



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Med Khider Biskra

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

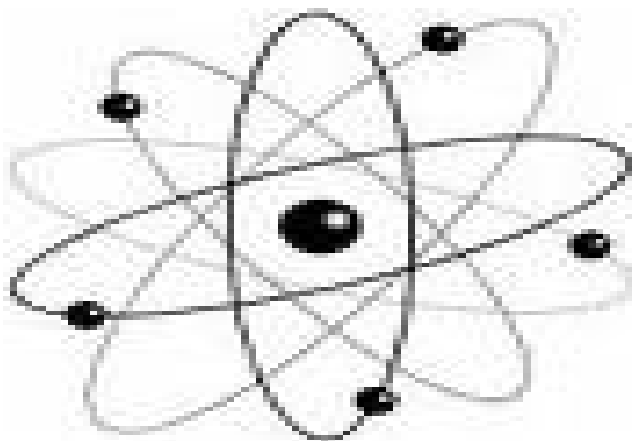


Département des Sciences de la Matière

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique



*Mémoire de fin d'étude en Master*

*Intitulé :*

*Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions : Cas de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BuChE)/ inhibiteurs.*

*Présenté par :*

**Naili Hiba**

*Devant le jury :*

**Melkmi Nadjib**

**M.C.A**

**Président**

**Daoud Ismail**

**M.C.B**

**Rapporteur**

**Youcef Oum Hani**

**M.C.B**

**Examinatrice**

**2017-2018**



## Dédicace

*Je dédie ce travail :*

- *A mon père, que Dieu nous la garde longtemps encore ;*
- *A ma mère, que Dieu nous la garde longtemps encore ;*
- *A la mémoire de ma grande mère, puisse Dieu L'accueillir dans son vaste paradis ;*
- *A mon grand père, que Dieu nous la garde longtemps encore ;*
- *A mes frères abdelbasset, obaïda ,dirar ;*
- *A mes sœurs sara, houda ,salma ;*
- *A mon amie zineb djoudi ;*
- *A toute ma grande famille ;*
- *A tous ceux, qui, de près ou de loin, m'ont aidé à mener à bon terme la réalisation de ce travail.*

## Remerciement

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant pour m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

Le présent travail a été réalisé au université med khider biskra de la faculté des sciences, Département de chimie.

Il nous est agréable d'exprimer notre plus profonde gratitude et remerciement le plus sincère a notre encadreur Dr.Daoud.I professeur à université med khider biskra pour son aide, ses orientations judicieuses sa disponibilité, patience et sur tout sa confiance. Qu'il trouve ici un hommage vivant à sa haute personnalité.

C'est avec un grand plaisir que nous remercions Dr.Melkmi.N. à université med khider biskra pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de ce mémoire.

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

# Liste des abréviations

**3D** : 3-Dimensional.

**AA** : Acide Aminée.

**AChE** : Acétylcholinestérase.

**BuChE** : Butylcholinestérase.

**CAS** : Chemical Abstracts Service.

**DFT** : La Théorie de la Fonctionnelle de la Densité.

**DM** : dynamique moléculaire.

**HTS** : High Throughput Screening

**MPn** : Most-Probable-Number.

**MM** : Mécanique Moléculaire.

**MOE** : Molecular Operating Environmen

**MVD** : Molegro Virtuel Docker.

**MA** : Maladie d'Alzheimer.

**OM-CLOA** : Combinaisons Linéaire des Orbitales Atomiques.

**OM** : Orbitale Moléculaire.

**OA** : Orbitales Atomiques.

**PDB** : Protein Data Bank.

**RHF** : restricted hartree-Fock.

**ROHF** : restricted Open-shell Hartree-Fock.

**RMN** : résonance magnétique nucléaire.

**UV** : Ultraviolet.

**UHF** : Unrestricted Hartree-Fock.

# Liste des tableaux

## CHAPITRE III

<b>Tableau III-1</b> : Propriétés de 1EVE et 4BDS.....	72
<b>Tableau III-2</b> : Données cristallographiques de l'AChE et de BuChE.....	73
<b>Tableau III-3</b> : Structures chimiques des ligands.....	74
<b>Tableau III-4</b> : Propriétés QSAR des ligands L1-L27.....	76
<b>Tableau III-5</b> : Quelques propriétés des ligands étudiés.....	81
<b>Tableau III-6</b> : Différentes cavités détectées par MOE de AChE.....	82
<b>Tableau III-7</b> : S-score, IC <sub>50</sub> et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes Des ligands.....	86
<b>Tableau III-8</b> : Différentes cavités détectées par MOE de BuChE.....	90
<b>Tableau III-9</b> : S-score, IC <sub>50</sub> et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands.....	94

# Liste des figures

## CHAPITRE I

<b>Figure I-1</b> : Représentation schématique du docking de deux molécules. (a) : Molécules de départ. (b) : Complexe moléculaire.....	20
<b>Figure I-2</b> : Principe général d'un programme de docking.....	21

## CHAPITRE II

- *Partie (A)*

<b>Figure II-1</b> : Structure des acides L- $\alpha$ -aminés.....	33
<b>Figure II-2</b> : Formation de la liaison peptidique.....	34
<b>Figure II-3</b> : Structure primaire d'une protéine.....	34
<b>Figure II-4</b> : Angles dièdres $\Phi$ et $\psi$ de la rotation de la liaison peptidique.....	35
<b>Figure II-5</b> : Conformations $\alpha$ et $\beta$ de la structures secondaires d'une protéine (référence PDB: 1CF3).....	36
<b>Figure II-6</b> : Structure tertiaire de la protéine.....	37
<b>Figure II-7</b> : Représentation schématique de la structure quaternaire d'une protéine (La glucose déshydrogénase, référence PDB : 3KHU) .....	38
<b>Figure II-8</b> : Représentation schématique de la notion de spécificité.....	43
<b>Figure II-9</b> : le site actif modèle de Fisher.....	44
<b>Figure II-10</b> : Site actif, modèle de Koshland.....	44
<b>Figure II-11</b> : Complexe Enzyme – Substrat.....	46
<b>Figure II- 12</b> : Structure générale d'un AA.....	49

- *Partie (B)*

<b>Figure II-13</b> : Représentation schématique d'une coupe transversale de cerveau sain (agauche) et l'atrophie massive d'un cerveau à un stade avance d'Alzheimer (adroite).....	53
<b>Figure II-14</b> : Composition d'une synapse.....	55
<b>Figure II-15</b> : Les lésions de la maladie.....	59
<b>Figure II-16</b> : Représentation schématique du système cholinergique.....	61

### CHAPITRE III

<b>Figure III-1</b> : Protocole de calcule de docking moléculaire.....	71
<b>Figure III.2</b> : Modèle simplifie de (a) : AChE ,(b) : BuChE.....	72
<b>Figure III.3</b> : Etapes de calcule à l'aide logiciels HyperChem7.....	75
<b>Figure III-4</b> : Méthode de détection de cavité knob & hole .....	79
<b>Figure III.5</b> : Modèle simplifié et la cavité choisie de l'AChE.....	84
<b>Figure III-6</b> : Cavite enzymatique et les résidus du site actif de l'AChE.....	85
<b>Figure III-7</b> : interaction entre les ligands (L <sub>13</sub> , L <sub>25</sub> ) et les résidus de site actif de AChE.....	88
<b>Figure III-8</b> :interaction entre les ligands (L <sub>21</sub> , L <sub>19</sub> , L <sub>20</sub> ) et les les résidus de site actif de AChE.....	89
<b>Figure III-9</b> : Modèle simplifié et la cavité choisie de BuChE.....	92
<b>Figure III-10</b> : Cavité enzymatique et les résidus du site actif de l' BuChE.....	93
<b>Figure III-11</b> : interaction entre les ligands (L <sub>4</sub> , L <sub>2</sub> ) et les résidus de site actif de BuChE .....	96
<b>Figure III-12</b> : interaction entre les ligands (L <sub>10</sub> , L <sub>8</sub> L <sub>12</sub> ) et les résidus de site actif de BuChE .....	97





# TABLE DES MATIERES

## INTRODUCTION

<b>GENERALE</b> .....	1
Références.....	4
<b>CHAPITRE I : METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE.</b>	
Introduction.....	5
II-Méthodes de la Modélisation moléculaire .....	6
II.1. Méthodes quantiques.....	6
II.1.1 Le principe du calcul d'une méthode quantique .....	7
II.1.1.1.Méthode <i>ab-initio</i> .....	7
II.1.1.2. Théorie de la Fonctionnel de la Densité ( <i>DFT</i> ) .....	8
II.2. Méthodes semi-empirique.....	9
II.3. Méthodes non quantiques (empirique).....	10
II.3.1. Hückel simple et étendue .....	11
II.3.2. Mécanique Moléculaire (MM) .....	11
II.3.2.1.Champ de force.....	12
II.3.2.2.Différentes energies.....	13
<i>a.Energie entre atomes liés</i> .....	14
<i>b.Energie d'interaction entre atomes non liés</i> .....	15
II.3.2.3 Différents champs de force en mécanique moléculaire.....	17
II.3.3. Dynamique Moléculaire.....	18
II.3.3.1. Introduction.....	18
II.3.3.2. Calcul de dynamique moléculaire.....	19
II.3.4. Docking Moléculaire ou l'Amarrage moléculaire (AM).....	19
II.3.4.1. Principe.....	20
II.3.4.2. Représentation du système.....	21
II.3.4.3. Quelques programmes de Docking moléculaire.....	23
III.Références.....	24

## CHAPITRE II : PARTIE (A) ET PARTIE (B) .

<b>Partie (A) : Protéines, Enzymes et Acides aminés</b> .....	30
I. Introduction.....	31
II. Les protéines.....	32
II.1. Introduction.....	32
II.2. Définition.....	32
II.3. Structure des protéines.....	32
II.3.1. Les acides aminés .....	33
II.3.2. La liaison peptidique.....	33
II.3.3. 1. Structure primaire.....	34
II.3.3. 2. Structure secondaire.....	35
<i>a. Les hélices <math>\alpha</math></i> .....	36
<i>b. Les feuillets <math>\beta</math></i> .....	36
II.3.3.3. Structure tertiaire.....	37
II.3.3.4. Structure quaternaire et assemblage moléculaire.....	37
II.4. Fonctions de protéines.....	39
II.5. Rôles des protéines.....	39
II.6. Propriétés des protéines .....	40
II.6.1. Solubilité.....	40
<i>a. Force ionique de la solution</i> .....	40
<i>b. Le pH</i> .....	40
<i>c. Influence des solvants organiques</i> .....	40
II.6.2. Propriétés optiques .....	41
II.6.3. Propriétés osmotiques .....	41
II.6.4. Propriétés d'ionisation .....	41
III. Les enzymes.....	41

III.1. introduction .....	41
III.2. Définition .....	42
III.3. Nomenclature .....	42
III.4. Classification des enzymes.....	42
III.5. Notions de spécificité .....	43
III.6. Le site actif.....	43
III.7. Comment fonctionnement les enzymes.....	45
III.8. Complexe Enzyme-Substrat.....	45
III.9. Inhibition enzymatique.....	46
III.10. Différentes types cinétiques d'inhibiteurs d'enzymes .....	46
III.10.1. Inhibiteurs réversibles .....	47
III.10.2. Inhibiteurs irréversibles .....	48
III.11. Nature des forces dans les associations Enzyme – Substrat.....	48
IV .Acides aminés.....	49
IV.1. Introduction.....	49
IV.2. Définition.....	49
IV.3. Classification des principaux acides aminés.....	50
IV.3.1. Acides aminés non polaires.....	50
IV.3.2. Acides aminés polaires, non chargés.....	50
IV.3.3. Acides aminés acides.....	50
IV.3.4. Acides aminés basiques .....	50
IV.4. Propriétés Physiques des AA.....	51
IV.4.1 Solubilité.....	51
IV.4.2 Absorption dans l'UV.....	51
IV.4.3 Pouvoir rotatoire.....	51
IV.4.4 Propriétés d'ionisation.....	51
<b>Partie (B) : Maladie d'Alzheimer.....</b>	<b>52</b>
V. Introduction.....	53
VI. Causes de la maladie d'Alzheimer.....	54

VII. Les différents facteurs de risques de la MA.....	55
VII.1 Les facteurs environnementaux.....	56
VII.1.1 L'âge.....	56
VII. 1.2 Le sexe.....	56
VII. 1.3 Le niveau d'éducation.....	56
VII.1.4 Les traumatismes crâniens.....	57
VII.1.5 Le tabagisme.....	57
VII.2. Les facteurs vasculaires.....	57
VII.3. Les facteurs nutritionnels.....	57
VII.3.1 Les facteurs alimentaires.....	57
VII.3.2 L'obésité.....	58
VII.4 .Facteurs génétiques.....	58
VIII. Les symptômes .....	58
IX. Les lésions responsables de la maladie.....	58
IX.1.Les plaques amyloïdes.....	59
IX. 2 . Les dégénérescences neuro-fibrillaires.....	59
X. Le diagnostic.....	60
XI Traitement .....	60
XII.Référence.....	63

### **CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION .**

I. Introduction.....	69
I.1. Préparation et optimisation du modèle.....	72
I.2. Préparation des inhibiteurs.....	73
II. Docking moléculaire .....	77
II.1.Procédure d'un calcul de Docking Moléculaire .....	78
II.1.1. Principes. ....	78

II.1.2. Structure de la macromolécule (enzyme) .....	78
II.1.2.1. sources.....	78
II.1.2.2. Traitement de la structure 3D du récepteur .....	79
<i>a.Site d'interaction</i> .....	79
<i>b.Principe</i> .....	79
III.Résultats et Discussion.....	80
III.1. Structure du ligand.....	80
III.2. Interaction : Enzyme –Ligands.....	82
<i>a.Interaction : AChE –Ligands</i> .....	82
<i>b.Interaction : BuChE –Ligands</i> .....	90
IV.Références.....	100

# Introduction Générale





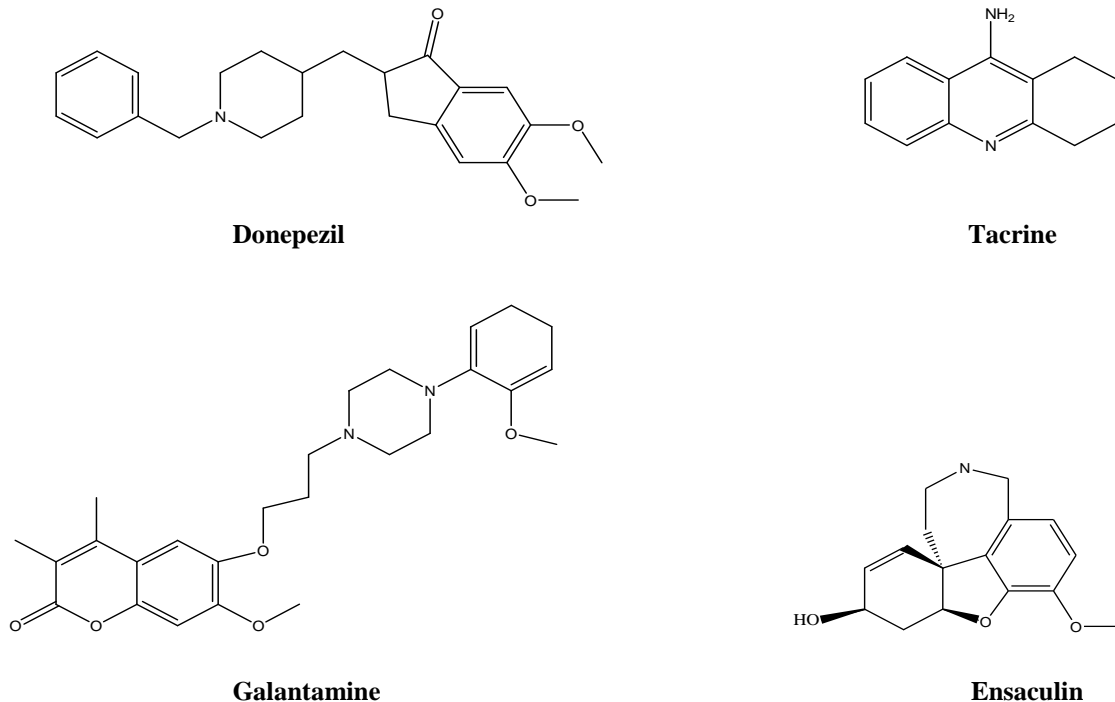


## Introduction Général

Les maladies neuro-dégénératives forment un groupe hétérogène et complexe de pathologies chroniques évolutives. Elles se caractérisent par un dysfonctionnement progressif du système nerveux, provoqué par une détérioration du fonctionnement des cellules nerveuses, notamment des neurones. 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].

A partir de la publication des critères de Mc Khan (1984), la maladie d'Alzheimer (MA) a été considérée comme une démence corticale dont les troubles de la mémoire traduisent un déficit de l'apprentissage et qui comporte des signes d'atteinte corticale : aphasie, agnosie, acalculie, apraxie... Elle fait partie des démences dégénératives du système nerveux qui s'accompagnent d'une perte neuronale associée aux marqueurs histologiques de la maladie : les plaques séniles et les dégénérescences neuro-fibrillaires [2].

Des nombreux travaux montrent que la MA se manifeste par la détérioration des cellules nerveuses libérant une substance appelée Acétylcholine, dont le rôle est de transmettre les messages entre les cellules du cerveau. Le déficit en Acétylcholine chez les malades est aggravé par l'action d'une enzyme, l'Acétylcholinestérase (AChE), qui décompose rapidement l'Acétylcholine. Les traitements liés à la **Galantamine**, la TACRINE, le DONEPEZIL, **Ensaculin** (Figure 1) ont pour but d'inhiber l'AChE pendant un temps suffisamment long pour que le taux d'Acétylcholine puisse se relever [3].



**Figure. 1** Quelques structures des inhibiteurs d'AChE



Parmi les causes de la MA qu'on peut citer ici la formation de  $\beta$ -amyloïde, ce dernier relie avec le taux élevé de cholinestérase, sachant que le cholinestérase se trouve en deux formes d'enzyme : Acétylcholinestérase et Butyrylcholinestérase (AChE/BChE).

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 [4].

Elles s'imposent souvent lorsque l'expérience réelle est trop difficile, trop dangereuse, trop coûteuse, trop longue ou trop rapide, éthiquement inacceptable, ou même impossible à réaliser. Elles permettent, actuellement, non seulement d'élaborer les mécanismes de complexations et les profils énergétiques mais également de justifier et prédire les conformations les plus stables ainsi que les interactions existantes entre un enzyme et un ligand.

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve le docking moléculaire (amarrage), Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [5].

Notre objectif de travail est de tester des nouveaux ligands pour inhiber ces deux enzymes (AChE/BChE).

## Introduction Général

Le travail de ce mémoire est présenté en trois chapitres :

- ✓ **Une introduction générale** : nous avons donné l'idée générale et l'objectif de notre travail.
- ✓ **Le premier chapitre** : concerne les principales approches et les différentes méthodes de la modélisation moléculaire.
- ✓ **Le deuxième chapitre** : consacrer pour deux parties :  
**Partie (A)**: Les protéines, les enzymes et les acides aminés  
**Partie (B)** : La maladie Alzheimer
- ✓ Dans **le troisième chapitre** : nous discutons les résultats obtenus.
- ✓ **Une conclusion générale** : résume et conclure l'ensemble du travail réalisé.

**Références**

[1] Young, A.B. (2009). Four decades of neurodegenerative disease research: how far we have come! J. Neurosci. 29, 12722–12728.

[2]. LEMARQUIS P., Sérénade pour un cerveau musicien *Odile Jacob, novembre 2009, ISBN 978-2-7381-2309-1 p.21 à 100.*

[3] G. Alain, D. Bruno, françoise forette - diagnostiqué la maladie d'alzheimer sans savoir la soigner, recherche & santé. n°105. 1er trimestre p : 13, 2006.

[4]. S. D. Ittel, L. K. Johnson, M. Brookhart, Chem. Rev, , 100, 1169, 2000.

[5] Kitchen D-B et al .2004.Docking and Scoring in virtual screening For drug discovery :methodes and application , Nat .Rev .Drug.Discov .3 :935-49.

# Chapitre I

## Méthode de la modélisation moléculaire.





## Méthodes de la modélisation moléculaire

### I. Introduction

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

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

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

- Les méthodes quantiques.
- Les méthodes semi-empiriques.
- Les méthodes non quantiques [3].

La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules [4].

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve aussi l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking") [5].

L'interprétation est facilitée par de nombreux outils de représentation graphique et permet ainsi d'analyser les résultats sous un jeu différent de celui de la voie expérimentale, qui demeure néanmoins complémentaire. Ainsi, la modélisation moléculaire trouve de nos jours en effet, les structures tridimensionnelles de ces biomolécules sont le point de départ pour des simulations visant à comprendre leurs interactions, entre elles ou avec des petites molécules,

## Méthodes de la modélisation moléculaire

ce qui est à la base d'un grand nombre de phénomènes chimiques, biologiques et biochimiques [6].

### II. Méthodes de la Modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules. La taille du système étudié peut aller d'une simple molécule diatomique jusqu'à des macromolécules biologiques de plusieurs dizaines de milliers d'atomes. La modélisation moléculaire peut ainsi permettre de décrire le comportement électronique des atomes et des molécules pour expliquer leurs réactivités, comprendre les processus de repliement d'une protéine ou encore expliquer l'importance de certains acides aminés d'un site catalytique enzymatique. Pour réaliser ce type d'étude, il est nécessaire de déterminer une expression de l'énergie d'interaction des atomes du système moléculaire en fonction de leurs positions relatives. Pour ce faire, les méthodes de modélisation moléculaire reposent entre autres sur deux approches différentes pour évaluer cette énergie d'interaction [7] appelées : Mécanique Quantique et Mécanique Moléculaire. La recherche des conformations stables d'une molécule consiste à déterminer la valeur minimale de cette énergie d'interaction correspondante au minimum global [8].

#### II.1. Méthodes quantiques

La mécanique quantique décrit la matière comme un ensemble de noyaux atomiques autour desquels gravitent des électrons, eux-mêmes décrits explicitement par leur probabilité de présence en un point et représentés par des fonctions d'onde. En d'autres termes, en appliquant les lois de la mécanique ondulatoire aux électrons, elle permet de déterminer l'état électronique d'un système d'atomes, mais aussi l'ensemble de ses propriétés observables (structurales : géométries, angles, longueurs... ; énergétiques : énergies de liaison, d'excitation... ; spectroscopiques : fréquences de vibration, spectres UV-visible, IR et microonde... ; électroniques, magnétiques et réactionnelles : barrières d'activation...).

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

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



## Méthodes de la modélisation moléculaire

Où:

**H** : est l'opérateur hamiltonien du système.

**$\Psi$**  : est la fonction d'onde du système.

**E** : est l'énergie totale du système.

La résolution exacte de cette équation n'est possible que pour l'atome d'hydrogène et les systèmes mono-électroniques. Pour les systèmes poly-électroniques, on fait appel aux méthodes d'approximation, pour la résolution approchée de l'équation de SCHRÖDINGER. Différentes approches sont envisageables dans le cadre des outils de modélisation moléculaire. Si ceux de mécanique classique, économiques en termes de temps de calcul, permettent de traiter des systèmes moléculaires de grande taille, les méthodes quantiques (*ab-initio*, semi-empiriques ou théorie de la fonctionnelle de la densité) sont, quant à elles, capables de calculer les propriétés électroniques des systèmes.

### **II.1.1 Le principe du calcul d'une méthode quantique**

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

- ✓ Les méthodes *ab initio* : elles visent à la résolution de l'équation électronique de Schrödinger pour déterminer la fonction d'onde approchée du système étudié.
- ✓ La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) : elle recherche la densité électronique la plus proche possible en partant du principe que la densité électronique d'un système d'électron détermine toutes les propriétés de ce système.
- ✓ Les méthodes semi-empiriques : elles sont une simplification des méthodes *ab-initio* et sont paramétrées de façon à reproduire des résultats expérimentaux. Les méthodes semi empiriques sont surtout utilisées pour des systèmes moléculaires de très grande dimension ou pour une première optimisation de structures moléculaires.

#### **II.1.1.1. Méthode *ab-initio***

Les méthodes *ab-initio* sont des méthodes non empiriques, toutes les intégrales sont rigoureusement calculées et il n'y a pas d'approximation à faire sauf celle de Born Oppenheimer et l'approximation OM-CLOA. Dans les méthodes *ab-initio*, toutes les

## Méthodes de la modélisation moléculaire

particules (noyau et électrons) sont traitées explicitement. On n'utilise aucun paramètre empirique dans le calcul de l'énergie.

Les méthodes *ab-initio* se divisent en deux sous familles : les méthodes Hartree - Fock (HF, RHF, UHF, ROHF) (Hartree, 1928 ; Fock, 1930), et les méthodes post Hartree-Fock, (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 [10].

### **II.1.1.2. Théorie de la Fonctionnel de la Densité (DFT)**

La densité électronique est définie comme la distribution moyenne dans l'espace d'un électron dans le champ des autres, cette densité est une observable et peut être déterminée expérimentalement. Le modèle de la fonctionnelle de la densité (DFT) est incontestablement celui qui donne le meilleur compromis qualité/ temps à l'heure actuelle. L'idée que la seule densité électronique puisse contenir l'ensemble des informations d'un système atomique ou moléculaire fut utilisée pour la première fois à travers le modèle de Thomas-Fermi mais n'a pas été développée à son terme. Ce n'est qu'en 1964, avec la formulation des deux théorèmes d'Hohenberg et Kohn que l'approche DFT a pu se développer en montrant notamment que l'énergie de tout système atomique ou moléculaire est une fonctionnelle de la densité [11].

Les méthodes DFT permettent de traiter des systèmes de taille importante (plusieurs dizaines d'atomes). Grâce à son utilisation dans l'étude théorique de gros complexes inorganique et organométallique, elle devenue l'outil principal des quanto-chimistes et des théoriciens en général [12,13].

Cette théorie dont les applications en chimie quantique sont très nombreuses et très importantes. Elle peut être employée pour expliquer différents résultats expérimentaux ou pour obtenir des grandeurs difficilement accessibles par l'expérience. Elle est aussi employée pour calculer des énergies de systèmes chimiques, donnant accès aux géométries, à leur structure électronique ou encore à leur proportion. La DFT est une théorie de l'état fondamental électronique [14].

La DFT n'est pas seulement une méthode de résolution de l'équation de Schrödinger, elle est

## Méthodes de la modélisation moléculaire

complètement différent [15,16].

Le gros avantage de la DFT par rapport aux méthodes *ab-initio* est qu'on n'a pas besoin de calculer la fonction d'onde entière du système à  $N$  particules, mais que seule la densité électronique totale est calculée pour obtenir toutes les propriétés de l'état fondamental [17].

### II.2. Méthodes semi-empirique

Une méthode semi-empirique [18] est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaire aux calculs Hartree-Fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales (l'hamiltonien est toujours paramètre par comparaison avec des composés de références). En générale toutes ces méthodes sont très précisées pour les familles de produits donnés voisines de celles utilisées pour la paramétrisation (*CNDO*, *MINDO/3*, *NDDO*, *INDO*).

Elles sont très importantes en chimie pour traiter de grands ensembles moléculaires dans lesquels une méthode Hartree-Fock pure sans approximations est trop coûteuse.

L'utilisation de paramètres empiriques peut permettre d'inclure des effets de corrélation dans les méthodes employées. Dans les méthodes *ab-initio* la quasi-totalité du temps de calcul est consommé par les calculs des intégrales, et dans le but de réduire ce temps de calcul, il est nécessaire de simplifier les équations de Roothann.

Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-Fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales (l'hamiltonien est toujours paramétré par comparaison avec des références).

En générale toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits données voisines à celles utilisées pour la paramétrisation.

Les méthodes semi-empiriques ne considérant que les électrons de la couche de valence ; les électrons des couches internes sont inclus dans le cœur nucléaire.

- **CNDO/2** : (Complète Neglect of Differential Overlep/version 2) la première méthode semi empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965, méthode présentant certains défauts entre autres : elle ne tient pas compte de la règle de Hund.
- **INDO** :( Intermediate Neglect of Differential Overlap) proposée par PopleBeveridge et Dobosh en 1967. Elle permet de distinguer entre les états Singulets et les états triplets d'un système en conservant les intégrales d'échange.

## Méthodes de la modélisation moléculaire

- **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 [19].

L'avantage des calculs semi-empiriques est qu'ils sont donc plus rapides que les autres méthodes quantiques. Leur inconvénient réside dans le fait qu'elles sont soumises à de nombreuses approximations. En fait, peu de propriétés peuvent être prédites de manière fiable, en particulier, pour des molécules de structures trop éloignées de celles utilisées pour la paramétrisation des méthodes. En général celle-ci est réalisée afin de reproduire différentes propriétés : géométries, énergies de formation ou encore énergies de réaction, moments dipolaires, potentiels d'ionisation voire des propriétés spécifiques telles que des spectres électroniques ou des déplacements chimiques RMN [20]. Le calcul semi-empirique est la technique la plus utilisée, notamment pour l'étude de molécules de taille intermédiaire [21].

### **II.3. Méthodes non quantiques (empirique)**

Les méthodes empiriques sont des méthodes de mécanique moléculaire basées sur des concepts de la mécanique classique où les atomes et leurs électrons sont confondus en une collection de points matériels. Ces derniers agissent les uns sur les autres par l'intermédiaire d'un potentiel empirique encore dit champ de forces ne dépendant que de la position relative

## Méthodes de la modélisation moléculaire

des atomes dans l'espace. Au sein de l'ordinateur, la représentation d'une molécule consiste donc en un ensemble de coordonnées atomiques, une liste de liaisons chimiques et un jeu de fonctions et de paramètres constituant le potentiel d'interaction. Le potentiel empirique qui détermine l'énergie conformationnelle de la molécule est constitué de deux types de termes représentant, respectivement, les interactions entre les atomes liés (longueur de liaison, angle de valence, angle dièdre) et les atomes non liés (Van der Waals, électrostatique) [22].

### **II.3.1. Hückel simple et étendue**

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

La découverte de cette approche de Hückel a véritablement constitué une petite révolution dans le monde de la chimie et a véritablement servi de détonateur au développement de la chimie quantique [23].

### **II.3.2 Mécanique Moléculaire (MM)**

La Mécanique Moléculaire est apparue en 1930, et désigne actuellement une méthode de calcul qui permet, *à priori*, d'obtenir des résultats de géométries et d'énergies moléculaires en se basant sur la mécanique classique [24].

La mécanique moléculaire est basée sur un champ de force empirique, c'est une méthode non quantique [25].

La mécanique moléculaire a pour but de prédire l'énergie associée à une conformation donnée d'une molécule. Le résultat obtenu aux propriétés physiques de la molécule observées expérimentalement c'est une méthode empirique qui utilise un modèle mathématique et divers paramètres de potentiels : s'appelle un champ de force [26].

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 [27,28].

## Méthodes de la modélisation moléculaire

Utilisée les principes de la mécanique classique de Newton, l'application de la mécanique moléculaire permet de représenter un système à l'échelle atomique et d'en calculer l'énergie. Réaliser ce calcul pour différentes conformations de la structure considérée permet de caractériser différents points de la surface d'énergie potentielle associée au système. Chaque point de la surface est donc associé à une probabilité d'échantillonnage, ce qui induit la création d'une statistique de rencontre des conformations du système. Cette méthode de calcul se base sur la sommation de différents termes et est très utilisée pour la description de systèmes de taille importante, excédant le millier d'atomes [29, 30].

### II.3.2.1. Champ de force

La mécanique moléculaire ressemble aux modèles de type « tiges et boules ». Un calcul MM aboutit à une disposition des noyaux telle que la somme de toutes les contributions énergétiques est minimisée ; ses résultats concernant surtout la géométrie et l'énergie du système. L'idée directrice de cette méthode est d'établir, par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, le « CHAMP DE FORCE », qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire [31]. On appelle champ de force le modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire. Sous ce terme sont en fait regroupés deux éléments : d'une part l'expression des différentes fonctions contribuant au calcul énergétique et d'autre part les valeurs des différentes constantes paramétrant ces fonctions. [32].

IL permet d'accéder à l'hypersurface énergétique d'une molécule en établissant un lien entre les déformations structurales du système et son énergie potentielle. Il désigne à la fois l'équation mathématique (fonction d'énergie potentielle) et les paramètres qui la composent [33]. Le développement d'un nouveau champ de force ou de paramètres demeure un défi majeur pour les fonctions chimiques complexes [34].

Elle peut se décomposer en termes d'interaction intramoléculaire et un terme d'interaction intermoléculaire.

