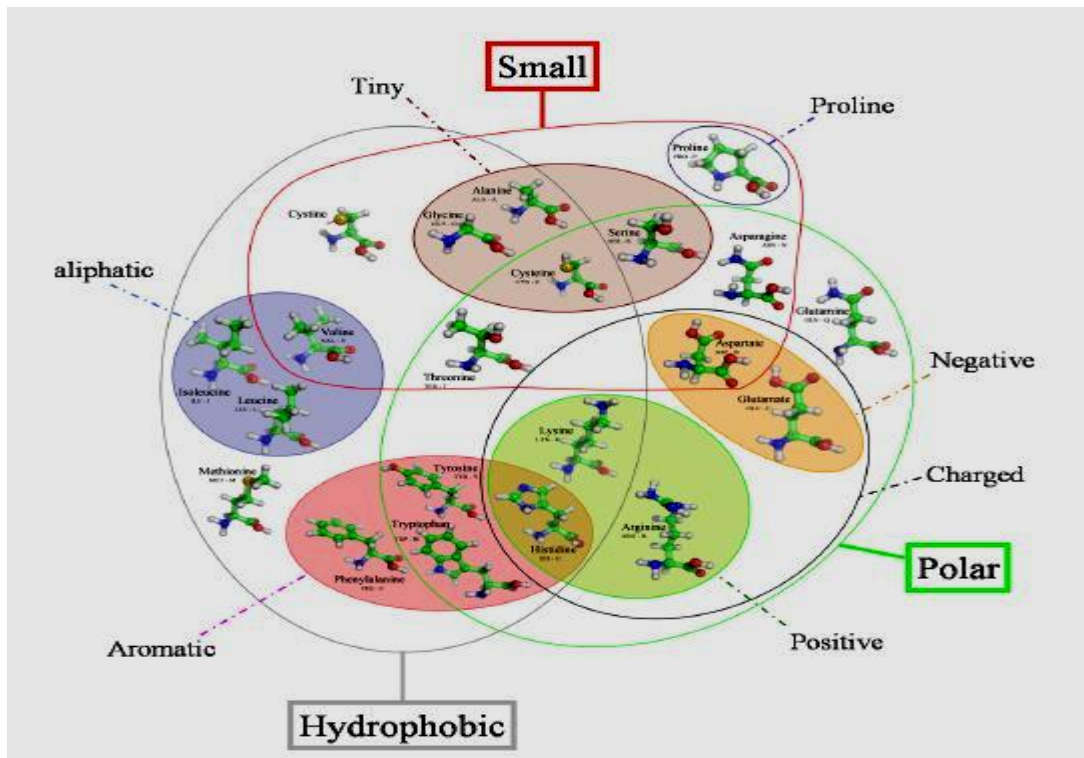


Figure II.15 : Diagramme de Venn regroupant les différents acides aminés par rapport à leurs propriétés physicochimiques. Figure adaptée de [43].

IV.2. Le rôle biologique des acides aminés

Les acides aminés sont les composants de base des protéines qui occupent dans le monde du vivant une place particulièrement importante et possèdent un rôle crucial dans le métabolisme et la physiologie de la cellule. Ce sont les précurseurs de nombreux composés biochimiques, telles que les hormones, les neurotransmetteurs (l'acide glutamique et l'acide aspartique sont des neurotransmetteurs excitateurs, stimulant la transmission de l'influx nerveux. et La glycine est un neuromédiateur inhibiteur que l'on trouve essentiellement dans la moelle épinière)[44], ou encore les pigments de votre peau.

Les acides aminés accomplissent beaucoup de rôles ou fonctions vitales :

- structurel : peau, muscles
- enzymatique
- hormonal : glucagon, insuline
- transporteur : hémoglobine
- défense : immunoglobuline
- stockage de matériel: ferritine.



Chapitre II

Partie (B) : Maladie d'Alzheimer

V. Introduction

Le système nerveux est devenu de plus en plus complexe au cours de l'évolution, augmentant les capacités intellectuelles et d'apprentissage. Ce qui explique le fait que toute atteinte de cet organe entraîne de lourdes conséquences sur la vie de l'individu atteint. Les démences comprenant la maladie d'Alzheimer font partie de ces atteintes rendant le quotidien de ces patients et de leur entourage plus difficile.

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neuro-dégénérative qui représente plus de 80% des cas de démences dans le monde [45]. C'est une maladie neurologique comprenant différents stades d'évolution (déclins cognitifs faibles, modérés ou sévères), en plus de certains syndromes psychologiques et comportementaux tels que la dépression, la psychose et l'agressivité.

La MA est devenue un problème majeur de santé publique avec le vieillissement de la population puisque le nombre de cas augmente de façon proportionnelle à l'espérance de vie. Ainsi, environ 200 000 personnes de moins de 65 ans présentent des symptômes de cette maladie tandis qu'au-delà de cet âge.

Elle a été identifiée pour la première fois en 1907 par le neurologue allemand Alois Alzheimer. En pratiquant l'autopsie du cerveau d'une de ses patientes atteinte de démence, il a observé les deux lésions neuro-pathologiques principales de la maladie: les plaques séniles et les dégénérescences neuro-fibrillaires [46].

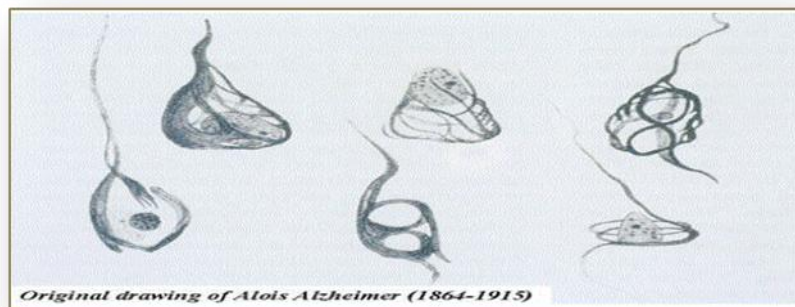


Figure II.16: Croquis dessiné par Alzheimer représentant des dégénérescences neuro-fibrillaires.

Ces lésions caractéristiques ainsi que la perte de cellules neuronales ont pour conséquence la perte de la mémoire, la confusion, l'altération du jugement, la désorientation et la dépression. Au fur et à mesure de la progression de la maladie, les symptômes empirent et les capacités cognitives et fonctionnelles diminuent .

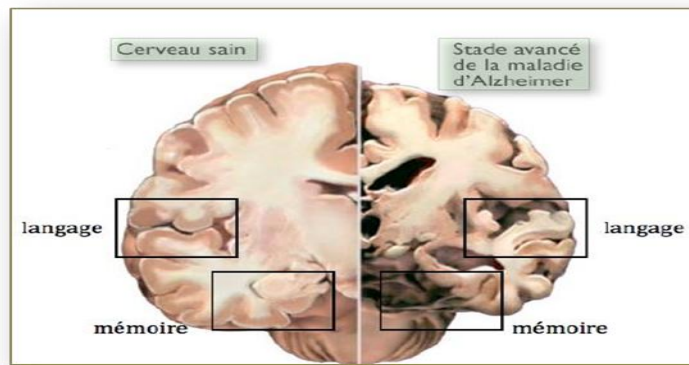


Figure II.17 : Représentation schématique d'une coupe transversale de cerveau sain (à gauche) et l'atrophie massive d'un cerveau à un stade avancé d'Alzheimer (à droite).

Les personnes atteintes de cette maladie présentent un niveau faible en acétylcholine (ACh) le neuromédiateur qui permet notamment le stockage des informations, en particulier au niveau des neurones de l'hippocampe. Il est désormais définitivement établi que les deux cholinestérases (l'acétylcholinestérase: AChE et butyrylcholinestérase : BChE) des substances caractéristiques de la MA .

La Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer étant très complexe, elle n'a pas été totalement élucidée à l'heure actuelle. Malgré de grands efforts employés, il n'existe pas encore de traitements modifiant le cours de la maladie. Les traitements actuels sont palliatifs et peuvent seulement ralentir la progression de la maladie [47].

V.1. Causes de la maladie d'Alzheimer

➤ L'hypothèse neurochimique repose sur une diminution des taux d'une enzyme, la choline-acétyl-transférase, dans différentes zones du cerveau (cortex et hippocampe). L'hypothèse génétique repose sur des études épidémiologiques révélant l'existence d'antécédents familiaux de la maladie chez 15 % des sujets atteints (→ maladie héréditaire).

➤ L'hypothèse virale est soulevée par analogie avec la maladie de Creutzfeldt-Jakob, une maladie cérébrale rare atteignant les personnes âgées. Toutefois, s'il existe un agent infectieux responsable de la maladie d'Alzheimer, il aurait besoin d'un certain contexte génétique, immunitaire ou toxique pour s'exprimer.

- L'hypothèse immunologique repose sur la diminution globale du nombre de lymphocytes circulants et la présence accrue d'auto anticorps. Toutefois, ces perturbations sont fréquentes avec l'âge en dehors de toute démence.
- L'hypothèse vasculaire et métabolique est étayée par une réduction du débit sanguin cérébral, de l'oxygénation du sang et de sa capacité à capter le glucose. Cependant, ces déficits peuvent être la conséquence et non la cause de la détérioration cérébrale.
- L'hypothèse toxique repose sur l'augmentation des taux d'aluminium dans le cerveau. Mais des concentrations 5 fois supérieures chez les dialysés ne produisent pas de dégénérescence nerveuse.
- L'hypothèse des radicaux libres repose sur le fait que le vieillissement est dû, en partie, aux effets destructeurs de ceux-ci [48].

V.2. Les symptômes

V.2.1. D'un point de vue physiologique

La MA se caractérise par la présence entre les neurones de dépôts de plaque amyloïde extracellulaire et par la présence d'enchevêtrements neuro-fibrillaires intracellulaires dans le neurone, entraînent progressivement le dysfonctionnement des neurones et leur mort fonctionnelle [49].

Plusieurs signes distinctifs de la maladie ont été rapportés tels que le stress oxydatif et faibles niveaux d'acétylcholine [50, 51].

V.2.2. D'un point de vue clinique

Les médecins divisent les symptômes en symptômes « cognitifs » affectent la mémoire, le langage, le jugement et les processus de pensée et les symptômes « comportementaux » modifient les actions et les émotions du patient. Au début de la pathologie est caractérisée par des difficultés d'acquisition de nouvelles compétences et de recherche de mots en raison de troubles de la mémoire [52, 53]. Plus la maladie progresse, plus les changements comportementaux deviennent manifestes, les fonctions cognitives de l'individu (langage, raisonnement, apprentissage, résolution de problèmes, prise de décision, manque de motivation et de la désorganisation, les émotions, l'humeur...). Ces troubles plongent progressivement le malade dans la dépression jusqu'à le stade sévère de la maladie. Il devient alors totalement dépendant des autres pour vivre et éprouve de grandes difficultés à communiquer. Il perd graduellement la mobilité de ses membres et reste généralement alité jusqu'à son décès [54].

V.3. Les facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une pathologie multifactorielle. On distingue deux formes de maladie d'Alzheimer :

La forme familiale (ou héréditaire) qui touche un petit pourcentage des personnes, puisqu'elle est beaucoup plus rare, dépendamment de la génétique des parents. La deuxième forme la plus répandue est la forme sporadique (ou non héréditaire). Elle concerne 99 % des cas, est due à un ensemble de facteurs de risque touchant à la génétique, à notre environnement et à notre style de vie [55].

Les facteurs de risque génétique augmentant le risque de développer une MA, comme dans transmission héréditaire sont causées par des mutations sur trois gènes (le gène Amyloid Protein Precursor (APP) sur le chromosome 21, le gène préséniline 1 (PS1) sur le chromosome 14 et le gène Préséniline 2 (PS2) sur le chromosome 1). À côté de ces gènes, un 4^{ème} gène est impliqué dans la pathogénie de la maladie d'Alzheimer dans la forme sporadique. Il s'agit du gène Apolipoprotéine E (ApoE4) [56].

Ce gène étant un facteur de risque, il n'est ni nécessaire et ni suffisant pour développer la maladie. Cela signifie qu'une personne qui n'est pas porteuse du gène ApoE4 peut quand même développer la maladie d'Alzheimer et qu'un individu porteur du gène ApoE4 n'en sera pas nécessairement atteint.

Le principal facteur de risque de la maladie d'Alzheimer est l'âge avancé et la prévalence augmente avec l'âge: 1% à 65 ans et jusqu'à 50% à 85 ans [57].

L'hypertension , l'hypercholestérolémie, les accidents cardiovasculaires et cérébraux et le diabète augmentent également le risque de développement d'Alzheimer, ainsi que le régime alimentaire et le style de vie contribuent à la progression de la maladie, tels que le tabagisme et l'obésité. Une dépression avancée peut provoquer une atrophie cérébrale, une réduction des niveaux des neuro-trophines et l'augmentation des réponses inflammatoires dans le cerveau [58, 59].

V.4. Le diagnostic

Établir un diagnostic d'Alzheimer peut prendre du temps. En effet, plusieurs des symptômes de la maladie ressemblent à ceux d'autres maladies. Aucun test unique ne permet de déterminer si une personne est atteinte de la maladie d'Alzheimer. Il faut donc faire plusieurs tests pour reconnaître la maladie d'Alzheimer [60].

Les premiers diagnostics, établis par le médecin avec l'aide des proches du malade, reposent sur des tests cognitifs ainsi que sur un examen physique et neurologique.

De plus, ces dernières années, de nouveaux critères de diagnostique ont été proposés. Ainsi, des techniques d'imagerie cérébrale comme l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou la tomographie par émission de positon (TEP), peuvent respectivement mettre en évidence une atrophie de l'hippocampe et un déficit du métabolisme glucidique cérébral permettant de discriminer les patients atteints de la MA de sujets témoins [61].

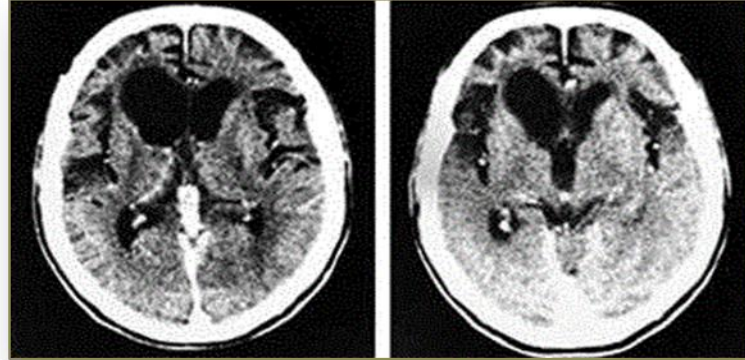


Figure II.18: A droite, IRM d'un cerveau sain. A gauche, cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer.

V.5. Les lésions responsables de la maladie

Depuis la découverte des deux lésions spécifiques, les plaques séniles et les dégénérescences neuro-fibrillaires par Alois Alzheimer, plusieurs hypothèses ont été avancées sur la base de différents facteurs étiologiques pour expliquer les mécanismes à l'origine de la maladie d'Alzheimer. Elles reposaient principalement sur l'agrégation de la protéine β -amyloïde et l'hyper-phosphorylation de la protéine tau [62].

V.5.1. Plaques séniles et protéine β -amyloïde

Les plaques séniles correspondent aux dépôts extracellulaires de la protéine β -amyloïde ($A\beta$) (Figure II.19). Cette protéine est constituée d'environ 40 acides aminés. Ses formes majoritaires sont $A\beta_{40}$ et $A\beta_{42}$, ce dernier est plus hydrophobe et sa conformation en feuillets β lui confère un caractère insoluble et probablement sa toxicité. Chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, le ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ est très élevé tandis que chez les sujets $A\beta_{40}$ est la forme majoritaire [63].

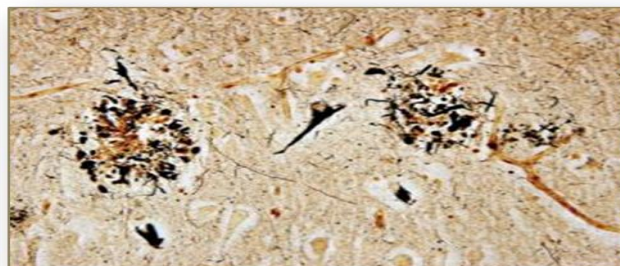


Figure II. 19: Plaques séniles.

Les peptides A β sont issus du clivage de la protéine transmembranaire précurseur de la protéine amyloïde (APP) qui joue un rôle dans la neurotransmission, par sa présence en quantité importante au niveau des synapses .

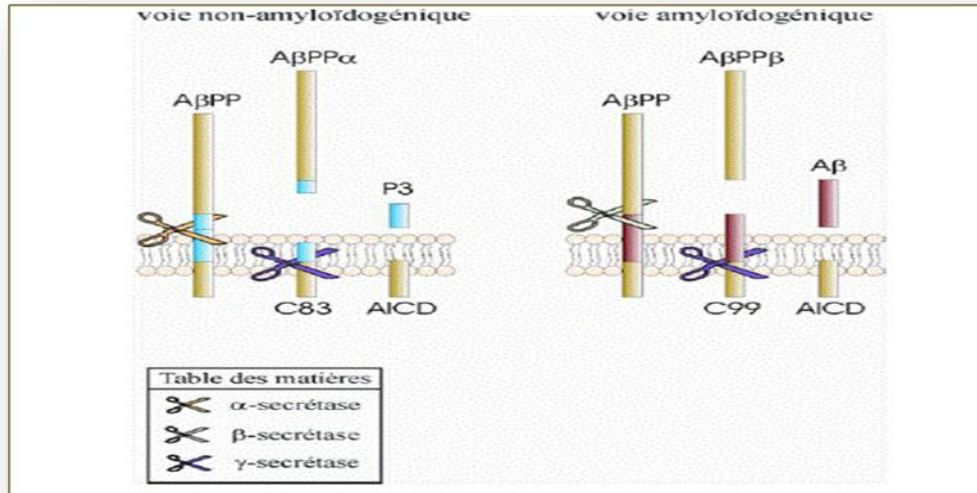


Figure II.20 : Les voies impliquent dans les processus de métabolisation de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP)

La protéine A β s'accumule lentement et progressivement entre les cellules cérébrales pour former Des plaques séniles. Plusieurs études ont montré que la formation anormalement élevée de A β 42 A pour conséquence plusieurs effets neurotoxiques comme la formation de dégénérescences neuro-fibrillaires, des réactions inflammatoires, l'excitotoxicite ou le stress oxydant. Toute cette cascade conduit à l'apoptose, la mort neuronale et le déficit en neurotransmetteurs [64].

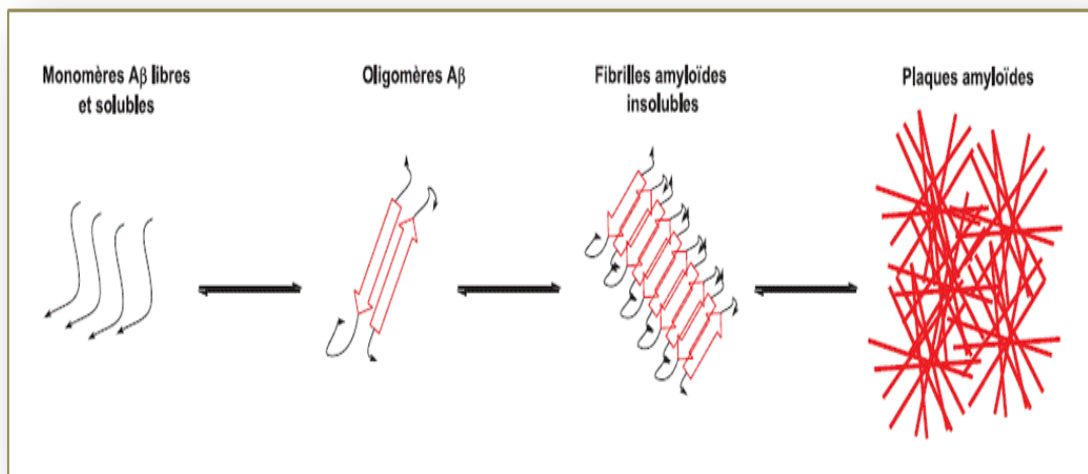


Figure II.21 : formation des plaques amyloïdes

V.5.2. Dégénérescences Neuro-fibrillaires et protéine tau

Les dégénérescences neuro-fibrillaires, situées à l'intérieur des neurones, correspondent à une accumulation anormale de filaments constitués, entre autre, d'une forme hyper-phosphorylée de la protéine tau qui prend alors l'aspect de paires de filaments hélicoïdaux tau (Tubulin-Associated unit) .découvert en 1975, est une protéine neuronale associée aux microtubules qui joue un rôle dans leur polymérisation et stabilisation. Les microtubules sont les structures filamenteuses du cytosquelette, qui servent au transport intracellulaire des organites et à l'organisation spatiale de la cellule. L'association de la protéine tau aux microtubules est régulée par la phosphorylation de la protéine tau. Chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer le taux de phosphorylation est 3 à 4 fois supérieur à la normale. Il a été démontré que cette phosphorylation excessive diminue l'attachement de la protéine tau aux microtubules, ce qui a pour conséquence leur désagrégation, ce qui induit une perte progressive des fonctions neuronales (Figure II.22) [65].

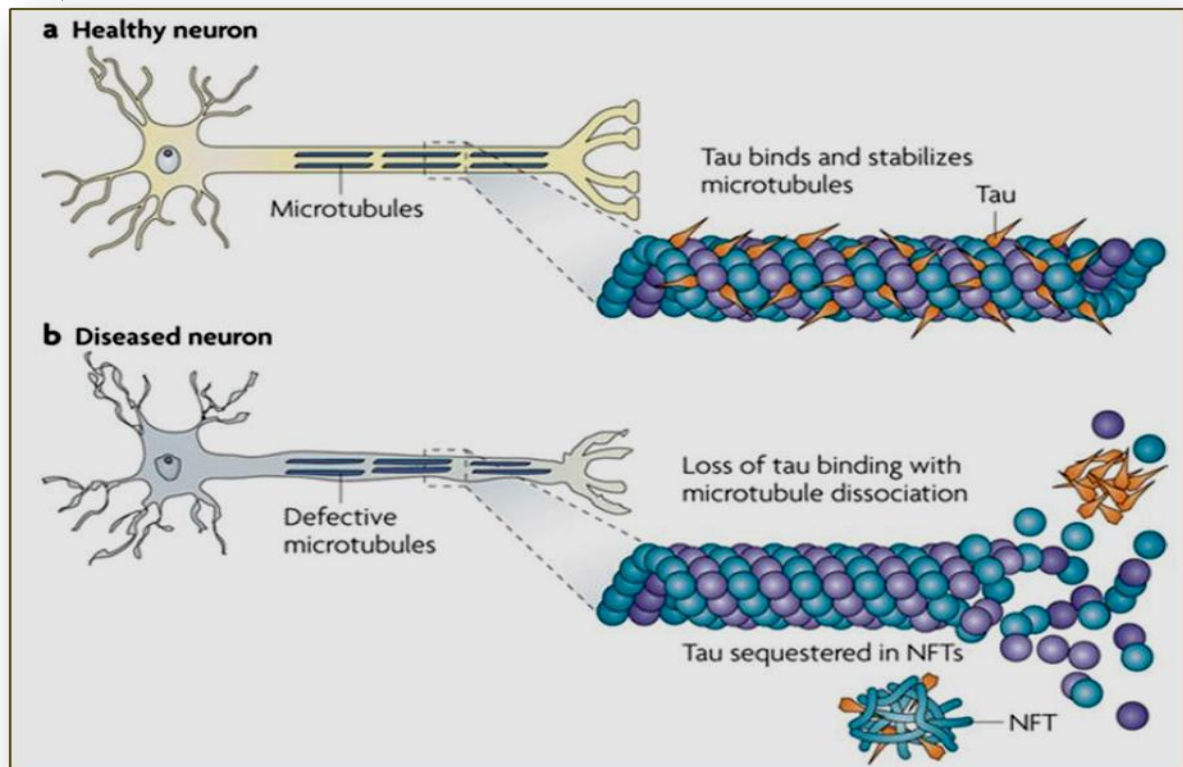


Figure II. 22: Désintégration des microtubules et accumulation des protéines Tau

L'accumulation et l'auto-assemblage de la protéine tau hyper-phosphorylée de la dégénérescence neuro-fibrillaire. La protéine tau hyper-phosphorylée soluble et ses

agglomérats insolubles sont toxiques pour les neurones et conduisent à la mort neuronale ainsi qu'à la démence.

La densité des neurofibrilles est en corrélation à la fois avec le degré de la démence et la durée de la maladie. La dégénérescence neuro-fibrillaire est présente aussi dans d'autres maladies neuro-dégénératives, tandis que les plaques séniles sont spécifiques à la maladie d'Alzheimer [66].

Remarque :

L'origine du déficit cholinergique reste très débattue dans la communauté scientifique. Cependant, un coupable semble tout désigné : il s'agit du peptide A β . en effet, la présence de plaques amyloïdes neurotoxiques est connue pour influencer négativement les sites de recapture de la choline, perturbant, de fait, son recyclage et inhibant la libération de l'ACh dans la fente synaptique [67]. Les dégénérescences neuro-fibrillaires détériorent également les fonctions cholinergiques [68].

V.6. Le système cholinergique

V.6.1. Neurotransmission

La neurotransmission est un processus par lequel un influx nerveux est délivré entre deux neurones via un intervalle appelé fente synaptique. Les entités chimiques capables de transmettre cette information nerveuse sont appelés neurotransmetteurs. Nous nous focaliserons dans cette partie sur les neurotransmissions cholinergique car ces voies font partie intégrante de l'étiologie de la maladie d'Alzheimer. Leur modulation pourrait améliorer la cognition et la mémoire. Dans le cas des neurones cholinergiques, l'acétylcholine (ACh) joue le rôle de neurotransmetteur [69].

L'ACh est produite dans les neurones cholinergiques pré-synaptiques, à partir de la choline et l'acétylcoenzyme A, par la choline acétyltransférase (ChAT). Celle-ci est par la suite délivrée dans la fente synaptique où elle se fixe aux différents récepteurs qui peuplent les neurones cholinergiques post-synaptiques. Une dépolarisation se déclenche alors pour transmettre l'influx nerveux et l'ACh est aussitôt dégradée par l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) en choline laquelle est par la suite recyclée.

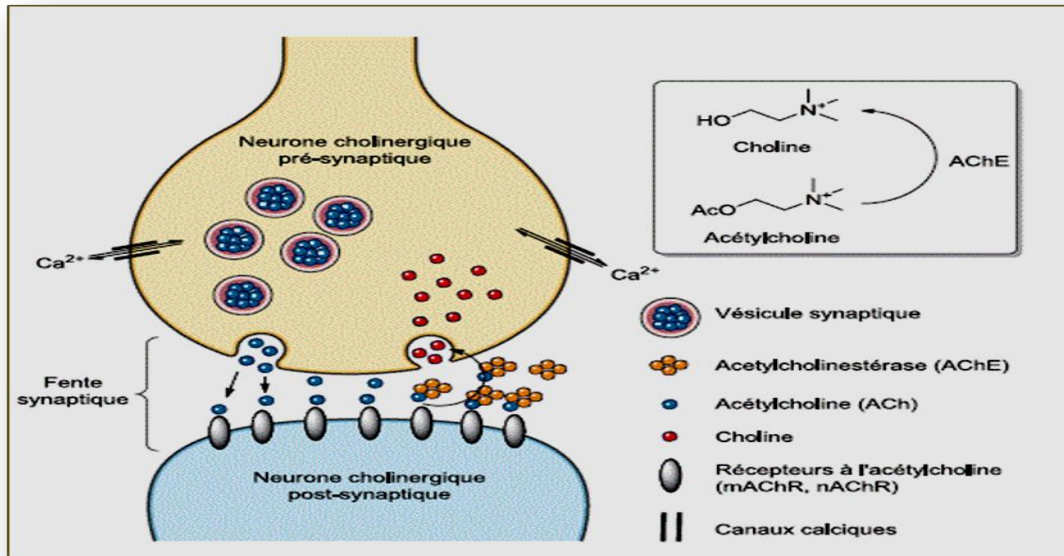


Figure II.23: Neurotransmission cholinergique.

V.6.1.1. L'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé du système nerveux central responsable du blocage de la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses cholinergiques [70]. Cette serine hydrolase est synthétisée à proximité du noyau du neurone, au niveau du réticulum endoplasmique, puis est transportée vers la jonction synaptique. Elle se trouve soit sous forme libre, soit ancrée dans la membrane post-synaptique [71]. Son rôle principal est l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et en acétate, stoppant ainsi la neurotransmission (Figure II.24).

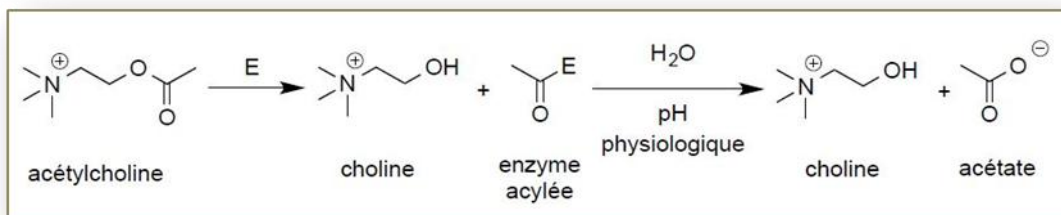


Figure II.24 : Dégradation de l'acétylcholinestérase.

Son activité catalytique est particulièrement élevée surtout pour une hydrolase a serine. L'AChE peut dégrader 25 000 molécules d'ACh par seconde. Un tiers des molécules d'ACh est hydrolyse avant même d'atteindre les récepteurs post-synaptiques et celles qui se dissocient des récepteurs sont dégradées très rapidement [72].

a. Structure tridimensionnelle d'acétylcholinestérase

La structure tridimensionnelle de l'AChE de forme di-mérique a été déterminée pour la première fois en 1992. Cette étude par diffraction des rayons X a démontré que l'AChE à une forme ellipsoïdale avec les Dimensions de 45 x 60 x 65 Å. Chaque monomère est une protéine contenant 12 feuillets β entourés par 14 hélices α , et le petit feuillet β au niveau de la terminaison aminée ne présente aucun pont d'hydrogène avec les feuillets β au centre de la protéine (Figure II.25).

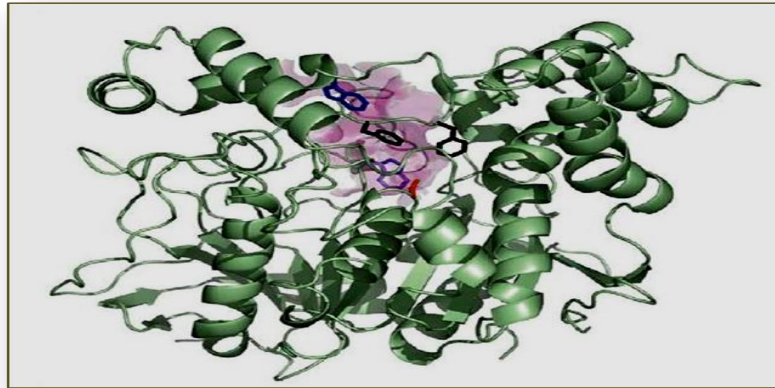


Figure II.25 Structure tridimensionnelle d'un monomère de l'AChE.

Les deux monomères sont liés par un pont disulfure entre les cystéines terminales Cys536. De plus, les sous-unités sont liées par un ensemble de quatre hélices, selon un assemblage deux à deux d'hélices α de chaque monomère, dont les hélices de la terminaison carbonée [73]. Les interactions permettant ces assemblages sont principalement de nature hydrophobe. L'AChE est présente sous plusieurs formes moléculaires correspondantes à son mode d'ancrage (forme libre ou liée à la membrane) ainsi qu'à sa structure quaternaire.

b. Le site actif et la triade catalytique

Le site catalytique de l'AChE est situé au fond d'une gorge profonde et étroite. On distingue deux sous-sites : le site anionique et le site estérasique.

Le site estérasique:

Le site estérasique correspond au locus au niveau duquel la portion acétyl de la molécule d'ACh se fixe et forme l'intermédiaire tétraédrique. Cela se compose de:

- **La triade catalytique:**

La triade catalytique est composée des résidus Ser200, Glu327 et His440 qui interviennent ensemble dans de certaines hydrolases sont responsable de l'hydrolyse de l'ACh.

- **Trou oxyanion :**

L'enzyme devra pouvoir stabiliser l'oxygène du carbonyle de l'ACh, qui se charge négativement lors de la formation de l'intermédiaire tétraédrique. De fait, une poche est présente dans le site actif de l'enzyme, qu'on nomme le trou « oxyanion », et qui est constituée des résidus Gly118, Gly119 et Ala201.

