



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

Domaine des Sciences de la Matière
Filière de Chimie
Spécialité Chimie Pharmaceutique

Présenté et soutenu par :

BEN MOHAMED Ikhlas

MEKKI Hadjer

Le : mercredi 26 juin 2019

Synthèse et étude docking moléculaire de quelques dérivés de chalcones

Jury :

Dr. KENOUCHE Samir	<i>MCA</i>	<i>Université Med Khider- Biskra</i>	<i>Président</i>
Dr. HARKATI Dalal	<i>MCA</i>	<i>Université Med Khider- Biskra</i>	<i>Rapporteuse</i>
Dr. DAOUD Ismaïl	<i>MCA</i>	<i>Université Med Khider- Biskra</i>	<i>Examineur</i>

Année universitaire : 2018-2019

Dédicace

À ma chère mère,

À mon cher père,

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

À mes frères, Nabil et Oumad Eddine,

À ma chère sœur Abir,

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

À mes chères grands-mères,

Qui je souhaite une bonne santé.

À ma chère binôme, Ben Mohamed Ikhlal,

Pour sa entente et sa sympathie et pour aider et supporté dans les moments difficiles.

À mes chères ami(e)s,

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

À toute ma famille Abbi et Mekki,

À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Hadjer

Dédicace

Je dédie ce travail ...

À mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Je demande à Dieu de vous donner la santé, le bonheur et une longue vie.

À Mes grands-parents.

À Mes frères, et mes sœurs.

À Mes oncles, mes tantes et leur famille.

À Tous mes cousins et cousines.

À ma binôme Mekki Hadjer

Pour sa soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À Tous mes amies, et mes collègues de la promotion de master chimie pharmaceutique.

À tous mes enseignants durant les années des études.

À que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin.

Tkhlax

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'Université Mohamed Khider-Biskra, Département des sciences de la matière, au Laboratoire de Chimie Organique.

Avant tout, nous remercions Dieu qui nous a donné le courage, la patience et la volonté qui nous ont permis de pour finir ce travail.

*Nous remercions les plus profonds et les plus vifs à notre encadreur **Mme Dalal HARKATI** Docteur à l'Université Mohamed Khider –Biskra pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail. Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance. Nous espérons que ce travail sera à la hauteur de votre attentes et veuillez, madame, trouver dans ce modeste travail l'expression de notre haute considération, de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.*

*Nos remerciements les plus vifs à Monsieur **Samir KENOUCHE** Docteur à l'Université Mohamed Khider –Biskra pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire. C'est pour nous un grand honneur de vous voir siéger dans notre jury. Veuillez trouver, Monsieur, le témoignage de notre grande reconnaissance et de notre profond respect.*

*Nos vifs remerciements également à Monsieur **Ismail DAOUD** Docteur à l'Université Mohamed Khider –Biskra pour accepter de juger notre travail. Veuillez croire, Monsieur, à l'assurance de notre respect et de notre reconnaissance.*

Enfin, Nous remercions toutes personnes ayant contribué et aidés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Dédicace	
Remerciement	
Liste des tableaux	i
Liste des figures	ii
List des schémas	iv
Liste des abréviations	v
Liste des acides aminés	vii
Introduction générale	2
Références bibliographiques	4

Partie I : Etude expérimentale

Chapitre I :

Etude bibliographique sur les chalcones

I.1. Introduction.....	7
I.2. Les méthodes de synthèse de chalcone	8
I.2.1. La condensation de Claisen-Schmidt	8
I.2.2. Réaction de carbonylation de couplage de HECK	8
I.2.3. Couplage de Suzuki	9
I.2.4. Synthèse de Sonogashira	9
I.2.5. La réaction de Friedel et Crafts	10
I.3. Les activités biologiques de dérivés de la chalcone	10
I.3.1. Activité antibactérienne	10
I.3.2. Activité anti inflammatoire	11
I.3.3. Activité antioxydant	11
I.3.4. Activité anticancéreuse	11
I.3.5. Activité anti paludique	12
I.3.6. Activité contre le virus de l'immunodéficience humaine HIV	12
I.3.7. Autres activités biologiques	12
I.4. Les chalcones intermédiaires	13

Sommaire

I.5. Conclusion	13
Références bibliographiques	14

Chapitre II :

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

II.1. Introduction.....	17
II.2. La synthèse des dérivés de chalcone.....	17
II.2.1. Mode opératoire général	17
II.2.2. Synthèse du (2E)-1,3-diphénylprop-2-én-1-one.....	18
II.2.3. Synthèse du (2E)-3-(2-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one	19
II.2.4. Synthèse du (2E)-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one	20
II.2.5. Synthèse du (2E)-3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one ..	20
II.3. Résultats et discussion	21
II.3.1. Mécanisme réactionnel de formation des chalcones	22
II.3.2. Propriétés physico-chimiques des chalcones A, B, C et D.....	23
II.3.3. Analyses spectraux	24
II.3.3.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	24
II.3.3.2. Discussions des spectres FT-IR	29
II.3.4. Résonance magnétique nucléaire	31

Sommaire

Partie II : Etude computationnelle

Chapitre I :

Etude bibliographique sur leplasmepsine, et le docking moléculaire

I.1. Introduction	36
I.2. Notion générale sur paludisme.....	37
I.2.1. Généralité	37
I.2.2. Les cibles moléculaires des chalcones anti-infectieuses	37
I.2.3. Plasmepsine	38
I.3. Le docking moléculaire.....	39
I.3.1. Définition.....	39
I.3.2. Les types de docking moléculaire	40
I.3.3. Fonction de score.....	40
I.3.4. Le RMSD (Root Mean Square Deviation)	41
I.3.5. L'évolution des structures des protéines	41
<i>I.3.5.a. La résolution.....</i>	<i>42</i>
<i>I.3.5.b. Le facteur R</i>	<i>43</i>
<i>I.3.5.c. Facteur d'agitation thermique.....</i>	<i>43</i>
<i>I.3.5.d. Détermination du site actif.....</i>	<i>44</i>
<i>I.3.5.e. Les interactions entre le ligand et le récepteur</i>	<i>44</i>
I.3.6. Principales étapes de le docking moléculaire	44
I.3.7. Les différents types d'interactions entre le ligand et la protéine.....	45
I.3.7.1. La liaison hydrogène	45
I.3.7.2. Les forces de Van der Waals	46
<i>I.3.7.2.a. Les liaisons dipôles à dipôles</i>	<i>47</i>
<i>I.3.7.2.b. Les liaisons dipôles à dipôles induits</i>	<i>47</i>

Sommaire

I.3.7.3. Les liaisons ioniques.....	48
I.4. Conclusion.....	48
Références bibliographiques	49

Chapitre IV :

Docking moléculaire, résultats et discussion

II.1. Introduction.....	52
II.2. Préparation de l'enzyme (4DP3)	52
II.2.1. Description générale	52
II.2.2. Détection de cavité	54
II.3. Préparation des ligands (chalcones).....	56
II.4. Etude de docking moléculaire.....	57
II.4.1. Etude des interactions enzyme-ligand de référence	57
II.4.2. Etude des interactions enzyme-chalcones	59
II.5. Discussion des résultats	64
II.6. Conclusion	64
Références bibliographiques	65
Conclusion générale	67

Liste des tableaux

Partie I :

Chapitre II :

N° des tableaux	Titre des tableaux	Page
Tableau II.1	Résultats de la caractérisation physique de composé A	23
Tableau II.2	Résultats de la caractérisation physique de composé B	23
Tableau II.3	Résultats de la caractérisation physique de composé C	23
Tableau II.4	Résultats de la caractérisation physique de composé D	24
Tableau II.5	Les bandes IR caractéristiques de composé A	29
Tableau II.6	Les bandes IR caractéristiques de composé B	29
Tableau II.7	Les bandes IR caractéristiques de composé C	30
Tableau II.8	Les bandes IR caractéristiques de composé D	31

Partie II :

Chapitre I :

N° de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau I.1	Les valeurs de RMSD données par le logiciel MOE.	41

Chapitre II :

N° des tableaux	Titre des tableaux	Page
Tableau II.1	La composition atomique du complexe 4DP3	53
Tableau II.2	Les résidus de site actif de l'enzyme (4DP3).	54
Tableau II.3	Résultats de SCORE et RMSD de docking moléculaire	57
Tableau II.4	Les résultats énergétiques de ligand de référence (MMV)	58
Tableau II.5	Le rapport d'interactions entre les résidus de site actif avec le MMV	59
Tableau II.6	Les rapports d'interactions entre les chalcones et les résidus de site actif de 4DP3	59

Liste des figures

Partie I :

Chapitre I :

N° des figures	Titre des figures	Page
Figure I.1	Structure générale de la chalcone	7
Figure I.2	Molécule à une activité antibactérienne	10
Figure I.3	Molécule à une activité anti inflammatoire	11
Figure I.4	Molécule à une activité antioxydant	11
Figure I.5	Molécule à une activité anticancéreuse	11
Figure I.6	Molécule à une activité anti paludique	12
Figure I.7	Molécule à une activité anti-HIV	12

Chapitre II :

N° des figures	Titre des figures	Page
Figure II.1	La plaque CCM du composé A	18
Figure II.2	La plaque CCM du composé B	19
Figure II.3	La plaque CCM du composé C	20
Figure II.4	La plaque CCM du composé D	21
Figure II.5	Spectre IR de composé A	25
Figure II.6	Spectre IR de composé B	26
Figure II.7	Spectre IR de composé C	27
Figure II.8	Spectre IR de composé D	28
Figure II.9	Spectre RMN (¹ H) de 1,3-diphénylprop-2-éne-1-one	32
Figure II.10	Spectre RMN (¹³ C) de 1,3-diphénylprop-2-éne-1-one	33

Liste des figures

Partie II :

Chapitre I :

N° des figures	Titre des figures	Page
Figure I.1	Les cibles anti-infectieuses de chalcone	38
Figure I.2	Principe générale de docking moléculaire	40
Figure I.3	Evolution du nombre de structures protéiques disponibles dans la PDB	42
Figure I.4	Nombre de structures protéiques par intervalle de résolution donné	43
Figure I.5	La liaison hydrogène	46
Figure I.6	Les forces de Van der Waals	46
Figure I.7	Interaction dipôle à dipôle	47
Figure I.8	Interaction dipôle à dipôle induit	48
Figure I.9	La liaison ionique	48

Chapitre II :

N° de figure	Titre des figures	Page
Figure II.1	La structure 3D de l'enzyme 4DP3 non simplifié	53
Figure II.2	Cavité 1 (Pocket) d'enzyme 4DP3	55
Figure II.3	Structure chimique de MMV (P218)	55
Figure II.4	Les structures 2D des composés synthétisés	56
Figure II.5	Les interactions entre les résides de site actif avec le MMV	58
Figure II.6	L'interaction entre l'inhibiteur A et les résidus de site 4DP3	60
Figure II.7	L'interaction entre l'inhibiteur B et les résidus de site 4DP3	61
Figure II.8	L'interaction entre l'inhibiteur C et les résidus de site 4DP3	62
Figure II.9	L'interaction entre l'inhibiteur D et les résidus de site 4DP3	63

Liste des schémas

Partie I :

Chapitre I :

N° des schémas	Titre des schémas	Page
Schéma I.1	La réaction globale de Claisen-Schmidt	8
Schéma I.2	Synthèse de chalcone par le couplage de Heck	9
Schéma I.3	Synthèse de chalcone par le couplage de Suzuki	9
Schéma I.4	Synthèse de chalcone par le couplage de Sonogashira	9
Schéma I.5	Synthèse de chalcones par la réaction de Friedel et Crafts	10
Schéma I.6	Conversion de 2'-hydroxychalcone à différents flavonoïdes	13

Chapitre II :

N° des schémas	Titre des schémas	Page
Schéma II.1	Schéma réactionnelle de la Synthèse du 1,3-diphénylprop-2-én-1-one	18
Schéma II.2	Schéma réactionnelle de la Synthèse du 3-(2-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one	19
Schéma II.3	Schéma réactionnelle de la synthèse du 3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one	19
Schéma II.4	Schéma réactionnelle de la synthèse du 3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one	21
Schéma II.5	La réaction générale de Claisen –Schmidt	22
Schéma II.6	Mécanisme réactionnel générale de la réaction de Claisen-Schmidt	22

Liste des abréviations

A

Å: Angström.

AMBER: Assisted Model Building with Energy Refinement.

C

°C : Degré Celsius.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

cm : Centimètre.

D

2D : Deux dimensions.

3D : Trois dimensions.

d : Doublet.

Da : Dalton.

DHFR : Dihydrofolate réductase.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

F

FT-IR : Infrarouge à transformée de Fourier.

G

g : Gramme.

H

HIV : Virus de l'immunodéficience humaine.

Hyd : Hydrophobe.

K

K: Kelvin.

Kcal: Kilocalorie.

KJ: Kilojoule.

M

m : Multiplet.

MHz : Mégahertz.

mL Millilitre.

MOE : Molecular Operating Environment.

Mol : Mole.

MMV : Medicines for Malaria Venture

N

N : Normalité.

NDP : Nucléoside DiPhosphate.

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

Liste des abréviations

P

PDB : Banque de Donnée Protéique (Protéine Data Bank).

PfDHFR : Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase .

Ph : Phényle.

pH: Potentiel hydrogène.

ppm: Partie par million.

% : Pourcentage.

R

R : Radical.

Rdt : Rendement.

R_f : Rapport frontal.

RMN (¹H) : Résonance magnétique nucléaire du proton.

RMN (¹³C) : Résonance magnétique nucléaire du carbone 13.

RMSD : Root Mean Square Dérivation

S

S : Singulet.

T

T : Température.

T_f : Point de fusion.

t : Triplet.

Liste des acides aminés

Acides aminés	Abréviation
Acide glutamique	Glu
Acide aspartique	Asp
Alanine	Ala
Arginine	Arg
Asparagine	Asn
Cyséine	Cys
Glutamine	Gln
Histidine	His
Isoleucine	Ile
Leucine	Leu
Lysine	Lys
Méthionine	Met
Phénylalanine	Phe
Proline	Pro
Sérine	Ser
Thréonine	Thr
Tryptophane	Trp
Tyrosine	Tyr
Valine	Val



Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale :

L'identification de molécules à visée thérapeutique est un long processus, faisant intervenir de très nombreuses connaissances scientifiques dans les domaines de la chimie organique, de la pharmacognosie, de la pharmacologie et de la pharmacie galénique....

Il est rare qu'un produit d'origine naturelle présente toutes les caractéristiques physico chimiques et pharmacologiques permettant une exploitation directe. En pratique, il est nécessaire dans la très grande majorité des cas de faire appel à la synthèse organique pour optimiser cette molécule de référence du point de vue puissance d'action, sélectivité, biodisponibilité et toxicité [1].

Avec la chimie organique et la pharmacologie, autre discipline est totalement révolutionné la recherche de nouveaux molécules à visée thérapeutique il s'agit de la génétique qui a permis la rationalisation du choix et de l'utilisation de cibles biologiques définies au niveau moléculaire et de docking pour prédire l'affinité entre le ligand et la cible.

Il est important de connaître l'effet du médicament est initié par sa liaison à une macromolécule de l'organisme, ou cible moléculaire, très généralement une protéine cellulaire. Cette liaison, ou interaction entre la molécule thérapeutique et sa cible, implique une reconnaissance mutuelle des deux partenaires, une affinité réciproque [2,3].

Depuis qu'il a été rapporté que la Licochalcone A (*figure 1*), un produit naturel isolé des racines de Chinese liquorice, possède une forte activité anti malarique in vitro et in vivo, une très grande variété d'analogues de la chalcone a été synthétisée afin d'intensifier l'activité chimio thérapeutique et les propriétés pharmacocinétiques. Les études sur le mécanisme d'action de ces dérivés ont permis d'identifier le système α , β -insaturé de la chalcone comme un élément clé dans le processus d'inhibition de la protéase à cystéine, enzyme qui dégrade la globine en peptides plus petits dans la vacuole du parasite intra-érythrocytaire. Sur cette base, différents composés possédant ce noyau ont été synthétisés et évalués afin d'optimiser leur activité biologique [4].

Introduction générale

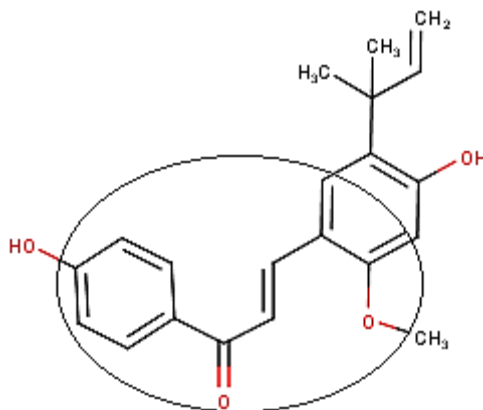


Figure I : Licochalcone A.

C'est pour cette raison, nous avons orienté vers la synthèse de dérivés de chalcones, suivi de docking moléculaire.

Notre travail englobe deux parties :

La partie expérimentale est composée deux chapitres :

Dans le premier chapitre, nous décrivons une mise au point bibliographique sur les différentes méthodes de synthèses de la chalcone et l'activité biologique de leurs dérivés.

Le deuxième chapitre comprend les stratégies de synthèse utilisée pour la préparation des chalcones ainsi que la discussion des résultats obtenus

La partie computationnelle est structurée également en deux chapitres :

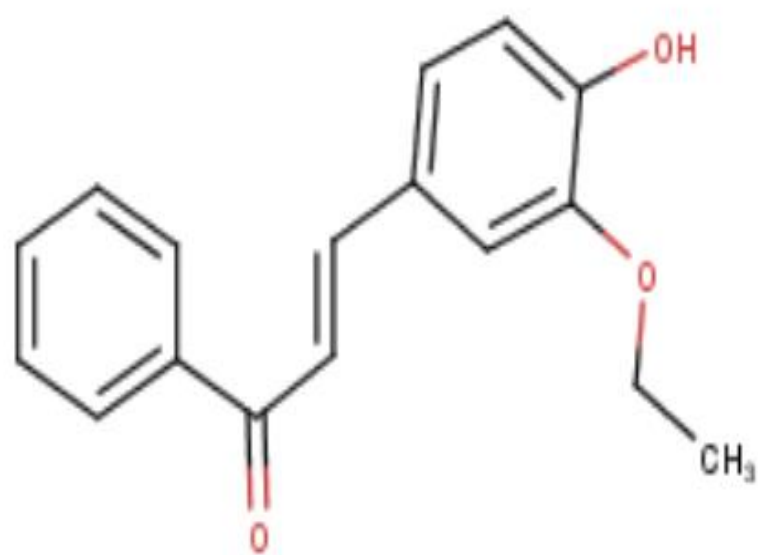
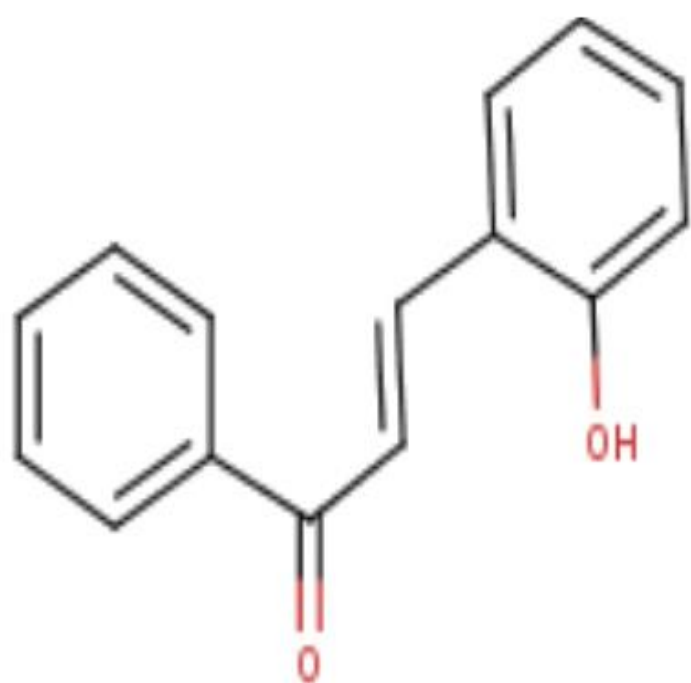
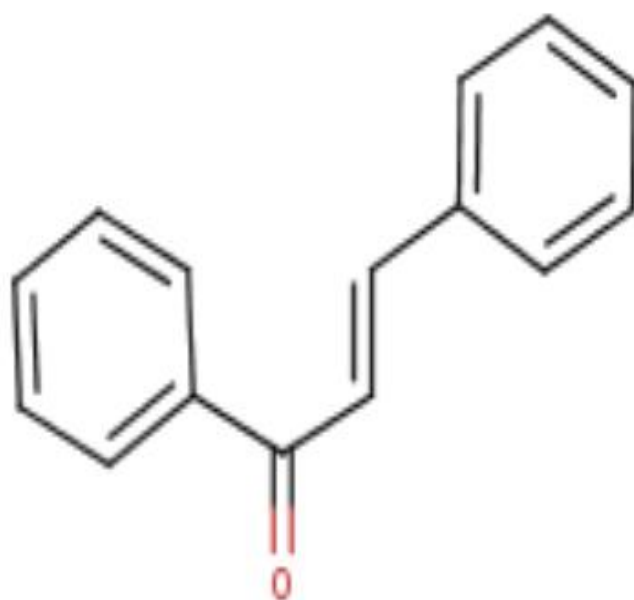
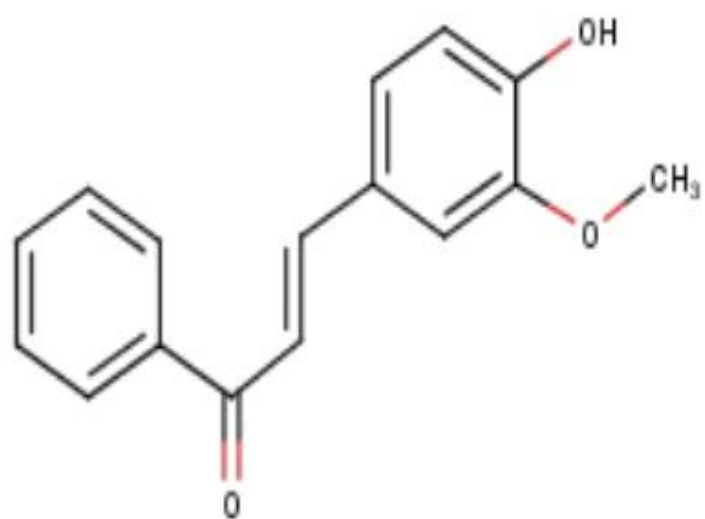
Dans le premier chapitre nous a éclairés sur quelques notions fondamentales sur le docking moléculaire.

