



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

MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la Matière
Chimie
Chimie pharmaceutique
Réf : Entrez la référence du document

Présenté et soutenu par :

Becha Wafa

Elucidation de l'inhibition de l'Acétylcholinestérase par les méthodes de la modélisation moléculaire

Jury:

M ^{me} . Nebbache Nadia	Prof	Université Mohamed Khider de Biskra	Président
M. DAOUD Ismail	M.C.A	Université Mohamed Khider de Biskra	Rapporteur
M ^{me} . Zekri Afaf	M.C.B	Université Mohamed Khider de Biskra	Examinatrice

Academic year: 2021/2022

REMERCIEMENTS

De prime abord, je remercie Allah le tout Puissant de m'avoir accordé la force, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation et pouvoir accomplir ce modeste travail de recherche. Malgré les obstacles que j'ai rencontrés, mais grâce à Dieu et à ma famille, j'ai terminé cette recherche

Comme je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon superviseur .Pour quelqu'un comme vous dans la noblesse des mœurs, la bonne origine et le goût raffiné, vous avez toute l'appréciation et .le respect

Dr. DAOUD Ismail , pour avoir accepté de diriger et superviser mon mémoire de fin d'études en Mastère, auquel je dis merci beaucoup pour votre disponibilité, votre gentillesse, votre patience et vos précieux conseils.

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

Les membres du jury et le président :

Président : **Dr. Nebbache Nadia** . Nous vous présentons Avec les plus grands mots de remerciement , de gratitude et d'appréciation pour les efforts remarquables et tangibles que vous avez déployés , qui ont laissé une marque claire sur le succès de ce travail , et nous n'avons rien trouvé d'autre que de vous présenter une forme de lettre formelle afin d'exprimer un petite partie de l'étendue de nos remerciements , de notre appréciation et de notre fierté . Puissiez- vous avoir la force , Avec nos meilleurs vœux de progrès et de .succès

Examineur : **Dr. Zekri Afaf** . Nous avons appris de vous que le succès a des secrets , que l'impossible est réalisé grâce à notre travail et que les idées inspirantes ont besoin de quelqu'un pour les implanter dans nos esprits , nous vous remercions donc beaucoup pour .vos efforts précieux

. Enfin nous adressons tous nos chaleureux remerciements aux enseignants Personnels du département de chimie pour leur dévouement et abnégation Et sans oublier également nos collègues de notre promotion.

Dédicace

Je dédie ce travail à ma chère grand-mère Houhou Fouzia et aussi à ma tante Dr. BeCha Habiba, qui ont été un bon exemple pour moi. pour moi de pour suivre la vie, qui n'a cessé de m'encourager et leur soutien bienveillant et fructueux tout le temps, et je remercie certainement l'amour de ma vie, mon mari Rahal Daoud, qui ne m'a pas prise et a toujours respecté mes choix, tout au long de cette période de recherche qui m'a été d'une grande valeur

A mon père .Mohammed Yacine becha

A mon beau père Rahal logbi

A ma belle mère ASSASSI ZOUHRA

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

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

Merci à tous du fond du coeur...

Wafa

I. Introduction	5
I.1. Méthodes de la modélisation moléculaire	6
I.1.1. Méthodes Quantiques (MQ).....	7
a. Méthodes ab-initio (Hartree-fock, Roothan).....	8
b. La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)	9
c. Les bases d'orbitales	9
I.1.2 Méthodes Semi Empiriques.....	9
I.2.1.Mécanique moléculaire	11
a.Terme des atomes liés	11
b.Energie d'interaction entre atomes non liés.....	12
c.Terme du champ de force.....	13
d. Différents champs de force en mécanique moléculaire.....	14
e. Minimisation de l'énergie stérique.....	15
I.2.3.2. Dynamique moléculaire.....	16
a. Principe de la dynamique moléculaire	16
b .Calcul de dynamique moléculaire	17
a.Applications de DM	17
I.2.3 Docking Moléculaire	18
a. Protocole Générale de Docking	19
b.Programmes de docking moléculaire	21
I. 3.Définition d'ADME	21
I.3.1.La pharmacocinétique	22
I.3.1.1.Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination (ADME).....	23
a) Absorption.....	23
b) Distribution.....	24
c) Métabolisme.....	24
d) Elimination.....	24

SOMMIARE

II.1.Introduction	31
II.2. Les protéines	31
II.2.1. Définition des protéines.....	32
II.2.2. La liaison peptidique.....	32
II.2.3. Structure des protéines.....	34
II.2.3.1.Structure primaire.....	34
II.2.3.2. Structure secondaire.....	35
II.2.3.3. Structure tertiaire.....	35
II.2.3.4. Structure quaternaire.....	37
II.2.4. Les fonctions des protéines.....	37
II.3. Les enzyme	37
II.3.1 Définition	37
II.3.2. Classification des enzymes.....	38
II.3.3. Nomenclature.....	38
II.3.4. Notions de spécificité.....	39
II.3.5. Le Site Actif.....	39
II.3.6. Cofacteurs.....	40
II.3.7. Complexe Enzyme-Substrat (E-S).....	40
II.3.8. Inhibition Enzymatique.....	41
II.3.8.1. Les inhibiteurs réversibles.....	41
a. Inhibition compétitive.....	42
b. Inhibition incompétitive (ou anti compétitive).....	42
c. Inhibition non compétitive ou mixte.....	42
II.3.8.2. Les inhibiteurs irréversibles.....	43
II.3.9. Différentes types cinétiques d'inhibiteurs d'enzymes.....	43
II.4. Les acides aminés	44
II.4.1. Classification des principaux acides aminés (AA).....	44
II.4.1.1. Acides aminés non polaires.....	45
II.4.1.2. Acides aminés polaires, non chargés.....	45
II.4.1.3. Non polaires	45
II.4.1.4. Les acides aminés aux propriétés particulières	45
II.4.2 Domaines d'utilisation des acides aminés.....	46
II.4.3 Le rôle biologique des acides aminés	46
a. Le rôle de structure.....	46
b. Le rôle métabolique.....	46
c. Les rôles de médiateurs chimiques et de neurotransmetteurs.....	46
	47
II.5. Introduction	51
II.5.1 Historique.	52
II.5.2 Les causes de MA	52
II.5.3 Les premiers signes d'alerte de l'Alzheimer	53

SOMMIARE

II.5.4 Évolution de la maladie d'Alzheimer	54
II.5.5 Les différents facteurs de risques de la MA	54
II.6. Traitement de la maladie d'Alzheimer	56
I. Introduction	58
II . Méthodes de calcul	60
II.1. Préparation et optimisation des enzymes et des ligands.....	60
II.1.1. Préparation et optimisation du modèle	60
II.1.2. Préparation des inhibiteurs.....	61
II.2. Docking moléculaire	63
II.3 Propriétés ADME.....	63
III. Résultats et discussion	64
III.1. Simulation de Docking moléculaire	64.
a. Site actif des enzymes.....	64
b. Validation de la méthode	64
III.1.1. Interaction : AChE–Ligands.....	65
III.1.2. Interaction : BuChE–Ligands.....	68
III.2. Dynamique moléculaire.....	71
III.2.1. Complexe AChE–L10.....	71
III.2.2. Complexe BuChE–L10.....	73
III.3. Évaluation des propriétés ADME.....	74

Liste des tableaux

Tableau I.1. Fonctions d'énergie associées aux atomes liés	12
Tableau I.2. : Fonctions d'énergie associées aux atomes non liés.....	13
Tableau I.3. Nature de docking.....	22
Tableau II.1. Représente les classifications des enzymes	40
Tableau III.1 : Quelques propriétés des deux enzymes : AChE (PDB ID:4EY7) et le BuChE (PDB ID:4BDS).....	72
Tableau III.2 : Structures chimiques des ligands L ₁ -L ₁₁	73.
Tableau III.3 : Différentes propriétés de cavité 1 détectée par MOE des enzymes : AChE et BuChE.....	75
Tableau III.4: Docking Score et RMSD des deux ligands native (4EY7 et 4BDS)..	76
Tableau III.6 : S-score, RMSD and t les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le AChE.....	76
Tableau III.7 : S-score, RMSD and t les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE	79
Tableau III.8 : S-score, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes de ligand L10 pour l'AChE après un calcul de dynamique moléculaire.....	83
Tableau III.9 : S-score, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes de ligand L10 pour le BuChE après un calcul de dynamique moléculaire.....	84
Table III 10: Propriétés Physico-chimique et Drug Likeliness pour le ligand L10.....	86

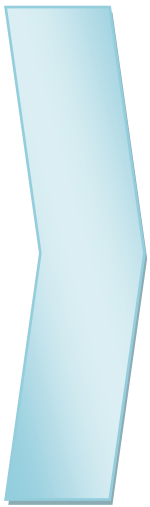
Liste des figures

Figure I.1. Déterminer les minima de l'énergie globale d'interaction.....	17
Figure I.2. Représentation schématique du docking de deux molécules.....	20
Figure I.3. Étapes de docking.....	22
Figure II.1: Formation d'une liaison peptidique.....	35
Figure II. 1. Structure primaire.....	36
Figure II. 3 : Définition des angles	37

Figure II.4 .Structure tertiaire de la porine (code PDB 1E54).....	38
Figure II.5. Structure quaternaire de l'hémoglobine humaine (code PDB : 1a3N) Constituée de 4 sous-unités identiques représentées en différente couleurs.	38
Figure II.6: Représentation schématique de la notion de spécificité.....	24
Figure II.7 : Complexe Enzyme-Substrat.....	43
Figure II.8 La structure d'un acide aminé.....	48
Figure II-9 : Représentation schématique l'hippocampe et les régions de l'implication du cerveau dans la maladie d 'Alzheimer.....	57
Figure III.1 : Protocole de calcule	70
Figure III.2 : Modèle simplifié et validé des enzymes (a) : AChE, (b) : BuChE.....	71
Figure III.3: Schéma en 2D et 3D des interactions entre les meilleurs ligands (L10 (a) , L6 (b) et L9 (c))et les résidus de site actif de le AChE.....	78
Figure III.4: Schéma en 2D et 3D des interactions entre les meilleurs ligands (L10 (a) , L3 (b) et L7 (c)) et les résidus de site actif de le BuChE	81
Figure III.5: Evaluation de l'énergie potentielle de complexe 4EY7-L10 en fonction du temps.....	82
Figure III.6: Schéma en 2D des interactions entre le ligand L10 et les résidus de site actif de le AChE après simulation de DM.....	83
Figure III.7: Evaluation de l'énergie potentielle de complexe ABDS-L10 en fonction du temps.....	84
Figure III.8: Schéma en 2D des interactions entre le ligand L10 et les résidus de site actif de le BuChE après simulation de DM.....	85

Liste des schémas

III Schéma : Structure de base de l'acétazolamide combiné avec le chlorure de chloroacétyle.....	71
--	----



INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

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

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

La cause exacte est encore inconnue, mais il est supposé que des facteurs environnementaux et génétiques y contribuent. Les plus grandes méthodes dans le traitement de la MA se focalisent sur deux aspects fondamentaux : traitement au niveau des plaques séniles ou plaque amyloïdes, et traitement de la transmission cholinergique. Ce sont les deux approches dans le traitement de cette maladie [2].

Malheureusement, les seuls traitements existant actuellement sont dits symptomatiques. Il n'existe donc pas de médicaments sur le marché permettant d'empêcher leur apparition ou leur progression. Les recherches de nouvelles cibles thérapeutiques, pour un traitement curatif, deviennent donc un enjeu majeur. Bien que ces deux dernières décennies de multiples recherches ont permis d'améliorer notre compréhension de la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, les subtilités du mécanisme ne sont pas clairement définies, cependant plusieurs hypothèses étiologiques ont été proposées, telles que l'hypothèse cholinergique, l'hypothèse de l'amyloïde et l'hypothèse de la protéine Tau. Les neurones sont affectés par deux lésions principales: le dépôt extracellulaire de plaque β -amyloïde ($A\beta$) et la dégénérescence neuro-fibrillaire [3]. Ces deux lésions engendrées lors de la maladie d'Alzheimer touchent principalement les voies cholinergiques. Il en résulte une diminution parfois massive des taux de neurotransmetteurs circulant dans le cerveau. Le déficit en acétylcholine peut atteindre jusqu'à 90% dans les stades sévères de la maladie. Pour compenser le déficit en Acétylcholine, les médecins font habituellement appel aux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Tacrine, Donepezil, Rivastigmine, Galantamine) et utilisent comme un traitement. Ces molécules empêchant la dégradation de l'acétylcholine au niveau de la fente synaptique ont montré leur efficacité en soulageant quelques symptômes liés à la maladie d'Alzheimer [4].

INTRODUCTION GÉNÉRALE

De plus, les plus étudiés, les inhibiteurs des cholinestérases, sont les seuls à avoir obtenu jusqu'à présent une application clinique sont les premiers médicaments ayant une action démontrée dans la MA [5]. Ils augmentent la quantité d'Acétyl Choline (ACh) dans la synapse, en bloquant l'Acétylcholinestérase (AChE), qui dégrade l'ACh dans la fente synaptique mais il existe une autre enzyme de la même famille, la butyrylcholinestérase (BuChE), qui reconnaît également l'acétylcholine comme substrat [6]. L'activité de cette enzyme croît au cours de la maladie (cela étant dû probablement à une prolifération des cellules gliales) entraînant des changements de ratios AChE/BuChE, ce qui se traduit par une diminution des fonctions cognitives, suite à une diminution de l'activation des récepteurs cholinergiques muscariniques (type M) et nicotiques (type N) [7].

D'autre part, la modélisation moléculaire est devenue une nouvelle technique de compréhension des phénomènes chimiques et un outil de travail à part entière dans le domaine de la chimie structurale, dans les calculs des surfaces d'énergie potentiel des molécules organique [8]. Elles s'imposent souvent lorsque l'expérience réelle est trop difficile, trop dangereuse, trop coûteuse, trop longue ou trop rapide, éthiquement inacceptable, ou même impossible à réaliser. Elles permettent, actuellement, non seulement d'élaborer les mécanismes de complexation et les profils énergétiques mais également de justifier et prédire les conformations les plus stables ainsi que les interactions existantes entre une enzyme et un ligand.

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve le docking (amarrage) et la dynamique moléculaire. Leurs calculs de ces dernières sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [9].

Notre objectif de travail est d'étudier les interactions existantes entre 11 molécules nouvellement synthétisées avec deux enzymes (AChE/BChE) en combinant entre trois méthodes à savoir ; docking moléculaire, dynamique moléculaire et propriétés ADME.

Le travail de ce mémoire est présenté en trois chapitres :

INTRODUCTION GÉNÉRALE

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

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

Le deuxième chapitre : Il est consacré pour deux parties :

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

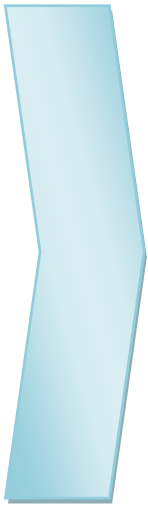
Partie (B): La maladie l'Alzheimer

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

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

Références

- [1] Parrón, Tesifón, et al. "Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases." *Toxicology and applied pharmacology* 256.3 (2011): 379-385
- [2] G. V. Ferrari, M. A. Canales. L. M. Weiner, I. Silman, N. C. Inestrosa, *Biochemistry.*, 40, 10447-10457, **2001**.
- [3] Whalley, L. J. "The dementia of Down's syndrome and its relevance to aetiological studies of Alzheimer's disease." *Annals of the New York Academy of Sciences* 396.1 (1982): 39-53.
- [4] Gustafson, L. "Physostigmine and tetrahydroaminoacridine treatment of Alzheimer's disease." *Acta Neurologica Scandinavica* 88.S149 (1993): 39-41.
- [5] Schneider LS, Tariot PN. Emerging drugs for Alzheimer's disease : mechanisms of actions and prospects for cognitive enhancing medications. *Med Clin North Am*; 78 :911-34, **1994**.
- [6] Scarpini, E.; Scheltens, P.; Feldman, H. *Lancet Neurol.* **2003**, 2, 539–547
- [7] Arendt, T.; Brückner, M. K. *Neurosci. Lett.* **1992**, 148, 63–66.
- [8] S. D. Ittel, L. K. Johnson, M. Brookhart, *Chem. Rev.*, , 100, 1169, **2000**.
- [9] Kitchen D-B et al. Docking and Scoring in virtual screening For drug discovery : methods and application , *Nat .Rev .Drug.Discov .3* :935-49. **2004**.



CHAPITRE 1

Méthodes de la Modélisation Moléculaire

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

I. Introduction

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire. La modélisation moléculaire est une technique permettant, non seulement de représenter les propriétés et les réactions chimiques mais aussi de manipuler les modèles des structures en deux ou trois dimensions.

La modélisation moléculaire implique l'utilisation des méthodes de calcul théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, mécanique quantique *ab-initio* ou semi-empirique,...) permettant de déterminer la représentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes d'une molécule et d'évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée. La modélisation moléculaire associée à une représentation infographique des stéréochimies permet d'interpréter des phénomènes physico-chimiques, de suggérer des nouvelles expériences et d'analyser ainsi des résultats d'une façon plus critique que les expériences classiquement utilisées, mais ces deux approches purement théoriques ou expérimentales sont complémentaires.

La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules. Les méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être rangées en trois catégories.

- Les méthodes quantiques.
- Les méthodes semi-empiriques.
- Les méthodes non quantiques [1].

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve aussi l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking") [2].

Le docking moléculaire connu aussi sous le nom « amarrage moléculaire pour les puristes francophones », fait partie des méthodes de modélisation. Cette technique utilise les mêmes principes que les autres méthodes de modélisation, sauf qu'elle a la particularité de combiner deux molécules ou plus en même temps. Cette propriété fait du docking l'une des plus importantes méthodes de modélisation moléculaire. Pour cela différentes méthodes et algorithmes ont été mis au point pour l'élaboration de cette technique [3].

Le rôle principal de cette technique est étudié puis prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

structure de récepteur (protéine). Le docking moléculaire se déroule en deux étapes distinctes:

- La première étape consiste à positionner le ligand dans le site choisi de la protéine.
- La seconde étape de cette méthode permet l'évaluation des interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine. Ces deux étapes diffèrent chacune du programme de docking utilisé [4].

I.1 Méthodes de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire a pour but de prédire la structure et certaines propriétés chimiques de molécules ou de systèmes de molécules. Cependant, la nature même de ces systèmes moléculaires pose un certain nombre de problèmes : de par leur taille qui peut atteindre plusieurs milliers ou millions d'atomes, mais aussi à cause de la complexité des mécanismes et processus chimiques se déroulant en leur sein. La contrainte de taille de ces édifices peut être atténuée en utilisant des méthodes peu coûteuses en mémoire et en temps de calcul comme les méthodes de mécanique moléculaire (MM). Cette classe de méthodes a l'énorme avantage de permettre d'atteindre les phénomènes dynamiques à l'aide de la méthode de dynamique moléculaire (MD). Néanmoins, les nombreux processus et réactions chimiques intervenant dans ce genre de systèmes requièrent souvent la rigueur et la précision des méthodes quantiques (QM), le coût et le temps de ces calculs par rapport au nombre d'atomes des systèmes étudiés étant très élevés, ainsi que les trois méthodes citées dans ce paragraphe sont ceux utilisées dans la modélisation moléculaire [5].

I.1.1. Méthodes quantiques

La mécanique quantique est le prolongement de la théorie des quanta, issue des travaux de Planck, de leur interprétation par Einstein et de leur application à la théorie atomique par Bohr et Sommerfeld. Elle explique la quantification de certaines grandeurs (énergie, moment cinétique) et fait émerger le principe d'exclusion de Pauli. La nouvelle conception des particules qui découle de la dualité onde-corpuscule, explicitée dans les travaux de De Broglie (1923) conduit à la mécanique ondulatoire. Les méthodes de la mécanique quantique, qui font appel à la distribution des électrons répartis en orbitales autour de la molécule, impliquent des temps de calcul souvent élevés qui limitent leur usage à des petites molécules ou nécessitent le recours à de

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

nombreuses approximations. Elles sont particulièrement adaptées au calcul des charges et des potentiels électrostatiques, à l'approche des mécanismes réactionnels ou à la polarisabilité. L'objectif de la mécanique quantique est principalement de déterminer l'énergie et la distribution électronique [6].

Les équations de la chimie quantique sont basées sur la résolution de l'équation de SCHRODINGER qui s'écrit pour les états stationnaires [7].

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

Ou :

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

Ψ : Fonction d'onde de la molécule.

E : Energie totale d'une molécule.

De nos jours avec l'importance des ordinateurs et en combinant les différentes méthodes et équations on peut avoir des réponses précises à toute sorte de question concernant la géométrie et structure d'une molécule ; son énergie ; sa réactivité et ces différentes interactions. Cette discipline a développé des méthodes basées sur la mécanique quantique [8].

À côté des méthodes expérimentales, les méthodes de la mécanique quantique nous donnent l'accès aux caractéristiques structurales et énergétiques fiables à l'issue de l'application des différentes méthodes quantiques [9].

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

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

Les calculs *ab-initio* tiennent seulement en compte les interactions des particules ; et puisque les noyaux sont plus lourds que les électrons on traite leurs mouvements séparément autrement dit : Quand on considère le mouvement de l'électron, on considère que le noyau soit dans un état statique ou bien il ne bouge pas (selon l'approximation de Born-Oppenheimer on suppose que les noyaux sont fixes par rapport des électrons qui ont des vitesses très grands .Donc on traite que le système électronique.

Le mouvement des noyaux est déterminé par les forces générées lors de la réalisation de l'équilibre entre le système d'électrons et une distribution de noyaux donnée, cela représente l'élément majeur qui permet une étude *ab-initio* [10]. Les méthodes

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

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

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

L'hamiltonien d'un système à n électrons et N noyaux est donné par [11]:

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

Avec :

T_E : l'énergie cinétique des n électrons.

T_N : l'énergie cinétique des N noyaux.