- **Poche acyle :**

Une petite cavité hydrophobe, constituée des résidus Trp233, Phe288, Phe290 et Phe331. Cette poche joue un rôle essentiel dans la sélectivité de substrat de l'AChE.

Le site anionique:

Se située en face de site estérasique, au fond de la gorge, c'est un ensemble de résidus aromatique chargé négativement (TRP84, GLU199 et PHE330), contribue à la stabilisation de la charge positive portée par la portion choline de l'ACh, stabilisée par l'attraction électrostatique du résidu Glu199, mais le sera beaucoup plus effectivement par son interaction avec les électrons π des noyaux aromatiques des résidus TRP84 et PHE330.

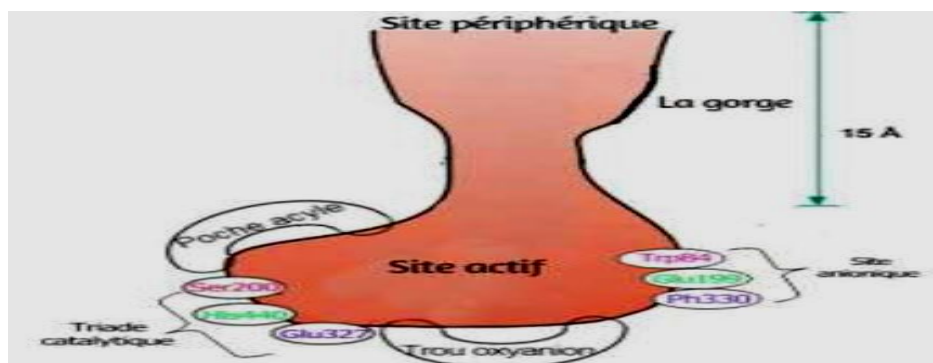


Schéma II.1: du site actif de AChE

Site périphérique :

Le PAS est situé à environ 15 Å au-dessus du site actif. Il est caractérisé par ces résidus aromatiques (TYR70, ASP72, TYR121, TRP279 et TYR334) constituent ce qu'on appelle le site périphérique anionique (PAS) se localisant au bord de la cavité (gorge) de l'enzyme, il se lie aux substrats cationiques, et notamment aux ligands trop gros pour pénétrer dans la gorge. Il fournit un site de liaison pour les inhibiteurs allostérique [74].

c. Implication de l'AChE dans la maladie d'Alzheimer

Comme mentionné précédemment, dans la maladie d'Alzheimer une importante diminution de l'activité cholinergique est observée. L'inhibition de l'AChE permet de restaurer la Concentration synaptique en ACh et d'améliorer ainsi les fonctions cognitives chez les malades. Plusieurs inhibiteurs d'AChE sont présents sur le marché et utilisés

comme un traitement palliatif. Cependant, l'inhibition de l'AChE pourrait présenter aussi d'autres intérêts thérapeutiques.

Il a été démontré que l'AChE est présente à proximité des dépôts de la protéine β -amyloïde et qu'elle peut promouvoir sa formation. En effet, la protéine β -amyloïde non pathogène (soluble) est capable de se fixer sur le site périphérique de l'AChE et ceci a pour conséquence la formation du complexe $A\beta$ -AChE. Etant très stable et insoluble, celui-ci est plus toxique que les dépôts d' $A\beta$. L'AChE joue un rôle important dans les premiers stades de la maladie par sa capacité à provoquer l'agglomération de la protéine $A\beta$ [75].

V.6.1.2. Butyrylcholinestérase

La BuChE a une structure très voisine de l'AChE. Au niveau biochimique, quelques études ont indiquées que certains neurones cholinergiques utilisent la BuChE plutôt que l'AChE pour cliver l'ACh. Ainsi, 10 à 15 % des neurones cholinergiques dans l'hippocampe et l'amygdale, expriment la BuChE au lieu de l'AChE. d'ordinaire, chez un sujet sain, la BuChE est 4 fois moins présente dans le cerveau que l'AChE (ratio 4:1, AChE: BuChE), cependant avec la progression de la maladie et la perte des neurones cholinergiques, l'activité de l'AChE chute de 45% tandis que celle de la BuChE augmente deux fois plus, ce qui influence considérablement le ratio initial [76,77].

Elle a une affinité beaucoup plus large. Son rôle physiologique n'est actuellement pas connu. Bien qu'il soit généralement envisagé en association avec l'acétylcholinestérase (AChE).

V.7. Traitements

V.7.1. Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Depuis sa découverte au début du XXe siècle, la MA est encore incurable. Certains médicaments permettant d'atténuer les symptômes de la maladie sont toutefois disponibles. Les médicaments inhibiteurs de l'Acétylcholinestérase sont utilisés pour diminuer la dégradation de l'Acétylcholine (ACh) au niveau des fentes synaptiques. Ainsi, ils permettent de prolonger les effets de l'acétylcholine, un neurotransmetteur impliqué dans la régulation de la mémoire et de l'apprentissage [78].

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 Donépézyll (Aricept®) ; la Rivastigmine (Exelon®) et la Galanthamine (Reminyl®) [79].

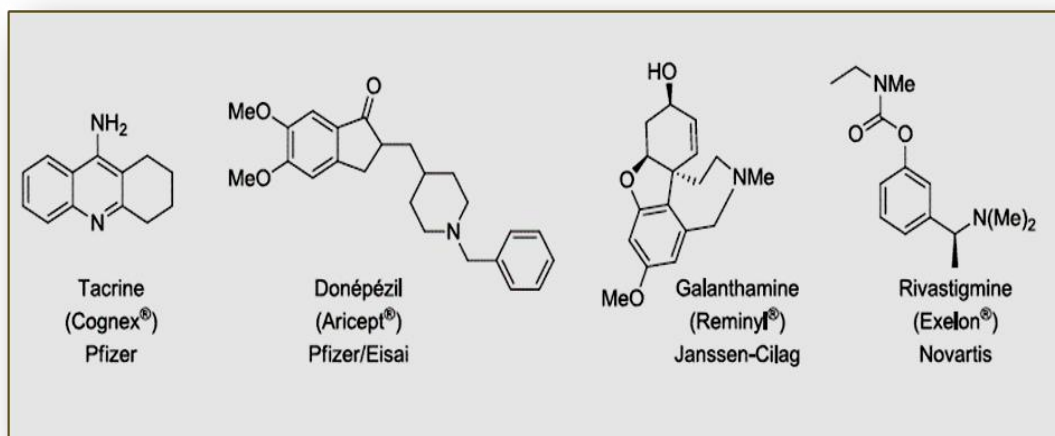


Figure II. 26: Inhibiteurs de l'AChE

La tacrine : (Cognex®) C'est un inhibiteur non compétitif de l'AChE mais aussi de la BuChE. La tacrine se fixe au niveau du site catalytique de l'AChE de manière réversible. Celle-ci fut le premier traitement approuvé par les autorités de santé pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Ce médicament peut entraîner des effets indésirables liés à l'excès d'acétylcholine : nausées, vomissements, diarrhées, crampes abdominales, sécrétion excessive de salive. Il semble en outre que la prise de doses très importantes de tacrine soit toxique pour les cellules du foie [80].

Le donépézil : présent sous la forme de chlorhydrate de donépézil, est le deuxième inhibiteur de l'AChE mis sur le marché sous le nom de Aricept®. C'est un inhibiteur sélectif, non compétitif et réversible de l'AChE. Il constitue un des traitements anti-Alzheimer les plus courants utilisés de nos jours.

Selon une étude publiée dans The New England Journal of Médecine, le donépézil, traitement courant contre les phases précoces de la maladie d'Alzheimer, est aussi bénéfique dans ses formes plus sévères [81].

La rivastigmine : est un inhibiteur irréversible de l'AChE. Commercialisé sous le nom de Exelon®, cette molécule agit aussi bien sur l'AChE ou la BuChE en formant un complexe lié par une liaison covalente entraînant une inactivation transitoire des enzymes [82]. Sa faible toxicité rend cette molécule très attractive pharmacologiquement.

La galanthamine : (Reminyl®), est un alcaloïde d'origine naturelle. La galanthamine potentialise l'action de l'ACh en inhibant de façon compétitive et réversible l'AChE. On suppose qu'elle pourrait restaurer les transmissions cholinergiques. Son effet indésirable le plus fréquent est son action émétique [83].

Références

- [1]: Creighton, Thomas E. Proteins: structures and molecular properties. Macmillan, (1993):45
- [2]: Muñoz, Victor, ed. Protein folding, misfolding and aggregation: Classical themes and novel approaches. Royal Society of Chemistry, 2008.
- [3]: Karimova, Gouzel, Daniel Ladant, and Agnes Ullmann. "Two-hybrid systems and their usage in infection biology." International journal of medical microbiology 292.1 (2002): 17-25.
- [4]: Park, Sang-Hyun, and Ronald T. Raines. "Genetic selection for dissociative inhibitors of designated protein–protein interactions." Nature biotechnology 18.8 (2000): 847-851.
- [5]: Lodish, Mr Harvey, and James Darnell. Biologie moléculaire de la cellule. De Boeck Supérieur, 2005.
- [6]: López, Begoña, Arantxa González , and Javier Díez . "Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases." Circulation 121.14 (2010): 1645-1654.
- [7]: Berman, Helen M., et al. "The protein data bank." Nucleic acids research 28.1 (2000): 235-242.
- [8]: L.P Graham, Chimie pharmaceutique (traduction de la 2ème édition), (2003): 20-31
- [9]: D. Salvatore, N. Duraffourg, T. Croguennec, S. Bouhallab & V. Forge. 2009.
- [10]: C. Branden, J. Tooze, Introduction to protein structure, second edition, Garland Publishing, New-York, 1999.
- [11]: Riad Benchoucha Première année de médecine. Biochimie, 2011.
- [12]: Pauling, Linus, Robert B. Corey, and Herman R. Branson. "The structure of proteins: two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain." Proceedings of the National Academy of Sciences 37.4 (1951): 205-211.
- [13]: Pauling, Linus, and Robert B. Corey. "The pleated sheet, a new layer configuration of polypeptide chains." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 37.5 (1951): 251.
- [14]: Brut, Marie. Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques: les Modes Statiques. Diss. Université Paul Sabatier-Toulouse III, 2009.
- [15]: Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W., Biochimie de Harper (2th Ed.). de Boeck Université, chap. 6, 2003.

- [16]: Srinivasan, Rajgopal, and George D. Rose. "A physical basis for protein secondary structure." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96.25 (1999): 14258-14263.
- [17]: Arrault, Alban. *Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma*. Diss. Université d'Orléans, 2007.
- [18]: Dupin, Henri. *Alimentation et nutrition humaines*. ESF éditeur, 1992.
- [19]: Abder-Rahim Biad "Debugging Human DNA" ,illustrée; Lulu.com, 2016.
- [20]: Pelmont, Jean. *Enzymes: catalyseurs du monde vivant*. No. 577.15 PEL, 1995.
- [21]: Thuriaux, P. "Eduard Buchner, ou un siècle d'enzymologie." (1998).
- [22]: L. Stryler, J. M. Berg, J.L. Tymoczko. *Biochimie*. Edition Flamation Médecine, Scientifiques (6ème édition) chapitre 2, (2008): 16.
- [23]: C. LARCHER « Classification enzymes », Cour, Lycée Saint-Louis Bordeaux, 2009.
- [24]: Michaelis, Leonor, and Maud L. Menten. "Die kinetik der invertinwirkung." *Biochem. z* 49.333-369 (1913): 352.
- [25]: Reginald H. Garrett, Charles M. Grisham, *Biochimie*, De Boeck Supérieur, 2000: 428-429.
- [26]: Adinarayana, K. P. S., P. Ashoka Reddy, and P. Ajay Babu. "Structural studies on docking selective COX-2 inhibitors." *J. Bioinform. Res* 1.1 (2012): 21-26.
- [27]: Dr KASSOUL.A, *Cours d'ENZYMOLOGIE*, faculté médecine, (2016) : 4-5.
- [28]: Senge, Mathias O., Stuart A. MacGowan, and Jessica M. O'Brien. "Conformational control of cofactors in nature—the influence of protein-induced macrocycle distortion on the biological function of tetrapyrroles." *Chemical Communications* 51.96 (2015): 17031-17063.
- [29]: Henri, Victor. *Lois générales de l'action des diastases*. Librairie Scientifique A. Hermann, 1903.
- [30]: Bjelaković, Gordana, et al. "Competitive inhibitors of enzymes and their therapeutic application." *Med Biol* 9.3 (2002): 201-206.
- [31]: C. M. G. R. GARRETT, « *Biochimie* » De Boeck, 2ème Edition américaine. Paris, (2000).
- [32]: Adugna, Solomon, et al. "Medical Biochemistry." *Lecture Notes For Health Science Students*. In collaboration with the Ethiopia Public Health Training Initiative, The Carter

Center, the Ethiopia Ministry of Health, and the Ethiopia Ministry of Education **2004**.

[33]:Copeland, R. A. Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, **2013**.

[34]:Copeland, Robert A. Enzymes: a practical introduction to structure, mechanism, and data analysis. John Wiley & Sons, **2000**.

[35]:Smith, H. J.; Simons, C. Enzymes and their inhibition : drug development; CRC Press, **2005**.

[36]:L. Stryer, W.H Freeman, Biochemistry Second edition, **1981**.

[37]:Honig, Barry. "Protein folding: from the Levinthal paradox to structure prediction." Journal of Molecular Biology 293.2 (**1999**): 283-293.

[38]:Kitchen, Douglas B., et al. "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications." Nature reviews Drug discovery 3.11 (**2004**): 935-949.

[39]:Quinkal, Isabelle. "Quelques termes-clef de biologie moléculaire et leur définition." INRIA Rhône-Alpes (**2003**).

[40]:Dr. KHITHER.H.Biochimie structurale. Université Ferhat Abbas Sétif -1-,**2021**.

[41]:Karp, Gerald. Biologie cellulaire et moléculaire: concepts et expériences. De Boeck Université, **1998**.

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

[43]: SEVE, M. "Les acides aminés: Propriétés Physico-chimiques." (**2011**).

[44]: Sablonnière, Bernard, Hugues Chap, and Jean-Yves Le Gall. "Biochimie & biologie moléculaire." (**2006**).

[45]:Fargo, Keith, and Laura Bleiler. "Alzheimer's association report: 2014 Alzheimers disease facts and figures." Alzheimers Dement 10.2 (**2014**): e47-e92.

[46]:Alzheimer's, A. "Alzheimer's disease facts and figures," Alzheimers Dement." J. Alzheimer's Assoc 11.3 (**2015**).

[47]:Khan, Mahmud Tareq Hassan, et al. "Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies." Chemico-Biological Interactions 181.3 (**2009**): 383-389.

[48]:Rocchi, Anna, et al. "Causative and susceptibility genes for Alzheimer's disease: a review." Brain research bulletin 61.1 (**2003**): 1-24.

- [49]:Knobloch, Marlen, and Isabelle M. Mansuy. "Dendritic spine loss and synaptic alterations in Alzheimer's disease." *Molecular neurobiology* 37.1 (2008): 73-82.
- [50]:Chen, Zhichun, and Chunjiu Zhong. "Oxidative stress in Alzheimer's disease." *Neuroscience bulletin* 30.2 (2014): 271-281.
- [51]:Tublin, Joshua M., et al. "Getting to the heart of Alzheimer disease." *Circulation research* 124.1 (2019): 142-149.
- [52]:Cummings, Jeffrey L., and Carla Back. "The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease." *The American Journal of Geriatric Psychiatry* 6.2 (1998): S64-S78.
- [53]:Lyketsos, Constantine G., et al. "Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease." (2011): 532-539.
- [54]:Audrain, Mickaël. Modélisation des phases précoces de la maladie d'Alzheimer par transfert de gènes. Diss. Sorbonne Paris Cité, 2016.
- [55]:Société Alzheimer du Canada, maladie d'Alzheimer De quoi s'agit-il? Québec : Éditions de la Société d'Alzheimer, 2010.
- [56]:Raber, Jacob, Yadong Huang, and J. Wesson Ashford. "ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology." *Neurobiology of aging* 25.5 (2004): 641-650.
- [57]:Hara, Yuko, Nicholas McKeegan, and Howard M. Fillit. "Translating the biology of aging into novel therapeutics for Alzheimer disease." *Neurology* 92.2 (2019): 84-93.
- [58]:Rakesh, Gopalkumar, et al. "Strategies for dementia prevention: latest evidence and implications." *Therapeutic advances in chronic disease* 8.8-9 (2017): 121-136.
- [59]:Reitz, Christiane, and Richard Mayeux. "Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers." *Biochemical pharmacology* 88.4 (2014): 640-651.
- [60]:Warren, Jason D., Jonathan D. Rohrer, and Martin N. Rossor. "Frontotemporal dementia." *Bmj* 347 (2013).
- [61]:Gatchel, Jennifer R., et al. "Regional 18F-fluorodeoxyglucose hypometabolism is associated with higher apathy scores over time in early Alzheimer disease." *The American Journal of Geriatric Psychiatry* 25.7 (2017): 683-693.
- [62]: Kumar, Anil, and Arti Singh. "A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update." *Pharmacological reports* 67.2 (2015): 195-203.
- [63]:Perl, Daniel P. "Neuropathology of Alzheimer's disease." *Mount Sinai Journal of*

Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine 77.1 (2010): 32-42.

[64]:Murphy, M. Paul, and Harry LeVine III. "Alzheimer's disease and the amyloid- β peptide." Journal of Alzheimer's disease 19.1 (2010): 311-323.

[65]: Brunden, Kurt R., John Q. Trojanowski, and Virginia M-Y. Lee. "Advances in tau-focused drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies." Nature reviews Drug discovery 8.10 (2009): 783-793.

[66]: Sun, Xiaoting, Lan Jin, and Peixue Ling. "Review of drugs for Alzheimer's disease." Drug discoveries & therapeutics 6.6 (2012): 285-290.

[67]:Hellström-Lindahl, Ewa. "Modulation of β -amyloid precursor protein processing and tau phosphorylation by acetylcholine receptors." European journal of pharmacology 393.1-3 (2000): 255-263.

[68]:Duyckaerts, C., et al. "Maladie d'Alzheimer: les lésions et leur progression." Rev Neurol Paris 155 (1999): 17-27.

[69]: Graham, L. P., and Depovere P. Patrick. "Chimie pharmaceutique." Paris: Deboek (2003): 380-386.

[70]:Zhou, Yanzi, Shenglong Wang, and Yingkai Zhang. "Catalytic reaction mechanism of acetylcholinesterase determined by Born– Oppenheimer ab initio QM/MM molecular dynamics simulations." The journal of physical chemistry B 114.26 (2010): 8817-8825.

[71]:Massoulié, Jean, et al. "Structure and functions of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase." Progress in brain research 98 (1993): 139-146.

[72]: Quinn, Daniel M. "Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states." Chemical reviews 87.5 (1987): 955-979.

[73]:Sussman, Joel L., and Israel Silman. "Acetylcholinesterase: structure and use as a model for specific cation—protein interactions." Current Opinion in Structural Biology 2.5 (1992): 721-729.

[74]:Sanson, Benoît. La dynamique structurale de l'acétylcholinestérase: étude réalisée par cristallographie aux rayons X et une méthode spectroscopique complémentaire. Diss. Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2009.

[75]:Inestrosa, Nivaldo C., et al. "Acetylcholinesterase accelerates assembly of amyloid- β peptides into Alzheimer's fibrils: possible role of the peripheral site of the enzyme." Neuron 16.4 (1996): 881-891.

[76]:Darvesh, S., D. L. Grantham, and D. A. Hopkins. "Distribution of butyrylcholinesterase in the human amygdala and hippocampal formation." *Journal of Comparative Neurology* 393.3 (1998): 374-390.

[77]:Darvesh, Sultan, David A. Hopkins, and Changiz Geula. "Neurobiology of butyrylcholinesterase." *Nature Reviews Neuroscience* 4.2 (2003): 131-138.

[78]:Klinkenberg, Inge, Anke Sambeth, and Arjan Blokland. "Acetylcholine and attention." *Behavioural brain research* 221.2 (2011): 430-442.

[79]:Anand, R., Kiran Dip Gill, and Abbas Ali Mahdi. "Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future." *Neuropharmacology* 76 (2014): 27-50.

[80]:Davis, Kenneth L., and Peter Powchik. "Tacrine." *The Lancet* 345.8950 (1995): 625-630.

[81]:Polinsky, Ronald J. "Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease." *Clinical therapeutics* 20.4 (1998): 634-647.

[82]:Greenblatt, Harry M., et al. "Acetylcholinesterase." *Journal of Molecular Neuroscience* 20.3 (2003): 369-383.

[83]:Harvey, Alan L. "The pharmacology of galanthamine and its analogues." *Pharmacology & therapeutics* 68.1 (1995): 113-128.



Chapitre III

Résultats et discussion

I. Introduction

Une cible médicamenteuse est une clé moléculaire qui se trouve dans un métabolisme particulier et évolue dans un cheminement de signalisation spécifique à une pathologie. L'interaction entre cette cible et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Des ligands (médicaments) se lient à la région active et inhibent cette partie clé de la molécule peut être alors conçue [1]. En plus, mieux comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre les molécules. De même, la découverte de nouvelles molécules inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires ont été développées.

Cette étude est basée sur les différentes méthodes de la modélisation moléculaire tel que : Docking moléculaire, QSAR et propriétés ADME.

Le Docking moléculaire a été effectué pour analyser le score de complexe et les différents types d'interactions présentes entre certains acides aminés de la protéine étudiée et celle de ligands. D'autre part, Le QSAR est devenue, actuellement, un outil indispensable dans le domaine de la conception de médicaments, notamment dans le cas d'absence d'information sur le site actif de l'enzyme. Techniquement, cette approche se base principalement sur le choix des descripteurs et l'algorithme d'apprentissage [2].

En fin pour diminuer le taux d'échec des candidats-médicaments la mise en place de filtres ADME (Absorption Distribution Métabolisme et Elimination)-Tox (Toxicité) des chimiothèques dans tout processus de criblage a donné de bonnes performances pharmacocinétiques et de biodisponibilité, ainsi que, d'excellents résultats [3].

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'interaction (inhibition) entre une série nouvellement synthétisées contiennent 37 molécules avec les deux enzymes : Acétylcholinestérase (AChE) et Butyrylcholinestérase (BuChE) par les méthodes de la modélisation moléculaire (docking moléculaire; QSAR et une dernière méthode pour voir les propriétés ADME) dans le but de traiter ou ralentir la progression de la maladie neuro-dégénérative « Alzheimer ».

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

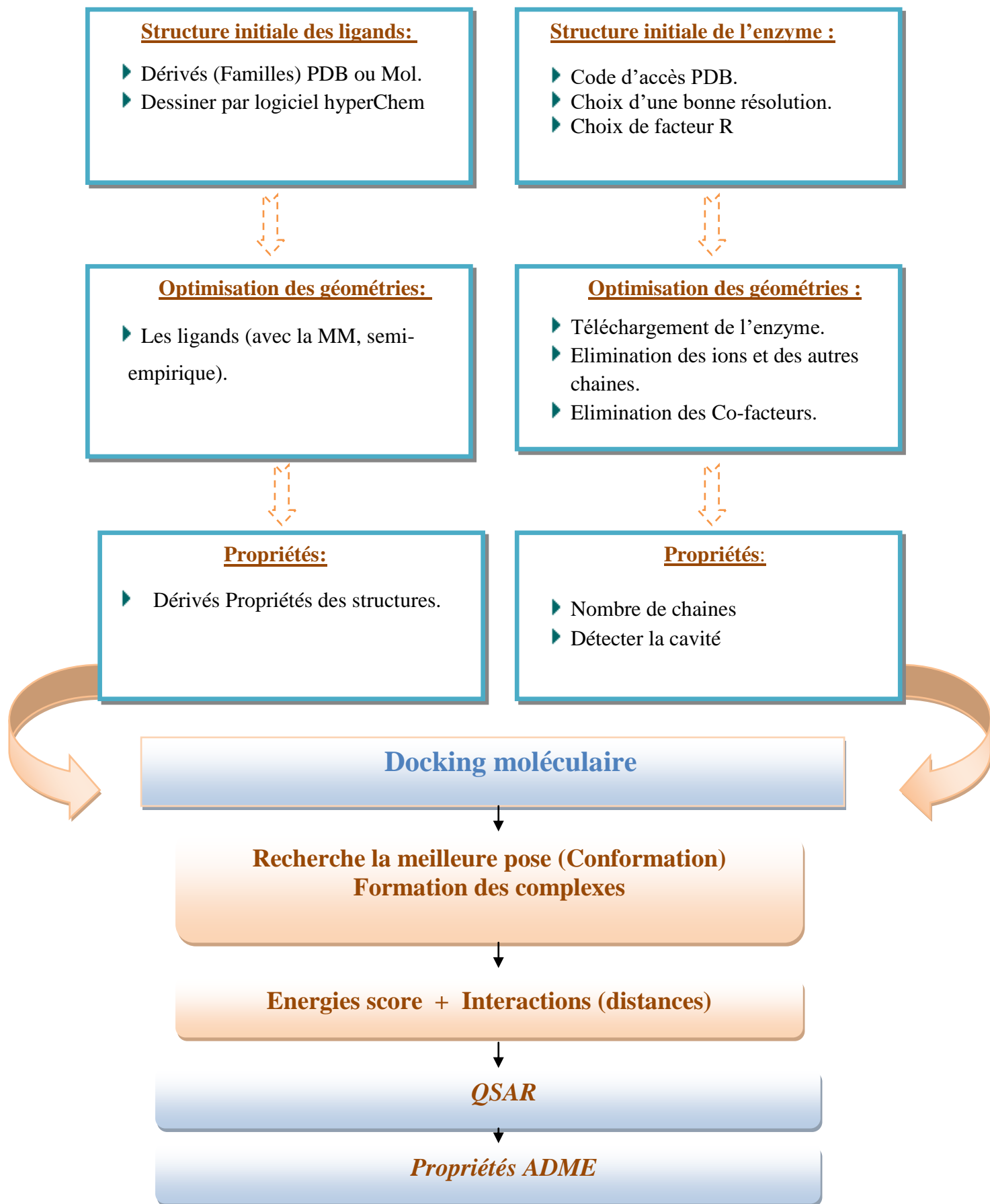


Figure III.1 : Protocole de calcul

II. Méthodes et Matériels

II.1. Ensemble des données et modélisation moléculaire

II.1.1. Préparation des enzymes (cibles)

Le téléchargement des enzymes ont été fait à partir de la base de données *Bookhaven Protein Data Bank* (www.rcsb.org/pdb) [4]. Dans cette base de données nous trouvons plusieurs structures PDB des deux enzymes en questions. Le choix de ces deux enzymes basés sur la méthode (Rayons X, RMN, Homologie), la résolution ($1.5\text{\AA} \leq \text{Résolution} \leq 2.5\text{\AA}$) et le type d'organisme étudié, ainsi que le ligand native (Co-cristallisé=Référence).

Dans notre cas les structures tridimensionnelles (3D) de l'**Acétylcholinestérase** (AChE) et le **Butyrylcholinestérase** (BuChE) et leurs propriétés sont regroupées dans le tableau III.1.

Tableau III.1. Quelques informations relatives aux enzymes 4EY7 et 4BDS [5,6].

| Enzymes PDB | Méthodes | System Expression | Chaines | Longueur de séquence | R-value | Résolution Å | Ligand native |
|-------------|-------------------|-------------------|---------|----------------------|---------|--------------|---------------|
| 4EY7 | X-ray diffraction | Homo sapiens | A,B | 542 | 0.175 | 2.35 | E20 |
| 4BDS | X-ray diffraction | Homo sapiens | A | 529 | 0.175 | 2.10 | THA |

Le ligand co-cristallisé de 4EY7 est : E20 (Donepezil : $C_{24}H_{29}NO_3$) et 4BDS est : THA(Tacrine : $C_{13}H_{14}N_2$)

Nous avons choisi la méthode "Diffraction des rayons X" car elle possède une excellente précision et le remplissage des cages de diffraction laisse peu ou pas d'ambigüité.

En général, les structures de protéines ayant une résolution comprise entre 1,5 et 2,5 Å sont de bonne qualité pour des études ultérieures [7,8], alors que les valeurs de résolution de l'AChE et du BuChE appartiennent à cet intervalle.

La structure tridimensionnelle (3D) montre que l'enzyme de Acétylcholinestérase est cristallisée sous la forme d'un dimère (deux chaînes A et B) et Butyrylcholinestérase cristallisent sous forme d'un monomère respectivement (voir figure III-2(a) et (b)).

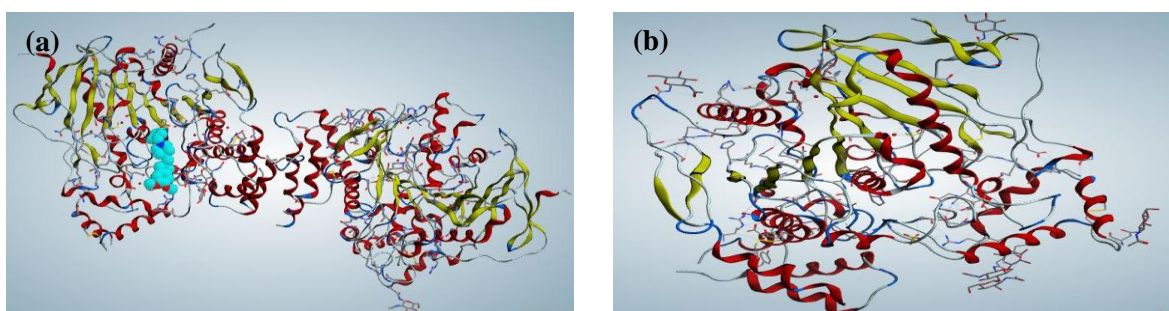


Figure III.2: La forme dimère (a) de : AChE et monomère (b) de : BuChE.

Notre étude est basée sur la simplification d'enzyme comme une étape clé et essentielle pour accélérer le taux de simulation. Les co-facteurs et les ions ont été éliminés; mais les molécules d'eau sont maintenues.

Les molécules d'eau dans les cavités des protéines peuvent parfois être un élément fondamental [9], certains algorithmes sont capables de simuler la présence de molécules d'eau dans les cavités des protéines, ainsi que la présence d'eau est parfois indispensable pour assurer un relais entre le ligand et le site actif et ainsi créer des réseaux de liaisons hydrogène [10].

II.1.2. Préparation des ligands

Un ligand est une molécule chimique, qui pourrait être composée d'un ou de plusieurs fragments (groupements). Dans cette étude le ligand est un Inhibiteur : Contrairement à l'activateur, ce type de ligand modifie la structure électronique du site actif en diminuant l'affinité de l'enzyme pour son substrat.

Les 2-hydroxy-N-phénylbenzamides 1-4l ont été synthétisés à partir d'acides salicyliques et d'anilines substitués en utilisant du trichlorure de phosphore (PCl_3) sous irradiation par micro-ondes (MW) (schéma).

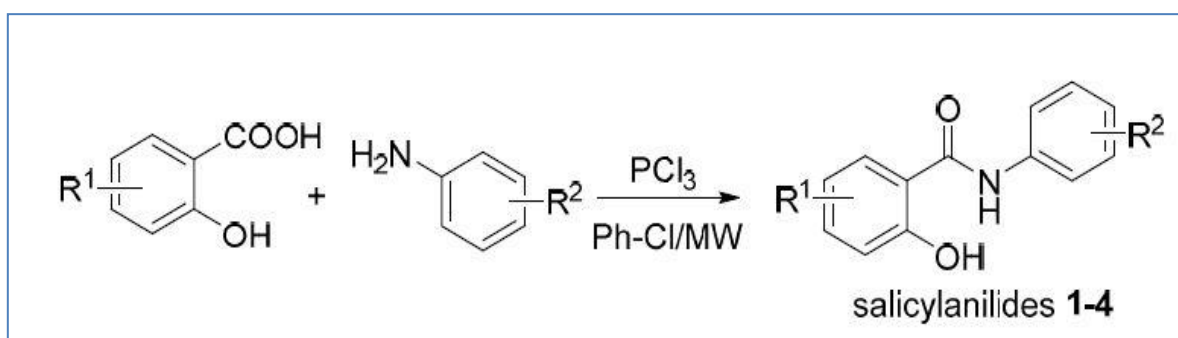


Schéma III.1 : Préparation de 2 hydroxy-N-phenylbenzamide

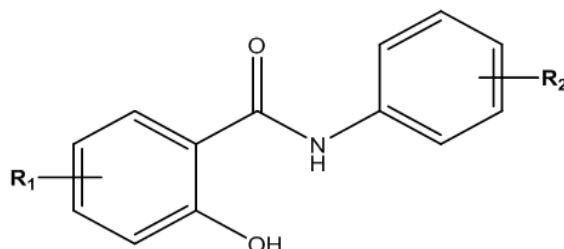
a. Structure des ligands

Dans cette étude, nous avons sélectionné une série constituée 37 molécules dérivées de (2 hydroxy-N-phenylbenzamide) [11], qui ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase.