Dans le deuxième chapitre, nous avons présenté les résultats de l'étude d'interaction entre l'enzyme 4DP3 et les dérivés de chalcones que nous avons synthétisé par le logiciel MOE.

Enfin, on termine par une conclusion générale.

Références bibliographiques

- [1]. SILVERMAN, Richard B. et HOLLADAY, Mark W. The organic chemistry of drug design and drug action. Academic press, 2014.
- [2]. LIN, Jung-Hsin, PERRYMAN, Alexander L., SCHAMES, Julie R., et al. Computational drug design accommodating receptor flexibility: the relaxed complex scheme. Journal of the American Chemical Society, 2002, vol. 124, no 20, p. 5632-5633.
- [3]. GHOSE, Arup K., VISWANADHAN, Vellarkad N., et WENDOLOSKI, John J. 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, 1999, vol. 1, no 1, p. 55-68.
- [4]. FRIIS-MØLLER, Alice, CHEN, Ming, FUURSTED, Kurt, et al. In vitro antimycobacterial and antilegionella activity of licochalcone A from Chinese licorice roots. Planta medica, 2002, vol. 68, no 05, p. 416-419.



Partie

01



Chapitre
01

Etude
bibliographique
sur les chalcones

Etude bibliographique sur les chalcones

I.1. Introduction :

Un chalcone est un simple échafaudage chimique se compose de nombreux composés naturels. Il est largement répandu dans les légumes, les fruits, le thé et d'autres plantes. Le mot «chalcone» vient du grec «chalcos», qui signifie «bronze» a été donné en 1921 par Kostanecki et Tambor, qui résulte des couleurs de la plupart des chalcones naturelles. Les chalcones ont une structure chimique commune en 1,3-diaryl-2-propène-1-one (*figure I.1*), également connue sous le nom de chalconoïde, qui existe sous la forme d'isomères trans et cis, l'isomère trans étant thermodynamiquement plus stable [1,2].

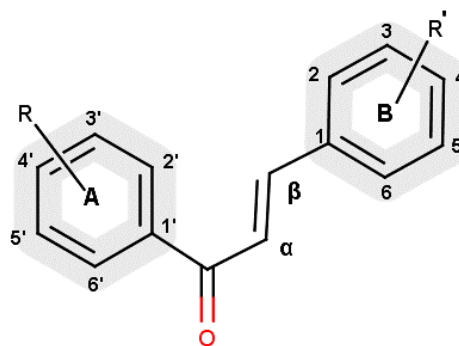


Figure I.1 : Structure générale de la chalcone.

L'origine de ces composés peut être naturelle, extraits de plantes, héli-synthétique, synthétique ou biosynthèse, ils sont des précurseurs intermédiaires des flavonoïdes et des iso flavonoïdes.

La famille des chalcones a suscité un vif intérêt, non seulement du point de vue des synthèses, mais également en raison de ses activités biologiques intéressantes. Les applications thérapeutiques des chalcones remontent à des milliers d'années grâce à l'utilisation de plantes et d'herbes pour le traitement de différents troubles médicaux, tels que le cancer, le paludisme, le rhumatisme, le diabète, ...etc [3].

Etude bibliographique sur les chalcones

I.2. Les méthodes de synthèse de chalcone :

Les chalcones sont généralement préparées par des réactions de condensation via une catalyse basique ou acide. Bien que les chalcones constituent un type de cétone α, β -insaturée facilement synthétisable, un nombre croissant de nouvelles techniques et procédures a récemment été signalé en raison de leurs activités biologiques intéressantes et du développement de divers catalyseurs ou conditions de réaction.

I.2.1. La condensation de Claisen-Schmidt :

La condensation de Claisen-Schmidt est nommée d'après deux chercheurs pionniers, R. L. Claisen et J. G. Schmidt. Cette réaction est probablement la plus simple et la plus couramment utilisée des méthodes de synthèse des chalcones. Il s'agit d'une réaction d'aldolisation-crotonisation, entre un dérivé acétophénone et un dérivé benzaldéhyde, qui peut être catalysée par une base ou un acide, dans un solvant polaire tel que le méthanol ou l'éthanol à température ambiante pendant 24 à 48 heures ou à reflux pendant 1 à 3 heures [1,4].

Les rendements de ce type de réaction peuvent donc varier considérablement entre 20% et 90%, en fonction des réactifs, les substitutions présentes sur les réactifs de départ, des catalyseurs, et les conditions expérimentales utilisées.

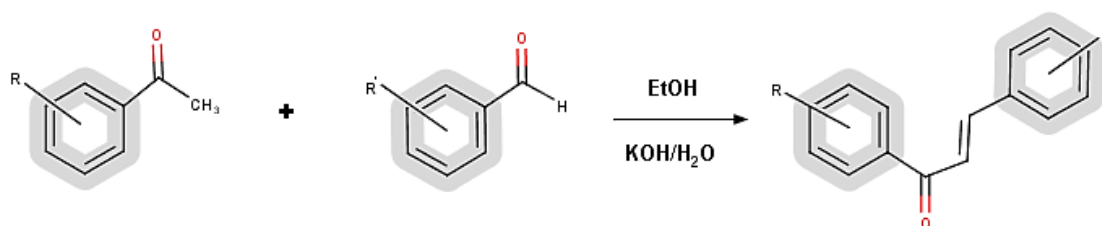


Schéma I.1 : La réaction globale de Claisen-Schmidt.

I.2.2. Réaction de carbonylation de couplage de HECK :

Dans le cadre du couplage de Heck, la réaction, catalysée au palladium, se déroule entre un halogénure d'aryle et un styrène en présence de monoxyde de carbone. Cette réaction est notamment décrite dans les travaux de Wu et al. où elle est employée pour la synthèse d'une trentaine de chalcones. Les rendements varient entre 41% et 90% selon les différents substituants présents sur les réactifs de départ [5].

Etude bibliographique sur les chalcones

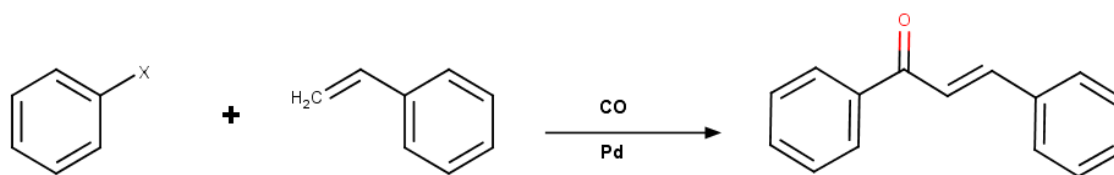


Schéma I.2 : Synthèse de chalcone par le couplage de Heck.

I.2.3. Couplage de Suzuki :

Le couplage Suzuki a été signalé pour la première fois en 1979 par Akira Suzuki. Cette réaction est catalysée par le palladium, entre un dérivé d'acide boronique et un dérivé chloré, en présence de base dans le toluène anhydre. La majorité des rendements obtenus en utilisant cette méthode de synthèse ont été faibles [1,5].

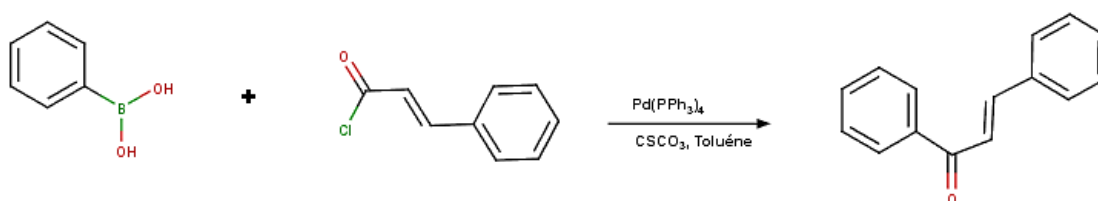


Schéma I.3 : Synthèse de chalcone par le couplage de Suzuki.

I.2.4. Synthèse de Sonogashira :

Les travaux de Schramm et al, rapportent la synthèse de chalcones via le couplage de Sonogashira. La réaction s'effectue entre un halogénure d'aryle et un alcool propargylique (1-phénylprop-2-yn-1-ol). La réaction est catalysée par le palladium et activée par irradiations microondes, en présence de triéthylamine et d'iodure de cuivre (I) [5].

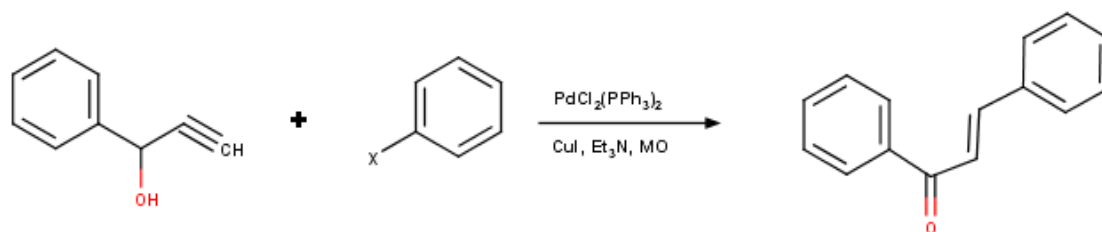


Schéma I.4 : Synthèse de chalcone par le couplage de Sonogashira.

Etude bibliographique sur les chalcones

I.2.5. La réaction de Friedel et Crafts :

Les chalcones peuvent aussi être synthétisées grâce à l'acylation d'un dérivé phénolique selon la réaction de Friedel et Crafts. De manière générale cette méthode a lieu entre le phénol et le chlorure de cinnamoyle. L'acylation se fait en position *ortho* ou *para* dans le cas d'une réaction sur le phénol suite à l'effet mésomère donneur de l'hydroxyle et peut donc conduire à deux chalcones différentes. Néanmoins, le site d'acylation dépend de la présence éventuelle d'autres substituants sur le dérivé phénolique [6].

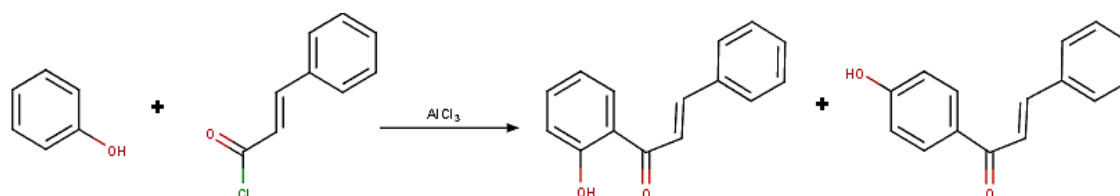


Schéma I.5 : Synthèse de chalcones par la réaction de Friedel et Crafts.

I.3. Les activités biologiques de dérivés de la chalcone :

Un certain nombre de chalcones d'origine naturelle, ainsi que leurs dérivés ont été isolés à partir de diverses sources et identifiés avec différentes activités biologiques. Un certain nombre d'activités liées à différents chalcones, quelques activités sont donnés dans cette section.

I.3.1. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des chalcones est liée à la présence à la fois de la double liaison et de la fonction carbonyle. Des tests *in vivo* ont montré 3'-nitro-4'-hydroxy-2-méthoxychalcone possède une action antibactérienne élevée [7].

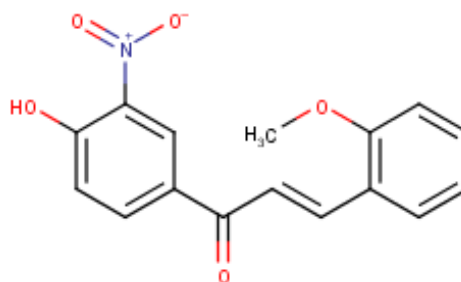


Figure I.2 : Molécule à une activité antibactérienne.

Etude bibliographique sur les chalcones

I.3.2. Activité anti inflammatoire :

Les chalcones ont été étudiées pour une activité anti inflammatoire. Liu et al ont développé d'autres agents anti-inflammatoires plus puissants. La 2',5'-dihydroxychalcone possède une activité anti-inflammatoire [8].

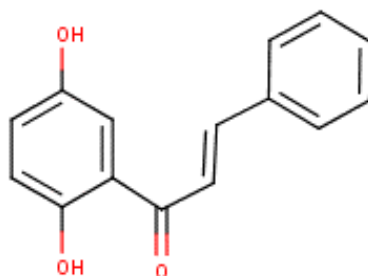


Figure I.3 : Molécule à une activité anti inflammatoire.

I.3.3. Activité antioxydant :

Beaucoup de chalcones ont été isolés à partir de sources naturelles avec impressionnant propriétés anti oxydantes. L'echinatin a été isolées de la plante Glycyrrhizainflata [9].

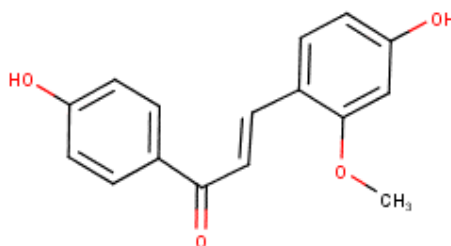


Figure I.4 : Molécule à une activité antioxydant.

I.3.4. Activité anticancéreuse :

La molécule Isoliquiretiginre présente une bonne activité anticancéreuse [10].

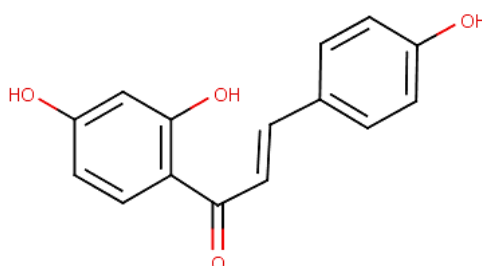


Figure I.5 : Molécule à une activité anticancéreuse.

Etude bibliographique sur les chalcones

I.3.5. Activité anti paludique :

Une étude récente sur une série de chalcones synthétiques, contenant le noyau quinoléinique, a révélé une activité antipaludique intéressante [11].

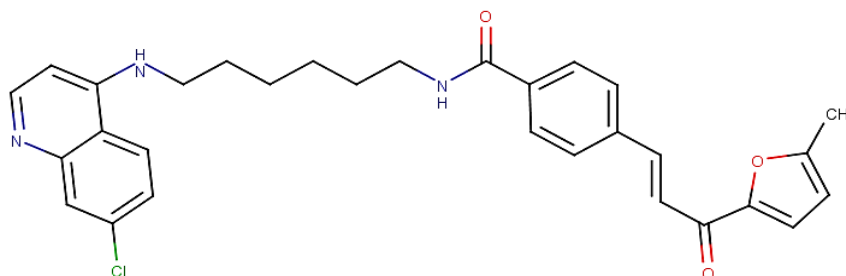


Figure I.6 : Molécule à une activité anti paludique.

I.3.6. Activité contre le virus de l'immunodéficience humaine HIV :

Parmi les chalcones synthétiques biologiquement actives, on peut citer des chalcones dérivés de l'acide 3-céto salicylique, qui a montré une bonne activité contre le virus de l'immunodéficience humaine HIV [12].

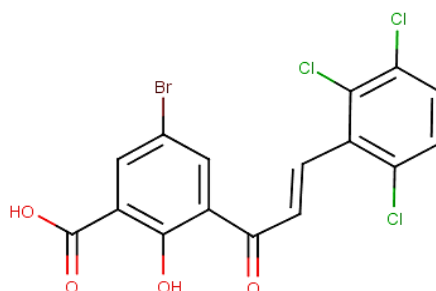


Figure I.7 : Molécule à une activité anti-HIV.

I.3.7. Autres activités biologiques :

Les chalcones sont également reconnues comme des agents médicinaux précieux pour les maladies cardio-vasculaires et le dysfonctionnement endocrinien. Elles démontrent aussi des propriétés anti tumoraux, antispasmodiques, antihelminthiques, antiallergiques, antituberculeux, antiviraux [13].

Etude bibliographique sur les chalcones

I.4. Les chalcones intermédiaires :

Les chalcones et les chalcones substituées ; sont des intermédiaires-clé dans la synthèse de larges variétés des produits azotés, Elles sont les métabolites principaux dans la biosynthèse des flavonoïdes, des substances très répandues dans les plantes et qui ont un rôle biologique important.

Les 2'-hydroxychalcones peuvent notamment conduire aux autres flavonoïdes. De plus, grâce à la réactivité du motif carbonyle α - β insaturé, les chalcones permettent de synthétiser des composés hétérocycliques [14,15].

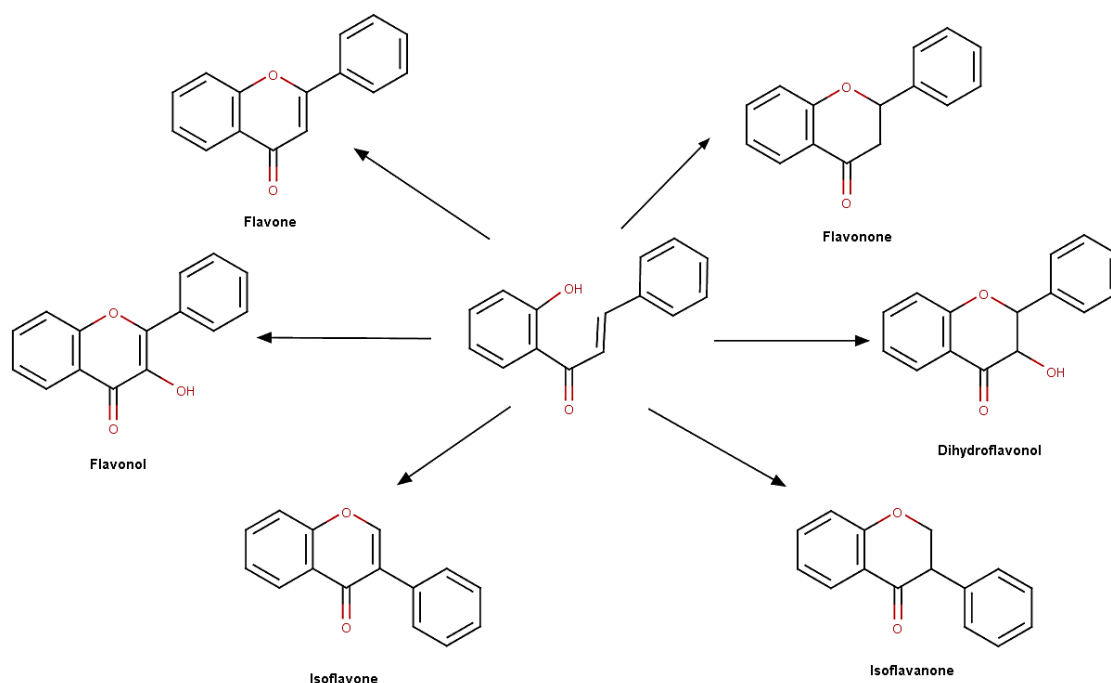


Schéma I.6 : Conversion de 2'-hydroxychalcone à différents flavonoïdes.

I.5. Conclusion :

Au cours de ces dernières années les chalcones constituent un champ de recherche très vaste, en raison de leurs propriétés variées. La synthèse organique des chalcones présente un défi pour les chimistes, notamment pour les organiciens, qui sont mis en évidence de nombreuses méthodes d'accès aux chalcones, parmi ces méthodes on trouve la réaction de Claisen-Schmidt qui constitue une méthode plus simple et plus facile à manipuler.

Références bibliographiques

- [1]. ZHUANG, Chunlin, ZHANG, Wen, SHENG, Chunquan, et al. Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry. *Chemical reviews*, 2017, vol. 117, no 12, p. 7762-7810.
- [2]. MOHAMMED, Jalal Hasan. Biological Activities Importance of Chalcone Derivatives. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*, 1 (3), 107, 2015, vol. 112.
- [3]. ACHANTA, Geetha, MODZELEWSKA, Aneta, FENG, Li, et al. A boronic-chalcone derivative exhibits potent anticancer activity through inhibition of the proteasome. *Molecular pharmacology*, 2006, vol. 70, no 1, p. 426-433.
- [4]. MOKRINI, Redouane. Mécanismes radicalaires dans la dégradation de composés phénoliques en chimie sous rayonnement : radiolyse gamma des chalcones et de l'acide férulique en solutions alcooliques. 2006. Thèse de doctorat. Limoges.
- [5]. WU, Xiao-Feng, NEUMANN, Helfried, SPANNENBERG, Anke, et al. Development of a general palladium-catalyzed carbonylative Heck reaction of aryl halides. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, vol. 132, no 41, p. 14596-14602.
- [6]. NASIR ABBAS BUKHARI, Syed, JASAMAI, Malina, JANTAN, Ibrahim, et al. Review of methods and various catalysts used for chalcone synthesis. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 2013, vol. 10, no 1, p. 73-83.
- [7]. PATIL, Chetana B., MAHAJAN, S. K., et KATTI, Suvarna A. Chalcone: A versatile molecule. *Journal of Pharmaceutical sciences and research*, 2009, vol. 1, no 3, p. 11.
- [8]. HSIEH, Hsin-Kaw, LEE, Tai-Hua, WANG, Jih-Pyang, et al. Synthesis and anti-inflammatory effect of chalcones and related compound. *Pharmaceutical research*, 1998, vol. 15, no 1, p. 39-46.
- [9]. HARAGUCHI, Hiroyuki, ISHIKAWA, Harumi, MIZUTANI, Kenji, et al. Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 1998, vol. 6, no 3, p. 339-347.
- [10]. CHAVAN, B. B., GADEKAR, A. S., MEHTA, P. P., et al. Synthesis & Medicinal Significance of Chalcones-A Review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2016, vol. 6, no 56, p. 01.