Les interactions intramoléculaires ne dépendent que des coordonnées internes des molécules c'est-à-dire des liaisons, des angles de valence, et de torsions. En fait pour, affiner L'expression du terme potentielle est rendre plus fidèle la description du système, des termes

Méthodes de la modélisation moléculaire

$$V_{\text{intra}} = \sum_{\text{liaison}} V_{\text{élongation}} + \sum_{\text{angles}} V_{\text{courbure}} + \sum_{\text{angles diédres}} V_{\text{torsion}} + \sum V_{\text{croisé}}$$

de couplages entre différents atomes ont été introduit. Le potentielle intramoléculaire peut s'écrire de façon générale:

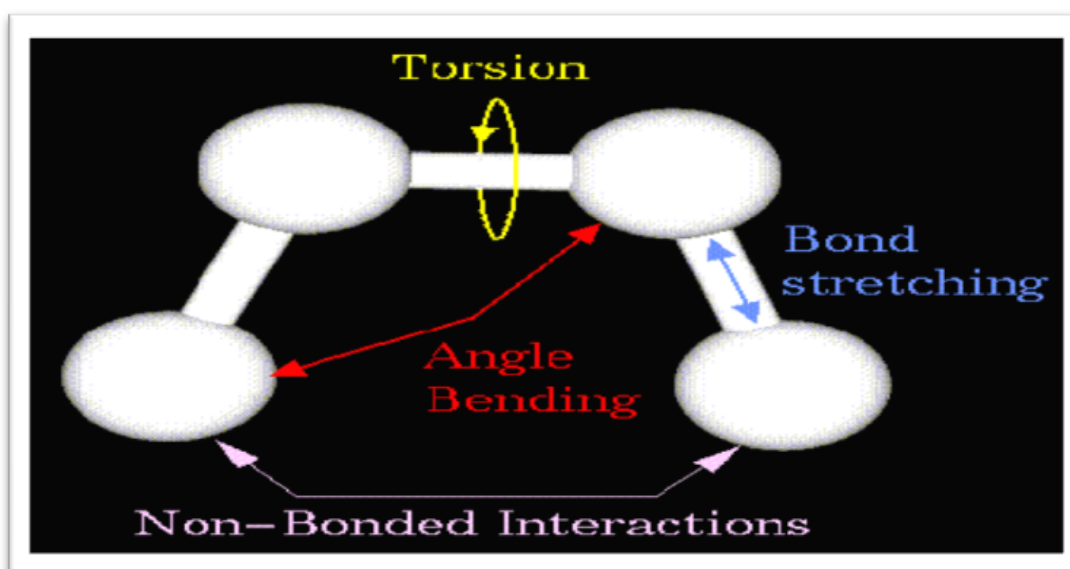
Les interactions intermoléculaires prennent en compte les interactions qui n'interagissent pas par des termes de liaison, d'angle de courbure et d'angle de torsion. Le potentiel non liant s'exprime en deux termes: un terme de Van der Walls et un terme d'énergie électrostatique.

$$V_{\text{intermoléculaire}} = \sum_{\text{atomes non liés}} V_{\text{van der Walls}} + \sum_{\text{atomes non liés}} V_{\text{électrostatique}}$$

On a donc: [35].

**II.3.2.2. Différentes energies**

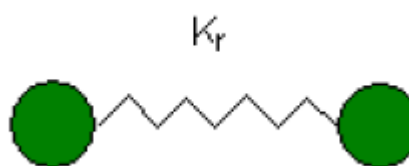
Un champ de force est constitué de plusieurs fonctions d'énergie potentielle qui dérivent les interactions intramoléculaires entre atomes liés et non liés.



Méthodes de la modélisation moléculaire**a. Energie entre atomes liés****a.1. Elongation des liaisons : (Stretching)**

L'élongation des liaisons, Estretch, est un terme destiné à réguler la distance entre deux atomes liés de façon covalente. A l'origine, cette contribution a été exprimée sous forme d'un potentiel de Morse ou, de manière à simplifier les calculs, par un potentiel harmonique (en  $x^2$ ) issu de la loi de Hooke qui décrit l'énergie associée à la déformation d'un ressort. Par analogie, les champs de force sont souvent comparés à des modèles assimilant les atomes à des boules reliées entre elles par des ressorts.

$$E_{stretch} = \frac{1}{2} k_r (r - r_0)^2$$



$k_r$  : constante de force de la liaison.

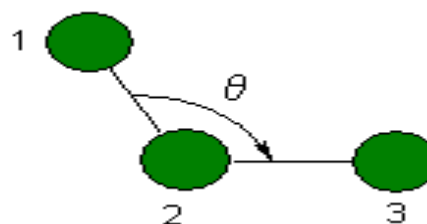
$r$  : longueur de liaison.

$r_0$  : longueur de la liaison à l'équilibre

**a.2. déformation des angles de valences : (Bending)**

La déformation des angles de valence, Ebend, est fréquemment représentée par une expression similaire à celle de l'élongation de liaison et comporte souvent un terme en  $\theta^2$ .

$$E_{bend} = \frac{1}{2} k_\theta (\theta - \theta_0)^2$$



$k_\theta$  : constante de force de déformation d'angle de valence.

$\theta$  : Angle de valence.

$\theta_0$  : angle de valence à l'équilibre.

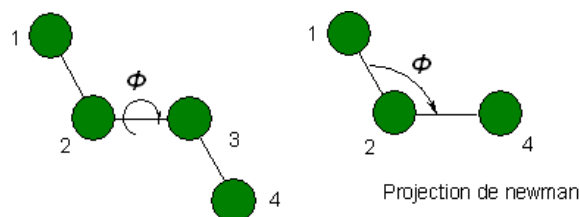


Méthodes de la modélisation moléculaire*a.3. Energie de torsion*

La variation des angles dièdres (angles de torsion), Etorsion, impose l'utilisation d'un terme périodique. La torsion correspond à la rotation autour d'une liaison simple. L'énergie potentielle s'exprime en fonction de l'angle de rotation  $\phi$  (angle dièdre).

Le terme énergétique représentant la déformation des angles dièdres est représenté par une fonction développée en série de Fourier et il est calculé par la formule [36].

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



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

$n$  : périodicité de  $A_{i,n}$ .

$\phi_i$  : angle de torsion.

$\omega$  : Angle de phase.

*b. Energie d'interaction entre atomes non liés*

Le potentiel non liant s'exprime en trois termes : un terme de Van der Waals, terme d'énergie électrostatique et un terme des liaisons hydrogène ( $E_{\text{atomes-non-liés}}$ ) [37].

*b.1. Interaction de Van der Waals*

Les interactions de Van Der Waals sont des dipôles non permanents de faible rayon d'action Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice [38].

Il est constitué d'un terme répulsif en  $r_{ij}^{-12}$  représentant le principe d'exclusion de Pauli et la répulsion internucléaire à courte distance. Il contient également un terme attractif en  $r_{ij}^{-6}$  représentant les interactions d'origine dipolaire dues aux fluctuations des nuages électroniques de chacun des atomes (forces de London) [39].

## Méthodes de la modélisation moléculaire

La distribution asymétrique des électrons dans les orbitaux induits de dipôles instantanés. Ces dipôles oscillent et produisent une force attractive : la force de dispersion de London. À très courte distance, la répulsion entre les deux nuages électroniques est très forte.

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

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

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

**Remarque :** Chaque atome possède un rayon de Van der Waals caractéristique. La distance de contact ou distance optimale entre deux atomes, c'est-à-dire la distance pour laquelle l'énergie de van der Waals est minimum, correspond à la somme de leurs rayons de van der Waals.

### *b.2. Interactions électrostatiques*

Il s'agit des interactions entre deux atomes portant chacun une charge.

L'énergie de cette interaction est décrite par la loi de Coulomb :

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

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

$r_{ij}$  : la distance entre les deux atomes et

$D$  : le constant diélectrique du milieu.

Cette constante diélectrique est une propriété macroscopique du milieu environnant les charges; son évaluation n'est pas aisée. Elle prend les valeurs 1,0 et 78,8 dans le vide et dans l'eau respectivement, alors que des valeurs de  $D$  entre 4,0 et 7,0 sont employées pour simuler un environnement de protéine [40].

### *b.3. Energie des liaisons hydrogène*

Les liaisons hydrogène sont le résultat des interactions électrostatiques (70%) et de van der Waals (30%) entre un atome électronégatif (généralement un atome d'oxygène ou d'azote) portant un doublet d'électron libre et un atome d'hydrogène porté par un atome électronégatif [41].

$$E_{\text{Liaison-hydrogene}} = \sum \left[ \frac{A'}{r_{AD}^{12}} - \frac{B'}{r_{AD}^{10}} \right] \cos^m \theta_{A-H-D} \cos^n \theta_{AA-HD}$$

Méthodes de la modélisation moléculaire

$A'$ ,  $B'$  : paramètres dépendant de la nature du donneur et de l'accepteur de liaisons H, distants de  $r_{AD}$ .

$\theta_{A-H-D}$  : angle formé par l'accepteur (A), l'hydrogène (H) et le donneur (D).

$\theta_{AA-A-H}$  : angle formé par l'antécédent de l'accepteur (AA), A et H.

$m$ ,  $n$  : exposants donnés par le type de D et A,  $m = 0, 2, 4$  ;  $n = 0, 2$ .

**II.3.2.3 Différents champs de force en mécanique moléculaire**

En mécanique moléculaire, il existe un grand nombre de champs de forces, plus ou moins spécialisés dans un domaine d'applications précis. Nous ne citerons ici que les plus connus donc Les champs de forces en MM peuvent être groupés en trois classes principales [42] :

- 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* [43] ne considérant pas que les termes de la mécanique moléculaire classique mais aussi les effets chimiques comme l'électronégativité.

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

- **AMBER [44-50]** (Assisted Model Building with Energy Re-finement) est le champ de forces le plus connu, et l'un des plus utilisés. Il a été développé par le groupe de Peter Kollmann, puis de David Case. Il existe plusieurs versions de ce champ de forces. Ce champ de forces est très spécifique à l'étude des systèmes biologiques, et plus particulièrement aux protéines et aux acides nucléiques. La version GAFF (Generalized AMBER Force Field) de ce champ de forces a été développée pour les molécules organiques.
- **MM2/MM3/MM4** : MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col [51-53].
- **OPLS** : Il est élaboré par W. L Jorgensen et J. Tirado Rives [54].
- **GROMOS** : développé par Van Gasteren [55].
- **CHARM (Bio+)** : Développé par Karplus et col [56-59].
- **SPASIBA** : élaboré par Gérard Vergoten et col. (1995). Il combine le champ de force spectroscopique modifié de Urey-Bradly-Shimanouchi [60] et le champ de force AMBER.
- **EMO** : Le programme Emo (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaive [61-65].

## Méthodes de la modélisation moléculaire

### II.3.3. Dynamique Moléculaire

#### II.3.3.1. Introduction

L'objectif de la modélisation moléculaire est notamment d'obtenir des valeurs macroscopiques à partir de données microscopiques. Pour cela, il faut accumuler un grand nombre de statistiques (échantillonnage du système). Cette statistique sera dépendante de l'ensemble thermodynamique du système, c'est-à-dire un ensemble statistique représentant la probabilité de distribution des micro-états du système [66].

On se trouve alors en présence d'un assemblage de masses, de ressorts et de vitesses et donc le problème peut être résolu en intégrant la seconde équation de mouvement de Newton.

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

$\vec{F}_i$  : Vecteur force agissant sur l'atome i.

$m_i$  : Masse de l'atome i.

$\vec{a}_i$  : Vecteur accélération de l'atome i.

$\vec{r}_i$  : La position de l'atome i.

Les vitesses sont appliquées de façon aléatoire sur les atomes (sphères) selon la température choisie pour l'expérience. En utilisant la DM, on peut étudier la flexibilité ou la rigidité des biomolécules, mesurer les interactions intermoléculaires entre la protéine et les ligands ou d'autres biomolécules, calculer l'énergie libre ou bien étudier l'effet du solvant sur la structure des biomolécules. Parmi les algorithmes intégrateurs les plus souvent implémentés dans les logiciels se trouvent les algorithmes de Verlet et de Verlet-Leapfrog [67].

Dans le modèle très simpliste des premières simulations réalisées sur des phases condensées par Alder et Wainwright en 1957 [68] des sphères rigides identiques sont utilisées pour représenter les atomes, chacune se déplaçant en ligne droite et à vitesse constante entre des collisions. Celles-ci sont parfaitement élastiques et se produisent quand la distance entre les centres de deux sphères est égale au diamètre d'une sphère.

Depuis, de nombreux modèles ont été développés pour tenter de décrire de façon plus réaliste les interactions entre particules lors des simulations. Ces modèles peuvent être regroupés en

## Méthodes de la modélisation moléculaire

deux catégories principales : les modèles paramétrés (ou classiques) et les modèles *ab-initio* [69].

### II.3.3.2. Calcul de dynamique moléculaire

Une simulation de dynamique moléculaire 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.

Deux points importants doivent être pris en compte:

La température d'une molécule ou agitation thermique correspond en réalité à l'énergie cinétique des atomes de la molécule puisque [70] :

$$E_{\text{cinétique}} = \frac{1}{2} \sum m_i v_i^2 = \frac{3}{2} N K_b T$$

$V^2$  : Valeur de la moyenne carrée de la vitesse.

$N$  : Nombre d'atomes du système.

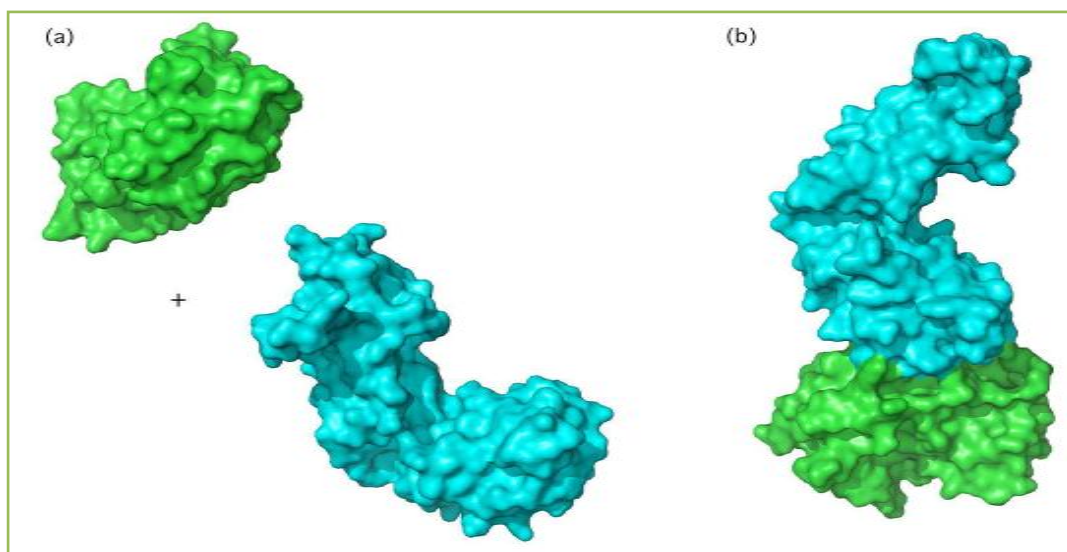
$K_b$  : Constante de Boltzmann.

$T$  : Température absolue.

### II.3.4. Docking Moléculaire ou l'Amarrage moléculaire (AM)

Docking (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire 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 le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand). Le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [71].

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales (figure I-1).

Méthodes de la modélisation moléculaire

**Figure I-1** : Représentation schématique du docking de deux molécules. (a) : Molécules de départ. (b) : Complexe moléculaire.

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [72 ,73].

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [74].

#### II.3.4.1. Principe

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

- La première (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 celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- La deuxième (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le

## Méthodes de la modélisation moléculaire

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 [75].

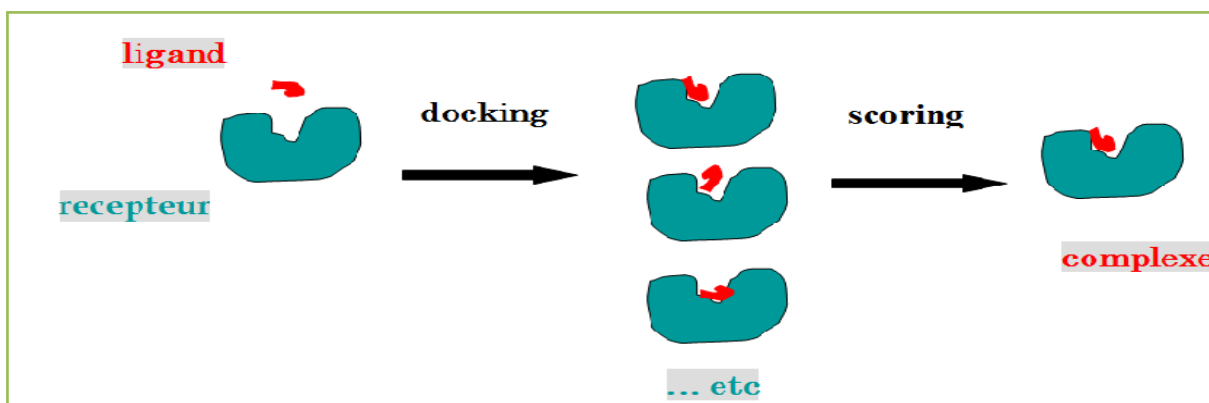


Figure I-2 : Principe général d'un programme de docking.

### II.3.4.2. Représentation du système

Il existe trois façons de représenter le système moléculaire : les représentations par atomes, par surface ou par grille [76] :

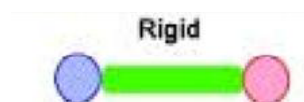
- ✓ La représentation atomique, très complexe, est généralement associée à une fonction d'énergie potentielle et n'intervient que dans le stade final de la procédure de recherche pour affiner le résultat sans trop de dépense informatique [77].
- ✓ De nombreuses approches de docking représentent les molécules par une surface, elle-même ramenée à des caractéristiques géométriques : la surface proposée par Conolly en 1983 est construite à partir des rayons de van der Waals des atomes exposés reliés par un réseau de surfaces concaves ou convexes [78,79]. La recherche conformationnelle s'opère ensuite par complémentarité de surface jusqu'à trouver les minima et maxima d'affinité [80,81]. A cette représentation géométrique, il est possible d'ajouter des termes énergétiques, électrostatiques par exemple, pour compléter le modèle [82,83].
- ✓ La représentation de la molécule par une grille d'énergie potentielle est une autre approche très utilisée. Introduite par Goodford en 1985, elle fait généralement appel aux interactions

## Méthodes de la modélisation moléculaire

électrostatiques et de van der Waals pour décrire la contribution énergétique du récepteur, qui n'a alors qu'à être lue durant le scoring [84].

On peut distinguer trois niveaux de docking :

– *le docking rigide* : est bien sûr le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine.



– *le docking semi-flexible* : est "asymétrique" généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible, la protéine gardée rigide.



– *le docking flexible* : enfin, traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité permise est limitée, simplifiée par des modèles [85].



Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche

de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique et déterministe [86].

Le but du Docking Moléculaire est de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou de plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [87].



### Méthodes de la modélisation moléculaire

Un processus de « Docking Moléculaire » peut être résumé en trois étapes :

- Caractérisation du récepteur et l'identification du site de fixation.
- L'orientation du ligand dans le site de récepteur.
- L'évaluation de l'orientation du ligand et de son adéquation au récepteur.

#### **II.3.4.3. Quelques programmes de Docking moléculaire**

De façon plus générale, le choix d'un programme donne pour un criblage virtuel par docking doit répondre à la question suivante : « Que veut-on obtenir, en combien de temps, et avec quelle précision ? » [88-90].

Parmi ces programmes d'amarrage moléculaire on peut trouver : comme GOLD [91], FlexX [92], DOCK [93], AutoDock [94], MOE [95] ou bien UCSF Chimera [96] et Molegro Virtuel Docker (MVD)[97,98].

L'utilisation des programmes de docking a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [99,100].

Méthodes de la modélisation moléculaire**III. Références**

- [1] J. Debord, « Introduction à la modélisation moléculaire », 37-41. **2004.**
- [2] A.R. Leach. *Molecular Modelling: Principles and Applications*, Prentice Hall, New Jersey, **2001** .
- [3] Young, D., « Computational Chemistry: A practical guide for applying techniques to real world problems », Chapitre 10, éditions Wiley Inter-Science, pp.78-91, **(2001).**
- [4] Frenkel D, Smit B, *Understanding molecular simulation: from algorithms to applications*. Academic Press, London, 2nd ed., **2002.**
- [5] W. Koch and M. C. Holthausen. "Chemist's Guide To Density Functional Theory". Wiley VCH,Weinheim, **2000.**
- [6] G.S. Mala, S. Tekeuchi. *Understanding structural features of microbial lipases - an overview*. *Analytical Chemistry Insights*, 9-19. , **2008.**
- [7]. H. Dugas, *Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théorique et pratiques, Chapitre3 introduction aux méthodes de minimisation d'énergie ,quatrième édition, Libraire de L'Université de Montréal. 1996.*
- [8]. B. Donald, K. Boyd,B. Lipkowitz, *Molecular Mechanics. The Method and Its Underlying Philosophy*.*J. Chem. Educ*, 59, 269. **1982.**
- [9] J. Hladik; M. Chrysos; P.-E. Hladik.L.U. Ancarani, *Mécanique quantique*, Masson, **1997.**
- [10] .C. Piron, *Mécanique quantique: Bases et applications*, PPUR presses polytechniques, **1998.**
- [11] W. Koch and M. C. Holthausen. *Chemist's Guide To Density Functional Theory*. Wiley VCH,Weinheim, **2000**
- [12] H. Chermette , *Coordination Chemistry Reviews* 178-180 , 699. **1998.**
- [13] M. Roger, L. Belkhiri, P. Thuéry, Thérèse. Arliguie, M. Fourmigué, A. Boucekkine, M. Ephritikhi ne *Organometallics*.24, , 4941. **2005.**
- [14] C. Corminboeuf, F.Tran, J.Weber, *Journal of Molecular Structure: Theochem*.762, **2006.**
- [15] *The ABC of DFT*, Kieron Burke and friends, **2003.**
- [16] A. Nagy, *Chemical Physics Letters*. 411, , 492-495,**2005.**
- [17] (a) P. Hohenberg, W.Kohn, *Phys, Rev*, 136, **1964.**
- (b) M. Springborg; "Density-Functional Methods in Chemistry and Materials Science".Wiley-Interscience. **1997.**
- [18] W. Kohn,*Phys. Chem.*, 100, 12974 (**1996**).

Méthodes de la modélisation moléculaire

- [19] Leach, A.R., Empirical force field models: molecular mechanics, in Molecular modeling: principles and applications, Longman, A.W., Editor: Harlow, England. **1996**.
- [20] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, pp. 107,3902-3909, (**1985**).
- [21] N. Allinger, *Adv. Phys. Org. Chem.*, 13, 1 (**1976**).
- [22] Yasser KARZAZI. Structure électronique et champ de forces moléculaire des cycloimmonium ylures. Thèse de doctorat d'état, université des sciences et technologies de lille. **1996** .
- [23] L. H. Thomas, *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, 23, 713, **1927**.
- [24] D. H. Andrews, *Phys. Rev.*, 36, 54, **1930**.
- [25] P. Chaquin, Manuel de chimie théorique, application à la structure et à la réactivité en chimie moléculaire, pp.190, **2000**.
- [26] E. Jaspard : Mécanique et modélisation moléculaires, cours, université Angers **2004**.
- [27] C. Hetényi; U. Maran. M. Karelson, *Journal of chemical information and computer sciences*. 43 ,1576. (**2003**).
- [28] G.M. Keseru. D.K. Menyhárd, *Biochemistry*. 38 ,6614. (**1999**).
- [29] Leach, A.R., *Molecular Modelling: Principles and Applications* **2001**: Prentice Hall.
- [30] Allen, P. and Tildesley, D.J., *Computer Simulation of Liquids* **1989**: Clarendon Press
- [31] J. S. Lomas, l'actualité chimique , La Mécanique Moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entités moléculaire, pp.7, **1986** .
- [32]. Isabelle SOURY-LAVERGNE NAVIZET, thèse de doctorat, Université Paris 6, France, **2004**.
- [33] N. L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc*, 99, 8127, **1977**.
- [34]. Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques, Hermann Dugas, quatrième édition, librairie de l'université de Montréal, **1996** .
- [35] B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comp. Chem.*, 4, 187, **1983**.
- [36]. Marie LEDECQ, thèse de doctorat, Université de Notre-Dame de la Paix, France, **2004**.
- [37]. Bensegueni. A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase. Thèse de Doctorat : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie, 91p **2007**.
- [38] I. Soury-Lavergne Navizet, thèse de doctorat, Université Paris 6, France, **2004**.

Méthodes de la modélisation moléculaire

- [39] H. Dugas, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théorique et pratiques, Chapitre3 introduction aux méthodes de minimisation d'énergie ,quatrième édition, Libraire de L'Université de Montréal. **1996.**
- [40] J. Allinger, & N.L. Allinger, Tetrahedron, 2, pp.64, **1958.**
- [41] P.Richard, Introduction à la modélisation moléculaire, **08/10/2010.**
- [42] Dinur, A. Hagler, *Reviews in computational Chemistry*, VCH, Weinheim ,2, 99. **1991.**
- [43] N.L. Allinger, K. Chen, J.A. Katzenellenbogen, S.R.Willson, G.M. Anstead, *J. Como. Chem.*, 17, 747. **1996.**
- [44] P. Kollman, R. Dixon, W. Cornell, T. Fox, C. Chipot, and A. Pohorille ; Vol. 3 of Computer Simulation of Biomolecular Systems ; page 83. **1997.**
- [45] J. Aqvist, *J. Phys. Chem.*, 94, 8021. **1990.**
- [46] W. S. Ross and C. C. Hardin, *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 6070. **1994.**
- [47] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz Jr., D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, and P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 5179. **1995.**
- [48] T. E. Cheatham III, P. Cieplak, and P. A. Kollman, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 16, 845. **1999.**
- [49] G. Moyna, H. J. Williams, R. J. Nachman, and A. I. Scott, *Biopolymers*, 49,403. **1999.**
- [50] J. Wang, P. Cieplak, and P. A. Kollman, *J. Comput. Chem.*, 21, 1049. **2000.**
- [51] N.L. Allinger, *Adv. Phys. Org. Chem.* 13, 1, **1976,**
- [52] N.L. Allinger, *J. Am. Chem. Sos.* 99, 8127, **1977**
- [53] U. Burkert, N.L. Allinger; "Molecular Mechanics", ACS Monograph 177. American Chemical Society, Washington DC. **1982.**
- [54] W.L. Jorgensen, J.T. Rives, *J. Am. Chem. Soc.* 110, 1657, **1988**
- [55] W.F. Van Gusten, M. Karplus, *Macromolecules.* 15, 1528, **1982**
- [56] B.R. Brooks, R.E. bruccoleri, B.D. Olafson, D.J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comp.Chem.* 4,187, **1983**
- [57] I.K. Roterman, M.H. Lambert, K.D. Gibson, H.A. Scheraga, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 7, 421. **1989.**
- [58] F.A. Momany, R. Ronte, *J. Comp. Chem.* 13, 888, **1992**
- [59] J.C. Smith, M. Karplus, *J. Am Chem. Soc.* 114, 805, **1992**
- [60] T. Shimanouchi, *Pure. Appl. Chem.* 7,131, **1963**
- [61] A. Bouraoui, M. Fath allah, B. Blaive, R. Gallo, *J.Chem.Soc. Perkin Trans.* 2, 1211-1214. **1990**

Méthodes de la modélisation moléculaire

- [62] A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo; "Modeling of Molecular Structures and Properties". *Proceeding of an International Meeting Nancy, France*, 11-15, *Studies in Physical and Theoretical chemistry*, 71,381-393. **1989**.
- [63] A. Zinelabidine, A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo, *J. Mol. Struct. (Theochem)*. 286, 267-274, **1993**
- [64] B. Blaive, G. Legsaï, R. Laï, *J. Mol. Struct.*, 354, 245-250**1995**
- [65] S.J. Weiner, P.A. Kollman, T. Nguyen, D.A. Case, *J. Comput. Chem.* 7, 230, **1986**.
- [66] Allen, M.P.; Tildesley, D.J. *Computer Simulations of Liquids*. Oxford University Press: Oxford ; **1987**.
- [67]. P. Rabinowitz, P.J. Davis. *Methods of Numerical Integration* **2007**.
- [68] B. J. Alder and T. E. Wainwright. *J. Chem. Phys.*, **27** :1208–1209 (Page 28.) (**1957**).
- [69] E. Sunyer, P. Jund, and R. Jullien. *Phys. Rev. B*, **65**(21) :214203 (Pages 149 et 185.) (**2002**).
- [70]. M.R. Hestenes, E. Stiefel. *Methods of conjugate gradients for solving linear systems*. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 49, 409-438. **1952**.
- [71] Zhou H., Zhou Y. « Fold recognition by combining sequence profiles derived from evolution and from depth-dependent structural alignment of fragments ». *Proteins.*; 58: 321-328, **2005**.
- [72] A. Grosdidier, Thèse d'obtention du titre de docteur en pharmacie, Université Joseph Fourier – Grenoble, **2007**.
- [73] A. Krid, Thèse de magister, Université Mentouri-Constantine, **2008**.
- [74] D. Duhovny, R. Nussinov, H.J. Wolfson, *Efficient unbound docking of rigid molecules*, **2002**.
- [75] g.l warren .c. webster andrews, a.m. capelli, b.Clark, j.lalonde, m.h.nlambert, m.lindvall,n.nevins, s.f. semus, s. senger, g.tedesco, i.d wall, j.m. woolven, c.e. fg peishoff, m.s.head. *A critical assessment of docking programs and scoring functions* . *Journal of medicinal chemistry*.2006.49,5912-5931.
- [76] Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R., *Principles of docking: an overview of search algorithms and a guide to scoring functions*. *Proteins* 47, 409-443, **2002**.
- [77] Burnett R.M., Taylor J.S., *DARWIN: a program for docking flexible molecules*. *Proteins* 41, 173-191, **2000**.
- [78] Connolly M.L., *Solvent-accessible surfaces of proteins and nucleic acids*. *Science* 221,709-713, **1983**.

Méthodes de la modélisation moléculaire

- [79] Connolly M.L., *Analytical surface molecular calculation*. J. Appl. Cryst. 16, 548-558, **1983**.
- [80] Norel R., Lin S.L., Wolfson H.J., Nussinov R., *Shape complementarity at protein-protein interfaces*. Biopolymers 34, 933-940, **1994**.
- [81] Norel R., Petrey D., Wolfson H.J., Nussinov R., *Examination of shape complementarity in docking of unbound proteins*. Proteins 36, 307-317, **1999**.
- [82] Nicholls A., Bharadwaj R., Honig B., *Grasp - Graphical Representation and Analysis of Surface-Properties*. Biophys. J. 64, A166-A166, **1993**.
- [83] Richie D.W., Kemp G.J., *Protein docking using spherical polar Fourier correlations*. Proteins 39, 178194, **2000**.
- [84] Apaydin M.S., Guestrin C., Varma V., Brutlag D.L., Latombe J.C., *Studying protein-ligand interactions with stochastic roadmap simulation*. Bioinformatics 18, 18-26, **2002**.
- [85] Brooijmans N., Kuntz I.D., *Molecular recognition and docking algorithms*. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 32, 335-373, **2003**.
- [86] Kuntz I.D., *Structure-based strategies for drug design and discovery*. *Science*; 257: 1078-1082, **1992**.
- [87] D. Duhovny, R. Nussinov, H.J. Wolfson; „Efficient unbound docking of rigid molecules“, **2002**.
- [88] Walters, W.P., M.T. Stahl, and M.A. Murcko, *Virtual screening - an overview*. Drug Discovery Today, 3(4): p. 160-178. **1998**.
- [89] Bleicher, K.H., et al., *Hit and lead generation: beyond high-throughput screening*. Nature Reviews Drug Discovery, 2(5): p. 369-378. **2003**.
- [90] Beutrait, A., et al., *Multiple-step virtual screening using VSM-G: overview and validation of fast geometrical matching enrichment*. Journal of Molecular Modeling, 14(2): p. 135-148. **2008**.
- [91] G. Jones, P. Willett, R.C. Glen, *J Mol Biol.*, 245, 43-53. **1995**.
- [92] M. Rarey, S. Wefing, T. Lengauer, *J Comput Aided Mol Des*, 10(1), 41-54. **1996**.
- [93] I.D. Kuntz, J.M. Blaney, S.J. Oatley, R. Langridge, T.E. Ferrin, *J Mol Biol.*, 161? 269-288. **1982**.

Méthodes de la modélisation moléculaire

[94] D.S. Goodsell, A.J. Olson, *Proteins.*, 8, 195-202. **1990**.

[95] S. Vilar, G. Cozza, S. Moro, Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery, *Curr. Top. Med. Chem.* 8, 1555–1572. **2008**.

[96] E.F. Pettersen, T.D. Goddard, C.C. Huang, G.S. Couch, D.M. Greenblatt, E.C. Meng, et al. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *J ComputChem*, 25(13),1605–12. **2004**.

[97]MolegroVirtual Docker v. 5.1. MolegroApS. Aarhus, Denmark, **2012**.

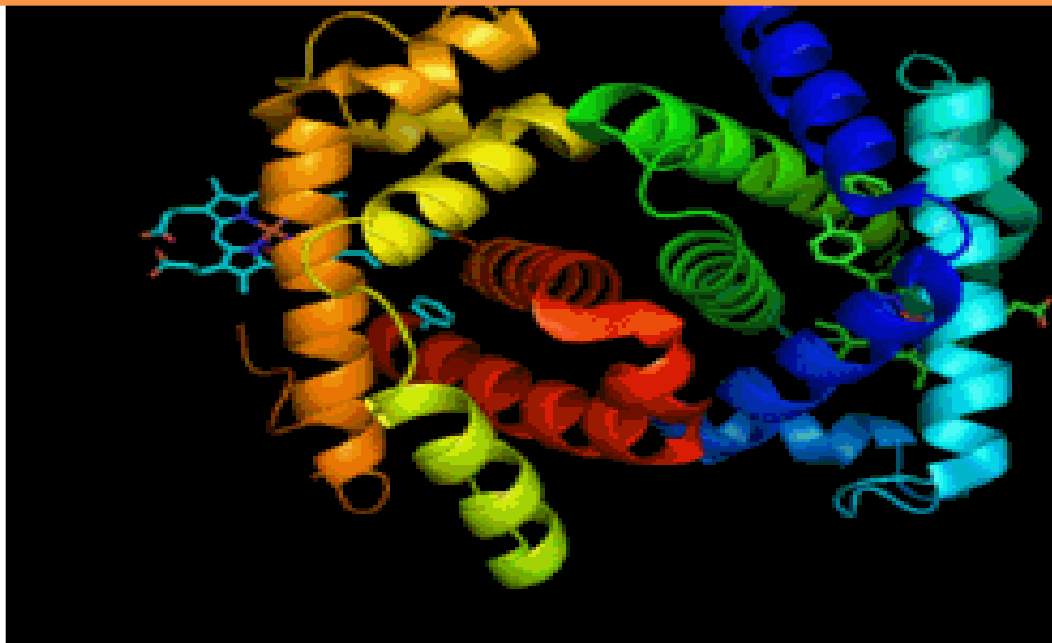
[98] F. F. da. Elaine, F. B. Edilaine, A. O. Aline, C. R. Teodorico, *J. Biom. StructDyn.*, 27, 619–625. **2010**.