Les structures tridimensionnelles (3D) de tous les composés (tableau III.2) ont été dessinées et pré-optimisées au moyen du champ de force de la mécanique moléculaire (MM+). Suivi par un calcul semi-empirique en utilisant AM1 [12]. Toutes les méthodes sont implémentées dans le logiciel HyperChem 8.0.8 [13]. Finalement, une base de

données a été créé dans lequel tous les ligands ont été convertis en extension *.mdb pour utiliser comme entrée MOE-docking [14].

Tableau III.2 : Structures chimiques des ligands.



| Comp ^a | Comp | R1 | R2 | Comp ^a | Comp | R1 | R2 |
|-------------------|------|------|-------------|-------------------|------|------|-------------|
| 1 | L1 | H | H | 3g | L20 | 4-Cl | 4-Br |
| 2a | L2 | 5-Cl | 3-Cl | 3h | L21 | 4-Cl | 3-F |
| 2b | L3 | 5-Cl | 4-Cl | 3i | L22 | 4-Cl | 4-F |
| 2c | L4 | 5-Cl | 3,4-diCl | 3j | L23 | 4-Cl | 3-CF3 |
| 2d | L5 | 5-Cl | 3,5- diCl | 3k | L24 | 4-Cl | 4-CF3 |
| 2e | L6 | 5-Cl | 3,4,5-triCl | 3l | L25 | 4-Cl | 3,5-bis-CF3 |
| 2f | L7 | 5-Cl | 3-Br | 4a | L26 | 5-Br | 3-Cl |
| 2g | L8 | 5-Cl | 4- Br | 4b | L27 | 5-Br | 4-Cl |
| 2h | L9 | 5-Cl | 3-F | 4c | L28 | 5-Br | 3,4-diCl |
| 2i | L10 | 5-Cl | 4-F | 4d | L29 | 5-Br | 3,5-diCl |
| 2j | L11 | 5-Cl | 3-CF3 | 4e | L30 | 5-Br | 3,4,5-triCl |
| 2k | L12 | 5-Cl | 4-CF3 | 4f | L31 | 5-Br | 3-Br |
| 2l | L13 | 5-Cl | 3,5-bis-CF3 | 4g | L32 | 5-Br | 4-Br |
| 3a | L14 | 4-Cl | 3-Cl | 4h | L33 | 5-Br | 3-F |
| 3b | L15 | 4-Cl | 4-Cl | 4i | L34 | 5-Br | 4-F |
| 3c | L16 | 4-Cl | 3,4-diCl | 4j | L35 | 5-Br | 3-CF3 |
| 3d | L17 | 4-Cl | 3,5-diCl | 4k | L36 | 5-Br | 4-CF3 |
| 3e | L18 | 4-Cl | 3,4,5-triCl | 4l | L37 | 5-Br | 3,5-bis-CF3 |
| 3f | L19 | 4-Cl | 3-Br | / | / | / | / |

(a) : Numérotation selon la littérature.

b. Propriétés des ligands

Les calculs effectués à l'aide de MOE2014 donnent les propriétés suivantes :

Table III.3: Quelques propriétés des composés étudiés

| Ligands | Toxic | Rsynth (%) | Ligands | Toxic | Rsynth (%) |
|---------|-------|------------|---------|-------|------------|
| L1 | No | 100 | L20 | No | 100 |
| L2 | No | 100 | L21 | No | 100 |
| L3 | No | 100 | L22 | No | 100 |
| L4 | No | 100 | L23 | No | 100 |
| L5 | No | 100 | L24 | No | 100 |
| L6 | No | 100 | L25 | No | 100 |
| L7 | No | 100 | L26 | No | 100 |
| L8 | No | 100 | L27 | No | 100 |
| L9 | No | 100 | L28 | No | 100 |
| L10 | No | 100 | L29 | No | 100 |
| L11 | No | 100 | L30 | No | 100 |
| L12 | No | 100 | L31 | No | 100 |
| L13 | No | 100 | L32 | No | 100 |
| L14 | No | 100 | L33 | No | 100 |
| L15 | No | 100 | L34 | No | 100 |
| L16 | No | 100 | L35 | No | 100 |
| L17 | No | 100 | L36 | No | 100 |
| L18 | No | 100 | L37 | No | 100 |
| L19 | No | 100 | / | / | / |

On peut noter à l'aide de tableau ci-dessus que tous les ligands sont non toxiques donc on peut dire qu'ils sont validés pour devenir des médicaments. Vous trouvez autre propriétés des ligands dans la section de QSAR.

II.2. Protocol de docking moléculaire

L'une des méthodologies les plus utilisées à l'heure actuelle est l'arrimage moléculaire (docking moléculaire), c'est à dire le positionnement automatique d'une molécule au sein du site de liaison [15]. Ce ligand (molécule) peut alors être modifié pour générer le plus d'interactions favorables possibles avec la protéine [16].

Le processus de docking comprend deux étapes fondamentales : la prévision de la conformation du ligand ainsi que sa position et son orientation au sein de ces sites (généralement appelés pose) et l'évaluation de l'affinité de liaison [17, 18].

Le programme MOE a été utilisé pour notre étude car :

1^{ère} : il est facile à manipuler.

2^{ème} : il a prouvé son fiabilité dans de études antérieures, on peut citer quelque exemple de ces recherches :

Eman K.A. Abdelall et *al* [19], Matteo Aldeghi et *al* [20], Sarah T. A. Al-Rashood et *al* [21]. Khac-Minh Thai et *al* [22], Somaia S. Abd El-Karim et *al* [23], Sheng Liu et *al* [24]. Tamer Nasr et *al* [25], Jiansong Fang et *al* [26], Sally S. El-Nakkady et *al* [27]. I. daoud et *al* [28].

II.3. Modèle des QSAR

Par définition, le QSAR est un modèle mathématique qui associe un ou plusieurs paramètres quantitatifs dérivés de la structure chimique, à une mesure quantitative d'une activité [29].

Aujourd'hui, l'utilisation de QSAR n'a cessé de progresser [30]. Elle est devenue indispensable en chimie pharmaceutique et pour la conception de médicaments, les résultats des études QSAR peuvent fournir des informations utiles pour obtenir une meilleure connaissance des structures moléculaires et probablement le mode d'action au niveau moléculaire. Ces informations peuvent être alors utilisées dans la prédiction des activités biologiques de nouveaux composés ainsi que dans la conception de nouvelles structures [31].

Le principe des méthodes QSAR (quantitative structure-activité Relationship) est, comme leur nom l'indique, de mettre en place une relation mathématique reliant de manière quantitative la structure moléculaire, codée par des propriétés moléculaires appelées descripteurs, avec une activité en utilisant des méthodes d'analyse de données [32]. Par ces relations nous pouvons développer des modèles prédictifs de la forme générale suivante :

$$\text{Activité} = f(\text{descripteurs moléculaire})$$

L'objectif de ces méthodes est alors d'analyser les données structurales afin de déterminer les facteurs influençant l'activité mesurée [33]. Dans la présente étude, le logiciel statistique SPSS version 19 [34] a été utilisé pour effectuer une régression linéaire multiple (MLR).

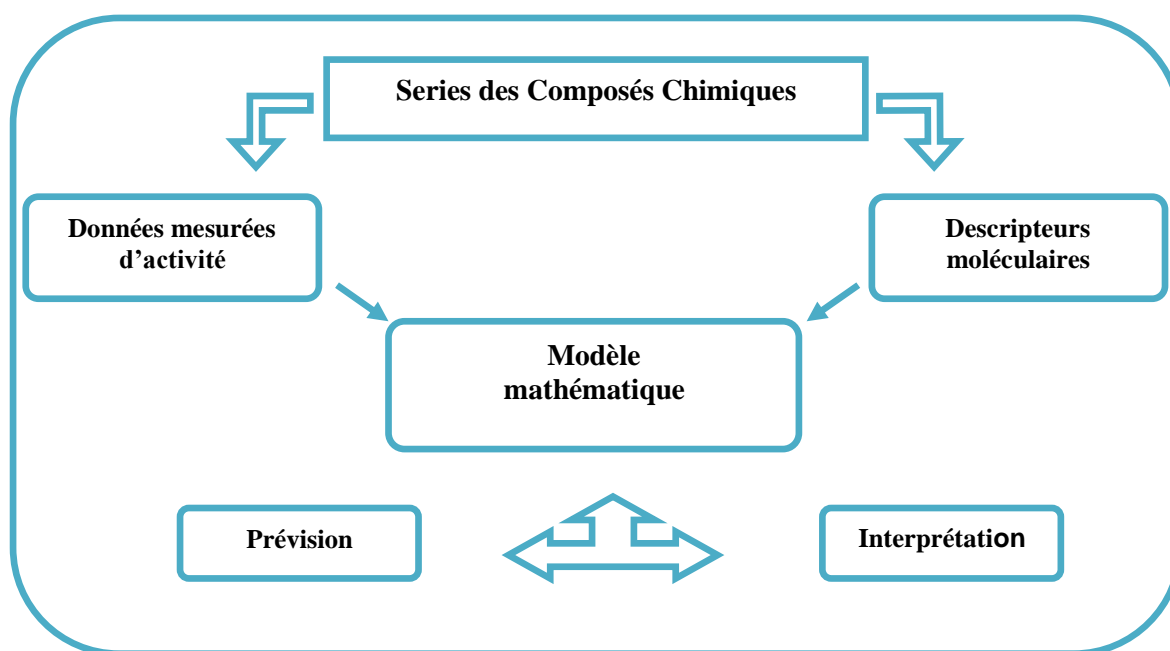


Figure III.3: Modèle d'étude quantitative des relations structure/activité (QSAR).

II.4. Propriétés ADME

Pour qu'un composé candidat devienne un médicament, il doit avoir une pharmacocinétique appropriée, en plus de posséder une bonne activité pharmacologique et un faible profil de toxicité.

Il est également bénéfique si, en plus d'une bonne activité, les molécules qui seront soumises à des tests de bio-activité avancés ont une forte biodisponibilité. De cette façon, seuls les composés ayant un fort potentiel et des propriétés pharmacocinétiques acceptables sont choisis pour la recherche sur le développement de médicaments [35].

De nombreux agents thérapeutiques potentiels ne parviennent pas à faire l'objet d'essais cliniques en raison de leurs paramètres d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (ADME) défavorables ; de plus, ils ne permettent pas de vérifier la conformité du médicament. Notre étude basée sur l'analyse des propriétés pharmaceutiques pertinentes, notamment :

La règle des cinq de Lipinski [36], la règle de Veber [37], la règle d'Egan [38] et la surface polaire (TPSA), La perméabilité BBB [39], Absorption gastro-intestinale [40]... ont été calculés à l'aide du calcul en ligne des propriétés de SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) [41] en important la structure chimique suivie du format SMILES.

III. Résultats et discussion

III.1. Simulation de docking moléculaire

L'étude de l'interaction entre le site actif des enzymes (PDB : 4EY7 et PDB : 4BDS) et les ligands tirés de la littérature est réalisée à l'aide du logiciel MOE.

La validation et la performance de la méthode de docking (logiciel) a été faite par le calcul de la valeur de RMSD des deux ligands native : Donepezil et Tacrine [28].

Dans ce cas, le donépézil et la tacrine ont été "re-docked" dans la poche du site de liaison de l'AChE et du BuChE respectivement, et les valeurs de l'écart quadratique moyen (RMSD) entre le docking et les poses initiales ont été calculées (Tableau III.4).

Tableau III.4: Docking Score et RMSD des deux ligands native (4EY7 et 4BDS).

| Enzymes | Ligand Co-cristallisé | Docking Score | RMSD |
|---------|-----------------------|---------------|-------|
| 4EY7 | Donepezil | -11.247 | 0.408 |
| 4BDS | Tacrine | -6.193 | 0.316 |

D'après la littérature [42], la validation d'une méthode de docking dépend de RMSD (RMSD < 2 Å). En outre, le RMSD ne constitue pas un critère d'évaluation parfait et présente certaines faiblesses. Ainsi, que le RMSD permet d'évaluer les distances entre les positions atomiques mais ne fournit aucune information sur la conservation des interactions entre la structure prédite et la structure cristallisée.

III.1.1. Site actif des enzymes

La fonction des enzymes est liée à la poche hydrophobe particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité possédant des résidus. D'après la littérature, les résidus du site actif de l'AChE sont : HIS440, SER200 et GLU327 créent la triade catalytique, ainsi que TRP279, TYR334, PHE330 et TRP84, mais les résidus du site actif de la BuChE sont : HIS438, SER198 et GLU325 créent la triade catalytique, ainsi que TYR332, PHE329 et TRP82. Ces résidus des deux cibles sont les résidus importants du site actif [43].

III.1.2. Interaction : AChE-Ligands

En utilisant l'option « **Site Finder** » implémentée dans le logiciel MOE 2014 [44, 45] pour identifier les résidus qui forment les sites actifs (les cavités) [46].

La cavité 1 a été choisie (Tableau III.5) pour faire notre calcul de docking car elle possède :

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

Tableau III.5 : Différentes propriétés de première cavité détectée par MOE de l'AChE

| Site | Size | PLB | Hyd | Side | Residues |
|------|------|------|-----|------|---|
| 1 | 216 | 3.48 | 70 | 113 | 1: (GLN71 TYR72 VAL73 ASP74 THR75 LEU76 GLY82 THR83 TRP86 ASN87 PRO88 GLY120 GLY121 GLY122 TYR124 SER125 GLY126 TYR133 GLU202 SER203 ALA204 TRP236 TRP286 LEU289 GLN291 GLU292 SER293 VAL294 PHE295 ARG296 PHE297 TYR337 PHE338 TYR341 GLY342 VAL365 HIS447 GLY448 TYR449 ILE451). |

Marek Bajda et *al* [47] ont confirmé ce choix de cavité 1 et nous a donné quelques informations concernant le site actif de 4EY7 et les résidus qui interviennent à la formation de complexe (figure III.4).

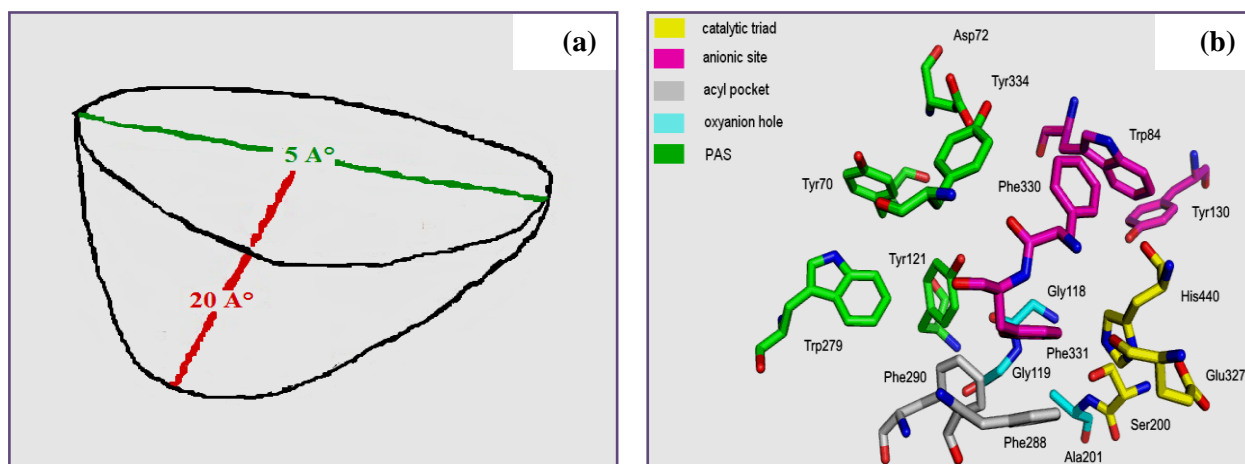


Figure III.4 :(a): Cavité enzymatique et (b): les résidus du site actif de l'AChE

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.4 (a)).

Nous avons utilisé l'option "Ligands interactions" implémentée dans le programme MOE. La Fig III.5 montre le mode de liaison du donépezil à l'AChE après un calcul de redocking, il est en accord avec celui rapporté par Sugimoto et al [48].

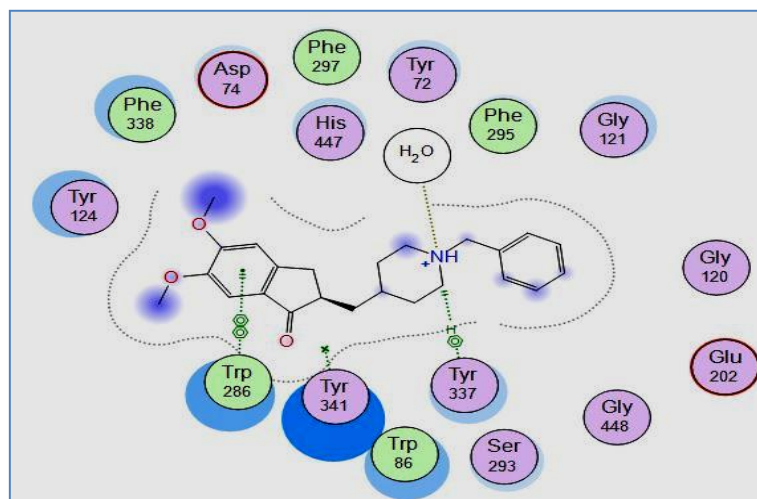


Figure III.5: Meilleure pose de Donépezil dans l'AChe

Le calcul de docking moléculaire exécuté en maintenant la chaîne principale rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles, et les meilleures conformations des ligands ont été classés selon les trois paramètres : l'énergie score (S-score, kcal/mol), les interactions (types et distances) et la valeur de RMSD.

L'analyse des résultats obtenus au cours de ce travail est basée sur les critères suivant:

1-Plus l'énergie score de complexe est faible plus le complexe est stable.

2-Plus il existe des interactions forte Hydrogènes plus ils y a une forte affinité entre le ligand et l'enzyme.

D'après A. Imberty et al [49]. Les distances des interactions Hydrogène comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées faibles.

3-Plus le nombre des interactions est importante plus la stabilité du complexe est augmenté.

4-La qualité de l'ajustement a été évaluée sur la base des valeurs **RMSD** du ligand avec les intervalles suivants :

- rmsd 1,0 Å, bonne pose;
- Å < rmsd ≤ 2,0 Å, pose proche;
- Å < rmsd ≤ 3.0 Å, pose avec erreurs;
- rmsd > 3.0 Å, mauvaise pose [50-52].

Les énergies de score, les distances des interactions et RMSD pour les différents complexes sont reportées dans le tableau III.6.

Tableau III.6 : S-score, IC₅₀, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour l'AChE (PDB ID : 4EY7)

| Ligands | IC ₅₀ value (μM) | S-score (kcal/mol) | RMSD Å | Liaison entre les atomes de ligands et résidus de site actif | | | | | |
|------------|-----------------------------|--------------------|--------------|--|---------------------------|---------------|-------------------|--------------|---------------------|
| | | | | Atome de ligand | Atome ampliquee dans l'AA | Résidus | Type de liaison | Distance (Å) | Energies (kcal/mol) |
| L1 | 49.71±3.73 | -6.534 | 1.238 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.82 | -0.0 |
| L2 | 59.50±3.80 | -6.881 | 1.471 | CL23 | O | His447 | H-donor | 3.28 | -0.3 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.83 | -0.0 |
| L3 | 76.53±2.17 | -6.659 | 1.071 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.80 | -0.0 |
| L4 | 60.79±6.88 | -7.073 | 1.986 | CL22 | O | His447 | H-donor | 3.30 | -0.3 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.79 | -0.0 |
| L5 | 46.21±0.63 | -7.159 | 2.856 | CL18 | N | PHE295 | H-acceptor | 3.38 | -0.8 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.95 | -0.0 |
| L6 | 51.06±0.49 | -7.368 | 1.158 | CL18 | N | PHE295 | H-acceptor | 3.37 | -0.9 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.98 | -0.0 |
| L7 | 50.03±0.15 | -7.068 | 2.597 | CL23 | O | His447 | H-donor | 3.24 | -0.3 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.82 | -0.0 |
| L8 | 58.25±4.87 | -6.714 | 1.246 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.80 | -0.0 |
| L9 | 58.65±3.98 | -6.820 | 1.052 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.83 | -0.0 |
| L10 | 48.27±8.90 | -6.414 | 1.646 | CL23 | O | HIS447 | H-donor | 3.27 | -0.2 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.80 | -0.0 |
| L11 | 54.41±0.25 | -7.106 | 2.259 | CL23 | O | HIS447 | H-donor | 3.31 | -0.3 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.85 | -0.0 |
| L12 | 58.47±2.80 | -6.868 | 1.084 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.80 | -0.0 |
| L13 | 50.18±0.88 | -6.890 | 2.047 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.99 | -0.0 |
| L14 | 58.08±1.20 | -7.302 | 1.389 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.88 | -0.0 |
| L15 | 56.19±3.23 | -7.180 | 1.792 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.80 | -0.0 |
| L16 | 46.26±0.56 | -7.540 | 2.599 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.81 | -0.0 |
| L17 | 50.15±0.26 | -7.461 | 0.726 | CL20 | N | PHE295 | H-acceptor | 3.47 | -0.8 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.83 | -0.0 |
| L18 | 57.78±4.05 | -7.799 | 1.014 | CL18 | N | PHE295 | H-acceptor | 3.40 | -0.8 |

| | | | | | | | | | |
|------------------|-------------------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|----------------|-------------|--------------|
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.83 | -0.0 |
| L19 | 60.03±0.42 | -6.990 | 1.147 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.94 | -0.0 |
| L20 | 58.32±1.57 | -7.254 | 1.474 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.80 | -0.0 |
| L21 | 60.79±1.74 | -6.918 | 1.071 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.85 | -0.0 |
| L22 | 62.85±1.53 | -6.691 | 2.056 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.97 | -0.0 |
| L23 | 68.28±3.78 | -7.478 | 1.676 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.88 | -0.0 |
| L24 | 60.29±2.39 | -7.324 | 2.662 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.82 | -0.0 |
| L25 | 54.72±2.05 | -7.152 | 1.096 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.94 | -0.0 |
| L26 | 62.04±6.48 | -6.995 | 2.433 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.78 | -0.0 |
| L27 | 85.75±6.10 | -6.583 | 0.906 | BR 23 | O | HIS447 | H-donor | 3.45 | -0.4 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.84 | -0.0 |
| L28 | 60.83±3.65 | -7.234 | 2.064 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.91 | -0.0 |
| L29 | 33.13±0.47 | -7.075 | 1.285 | BR 23 | O | HIS447 | H-donor | 3.48 | -0.4 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.78 | -0.0 |
| L30 | 42.08±2.41 | -7.335 | 1.620 | BR 22 | O | HIS447 | H-donor | 3.50 | -0.4 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.78 | -0.0 |
| L31 | 69.72±9.97 | -6.944 | 1.390 | BR 22 | O | HIS447 | H-donor | 3.42 | -0.5 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.83 | -0.0 |
| L32 | 70.30±2.85 | -6.561 | 1.233 | BR 22 | O | HIS447 | H-donor | 3.46 | -0.4 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.85 | -0.0 |
| L33 | 54.44±0.73 | -6.308 | 2.441 | BR 22 | O | HIS447 | H-donor | 3.46 | -0.4 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.85 | -0.0 |
| L34 | 61.22±1.08 | -6.539 | 2.064 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.97 | -0.0 |
| L35 | 42.67±0.18 | -7.107 | 2.251 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.84 | -0.0 |
| L36 | 44.79±3.44 | -7.289 | 3.302 | / | / | / | / | / | / |
| L37 | 48.46±1.07 | -7.115 | 2.098 | 6-ring | 6-ring | TYR341 | pi-pi | 3.90 | -0.0 |
| Donepezil | 56.10±1.41 | -11.247 | 0.408 | N-14 | O | HOH931 | H-donor | 2.79 | -6.5 |
| | | | | C-15 | 6-ring | TYR337 | H-Pi | 4.11 | -1.00 |
| | | | | 6-ring | 6-ring | TRP286 | pi-pi | 3.73 | -0.00 |

La plupart des composés forment des interactions avec les trois résidus : TYR341, His447 et PHE295 du récepteur (voir Tableau. III.6). Nous notons ici que les interactions (liaisons H, Pi-Pi, H-Pi,...) entre tous les composés et les résidus de l'AChE étaient les mêmes que celles entre le ligand natif (co-cristallisé) avec les acides aminés du récepteur (Figure III.5).

Le score d'énergie de la plupart des composés était compris entre : -6.308 et -7.799 Kcal/ mol. Ces énergies varient selon de type d'interaction, distances et leurs valeur d'énergies

Nous pouvons facilement constater que les ligands L18, L16, L23, L17 et L6 forment des complexes possédants les plus petites énergies Score par rapport aux autres complexes. Ces complexes donnent les meilleurs scores: -7.799, -7.540, -7.478, -7,461 et -7.368 respectivement, ceci montre que ces complexes sont plus stables et on peut les classés selon l'ordre suivant : L18 < L16 < L23 < L17 < L6.

En se basant sur les trois paramètres : S-score, les interactions (Types +Distances+ Energies) et la valeur de RMSD nous pouvons constater que les meilleurs ligands qui forment les complexes les plus stables sont : **L18**, **L17** et **L6** à l'exception de **L16** et **L23** car le ligand L16 n'établit aucune interactions d'hydrogène avec le site active de l'AChE en plus il a une valeur de RMSD élevé. De même pour le ligand L23 qui ne possède pas des interactions hydrogène.

D'après les résultats obtenus, on note que le complexe **4EY7-18** donne une valeur de score proche de la valeur de Donépezil (ligand native) dont l'énergie score est :-11.247 Kcal/mol (**Tableau III.6**).

La formation de ce complexe a été assurée par la présence de deux interactions différentes; la première, de type H-accepteur faible, formée entre l'atome du Cl-18 du ligand et l'atome N du résidu aromatique PHE295 a une distance 3.40 Å, la seconde de type hydrophobe, Pi-Pi a été observée entre le 6-ring de ligand et 6-ring du résidu polaire TYR341 a une distance 3.83Å. En outre, PHE295 et TRP341 sont responsables de la formation des différentes interactions [53].

D'autre part, la valeur de RMSD obtenu pour L18 (RMSD=1.014 < 2 Å), donc cette valeur est acceptable. Ce ligand possède une valeur de (**IC50= 57.78±4.05µM**) ce qui suggère qu'il peut inhiber l'enzyme 4EY7.

Le complexe formé par le ligand 17 a une valeur faible d'énergie de score -7,461 kcal/mol. Ceci justifié par la présence de deux interactions formant entre le ligand 17 et les résidus de site actif de l'AChE. La première est faible de type H-accepteur (3.47Å) avec le PHE295 et la deuxième de type Pi-Pi (3,83 Å) avec le TRP341. En plus, la valeur de RMSD obtenus de ce complexe 0.726 Å confirmée une superposition presque parfaite. Notons aussi que ce ligand a une valeur moyenne d'IC50 :50.15±0.26 µM ce qui nous permet de trouver une bonne relation entre l'affinité (Score) et l'activité (IC50).

De même, le complexe formé par ligand 6 donne également une énergie de score faible : -7.368 kcal/mol. Ceci confirme que ce ligand forme un complexe moins stable que les complexes des ligands précédents. Il établit deux interactions. La première faible entre l'atome N de ligand et le résidu PHE295 de type H-accepteur (3.37Å) et la deuxième entre l'atome Cl18 de ligand et le 6-ring du résidu TYR341 de type hydrophobique (Pi-Pi). En plus, on constate que la valeur de RMSD=1.158Å correspondant à ce complexe est acceptable. Le ligand donne une valeur moyenne de IC50 =51.06±0.49µM.

Les composés L18, L17 et L6 ont des valeurs moyennes d'IC50 données ici: 57.78±4.05, 50.15±0.26, et 51.06±0.49 µM respectivement, et les complexes formés par ces ligands reçoivent une énergie de faible score justifiant qu'il existe une faible corrélation entre l'affinité (Score) et l'activité (IC50).

En résumé ici :

On peut classer l'énergie score des trois meilleurs complexes selon l'ordre suivant :

$$L18 < L17 < L6$$

On peut classer le RMSD des trois meilleurs complexes selon l'ordre suivant :

$$L17 < L18 < L6$$

On peut classer l'IC50 des trois meilleurs complexes selon l'ordre suivant :

$$L17 < L6 < L18$$

Nous notons ici que la majorité des résidus du site actif sont situés autour de nos trois meilleurs ligands L18, L17 et L6 et les interactions entre ces ligands et le site actif de l'enzyme de l'AChE sont schématisées en 2D et 3D dans la figure III.6.

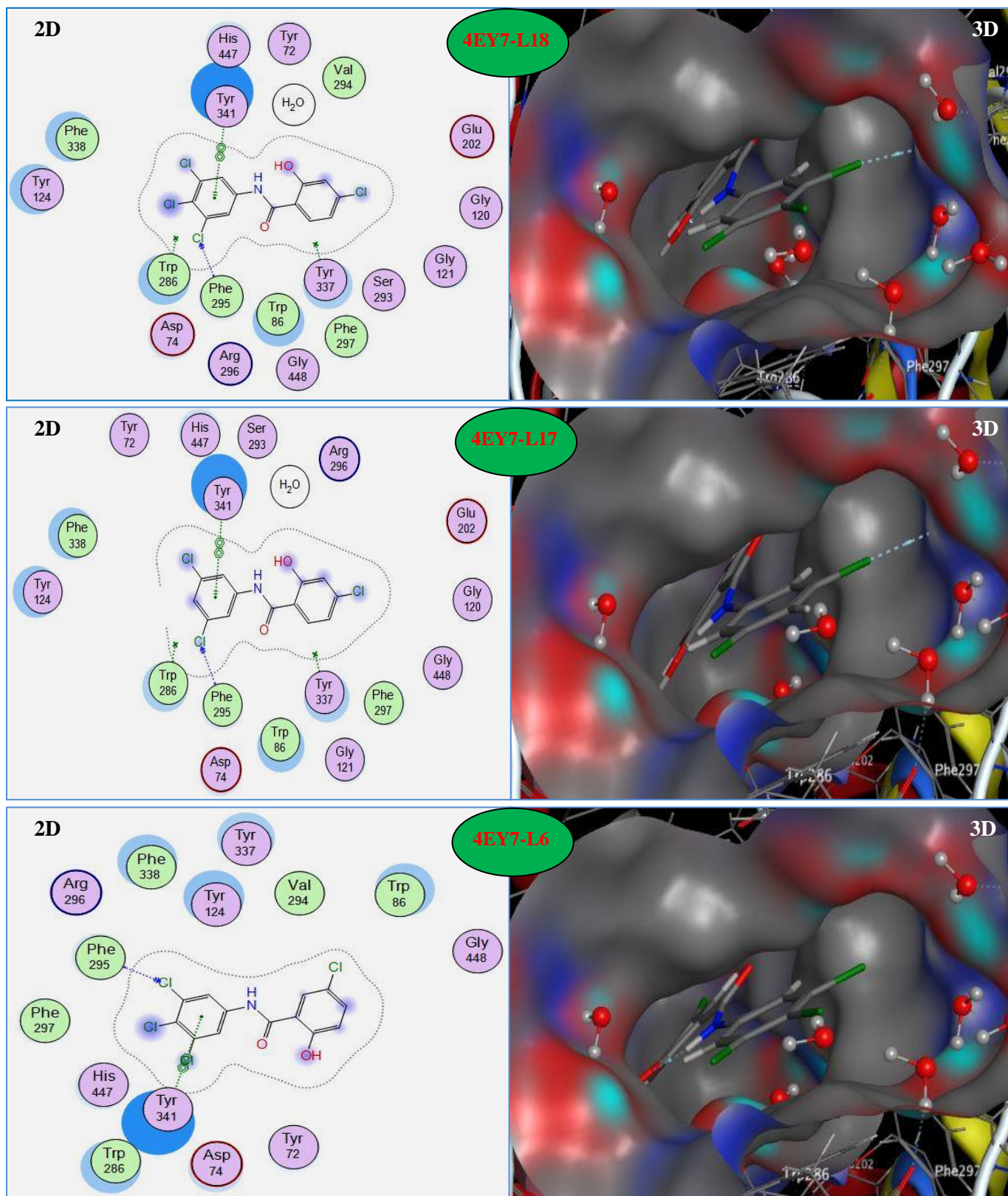


Figure III.6: Schéma en 2D et 3D des interactions entre les meilleurs ligands (L18, L17et L6) et les résidus de site actif de l’AChE.

| | | | |
|-------------|----------------------|---------------------|-----------------|
| ○ polar | → sidechain acceptor | ○ solvent residue | ↔ nonconserved |
| ○ acidic | ← sidechain donor | ○ metal complex | × nonpresent |
| ○ basic | → backbone acceptor | ○ solvent contact | ○ inconsistent |
| ○ greasy | ← backbone donor | ○ metal/ion contact | ⊗ arene-arene |
| ○ proximity | ○ ligand exposure | ○ receptor exposure | ⊗H arene-H |
| ○ contour | | | ⊗+ arene-cation |

III.1.3. Interaction : BuChE-ligands

On donne les propriétés de la cavité 1 détectée par MOE dans le tableau III.7

En utilisant l'option « **Site Finder** » implémentée dans le logiciel MOE 2014 [44, 45] pour identifier les résidus qui forment les sites actifs (les cavités) [46].