Références bibliographiques

- [11]. SMIT, Frans J. et N'DA, David D. Synthesis, in vitro antimalarial activity and cytotoxicity of novel 4-aminoquinoliny-chalcone amides. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2014, vol. 22, no 3, p. 1128-1138.
- [12]. YERRAGUNTA, Vishwanadham, SUMAN, D., ANUSHA, V., et al. A review on Chalcones and its importance. *PharmaTutor*, 2013, vol. 1, no 2, p. 54-59.
- [13]. UGWU, David I., EZEMA, Benjamin E., OKORO, Uchechukwu C., et al. Syntheses and pharmacological applications of chalcones: a review. *Int J Chem Sci*, 2015, vol. 13, no 1, p. 459-500.
- [14]. LARSEN, Mogens, KROMANN, Hasse, KHARAZMI, Arsalan, et al. Conformationally restricted anti-plasmodial chalcones. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2005, vol. 15, no 21, p. 4858-4861.
- [15]. GUEYE, Rokhaya, POUGET, Christelle, CHAMPAVIER, Yves, et al. Synthetic strategies to 2'-hydroxy-4'-methylsulfonylacetophenone, à key compound for the preparation of flavonoid derivatives. *Comptes Rendus Chimie*, 2014, vol. 17, no 5, p. 443-449.



Chapitre 02

stratégie de
synthèse,
résultats et
discussion

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

II.1. Introduction :

Les Chalcones disposent d'un système conjugué contenant l'entité énone, qui a été reconnue comme la partie active principale. Ces composés ont pris une place distinguée dans la thérapie de plusieurs maladies.

C'est pour cette raison que notre travail s'est orienté vers la synthèse des chalcones contenant différents substituants dans les noyaux aromatiques qui peuvent potentiellement être utilisés comme composés dans la découverte de médicaments. En employant l'une des méthodes les plus répandues en chimie organique qui est la condensation de Claisen-Schmidt.

II.2. La synthèse des dérivés de chalcone :

Dans le cadre de ce chapitre, nous nous sommes intéressés à la synthèse de quatre produits dérivés de chalcones :

- Le composé (A) : (2E)-1,3-diphénylprop-2-én-1-one.
- Le composé (B) : (2E)-3-(2-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one.
- Le composé (C) : (2E)-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one.
- Le composé (D) : (2E)-3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one.

II.2.1. Mode opératoire général :

- Une solution (2%) d'hydroxyde de potassium (KOH) est placée dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant à reflux, une quantité équimolaire d'acétophénone et de l'aldéhyde aromatique dissoutes dans l'éthanol absolu est ajoutée doucement.
- Sous une agitation magnétique en chauffe le mélange à $T = 60-70^{\circ}\text{C}$ pendant 2 à 3 heures. La réaction est suivie par CCM. Les produits sont révélés par une solution de permanganate de potassium (KMnO_4).
- Ensuite le mélange est refroidi dans un bain de glace, puis les solvants (EtOH, et H_2O) sont évaporés sous vide.

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

Traitement :

- Le résidu est diluée à l'AcOEt et lavée par une solution d'HCl (0.1N) puis à l'eau froide jusqu'à pH neutre. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium anhydre (MgSO₄).
- Le solvant est évaporé sous vide, le résidu est recristallisé dans l'éthanol. Les produits sont obtenus sous forme des solides jaunes.

II.2.2. Synthèse du (2E)-1,3-diphénylprop-2-én-1-one (composé A) :

La condensation de l'acétophénone avec le benzaldéhyde en proportion équimolaire, en présence d'un catalyseur basique à une température élevée, conduit à la formation du composé A. Le plan de notre synthèse est donné dans le schéma suivant :

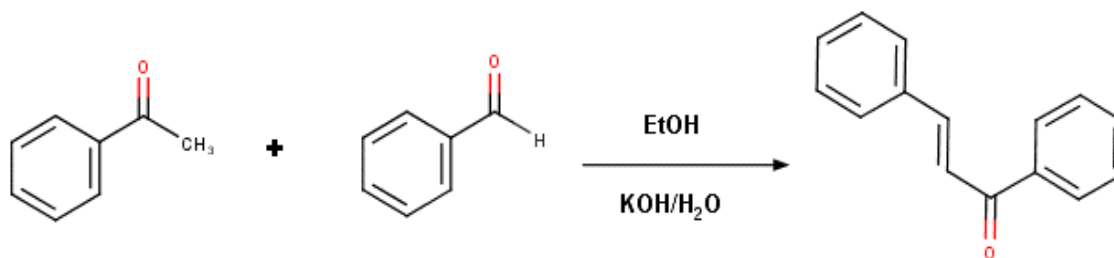


Schéma II.1 : Schéma réactionnelle de la synthèse de 1,3-diphénylprop-2-én-1-one.

Après la recristallisation dans l'éthanol, le produit est obtenu sous forme des cristaux jaunes avec un bon rendement, sa pureté est confirmée par CCM (*figure II.1*), le pourcentage de l'éluant utilisé (78% toluène, 22% acétate d'éthyle), révélée par une solution de KMnO₄.



Figure II.1 : La plaque CCM du composé A (Toluène/Acétate d'éthyle, 3.5 :1).

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

II.2.3. Synthèse du (2E)-3-(2-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one (composé B) :

Nous avons réalisé la synthèse du composé **B** par une condensation de l'acétophénone et l'aldéhyde salicylique, dans un milieu alcalin. La réaction est représentée dans le schéma II.2 :

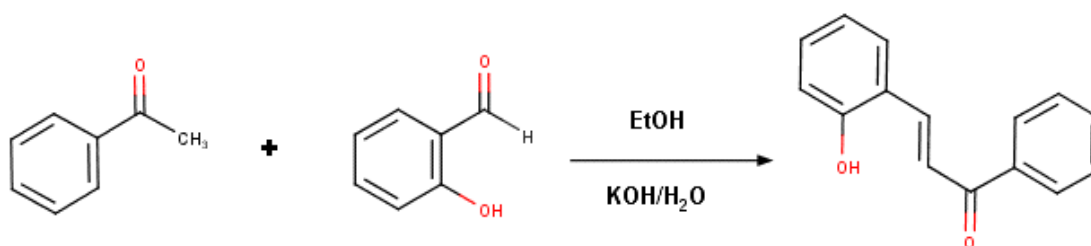


Schéma II.2 : Schéma réactionnelle de la synthèse de 3-(2-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one.

Après la recristallisation dans l'éthanol, le produit résulte est obtenu sous forme un poudre pure d'une couleur jaune, sa pureté est montrée par CCM (78% toluène, 22% acétate d'éthyle), cette plaque est révélée par une solution de KMnO₄.



Figure II.2 : La plaque CCM du composé **B** (Toluène/Acétate d'éthyle, 3.5 :1).

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

II.2.4. Synthèse du (2E)-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one (composé C) :

Nous avons procédé à la synthèse du composé **C** par la condensation de l'acétophénone et la vanilline en milieu basique. Cette réaction est représentée dans le schéma suivant :

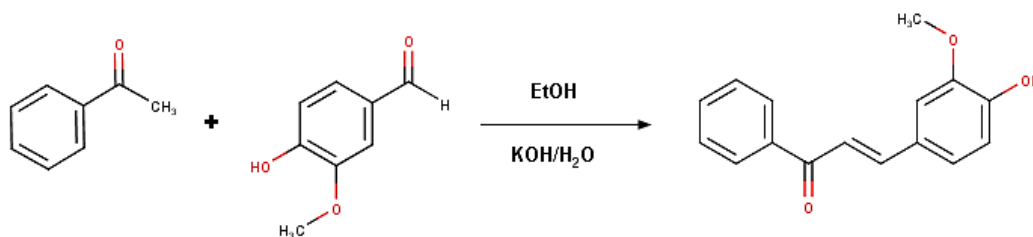


Schéma II.3 : Schéma réactionnelle de la synthèse du 3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one.

Le produit résulte de cette synthèse est obtenu sous forme de poudre jaune foncé à l'état pure, cette pureté est confirmée par CCM (78% toluène, 22% acétate d'éthyle), révélé par KMnO_4 .



Figure II.3 : La plaque CCM du composé **C** (Toluène/Acétate d'éthyle, 3.5 :1).

II.2.5. Synthèse du (2E)-3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one (composé D) :

La synthèse du composé **D** par une condensation entre l'acétophénone et l'éthylvanilline en présence de KOH. La réaction est représentée dans le schéma qui suit :

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

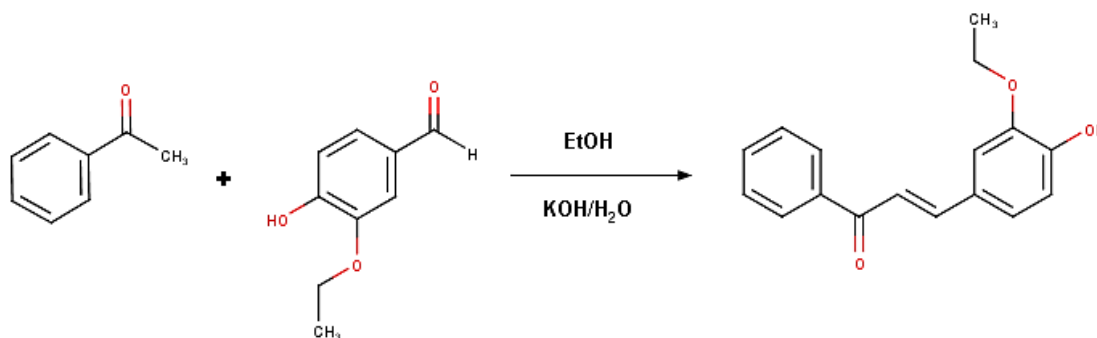


Schéma II.4 : Schéma réactionnelle de la synthèse du 3-(3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one.

Le composé obtenu est trouvé à l'état huileux pur, comme indiqué dans la figure II.4 :



Figure II.4 : La plaque CCM du composé **D** (Toluène/Acétate d'éthyle, 3.5 :1).

II.3. Résultats et discussion :

Dans notre travail nous avons préparé la chalcone selon la réaction de Claisen -Schmidt (*schéma II.5*). Cette réaction est basée sur l'attaque nucléophile de carbonyle de l'acétophénone sur le carbonyle de benzaldéhyde (site électrophile) ce qui entraîne la formation d'une double liaison carbone-carbone, suivie éventuellement d'une élimination d'une molécule d'eau.

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

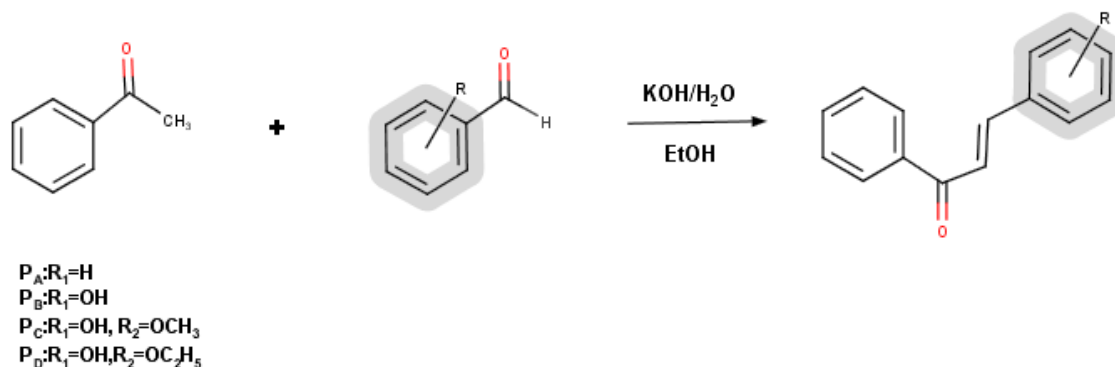


Schéma II.5 : La réaction générale de Claisen –Schmidt.

II.3.1. Mécanisme réactionnel de formation des chalcones :

Le mécanisme de la réaction de Claisen- Schmidt passe d'abord par la formation de l'entité énolate formée par déportation d'un hydrogène en alpha (α) du carbonyle de l'acétophénone par l'ion hydroxyle fournit par une base.

L'énolate ainsi formée se condense sur le carbonyle de l'aldéhyde pour donner un composé β -hydroxy cétone qui se déshydraté sous l'effet de la température en une cétone α, β -insaturé ou chalcone (*schéma II.6*).

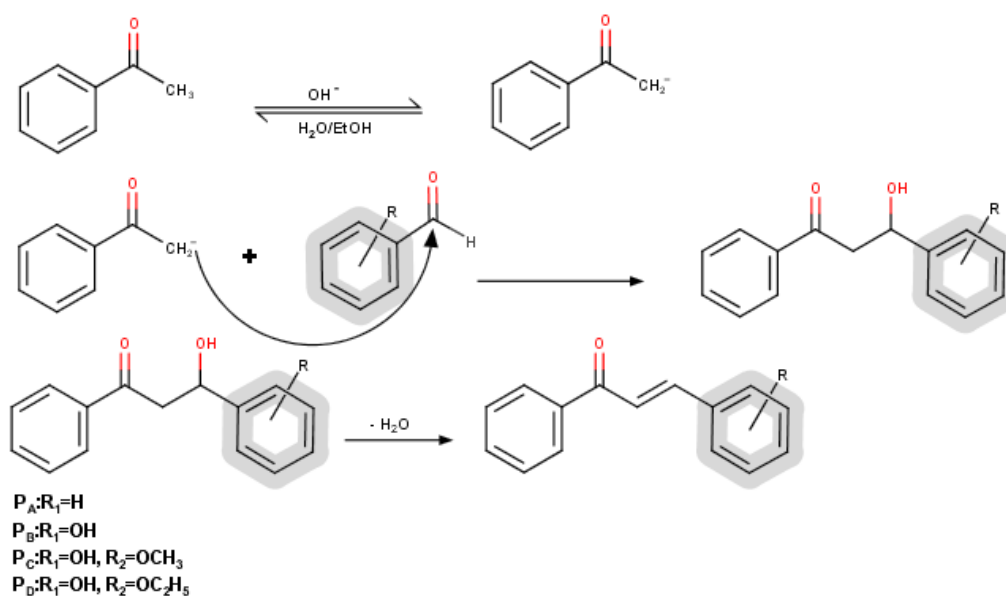


Schéma II.6 : Mécanisme réactionnel générale de la réaction de Claisen- Schmidt.

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

II.3.2. Propriétés physico-chimiques des chalcones A, B, C et D :

Les tableaux II.1, II.2, II.3, et II.4 rassemblent les caractéristiques physico-chimiques des chalcones synthétisés ainsi que les rendements obtenus.

Tableau II.1 : Résultats de la caractérisation physique de composé A

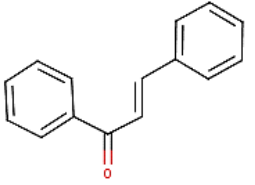
Structure	Formule brute	Aspect	Rdt (%)	R _f (Tol/AcOEt, 3.5 :1)	T _f (°C)
	C ₁₅ H ₁₂ O	Cristaux Jaunes	80	0.77	58-59

Tableau II.2 : Résultats de la caractérisation physique de composé B :

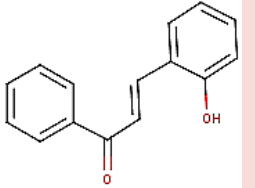
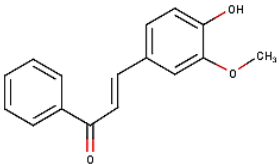
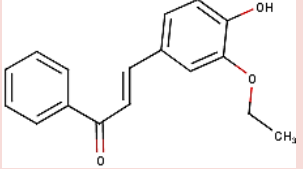
Structure	Formule brute	Aspect	Rdt (%)	R _f (Tol/AcOEt, 3.5 :1)	T _f (°C)
	C ₁₅ H ₁₂ O ₂	Poudre Jaune	66	0.57	154-156

Tableau II.3 : Résultats de la caractérisation physique de composé C :

Structure	Formule brute	Aspect	Rdt (%)	R _f (Tol/AcOEt, 3.5 :1)	T _f (°C)
	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	cristaux Jaunes	75	0.464	157.2

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

Tableau II.4 : Résultats de la caractérisation physique de composé **D** :

Structure	Formule brute	Aspect	Rdt (%)	R _f (Tol/ AcOEt, 3.5 :1)
	C ₁₇ H ₁₆ O ₃	huileux	61	0.585

II.3.3. Analyses spectraux :

II.3.3.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier :

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est un outil populaire d'identification et de caractérisation de matériaux. Les spectres FT-IR des ligands et des complexes simples ont été enregistrés sous forme de pastilles de KBr avec un spectrophotomètre Shimadzu, modèle FT-IR-8400S, dans la plage de 400 cm^{-1} à 4000 cm^{-1} .

Les analyses ont été effectuées sur les quatre chalcones isolés précédents en donnant ces spectres illustrés par les figures : *figure II.5* ; *figure II.6* ; *figure II.7*, *figure II.8*, visualisées à l'aide du logiciel Spectragryph-Optical Spectroscopy, version 1.2. 11.

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

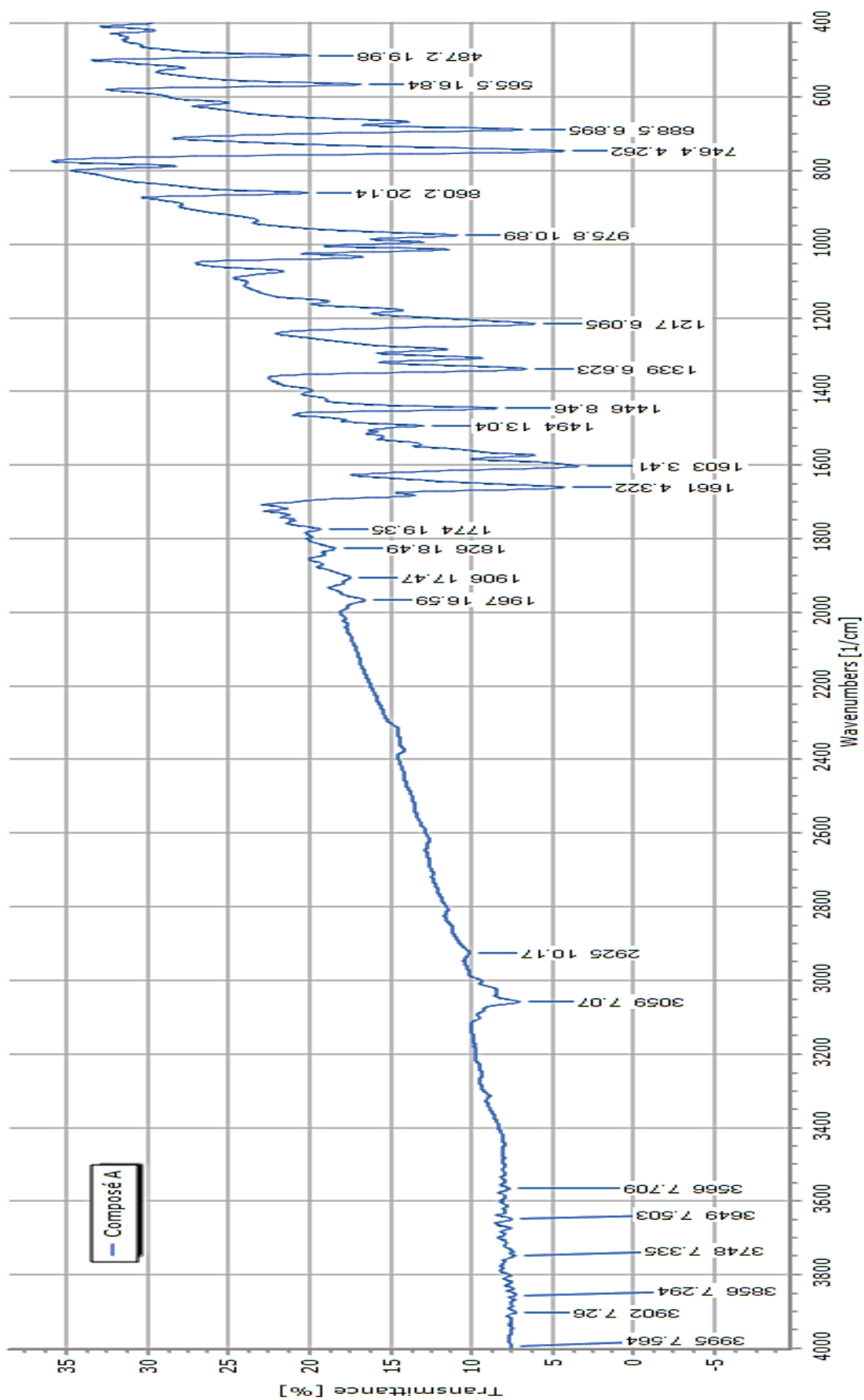


Figure II.5 : Spectre IR de composé A (1,3-diphénylprop-2-ène-1-one).