[99]Redockingexperiments of LXR $\beta$  reference ligands present in the X-ray structures back up this hypothesis. Using GOLD, the 1PQ6 ligand redocked in the 1PQ6 binding pocket conformation yieldsasignificantlyhigher score than the 1PQ9 ligand redocked in the 1PQ9.conformation. However, according to experimental data, the 1PQ9 ligand is indeed clearly more potent on LXR $\beta$  than the 1PQ6 one, further indicating that the protein-ligand interaction could not be the dominant term in the free energy of binding.

[100] Spearman, C. The proof and measurement of association between two things. *Am. J. Psychol.* 15 (1), 72-101. **1904**.

## Chapitre II

- **Partie A : Protéines, Enzymes et Acides aminés.**
- **Partie B : la maladie d'Alzheimer .**

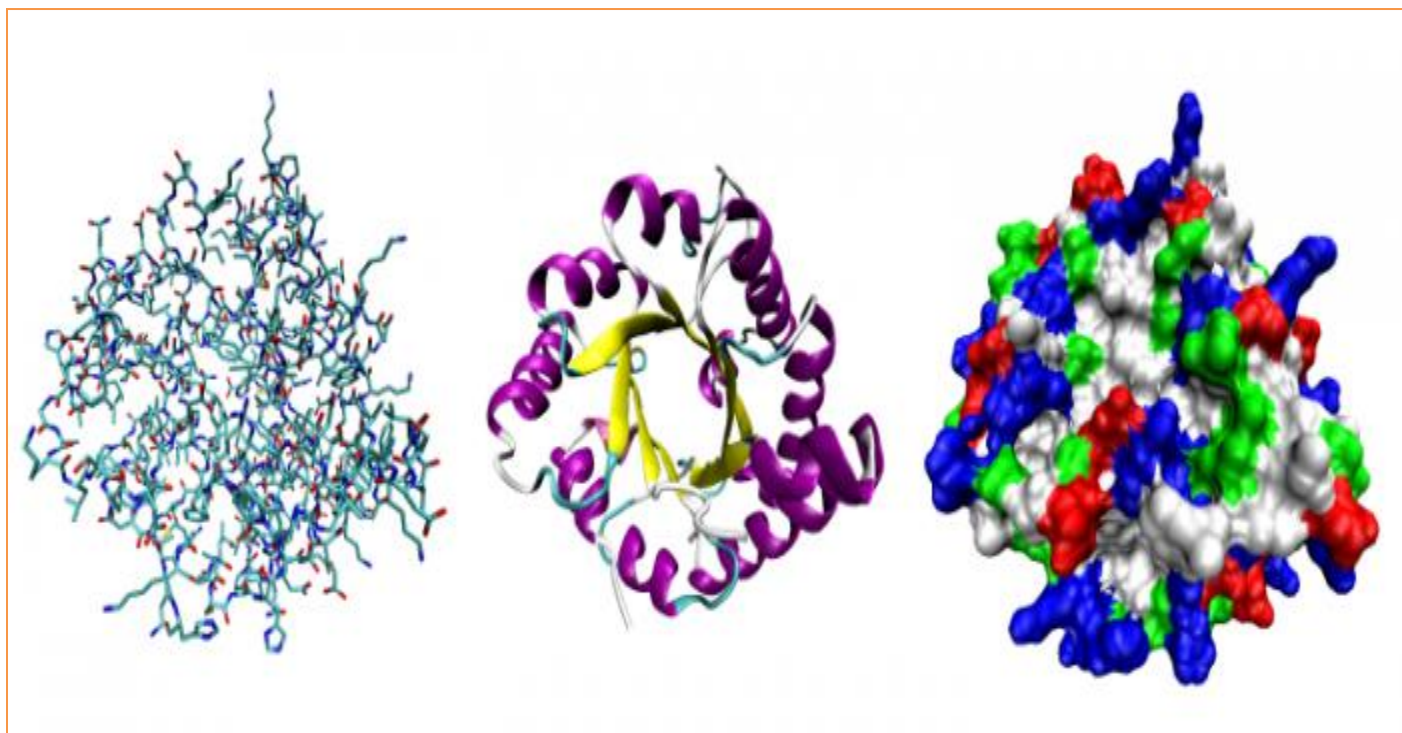






Partie (A) +partie (B)

*Partie (A) :*  
**Protéines, Enzymes et Acides aminés**



## Partie (A) +partie (B)

### **I. Introduction**

La biochimie se propose d'écrire en termes moléculaires les phénomènes biologiques, les premières caractéristiques des organismes vivants et leur composition chimique qualitativement différente de celle de l'environnement dans lequel vivent ces organismes. Ainsi que les organismes vivants sont constitués par 99% de carbone, oxygène, azote et hydrogène [1].

On peut distinguer quatre grandes familles de molécules biologiques : les glucides, les lipides, les acides aminés et protéines, les nucléotides et acides nucléiques. Elles-mêmes comportent deux types de molécules :

- les petites molécules : sucres, acides gras, acides aminés et nucléotides qui transportent l'énergie, transmettent les signaux et s'assemblent en macromolécules
- les grosses molécules, polymères des ces petites molécules : respectivement les polysaccharides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Certaines de ces molécules comptent des milliers d'atomes et pour cette raison, sont souvent qualifiées de macromolécules. Elles présentent donc une complexité incroyable, mais peuvent être plus facilement décrites lorsqu'on s'intéresse à leur structure architecturale. En effet, à l'exception des lipides qui forment une famille plus hétérogène, les molécules biologiques sont des polymères, édifices constitués de motifs unitaires et répétés, reliés par liaisons covalentes.

Ces éléments unitaires sont polarisés, conférant à la macromolécule une polarité structurale. La séquence d'enchaînement des sous-unités, ainsi que leur orientation, font des molécules biologiques des molécules porteuses d'une information lisible. Elles n'ont cependant pas toutes le même potentiel : les acides nucléiques et les protéines portent des informations particulièrement riches. La séquence est donc un premier élément d'identité. Le second élément capital est l'architecture tridimensionnelle des édifices supramoléculaires. C'est à ce niveau qu'intervient la complexité des molécules biologiques : la chaîne polymérique les constituant peut s'enrouler dans l'espace en créant une architecture très complexe, unique, ordonnée et spécifique, dont découle la fonction et la reconnaissance de la molécule [2].

## Partie (A) +partie (B)

## II. Les protéines

### II.1. Introduction

Les protéines sont parmi les molécules les plus importantes du monde vivant. Ce sont en quelque sorte les abeilles ouvrières de tout organisme [3].

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]. Elles sont constituées par une ou plusieurs chaînes polypeptidiques qui sont des copolymères d'environ une vingtaine d'acides aminés appartenant à la série L. Ces acides aminés sont liés entre eux par des liaisons amides : les liaisons peptidiques [5].

Les protéines représentent plus de la moitié de la masse d'une cellule, à l'exclusion de l'eau, et sont responsables de la plupart, des fonctions intra et inter cellulaires. Elles gèrent par exemple la réplication de l'ADN et le maintien des équilibres chimiques. Ces fonctions sont fortement liées aux formes spatiales que prennent les protéines dans le milieu cellulaire [6].

### II.2. Définition

Les protéines sont des macromolécules constituées d'enchaînement d'acides *L-aminés* réunis par liaisons peptidique essentielles à l'activité biologique, elles interviennent en tant que régulateurs, catalyseurs (les enzymes), transporteurs, élément de structure, élément contractiles, récepteurs de message, groupe servant à la reconnaissance cellulaire [7].

D'un point de vue chimique, les protéines sont des polymères non branchés d'acides aminée liés par la formation de liaisons peptidiques covalentes, entre le groupe  $\alpha$ -carboxylique d'un acide aminé et groupe  $\alpha$ -amine de l'acide aminé suivant [8].

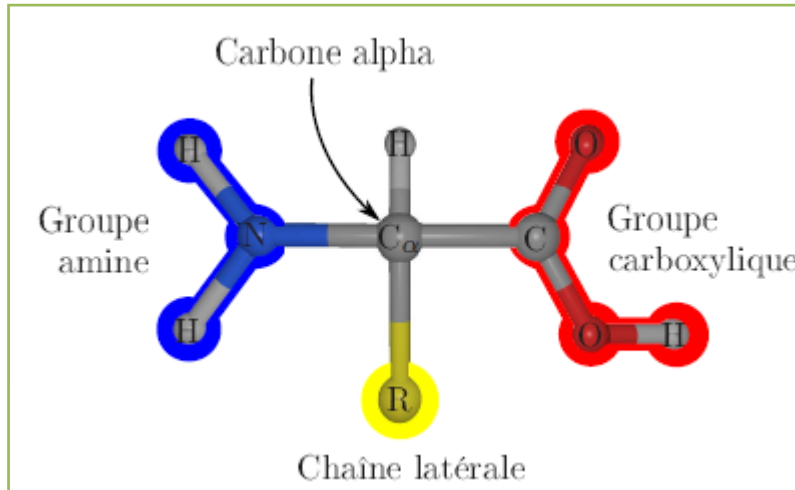
Les protéines sont des macromolécules biologiques constituées par des séquences d'acides aminés réunis par des liaisons peptidiques et pourvues d'une structure tridimensionnelle complexe [9].

### II.3. Structure des protéines

Les protéines sont des macromolécules constituées d'un enchaînement d'acides aminés unis par des liaisons peptidiques [10].

Partie (A) +partie (B)**II.3.1. Les acides aminés**

Les acides aminés sont chimiquement variés mais ils contiennent tous un groupement acide carboxylique et un groupement amine portés par le même atome de carbone appelé ‘‘ carbone  $\alpha$ ’’.



**Figure II-1 : Structure des acides L- $\alpha$ -aminés.**

Ils servent de sous-unités dans la synthèse des protéines, longs polymères linéaires d'acides aminés attachés les uns aux autres par une liaison peptidique entre le groupement carboxyle d'un acide aminé et la fonction amine du suivant. Bien qu'il existe de nombreux acides aminés différents, seuls vingt sont retrouvés dans les protéines, chacun possédant une chaîne latérale différente liée au carbone- $\alpha$ . Les propriétés des chaînes latérales, dans leur ensemble, déterminent les propriétés des protéines et sont à l'origine de toutes leurs fonctions sophistiquées [11].

**II.3.2. La liaison peptidique**

La liaison entre deux acides aminés, appelée liaison peptidique, est représentée sur la figure II-2. Elle se forme par une réaction de condensation entre le groupe  $\alpha$ -carboxyle d'un acide aminé et le groupe  $\alpha$ -amine d'un autre acide aminé donnant lieu à une liaison amide. Il en résulte une chaîne d'acides aminés constituant des peptides ou des protéines suivant le nombre d'acides aminés impliqués. Le terme protéine désigne les chaînes polypeptidiques dont le nombre de résidus est supérieur à 100. Lorsque le nombre de résidus est inférieur à 50, on parle de peptides, entre 50 et 100, on parle indifféremment de peptides, de petites protéines ou de polypeptides. Les groupes libres situés aux extrémités opposées d'une chaîne



Partie (A) +partie (B)

Les bases de données de protéines et les programmes informatiques disponibles permettent à partir de la structure primaire d'une protéine d'étudier :

- ❖ des familles moléculaires de protéines.
- ❖ des problèmes d'évolution moléculaire.
- ❖ de déterminer des "signatures" spécifiques de protéines ayant la même fonction, ce sont des motifs où pour chaque position, on peut évaluer la probabilité de présence d'un ou plusieurs aminoacides spécifiques [13-14].

### II.3.3. 2. Structure secondaire

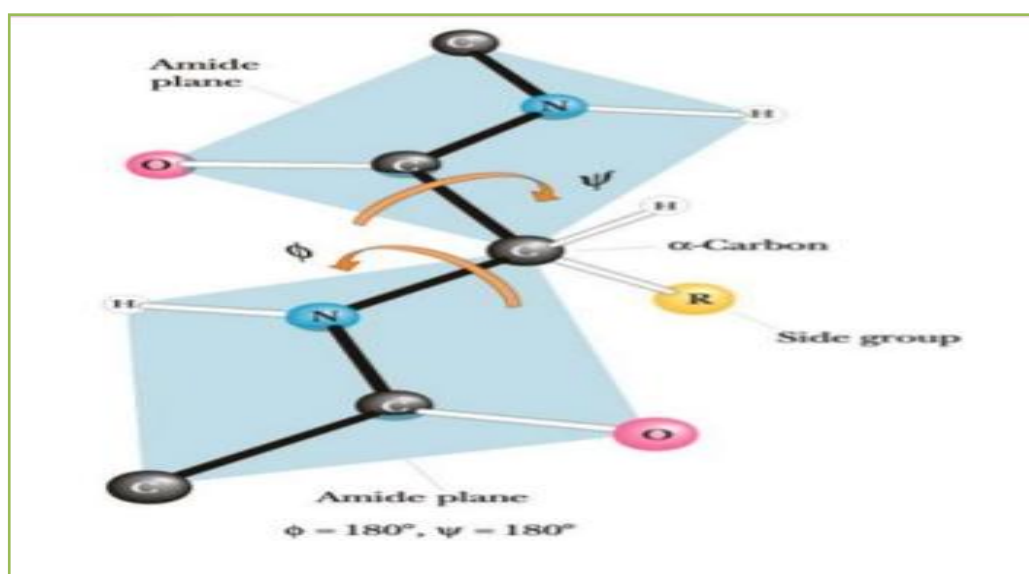
La structure secondaire résulte d'un repliement local de la protéine créée par des interactions stériques et électrostatiques et stabilisée par des liaisons hydrogène. Cette structure a été découverte en 1951 par Pauling, Corey et Branson [15-17] qui ont déterminé plusieurs motifs structuraux caractéristiques.

On distingue deux angles de torsion principaux dans un résidu (Figure II-4) :

- $\Phi$ , angle C-N-C $\alpha$ -C ;
- $\Psi$ , angle N-C $\alpha$ -C-N ;

La liaison peptidique étant plane, l'angle  $\Omega$  (C $\alpha$ -C-N-C $\alpha$ ) est bloqué sur une valeur proche de 180°, ce qui maintient la liaison peptidique dans la conformation trans.

L'angle  $\chi$  définit la rotation de la chaîne latérale du résidu [18].



**Figure II-4 :** Angles dièdres  $\Phi$  et  $\Psi$  de la rotation de la liaison peptidique.

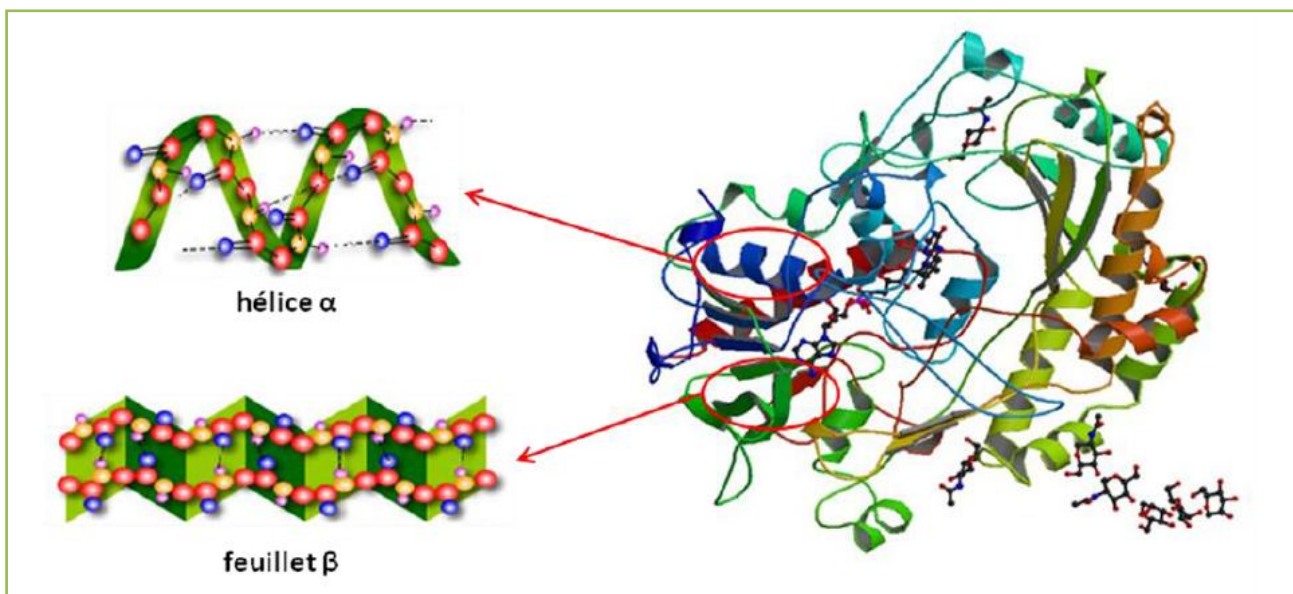
Partie (A) +partie (B)*a. Les hélices  $\alpha$* 

Dans cette conformation de protéine les atomes d'oxygènes des carbonyles et les atomes d'hydrogène des amides d'un grand nombre des liaisons peptidiques participent à des liaisons d'hydrogènes qui lient un groupe peptidique à un autre groupe peptidique. Ce type de structure (Figure II-5) tend à se former de façon coopérative sur d'importantes parties de la chaîne polypeptidique.

*b. Les feuillets  $\beta$* 

En plus des hélices, un autre type de structure, couramment observé dans les protéines, résulte de la formation locale, coopérative, de liaisons hydrogène.

C'est le feuillet plissé, ou le feuillet  $\beta$  plissé. Cette structure avait également été postulée par Pauling et Corey, dès 1951, elle est à présent observée de nombreuses protéines. Un feuillet  $\beta$  plissé peut être visualisé en plaçant côte à côte de fines bandelettes de papier plissées (Figure II-5). Chaque bandelette de papier peut alors représenter un unique brin de polypeptide dans lequel le squelette peptidique fait des zigzags le long de la bandelette, les atomes de carbone  $\alpha$  étant à l'emplacement des plis. Les feuillets  $\beta$  plissés peuvent être soit parallèles soit antiparallèles [19].



**Figure II-5 :** Conformations  $\alpha$  et  $\beta$  de la structures secondaires d'une protéine (référence PDB : 1CF3).



Partie (A) + partie (B)**II.3.3.3. Structure tertiaire**

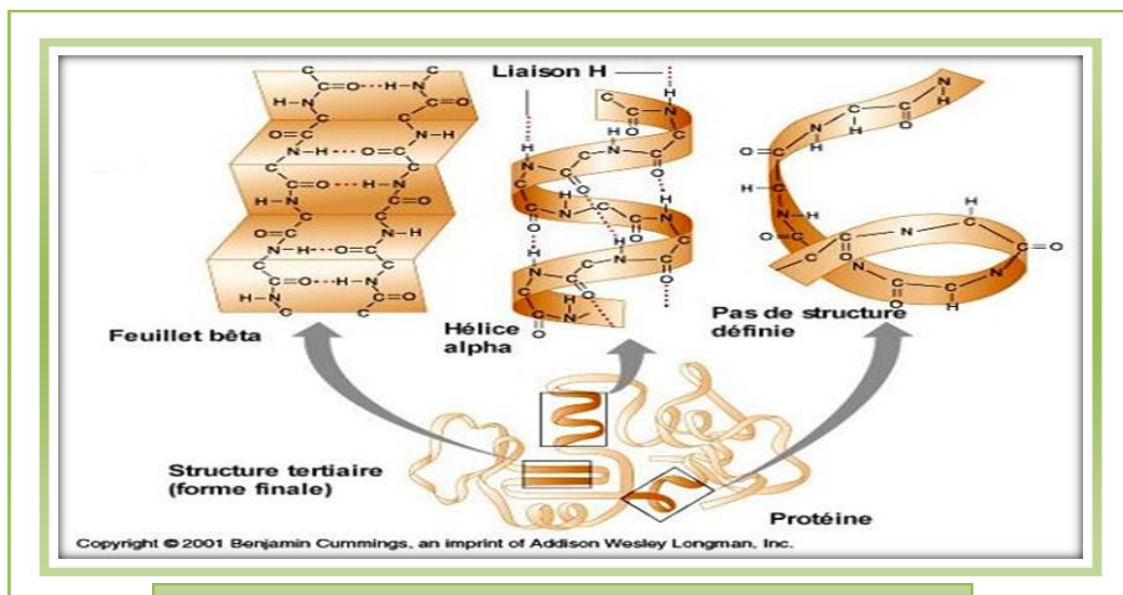
La conformation générale d'une protéine dans l'espace s'appelle structure tertiaire.

Elle correspond à l'agencement des structures secondaires entre elles. Les liaisons qui interviennent dans le maintien de cette structure sont multiples.

- Liaisons fortes = covalentes = ponts disulfures S-S entre deux cystéines.
- Liaisons faibles = hydrogènes, ioniques, hydrophobes.

Conséquences : rapprochement dans l'espace des AA parfois éloignés dans les structures primaires.

La structure tertiaire est à l'origine de la forme globale de la protéine native. Elle va permettre à la protéine de former dans l'espace des «domaines» indispensables à sa fonction (par ex un site actif pour une enzyme) [20].



**Figure II-6 : Structure tertiaire de la protéine.**

**II.3.3.4. Structure quaternaire et assemblage moléculaire**

La structure quaternaire d'une protéine résulte de l'association de plusieurs chaînes Polypeptidiques ou sous-unités [21-22]. Ces sous unités peuvent être identiques comme c'est le cas de l'hémoglobine (Figure II-7) ou bien radicalement différentes.

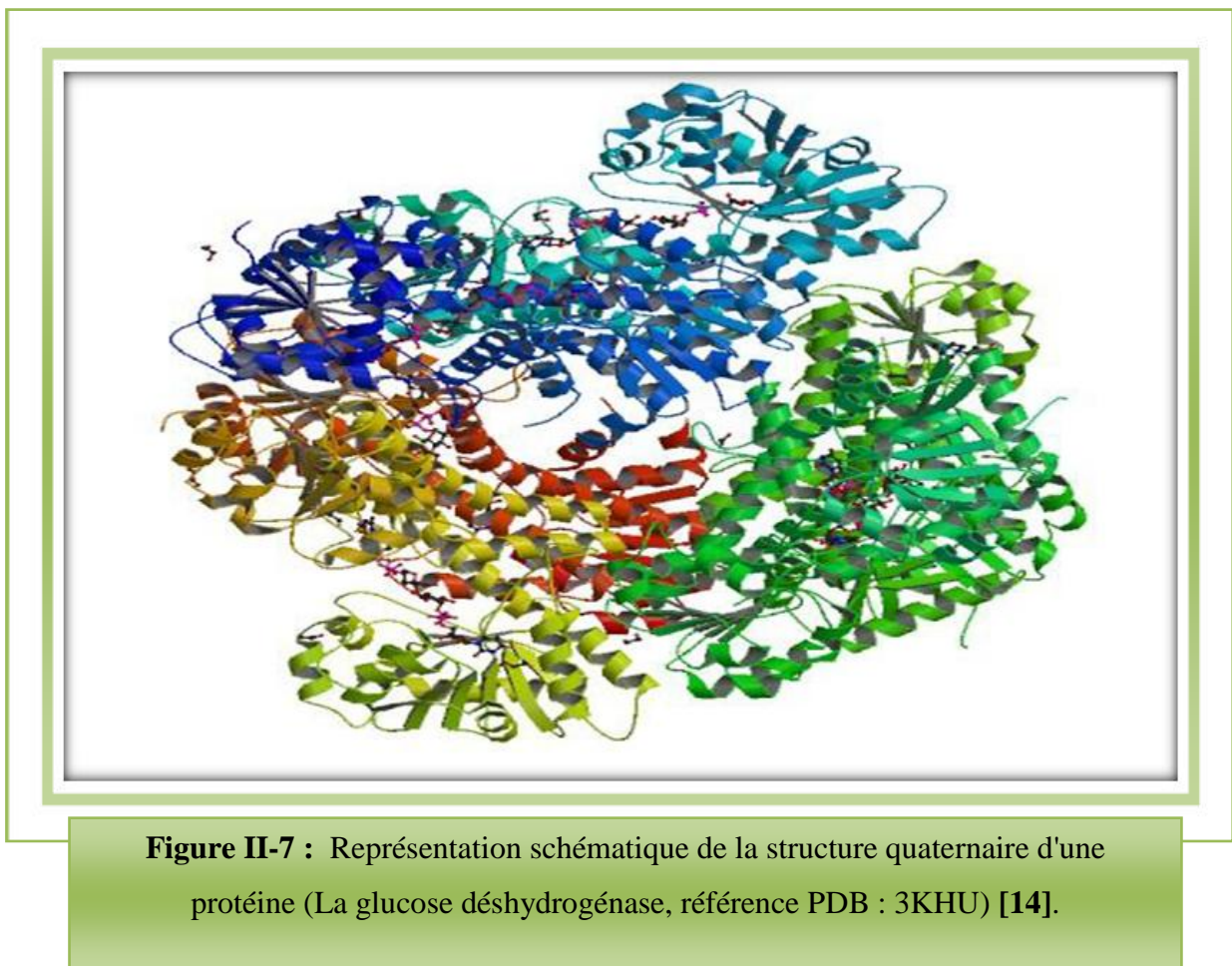
### Partie (A) +partie (B)

Cet assemblage est alors nommé *structure quaternaire* et chaque chaîne polypeptidique est un *monomère*. Les protéines ayant une structure quaternaire sont dites *multimériques*.

L'association des monomères est principalement stabilisée par des interactions non-covalentes [23].

Ces interactions sont de différents types :

- Les interactions électrostatiques comprennent les liaisons hydrogènes et les liaisons ioniques (ou pont salins) [24].
- Les interactions de Van der Waals correspondent aux forces d'attraction et de répulsion existant entre les atomes et ont principalement un rôle à courte distance.
- L'effet hydrophobe est le facteur le plus important pour la stabilité d'une structure protéique et une force majeure dans le processus de repliement [25].



**Figure II-7 :** Représentation schématique de la structure quaternaire d'une protéine (La glucose déshydrogénase, référence PDB : 3KHU) [14].

## Partie (A) +partie (B)

### II.4. Fonctions des protéines

Les protéines ont des fonctions très diverses :

- **Enzyme** : Ce sont les catalyseurs des réactions biologiques et permettent à ces réactions, de la plus simple à la plus compliquée, de se produire à 37°C.
- **Protéines de structure** : Elles constituent la charpente des tissus vivants (peau, cheveux, muscles).
- **Protéines de défense** : Citons les immunoglobulines, protéines de la coagulation (fibrinogène, thrombine).
- **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.
- **Protéines de transport** : Protéines du plasma fixant et transportant des molécules ou des ions d'un organe à un autre, comme par exemple l'hémoglobine des érythrocytes.
- **Protéines contractiles ou motrices** : Elles peuvent se contracter et modifier leur forme, comme par exemple l'actine et la myosine dans les fibres musculaires.
- **Protéines de stockage** : l'ovalbumine, principale protéine du blanc d'œuf, caséines, principales protéines du lait, et des protéines existant dans les graines de nombreux végétaux (blé, maïs, riz) [26].

Troisièmement, la cellule utilise des **protéines de structure** pour former son *cytosquelette*, ce qui lui permet de conserver sa forme ou même, dans le cas des cellules mobiles comme les globules blancs ou les organismes unicellulaires, de modifier cette forme [27,31].

### II.5 Rôles des protéines

Les protéines possèdent un rôle structurale et fonctionnelle et de réserve "il n y a pas de vie sans eau mais non plus sans protéine". Du point de vue qualitatif les protéines participent à tout l'événement physiologique. Elles jouent un rôle essentiel dans les fonctionnements des cellules vivantes. Les rôles des protéines sont :

**Energétique** : dans une ration quotidienne équilibrée, la part en protéine doit correspondre à 15% des apports énergétiques totaux. L'oxydation d'un gramme de protéine délivre 4kcal.

## Partie (A) +partie (B)

- **Biologique :** les protéines de structure participent à la formation des tissus de l'organisme, à la composition des membranes cellulaires et des organites intracellulaire, citons le collagène, la myosine, la kératine.
- **Régulatrices :** les protéines hormones, enzymes, hémoglobine, de récepteurs et immunoglobulines assurent de nombreuses fonctions physiologique. Nous avons comme exemple l'insuline régulatrice du taux de sucre ou l'ocytocine régulant les contractions utérines lors de l'accouchement [32,33].

### II.6 Propriétés des protéines

#### II.6.1. Solubilité

Elle se définit par la quantité maximale de protéine pouvant se dissoudre dans 1L de solvant. Les protéines sont insolubles dans des solvants organiques et leur solubilité dans l'eau dépend de leur composition en AA ainsi que de la séquence des AA. De nombreux facteurs influencent la solubilité d'une protéine donnée.

##### *a. Force ionique de la solution:*

Il s'agit de l'influence de la concentration en sel de la solution.

- Effet dissolvant: les ions du sel réduisent les attractions existantes entre plusieurs molécules de protéines. Ceci facilite leur dispersion (évite leur agrégation) et donc augmente leur solubilité.
- Effet de relargage: il se crée, au-delà d'une certaine concentration en sel, une compétition vis à vis des molécules d'eau entre les ions du sels et ceux de la protéine. Les molécules de protéine se retrouvent donc déshydratées, elles ont alors tendance à s'agréger et à précipiter. Phénomène réversible par dilution.

##### *b. Le pH*

Le minimum de solubilité d'une protéine est atteint quand le pH du milieu atteint le Phi de la protéine.

##### *c. Influence des solvants organiques*

L'utilisation de solvants organiques comme l'éthanol ou l'acétone insolubilise les protéines.

## Partie (A) +partie (B)

### **II.6.2. Propriétés optiques**

Les solutions protéiques absorbent et diffusent la lumière. Les propriétés optiques sont en rapport avec la concentration de la solution, avec la taille et la forme des molécules. Ces propriétés sont importantes pour l'étude et le dosage des protéines. On peut également déterminer les caractéristiques géométriques d'une protéine par diffusion de la lumière.

### **II.6.3. Propriétés osmotiques**

Les protéines ne sont pas dialysables car elles ne diffusent pas, notamment du à leur taille, au travers de membrane perméable. Les protéines développent une pression osmotique qui intervient dans les échanges cellulaires ou dans les échanges des secteurs hydriques de l'organisme.

### **II.6.4. Propriétés d'ionisation**

Toute protéine possède un nombre important de groupements ionisables caractérisés par leur pK. Ces propriétés sont ç la base des techniques de séparation et de caractérisation des protéines (électrophorèse ou chromatographie) [34].

## **III. Les enzymes**

### **III.1. introduction**

En 1815, Louis Joseph Gay-Lussac décrit la fermentation alcoolique par des micro-organismes. La première enzyme (la diastase) ne fut découverte qu'en 1833 par Anselme Payen et Jean-François Persoz. Enfin, en 1836, Theodor Schwann isolera la pepsine qu'il avait déjà décrite en 1834. C'est la première enzyme isolée à partir d'un tissu animal [35]. La survie du corps humain nécessite l'implication d'une multitude de réactions chimiques qui se déroulent dans un environnement où les conditions ne leur permettent pas nécessairement de se dérouler à une vitesse adéquate. Les enzymes, catalyseurs biologiques, permettent aux diverses réactions de se produire adéquatement tout en préservant l'environnement nécessaire [36].

## Partie (A) +partie (B)

### III.2. Définition

Les enzymes sont toutes des protéines qui ont un rôle de catalyseur. Elles sont spécifiques d'un substrat et d'une réaction. Elles ont une vitesse propre, des conditions optimales définies (pH, température ...) et elles sont thermolabiles (= efficacité est fonction de la chaleur).

Leurs fonctions de catalyseur leur permettent, en nombre peu important, d'abaisser la barrière énergétique de certaines réactions, d'augmenter leur vitesse, sans être consommées par la réaction. Elles ont un fort pouvoir catalytique. Les enzymes sont constituées de deux parties :

- Le site de reconnaissance (ou site de liaison au substrat); permettant de fixer le substrat grâce à certains acides aminés.
- Le site catalytique (où a lieu la transformation du substrat) permettant de transformer le substrat grâce à des acides aminés qui interagissent avec le substrat. [37].

### III.3. Nomenclature

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

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

EC- système numérique de la commission des enzymes.

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

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

Y : indique le substrat spécifique ou la coenzyme.

Z : le numéro de série de l'enzyme.

Prenons l'exemple du glucose oxydase : EC 1.1.3.4. Ce chiffre est explicité ci-dessous :

EC 1 : Oxydoréductase.