La cavité 1 a été choisie (Tableau III.7) 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.

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

| Site | Size | PLB | Hyd | Side | Residues |
|------|------|------|-----|------|--|
| 1 | 330 | 3.93 | 82 | 153 | 1:(GLN67 ASN68 ILE69 ASP70 GLN71 SER72 GLY78 SER79 TRP82 ASN83 PRO84 GLY115 GLY116 GLY117 GLN119 THR120 GLY121 TYR128 GLU197 SER198 ALA199 PRO230 TRP231 GLU238 ARG242 LEU273 LEU274 ASN275 GLU276 ALA277 PHE278 VAL280 TYR282 GLY283 THR284 PRO285 LEU286 SER287 VAL288 ASN289 ALA328 PHE329 TYR332 GLY333 ILE356 PHE357 PHE358 PRO359 GLY360 VAL361 TYR396 ASN397 PHE398 TRP430 MET434 MET437 HIS438 GLY439 TYR440 ILE442) |

D'après la littérature [47] 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-7).



Figure III.7: (a) : Cavité enzymatique et (b) : Les résidus du site actif de BuChE.

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.7(a)).

Nous avons utilisé l'option "Ligands interactions" implémentée dans le programme MOE. La Fig III.8 montre le mode de liaison du tacrine à BuChE après un calcul de re-docking, il est en accord avec celui rapporté par Kurz, A [54].

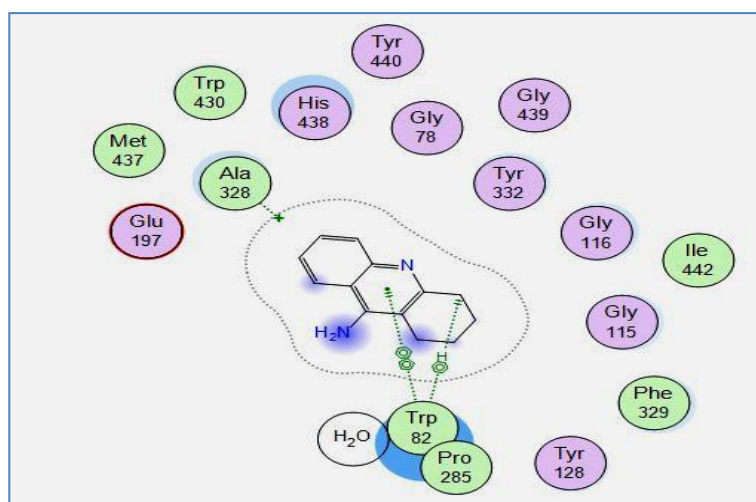


Figure III.8: Meilleure pose de Tacrine dans le BuChE

Le calcul de docking moléculaire exécuté en maintenant la chaîne principale rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles, et les meilleures conformations des ligands ont été classées selon les trois paramètres : l'énergie score (S-score, kcal/mol), les interactions (types et distances) et la valeur de RMSD.

L'analyse des résultats obtenus au cours de ce travail est basée sur les critères suivants (Voir la partie de l'AChE):

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

Tableau III.8: S-score, IC₅₀, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE (PDB ID: 4BDS)

| Ligands | IC ₅₀ value (μM) | S-score (kcal/mol) | RMSD | Liaison entre atomes de ligands et résidus de site actif | | | | | |
|------------|-----------------------------|--------------------|---------------|--|---------------------------|----------------|-----------------|--------------|---------------------|
| | | | | Atome de ligand | Atome amplifiée dans l'AA | Résidus | Type de liaison | Distance (Å) | Energies (kcal/mol) |
| L1' | 207.73±12.15 | -5.671 | 0.7891 | 6-ring | CB | ALA328 | pi-H | 4.27 | -0.6 |
| L2' | 228.42±11.29 | -5.643 | 1.7444 | O16 | O | HOH2093 | H-donor | 3.14 | -0.0 |
| L3' | 169.60±3.09 | -6.119 | 2.5953 | / | / | / | / | / | / |
| L4' | 186.47±15.69 | -5.250 | 1.2108 | O16 | O | HOH2153 | H-donor | 3.04 | -1.1 |
| | | | | CL22 | O | ALA328 | H-donor | 2.96 | -0.5 |
| | | | | CL27 | OE1 | GLU197 | H-donor | 3.23 | -0.4 |
| | | | | 6-ring | O | HOH2055 | pi-H | 3.62 | -0.7 |
| L5' | 111.59±7.98 | -6.003 | 2.0062 | / | / | / | / | / | / |
| L6' | 102.72±0.97 | -6.603 | 0.9790 | O16 | O | HOH2153 | H-donor | 2.97 | -1.4 |
| | | | | CL22 | OG | SER198 | H-donor | 3.08 | -0.7 |
| L7' | 141.04±1.13 | -5.529 | 0.9051 | / | / | / | / | / | / |
| L8' | 118.74±6.67 | -5.762 | 1.6357 | / | / | / | / | / | / |
| L9' | 154.40±8.38 | -5.885 | 1.4349 | O16 | O | HOH2093 | H-donor | 3.14 | 0.1 |
| L10' | 132.99±15.81 | -6.070 | 2.5968 | 6-ring | CD2 | HIS438 | pi-H | 3.89 | -0.6 |
| L11' | 120.30±3.02 | -5.859 | 2.1588 | C4 | OE1 | GLU197 | H-donor | 3.52 | -0.7 |
| L12' | 154.65±3.58 | -5.961 | 2.6401 | O16 | O | HOH2153 | H-donor | 2.99 | -1.5 |
| L13' | 64.44±1.34 | -5.410 | 2.1136 | / | / | / | / | / | / |
| L14' | 134.29±0.24 | -6.209 | 1.5602 | 6-ring | CD2 | HIS438 | pi-H | 3.79 | -0.7 |
| L15' | 152.00±3.13 | -6.022 | 1.9340 | 6-ring | O | HOH2055 | pi-H | 3.52 | -0.7 |
| L16' | 100.27±1.15 | -6.325 | 1.8794 | / | / | / | / | / | / |
| L17' | 141.10±2.80 | -5.940 | 2.2124 | 6-ring | CD2 | HIS438 | pi-H | 3.82 | -0.8 |
| L18' | 132.36±4.31 | -6.401 | 1.7818 | 6-ring | O | HOH2055 | pi-H | 3.65 | -0.7 |
| L19' | 167.80±2.06 | -6.299 | 2.1788 | 6-ring | CD2 | HIS438 | pi-H | 3.74 | -0.8 |
| L20' | 173.99±4.02 | -5.835 | 1.9730 | 6-ring | O | HOH2055 | pi-H | 3.52 | -0.7 |
| L21' | 145.66±4.07 | -6.017 | 0.9939 | / | / | / | / | / | / |
| L22' | 151.76±7.58 | -6.194 | 1.2345 | / | / | / | / | / | / |

| | | | | | | | | | |
|----------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|-------------|--------------|
| L23' | 163.18±11.68 | -6.455 | 1.9769 | 6-ring | CD2 | HIS438 | pi-H | 3.71 | -0.7 |
| L24' | 199.53±2.02 | -6.196 | 2.9664 | 6-ring | O | HOH2055 | pi-H | 3.55 | -0.8 |
| L25' | 150.50±0.87 | -6.506 | 1.8411 | 6-ring | CD2 | HIS438 | pi-H | 3.83 | -0.6 |
| L26' | 134.00±1.63 | -5.856 | 2.6416 | / | / | / | / | / | / |
| L27' | 130.61±3.99 | -5.926 | 1.4785 | / | / | / | / | / | / |
| L28' | 122.60±7.20 | -6.756 | 2.1443 | N14 | NE2 | HIS438 | H-donor | 3.63 | -0.8 |
| | | | | O16 | OE1 | GLU197 | H-donor | 3.33 | -2.0 |
| L29' | 135.92±0.14 | -5.258 | 2.7938 | 6-ring | 5-ring | TRP82 | pi-pi | 3.96 | -0.00 |
| L30' | 140.07±6.20 | -5.590 | 1.9305 | O16 | O | HOH2153 | H-donor | 2.93 | -1.7 |
| | | | | BR22 | OG | SER198 | H-donor | 3.11 | -1.2 |
| L31' | 145.78±3.53 | -5.774 | 1.9536 | / | / | / | / | / | / |
| L32' | 112.16±1.79 | -6.468 | 4.4047 | / | / | / | / | / | / |
| L33' | 119.24±2.53 | -5.767 | 1.8455 | / | / | / | / | / | / |
| L34' | 136.52±1.47 | -6.147 | 1.8936 | / | / | / | / | / | / |
| L35' | 116.91±2.23 | -6.500 | 2.8658 | O16 | OE1 | GLU197 | H-donor | 3.02 | -3.8 |
| L36' | 134.81±0.86 | -6.233 | 2.6375 | / | / | / | / | / | / |
| L37' | 53.46±3.20 | -5.405 | 2.9784 | / | / | / | / | / | / |
| Tacrine | 38.40±1.97 | -6.193 | 0.3169 | C1115 | 6-ring | TRP82 | pi-H | 3.96 | -0.8 |
| | | | | 6-ring | 5-ring | TRP82 | pi-pi | 3.80 | -0.00 |

La plupart des composés forment des interactions avec la molécule d'eau : HOH2093 et les deux résidus : GLU197 et HIS438 du récepteur (voir Tableau III.8). En plus, nous remarquons ici que les interactions (liaisons H, Pi-Pi, H-Pi,...) entre tous les composés et les résidus de l'BuChE étaient presque les mêmes que celles entre le ligand natif (co-cristallisé) avec les acides aminés du récepteur (Figure III.8).

Le score d'énergie de la plupart des composés était compris entre : -5.250 et -6.756 Kcal/mol. Ces énergies varient selon le type d'interaction, les distances et leurs valeurs d'énergies.

Nous pouvons facilement constater que les ligands L28', L6', L25', L35', L32', L30' et L4' forment des complexes possédant les plus petites énergies Score par rapport aux autres complexes. Ces complexes donnent les meilleurs scores: -6.756, -6.603, -6.506, -6.500, -6.468, -5.590 et -5.250 respectivement, ceci montre que ces complexes sont plus stables et on peut les classer selon l'ordre suivant : L28' < L6' < L25' < L35' < L32' < L30' < L4'.

En se basant sur les trois paramètres : S-score, les interactions (Types +Distances+Énergies) et la valeur de RMSD nous pouvons constater que les meilleurs ligands qui forment les complexes les plus stables sont : L6', L30' et L4' à l'exception de L28', L25', L35' et L32' car le ligand L32' n'établit aucune interaction avec le site actif de l'ACHé en plus il a une valeur de RMSD élevée. De même pour les ligands L28' et L35' qui possèdent des interactions hydrogène mais avec une valeur de RMSD importante. En plus le ligand L25' a une seule interaction Pi-H.

D'après les résultats obtenus, on note que le complexe **4BDS-L6'** donne une valeur de score inférieure à la valeur de Tacrine (ligand native) dont l'énergie score est : -6.193 Kcal/mol (**Tableau III.8**).

La formation de ce complexe a été assurée par la présence de deux interactions de type H-donneur (Figure III.9); la première, est forte, formée entre l'atome O16 du composé L6 et le O de la molécule d'eau HOH2153 avec une distance 2.97Å, la seconde aussi forte, a été observée entre l'atome Cl22 de ligand et OG du résidu polaire SER198 avec une distance 3.08Å. De plus, selon la littérature ce composé a une valeur de IC50 = 102.72±0.97 µM et une valeur de RMSD de 0.9790Å; donc la superposition est presque parfaite.

Le complexe formé par le ligand L30' donne également une énergie score -5.590 kcal/mol qui est proche de celle la valeur de Tacrine (ligand native) dont l'énergie score est : -6.193 Kcal/mol (**Tableau III.8**).

Ce ligand forme deux interactions (Figure III.9) avec la cavité de site actif de récepteur, une interaction H-donneur forte a été observée entre le O16 de ligand et le O du la molécule d'eau HOH2153 avec une distance 2.93Å, la seconde une autre interaction H-donneur forte qui a été observée entre l'atome de Br22 de ligand et le OG du résidu SER198 avec une distance 3.11Å.

De même, le ligand L4' forme un complexe **4BDS-L4'** a une énergie score -5.250 kcal/mol assuré par la présence de quatre interactions (Figure III.9), Trois de types H-donneur qui sont observées, la premier forte: entre l'atome O16 de ligand et la molécule d'eau : HOH2153, la deuxième forte ,entre Cl22 de ligand et l'acide aminé polaire ALA328, et la troisième faible a été observée entre Cl27 et le résidu polaire GLU197, avec une distance 3.04 ; 2.96 ; 3.23 Å respectivement. Une autre interaction a été établie de type pi-H entre le 6-ring du ligand L4 et la molécule d'eau : HOH2955 avec une distance 3.62 Å. D'autre part, ce ligand possède une valeur important de $IC_{50}=186.47\pm 15.69\mu M$, et formé plus d'interactions avec les résidus de site actif du récepteur par rapport aux autres composés, ainsi que qu'il a une valeur de RMSD ($1.210 < 2 \text{ \AA}$) acceptable.

Enfinement et d'après Seifert [55] 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. En effet, les molécules dont les affinités mesurées expérimentalement sont connues ne couvrent qu'un très petit intervalle de score par rapport au large intervalle proposé par une fonction de score.

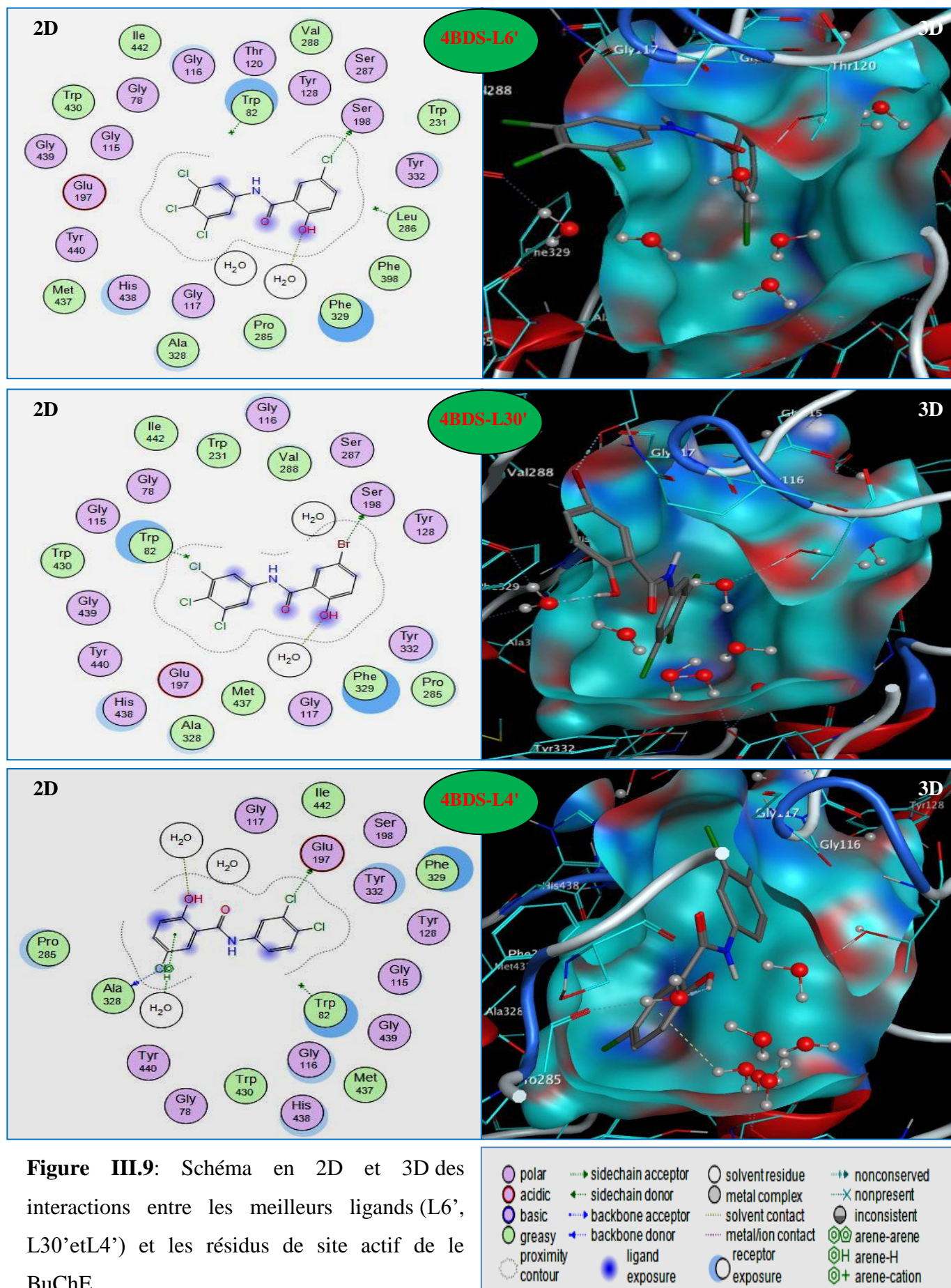


Figure III.9: Schéma en 2D et 3D des interactions entre les meilleurs ligands (L6', L30' et L4') et les résidus de site actif de le BuChE.

III.2. Modèle QSAR et son validation

Dans la présente étude, nous avons essayé de développer le meilleur modèle QSAR pour expliquer les corrélations entre les paramètres physicochimiques et les valeurs IC50 des activités biologiques de 37 dérivés de (2 hydroxy-N phenylbenzamide). Ces composés ont été utilisés pour la génération de modèles de régression multilinéaire. Différents descripteurs physicochimiques tels que la structure stérique, électronique et moléculaire ont été utilisés comme variables indépendantes et ont été corrélés avec l'activité biologique.

Premièrement, les 37 molécules ont été pré-optimisées par la mécanique moléculaire, champ de force (MM+), suivi par un calcul semi-empirique par la méthode : PM3. Toutes ces méthodes sont implémentées dans le logiciel HyperChem 8.0.8.

Les molécules optimisées ont été utilisées pour calculer un certain nombre de descripteurs électroniques: les charges atomiques nettes (qc2',qc3', qc4',qc5'). Le module "propriétés QSAR" de l'HyperChem 8.0.8 a été utilisé pour calculer les paramètres suivants: la réfractivité molaire (MR), le coefficient de partage octanol/eau (Log P), le Volume moléculaire (MV), et le poids moléculaire (MW) (tableau III.9).

Tableau III.9 : Descripteurs utilisés pour construire les modèles de QSAR.

| | PCA2 | Log p | Volume | Masse | MR | qc2' | qc3' | qc4' | qc5' |
|-----|-------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| L1 | 3.686 | -0.17 | 660.25 | 213.24 | 69.87 | -0.129 | -0.089 | -0.105 | -0.09 |
| L2 | 3.641 | -0.61 | 748.7 | 282.13 | 79.3 | -0.133 | -0.112 | -0.106 | -0.077 |
| L3 | 3.77 | -0.61 | 740.73 | 282.13 | 79.3 | -0.118 | -0.089 | -0.131 | -0.091 |
| L4 | 3.729 | -0.84 | 779.6 | 316.57 | 84.01 | -0.124 | -0.122 | -0.143 | -0.079 |
| L5 | 3.952 | -0.84 | 782.83 | 316.57 | 84.01 | -0.14 | -0.1 | -0.114 | -0.104 |
| L6 | 3.988 | -1.06 | 817.52 | 351.02 | 88.73 | -0.13 | -0.111 | -0.157 | -0.115 |
| L7 | 3.85 | -0.34 | 759.72 | 326.58 | 82.12 | -0.112 | -0.098 | -0.086 | -0.082 |
| L8 | 3.925 | -0.34 | 760.36 | 326.58 | 82.12 | -0.124 | -0.067 | -0.118 | -0.069 |
| L9 | 3.811 | -0.99 | 707.04 | 265.67 | 74.71 | -0.164 | 0.08 | -0.135 | -0.064 |
| L10 | 3.876 | -0.99 | 706.59 | 265.67 | 74.71 | -0.102 | -0.119 | 0.063 | -0.121 |
| L11 | 3.919 | 0.18 | 776.72 | 315.68 | 79.8 | -0.076 | -0.166 | -0.05 | -0.094 |
| L12 | 3.81 | 0.18 | 776.4 | 315.68 | 79.8 | -0.143 | -0.025 | -0.194 | -0.029 |
| L13 | 4.19 | 0.75 | 995.66 | 383.68 | 85.01 | 0.246 | -0.528 | 0.127 | -0.299 |
| L14 | 3.871 | -0.61 | 740.04 | 282.13 | 79.3 | -0.137 | -0.11 | -0.108 | -0.076 |
| L15 | 3.818 | -0.61 | 740.69 | 282.13 | 79.3 | -0.116 | -0.09 | -0.13 | -0.091 |
| L16 | 3.998 | -0.84 | 779.1 | 316.57 | 84.01 | -0.124 | -0.123 | -0.142 | -0.079 |
| L17 | 3.85 | -0.84 | 783.19 | 316.57 | 84.01 | -0.139 | -0.101 | -0.113 | -0.105 |
| L18 | 3.878 | -1.06 | 817.83 | 351.02 | 88.73 | -0.128 | -0.112 | -0.156 | -0.116 |
| L19 | 3.775 | -0.34 | 759.67 | 326.58 | 82.12 | -0.116 | -0.097 | -0.087 | -0.081 |
| L20 | 3.759 | -0.34 | 760.15 | 326.58 | 82.12 | -0.127 | -0.067 | -0.119 | -0.068 |
| L21 | 3.836 | -0.99 | 707.01 | 265.67 | 74.71 | -0.166 | 0.08 | -0.136 | -0.063 |
| L22 | 3.818 | -0.99 | 710.02 | 265.67 | 74.71 | -0.16 | -0.081 | -0.066 | 0.016 |

| | | | | | | | | | |
|------------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| L23 | 3.787 | 0.18 | 790.33 | 315.68 | 79.8 | -0.076 | -0.166 | -0.053 | -0.091 |
| L24 | 3.699 | 0.18 | 837.83 | 315.68 | 79.8 | -0.15 | -0.052 | 0.056 | -0.279 |
| L25 | 3.822 | 0.75 | 877.33 | 383.68 | 85.01 | -0.179 | -0.226 | 0.021 | -0.201 |
| L26 | 3.872 | -0.34 | 759.12 | 326.58 | 82.12 | -0.133 | -0.112 | -0.106 | -0.077 |
| L27 | 3.884 | -0.34 | 760 | 326.58 | 82.12 | -0.115 | -0.09 | -0.13 | -0.091 |
| L28 | 3.911 | -0.56 | 798.61 | 361.02 | 86.83 | -0.122 | -0.123 | -0.142 | -0.08 |
| L29 | 3.866 | -0.56 | 802.01 | 361.02 | 86.83 | -0.139 | -0.1 | -0.113 | -0.104 |
| L30 | 3.853 | -0.79 | 837.12 | 395.47 | 91.55 | -0.128 | -0.111 | -0.157 | -0.115 |
| L31 | 3.836 | -0.07 | 779.77 | 371.03 | 84.93 | -0.114 | -0.097 | -0.087 | -0.081 |
| L32 | 3.95 | -0.07 | 779.95 | 371.03 | 84.93 | -0.123 | -0.067 | -0.117 | -0.069 |
| L33 | 3.923 | -0.72 | 726.9 | 310.12 | 77.53 | -0.164 | 0.081 | -0.136 | -0.063 |
| L34 | 3.864 | -0.72 | 726.7 | 310.12 | 77.53 | -0.102 | -0.119 | 0.063 | -0.121 |
| L35 | 3.932 | 0.45 | 820.92 | 360.13 | 82.61 | -0.126 | -0.208 | -0.029 | -0.128 |
| L36 | 3.87 | 0.45 | 858.58 | 360.13 | 82.61 | -0.181 | 0.01 | -0.321 | 0.059 |
| L37 | 4.271 | 1.02 | 999.06 | 428.13 | 87.83 | 0.022 | -0.332 | 0.124 | -0.346 |

Le développement d'un modèle QSAR exige un ensemble de diverses données, pour cet effet, un nombre considérable de descripteurs doivent être considérés dans l'étude QSAR. La matrice de corrélation de Pearson a été effectuée sur tous les descripteurs en utilisant le logiciel **SPSS**.

Après élimination des descripteurs dont la valeur ne varie pas ou peu sur l'ensemble des molécules (dans notre étude, nous avons supprimé quatre molécules dans les processus de validation (erreur résiduelle inacceptable)).

L'analyse des paramètres statistiques obtenus permet de déterminer le meilleur modèle QSAR en se basant sur le calcul de quelques paramètres à partir des équations mathématiques tel que : **F, R, SE et Q**.

- La valeur de Fischer (**F**), reflète le rapport de la variance expliquée par le modèle et la variance due à l'erreur dans la régression. Les valeurs élevées du test F indiquent que le modèle est statistiquement significatif.
- **R** : c'est un coefficient de corrélation entre les valeurs observées et les prévisions de la variable dépendante, sa valeur varie entre 0 et 1. Le carré de Coefficient de corrélation ($R^2 > 0.6$) qui est la mesure relative de la qualité d'ajustement.
- **SE** : (standard error of the estimate) L'erreur type d'estimation représentant la mesure absolue de la qualité d'ajustement.
- **Q** : facteur de qualité d'ajustement suggère la puissance de prédiction [56].

Les données biologiques de ces 33 molécules sont alors réparties au hasard en deux séries appelées '**Training set**' (25 composés) et '**Test set**' (8 composés) dans le but d'établir l'équation de modèle QSAR et justifier la validation de ce dernier [57].

La corrélation entre l'activité inhibitrice du BuChE et les descripteurs calculés donnée par la relation suivante:

$$\text{Log}(1/IC50) = 5.098 - 0.165\text{LogP} + 0.005\text{MW} - 0.037\text{MR} - 0.94qC3' - 0.566qC4'$$

$$n = 25; R = 0.869; R^2 = 0.756; S = 0.0516; F = 11.749; Q = 6.470; p < 0.001$$

Où : **n** est le nombre de composés (Training set), **R** est le coefficient de corrélation, **F** est la statistique de Fischer, **SE** est l'erreur-type d'estimation et **Q** est la qualité de l'ajustement ou bien l'adaptation. **p** est la valeur p calculée à partir des statistiques F.

Interpretation des résultats:

- Les valeurs de la fraction de la variance peuvent varier entre 0 et 1. Le modèle QSAR doit considérer un $R^2 > 0.6$ pour qu'il soit valide. La valeur obtenue dans notre cas, $R = 0.869$ et $R^2 = 0.756$. Ceci nous a permis de confirmer une forte corrélation entre les différents paramètres (variables indépendantes) et l'activité inhibitrice de BuChE.
- La valeur F calculée pour le modèle QSAR généré est importante par rapport à la valeur F tabulée par grande marge comme on le souhaite pour une régression significative. De plus, la valeur F a été jugée statistiquement significative au niveau de **95%** pour ce modèle.
- La valeur positive du facteur de qualité (Q) pour ce modèle QSAR suggère son pouvoir prédictif élevé, et son manque d'adaptation, ainsi que le faible écart type du modèle démontre la précision du modèle.
- La valeur de Q^2_{ext} pour le 'Test Set' est $0.757 > 0.6$

- Dans les équations, le coefficient négatif de Log P explique que toute augmentation de la lipophilie des dérivés entraîne une diminution de l'activité biologique. Ce résultat est en accord avec les travaux de Burgot et al [58].
- Le coefficient de MW (masse moléculaire) dans l'équation est positif, ce qui indique que l'activité biologique (pIC50) des composés est positivement corrélée avec le poids moléculaire (MW). Donc, entraîne une augmentation de l'activité biologique pour les grands composés.
- On peut observer que l'augmentation de coefficient négatif de la réfractivité molaire provoque une diminution de l'activité biologique.

La réfractivité molaire (MR) est un critère important pour mesurer le facteur stérique. Soit il est généralement désigné comme une simple mesure du volume occupé par un atome individuel ou un groupe d'atomes [59].

La matrice de corrélation entre les descripteurs obtenus par l'analyse de la méthode MLR et l'activité biologique est reportée dans le tableau (III.10).

La matrice de corrélation indique que les descripteurs obtenus sont corrélés entre eux et avec l'activité biologique. Il est montré que le descripteur (qC3') est le paramètre le plus important (58%) dans la description de l'activité des dérivés de 2 hydroxy-N phenylbenzamide.

Tableau III.10 : Matrice de corrélation du modèle

| | PCA2 | logP | MW | MR | qC3' | qC4' |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|------|
| PCA2 | 1 | | | | | |
| logP | 0.156 | 1 | | | | |
| MW | 0.507 | 0.530 | 1 | | | |
| MR | 0.399 | 0.294 | 0.914 | 1 | | |
| qC3' | -0.580 | -0.514 | -0.464 | -0.408 | 1 | |
| qC4' | 0.250 | 0.178 | 0.051 | -0.081 | -0.631 | 1 |

Validation du modèle :

Afin de tester la validité de pouvoir prédictif de modèle QSAR sélectionné, la technique de validation croisée *LOO* (*leave-one-out*) a été utilisée. Le modèle développé a été validé par le calcul des paramètres statistiques suivants: la somme des carrés résiduels

(PRESS), la somme des carrés totaux (TSS), qualité d'ajustement R^2_{adj} , coefficient de corrélation de validation croisée R^2_{cv} , la validation standard des erreurs de prédiction (SPRESS) et l'erreur de prédiction (PE) (tableau III.11).

Tableau III.11 : Paramètres de validation croisée.

| Modèle | PRESS | TSS | PRESS/SSY | Sp _{press} | r^2_{cv} | r^2_{adj} | 6PE |
|--------|-------|-------|-----------|---------------------|------------|-------------|-------|
| 1 | 0.343 | 1.406 | 0.244 | 0.117 | 0.756 | 0.691 | 0.032 |

PRESS est un important paramètre de validation croisée car il s'agit d'une bonne approximation de l'erreur prédictive réelle du modèle. Sa valeur étant inférieure à TSS indique que ce modèle prédit mieux que le hasard et peut être considéré statistiquement significatif. La petite valeur de PRESS signifie la meilleure prévisibilité du modèle [60].

D'après les résultats présentés dans le tableau III.11, cette valeur est égale à 0.343, et le modèle est statistiquement significatif.

En outre, pour un modèle raisonnable de QSAR, le rapport **PRESS/TSS** doit être inférieur à 0,4 [61]. Les résultats présentés dans le tableau III.11 indiquent que pour le modèle développé, ce rapport est de 0.244.

Les valeurs élevées du R^2_{cv} et R^2_{adj} sont des critères essentiels pour une meilleure qualification des modèles QSAR [62]. Les résultats obtenus de R^2_{cv} (R^2_{adj}) pour ce modèle QSAR est 0.756 (0.691).

SPRESS (incertitude de prédiction) est un bon paramètre à utiliser pour vérifier l'incertitude dans la prédiction. Plus la valeur de ce paramètre est faible, plus la capacité prédictive du modèle sera mieux. Le modèle QSAR développé présente une faible valeur de Sp_{press} (<0.200) ce qui indique que ce modèle présente des petites valeurs résiduelles entre l'activité biologique observée et prédite. Dans notre cas, ce paramètre porte une petite valeur 0.117 ce qui explique que l'habileté de prédiction est la meilleure pour ce modèle.

L'erreur prédictive du coefficient de corrélation (**PE**) est un autre paramètre utilisé pour évaluer la puissance prédictive des modèles proposés [63]. Le calcul de la valeur **PE** de modèle proposé est présent dans le tableau III.11. Pour ce modèle, la condition $R > 6 PE$ est satisfaite et nous pouvons donc dire qu'ils ont une bonne puissance prédictive.

Cependant, la seule façon d'estimer le pouvoir prédictif réel du modèle développé est de prévoir le calcul des valeurs $\log(1/IC50)$ des dérivées (2 hydroxy-N phenylbenzamide) étudiées en utilisant ce modèle.