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

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

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

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

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

La principale différence entre ces deux méthodes est que les interactions électroniques sont négligées dans les méthodes HF et réintroduites dans les méthodes post HF. Ces méthodes ne peuvent être appliquées qu'à des systèmes de quelques dizaines d'atomes pour les méthodes HF et d'une dizaine d'atomes seulement pour les méthodes post HF [12].

b. La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)

Les bases de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) ont été élaborées en 1927 par Thomas et Fermi qui calculèrent l'énergie d'un atome en représentant son énergie cinétique en fonction de la densité électronique [13]. En 1928, Dirac introduit le terme d'échange prédit par Hartree mais il n'y a toujours aucune prise en compte de la corrélation électronique qui fût finalement ajoutée par Wigner. Dans ce modèle, les n électrons dépendants de $3n$ coordonnées d'espace sont remplacés par leur densité $\rho(\mathbf{r})$ qui ne dépend plus que de 3 variables.

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

L'état fondamental de ce système est décrit par la fonction d'onde $\Psi_0(r_1, r_2, \dots, r_n)$ qui correspond à une unique densité électronique (ρ). Cette fonction d'onde, et l'énergie E_0 qui lui est associée, sont déterminées par la minimisation de l'énergie totale du système. Le potentiel externe $V_{\text{ext}}(r)$ créé par les N noyaux du système est alors complètement déterminé et fixe donc l'hamiltonien. Ainsi, le nombre d'électron n et le potentiel $V_{\text{ext}}(r)$, définissent toutes les propriétés de l'état fondamental [10].

c. Les bases d'orbitales

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

- **La base 6-31 G*** : décrit une orbitale atomique par la combinaison de six fonctions gaussiennes par orbitale de cœur, de trois autres pour la description des électrons de valence et d'une dernière pour description des électrons de valence les plus éloignés du noyau (externe). L'astérisque signifie l'utilisation d'orbitales de polarisation pour les atomes lourds c'est à dire d pour les orbitales p, f pour les orbitales d, etc.
- **La base 3-21G** : base telles que chaque orbitale atomique interne est représentée par une gaussienne contractée qui est elle-même une combinaison linéaire de 3 gaussiennes primitives. Alors que chaque orbitale de valence est représentée par deux fonctions gaussiennes contractées l'une est combinaison linéaire de 2 primitives et l'autre 1 gaussienne simple.
- **La base 6-311G** : représente une base du type triple zêta. Dans cette base l'orbitale interne est représentée par une seule STO combinaison linéaire de 6 GTO et les orbitales de valences sont représentées par 3 STO [14].

I.1.2 Méthodes Semi Empiriques

Dans les méthodes *ab-initio* la quasi-totalité du temps de calcul est consommé par les calculs des intégrales, et dans le but de réduire ce temps de calcul, il est nécessaire de simplifier les équations de Roothaan. Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-Fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales (l'hamiltonien est toujours paramétré par comparaison avec des références). En générale toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits données voisines à celles utilisées pour la paramétrisation. Les méthodes semi-empiriques ne considérant que

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

les électrons de la couche de valence ; les électrons des couches internes sont inclus dans le cœur nucléaire.

- ✓ **CNDO/2** : (Complète Neglect of Differential Overlap/version 2) la première méthode semi empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965, méthode présentant certains défauts entre autres : elle ne tient pas compte de la règle de Hund.
- ✓ **INDO** : (Intermediate Neglect of Differential Overlap) proposée par Pople, Beveridge et Dobosh en 1967. Elle permet de distinguer entre les états Singulets et les états triplets d'un système en conservant les intégrales d'échange.
- ✓ **MINDO/3**: Proposée par Bingham, Dewar et Lo en 1975. La paramétrisation est effectuée en se référant aux résultats expérimentaux et non pas aux résultats *ab-initio*, de plus l'algorithme d'optimisation utilisé est très efficace (Davidon-Fletcher-Powell). Cependant, elle surestime la chaleur de la formation des systèmes insaturés et sous-estime celle des molécules contenant des atomes voisins ayant des paires libres.
- ✓ **MNDO**: (Modified Neglect of Diatomic Overlap) Proposée par Dewar et Thiel en 1977, méthode basée sur l'approximation NDDO (Neglect of Diatomic Differential Overlap) qui consiste à négliger le recouvrement différentiel entre orbitales atomiques sur des atomes différents. Cette méthode ne traite pas les métaux de transition et présente des difficultés pour les systèmes conjugués.
- ✓ **AM 1** : (Austin Model 1) La méthode est proposée par Dewar en 1985. Il a tenté de corriger les défauts de MNDO.
- ✓ **PM 3** : (Parametric Method 3) La méthode est proposée par Stewart en 1989, elle présente beaucoup de points en commun avec la méthode AM1 ; d'ailleurs il existe toujours un débat concernant les mérites relatifs de paramétrisation de chacune d'elles.
- ✓ **SAM 1** : (Semi-*ab-initio* Model 1) La méthode la plus récente proposée par Dewar en 1993. Elle inclut la corrélation électronique [15].

I.1.3. Méthodes non Quantiques (empirique)

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

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

représentant, respectivement, les interactions entre les atomes liés (longueur de liaison, angle de valence, angle dièdre) et les atomes non liés (Van der Waals, électrostatique) [16].

I.2.3.1. Mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est apparue en 1930 [17], mais s'est développée à partir des années 1960, avec les progrès d'accessibilité et de performance des ordinateurs. Elle permet de déterminer l'énergie d'une molécule en fonction de ses coordonnées atomiques et de chercher des minima de l'énergie correspondant à des conformères stables [18,19]. La mécanique Moléculaire (MM) ne prend en compte la structure électronique qu'implicitement et les atomes sont alors représentés par des sphères ayant des masses et des rayons différents et possédant une charge. Les liaisons sont décrites comme des ressorts de différentes constantes de force. Ces charges et constantes de force peuvent être obtenues par divers moyens (données cristallographiques ou spectroscopie vibrationnelle, calcul *ab initio*) et sont contenues dans le champ de force. Ce dernier représente l'ensemble des paramètres permettant de calculer l'énergie potentielle du système. La Mécanique Moléculaire permet le calcul de l'énergie d'interaction d'un système en fonction des seules positions des noyaux, en ignorant ainsi le mouvement des électrons. L'approximation de Born-Oppenheimer est aussi utilisée, cependant, le mouvement des noyaux n'est plus décrit par un Hamiltonien quantique comme en Mécanique Quantique, mais par les descriptions de la mécanique classique ou les atomes sont assimilés à des points massiques (éventuellement chargés) et les liaisons chimiques à des ressorts mécaniques [20].

a. Terme des atomes liés

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

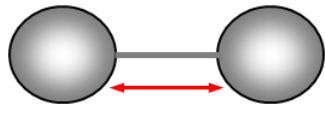
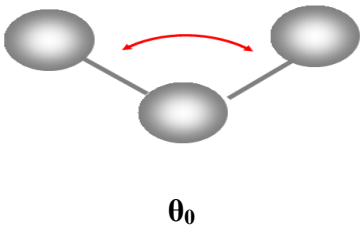
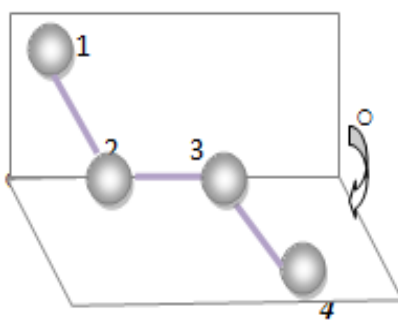
Les potentiels utilisés sont du même type que ceux utilisés en analyse vibrationnelle.

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

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

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

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

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

b. Energie d'interaction entre atomes non liés

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

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

Les deux derniers termes interprétant les interactions entre atomes non liés de manière covalente, seuls les atomes séparés de plus de trois liaisons sont considérés comme pouvant avoir des interactions non liées. Ce choix se justifie par le fait que les

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

interactions, entre atomes séparés par une, deux ou trois liaisons, sont convenablement bien décrites par les termes de déformation des longueurs de liaisons et d'angles formes par deux liaisons covalentes.

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

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

c.Terme du champ de force

Le champ de force est un modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire. Le " CHAMP DE FORCE", qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire [21]. Son but est de calculer l'énergie potentielle d'une molécule (ou d'un système de molécule) en fonction de coordonnées des atomes :

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

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

Où :

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

E_p : Énergie potentielle.

Il est important de noter que les champs de forces constituent une approche purement empirique. Ils sont paramétrés de manière à ce que l'ensemble des différentes participations permette de reproduire une série de résultats expérimentaux. Un champ doit donc toujours être considéré comme une entité indivisible et il est éloigné de combiner les termes et/ou les paramètres de deux champs dans l'espoir d'obtenir un meilleur ensemble [22].

d. Différents champs de force en mécanique moléculaire

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de différents Paramètres. Les champs de forces en MM peuvent être groupés en trois classes principales [23] :

- Champs de force contenant uniquement les termes harmoniques.
- Champs de force utilisant les termes d'ordre supérieur (cubique, quadratique,...).
- Champs de force suggérés par *Allinger et col.* [24] ne considérant pas que les termes de la mécanique moléculaire classique mais aussi les effets chimiques comme l'électronégativité.

- ✓ **MM2/MM3/MM4** : MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col. [25,26]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [27] et MM4 (1996) [28] lui permettent de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

- ✓ **OPLS** : Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indique son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvatation. Il est écrit par W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives [29].

- ✓ **GROMOS** : GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), est écrit par Van Gunsteren [30] et conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines.

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

- ✓ **CHARM (Bio+)** : Développe par Karplus et col [31-32], pour le calcul de biomolécules. son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force est conçu pour les aminoacides et les protéines, maintenant il traite d'autre biomolécules.
- ✓ **SPASIBA** : (Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating biomolecular conformational Adaptability), élabore par Gérard Vergoten et col. (1995). Il combine le champ de force spectroscopique modifié de Urey-Bradly-Shimanouchi [33] et le champ de force AMBER. Il permet de trouver les structures, les énergies de conformation et les fréquences vibrationnelle au minimum énergétique d'une molécule [34].
- ✓ **EMO** : Le programme EMO (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaive [35-36], il est basé sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :
 - Menu 1: entrée de la molécule à l'aide d'un clavier.
 - Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.
 - Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire.
- ✓ **AMBER**: AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement), a été écrit par Kollman [37]. Le champ est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF,1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules.

e. Minimisation de l'énergie stérique

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

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

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

Les minima locaux sont inévitables car les longueurs de liaison et les angles de valence sont rapidement optimisés au stade initial de la minimisation ; mais quand ces derniers ont atteint leur valeur d'équilibre, d'autres mouvements torsionnels sont inhibés puisque pour réduire d'avantage l'énergie totale du système il faut pouvoir déplacer plusieurs atomes [38].

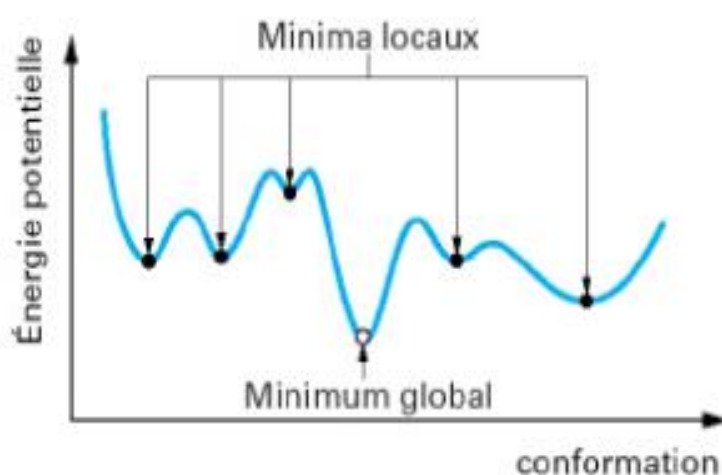


Figure I.1. Déterminer les minimas de l'énergie globale d'interaction

I.2.2 Dynamique Moléculaire

Les premiers pas de la dynamique moléculaire n'ont pu se faire que grâce à l'arrivée des premiers ordinateurs (1957) [39]. Mais les premières réelles simulations ont été faites par Rahman [40], grâce à ses travaux sur la simulation de l'argon liquide en 1964 avec un temps de simulation de 10-11 s, puis de l'eau liquide [41].

a. Principe de la dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire consiste à étudier la trajectoire d'une molécule en lui appliquant les lois de la mécanique classique newtonienne [42]. Une molécule est considérée comme un assemblage d'atomes dont les positions spatiales varient au cours du temps. Chaque atome est considéré comme une masse ponctuelle dont le mouvement est déterminé par l'ensemble des forces qui s'exercent sur elle [43]. Il en résulte un mouvement atomique correspondant à des oscillations autour d'un minimum d'énergie ou au passage d'un de ces minima à un autre. La dynamique moléculaire possède ainsi la faculté d'extraire la molécule d'un minimum local. Cette

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

technique repose sur l'intégration des équations de mouvements de Newton pour chaque atome i

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

Où :

m_i : Masse de l'atome i

\vec{a}_i : Accélération de l'atome i

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

b. Calcul de dynamique moléculaire

Une simulation de DM se réalise généralement en quatre étapes :

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

Le protocole typique de simulation de dynamique moléculaire contient :

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

Typiquement, avant d'effectuer la simulation de dynamique moléculaire, les systèmes ont été chauffés de 0 K à 300 K pendant 20 Ps et équilibrés à la même température pendant encore 20 Ps [44].

c. Applications de DM

Une application importante de la dynamique moléculaire est :

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

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

✓ L'optimisation et le raffinement des structures 3D d'après les données de la cristallographie et/ou de la RMN. La mise en œuvre de cette méthode requiert néanmoins des moyens de calcul particulièrement puissant (CRAY par exemple) et elle est coûteuse en temps et en argent. Elle se généralise cependant pour les études de peptides et de petites protéines [45].

I.2.3 Docking Moléculaire

- ✓ Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [46].
- ✓ L'opération d'arrimage du ligand dans le site actif de la protéine est appelée docking moléculaire. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes Le docking proprement dit et le scoring:
- ✓ La première étape (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- ✓ La deuxième étape (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées.

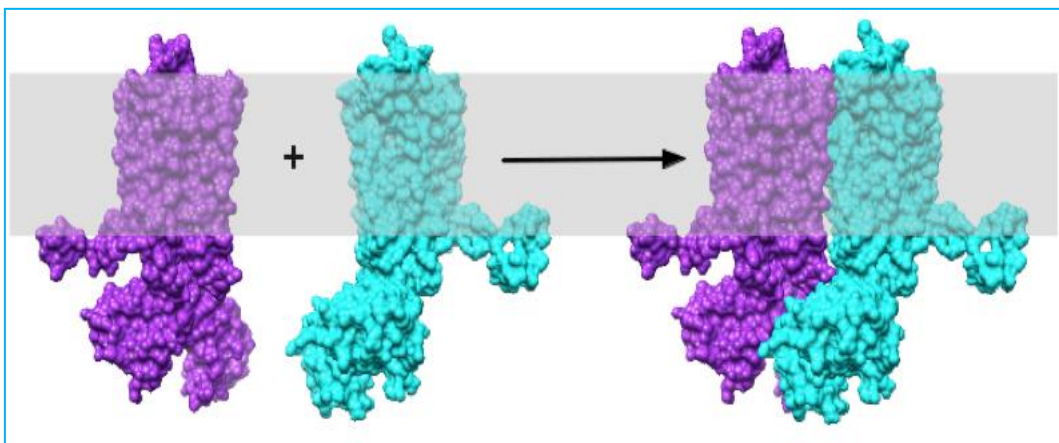


Figure I.2. Représentation schématique du docking de deux molécules

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

En principe, un docking peut être fait de façon « manuelle » directement par le modélisateur, en plaçant le ligand dans le site actif de la protéine à l'aide d'une interface graphique. Ensuite, la géométrie de l'ensemble est optimisée de manière à corriger les problèmes stériques et obtenir un complexe énergétiquement stable. Cette approche est appliquée quand on a une idée précise du mode d'interaction réel du ligand [47].

a. Protocole Générale de Docking

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

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

Le docking reste une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et par suite la conception de médicaments. Les approches dans le cadre du docking sont basées sur le concept "clé-serrure". L'étape de docking présenté dans la figure I.3.

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

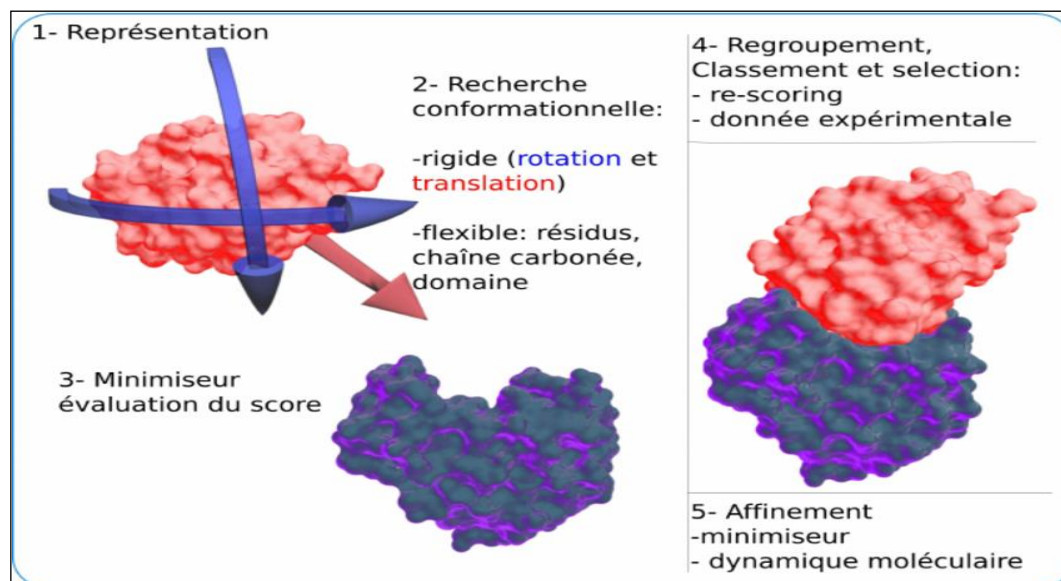


Figure I.3. Étapes de docking

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

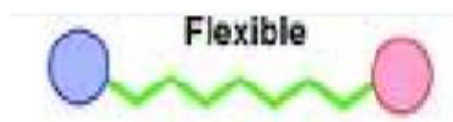
On peut distinguer trois niveaux de docking :

Tableau I.3. Nature de docking

Docking	Nature de docking
<i>docking rigide</i> : est bien sûr le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine.	<p>Rigid</p>
<i>docking semi-flexible</i> : est "asymétrique" généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible, la protéine gardée rigide.	<p>Semi-rigid</p>

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

docking flexible : enfin, traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité permise est limitée, simplifiée par des modèles [48].



b. Programmes de docking moléculaire

En général le choix d'un programme donne pour un criblage virtuel par docking, on besoin de connaitre en combien du temps, avec quelle précision [49,50]. Parmi ces programmes d'amarrage moléculaire on peut trouver : comme GOLD [51], FlexX [52], DOCK [53], AutoDock [54], MOE [55] ou bien UCSF Chimera [56] et Molegro Virtuel Docker (MVD)[57,58].

L'application des programmes d'amarrage permet de conduite à de nombreux réussite dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives 59

I.3. Définition d'ADME

Pour être efficace en tant que médicament, une molécule puissante doit atteindre sa cible dans le corps en concentration suffisante, et y rester sous une forme bioactive suffisamment longtemps pour que les événements biologiques attendus se produisent. Le développement de médicaments implique l'évaluation de l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion (ADME) de plus en plus tôt dans le processus de découverte, à un stade où les composés considérés sont nombreux mais l'accès aux échantillons physiques est limité. Dans ce contexte, les modèles informatiques constituent des alternatives valables aux expériences. Une grande variété de méthodes in silico partagent l'objectif de prédire les paramètres ADME à partir de la structure moléculaire [60]. À noter, le travail pionnier de Lipinski et al examiné des composés actifs par voie orale pour définir des intervalles physicochimiques pour une probabilité élevée d'être un médicament oral. (C'est-à-dire la ressemblance médicamenteuse) [61]. C'est ce que l'on appelle *la Rule-of-delve* qui définit la relation entre les paramètres pharmacocinétiques et physicochimiques.

En outre, la pharmacocinétique (comme l'absorption, gastro-intestinale) et la pharmacorésistance prédiction telles que les règles de Lipinski, et le score de biodisponibilité [62,63]. Le Lipinski est une règle appliquée pour évaluer la druglikeness pour prédire si un composé est susceptible d'être bioactif selon certains

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

paramètres importants tels que le poids moléculaire, LogP, le nombre de HPA et HBD.

L'outil suisse ADME a utilisé le vecteur algorithme de machine (SVM) [64] avec de grands ensembles de données soigneusement nettoyés d'inhibiteurs / non-inhibiteurs connus ainsi que substrats/non-substrats. ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) dépistage aide à détecter la probabilité de drogue de composés. Le format SMILES des ligands a été chargé dans le serveur SwissADME [65], et ADME le criblage a été effectué aux paramètres par défaut.

I.3.1.La pharmacocinétique

Pharmacocinétique est traditionnellement définie comme l'étude du sort des médicaments dans l'organisme [66], depuis leur absorption jusqu'à leur élimination. Cette discipline permet ainsi de relier les doses de médicaments administrées aux concentrations sanguines observées, et de décrire leur évolution en fonction du temps. Parmi les notions fréquemment utilisées en pharmacocinétique, citons : La biodisponibilité : désigne la fraction de la dose de médicament administrée qui atteint la circulation systémique, et la vitesse à laquelle elle l'atteint. Elle reflète principalement la phase d'absorption.