EC 1.1 : Agissant sur le groupe CH-OH du donneur.

EC 1.1.3 : Avec l'oxygène comme accepteur.

Le dernier chiffre est le numéro individuel de l'enzyme [38].

### III.4. Classification des enzymes

On peut trouver 6 classes d'enzymes :

## Partie (A) +partie (B)

**1-Oxydoréductases** : Réaction redox portant sur différents résidus, associant des coenzymes, des cytochromes, des accepteurs comme  $O_2$ , ...

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

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

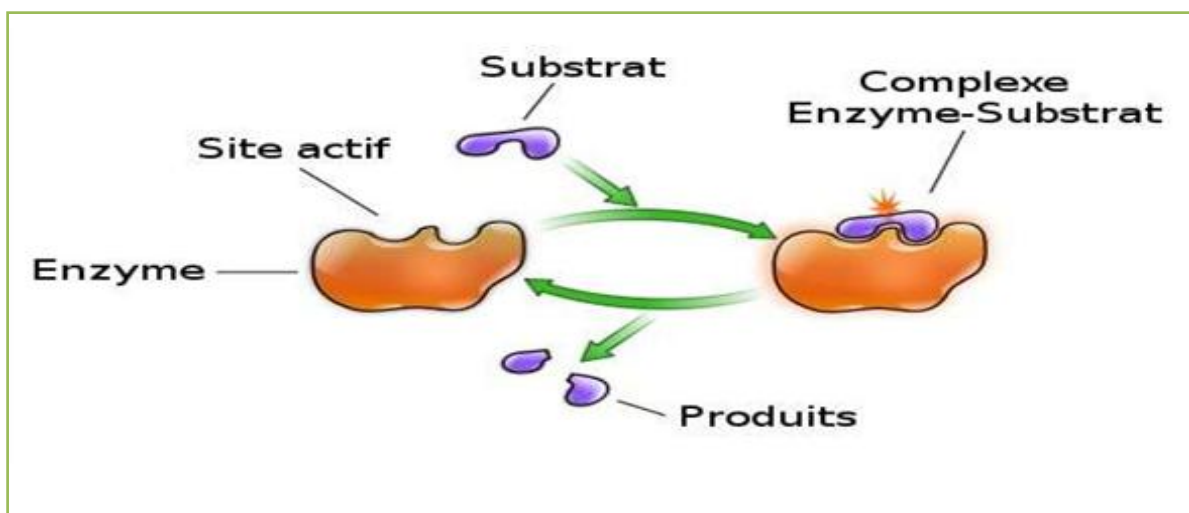
**4-Lyases**: Catalysent l'enlèvement ou l'addition d'un groupement autrement que par hydrolyse.

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

**6-Ligases** : Création d'une liaison entre 2 molécules couplée avec la dégradation d'une liaison à haut potentiel énergétique [39,40].

### III.5. Notions de spécificité

La spécificité est l'une des caractéristiques principales de l'action enzymatique. Elle permet d'éviter la formation de sous-produits qui a lieu avec les catalyseurs chimique. La spécificité se manifeste, d'une part vis-à-vis de réaction catalysée par l'enzyme, d'autre part vis-à-vis du substrat de la réaction [41].



**Figure II-8** : Représentation schématique de la notion de spécificité.

### III.6. Le site actif

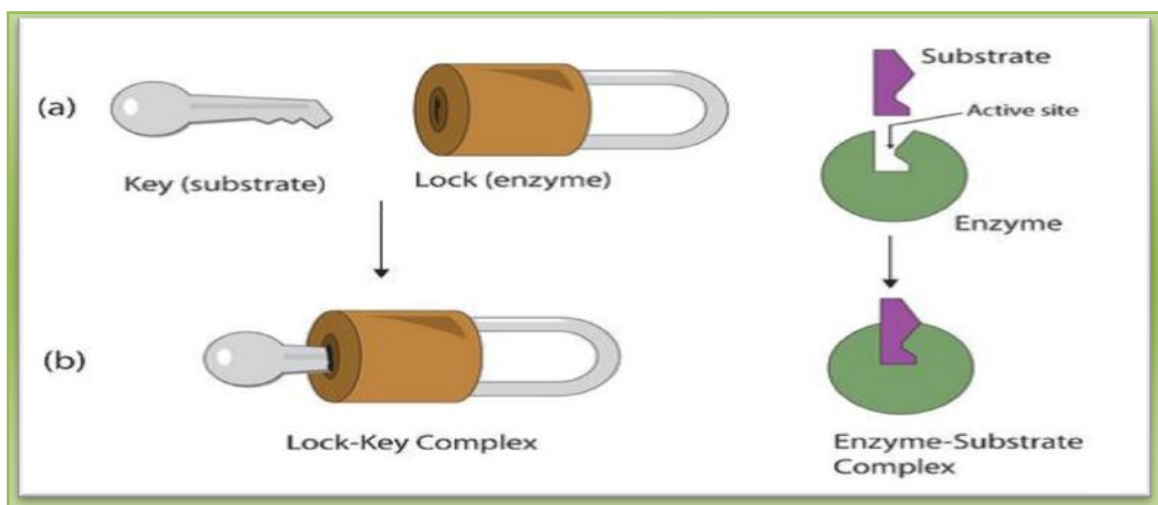
Partie (A) +partie (B)

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.

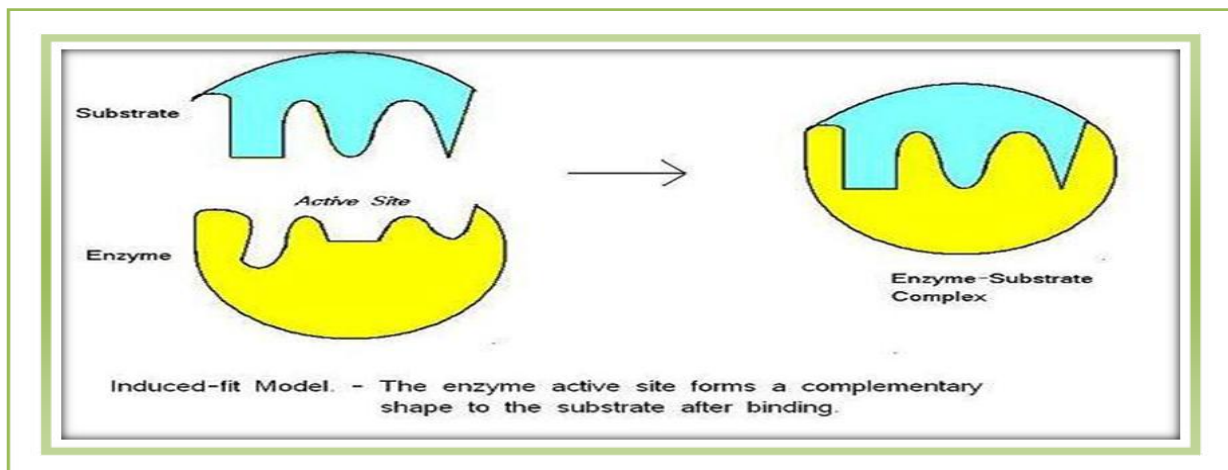
Deux modèles ont été proposés pour élucider cette spécificité :

✓ 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).



**Figure II-9** : le site actif modèle de Fisher.

✓ Modèle de Koshland (1958) : modèle de l'ajustement induit L'enzyme n'est pas rigide, mais flexible, l'enzyme et le substrat adaptent mutuellement leurs formes respectives, qui ne sont complémentaire qu'au sein du complexe enzyme substrat.



**Figure II-10** : Site actif, modèle de Koshland [42].



Partie (A) +partie (B)**III.7. Comment fonctionnent les enzymes**

Les enzymes accélèrent des réactions chimiques qui peuvent se produire naturellement, mais à des vitesses beaucoup plus lentes. Une des caractéristiques des enzymes est qu'elles ne sont pas utilisées ou transformées durant une réaction chimique. Elles peuvent donc servir plusieurs fois. Le principe d'action est basé sur le fait que la plupart des réactions endothermiques nécessitent un apport d'énergie afin de démarrer. Cette énergie initialement requise est appelée l'ENERGIE D'ACTIVATION. Alors qu'on peut amorcer une réaction en apportant de l'énergie, une enzyme agit plutôt en se liant aux réactifs de façon à faciliter leur réaction et ainsi abaisser l'énergie d'activation requise. La température de l'environnement cellulaire est alors suffisante pour faire franchir le seuil de l'énergie d'activation aux réactifs et les faire réagir [43].

**III.8. Complexe Enzyme-Substrat**

La formation initiale d'un complexe [Enzyme-Substrat] E-S ou complexe de Michaelis-Menten-Henri, NON covalent, fût suggérée d'après les observations suivantes :

Le haut degré de spécificité de la reconnaissance d'un substrat par le site actif d'une enzyme.

Pour l'expliquer, Emil Fisher suggéra en 1894 que cette reconnaissance résulte d'une très forte complémentarité des structures (mais aussi de la nature chimique des groupements réactionnels) du substrat et de l'enzyme qui le fixe, comme le sont une clé et la serrure dans laquelle elle entre.

La forme de la courbe dite de saturation (Victor Henri, 1902 et Adrian Brown, 1902) : vitesse initiale de la réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat ou  $v_i = f([S])$ .

Le fait que les substrats protègent souvent les enzymes de l'inactivation (O'Sullivan & Tompson, 1890).

L'hypothèse "clé -serrure", bien qu'extrêmement satisfaisante, ne peut cependant pas rendre compte de certaines observations :

Certains composés qui ressemblent chimiquement à un substrat mais qui ont des groupements moins volumineux ne sont pas catalysés, bien qu'ils doivent encore mieux s'insérer dans le site actif.

Partie (A) +partie (B)

Il existe un mécanisme enzymatique à deux substrats appelé "fixation ordonnée" pour lequel un substrat B ne peut se fixer que si le substrat A l'est déjà. Or, selon l'hypothèse "clé - serrure", le substrat B devrait se fixer d'emblée [44].

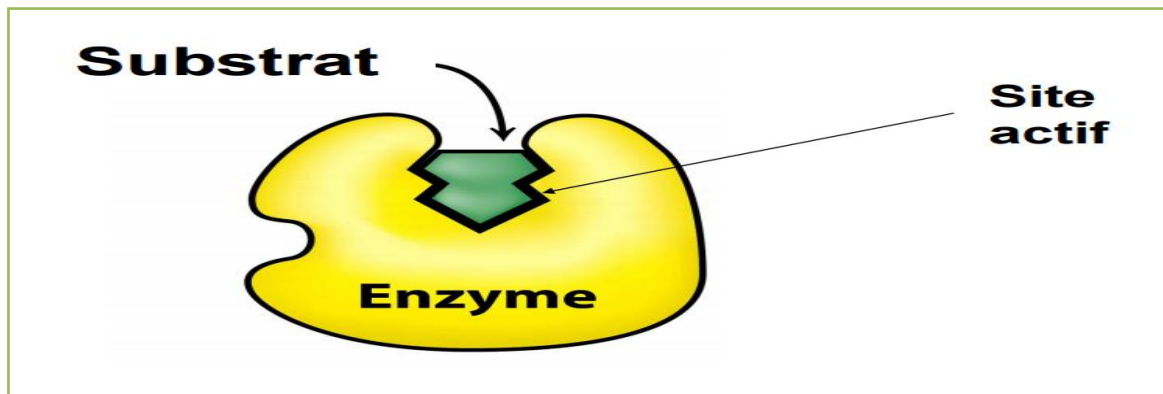


Figure II-11 : Complexe Enzyme - Substrat

### III.9. Inhibition enzymatique

Toute molécule qui modifie la vitesse de réaction enzymatique est appelé effecteur. Les effecteurs qui augmentent l'activité enzymatique sont des activateurs, et ceux qui la diminuent sont des inhibiteurs. Certaines molécules peuvent selon des conditions, se comporter comme un activateur ou un inhibiteur [45]. L'inhibition de l'activité enzymatique est un mode de régulation primordial des voies métaboliques dans la cellule, d'autant que les inhibiteurs naturels peuvent prendre de multiples formes : antibiotiques, toxines, drogues, poison [46].

### III.10. Différentes types cinétiques d'inhibiteurs d'enzymes

Les inhibiteurs réversibles s'associent aux enzymes par des liaisons non covalentes comme des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes et des liaisons ioniques. De nombreuses liaisons de faible énergie entre inhibiteur et site actif se combinent pour produire une liaison forte et spécifique. Contrairement aux substrats et aux inhibiteurs irréversibles, les inhibiteurs réversibles ne subissent pas de réaction chimique lorsqu'ils se lient à l'enzyme et peuvent être facilement éliminés par dilution ou par dialyse [47].

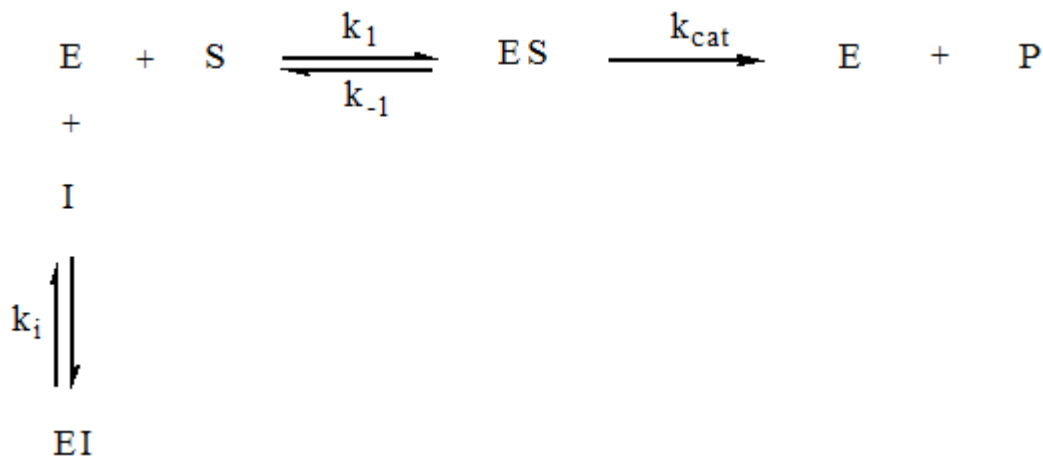
Partie (A) + partie (B)

**III.10.1. Inhibiteurs réversibles**

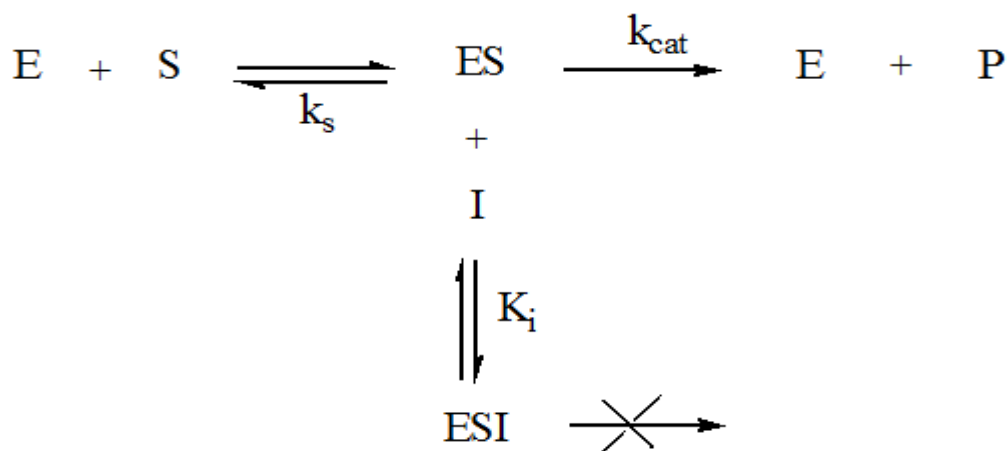
Liaisons non-covalente (ou covalente) peu stable de l'inhibiteur à l'enzyme (complexes **EI**, **ESI**). L'inhibition est réversible (peu être levée) *i.e.* l'enzyme n'est pas irréversiblement inhibée :

➤ **Inhibiteurs compétitifs** : Dans ce type d'inhibition l'inhibiteur compétitif se lie au même site que le substrat. On pourrait dire que cette inhibition est un mécanisme où la fixation de l'inhibiteur empêche celle du substrat.

Le mécanisme réactionnel est le suivant :



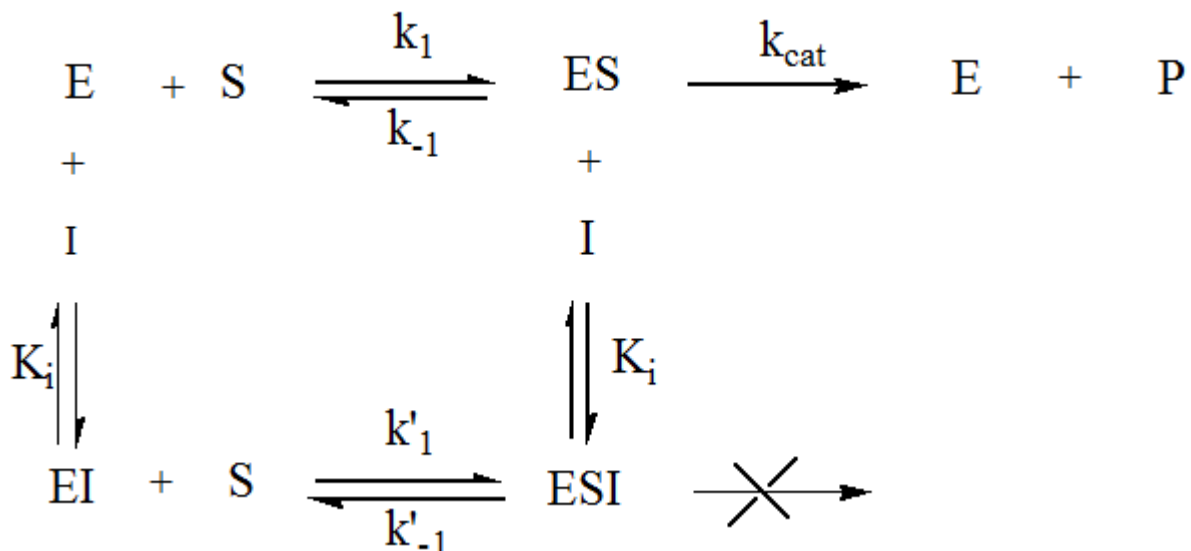
➤ **Inhibiteurs incompétitifs** : Un inhibiteur incompétitif (un-compétitif) ne se fixe que sur le complexe **ES** (le site de fixation de **I** est induit par celle de **S**).



➤ **Inhibiteurs non-compétitifs purs** : Un inhibiteur non-compétitif peut se fixer sur **E** et sur **ES** (mais n'est pas en compétition avec **S** pour sa fixation à l'enzyme).

Partie (A) + partie (B)

➤ **Inhibiteurs non-compétitifs mixtes** : Dans le cas d'un inhibiteur non-compétitif mixte, les affinités de E pour I ( $K_i$ ) et de ES pour I ( $K'_i$ ) sont différentes. Il en résulte que les affinités de E pour S ( $K_s$ ) et de EI pour S ( $K'_s$ ) sont également différentes.



**III.10.2. Inhibiteurs irréversibles**

Liaison covalente (ou non-covalente) stable de inhibiteur à l'enzyme (complexes E-I).  
Inhibition ne peut pas être levée (Inactivation = l'enzyme est irréversiblement inhibée) :

- Marqueurs d'affinité.
- Inhibiteurs suicides (ou mécanistiques).
- Cas particulier : inhibiteurs dits à interaction lente et/ou à forte affinité : inhibition non-covalente mais quasi-irréversible (slow-binding, tight-binding inhibitors) [48,49].

**III.11. Nature des forces dans les associations Enzyme – Substrat**

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

Ces 3 types de liaisons non-covalentes diffèrent dans leurs contraintes géométrique, force et spécificité. De plus, elles sont profondément affectées (de manière différente) [50].

Partie (A) +partie (B)**IV .Acides aminés****IV.1. Introduction**

Les protides sont les composés organiques les plus abondants dans la cellule (plus de 50% du poids sec).

Ils jouent un rôle prédominant dans le fonctionnement cellulaire. Ils sont constitués de molécules élémentaires: les Acides Aminés (AA) [51].

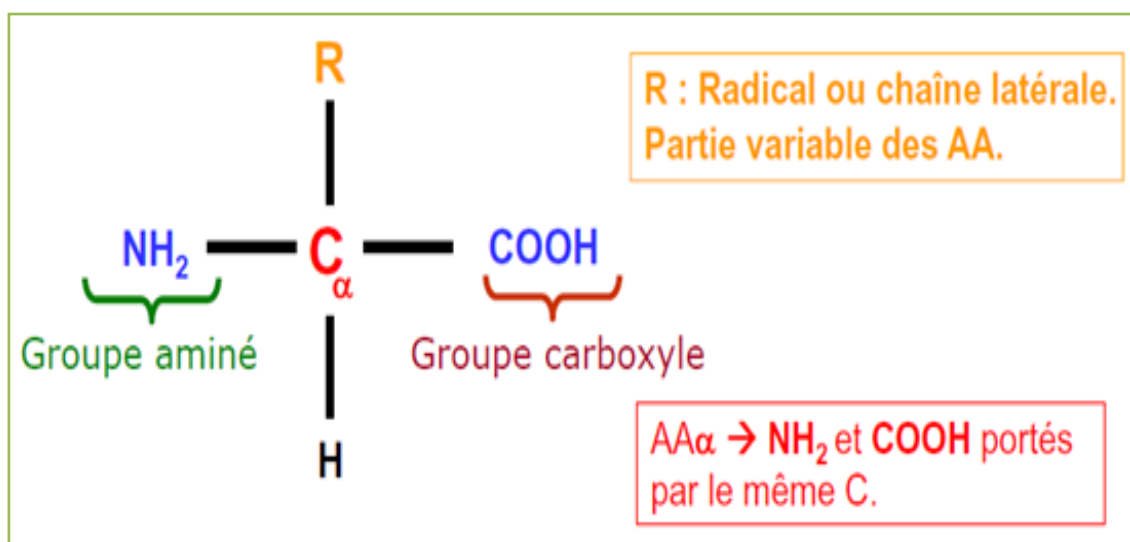
Les acides aminés sont des acides carboxyliques qui portent une fonction amine. Les protéines de toutes les espèces sont constituées de seulement vingt acides aminés différents [52].

**IV.2. Définition**

Les acides aminés (AA) ou aminoacides sont des molécules chimiques, qui possèdent deux fonctions:

Les AA ont un motif structural commun [53].

- ✓ Une fonction acide carboxylique COOH;
- ✓ Une fonction amine primaire NH<sub>2</sub>;



**Figure II- 12** : Structure générale d'un AA.

## Partie (A) +partie (B)

\*Ces deux fonctions sont portés par un même atome de carbone (noté  $\alpha$ ), et les es AA différent par la nature de la chaîne latérale R.

### **IV.3. Classification des principaux acides aminés**

Vingt acides aminés sont communément présents dans presque toutes les protéines. Il y a plusieurs modes de classification des acides aminés, la plus utile étant fondée sur la polarité des chaînes latérales. Les acides aminés sont regroupés dans les catégories suivantes :

#### **IV.3.1. Acides aminés non polaires**

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

#### **IV.3.2. Acides aminés polaires, non chargés**

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

#### **IV.3.3. Acides aminés acides**

Deux acides aminés acides, l'acide aspartique et l'acide glutamique, ont une chaîne latérale contenant un groupe carboxylique. Ces groupes carboxyliques sont des acides plus faibles que groupes carboxylique liés au carbone  $\alpha$ , mais ils sont suffisamment acides pour exister sous la forme  $-\text{COO}^-$  ionisée à pH neutre.

Les acides aspartique et glutamique ont donc une charge nette négative à pH 7. Ces acides aminés à charge négative ont des rôles importants dans les protéines.

#### **IV.3.4. Acides aminés basiques**

Les chaînes latérales de trois acides aminés, l'histidine, l'arginine et la lysine ont une charge nette positive à pH neutre. Un azote du noyau imidazole de l'histidine est protoné (groupe imidazolium), il en est de même pour un azote du groupe guanido de l'arginine (groupe guanidinium) et pour l'amine de la chaîne latérale de la lysine, et la chaîne latérale de l'histidine joue un rôle de donneur ou d'accepteur de proton au cours de certaines réactions

## Partie (A) +partie (B)

enzymatiques.les chaines latérales de la lysine et de l'arginine, protonées dans les conditions physiologiques, participent aux interactions électrostatiques dans les protéines [54].

### **IV.4. Propriétés Physiques des AA**

#### **IV.4.1 Solubilité**

La solubilité dépend de la nature du radical (R). Plus la chaîne apolaire est longue, plus la solubilité est diminuée (l'hydrophobicité augmente).

Elle dépend également du pH dans lequel l'AA est placé. Au pHi la solubilité est minimale.

Enfin elle dépend de la concentration en ion de la solution. Plus il y a d'ions, plus la solubilité diminue.

#### **IV.4.2 Absorption dans l'UV**

Si l'on se place à  $\lambda=280\text{nm}$  alors on peut doser les AA aromatiques (c.à.d. avec un cycle), on peut alors doser les protéines au spectrophotomètre

#### **IV.4.3 Pouvoir rotatoire**

Capacité de faire dévier le plan d'une lumière polarisée (sur un seul plan). Cette propriété physique est liée à l'existence d'un C asymétrique (notée C\*), on dit alors que la molécule est «optiquement active».

Les AA qui dévient la lumière à droite sont dits «Dextrogyres (+)», ceux qui la dévient à gauche sont dits «Lévoogyres (-)».

Configuration spatiale :

Un composé présentant un C\* peut être représenté de 2 façons selon la «Représentation de Fisher». Ces 2 représentations sont appelées «Enantiomères» (=car particuliers des stéréoisomères). Ces deux composés sont images l'une de l'autre dans un miroir mais ne sont pas superposables.

#### **IV.4.4 Propriétés d'ionisation**

Propriété essentielle car elle conditionne le comportement de l'AA en solution aqueuse selon le pH de cette solution [55].

Partie (A) + partie (B)

*Partie (B) :*

**Maladie d'Alzheimer**



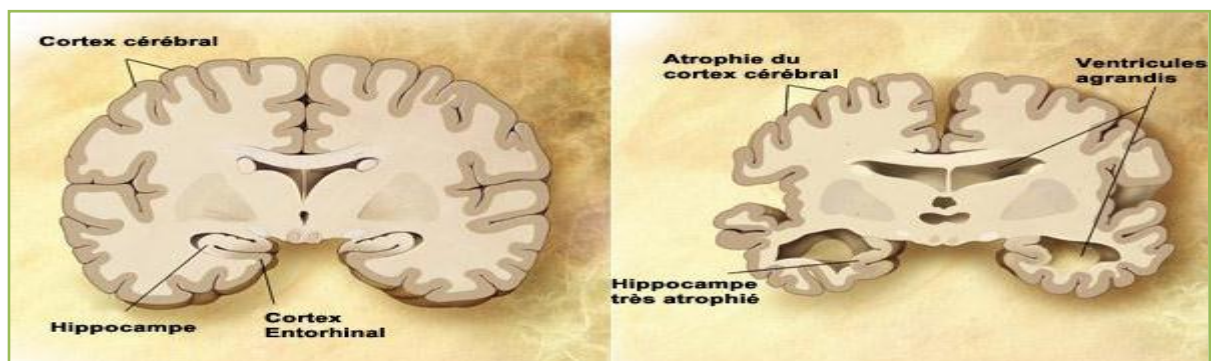


Partie (A) +partie (B)**V. Introduction**

Le cerveau est l'organe le plus complexe, son étude a toujours été délicate. Plusieurs pathologies altèrent l'intégrité de cet organe essentiel. Parmi ces pathologies on retrouve les pathologies neuro-dégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (MA). Cette maladie touchant un nombre croissant de personnes est devenue en quelques années un problème de santé publique majeur. [56]

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 [57].

- La MA affecte un octogénaire sur cinq.
- La MA constitue un problème de santé publique majeur : avec l'augmentation de l'espérance de vie et le vieillissement de la population, près de 25 millions de personnes sont touchées actuellement dans le monde [58].



**Figure II-13 :** Représentation schématique d'une coupe transversale de cerveau sain (à gauche) et l'atrophie massive d'un cerveau à un stade avancé d'Alzheimer (à droite).

En 1907, **Aloïs Alzheimer** (1864-1915) fit la première description histologique des lésions cérébrales d'une patiente âgée de 52 ans présentant des troubles de la mémoire et de la compréhension, une aphasie, une désorientation ainsi que des éléments paranoïaques. Pendant près d'un siècle, cette maladie fut ignorée, connue des seuls spécialistes, et considérée

## Partie (A) +partie (B)

comme étant l'évolution fâcheuse de la sénilité. L'accroissement de l'espérance de vie des pays industrialisés est à l'origine du nouvel intérêt de la communauté scientifique, face à cette nouvelle problématique majeure de santé publique.

La maladie d'Alzheimer n'est plus considérée comme une pathologie psychiatrique mais une maladie neuro-dégénérative et organique. Ces vingt dernières années ont été marquées par des avancées spectaculaires dans de nombreux domaines: génétique, biochimique, diagnostique et thérapeutique, qui ont permis une meilleure connaissance de la physiopathologie.

Le processus physiopathologique résulte de mécanismes complexes dont la séquence est encore discutée [59].

### **VI. Causes de la maladie d'Alzheimer**

- L'hypothèse neurochimique repose sur une diminution des taux d'une enzyme, la choline - acétyl -transférase, dans différentes zones du cerveau (cortex et hippocampe). Ce déficit entraînerait une diminution de l'acétylcholine, un neurotransmetteur (substance chimique assurant la transmission de l'influx nerveux), mais il n'explique pas la dégénérescence nerveuse.

- L'hypothèse génétique repose sur des études épidémiologiques révélant l'existence d'antécédents familiaux de la maladie chez 15 % des sujets atteints (→ maladie héréditaire).

Dans ces familles, on constate également une augmentation de la probabilité de naissance d'un enfant trisomique 21, sans que l'on ait déterminé les raisons de cette association.

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

- L'hypothèse immunologique repose sur la diminution globale du nombre de lymphocytes circulants et la présence accrue d'auto anticorps. Toutefois, ces perturbations sont fréquentes avec l'âge en dehors de toute démence.

- L'hypothèse vasculaire et métabolique est étayée par une réduction du débit sanguin cérébral, de l'oxygénation du sang et de sa capacité à capter le glucose. Cependant, ces déficits peuvent être la conséquence et non la cause de la détérioration cérébrale.

### Partie (A) +partie (B)

- L'hypothèse toxique repose sur l'augmentation des taux d'aluminium dans le cerveau. Mais des concentrations 5 fois supérieures chez les dialysés ne produisent pas de dégénérescence nerveuse.
- L'hypothèse des radicaux libres repose sur le fait que le vieillissement est dû, en partie, aux effets destructeurs de ceux-ci. Elle fait actuellement l'objet de nombreuses recherches [60].

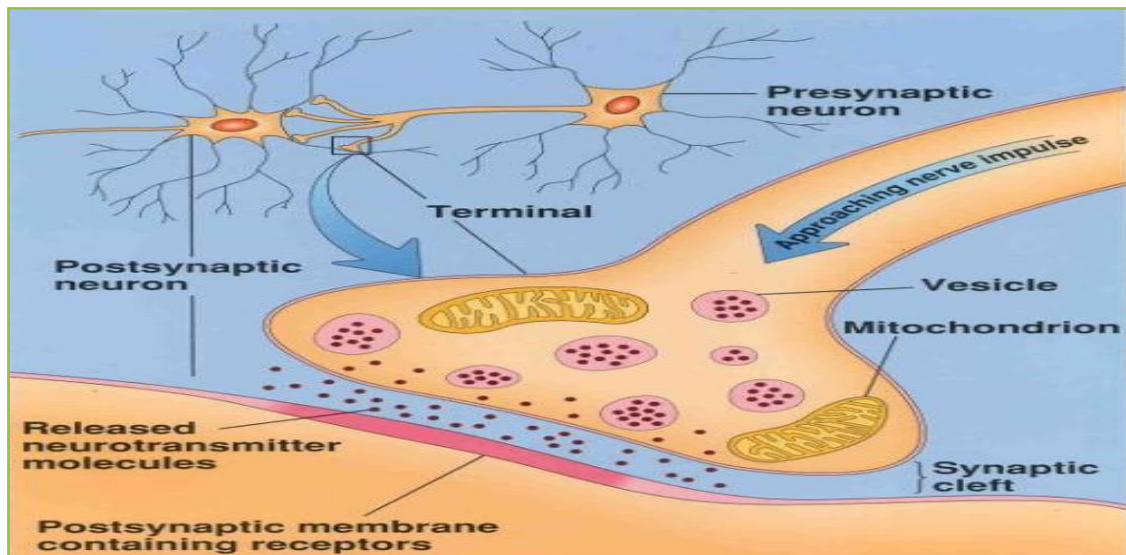


Figure II-14 : Composition d'une synapse.

## VII . Les différents facteurs de risques de la MA

La forme sporadique sans antécédents familiaux représente plus de 95% des cas de la MA. Comme de nombreuses maladies, certains facteurs jouent un rôle dans la survenue de la MA. Ces Risques peuvent être classés en différents groupes :

- Les facteurs environnementaux
- Les facteurs vasculaires
- Les facteurs nutritionnels
- Les facteurs génétiques [61].