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

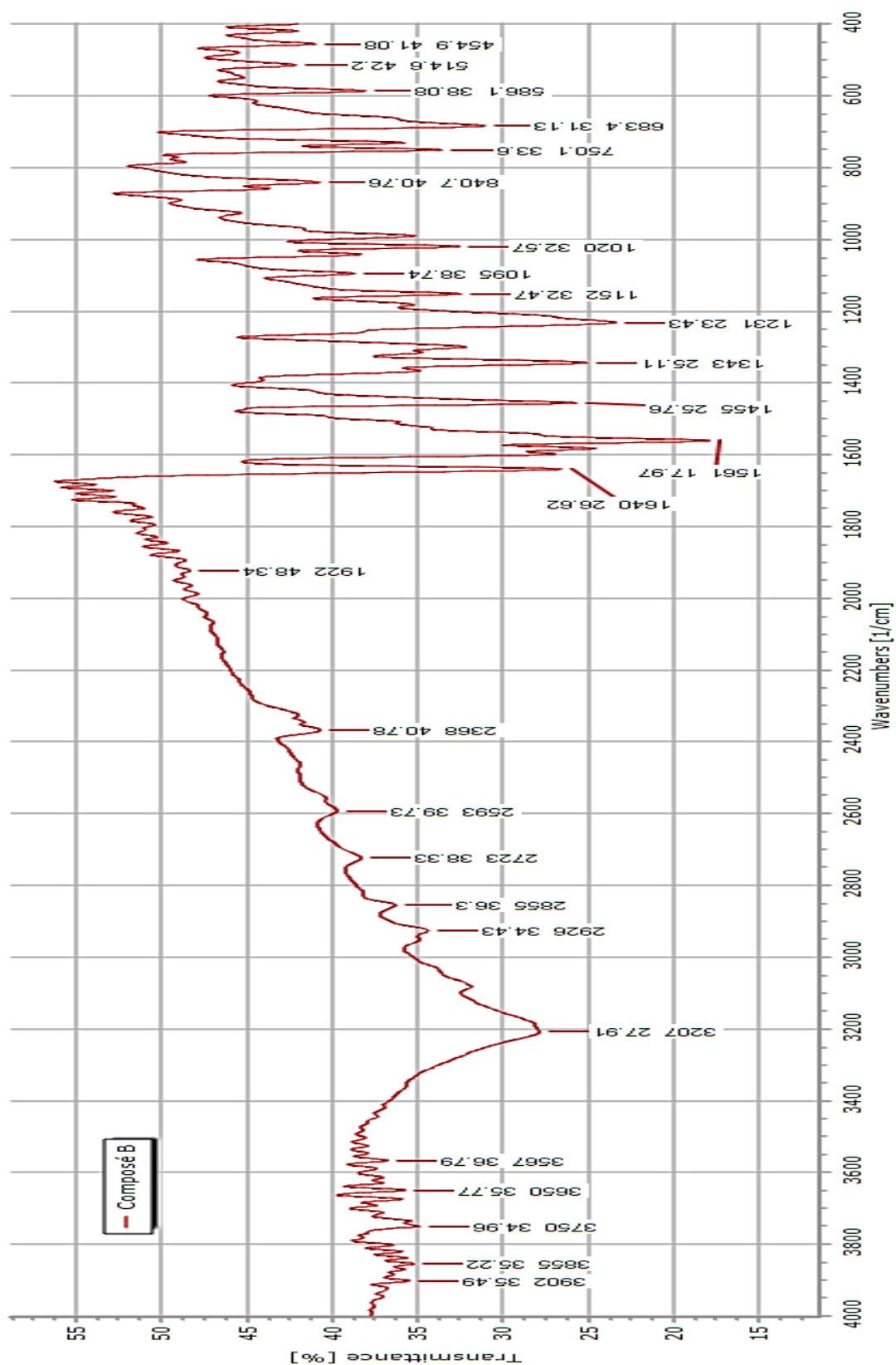


Figure II.6 : Spectre IR de composé B (3-(2-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one).

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

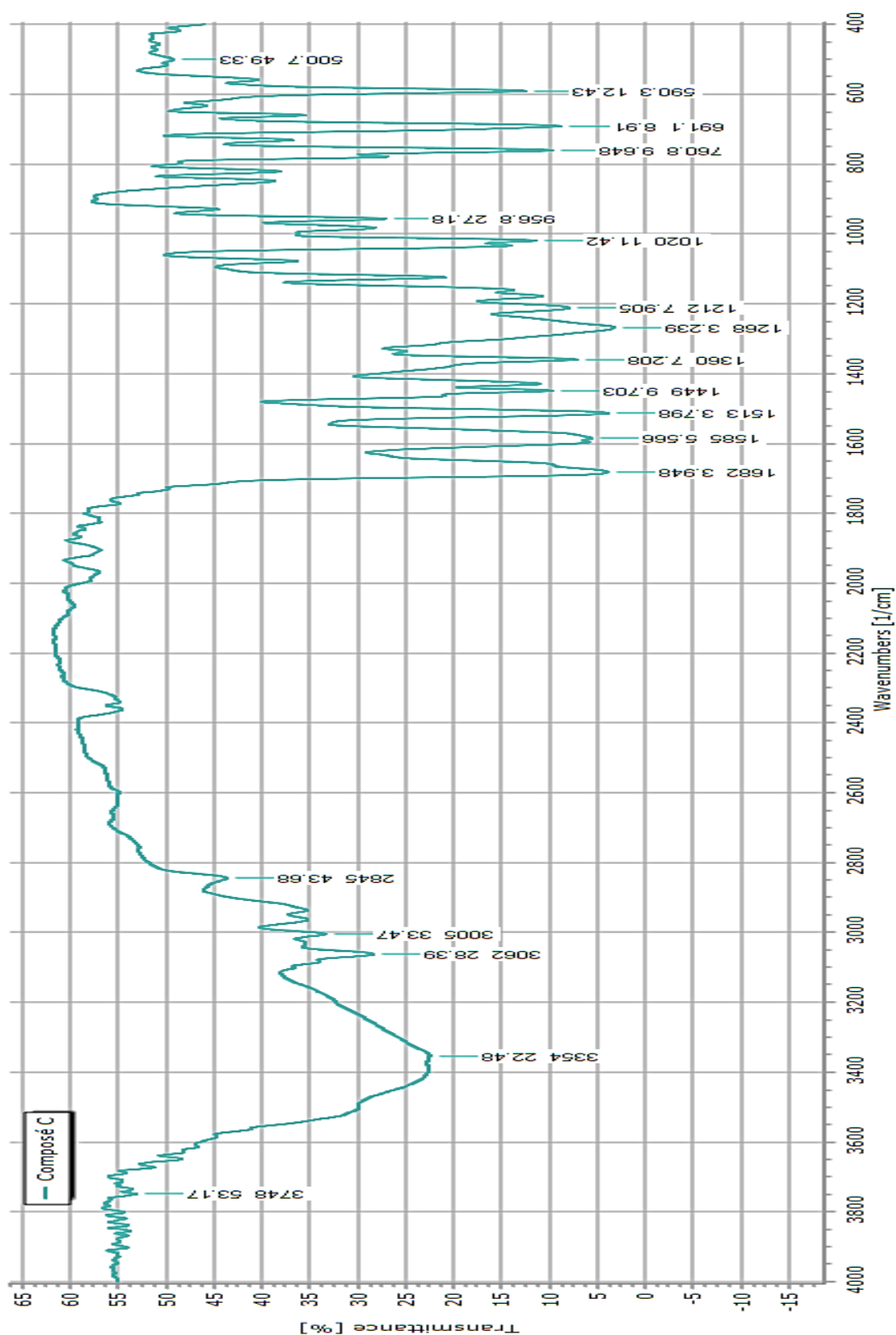


Figure II.7 : Spectre IR de composé C (3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one).

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

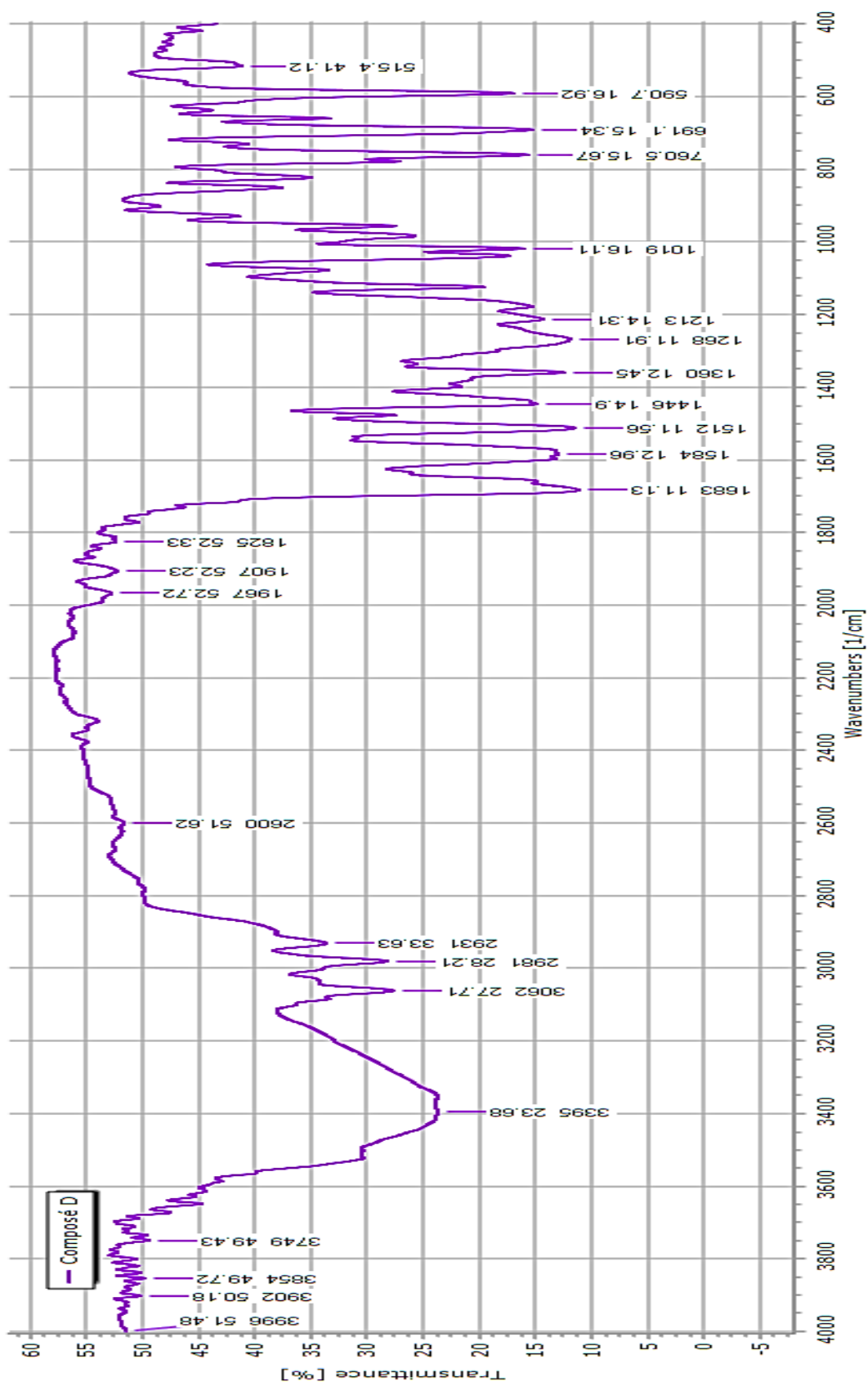


Figure II.8 : Spectre IR de composé D (3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one).

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

II.3.3.2. Discussions des spectres FT-IR :

- L'analyse du spectre FT-IR du produit **A** (*figure II.5*) ; révèle la présence d'une bande d'absorption à 3059 cm^{-1} due à la vibration d'élongation du groupement (**=C-H**). La présence du groupement carbonyle (**C=O**) est confirmée par une bande d'absorption vers 1661 cm^{-1} . Des bandes d'absorption à 1603 cm^{-1} ainsi qu'entre $1494\text{-}1446\text{ cm}^{-1}$ correspondent respectivement ; à l'élongation de la liaison (**C=C**) oléfinique et aromatique successivement.

Tableau II.5 : Les bandes caractéristiques de composé **A**.

Liaison	Nature	Nombre d'onde (cm^{-1})	Intensité
C-H aromatique	Elongation	3059	moyen
C=O cétone	Elongation	1661	Forte
C=C oléfinique	Elongation	1603	moyen
C=C aromatique	Elongation	1494-1446	moyen

- Le spectre FT-IR obtenu pour le produit **B** (*figure II.6*) caractérisé avec une bande à 3207 cm^{-1} , cette bande est due aux vibrations d'élongation du groupement (**O-H**). La bande à 2926 cm^{-1} est également due à la vibration d'élongation du groupe (**=C-H**). Le pic à 1640 cm^{-1} indique les vibrations d'élongation du groupe (**C=O**). Les pics 1561 cm^{-1} et 1455 cm^{-1} - 1343 cm^{-1} peuvent être référés aux vibrations (**C=C**) oléfinique et (**C=C**) aromatique respectivement, et la bande située à 1231 cm^{-1} fait clairement référence aux vibrations d'élongation de la liaison aromatiques (**C-OH**).

Tableau II.6 : Les bandes caractéristiques de composé **B**.

Liaison	Nature	Nombre d'onde (cm^{-1})	Intensité
O-H alcool	Elongation	3207	Forte ; large
C-H aromatique	Elongation	2926	moyen
C=O cétone	Elongation	1640	Forte
C=C oléfinique	Elongation	1561	moyen
C=C aromatique	Elongation	1455 -1343	moyen
C-OH	Elongation	1231	Forte

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

- Dans le spectre de composé **C** (*figure II.7*) ; on constate la présence d'une large bande vers 3354 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation du groupement (**O-H**). L'apparition d'une bande d'absorption vers 3062 cm^{-1} caractéristique de la vibration de la liaison (**=C-H**) aromatique, et une autre bande située à 2845 cm^{-1} caractéristique de la vibration de la liaison (**C-H**) du groupement méthyle présent dans la structure de composé **C**, ainsi qu'une bande de vers 1682 cm^{-1} attribuée à la vibration d'élongation du groupement carbonyle (**C=O**). Des bandes d'absorption à 1585 cm^{-1} ainsi que vers 1513 cm^{-1} correspondent respectivement à l'élongation de la liaison (**C=C**) oléfinique et aromatique. On remarque la présence de deux bandes d'absorption entre 1212 cm^{-1} et 1268 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation de la liaison (**C-O éther aromatique**), ainsi qu'une bande d'absorption vers 1020 cm^{-1} attribuée à la vibration d'élongation du groupement (**C-OH**).

Tableau II.7 : Les bandes caractéristiques de composé **C**.

Liaison	Nature	Nombre d'onde (cm^{-1})	Intensité
O-H alcool	Elongation	3354	Forte ; large
C-H aromatique	Elongation	3062	moyen
C-H aliphatique	Elongation	2845	Faible
C=O cétone	Elongation	1682	moyen
C=C oléfinique	Elongation	1585	moyen
C=C aromatique	Elongation	1513	moyen
Ph-O-C	Elongation	1212-1268	Forte
C-OH	Elongation	1020	Forte

- Le spectre infrarouge du produit **D** (*figure II.8*) ; a montré les bandes caractéristiques suivantes : celle correspondant à la vibration d'élongation de la liaison (**O-H**) vers 3395 cm^{-1} , celle à 3062 cm^{-1} correspond à la vibration de la liaison (**=C-H**), celle à 2981 cm^{-1} correspond à la vibration de la liaison (**-C-H**). On remarque l'apparition d'une bande due à la vibration d'élongation du groupement (**C=O**) à 1683 cm^{-1} , une bande attribuée à (**C=C oléfinique**) vers 1584 cm^{-1} , et une bande correspond à la vibration de la liaison (**C=C aromatique**) vers 1512 cm^{-1} . On constate également la présence de deux bandes d'absorption entre 1213 cm^{-1} et 1268 cm^{-1} correspondant à la vibration d'élongation de la liaison (**C-O éther aromatique**), ainsi qu'une bande

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

d'absorption vers 1019 cm^{-1} attribuée à la vibration d'élongation du groupement (C-OH).

Tableau II.8 : Les bandes caractéristiques de composé D.

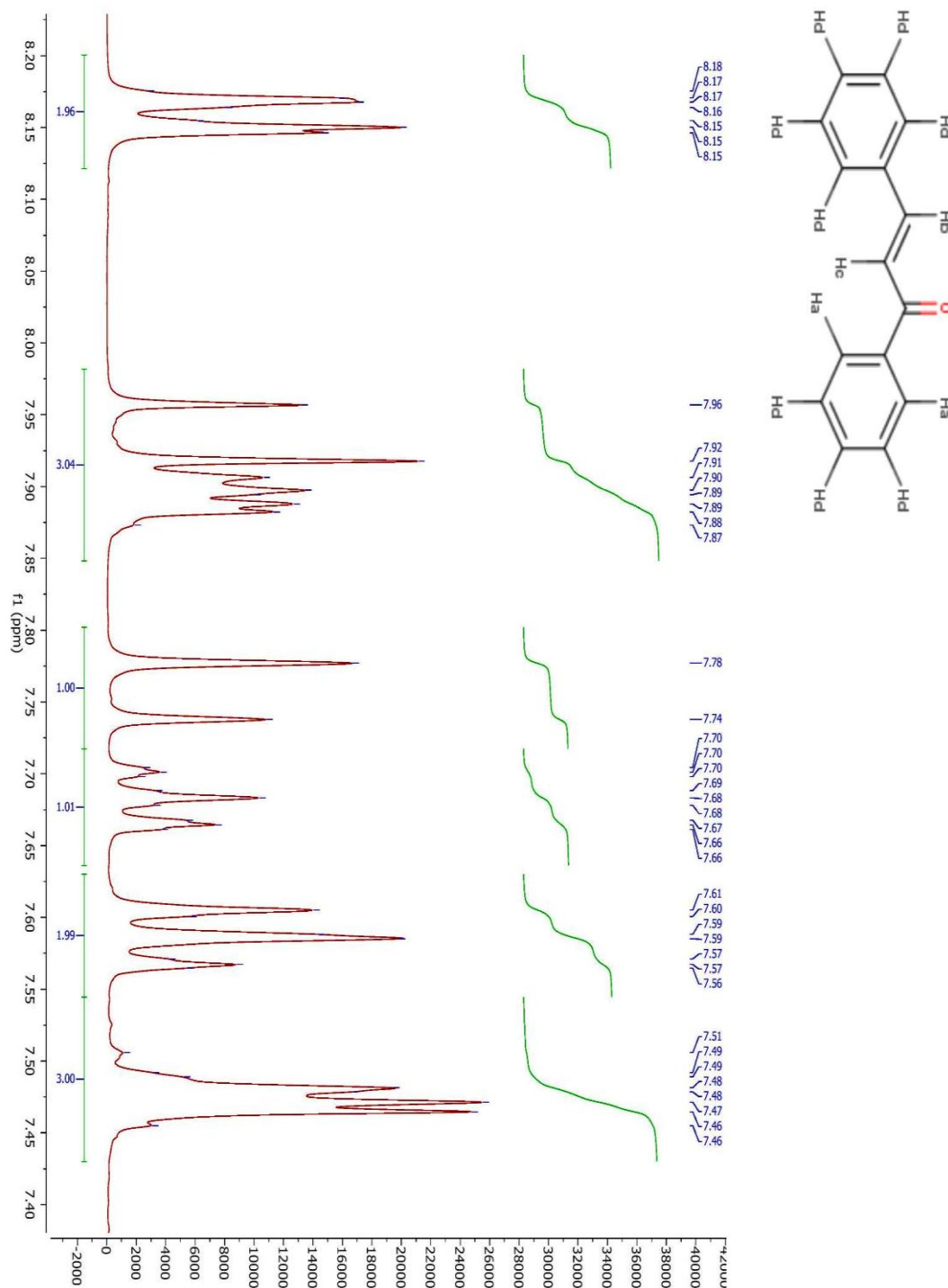
Liaison	Nature	Nombre d'onde (cm^{-1})	Intensité
O-H alcool	Elongation	3395	Forte ; large
C-H aromatique	Elongation	3062	moyen
C-H aliphatique	Elongation	2981	moyen
C=O cétone	Elongation	1683	moyen
C=C oléfinique	Elongation	1584	moyen
C=C aromatique	Elongation	1512	moyen
Ph-O-C	Elongation	1213-1268	Forte
C-OH	Elongation	1019	Forte

II.3.4. Résonance magnétique nucléaire :

RMN (^1H) (DMSO, 400 MHz, d (ppm)) : 8.16 (d, 2H, Ha, $j = 2$ MHz), 7.96 (s, 1H, Hb), 7.78 (s, 1H, Hc), 7.46–7.74 (m, 8H, Hd, $j = 2$ MHz) **Figure II.9.**

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 400 MHz, d (ppm)) : 189.97 (C1), 122 (C2), 144 (C3), 138 (C4'), 135 (C4), 134 (C7), 131 (C7'), 129.34–129.39 (C5, C6, C8 et C9), 128.96–129.25 (C5', C6', C8' et C9') **Figure II.10.**

Stratégies de synthèse, résultats et discussion

Figure II.9 : Spectre RMN (^1H) de 1,3-diphénylprop-2-ène-1-one.

