

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministere de l'enseignement superieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABOU-BAKR BELKAID DE TLEMCCEN

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

LABORATOIRE DE **CHIMIE ORGANIQUE, SUBSTANCES NATURELLES ET ANALYSES**

(COSNA)

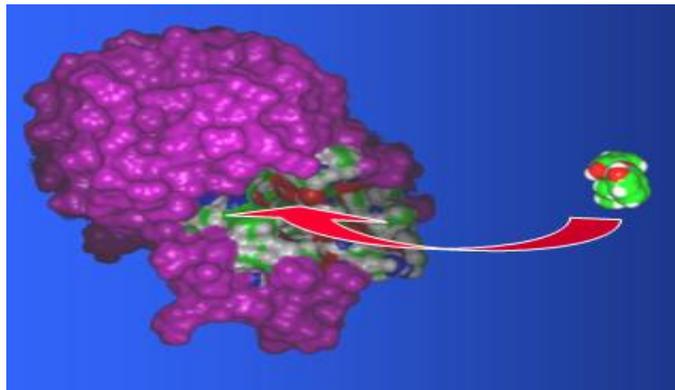
Mémoire

PRESENTE EN VUE DE l'obtention du grade de : **MAGISTER**

Spécialité : Chimie Physique : Option : Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire

Par

M^{me} SOUFI-LALOUT WASSILA



Thème :

Etude de l'interaction enzyme-substrat par modélisation moléculaire

Devant le jury :

M ^r	Mohamed KOTBI	Pr, Université Abou Bekr BelKaid-Tlemcen	Président.
M ^{me}	Leila. BOUKLI – HACENE	Pr, Université Abou Bekr BelKaid-Tlemcen	Examinatrice.
M ^r	Tewfik BOUCHAOUR	Pr, Université Abou Bekr BelKaid-Tlemcen	Examinateur.
M ^{me}	Meriem. BENYAROU	MC, Université Abou Bekr BelKaid-Tlemcen	Examinatrice.
M ^r	Said. GHALEM	Pr, Université Abou Bekr BelKaid-Tlemcen	Encadreur.

-2010-

Dédicaces

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- *A mes très chers parents pour leurs sacrifices.*
- *A mon mari et mon fils.*
- *A ma sœur, mon beau frère et leurs enfants.*
- *A mes frères.*
- *A toute ma famille.*
- *A la mémoire de ma sœur.*
- *A tous ceux, qui de près ou de loin m'ont aidé à mener à bon terme la réalisation de ce travail.*

Remerciements

Remerciements

Le présent travail a été réalisé au sein de laboratoire COSNA (Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses) dans l'équipe de modélisation moléculaire de la faculté des sciences, Département de chimie, de l'université de Tlemcen sous la direction de Monsieur le professeur S.GHALEM.

Il m'a été proposé par Monsieur le professeur S.GHALEM. Qu'il me soit permis de lui exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude pour les nombreux conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer et pour la bienveillante attention dont il m'a entouré.

Je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur Mohamed KOTBI, qui a bien voulu présider ce jury.

Je tiens à remercier Madame le professeur L. BOUKLI HACENE et Monsieur le professeur T. BOUCHAOUR à l'université Aboubekr Belkaid de Tlemcen; Madame M. BENJAROU Maître de conférence à l'université Aboubekr Belkaid de Tlemcen, qui ont accepté d'examiner ce travail et de participer au membre du jury.

Je tiens à remercier toute l'équipe de modélisation moléculaire dont M^{elle} I. ABDELLI, M^{me} S.SARI MOHAMED, M^{me} F. MERAD, M^{elle} K. NEKKAZ, M^{me} N.KHEBICHAT, M^r I. DAOUD et M^r N. MISSOUM, pour leurs conseils et leurs aides précieuses.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	1
Références.....	10
CHAPITRE I : LES METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE	
Introduction.....	13
I. Méthodes Quantiques	14
I.1. Méthode de Hartree-Fock-Roothaan	15
I.1. Méthodes semi-empiriques	15
II. Mécanique Moléculaire	16
II.1. Champ de force en mécanique moléculaire.....	17
II.2. Différents champs de force en mécanique moléculaire.....	19
III. Dynamique Moléculaire.....	21
III.2. Principe.....	21
III.3. Un calcul de dynamique moléculaire.....	23
IV. Docking moléculaire (Arrimage).....	24
Références	26
CHAPITRE II : ANALYSE CONFORMATIONNELLE	
I. Minimisation de l'énergie stérique	29
II. Méthodes de minimisation.....	31
II.1. Méthode de minimisation steepest descent.....	31
II.2. Méthode de minimisation conjugate gradient.....	31
II.3. Méthode de minimisation de Newton Raphson.....	32
II.4. Méthode du recuit simulé.....	32
II.5. Méthode du simplex.....	32
II-6- Conjugaison des différentes méthodes de minimisation.....	33
III. Analyse conformationnelle.....	33
Références.....	37
CHAPITRE III : ACIDES- AMINES, PROTEINES, ENZYMES	
I. Acides aminés	39
I.1. Propriétés physiques.....	41
I.2 Propriétés chimiques.....	41
II. Peptides.....	41
Structure de la liaison peptidique.....	42
III. Protéines.....	43
III.1. Pourquoi modéliser les protéines ?.....	44
III.2. Structure des protéines.....	44
III.2.i. Hélice α	45
III.2.ii. Feuillet β	46
III.3. Repliement des protéines.....	47
IV. Enzymes.....	48
IV.1. Introduction.....	48
IV.2. Site actif.....	49
IV.3. Cinétique enzymatique.....	49
IV.4. Comment fonctionnent les enzymes ?.....	50
IV.5. Catalyse enzymatique.....	51
IV.6. Complexe enzyme- substrat (E-S).....	52
IV.7. Spécificité de l'association protéine- ligand.....	52

Références.....	54
-----------------	----

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Préparation de l'enzyme.....	55
II. Préparation des ligands.....	58
III. Minimisation de l'énergie.....	59
III.1. Optimisation de la phosphatase Cdc25.....	60
III.2. Optimisation des inhibiteurs	61
IV. Dynamique moléculaire	61
1. Dynamique moléculaire de la phosphatase Cdc25.....	62
2. Dynamique moléculaire des substrats.....	63
V .Docking des substrats et construction des complexes.....	65
VI. Dynamique moléculaire des complexes.....	65
VII. Distances séparant les acides aminés du site actif et les groupements des	68
Inhibiteurs.....	
VIII. Energie d'interaction.....	70
Références.....	74
CONCLUSION GENERALE.....	75
Références.....	77

Toute vie dépend du bon fonctionnement d'une grande variété de catalyseurs organiques ou enzymes. Les structures biologiques correspondent à des fonctions bien définies et la vie d'un organisme dépend du rôle des structures biologiques, des membres aux divers organes, et jusqu'aux agents chimiques du métabolisme, comme les enzymes.

Les enzymes ont fait l'objet de recherches intensives ayant permis de dévoiler les principes du fonctionnement cellulaire. Leur importance s'est encore accrue avec le lancement de projets de séquençage des génomes à grande échelle. De plus, leur intérêt va bien au delà de la collecte de connaissances fondamentales puisqu'elles trouvent des applications dans des domaines variés tant en biomédical (réactifs, kits de diagnostic, méthodes thérapeutiques) qu'industriel (mise en œuvre de technologies à base d'enzymes dans l'industrie agro-alimentaire).

La caractéristique la plus évidente des organismes vivants est qu'ils sont complexes et extrêmement organisés. Par exemple, les organismes assez grands pour être visibles à l'œil nu sont formés de nombreuses cellules, le plus souvent de types différents. A leur tour, ces cellules contiennent des structures subcellulaires, qui sont des assemblages complexes de très grosses molécules. Ces macromolécules elles-mêmes ont un remarquable degré d'organisation avec une structure tridimensionnelle complexe, bien qu'elles soient constituées d'un petit nombre d'éléments chimiques comme les sucres et les acides aminés.

En fait, la structure tridimensionnelle complexe caractéristique des macromolécules résulte des interactions entre ses constituants, en fonction de leurs propriétés chimiques individuelles [1].

Le traitement informatique des processus enzymatiques s'est développé spectaculairement dans les deux dernières décennies [2]. Bien que nous sommes loin de pouvoir exécuter des calculs quantitatifs avec précision, le graphisme

moléculaire, la dynamique moléculaire et la mécanique quantique fournissent de nouvelles informations essentielles non disponibles par les expériences les plus sophistiquées. Mais la meilleure manière d'obtenir de bons aspects structuraux des processus enzymatiques est de combiner les méthodes expérimentales et informatiques. Bien que les données primaires soient obtenues par la cristallographie des rayons X ou par spectroscopie RMN, l'importance de cette tendance a été déjà soulignée il y a plus de vingt ans [3]. Le développement rapide des ordinateurs et des méthodes informatiques permet d'étudier des systèmes entre 50-100 atomes par mécanique quantique et jusqu'à 50 000 atomes par mécanique moléculaire [4].

I- MODELISATION MOLECULAIRE

On définit la modélisation moléculaire comme une application des méthodes théorique et des méthodes de calcul pour résoudre des problèmes impliquant la structure moléculaire et la réactivité chimique. Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire, elles peuvent être extrêmement complexes et demandent des centaines d'heures de calcul sur un ordinateur, même sur un super-ordinateur. En plus, ces méthodes utilisent souvent des moyens infographiques très sophistiqués qui facilitent grandement la transformation de quantités impressionnantes de données numériques en quelques représentations graphiques facilement interprétables [5].

Avec l'arrivée des méthodes théoriques de calcul et des ressources de computation plus accessibles. La chimie par ordinateur est maintenant accueillie comme un outil de plus en plus utile à la fois pour le milieu académique et l'industrie. La modélisation moléculaire par ordinateur d'une molécule implique généralement une présentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes de la molécule suivie de l'application d'une méthode théorique, comme la mécanique quantique semi-empirique ou encore la mécanique moléculaire, pour évaluer les propriétés physiques de la molécule à l'étude [6].

Aujourd'hui, la modélisation moléculaire nous permet de traiter des systèmes contenant plus d'atomes (molécules de solvant explicite pouvant atteindre des dizaines de milliers d'atomes, grandes surfaces moléculaires et protéines). De ce fait,

un phénomène de compétition entre la taille des systèmes moléculaires et la puissance des superordinateurs est apparu [7].

La modélisation moléculaire est aujourd'hui mieux reconnue. D'ailleurs, en 1998, le prix Nobel de chimie a été décerné à John. A. Pople et Walter Kohn pour leurs travaux dans les domaines de la chimie informatique et de la modélisation moléculaire (chimie quantique).

La modélisation moléculaire sert pour simuler des systèmes moléculaires, des méthodes de calculs théoriques telles que la mécanique quantique (QM : *ab initio*, semi-empiriques), la dynamique moléculaire (DM), la mécanique moléculaire (MM) et, depuis quelques années et l'association QM/MM qui paraît très porteuse.

Les molécules peuvent adopter de nombreuses conformations dont certaines correspondent à l'interaction avec un site actif ou au comportement en solution. La stabilité relative de ces conformations peut être évaluée par le calcul de l'énergie potentielle qui leur est associée. Trois méthodes principales de calcul de l'énergie sont mises en oeuvre, elles sont généralement couplées à des méthodes de recherche de conformations et des minimiseurs mathématiques permettant de calculer les minima de la fonction d'énergie.

1-1 Mécanique Quantique :

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

1-2 Mécanique Moléculaire :

L'énergie conformationnelle est la sommation de termes d'interactions évaluées à partir de tables pré calculées (les champs de force) contenant les constantes d'élongation, de déformation, de torsion, d'attraction et répulsion

électrostatique. C'est la méthode la plus fréquemment retenue car elle produit les temps de calcul les plus courts.

1-3 La Dynamique Moléculaire :

Elle prend en compte l'effet de la température, de la pression et du temps, calcule les trajectoires des atomes et approche la flexibilité des molécules, leur comportement en solution ou les modes de vibration.

L'objet de ce mémoire est d'étudier les interactions de la phosphatase Cdc25 avec quelque inhibiteur, par des méthodes non-quantiques comme la mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire.

2-Phosphatases Cdc25:

Depuis la découverte, à la fin des années 1980, de la protéine-kinase Cdc2 dans des organismes phyllo-génétiquement aussi éloignés que les levures, l'étoile de mer ou l'homme, il est maintenant clairement établi que les mécanismes qui contrôlent la progression dans le cycle cellulaire sont largement conservés chez tous les eucaryotes. Le complexe enzymatique formé de l'association de Cdc2 et de sa sous-unité régulatrice, la cycline B, est responsable du déclenchement de l'entrée en mitose. Pour cette raison, et historiquement, la régulation de ce complexe, également connu sous le nom de MPF (mitosis promoting factor), a été la mieux étudiée [8,9].

Les phosphatases Cdc25 à double spécificité (phosphotyrosine et phosphosérine/thréonine) sont responsables de la déphosphoration des chaînes latérales des thréonines et tyrosine d'un substrat protéine, activent les kinases régulatrices du cycle cellulaire (les **CDK**) et contrôlent ainsi le déclenchement de l'entrée en mitose et la prolifération. La régulation de l'activité de ces phosphatases dépend de voies de signalisation impliquant les produits des proto-oncogènes Ras, Raf et Myc, et des dérégulations de leur expression pourraient avoir des conséquences oncogéniques. La recherche d'inhibiteurs spécifiques des phosphatases Cdc25 ouvre des perspectives pharmacologiques antitumorales nouvelles.

Les phosphatases Cdc25 jouent un rôle significatif dans le règlement de la progression eucaryotique de cycle de cellules en activant les cyclines de Cdk qui servent de régulateurs centraux du cycle de cellules avec le rôle de conduire chaque état de division cellulaire. En raison d'une contribution si importante au cycle de cellules les phosphatases Cdc25 ont été impliqués dans des transformations oncogènes et des cancers humains. Les phosphatases Cdc25 constituent une série de cellules de tumeur comprenant le cancer du sein [10], le cancer du colon [11.12], le cancer de prostate [13] et cancer de poumon [14.15]. Il existe trois Cdc25 homologues (Cdc25A, Cdc25B, et Cdc25C) encodés dans les génomes humains, Cdc25A et Cdc25B sont définis en tant qu'ayant des propriétés oncogéniques [16].

Les études récentes ont également montré la participation de Cdc25A dans la prolifération adhérence de leucémie myéloïde aigue (AML) des cellules [17]. Une autre évidence oncogénique des phosphatases Cdc25 a été fournie par les études pharmacologiques dans lesquelles le traitement des phosphatases Cdc25 inhibiteur a retardé la croissance des variétés de cellule de cancer exprimant un à taux élevé des phosphatases Cdc25 [18]. Il est probable que Cdc25A ou de Cdc25B mène à la promotion de la progression de cycle de cellules en cellules cancéreuses bien qu'elle impliqués simultanément dans les deux homologues qui ont été également observés dans des cancers plus agressifs [19]. Ainsi, l'inhibition des phosphatases Cdc25 peut représenter une approche thérapeutique originale pour le développement de la thérapie anticancéreuse bien que plus de détails au sujet de la participation de Cdc25A et de Cdc25B dans le tumorigenesis restent à être clarifiés.

Les enquêtes structurales de Cdc25 phosphatases ont traîné derrière les études mécanistes et pharmacologiques. Jusqu'ici deux structures radiographiques de cristal des domaines catalytiques de Cdc25A et Cdc25B ont été rapportés sous leurs formes ligand-libres seulement [20.21]. Le manque d'informations structurales sur la nature des interactions entre les phosphatases Cdc25 et les petits inhibiteurs de molécule lui a fait une tâche difficile de découvrir de bons composés de plomb pour les drogues anticancéreuses. Néanmoins, on a découvert un certain nombre d'inhibiteurs efficaces des phosphatases Cdc25 avec la diversité structurale [22-23].

La plupart des inhibiteurs Cdc25 signalés dans l'étude proviennent de l'isolement de nouvelle structure [24,25].

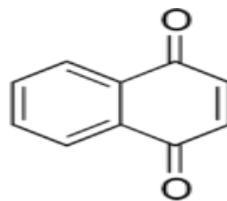
Naphthoquinone :

Naphthoquinone, plus précisément 1,4-naphthoquinone, est un composé organique avec la formule $C_{10}H_6O_2$, qui peut être vu comme les dérivées de naphthaline par le remplacement de deux atomes hydrogènes par deux groupes cétone.

Le nom est aussi utilisé généralement pour deux autres isomères :

* 1,2-Naphthoquinone

* 2,6-Naphthoquinone



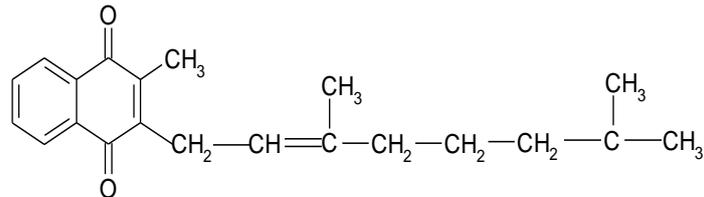
1,4-naphthoquinone

Les propriétés :

Les formes 1,4-Naphthoquinone sont des cristaux jaunes et ont une odeur semblable à benzoquinone. Ils sont peut soluble dans l'eau froide, légèrement soluble dans l'éther de pétrole et librement soluble dans la plupart des solvants organiques polaires. Dans des solutions alcalines il produit une couleur rougeâtre-brune. À cause de leur stabilité aromatique, on connaît que des dérivées 1,4-naphthoquinone possèdent des propriétés d'anti-tumeur et antibactérien. Naphthoquinone forme la structure chimique centrale de beaucoup de composés naturels, le plus notamment les vitamines K.

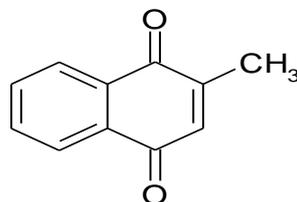
Vitamine K1 :

De nombreux produits naturels ont des structures de type quinonique ; l'un des plus importants est une substance anti-hémorragique : la vitamine K1 qu'on rencontre dans les plantes verte ; c'est une naphthoquinone-1,4 substituée



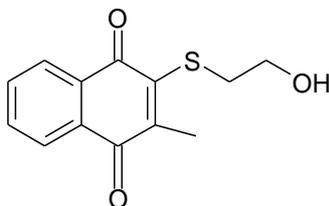
vitamine K1

La structure de la vitamine K1 a été établie par dégradation et par synthèse, il est surprenant de constater que la longue chaîne latérale n'est pas nécessaire à la coagulation du sang, car la méthyl 1-2 naphthoquinone-1,4 est presque aussi active (à fraction molaire égale) [26].

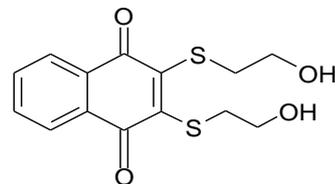


méthy-2 naphthoquinone-1,4

Permis les naphthoquinone que on a choisi pour cette étude sont les suivant :



Inhibiteur 1

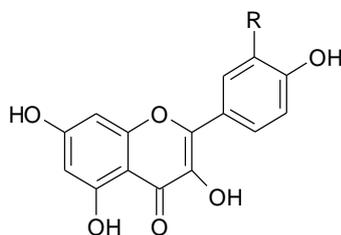


Inhibiteur 2

Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des constituants caractéristiques des végétaux. Ils sont, entre autre, responsables de la pigmentation des fleurs et sont distribués dans toute la plante. Nous en recensons, aujourd'hui, 45100 répartis en différentes classes (anthocyanines, flavonols, flavones et iso-flavone) [27].