## Partie (A) +partie (B)

### **VII.1. Les facteurs environnementaux**

#### **VII.1.1 L'âge**

L'âge est le facteur de risque le plus évoqué dans les études épidémiologiques. Le nombre de nouveaux cas de maladies Alzheimer augmente de façon exponentielle avec l'avancée dans l'âge après 65 ans. Une étude américaine portant chez les personnes très âgées a récemment montré que le taux d'incidence de la démence augmente de 12,7% par an chez les personnes âgées entre 90 et 94 ans, de 21,2% par an chez les personnes âgées entre 95 et 99 ans, pour atteindre 40,7% par an chez les âgés de plus de 100 ans [62].

#### **VII. 1.2 Le sexe**

Selon le PAQUID (Personnes Agées Quid) la prévalence de la MA est plus importante chez les femmes. Cette tendance semble être bien établie puisque d'autres études l'ont démontré dans des populations rurales chinoises. Une étude réalisée sur des femmes ménopausées montre que les concentrations en œstrogènes étaient associées au déclin cognitif. Cette étude pourrait être une piste pour expliquer cette tendance [63].

#### **VII. 1.3 Le niveau d'éducation**

Il est souvent associé à un risque plus élevé de développer la maladie d'Alzheimer, mais il n'est pas toujours retrouvé dans la littérature. Pour l'instant, il n'existe pas d'analyses sur une vie entière qui pourraient permettre de comprendre le rôle du statut Socioprofessionnel dans le développement de la maladie d'Alzheimer. Il semblerait que les personnes ayant un haut niveau d'étude ont une plus grande capacité de réserve cérébrale qui leur permettrait d'exprimer leur maladie de manière différente. Ainsi, les études de cohortes de patients malades ont montré que les personnes ayant un haut niveau d'éducation étaient plus performantes à certains tests neuropsychologiques que les personnes avec un bas niveau d'étude, du fait de leur capacité à trouver des stratégies pour « compenser » la perte de certaines fonctions.

Les personnes avec un bas niveau d'étude seraient plus facilement repérées et diagnostiquées à partir des mêmes tests cognitifs [64].

## Partie (A) +partie (B)

### **VII.1.4 Les traumatismes crâniens**

Les chocs importants a la tête durant la jeunesse contribueraient a augmenter le risque de développer la MA.

Des études réalisées chez des boxeurs professionnels américains ont montre des changements moléculaires similaires a la MA, dont une accumulation de la protéine Tau. D'autres études ont également montre le lien de cause a effets d'un ou plusieurs traumatismes [65].

### **VII.1.5 Le tabagisme**

Le tabagisme est directement lié à un large éventail de maladies, y compris le cancer sous diverses formes, les maladies cardiovasculaires et le diabète.

Il est possible d'affirmer avec force et assurance que le risque de développer la maladie d'Alzheimer est de 45% plus élevé pour les fumeurs (par rapport aux non-fumeurs et ex-fumeurs).

Les fumeurs sont également exposés à un risque plus élevé de maladie vasculaire (bien que les preuves ne soient pas aussi convaincantes) et même d'autres formes de trouble cognitif. En outre, les personnes qui cessent de fumer réduisent leur risque. Il est encourageant de constater qu'en cessant de fumer, il est non seulement possible de limiter les autres effets néfastes du tabagisme, mais également de réduire le risque de maladies cognitives [66].

## **VII. 2. Les facteurs vasculaires**

Les facteurs vasculaires pourraient être rattachés à la maladie d'Alzheimer comme l'obésité, l'hypertension, le diabète de type 2.

Les antécédents d'accidents vasculaires et les traumatismes crâniens pourraient également accroître le risque de maladie d'Alzheimer, du fait de la réduction du débit sanguin [67].

## **VII. 3. Les facteurs nutritionnels**

### **VII.3.1 Les facteurs alimentaires**

Les facteurs alimentaires, notamment des apports élevés en vitamine C, E, B6 et B12, folates, acides gras insaturés et poisson sont associés à une diminution du risque de maladie

## Partie (A) +partie (B)

d'Alzheimer. Cependant les études sont discordantes et il n'existe pas de recommandations spécifiques pour la prévention de la maladie d'Alzheimer [68].

### **VII.3.2 L'obésité**

L'obésité est également citée comme étant un facteur pouvant augmenter le risque de contracter la MA. L'hypothèse d'une source de cytokine et d'interleukines issues du tissu adipeux qui soient responsables d'inflammation et de déclin cognitifs a été évoquée [69].

### **VII. 4 .Facteurs génétiques**

La mutation de trois gènes situés sur les chromosomes 14 et 21 serait responsable de la moitié des formes familiales de la maladie d'Alzheimer (forme précoce). De plus, la présence de l'allèle E4 de l'apolipoprotéine E (apoE) serait également un facteur de risque de la maladie d'Alzheimer [70].

## **VIII. Les symptômes**

1. Pertes de mémoire qui nuisent aux activités quotidiennes de la personne.
2. Difficultés à exécuter des tâches familiales.
3. Problèmes de langage.
4. Perte de l'orientation (temps et espace).
5. Jugement amoindri.
6. Difficultés à exécuter une tâche abstraite.
7. Objets égaré. 8. Changements d'humeur ou de comportement.
9. Changements dans la personnalité.
10. Perte d'intérêt [71].

## **IX. Les lésions responsables de la maladie**

A ce jour, nous ne savons toujours pas ce qui cause la maladie d'Alzheimer. En revanche, il est établi qu'avant même l'apparition des premiers symptômes, les neurones sont affectés par deux types de lésions : les plaques amyloïdes que l'on retrouve entre les neurones, et la dégénérescence neurofibrillaire que l'on retrouve à l'intérieur des neurones. Ces deux lésions

**Partie (A) +partie (B)**

correspondent à des amas de protéines qui se forment lors du processus normal du vieillissement. Cependant, dans les démences de type Alzheimer, ces protéines s'accumulent en beaucoup plus grande quantité

**IX.1. Les plaques amyloïdes**

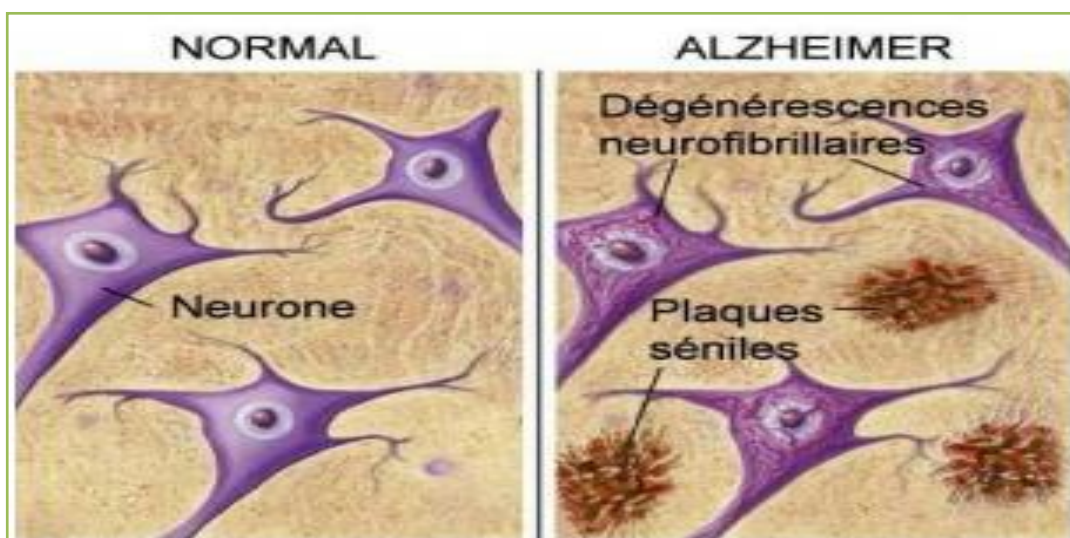
Les plaques amyloïdes, ou plaques séniles, sont formées par l'accumulation anormale d'une protéine dite «  $\beta$ -amyloïde ». Ces plaques se déposent entre les cellules nerveuses situées dans la substance grise du cortex cérébral, provoquant un dysfonctionnement des connexions entre les neurones.

**IX. 2 . Les dégénérescences neuro-fibrillaires**

La dégénérescence neuro-fibrillaire correspond à une accumulation anormale de filaments à l'intérieur du neurone. La protéine à l'origine de ce dysfonctionnement est appelée « protéine Tau ».

La dégénérescence neuro-fibrillaire entraîne progressivement une désorganisation cellulaire puis, la mort neuronale.

La mort des neurones s'opère avant tout dans l'hippocampe, une des régions essentielle de la mémoire, et dans le cortex associatif, qui permet de relier entre elles différentes fonctions. La mort neuronale aura pour conséquence une atrophie de certaines zones cérébrales, c'est-à-dire une diminution du volume du cerveau [72].



**Figure II -15 :** Les lésions de la maladie d'Alzheimer.

## Partie (A) +partie (B)

### **X. Le diagnostic**

Établir un diagnostic d'Alzheimer peut prendre du temps. En effet, plusieurs des symptômes de la maladie ressemblent à ceux d'autres maladies. Aucun test unique ne permet de déterminer si une personne est atteinte de la maladie d'Alzheimer.

Il faut donc faire plusieurs tests pour reconnaître la maladie d'Alzheimer :

1. L'examen des problèmes de santé passés de la personne, ainsi que ceux de sa famille.
2. L'examen de l'état mental de la personne et de sa mémoire.
3. L'examen médical, afin d'éliminer les autres maladies qui pourraient causer les symptômes de la maladie d'Alzheimer.
4. Les examens de laboratoire, pour connaître l'état de santé de la personne.
5. Les évaluations psychiatriques, afin de savoir si la personne a d'autres problèmes qui pourraient aussi causer des pertes de mémoire [73].

### **XI .Traitement**

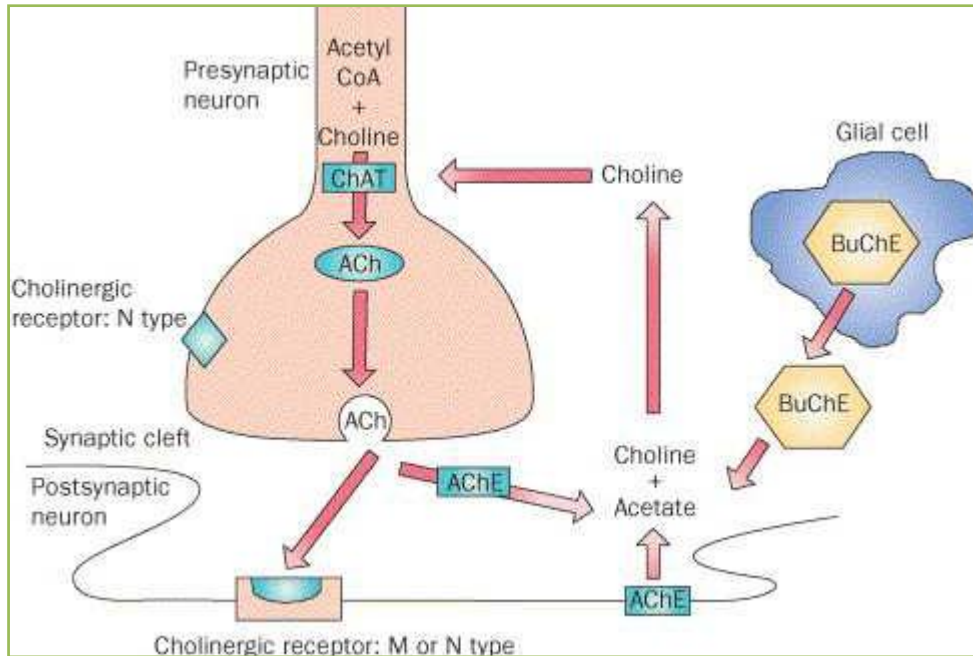
Un des premiers mécanismes physiopathologiques identifié a été l'atteinte du système cholinergique. Les premiers traitements spécifiques de la maladie d'Alzheimer ont pour cible le mécanisme de dégradation de l'acétylcholine, neurotransmetteur dont la concentration est basse chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer [74].

Dans les parties endommagées du cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer, on observe une perte importante de neurones cholinergiques avec de faibles niveaux d'acétylcholine dans l'espace intersynaptique. En effet, lors de la progression de la maladie d'Alzheimer, l'activité de l'acétylcholine estérase diminue. Cela devrait entraîner une augmentation du taux d'acétylcholine, mais il existe une autre enzyme de la même famille, la butylcholine estérase (BuChE), qui reconnaît également l'acétylcholine comme substrat [75], et dont l'activité croît au cours de la maladie, probablement du à la prolifération des cellules gliales (des changements de ratios AChE/BuChE ont aussi été reportés) [76]. Ce déficit se traduit par une diminution des fonctions cognitives suite à une diminution de l'activation des



**Partie (A) +partie (B)**

récepteurs cholinergiques muscariniques (type M) et nicotiques (type N) (Figure II-16).  
Scarpini ]



**Figure II-16 :** Représentation schématique du système cholinergique [75].

Le traitement de la MA, consistant à remplacer les neurotransmetteurs qui sont connus pour être déficients dans la maladie, a été fondé sur l'hypothèse cholinergique, il y a deux types de cholinestérase, l'Acétylcholinestérase (AChE) et le Butyrylcholinestérase (BuChE). L'AChE est trouvée principalement dans le sang et les synapses neurales par contre le BuChE est trouvée principalement dans le foie, la plus grande différence entre les deux est les substrats [77].OMAIMA

Il n'existe pas à l'heure actuelle de traitement curatif contre la MA et les maladies apparentées; il est toutefois possible de stabiliser ou d'atténuer temporairement la manifestation des symptômes [78]. Il existe quatre AChEL utilisés en thérapeutique : la tacrine ,un inhibiteur réversible non compétitif des cholinestérases (AChE et BuChE) ; le donézépil, un inhibiteur réversible non compétitif spécifique de l'AChE à longue demie-vie ;

Partie (A) +partie (B)

la rivastigmine qui permet la dégradation de l'AChE et la galantamine qui en plus de son activité d'inhibition de l'AChE a des propriétés agonistes des récepteurs nicotiniques [79].



Pour le futur...

La possibilité de disposer d'un vaccin et d'une immunothérapie offre des perspectives prometteuses, aussi dans le domaine des maladies dégénératives cérébrales. La recherche sur les cellules souches permet d'entrevoir la possibilité d'inverser le processus d'altération du tissu cérébral en implantant de nouvelles cellules nerveuses. Bien que difficile à imaginer, cette recherche représente un des progrès les plus significatifs de la science médicale [80].

## **XII. Références**

- [1] Kessous.C, Biochimie Structurale, **2006**.
- [2] H. Lodish., A .Berk., P .Matsudaira., C.A .Kaiser., M .Krieger., M.P .Scott., S.L Zipursky., J .Darnell., *Biologie moléculaire de la cellule*. de Boeck Université, chap. 1, **2005**.
- [3] J. Yon-Kahn. Histoire de la science des protéines. **2006**.
- [4] Lodish H., Berk A., Matsudaira P., Kaiser C.A., Krieger M., Scott M.P., Zipursky S.L., Darnell J., *Biologie moléculaire de la cellule*. de Boeck Université, chap. 1, **2005**.
- [5] Jean-Louis CUQ Professeur , BIOCHIMIE DES PROTEINES ,Sciences et Technologies des Industries Alimentaires.
- [6] L. Stryer. La biochimie. Edition Flammarion 4eme édition, chapitre 2 et 16.
- [7] Helen Watson., » **Biological membranes** » *Essays Biochem.* 2015, **59: 43–69**.
- [8] Reginald H .Charles M .biochimie .2<sup>ème</sup> édition, les protéine :fonction biologique et structure primaire, Paris, page 107. **2000**.
- [9] Jacques-Paul BOREL, Alain RANDOUX, François-Xavier MAQUART et Philippe GILLERY : Biochimiedynamique. De boeck, 2e édition., Page 163. **1997**
- [10] C. Branden, J. Tooze, Introduction to protein structure, second edition, Garland Publishing, New-York, **1999**.
- [11] C. Branden et J. Tooze. Introduction to protein structure. Garland, New-York, **1991**.
- [12] C. Yu, M. Xu, F. Svec, J.M.J. Fréchet, J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem., 40, 755, **2002**.
- [13] Sandhya R. Shenoy and B. Jayaram.,” Proteins: Sequence to Structure and Function – Current Status” *Current Protein and Peptide Science*, **2010**, 11, 498-514.
- [14] Radhey S. Gupta., » Protein Phylogenies and Signature Sequences: A Reappraisal of Evolutionary Relationships among Archaeobacteria, Eubacteria, and Eukaryotes”. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998, 62(4): 1435–1491.
- [15] E. G. Robertson and J. P. Simons. Getting into shape: Conformational and supramolecular landscapes in small biomolecules and their hydrated clusters. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 3:1–18, **2001**.
- [16] R. S. Johnson, S. A. Martin, K. Biemann, J. T. Stults, and J. T. Watson. Novel fragmentation process of peptides by collision-induced decomposition in a tandem mass

Partie (A) +partie (B)

spectrometer: differentiation of leucine and isoleucine. *Analytical Chemistry*, 59:2621–2625, **1987**.

[17] M. Kinter and N. E. Sherman. *Protein Sequencing and Identification Using Tandem Mass Spectrometry*. Wiley Inter Sciences, New York, **2000**.

[18] V. H. Wysocki, G. Tsaprailis, L. L. Smith, and L. A. Breci. Mobile and localized protons: a framework for understanding peptide dissociation. *Journal of Mass Spectrometry*, 35:1399–1406, **2000**.

[19] Williamson: *How Proteins Work* Lehninger Principles of Biochemistry 1981-2007.

[20] Andrew Pohorille, Michael A. Wilson and Gareth Shannon, "Flexible Proteins at the Origin of Life, *Life*. **2017**,7, 23.

[21] **Kessous.C, Biochimie Structurale**, 2006.

[22] G.Moroy, Thèse de Doctorat de l'université de Reims Champagne-Ardenne, **2005**.

[23] Aurélie Bornot. Analyse et prédiction de la relation séquence - structure locale et flexibilité au sein des protéines globulaires. *Biochimie [q-bio.BM]*. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2009. Français.)

[24] Mitchell, J.B., Thornton, J.M., Singh, J., and Price, S.L.. Towards an understanding of the arginine-aspartate interaction. *J Mol Biol* **226**: 251-262. **1992**.

[25] Rose, G.D., and Wolfenden, R. Hydrogen bonding, hydrophobicity, packing, **1993**.

[26] LAMARI Assia. Cours de Biochimie Structurale. Pages 102-103. . **2014**

[27] Campbell Na, Reece JB, Lachaine R, Bosset M ; *Biologie*, ERPI, Montréal, 1334 p.) **2007**.

[28] Goldstein SA, Bockenhauer D, O'Kelly I, Zilberberg N «Potassium leak channels and the KCNK family of two-P-domain subunits». *Nature Reviews Neuroscience*, 2 (3), pp. 175-184. **2001**.

[29] Tremblay C, Berret E, Henry M, Nehmé B, Nadeau L, Mougnot D «Neuronal sodium leak channels is responsible for the detection of sodium in the rat median preoptic nucleus», *Journal of Neurophysiology*, 105, pp. 650-660. **2011**.

[30] Hille B , *Ion Channels of Excitable Membranes*, Sinauer Associates, Sunderland,814 p. **2001**.

[31] Nelson P. *Biological Physics*, WH Freeman, New York, 630 p. **2008**.

**Partie (A) +partie (B)**

- [32] CHEVALLIER L. Nutrition : principes et conseils .Edition Masson, **2009**.
- [33] Marlene Frenot- Elisabeth Vierhing , Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant, sciences des aliments série d'énergie par GY leyrat PP 79 125, **1997**.
- [34] Ozlem Coskun., « Separation techniques: Chromatography » North Clin Istanbul. **2016**; 3(2): 156–160.
- [35] Donald Voet, Judith G. Voet Biochimie, De Boeck Université, Bruxelles. (**1998**),
- [36] Priece, N. C. et L. Stevens. *Fundamentals of enzymology: the cell and molecular biology of catalytic proteins*, 3 éd. Oxford; New York: Oxford University Press, 478 p. **1999**.
- [37] . Clark VC, Peter JA, Nelson DR. New therapeutic strategies in HCV: second-generation protease inhibitors. *Liver International* **2013** Feb 33 Suppl 1:80-4.
- [38] L. Stryler, J. M.Berg , J.L. Tymoczco. Biochimie. Edition Flamation Médecine, Scientifiques (6ème édition) chapitre 2, P16, **2008**.
- [39] C. LARCHER « Classification enzymes », Cour, Lycée Saint-Louis Bordeaux, **2009**.
- [40] L. Michaelis, M.L. Menten, Die Kinetik der invertinwirkung *Biocheui.* , 9. 333-369.
- [41] <http://www.esi.umontreal.ca/~badiaa/cinetique-enzyme-1.pdf>
- [42] Dr KASSOULA, Cours d'ENZYMOLOGIE, faculté médecine, p 4-5. , **2016**.
- [43] P. Monsan. Les Enzymes: Production et utilisations industrielles, Edition Gauthier-Villars, Volume 3 de Biochimie appliquée, **1982**.
- [44] V. Henri. A. Hermann, Lois Générales de l'Action des Diastases, Edition Librairie Scientifique, Paris, **1903**.
- [45] Jeremy M Berg, John L Tymoczko Lubert Stryer.” *Biochemistry*”, 5th edition., New York: W H Freeman; **2002**.
- [46] Jeffery W. Keilor. Inhibition des reactions enzymatiques enzymologie BMC **2004**.
- [47] [https://fr.wikipedia.org/wiki/Inhibiteur\\_enzymatique](https://fr.wikipedia.org/wiki/Inhibiteur_enzymatique)
- [48]\*Université de Montréal Faculté de Médecine Département de biochimie  
\*<http://esilrch1.esi.umontreal.ca/~syguschj/cours/BCM2505/Inhibition%20Enzymatique/Inhibition%20enzymatique.pdf>

**Partie (A) +partie (B)**

[49] Kuzmič P, Solowiej J, Murray BW,” An algebraic model for the kinetics of covalent enzyme inhibition at low substrate concentrations” *Anal Biochem.* **2015**, 1;484:82-90.

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

[51] Anonyme CH 14. Acides aminés Peptides et protéines**2017**.

[52] S. Karger, *Journées médicales Nestlé*. Acidesaminés.Edition AG, **1954**.

[53] Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al, » Molecular Cell Biology. 4th edition » New York: W. H. Freeman; **2000**.

[54] Richard H. Holm,Pierre Kennepohl,Edward I. Solomon,» Structural and Functional Aspects of Metal Sites in Biology” *Chem. Rev.***1996**,96,2239–2314.

[55] Anonyme CH 14. Acides aminés Peptides et protéines**2017**.

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

[57]

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

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)**.

[58] Ramarosan H, H. C., Barberger-Gateau P, Letenneur L, Dartigues JF. **(2003)**. "Prévalence de la démence et de la maladie d'Alzheimer chez les personnes de 75 ans et plus: donnée réactualisées de la cohorte Paquid." *Rev Neurol.* 159(4): 405-11.

[59] Delacourte A. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. *EMPremium.*;0895:1- 11. **2000**.

[61] Rocchi A., Pellegrini S., Siciliano G., Murri L. Causative and susceptibility genes forAlzheimer's disease: a review. *Brain Res Bull.*, 30;61, 1, 1-24 ,**2003**.

[62]

\* Fratiglioni, L., Launer, L. J., Andersen K., Breteler, M. M., Copeland J. R., Dartigues, J. F., Lobo, A. Martinez-Lage, J., Soininen, H. & Hofman, A. Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurology*, 54, S10-5. **(2000)**.

**Partie (A) +partie (B)**

\*James, B. D. & Schneider, J. A. Increasing incidence of dementia in the oldest old: evidence and implication. *Alzheimer's Research & Therapy*, 2, 9. (2010).

[63]\* Fillit, H.M. The role of hormone replacement therapy in the prevention of Alzheimer disease. *Arch Intern Med*. 162:1934-42. 2002.

\*Letenneur L, Gilleron V, Commenges D, Helmer C, Orgogozo JM, Dartigues JF. Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 66:pp. 177-183. 1999.

[64] Nicholas J. Pace, Eranthie Weerapana, » Zinc-Binding Cysteines: Diverse Functions and Structural Motifs, *Biomolecules*. 2014, 4(2): 419–434.

[65] \*Meheroz HR, Barry DJ. The cumulative effect of repetitive concussion in sports. *Clin Sports Med*;11:194-8. 2001.

\* Slemmer JE, Matser EJT, De Zeeuw CI, Weber JT. Repeated mild injury causes cumulative damage to hippocampal cells. *Brain*;125:2699-709. 2002.

[66] World Alzheimer Report 2014: Dementia and Risk Reduction, Alzheimer's disease international, 2014 Am I at risk of developing dementia?, Alzheimer's Society UK, 2014 Your brain matters, the power of prevention, Alzheimer's Australia, 2014.

[67] Haan, M. N. La prévention primaire de la démence en population : recherche de facteurs de risque modifiables, 141-145. (2005).

[68] Berr C, Akbaraly N, Nourashemi F, Andrieu S. Epidémiologie des démences.[Internet]. [cité 8 nov 2013]. Disponible sur: <http://www.hal.inserm.fr>.

[69] Gustafson D, Rothenberg E, Blennow K, Steen B, Skoog I. 2003. An 18-year follow-up of overweight and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med* 163:pp. 1524-1528.

[70] Patry-Morel, *Maladie d'Alzheimer et troubles apparentés : rééducation, théorie et pratique*. Marseille : Solal. . (2006).

[71] *Intern Med*. 2011 Société Alzheimer du Canada. La maladie d'Alzheimer : L'évolution de la maladie d'Alzheimer. Les trois phases. Octobre 2005. Accessible à l'adresse

**Partie (A) +partie (B)**

<http://www.alzheimer.ca/french/disease/progression-3stages.htm>. Site consulté le 23 novembre 2008

[72] Paul W. Frankland , Bruno Bontempi, » The organization of recent and remote memories” *ature Reviews Neuroscience*, **2005**, 6,119–130.

[73] J D Warren, » Frontotemporal dementia “*BMJ*, **2013**; 347.

[74] Inserm (dir.). Maladie d’Alzheimer : enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux. Rapport. Paris : Les éditions Inserm, 2007, XV - 654 p.-(Expertise collective). - <http://hdl.handle.net/10608/113> [Internet]. [cité 2 sept 2013]. Disponible sur: <http://www.inserm.fr>

[75] Scarpini, E., Scheltens, P. and Feldman, H. Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. *Lancet Neurol.* **2**: 539-547. (2003).

[76] Arendt, T., Bruckner, M. K., Lange, M. and Bigl, V. Changes in acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease resemble embryonic development -A study of molecular forms. *Neurochem. Int.* **21**(3): 381-396. (1992).

[77] Mona Mehta, Abdu Adem, Marwan Sabbagh,” New Acetylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer’s Disease”,*International Journal of Alzheimer’s Disease*, 2012, 5: 1-8

[78] Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: A measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. *BMC Med Res Methodol*;7:10. **2007**.

[79] Kang J.,Lemaire H.G.,Ynterbeck A.,salbaum J.M.,Masters C.L., Grazeschik K.H.,Multhaup G.,Beyreuther K.and Muller-Hill B.’ the precursor of alzheimer’s disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor.” *Nature* ,325 :6106 733-6.(1987).

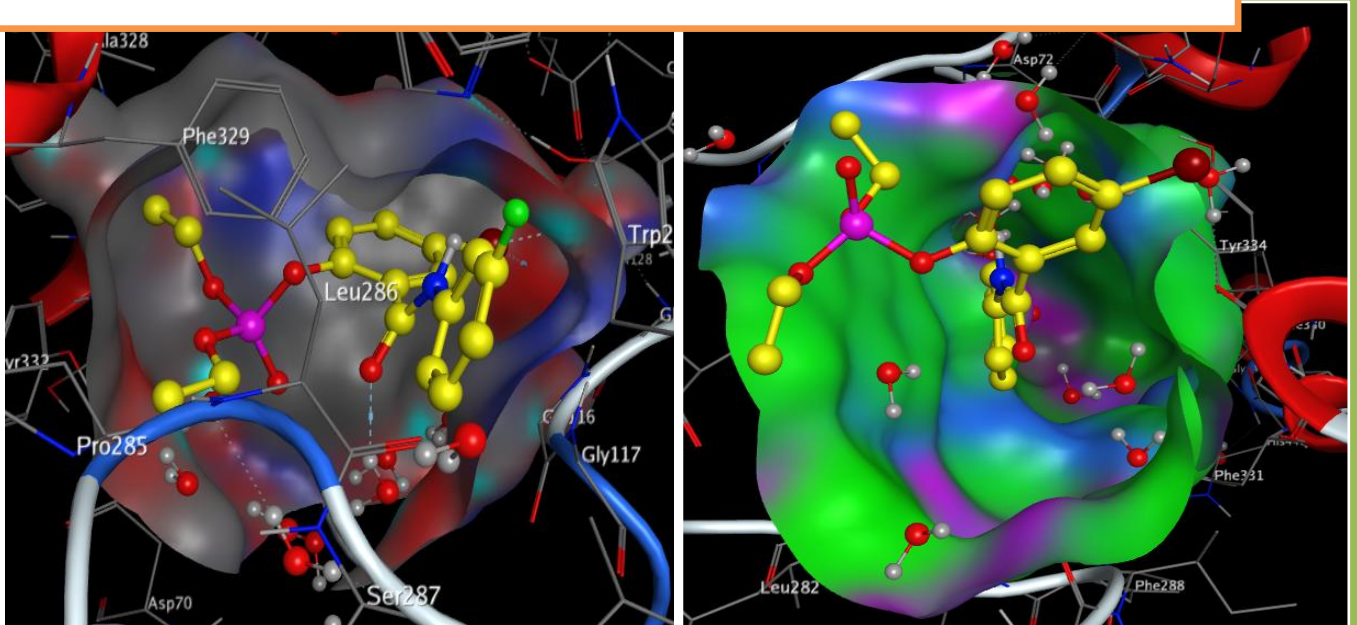
[80] Sandeep K. Vishwakarma,Avinash Bardia, Santosh K. Tiwari, Syed A.B. Paspala, Aleem A. Khan,” Current concept in neural regeneration research: NSCs isolation, characterization and transplantation in various neurodegenerative diseases and stroke: *A review” J Adv Res.* **2014**, 5(3): 277–294.



Partie (A) +partie (B)

# Chapitre III

## Résultats et Discussion





### **I. Introduction**

La découverte de nouveaux médicaments est un processus extrêmement long et fastidieux qui dure en moyenne une dizaine, voire une quinzaine d'années en dépensant près d'un milliard de dollar. La méthode classique pour concevoir un nouveau médicament était basée sur le criblage à haut débit (high throughput screening, HTS) où un grand nombre de composés sont testés *in vitro* sur une cible thérapeutique donnée (enzyme, récepteur...etc.) afin d'identifier des touches ("*hits*" ou encore composés promoteurs) qui seront par la suite optimisés et testés *in vivo*. Néanmoins, le criblage à haut débit s'est rapidement trouvé confronté à de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques, financiers et organisationnels. Si l'on teste un grand nombre de molécule sur une cible donnée, on finira sans nul doute par trouver une molécule active sur cette cible, mais quand et à quel prix ? C'est à ces deux questions que le développement de nouvelles approches telles que le criblage virtuel par docking moléculaire était nécessaire [1].

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par des lésions du cerveau (plaques amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires). Ces lésions sont accompagnées d'une diminution de l'acétylcholine. Ce dernier est un neurotransmetteur qui permet aux neurones de la mémoire de communiquer. Les anticholinestérasiques ont pour action d'empêcher la dégradation de cette molécule [2]. En biochimie une cholinestérase est une enzyme qui catalyse la réaction d'hydrolyse d'un ester de la choline (acétylcholine, butyrylcholine) en choline et en acide acétique. En physiologie, cette réaction est nécessaire pour permettre aux récepteurs cholinergiques de revenir à leur état de repos après activation[3].

Cette famille d'enzymes comporte deux grandes classes :

- **Pseudo-cholinestérase (BuChE) :**

aussi connu comme la cholinestérase plasmatique, butyryl-cholinestérase, ou acylcholine acylhydrolase, se trouve principalement dans le foie. Différent de l'acétylcholinestérase, la BuChE hydrolyse la butyrylcholine plus rapidement que l'acétylcholine .

- **Acétylcholinestérase (AChE) :**

Se retrouve dans de nombreux types de tissus citons les nerfs, les muscles, les tissus centraux et périphériques, les fibres motrices et sensorielles, et cholinergique et enfin les fibres cholinergiques [4].

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, chimie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (substrat) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur, cible), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [5].

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" ou "gand-main".

Ce travail consiste à étudier les interactions entre une série de ligands contiennent 27 molécules et les deux enzymes **Acétylcholinestérase** (AChE), **Butyryl-cholinestérase** (BChE) par les méthodes de la modélisation moléculaire (MM, Semi-empirique et docking moléculaire, logiciel MOE).

Au niveau ce chapitre, nous présentons la discussion des résultats obtenus et englobé tous les résultats de calcul effectués dans ces ensemble d'approches et la discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interactions, fonction de score et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux de l'inhibiteurs.