Tableau III.12 : Valeurs expérimentales, prédites et résiduelles de (log (1/IC50)) des dérivés de (2 hydroxy-N phenylbenzamide)

| Nombre | pIC50 observé | pIC50 prédite | Résidu |
|--------|---------------|---------------|--------|
| 1 | 3.686 | 3.720 | -0.034 |
| 2 | 3.770 | 3.787 | -0.017 |
| 3 | 3.850 | 3.832 | 0.017 |
| 4 | 3.811 | 3.783 | 0.027 |
| 5 | 3.876 | 3.858 | 0.017 |
| 6 | 3.810 | 3.772 | 0.037 |
| 7 | 4.190 | 4.099 | 0.090 |
| 8 | 3.818 | 3.787 | 0.030 |
| 9 | 3.850 | 3.816 | 0.033 |
| 10 | 3.878 | 3.877 | 0.0003 |
| 11 | 3.775 | 3.832 | -0.057 |
| 12 | 3.759 | 3.822 | -0.063 |
| 13 | 3.836 | 3.784 | 0.051 |
| 14 | 3.818 | 3.896 | -0.078 |
| 15 | 3.787 | 3.825 | -0.038 |
| 16 | 3.699 | 3.656 | 0.042 |
| 17 | 3.822 | 3.875 | -0.053 |
| 18 | 3.872 | 3.856 | 0.015 |
| 19 | 3.884 | 3.849 | 0.034 |
| 20 | 3.911 | 3.914 | -0.003 |
| 21 | 3.866 | 3.876 | -0.010 |
| 22 | 3.836 | 3.894 | -0.058 |
| 23 | 3.923 | 3.845 | 0.077 |
| 24 | 3.864 | 3.920 | -0.056 |
| 25 | 3.870 | 3.873 | -0.003 |

La figure III.10 ci-dessous montre la courbe de corrélation obtenue par la régression linéaire entre les valeurs prédites par rapport aux valeurs expérimentales pour l'activité biologique des dérivées de (2 hydroxy-N phenylbenzamide). On remarque, relativement, qu'il y a une faible dispersion des points autour des droites d'ajustement ce qui traduit la faiblesse des erreurs lors du calcul et de la prédiction (Validation). Le courbe de modèle représente pour être plus pratique avec $R^2=0.756$. Il indique que le modèle peut être appliqué avec succès pour prédire l'activité inhibitrice contre BuchE.

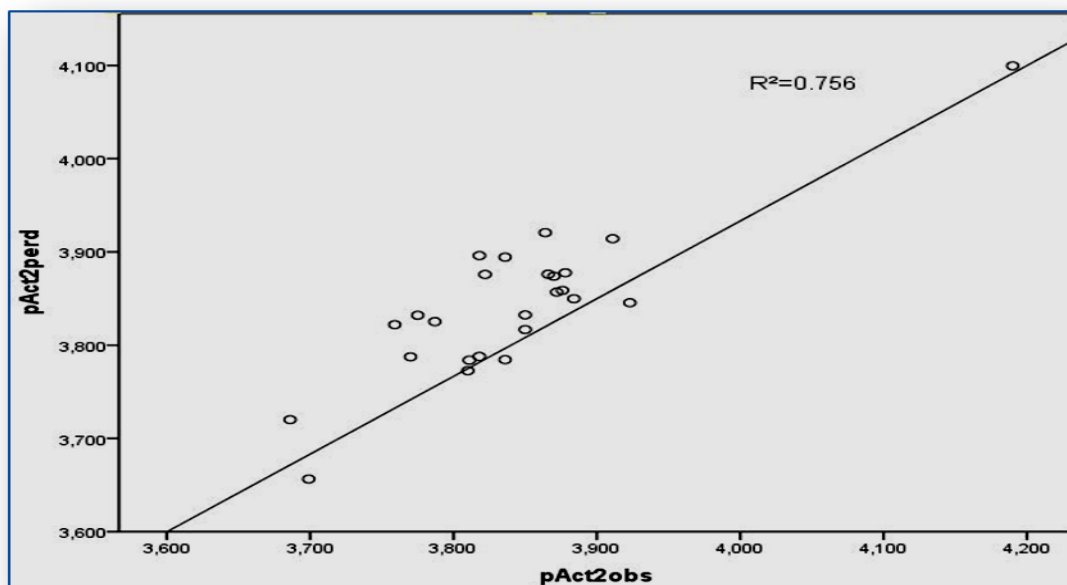


Figure III.10: Courbe des valeurs prédites en fonction des valeurs expérimentales de $\log(1/IC_{50})$

Pour étudier la présence d'une erreur systématique dans le développement du modèle QSAR, les résidus des valeurs prédites de l'activité biologique (tableau III.12) ont été tracés en fonction des valeurs expérimentales, comme le montre la figure III.11. La propagation des résidus des deux côtés de zéro indique qu'il n'y a pas d'erreur systématique, comme suggéré par Jalali-Heravi et Kyani [64].

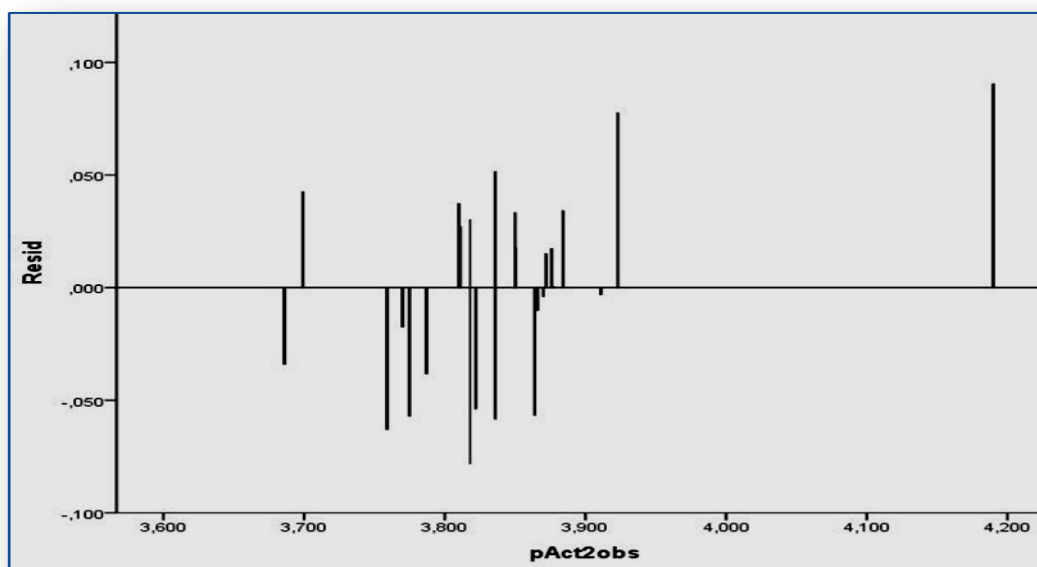


Figure III.11: Représentation graphique des valeurs résiduelles par rapport à l'observé expérimentalement de $\log(1/IC_{50})$.

III.3. Évaluation des propriétés ADME

Une étude de calcul de 6 ligands sélectionnés 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 six meilleurs ligands de l'AChE et BuChE.

| | Propriétés physicochimiques | | | | | Lipophilicité | | Pharmacocinétique | | Druglikeness | | | |
|---------------|-----------------------------|-------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------|-------|-------------------|-----------------|---------------------|-------|-------|------|
| | TPSA Å ² | MW g/mol | Num. rotatable bonds | Num. H- bond acceptors | Num. H- bond donors | MLOGP | WLOGP | GI absorption | BBB permeant | Lipinski | Ghose | Veber | Egan |
| | AChE | | | | | | | | | | | | |
| L18 | 49.33 | 351.01 | 3 | 2 | 2 | 4.48 | 5.07 | High | Yes | Yes; 1 violation | Yes | Yes | Yes |
| L17 | 49.33 | 316.57 | 3 | 2 | 2 | 3.97 | 4.41 | High | Yes | Yes; 0 violation | Yes | Yes | Yes |
| L6 | 49.33 | 351.01 | 3 | 2 | 2 | 4.48 | 5.07 | High | Yes | Yes; 1 violation | Yes | Yes | Yes |
| | BuChE | | | | | | | | | | | | |
| L6'=L6 | 49.33 | 351.01 | 3 | 2 | 2 | 4.48 | 5.07 | High | Yes | Yes; 1 violation | Yes | Yes | Yes |
| L30' | 49.33 | 395.46 | 3 | 2 | 2 | 4.60 | 5.18 | High | Yes | Yes; 1 violation | Yes | Yes | Yes |
| L4' | 49.33 | 316.57 | 3 | 2 | 2 | 3.97 | 4.41 | High | Yes | Yes; 0 violation | Yes | Yes | Yes |

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.

La lipophile est un facteur important dans les processus de solubilité, d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion, ainsi que, l'activité pharmacologique. Hansch et *al* [65] ont montré que les molécules très lipophiles se réparties et conservées à l'intérieur des couches lipidiques des membranes cellulaires. Pour une bonne biodisponibilité orale, et optimale le log P doit être : $0 < \log P < 3$. Sachant que pour un log P trop élevé, le médicament a une faible solubilité et pour un log P trop faible; Le médicament a des difficultés à pénétrer les membranes lipidiques [66].

A la lumière des résultats obtenus, tous les ligands L17,L18, L6, L4', L6' et L30' ont des valeurs entre $3.97 < \text{Log P} < 4.60$, ils possèdent des valeurs pour log P sont positives qui indiquent que ces ligands sont trop lipophiles, mais avec une faible solubilité et une mauvaise tolérance gastrique [67].

D'après la littérature [68], une molécule a une valeur de la surface (TPSA) inférieure à 140\AA^2 signifié qu'elle a une bonne prédiction de la biodisponibilité orale et assure un meilleur transport à travers les membranes biologiques. Par contre, si la surface (TPSA) est supérieure à 140 un mauvais transport à traverser les membranes est apparu (une absorption orale incomplète).

D'après les valeurs données dans le Tableau III.13, on peut noter que toutes les six ligands ont des valeurs $\text{TPSA}=49.33\text{\AA}^2$ ceci signifié qu'elles possèdent une excellente absorption et une bonne pénétration cérébrale des médicaments du SNC.

D'autre part, Le nombre de liaisons rotatives est également un paramètre topologique comme mesure de la flexibilité moléculaire (seuil ≤ 10) et de la biodisponibilité orale indique que ces ligands lors de la liaison à une protéine ne changent que légèrement leur conformation. Cela correspond aux résultats du tableau [69].

Les HBA qui sont d'un grand nombre conduit à une faible perméabilité à travers une membrane bicouche. Le plus petit nombre conduit à une meilleure perméabilité .

A partir des résultats du Tableau III.13, on constate que tous les ligands ont des nombre accepteurs d'hydrogène inférieurs à 10 (O, N) et nombre donneurs d'hydrogène inférieurs à 5 (OH, NH).

La lipophilie et le nombre de donneurs de liaisons hydrogène semblent être des propriétés clés, car elles sont restées essentiellement constantes dans les médicaments par voie orale au fil du temps [70-71].

En plus, les six ligands sélectionnés ont des valeurs du poids moléculaire inférieur à 500 Da, donc ils traversent les membranes cellulaires facilement et un niveau élevé d'absorption gastro-intestinale, ce qui contribue à une bonne biodisponibilité orale.

En outre, on peut observer que les deux composés L17 et L4' ont un nombre de violation nul et les autres composés (L18, L6 et L30') ont un nombre de violation égale à 1 pour la règle de Lipinski, ceci justifiée que toutes ces molécules respectent les règles de : Lipinski, Ghose, Veber et Egan (Tableau III.13). Selon ces résultats, nous pouvons confirmer que ces composés ne causent aucuns problèmes de biodisponibilité orale et ayant de bonnes propriétés par rapport à celles des médicaments (ligand natifs) des deux cibles, et il les peut être sélectionnés probablement comme des médicaments actifs par voie oral de cette maladie.

Références

- [1]: Cohen, N. Claude, ed. Guidebook on molecular modeling in drug design. Gulf Professional Publishing, **1996**.
- [2]: Davies, Gideon, and Bernard Henrissat. "Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases." *Structure* 3.9 (**1995**): 853-859.
- [3]: Kola, Ismail, and John Landis. "Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?." *Nature reviews Drug discovery* 3.8 (**2004**): 711-716.
- [4]: www.rcsb.org/pdb/
- [5]: Cheung, Jonah, et al. "Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands." *Journal of medicinal chemistry* 55.22 (**2012**): 10282-10286.
- [6]: Nachon, Florian, et al. "Crystal structures of human cholinesterases in complex with huprine W and tacrine: elements of specificity for anti-Alzheimer's drugs targeting acetyl- and butyryl-cholinesterase." *Biochemical Journal* 453.3 (**2013**): 393-399.
- [7]: Clément, Gilles, and Klaus Slenzka, eds. *Fundamentals of space biology: research on cells, animals, and plants in space*. Vol. 18. Springer Science & Business Media, **2006**.
- [8]: Didierjean, Claude, and Frédérique Tête-Favier. "Introduction to Protein Science. Architecture, Function and Genomics. By Arthur M. Lesk. Oxford University Press, 2016. Pp. 466. Paperback. Price GBP 39.99. ISBN 9780198716846." *Acta Crystallographica Section D: Structural Biology* 72.12 (**2016**): 1308-1309.
- [9]: Marechal, Yves. *The hydrogen bond and the water molecule: The physics and chemistry of water, aqueous and bio-media*. Elsevier, **2006**.
- [10]: Klebe, Gerhard. "Virtual ligand screening: strategies, perspectives and limitations." *Drug discovery today* 11.13-14 (**2006**): 580-594.
- [11]: Krátký, Martin, et al. "2-Hydroxy-N-phenylbenzamides and their esters inhibit acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase." *Biomolecules* 9.11 (**2019**): 698.
- [12]: Stewart, James JP. "Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements." *Journal of Molecular modeling* 13.12 (**2007**): 1173-1213.
- [13]: HyperChem v8. Molecular Modelling System, Hypercube Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601, USA (**2009**).

[14]: Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, **2019**.

[15]: Taylor, Richard D., Philip J. Jewsbury, and Jonathan W. Essex. "A review of protein-small molecule docking methods." *Journal of computer-aided molecular design* 16.3 (2002): 151-166.

[16]: Cole, Jason C., et al. "Comparing protein–ligand docking programs is difficult." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 60.3 (2005): 325-332.

[17]: Meng, Xuan-Yu, et al. "Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery." *Current computer-aided drug design* 7.2 (2011): 146-157.

[18]: Jain, Ajay N. "Scoring functions for protein-ligand docking." *Current Protein and Peptide Science* 7.5 (2006): 407-420.

[19]: Abdelall, Eman KA, Phoebe F. Lamie, and Waleed AM 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* 26.12 (2016): 2893-2899.

[20]: Aldeghi, Matteo, et al. "Accurate calculation of the absolute free energy of binding for drug molecules." *Chemical science* 7.1 (2016): 207-218.

[21]: Al-Rashood, Sarah TA, et al. "Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of some new thiazolodiazepine analogs as CNS active agents." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 26.2 (2016): 445-453.

[22]: Thai, Khac-Minh, et al. "Computational assay of Zanamivir binding affinity with original and mutant influenza neuraminidase 9 using molecular docking." *Journal of theoretical biology* 385 (2015): 31-39.

[23]: Abd El-Karim, Somaia S., et al. "Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of novel benzofuran–pyrazole derivatives as anticancer agents." *Bioorganic chemistry* 63 (2015): 1-12.

[24]: Liu, Sheng, et al. "Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of phenylpropanoid derivatives as potent anti-hepatitis B virus agents." *European journal of medicinal chemistry* 95 (2015): 473-482.

[25]: Nasr, Tamer, Samir Bondock, and Sameh Eid. "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 (2014): 491-504.

[26]: Fang, Jiansong, et al. "Inhibition of acetylcholinesterase by two genistein derivatives: kinetic analysis, molecular docking and molecular dynamics simulation." *Acta Pharmaceutica Sinica B* 4.6 (2014): 430-437.

[27]: El-Nakkady, Sally S., et al. "Synthesis, molecular docking study and antitumor activity of novel 2-phenylindole derivatives." *European journal of medicinal chemistry* 47 (2012): 387-398.

[28]: Daoud, Ismail, et al. "Combined QSAR, molecular docking and molecular dynamics study on new Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase inhibitors." *Computational biology and Chemistry* 74 (2018): 304-326.

[29]: Hansch, Corwin, and Eric J. Lien. "Structure-activity relations in antifungal agents. A survey." *Journal of medicinal chemistry* 14.8 (1971): 653-670.

[30]: Grover, Manish, et al. "Quantitative structure–property relationships in pharmaceutical research–Part 2." *Pharmaceutical science & technology today* 3.2 (2000): 50-57.

[31]: Ghose, Arup, and Vellerkad Viswanadhan. *Combinatorial Library Design and Evaluation: Principles, Software, Tools, and Applications in Drug Discovery*. CRC Press, 2001.

[32]: Li, Fei, et al. "Docking and QSAR study on the binding interactions between polycyclic aromatic hydrocarbons and estrogen receptor." *Ecotoxicology and environmental safety* 80 (2012): 273-279.

[33]: Reddy, A. Srinivas, Sunil Kumar, and Rajni Garg. "Hybrid-genetic algorithm based descriptor optimization and QSAR models for predicting the biological activity of Tipranavir analogs for HIV protease inhibition." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 28.8 (2010): 852-862.

[34]: Ibm, C. "IBM SPSS statistics for Windows." Armonk (NY): IBM Corp (2012).

[35]: Henchoz, Yveline, et al. "Analytical tools for the physicochemical profiling of drug candidates to predict absorption/distribution." *Analytical and bioanalytical chemistry* 394.3 (2009): 707-729.

[36]: Lipinski, Christopher A., et al. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 23.1-3 (1997): 3-25.

[37]: Veber, Daniel F., et al. "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates." *Journal of medicinal chemistry* 45.12 (2002): 2615-2623.

- [38]: Egan, William J., Kenneth M. Merz, and John J. Baldwin. "Prediction of drug absorption using multivariate statistics." *Journal of medicinal chemistry* 43.21 (2000): 3867-3877.
- [39]: Norinder, Ulf, and Markus Haeblerlein. "Computational approaches to the prediction of the blood–brain distribution." *Advanced drug delivery reviews* 54.3 (2002): 291-313.
- [40]: Johnson, Stephen R., and Weifan Zheng. "Recent progress in the computational prediction of aqueous solubility and absorption." *The AAPS journal* 8.1 (2006): E27-E40.
- [41]: Daina, Antoine, Olivier Michielin, and Vincent Zoete. "SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules." *Scientific reports* 7.1 (2017): 1-13.
- [42]: Kramer, Bernd, Matthias Rarey, and Thomas Lengauer. "Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein–ligand docking." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 37.2 (1999): 228-241.
- [43]: Harel, M., et al. "Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90.19 (1993): 9031-9035.
- [44]: Januar, Hedi I., et al. "In silico study of fucoxanthin as a tumor cytotoxic agent." *Journal of pharmacy & bioallied sciences* 4.1 (2012): 56.
- [45]: Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada10, 2013.
- [46]: Yamaguchi, Hideaki, et al. "Homology modeling and structural analysis of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2." *European journal of medicinal chemistry* 46.4 (2011): 1325-1330.
- [47]: Soga, Shinji, et al. "Use of amino acid composition to predict ligand-binding sites." *Journal of chemical information and modeling* 47.2 (2007): 400-406.
- [48]: Sugimoto, Hachiro, et al. "Donepezil hydrochloride (E2020) and other acetylcholinesterase inhibitors." *Current medicinal chemistry* 7.3 (2000): 303-339.
- [49]: Imberty, Anne, et al. "Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A." *Glycobiology* 1.6 (1991): 631-642.
- [50]: Vieth, Michal, et al. "Assessing energy functions for flexible docking." *Journal of Computational Chemistry* 19.14 (1998): 1612-1622.

[51]: Gabb, Henry A., Richard M. Jackson, and Michael JE Sternberg. "Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information." *Journal of molecular biology* 272.1 (1997): 106-120.

[52]: Bajda, Marek, et al. "Structure-based search for new inhibitors of cholinesterases." *International journal of molecular sciences* 14.3 (2013): 5608-5632.

[53]: Mutahir, Sadaf, et al. "Novel biphenyl bis-sulfonamides as acetyl and butyrylcholinesterase inhibitors: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies." *Bioorganic chemistry* 64 (2016): 13-20.

[54]: Kurz, A. "The therapeutic potential of tacrine." *Alzheimer's Disease—From Basic Research to Clinical Applications* (1998): 295-299.

[55]: Seifert, Markus HJ. "Assessing the discriminatory power of scoring functions for virtual screening." *Journal of chemical information and modeling* 46.3 (2006): 1456-1465.

[56]: Sanmati, K. J., et al. "QSAR Analysis on 3, 5-disubstituted-4, 5-dihydropyrazole-1-carbothioamides as epidermal growth factor receptor (EGFR) kinase inhibitors." *J. Chem. Pharm. Res* 4 (2012): 3215-3223.

[57]: Adad, Azeddine, et al. "Binding affinities (AhR) of polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) study combining DFT and QSAR results." *IJARCSSE* 4 (2014): 304-305.

[58]: Burgot, G., et al. "First relationships between detoxication properties of some 1, 2-dithiole-3-thiones and their log P." *International journal of pharmaceutics* 129.1-2 (1996): 295-299.

[59]: Patrick G.L., Winter H.D., Langenaeker W., Tollenaere J.P., *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery*, Marcel Dekker, New York (1995).

[60]: Wold, Svante, Lennart Eriksson, and Sergio Clementi. "Statistical validation of QSAR results." *Chemometric methods in molecular design* (1995): 309-338.

[61]: Ajeet, B. P., and K. Bijander. "Quantitative structure activity relationship (QSAR) modeling of 2-x-5, 9-dimethoxy-1, 4-naphthoquinones against 11210 cells." *Int. J. Pharm. & Pharm. Sci.*, 2012, 4, 445 448 (2012).

[62]: Podunavac-Kuzmanović, Sanja O., Dragoljub D. Cvetković, and Dijana J. Barna. "QSAR analysis of 2-amino or 2-methyl-1-substituted benzimidazoles against *Pseudomonas aeruginosa*." *International journal of molecular sciences* 10.4 (2009): 1670-1682.

- [63]: Srivastava, A. K., and Neerja Shukla. "Quantitative structure activity relationship (QSAR) studies on a series of imidazole derivatives as novel ORL1 receptor antagonists." *Journal of Saudi Chemical Society* 17.3 (2013): 321-328.
- [64]: Jalali-Heravi, Mehdi, and Anahita Kyani. "Use of computer-assisted methods for the modeling of the retention time of a variety of volatile organic compounds: a PCA-MLR-ANN approach." *Journal of chemical information and computer sciences* 44.4 (2004): 1328-1335.
- [65]: Pajouhesh, Hassan, and George R. Lenz. "Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs." *NeuroRx* 2.4 (2005): 541-553.
- [66]: Kerns, E. H., Li Di, and Drug-like Properties. "Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization." (2008): 43-47.
- [67]: Schultes, Sabine, et al. "Ligand efficiency as a guide in fragment hit selection and optimization." *Drug Discovery Today: Technologies* 7.3 (2010): e157-e162.
- [68]: Durojaye, Olanrewaju A., et al. "Evaluation of 6-Gingerol and its modified analogues as therapeutic candidates against *Schistosoma mansoni* phosphofructokinase." *VacciMonitor* 28.1 (2019): 38-47.
- [69]: Kalani, Komal, et al. "Pharmacophore, QSAR, and ADME based semisynthesis and in vitro evaluation of ursolic acid analogs for anticancer activity." *Journal of molecular modeling* 18.7 (2012): 3389-3413.
- [70]: Pd, Leeson. "Springthorpe B. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry." *Nat Rev Drug Discov* 6 (2007): 881-890.
- [71]: Walters, W. Patrick, et al. "What do medicinal chemists actually make? A 50-year retrospective." *Journal of medicinal chemistry* 54.19 (2011): 6405-6416.

Two vertical bars are positioned on the left side of the page. The inner bar is dark teal and the outer bar is light gray. They are both of equal height and are slightly offset from each other.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le travail présenté dans ce mémoire concerne principalement l'utilisation de plusieurs approches théoriques de la modélisation moléculaire dans le but de la découverte de nouveaux inhibiteurs thérapeutique pour ralentir la progression d'une maladie neuro-dégénérative à savoir l'Alzheimer.

Pour cela nous avons sélectionnés une nouvelle série récemment synthétisés des dérivés de 2-hydroxy-N-phenylbenzamide comme inhibiteurs pour étudier leur effet sur les deux cibles ; AChE et BuChE qui sont responsable à cette maladie.

Notre étude a été basée sur les calculs des trois méthodes suivantes:

✓ Le docking moléculaire : pour élucider les interactions entre les deux enzymes AChE et BuChE et 37 composés des dérivés de 2-hydroxy-N-phenylbenzamide par MOE.

La discussion des résultats obtenus basés sur les facteurs suivants: **1**-L'énergie score de complexe Enzyme-Ligand. **2**-l'existence des interactions forte Hydrogènes. **3**-La valeur **RMSD** du complexe obtenu.

L'étude de docking moléculaire a révélé que les ligands : L18; L17; L6 sont les meilleurs inhibiteurs dans le cas de **AChE**, et que les ligands L6' ; L30' et L4' dans le cas de **BuChE**, ceci justifie par la présence des différents types d'interactions (principalement les liaisons hydrogène avec les énergies score de valeurs faibles).

On constate également, que l'augmentation des interactions entre les inhibiteurs et les résidus du site actif améliore l'affinité (Energie score), ceci signifié que ces complexes possèdent les énergies de score les plus basses par rapport aux autres, ceci confirmé par la valeur de RMSD (root-mean-square deviation) qui ne dépasse pas le 2Å dans la plupart des complexes formés par ces inhibiteurs et les deux enzymes : AChE et BuChE.

✓ Une étude quantitative de la relation structure-activité (QSAR): des dérivés de 2 hydroxy-N-phenylbenzamide comme inhibiteurs de BuChE.

La discussion des résultats obtenus basés sur les paramètres suivants: **1**-Choix des descripteurs. **2**- Construire un modèle QSAR par une analyse de régression linéaire multiple entre l'activité biologique et les descripteurs implémentée dans le logiciel SPSS. **3**- Validation de ce modèle par les valeurs R^2_{adj} , q^2 , SPRESS.

Conclusion générale

Nos résultats suggèrent que le meilleur modèle QSAR obtenu est celui qui utilise les descripteurs suivants : $\log p$, MR, MW, $qC3'$, $qC4'$. Sachant que la fiabilité et le pouvoir prédictif de ce modèle QSAR a été validé par les bonnes valeurs R^2_{adj} , q^2 , SPRESS.

En plus, une forte corrélation a été observée entre les valeurs expérimentales et prédites de l'activité biologique inhibitrice de BuChE, ce qui indique la fiabilité et validité de modèle QSAR obtenu. Finalement, la modélisation QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) constitue actuellement un outil fiable et performant pour combler les lacunes des études in vivo et in vitro et limiter le recours aux tests biologiques.

✓ Une étude des propriétés ADME :

La discussion des résultats obtenus basés sur le calcul des paramètres suivants: Propriétés physicochimiques, Pharmacocinétique et Drug likeness.

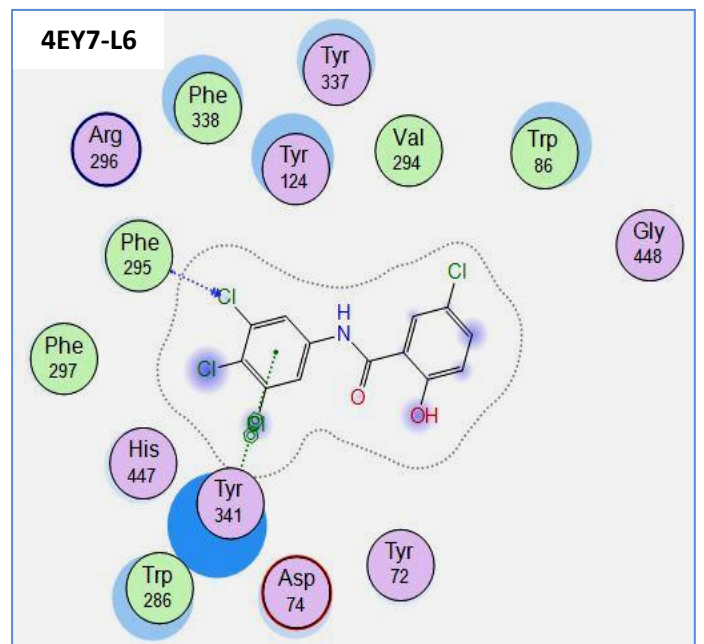
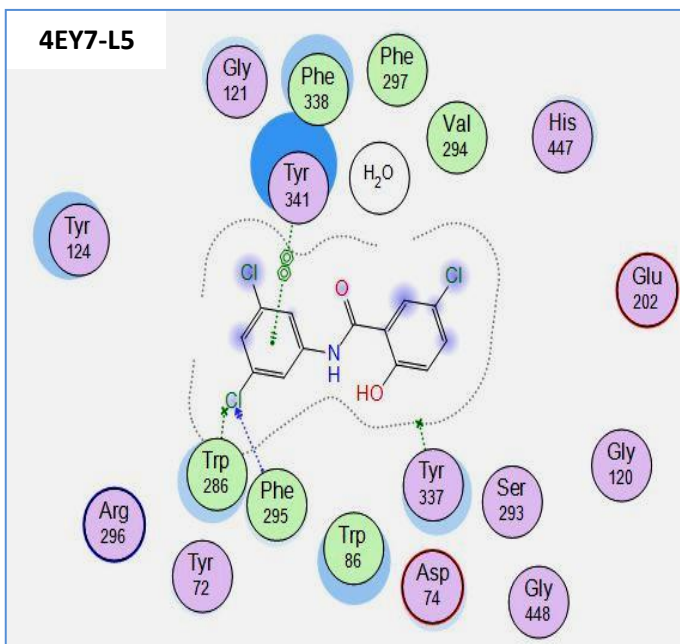
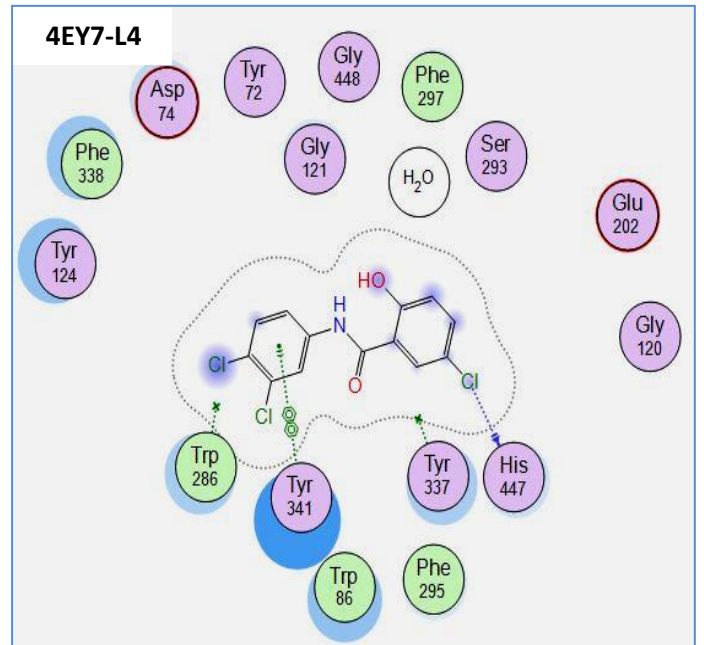
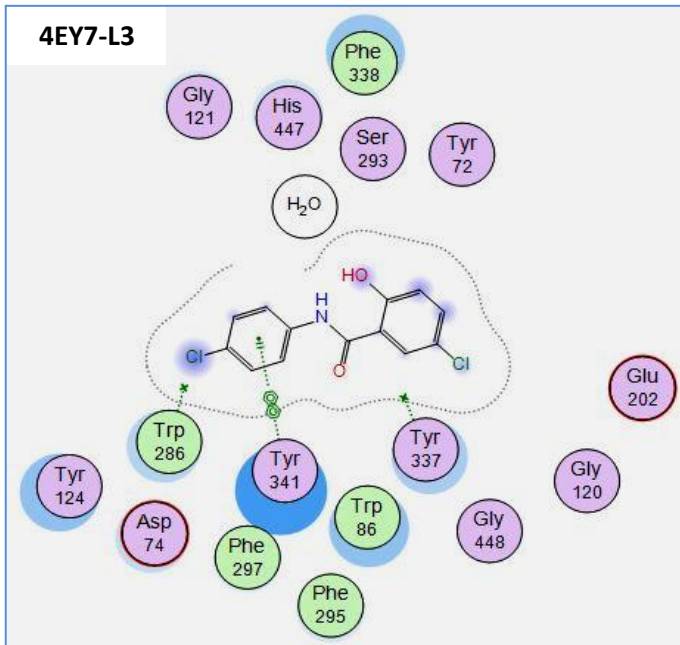
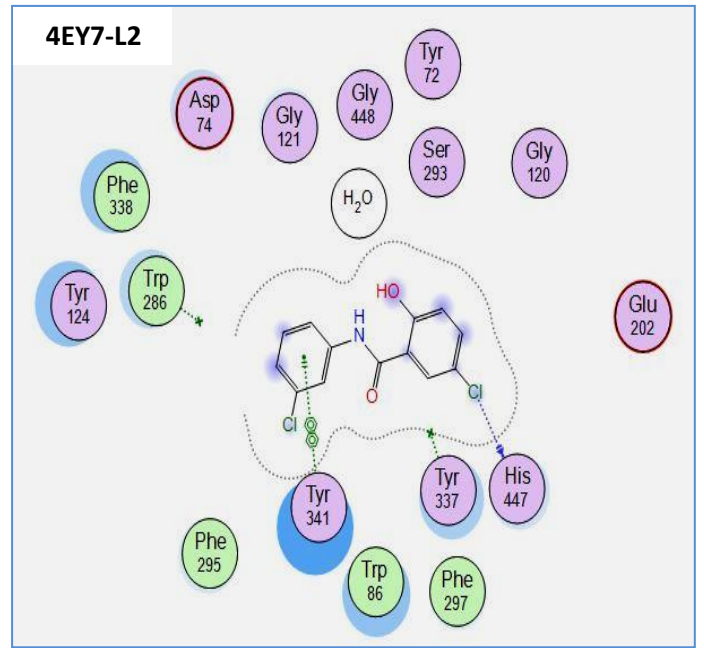
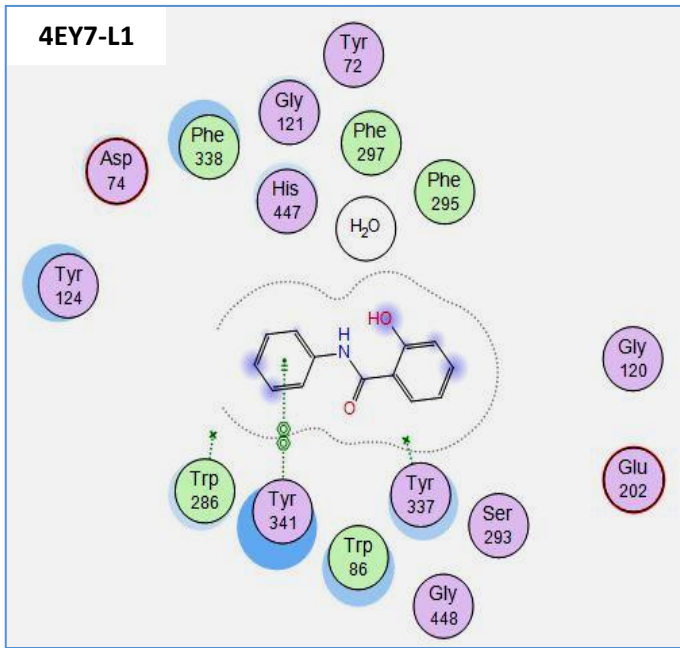
Le calcul des propriétés ADME nous a permis de valider les résultats de docking moléculaire et vérifier que ces meilleurs ligands respectant les règles de Lipinski, Ghose, Veber et Egan, ainsi qu'ils ne causent aucun problème de biodisponibilité orale.