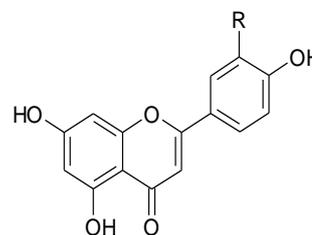
La structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation permettent de distinguer les différentes classes des flavonoïdes (figure 1) [28].



Flavonol

R=H, Kaempférol

R=OH, Quercétine



Flavone

R=H, Apéginine

R=OH, Lutéoline

Figure1 : Quelques exemples de flavonoïdes.

La plus part, des flavones et flavonoles sont des pigments jaunâtres ou ivoire. Certaines sont incolores. Ces dernières peuvent modifier la couleur d'une plante en formant des complexes avec des anthocyanes et des ions métalliques. Ce phénomène appelé co-pigmentation est responsable de la couleur bleu intense des fleurs [29]. Les anthocyanes sont des pigments rouge, violet ou bleu. Ils sont présents dans les cassis, la myrtille, la fraise, le radis etc. [30]

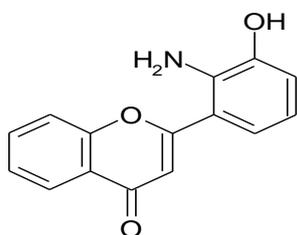
Les propriétés biologiques :

Les pigments floraux agissant comme signaux visuels pour attirer les pollinisateurs (oiseaux, abeilles). Ils interviennent dans les interactions entre les plantes et d'autres organismes [29] et pourraient avoir un rôle dans certains processus d'oxydo-réduction de croissance de respiration et dans la morphogénèse

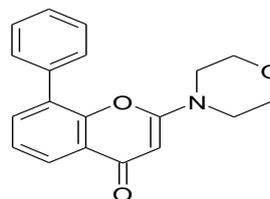
des plantes. En outre, il a été démontré que leur forte absorption dans l'UV protège les plantes contre les rayonnements nocifs. Leur intervention dans les mécanismes de la pollinisation, liée à leur couleur est essentielle. Certains flavonoïdes situés au cœur du bois ont aussi des propriétés fongicides et insecticides qui préservent l'arbre des attaques des champignons et des insectes.

Enfin, dans les feuilles, ils peuvent avoir un rôle répulsif ou attractif sur les insectes herbivores permettant ou non leur consommation [31].

Parmis les flavonoïdes que on a choisi sont les suivant :



Inhibiteur 3



inhibiteur 4

Dans ce mémoire, une étude des interactions moléculaires entre la phosphatase Cdc25 et les inhibiteurs a été réalisée grâce à outils de modélisation moléculaire selon le plan suivant : après une présentation des méthodes et des logiciels utilisés et des généralités sur les acides aminés, protéines et enzymes dans les trois premiers chapitre, on passera à la quatrième partie de ce mémoire qui concerne l'étude des interactions de la phosphatase Cdc25 avec les différentes inhibiteurs.

Après des minimisations d'énergie et un calcul de dynamique moléculaire effectués pour toutes les structures de départ et le positionnement de ces molécules dans le site actif de la phosphatase Cdc25. Pour ce faire, nous avons utilisé le module Docking moléculaire à l'aide logiciel Hex4e. Une fois que le complexe ligand-récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable correspondant au niveau énergétique le plus faible.

Références:

- [1] H. Reginald, C. Garrett, M. Grisham, *Biochimie, De Boeck University s.a*, 3. **2000**
- [2] L.A. Eriksson (Eds.), *Theoretical biochemistry, Processes and Properties of Biological Systems*, Elsevier, Amsterdam, **2001**
- [3] G. Náray-Szabó (Eds), *Steric effects in biomolecules, Proceedings of International Symposium*, Eger, Akadémiai Kiado/ Elsevier, Budapest/ Amsterdam, 1982. **1981**
- [4] G. Náray-Szabó, I. Berente, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, Computer Modeling of Enzyme Reaction, 666-667, 637-644. **2003**
- [5] D.Liotta. *Advances in Molecular Modeling, Ed.*, JAI Press,1. **1988**
- [6] H. Dugas, *Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques*, , quatrième édition, librairie de l'université de Montréal. **1996**
- [7] W.Van Gunsteren, H. J Berendsen, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*29, 992. **1990**
- [8] D. Morgan. Principles of CDK regulation. *Nature*; 374: 131-4. **1995**
- [9] E.A. Nigg. Targets of cyclin-dependent protein kinases. *Curr Opin Cell Biol* **1993** ; 5 8. Nilsson I, Hoffmann I. Cell cycle regulation by the Cdc25 phosphatase family. *Prog 37*. Eckstein JW. Cdc25 as a potential target of anticancer agents. *Invest New Drugs***2000**; 18: 149-56.*Cell Cycle Res*; 4:107-14:187-93. **2000**
- [10] K. Galaktionov, A.K. Lee, J. Eckstein, G. Draetta, J. Meckler, M. Loda, D. Beach, Cdc25 phosphatases as potential human oncogenes, *Science* 269, 1575–1577. **1995**
- [11] S. Hernández, X. Bessa, S. Bea´, L. Hernández, A. Nadal, C. Mallofre´, J. Muntane, A. Castells, P.L. Fernández, A. Cardesa, E. Campo, Differential expression of Cdc25 cell-cycle-activating phosphatases in human colorectal carcinoma, *Lab. Invest.* 81, 465–473. **2001**

- [12] I. Takemara, H. Yamamoto, M. Sekimoto, M. Ohue, S. Noura, Y. Miyake, T. Matsumoto, T. Aihara, N. Tomita, Y. Tamaki, I. Sakita, N. Kikkawa, N. Matsuura, H. Shiozaki, M. Monden, Overexpression of Cdc25B phosphatase as a novel marker of poor prognosis of human colorectal carcinoma, *Cancer Res.* 60, 3043–3050. **2000**
- [13] E.S.W. Ngan, Y. Hashimoto, X.-Q. Ma, M.J. Tsai, S.Y. Tsai, Overexpression of Cdc25B, an androgen receptor coactivator, in prostate cancer, *Oncogene* 22, 734-739. **2003**
- [14] W.G. Wu, Y.H. Fan, B.L. Kemp, G. Walsh, L. Mao, Overexpression of Cdc25A and cdc25B is frequent in primary nonsmall cell lung cancer but is not associated with overexpression of c-myc, *Cancer Res.* 58, 4082–4085. **1998**
- [15] H. Sasaki, H. Yukiue, Y. Kobayashi, M. Tanahashi, S. Moriyama, Y. Nakashima, I. Fukai, M. Kiriya, Y. Yamakawa, Y. Fujii, Expression of the Cdc25B gene as a prognosis marker in non-small cell lung cancer, *Cancer Lett.* 173, 187–192. **2001**
- [16] K. Kristjansdottir, J. Rudolph, Cdc25 phosphatases and cancer, *Chem. Biol.* 11, 1043–1051. **2004**
- [17] A. Fernandez-Vidal, L. Ysebaert, C. Didier, R. Betous, F.D. Toni, N. Prade-Houdellier, C. Demur, M.-O. Contour-Galce´ra, G.P. Pre´vost, B. Ducommun, B. Payrastre, C. Racaud-Sultan, S. Manenti, Cell adhesion regulates Cdc25A expression and proliferation in acute myeloid leukemia, *Cancer Res.* 66, 7128–7135. **2006**
- [18] Y. Nishikawa, B.I. Carr, M. Wang, S. Kar, F. Finn, B. Dowd, Z.B. Zheng, J. Kerns, S. Naganathan, Growth inhibition of hepatoma cells induced by vitamin K and its analogs, *J. Biol. Chem.* 270, 28304–28310. **1995**
- [19] R. Boutros, C. Dozier, B. Ducommun, The when and wheres of Cdc25 phosphatases, *Curr. Opin. Cell Biol.* 18, 185–191. **2006**
- [20] E.B. Fauman, J.P. Cogswell, B. Lovejoy, W.J. Rocque, W. Holmes, V.G. Montana, H. Piwnica-Worms, M.J. Rink, M.A. Saper, Crystal structure of the catalytic domain of the human cell cycle control phosphatase, Cdc25A, *Cell* 93, 617–625. **1998**

- [21] R.A. Reynolds, A.W. Yem, C.L.Wolfe, M.R. Deibel, C.G. Chidester, K.D. Watenpaugh, Crystal structure of the catalytic subunit of Cdc25B required for G2/M phase transition of the cell cycle, *J. Mol. Biol.* 293, 559–568. **1999**
- [22] M.O. Contour-Galce´ra, A. Sidhu, G. Pre´vost, D. Bigg, B. Ducommun, What's new on Cdc25 phosphatase inhibitors, *Pharmacol. Ther.* 115, 1–12. **2007**
- [23] G.P. Prevost, M.-C. Brezak, F. Goubin, O. Mondesert, M.-O. Galcera, M. Quaranta, F. Alby, O. Lavergne, B. Ducommun, Inhibitors of the Cdc25 phosphatases, *Prog. Cell Cycle Res.* 5, 225–234. **2003**
- [24] J.S. Lazo, D.C. Aslan, E.C. Southwick, K.A. Cooley, A.P. Ducruet, B. Joo, A. Vogt, P. Wipf, Discovery and biological evaluation of a new family of potent inhibitors of the dual specificity protein phosphatase Cdc25, *J. Med. Chem.* 44, 4042–4049. **2001**
- [25] J. Sohn, B. Kiburz, Z. Li, L. Deng, A. Safi, M.C. Pirrung, J. Rudolph, Inhibition of Cdc25 phosphatases by indolyldihydroxyquinones, *J. Med. Chem.* 46, 2580–2588. **2003.**
- [26] D. R John, C. C Marjorie « Chimie organique moderne », *Merck Index*, 11th Edition, 651. **1975**
- [27] A. Serge, B. Pierre, Groupe France agricole, A. Laurent, Le chavre industriel: Production et utilisations, Ed. France, 65. **2006**
- [28] J.J. Marcheix, A. fleuriet, C. Jay-Allemand. Les composés phénoliques des végétaux : Un Exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Ed. PPUR presse polytechniques .1-33. **2005**
- [29] H.P.Raven, R.F. Evert, E.S. Eichhorn, J. Bouharmont, Biologie végétale, Ed. Boeck Université, 32-35. **2003**
- [30] J.Médart, Manuel de pratique de nutrition, Ed. Boeck Université, 51. **2005**
- [31] F.Chau, Bases fondamentales de la chimie hétérocyclique, Ed.EDP Sciences, 489. **2003**

Introduction :

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques et biochimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire. La modélisation moléculaire est un terme général qui englobe différentes techniques de graphisme moléculaire et de chimie computationnelle permettant de dessiner, afficher, analyser, calculer et stocker les propriétés des molécules.

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

Le comportement des molécules peut être simulé de façon statistique ou dynamique. Cette simulation inclut notamment la flexibilité des molécules en solution, les mécanismes réactionnels et interactions mises en jeu dans la catalyse enzymatique, la reconnaissance ou la complexation, la prédiction de propriétés et de fonctionnalités se font à partir d'analogies de structure.

La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules. Les méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être rangées en trois catégories [1] :

- les méthodes quantiques.
- La mécanique moléculaire.
- La dynamique moléculaire

1. Méthodes quantiques :

La mécanique quantique est le prolongement de la théorie des quanta, issue des travaux de Planck, de leur interprétation par Einstein et de leur application à la théorie atomique par Bohr et Sommerfeld. Elle explique la quantification de certaines grandeurs (énergie, moment cinétique) et fait émerger le principe d'exclusion de Pauli. La nouvelle conception des particules qui découle de la dualité onde corpusculaire, explicitée dans les travaux de De Broglie (1923) conduit à la mécanique ondulatoire.

Les méthodes de la mécanique quantique, qui font appel à la distribution des électrons répartis en orbitales autour de la molécule, impliquent des temps de calcul souvent élevés qui limitent leur usage à des petites molécules ou nécessitent le recours à de nombreuses approximations. Elles sont particulièrement adaptées au calcul des charges et des potentiels électrostatiques, à l'approche des mécanismes réactionnels ou à la polarisabilité. L'objectif de la mécanique quantique est principalement de déterminer l'énergie et la distribution électronique [2].

La chimie quantique définit la structure moléculaire comme un noyau autour duquel gravitent des électrons, qui sont décrit par leur probabilité de présence en un point et représentés par des orbitales [3]. Les équations de la chimie quantique sont basées sur la résolution de l'équation de SCHRÖDINGER qui s'écrit pour les états stationnaires [4] :

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

Où :

Ψ : Fonction d'onde de la molécule.

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

Il est défini par la somme de cinq termes (cinétique des électrons, cinétique des noyaux, répulsion entre électrons, répulsion entre noyaux et le terme d'attraction électrons -noyaux).

E : Energie totale d'une molécule.

La résolution exacte de cette équation n'est possible que pour l'atome d'hydrogène et les systèmes mono-électriques. Pour les systèmes poly électriques, on fait appel aux méthodes d'approximation, pour la résolution approchée de l'équation de SCHRÖDINGER.

1-1-méthodes *ab-initio* (Hartree-fock-roothann):

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

Dans les méthodes *ab-initio*, toutes les particules (noyau et électrons) sont traitées explicitement. On n'utilise aucun paramètre empirique dans le calcul de l'énergie.

1-2-méthodes semi-empiriques :

Dans les méthodes *ab-initio* le 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 paramétrée par comparaison avec des références).En générale toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits données voisines de celles utilisées pour la paramétrisation.

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

- **CNDO/2** : (Complète Neglect of Differential Overlap/version 2) 1ere méthode semi empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965. Méthode présentant certains défauts entre autres : elle ne tient compte de la règle de Hund.
- **INDO** : (intermediate Neglect of Differential Overlap) proposée par Pople Beveridge et Dobosh en 1967. Elle permet de distinguer entre les états Singulets et les états triplets d'un système en conservant les intégrales d'échange.
- **MINDO/3**: Proposée par Bingham, Dewar et Lo en 1975. La parametisation est effectuée en se referant aux résultats expérimentaux et non pas aux résultats *ab-initio*, de plus l'algorithme d'optimisation utilise est très efficace (Davidon- Fletcher-Powel).
Cependant, elle surestime la chaleur de la formation des systèmes instaurés 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. Méthodes 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) Proposée par Dewar en 1985. IL a tenté de corriger les défauts de MNDO.
- **PM 3** : (Parametric Method 3) Proposée par Stewart en 1989. Présente beaucoup de points en commun avec 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 [5].

2- La Mécanique Moléculaire :

La mécanique moléculaire est basée sur l'approximation de Born-Oppenheimer selon laquelle les électrons sont beaucoup plus rapides que les noyaux et ces derniers sont donc implicitement traités. La mécanique moléculaire est une méthode empirique où les atomes sont représentés par des sphères, et les liaisons par des ressorts de différentes forces. Les valeurs de ces forces proviennent de données expérimentales de spectroscopie vibrationnelle (IR, Raman), de données de diffraction de rayons X ou de valeurs obtenues par les méthodes *ab-initio*. Le calcul de l'ensemble de ces forces, selon les règles établies pour les oscillateurs harmoniques, permet d'obtenir l'énergie moléculaire et de déterminer la structure tridimensionnelle.

La mécanique moléculaire est une méthode non quantique, mais elle a un intérêt pour les grands systèmes ; comme dans le cas des systèmes biologiques qu'on ne peut aborder avec les méthodes quantiques [6]. La mécanique moléculaire (MM), appelée parfois " calcul par champ de force empirique " [7-8], nous permet de minimiser l'énergie afin d'obtenir des conformations à basse énergie de notre système moléculaire et de réduire des forces initiales trop grandes qui aboutiront à une trajectoire aberrante [9].

La mécanique moléculaire ressemble aux modèles de type " tiges et boules". Elle a la somme de toutes les contributions énergétique 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 [10]. Son but est de calculer l'énergie potentielle d'une molécule (ou d'un système de molécule) en fonction de coordonnées des atomes :

$$E_p = f(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n)$$

Où \vec{r}_i représente le vecteur position de l'atome i.

E_p : Énergie potentielle.

La mécanique moléculaire utilise les approximations suivantes ;

- ❖ chaque atome constitue une particule ;
- ❖ l'atome est considéré comme une sphère rigide ayant un rayon et une charge déterminée ;
- ❖ les énergies sont calculées par des formules dérivées de la mécanique classique [11].

2-1. Champ de force :

Compte tenu de la taille des systèmes étudiés en biologie, l'utilisation de la mécanique quantique n'est pas possible (voir tableau ci-dessus). Les macromolécules sont représentées comme un ensemble d'atomes ponctuels dont les interactions sont décrites par un potentiel semi-empirique ou champ de force.

On appelle champ de force le modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire

Le champ de force exprime réellement la moyenne des interactions électroniques entre les atomes [12]. 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 [13]. La fonction d'énergie potentielle définit une énergie empirique, l'énergie totale étant décomposée en une somme de termes additifs représentant chacun des interactions inter atomiques. Elle est exprimée comme une somme de contributions de plusieurs types d'interaction [14-15]. 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 de couplages entre différents atomes ont été introduit. Le potentielle intramoléculaire peut s'écrire de façon générale

$$V_{\text{int ra}} = \sum_{\text{liaison}} V_{\text{élongation}} + \sum_{\text{angles}} V_{\text{courbure}} + \sum_{\text{anglesdiédres}} V_{\text{torsion}} + \sum V_{\text{croisé}}$$



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. On a donc

$$V_{\text{int ermoléculaire}} = \sum_{\text{atomes non liés}} V_{\text{van derWalls}} + \sum_{\text{atomes non liés}} V_{\text{électrostatique}}$$

Donc l'énergie stérique s'exprime par l'équation suivante :

$$E = E_{\text{stretching}} + E_{\text{bending}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{vdW}} + E_{\text{elec}} + E_{\text{hydrogen}}$$

Le terme « Stretching » représente l'élongation des liaisons.

Le terme « Bending » représente la variation des angles.

Le terme « Torsion » se rapporte a l'énergie de torsion des angles dièdres.

Le terme « VdW » rend compte des énergies d'interaction non covalente entre atome non liés.

Le terme « Elec » rend compte des énergies d'interaction électrostatiques entre atomes non liés.

Le terme « Hydrogen » rend compte des liaisons d'hydrogènes.

Il est important de noter que les champs de forces constituent une approche purement empirique. Ils sont paramétrés de manière à ce que l'ensemble des différentes contributions permette de reproduire une série de résultats expérimentaux. Un champ doit donc toujours être considéré comme une entité indivisible et il est exclu de combiner les termes et/ou les paramètres de deux champs dans l'espoir d'obtenir un meilleur ensemble [16]. En outre, le paramétrage vise souvent à ce que le champ de forces puisse traiter de manière réaliste une catégorie particulière de composés. On peut ainsi trouver des champs destinés plus spécialement à la modélisation de petites molécules organiques de macromolécule [17], de nucléotides [18] ou encore de complexes organométalliques [17]. Il est donc dans un premier temps important de vérifier si le champ choisi est adapté au système à étudier.

2-2. Différents champs de force en mécanique moléculaire :

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de différents paramètres. Les champs de forces en MM peuvent être groupés en trois classes principales [19] :

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

- **MM2/MM3/MM4 :**

MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col. [21-22]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [23] et MM4 (1996) [24] lui permettent de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

- **OPLS :**

Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indique son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Il est écrit par W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives [25].

- **GROMOS :**

GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), est écrit par Van Gunsteren [26] et conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines.

- **CHARM (Bio+) :**

Développé par Karplus et col [27-28], pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force est conçu pour les acides aminés et les protéines, maintenant il traite d'autres biomolécules.

-**SPASIBA :**

(Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating biomolecular conformational Adaptability), élaboré par Gérard Vergoten et col. (1995).

Il combine le champ de force spectroscopique modifié de Urey-Bradley-Shimanouchi [29] et le champ de force AMBER. Il permet de trouver les structures, les énergies de conformation et les fréquences vibrationnelles au minimum énergétique d'une molécule [30].