Alors nous avons, schématisé un organigramme, ce dernier permis de donner tous les étapes de calcul qu'on a effectué au cours de ce travail :

## Résultats et discussion

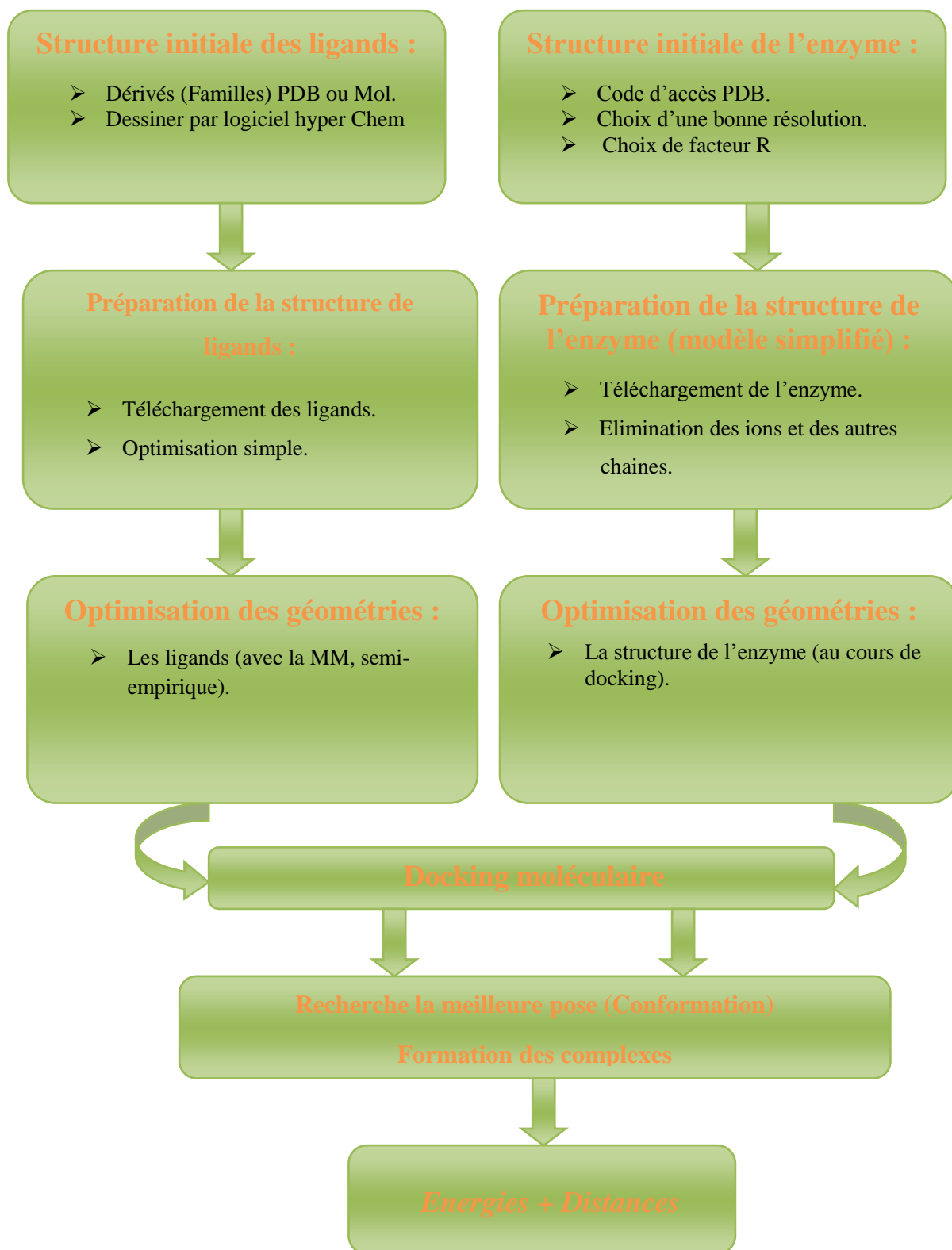


Figure III-1 : Protocole de calcul de docking moléculaire

### I.1. Préparation et optimisation du modèle

Le téléchargement de l'enzyme a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)) [6].

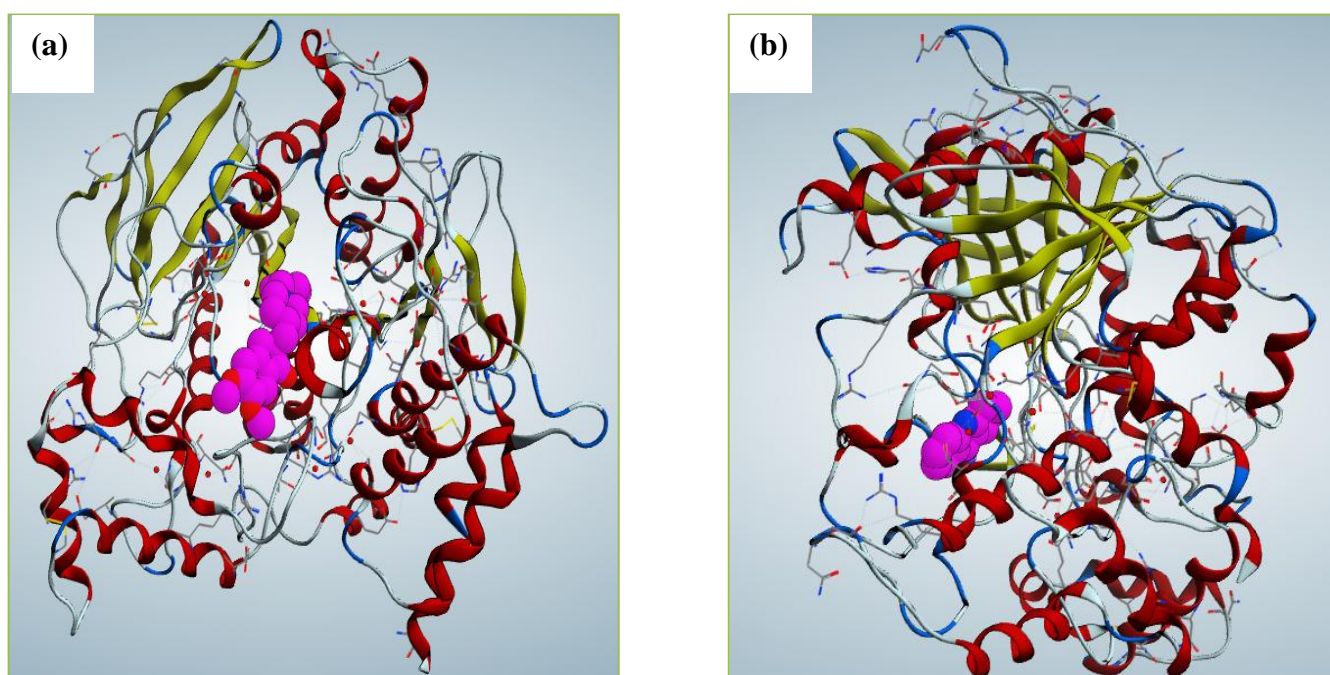
Acétylcholinestérase (AChE) (PDB ID: **1EVE**) [7]. Elle est Co-cristallisée avec l'inhibiteur Donépezil ( $C_{24}H_{29}NO_3$ : 1-benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-indanon-2-yl)méthyl]piperidine) [8].

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

Acétylcholinestérase et Butyrylcholinestérase cristallisent sous forme d'un monomère (voir figure III-1(a) et (b)), ses propriétés sont citées dans le tableau suivant :

**Tableau III-1** : Propriétés de 1EVE et 4BDS

	Nombres des résidus	Nombres des Atomes	Nombres des Atomes lourds	Nombres des liaisons	Masse molaire u.m.a
<b>1EVE</b>	534	8361	4254	8487	60238.6
<b>4BDS</b>	524	8267	4175	8388	58002.6



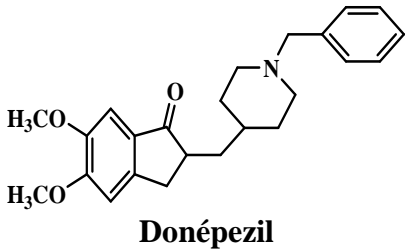
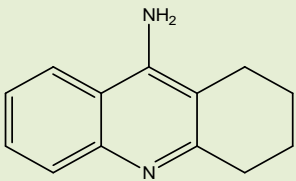
**Figure III.2** : Modèle simplifié de (a) : AChE , (b) : BuChE.

## Résultats et discussion

Les co-facteurs et les ions ont été éliminés; les ligands et la protéine ont été placés au pH physiologique; même les ligands ont été considérés comme flexibles ; et l'enzyme a été préparée comme corps rigide.

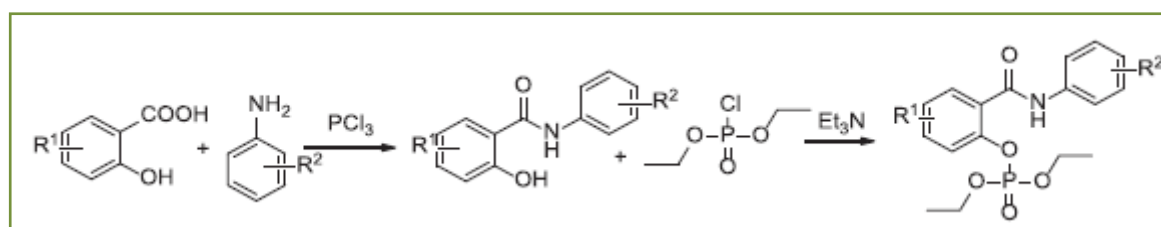
Les structures 3D de nos enzymes ont été obtenues par diffraction en rayon X. Les données de la Co-cristallisations sont regroupées dans le tableau III-2.

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

Enzyme	Inhibiteur de co-cristallisation	Classification	Polymère	Chaîne	Résolution (Å)
<b>AChE</b> (PDB ID: <b>1EVE</b> )	 <p><b>Donépezil</b></p>	Serine Hydrolase	1	A	2.50
<b>BuChE</b> (PDB ID : <b>4BDS</b> )	 <p><b>Tacrine</b></p>	Hydrolase	1	A	2.10

### I.2. Préparation des inhibiteurs

Ce sont des dérivés de diethyl [(2-phenylcarbamoyl)phenyl] phosphates. Ils sont préparés selon la réaction suivante (Tableau III-3) :





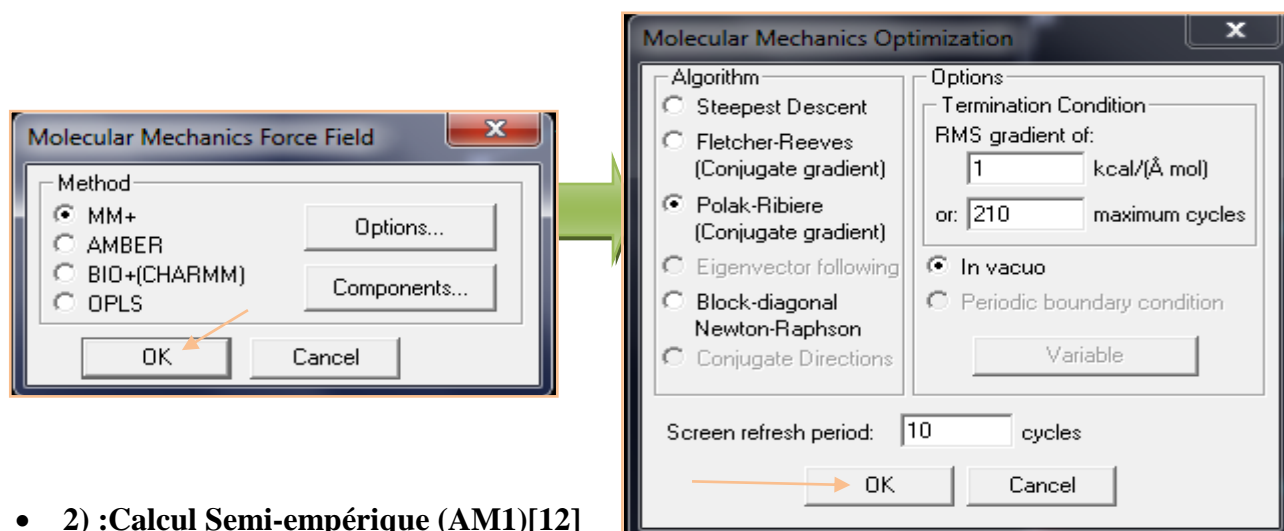
**Tableau III.3 :** Structures chimiques des ligands

Ligands	Substituents	
	R	R <sub>1</sub>
L <sub>1</sub>	4-Br	3-F
L <sub>2</sub>	4-Br	3-Cl
L <sub>3</sub>	4 -Br	4-Cl
L <sub>4</sub>	4-Br	3,4-di-Cl
L <sub>5</sub>	4-Br	3-CF <sub>3</sub>
L <sub>6</sub>	4-Br	4-CF <sub>3</sub>
L <sub>7</sub>	4-Br	3-Br
L <sub>8</sub>	4-Br	4-Br
L <sub>9</sub>	4-Br	4-F
L <sub>10</sub>	4-Cl	3-Cl
L <sub>11</sub>	4-Cl	4-Cl
L <sub>12</sub>	4-Cl	3-F
L <sub>13</sub>	4-Cl	4-F
L <sub>14</sub>	4-Cl	4-Br
L <sub>15</sub>	4-Cl	3,4-di-Cl
L <sub>16</sub>	4-Cl	3-Br
L <sub>17</sub>	4-Cl	3-CF <sub>3</sub>
L <sub>18</sub>	4-Cl	4-CF <sub>3</sub>
L <sub>19</sub>	5-Cl	3-Cl
L <sub>20</sub>	5-Cl	3-Br
L <sub>21</sub>	5-Cl	3-F
L <sub>22</sub>	5-Cl	4-F
L <sub>23</sub>	5-Cl	4-Br
L <sub>24</sub>	5-Cl	4-Cl
L <sub>25</sub>	5-Cl	3,4-di-Cl
L <sub>26</sub>	5-Cl	3-CF <sub>3</sub>
L <sub>27</sub>	5-Cl	4-CF <sub>3</sub>

Les inhibiteurs sont optimisés à l'aide le programme Hyperchem 7.0 USA, <http://www.hyper.com> [11] (Mécanique Moléculaire), le champ de force utilisé est (MM+), suivi par un autre calcul basé sur la méthode semi-empirique AM1.

Les calculs sont effectués par les étapes suivantes :

- 1) : Calcul de mécanique moléculaire (MM+)



- 2) : Calcul Semi-empérique (AM1)[12]

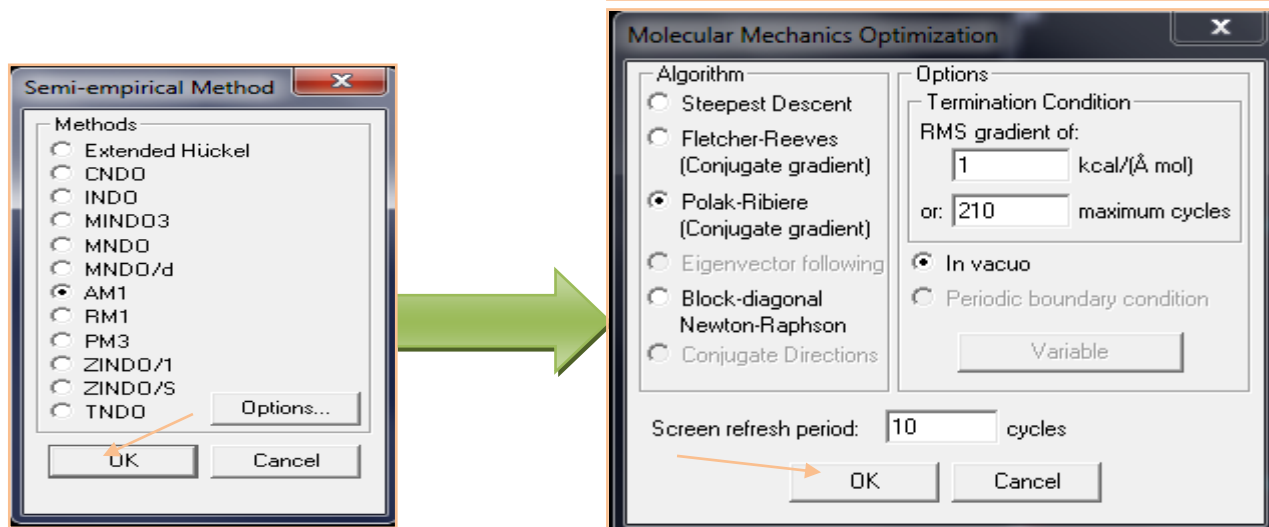


Figure III.3 : Etapes de calcul à l'aide logiciels HyperChem7.

Les calculs effectués à l'aide des deux logiciels HyperChem7 et MOE2014 donnent les différentes propriétés suivantes :

**Tableau III.4:** Propriétés QSAR des ligands L<sub>1</sub>-L<sub>27</sub>

Ligands	MOE2014			HyperChem7					
	Tox	Log s	SAG A <sup>o2</sup>	Vol A <sup>o3</sup>	HE Kcal/mol	Log p	Ref A <sup>o3</sup>	Pol A <sup>o3</sup>	MM u.m.a
L <sub>1</sub>	no	-5,58	624,3	1062,22	-7,62	0,44	107,15	36,11	446,21
L <sub>2</sub>	no	-6,02	642,4	1094,38	-7,47	0,82	111,74	38,13	462,66
L <sub>3</sub>	no	-6,02	647,08	1098,42	-7,74	0,82	111,74	38,13	462,66
L <sub>4</sub>	no	-6,75	663,35	1134,99	-7,42	0,6	116,45	40,06	497,11
L <sub>5</sub>	no	-6,34	654,04	1128,14	-7,40	1,61	112,24	37,76	496,22
L <sub>6</sub>	no	-6,34	666,68	1133,00	-7,57	1,61	112,24	37,76	496,22
L <sub>7</sub>	no	-6,37	650,21	1112,98	-7,68	1,09	114,55	38,83	507,12
L <sub>8</sub>	no	-6,37	660,26	1118,40	-7,78	1,09	114,55	38,83	507,12
L <sub>9</sub>	no	-5,58	629,55	1064,90	-7,83	0,44	107,15	36,11	446,21
L <sub>10</sub>	no	-5,66	632,80	1077,15	-7,77	0,54	108,92	37,43	418,21
L <sub>11</sub>	no	-5,66	639,12	1078,48	-7,79	0,54	108,92	37,43	418,21
L <sub>12</sub>	no	-5,22	617,12	1043,51	-7,67	0,17	104,33	35,41	401,76
L <sub>13</sub>	no	-5,22	617,99	1042,69	-7,53	0,17	104,33	35,41	401,76
L <sub>14</sub>	no	-6,02	640,76	1091,82	-7,66	0,82	111,74	38,13	462,66
L <sub>15</sub>	no	-6,40	646,83	1109,07	-7,37	0,32	113,64	39,36	452,66
L <sub>16</sub>	no	-6,02	638,6	1094,73	-7,77	0,82	111,74	38,13	462,66
L <sub>17</sub>	no	-5,98	647,16	1106,06	-7,39	1,34	109,42	37,06	451,77
L <sub>18</sub>	no	-5,92	655,23	1113,21	-7,59	1,34	109,42	37,06	451,77
L <sub>19</sub>	no	-5,66	627,29	1075,39	-7,72	0,54	108,92	37,43	418,21
L <sub>20</sub>	no	-6,02	638,86	1093,59	-7,67	0,82	111,74	38,13	462,66

<b>L<sub>21</sub></b>	no	-5.22	614.45	1044.67	-7.80	0.17	104.33	35.41	401.76
<b>L<sub>22</sub></b>	no	-5.22	617.27	1044.96	-7.77	0.17	104.33	35.41	401.76
<b>L<sub>23</sub></b>	no	-6.02	643.94	1097.92	-7.75	0.82	111.74	38.13	462.66
<b>L<sub>24</sub></b>	no	-5.66	635.45	1076.91	-7.71	0.54	108.92	37.43	418.21
<b>L<sub>25</sub></b>	no	-6.40	652.56	1114.85	-7.46	0.32	113.64	39.36	452.66
<b>L<sub>26</sub></b>	no	-5.98	635.15	1101.98	-6.62	1.34	109.42	37.06	451.77
<b>L<sub>27</sub></b>	no	-5.98	671,99	1120,43	-7,34	1,34	109,42	37,06	451,77
<b>Done</b>	no	-4.23	681.39	1181.35	-10.20	1.31	119.39	43.28	393.51
<b>Tac</b>	no	-2.78	391.3	630.54	-4.15	6.33	66.67	23.82	198.27

**Tox** : toxicité, **SAG** : surface area grille, **Vol** : Volume, **HE** : Energie d'hydratation, **Ref** : Réfractivité, **Pol** : Polarisabilité, **MM** : Masse Molaire.

On peut noter à l'aide de tableau ci-dessus et après l'observation des résultats :

- Tous les ligands sont non toxique donc on peut dire qu'ils sont validées pour devenir des médicaments.
- Le classement des ligands selon leurs volumes est donné par l'ordre suivant :

$$L_{17}=1106,06 \text{ \AA}^3 < L_{18}= 11013.21 \text{ \AA}^3 < L_5=1128,14 \text{ \AA}^3$$

## II. Docking moléculaire

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

Donc le Docking est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable [13].

Le plus important problème pour l'étape de Docking moléculaire est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique et déterministe [14].

Le programme MOE a été utilisé pour notre étude car :

1<sup>ère</sup> : il est facile à manipuler.

2<sup>ème</sup> : il a prouvé son efficacité dans plusieurs études, on peut citer quelque exemple des travaux :

Eman K.A. Abdelall et *al* [15], Matteo Aldeghi et *al* [16], Sarah T. A. Al-Rashood et *al* [17].

Khac-Minh Thai et *al* [18], Somaia S. Abd El-Karim et *al* [19], Sheng Liu et *al* [20]. Tamer Nasr et *al* [21], Jiansong Fang et *al* [22], Sally S. El-Nakkady et *al* [23]. I. daoud et *al* [24].

## **II.1.Procédure d'un calcul de Docking Moléculaire**

### **II.1.1. Principes**

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

### **II.1.2. Structure de la macromolécule (enzyme)**

#### **II.1.2.1. sources**

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

On l'obtient grâce à trois méthodes : Diffraction des rayons X, RMN ou Modélisation par homologie.

Nous avons choisi la première méthode parce qu'elle possède une excellente précision par rapport aux autres méthodes.

**II.1.2.2. Traitement de la structure 3D du récepteur**

Suite aux imperfections qui existent sur la structure on peut trouver : les ions, les molécules d’eaux, détergents, glycols, et les anticorps, donc il faudra nettoyer l’enzyme pour simplifier et faciliter le démarche de Docking moléculaire (prend pas beaucoup du temps).

*a.Site d'interaction*

*Où est le site d'interaction?*

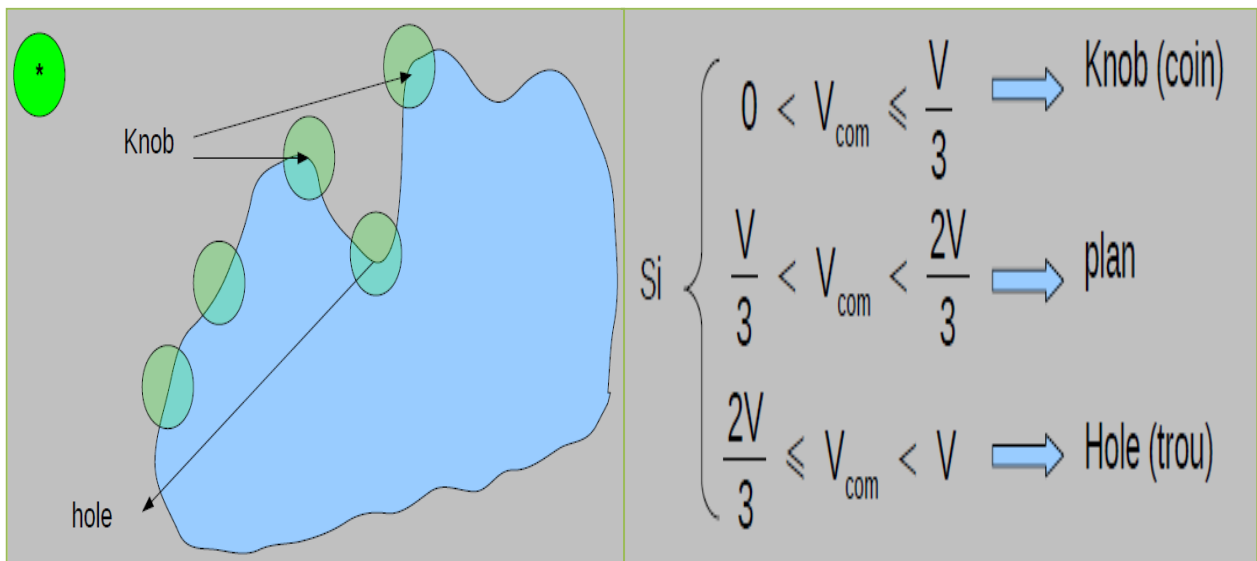
On utilise la méthode de détection de cavité "knob & hole".

*b.Principe*

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

→ On fait "rouler" la sphère sur la surface moléculaire.

On calcule le volume commun de la sphère appartenant également à la protéine :  $V_{com}$ .



**Figure III-4 : Méthode de détection de cavité knob & hole [25].**

### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Structure du ligand

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

La principale préoccupation de l'opération de docking est de prendre en compte la flexibilité des deux entités. Tout algorithme de docking requiert en amont une recherche conformationnelle la plus exhaustive possible de la molécule organique. La génération et le choix de l'ensemble de conformères peuvent être effectués de plusieurs manières. Lorsque l'on considère deux vecteurs A et B dans l'espace, ils peuvent subir translations et rotations dans les trois dimensions. Lorsque le nombre de liaisons simples (surtout de type acyclique) croît, le nombre théoriquement envisageable de conformations pour une molécule organique augmente.

Une recherche conformationnelle exhaustive est donc impossible. Plus le degré de liberté de l'entité chimique augmente, plus l'espace conformationnel s'accroît et plus l'approximation est importante. Par conséquent, il est raisonnable de travailler en présence de molécules dont le degré de liberté (nombre d'atomes et de liaisons sujettes à la rotation) est limité. Cette limite sera fixée en fonction de la puissance de calcul disponible.

Lors de l'interaction la flexibilité du ligand (souvent) et de la protéine cible (rarement) est engagée.

Le ligand a trop de degré de liberté pour être pris en compte directement dans un algorithme d'optimisation.

Les calculs effectués à l'aide de logiciel MVD (Molegro Virtuel Docker) donnent les différentes propriétés suivantes :

**Tableau III.5 : Quelques propriétés des ligands étudiés**

Ligands	E Kcal/mol	Nbr des atomes	NBR des atomes lourd	Nbr des liaisons	MM u.m.a	Angle de torsion
L1	-119970.25	44	26	45	446.205	8 (out of 8)
L2	-117404.04	44	26	45	462.659	8 (out of 8)
L3	-117404.48	44	26	45	462.659	8 (out of 8)
L4	-125706.76	44	27	45	497.104	8 (out of 8)
L5	-145320.35	47	29	48	496.212	9 (out of 9)
L6	-145321.12	47	29	48	496.212	9 (out of 9)
L7	-116931.45	44	26	45	507.11	8 (out of 8)
L8	-116931.64	44	26	45	507.11	8 (out of 8)
L9	-119970.93	44	26	45	446.205	8 (out of 8)
L10	-117876.42	44	26	45	418.208	8 (out of 8)
L11	-117876.52	44	26	45	418.208	8 (out of 8)
L12	-120442.64	44	26	45	401.754	8 (out of 8)
L13	-120443.85	44	26	45	401.754	8 (out of 8)
L14	-117405.45	44	26	45	462.659	8 (out of 8)
L15	-126180.42	44	27	45	452.653	8 (out of 8)
L16	-117403.74	44	26	45	462.659	8 (out of 8)
L17	-145793.35	47	29	48	451.761	9 (out of 9)
L18	-145792.87	47	29	48	451.761	9 (out of 9)
L19	-117876.75	44	26	45	418.208	8 (out of 8)
L20	-117403.96	44	26	45	462.659	8 (out of 8)
L21	-120443.57	44	26	45	401.754	8 (out of 8)
L22	-120443.95	44	26	45	401.754	8 (out of 8)
L23	-117404.34	44	26	45	462.659	8 (out of 8)
L24	-117877.36	44	26	45	418.208	8 (out of 8)
L25	-126179.02	44	27	45	452.653	8 (out of 8)
L26	-145788.26	47	29	48	451.761	9 (out of 9)
L27	-145790,01	47	29	48	451.761	9 (out of 9)
donepezil	-106998,30	57	28	60	397.492	6(out of 6)
Tacrine	-52380.41	29	15	31	198.264	0 (out of 0)

- Parmi ces ligands on remarque que le : L<sub>17</sub>, L<sub>18</sub>, L<sub>27</sub>, L<sub>26</sub>, L<sub>6</sub> et L<sub>5</sub> (colorés en rouge) possèdent les plus petites énergies par rapport aux autres ligands, ceci justifier que ces ligands sont plus stables.



- On peut les classer selon l'ordre suivant :

$$L_{17} < L_{18} < L_{27} < L_{26} < L_6 < L_5$$

- Les ligands  $L_5$ ,  $L_6$ , et  $L_{17}$ ,  $L_{18}$ ,  $L_{26}$  et  $L_{27}$  ont un degré de liberté important, ils sont plus flexibles par rapport aux autres ligands même par rapport aux ligands Co-cristallisés (voir le nombre des angles de torsions), ils peuvent former des complexes plus stables par rapport aux autres complexes.
- Le nombre élevé de degré de liberté dépend de l'augmentation de nombre de liaisons.

### III.2. Interaction : Enzyme -Ligands

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

Les enzymes sont constituées de plusieurs sites actifs. Le logiciel MOE 2014 [26] nous a permis d'identifier et présenter les résidus qui forment les sites actifs (les cavités) en utilisant le module «Site Finder».

#### a. Interaction : AChE –Ligands

On donne les propriétés des cavités détectées par MOE dans le tableau III-6.