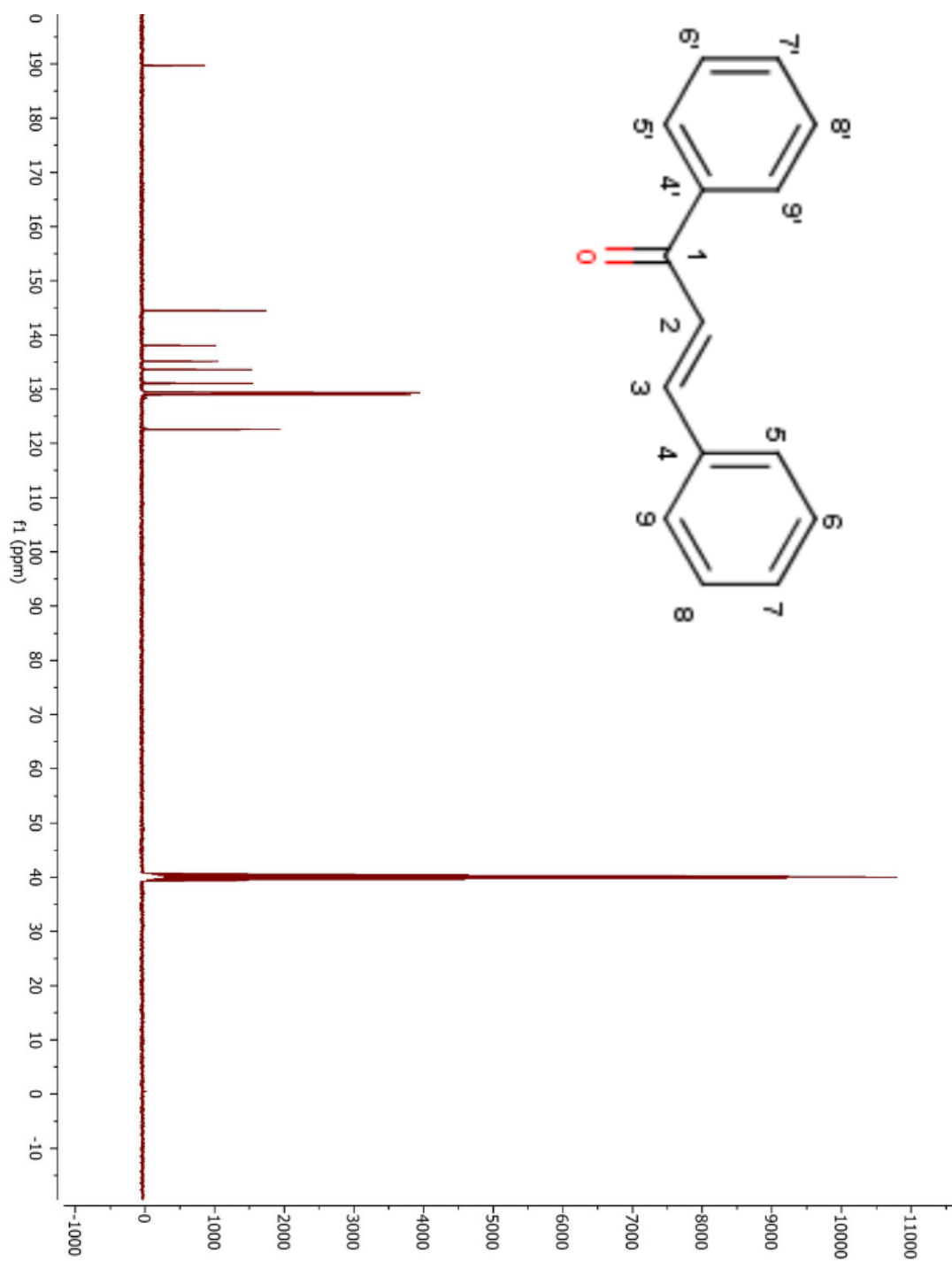
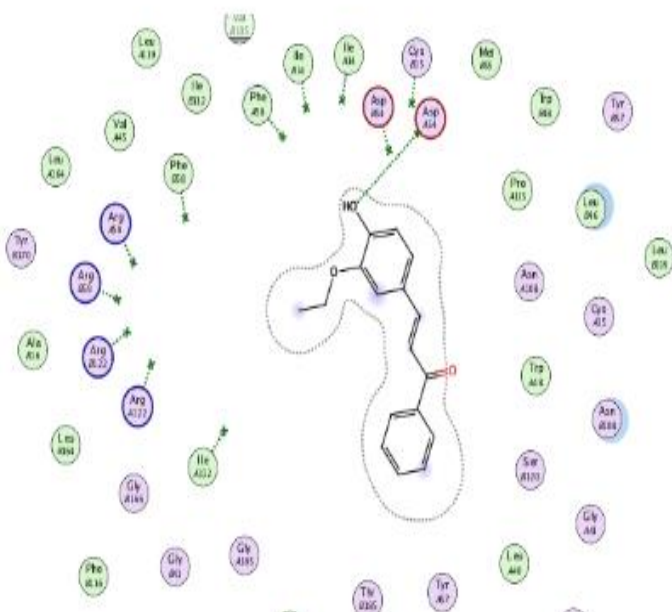
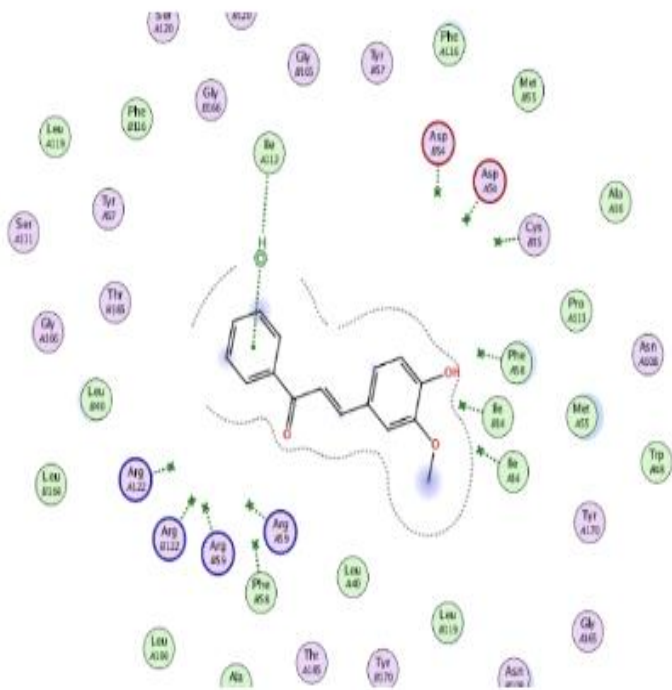
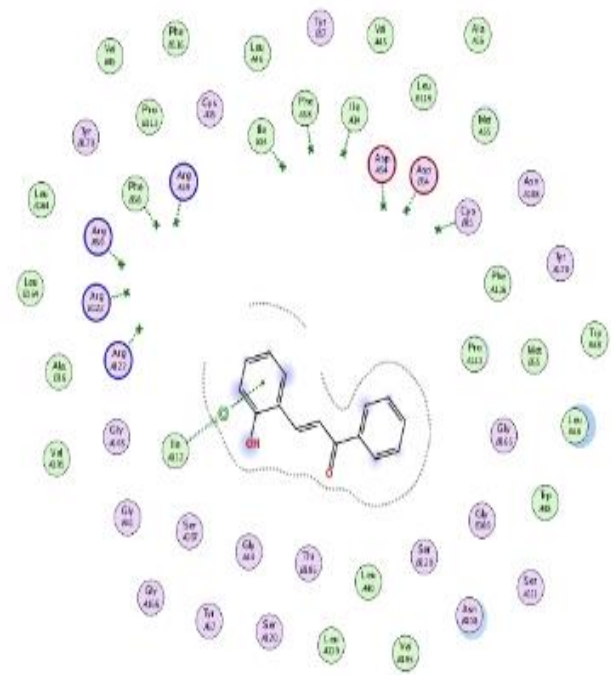
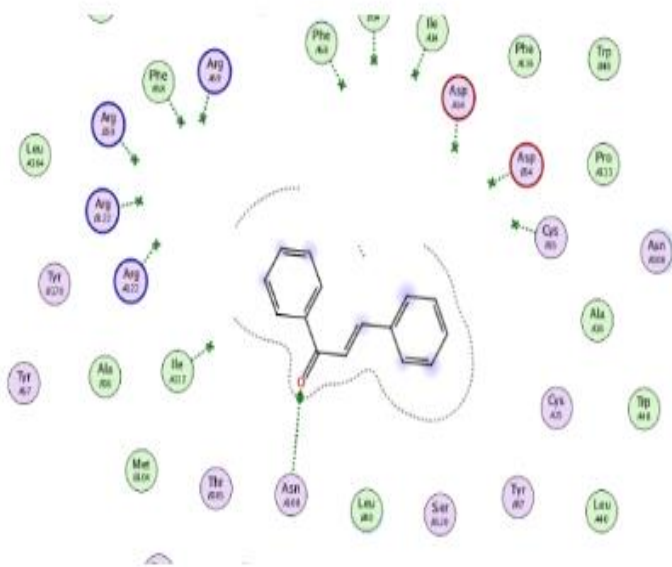
Stratégies de synthèse, résultats et discussion

Figure II.10 : Spectre RMN ^{13}C de de 1,3-diphénylprop-2-ène-1-one.



Partie

02



Chapitre 01

Etude
bibliographique
sur le plasmepsine,
et le docking
moléculaire

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

I.1. Introduction :

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. 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 deux molécules. De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou 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, regroupées sous le nom de "amarrage" ou "docking" moléculaire ont été développées.

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [1].

Le paludisme (malaria en anglais) est une maladie infectieuse due à un parasite du genre *Plasmodium*. Le parasite est transmis à l'homme par une piqûre de moustique infecté du genre *Anopheles*. Selon les dernières estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre de cas de paludisme dans le monde s'élevait à 198 millions en 2013, avec 584 000 décès. Près de la moitié de la population mondiale est exposée au paludisme mais la plupart des cas et des décès surviennent en Afrique subsaharienne [2].

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

I.2. Notion générale sur paludisme :

I.2.1. Généralité :

Le paludisme est une érythrocytopathie (maladie des globules rouges du sang) parasitaire potentiellement mortelle, due à un hématozoaire (Parasite des globules rouges du sang) du genre *Plasmodium (lavernia)*, transmis par la piqûre de la femelle d'un moustique du genre *Anophèles* infecté. Il est aussi connu sous le nom de malaria, venant de l'italien «malaria» qui signifie « mauvais air ». Ce nom lui a été attribué car les personnes infectées vivaient dans des régions marécageuses dégageant des odeurs nauséabondes [3].

La cause de la maladie a été découverte le 6 novembre 1880 à l'hôpital militaire de Constantine (Algérie) par un médecin de l'armée française, Alphonse Laveran, qui reçut le prix Nobel de physiologie ou médecine en 1907. C'est en 1897 que le médecin anglais Ronald Ross (prix Nobel en 1902) prouva que les moustiques anophèles étaient les vecteurs de la malaria (jusqu'à cette date, le « mauvais air » émanant des marécages était tenu responsable de la propagation de la maladie) [4].

I.2.2. Les cibles moléculaires des chalcones anti-infectieuses :

De nombreux chalcones naturels et (semi) synthétiques méritent le crédit d'être des candidats antiparasites potentiels inhibiteurs de diverses cibles moléculaires du parasite. Les cibles cruzain-1/2, trypanopain-Tb, trans-sialidase, glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) et fumarate réductase seraient importantes pour l'activité anti-infectieuse des chalcones contre *T. cruzi* et *L. donovani*. De même, pour l'activité antipaludique, l'inhibition de la falcipain-1/2, de la β -hématine, du topo isomérase-II, de la plasmepsine-II, du lactate déshydrogénase, des protéines kinases (Pfmrk et PfPK5) et de l'hémolyse induite par le sorbitol est cruciale. Les DEN-1 NS3, neuraminidase, intégrase / protéase sont considérées comme des cibles importantes de l'activité antivirale dans les infections par le HIV, le H1N1, la dengue, la rhino-pharyngite et la poliomyélite [5].

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

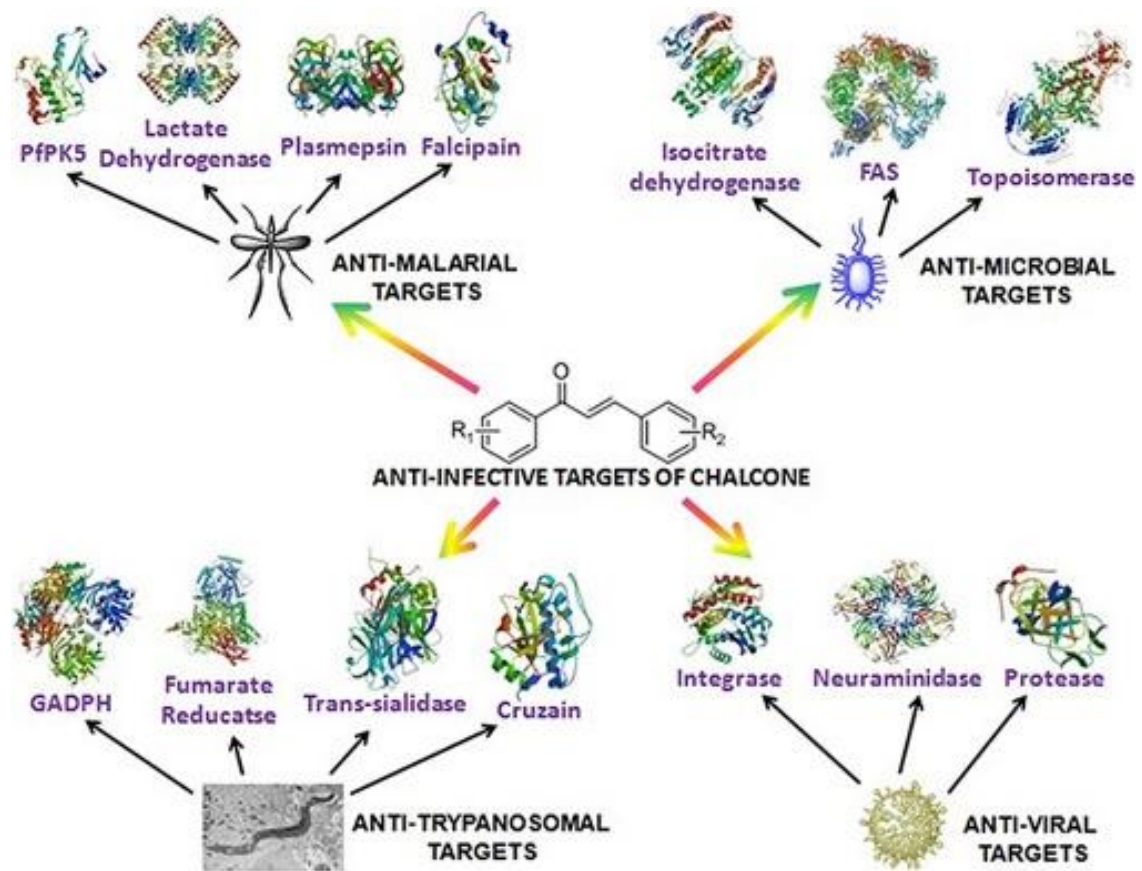


Figure I.1 : Les cibles anti-infectieuses de chalcone.

I.2.3. Plasmepsine :

Les plasmepsines sont une classe d'au moins 10 enzymes produites par le parasite *Plasmodium falciparum*. Il existe dix isoformes différentes de ces protéines et dix gènes les codant respectivement dans *Plasmodium* (Plm I, II, III, IV, V, VI, VII, IX, X et HAP). Il a été suggéré que la famille de la plasmepsine est plus petite chez d'autres espèces de *Plasmodium* humaines. L'expression de Plm I, II, IV, V, IX, X et HAP se produit dans le cycle érythrocytaire et l'expression de Plm VI, VII, VIII se produit dans le cycle exoérythrocytaire. Par leur activité de dégradation de l'hémoglobine, ils constituent une cause importante de symptômes chez les personnes atteintes de paludisme. Par conséquent, cette famille d'enzymes est une cible potentielle pour les médicaments antipaludiques.

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

Les plasmepsines sont des protéases de l'acide aspartique, ce qui signifie que leur site actif contient deux résidus d'acide aspartique. Ces deux résidus d'acide aspartique jouent respectivement le rôle de donneur et d'accepteur de proton, catalysant l'hydrolyse de la liaison peptidique dans les protéines. Le nom plasmepsine peut provenir de Plasmodium (l'organisme) et de la pepsine (protéase commune de l'acide aspartique, de structure moléculaire similaire) [6].

I.3. Le docking moléculaire :

I.3.1. Définition :

Le docking ou l'amarrage moléculaire décrit un processus dans lequel une molécule (ligand) est placée dans le site actif d'une protéine cible dans un espace tridimensionnel (3D). Deux aspects sont importants : la prédiction de l'affinité du complexe [ligand- protéine], et la prédiction de la position correcte du ligand dans le site actif de la protéine. La prédiction d'affinité est liée à différents ligands de la collection, certains conviennent mieux que d'autres. La prédiction de position est liée à la même molécule de ligand mais dans des orientations différentes [7,8].

Le but principal de l'amarrage moléculaire est de simuler par ordinateur le processus d'identification moléculaire et d'obtenir une conformation optimisée de manière à minimiser l'énergie libre du système global [9].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring.

- Le Docking : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- Le Scoring : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine, et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées. [10,11].

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

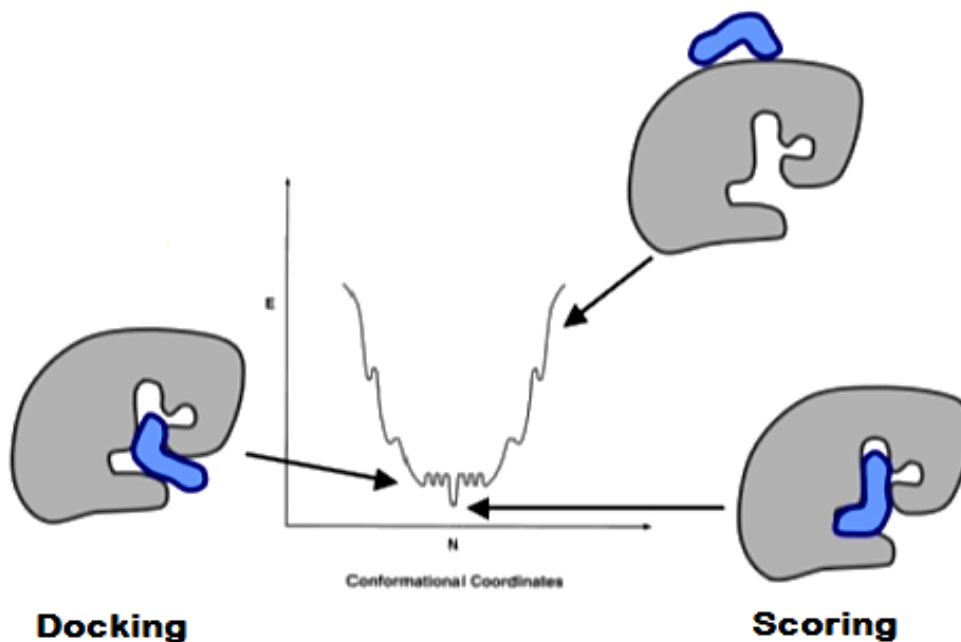


Figure I.2 : Principe générale de docking moléculaire.

I.3.2. Les types de docking moléculaire :

- Docking corporel rigide*, où le récepteur et la petite molécule sont traités comme rigides.
- Docking de ligand flexible*, où le récepteur est maintenu rigide, mais le ligand est traité comme flexible.
- Docking flexible*, où la flexibilité du récepteur et du ligand est considérée.

Les algorithmes de docking les plus courants utilisent le modèle récepteur rigide / ligand flexible [12].

I.3.3. Fonction de score :

La fonction de score fournit un mode permettant de classer le positionnement des ligands proportionnellement à un autre. Idéalement, le score devrait correspondre directement à l'affinité de liaison du ligand pour la protéine, de sorte que les ligands présentant le meilleur score soient les meilleurs liants. Les fonctions de scoring peuvent être empiriques, basées sur la connaissance ou sur la mécanique moléculaire [13].

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe [14]. Le principe thermodynamique est le suivant :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}} \dots\dots\dots \text{I.1}$$

I.3.4. Le RMSD (Root Mean Square Deviation):

Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes par rapport à ceux de la molécule d'origine. Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est la plus petite possible. Le positionnement, c'est-à-dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD [15].

Le RMSD entre deux poses est une mesure géométrique de la distance entre les positions atomiques de deux structures. Plus la prédiction du positionnement est précise, plus les différences entre les deux structures sont faibles, plus la valeur du RMSD est basse [16]. La valeur de RMSD indique une bonne cohérence dans le tableau suivant :

Tableau I.1 : Les valeurs de RMSD données par le logiciel MOE.

RMSD	RMSD<1.5	1.5<RMSD<3.5	3.5<RMSD<6	6<RMSD
Structure	Parfait	Acceptable	Inadéquat	Inacceptable

I.3.5. L'évolution 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 150 000 structures protéiques (2019).

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

La cristallographie par rayons X fournit 136091 structures, et pour la RMN fournit, quant à elle, 12629 structures contre seulement 3203 dans le cas de la microscopie électronique. Le nombre de structures définies est présenté dans les 43 dernières années, toutes techniques confondues (*figure I.3*).

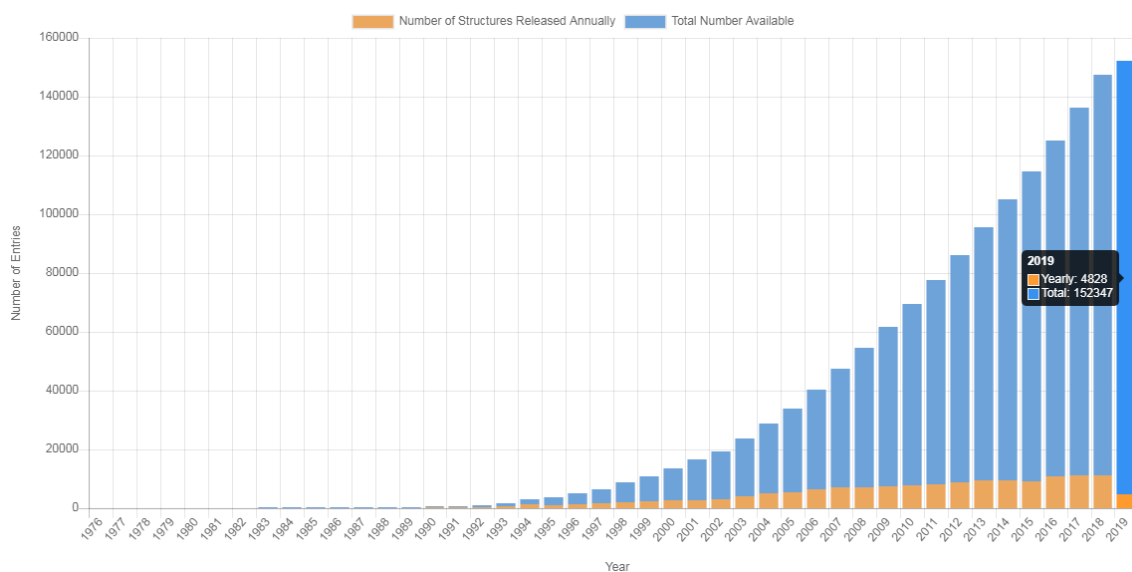


Figure I.3 : Evolution du nombre de structures protéiques disponibles dans la PDB.

L'histogramme montre une évolution exponentielle du nombre de structures définies chaque année (en orange), le nombre de structures totales (en bleu) suit également une courbe exponentielle de croissance, prouvant la progression des techniques. Une autre preuve du succès de ces méthodes est la qualité des structures [17, 18].

I.3.5.a. La résolution :

La résolution en angström de la protéine est une des données reflétant la qualité des structures ayant permis de construire le modèle cristallographique. Généralement, la résolution est limitée par la manière dont les cristaux diffractent, le temps nécessaire pour collecter des données de meilleures résolutions, la dynamique de la protéine, la qualité de l'appareillage et la température du système.

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

Une résolution proche de 1 \AA permet de distinguer tous les atomes y compris les hydrogènes. Une résolution de l'ordre de 6 \AA permet seulement de distinguer que des structures de types «hélice α » ou «feuille β » par exemple (*figure I.4*).