- Emo :

Le programme EMO (Energy Of Molecule), est developpe par B. Blaive [31-32-33-34], il est base sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :

- . Menu 1 : entrée de la molécule à l'aide d'un clavier.
- . Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.
- . Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire /

-AMBER:

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement), a été écrit par Kollman [35] .Le champ est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules. Dans le cadre de ces travaux, nous utiliserons ce champ de force, puisque on va traiter les protéines.

3-dynamique moléculaire :

La Dynamique Moléculaire simule, à partir des lois de la mécanique classique, les trajectoires des atomes en phase cristalline, en solution ou en phase gazeuse [36-37]. Elle donne l'évolution d'un système dans l'espace conformationnel au cours du temps. Une résolution numérique des équations classiques du mouvement est utilisée pour calculer l'énergie du système le long de son parcours sur la surface de potentiel du système.

II. 1. Principe :

Les simulations de dynamique moléculaire consistent à calculer les positions et les vitesses d'un système d'atomes [38].

En dynamique moléculaire classique [39-40], chaque atome de la molécule est considéré comme une masse ponctuelle dont le mouvement est déterminé par l'ensemble des forces exercées sur lui par les autres atomes en fonction du temps.

A une température donnée, une vitesse initiale est attribuée à chaque atome. A partir de ces vitesses, considérées constantes, la position des atomes change en $v_i \partial t$, ou v_i est la vitesse de l'atome i et ∂t est l'incrément de temps. Avec ces nouvelles coordonnées, on détermine les forces qui agissent sur chaque atome (équation 1) selon le champ de force et le potentiel utilisé, et selon la seconde loi de Newton, on attribue les nouvelles vitesses et positions.

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a}_i = m_i \frac{d^2 \vec{r}_i(t)}{dt^2} \quad (1)$$

Ou \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 .

Comme la montre l'équation de Newton, la vitesse et le sens du mouvement atomique dépendent des forces qui s'exercent sur les atomes. En pratique, les atomes possèdent une vitesse initiale propre qui se conforme à l'énergie cinétique totale du système. Cette énergie va dépendre de la température de simulation étudiée.

Tout en simulant une montée en température ; on fournit une énergie cinétique aux atomes correspondant à une certaine température. Cette énergie cinétique autorise le système à franchir des barrières de potentiel que les autres minimiseurs ne peuvent franchir.

Des vitesses v sont assignées aux atomes par tirage aléatoire suivant une distribution de Maxwell :

$$E_c = \frac{1}{2} \sum m_i \langle v_i \rangle^2 = \frac{3}{2} NK_b T$$

Ou $\langle v_i \rangle^2$: valeur du moyenne carré de la vitesse.

N : nombre d'atomes du système.

K_b : Constante de Boltzmann.

T : température absolue.

On peut alors démarrer une simulation, pour cela on calcule

* les accélérations a_i de l'atome i suivant la loi de Newton, (1) avec F_i : force appliquée sur l'atome i est calculée selon la relation : $\vec{F}_i = -d\vec{E}_p/r_i(t)$

* Les vitesses de chaque atome à partir de la connaissance des accélérations :

$$\vec{a}_i = d\vec{v}_i/dt$$

* les positions atomiques à partir des vitesses atomiques : $\vec{v}_i = d\vec{r}_i/dt$

Des intégrations successives de ces équations se faites en subdivisant la trajectoire en une série d'état discret séparés par des intervalles de temps très courts, ce qui conduit à une trajectoire en fonction du temps.

Connaissant la vitesse et l'accélération de l'atome i à l'instant t on peut connaître sa position à l'instant $t + \Delta t$:

Δt : Pas d'intégration ($\approx 10^{-15} s$)

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i \cdot \Delta t + 1/2 a_i \cdot \Delta t^2 \quad (2)$$

II. 2. Un calcul de dynamique moléculaire :

Une dynamique moléculaire se compose de quatre phases distinctes :

Initialisation :

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

Thermalisation :

Il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée.

On utilise comme structure initiale la structure minimisée.

On tire aléatoirement le jeu de vitesse initiale, soit à Zéro à des vitesses correspondants à quelques dizaines de Kelvin.

On intègre ainsi les équations du mouvement en multipliant régulièrement les vitesses afin d'augmenter la température jusqu'à la température de référence (généralement 300K).

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

Équilibration :

C'est une phase importante au cours de laquelle on stabilise la température du système, il y a alors un échange important entre énergie potentielle et énergie cinétique.

C'est une phase où on contrôle régulièrement la température que l'on ramène dans la fenêtre souhaitée. La température de déviation se fait suivant un processus de relaxation où la température est recalculée après chaque étape et ramenée à la température de référence par la formule :

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

Avec τ : temps de relaxation.

T_0 : Température de référence.

T : Température du système.

Durant la phase d'équilibration la valeur de τ doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement $\tau = 10$ fs)

Cette phase peut durer de 10 à 20 ps.

Dynamique ou production :

C'est la phase réellement exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100 ps.

Au cours de cette simulation, on doit sauvegarder les conformations, énergies...toutes les 0.05 ou 0.1 ps.

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

Il est conseillé d'enlever les contraintes ($\Delta t = 2$ fs) durant cette phase de dynamique.

4-. Docking moléculaire (Arrimage moléculaire) :

Connaitre la structure en trois dimensions des macromolécules et comprendre leurs mécanismes de complexation est fondamental pour la compréhension des systèmes biologiques, et donc essentiel dans de nombreux domaines.

Dans ce but, la chimie apporte sa collaboration à la biologie structurale qui s'intéresse quant à elle au rapport qui existe entre la structure des molécules et leur fonction biologique.

Cette union débouche sur des avancées couvrant différentes applications, telles que :

- La recherche pharmacologique (conception de médicaments en trouvant un ligand, c'est-à-dire une molécule médicamenteuse complémentaire, à assembler avec un récepteur membranaire connu).
- La biologie cellulaire (interaction entre macromolécules, protéines ou acides nucléiques, intervenant dans les cycles cellulaires)
- La recherche médicale (élaboration de nouveaux traitements visant les cellules une à une ...)

Cependant les outils de modélisation moléculaire sont particulièrement performants pour l'étude au niveau atomique d'interactions entre deux entités moléculaires et ce type d'étude fait appel le plus souvent aux techniques de « DOCKING ».

Le docking vise à prédire la structure d'un complexe formé par deux molécules, la formation de ces complexes est fondée sur la reconnaissance de la structure tridimensionnelle d'un ligand par un site récepteur et contrôle de l'activité de nombreuses molécules.

Le plus souvent, le récepteur est une protéine qui possède un ou plusieurs sites actifs spécifiques, plus ou moins accessibles selon les cas. Le ligand, est généralement une molécule flexible étrangère de petite taille. La liaison entre le ligand et le récepteur introduit un signal biologique qui peut avoir diverses formes [41].

Par exemple, certains récepteurs sont des protéines membranaires permettant le passage sélectif de certaines molécules (ions, nutriments) à l'intérieur de la cellule, d'autres sont des enzymes dont l'activité est fonction de l'affinité spécifique avec un substrat . . .

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 [42].

Toutes les méthodes de « docking moléculaire » peuvent être décomposées 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 [43].

Références :

- [1] J. Debord, Introduction à la modélisation moléculaire, 37-41. **2004**
- [2] H. Dugas, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théorique et pratiques, Chapitre3 introduction aux méthodes de minimisation d'énergie ,quatrième édition, Librairie de L'Université de Montréal. **1996**
- [3] B. Donald, K. Boyd,B. Lipkowitz, Molecular Mechanics. The Method and Its Underlying Philosophy.*J. Chem. Educ*, 59, 269. **1982**
- [4] E. Schrödinger, *Ann.Phys.Leipzig*, 79, 361, 489, 734. **1926**
- [5] Cours de post-graduation; option; chimie théorique: assuré par Dr. S. Mekelleche. **2000-2001**
- [6] P. Chaquin, Manuel de chimie théorique, application a la structure et la réactivité en chimie moléculaire, 190. **2000**
- [7] J. E. Williams, P. Von, R. Schleyer, *Ann.Rev.Phys.Chem*, 19, 531. **1968**
- [8] U. Burkert et N. L. Allinger, "Molecular Mechanics", American Chemical Society, Washington, D.C. **1982**
- [9] M. Baaden, Outils pour étudier la structure et la dynamique des peptides et des protéines, (Institut de Biologie Physico-chimique, PARIS) CNRS UPR9080, 36. **2003**
- [10] J. S. Lomas, *l'actualité chimique*, La Mécanique Moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire, 7. **1986**
- [11] D. Liotta, Advances in Molecular Modeling, *Ed. JAI Press*,1. **1988**
- [12] F. Jensen, Introduction to Computational Chemistry, *John Wiley & Sons, Chichester*. **1999**
- [13] G. Monard, Introduction a la Modelisation Moléculaire, Formation continue *CNRS-Nancy*. **2003**

- [14] J.P. Browen, N.L. Allinger, in: K.B. Boyd (Eds.), reviews in computational chemistry, *VCH, New York*, 2, 81. **1991**
- [15] P. Comba, T.W. Hambley, "Molecular Modelling of Inorganic Compounds", *VCH, New York*, **1995**
- [16] K. B. Lipkowitz, Abuses of molecular mechanics: Pitfalls to avoid. *J. Chem.*, 72, 1070-1075. **1995**
- [17] Biosym/MSI, Discover, user guide, ed. Biosym/MSI., S. Diego. **1995**
- [18] S.J. Weiner, P.A. Kollman, D.T. Nguyen, D. A. Case, An all-atom force field for simulations of proteins and nucleic acids. *J. Comp. Chem.*, 7, 230. **1986**
- [19] U. Dinur, A. Hagler, Reviews in computational Chemistry, (K. B. Lipkowitz, D.B. Boyd, Eds). *VCH, Weinheim*. 2, 99. **1991**
- [20] N.L. Allinger, K. Chen, J.A. Katzenellenbogen, S.R. Willson, G.M. Anstead, *J. Comp. Chem.*, 17, 747. **1996**
- [21] N.L. Allinger, *Adv. Phys. Org. Chem*, 13, 1. **1976**
- [22] N.L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 8127. **1977**
- [23] N.L. Allinger, Y.H. Yuh, J-H. Li, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 8522. **1989**
- [24] N.L. Allinger, K. Chen, J-H. Lii, *J. Comp. Chem*, 17, 642. **1996**
- [25] W.L. Jorgensen, J.T. Rives, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 1657. **1988**
- [26] W. F. Van Gunsteren, M. Karplus, *Macromolecules.*, 15, 1528. **1982**
- [27] B.R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B.D. Olafson, D.J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, *J. Comp. Chem.* 4, 187. **1983**
- [28] J.C. Smith, M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 805. **1992**
- [29] T. Shimanouchi, *Pure Appl. Chem.*, 7, 131. **1963**

- [30] F. Tristram, V. Durier, G. Vergoton, *Journal of Molecular Structure*, 378, 249-259. **1996**
- [31] A. Bouraoui, M. Fathallah, B. Blaive, R. Gallo, *J.Chem.Soc. Perkin Trans.*, 2, 1211-1214. **1990**
- [33] A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo, *Studies in Physical and Theoretical chemistry (Modeling of Molecular Structures and Properties. Proceeding of an International Meeting Nancy, France)*, J.L. Rivail., 71, 381. **1989**
- [33] A. Zinelabidine, A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo, *J. Mol. Struct.(Theochem)*, 286, 267. **1993**
- [34] B. Blaive, G. Legsaï, R. Laï, *J. Mol. Struct*, 354, 245. **1995**
- [35] S.J.Weiner, P.A.Kollman, T.Nguyent, D.A.Case, J. , *Comput.Chem.*, p.7, 230. **1986**
- [36] D. A. Case, D. A. Pearlman, J. W. Caldwell, T. E. Cheatham III, J. Wang, W. S. Ross, C. L. Simmerling, T. A. Darden, K. M. Mer, R. V. Stanton, A. L. Cheng, J. J. Vincent, M. Crowley, V. Tsui, H. Gohlke, R. J. Radmer, Y. Duan, J. Pitera, I. Massova, G. L. Seibel, U. C. Singh, P. K. Weimer et P. A. Kollman, *AMBER7*, **2002**.
- [37] P. A. Kollman, *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18, 105.
- [38] W. F. van Gunsteren, *Prot. Eng.* **1988**, 2, 5.
- [39] J. A. McCammon; S. C. Harvey, *Dynamics of Proteins and Nucleic Acids* Cambridge, **1987**.
- [40]D. Frenkel, B. Smit, *Understanding molecular simulations: From algorithms to applications*, Academic press: San, Diego, **1996**.
- [41] W. F. Van Gunsteren, H. J. C. Berendsen, *Computer simulation of molecular dynamics: Methodology, applications, and perspectives in Chemistry*, *Angew: Chem.Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 99-1023.

[42] P. Bamborough et F. E. Cohn, Modeling protein-ligand complexes, University of California, San Fransisci, **1995**.

[43] D. Duhovny, R. Nussinov, H. J. Wolfson, Efficient unbound docking of rigid molecules, **2002**.

I- Minimisation de l'énergie stérique :

Une fois le champ de force établi (expression de l'énergie choisie, constantes de force et valeurs de références calculées) on peut calculer l'énergie d'une structure moléculaire donnée. Le but de la mécanique moléculaire est alors, en fait, de déterminer la géométrie de la structure de façon à ce qu'elle ait une énergie minimale. Le rôle de la minimisation est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts intra atomiques. Les structures « minimisées » correspondent généralement au minimum local le plus proche de la structure de départ plutôt qu'au minimum global d'énergie.

Cette détermination de la conformation moléculaire de plus basse énergie est effectuée par minimisation de l'énergie. Elle peut se faire selon différentes méthodes mathématiques, leur principe étant d'ajuster (à partir d'une conformation initiale) les paramètres géométriques de la structure moléculaire de façon à minimiser la valeur de la fonction énergétique.

Le principe de base de la minimisation est qu'à partir d'une géométrie très approximative, on recherche le jeu de coordonnées cartésiennes qui réduit à son minimum la somme de toutes les contributions énergétiques dues aux déformations des coordonnées internes et aux interactions entre atomes non liés. En principe, il suffit de prendre la dérivée première de l'énergie stérique par rapport à chacun des degrés de liberté de la molécule et de trouver l'endroit sur l'hyper surface énergétique où, pour chaque coordonnée r_i , $(dE/dr_i) = 0$. Les procédures pour atteindre ce but sont de deux types : les unes utilisent uniquement la pente de la surface (dérivée première), les autres, à la fois cette pente et la courbure de la surface (les dérivées première et seconde). Presque toutes les méthodes de minimisation ont au moins un point en commun : on commence à un endroit donné de l'hyper surface et on descend vers le minimum le plus proche, sans savoir si ce minimum est local ou absolu. On doit donc présenter à l'ordinateur plusieurs conformations de départ, sous forme de coordonnées internes, en s'inspirant de modèles moléculaires [1].

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

Les minima locaux sont inévitables car les longueurs de liaison et les angles de valence sont rapidement optimisés au stade initial de la minimisation ; mais quand ces derniers ont atteint leur valeur d'équilibre, d'autres mouvements torsionnels sont inhibés puisque pour réduire d'avantage l'énergie totale du système il faut pouvoir déplacer plusieurs atomes [2].

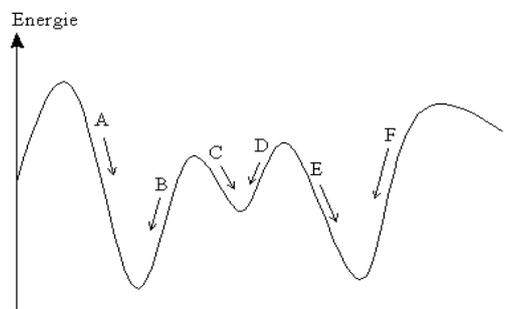


Figure 1 : Convergence de la fonction énergie vers un minimum global ou local selon la conformation initiale de la structure moléculaire.

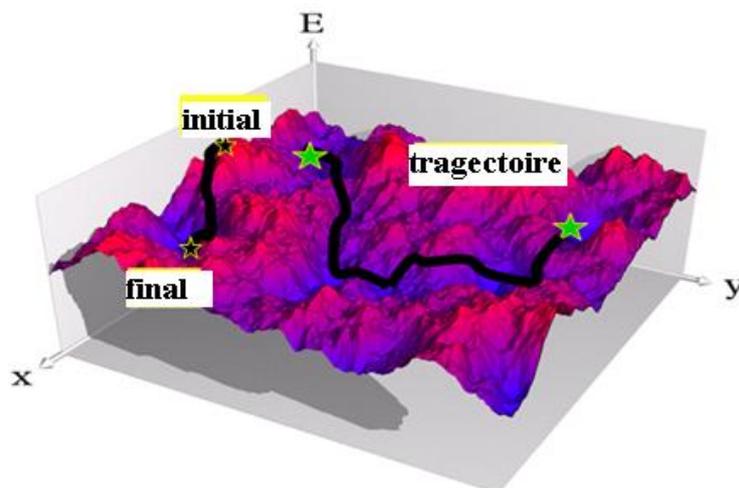


Figure 2 : Notion de surface d'énergie potentielle.

II- Méthodes de minimisation :

II-1 Méthode de minimisation "*steepest descent*" :

La méthode de minimisation "*steepest descent*" (de pente la plus importante) se base sur le calcul de la dérivée première de la fonction énergétique par rapport aux coordonnées géométriques afin de déterminer la distance au minimum énergétique le plus proche et dans quelle direction modifier les coordonnées de chaque atome de la structure.

Cette méthode a l'avantage de converger très rapidement lorsque la conformation initiale de la structure est éloignée d'un minimum énergétique, mais la convergence autour de ce minimum est très lente. C'est pourquoi elle est souvent utilisée en première approximation, dans le but de diminuer les calculs. Cette méthode marche bien lorsque le gradient r est grand et possède une faible convergence car ce dernier devient rapidement faible à l'approche du minimum [3].

II-2 La méthode de minimisation "*conjugate gradient*" :

La méthode de minimisation "*conjugate gradient*" (de gradient conjugué) se base sur le calcul du gradient de la fonction énergétique par rapport aux coordonnées géométriques afin de déterminer la distance au minimum énergétique le plus proche et dans quelle direction modifier les coordonnées de chaque atome de la structure.

Le gradient correspondant à une conjugaison des dérivées premières entre elles, cette méthode reprend donc, de manière plus précise, le principe des méthodes de minimisation de type "*steepest descent*".

Cette méthode a l'avantage de donner des résultats plus précis que la méthode "*steepest descent*" mais nécessite des temps de calcul importants lorsque la structure est éloignée d'un minimum énergétique. C'est pourquoi elle est souvent utilisée à la suite de la méthode "*steepest descent*", dans le but d'obtenir des

résultats plus précis. On rencontre des problèmes de calcul lorsque la conformation initiale est loin du minimum [4].

II-3- La méthode de minimisation de *Newton-Raphson* :

La méthode de minimisation de Newton-Raphson se base sur le calcul du gradient de la fonction énergétique par rapport aux coordonnées géométriques afin de déterminer dans quelle direction en modifier les coordonnées de chaque atome de la structure pour minimiser l'énergie. La distance au minimum énergétique le plus proche, dans cette direction, est alors déterminée à partir des dérivées secondes de la fonction énergétique.

Cette méthode à l'avantage de conduire à des résultats très précis mais nécessite des temps de calcul très importants. C'est pourquoi il est nécessaire de la mettre en œuvre en association avec les méthodes "*steepest descent*" ou "conjugate gradient" dans le but de limiter les calculs les plus importants à des structures proches d'un minimum énergétique. On peut rencontrer des problèmes lorsque la conformation initiale est éloignée du minimum [4].