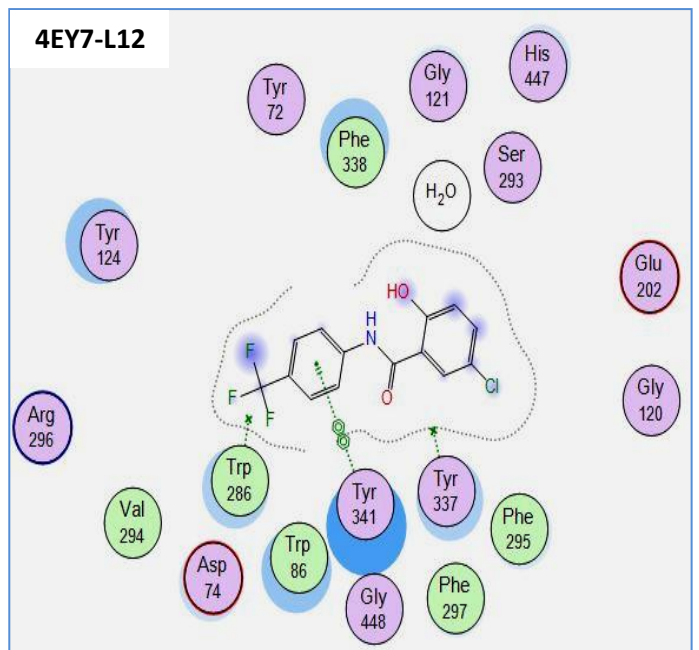
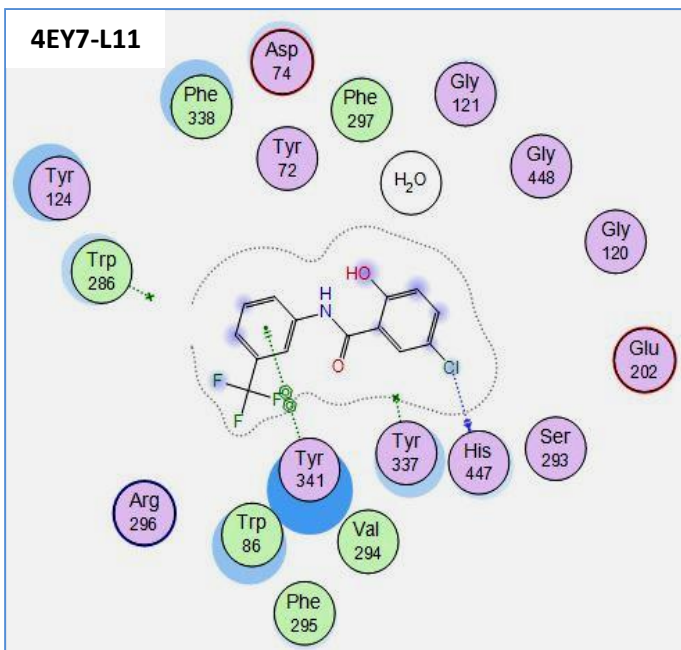
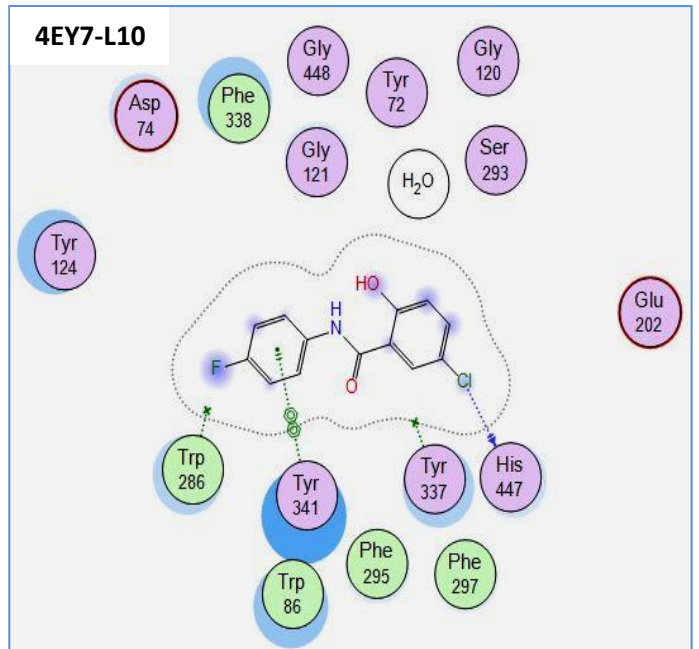
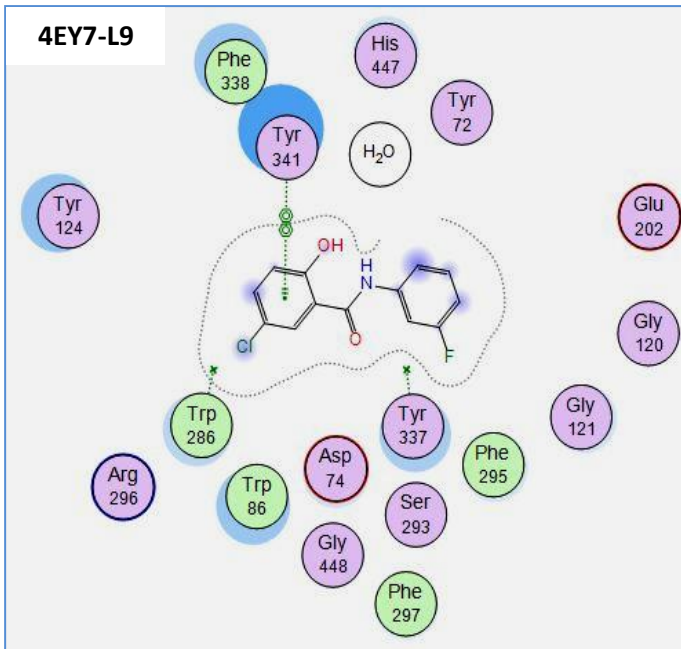
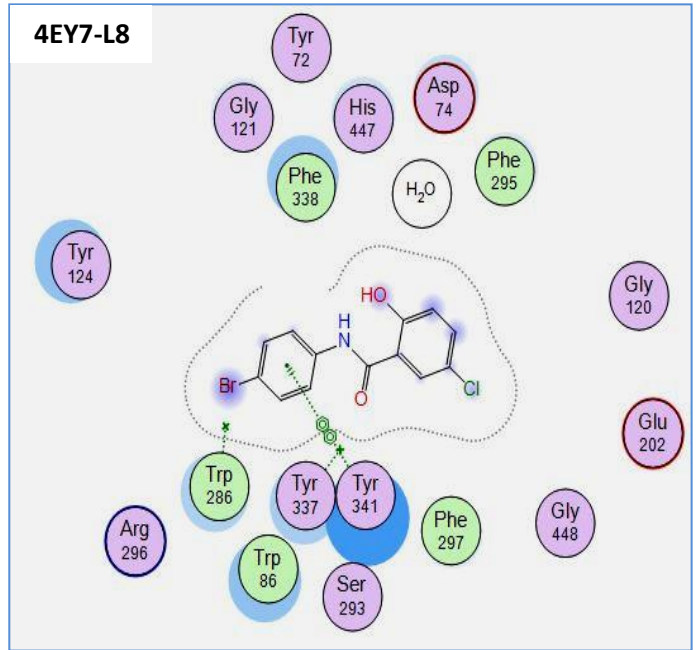
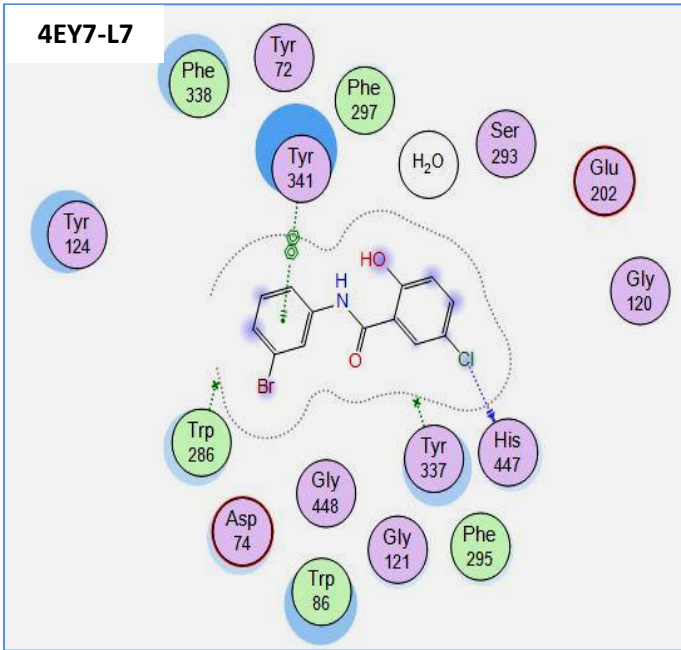
Notre étude montre que la combinaison entre plusieurs méthodes de modélisation moléculaire peuvent être utiles dans l'intérêt de découvrir de nouveaux médicaments anti-Alzheimer, et ces méthodes nous ont permis d'identifier des nouveaux inhibiteurs ont des potentiels élevés contre cette maladie et ils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

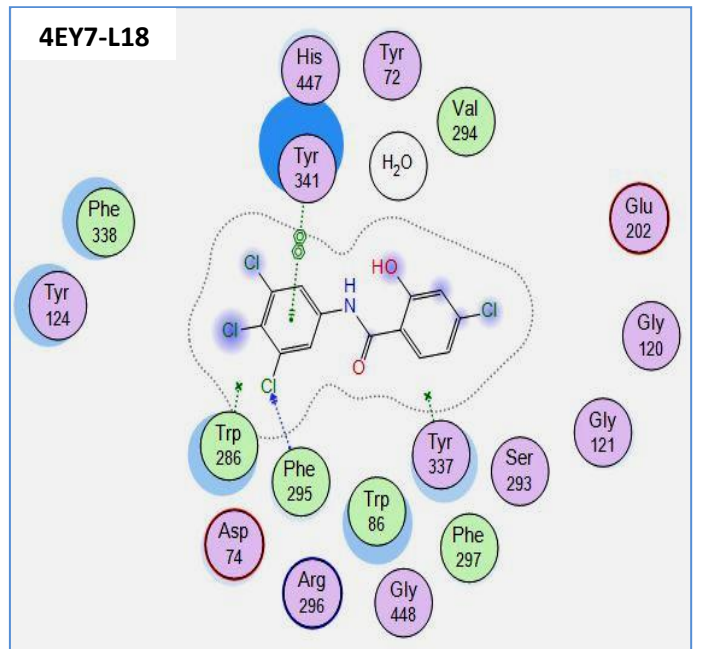
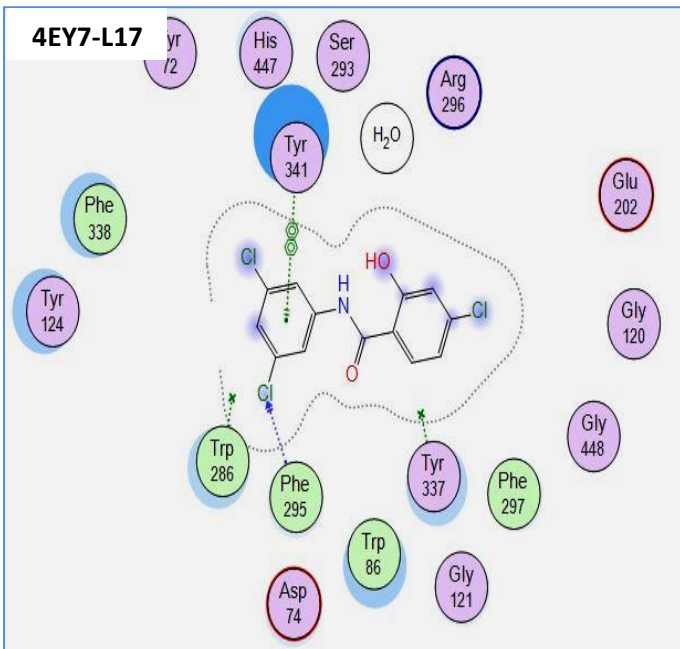
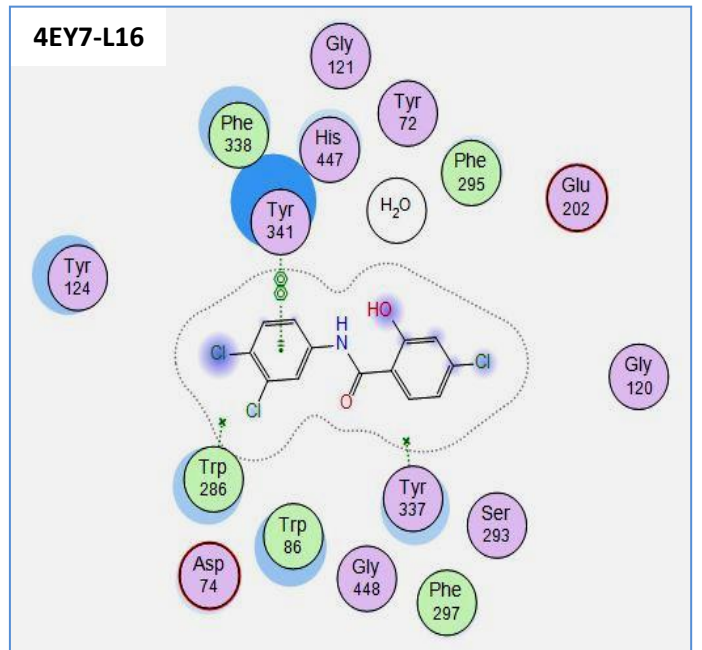
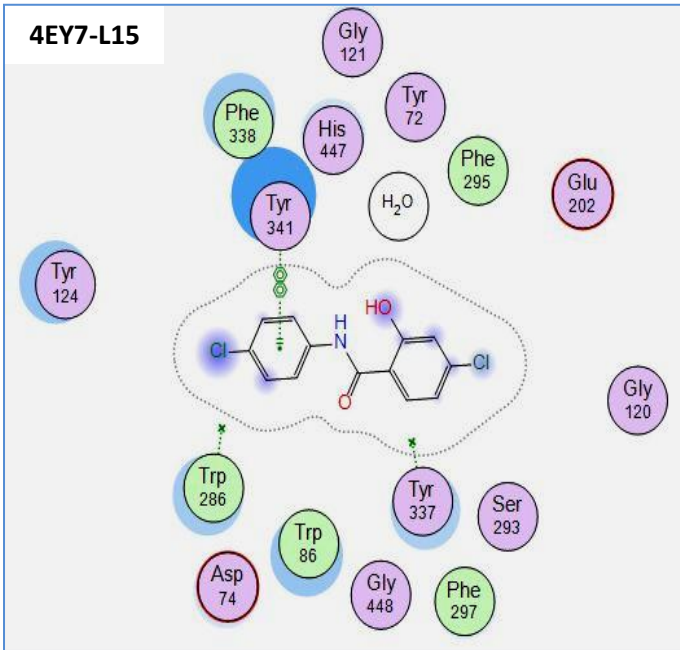
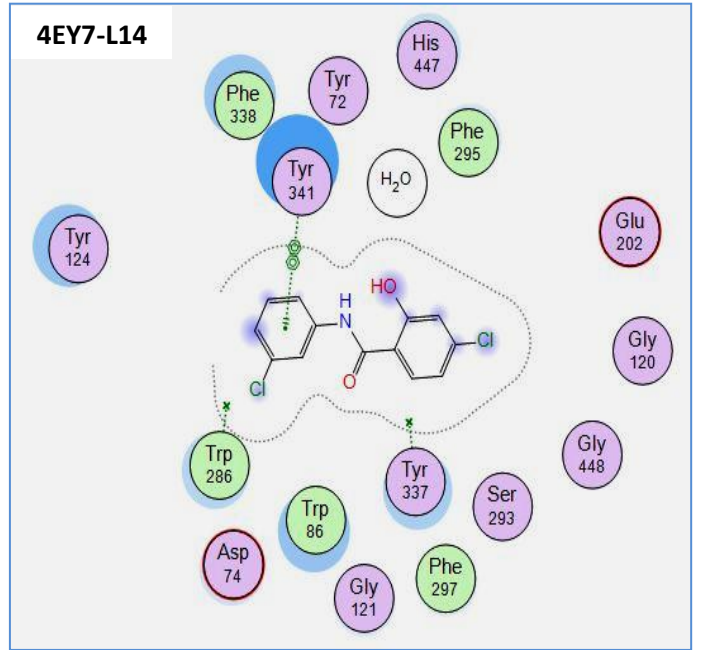
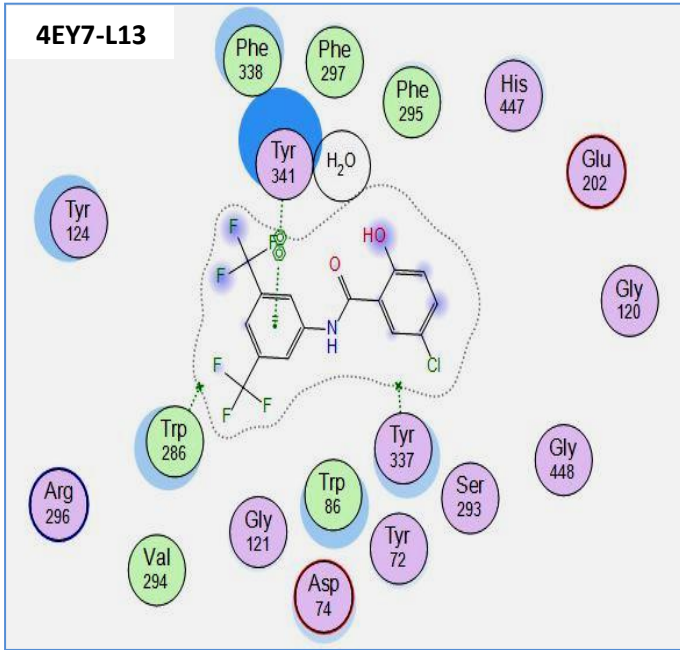


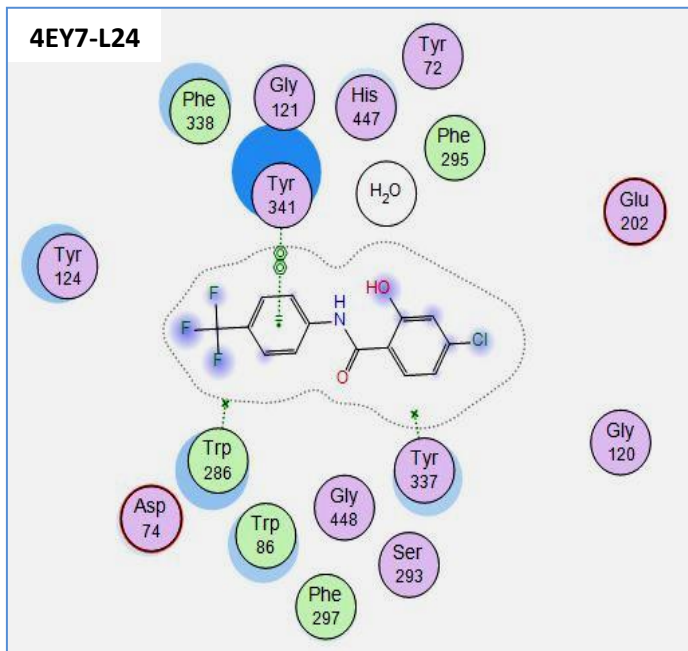
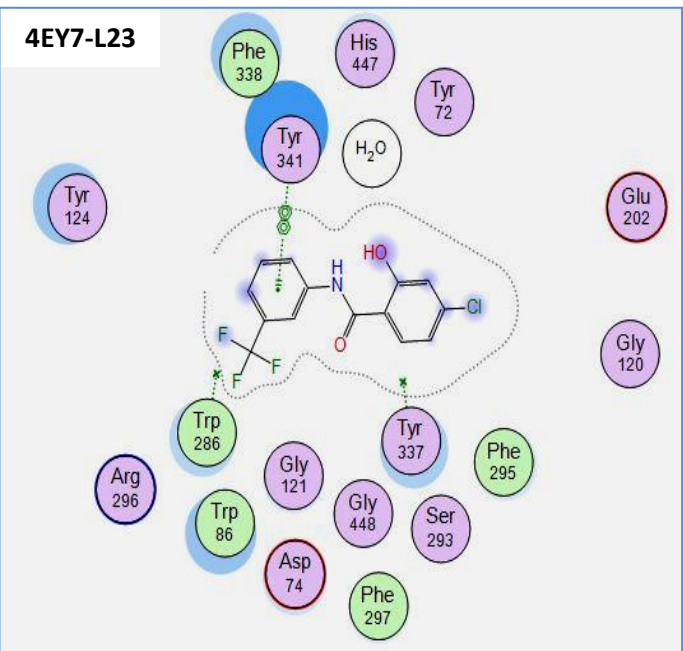
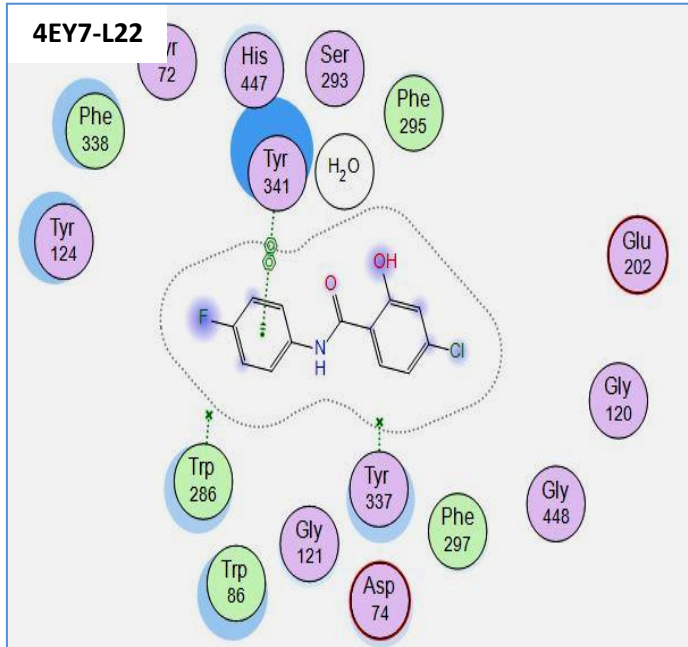
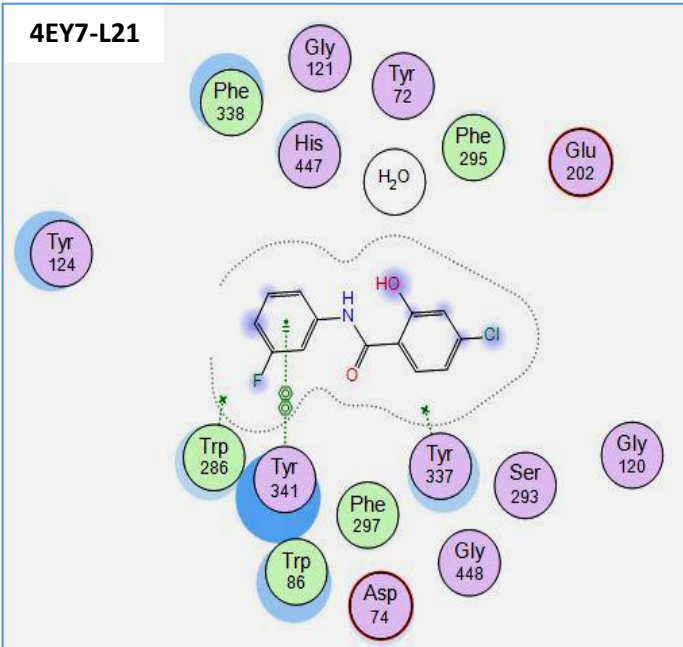
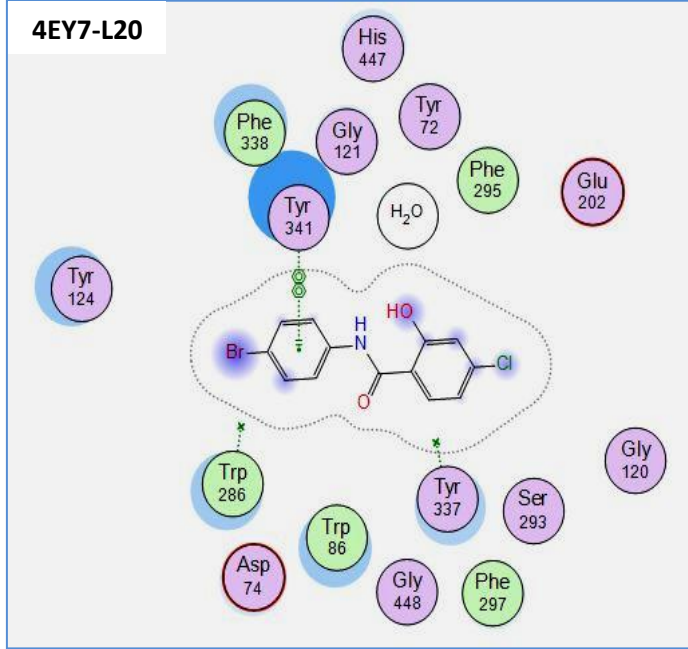
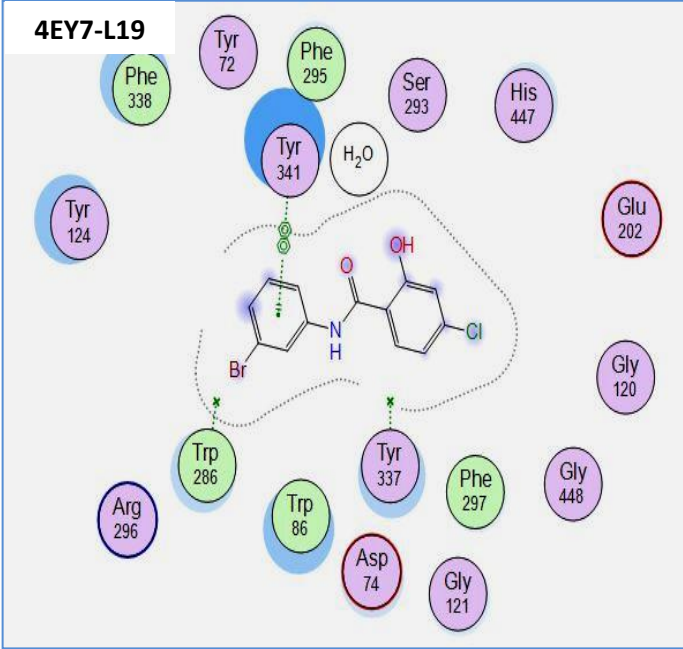
Annexe