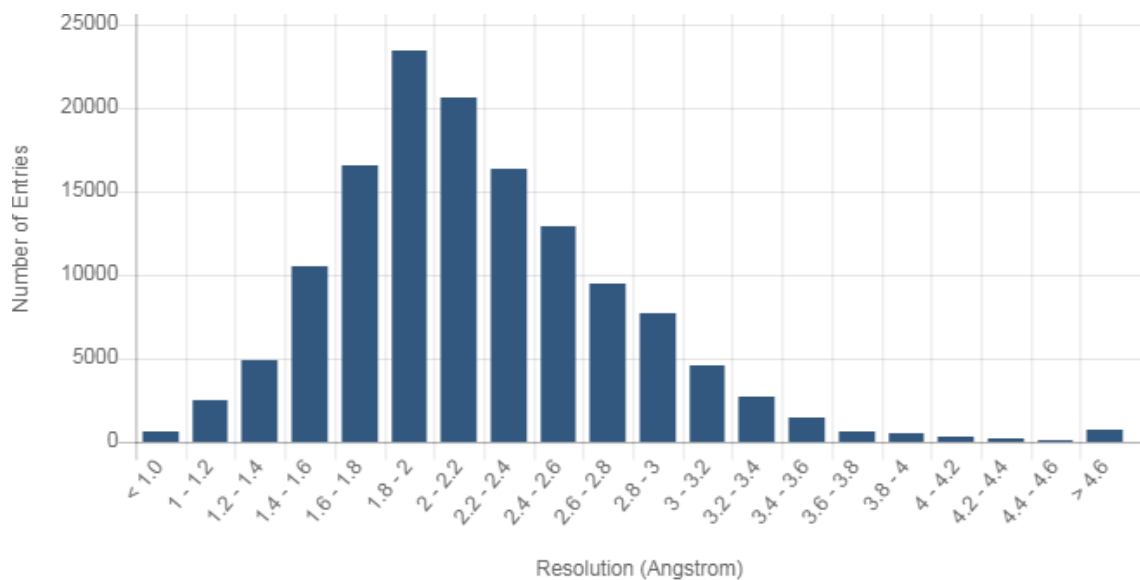


Figure I.4 : Nombre de structures protéiques par intervalle de résolution donné.

L'histogramme précédent illustre parfaitement la répartition de la qualité des structures au sein de la PDB. La majorité des structures ont une résolution comprise entre $1,5 \text{ \AA}$ et $2,5 \text{ \AA}$. Cet intervalle de résolution prouve que les structures sont de bonne qualité [17, 18].

I.3.5.b. Le facteur R :

Un autre indicateur est le facteur R qui est une grandeur indicatrice de l'écart entre les facteurs de structures observés et calculés. Le facteur R est compris entre 0 et 1 (plus le facteur R est proche de 0 et plus la prédiction est juste) [18].

I.3.5.c. Facteur d'agitation thermique :

Les atomes du cristal bougent autour d'une position atomique moyenne. Les rayonnements ne voient pas les atomes exactement à la même position dans les différentes mailles du cristal. Ce facteur permet d'observer la flexibilité des résidus [18].

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

I.3.5.d. Détermination du site actif :

Une étape fondamentale dans la stratégie de criblage virtuel est l'identification des résidus d'acides aminés pouvant intervenir dans le processus de reconnaissance du ligand. Un ligand cristallisé avec le récepteur est susceptible de renseigner sur l'emplacement du site actif. Malgré tout, cette information doit être interprétée avec prudence car, pour un même récepteur, le site actif peut être différent selon le profil pharmacologique de la molécule (agoniste, antagoniste, agoniste inverse) [18].

I.3.5.e. Les interactions entre le ligand et le récepteur :

Les interactions entre une protéine et un ligand sont en général de nature non covalente. L'énergie libre de Gibbs se calcule selon l'équation suivante :

$$\Delta G = -RT \ln K_i = \Delta H - T\Delta S \dots\dots\dots I.2$$

R : constante des gaz parfaits (8,314 J. K⁻¹ mol⁻¹).

T : Température (K).

K_i : constante d'inhibition.

La grandeur du ΔG en solution aqueuse est comprise entre **-10** et **-70 KJ/mol**. Les composantes de l'énergie libre sont :

- La complémentarité géométrique, stérique et de surface entre le ligand et le récepteur.
- Les contacts présents entre deux régions lipophiles des deux entités.
- Les liaisons hydrogène.

Les molécules d'eau dans les cavités des protéines peuvent parfois être un élément fondamental. Elles sont capables d'assurer le relais entre le récepteur et le ligand et ainsi créer des réseaux de liaisons hydrogène [19].

I.3.6. Principales étapes de le docking moléculaire :

Le docking moléculaire est le processus dans lequel l'interaction intermoléculaire entre deux molécules a été étudiée dans In-silico. Il comprend quatre étapes :

Étape I : Préparation de la protéine :

La structure tridimensionnelle de la protéine doit être extraite de la banque de données des protéines (par exemple : PDB) ; ensuite, la structure récupérée doit être prétraitée.

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

Cela devrait permettre l'élimination des molécules d'eau de la cavité, la stabilisation des charges, le remplissage des résidus manquants, la génération des chaînes latérales, etc. en fonction des paramètres disponibles.

Étape II : Prédiction du site actif :

Après la préparation de la protéine, le site actif de la protéine doit être prédit. Le récepteur peut posséder de nombreux sites actifs, il suffit de choisir celui de la préoccupation. Généralement, les molécules d'eau et les hétéroatomes sont éliminés.

Étape III : Préparation du ligand :

Les ligands peuvent être extraits de plusieurs bases de données telles que Pub Chem [20], ChmSpider, [21], ou peuvent être esquissés à l'aide de l'outil de dessin Chem.

Étape IV : Docking :

Le docking moléculaire commence par l'application d'algorithmes d'amarrage qui posent de petites molécules dans le site actif. Ces algorithmes sont complétés par des fonctions de scoring conçues pour prédire l'activité biologique via l'évaluation des interactions entre les composés et les cibles potentielles [22,23].

I.3.7. Les différents types d'interactions entre le ligand et la protéine :

Au niveau du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec la structure protéique. Les forces intervenant dans la formation du complexe peuvent être de nature stérique électronique ou les deux avec des contributions différentes.

Ces liaisons sont essentielles pour expliquer les propriétés des molécules biologiques. Du fait de leur faible énergie (généralement comprise entre *4* et *30 kJ/mol*, elles peuvent se rompre et se rétablir très facilement à la température physiologique, permettant ainsi des interactions temporaires entre molécules [24, 25].

I.3.7.1. La liaison hydrogène :

Cette liaison, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électronégatif est attiré par un autre atome électronégatif (*figure I.5*). Le nuage électronique de l'hydrogène est attiré par l'atome donneur qui est relativement plus électronégatif que l'atome d'hydrogène créant ainsi une charge partielle positive sur

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

l'hydrogène. Cette charge positive est attirée par la charge partielle négative portée par l'atome accepteur donnant ainsi naissance à une interaction désignée par pont hydrogène, sa force est de l'ordre de 12 à 30 kJ/mol [24, 25].

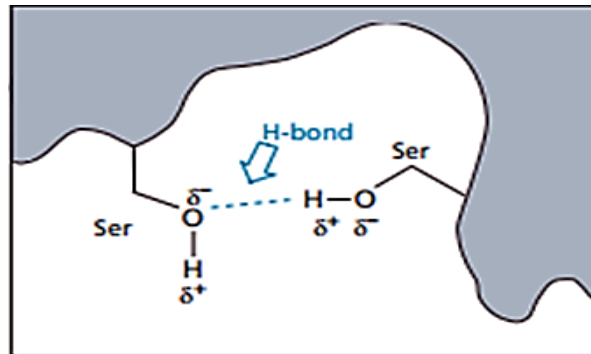


Figure I.5 : La liaison hydrogène.

I.3.7.2. Les forces de Van der Waals :

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres (figure I.6). Pour des atomes distants de $3-4$ Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol . Les interactions de Van der Waals sont très faibles [24, 25].

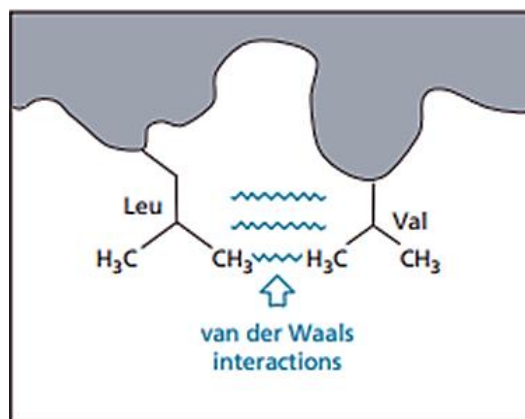


Figure I.6 : Les forces de Van der Waals.

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

I.3.7.2.a. Les liaisons dipôles à dipôles :

De nombreuses molécules présentent un moment dipolaire en raison de l'existence d'atomes d'électronégativités différentes parmi leurs groupes fonctionnels. Ainsi, le moment dipolaire d'une cétone est dû à la différence d'électronégativité des atomes d'oxygène et de carbone qui constituent la fonction carbonyle.

Mais des groupes fonctionnels sont également positionnés au niveau du site actif, de sorte qu'inévitablement divers moments dipolaires existeront aussi à la surface de celui-ci.

On peut donc concevoir que tous ces moments dipolaires, c'est-à-dire ceux du substrat et ceux du site actif, se mettront à interagir lors de l'approche du substrat en veillant à orienter celui-ci de façon à ce que les moments dipolaires se positionnent parallèlement mais dans des directions opposées (*figure I.7*) [26].

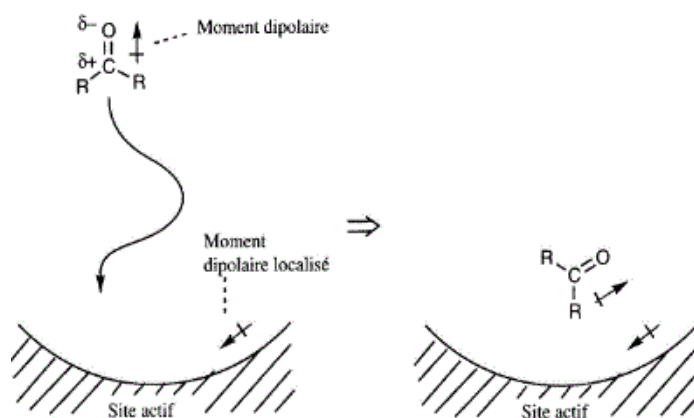


Figure I.7 : Interaction dipôle à dipôle.

III.3.7.2.b. Les liaisons dipôles à dipôles induits :

Des interactions mettant en jeu un dipôle et un dipôle induit ont également été proposées. Il est évident qu'un cycle aromatique est capable d'interagir avec un groupe ionisé, comme par exemple un ion ammonium quaternaire. Une telle interaction peut avoir lieu par ce que la charge positive du groupe ammonium quaternaire déforme le nuage électronique t du cycle aromatique et ceci fait apparaître un moment dipolaire en ce sens que l'intérieur du cycle aromatique est enrichi en densité électronique tandis que le pourtour en est appauvri (*figure I.8*) [26].

Etude bibliographique le plasmepsine, et le docking moléculaire

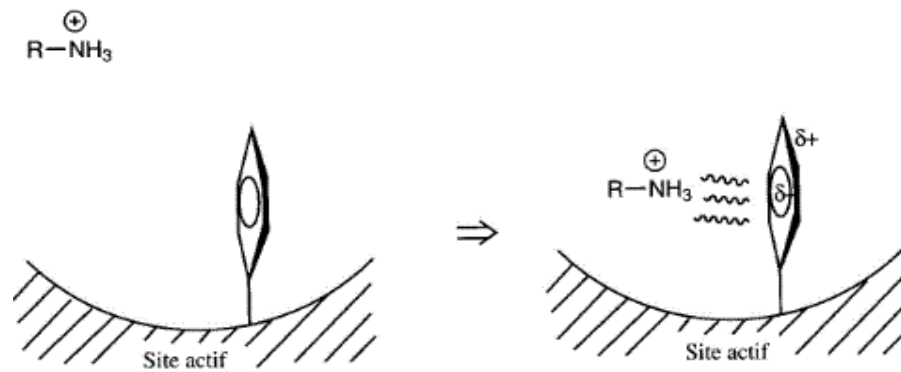


Figure I.8 : Interaction dipôle à dipôle induit.

I.3.7.3. Les liaisons ioniques :

Les liaisons ioniques représentent une force de liaison assez importante entre des groupes fonctionnels qui sont porteurs de charges opposées. Les énergies de ces liaisons environ 20 kJ mol^{-1} .

Une liaison ionique peut par exemple se former entre l'ion carboxylate d'un résidu acide, tel celui de l'acide aspartique, et l'ion ammonium d'un résidu basique tel celui qui provient de la lysine (*figure I.9*) [26].

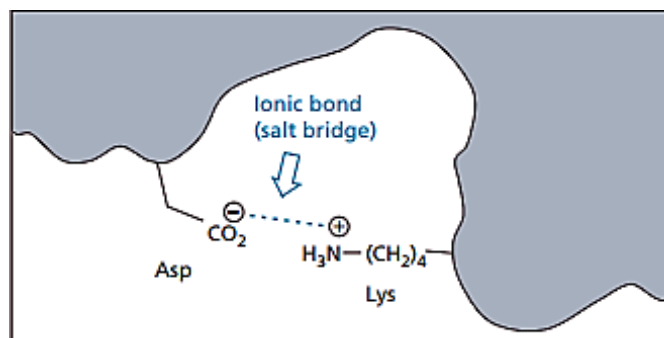


Figure I.9 : La liaison ionique.

I.4. Conclusion :

Dans ce chapitre nous avons éclairé sur quelques notions fondamentales sur le docking moléculaire qui est pour but de simuler par ordinateur le processus d'identification moléculaire et l'obtention d'une conformation optimisée de manière à minimiser l'énergie libre du système global, pour prédire l'affinité du complexe [ligand- protéine], et prédire la position correcte du ligand dans le site actif de la protéine.

Références bibliographiques

- [1]. Grosdidier A. « Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives ». Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2007. 90p.
- [2]. PHILLIPS, R. S. Current status of malaria and potential for control. *Clinical microbiology reviews*, 2001, vol. 14, no 1, p. 208-226.
- [3]. JP. NOZAIS, A .DATRY, M. DANIS, « Traité de parasitologie médicale », Pradel Editions, 817p, 01 mai 1996
- [4]. Ernst Hempelmann, and Kristine Krafts. « Bad air, amulets and mosquitoes: 2,000 years of changing perspectives on malaria ». *Malaria Journal*, 2013, 8, 1-13.
- [5]. D.K. Mahapatra, S.K. Bharti, V. Asati, « Chalcone Scaffolds as Anti-infective Agents : Structural and Molecular Target Perspectives », *European Journal of Medicinal Chemistry* 2015, 12, 1-140.
- [6]. MCGILLEWIE, Lara et SOLIMAN, Mahmoud E. Flap flexibility amongst plasmepsins I, II, III, IV, and V: Sequence, structural, and molecular dynamics analyses. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2015, vol. 83, no 9, p. 1693-1705.
- [7]. T. Schulz-Gasch, M. Stahl, « Scoring Functions for Protein-ligand Interactions : A Critical Perspective », *Drug Discovery Today : Technologies*, 2004, 1, 231-239.
- [8]. R. Wang, Y. Lu, X. Fang, S. Wang, « An Extensive Test of 14 Scoring Functions Using the PDBbind Refined Set of 800 Protein-ligand Complexes », *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, 2004, 44, 2114-2125.
- [9]. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, « Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery : methods and applications ». *Nat Rev Drug Discov.* 2004, 3,935-949.
- [10]. Warren G. L., Andrews C.W., Capelli A. M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H., Lindvall M., Nevins N., Semus S. F., Senger S., Tedesco G., Wall I.D., Woolven J. M., Peishoff C. E., Head M. S. « A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions ». *Journal of Medicinal Chemistry.* 2006, 49, 5912-5931.
- [11]. Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R. « Principles of Docking : An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions ». *Proteins : Structure, Function, and Genetics* 200247, 409-443.
- [12]. CHAUDHARY, Kamal Kumar et MISHRA, Nidhi. A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *Database*, 2016, vol. 3, p. 4.

Références bibliographiques

- [13]. Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT, et al. « Glide : A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking accuracy ». *J Med Chem.* 2004, 47, 1739-1749.
- [14]. Kollman, P.A. Massova, I. Reyes, C. Kuhn, B. Huo, S. Chong, L. Lee, M. Lee, T. Duan, Y. Wang, W. Domini, O. Cieplak, P. Srinivasan, J. Case, D.A. Cheatham, T.E. « Calculating structures and free energies of complex molecules : combining molecular mechanics and continuum models *Acc* ». *Chem. Res.* 2000, 33 : 889-897.
- [15]. Kramer B., Rarey M., Lengauer T. Evaluation of the FLEXX Incremental Construction Algorithm for Protein–Ligand Docking. *Proteins : Structure, Function, and Genetics.* 1999, 37, 228-241.
- [16]. Kellenberger E., Rodrigo J., Muller P., Rognan D. Comparative Evaluation of Eight Docking Tools for Docking and Virtual Screening Accuracy. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics.* 2004, 57, 225-242.
- [17]. <http://www.rcsb.org/>.
- [18]. Morris, A.L. MacArthur, M.W. Hutchinson, E.G. Thornton, J.M. « Stereochemical quality of protein structure coordinates ». *Proteins* 1992, 12 : 345-364.
- [19]. Maréchal, Y. « The hydrogen bond and the water molecule Elsevier Science & Technology » 2007.
- [20]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- [21]. <http://www.chemspider.com/>.
- [22]. McMartin C, Bohacek RS. « QXP : Powerful, Rapid Computer Algorithms for Structure-based Drug Design ». *J Comput Aid Mol Des.* 1997, 11, 333-344.
- [23]. Schnecke V, Kuhn LA. « Virtual Screening with Solvation and Ligand-induced Complementarity ». *Perspectives in Drug Discovery and Design.*, 2000, 20, 171-190.
- [24]. Karp G. *Biologie moléculaire et cellulaire.* 3^{ème} édition. France : De Boeck. 2004. 850p.
- [25]. Voet D., Voet J. G. *Biochimie.* 2^{ème} édition. France : De Boeck. 2005. 1600p.
- [26]. PATRICK, Graham L. *Chimie pharmaceutique.* De Boeck Supérieur, 2002.



Chapitre 02

Docking
moléculaire,
résultats et
discussion

Docking moléculaire, résultats et discussion

II.1. Introduction :

L'amarrage moléculaire est devenu un outil de plus en plus important pour la découverte de médicaments. Il est une sorte de modélisation bio-informatique qui implique l'interaction de deux molécules ou plus pour donner un complexe stable. En fonction des propriétés de liaison du ligand et de la cible, il prédit la structure tridimensionnelle de tout complexe. L'amarrage moléculaire génère différentes structures possibles qui sont classées et regroupées à l'aide de la fonction de score du logiciel.

Les simulations d'amarrage prédisent un conformateur amarré optimisé basé sur la fonction de score qui calcul l'énergie totale du complexe. Malgré toutes les approches potentielles, la chimie des ligands (tautomérie et ionisation), la flexibilité des récepteurs (conformation unique du récepteur rigide) et la fonction de score (différencier le mode de liaison véritable) restaient le défi [1]. Ce chapitre englobe l'étude de docking moléculaire des chalcones synthétisées.

II.2. Préparation de l'enzyme (4DP3) :

II.2.1. Description générale :

La structure 3D de l'enzyme plasmepsine (4DP3) a été extraite de la Banque de Donnée Protéique (PDB) [2]. Cette structure est Co-cristallisée avec l'inhibiteur P218 (MMV : Médicaments contre le paludisme), leur nom selon l'IUPAC est acide-3-(2-{3-[(2,4-diamino-6-éthylpyrimidin-5-yl) oxy]} phényle) propénoïque de formule brute « C₁₈ H₂₄ N₄ O₄ », il est représentée dans la figure II.1.

La structure tridimensionnelle de (4DP3) a été obtenue par diffraction en rayon X avec une résolution (2.40 Å), R-Value Free (0.239), et R-Value Work (0.205) [2]. L'enzyme a été préparée comme corps rigide par le logiciel MOE.

Docking moléculaire, résultats et discussion

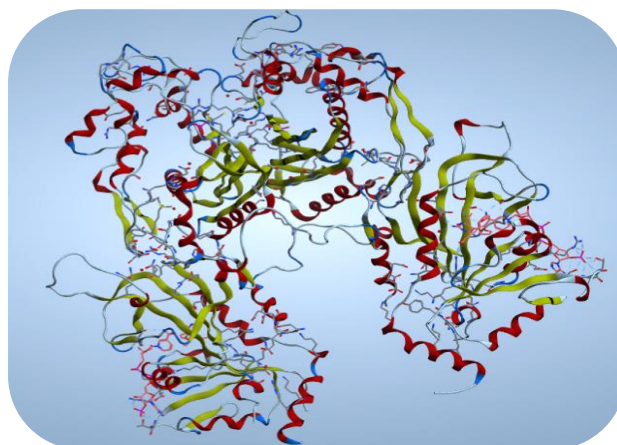


Figure II.1 : La structure 3D de l'enzyme 4DP3 non simplifié.

Nous avons simplifié le modèle de la plasmepsine (4DP3) dans lequel ces informations sont affichées dans le tableau suivant et qui sont lues dans le fichier PDB, avec 1216 résidus et 9667 atomes.

Tableau II.1 : La composition atomique du complexe 4DP3.

	Chaîne	Résidus	Atomes				
			Total	C	N	O	S
Protéine (4dp3)	A	545	Total 4539	C 2931	N 751	O 830	S 27
	B	544	Total 4529	C 2924	N 751	O 828	S 26
MMV (P218)	A	1	Total 26	C 18	N 4	O 4	
	B	1	Total 26	C 18	N 4	O 4	
NDP	A	1	Total 48	C 21	N 7	O 17	P 3
	B	1	Total 48	C 21	N 7	O 17	P 3
PO₄	A	1	Total 5	O 4	P 1		
	B	1	Total 5	O 4	P 1		
Eau	A	233	Total 233	O 233			
	B	208	Total 208	O 208			

Docking moléculaire, résultats et discussion

La structure macromoléculaire de l'enzyme est corrigée et simplifiée pour permettre une utilisation plus aisée lors du docking moléculaire.