II-4- Méthode du recuit simulé :

Les méthodes précédentes ont la particularité de faire décroître à chaque pas la fonction d'énergie ; elles ne peuvent donc pas échapper au minimum local proche de la structure de départ, et ont par conséquent un rayon de convergence toujours restreint. La méthode du recuit simulé, développée par Kirkpatrick (1983), autorise la fonction d'énergie à augmenter momentanément afin de franchir des barrières d'énergie pour retomber dans un minimum plus profond. Le franchissement de ces barrières permet d'aller au-delà des minima locaux au voisinage de la structure initiale pour explorer de façon plus extensive l'espace conformationnelle accessible, afin de découvrir des minima plus profonds et plus éloignés de la structure initiale que les minima locaux [2].

II-5- Méthode du simplex :

- Elle se limite à un calcul direct de l'énergie observé si elle augmente ou diminue.
- Elle fonctionne bien si on a 20 variables ou moins.
- Elle consiste en essais successifs représentant une triangulation de l'hypersurface ; C'est à dire qu'on examine le sens et l'amplitude des variations de la fonction dans différentes directions pour suivre celles qui mènent vers un minimum. Néanmoins, il devient nécessaire de disposer d'une procédure qui part d'une structure approchée et déplace les atomes vers leurs coordonnées optimales d'une façon moins aléatoire [2].

II-6- Conjugaison des différentes méthodes de minimisation :

Compte tenu des avantages et limitations de chacune des méthodes de minimisation de l'énergie, celles-ci sont le plus souvent conjuguées afin d'utiliser leur vitesse de convergence et leur précision dans leur domaine d'application.

Ainsi, en mécanique moléculaire, la minimisation d'une structure moléculaire met souvent en œuvre un calcul de type "conjugate gradient", permettant une convergence rapide vers le minimum énergétique le plus proche, suivi d'un calcul de type Newton-Raphson, permettant une convergence précise vers ce minimum.

III-Analyse conformationnelle :

L'analyse conformationnelle est une méthode qui permet de calculer l'énergie relative associée à la conformation d'une molécule [2]. Son but est donc de trouver le plus de minima possible, et de calculer la population de Boltzmann [5].

$$\left. \begin{array}{l} N_i = N_0 \exp(-E_i / KT) \\ N_j = N_0 \exp(-E_j / KT) \end{array} \right\} \Rightarrow N_i / N_j = \exp(-\Delta E_{ij} / KT)$$

E_i : Energie de la molécule.

K : Constante de Boltzmann.

T : Température (Kelvin).

Les molécules flexibles présentent un nombre astronomique de conformations différentes, mais les plus importantes sont celles ayant une énergie libre

suffisamment basse pour qu'elles puissent être peuplées à des températures raisonnables [6].

Un des modèles les plus réussis utilisés en chimie computationnelle est la surface d'énergie potentielle (Potential Energy Surface « PES ») figure 3. C'est une représentation remarquable des molécules individuelles, des complexes moléculaires et des interconversions conformationnelles. Elle permet aussi de faire le lien entre les concepts chimiques clés et les caractéristiques géométriques de base des surfaces. Dans le cas de l'analyse conformationnelle, les minima et les points de selle (saddle points) sur la PES sont les caractéristiques les plus importantes. Les minima correspondent à des conformations d'énergie minimale et les points de selle à des états de transition associés à des interconversions conformationnelles [6].

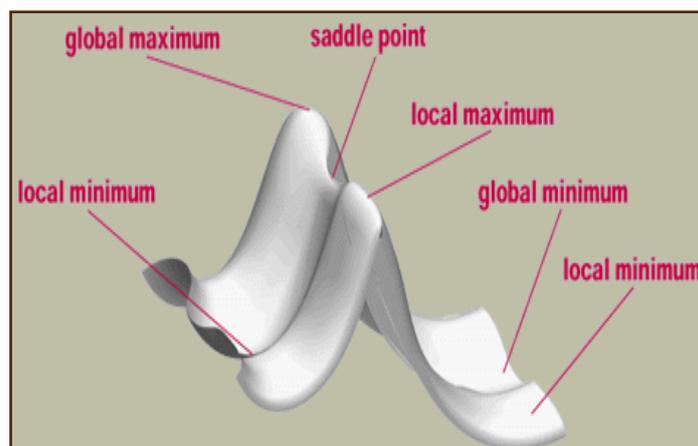


Figure 3 : surface d'énergie potentielle

En analyse conformationnelle, un grand nombre de géométries de départ de haute énergie sont générées, minimisées et stockées. Pour que la recherche soit minutieuse, les géométries de départ brutes doivent couvrir toute la surface d'énergie potentielle. Dans le cas contraire, on n'est pas sûr de trouver tous les minima [5].

Certaines méthodes de recherche conformationnelle sont destinées au traitement des petits cycles, des peptides acycliques et des molécules organiques [7, 8,9], d'autres pour les petites protéines [4], des polymères [10] et les hydrates de carbone [11].

Dans le paragraphe précédent, on suppose une surface d'énergie potentielle parfaite. Toutefois, en pratique, la fonction d'énergie potentielle et la surface d'énergie sont sujettes à beaucoup d'approximations. En effet, il y a de nombreuses fonctions d'énergie potentielle utilisées basées soit sur la mécanique quantique soit sur la mécanique moléculaire. Malgré la précision des potentiels de la mécanique quantique, ceux de la mécanique moléculaire sont exclusivement utilisés en analyse conformationnelle puisqu'elle permet de traiter de grosses molécules. Il est à noter cependant, que des champs de force différents génèrent des surfaces de potentiel différentes, ainsi la localisation des minima locaux dépend du champ de force utilisé. Les différents champs de force donnent en général les mêmes résultats pour de petites molécules, mais présentent des divergences dans les conformations des molécules plus complexes [6]. Par exemple, il apparaît 262 conformations d'énergie minimale pour le cycloheptadécane, la plus basse étant à 3 Kcal/mol avec MM2, et seulement 134 conformations avec MM3 [8].

L'analyse conformationnelle permet de trouver les minima et les points de selle, et d'identifier les interconversions impliquant des petites barrières énergétiques. Pour cela il faut générer un ensemble de structures d'essai, et passer à la minimisation ensuite. Dans un système moléculaire sans contrainte et avec un nombre d'atomes $n > 2$, le nombre de degrés de liberté est égal au nombre de coordonnées internes c'est à dire $3n - 6$. Lors de la minimisation de l'énergie, l'ensemble des structures d'essai est généré en faisant varier les degrés de liberté les plus flexibles à savoir les angles dièdres [6]. De façon générale, pour les liaisons simples, la modification d'un angle dièdre coûte moins cher en Kcal/mol que la déformation d'un angle de valence qui, à son tour, est plus facile que l'élongation d'une liaison. On dit que les angles dièdres sont plus mous que les autres coordonnées internes [1]. Pour pouvoir faire varier tous les angles dièdres d'une molécule, on dresse une grille pour obtenir toutes les possibilités combinatoires. Ainsi, une molécule avec trois angles dièdres va générer 216 conformations si l'incrément d'angle est de 60° c'est à dire 63. Pour une molécule ayant six angles dièdres on atteindra déjà 46656 conformères, tandis qu'avec neuf angles on arrive à plus de 10 millions de conformations possibles [2].

La recherche et la localisation des structures des états d'équilibre et de transition sur l'hypersurface d'énergie potentielle d'un système moléculaire sont nécessaires pour la détermination des propriétés thermodynamiques et cinétiques, de même que pour l'interprétation de spectres de vibration et de rotation. Des techniques spéciales d'optimisation de géométrie ont été élaborées pour cela [12].

L'optimisation de la géométrie d'un système moléculaire consiste à trouver la géométrie de ce système qui correspond à l'énergie la plus basse du système. C'est pourquoi ces méthodes sont dites de minimisation. Il est important de préciser que ces dernières s'appliquent au voisinage des points stationnaires, donc pour des petites variations de la géométrie. Ceci est dû au fait que ces méthodes partent toutes du développement de l'énergie en série de Taylor qui n'est valable que pour un petit écart de la position d'équilibre recherchée.

Elles peuvent être en défaut et déceler un minimum global englobant ainsi plusieurs minimums locaux, si la géométrie de départ est trop éloignée de celle de l'état d'équilibre [13].

Donc, l'analyse conformationnelle reste un moyen efficace de prédiction des conformations stables d'une structure moléculaire correspondant aux minima de son énergie intramoléculaire. L'énergie calculée mesure la différence entre l'énergie de la structure moléculaire considérée et celle d'une structure hypothétique dont toutes les coordonnées prendraient leurs valeurs de référence. Sa valeur absolue dépend du champ de force considéré, c'est-à-dire des fonctions d'énergie potentielle et des paramètres utilisés. Les valeurs de cette énergie sont toutefois très utiles lorsqu'il s'agit de comparer la stabilité relative des conformations ou des stéréo-isomères d'une même molécule [2].

Références:

- [1] J. S. Lomas, l'actualité chimique. **1986**
- [2] H. Dugas, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l'Université de Montréal, **1996**
- [3] G. Vergoten, Cours de Modélisation moléculaire, professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille.
- [4] M. J. Dudeck, H. A. Scheraga, *J. Comput.Chem*, 11, 121. **1990**
- [5] J. Bartol, P. Comba, M. Melter, M. Zimmer, *J. Comput. Chem*, 20, 1549. **1999**
- [6] G. Keserü, I. Kolossvary, Molecular Mechanics and Conformational Analysis in Drug Design, Department of Chemical Information Technology, Technical University of Budapest, Blackwell Science Ltd. **1999**
- [7] J. Thomas Ngo and M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc*, 119, 5657. **1997**
- [8] I. Kolossvary and W. C. Guida, *J. Am. Chem. Soc*, 118, 5011. **1996**
- [9] H. Senderowitz, F. Guarieri, W. C. Still., *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 8211. **1995**
- [10] E. Leontidis, J.J. de Pablo, M. Laso, U.W. Suter, *Adv. Plym. Sci*, 116, 283. **1994**
- [11] C. W. Von Der Lieth, T. Kozar, W. E. Hull, *Theochem. J. Mol. Struct*, 395, 225. **1997**
- [12] A. Hinchliffe, Modelling Molecular structures, *John Wiley and Sons, New York*, **1994**.
- [13] S. Djennane – Bousmaha, Thèse de doctorat, USTHB Alger, Algérie, **1999**

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

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

Les protéines sont des polymères d'acides aminés liés les uns aux autres dans un ordre précis. Présentes chez les organismes vivants et essentiels à leur fonctionnement, ces macromolécules complexes et variées sont spécifiques à chaque espèce vivante et à chaque organe. Chaque cellule en fabrique en moyenne 15 000 sortes différentes, et un corps humain, près de 100 000, soit 50% du poids d'un être vivant.

Les protéines sont des molécules organiques complexes représentant un composant important des organismes vivants. Elles agissent comme des enzymes dans différentes réactions chimiques au sein de notre corps, l'ADN serait inopérant en leur absence.

Elles sont aussi importantes dans le processus de défense immunitaire et sont souvent l'élément clé dans beaucoup de maladies. Par conséquent, leur étude a une énorme importance dans la compréhension du fonctionnement du corps humain et dans la lutte contre les maladies mortelles. À cause de la très grande complexité des protéines, (la taille moyenne d'une protéine est de plusieurs milliers d'atomes), un traitement informatique est nécessaire pour analyser leur structure.

I-Acides aminés :

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. Ils sont tous constitués d'un atome de carbone (figure 1) lié à :

- . Un groupement carboxylique -COOH .
- . Une fonction amine -NH_2 .
- . Un atome d'hydrogène.
- . Une partie variable R.

Dans la nature, les acides les plus courants sont les 2-aminoacides, appelés les α -aminoacides.

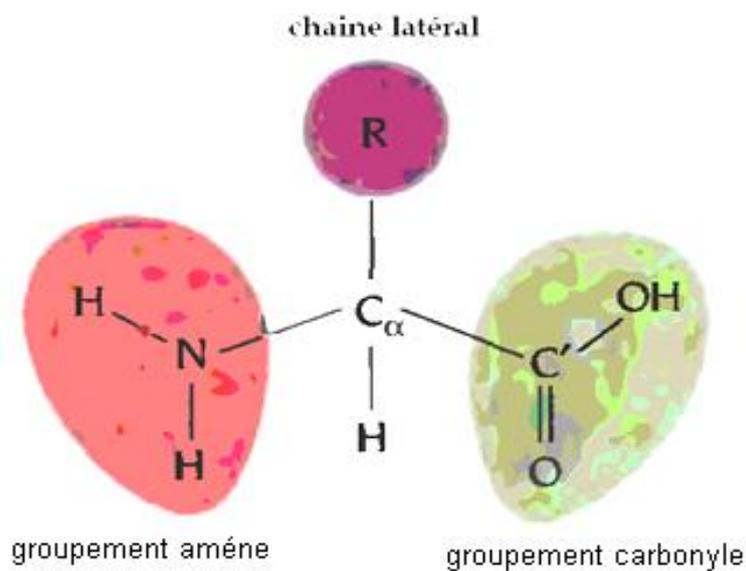


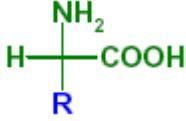
Figure 1 : acide aminé.

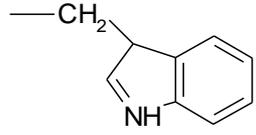
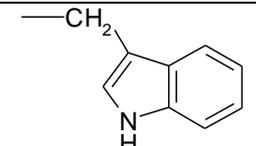
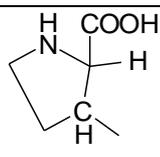
. Tous les acides aminés naturels adoptent la configuration S (sauf la glycine), et appartiennent à la série L.

La différence entre ces vingt acides aminés se situe au niveau de leur radical, en effet on dénombre vingt radicaux différents. Ces groupements spécifiques sont dits « chaîne latérale » et selon lesquels, on peut classer les acides aminés comme suit :

- . Ceux dont les radicaux sont basiques (arginine, histidine, lysine).
- . Ceux dont les radicaux sont acides (acide aspartique, acide glutamique).
- . Ceux qui possèdent les radicaux non chargés (glutamine, sérine, thréonine).

Tableau 1: Principaux acides aminés.

							
R	Nom	Code à trois lettres	Code à une lettre	R	Nom	Code à trois lettres	Code à une lettre
H	Glycine	Gly	G	—CH ₂ SH	Cystéine	Cys	C
CH ₃	Alanine	Ala	A	—CH ₂ CH ₂ SCH ₃	Méthionine	Mét	M
—CHCH ₃ ₂	Valine	Val	V	—CH ₂ ₄ NH ₂	Lysine	Lys	K
—CH ₂ CH CH ₃ ₃	Leucine	Leu	L	—CH ₂ ₃ NHCNH ₂	Arginine	Arg	R

$\begin{array}{c} \text{---CHCH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Isoleucine	Ile	I		Histidine	His	H
$\begin{array}{c} \text{---CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	Phenylalanine	Phe	F		Tryptophane	Trp	W
	Proline	Pro	P	$\text{---CH}_2\text{COOH}$	Acide aspartique	Asp	D
$\text{---CH}_2\text{OH}$	Serine	Ser	S	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{---CN}_2\text{CNH}_2 \end{array}$	Asparagine	Asn	N
$\begin{array}{c} \text{---CHOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Thréonine	Thr	T	$\text{---CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$	Acide glutamique	Glu	E
$\begin{array}{c} \text{---C---} \\ \\ \text{H}_2 \end{array} \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{OH}$	Tyrosine	Tyr	Y	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{---CH}_2\text{CH}_2\text{CNH}_2 \end{array}$	Glutamine	Gln	Q

I-1- Propriétés physiques :

Les acides aminés (AA) sont des solides blancs cristallisés qui se décomposent avant de fondre (ils perdent l'acide carboxylique).

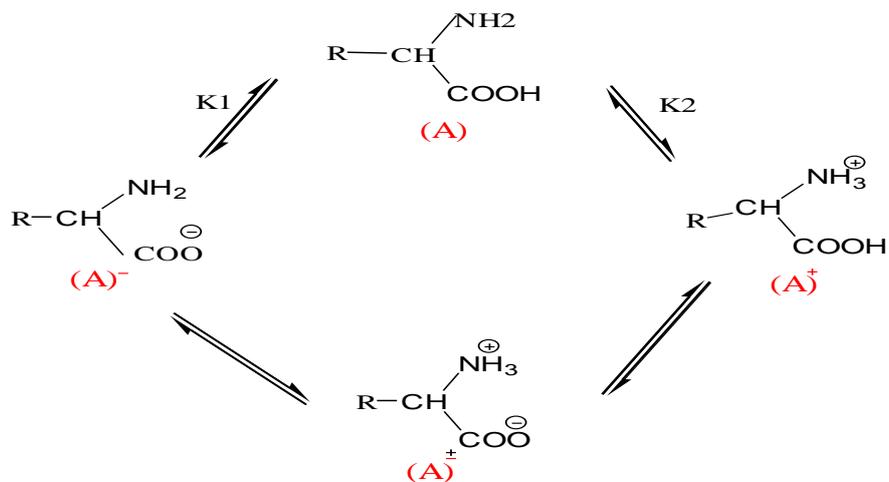
La solubilité des AA est en rapport avec leurs structures polaires et dépend de plusieurs facteurs :

- . La nature de la chaîne R.
- . Le pH de la solution.
- . La nature des ions présents dans la solution.

Pouvoir rotatoire : les solutions d'acides aminés sont optiquement actives. Les aminoacides naturels appartiennent à la série L (les formes D sont exceptionnelles, on les retrouve surtout chez les bactéries).

I-2- Propriétés chimiques :

Tous les aminoacides possèdent au moins deux groupes ionisables.



Le point isoélectrique ou isoionique : est un pH intermédiaire où l'acide aminé est neutre et n'a aucune charge. Ce pH est calculé par : $pH = (pK_1 + pK_2)/2$.

II- Les peptides :

Les acides aminés peuvent se lier les uns aux autres par une liaison peptidique (figure 2) qui se fait entre le groupement acide d'un acide aminé et le groupement amine de l'autre. Au cours de la réaction, une molécule d'eau est éliminée ; il s'agit donc d'une réaction de condensation.

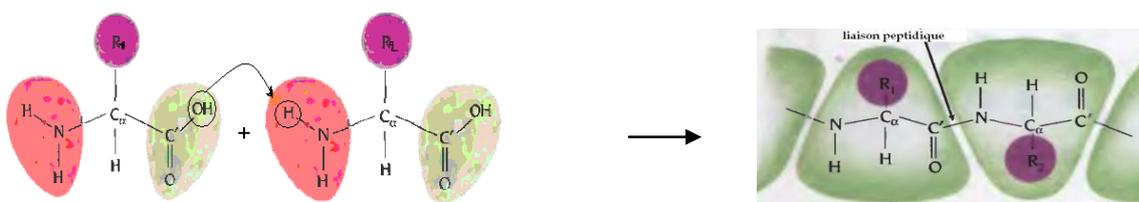


Figure 2 : Fragment d'un polypeptide illustrant la liaison peptidique

- **Structure de la liaison peptidique :**

Le plan rigide de la structure peptidique (figure 3) interdit la rotation des atomes des fonctions acide et amine. Les seules liaisons dont l'orientation reste libre sont celles qui entourent chacun des carbones asymétriques porteurs des radicaux des acides aminés.

La liaison (C_{α} -NH) située à l'extrémité NH_2 -terminale peut tourner librement : l'angle de rotation de cette liaison est appelée l'angle Φ (phi).

La liaison (C_{α} -CO) situé à l'extrémité $COOH$ -terminale peut tourner librement : l'angle de rotation de cette liaison est appelé angle Ψ (psi).