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

- ✓ Il est possible de décomposer le circuit du médicament dans l'organisme en quatre phases : une phase de résorption, ou d'absorption, qui correspond au passage du médicament de son site d'administration vers la circulation systémique.
- ✓ une phase de distribution, correspondant à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme.
- ✓ une phase de métabolisme, décrivant la transformation du médicament par l'organisme.
- ✓ une phase d'élimination, s'intéressant aux processus d'élimination du médicament par l'organisme [67].

a) Absorption

Dans la majorité des situations rencontrées en clinique, le site d'administration du médicament est distinct de son site d'action : administration par voie orale d'un médicament dont le site d'action pourra être le cœur, les vaisseaux, les reins par

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

exemple. Le site de l'administration, le tube digestif dans la situation présentée ici, n'est qu'un lieu de transit, le médicament étant ensuite véhiculé dans l'organisme par la circulation sanguine. L'absorption correspond donc au passage du médicament de son site d'administration à la circulation sanguine générale, au travers de membranes biologiques. Avant toute absorption, il est souvent nécessaire que le principe actif soit libéré de la forme galénique : dissolution du comprimé, ou de la paroi de la gélule. Plusieurs phénomènes interviennent ensuite dans l'absorption des médicaments : d'une manière schématique, on peut distinguer des phénomènes d'absorption actifs et des phénomènes d'absorption passifs.

b) Distribution

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

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

c) Métabolisme

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

d) Elimination

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

L'élimination d'un médicament de l'organisme peut se faire par différentes voies : urinaire, biliaire, respiratoire (dans l'air expiré), cutanée (par la sueur), salivaire, ou dans le lait maternel. Les voies principales sont l'élimination par les reins dans les urines, et l'élimination par le foie dans la bile. Pour un certain nombre de voie d'élimination, un phénomène de réabsorption du médicament peut être rencontré, qui contribue à diminuer ou ralentir l'élimination du médicament. Les mécanismes décrits pour l'absorption sont également retrouvés pour l'élimination (diffusion passive, transport actif, pinocytose...).

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

Références

- [1] Rachedi, K. O., Ouk, T. S., Bahadi, R., Bouzina, A., Djouad, S. E., Bechlem, K., ... & Berredjem, M. (2019). Synthesis, DFT and POM analyses of cytotoxicity activity of α -amidophosphonates derivatives: Identification of potential antiviral O, O-pharmacophore site. *Journal of Molecular Structure*, 1197, 196-203.
- [2] Yi, S. S., Reichert, E. L., Holthausen, M. C., Koch, W., & Weisshaar, J. C. (2000). Crossed-beam study of Co^+ (3F_4) $^+$ propane: Experiment and density functional theory. *Chemistry—A European Journal*, 6(12), 2232-2245.
- [3] Kribaa Khedidja, Nouioua Selsabil. "Etude des différentes modes d'interactions entre la monoamine oxydase B et une nouvelle série des molécules: Approche de Docking/dynamique moléculaire et ADME."
- [4] Martz, François. *Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques*. Diss. Université Paris Sud-Paris XI, 2014.
- [5] BOUKLI-HACENE, Faiza..Etude de l'interaction de quelques sels de métaux avec les sucres en solution aqueuse par modélisation moléculaire, Thèse de doctorat **22-jui-2016 tlemcen**
- [6] Dugas, H. (1996). Principes de base en modélisation moléculaire. *Aspects théoriques et pratiques, Chapitre, 3*.
- [7] Boyd, D. B., & Lipkowitz, K. B. (1982). Molecular mechanics: The method and its underlying philosophy. *Journal of Chemical Education*, 59(4), 269.
- [8] Weinberg, S. (1997). *Le rêve d'une théorie ultime*. Odile Jacob..
- [9] Green, M. M., Boyle, B. A., Vairamani, M., Mukhopadhyay, T., Saunders, W. H., Bowen, P., & Allinger, N. L. (1986). Temperature-dependent stereoselectivity and hydrogen deuterium kinetic isotope effect for. gamma.-hydrogen transfer to 2-hexyloxy radical. The transition state for the Barton reaction. *Journal of the American Chemical Society*, 108(9), 2381-2387.
- [10] HAMMADI Ilham, H. N. Etude de la relation structure-activité des dérivés bioactives d'un hétérocycle (2-pyridyle pyrimidine).
- [11] Young, D. (2004). *Computational chemistry: a practical guide for applying techniques to real world problems*. John Wiley & Sons.
- [12] Chrysos, J., Hladik, M. P. E., & Ancarani, L. U. (1997). Mécanique quantique.

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

- [13] Hubbell, J. H. (2006). Electron–positron pair production by photons: A historical overview. *Radiation Physics and Chemistry*, 75(6), 614-623.
- [14] Buron, F., Ple, N., Turck, A., & Marsais, F. (2006). Metal-halogen exchange using tri-n-butyl lithium magnesate in the diazine series: diazine 49. *Synlett*, 2006(10), 1586-1588.
- [15] Leach, A. R. (2001). Empirical force field models: molecular mechanics. A. Leach, *Molecular Modelling: principles and applications*, 165-252.
- [16] Karzazi, Y. (1996). *Structure électronique et champ de forces moléculaire des cycloimmonium ylures* (Doctoral dissertation, Lille 1).
- [17]. Andrews, D. H. (1930). The relation between the Raman spectra and the structure of organic molecules. *Physical Review*, 36(3), 544.
- [18] Burkert, U. N. L. A., & Allinger, N. L. (1982). *Molecular Mechanics*, Am. Chem. Soc.
- [19] Bures, M. G. (1999). *Molecular Mechanics and Conformational Analysis in Drug Design* By GM Keseru and I. Kolossvary. Blackwell Science, Oxford, UK 1999. viii+ 168 pp. 18× 25 cm. ISBN 0-632-05289-9.£ 49.50.
- [20] LEBBAD, F. *Etude par modélisation moléculaire des mécanismes de complexation* (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid).
- [21] LOMAS, J. (1986). La mécanique moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entités moléculaires. *L'actualité chimique*, 5, 7-22.
- [23] Lipkowitz, K. (1995). Abuses of molecular mechanics: pitfalls to avoid. *Journal of chemical education*, 72(12), 1070.
- [24] Comba, P., & Remenyi, R. (2003). Inorganic and bioinorganic molecular mechanics modeling—the problem of the force field parameterization. *Coordination chemistry reviews*, 238, 9-20.
- [25] Bourezg Samah, Souici Souria. "Etude par modélisation moléculaire de la migration sigmatropique de la liaison d'hydrogène dans des dérivés de l'ADN."
- [26] Allinger, N. L. (1976). Calculation of molecular structure and energy by force-field methods. In *Advances in physical organic chemistry* (Vol. 13, pp. 1-82). Academic Press.

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

- [27]. Allinger, N. L. (1977). Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. *Journal of the American Chemical Society*, 99(25), 8127-8134.
- [28] Allinger, N. L., Yuh, Y. H., & Lii, J. H. (1989). Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 1. *Journal of the American Chemical Society*, 111(23), 8551-8566.
- [29]. Allinger, N. L., Chen, K., & Lii, J. H. (1996). An improved force field (MM4) for saturated hydrocarbons. *Journal of computational chemistry*, 17(5-6), 642-668.
- [30]. Duffy, E. M., Kowalczyk, P. J., & Jorgensen, W. L. (1993). Do denaturants interact with aromatic hydrocarbons in water?. *Journal of the American Chemical Society*, 115(20), 9271-9275.
- [31]. Van Gunsteren, W. F., & Karplus, M. (1982). Effect of constraints on the dynamics of macromolecules. *Macromolecules*, 15(6), 1528-1544.
- [32] Janežič, D., & Brooks, B. R. (1995). Harmonic analysis of large systems. II. Comparison of different protein models. *Journal of Computational Chemistry*, 16(12), 1543-1553.
- [33]. Smith, J. C., & Karplus, M. (1992). Empirical force field study of geometries and conformational transitions of some organic molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 114(3), 801-812.
- [34]. ZIANI-CHERIF, M. C., ABOU BEKR BELKAID, T. M., BENYAROU, M., ABOU BEKR, B. E. L. K. A. I. D., BEGHALIA, T. M. M., & UNIVERSITAIRE, R. Etude de la Structure de la β -Secretase et de ses Interactions avec des inhibiteurs par Modélisation Moléculaire: Cas de la Maladie d'Alzheimer.
- [35]. Bouraoui, A., Fathallah, M., Blaive, B., Gallo, R., & Mhenni, F. (1990). Design and molecular mechanics calculations of new iron chelates. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (7), 1211-1214.
- [36]. Abdelli, I., Sari, S., Ziani-Cherif, C., & Ghalem, S. (2007). Theoretical Study of The Inhibition of beta-secretase. *Asian Journal of Chemistry*, 19(7), 5407.
- [37]. Zinelabidine, A., Bouraoui, A., Mhenni, F., Blaive, B., & Gallo, R. (1993). Molecular mechanics modelling of siderophores. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 286, 267-274.
- [38]. Blaive, B., Legsai, G., & Lai, R. (1995). Utilization of d0, d1, d2 electron configurations to obtain parameters for transition metals in the molecular mechanics

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

- of dioxo-or diimido-tetrahedral complexes (Cr, Mo, Re, Os). *Journal of molecular structure*, 354(3), 245-250.
- [39] Dugas, H. (1996). Principes de base en modélisation moléculaire. *Aspects théoriques et pratiques, Chapitre, 3*.
- [40] Alder, B. J., & Wainwright, T. E. (1957). Phase transition for a hard sphere system. *The Journal of chemical physics*, 27(5), 1208-1209.
- [41] Rahman, A., & Eberly, J. H. (1964). *Phys. Rev. A. Phys. Rev*, 136, 405.
- [42] Rahman, A., & Stillinger, F. H. (1973). Hydrogen-bond patterns in liquid water. *Journal of the American Chemical Society*, 95(24), 7943-7948.
- [43] Frenkel, D., Smit, B., & Ratner, M. A. (1996). *Understanding molecular simulation: from algorithms to applications* (Vol. 2). San Diego: Academic press.
- [44] Phillips, J. C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., ... & Schulten, K. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of computational chemistry*, 26(16), 1781-1802.
- [45] Oda, A., Yamaotsu, N., & Hirono, S. (2004). Studies of binding modes of (S)-mephenytoin to wild types and mutants of cytochrome P450 2C19 and 2C9 using homology modeling and computational docking. *Pharmaceutical research*, 21(12), 2270-2278.
- [46] McCammon, J. A., & Harvey, S. C. (1987). Dynamics of proteins and nucleic acids cambridge univ. Press, New York.
- [47] Warren, G. L., Andrews, C. W., Capelli, A. M., Clarke, B., LaLonde, J., Lambert, M. H., ... & Head, M. S. (2006). A critical assessment of docking programs and scoring functions. *Journal of medicinal chemistry*, 49(20), 5912-5931.
- [48] Jain, A. N. (2006). Scoring functions for protein-ligand docking. *Current Protein and Peptide Science*, 7(5), 407-420.
- [49]. Brooijmans, N., & Kuntz, I. D. (2003). Molecular recognition and docking algorithms. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, 32(1), 335-373.
- 50] Walters, W. P., Stahl, M. T., & Murcko, M. A. (1998). Virtual screening—an overview. *Drug discovery today*, 3(4), 160-178.
- [51] Beaudrait, A., Leroux, V., Chavent, M., Ghemtio, L., Devignes, M. D., Smail-Tabbone, M., ... & Maigret, B. (2008). Multiple-step virtual screening using VSM-G: overview and validation of fast geometrical matching enrichment. *Journal of molecular modeling*, 14(2), 135-148.

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

- [52] Jones, G., Willett, P., & Glen, R. C. (1995). Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *Journal of molecular biology*, 245(1), 43-53.
- [53] Kufareva, I., Rueda, M., Katritch, V., Dock, G. P. C. R., Stevens, R. C., & Abagyan, R. (2011). Status of GPCR modeling and docking as reflected by community-wide GPCR Dock 2010 assessment. *Structure*, 19(8), 1108-1126.
- [54] Kuntz, I. D., Blaney, J. M., Oatley, S. J., Langridge, R., & Ferrin, T. E. (1982). A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 161(2), 269-288.
- [55] Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (1990). Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 8(3), 195-202.
- [56]. Vilar, S., Cozza, G., & Moro, S. (2008). Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery. *Current topics in medicinal chemistry*, 8(18), 1555-1572.
- [57] Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, 25(13), 1605-1612.
- [58] Tanaka, K. D., Kawai, Y. K., Ikenaka, Y., Harunari, T., Tanikawa, T., Ando, S., ... & Ishizuka, M. (2012). The genetic mechanisms of warfarin resistance in *Rattus rattus* found in the wild in Japan. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(2), 144-151.
- [59] Soufi, W., Merad, M., Hacene, F. B., & Ghalem, S. Study of Monoamine Oxidase-B and Indole Derivatives Using Two Molecular Docking Programs: Molegro and MOE.
- [60] Tian, S., Wang, J., Li, Y., Li, D., Xu, L., & Hou, T. (2015). The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research. *Advanced drug delivery reviews*, 86, 2-10.
- [61] Tian, S., Wang, J., Li, Y., Li, D., Xu, L., & Hou, T. (2015). The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research. *Advanced drug delivery reviews*, 86, 2-10.
- [62] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in

CHAPITRE 1 : Méthodes de la Modélisation Moléculaire

drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.

[63]Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997).

Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.

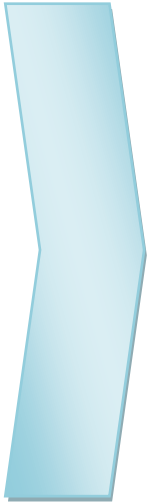
[64]Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of combinatorial chemistry*, 1(1), 55-68.

[65]Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12), 2615-2623.

[66]Zhou, X., Zhang, X., & Wang, B. (2016). Online support vector machine: A survey. In *Harmony Search Algorithm* (pp. 269-278). Springer, Berlin, Heidelberg.

[67]David, S., Toluwase, F., & Oluwasegun, O. (2017). Bioinformatics Analysis of Garcinia Kola Active Components and Glycoproteins of Ebola Virus (Zaire Ebolavirus). *J. Chem. Pharm*, 9(4), 364-370

[68]Ritschel, W. A. (1986). Handbook of Basic Pharmacokinetics. 3rd. Ed. Hamilton, IL: Drug Intelligence Publications Inc



CHAPIRE 2

Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

II.1. Introduction

En chimie médicinale moderne, la découverte des petites molécules organiques susceptibles d'être optimisées en structure tridimensionnelle (mais dont la possibilité de la présence des effets indésirable et la toxicité) et par qui conduit à un futur médicament capable de moduler efficacement l'activité biologique d'une cible thérapeutique, reste un défi majeur responsables d'une maladie. En général, ces cibles sont un constituant d'une entité biologique associée à la maladie, tels un virus, une bactérie ou un parasite. Grâce à leur petite taille, ces fragments sont plus susceptibles de se lier de manière efficace dans le site actif d'une cible (enzyme, récepteur) et représentent donc une opportunité unique pour le développement [1].

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

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

Par conséquent, leur étude a une énorme importance dans la compréhension du fonctionnement du corps humain et dans la lutte contre les maladies mortelles. À cause de la très grande complexité des protéines, (la taille moyenne d'une protéine est de plusieurs milliers d'atomes), un traitement informatique est nécessaire pour analyser leur structure [3].

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

II.2. Les protéines

Le terme « protéine » vient du grec « prôtos » qui signifie « premier, essentiel », elles sont découvertes à la fin des années 1830 par un chimiste hollandais, Gerhard Mulder [4]. Principalement par les protéines. Ces macromolécules possèdent une diversité de fonctions nécessaires aux processus responsables de l'homéostasie, du métabolisme, du développement, de la reproduction et de l'adaptation à l'environnement de tous les organismes. Aucun autre type de macromolécule biologique n'est en mesure de posséder les multitudes de fonctions que les protéines assurent et qu'elles ont

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

accumulées durant les millions d'années d'évolution depuis l'apparition de la vie. Ces fonctions, aussi importantes que diverses, peuvent être simples comme la catalyse de réactions chimiques, à très complexes comme la réponse immunitaire coordonnée et organisée ou encore la compression et l'expression du matériel génétique [5]. La structure est le support moléculaire de la fonction biologique de la protéine. L'organisation tridimensionnelle et spatiale de la « chaîne polypeptidique » est ainsi étroitement liée à sa fonction par la position des atomes qui la compose. Les structures 3D de protéine. C'est dans ce contexte, que les approches *in silico* pour la prédiction de la structure protéique se révèlent utiles pour accéder à l'information 3D d'une protéine. En outre, les méthodes de bioinformatique nous permettent d'accroître nos connaissances sur la structure et l'architecture des protéines [6].

II.2.1. Définition des protéines

Chimiquement, les protéines sont des polymères non branchés d'acides aminés liés par la composition de liaisons peptidiques covalentes, entre le groupe α -carboxylique d'un acide aminé et groupe α -amine de l'acide aminé suivant [7]. En général toutes les protéines contiennent les quatre éléments : C, H, O et N; beaucoup contiennent du soufre, certaines renferment du phosphore. La teneur en azote des protéines est environs de 16% (en masse), de sorte qu'après avoir isolé des protéines on peut en estimer la quantité approximative par un simple dosage d'azote [8].

II.2.2 La liaison peptidique

- Les acides aminés sont les éléments de construction des protéines.
- Il y a 21 acides aminés, mais un seul type de liaison utilisé pour les relier entre eux: c'est la liaison peptidique. Les 2 acides aminés sont alors appelés résidus d'acide aminé.
- La liaison peptidique est formée durant l'étape de traduction par une liaison covalente entre un groupement α -aminé d'un acide aminé et le groupement carboxylique d'un autre acide aminé. Une molécule d'eau est éliminée.
- La liaison peptidique 3 Formation d'une liaison covalente entre le COOH d'1 AA et le NH₂ d'un autre AA par perte d'une molécule d'eau [9] :

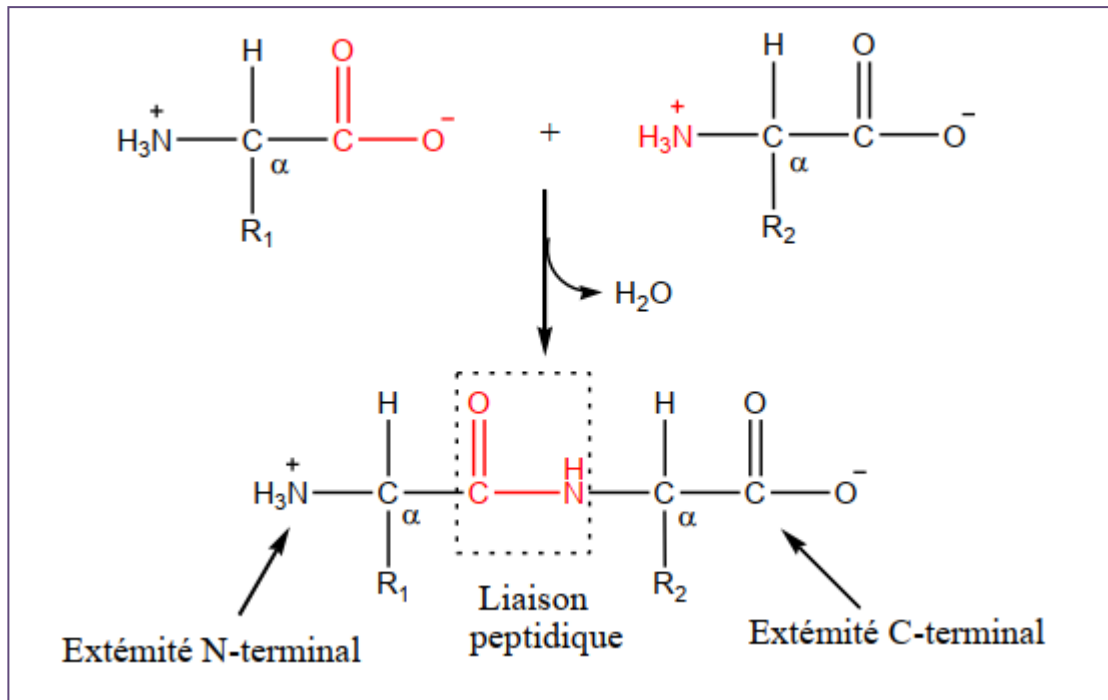


Figure I.1 : Formation d'une liaison peptidique.

Comme l'oxygène est plus électronégatif que l'azote, les électrons délocalisés de la liaison peptidique sont plus proches de l'oxygène : la liaison peptidique est donc polaire. L'oxygène carbonyle porte une charge partielle négative et l'azote une charge partielle positive : tous deux peuvent former une liaison hydrogène [10].

II.2.3 Structure des protéines

Les protéines sont constituées d'une succession d'acides aminés (vingt types différents chez l'homme); la chaîne ainsi formée se replie pour aboutir à la forme active de la protéine. Cette conformation totalement repliée correspond à la forme la plus stable de la protéine dans des conditions normales. On distingue quatre niveaux d'organisation structurale pour une protéine, respectivement appelés structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire [11].

II.2.3.1 Structure primaire :

La structure primaire correspond à la séquence proprement dite de la protéine, c'est-à-dire l'enchaînement des acides aminés par la liaison peptidiques [12].]. On ne dénombre pas Moins de 20 acides aminés qui ne diffère les uns des autres que par leur chaîne latérale (Groupement R) portée par le C α . On parle de peptide lorsque le nombre de Résidus formant la molécule est inférieur à 50 et de protéine au-delà de 50 résidus.

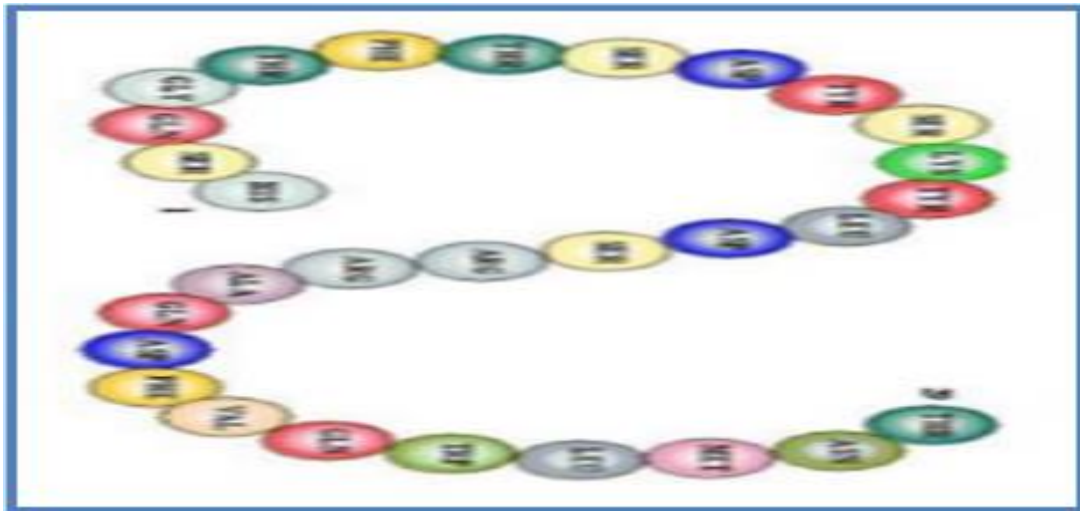


Figure II. 1. Structure primaire

II.2.3.2. Structure secondaire

La structure secondaire d'une protéine est définie comme la conformation locale de la chaîne polypeptidique. L'existence de structures secondaires, provient du fait que les repliements énergétiquement favorables de la chaîne peptidique sont limités et que seules certaines conformations sont possibles. De plus, certaines d'entre elles se trouvent nettement favorisées car stabilisées par des liaisons hydrogène entre les groupements amides (-NH) et carbonyles (-CO) du squelette peptidique. En 1951, avant

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

la détermination de la première structure protéique, Linus Pauling, Robert Corey et Herman Branson, sur des considérations théoriques, proposent l'existence d'une forme α des structures secondaires, composée de l'hélice droite et de l'hélice gauche [13]. Par la suite ils proposent l'existence d'une autre forme appelée β , organisée sous forme de feuillets [14]. Ces structures secondaires furent observées dans la première structure protéique résolue de la myoglobine en 1958 [15], ainsi qu'en 1965 dans la structure du lysozyme confirmant les calculs de Linus Pauling et collaborateurs [16]. La structure secondaire d'une protéine correspond aux repliements qu'adoptent les Portions partielles de la séquence protéique, caractérisées par les angles dièdres ω , ϕ , ψ de Leurs résidus (Figure 3) et par la présence de certaines liaisons hydrogène [17].