**Tableau III-6** : Différentes cavités détectées par MOE de AChE

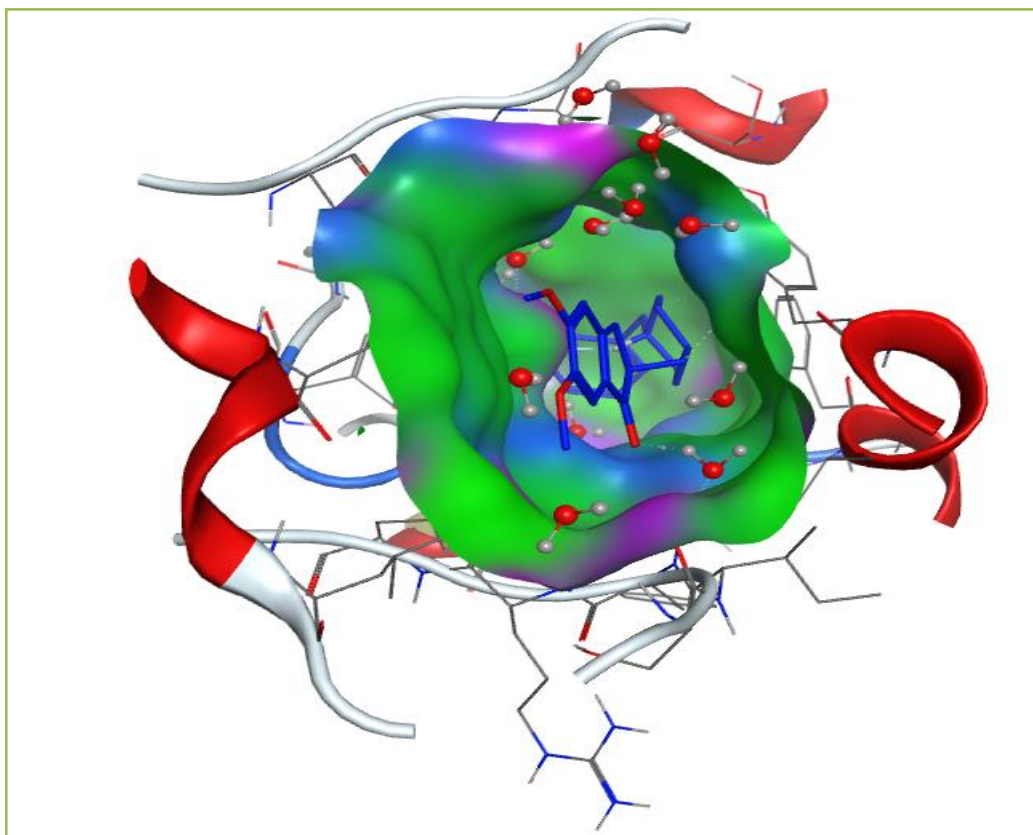
Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	153	3.88	55	89	1:(GLN69 TYR70 VAL71 ASP72 SER81 TRP84 ASN85 PRO86 GLY117 GLY118 GLY119 TYR121 SER122 TYR130 GLU199 SER200 ALA201 TRP233 TRP279 LEU282 SER286 ILE287 PHE288 ARG289 PHE290 PHE330 PHE331 TYR334 GLY335 HIS440 GLY441)
2	60	0.93	22	40	1:(PRO232 TRP233 ALA234 SER235 VAL236 SER237 GLU240 ARG244 LEU282 PRO283 PHE284 SER286 ARG289 PHE290 VAL293 PRO361 HIS362)
3	42	0.52	22	37	1:(SER79 GLY80 MET83 VAL129 ALA427 ASN429 LEU430 VAL431 TYR442 GLU445 LEU450 LEU456)

					TYR458)
<b>4</b>	35	0.31	15	25	1:(ARG349 PHE352 TYR375 THR376 ASP377 ASP380 ASP381 ASN382 ASN383 LYS386 ASN387 ASP389 GLY390 ASP393)
<b>5</b>	27	0.09	9	20	1:(LEU31 GLY32 TRP58 ASN59 ALA60 SER61 THR62 TYR63 PRO64 ASN65 ASP93 TYR96)
<b>6</b>	35	0.03	15	37	1:(ARG468 HIS471 TYR472 PRO482 ASN483 GLU484 SER487 GLU489 SER490 LYS491 PRO509 MET510)
<b>7</b>	48	0.01	13	33	1:(ASN230 PRO232 GLU306 HIS362 ASP397 HIS398 CYS402 PRO403 HIS406 TRP524 ASN525 PRO529)
<b>8</b>	43	-0.04	12	28	1:(MET405 HIS406 ASN409 LYS410 GLN500 ARG515 LEU516 VAL518 CYS521 VAL522 ASN525 GLN526)
<b>9</b>	19	-0.2	10	19	1:(PHE422 ASN424 PHE502 ASP504 HIS513 GLN514 ARG515 LEU516 ARG517)
<b>10</b>	15	-0.2	4	48	1:(HIS181 PRO191 LYS192 THR193 VAL194 ASP217 LEU218 PHE219 ARG220 LYS315)
<b>11</b>	27	-0.28	18	29	:(ARG349 MET353 VAL356 LYS357 LEU368 ASP369 THR372 LEU373 TRP378)
<b>12</b>	24	-0.28	8	22	1:(SER108 THR109 THR110 GLU139 GLU140 VAL141 HIS471 ALA474 THR475 LYS478 GLU484)
<b>13</b>	20	-0.29	16	22	1:(PRO39 CYS67 GLN68 SER91 GLU92 CYS94 ARG149 VAL150 PHE153)
<b>14</b>	18	-0.30	8	17	1:(ACE1 ASP2 HIS3 SER4 GLU5 LEU7 VAL8 ASN9 LYS14 ARG105)
<b>15</b>	25	-0.43	5	10	1:(THR412 GLY415 ASN416 GLY417 THR418 LEU494 PHE495 THR496)
<b>16</b>	13	-0.44	5	20	1:(LYS325 ASP326 ARG388 ASP389 ASP392 ASP393 TRP435)
<b>17</b>	12	-0.49	7	21	1:(ASN324 LYS325 ASP326 ASP393 ASP397 ILE401 PHE422 ARG517)
<b>18</b>	10	-0.74	2	4	1:(PRO229 ASN230 CYS231 PRO232 ALA234 SER235

Résultats et discussion

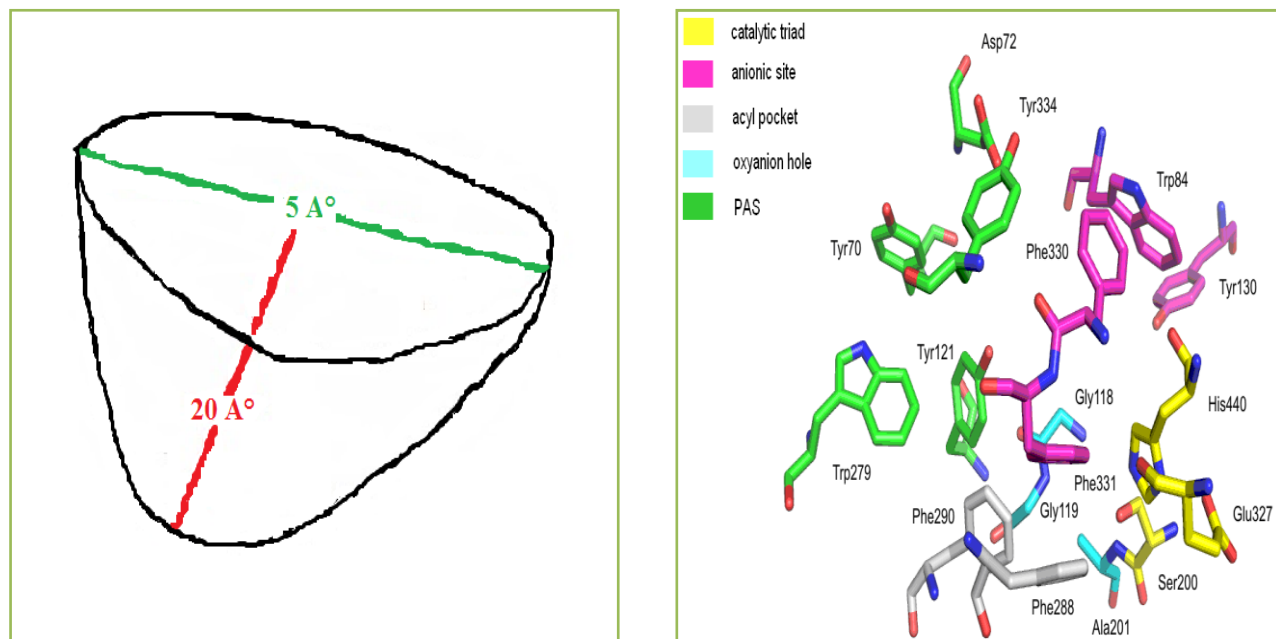
					LEU305)
19	10	-0.95	5	9	1:(ASP285 PRO337 SER354 LYS357 LEU358)
20	9	-1.08	6	9	1:(TRP58 ASN59)

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



**Figure III.5 :** Modèle simplifié et la cavité choisie de l'AChE.

Marek Bajda et *al* [27] ont confirmé ce choix de cavité 1 et nous a donné quelques informations concernant le site actif de 1EVE et les résidus qui interviennent à la formation de complexe (figure III-6).



**Figure III-6** : Cavite enzymatique et les résidus du site actif de l'AChE.

La cavité 1 a été choisie (Voir la figure III-5 et Tableau III-6) pour faire notre calcul de docking car elle possède :

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

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif, dans notre cas, la poche enzymatique possède une largeur de 5 Å et une profondeur de 20 Å (Voir figure III-6).

Les énergies de score et les distances des interactions pour les différents complexes sont reportées dans le tableau III-7.

**Tableau III-7 :** S-score, IC<sub>50</sub> et les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands .

Ligands	IC <sub>50</sub> value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liaison entre atomes de ligands et residues de site actif				
			Atome de ligand	Atome ampliquee dans l'AA	résidus	Type de liaison	Distance (Å)
L1	69,8±3,4	-5,130	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3,85
L2	79,9±0,3	-5,903	O8	O	HOH 1255	H-acceptor	2,99
L3	45,5±1,2	-6,430	O8	O	HOH 1255	H-acceptor	2,78
L4	55,2±0,3	-6,478	O8	O	HOH 1255	H-acceptor	2,85
L5	46,1±1,9	-6,401	O11	O	HOH 1249	H-acceptor	3,00
L6	56,7±0,9	-5,512	/	/	/	/	/
L7	70,3±1,7	-6,550	/	/	/	/	/
L8	50,8±1,2	-6,290	/	/	/	/	/
L9	53,7±0,4	-6,135	O8	O	HOH 1255	H-acceptor	2,86
L10	64,3±2,6	-6,582	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3,89
L11	60,9±4,4	-6,224	O8	O	HOH 1255	H-acceptor	2,99
L12	61,1±2,1	-5,850	6-ring	6-ring	TRP279	pi-pi	3,81
L13	48,5±0,3	-7,025	C17	OD2	ASP72	H-donor	3,37
L14	59,2±0,7	-6,186	/	/	/	/	/
L15	80,9±2,2	-6,445	Cl 42	OD2	ASP 72	H-donor	3,17
L16	63,3±4,3	-5,978	/	/	/	/	/
L17	51,5±1,8	-5,792	N12	O	HOH 1249	H-donor	3,07
L18	41,6±0,3	-5,955	6-ring	6-ring	Trp 279	pi-pi	3,88
L19	41,1±0,5	-6,804	/	/	/	/	/
L20	35,4±0,5	-6,751	/	/	/	/	/
L21	60,2±3,5	-6,877	O15	O	HOH 1255	H-acceptor	2,67
L22	80,8±5,9	-6,443	/	/	/	/	/

<b>L23</b>	55,1±0,5	-6,549	O15	O	HOH 1255	H-acceptor	2,62
<b>L24</b>	60,9±0,8	-6,509	/	/	/	/	/
<b>L25</b>	45,5±4,4	-6,950	/	/	/	/	/
<b>L26</b>	71,9±7,2	-6,503	/	/	/	/	/
<b>L27</b>	86,3±4,9	-6,145	/	/	/	/	/
<b>Donepezil</b>	0.0057	-10,884	N14	O	HOH 1159	H-donor	2,90
			O24	O	HOH 1254	H-acceptor	2,68
			C16	6-ring	TYR334	H-pi	4,22
			6-ring	6-ring	Trp 84	pi-pi	3,88

Les résultats obtenus montrent que les ligands **L<sub>13</sub>**, **L<sub>25</sub>**, **L<sub>21</sub>**, **L<sub>19</sub>** et **L<sub>20</sub>** formant des complexes possèdent les plus petites énergies Score par rapport aux autres complexes, ceci montre que ces complexes sont plus stables.

On peut les classer selon l'ordre suivant :

$$1\text{EVE-L}_{13} < 1\text{EVE-L}_{25} < 1\text{EVE-L}_{21} < 1\text{EVE-L}_{19} < 1\text{EVE-L}_{20}$$

On remarque aussi que le **L<sub>13</sub>** a un volume plus petit par rapport aux **L<sub>25</sub>**, **L<sub>21</sub>**, **L<sub>19</sub>** et le **L<sub>20</sub>** même par rapport au ligand de référence (Donepezil).

D'autre par, si on parle des ligands : **L<sub>13</sub>** (IC<sub>50</sub> =48,5) , **L<sub>25</sub>** (IC<sub>50</sub> =45,5) , **L<sub>21</sub>** (IC<sub>50</sub> =60,2) ,

**L<sub>19</sub>**(IC<sub>50</sub> =41.4) **L<sub>20</sub>** (IC<sub>50</sub> =35,4) on peut voir qui ont des faibles valeurs de IC<sub>50</sub> mais avec des valeurs légèrement élevées de l'énergie de Score par rapport au ligand Co-cristallisé dans AChE (**L<sub>réf</sub>**).

Résultats et discussion

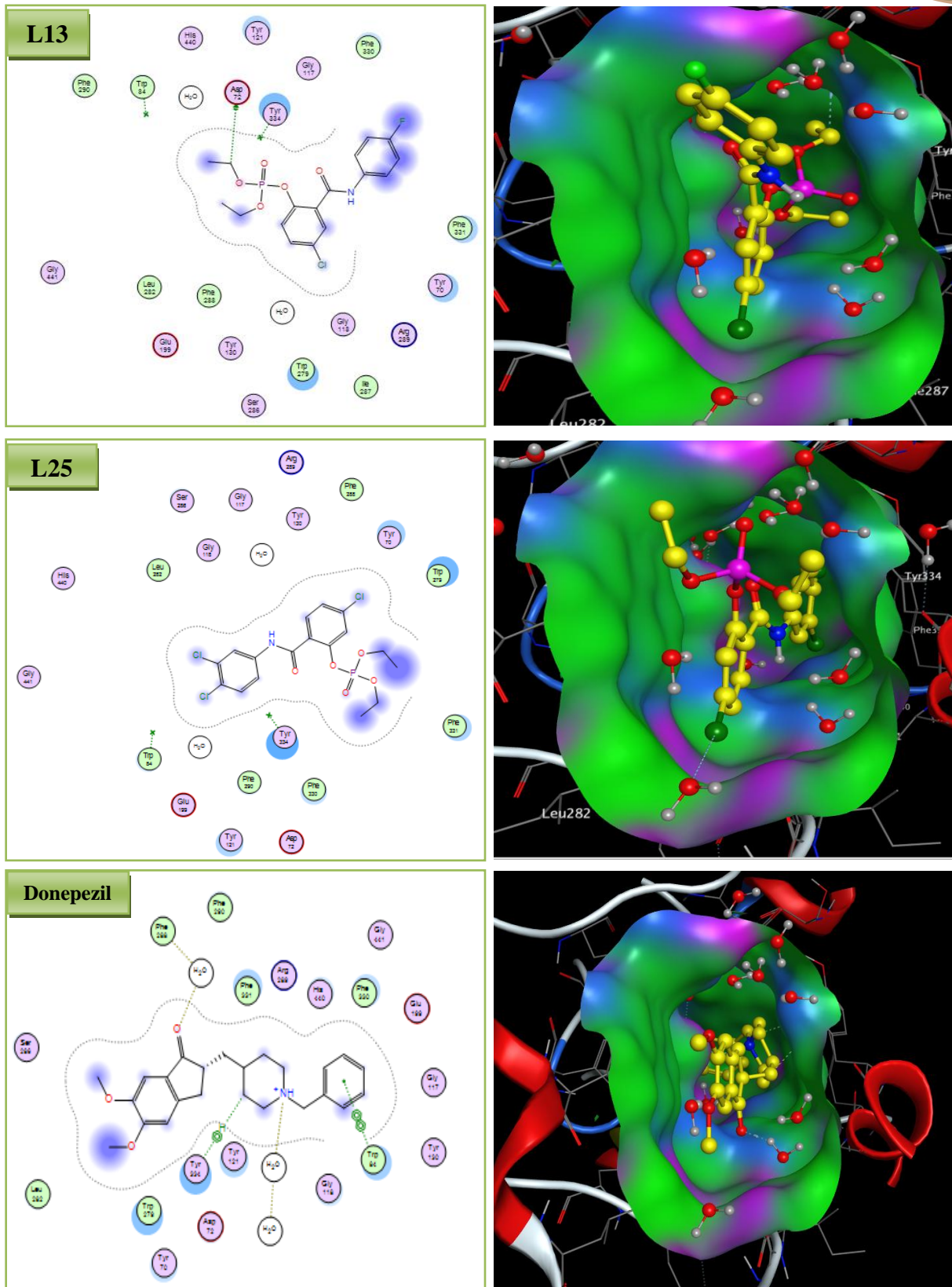
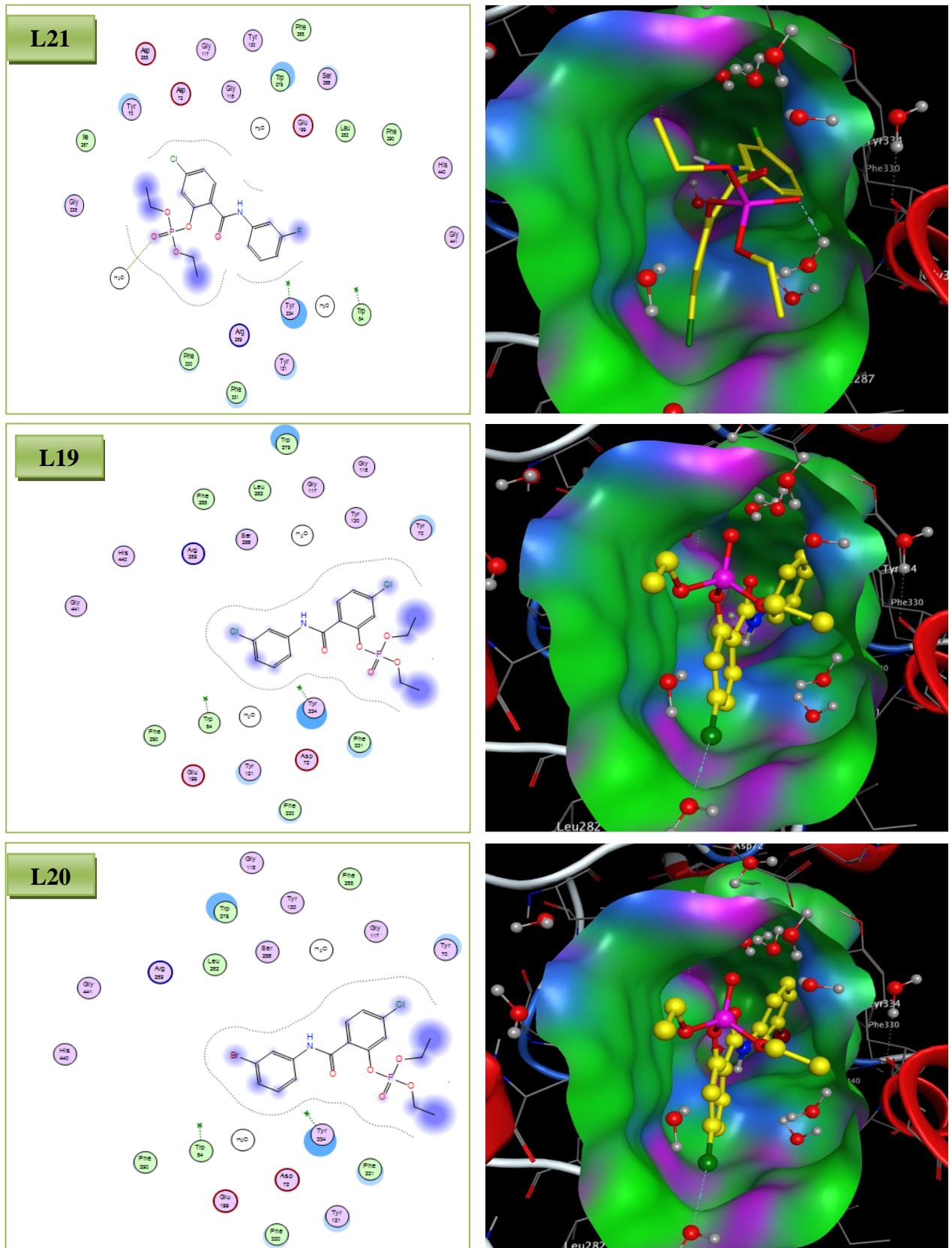


Figure III-7 : interaction entre les ligands (L<sub>13</sub> et L<sub>25</sub>), et les résidus de site actif de AChE .



**Figure III-8:** interaction entre les ligands (L<sub>21</sub> et L<sub>19</sub> et L<sub>20</sub>) et les résidus de site actif de AChE.



D'après A. Imberty et al [28]. Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55Å sont faibles.

Le complexe de ligand L<sub>13</sub> a une faible énergie de Score (-7,025 Kcal/mol) et maintenu par une seule interaction de type H-donneur moyenne (entre l'atome C17 et le résidu ASP72), avec une distance de 3,37 Å,

Ce ligand (L13) possède une valeur moyenne de IC<sub>50</sub>=48,8 ce qui suggère qu'il peut inhiber l'enzyme 1EVE(Voir le tableau III-7 et Figure III-7). On observe aussi que le complexe formé par ligand L<sub>25</sub> a une faible énergie de Score (-6,950Kcal/mol) mais il n'établit aucune interaction, par contre il possède une valeur faible de IC<sub>50</sub>=45,5 ce qui est proposé peut être comme un deuxième inhibiteur de l'enzyme 1EVE(Voir le tableau III-7 et Figure III-7).

Les inhibiteurs L<sub>21</sub> (-6,877 Kcal/mol) , L<sub>19</sub> (-6,804 Kcal/mol), L<sub>20</sub> (-6,751 Kcal/mol) ont des valeurs légèrement faibles d'énergie score, ceci confirme que ces ligands forment des complexes moins stables que les complexes des ligands précédents(Voir le tableau III-7 et Figure III-8).

### *b. Interaction : BuChE -Ligands*

On donne les propriétés des cavités détectées par MOE dans le tableau III-8.

**Tableau III-8:** Différentes cavités détectées par MOE de BuChE.

Site	Size <sup>a</sup>	PLB <sup>b</sup>	Hyd <sup>c</sup>	Side <sup>d</sup>	Residues
<b>1</b>	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)
<b>2</b>	131	1.45	35	59	1:(PRO230 TRP231 VAL233 THR234 GLU238 ARG242 VAL280 PRO281 TYR282 GLY283 THR284 LEU286 SER287 VAL288 ASN289 PHE357 PHE358 PRO359 GLY360 VAL361 TYR396 ASN397)

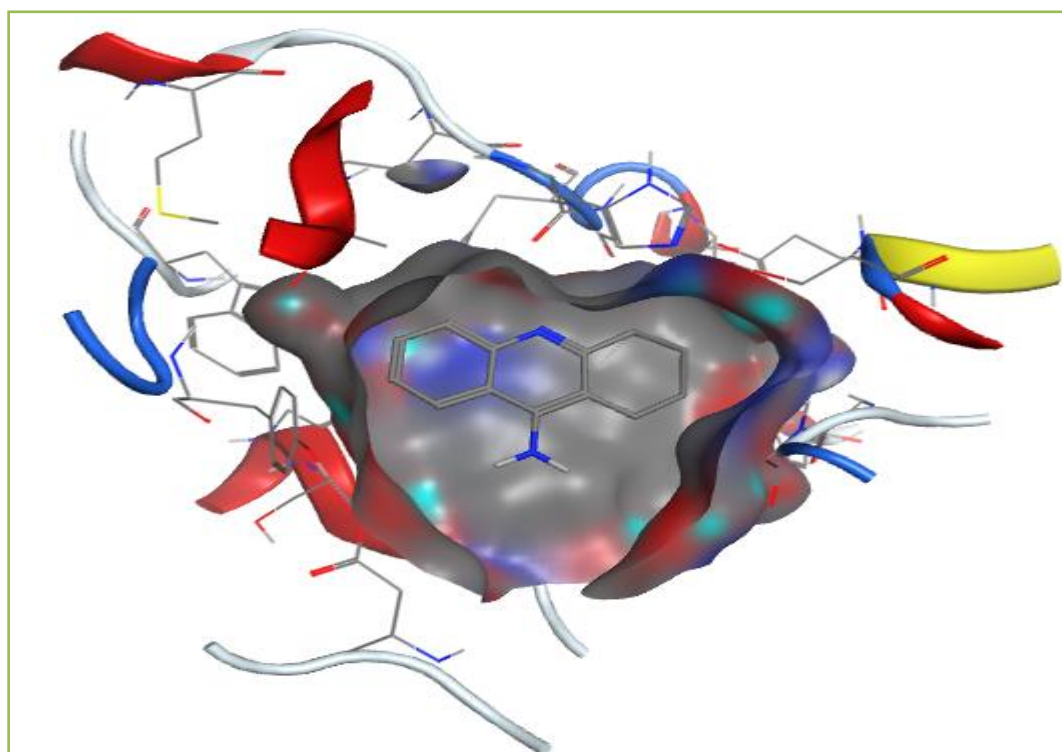
3	40	0.54	13	33	1:(HIS77 MET81 HIS126 VAL127 SER425 LYS427 LEU428 PRO429 TYR440 GLU443 LEU448 ASP454 TYR456)
4	30	0.50	7	23	1:(GLY30 TYR61 ALA62 ASN63 SER64 THR86 TYR94 LEU95 ASN96 THR122 SER123 SER124 SER143 MET144 ASN145)
5	70	0.45	25	36	1:(ASN228 ALA229 PRO230 ASP304 ILE305 GLU308 ASP395 TYR396 CYS400 PRO401 GLU404 TRP522 THR523 PHE526 PRO527)
6	32	0.03	9	14	1:(PHE227 ASN228 ALA229 PRO230 TRP231 ALA232 VAL233 SER235 MET302 PRO303 ASP304)
7	36	0.00	11	29	1:(LYS323 ASP324 THR327 ARG386 GLU387 GLY390 ASP391 TYR420 TRP433 MET434 GLY435 ARG515)
8	30	-0.05	21	28	1:(ACE3 ILE4 ILE6 GLN17 THR24 THR26 PHE28 ILE99 PRO100 ALA101 PRO102 LYS103 PHE185)
9	15	-0.16	9	12	1:(PRO449 LEU450 GLU451 ARG452 ARG453 ASP454 GLN455 TYR456 THR457 LYS458 GLU461)
10	16	-0.22	10	18	1:(ASN10 TYR33 SER48 LEU49 LEU173 GLN176 TRP177 LYS180)
11	17	-0.24	7	14	1:(GLN67 ASN68 ILE69 ASP70 TRP82 ASN83 PRO84 THR120 GLY121)
12	13	-0.25	7	12	1:(TYR373 TRP376 ARG381 ASN384 GLU387 ALA388 ASP391)
13	15	-0.31	8	14	1:(GLN179 PRO189 LYS190 SER191 VAL192 HIS214 SER215 LEU216 PHE217 THR218 LYS313)
14	24	-0.32	8	15	1:(GLN179 PRO189 LYS190 SER191 VAL192 HIS214 SER215 LEU216 PHE217 THR218 LYS313)
15	10	-0.41	7	10	1:(ALA459 ILE462 LEU463 SER466 ASN504 THR505 GLU506 SER507 THR508)
16	16	-0.50	9	14	1:(SER368 PHE371 HIS372 PHE521 PHE525)
17	10	-0.51	9	21	1:(CYS66 LEU88 SER89 GLU90 ASP268 PRO269 GLN270 LEU273)

Résultats et discussion

18	15	-0.57	7	5	1:(GLY23 THR24 VAL25 PRO100 ALA101 ALA134 ARG135 ARG138)
19	25	-0.63	16	22	1:(GLN351 LEU354 LYS355 GLU363 LYS366 GLU367 LEU370)
20	9	-0.63	4	10	1:(LYS407 ALA516 CYS519 ARG520 THR523 SER524)
21	12	-0.66	7	16	1:(HIS372 TYR373 ASP375 GLN517 GLN518)
22	7	-0.74	1	11	1:(SER466 ARG470 SER487 THR488 THR508)
23	11	-0.81	5	14	1:(THR19 VAL20 PHE21 GLY22 GLU451 ARG452 ARG453)

**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.

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



**Figure III.9:** Modèle simplifié et la cavité choisie de BuChE.

Résultats et discussion

D'après la littérature [28] on remarque que les résidus de site actif sont ressemblé aux résidus de site actif détecté par MOE, dans ce cas la cavité 1 sélectionnée pour notre étude (figure III-10).



**Figure III-10:** Cavité enzymatique et les résidus du site actif de l'BuChE.

La cavité 1 a été choisi (Voir la figure III-9 et Tableau III-8) pour faire notre calcul de docking car elle possède :

4. Le ligand qui Co-cristallisé de BuChE (Tacrine) .
5. Un volume important par rapport autres cavités.
6. Les mêmes résidus de site actif de littérature.

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif, dans notre cas, la poche enzymatique possède une largeur de 300 Å et une profondeur de 500 Å (Voir figure III-10).

Les énergies de score et les distances des interactions pour les différents complexes sont reportées dans le tableau III-9.

**Tableau III-9:** S-score, IC<sub>50</sub> et les interactions entre les résidus du site actif de BuChE et les atomes des ligands

Ligands	IC <sub>50</sub> value (μM)	S-score (kcal/mol)	Liaison entre atomes de ligands et résidues de site actif				
			Atom de ligand	Involved receptor atoms	residues	Type de liaison	Distance (Å)
L1	68,3±3,7	-7,998	Br 26	OH	TYR 128	H-don	3,66
			O8	O	HOH2092	H-Acc	2,77
			C6	6-ring	TRP82	H-pi	3,73
L2	24,4±3,3	-8,913	N9	NE2	HIT438	H-don	3,72
			Br26	OH	TYR 128	H-don	3,58
			Cl42	O	SER 287	H-don	2,94
			O8	O	HOH2092	H-Acc	3,13
L3	19,9±0,8	-8,126	C24	5-ring	TRP231	H-pi	3,82
			O14	CA	GLY117	H-Acc	3,40
			C1	6-ring	TYR332	H-pi	4,15
L4	49,6±1,5	-9,325	6-ring	CB	ALA328	Pi-H	4,06
			O8	O	HOH2092	H-Acc	2,74
L5	14,3±3,7	-7,870	/	/	/	/	/
L6	10,3±0,1	-7,989	/	/	/	/	/
L7	18,0±0,0	-8,502	6-ring	CE1	PHE329	Pi-H	4,12
			N9	NE2	HIT438	H-don	3,57
			Br26	OH	TYR128	H-don	3,53
			Br42	O	SER287	H-don	2,98
L8	13,0±1,7	-8,844	C24	5-ring	TRP231	H-pi	3,82
			/	/	/	/	/
			C22	5-ring	TRP231	H-pi	3,80
L9	22,7±1,1	-8,353	/	/	/	/	/
			N9	NE2	HIS438	H-don	3,71
			Cl26	OE1	GLU197	H-don	3,25
			Cl42	O	SER287	H-don	2,95
L10	28,1±2,5	-8,886	C24	5-ring	TRP231	H-pi	3,75
			O8	O	HOH2092	H-Acc	2,86
			O8	6-ring	HOH2092	H-Acc	2,91
L11	42,1±1,0	-8,555	C6	6-ring	TRP82	H-pi	3,61
			O8	O	HOH2092	H-Acc	2,82
L12	31,6±1,0	-8,584	C6	6-ring	TRP82	H-pi	3,71
			O8	O	HOH2092	H-Acc	2,82
			C22	5-ring	TRP231	H-pi	3,81
L13	20,5±0,1	-8,779	/	/	/	/	/
L14	40,2±2,4	-8,535	/	/	/	/	/
L15	40,3±4,0	-7,787	Cl42	O	SER287	H-don	2,90
L16	16,9±0,3	-8,324	N9	NE2	HIS438	H-don	3,56
			Br42	O	SER287	H-don	3,01
			O8	O	HOH2092	H-Acc	3,06
			C24	5-ring	TRP231	H-pi	3,88
L17	24,8±0,7	-7,012	O17	O	HOH-2092	H-Acc	2,72
L18	20,9±1,1	-7,346	/	/	/	/	/
L19	3,68±0,1	-7,912	Cl43	O	SER287	H-don	3,05

<b>L20</b>	1,77±0,1	-8,205	/	/	/	/	/
<b>L21</b>	11,5±0,3	-7,759	Cl29	O	SER287	H-don	3,47
			O14	O	HOH2055	H-Acc	2,92
<b>L22</b>	4,43±0,2	-7,935	N10	NE2	HIS438	H-don	3,65
			C23	5-ring	TRP231	H-pi	3,78
<b>L23</b>	8,76±0,5	-7,015	Br1	OH	TYR128	H-don	3,29
<b>L24</b>	5,01±0,5	-7,663	O15	O	HOH2092	H-Acc	2,78
<b>L25</b>	0,903±0,003	-7,640	/	/	/	/	/
<b>L26</b>	3,53±0,05	-7,999	N13	6-ring	TYR332	H-pi	4,65
<b>L27</b>	9,84±0,06	-8,072	/	/	/	/	/
<b>Tacrine</b>	<b>Ki=0.025</b>	-6,2013	N15	O	HOH2056	H-don	3,05
			N15	O	HOH2093	H-don	3,07
			6-ring	5-ring	TRP82	pi-pi	3,59

Les résultats obtenus montrent que les ligands **L<sub>4</sub>**, **L<sub>2</sub>**, **L<sub>10</sub>**, **L<sub>8</sub>** et **L<sub>12</sub>** formant des complexes possèdent les plus petites énergies Score par rapport aux autres complexes, même au complexe de ligand co-cristalliser ceci montre que ces complexes sont plus stables.

On peut les classer selon l'ordre suivant :

$$4\text{BDS-L}_4 < 4\text{BDS-L}_2 < 4\text{BDS-L}_{10} < 4\text{BDS-L}_8 < 4\text{BDS-L}_{12}.$$

D'autre part, si on parle des ligands : **L<sub>4</sub>** (IC<sub>50</sub> =49,6) , **L<sub>2</sub>** (IC<sub>50</sub> =24,4) , **L<sub>10</sub>** (IC<sub>50</sub> =28,1) , **L<sub>8</sub>** (IC<sub>50</sub> =13) et **L<sub>12</sub>** (IC<sub>50</sub> =31,6) on peut voir qui ont des faibles valeurs de IC<sub>50</sub> mais avec des valeurs légèrement faible de l'énergie de Score par rapport au ligand Co-cristallisé dans BuChE (**L<sub>réf</sub>**).