II.2.2. Détection de cavité :

L'identification de sites actifs a une grande importance pour comprendre la fonction d'une protéine et le mécanisme des interactions. De plus, la connaissance de ces sites fonctionnels peut être utilisée pour guider les expériences de mutagenèse. Il existe un certain nombre de cavités ou de poches à la surface des protéines où se lient de petites molécules. Par conséquent, l'identification de telles cavités est souvent le point de départ de la prédiction du site de liaison protéine-ligand pour l'annotation de la fonction protéique et la conception de médicaments basée sur la structure. La détection correcte du site actif du ligand est une condition préalable à l'amarrage de protéine-ligand et au criblage virtuel à haut débit pour identifier les médicaments candidats dans les processus de découverte de médicaments [3].

Soixante-douze cavités ont été détectées dans l'enzyme 4DP3 par le logiciel MOE [4]. Nous avons choisi la cavité 1 (figure II.2), pour faire notre étude, car elle possède le ligand qui est Co-cristallisé et contient le volume le plus important.

Tableau II. 2 : Les résidus de site actif de l'enzyme (4DP3).

Cavité	Taille	Hyd	Résidus
1	155	51	ARG345 PHE375 LEU376 ARG377 GLY378 ILE379 GLU382 LEU383 PHE386 ASN400 VAL401 ARG402 ILE403 TRP404 ALA406 ASN407 TYR430 TRP434 LEU487 PRO488 PRO489 CYS490 HIS491 GLN509 SER511 CYS512 ASP513 GLY517 VAL518 PHE520 ASN521 SER524 TYR525 HIS551 TYR553

Docking moléculaire, résultats et discussion

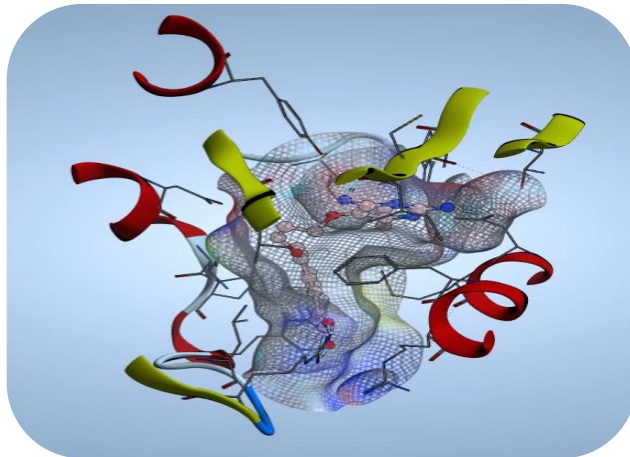


Figure II.2 : Cavité 1 (Pocket) d'enzyme 4DP3.

La minimisation de l'énergie potentielle peut être utile afin de relaxer la structure initiale de l'enzyme et de rechercher une géométrie de basse énergie correspondant à un état stable du système.

La minimisation de l'enzyme (4DP3) a été effectuée à l'aide du logiciel MOE, par la méthode de la mécanique moléculaire en utilisant le champ de force (Amber 10 : EHT). La valeur de l'énergie d'optimisation est : $E_{\text{Opt}} = -7536.14 \text{ Kcal/mol}$. La structure de ligand co-cristallisé (MMV) avec l'enzyme (4DP3) est donnée dans la figure II.3 [5].

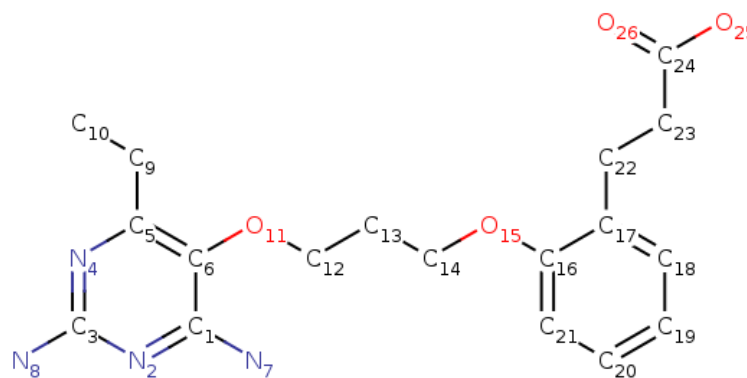


Figure II.3 : Structure chimique de MMV (P218).

Le MMV est un anti-folate, inhibiteur de DHFR de poids moléculaire **360.414 Da**. Cette molécule inhibe la biosynthèse des pyrimidines et entraîne la mort du parasite. Le MMV se lie différemment au *Plasmodium falciparum* et aux DHFR humains.

Docking moléculaire, résultats et discussion

Le carboxylate de MMV lié au quadruple PfDHFR mutant établit deux liaisons hydrogène avec (Arg122), mais dans la DHFR humaine, la chaîne latérale MMV n'a pas d'interaction directe avec (Arg70).

Les liaisons de MMV à *Plasmodium falciparum* et à DHFR humain peuvent être stabilisant les interactions carboxyéthyle avec (Arg122) dans PfDHFR mais déstabilisent l'interaction avec (Arg70) structurellement équivalent dans l'enzyme humaine [6].

II.3. Préparation des ligands (chalcones) :

Les structures 2D des composés utilisés dans notre travail sont représentées dans la figure II.4.

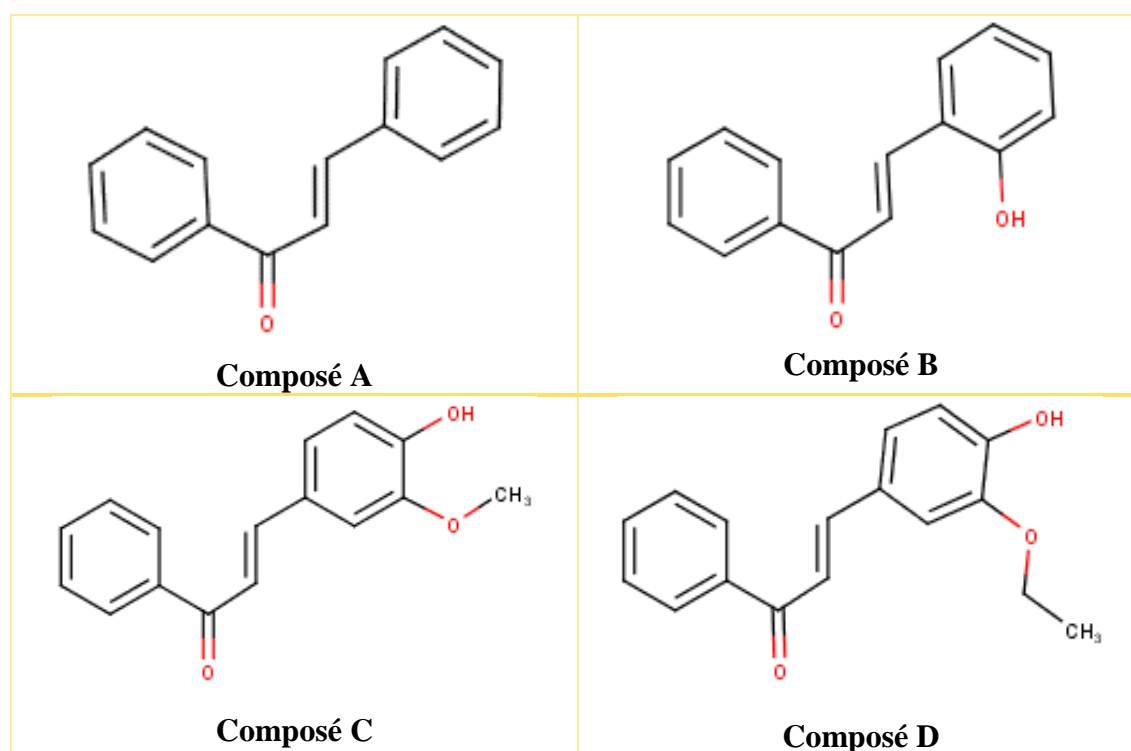


Figure II.4 : Les structures 2D des composés synthétisés.

Les composés utilisés sont des dérivés de la chalcone, qui sont dessinés en utilisant le logiciel Marvin Sketch (19.4) [7], et sont enregistrées sous forme MDL. L'optimisation de la géométrie des ligands par le logiciel MOE en utilisant le champ de force Amber 10 : EHT.

Docking moléculaire, résultats et discussion

II.4. Etude de docking moléculaire :

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur. Ainsi, le docking de chaque ligand génère un ensemble de modes de liaison appelés « poses » pour lesquelles un score est calculé. Ce score est une approximation de l'énergie de liaison du complexe (Kcal/mol) et donc plus il est négatif, meilleur est l'affinité prédite. Le ligand Co cristallisé représente alors souvent la référence idéale [8].

Tableau II.3 : Résultats de SCORE et RMSD de docking moléculaire.

Ligands	SCORE (Kcal/mol)	RMSD
MMV (P218)	-8.2818	1.3701
Composé A	-5.5189	0.8572
Composé B	-5.6473	1.8376
Composé C	-6.0792	1.9931
Composé D	-6.7871	1.1942

D'après la comparaison d'énergie de score de ligand de référence avec les énergies de score des composés **A**, **B**, **C**, et **D**, nous avons sélectionné la molécule **D** qui présente l'énergie de SCORE = **-6.7871 Kcal/mol** la plus basse.

Selon les résultats obtenus, on note que les valeurs de RMSD sont considérées comme parfait ($RMSD < 1.5$) pour les deux ligands **A** et **D**, et pour la valeur de ligand **D** est la plus proche de la valeur de ligand de référence.

Par contre, les valeurs de RMSD des ligands **B** et **C** sont considérées comme structure acceptable ($1.5 < RMSD < 3.5$) [9].

II.4.1. Etude des interactions enzyme-ligand de référence :

Une fois que le complexe (enzyme-Inhibiteur) est formé, celui-ci va adopter la conformation la plus stable correspondant au niveau énergétique le plus faible et prend

Docking moléculaire, résultats et discussion

RSMD comme valeur inférieur à 2Å, et cette conformation recherchée lors des simulations.

Tableau II.4 : Les résultats énergétiques de ligand de référence (MMV).

Ligand	SCORE	RMSD	Energie de VdW (Kcal/mol)	Enrgie stérique (Kcal/mol)
MMV (P218)	-8.2818	1.3701	15.978	2.563

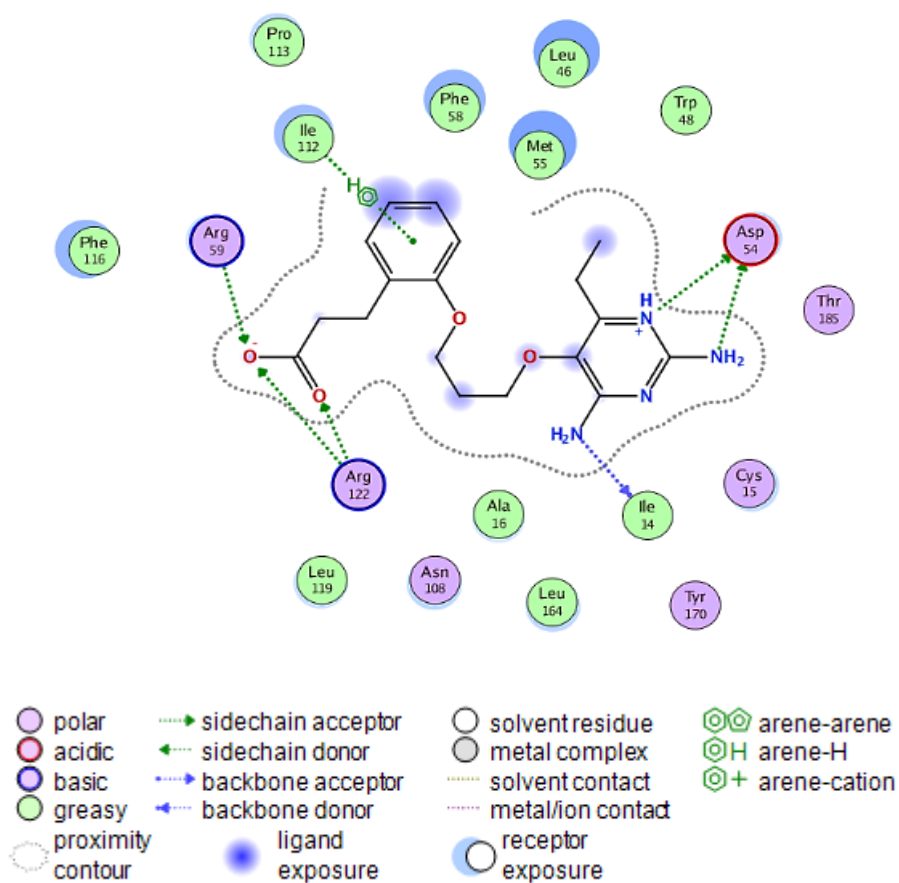


Figure II.5 : Les interactions entre les résides de site actif avec le MMV.

Docking moléculaire, résultats et discussion

Tableau II.5 : Le rapport d'interactions entre les résides de site actif avec le MMV.

Ligand MMV	Récepteur	Type d'interaction	Distance	Energie de la liaison (Kcal/mol)
N4 4	ASP 54	H-donneur	2.74	-11.2
N7 8	ILE 14	H-donneur	2.74	-2.8
N8 11	ASP 54	H-donneur	2.89	-8.7
O25 49	ARG 59	H-accepteur	2.79	-2.0
O25 49	ARG 122	H-accepteur	3.19	-4.5
O26 50	ARG 122	H-accepteur	2.78	-7.3
O26 50	ARG 122	H-accepteur	2.98	-3.2
6-ring	ILE 112	pi-H	4.03	-0.7

II.4.2. Etude des interactions enzyme-chalcones :

Tableau II.6 : Les rapports d'interactions entre les chalcones et les résidus de site actif de 4DP3.

Inhibiteurs	Ligands	Récepteur	Type d'interaction	Distance stérique	Energie de la liaison (Kcal/mol)
A	O 13	ASN 108	H-accepteur	3.26	-1.2
B	6-ring	ILE 112	pi-H	4.23	-0.6
C	6-ring	ILE 112	pi-H	4.05	-0.7
D	O 27	ASP 54	H-donneur	2.98	-4.6

Docking moléculaire, résultats et discussion

a) Inhibiteur A :

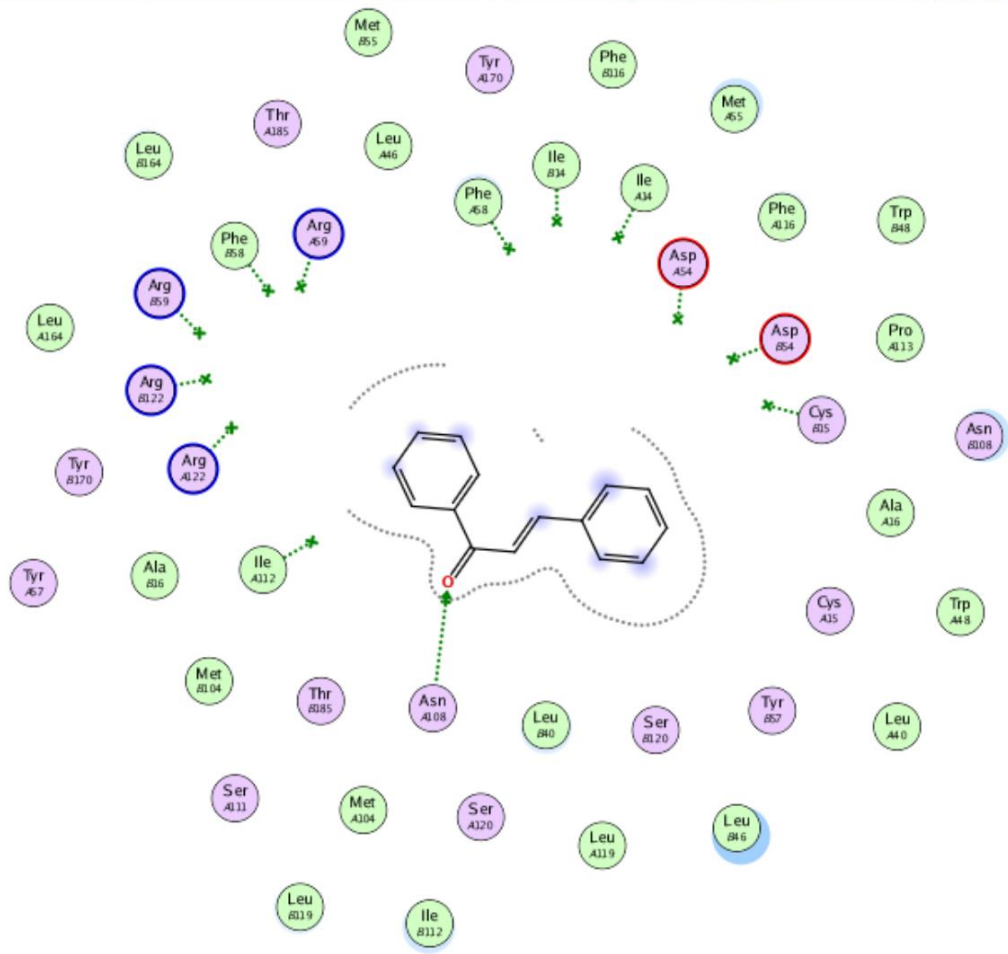
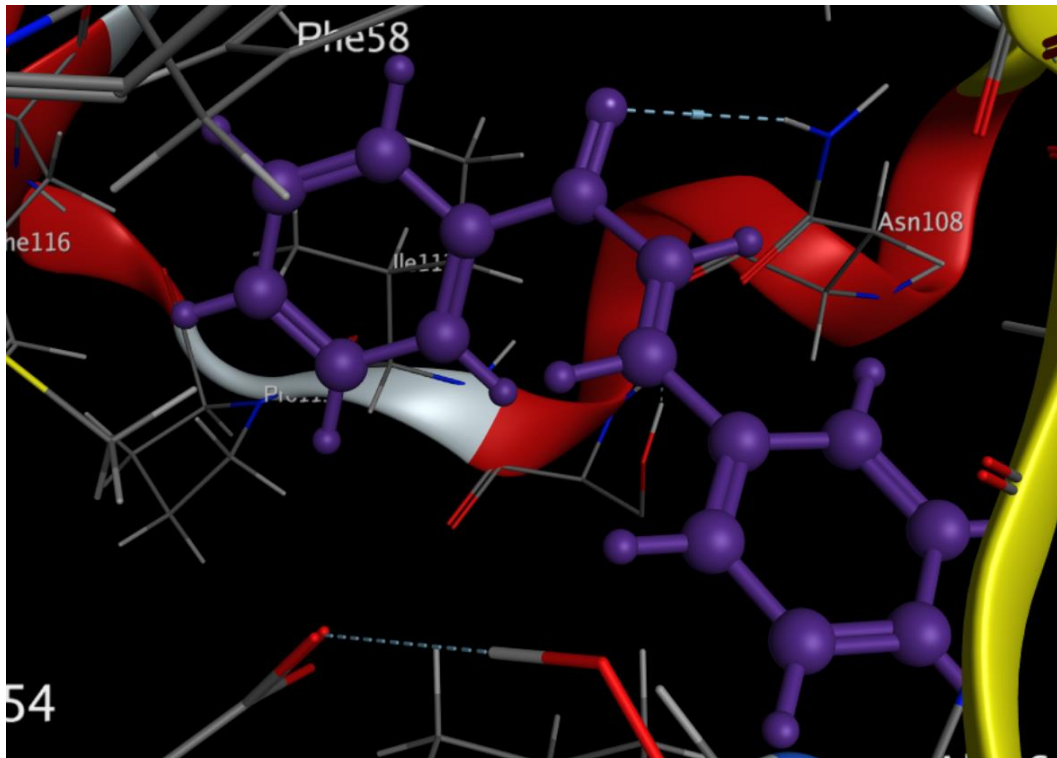


Figure II.6 : L'interaction entre l'inhibiteur A et les résidus de site 4DP3.