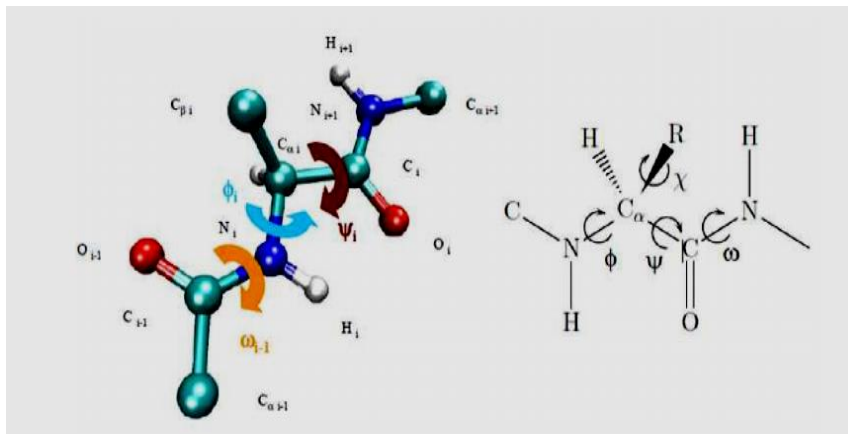


Figure II. 3 :
Définition des angles

II.2.3.3. Structure tertiaire

La structure tertiaire des protéines correspond au repliement et à l'assemblage des différents éléments de structures secondaires. Cette structure correspond en fait à la structure tridimensionnelle (structure3D) de la protéine (Figure II.4). Ce sont des interactions non liantes de types électrostatiques et de Van Der Waals, ainsi que les ponts salins, les liaisons hydrogènes et les ponts disulfures qui permettent de stabiliser ce type de structure [18].

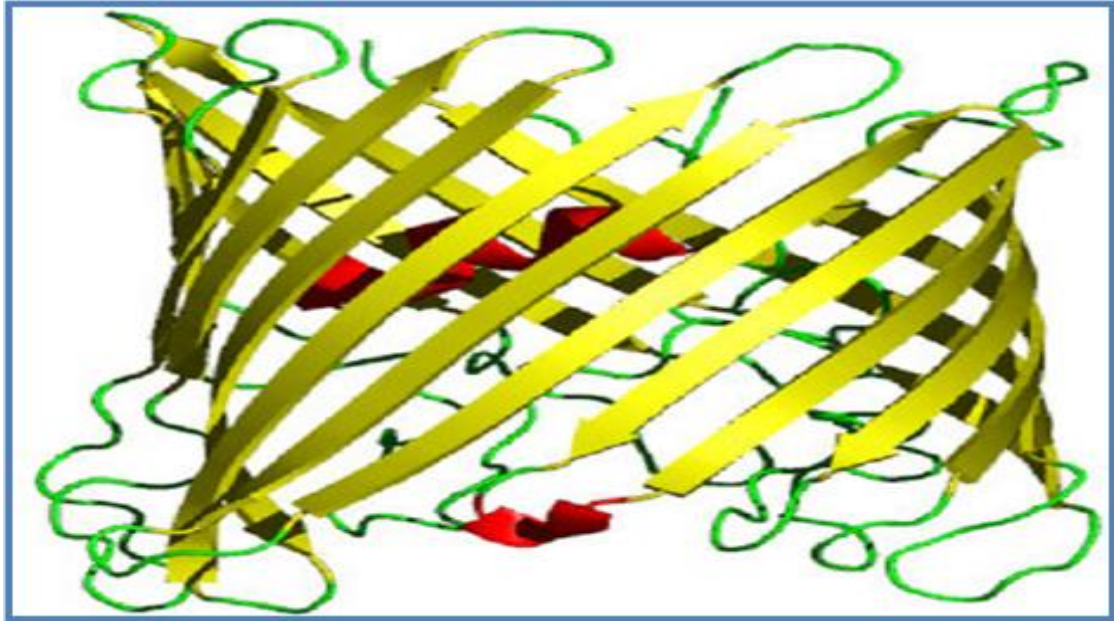


Figure II.4 .Structure tertiaire de la porine (code PDB 1E54)

II.2.3.4. Structure quaternaire

Cette structure est le niveau le plus élevé d'organisation des protéines. Elle concerne les protéines constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques. L'assemblage de ces sous-unités entre elles par des liaisons faibles constitue la structure quaternaire de la protéine (Figure II.5). [19].

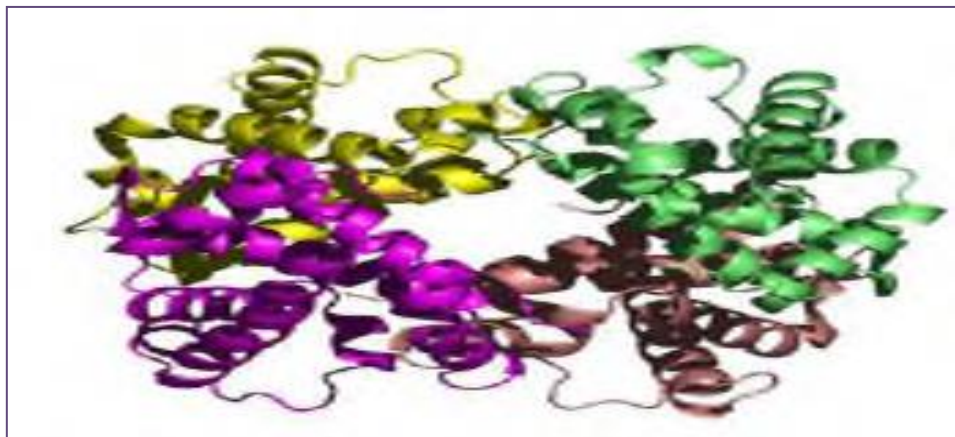


Figure II.5 : Structure quaternaire d'une protéine [20].

II.2.4. Les fonctions des protéines

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

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

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

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

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

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

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

Les protéines sont indispensables au métabolisme actif de l'organisme et ont un rôle aussi bien intracellulaire qu'extracellulaire. Il n'existe pas dans l'organisme de stock d'acides aminés « de réserve ». Néanmoins, essentiellement par une augmentation du catabolisme protéique qui se fait au détriment de la masse maigre, c'est-à-dire principalement du muscle [20].

II.3 Les enzymes

Le mot enzyme vient des racines grecques *en* (dans) *zume* (levain). Les premières enzymes identifiées ont été extraites des levures, ces microorganismes responsables de la transformation du glucose en alcool. Dans les cellules, les enzymes permettent aux réactions de se produire avec peu d'énergie. Souvent, la seule énergie cinétique des molécules à la température ambiante est suffisante pour que la réaction se produise. La plupart des réactions qui se déroulent dans les cellules ne pourraient pas s'y produire sans les enzymes appropriées [21].

II.3.1 Définition

Une enzyme est un catalyseur biologique qui augmente la vitesse d'une réaction par plusieurs ordres de grandeur en diminuant son énergie libre d'activation, sans être elle-même affectée. Certains enzymes sont extrêmement spécifiques et ne fonctionneront que sur un seul et unique réactif (substrat); d'autres ont un large spectre et fonctionnent sur une structure partagée par de nombreuses molécules qui peuvent toutes lui servir de substrat. Une enzyme agit comme catalyseur en se liant au substrat et facilite sa réaction en stabilisant son état de transition vers un produit spécifique:

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé



La majorité des enzymes sont des protéines ou des glycoprotéines [22], Les enzymes sont caractérisées par l'identification des molécules sur lesquelles elles agissent [23].

II.3.2. Classification des enzymes

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

Tableau II.1. Représente les classifications des enzymes

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

II.3.3 Nomenclature

Le nom de la plupart des enzymes est bâti en ajoutant le suffixe «-ase» au terme qualifiant la réaction ou encore la nature du substrat (par exemple, le lactate déshydrogénase). D'autres sont désignées par leur nom usuel (par exemple, la pepsine). Chaque enzyme est désignée par un numéro donné par la Commission des Enzymes de l'Union Internationale de la Biochimie Moléculaire. Ce numéro est précédé les lettres EC et comporte quatre chiffres séparés par des points : EC (W.X.Y.Z) :

- ▶ Le 1^{er} chiffre : indique la classe de l'enzyme, il en existe six.
- ▶ Le second chiffre : la sous classe, la nature du groupement chimique donneur de groupement, type de fonction du substrat métabolisé.
- ▶ Le troisième chiffre : la sous-sous-classe, indique la nature chimique de l'accepteur.
- ▶ Le quatrième chiffre : numéro d'ordre de l'enzyme (dans la sous classe), en relation avec le substrat de l'enzyme [25].

II.3.4. Notion spécificité

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

Chaque enzyme a un double spécificité, spécificité de reconnaissance des molécules avec lesquelles il est en interaction, spécificité de type de réaction qu'il catalyse [26]. A la fin de la réaction la structure de l'enzyme se retrouve inchangée. Leur mode d'action est basé sur la reconnaissance spécifique du substrat par un domaine particulier chez l'enzyme (site actif ou site catalytique). L'activité enzymatique est liée à la structure tertiaire de l'enzyme, et notamment à celle du site actif. Des facteurs comme le pH ou la température, pouvant influencer cette structure tridimensionnelle ou encore l'état d'ionisation du site actif, affectent fortement l'activité enzymatique. Chaque enzyme possède donc une température et un pH d'activité optimale [27].

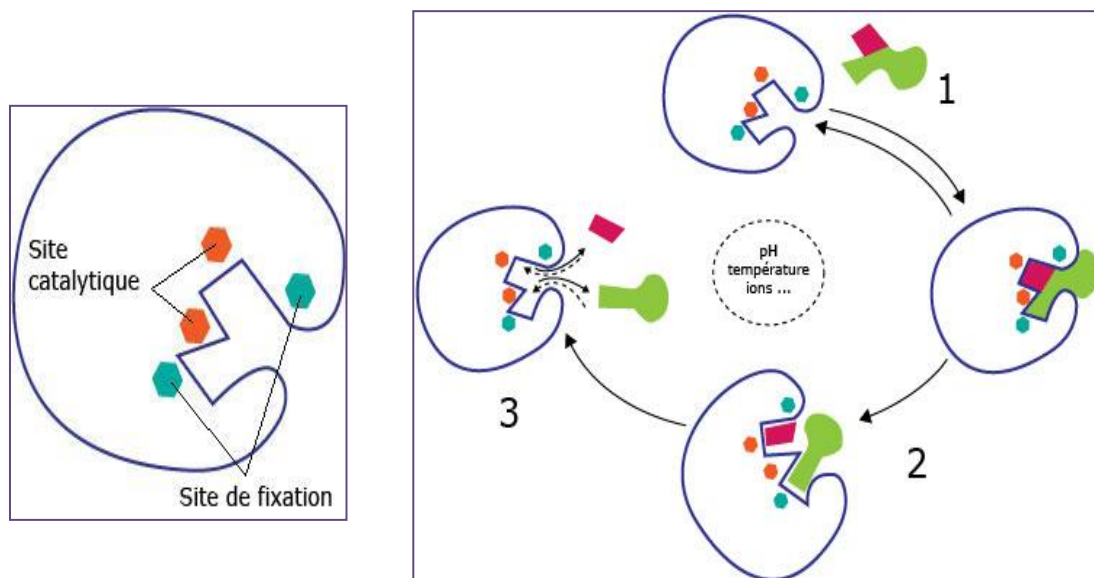


Figure II. 6: Représentation schématique de la notion de spécificité.

II.3.5 Le site actif

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

- ▶ Modèle de fisher (1890) : modèle de la clé et de la serrure La forme de substrat (clé) est complémentaire de celle de site actif de l'enzyme (la serrure).
- ▶ Modèle de Koshland (1985) : modèle de l'ajustement induit L'enzyme n'est pas rigide, mais flexible, l'enzyme et le substrat adaptent mutuellement leurs formes

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

respectives, qui ne sont complémentaire qu'au sein du complexe enzyme substrat [28].

II.3.6. Cofacteurs

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

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

II.3.7. Complexe enzyme-substrat (E-S)

Les enzymes sont des catalyseurs efficaces parce que les réactions enzymatiques sont accélérées par rapport aux réactions non enzymatiques d'un facteur 10^8 à 10^{10} , ce qui correspond aux valeurs que les catalyseurs chimiques peuvent atteindre [29].

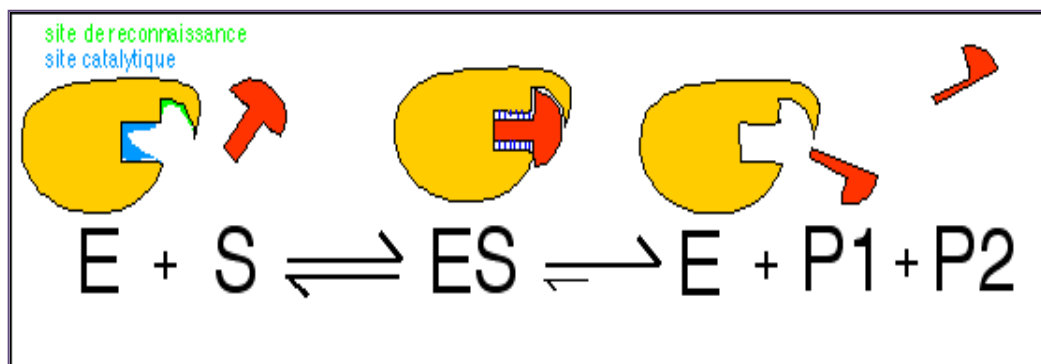


Figure II.7 : Complexe Enzyme-Substrat

II.

3.8. Inhibition Enzymatique

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

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

L'organisation de l'activité enzymatique peut être assurée par des composés appelés effecteurs (activateurs ou inhibiteurs) qui sont généralement de faible masse moléculaire. Ils agissent directement ou indirectement sur le site actif de l'enzyme. Les effecteurs positifs (activateurs) stabilisent la configuration catalytique active de l'enzyme et accroissent ainsi son activité. Les effecteurs négatifs (inhibiteurs) agissent au contraire en se liant à l'enzyme pour diminuer son activité catalytique [30]. Les inhibiteurs naturels peuvent prendre de multiples formes : antibiotiques, toxines, drogues, poison [31].

Si la vitesse d'une réaction enzymatique diminue dans des conditions où l'enzyme n'est pas dénaturée, cela signifie que l'enzyme est inhibée [32]. De nombreuses substances modifient l'activité d'une enzyme en s'y combinant, ce qui altère la liaison du substrat et/ou sa constante catalytique. Les substances qui diminuent ainsi l'activité d'une enzyme sont appelées des inhibiteurs. Les inhibiteurs sont généralement des molécules de structure voisine du substrat, qui ne donnent pas de réaction ou réagissent beaucoup plus lentement que le substrat. L'étude de l'effet d'inhibiteur est fréquemment utilisée pour déterminer le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, de mieux connaître la spécificité d'une enzyme ainsi qu'obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif de l'enzyme [33]. Les inhibiteurs d'enzymes peuvent être classés en deux types : inhibiteurs réversibles et inhibiteurs irréversibles. Les inhibiteurs réversibles s'associent à l'enzyme de manière non covalente, alors que les inhibiteurs irréversibles forment des liaisons covalentes stables avec l'enzyme. L'effet net de l'inhibition correspond à une diminution de la concentration de l'enzyme active [34].

II.3.8.1.. Les inhibiteurs réversibles

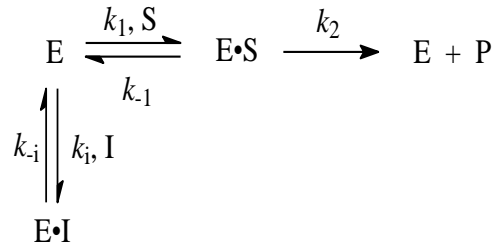
Les inhibiteurs réversibles se répartissent en deux catégories principales, les inhibiteurs compétitifs et les inhibiteurs non compétitifs (on connaît quelques autres catégories, mais moins fréquemment observées) [35].

a) Inhibition compétitive

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

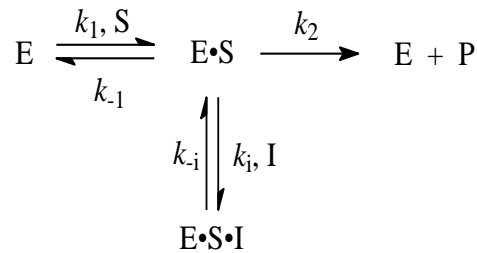
Un inhibiteur compétitif est capable, par sa proximité de structure, de se lier compétitivement par rapport au substrat au site de liaison de l'enzyme. Cette liaison empêche cependant la réaction catalytique du fait de la différence de structure entre le compétiteur et le substrat.

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



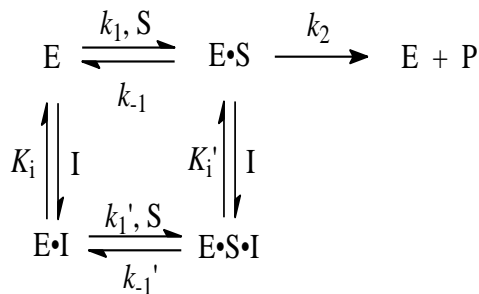
b) Inhibition incompétitive (ou anti compétitive)

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



c) Inhibition non compétitive ou mixte

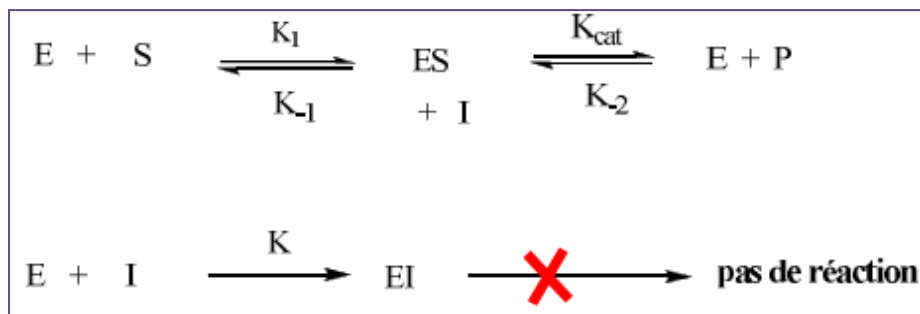
Si l'enzyme et le complexe Enzyme-Substrat lient l'inhibiteur I, on schématise la réaction par : [36]



II.3.8.2 Inhibition irréversible

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

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



L'étude de l'effet des inhibiteurs irréversibles est souvent utilisée pour déterminer les groupes actifs du site catalytique. Un exemple d'in-activateur est le gaz neurotoxique, employé dans la deuxième guerre mondiale, le di-isopropylfluorophosphate (DFP). L'étude de l'effet de ce composé sur l'activité des protéases à sérine a permis d'identifier la sérine 195 et l'histidine 57, les deux résidus impliqués dans la catalyse. La sérine 195 attaque le groupe fluorophosphate du DFP en formant une liaison covalente (phosphoester) qui rend cette inhibition irréversible [37].

II.3.9. Différentes types cinétiques d'inhibiteurs d'enzymes

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

II.4. Les acides aminés

II.4.1. Structure des acides aminés protéiques

Les acides aminés protéiques sont nommés ainsi parce qu'ils constituent les "briques" permettant d'élaborer les protéines. Le "jeu de construction" est le même des bactéries aux organismes supérieurs [36]. Ces acides aminés sont au nombre de 20 et possèdent une structure de base identique, Ils sont tous constitués d'un atome de carbone lié à :

- Un groupement carboxylique $-\text{COOH}$.
- Une fonction amine NH_2 .
- Un atome d'hydrogène.
- Une partie variable R.

Dans la nature, les acides les plus courants sont les α -aminoacides, appelés les aminoacides comme le montre la (Figure 8).

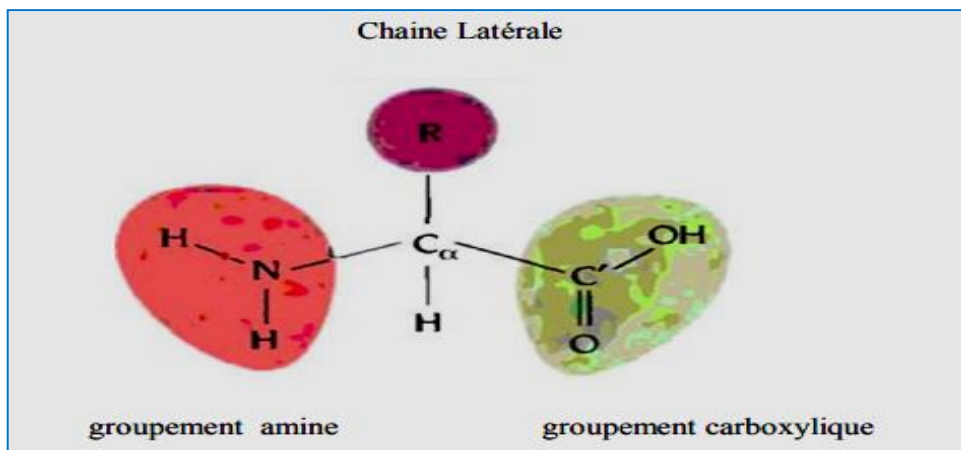


Figure II.8 La structure d'un acide aminé

Les 20 acides aminés sont symbolisés soit par un code à trois lettres (en général les trois premiers du nom) commençant par une majuscule, soit par un code à une seule lettre. Il est important de noter que 8 de ces acides aminés sont indispensables chez l'adulte et 9 chez l'enfant, ce sont [37] :

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

II.4.2. Classification des principaux acides aminés (AA)

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

Il est pratique de classer les acides aminés en fonction du caractère de leurs chaînes latérales, ils entrent à peu près dans quatre catégories : polaire chargés, polaire non chargés, non polaires, et acides aminés doués de propriétés particulières [38].