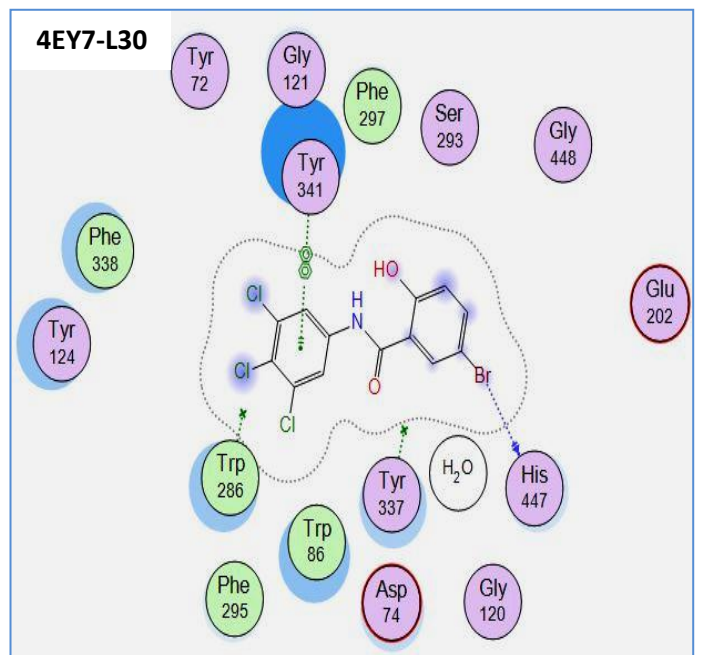
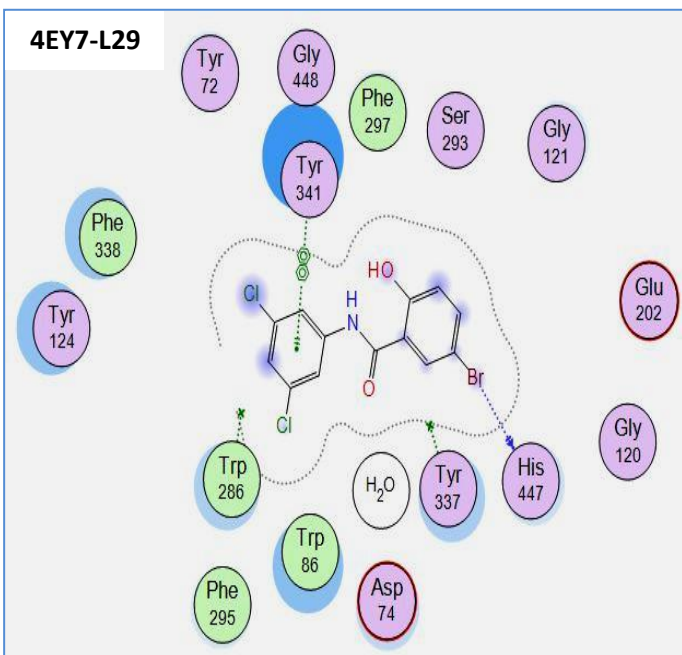
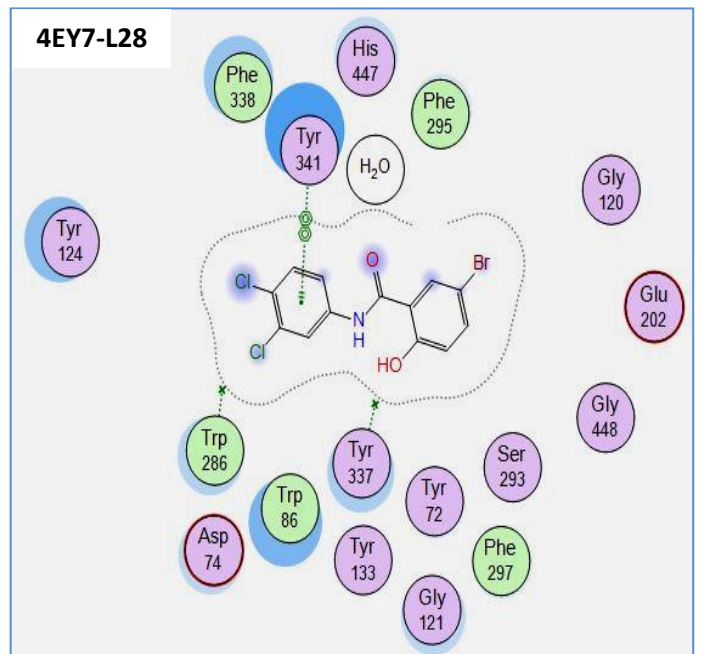
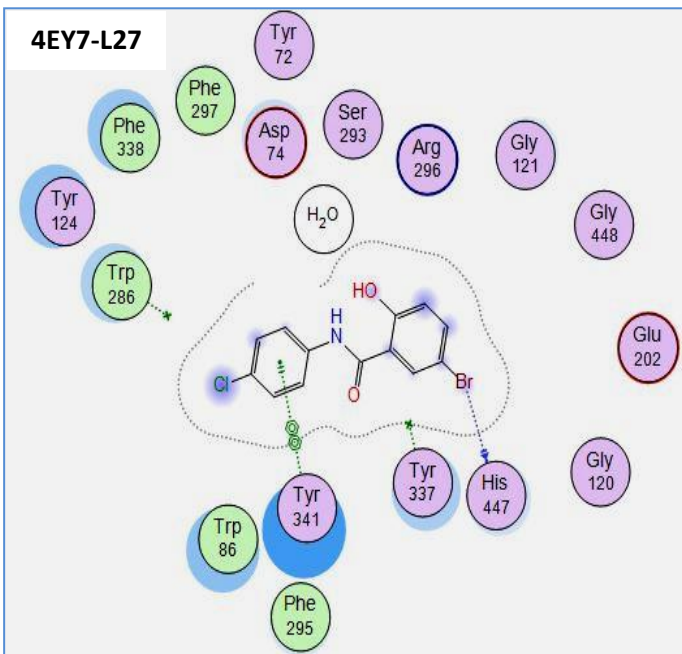
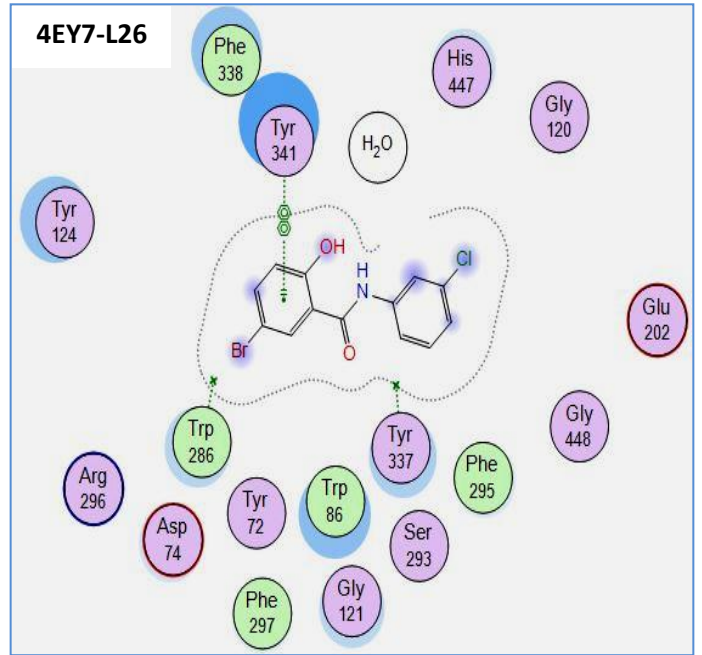
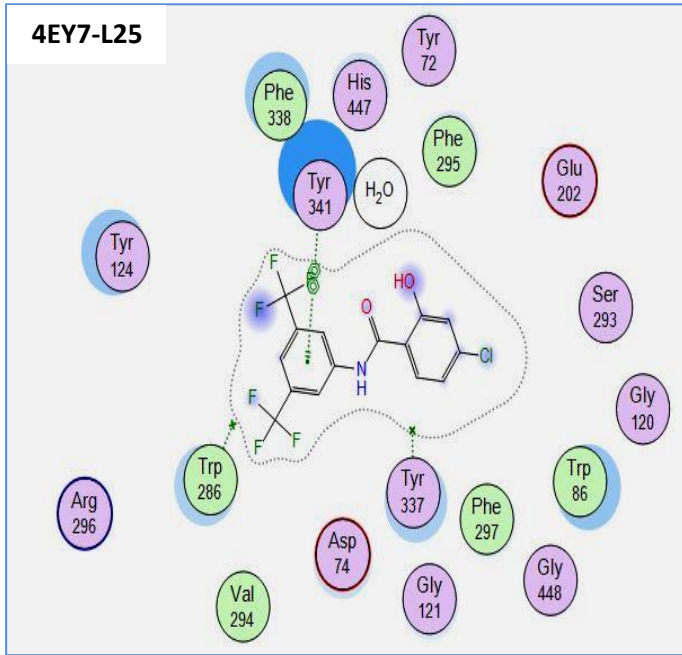
Les interactions entre les ligands et les résidus de site actif pour les deux enzymes AChE et BuChE.

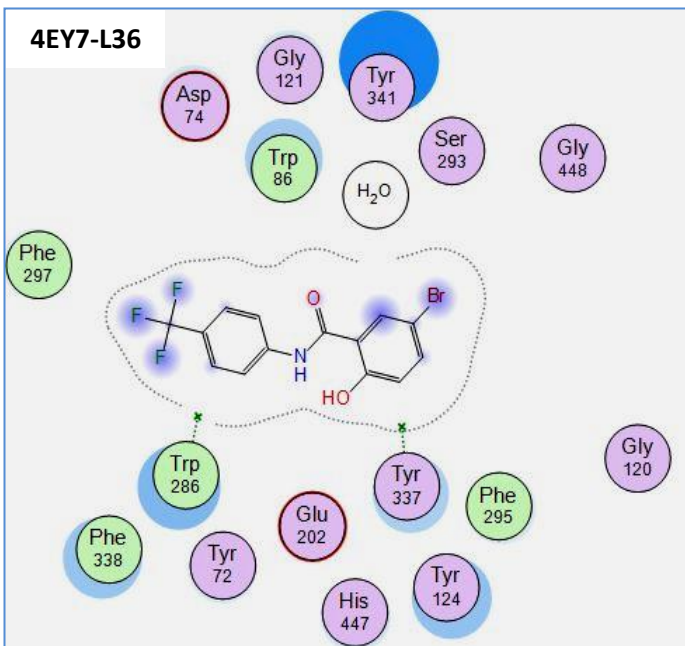
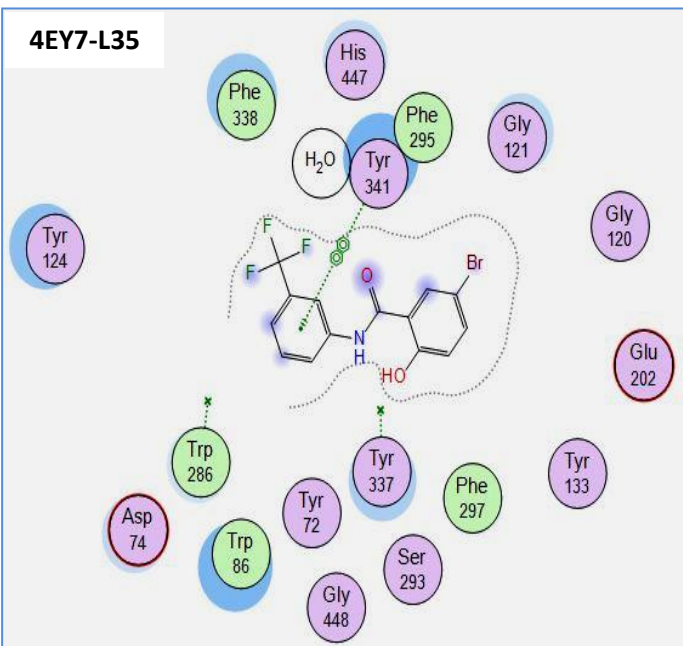
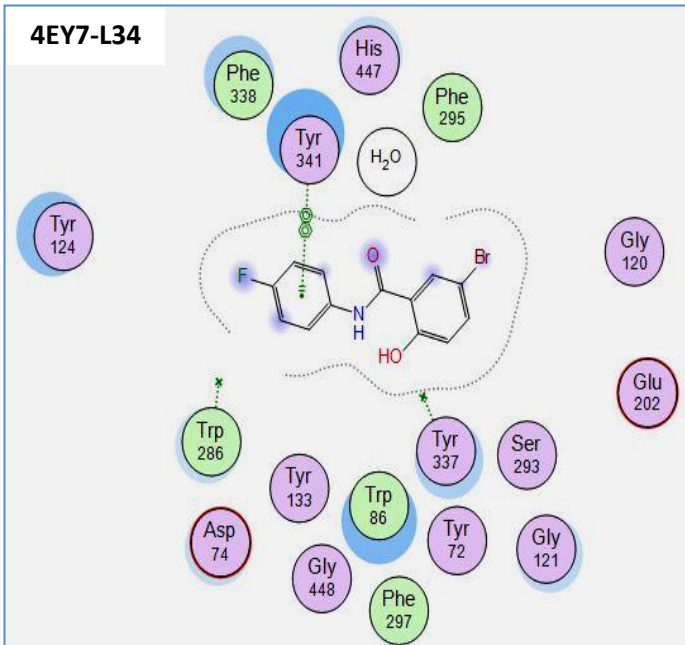
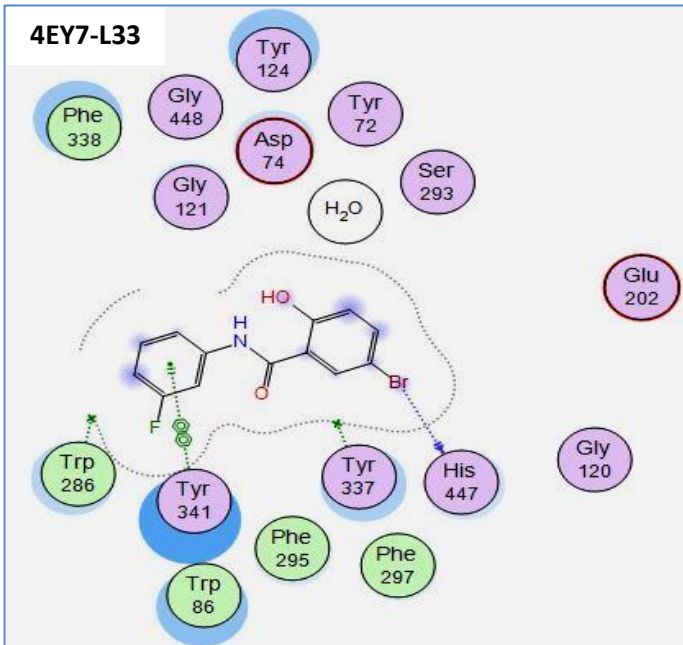
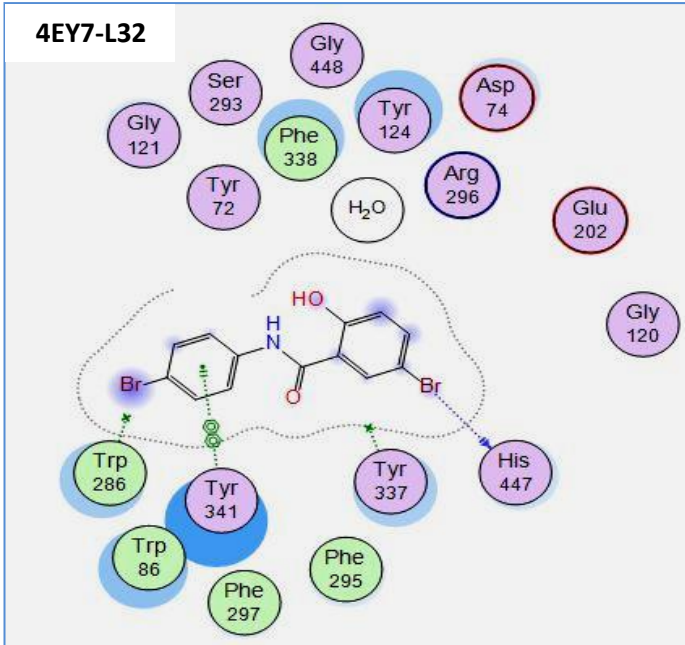
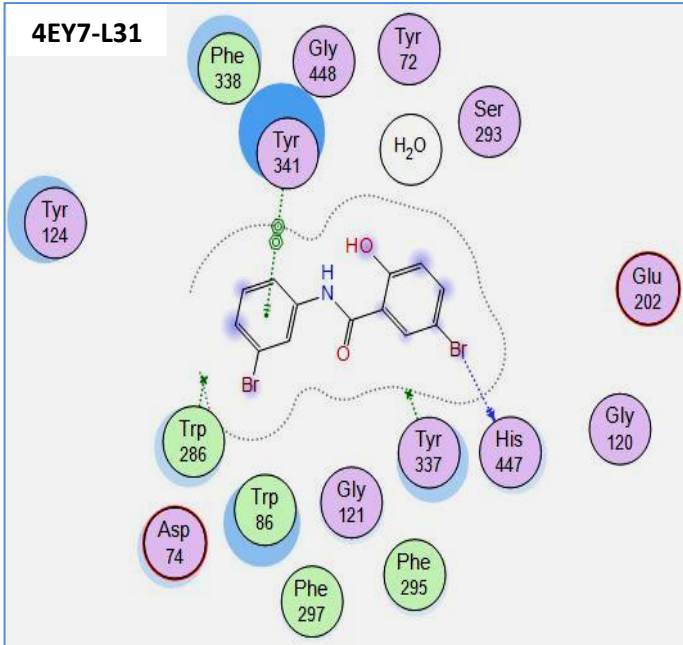




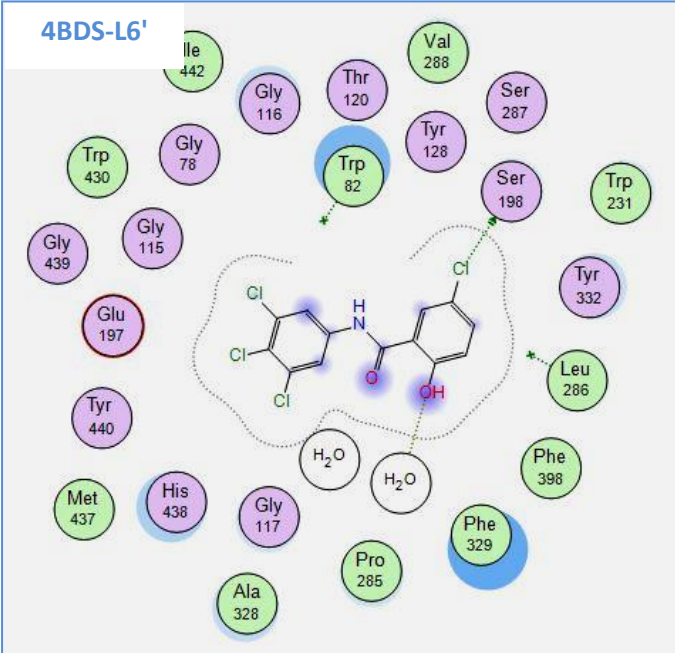




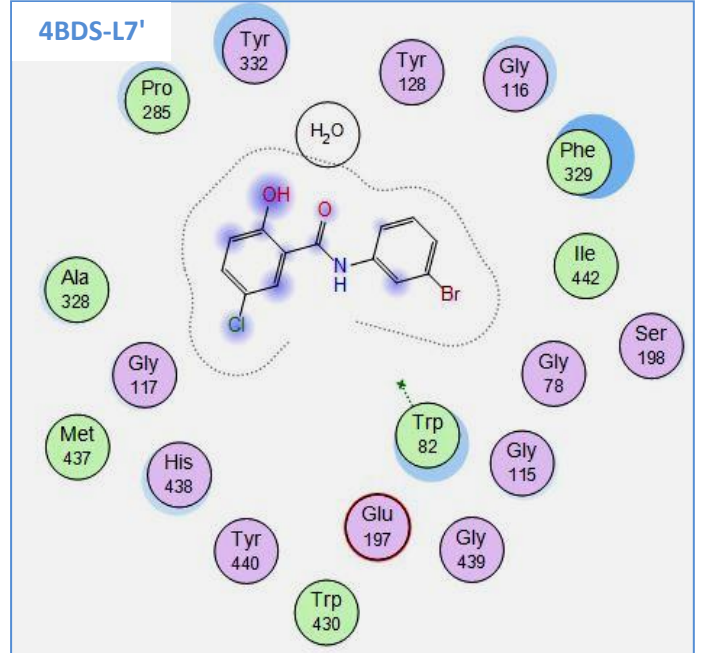




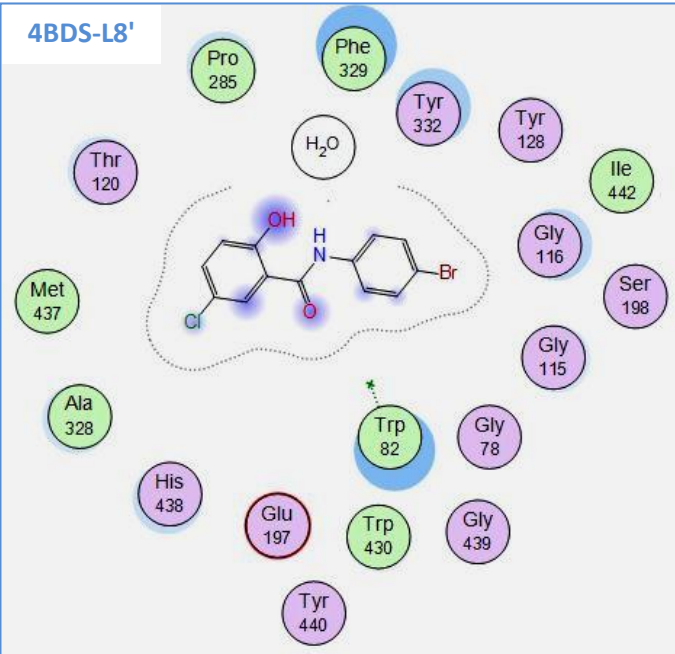
4BDS-L6'



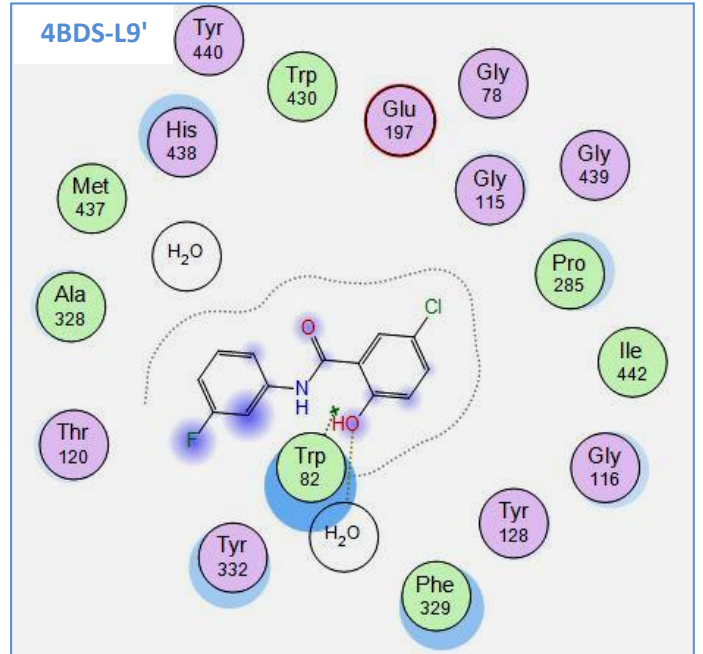
4BDS-L7'



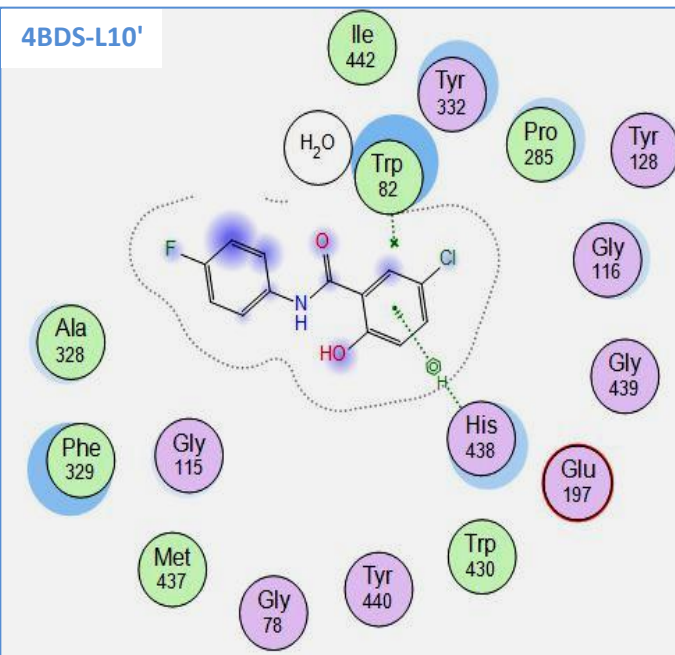
4BDS-L8'



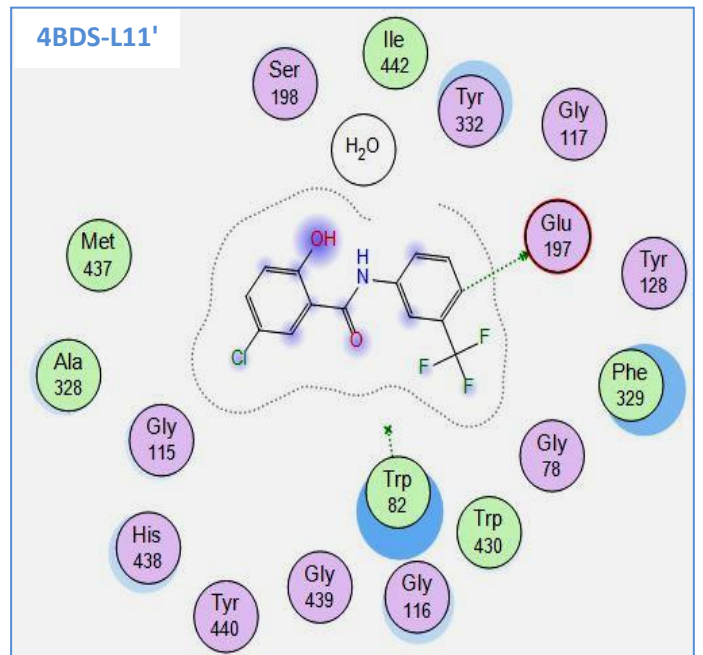
4BDS-L9'

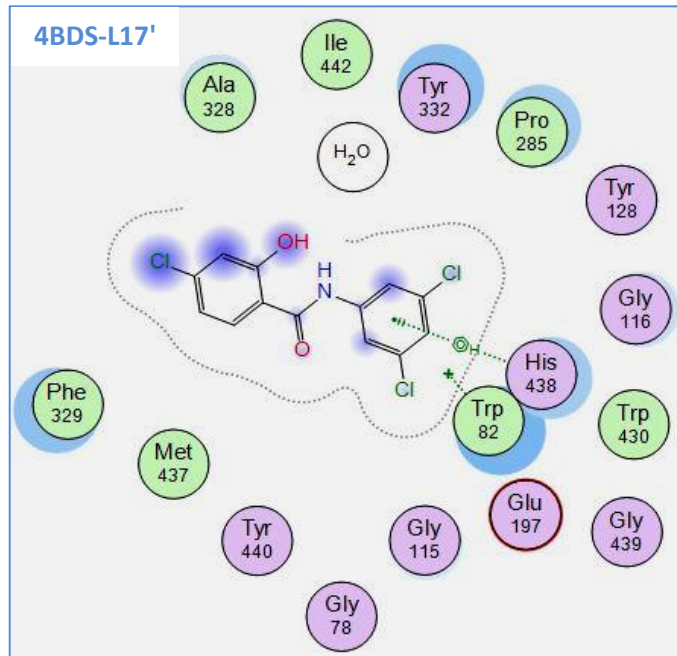
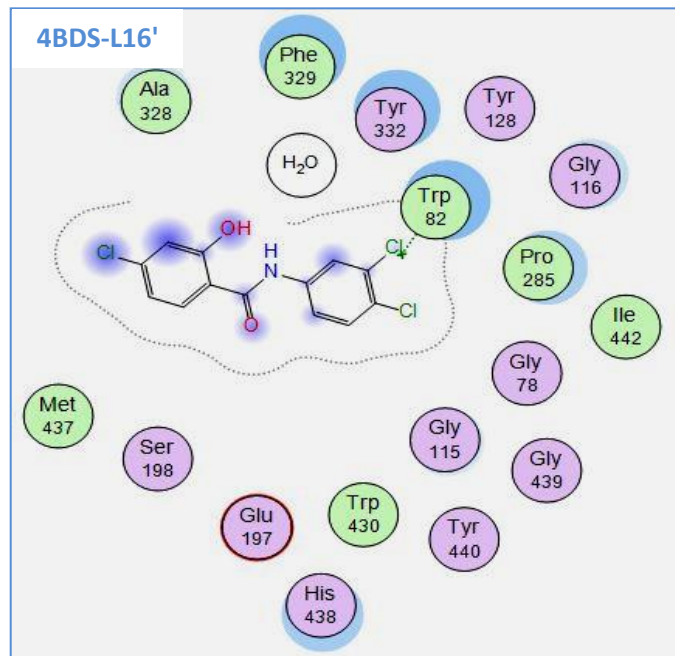
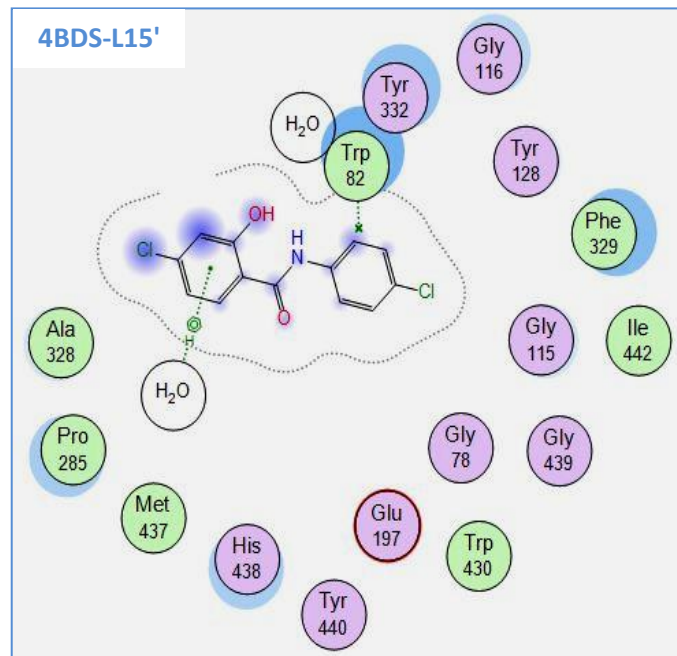
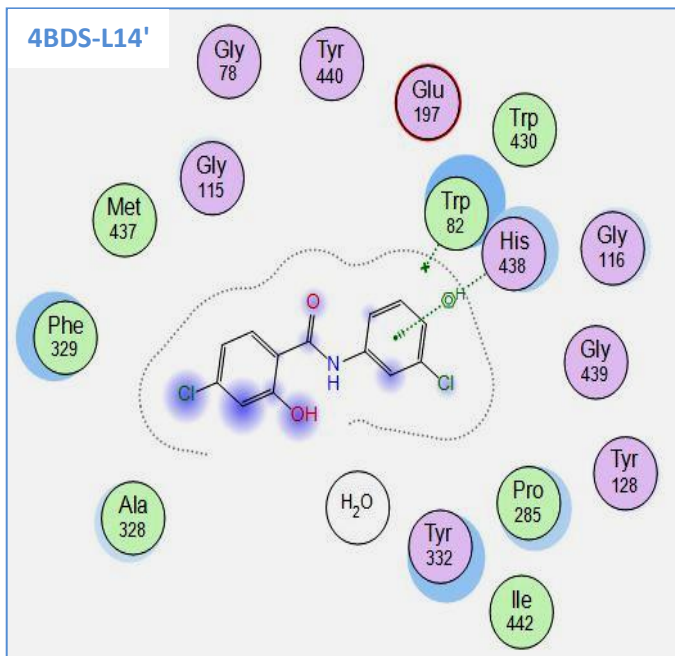
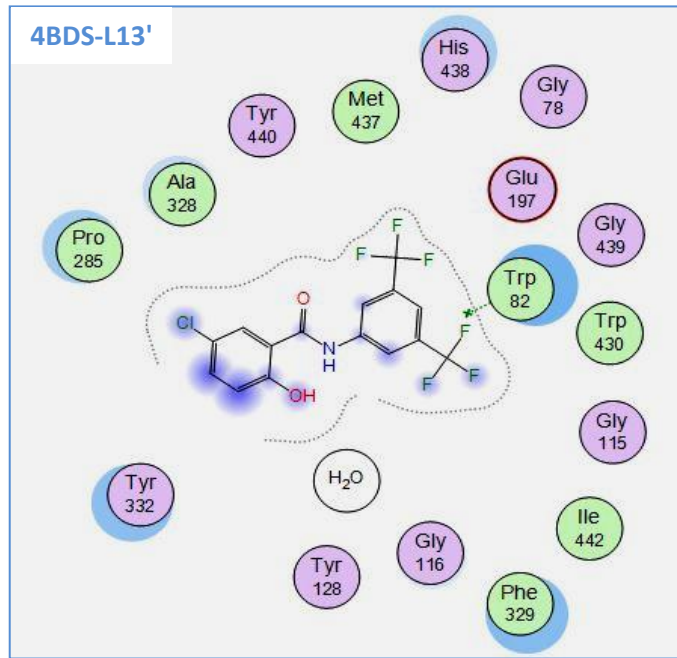
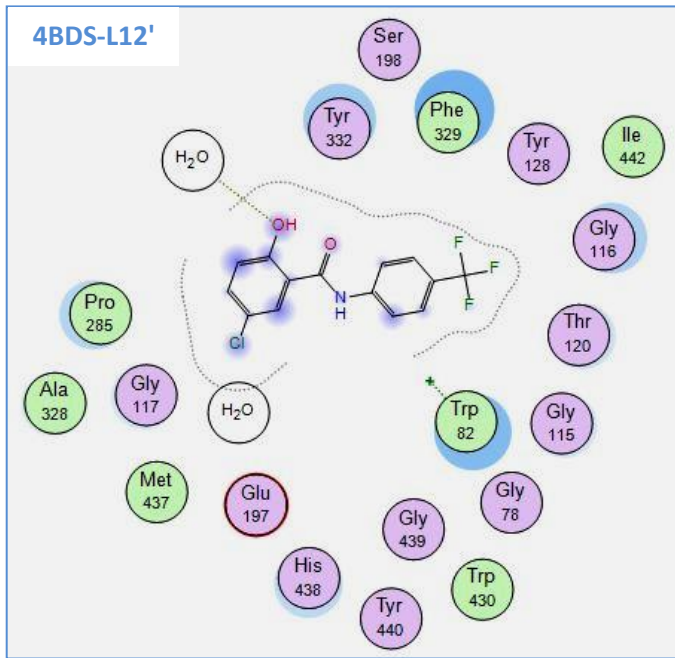