Docking moléculaire, résultats et discussion

b) Inhibiteur B :

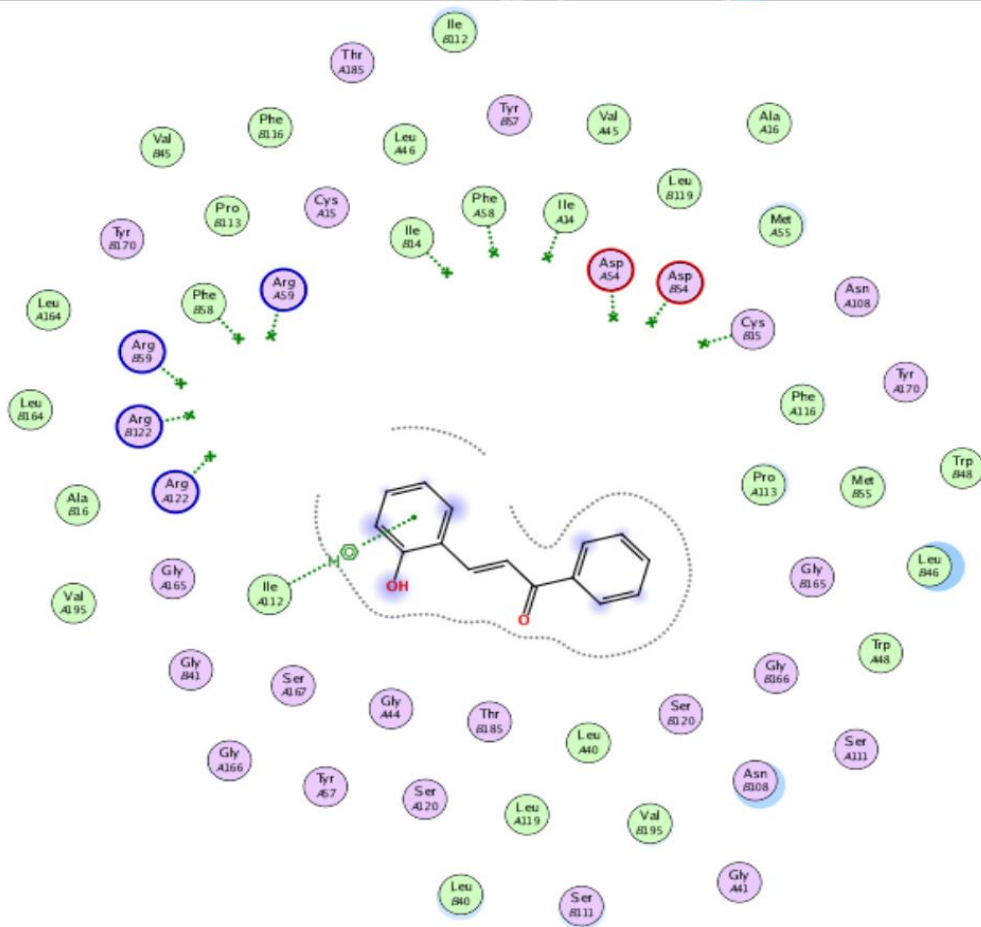
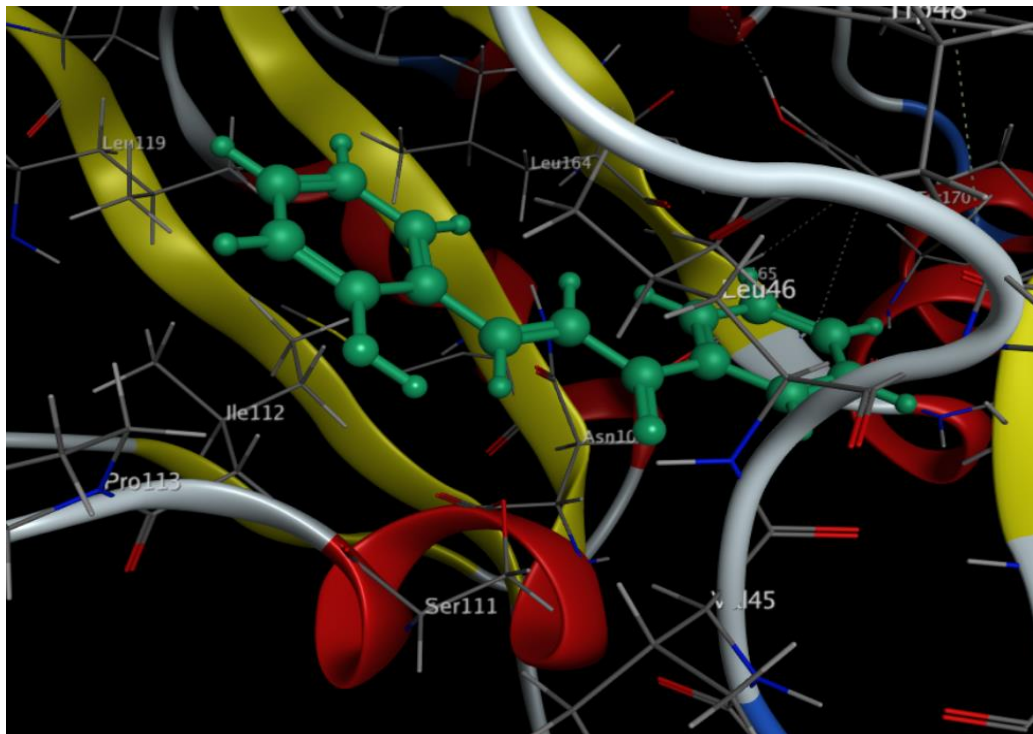


Figure II.7 : L'interaction entre l'inhibiteur B et les résidus de site 4DP3.

Docking moléculaire, résultats et discussion

c) Inhibiteur C :

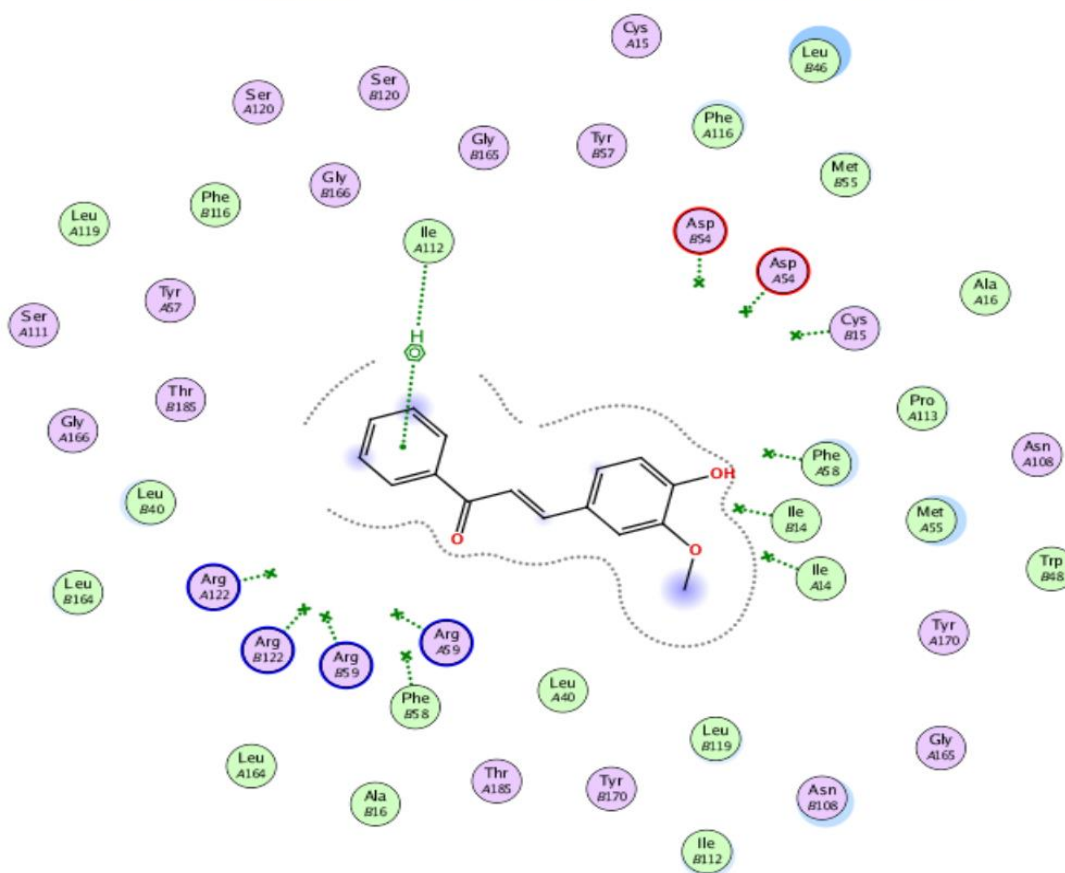
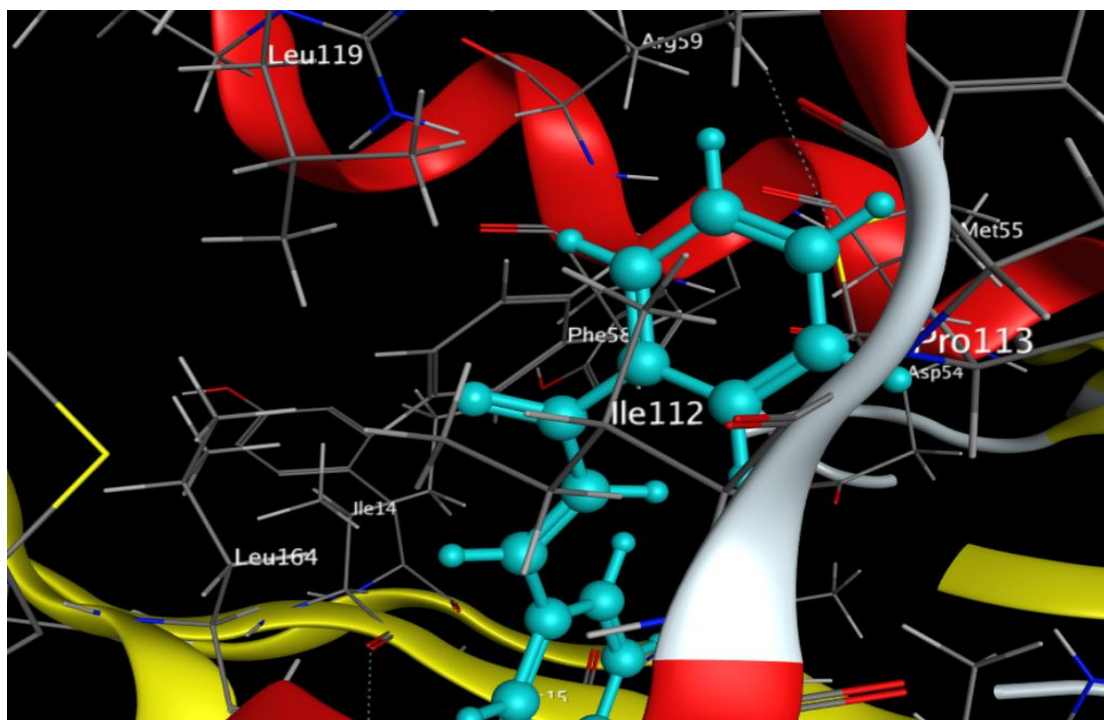


Figure II.8 : L'interaction entre l'inhibiteur C et les résidus de site 4DP3.

Docking moléculaire, résultats et discussion

d) Inhibiteur D :

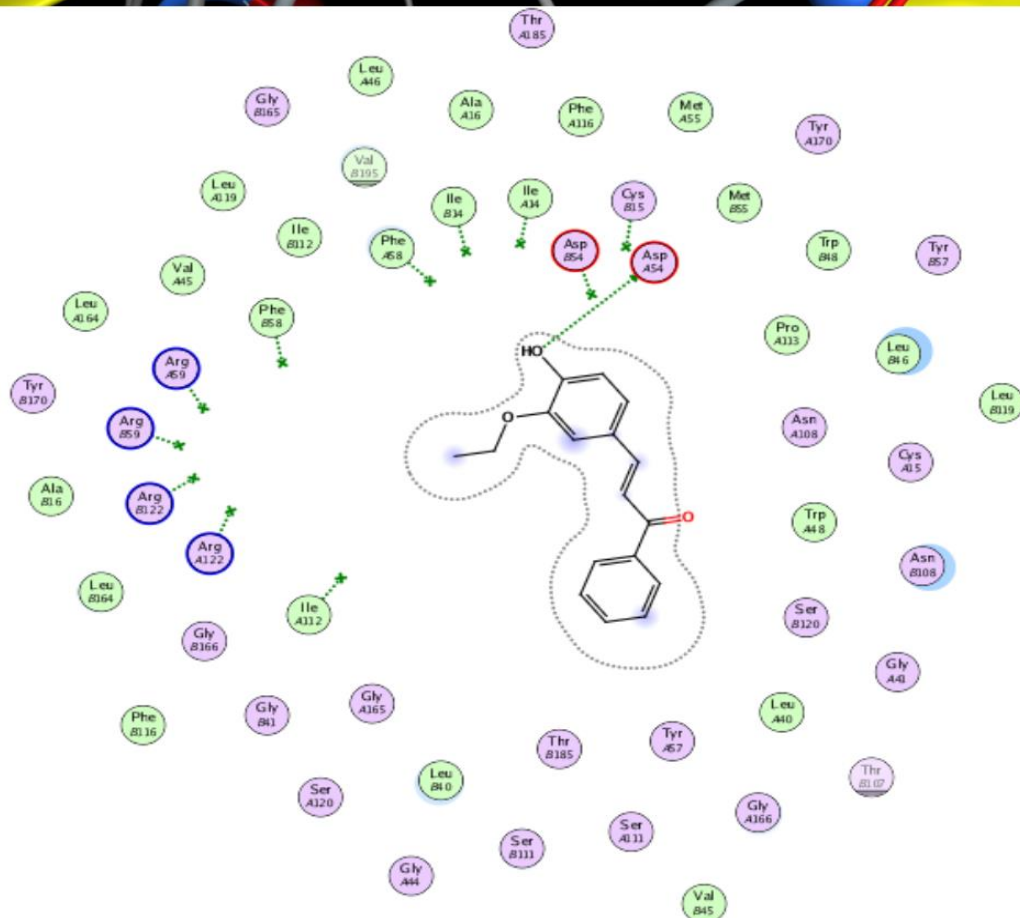
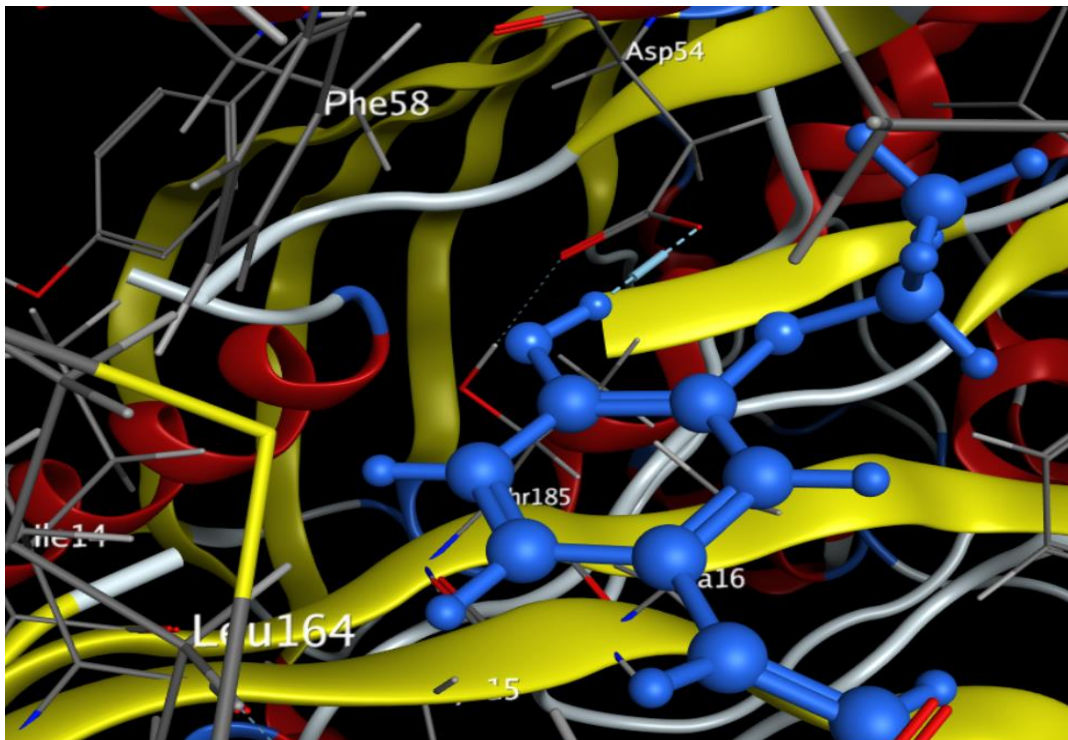


Figure II.9 : L'interaction entre l'inhibiteur **D** et les résidus de site 4DP3.

Docking moléculaire, résultats et discussion

II.5. Discussion des résultats :

D'après les rapports de docking précédents et les résultats obtenus, nous avons constaté que tous les chalcones étudiés interagissent réellement avec le site actif de 4DP3 ; le composé **A** ne montre qu'une interaction avec le résidu (**ASN 108**), par la suite le composé **B** et le composé **C** ont été attachées de manière surprenante aux mêmes récepteurs (**ILE 112**). Par contre, le composé **D** interagi avec un seul résidu (**ASP 54**).

À un niveau plus large, l'étude de docking révèle que la distance entre chaque ligand et les sites de liaison était comprise entre [2.98 Å et 4.23 Å]. D'après Anne Imbert et col, Les interactions ayant des distances comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérés comme fortes et celles comprise entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55Å elles sont considérées faibles [10].

Donc, selon ces résultats d'étude nous pouvons facilement constater que les distances entre les acides aminés du site active et les chalcones **A** et **D** ont une liaison forte d'interaction, 3.26 Å et 2.98 Å respectivement par rapport les chalcones **B** et **C** ont une seule liaison faible d'interaction 4.23 Å et 4.05 Å successivement.

L'analyse des résultats obtenus montre que la chalcone **D** est le meilleur ligand pour inhiber le fonctionnement de l'enzyme 4DP3. Cet inhibiteur possède une forte interaction de type H-donneur avec le résidu **ASP 54** de site actif de l'enzyme, qu'est le plus impliqué dans le mécanisme d'inhibition de l'enzyme, pour former un complexe stable.

II.6. Conclusion :

En conclusion, cette étude montre que l'interaction entre 4DP3 et les chalcones recensés est possible et pourrait être optimisée et améliorée afin d'obtenir de meilleurs résultats de docking pouvant conduire à la découverte d'un nouvel inhibiteur de 4DP3 prometteur.

Références bibliographiques

- [1]. Gaba Monika, Gaba Punam, Singh Sarbjot, and Gupta G. D. « An overview on molecular docking ». *International Journal of Drug Development and Research*, April-June 2010, 3, 219-231.
- [2]. <http://www.rcsb.org/>.
- [3]. Zhang, Z., et al, Identification of cavities on protein surface using multiple computational approaches for drug binding site prediction. *Bioinformatics*, 2011. 27(15): p. 2083-2088.
- [4]. Molecular Operating Environment (MOE), 2015.10 ; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2015.
- [5]. <http://www.rcsb.org/>.
- [6]. Yongyuth Yuthavonga Bongkoch Tarnchompooa, Tirayut Vilaivanb, Penchit Chitnumsuba, Sumalee .Kamchonwongpaisana, Susan A. Charmanc, Danielle N. McLennanc, Karen L. Whitec, Livia Vivasd, Emily Bongaridd, Chawanee Thongphanhanga, Supanee Taweechaia, Jarunee Vanichtanankula, Roonglawan Rattanajaka, Uthai Arwona, Pascal Fantauzzie, Jirundon Yuvaniyamaf, William N. Charmanc, and David Matthewse. « Malarial dihydrofolate reductase as a paradigm for drug development against a resistance-compromised target », 2012. 42 :16823–16828.
- [7]. <https://chemaxon.com/>.
- [8]. C.R. Corbeil, P. Englebienne, N. Moitessier. Docking Ligands Into Flexible and Solvated Macromolecules-1. Development and Validation of Fitted 1.0. *Journal Of Chemical Informatic Modelling*, 2007, 47, 435-449.
- [9]. Kellenberger E., Rodrigo J., Muller P., Rognan D. Comparative Evaluation of Eight Docking Tools for Docking and Virtual Screening Accuracy. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2004, 57, 225-242.
- [10]. A. Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Pérez, Molecular of protein carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A, *Glycobiology*, 1991, 1, pp. 631-642.



conclusion
générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans ce travail, nous nous sommes orientés vers la synthèse de dérivés de chalcones, suivi par une étude de docking moléculaire, pour prédire l'affinité de ces composés avec une cible choisie.

Dans la première partie, nous avons conçu et préparé quatre dérivés de chalcones à partir de quelque dérivé de benzaldéhyde et d'acétophénone par la méthode Claisen-Schmidt. Les rendements de nos produits que nous avons synthétisés entre 60% et 80%. Les structures des chalcones ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques (IR-FT, RMN (^1H), et RMN ^{13}C). Ces produits peuvent susciter un vif intérêt thérapeutique.

Dans une deuxième partie, nous avons pu mettre en évidence une étude de docking moléculaire pour prédire l'affinité avec la cible plasmepsin cette dernière est basée sur les interactions existantes entre certains groupements de la chaîne latérale de protéine (site actif) et ceux de ligands. Ce travail nous a permis de calculer les énergies d'interactions, des distances et le RMSD, suivant ces résultats on peut choisir le meilleur inhibiteur qui a une grande affinité à se lier avec l'enzyme 4DP3.

Cette étude montre que l'inhibiteur 3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one (composé D) est probablement le meilleur inhibiteur pour inhiber le fonctionnement de l'enzyme plasmepsine. Cet inhibiteur possède la plus basse énergie de score par rapport aux autres, et en plus il a des fortes interactions avec le résidu **ASP 54** de site actif de l'enzyme 4DP3, qui est le plus impliqué dans la reconnaissance et dans le mécanisme d'inhibition d'enzyme, et par conséquent ce ligand peut former un complexe stable.

Résumé :

Les travaux réalisés dans cette mémoire ont été entrepris dans le but de préparer des dérivés du chalocones à partir de dérivés d'acétophénone et de benzaldéhyde par la condensation de Claisen-Schmidt, pour étudier leur affinité antipaludique. Les chalcones ont été obtenus avec des bons rendements, ses structures ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques FT-IR, RMN (¹H) et RMN ¹³C.

Dans un deuxième temps, ce travail s'articule autour d'une étude « *in silico* » par docking moléculaire pour prédire la structure 3D d'un complexe protéine-ligands. Dans ce contexte, le logiciel MOE est utilisé pour estimer l'affinité des chalcones vis-à-vis de l'enzyme plasmepsine (4DP3), une enzyme impliquée la maladie de paludisme.

D'après les résultats obtenus et comparativement à la molécule référence MMV (P218) dont le pouvoir inhibiteur est très important, toutes les molécules testées présentent des capacités d'inhibition vis-à-vis de la plasmepsine. La chalcone D (3-(3-éthoxy-4-hydroxyphényl)-1-phénylprop-2-én-1-one) se classe en première position.

Mots clés : Chalcones, Antipaludique, Condensation de Claisen-Schmidt, Paludisme, Plasmepsine, Docking moléculaire, MOE.

Abstract:

The aim of the work in this note is to prepare the derivatives of chalocones from acetophenone and benzaldehyde derivatives by Claisen-Schmidt condensation, to study their antimalarial affinity. The chalcones were obtained with good yields, its structures were confirmed by spectroscopic methods FT-IR, ¹H NMR and ¹³C NMR.

In a second step, this work is based on an "in silico" study by molecular docking to predict the 3D structure of a protein-ligand complex. In this context, the MOE software is used to estimate the affinity of chalcones for the enzyme plasmepsin (4DP3), an enzyme implicated in malaria disease.

According to the results obtained and compared to the reference molecule MMV (P218), the inhibitory power of which is very important, all the molecules tested have plasmepsin inhibition capacities. Chalcone D (3- (3-ethoxy-4-hydroxyphenyl) -1-phenylprop-2-en-1-one) is in first position.

Key words: Chalcones, Antimalarial drugs, Claisen-Schmidt condensation, Malaria, Plasmepsin, Molecular Docking, MOE.