II.4.2.1. Polaires chargés

Les acides aminés de ce groupe sont l'acide aspartique, l'acide glutamique, la lysine et l'arginine, ces quatre acides aminés possèdent des chaînes latérales dont la charge peut devenir complète parce qu'ils renferment des acides et bases relativement forts [39]. En prenant un pH égal à 7 comme référence. Les acides aminés « acides » comme l'acide aspartique et L'acide glutamique, possèdent des groupements carboxyle supplémentaires qui sont habituellement ionisés (chargés négativement). Les acides aminés « basique » possèdent des groupements chargés positivement [40].

II.4.2.2. Polaires non chargés

Celles-ci contiennent des groupements qui forment des liaisons hydrogène avec l'eau. Associe aux acides aminés chargés, elles sont souvent décrites comme hydrophiles (attirant l'eau), ces acides aminés sont souvent assez réactifs, se trouvent dans cette catégorie l'asparagine et la glutamine (amides des acides aspartique et glutamique), la thréonine, la serine et la tyrosine [41, 42].

II.4.2.3. Non polaires

Les chaînes latérales de ces acides aminés sont hydrophobes et ne sont pas capables de former des liaisons électrostatiques ni de réagir avec l'eau. Les acides aminés de cette catégorie sont l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine, le tryptophane, la phénylalanine et la méthionine. Les chaînes latérales des acides aminés non polaires sont généralement dépourvues d'oxygène et d'azote, ces acides aminés diffèrent surtout par leur taille et leur forme qui donnent à l'un ou l'autre la capacité de s'insérer avec précision dans un espace particulier au cœur d'une protéine, ou ils s'associent entre eux par des forces de Vander Waals et des interactions hydrophobes.

II.4.2.4. Les acides aminés aux propriétés particulières

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

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

deux polypeptides (ou de deux segments d'un même polypeptide). En outre, la glycine est plus flexible que les autres acides aminés et sa présence est utile dans les parties du squelette qui doivent se déplacer ou servir de charnière (la particularité de la de la proline est la participation de son groupement -amine à un cycle ce qui en fait un acide aminé). [43].

II.4.2 Domaines d'utilisation des acides aminés

Les acides aminés sont les principaux constituants des protéines et des enzymes chez les organismes vivants, leur production répond à des besoins alimentaires et thérapeutiques. Beaucoup d'acides aminés sont utilisés au domaine médecine, particulièrement comme ingrédients dans les infusions comme traitement post opératoire. Le tryptophane peut servir d'indicateur de sommeil, et d'antidépresseur. L'arginine est souvent prescrit lors des traitements des désordres hépatiques. Ils sont d'importants constituants de nombreuses denrées alimentaires. La L-lysine et le tryptophane sont les principaux acides aminés ajoutés aux aliments de bétail. L-cystéine agit comme un antioxydant dans les jus de fruits [44].

II.4.3 Le rôle biologique des acides aminés

A) Le rôle de structure :

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

B) Le rôle métabolique :

Les acides aminés, par leur fonction amine, sont les éléments de base du métabolisme azoté. Différents acides aminés exercent un rôle dans le transport de l'azote (glutamine, alanine) ou dans son élimination sous forme d'urée (ornithine et citrulline). Certains acides aminés interviennent aussi dans le métabolisme

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

énergétique puisque leur catabolisme alimente le cycle de Krebs et constituent des substrats de la néogluco-genèse (acides aminés glucoformateurs).

C) Les rôles de médiateurs chimiques et de neurotransmetteurs :

- ▶ L'acide glutamique et l'acide aspartique sont des neurotransmetteurs excitateurs, stimulant la transmission de l'influx nerveux.
- ▶ La glycine est un neuromédiateur inhibiteur que l'on trouve essentiellement dans la moelle épinière [45].

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

Références

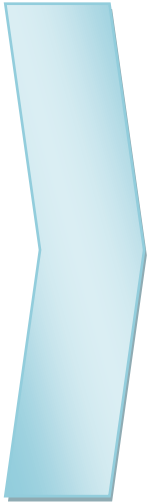
- [1] G. Moroy., Thèse de Doctorat de l'université de Reims Champagne-Ardenne., **2005**.
- [2] V. Muñoz, Protein folding, misfolding and aggregation: classical themes and novel approaches. Edition Royal Society of Chemistry, P89, **2008**.
- [3] H .Lodish., A Berk., P .Matsudaira., C.A .Kaiser, M.Krieger, M.P Scott, Zipursky.,S.L. Darnell J., *Biologie moléculaire de la cellule*. de Boeck Université, chap. 1, **2005**.
- [4] Vivarès, Christian P., and Jean-Louis Cuq. "Physiological and metabolic variations in *Carcinus mediterraneus* (Crustacea: Decapoda) parasitized by *Thelohania maenadis* (Microspora: Microsporida): an ecophysiopathological approach." *Journal of Invertebrate Pathology* 37.1 (1981): 38-46.
- [5] O'Connor, Clare M., Jill U. Adams, and Jennifer Fairman 2010 *Essentials of Cell Biology*. Cambridge: NPG Education.
<https://media.8ch.net/fredu/src/1456166477348.pdf>, accessed July 22, **2016**.
- [6] Berman, H. M., J. Westbrook, Z. Feng, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research* 28(1): 235–242. **2000**.
- [7] H.W .Jacques.biochimie générale ,11^{ème} édition, aminoacide ;peptide ;protéine structures et principales propriétés ,paris, page 1. **2009**.
- [8] K.U. Linderstrom-Lang. *The Lane Medical Lectures*. Stanford University Press, **1952**.
- [9] Adrien Melquionde,Thèse de Doctorat de l'université -Paris 7 - Denis Diderot,**2007**.
- [10] Pierre LOUISOT. *Biochimie générale et médicale, structure, métabolisme, sémiologie*. Edition SIMEP **1983**, 1008 p.
- [11] Adrien Melquionde,Thèse de Doctorat de l'université -Paris 7 - Denis Diderot,**2007**
- [12] *Biochimie structurale 1, Chapitre 4, Biochimie des protéines* 50-63.
- [13] Boumaza S Evaluation rapide des protéines par turbidimétrie : Application à quelques effluents agro-alimentaires avant et après un traitement de clarification. Thèse de Doctorat 3ème cycle, Biochimie Appliquée, Université Badji Mokhtar – ANNABA, P 15. **2015**.

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

- [14] Pauling, L., and R. B. Corey. Configurations of Polypeptide Chains With Favoured Orientations Around Single Bonds: Two New Pleated Sheets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 37(11): 729–740. **1951.**
- [15] Kendrew, J. C. Architecture of a Protein Molecule. *Nature* 182(4638): 764–767. **1958.**
- [16] Blake, C. C. F., D. F. Koenig, G. A. Mair, et al. Structure of Hen Egg-White Lysozyme: A Three-Dimensional Fourier Synthesis at 2 Å Resolution. *Nature* 206(4986): 757–761. **1965.**
- [17] R. Srinivasan and G. Rose. A physical basis for protein secondary structure. *PNAS*, 1999, 96, 14258-14263.
- [18] P. GILLIAND and D-R. CHRISTOPHER. *physiologie humaine*. 3^{ème} édition, Glucide, paris, 11. **1999.**
- [19] Ansari S. et Helms V., Statistical analysis of predominantly transient protein-protein interfaces. *Proteins*, 61(2): 344 – 355. **2005.**
- [20] G.D., Rose and R Wolfenden, Hydrogen bonding, hydrophobicity, packing, and protein folding. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 22: 381-415. **1993.**
- [21] J. Wallach. *Les enzymes*, Edition Nathan de Paris, Vol 161, P128, **1997**
- [22] D.J. Holme, H. Peck, *Analytical Biochemistry*, 3^e éd., 1998
- [23] m/s HISTOIRE DE LA MEDECINE ET DES SCIENCES, Eduard Buchner, ou un siècle d'enzymologie.
- [24] A. Lamari ., *Cours de Biochimie Structurale*. Chapitre 4.75. **2014.**
- [25] W. Jeffery., Keilor. *Inhibition des reactions enzymatiques enzymologie BMC.850* . **2004.**
- [26] Reginald H. GARRETT, Charles M. grisham, *Biochimie*, p428-429. 2000.
- [27] K. P. S Adinarayana, R. P Ashoka, and B. P Ajay. Structural Studies on docking Selective COX-2 Inhibitors, *Journal of bioinformatics & Research*, 1(1): 21-26. 2012.
- [28] Dr KASSOUL.A, *Cours d'ENZYMOLOGIE*, faculté médecine, p 4-5. , **2016.**
- [29] F.M. Menger, *Acc. Chem. Res.*, 1993, 26, p 206
- [30] R.H.P. Law., Q. Zhang, S. McGowan, A. M. Buckle, G. A. Silverman, W. Wong, C. J. Rosado, C. G. Langendorf, R. N. Pike, P. I. Bird et J. C. W hisstock.. «An overview of the serpin superfamily. » *Genome Biol*, vol. 7, no 5 ., 216. **2006.**

CHAPITRE 2 Partie (A): Protéines, Enzyme, acide aminé

- [31] J.van Ryn, M.Pairet. Clinical experience with cyclooxygenase-2 inhibitors. *Inflamm. Res.* **48**, 247- 254. **1999**.
- [32] I.S.G. Bjelaković, G. B. Bjelaković, D. Pavlović, G. Kocić, A. Daković, *Med. Bio*, , 9, 201 - 206. **2002**.
- [33] C.M.G.R. GARRETT, « Biochimie » De Boeck, 2ème Edition américaine. Paris, **2000**.
- [34] Saoussene, Mme LAKEHAL. *Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone: voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l'α-glucosidase*. Diss. Thèse de doctorat, 2016.
- [35] S. Penel., E. Hughes., AJ. Doig Side-chain structures in the first turn of the alpha-helix. *J.Mol Biol* ., **287**: 127–143. **1999**.
- [36] A. Lamari, Cours de Biochimie Structurale. Chapitre 4.75. **2014**.
- [37] D. Z. K. M. B. Čolović, T. D. Lazarević-Pašti, A. M. Bondžić, V. M. Vasić, *Curr.Neuropharm*, 11, 315-335. **2013**.
- [38] L. Stryer, "Biochemistry", 3 édition, chapitre 2, W. H Freeman and company, New York, **1988**
- [39] Chéron, Nicolas. *Approche théorique de la réactivité des isonitriles en chimie organique*. Diss. Ecole normale supérieure de lyon-ENS LYON, 2011.
- [40] Gerald Karp, *Biologie Cellulaire et moléculaire concepts et expérience* ;(ed) de Boek, Belgique, **1998**.
- [41] Gerald Karp, *Biologie Cellulaire et moléculaire concepts et expérience* ;(ed) de Boek , Belgique, **1998**.
- [42] P.C.turner, A.G. Mcleurran et al, *l'essentielle en biologie moléculaire*,(ed),Berti,**2000**.
- [43] P.C.turner, A.G. Mcleurran et al, *l'essentielle en biologie moléculaire*,(ed),Berti,**2000**.
- [44] Mokhtari.Roza, Thèse de Magistere de l'université de Mouloud Mammeri – Tiziouzou, **2012**.
- [45] Bernad. Sablonnière, *Biochimie et Biologie moléculaire*,**2006**.



CHAPIRE 2

Partie (B) : maladie Alzheimer

II.5 Introduction

Aujourd'hui, cette maladie se définit comme une affection dégénérative du cerveau qui associe des troubles prédominants de la mémoire, des troubles cognitifs et/ou du comportement ayant un retentissement sur la vie quotidienne des patients. En effet, elle conduit à une perte de l'autonomie et des fonctions intellectuelles plongeant les patients dans l'isolement. Cette démence dont l'étiologie est encore mal connue, est associée à des lésions histologiques caractéristiques qui la définissent : les plaques amyloïdes [46].

- ▶ La MA affecte un octogénaire sur cinq.
- ▶ La MA constitue un problème de sante publique majeur : avec l'augmentation de l'espérance de vie et le vieillissement de la population, près de 25 millions de personnes sont touchées actuellement dans le monde [47].
- ▶ La MA est une affection neuro-dégénérative qui entraîne une détérioration progressive et définitive des cellules nerveuses. Cette maladie s'accompagne progressivement d'une détérioration intellectuelle induisant des manifestations psychologiques et des troubles du comportement qui conduisent à une perte d'autonomie. C'est la plus fréquente des démences dégénératives. Elle peut toucher des adultes jeunes, mais elle atteint majoritairement les personnes âgées. Elle est en constante évolution du fait de l'augmentation générale de l'espérance de vie et sa prévalence double tous les 5 ans après 65 ans [48].

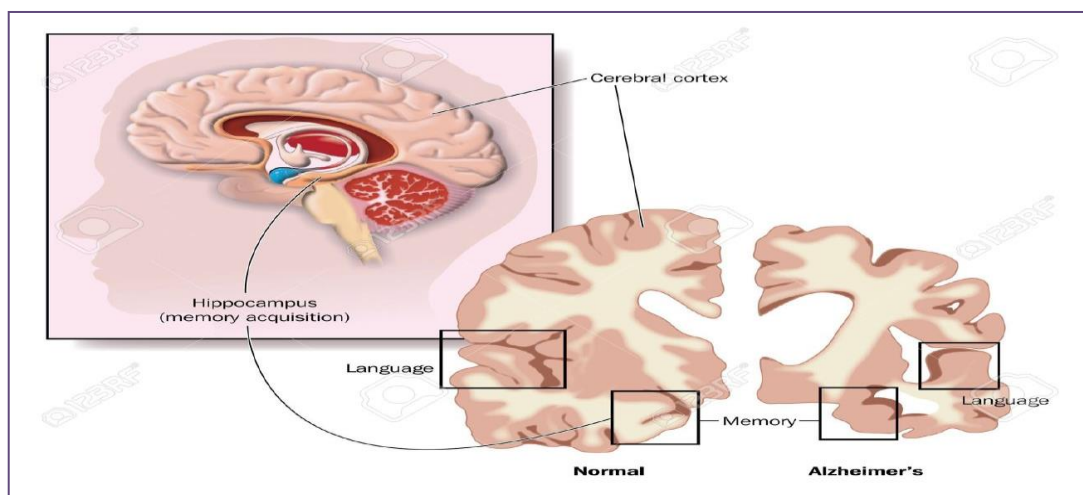


Figure II-9 : Représentation schématique l'hippocampe et les régions de l'implication du cerveau dans la maladie d'Alzheimer

II.5.1 Historique

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

Lorsqu'Auguste Deter arriva à l'hôpital de Francfort, elle souffrait de troubles de la mémoire et du langage mais aussi de désorientations et d'hallucinations. Au vu de son jeune âge et de ses symptômes, on lui diagnostiqua une démence présénile. En 1903, Aloïs Alzheimer quitta Francfort pour Heidelberg, puis rejoignit la clinique psychiatrique. Il continua de suivre le cas « Auguste D » jusqu'au 8 avril 1906 où cette dernière décéda. Aloïs Alzheimer obtint alors le consentement de la famille pour réaliser une autopsie. Après avoir constaté une atrophie cérébrale, il observa deux dépôts anormaux à l'intérieur et à l'extérieur des neurones via la technique d'imprégnation argentique mise au point quelques années auparavant par Max Bielschowsky : il s'agit des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires. Ces dépôts n'étaient pas vraiment inconnus à l'époque mais c'était la première fois qu'Aloïs Alzheimer les observait chez quelqu'un d'aussi jeune. Il présenta ses travaux le 4 novembre 1906 à la conférence des psychiatres allemands de Tübingen en Allemagne puis publia ensuite ses travaux en 1907 dans un article qui sera traduit en anglais en 1995 [49].

II.5.2 Les causes de MA

La cause exacte est encore inconnue, mais il est supposé que des facteurs environnementaux et génétiques y contribuent. Les plus grandes méthodes dans le traitement de la MA se focalisent sur deux aspects fondamentaux : traitement au niveau des plaques séniles ou plaque amyloïdes, et traitement de la transmission cholinergique. Ce sont les deux approches dans le traitement de cette maladie. [50]. Pour comprendre comment ces facteurs opèrent, les chercheurs poursuivent leur recherche à différents niveaux:

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

- ▶ Le corps humain: pour déterminer si la maladie d'Alzheimer a été causée par un déséquilibre chimique, une accumulation dans le cerveau de substances toxiques pour les neurones (amyloïde, radicaux libres), ou d'un déficit immunitaire.
- ▶ Les nouvelles approches thérapeutiques: elles visent à ralentir ou même stopper la progression de la maladie et prévenir la maladie avant même que les symptômes ne fassent leur apparition [51].

II.5.3 Les premiers signes d'alerte de l'Alzheimer

a - Pertes de mémoire

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

b - Difficultés à accomplir les tâches quotidiennes

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

c - Problèmes de langage

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

d - Désorientation dans le temps et dans l'espace

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

e- Difficultés dans les raisonnements abstraits

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

f - Perte d'objets

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

g- Altération du jugement

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

CHAPITRE 2 Partie (B) : maladie Alzheimer

k - Modification du comportement

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

l - Changement de personnalité

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

II.5.4 Évolution de la maladie d'Alzheimer

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

- **Stade léger** : environ 25 % de l'hippocampe diminue en volume et le lien entre mémoire à court terme et à long terme se fait plus difficilement. La personne a des oublis bénins de noms ou d'évènements récents qui s'intensifient avec le temps.
- **Stade modéré** : d'autres zones du cerveau sont touchées, ce qui engendre des troubles des gestes, du langage et de la reconnaissance. La personne a besoin d'une aide pour certaines activités (se déplacer, gérer son budget, faire à manger...).
- **Stade sévère** : les lésions progressent et la récupération des informations est quasiment impossible : les évènements et informations passés disparaissent de la mémoire. La personne a perdu son autonomie pour presque tous les actes de sa vie quotidienne [52,53].

II.5.5 Les différents facteurs de risques de la MA

• L'âge et le sexe :

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

• Le facteur génétique / les antécédents familiaux :

Dans 5 à 10 % seulement des cas de maladie d'Alzheimer, la génétique a prouvé son rôle. Si les antécédents familiaux ne sont pas une cause de la maladie d'Alzheimer, ils

CHAPITRE 2 Partie (B) : maladie Alzheimer

constituent un « facteur de risque » important du point de vue de la recherche. Avoir un proche atteint augmente le risque de développer soi-même la maladie et l'hérédité est encore à l'étude.

• La santé mentale :

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

• Les facteurs de risque cardiovasculaires :

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

• Les traumatismes crâniens :

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

• Les habitudes alimentaires :

Plusieurs études se sont penchées sur le rôle éventuel de l'alimentation comme cause de la maladie d'Alzheimer. Une alimentation riche en sucre et en graisses favoriserait le développement de la démence. En revanche, le soja, le lait et la consommation d'Omega 3 auraient un effet protecteur, alors qu'une carence en vitamines B 9 et B 12 est associée avec cette maladie. D'une manière générale, l'équilibre alimentaire est recommandé [54].

• Le niveau de scolarité :

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

• Le tabagisme et obésité et certains médicaments,

Comme les anxiolytiques et des somnifères ont été mis en cause. La survenue de la maladie d'Alzheimer serait majorée de 20 à 50 %. Outre ces différents facteurs de risques, les chercheurs continuent à chercher les causes de la perte progressive des neurones engendrée par la maladie d'Alzheimer. Ils examinent ainsi le cerveau et l'organisme humain : il pourrait en effet s'agir d'un virus à action lente, d'un déséquilibre chimique ou encore d'un déficit immunitaire [55].

II.6. Traitement de la maladie d'Alzheimer

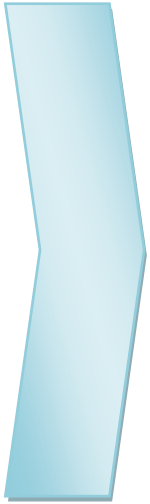
La plus grande partie des recherches scientifiques réalisées sur le traitement de la MA a été guidée par un constat : l'existence d'une relation dans cette maladie, entre le déficit des neurotransmissions cholinergiques et les différents symptômes, en particulier cognitifs. Les recherches en ont donc eu pour but d'augmenter l'activité cholinergique centrale. Ce qui définit la deuxième approche dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. De plus, les plus étudiés, les inhibiteurs des cholinestérases, sont les seuls à avoir obtenu jusqu'à présent une application clinique sont les premiers médicaments ayant une action démontrée dans la MA [56, 57]. Ils augmentent la quantité d'Acétyl Choline (ACh) dans la synapse, en bloquant l'Acétylcholinestérase (AChE), qui dégrade l'ACh dans la fente synaptique mais il existe une autre enzyme de la même famille, la butyrylcholinestérase (BuChE), qui reconnaît également l'acétylcholine comme substrat [58]. L'activité de cette enzyme croît au cours de la maladie (cela étant dû probablement à une prolifération des cellules gliales) entraînant des changements de ratios AChE/BuChE, ce qui se traduit par une diminution des fonctions cognitives, suite à une diminution de l'activation des récepteurs cholinergiques muscariniques (type M) et nicotiques (type N) [59].