La liaison peptidique (NH-CO) est de caractère partiellement double dont la rotation est restreinte, l'angle de rotation de cette liaison est appelé angle ω (oméga) et adoptera généralement la valeur de 180° (trans) ou parfois de 0° (cis). Les angles Φ et ψ demeurent eux aussi habituellement près de 180° (trans) mais avec un peu plus de variation que l'angle ω , grâce à leur caractère de liaison simple. La structure secondaire d'une protéine dépend de la valeur de ces deux angles, pour chaque acide aminé, en fonction des liaisons hydrogènes qui unissent les atomes (carbonyle et amine) des liaisons peptidiques.

Les peptides sont des composés naturels ou synthétiques qui résultent de l'enchaînement d'un nombre limité d'acides aminés par des liaisons peptidiques.

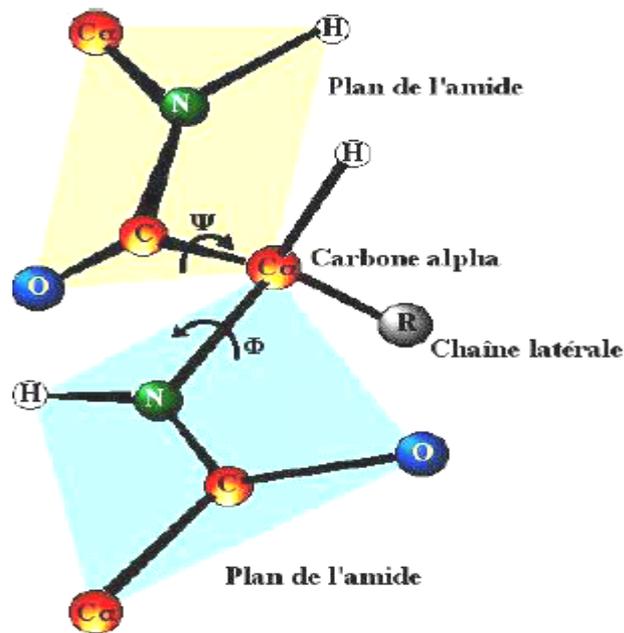
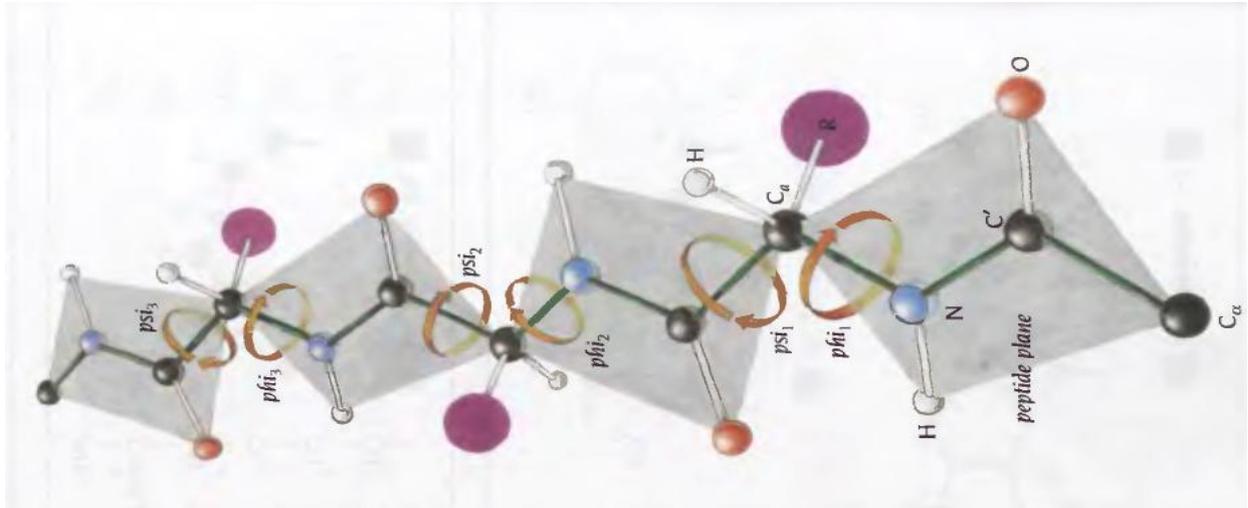


Figure 3 : Degré de liberté de la rotation de la liaison peptidique.

III- Protéines :

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 [1].

Les protéines forment la classe la plus nombreuse et la plus diversifiée des molécules biologiques, elles constituent plus de 50% du poids sec des cellules. Cette abondance reflète le rôle ubiquitaire des protéines dans pratiquement tous les aspects structuraux et fonctionnels de la cellule. Les protéines sont les agents des fonctions biologiques ; elles expriment aussi l'information génétique.

Les protéines sont de grosses molécules ou macromolécules qu'interviennent dans de nombreuses fonctions organiques. Elles sont constituées d'acides aminés (ou résidus) liés entre eux par des liaisons peptidiques entre le groupe α -carboxylique d'un acide aminé et le groupe α -aminé de l'acide aminé suivant. Une protéine est donc une chaîne d'acides aminés, appelée chaîne polypeptidique, pouvant contenir jusqu'à des dizaines de milliers de résidus. Ces chaînes de résidus ont une structure flexible ce qui leur permet de se replier en une forme appelée structure native [2].

Plusieurs techniques expérimentales permettent d'obtenir la structure 3D des protéines : la diffraction des rayons X sur des cristaux de protéines, la résonance magnétique nucléaire (RMN), la cryomicroscopie. Ces méthodes nous fournissent les coordonnées spatiales des atomes constituant les protéines. Plus de 29000 structures ont été résolues à ce jour et sont disponibles via la Protein Data Bank [3].

III-1 Pourquoi modéliser les protéines ?

En un mot, parce qu'elles sont le moteur derrière les processus biochimiques. En effet, qu'il s'agisse d'un processus normal tel que la croissance d'une plante ou d'un processus anormal à l'origine d'une maladie, il y a fort à parier que celui-ci est dû à la présence d'une protéine. En conséquence, les protéines représentent des cibles tout à fait intéressantes dans le cadre de traitements médicamenteux [1].

Les structures cristallines des protéines sont disponibles pour seulement une fraction de protéines connues. Avec ces structures, nous pouvons visualiser la protéine et comprendre son fonctionnement.

III-2- Structures des protéines :

- **Structure primaire** : elle correspond à l'ordre selon lequel les divers acides aminés sont unis les uns aux autres par des liaisons peptidiques.
- **Structure secondaire** : est un premier niveau de repliement adopté par des portions de la protéine, résultant d'interaction entre des acides aminés voisins de la chaîne. On distingue deux structures principales ; L'hélice α et le feuillet β .
- **Structure tertiaire** : correspond à la façon selon laquelle celle-ci se dispose dans l'espace. Les protéines fibreuses présentent une conformation très ordonnée, tandis que les autres protéines, telles que les enzymes, se replient sur elles-mêmes de manière à former des structures fortes et complexes.
- **Structure quaternaire** : concerne les protéines qui sont constituées d'un certain nombre de sous-unités protéiques [3].

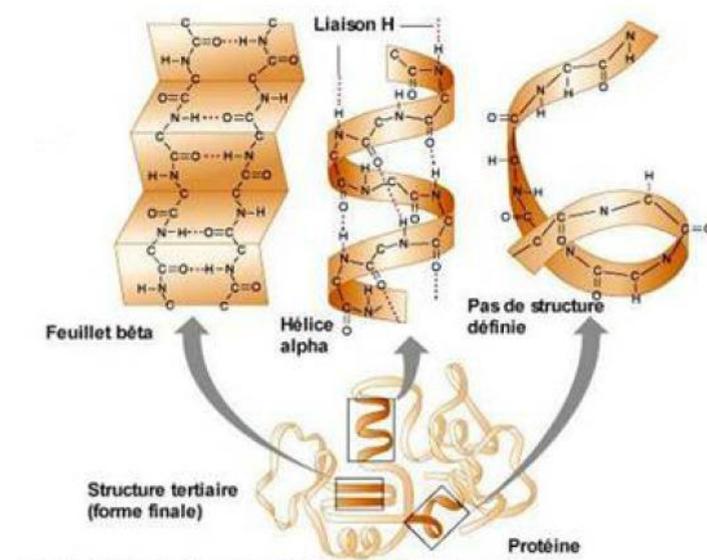


Figure 4 : Motifs de structure protéique.

Le problème principal de la prédiction de structures est de prédire la structure d'une protéine à partir de sa séquence d'acides aminés. Ce problème est extrêmement difficile à résoudre et est reconnu comme l'un des grands défis de la bio-informatique actuelle [4, 5, 6,7, 8].

III-2-i- Hélice α :

Résulte de l'enroulement de la chaîne protéique de façon à ce que les liaisons peptidiques qui en constituent l'épine dorsale aient la possibilité de former des liaisons hydrogènes entre elles. L'hélice α est stabilisée par des liaisons hydrogènes entre les résidus. Ces liaisons sont formées entre l'atome H d'un azote peptidique et l'atome d'oxygène d'un groupement carbonyle distant de 4 résidus dans la structure primaire.

Dans une hélice α , chaque résidu est relié au précédent par une translation de 1.5\AA le long de l'axe par rotation de 100° ; ce qui donne environ 3.6 résidus par tour d'hélice et un pas de 5.4\AA [4].

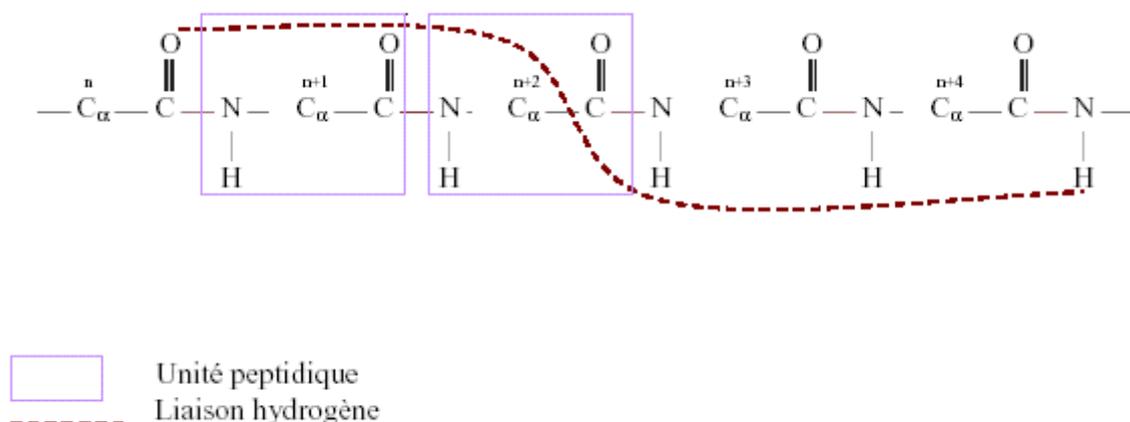


Figure 5 : Schéma des liaisons hydrogènes des principales hélices polypeptidiques.

III-2-ii- Feuille β :

- Dans le feuillet β , les liaisons hydrogène intermoléculaires stabilisent l'alignement ordonné des chaînes peptidiques. Les chaînes polypeptidiques (ou brins) voisines sont alors dites parallèles si leurs bouts N-terminaux sont tous du même côté et antiparallèles dans le cas contraire (figure 6).

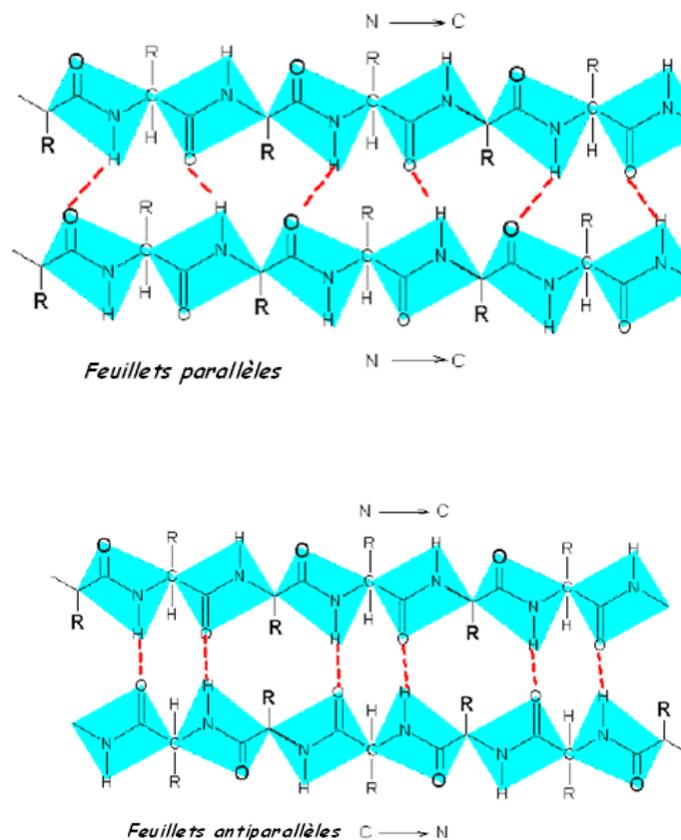


Figure 6 : Feuillets β , parallèles et antiparallèles. Les liaisons hydrogène sont dessinées en rouge.

III- 3 Le repliement des protéines :

Les radicaux des acides aminés ont des propriétés chimiques différentes. Certains sont hydrophobes, d'autres hydrophiles, certains s'ionisent négativement et

d'autres positivement. Certains radicaux peuvent former des liaisons chimiques plus ou moins fortes avec d'autres radicaux. Il peut donc y avoir dans une chaîne d'acides aminés des interactions entre les radicaux. Certains se repoussent et d'autres se rapprochent et forment des liens chimiques. La chaîne d'acides aminés aura donc tendance à se replier sur elle-même pour adopter une structure tridimensionnelle précise [9].

Les forces qui stabilisent la forme pliée :

- Liaisons hydrogènes intramoléculaire
- Entropie de déshydratation.
- Interactions hydrophobes.
- Ponts salins.
- Interactions dipolaires.

Les forces qui déstabilisent la forme pliée :

- Liaisons hydrogènes avec l'eau.
- Perte d'entropie configurationnelle.

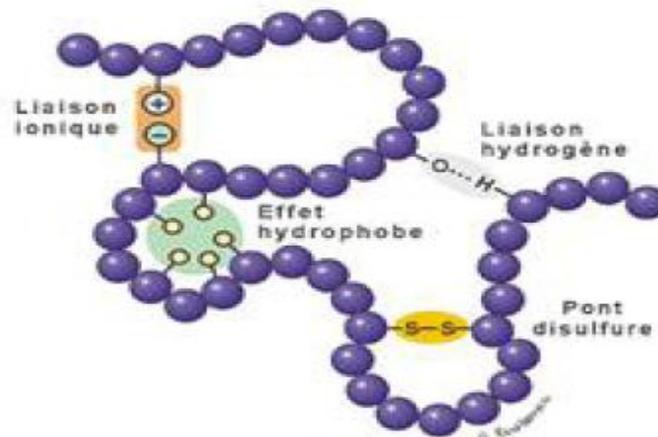


Figure 7 : Illustration de différent type de force qui influence la structure des protéines.

IV- Enzymes :

1-introduction

Dans les systèmes biologiques ; c'est à dire à des températures en général inférieur ou égale à 37°C, les réactions chimiques du métabolisme se produisent rarement spontanément, mais sont le plus souvent catalysées par des protéines particulières que l'on appelle des enzymes.

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

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

Les enzymes sont des protéines qui jouent le rôle de catalyseur cellulaire. Elles sont constituées des milliers d'acides aminés liés en une chaîne linéaire. Ces acides aminés diffèrent dans leur nature chimique, sont liés entre eux par des liens covalents appelés liens PEPTIDIQUES. Un catalyseur est une substance qui modifie la vitesse d'une réaction chimique mais qui se retrouve inchangée à la fin de la réaction. En termes plus techniques, un catalyseur est une substance qui abaisse l'énergie d'activation d'une réaction chimique.

Actuellement plusieurs milliers d'enzymes sont connues, la séquence des acides aminés est près de trois milles dont la plupart a été élucidée. De nombreuses parmi elles sont utilisées industriellement (biotechnologies, lessives, jus de fruits, production de sucre à partir d'amidon, traitement des peaux, des fibres textiles etc.) et d'autres sont de merveilleux outils dans la recherche biomédicale.

2-Site actif :

Le site actif d'une enzyme est la région privilégiée de l'enzyme qui interagit avec le substrat. Les acides aminés du site actif peuvent être divisés en deux groupes :

- Ceux qui interviennent à la reconnaissance spatiale du substrat, en formant avec lui des liaisons non-covalentes (site de fixation).
- Ceux qui participent à la transformation chimique du substrat en produit (site catalytique).

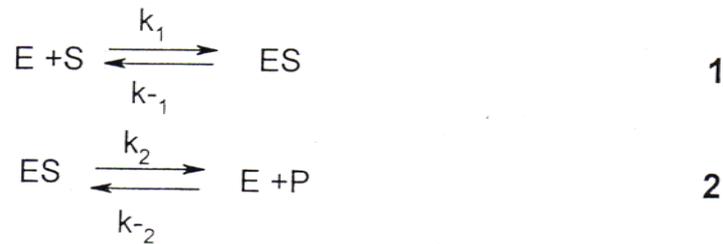
Les autres acides aminés sont nécessaires soit au maintien de la conformation tridimensionnelle active de l'enzyme, soit au maintien de l'enzyme vis-à-vis d'autres protéines.

L'insertion des fragments (atomes) dans le site actif est basée sur le principe de complémentarité stérique et électronique entre ligand et récepteur.

3- Cinétique Enzymatique :

La cinétique est la science qui a pour objet l'étude de la vitesse des réactions chimiques. La cinétique enzymatique englobe le rôle biologique des catalyseurs enzymatiques et les mécanismes qui permettent leur activité catalytique. Avec la cinétique enzymatique, on cherche à déterminer la vitesse maximale de la réaction que l'enzyme catalyse et à mesurer son affinité pour les substrats et les inhibiteurs. La connaissance précise de la cinétique enzymatique est indispensable pour la conception rationnelle d'un nouveau médicament et le succès de son action pharmacologique [10].

La cinétique enzymatique a fait l'objet d'études au début des années 1900. Leonor Michaelis et Maud L. Menten ont proposé en 1913 [11] une théorie générale de l'action enzymatique compatible avec les résultats expérimentaux. Leur modèle cinétique est basé sur la formation du complexe enzyme-substrat selon les étapes suivantes :



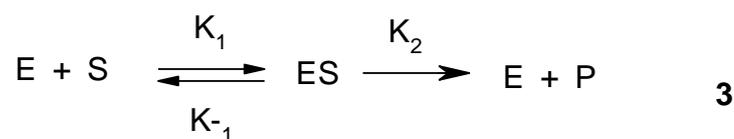
Avec k_1 , k_{-1} , k_2 et k_{-2} sont des constantes de vitesse.

Michaelis et Menten résolurent le système réactionnel en posant les hypothèses simplificatrices suivantes :

- les mesures de cinétique seront toujours faites pour des concentrations de produit très faibles : c'est la mesure de la vitesse initiale (v_i) pour $[P] = 0$ et $[S] = [S]_0$. où $[S]_0$ est la concentration du substrat à l'instant initial.
- La concentration totale du substrat $[S]_0$ est grande devant celle de l'enzyme $[E]_0$.

Dès l'addition de l'enzyme dans la solution de substrat, il s'établit un équilibre rapide entre les formes libres de l'enzyme, du substrat et du complexe, on parle d'hypothèse du pré-équilibre.

Le schéma réactionnel s'écrit ainsi :



3- Comment fonctionnent les enzymes ?

Les enzymes accélèrent des réactions chimiques qui peuvent se produire naturellement, mais à des vitesses beaucoup plus lents. 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.