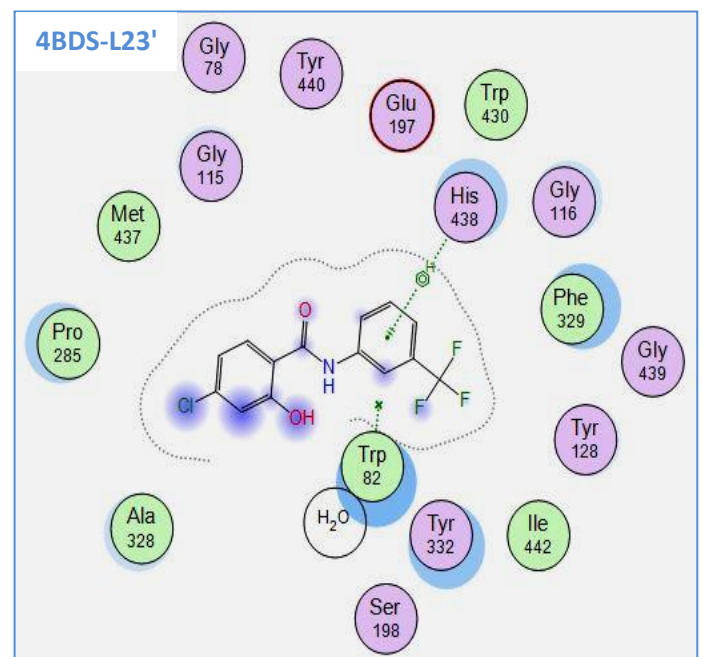
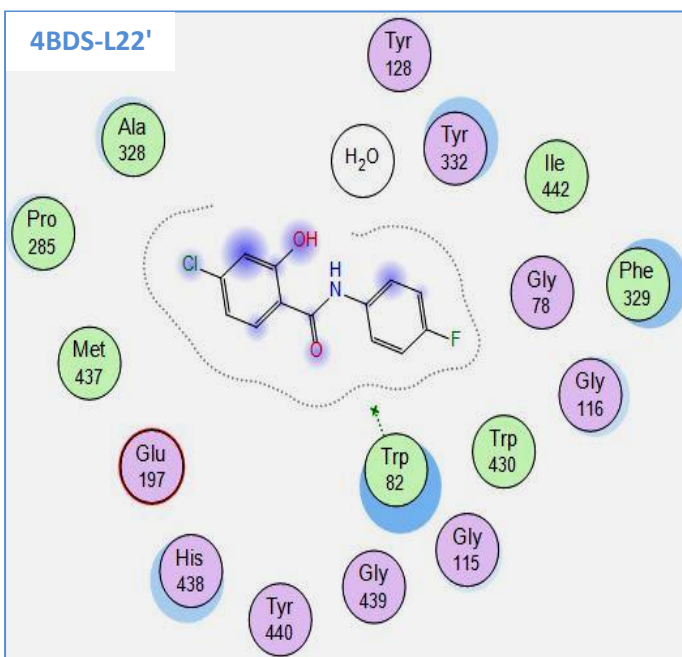
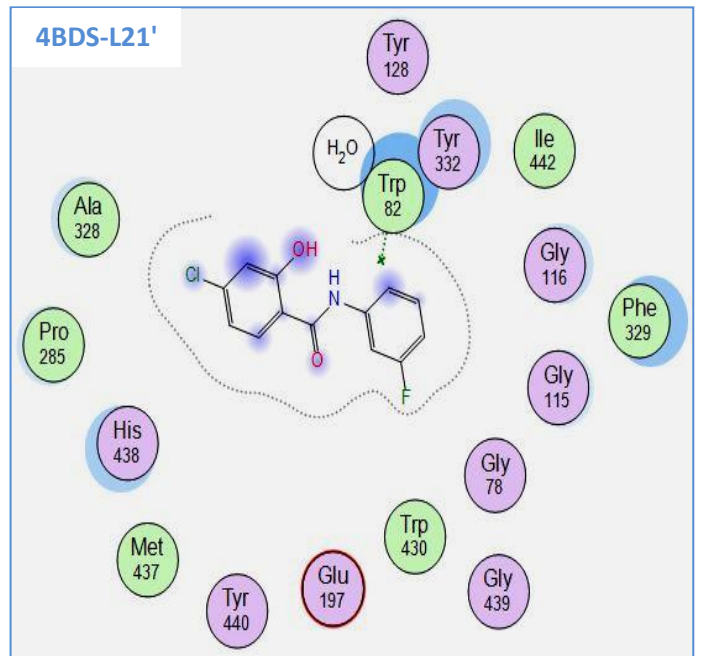
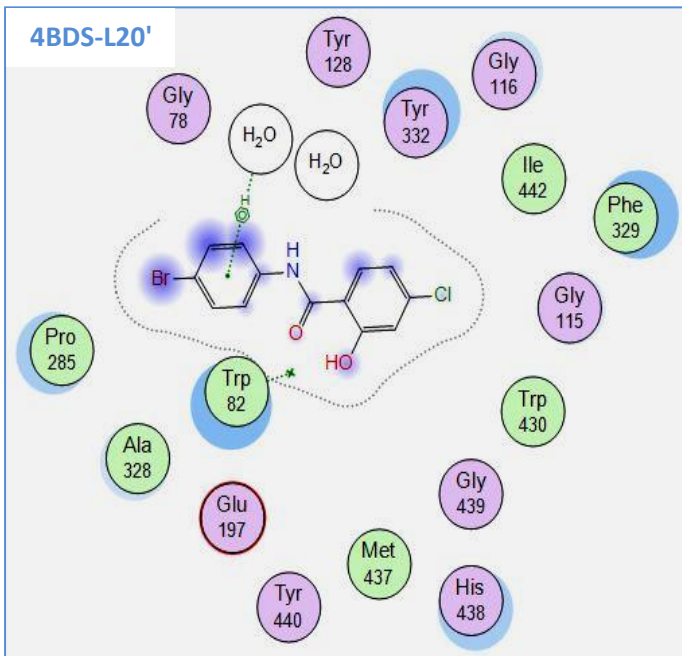
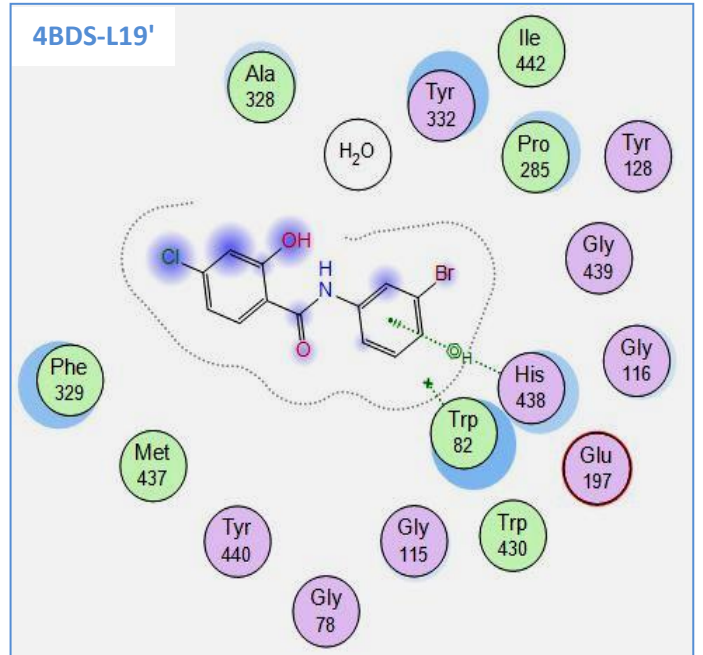
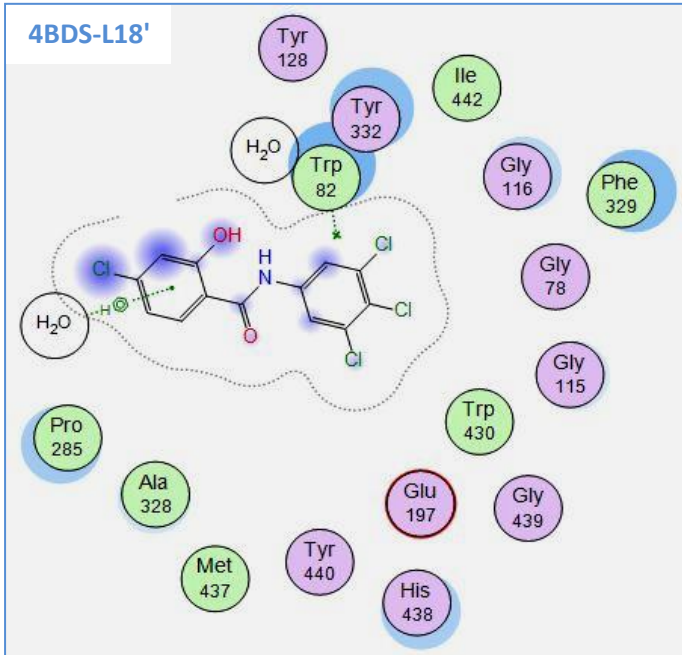
4BDS-L10'



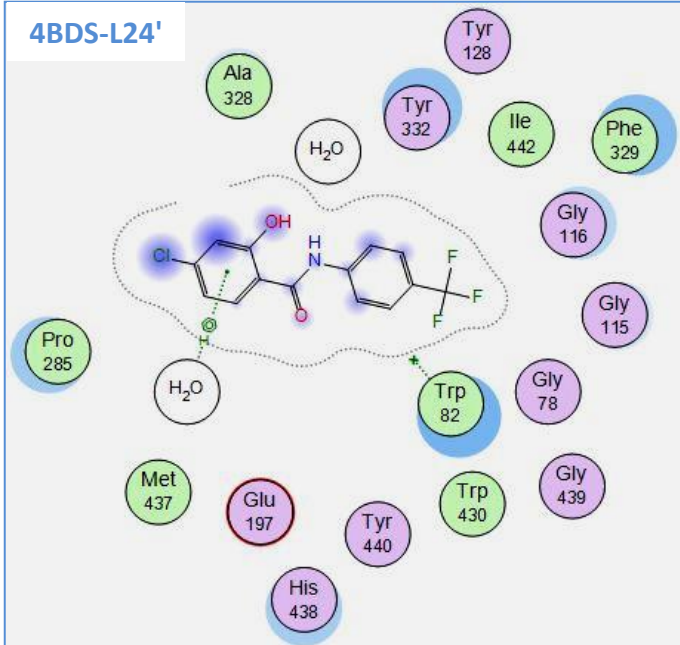
4BDS-L11'



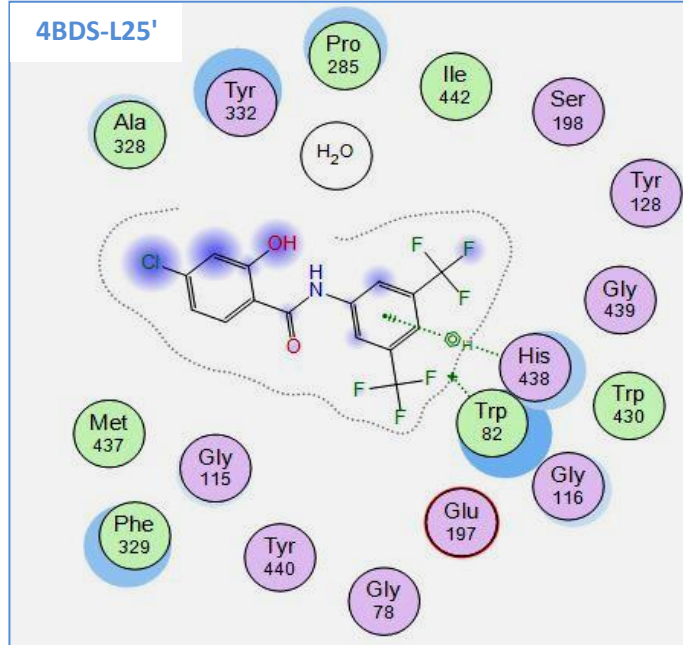




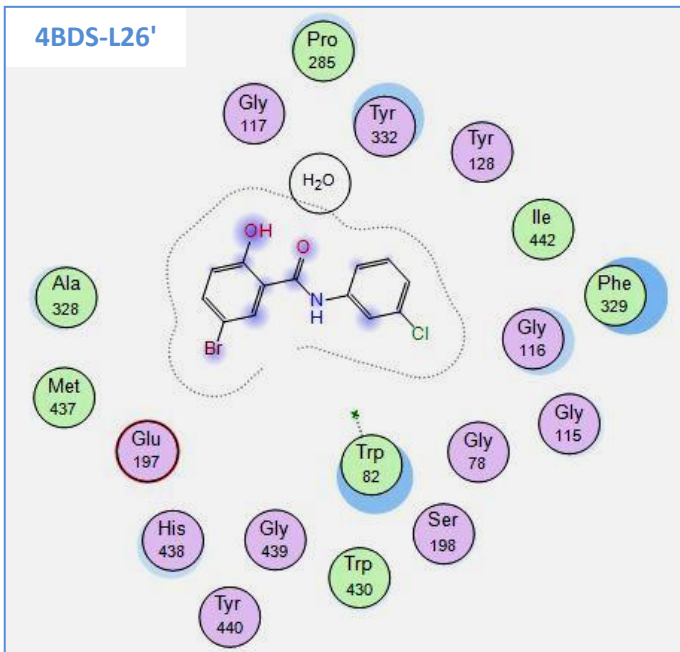
4BDS-L24'



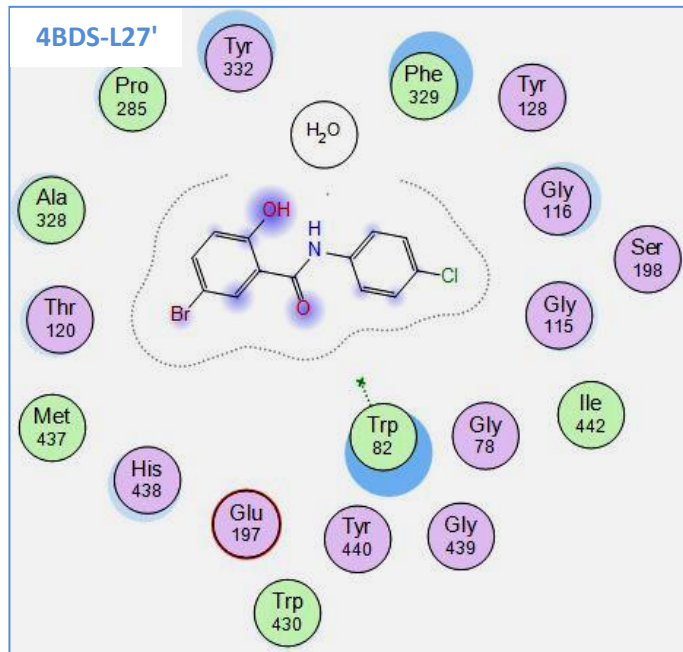
4BDS-L25'



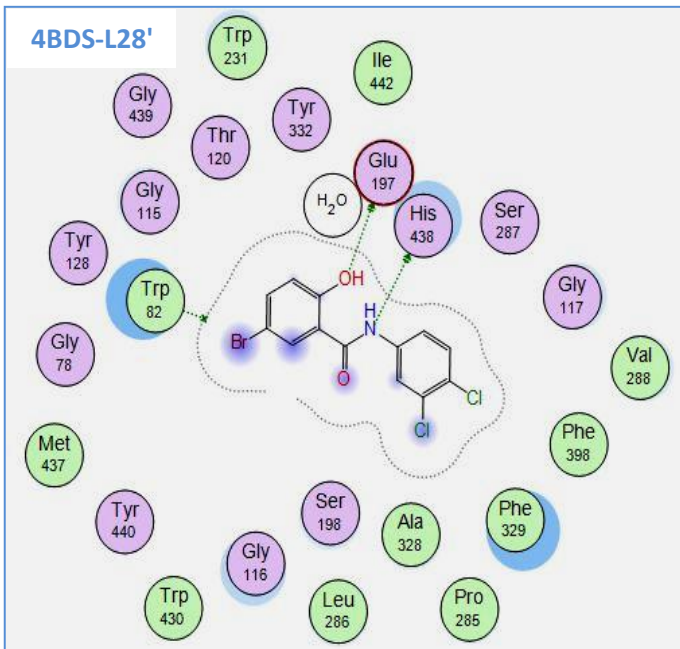
4BDS-L26'



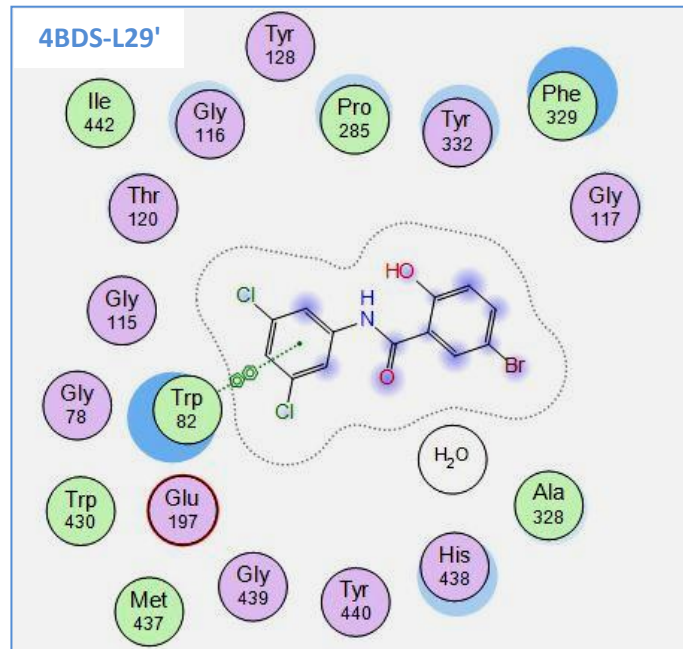
4BDS-L27'

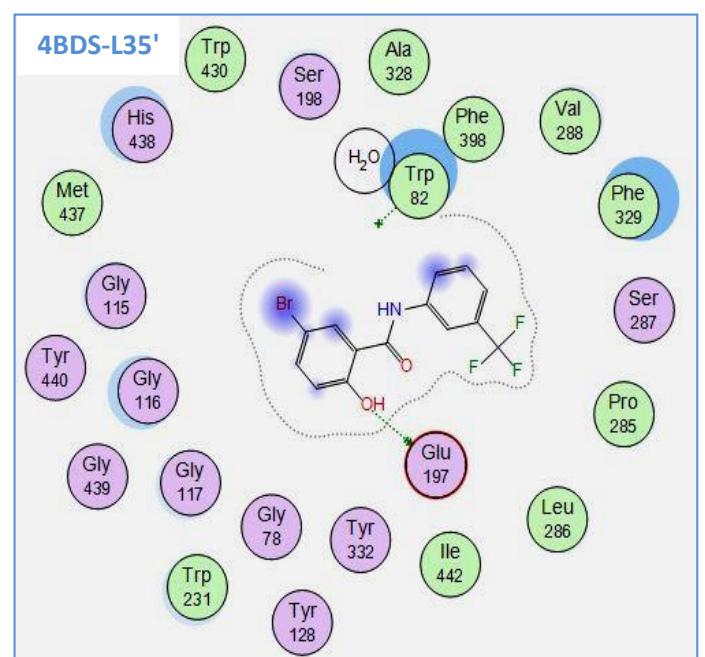
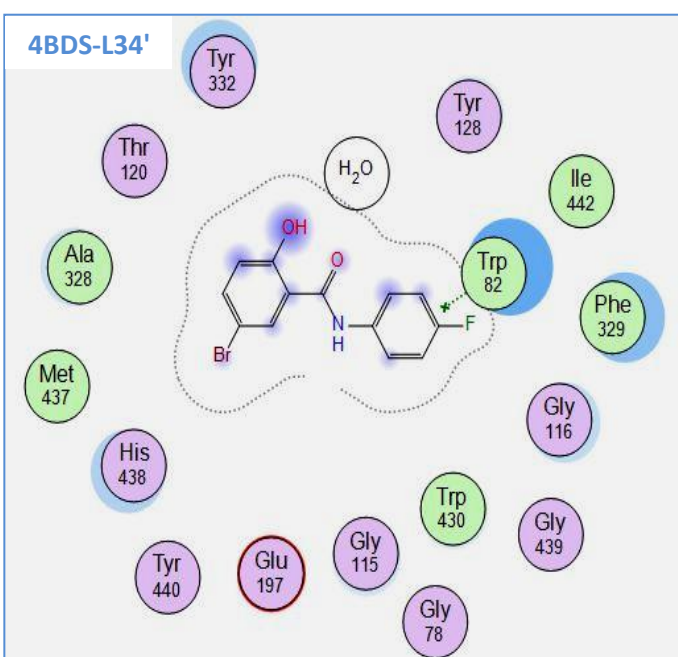
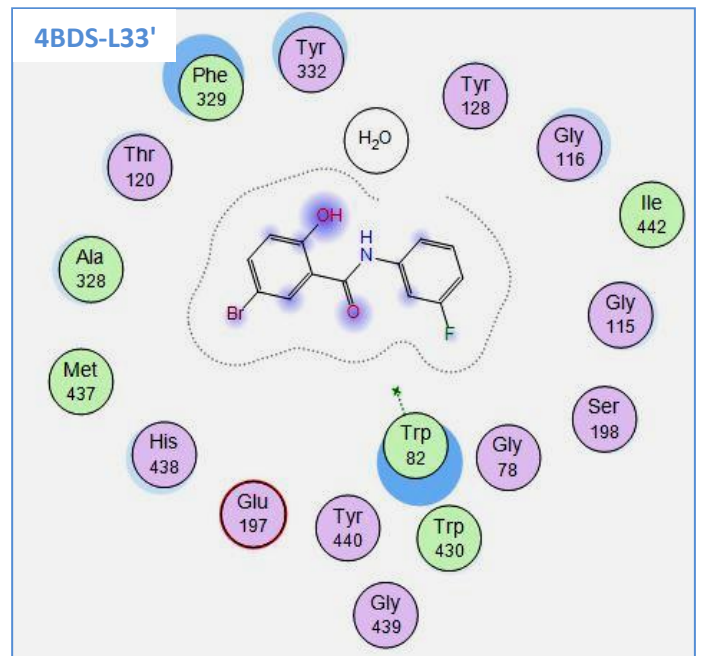
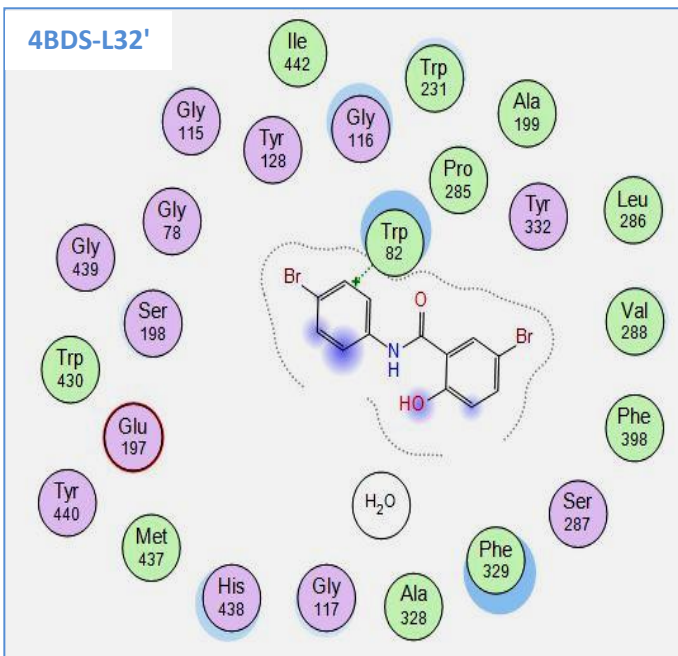
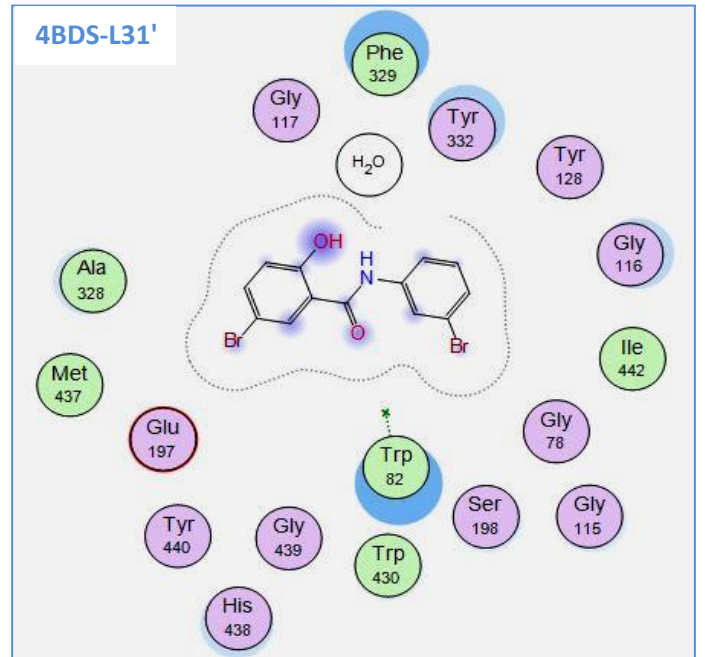
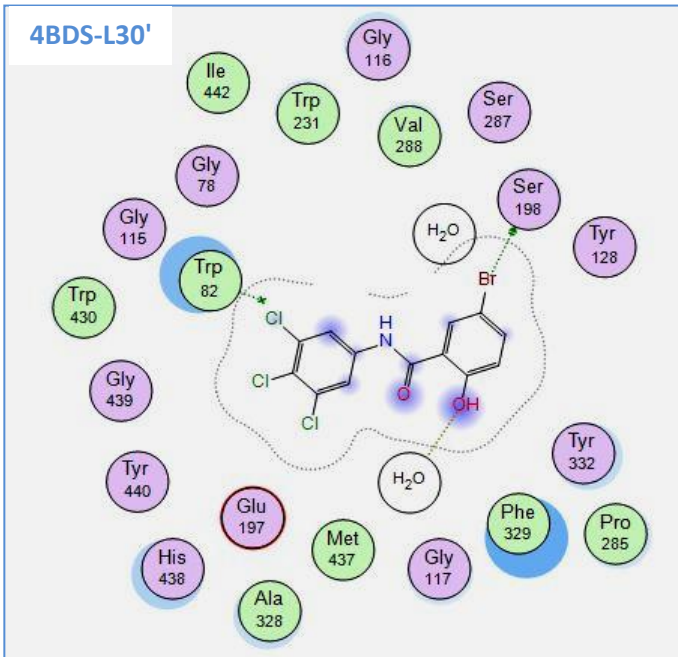


4BDS-L28'

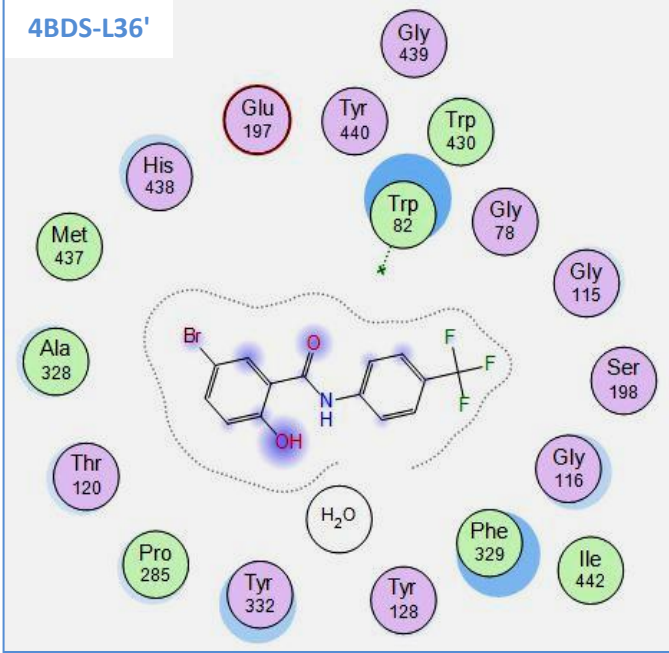


4BDS-L29'

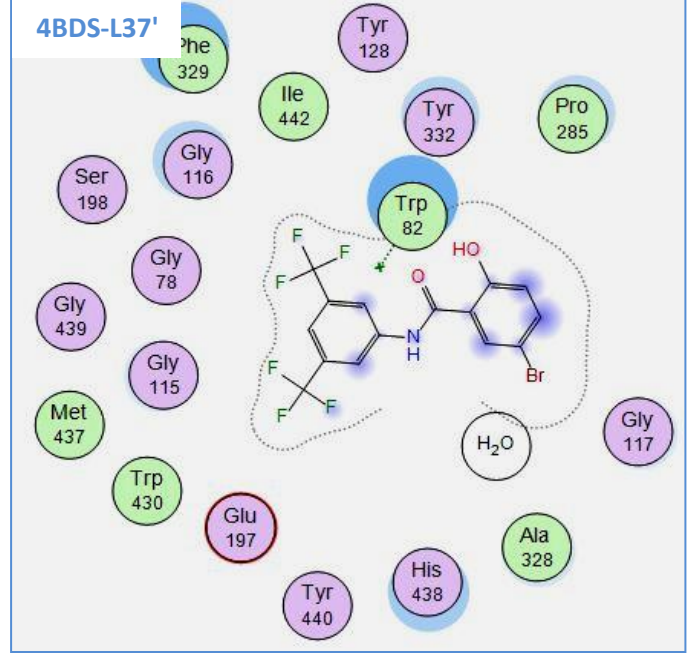




4BDS-L36'



4BDS-L37'



Résumé

La maladie d'Alzheimer (MA) est la maladie neuro-dégénérative touchant le plus de personnes dans le monde. Jusqu'à présent, aucun traitement curatif n'existe pour soigner cette maladie, d'où la nécessité d'identifier et d'étudier de nouvelles cibles thérapeutiques. L'Acétylcholinestérase (AChE) et la Butyrylcholinestérase (BuChE) sont les principales cibles des médicaments destinés à traiter la MA.

Afin d'étudier l'inhibition des enzymes impliquées dans cette maladie et d'identifier des nouveaux inhibiteurs avec une série nouvellement synthétisée contiennent 37 molécules des dérivés de (2 hydroxy-N-phenylbenzamide). Nos travaux se sont intéressés sur l'utilisation de méthodes de modélisation moléculaire basées sur le docking moléculaire, QSAR et ainsi que par une estimation des propriétés ADME.

La discussion des résultats de docking moléculaire a été basée sur nombreuses paramètres. L'analyse de ces résultats obtenus montre que les ligands L18, L17, et L6 ont une inhibition élevée dans le cas de l'enzyme de l'AChE et les ligands L6', L30' et L4' dans le cas de l'enzyme de BuChE. En plus, le calcul des propriétés ADME a prouvé que ces ligands respectent les règles : Lipinski, Veber et Egan, ceci nous a permis de les sélectionner comme étant probablement les meilleurs inhibiteurs.

Ensuite, un modèle QSAR a été élaboré dans le but d'expliquer et de prédire l'activité inhibitrice d'une série constituée de 33 composés en utilisant des descripteurs ciblés et pertinents. Ce modèle a été validé par deux méthodes: interne et externe.

Mots-clés : AChE/BuChE, dérivés de 2 hydroxy-N phenylbenzamide, Docking Moléculaire, QSAR, ADME, Interactions.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the neurodegenerative disease affecting the most people in the world. To date, no curative treatment exists to cure this disease, hence the need to identify and study new therapeutic targets. Acetylcholinesterase (AChE) and Butyrylcholinesterase (BuChE) are the main targets of drugs to treat AD.

In order to study the inhibition of the enzymes involved in this disease and to identify new inhibitors with a newly synthesized series contain 37 molecules of the derivatives of (2 hydroxy-N-phenylbenzamide). Our work has focused on the use of molecular modeling methods based on molecular docking, QSAR and by an estimation of ADME properties.

The discussion of molecular docking results has been based on many parameters. The analysis of these results obtained shows that the ligands L18, L17, and L6 have a high inhibition in the case of the AChE enzyme and the ligands L6', L30' and L4' in the case of the enzyme BuChE. In addition, the calculation of ADME properties proved that these ligands follow the rules: Lipinski, Veber and Egan, this allowed us to select them as being probably the best inhibitors.

Then, a QSAR model was developed to explain and predict the inhibitory activity of a series of 33 compounds using targeted and relevant descriptors. This model has been validated by two methods: internal and external.

Keywords: AChE/BuChE, 2 hydroxy-N-phenylbenzamide derivatives, Molecular Docking, QSAR, ADME, Interactions.