Aujourd'hui, 4 inhibiteurs de cholinestérases, des agents destinés spécifiquement à stimuler l'activité cholinergique rémanente, sont, dans le meilleur des cas, partiellement effectifs dans le traitement des manifestations cliniques de la maladie. La *tacrine* (Cognex®) ; l'*Huperzine A* ou *Donépézyl* (Aricept®) ; la *Rivastigmine* (Exelon®) et la *Galanthamine* (Reminyl®) [60]

CHAPITRE 2 Partie (B) : maladie Alzheimer

Références

- [46] Glenner, G. G. "Amyloid beta protein and the basis for Alzheimer's disease." *Prog Clin Biol Res* **317**: 857-68. **1989**.
- [47] Wischik, C. M., M. Novak, H. C. Thogersen, et al. "Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease." *Proc Natl Acad Sci U S A* **85**(12): 4506-10. **1988**.
- [48] Mohamed, T.; Yeung, J. C. K.; Vasefi, M. S.; Beazely, M. A.; Rao, P. P. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22 (14), 4707. **2012**.
- [49] .Alzheimer, A., Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N. & Murtagh, F. R. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clinical anatomy* 8, 429– 431 **1995**.
- [50] G. V. Ferrari, M. A. Canales. L. M. Weiner, I. Silman, N. C. Inestrosa, *Biochemistry.*, 40, 10447-10457, **2001**.
- [51] Krid, Adel, and M. Bencharif. "Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant." (2008).
- [52] de Ladoucette, Olivier. *Rester jeune, c'est dans la tête*. Odile Jacob, 2005.
- [53] ANAES 2000, Medline et Intermed, Dossier internat blanc Hoechst®, crs de Jeandel , Cours de Florence Portet, QCM Intest **2002**
- [54] Dupin, Henri. "Evolution des habitudes alimentaires et de la ration alimentaire des Français." *Ethnologie française* (1980): 319-324.
- [55] le poisson en général pourrait améliorer la résistance du cerveau à la démence Université de Pittsburgh, **2011**.
- [56] ANAES 2000, Medline et Intermed, Dossier internat blanc Hoechst®, crs de Jeandel , Cours de Florence Portet, QCM Intest **2002**
- [57] Schneider LS, Tariot PN. Emerging drugs for Alzheimer's disease : mechanisms of actions and prospects for cognitive enhancing medications. *Med Clin North Am*; 78 :911-34, **1994**.
- [58] Scarpini, E.; Scheltens, P.; Feldman, H. *Lancet Neurol.* **2003**, 2, 539–547
- [59] Arendt, T.; Brückner, M. K. *Neurosci. Lett.* **1992**, 148, 63–66.
- [60] Anand, R.; Gill, K. D. Mahdi, A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology*, 76 Pt A, 27-50. **2014**.



CHAPIRE 3

Résultats et discussion

I. Introduction

La modélisation moléculaire englobe les différentes méthodes de calculs théoriques utilisée dans des différents domaines comme : Chimie, Biologie, Pharmacie et médecine. Elle permet de déterminer, la représentation graphique de la géométrie, la configuration des atomes d'une molécule et évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée [1].

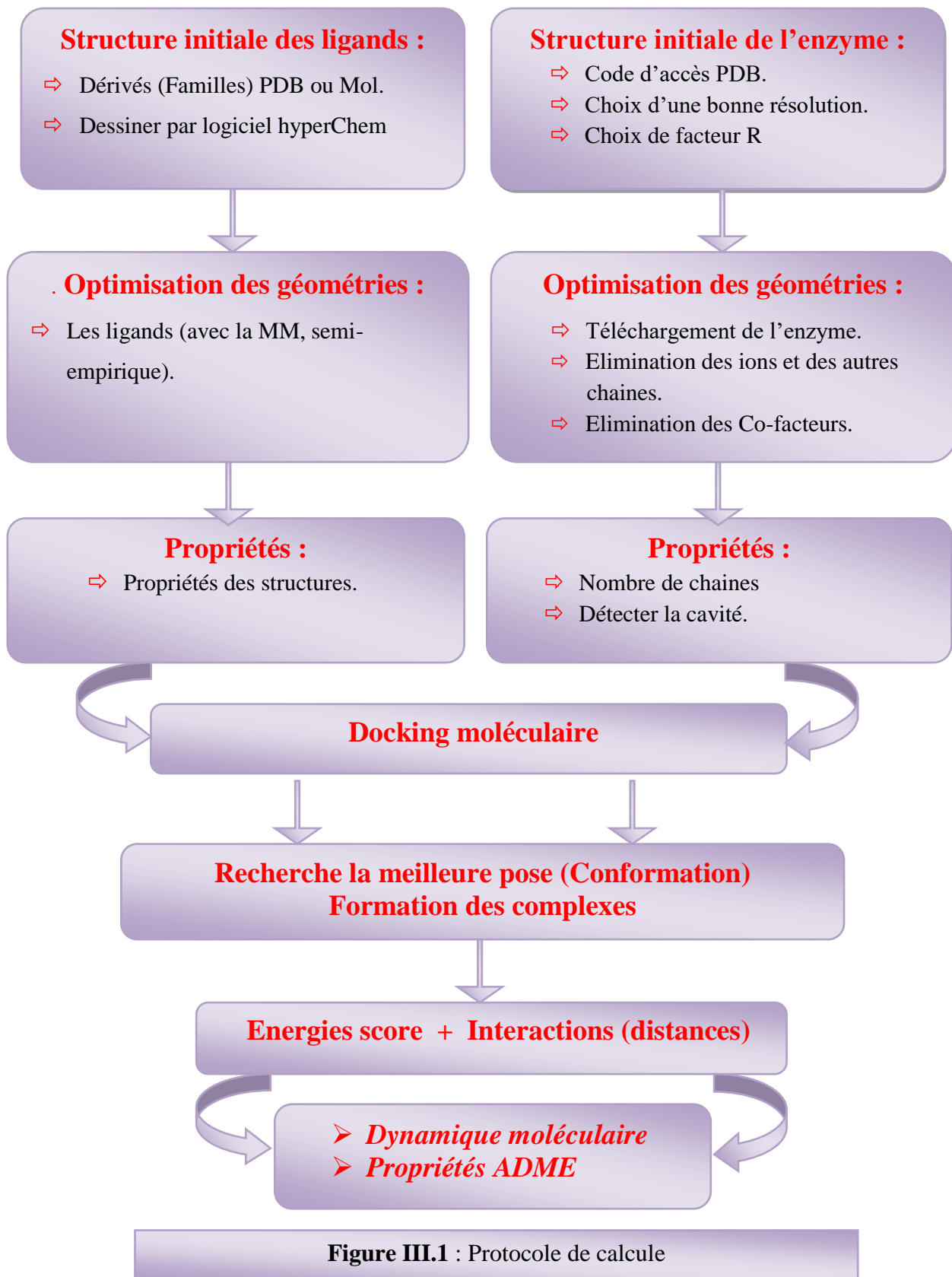
Ces dernières années les chercheurs essayent de combiner entre des différentes méthodes de la modélisation moléculaire à savoir : la dynamique moléculaire et la docking moléculaire dans le but d'élucider les interactions non-covalentes existantes entre une cible thérapeutique et des composés naturelles ou synthétisés [2].

Ce travail consiste à étudier les interactions entre une série nouvellement synthétisées (11 molécules) avec les deux enzymes : **Acétylcholinestérase** (AChE), et le **Butyrylcholinestérase** (BuChE) par deux méthodes de la modélisation moléculaire, docking moléculaire et la dynamique moléculaire en utilisant le logiciel MOE, et une dernière méthode pour prédire les propriétés ADME des meilleurs ligands obtenu par les deux méthodes précédentes.

Au niveau de ce chapitre, nous présentons la discussion des résultats obtenus au cours de cette étude, sachant que la discussion des résultats de docking moléculaire est basée sur deux paramètres : l'énergie (Score) et les distances des interactions existantes entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme (résidus de site actif) et les ligands étudiés. La dynamique moléculaire étudié la variation de l'énergie potentielle en fonction du temps afin de confirmer la stabilité des complexes formés.

Dans la Figure III.1, nous avons schématisé un organigramme résume tous les étapes de calcul effectué au cours de ce travail:

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion



II . Méthodes de calcul

II.1. Préparation et optimisation des enzymes et des ligands

II.1.1. Préparation et optimisation du modèle

Les structures cristallines (X-Ray) des enzymes ont été téléchargées à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb) [3].

▶ Acétylcholinestérase (AChE) (PDB ID:4EY7) est complexé avec l'inhibiteur Donépezil ($C_{24}H_{29}NO_3$: 1-benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-indanon-2-yl)methyl]piperidine) [4].

▶ Butyrylcholinestérase (BuChE) (PDS ID:4BDS) est complexé avec l'inhibiteur Tacrine ($C_{13}H_{14}N_2$ YLJREFDVOIBQDA-UHFFFAOYSA-N) [5].

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

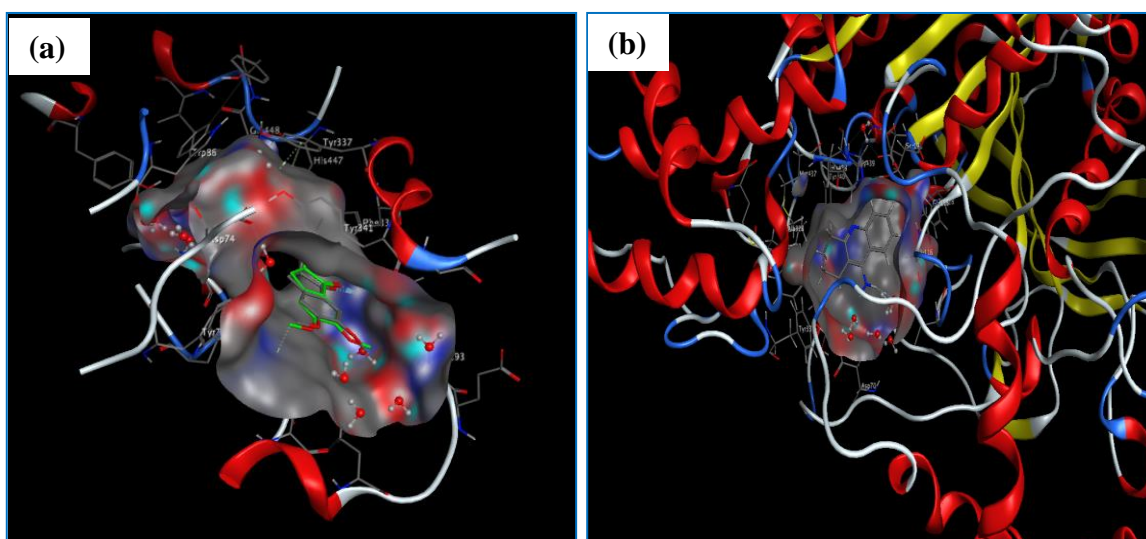


Figure III.2 : Modèle simplifié et validé des enzymes (a) : AChE, (b) : BuChE.

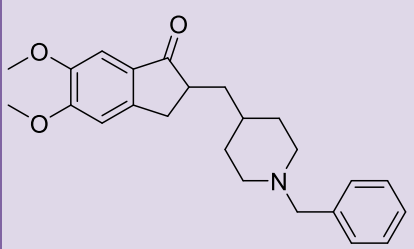
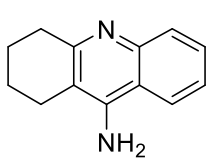
Les co-facteurs et les ions ont été éliminés; les ligands co-cristallisés et les enzymes ont été étudiés au pH physiologique. En plus, les ligands sont concéder flexible, et les enzymes ont été supposé comme des corps rigides.

Les structures 3D de nos enzymes ont été obtenues par diffraction en rayon X.

Le tableau III.1 regroupe quelques propriétés des deux enzymes.

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

Tableau III.1 : Quelques propriétés des deux enzymes : AChE (PDB ID:4EY7) et le BuChE (PDB ID:4BDS)

Enzymes	Inhibiteur de co-cristallisation	Classifications	Polymère	Chaines	Résolution (Å)
AChE (PDB ID:4EY7)	 Donepezil	Serine Hydrolase	1	A	2.50
BuChE (PDB ID:4BDS)	 Tacrine	Hydrolase	1	A	2.10

II.1.2. Préparation des inhibiteurs

Les molécules étudiées sont des dérivés de l'acétazolamide combiné avec le chlorure de chloroacétyle (Schéma) [6]. Ils sont préparés selon la réaction suivante :

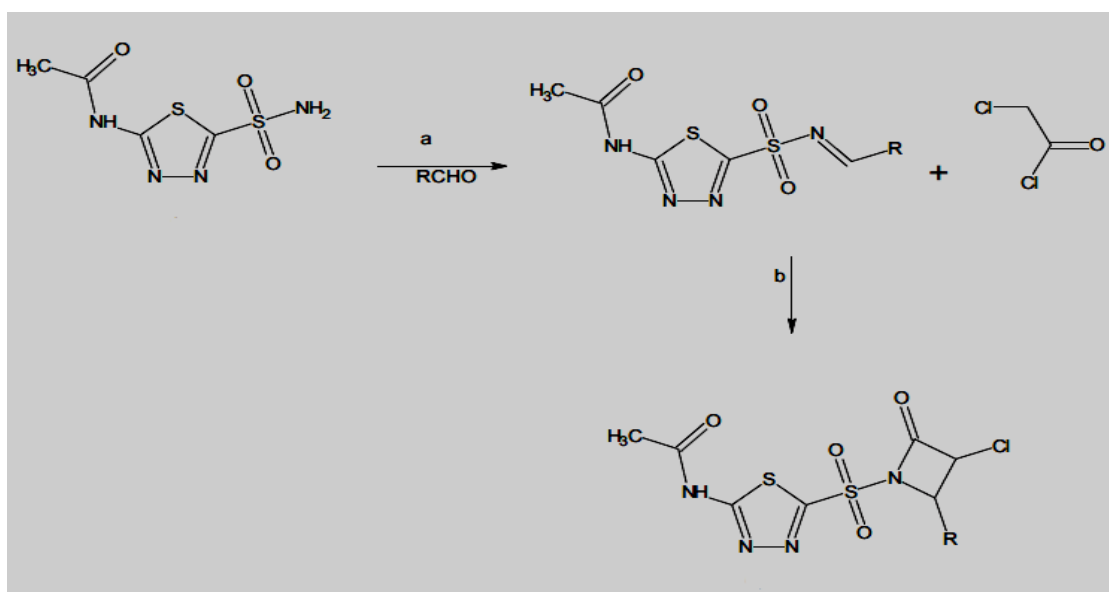
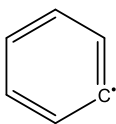
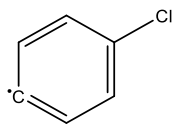
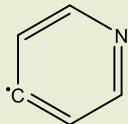
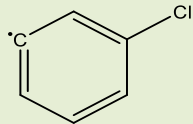
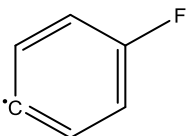
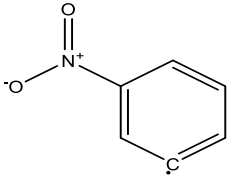
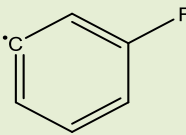
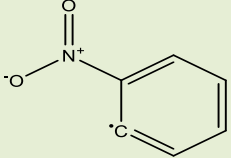
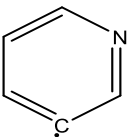
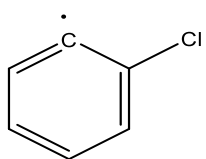


Schéma : Structure de base de l'acétazolamide combiné avec le chlorure de chloroacétyle

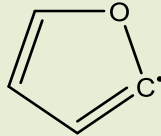
CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

Le ligand est généralement une molécule organique. On utilise des logiciels à interface graphique ou des logiciels de la modélisation moléculaire pour dessiner la structure de départ de ces molécules. Les différentes structures des ligands ont été dessinées à l'aide de logiciel Chem Draw Ultra 12.0. Elles sont représentées ci-dessous

Tableau III.2 : Structures chimiques des ligands L₁-L₁₁

Ligands		Substituent	Ligands		Substituent
(*)	L	R	(*)	L	R
5a	L1		5e	L5	
5b	L2		5f	L6	
5c	L3		5	L7	
5d	L4		5h	L8	
5j	L10		5i	L9	

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

/	/	/	5k	L11	
---	---	---	----	-----	---

L'optimisation des géométries de nos ligands a été effectuée à l'aide du logiciel HyperChem (Version 7.0, Hypercube, USA, <http://www.hyper.com>), par la méthode de la mécanique moléculaire en utilisant le champ de force **MM+**, suivi par une optimisation de la méthode semi-empirique **AM1** [7].

Tous les calculs ont été effectués à l'aide des deux logiciels HyperChem7 (Version 7.0, Hypercube, USA, <http://www.hyper.com>) et MOE 2014 [8].

II.2. Docking moléculaire

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

Donc le Docking est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable [9].

Le plus important problème pour l'étape de Docking moléculaire est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles [10].

II.3 Propriétés ADME

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

III. Résultats et discussion

III.1. Simulation de Docking moléculaire

a. Site actif des enzymes

La fonction des enzymes est liée à la poche hydrophobe particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité possédant des résidus. D'après la littérature, les résidus du site actif de l'AChE sont : HIS440, SER200 et GLU327 créent la triade catalytique, ainsi que TRP279, TYR334, PHE330 et TRP84, mais les résidus du site actif de la BuChE sont : HIS438, SER198 et GLU325 créent la triade catalytique, ainsi que TYR332, PHE329 et TRP82. Ces résidus des deux cibles sont les résidus importants du site actif [11].

► L'option « Site Finder » a été utilisée pour la détection des différentes cavités enzymatiques, et leurs propriétés. Le site le plus favorable pour notre étude possède le volume plus important, ainsi que le ligand Co-cristallisé.

Tableau III.3 : Différentes propriétés de cavité 1 détectée par MOE des enzymes : AChE et BuChE.

AChE.					
Site	Size ^a	PLB ^b	Hyd ^c	Side ^d	Residues
1	153	3.88	55	89	1:(GLN69 TYR70 VAL71 ASP72 SER81 TRP84 ASN85 PRO86 GLY117 GLY118 GLY119 TYR121 SER122 TYR130 GLU199 SER200 ALA201 TRP233 TRP279 LEU282 SER286 ILE287 PHE288 ARG289 PHE290 PHE330 PHE331 TYR334 GLY335 HIS440 GLY441).
BuChE.					
1	189	4.04	60	104	1:(ASN68 ILE69 ASP70 GLN71 SER72 GLY78 SER79 TRP82 TYR114 GLY115 GLY116 GLY117 GLN119 THR120 GLY121 THR122 LEU125 TYR128 GLU197 SER198 ALA199 TRP231 GLU276 ALA277 VAL280 GLY283 THR284 PRO285 LEU286 SER287 VAL288 ASN289 PHE290 ALA328 PHE329 TYR332 PHE398 TRP430 MET437 HIS438 GLY439 TYR440 ILE442).

a: le nombre de sphères alpha comprenant le site, **b:** le score de Propension pour le ligand [27] pour les résidus de contact dans le récepteur, **c:** le nombre d'atomes de contact hydrophobes dans le récepteur, **d:** le nombre d'atomes de contact de la chaîne latérale dans le récepteur.

b. Validation de la méthode :

La validation de la méthode de docking (logiciel) a été faite par le calcul de la valeur de RMSD des deux co-cristallisé ligands: Donépezil (AChE) et Tacrine (BuChE) [12].

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

Dans ce cas, le Donépezil et la tacrine ont été "re-docked" dans la poche du site de liaison de l'AChE et de BuChE respectivement, et les valeurs de l'écart quadratique moyen (RMSD) entre le docking et les poses initiales ont été calculées (Tableau III.5).

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

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

D'après la littérature [13], la validation d'une méthode de docking dépend de RMSD (RMSD <2 Å). En outre, le RMSD ne constitue pas un critère d'évaluation parfait et présente certaines faiblesses. Ainsi, que le RMSD permet d'évaluer les distances entre les positions atomiques mais ne fournit aucune information sur la conservation des interactions entre la structure prédite et la structure cristallisée.

III.1.1. Interaction : AChE–Ligands

Après la validation de la méthode un calcul de docking moléculaire (**semi-flexible**) a été effectué par le programme MOE et les résultats de docking moléculaire obtenus (énergies de score, distances des interactions et RMSD) sont reportés dans le tableau III.6.

Tableau III.5: S-score, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le AChE.

Compds	Pose	S-score (kcal/mol)	RMSD (Å)	Bonds between atoms of compounds and residues of active site				
				Atom of compound	Involved receptor atoms	Involved receptor residues	Type of interaction bond	Distance (Å)
L1	6	-6.768	1.594	6-Ring	6-Ring	TRP 286	Pi-Pi	3.91
L2	9	-7.541	1.798	C11	6-Ring	TYR 341	H-Pi	3.76
L3	9	-6.042	2.042	O 37	O	HOH 953	H-accepter	2.71
L4	8	-6.933	1.753	6-Ring	6-Ring	TRP 286	Pi-Pi	3.95
L5	8	-7.013	1.737	6-Ring	6-Ring	TRP 286	Pi-Pi	3.93
L6	9	-6.523	2.544	C11	O	HOH 737	H-donor	3.24
				C11	5-Ring	TRP 86	H-Pi	4.22
L7	7	-7.433	1.450	6-Ring	6-Ring	TRP 286	Pi-Pi	3.90
L8	9	-7.110	2.064	6-Ring	6-Ring	TRP 286	Pi-Pi	3.96
L9	7	-4.721	1.997	Cl 31	O	HIS 447	H-donor	2.83
				6-Ring	O	HOH 956	Pi-H	4.33
L10	5	-5.482	1.519	O 22	N	PHE 295	H-accepter	2.88
				6-Ring	O	HOH 956	Pi-H	4.36
				6-Ring	6-Ring	TRP 86	Pi-Pi	3.94
L11	7	-6.979	1.810	/	/	/	/	/

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

La plupart des composés forment des interactions avec les résidus de site actif de l'enzyme AChE (Tableau. III.6). Nous notons ici que les interactions sont de type liaison hydrogène (Accepteur ou donneur) et Hydrophobique (Pi-Pi, H-pi,..) appariassent entre tous les composés et les résidus de (Figure III.3). Le score d'énergie de la plupart des complexes formes par ces ligands était compris entre : -4.721 et -7.541K kcal/mol. Ces énergies varient selon de type d'interaction, distances et leurs valeurs.

En se basant sur les trois paramètres : S-score, les interactions (Nombre, le type et la distance) et la valeur de RMSD pour déterminer les meilleurs ligands qui ont une affinité élevée au site actif d'AChE.