4- Catalyse enzymatique :

Les enzymes sont de bons catalyseurs car elles peuvent augmenter la vitesse de réaction d'un facteur allant de 10^4 à 10^6 . Elles ne modifient pas la position de l'équilibre de la réaction mais seulement la vitesse d'inter- conversion entre substrat et enzyme.

Un catalyseur a pour effet d'abaisser l'énergie d'activation en favorisant la stabilité de l'état de transition. Les énergies des réactifs et des produits restent inchangées, ce qui explique pourquoi le rapport à l'équilibre de ces diverses molécules ne varie pas.

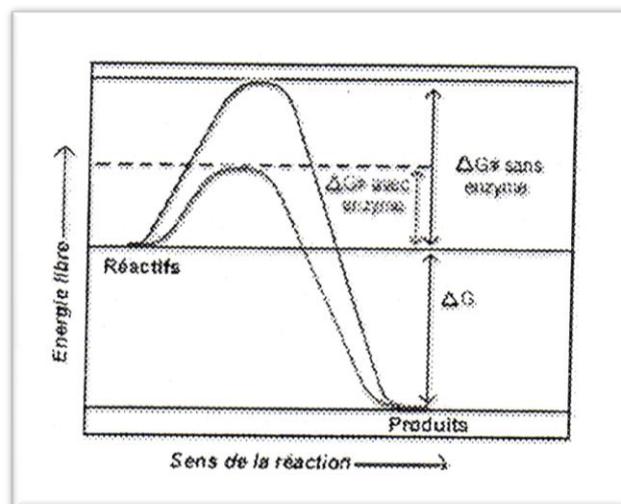


Figure 12 : Représentation de la catalyse enzymatique.

- Catalyse acide-base: dans les sites actifs des enzymes, il y a des groupements acides carboxyliques ou aminés qui sont donneurs ou accepteurs de protons. Ceci permet donc de réaliser des réactions catalysées par les bases ou les acides.
- Catalyse covalente: des groupements tel les thiols ou les aminés sont des nucléophiles susceptibles d'attaquer les groupements électrophiles de substrat pour former des intermédiaires covalents hautement réactifs, ceux ci peuvent être attaqués à nouveau par de l'eau de façon à libérer le produit.
- Catalyse par la chymotrypsine: cette enzyme coupe la liaison peptidique des chaînes latérales aromatiques. Cette spécificité est due à la présence de groupements hydrophobes sur la chaîne. Le substrat est maintenu en place par l'interaction entre la poche hydrophobe et la chaîne latérale aromatique.

5- Le complexe enzyme – substrat :

Une fois que le substrat s'est rapproché de l'E, on constate une restriction des possibilités de rotation et de translation du substrat. Ceci est dû à des interactions faibles entre enzyme et substrat. Ces interactions sont nécessaires à la réaction. En effet, les réactions intramoléculaires sont accélérées lorsque les mouvements internes des molécules sont bloqués. De plus, les enzymes favorisent l'orientation des molécules de substrat: en effet, lorsque le substrat se fixe sur l'enzyme, ceci provoque un changement conformationnel qui amène les groupements fonctionnels du site actif dans une position favorable à la catalyse. Il y a donc création d'interactions faibles entre E et S. Cette adaptation induite permet également la formation d'interactions faibles supplémentaires qui vont stabiliser l'état de transition.

La formation initiale d'un complexe enzyme - substrat E-S (NON covalent) fût suggérée d'après les observations suivantes :

a. Le haut degré de spécificité de la reconnaissance d'un substrat par 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.

b. La formation de la courbe dite de saturation : vitesse initiale de la réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat ($v_i = f([S])$) [12, 13].

c. Le fait que les substrats protègent souvent les enzymes de l'inactivation.

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

a. par exemple, 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

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.

6- Spécificité de l'association protéine - ligand, site actif :

Quels sont les facteurs qui expliquent l'extrême spécificité de la reconnaissance entre une protéine et un ligand ?

a. Toutes les protéines se replient dans une conformation dite native et c'est dans cette conformation qu'elles acquièrent leur activité biologique (leur pouvoir de catalyseur dans le cas des enzymes). Ce repliement aboutit à une structure tridimensionnelle unique de la protéine.

b. Cette structure globale de la macromolécule permet à une région particulière, (souvent enfouie au sein de la protéine), d'adopter elle aussi une structure spatiale qui est reconnue par le ligand spécifique de la protéine (et, le cas échéant, par un petit nombre de molécules dont la structure est proche de celle du ligand).

c. Le site actif est constitué d'un petit nombre d'acides aminés, qui le plus souvent ne sont pas proches dans l'enchaînement de la chaîne polypeptidique. Ces acides aminés sont caractérisés par une chaîne latérale dont à la fois la nature

chimique (groupement ionisable ou polarisable) et la structure (encombrement stérique) sont particulières.

d. La stéréochimie qui résulte de cet agencement unique des acides aminés qui constituent le site actif est la cause de la stéréospécificité de reconnaissance entre ces acides aminés et le (ou les) ligand(s).

e. Les enzymes ne fixent pas seulement un ligand (un substrat) ; elles le transforment en un produit lors d'une réaction chimique. Certains acides aminés du site actif ont pour fonction, non pas de fixer le substrat, mais de fournir les groupements chimiques nécessaires à la réaction catalysée par l'enzyme. Dans le cas des enzymes, on distingue donc au sein du site actif, les acides aminés qui constituent le site de fixation (ces acides aminés n'ont pas de fonction chimique impliquées dans la réaction) et les acides aminés qui constituent le site catalytique.

On peut citer divers types d'association entre une protéine et un ligand : les complexes enzymes - substrat, enzyme - régulateur (inhibiteur, activateur ...), antigène - anticorps, histones - ADN et protéines - hormones.

Références :

- [1] L. Stryer. La biochimie. Edition Flammarion 4eme édition, chapitre 2 et 16.
- [2] L.P Graham, Chimie pharmaceutique (traduction de la 2^{ème} édition), 20-31. **2003**
- [3] H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, and P.E. Bourne. The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 28, 235-242. **2000**
- [4] C. Branden and J. Tooze. Introduction to protein structure. Garland Publishing. **1999**
- [5] H.J. Greenberg, W.E. Hart, and G. Lancia. Opportunities for combinatorial optimization in computational biology. *INFORMS Journal on Computing*, 3, 16, **2004**
- [6] T. Head-Gordon and J.C. Wooley. Computational challenges in structural and functional genomics. *IBM Systems Journal*, 40, 265-296. **2001**
- [7] T. Lengauer. Computational biology at the beginning of the post-genomic era. In R. Wilhelm, editor, Informatics : 10 Years Back - 10 Years Ahead, Lecture Notes in Computer Science, Springer- Verlag, 2000, 341-355. **2001**
- [8] J.C. Setubal and J. Meidanis. Introduction to Computational Molecular Biology. PWS Publishing Company, **1997**
- [9] Reginald Garrett, Charles Grisham, Biochimie, De Boeck university, Chapitre 6, 159. **2000**
- [10] H Reginald. Garrett, M, Charles. Grisham, Biochimie (traduction de la 2^{ème} édition américaine), 427- 435. **2000**
- [11] L. Michaelis, M.L. Menten, Die Kinetik der Invertinwirkung *Biocheui.* , 9. 333-369. **1913**
- [12] V.C. Henri, *r. hebd. Acad. Sri. Paris* ,135. 916-919. **1902**
- [13] V. Henri, Lois Générales de l'Action des Diastases, Hermann, Paris, **1903**

Introduction :

La discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interactions et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux des ligands.

Par conséquent l'optimisation des interactions de Van Der Waals de type attractif a lieu lorsque les géométries du site actif de liaison de l'enzyme et celle du substrat deviennent davantage complémentaires (**modèle clé- serrure**). Il est à noter qu'une parfaite complémentarité de forme entre l'enzyme et le substrat est très rare.

Il faut signaler que tant que les atomes du substrat et de l'enzyme ne sont pas trop proches, les interactions de type de Van Der Waals restent de nature attractive et certainement vont stabiliser le complexe formé. Il existe des situations défavorables dans lequel nous avons un très grand espace « vide » entre l'enzyme et le substrat.

Cette situation peut engendrer un changement conformationnel qui se produit afin de pouvoir accommoder l'établissement d'une nouvelle interaction entre l'enzyme et le substrat.

I-Préparation de l'enzyme :

Le téléchargement de la phosphatase Cdc25 a été fait à partir de la base de donnée "**Bookhaven Protein Data Bank**" (**code d'accès 1QB0**).

Les calculs effectués pour cette étude sont :

- 1- Un calcul de mécanique moléculaire (optimisation de la géométrie moléculaire).
- 2- Un calcul de dynamique moléculaire effectué pour toutes les structures de départ (1QB0 seule, inhibiteurs).
- 3- Le positionnement des inhibiteurs dans le site actif de la 1QB0, c'est-à-dire le docking moléculaire.

Une fois que le complexe (1QB0-Inhibiteur) est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable correspondante au niveau énergétique le plus faible, et c'est cette conformation qui sera recherchée lors des simulations par dynamique moléculaire effectuée pour tous les complexes formés.

La discussion des résultats de calcul a été basée sur l'énergie d'interaction

obtenue entre la 1QB0 et les inhibiteurs.

Visualisation tridimensionnelle des molécules

Depuis longtemps la modélisation moléculaire occupe une place primordiale dans la recherche en chimie, l'évolution des ordinateurs ces dernières décennies est devenu une partie intégrante de la vie du scientifique avant 1984, peu de scientifiques utilisaient un ordinateur personnel ; il était réservé au chimiste très expérimenté qui utilise des programmes complexes difficile à maîtriser. La possibilité de visualiser de grosses molécules biologiques par ordinateur est très intéressante parce qu'il est très difficile de parler par exemple de la structure d'une hélice α et des interactions qui en assurent la stabilité sans observer véritablement, donc la visualisation tridimensionnelle de la structure moléculaire est nécessaire à la compréhension des processus biologiques.

L'hypothèse concernant l'importance de la forme des molécules avait été émise dès 1946. Pauling et Astbury en 1951 proposent des modèles théoriques de structures secondaires hélice α et le feuillet β , les logiciels de visualisation et de manipulation des molécules sont actuellement disponibles avec des fonctionnalités conviviales (par exemple Hex4e, Rasmol version 2.6 et Hyperchem 7.5 version Professionnelle).

Rasmol

Le logiciel Rasmol :

- Fonctionne sous Windows
- Il est exploitable à partir d'un ensemble de deux fenêtres : Une fenêtre donnant l'accès à des macros commandes (menu) et à l'affichage de l'image et une deuxième dans laquelle, à la fois on récupère des informations (séquence, position, distance...) et on signifie les instructions en utilisant un langage simple de commande.
- Il ouvre des fichiers de molécules assez volumineuses (plus de 1000 atomes).

- Il comporte des fonctions d'affichage des informations (nom de la molécule, sa séquence par chaîne, ses structures) qui sont lues dans le fichier PDB.
- Il permet d'avoir différents modes de visualisation du modèle moléculaire : sphères, bâtonnets, sphères et bâtonnets, ruban,...
- Tous les éléments composant une molécule sont accessibles en cliquant directement sur l'écran. On peut ainsi les identifier, obtenir des indications sur les distances ou les angles entre atomes

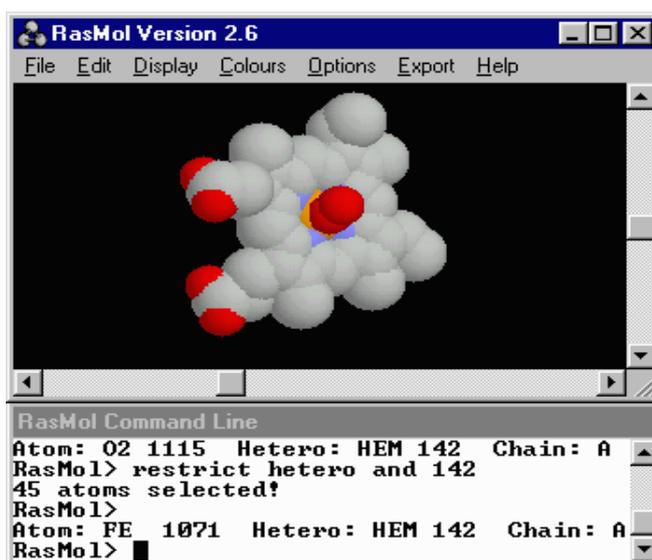


Figure1 : Aperçu sur les deux fenêtres de Rasmol .

La structure tridimensionnelle de la phosphatase Cdc25 a été obtenue par diffraction en rayon X avec une résolution (1.91Å) [1]. On remarque que la phosphatase Cdc25 cristallise sous la forme d'un monomère (figure 2) avec 178 résidus et 1480 atomes.

Avec l'effet réducteur de la modélisation moléculaire, nous avons simplifié le modèle de l'enzyme en éliminant les molécules d'eau, ceci nous a permis d'obtenir le modèle donné dans la (figure 3). Ce modèle comporte les acides aminés formant le site actif (figure 4).

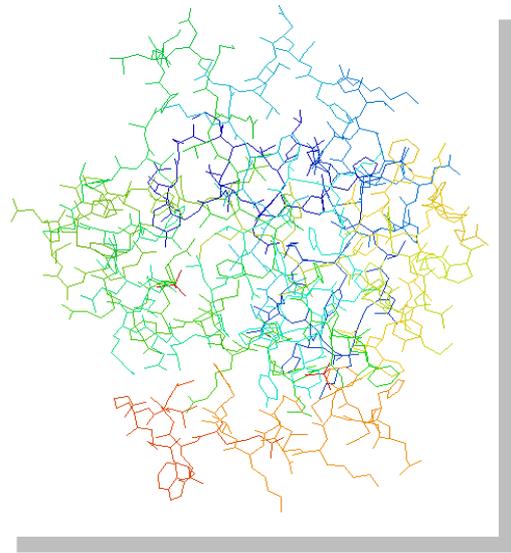
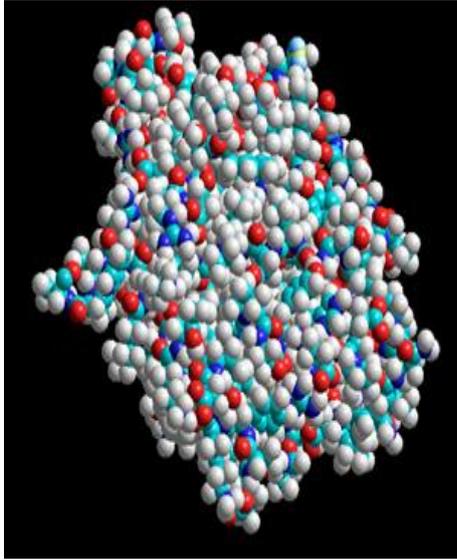


Figure 2 : Forme monomère de la phosphatase Cdc25

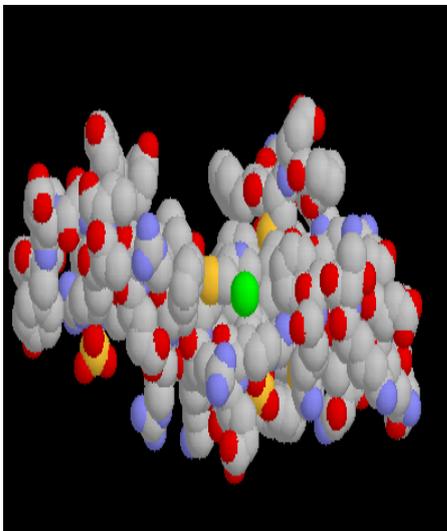


Figure 3 : Model simplifié de la phosphatase Cdc25

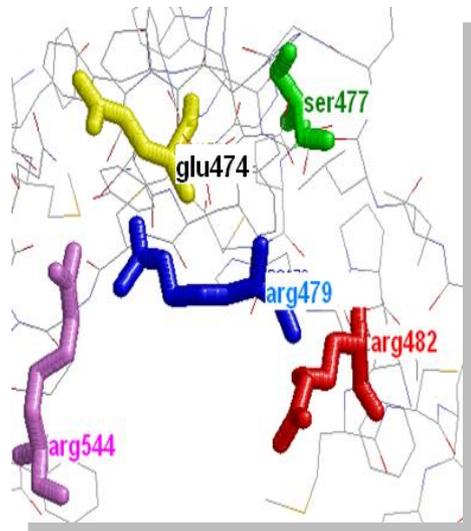


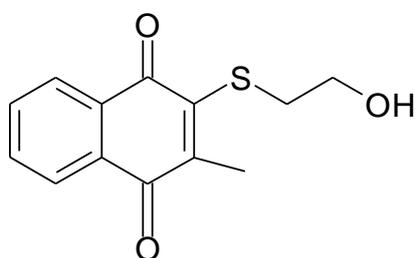
Figure 4 : Acides aminés du site actif

II-Préparation des ligands :

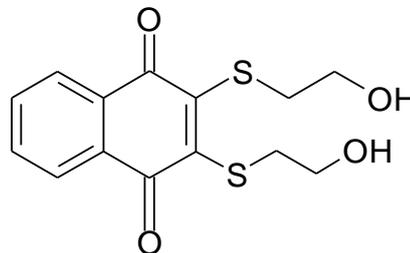
Il est nécessaire d'attribuer à chaque atome un potentiel, c'est à dire une charge partielle électronique. Ce potentiel va dépendre de l'environnement chimique dans lequel chaque atome est placé et du champ de force qui sera utilisé. L'objectif d'un champ de force est de décrire une classe entière de molécules avec une précision raisonnable. Il représente une des approximations dans la modélisation moléculaire. La qualité d'un champ de force, son application au système d'une part, et sa bonne qualité prédictive des propriétés mesurées lors des simulations, d'autre part, influencent directement sur la validité des résultats. De là, vient la nécessité d'utiliser le champ de force le plus performant possible et qui soit adapté au type de molécules à étudier.

Les inhibiteurs utilisés dans notre travail ont été répartis en 2 familles les naphthoquinones et les flavonoïdes.

Naphthoquinones

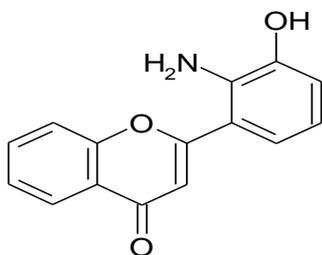


Inhibiteur1

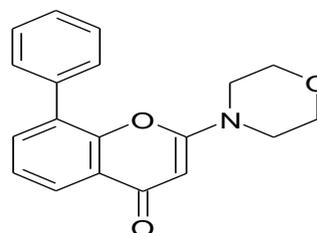


Inhibiteur2

Flavonoïdes



Inhibiteur3



Inhibiteur4

III- Minimisation d'énergie :

Les méthodes de minimisation ont deux rôles principaux :

Le premier à un rôle d'auxiliaire d'autres méthodes, par exemple pour effectuer une analyse et avant d'entreprendre le calcul d'une trajectoire de dynamique moléculaire, il peut s'avérer nécessaire d'optimiser une structure, c'est à dire d'éliminer toutes les interactions stériques fortement défavorables [2].

Le second rôle est celui de l'exploration dans l'espace conformationnel. Cela permet d'avoir une estimation de la barrière de potentiel entre deux conformations. L'objectif des méthodes de minimisation est extrêmement simple : étant donné une fonction d'une ou plusieurs variables indépendantes, il s'agit de trouver la valeur de la variable pour laquelle la fonction est la plus faible.

La minimisation de l'énergie d'une molécule est faite en deux étapes :

Tout d'abord, une équation décrivant l'énergie du système est exprimée en fonction des coordonnées des atomes. Puis cette équation sera définie et évaluée pour une conformation donnée. Ensuite, la conformation est ajustée à la valeur minimale de cette équation. Un minimum peut être trouvé après un ajustement, ou par contre il peut demander plusieurs milliers d'itérations, dépendant de la nature de l'algorithme utilisé, du type d'équation utilisée et de la taille de la molécule.