Résultats et discussion

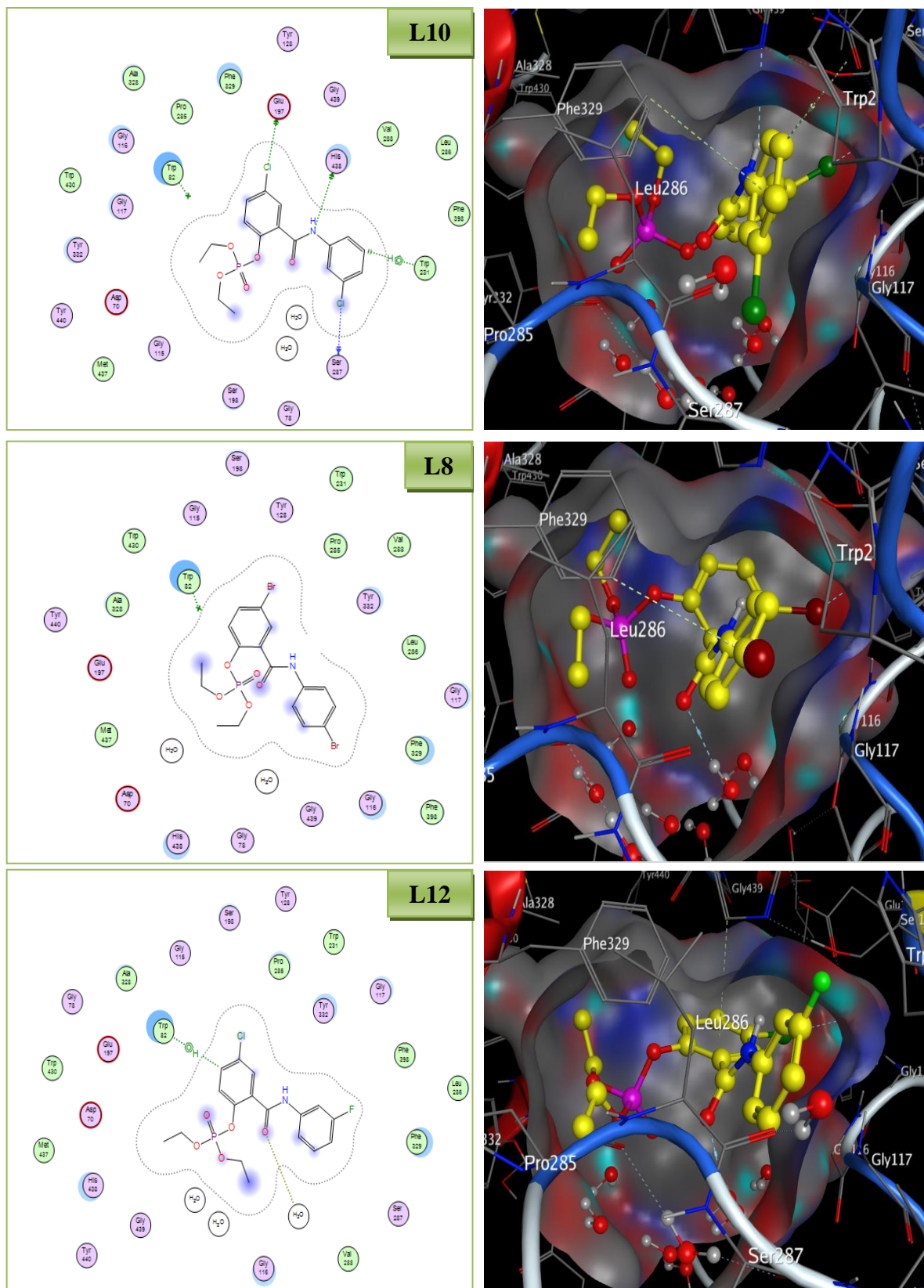


Figure III-12 : interaction entre les ligands (L<sub>10</sub>, L<sub>8</sub> et L<sub>12</sub>) et les résidus de site actif de BuChE .



D'après A. Imberty et *al* [29]. Nous pouvons constater que le ligand L4 forme deux interactions avec les résidus de site actif de BChE cité ici : la première de type H-accepteur forte (entre l'atome O8 et le résidu HOH2092) avec une distance 2,74 Å et la deuxième de type Pi-H (entre l'atome 6ring et le résidu pHE329) avec une distance 4,12 Å (voir le tableau III-9 et la figure III-11).

En plus, le tableau III-9 montre que le complexe 4BDS-L<sub>4</sub> a une faible énergie de Score (-9,325 Kcal/mol), ceci confirme que ce ligand forme un complexe stable avec le BuChE, et par la suite il peut inhiber ce dernier. D'autre part ce ligand possède une valeur moyenne de IC<sub>50</sub>=49,6 (µM).

L'observation des résultats suggère que le complexe formé par le ligand L<sub>2</sub> a une faible énergie de Score (-8,913 Kcal/mol). Le L<sub>2</sub> forme cinq interactions avec les résidus de site actif :

- entre l'atome CL42 et le résidu SER287 avec une distance 2,94 Å => de type H-donneur forte.
- entre l'atome O8 et le résidu HOH2092 avec une distance 3,13 Å => de type H-accepteur moyenne.
- deux interactions de type H-donneur faible : entre l'atome N9 et le résidu HIT438 avec une distance 3,72 Å et entre l'atome Br26 et le résidu TYR128 avec une distance 3,58 Å. et une dernière interaction de type H-pi (entre l'atome C24 et le résidu TRP231) avec une distance 3,82 Å.

Concernant ce ligand (L<sub>2</sub>) possède une faible valeur de IC<sub>50</sub>=24,4 ce qui est proposé peut être comme un deuxième inhibiteur de l'enzyme 4BDS (Voir le tableau III-9 et Figure III-11).

Les inhibiteurs L<sub>10</sub> (-8,886 Kcal/mol), L<sub>8</sub> (-8,844 Kcal/mol), L<sub>12</sub> (-8,584 Kcal/mol) ont des valeurs légèrement faibles d'énergie score, ceci confirme que ces ligands forment des complexes moins stables que les complexes des ligands précédents (Voir le tableau III-9 et Figure III-12).

Finalement et d'après Seifert [30] Le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique (docking moléculaire). Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité.

Il n'est donc pas réaliste de corréler une activité mesurée avec la valeur d'un score. Une mauvaise corrélation entre les affinités expérimentales et les scores ne signifie pas pour au tant que la fonction de scoring est mauvaise.

### IV. Références

- [1] Criblage virtuel par docking moléculaire [En ligne] bioinfopharma.ustrasbg.fr/labwebsite/publications/paper99.pdf. Consulté le [20-05.2015].
- [2] L Gustafon. Physostigmine ant tetraaminoacridine treatment of Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica* .1993 ; **88** :149.
- [3]. Da Vies D. R., Green A. L., Biochem. J. 1956, 63, P.529. Childs A. F., Da Vies D. R., Green, A. L., Rutland J. P., Brit. J. Pharmacol., 1955,10, P.462.
- [4] Mirjana B., Colovi.Z Danijela. Krsti.D Tamara. Lazarevi. M Aleksandra. Vesna M Vasi. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology.*Current Neuropharmacology* .2013;**11**:21.
- [5] D. Frenkel, B. Smit. Understanding molecular simulations: From algorithms to Applications, Academic press: San, Diego, 1996.
- [6] [www.rcsb.org/pdb/](http://www.rcsb.org/pdb/)
- [7] G. Kryge, I. Silman, JL. Sussman. *Structure. Fold. Des.*, **1999**, 7, 297-307
- [8] M. Bryson, P. Benfield,: « Donepezil: New Drug Profile ». *Drugs and Aging*; **10**(3): 234–9, **1997**.
- [9] Nachon, F., Carletti, E., Ronco, C., Trovaslet, M., Nicolet, Y., Jean, L., Renard, P.-Y. » Crystal Structures of Human Cholinesterases in Complex with Huprine W and Tacrine: Elements of Specificity for Anti-Alzheimer'S Drugs Targeting Acetyl- and Butyrylcholinesterase" *Biochem.J.* **453**, 393-399, **2013**.
- [10]\_Patrick Hof Charles Mobbs. "Functional Neurobiology of Aging" *Edition 1, Academic Press 2001*, 960.
- [11] Hyperchem 7.0, Hypercube Inc.
- [12] 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.
- [13] G. Jones, P. Willett, R.C. Glen,: « Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation » , *J Mol Biol.*, **1995**, **245**, 43–53.
- [14] chikhi abdelouahab calculs et modelisations des interactions peptide deformylase substances antibacteriennes a l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moleculaire, these de doctorat d'etat en microbiologie, universite mentouri constantine, **2007**.

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

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

[17] Sarah T. A. Al-Rashood a, Ghada S. Hassan b, Shahenda M. El-Messery c, Kamal E. H. El-Taher d, Mohamed M. Hefnawy a, Mahmmmed A. Al-Omar a, Hussein I. El-Subbagh b,e, Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of some new thiazolodiazepine analogs as CNS active agents , *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (2015) .

[18] Khac-Minh Thai n, Duy-PhongLe, Nguyen-Viet-KhoaTran, Thi-Thu-HaNguyen, Thanh-Dao Tran, Minh-TriLe Computational assay of Zanamivir binding affinity with original and mutant influenza neuraminidase using molecular docking *Journal of Theoretical Biology* 385, 31–39 , (2015)

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

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

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

[22] Jiansong Fanga, Ping Wua, Ranyao Yanga, Li Gaoa, Chao Lia, Dongmei Wang, Song Wua,c, Ai-Lin Liua,b,c,n, Guan-Hua Dua,b,c,n Inhibition of acetylcholinesterase by two genistein

derivatives: kinetic analysis, molecular docking and molecular dynamics simulation *Acta Pharmaceutica Sinica B*;4(6):430–437 **2014**.

[23] Sally S. El-Nakkady a, Mona M. Hanna b,\* , Hanaa M. Roaiah a, Iman A.Y. Ghannam a  
Synthesis, molecular docking study and antitumor activity of novel 2-phenylindole derivatives  
*European Journal of Medicinal Chemistry* 47 387e398 ,(2012) .

[24] Ismail Daoud , Nadjib Melkemi, Toufik Salah, Said Ghalem, “Combined QSAR, molecular docking and molecular dynamics study on new Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase inhibitors” *Computational Biology and Chemistry* 74 (2018) 304–326.

[25] B. Florent, Cours on line: le docking moléculaire, Université de Paris7, ITODYS (CNRS UMR 7086). **2014**.

[26] M.A. Ajay, J. Murcko. Computational methods to predict binding free energy in ligand receptor complexes. *J.Med.Chem* 38,P4953-4967.1995.

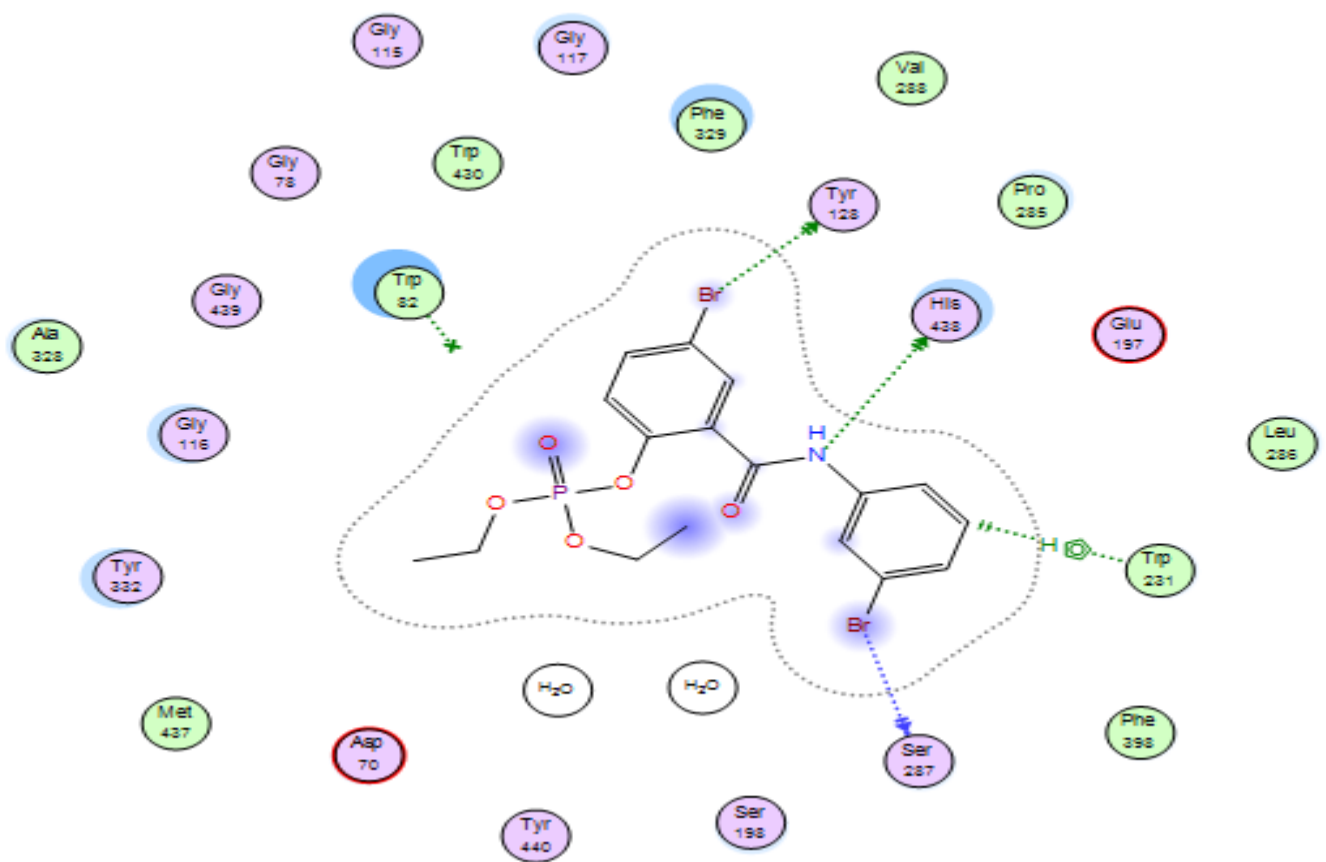
[27] Soga, S., Shirai, H., Kobori, M., Hirayama, N.; Use of Amino Acid Composition to Predict Ligand-Binding Sites; *J. Chem. Inf. Model.* 47 400-406. (2007).

[28] Marek Bajda, Anna Więckowska, Michalina Hebda, Natalia Guzior, Christoph A. Sotriffer and Barbara Malawska,” Structure-Based Search for New Inhibitors of Cholinesterases” *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 5608-5632. **2013**

[29] A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Perez:” Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A”, *G L Y C O B I O L O G Y* , 1, 631–642. **1991**.

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

# Conclusion Générale







Dans le cadre d'élucider les mécanismes régissant l'évolution de la maladie d'Alzheimer (MA), nous nous sommes intéressés à deux paramètres : l'énergie score formée par le complexe E-S ainsi que les interactions moléculaires (non-covalentes) entre les deux enzymes étudiées (Acétylcholinestérase et la Butyrylcholinestérase) et une nouvelle série de 27 composés qui ont été synthétisés et développés récemment : les dérivés de diethyl [(2-phenylcarbamoyl)phenyl] phosphates. Pour cela les différentes méthodes de la modélisation moléculaire (mécanique moléculaire, Semi-empirique et le docking moléculaire) sont utilisées pour mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de cette maladie et pour mener à bien cette étude.

Dans un premier temps, l'optimisation et la préparation des composés a été employé à l'aide des deux méthodes : mécanique moléculaire et la semi-empirique. Ces dernières confirment que tous ces composés sont non toxiques.

En suite, nous avons préparé nos enzymes en effectuant deux étapes principaux : 1/ élimination des co-facteurs et des ions, 2/ détecter les cavités par le programme MOE et focaliser l'étude sur la cavité 1 dans les deux enzyme (AChE, BuChE) et considère comme un site actif car elle possède le volume le plus important ainsi que les ligands co-cristallisés.

Dans un second temps, nous avons ainsi pu mettre en évidence un calcul par la méthode de docking (amarrage) moléculaire pour tester la performance de cette dernière.

La discussion est basée sur un calcul de l'énergie de score et les distances mesurées entre certain groupements de la chaîne latérale de l'enzyme (appartiennent au site actif) et ceux de ligands. Ces deux paramètres sont utilisés pour expliquer la formation des complexes (Enzyme-Substrat).

L'étude a révélé que les deux ligands L<sub>13</sub> et L<sub>25</sub> sont les meilleurs inhibiteurs dans le cas de **AChE** et le L<sub>4</sub> et L<sub>2</sub> dans le cas de **BuChE**, ceci justifier par la présence des différentes types d'interactions et en plus ces ligands possèdent les plus basses énergies de score par rapport aux autres.

Les résultats obtenus confirment que le complexe **L<sub>13</sub>-1EVE** a des interactions hydrogènes moyennes, par conséquent le complexe **L<sub>25</sub> -1EVE** n'établis aucune interaction,





mais il possède une valeur faible de  $IC_{50}=45,5$  ce qui es peut être proposé comme une deuxième inhibiteurs de l'enzyme 1EVE. Concernons le complexe **L<sub>4</sub>-4BDS**, il possède des interactions hydrogènes fortes et une valeur moyenne de  $IC_{50}=49,6$  ( $\mu\text{M}$ ) , par contre le complexe **L<sub>2</sub>-4BDS** forme quatre interactions hydrogènes (forte ,moyenne et deux faible ) , sachant que ce ligand ( $L_2$ ) possède une faible valeur de  $IC_{50}=24,4$  ce qui es proposé peut être comme un deuxième inhibiteur de l'enzyme 4BDS.

Notre étude montre que les méthodes de modélisation moléculaire peuvent être utilisé dans l'intérêt de découvrir de nouveaux médicaments anti-Alzheimer, et ces méthodes nous à permet de trouver des nouveaux inhibiteurs ont potentiels élevés contre cette maladie.

Finalement, d'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que les quatre composés  $L_{13}$ ,  $L_{25}$ ,  $L_4$  et  $L_2$  seraient probablement les meilleurs inhibiteurs pour ralentir l'évolution de la MA, et il peut être suggéré comme des nouveaux médicaments.

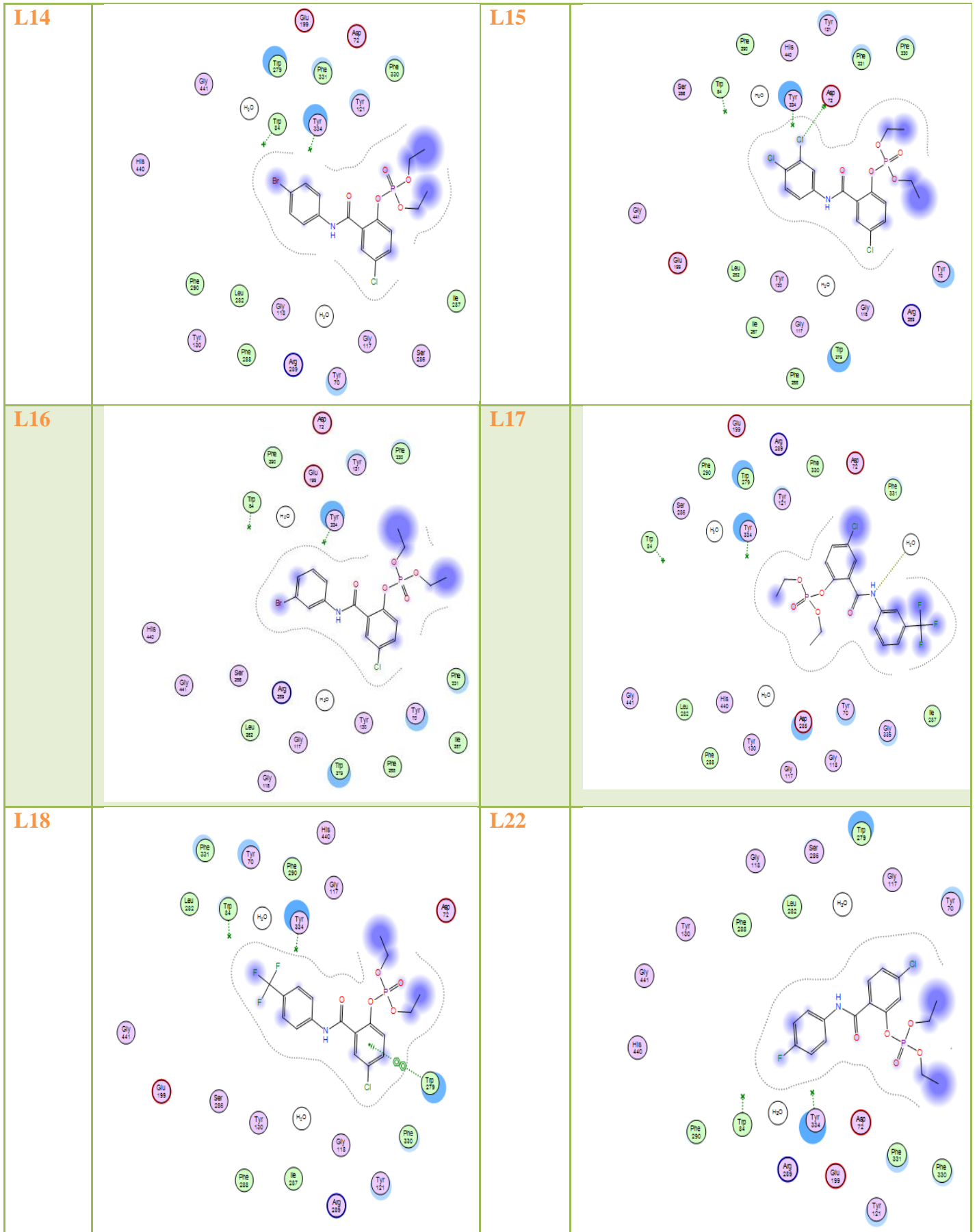
# Annexe

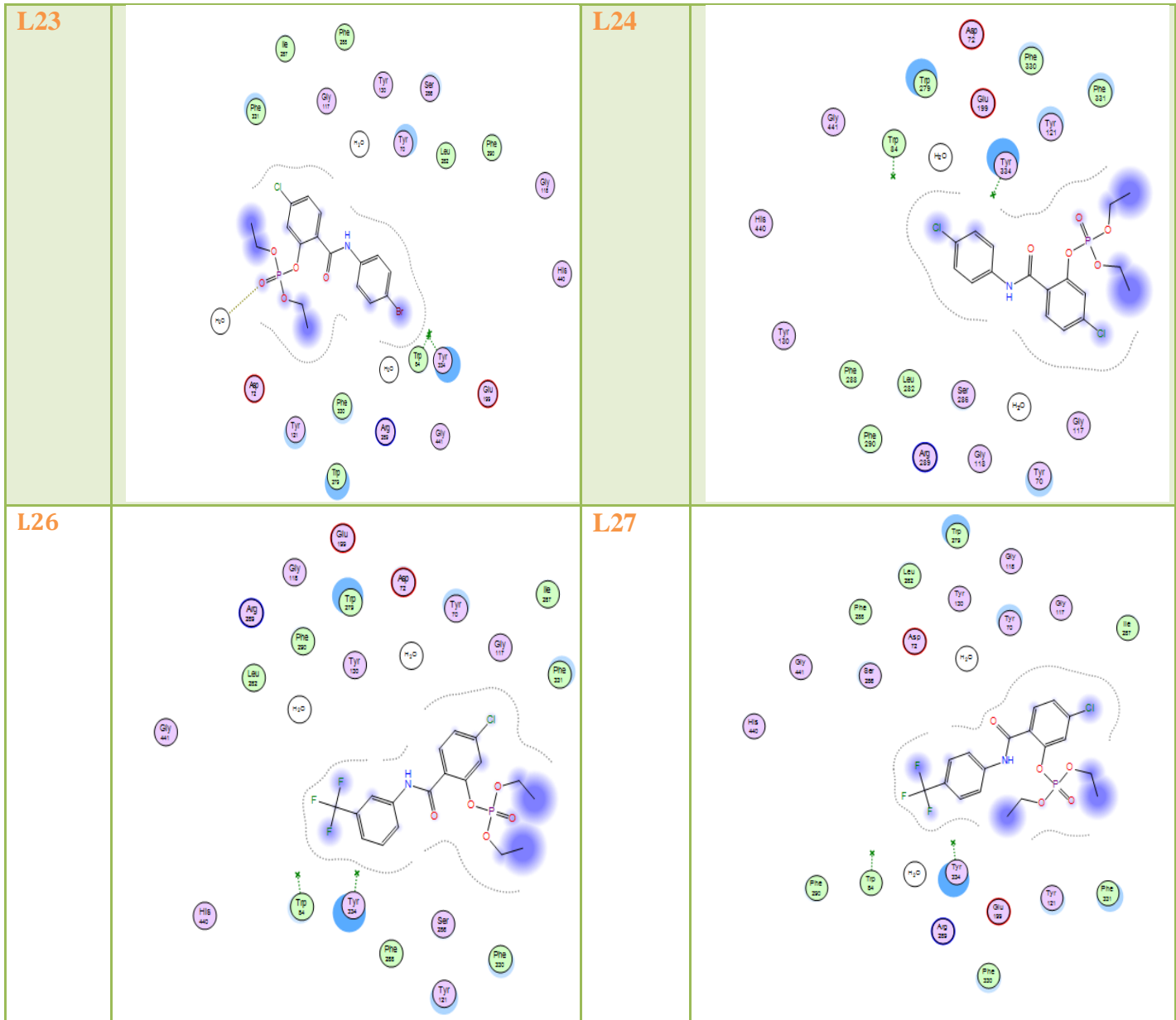
Les interactions entre les ligands  
et les résidus de site actif pour les deux enzyme  
AChE et BuChE.







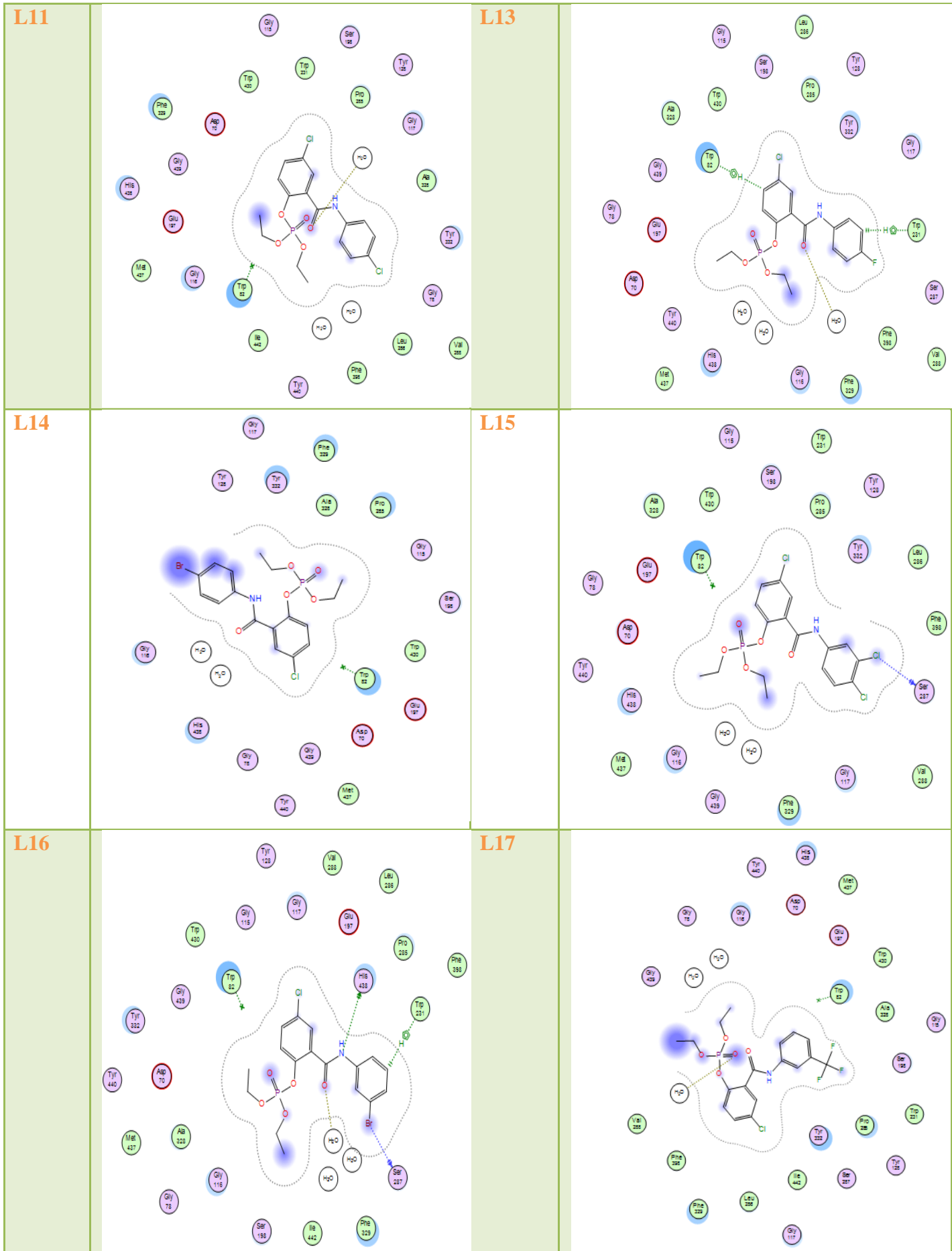




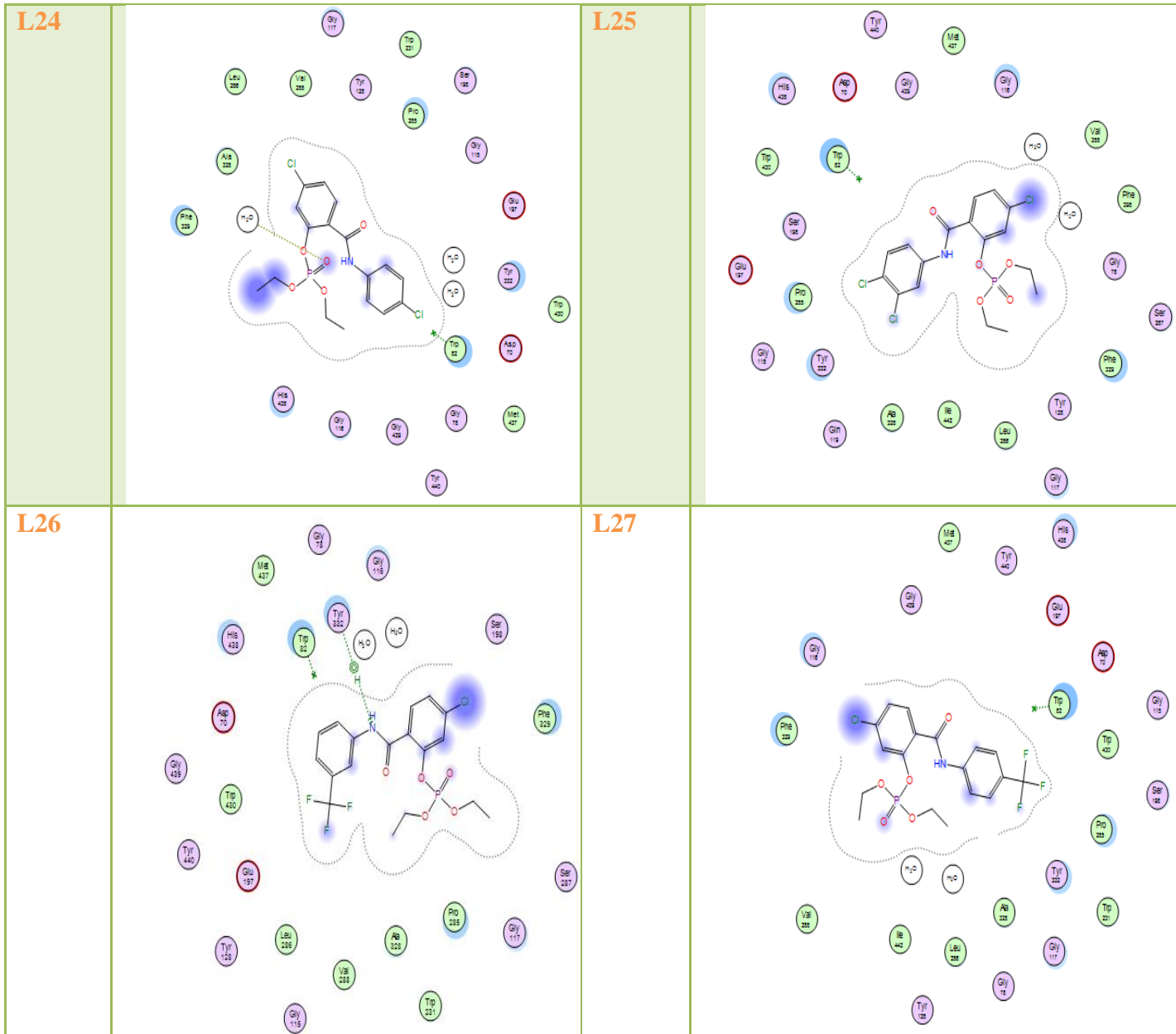












## **Résumé**

La modélisation moléculaire est une technique moderne en chimie, biologie et pharmaceutique permettant d'utiliser des différentes méthodes (méthodes quantique et non quantique) pour découvrir des nouveaux médicaments.

Notre travail consiste à étudier l'inhibition des deux enzymes : l'AChE et le BuChE qui sont impliquées dans la *maladie d'Alzheimer* par des dérivés de diethyl [(2-phenylcarbamoyl)phenyl] en utilisant la technique de docking moléculaire. Nous sommes particulièrement basés sur deux paramètres : énergie de score et les distances des liaisons hydrogènes et stériques.

L'analyse des résultats obtenus montre que les ligands L<sub>13</sub>, L<sub>25</sub> possèdent une meilleure inhibition dans le cas de l'AChE et le L<sub>4</sub>, L<sub>2</sub> dans le cas de BuChE, ceci nous a permis de les sélectionner comme étant probablement les meilleurs inhibiteurs.

**Mots-clés :** AChE/ BuChE, dérivés de diethyl(2-phenylcarbamoyl)phenyl), Docking Moléculaire, Energie score, Interactions.

## **Abstract**

Molecular modeling is a modern technique in chemistry, biology and pharmaceuticals that make it possible to use different methods (quantum and non-quantum methods) to discover new drugs.

Our work consists in studying the inhibition of two enzymes: AChE and BuChE that are involved in Alzheimer's disease by diethyl [(2-phenylcarbamoyl) phenyl] derivatives using the molecular docking technique. We are particularly based on two parameters: score energy and the distances of the hydrogen and steric bonds.

The analysis of the results obtained shows that the ligands L<sub>13</sub>, L<sub>25</sub> have a better inhibition in the case of AChE and L<sub>4</sub>, L<sub>2</sub> in the case of BuChE, this allowed us to select them as probably the best inhibitors.

**Key-words:** AChE/ BuChE, Derivatives of diethyl [(2-phenylcarbamoyl) phenyl], Molecular Docking, score Energy, Interactions.