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

$$L6 < L10 < L9$$

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

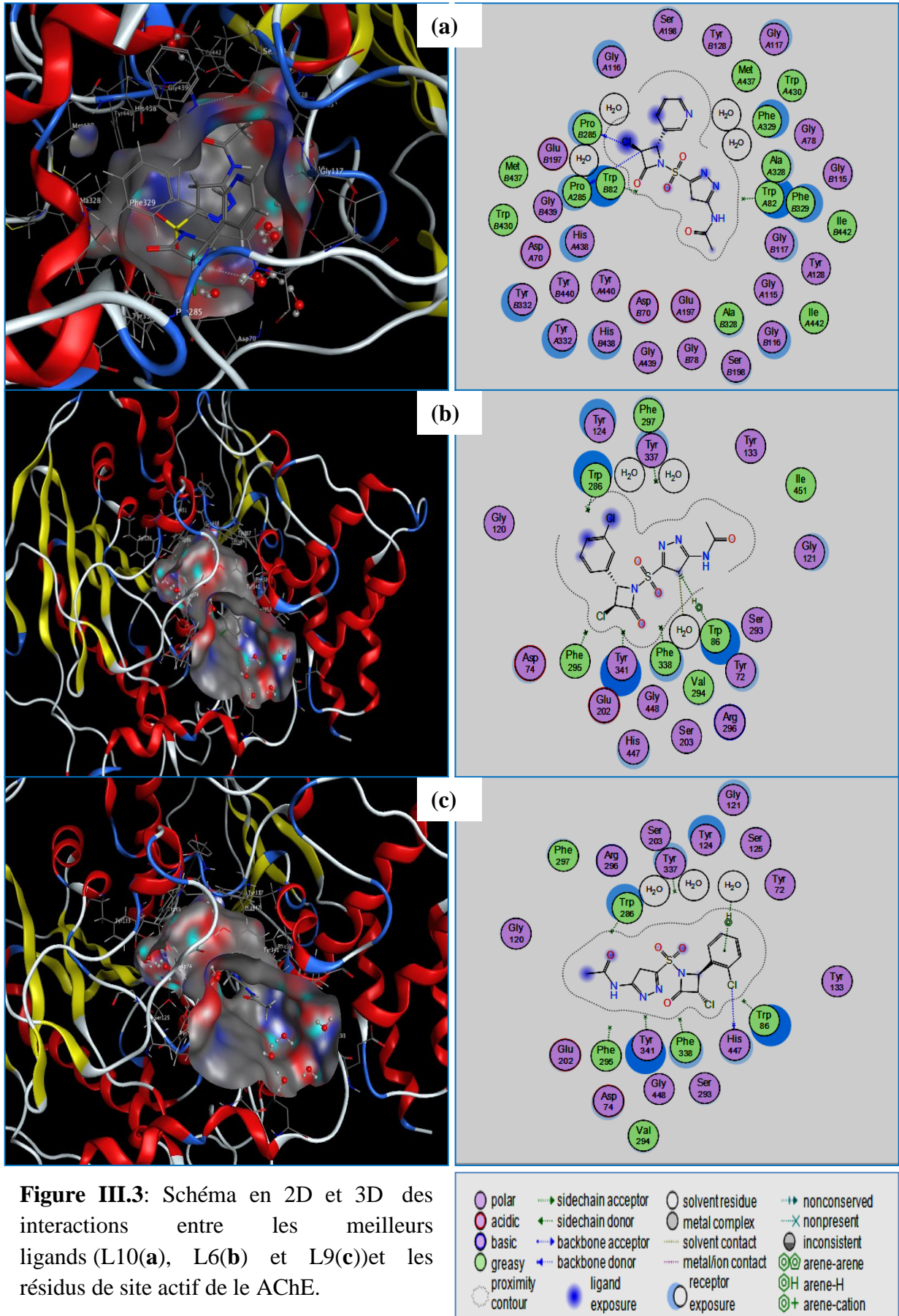
$$L10 < L9 < L6$$

On peut classer le nombre d'interactions des trois meilleurs complexes selon l'ordre suivant :

$$L9=L6 < L10$$

Le complexe formé par le ligand L10 a une valeur faible d'énergie de score -5.482 kcal/mol. Ceci justifié par la présence de trois interactions formant entre le ce ligand et les résidus de site actif de l'AChE. La première est forte [14] de type Hydrogène (H-accepteur=2.88Å) avec le PHE295 et la deuxième de type hydrophobique (H-Pi) avec le HOH 956. La dernière de type hydrophobique (Pi-Pi) avec le TRP86 (Figure III.3). En plus, la valeur de RMSD (1.519 Å) obtenus de ce complexe est inferieur à celle des complexes formés par L6 et L9, D'autre par nous remarquons que, les deux complexes formés par L6 et L9 donnent également des énergies de score faible : -6.523 et -4.721 kcal/mol. Les ligands L6 et L9 établi deux interactions avec le site actif de l'AChE (Figure III.3). Une de type Hydrogène (H-donneur) et la deuxième de type hydrophobique (Pi-Pi). En plus, ces deux ligands possèdent la valeur de RMSD faible (2.544 et 1.997 Å). Ces deux ligands donnent une valeur moyenne d'IC50 (1.2±0.01 et 3.1±0.1µM).

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion



CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

III.1.2. Interaction : BuChE–Ligands

Après la validation de la méthode un calcul de docking moléculaire (**semi-flexible**) a été effectué par le programme MOE et les résultats de docking moléculaire obtenus (énergies de score, distances des interactions et RMSD) sont reportés dans le tableau III.7.

Tableau III.7 : S-score, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour le BuChE

Compds	Pose	S-score (kcal/mol)	RMSD (Å)	Bonds between atoms of compounds and residues of active site				
				Atom of compound	Involved receptor atoms	Involved receptor residues	Type of interaction bond	Distance (Å)
L1	8	-7.199	1.854	6-Ring	6-Ring	TRP 82	Pi-Pi	3.92
L2	10	-7.418	1.931	/	/	/	/	/
L3	9	-23,310	2.368	C 3	O	PRO 285	H-donor	3.39
				C 3	O	PRO 285	H-donor	3.39
				C11	5-Ring	TRP 82	H-Pi	3.97
				C 11	5-Ring	TRP 82	H-Pi	3.97
L4	9	-7.694	2.261	O 36	O	HOH 2092	H-accepter	2.72
L5	5	-7.723	1.378	C 3	5-Ring	TRP 82	H-Pi	4.10
				6-Ring	6-Ring	TRP 82	Pi-Pi	3.99
L6	9	-7.210	1.853	/	/	/	/	/
L7	7	-7.433	1.450	O 23	O	HOH 2085	H-accepter	2.67
				O 23	O	HOH 2085	H-accepter	2.67
				O 37	O	HOH 2048	H-accepter	2.86
				O 37	O	HOH 2048	H-accepter	2.86
L8	8	-7.636	1.721	/	/	/	/	/
L9	10	-7.363	1.466	C 23	6-Ring	TRP 82	H-Pi	3.79
L10	10	-27.813	1.956	C 3	O	TRO 285	H-donor	3.36
				C 3	O	TRO 285	H-donor	3.36
L11	8	-17.798	1.995	/	/	/	/	/

La plupart des composés forment des interactions avec les résidus de site actif de l'enzyme BuChE (Tableau. III.7. Nous notons ici que les interactions sont de type liaison hydrogène (Accepteur ou donneur) et Hydrophobique (Pi-Pi, H-pi,..) appariassent entre tous les composés et les résidus (Figure III.4). Le score d'énergie de la plupart des complexes formes par ces ligands était compris entre : -7.199 et – 27.813 kcal/mol. Ces énergies varient selon de type d'interaction, distances et leurs valeurs.

En se basant sur les trois paramètres : S-score, les interactions (Nombre, le type et la distance) et la valeur de RMSD pour déterminer les meilleurs ligands qui ont une affinité élevée au site actif de BuChE.

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

$$L10 < L3 < L7$$

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

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

$$L7 < L10 < L3$$

On peut classer le nombre d'interactions des trois meilleurs complexes selon l'ordre suivant :

$$L10 < L3=L7$$

Le complexe formé par le ligand L10 possède la plus petite énergie score (27.813 kcal/mol) par rapport aux autres complexes, ceci qui signifie que ce complexe est plus stable est justifié par la présence de deux interactions fortes de type Hydrogène (Donneur). Les deux interactions établissent entre ce ligand et le même résidu : TRO285 avec une même distance : 3.36 Å. Notons aussi que ce ligand a une valeur moyenne d'IC₅₀ : 6.3 ± 0.01 µM ce qui nous permet de trouver une bonne relation entre l'affinité (Score) et l'activité (IC₅₀).

D'autre par nous remarquons que, les deux complexes formés par L3 et L7 donnent également des énergies de score faible : -6.523 et -4.721 kcal/mol. Les ligands L3 et L7 établissent quatre interactions avec le site actif de BuChE (Figure III.4). En plus, ces deux ligands possèdent des valeurs faibles de RMSD (2.368 et 1.450 Å). Ces deux ligands donnent une valeur moyenne d'IC₅₀ (3.4±0.1 et 9.6±0.01µM).

III.2. Dynamique moléculaire

Les interactions entre chaque composé et les deux cibles mentionnées ci-dessous peuvent ne pas être stables dans les conditions de la dynamique moléculaire. Pour cela les meilleurs complexes obtenus dans le calcul de docking moléculaire ont été confirmés par un calcul de dynamique moléculaire et le processus de simulation a été exécuté pendant 600 ps (100 ps d'équilibre et 500 ps de production) afin de vérifier la stabilité des complexes Enzyme-ligand.

III.2.1. Complexe AChE-L10

La figure III.5 montre la variation de l'énergie potentielle de complexe 4EY7-L10 en fonction du temps lors de la simulation de la dynamique moléculaire.

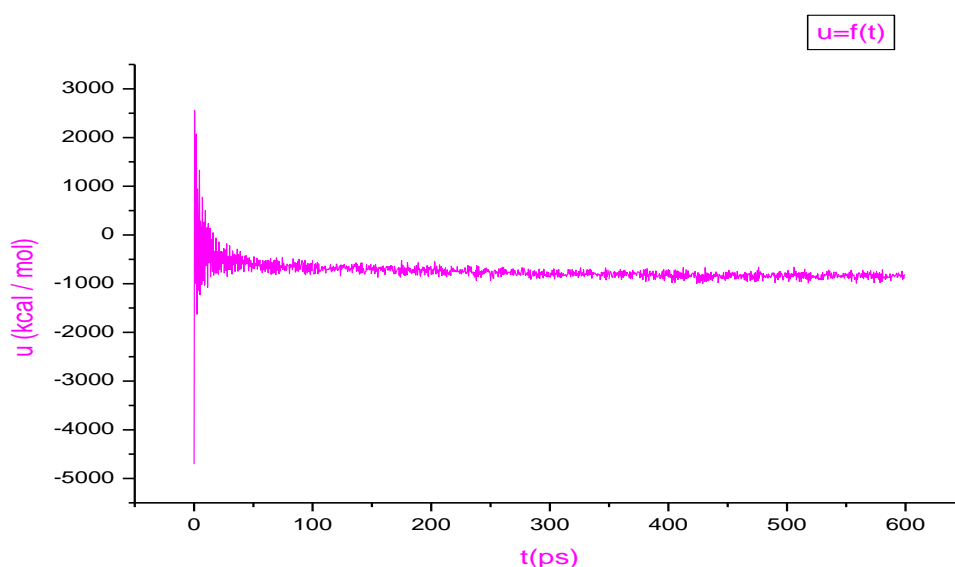


Figure III.5: Evaluation de l'énergie potentielle de complexe 4EY7-L10 en fonction du temps

La courbe complexe 4EY7-L10 montre que l'énergie potentielle varie de 2500 à -4500 kcal/mol au cours des premières 100 Pico secondes, nous notons également une variation de l'énergie potentielle: -2000 à -2200 kcal/mol dans la deuxième partie de l'intervalle entre 100 et 200 Pico secondes, et finalement, dans le dernier intervalle entre 200 et 600 Pico seconde, nous avons une variation d'énergie potentielle légère : -2200 à -2350 kcal / mol. Ce dernier intervalle apparaît qu'il y a une stabilité de ce complexe commence après les 200 ps.

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

Tableau III.8 regroupe les résultats de calcul de la dynamique moléculaire pour le meilleur complexe (complexe 4EY7-L10) obtenus par le docking moléculaire.

Tableau III.8 : S-score, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes de ligand L10 pour l'AChE après un calcul de dynamique moléculaire.

Compds	Pose	S-score (kcal/mol)	RMSD	Bonds between atoms of compounds and residues of active site				
				Atom of compound	Involved receptor atoms	Involved receptor residues	Type of interaction bond	Distance (Å)
L10	5	-5.4822	1.5191	O 22	N	PHE 295	H-accepter	2.77
				6-Ring	6-Ring	TRP 86	Pi-Pi	3.99
				N9	O	HOH955	H-accepter	2.67
				O35	O	HOH737	H-accepter	3.15
				O35	O	HOH955	H-accepter	2.83

D'après le tableau ci-dessus, nous avons remarqué facilement que selon la simulation de la dynamique moléculaire, le composé L10 conserve les deux mêmes types d'interactions avec les résidus de sites actifs (PHE 295 et TRP 86) de la cible (AChE) comparant avec les résultats de docking moléculaire sauf qu'il y a trois nouvelles interactions qui sont créés par ce ligand après le calcul de dynamique moléculaire (Tableau III.8 et Figure III.6).

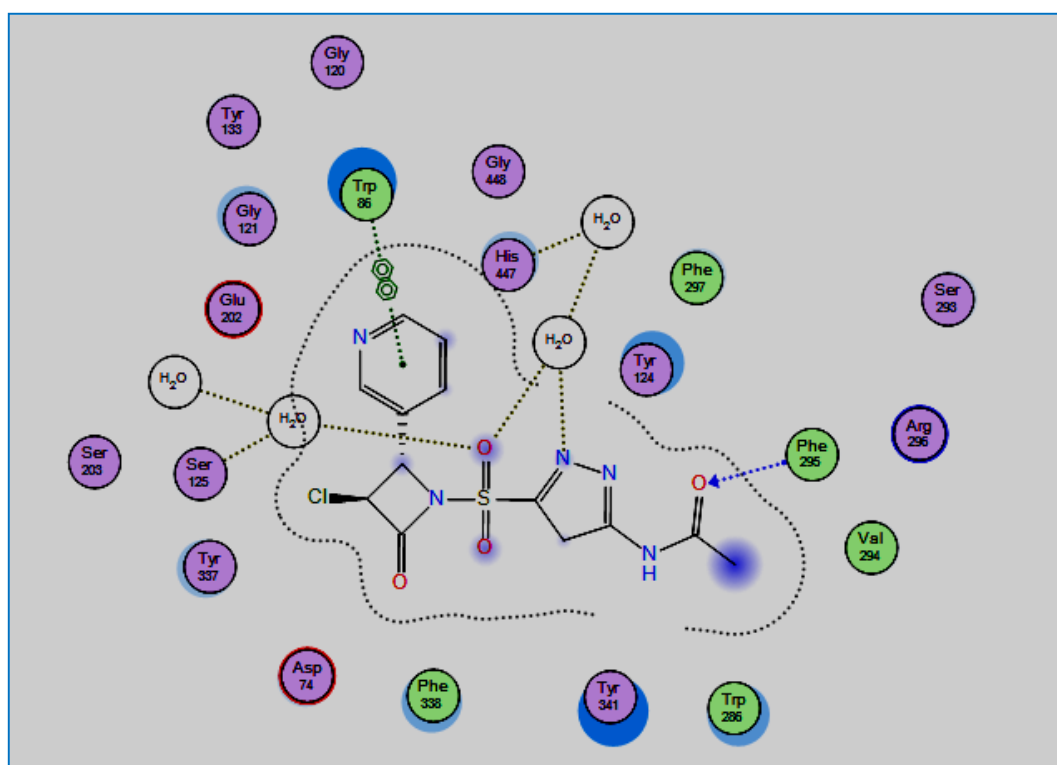


Figure III.6: Schéma en 2D des interactions entre le ligand L10 et les résidus de site actif de le AChE après simulation de DM.

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

III.2.2. Complexe BuChE-L10

La figure III.7 montre la variation de l'énergie potentielle de complexe ABDS-L10 en fonction du temps lors de la simulation de la dynamique moléculaire.

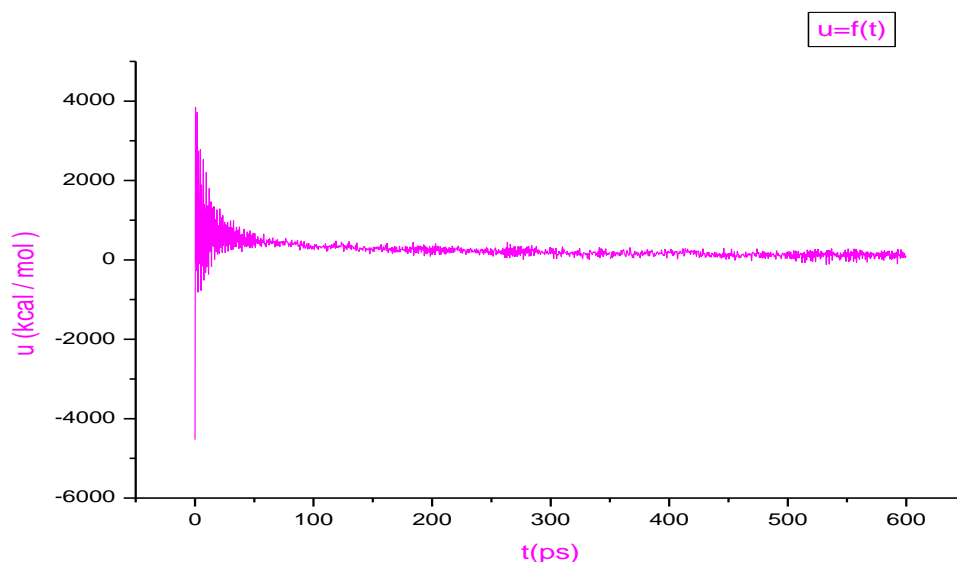


Figure III.7: Evaluation de l'énergie potentielle de complexe ABDS-L10 en fonction du temps

D'après la courbe ci-dessus, nous remarquons que la variation de l'énergie potentielle du complexe ABDS-L10 entre : 3800 à -4500 kcal/mol au cours des premières 100 Pico secondes, nous notons également une variation de l'énergie potentielle: -4528.121 à 340.280kcal/mol dans la deuxième partie de l'intervalle entre 100 et 200 Pico secondes, et finalement, dans le dernier intervalle entre 200 et 600 Pico seconde, nous avons une variation d'énergie potentielle légère:340.280 à 102.795 kcal/mol. Ce dernier intervalle apparait qu'il y a une stabilité de ce complexe commence après les 200 ps.

Tableau III.9 regroupe les résultats de calcul de la dynamique moléculaire pour le meilleur complexe (complexe ABDS-L10) obtenus par le docking moléculaire.

Tableau III.9 : S-score, RMSD et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes de ligand L10 pour le BuChE après un calcul de dynamique moléculaire.

Compds	Pose	S-score (kcal/mol)	RMSD	Bonds between atoms of compounds and residues of active site				
				Atom of compound	Involved receptor atoms	Involved receptor residues	Type of interaction bond	Distance (Å)
L10	10	-27.813	1.956	N 8	O	HOH2093	H-accepter	3.22

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

				O 23	CA	PHE329	H-accepter	2.48
				O36	O	HOH2055	H-accepter	2.48
				C11	5-Ring	TRP82	H-Pi	4.09
				6-Ring	O	HOH2092	Pi-H	4.45

D'après le tableau ci-dessus, nous avons remarqué facilement que selon la dynamique moléculaire, le composé L10 ne conserve aucune interaction avec les résidus de sites actifs de la cible (BuChE) comparant avec les résultats de docking moléculaire, et il a créé cinq nouvelles interactions avec cette cible après le calcul de la dynamique moléculaire (Tableau III.9+ Figure III.8).

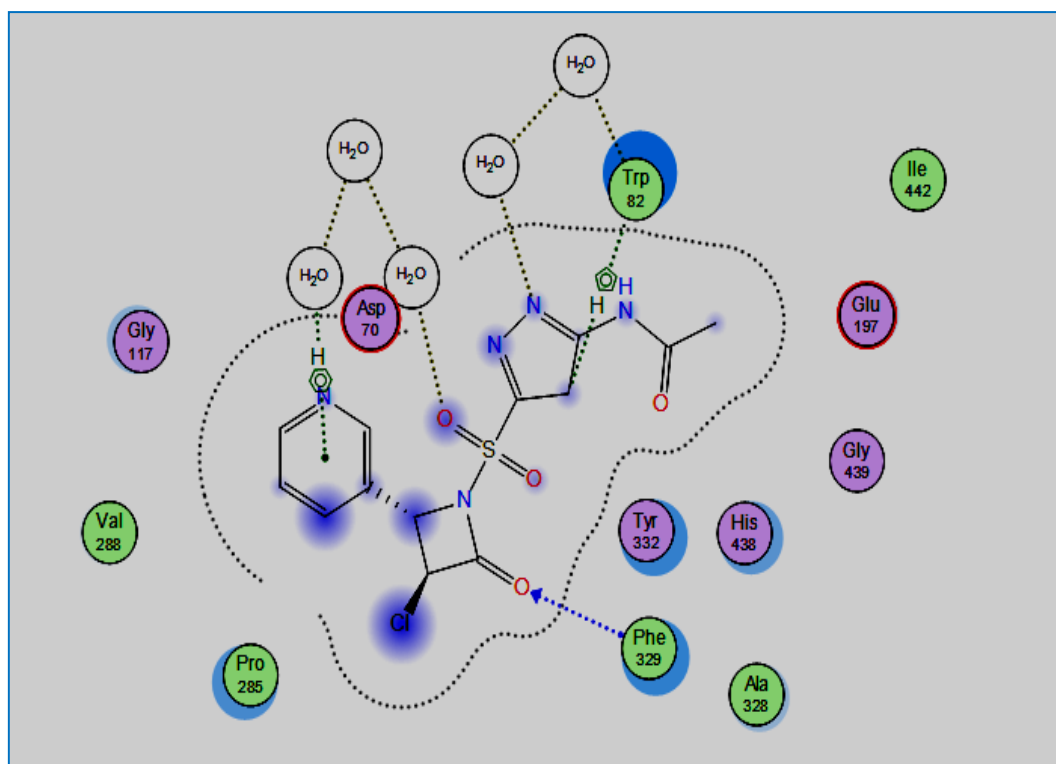


Figure III.8: Schéma en 2D des interactions entre le ligand L10 et les résidus de site actif de la cible BuChE après simulation de DM.