Au niveau de notre étude, la minimisation a été effectuée sur la phosphatase Cdc25 seule, les ligands et les complexes.

III-1-Optimisation de la phosphatase Cdc25

L'optimisation de la géométrie de la phosphatase Cdc25 a été effectuée à l'aide du **champ de forces Amber99** [3] implanté dans le logiciel **Hyperchem7.5 version professionnelle**.

La chaîne principale a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent souples. Cette approximation permet aux chaînes latérales des protéines de trouver plus facilement la position dans laquelle les interactions sont les plus favorables.

La valeur de l'énergie d'optimisation est : $E_{Opt} = -8500.788$ Kcal/mol

III-2-Optimisation des inhibiteurs :

La construction et l'optimisation des ligands étaient faites à l'aide du programme EMO (**E**nergie d'une **M**olécule)

La minimisation de l'énergie stérique de ces ligands a été effectuée en utilisant l'option SCAN, qui permet :

- Un balayage de la surface d'énergie
- D'éliminer les conformères les moins probablement stables
- D'éviter les minima locaux.

-Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau 01: Résultats obtenus à l'aide du programme EMO

<u>Énergie stérique</u> (KJ/mole)	<i>Élongation</i>	<i>Valence</i>	<i>Torsion</i>	<i>VDW.</i>	<i>Électro.</i>	<i>Solvant</i>	<i>Totale</i>
<i>Inhibiteur1</i>	03.28	15.67	09.70	54.31	00.00	00.00	82.963
<i>Inhibiteur2</i>	03.35	28.01	07.06	60.68	00.00	00.00	99.093
<i>Inhibiteur3</i>	04.94	28.45	-43.05	80.38	-27.14	00.00	43.583
<i>Inhibiteur4</i>	09.81	32.02	-39.34	116.93	00.00	00.00	119.413

IV-Dynamique Moléculaire :

La connaissance à un niveau atomique des aspects structuraux et dynamiques des systèmes organisés est particulièrement importante pour mieux comprendre les fonctions de ces édifices moléculaires complexes. Dans de nombreux cas, l'obtention du détail microscopique par les techniques expérimentales conventionnelles s'avère impossible. Cependant, la véritable évolution des moyens

informatiques amorcée depuis une dizaine d'années, et le développement d'algorithmes performants, rendent possible l'étude d'assemblages supramoléculaires de complexité croissante par les méthodes de chimie théorique [4].

Le principe de la dynamique moléculaire est de fournir de l'énergie cinétique au système pour franchir des barrières énergétiques.

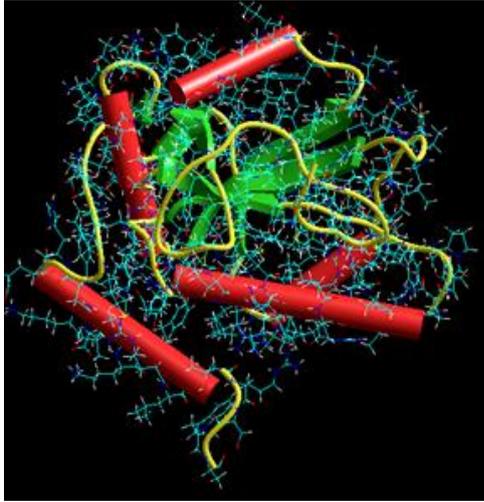
En générale, l'algorithme de la plus grande pente ou «steepest descent» est utilisé au début, pendant 100 à 200 pas. Après l'algorithme de gradient conjugué ou «Conjugate Gradient» peut être utilisé pour compléter la minimisation jusqu'à la convergence. La convergence dans l'algorithme de «Steepest Descent» est lente, mais cette méthode est extrêmement robuste. Cet algorithme est surtout utilisé lorsque les conformations sont éloignées de leur minimum d'énergie. L'algorithme du gradient conjugué est la méthode de choix pour les grands systèmes moléculaires, puisqu'il présente l'avantage de la convergence rapide.

La dynamique moléculaire a été effectuée sur la phosphatase Cdc25 seule, les ligands seuls et les complexes.

IV-1. Dynamique moléculaire de la phosphatase Cdc25

Nous avons commencé la dynamique par une initialisation du système : à $t=0$ nous avons $r(t)=0$, c'est-à-dire la structure initiale, précédemment minimisée. Puis nous avons chauffé le système jusqu'à 300 K pendant 1000 pas avec un pas d'intégrations de 1 fs.

A 300 K, il y a une équilibration : les vitesses sont réajustées pour conserver la température constante (il y a échange entre l'énergie cinétique et l'énergie potentielle). Ensuite, il y a production de conformations. Le temps de simulation de la dynamique moléculaire est de 100 ps.



1QB0

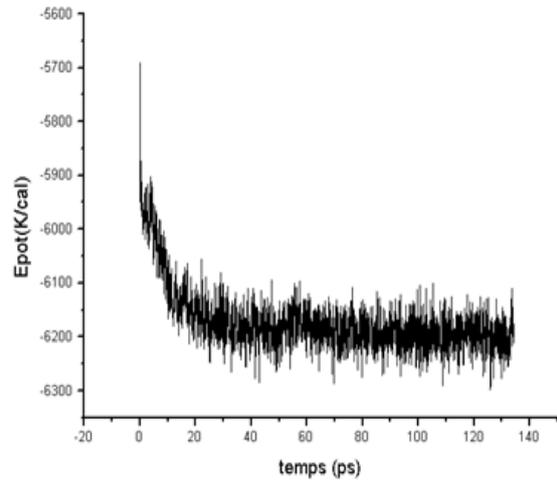
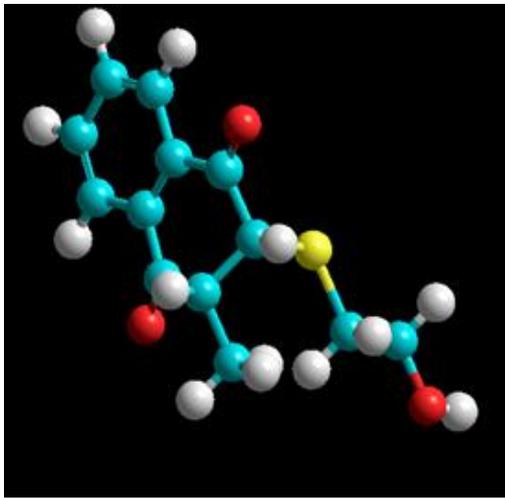


Figure 1 : variation de l'énergie potentielle de la 1QB0 seule en fonction du temps

IV-2. Dynamique moléculaire des inhibiteurs :

a/ Inhibiteur_1:



Inhibiteur_1

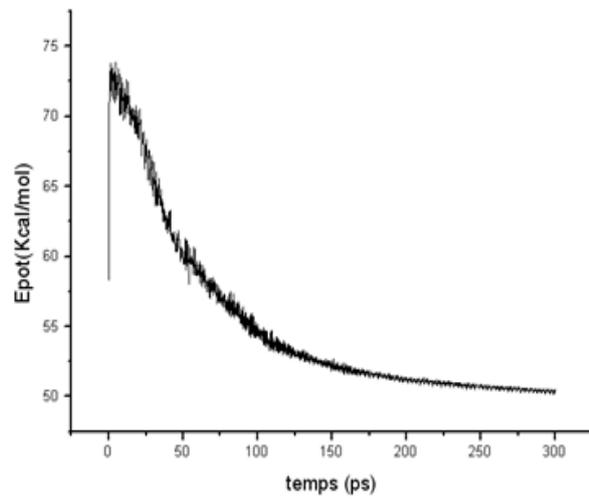
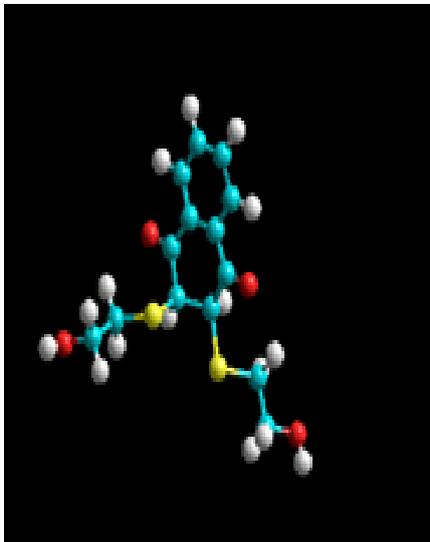


Figure2 : variation de l'énergie potentielle d'inhibiteur_1 en fonction du temps

b/ Inhibiteur_2



Inhibiteur_2

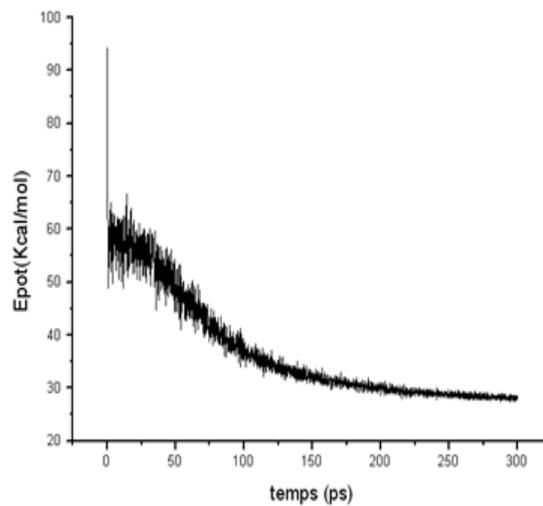
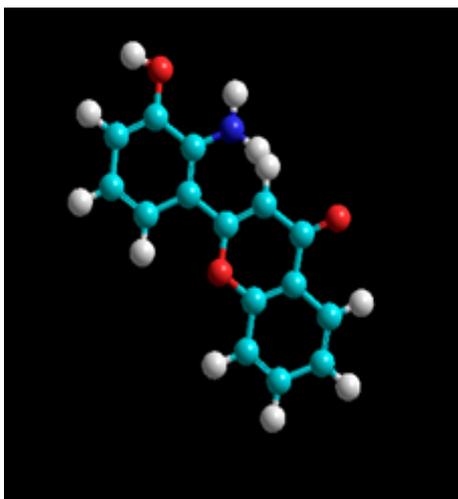


Figure 3 : variation de l'énergie potentielle d'inhibiteur_2 en fonction du temps

c/ Inhibiteur_3



Inhibiteur_3

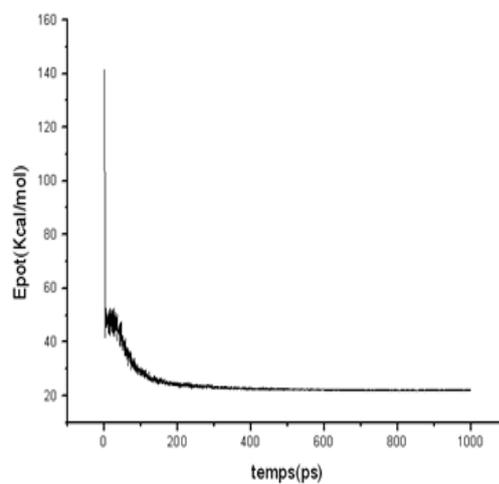
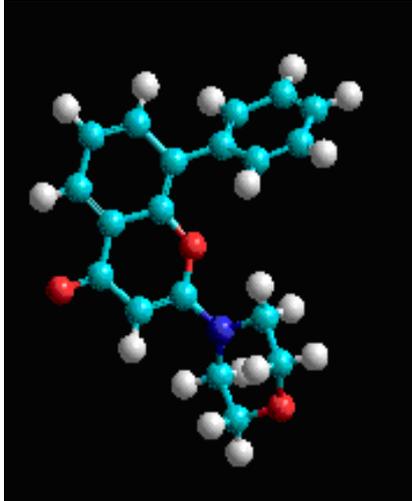


Figure 4 : variation de l'énergie potentielle d'inhibiteur_3 en fonction du temps

d/ Inhibiteur_4



Inhibiteur_4

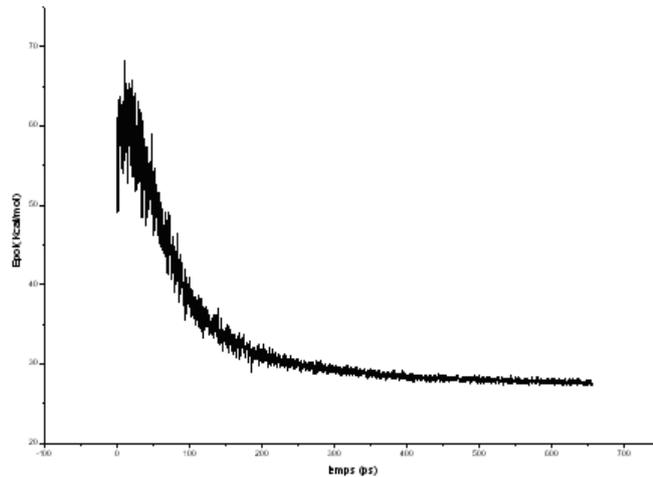


Figure 5 : variation de l'énergie potentielle d'inhibiteur_4 en fonction du temps

V-Docking des substrats et construction des complexes :

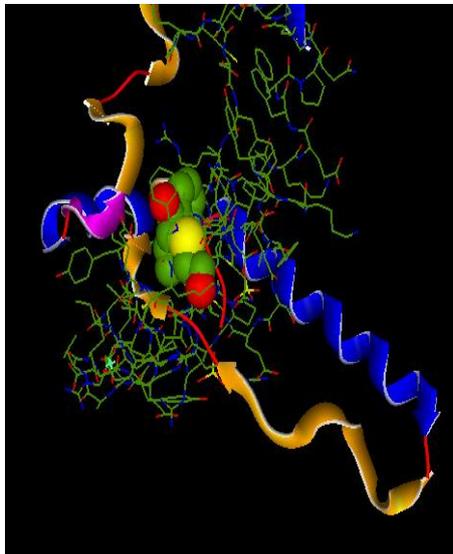
L'étape suivante, après la construction des ligands, est le positionnement de ces molécules dans le site actif de la phosphatase Cdc25. Pour ce faire, nous avons utilisé le module Docking Moléculaire du logiciel Hex4e [1].

Une fois que le complexe ligand- récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est à dire avec le niveau énergétique le plus faible.

VI. Dynamique moléculaire des complexes :

Une fois tous les complexes formés, nous allons effectuer une optimisation de la géométrie et un calcul de dynamique moléculaire pour chercher la conformation la plus stable.

Complexe 1QB0 inhibiteur _1



Complexe 1QB0 inhibiteur _1

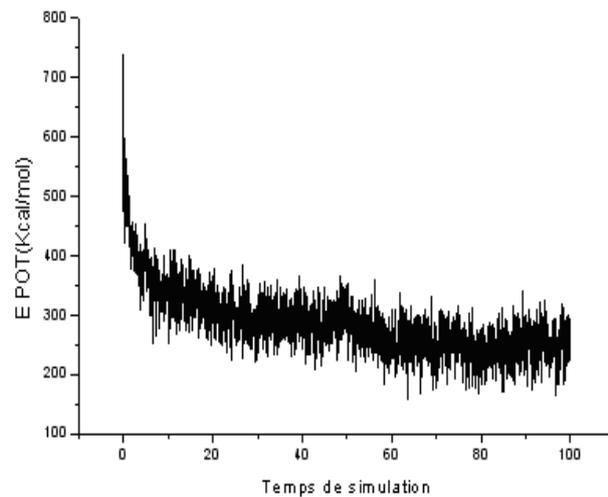
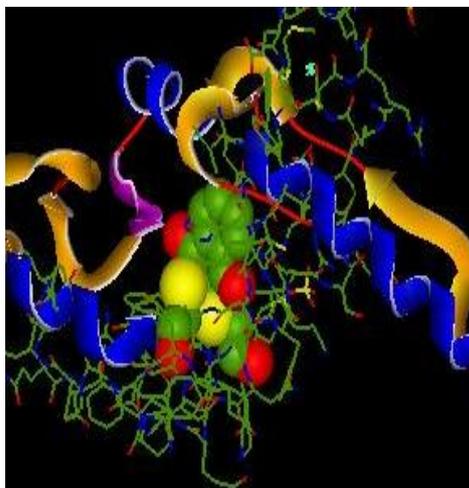


Figure 6: Variation de l'énergie potentielle du complexe _1 en fonction du temps

Complexe 1QB0 inhibiteur _2 :



Complexe 1QB0 inhibiteur _2

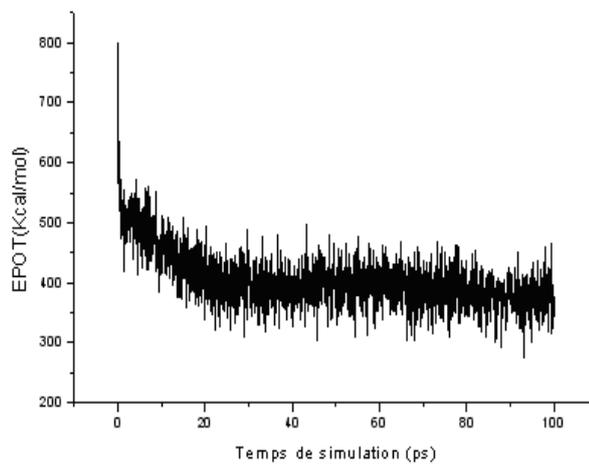
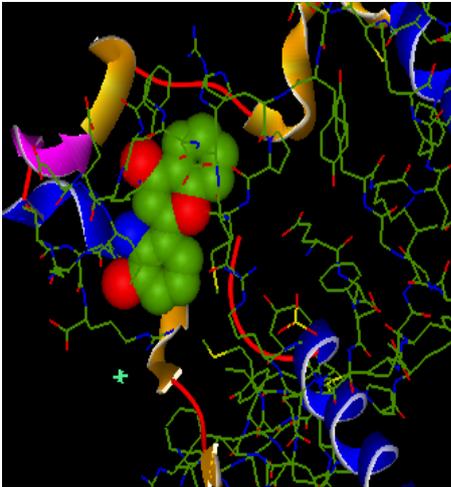


Figure7 : Variation de l'énergie potentielle du complexe _2 en fonction du temps

Complexe 1QB0 inhibiteur _3 :



Complexe 1QB0 inhibiteur 3

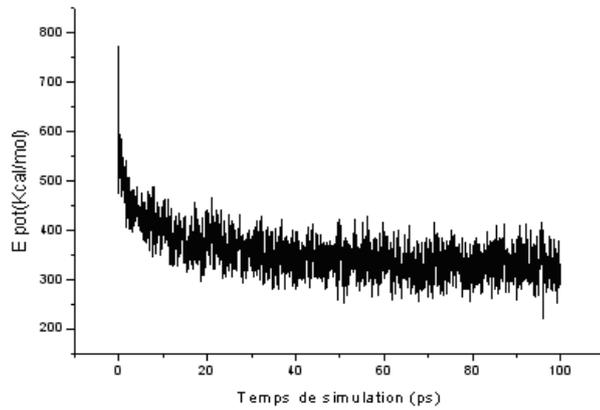
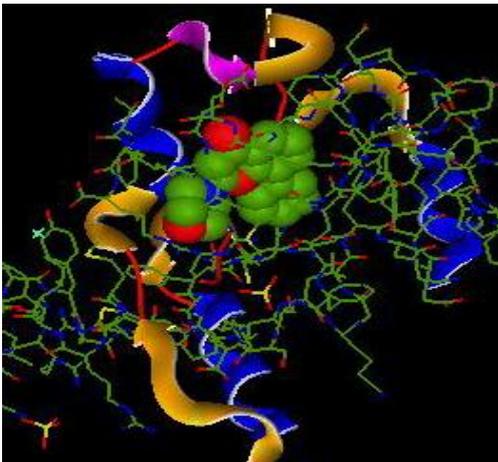


Figure 8: Variation de l'énergie potentielle du complexe 3 en fonction du temps

Complexe 1QB0 inhibiteur _4 :



Complexe 1QB0 inhibiteur_4

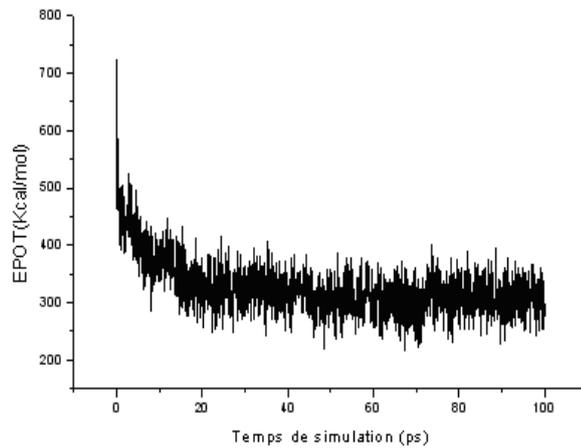


Figure 9: Variation de l'énergie potentielle du complexe_4 en fonction du temps

VII. Distances séparant les acides aminés du site actif et les groupements des inhibiteurs :

a. Inhibiteur_1 :

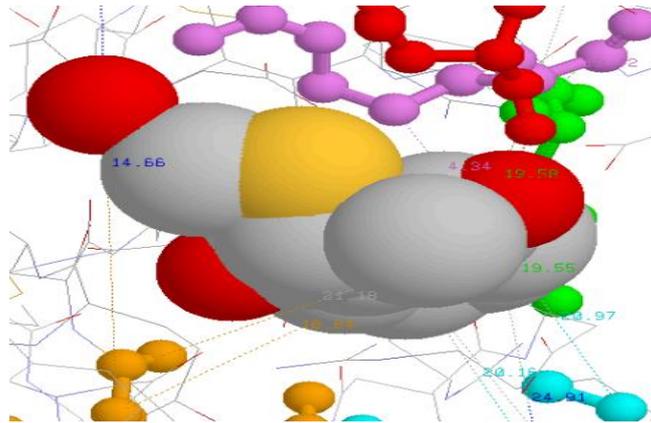


Tableau 02 : Distances mesurées entre le substrat 1 et les groupements des chaînes latérales des aminoacides responsable d'interaction.