III.3. Évaluation des propriétés ADME

Nous avons calculé les propriétés ADME pour sélectionner le ligand L10 respectant les différentes règles à savoir : règle de Lipinski [15], règle de Veber [16] règle de Egan [17]. Ces calculs ont été effectués en utilisant le lien web suivant : <http://www.swissadme.ch/index.php> [18,19], et les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau III-9.

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

Table III-10: Propriétés Physico-chimique et Drug Likeliness pour le ligand L10

Compds	Physicochemical Properties						Drug Likeliness		
	TPSA (Å ²)	n-ROT	MW (g/mol)	MLog P WLogP	n-HA	n-HD	Lipinski	Veber	Egan
	(0~140)	(0~11)	(100~500)	(0~5)	(0~12)	(0~7)			
Best compounds of the hMAO-B									
L10	129.54	5	369.78	-0.34 -0.23	7	1	Accepted	Accepted	Accepted

TPSA: Topological Polar Surface Area, **n-ROT:** Number Of Rotatable, **MW:** Molecular Weight, **Log P:** Logarithm of partition coefficient of compound between n-octanol and water, **n-HA:** Number of hydrogen bond acceptors, **n-HD:** Number of hydrogen bonds donors.

Les résultats montrés dans le tableau III.9 indiqués que le ligand L10 présentait une faible valeur de LogP ($\log P < 5$) et une valeur de $TPSA = 129.54 \text{ \AA}^2$, ceci signifié qu'il possède une excellente absorption et une bonne pénétration cérébrale des médicaments du SNC [20].

D'autre part, le ligand L10 contient 5 flexibilités, sachant que le nombre de liaisons rotatives est également un paramètre topologique important pour mesurer la flexibilité moléculaire (0~11)[21].

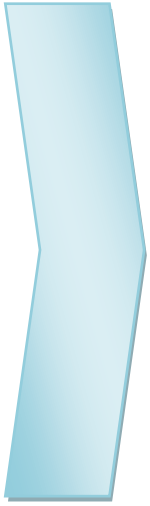
En outre, on peut observer que le ligand L10 a un nombre de violation nul pour toutes les règles testées (Lipinski, Veber et Egan), ceci justifiée que. Selon ces résultats, nous pouvons confirmer que ce ligand ne cause aucun problèmes de biodisponibilité orale et ayant de bonnes propriétés physico-chimiques et il le peut être sélectionné probablement comme un inhibiteur actif par voie oral de cette maladie.

III. Références

- [1] Cohen, N. Claude, ed. Guidebook on molecular modeling in drug design. Gulf Professional Publishing, **1996**.
- [2] Davies, Gideon, and Bernard Henrissat. "Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases." *Structure* 3.9 (1995): 853-859.
- [3] www.rcsb.org/pdb
- [4] Cheung, J., Rudolph, M. J., Burshteyn, F., Cassidy, M. S., Gary, E. N., Love, J., ... & Height, J. J. (2012). Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of medicinal chemistry*, 55(22), 10282-10286.
- [5] Nachon, F., Carletti, E., Ronco, C., Trovaslet, M., Nicolet, Y., Jean, L., & Renard, P. Y. (2013). Crystal structures of human cholinesterases in complex with huprine W and tacrine: elements of specificity for anti-Alzheimer's drugs targeting acetyl- and butyryl-cholinesterase. *Biochemical Journal*, 453(3), 393-399.
- [6] Elumalai, K., Ali, M. A., Elumalai, M., Eluri, K., & Srinivasan, S. (2014). Acetylcholinesterase inhibitor and cytotoxic activity of some novel acetazolamide cyclocondensed azetidiones. *Journal of Acute Medicine*, 4(1), 20-25.
- [7] L.A. Curtiss. , C. Jones, G.W. Trucks. , K. Raghavachari. , J.A. Pople. , « Gaussian-1 theory of molecular energies for second-row compounds », *J. Chem. Phys.*, 93. , 2537–2545. , **1990**.
- [8] Molecular Operating Environment (MOE), 2014.09; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2014.
- [9] ZERDAOUI, Sara, and Sara BOUNASLA. *Docking moléculaire de deux flavones naturels contre l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase*. Diss. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA, **2020**.
- [10] Baudoui, Vincent. *Optimisation robuste multiobjectifs par modèles de substitution*. Diss. Toulouse, ISAE, **2012**.
- [11] Harel, M., et al. "Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90.19 (1993): 9031-9035.
- [12] Daoud, Ismail, et al. "Combined QSAR, molecular docking and molecular dynamics study on new Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase inhibitors." *Computational biology and Chemistry* 74 (2018): 304-326.

CHAPITRE 3 : Résultats et discussion

- [13] Kramer, Bernd, Matthias Rarey, and Thomas Lengauer. "Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein–ligand docking." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 37.2 (1999): 228-241.
- [14]. Leite, Raquel. Caractérisation biochimique et structurale d'une lectine de graine de *Platypodium elegans* Vogel. Diss. Université de Grenoble, 2011.
- [15]. BOUCHERIT, H., et al. "L'AMARRAGE MOLECULAIRE: UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LUTTER CONTRE LE DEVELOPPEMENT DE LA TUBERCULOSE." *Review of Industrial Microbiology Sanitary and Environmental* 7.2 (2013): 133-149.
- [16] Veber DF¹, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.* 2002 Jun 6;45(12):2615-23.
- [17] Egan WJ¹, Merz KM Jr, Baldwin JJ. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *J Med Chem.* 2000 Oct 19;43(21):3867-77.
- [18] SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* (2017) 7:42717.
- [19] iLOGP: a simple, robust, and efficient description of *n*-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *J. Chem. Inf. Model.* (2014) 54(12):3284-3301.
- [20] Durojaye, Olanrewaju A., et al. "Evaluation of 6-Gingerol and its modified analogues as therapeutic candidates against *Schistosoma mansoni* phosphofructokinase." *VacciMonitor* 28.1 (2019): 38-47.
- [21] Kalani, Komal, et al. "Pharmacophore, QSAR, and ADME based semisynthesis and in vitro evaluation of ursolic acid analogs for anticancer activity." *Journal of molecular modeling* 18.7 (2012): 3389-3413.



Conclusion générale

Conclusion générale

Le travail présenté dans ce mémoire concerne principalement l'utilisation de plusieurs approches théoriques de la modélisation moléculaire dans le cadre de la découverte de nouveaux inhibiteurs des maladies neuro-dégénératives.

L'objectif est d'élucider les interactions existantes entre une nouvelle classe des molécules (**dérivés de l'acetazolamide**) et deux enzymes (AChE et la BuChE) qui sont impliquées dans la maladie d'Alzheimer afin d'étudier les mécanismes régissant l'évolution de cette dernière.

Pour mieux comprendre ce phénomène, nous avons basée sur trois paramètres :

- L'énergie score formée par le complexe (Enzyme-ligands).
- Les valeurs de RMSD calculés.
- Les interactions non-covalentes (Liaison hydrogènes, Hydrophobiques,...etc) existantes entre les ligands testés et les résidus de site actif des deux enzymes étudiées (AChE et le BuChE).

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

L'étude de docking moléculaire a révélée que les deux complexes formés par le ligand **L10 (AChE-L10 et BuChE-L10)** présentent la plus basse énergie score par rapport aux autres. Le ligand L₁₀ établit trois interactions avec les résidus de site actif de l'AChE. La première est forte de type Hydrogène (H-accepteur=2.88Å) avec le résidu : PHE295 et deux autre de type hydrophobique (H-Pi, Pi-Pi) formées entre ce ligand et le HOH956 et le résidu : TRP86 respectivement. En plus, nous remarquons que deux interactions établissent entre le ligand L10 et le même résidu de BuChE : TRO285 avec une même distance : 3.36 Å.

D'autre part, les résultats de dynamique moléculaire obtenus confirment que le complexe AChE-L10 possède presque le même type d'interactions par contre le complexe BuChE-L10 crée des nouveaux types d'interactions, ceci justifié que ce ligand est le meilleur inhibiteur confirmé par la présence des différents types d'interactions entre ce ligand et les résidus de site actif des deux enzymes étudiées.

Conclusion générale

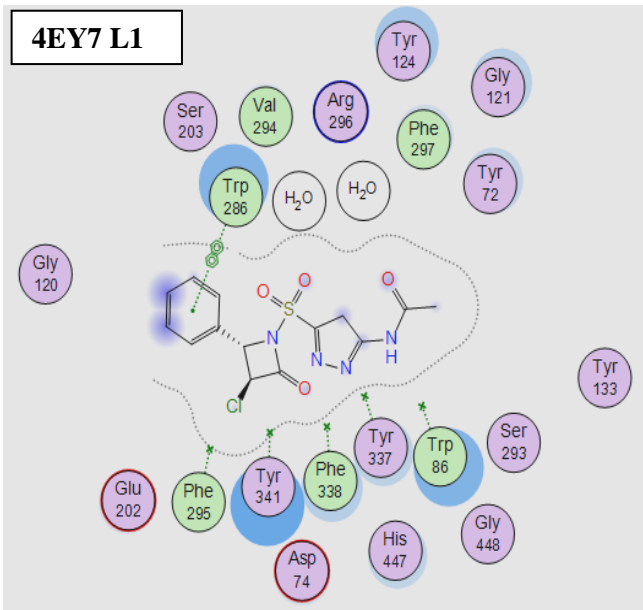
En plus, le calcul des propriétés ADME a prouvé que ce ligand respecte les règles : Lipinski, Veber et Egan, ceci justifié que ce ligand ne pose aucun problème pharmaco: cinétique/dynamique.

Cette étude montre que la combinaison entre plusieurs méthodes de modélisation moléculaire peuvent être utile dans l'intérêt à découvrir de nouveaux médicaments anti-Alzheimer, et d'après les résultats obtenus, nous pouvons sélectionner le ligand L10 comme étant le meilleur inhibiteur pour ralentir l'évolution de la MA.

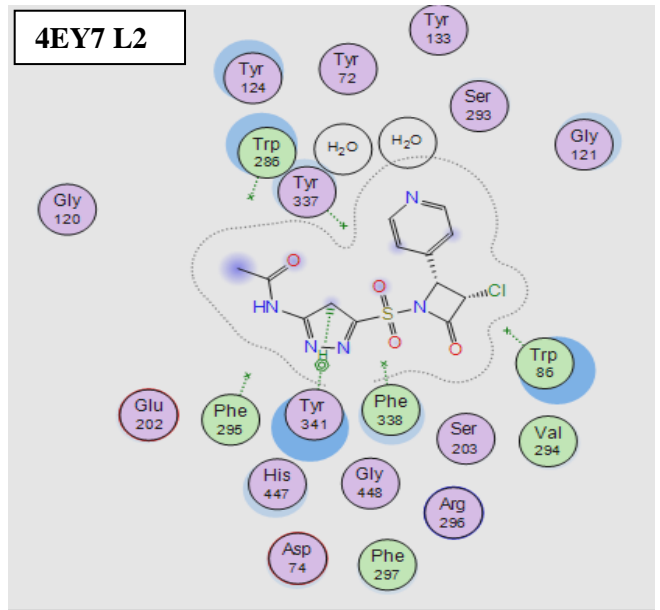
Annexe

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

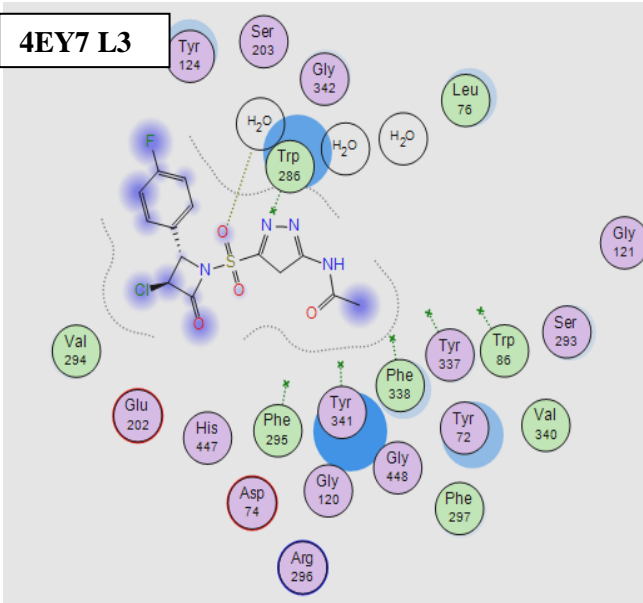
4EY7 L1



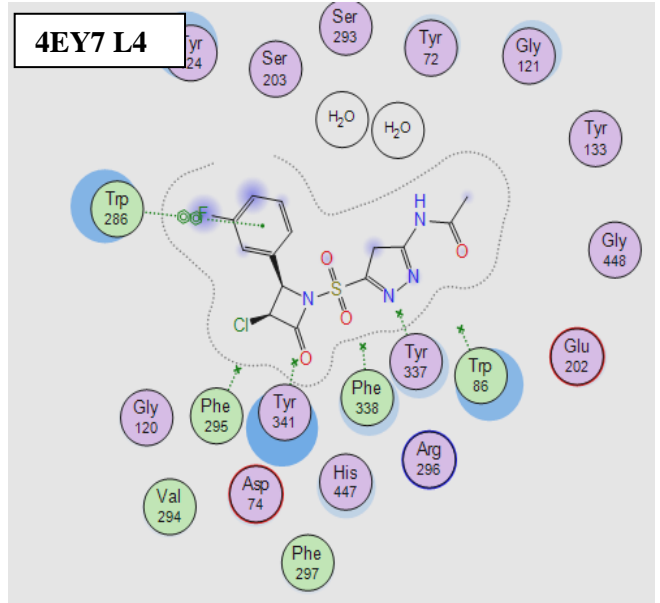
4EY7 L2

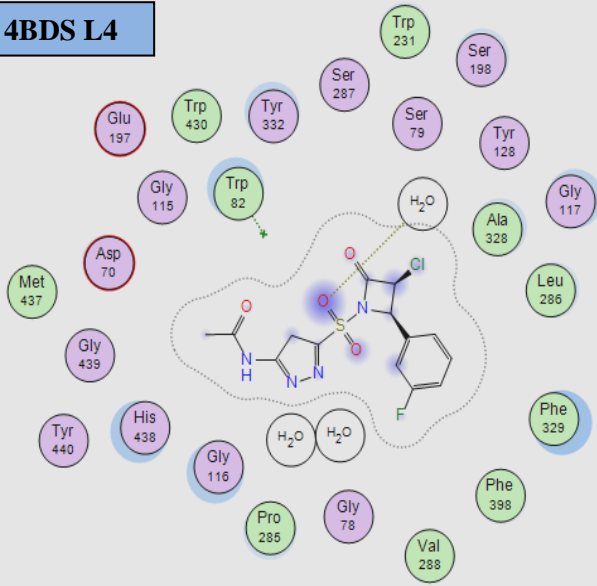
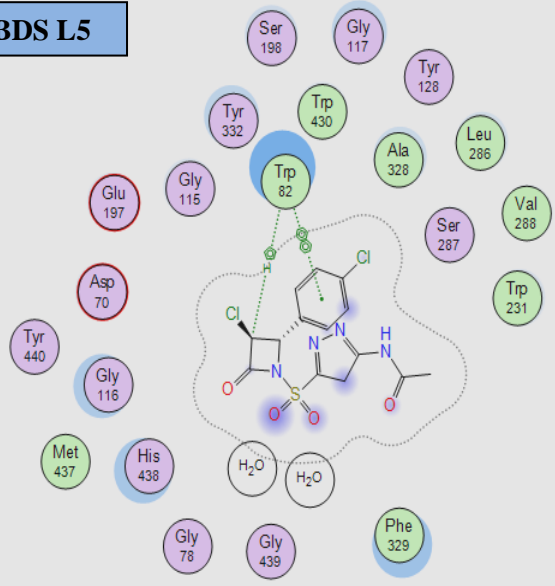
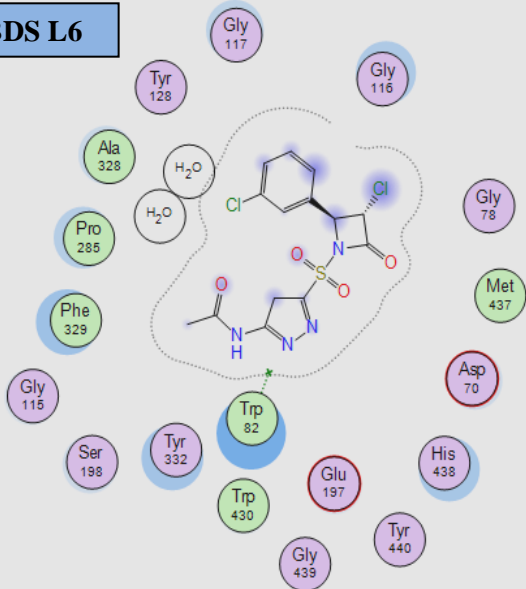
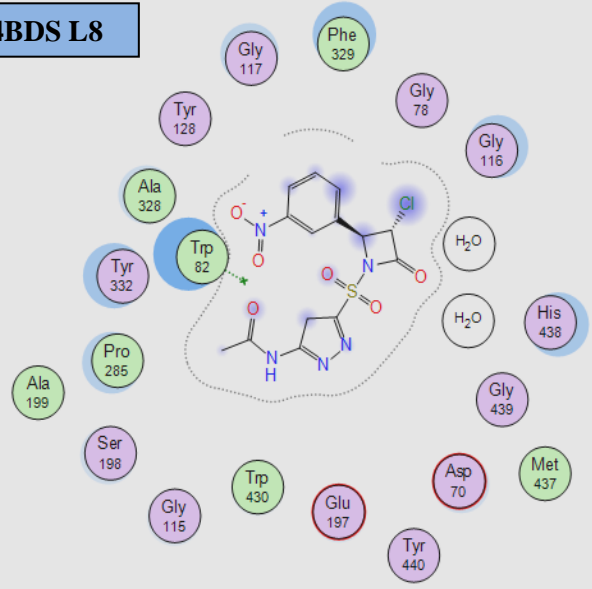
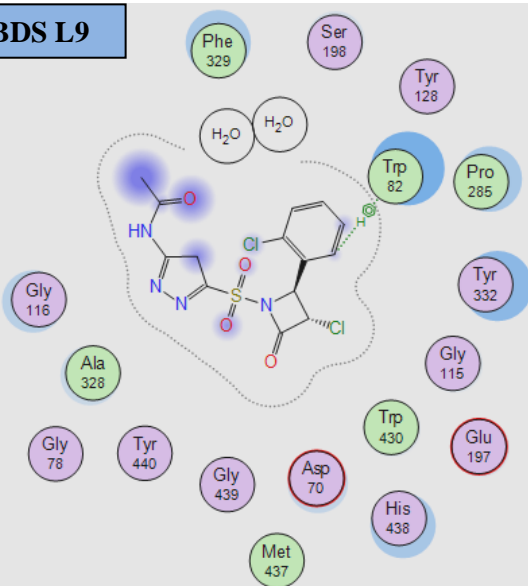
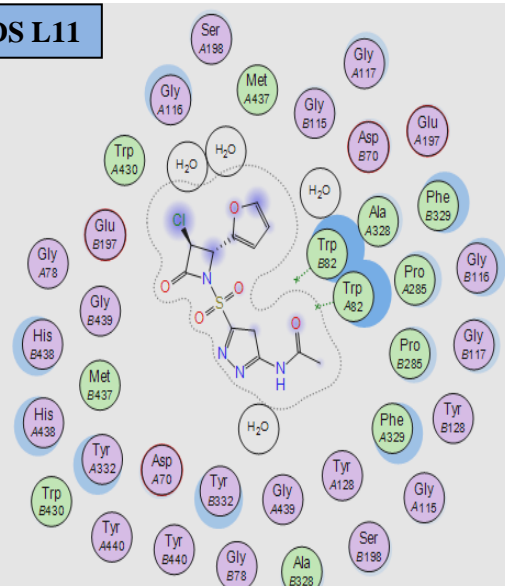


4EY7 L3



4EY7 L4



4BDS L4**4BDS L5****4BDS L6****4BDS L8****4BDS L9****4BDS L11**

Résumé

Notre travail consiste à étudier les interactions entre une série des molécules nouvellement synthétisés (**dérivés de l'acetazolamide**) et les deux enzymes : l'AChE et le BuChE impliquées dans la maladie d'Alzheimer en utilisant deux méthodes de la modélisation moléculaire (docking et dynamique moléculaire) et un calcul des propriétés ADME.

En premier temps, la discussion des résultats de docking moléculaire est basée sur les trois paramètres : énergie de score, RMSD et les types d'interactions formés entre les ligands et les résidus du site actif. En suite, la dynamique moléculaire est utilisée pour la validation des résultats de docking moléculaire et le meilleur ligand obtenus au cours de ces méthodes testé dans le but d'étudier les propriétés physico-chimiques.

L'analyse des résultats obtenus montre que le ligand L10 présente une meilleure inhibition de l'AChE et le BuChE, ceci nous a permis de le sélectionner comme étant probablement le meilleur inhibiteur pour ralentir la maladie d'Alzheimer.

Mots-clés : AChE/ BuChE, **Dérivés de l'acetazolamide**, Docking /Dynamique Moléculaire, ADME, Interactions.

Abstract

Our work consists in studying the interactions between a series of newly synthesized molecules (derivatives of acetazolamide) and the two enzymes: AChE and BuChE involved in Alzheimer's disease using two methods of molecular modeling (docking and molecular dynamics) and a calculation of ADME properties.

First, molecular docking result's discussion is based on the three parameters: score energy, RMSD and the interaction types formed between ligands and active site residues. Then, molecular dynamics are used for the validation of molecular docking results and the best ligand obtained during these methods tested in order to study the physical-chemical properties.

The analysis of the results obtained show that the ligand L10 presents a best inhibition of AChE and BuChE, this allowed us to select it as being probably the best inhibitor to slow down Alzheimer's disease.

Keywords: AChE/BuChE, Acetazolamide derivatives, Molecular Docking/Dynamics, ADME, Interactions.