Distances (Å ⁰)	Arg544	Arg482	Arg479	Ser477	Glu474
<i>Inhibiteur_1</i>	20.17	18.09	12.26	13.08	14.10

b. Inhibiteur_2 :

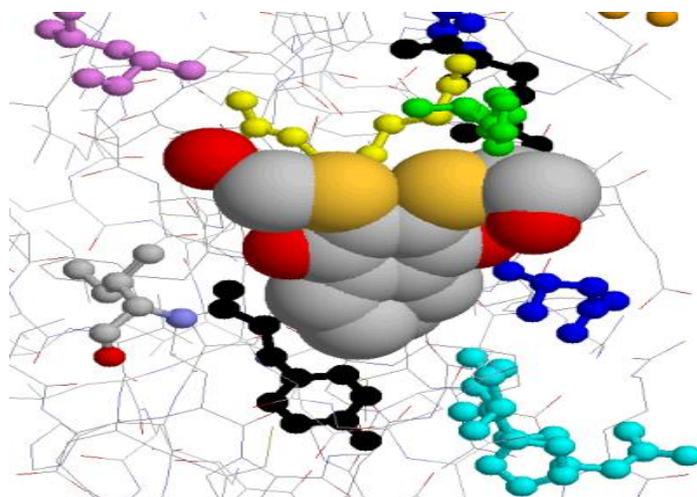


Tableau 03 : Distances mesurées entre le substrat 2 et les groupements des chaînes latérales des aminoacides responsable d'interaction.

Distances (Å ⁰)	Arg544	Arg482	Arg479	Ser477	Glu474
<i>Inhibiteur_2</i>	4.90	3.19	3.82	3.34	5.48

c. Inhibiteur_3 :

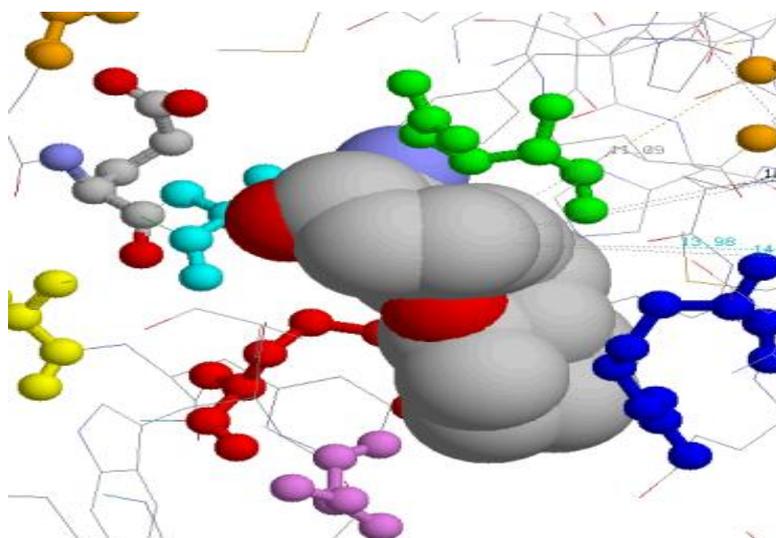


Tableau 04 : Distances mesurées entre le substrat 3 et les groupements des chaînes latérales des aminoacides responsable d'interaction.

Distances (Å ⁰)	Arg544	Arg482	Arg479	Ser477	Glu474
<i>Inhibiteur_3</i>	3.50	3.86	3.68	6.80	9.35

d. Inhibiteur_4 :

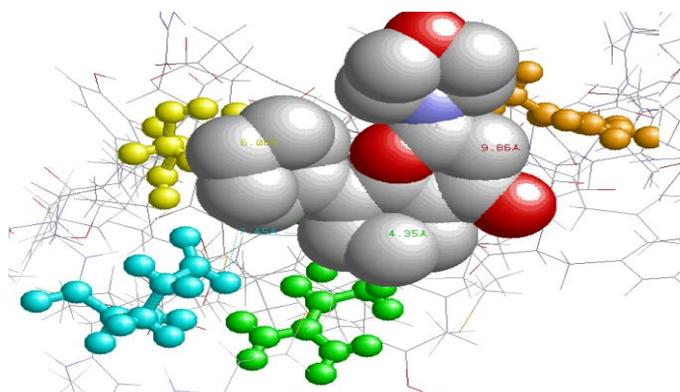


Tableau 05 : Distances mesurées entre le substrat 4 et les groupements des chaînes latérales des aminoacides responsable d'interaction.

Distances (Å ⁰)	Arg544	Arg482	Arg479	Ser477	Glu474
<i>Inhibiteur_4</i>	12.47	8.79	3.36	5.64	5.49

VIII. Énergie d'interaction :

Dans le but d'établir des corrélations entre les énergies d'interaction et les activités, et pour envisager par quel type de forces la nature des interactions phosphatase Cdc25-substrat est gouvernée, on fait souvent référence à une décomposition de l'énergie potentielle totale de la molécule en plusieurs termes (Énergie électrostatique, Energie de VDW,...).

Les énergies d'interaction entre les différents substrats étudiés et la phosphatase Cdc25 sont évaluées à l'aide de la relation suivante :

$$E_{\text{interactions}} = (E \text{ potentielle totale complexe phosphatase Cdc25-substrat}) - (E \text{ potentielle totale phosphatase Cdc25 seule} + E \text{ potentielle totale Substrat})$$

Il faut tenir compte également des interactions de Van Der Waals puisque c'est les interactions entre atomes non liés qui stabilisent les complexes Enzyme-Inhibiteur.

Tableau06 : Bilan des énergies en (Kcal/mol) :

	$E_{\text{totale du complexe}}$ E-S	$E_{\text{totale du substrat}}$ S	$E_{\text{vdw du complexe}}$ E-S	$E_{\text{vdw du substrat}}$ S	$E_{\text{intéra de}}$ VDW	$E_{\text{intéra de}}$ Totale
Inhibiteur_1	420.967	19.80	-549.137	12.49	-224.228	6490.802
Inhibiteur_2	3020.926	25.93	-561.354	13.76	-578.317	1434.173
Inhibiteur_3	389.876	18.07	-507.541	11.98	-182.122	6461.441
Inhibiteur_4	385.294	24.83	-547.628	15.79	-226.019	6450.635

Energie de VDW phosphatase Cdc25 seule=-337.399 Kcal/mol

Energie stérique de la phosphatase Cdc25 seule=-6089.399 Kcal/mol

Tableau07 : Bilan des volumes molaires en (\AA^3) :

	Volume molaire \AA^3
Inhibiteur_1	1231.53
Inhibiteur_2	980.28
Inhibiteur_3	1068.50
Inhibiteur_4	1055.68

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que l'introduction des groupements encombrants engendre un réarrangement conformationnelle au sein de la poche du site actif qui probablement augmentera la complémentarité et par conséquence l'activité.

Le comportement des molécules peut être simulé de façon statique ou dynamique. Cette dernière inclue notamment le comportement et la flexibilité des molécules en solution, les mécanismes réactionnels et interactions mises en jeu dans la catalyse enzymatique, la reconnaissance ou la complexation.

Nous avons mesuré les distances entre les groupements R des naphthoquinones, des flavonoïdes, et ceux des chaînes latérales des acides aminés constituant le site actif et éventuellement d'autres groupements de la chaîne principale de l'enzyme responsables d'interaction (pouvant engendrer une conformation favorable à une complémentarité importante d'où une activité conséquente). Les distances mesurées varient entre 3.19\AA et 20.17\AA pour l'ensemble des complexes étudiés.

Les interactions comprises entre 2.5\AA et 3.5\AA sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1\AA et 3.55\AA sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55\AA sont faibles ou absentes [5].

En se basant sur l'énergie d'interaction totale, on remarque que l'inhibiteur 2 (1434.173 Kcal/mol) est plus actif que l'inhibiteur 1 (6490.802 Kcal/mol) pour la première famille des naphthoquinones et que l'inhibiteur 4 (6450.635 Kcal/mol) est plus actif que l'inhibiteur 3 (6461.441 Kcal/mol) pour la deuxième famille des flavonoïdes.

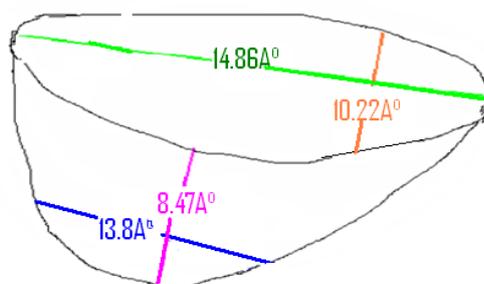
Pour l'énergie d'interaction de Van Der Waals (généralement retenue pour expliquer les interactions entre atomes non liés qui stabilisent le complexe Enzyme-Inhibiteur), l'ordre de stabilité est relativement perturbé pour les naphthoquinones. L'inhibiteur 2 (-578.317 Kcal/mol) est plus stable que l'inhibiteur 1 (-224.228 Kcal/mol). Pour les flavonoïdes on remarque que l'inhibiteur 4 (-226.019 Kcal/mol) est plus stable que l'inhibiteur 3 (-182.122 Kcal/mol).

Les volumes molaires montrent que l'inhibiteur 2 (980.28 \AA^3) présente une géométrie inférieure à celle de l'inhibiteur 1 (1231.53 \AA^3) pour les naphthoquinones.

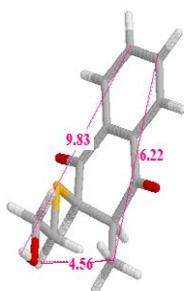
Pour les flavonoïdes on remarque que l'inhibiteur 4 (1055.68 Å³) est moins volumineux que l'inhibiteur 3 (1068.50 Å³).

D'après ces résultats on peut conclure que la complémentarité est relativement importante pour l'inhibiteur 2 que les autres inhibiteurs.

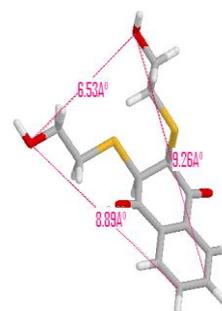
Signalons que nous ne pouvons discuter de complémentarité croissante ou décroissante que dans l'intervalle des dimensions de la poche du site actif, présentant dans notre cas une géométrie de 8.47Å° de profondeur, une ouverture de 14.86Å° et 10.22Å°, cette poche se rétrécit atteignant une largeur de 13.8Å



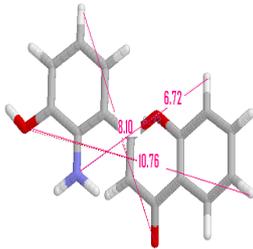
Dimensions de la cavité enzymatique



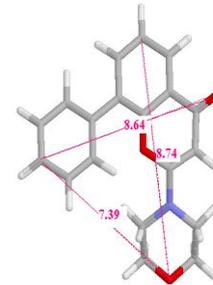
Inhibiteur_1



Inhibiteur_2



Inhibiteur_3



Inhibiteur_4

En tenant compte des différentes contraintes géométriques, l'approche selon les inhibiteurs considérés peuvent influencer la complémentarité et par la suite l'activité.

En perspective, d'autres outils de modélisation plus performants seront utilisés.

Il est à noter que la connaissance moléculaire des complexes enzyme substrat est hautement difficile, et que notre contribution à la compréhension des processus reste certainement à compléter par l'utilisation des logiciels beaucoup plus performants que ceux que nous avons utilisés.

Un autre aspect dont il faut tenir compte et qu'on ne peut le quantifier, est le paramètre RMSD (Root Mean Square Deviation) entre deux conformations supposées.

Par ailleurs, il est envisagé dans le cadre d'un autre magister une étude par homologie qui consiste en la construction de modèles tridimensionnels à partir des données de séquences et il faut tenir compte également de l'effet de solvant qui a été négligé dans notre approche.

Références:

- [1] R.G Ewan , Y. Xiong, J. Melanie, L. D'andrea, and Lynne Regan. Design of stable α -Helical arrays from an Idealized TPR Motif. **2003** Elsevier science Ltd. Vol.11, 497-508.
- [2]. J.Gibart, J. Garnier, Cours de modélisation moléculaire, seconde edition, DREd-DS2, ATF "Chimie et physico-Chimie des grandes Molécules", **1993**.
- [3] D. A. Case, D.A. Pearlman, J.W. Caldwell, T.E. Cheatham III, W.S. Ross, C.L. Simmerling, T.A. Darden, K.M. Merz, R.V. Stanton, A.L. Cheng, J.J. Vincent, M. Crowley, V. Tsui, R.J. Radmer, Y. Duan, J. Pitera, I. Massova, G.L. Seibel, U.C. Singh, P.K. Weiner, P.A. Kollman, **1999**, programme Amber 6, University of California, San Francisco.
- [4] Christophe Chipot, *Centre National de la Recherche Scientifique*, les méthodes numériques de la dynamique moléculaire, **septembre 2003**.
- [5] A. Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Pérez, Molecular of protein carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A, *Glycobiology*, **1991**, 1, pp. 631-642.

Dans ce mémoire, une étude des interactions moléculaires entre la phosphatase Cdc25 et ses inhibiteurs a été réalisée grâce à des outils de modélisation moléculaire.

Cette étude comprend quatre chapitres :

1/ Dans le premier chapitre, nous avons présenté la modélisation moléculaire dont nous avons définie en détails les notions suivantes: la mécanique quantique, la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et le docking moléculaire [1] qui a pour but la détermination des modes d'interactions entre deux entités moléculaires , ce sont les méthodes de base de la modélisation moléculaire. Comme nous avons définie aussi la notion du champ de force qui représente l'une des approximations en modélisation moléculaire.

2/ Dans le chapitre II, nous avons tenu à mettre l'accent sur le conflit existant entre la structure moléculaire et l'analyse conformationnelle [2], qui nous permet de calculer l'énergie relative associée à la conformation d'une molécule, dans le but de trouver le plus de minima possible et de calculer la population de Boltzmann [3].

3/ Dans le chapitre III, des notions sur les acides aminés, peptides et protéines sont apportées en insistant sur les différents niveaux d'énergies structurales (primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire) [4]. L'importance des différents types d'interactions est signalée. Ces dernières maintiennent les différentes conformations engendrant des activités conséquentes.

4/ Le chapitre IV, est consacré aux résultats obtenus ainsi que la discussion et l'interprétation de ces derniers est basée sur les énergies d'interactions , les distances entre certain groupements de la chaine latérale de l'enzyme et ceux de substrat

Ce travail nous a permis de faire un classement et aussi de visualiser les interactions établies entre ligand et l'enzyme.

Dans le but de déterminer les interactions protéine-ligand, nous avons effectué des calculs de dynamique moléculaire à partir des structures des complexes pour rechercher la conformation la plus stable correspondante à l'énergie la plus stable correspondant à l'énergie la plus faible qu'adopte le complexe formé. A fin de

généraliser les trajectoires des différents systèmes, nous avons utilisé le champ de force AMBER [5] implanté dans le logiciel Hyper Chem 75.

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que l'introduction des groupements encombrants engendre un réarrangement conformationnel au sein de la poche du site actif qui probablement augmentera la complémentarité et par conséquent l'activité.

Nous avons mesuré les distances entre les groupements R des naphthoquinones, des flavonoïdes, et ceux des chaînes latérales des acides aminés constituant le site actif, les énergies totales les énergies de Van der Waals, ainsi les volumes molaires des inhibiteurs. On a trouvé que pour la 1^{ère} famille des naphthoquinones, l'inhibiteur 2 est le plus stable, et pour la 2^{ème} famille des flavonoïdes l'inhibiteur 4 présente l'inhibiteur le plus stable.

En perspective, d'autres outils de modélisation plus performants seront utilisés.

Il est à noter que la connaissance moléculaire des complexes enzyme substrat est hautement difficile, et que notre contribution à la compréhension des processus reste certainement à compléter par l'utilisation des logiciels beaucoup plus performants que ceux que nous avons utilisés.

Un autre aspect dont il faut tenir compte et qu'on ne peut le quantifier, est le paramètre RMSD (Root Mean Square Deviation) entre deux conformations supposées.

Par ailleurs, il est envisagé dans le cadre d'un autre magister une étude par homologie qui consiste en la construction de modèles tridimensionnels à partir des données de séquences et il faut tenir compte également de l'effet de solvant qui a été négligé dans notre approche.

Références:

- [1] D. Duhovny , R. Nussinov, H. J. Wolfson, Efficient unbound docking of molecules, **2002**.
- [2] G. Keserü, I. Kolossvary, Molecular Mechanics and Conformational Analysis in Drug Design, Department of Chemical Information Technology, Technical University of Budapest, Blackwell Science Ltd , **1999**.
- [3] Istavan Kolossvary, Waynec Guida, *J.Am.Soc*, **1996**, 118, 5011.
- [4] Reginald Garrett, Charles Grisham, Biochimie, De Boeck university, **2000**, chapitre 4, 81.
- [5] D. A. Case, D.A. Pearlman, J.W. Caldwell, T.E. Cheatham III, W.S. Ross, C.L. Simmerling, T.A. Darden, K.M. Merz, R.V. Stanton, A.L. Cheng, J.J. Vincent, M. Crowley, V. Tsui, R.J. Radmer, Y. Duan, J. Pitera, I. Massova, G.L. Seibel, U.C. Singh, P.K. Weiner, P.A. Kollman, **1999**, programme Amber 6, University of California, San Francisco.