

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
LE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



تلمسان الجزائر

Faculté des sciences

Département de chimie



## THESE

Présenté par : **Mme BOUCHAREB née Lebbad Fatima**

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat

Spécialité : Chimie Théorique et Modélisation moléculaire

Sur le thème

### **Etude par modélisation moléculaire des mécanismes de complexation.**

Soutenu devant la commission d'examen

<b>M<sup>me</sup> L. BEMENI-BOUKLI HACENE</b>	Présidente	<b>Pr U. Abou Bekr Belkaid.</b> Tlemcen
<b>Mr Golebiowski Jérôme</b>	Examineur	<b>Pr. de Sophia Antipolis.</b> Nice –France
<b>M<sup>me</sup> Z.ZIZI</b>	Examineur	<b>Pr. U.Djilali el Yabbes</b> S.Belabes
<b>M<sup>me</sup> N.BOUSSALAH-MERAD</b>	Examineur	<b>M.C.A .U. Abou Bekr</b> Belkaid. Tlemcen
<b>Mr S. GHALEM</b>	Co-encadreur	<b>Pr .U. Abou Bekr Belkaid.</b> Tlemcen
<b>M<sup>me</sup> M. MERAD-BENYAROU</b>	Encadreur	<b>Pr .U. Abou Bekr Belkaid.</b> Tlemcen

**2016**

# Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon mari, pour son soutien et son sacrifice

A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et tous leurs sacrifices

Mes deux anges Nazym et Akram et ma fille Rayen

A ma sœur Wassila et mes frères Mohamed et sa femme, Khaled et sa femme  
et Benali.

Ma tante Ilham et son mari et mon oncle Amine.

Mon beau père, ma belle-mère et mes belles sœurs.

A mes grands-parents.

A mes tantes et mes oncles, A mes cousins et cousines.

A tous ceux, qui de près ou de loin m'ont aidé à mener à bon terme la  
réalisation de ce travail.

# Remerciements

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

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

Le présent travail a été réalisé au sein de laboratoire LASNABIO" Substances naturelles et bioactives" dans l'équipe de modélisation moléculaire de la faculté des sciences, Département de chimie, de l'université de Tlemcen

Je remercie énormément Madame le professeur M. **BENYAROU** à l'université de Tlemcen Faculté des Sciences. Qu'il me soit permis de lui exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude pour ses précieux conseils de tout ordre, sa disponibilité, sa patience et sa gentillesse et pour la bienveillante attention dont il m'a entouré.

Je remercie Monsieur le professeur **S. GHALEM** à l'université de Tlemcen Faculté des Sciences et Directeur du laboratoire de recherche LASNABIO" Substances naturelles et bioactives", pour son aide et son soutien moral et m'avoir fait bénéficier de ses connaissances en chimie théorique et modélisation moléculaire.

Je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à Madame le Professeur **M<sup>me</sup>BOUKLI HACENE Leila** à l'université de Tlemcen Faculté des Sciences, qui a bien voulu présidé ce jury.

J'exprime mon estime et mes remerciements aux honorables membres de jury :

Je remercie énormément Monsieur le professeur **Jérôme GOLEBOWSKI** à l'université de Nice, pour m'avoir accepté dans son labo et consacrer du temps à examiner et juger ce travail.

Je remercie énormément Madame le professeur **ZIZI Zahia** à l'université de Sidi Bel Abbes qui m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être examinatrice de ce travail et de participer à ce jury.

Je remercie énormément Madame la M.C **N.BOUSSALAH-MERAD** à l'université de Tlemcen Faculté des Sciences, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être examinatrice de ce travail et de participer à ce jury.

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous les collègues de l'équipe de «Dynamiques des Biomolécules» du laboratoire de recherche LASNABIO et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## LISTE DES TABLEAUX

### CHAPITRE II

Tableau 1 : Concentration moyenne du cuivre dans quelques et fluides biologiques humains.....	33
---	----

### CHAPITRE III

Tableau 1 : Données cristallographique pour les deux enzymes.....	56
Tableau 2 : Composés similaires de la rhodanine .....	58
Tableau 3 : Résultats de LogP.....	65
Tableau 4 : Scores de l'interaction entre les composés similaires de rhodanine et NS5B.....	68
Tableau 5 : Distances entre les résidus du site actif et ligand.....	71
Tableau 6 : Distances entre les résidus du site actif et le ligand10.....	73
Tableau 7 : Résultats de l'activité biologique du télaprivir et ligands similaires.....	77
Tableau 8 : Résultats des énergies scoring.....	78
Tableau 9 : Résultats de l'activité biologique des ligands.....	81
Tableau10 : Résultats des énergies scoring.....	82
Tableau11 : Valeurs de la fonction Fukui $f^-$ and $f^+$ , les indices NK.....	89
Tableau12 : Energies de la HOMO et LUMO, le gap HOMO-LUMO, potentiel, dureté, Electrophile et Nucléophilie.....	89
Tableau13 : Energies de complexations des 3 inhibiteurs avec la PBP.....	91
Tableau14 : Distances entre les acides aminés du site actif et nos différents inhibiteurs.....	95

## LISTE DES FIGURES

### INTRODUCTION GENERAL

Figure 1 :	La rhodanine .....	01
Figure 2 :	2,5-diamino-1,3,4-thiazole.....	02

### CHAPITRE I

Figure 1 :	Étapes typiques d'un docking moléculaire.....	21
Figure 2 :	Principes de base de la conception de la notion clé-serrure..	22
Figure 3 :	Schéma des 3 niveaux de représentation de la flexibilité d'une protéine.....	23

### CHAPITRE II

Figure 1 :	Chélates à 4,5 et 6 chaînons .....	38
Figure 2 :	Complexe de réplication du virus de l'hépatite C avec les protéines virales NS5B.....	48

### CHAPITRE III

Figure 1:	Enzyme NS5B.....	56
Figure 2:	Enzyme PBP.....	56
Figure 3 :	Enzyme NS5B simplifié.....	57

Figure 4 :	Enzyme PBP simplifié.....	57
Figure 5:	Ligand 1 et 2 similaires du télaprivir.....	59
Figure 6:	Ligand 1 et 2 similaires du Bocéprivir.....	61
Figure 7:	Structures des complexes de (Co(II), Ni(II) et Cu(II)).....	62
Figure 8:	Data mining des ligands similaires de rhodanine avec le logiciel Knime.....	64
Figure 9:	Résultats du logiciel Knime.....	66
Figure10:	Ligand5 (CID 211702) dans la cavité de l'enzyme VHC NS5B.....	69
Figure 11:	Ligand10(CID 211718) dans la cavité de l'enzyme VHC NS5B.....	69
Figure 12:	Distances entre les acides aminés de sites actifs et ligand 5	70
Figure 13:	Distances entre les résidus du site actif et le ligand10.....	72
Figure 14:	Différents résidus des deux cavités de la chaîne B.....	73
Figure 15 :	Dimensions des cavités de l'enzyme NS5B.....	74
Figure 16 :	Dimensions du ligand 5 et ligand10.....	74
Figure 17 :	Interactions de télaprivir avec le site actif.....	79
Figure 18:	Interactions du ligand 1 similaire de télaprivir avec le site actif.....	80

Figure 19:	Interactions du ligand 2 similaire de télaprevir avec le site actif.....	80
Figure 20:	Interactions du Bocéprevir avec le site actif.....	83
Figure 21:	les interactions du ligand 2 similaire du bocéprevir avec le site actif.....	83
Figure 22:	les interactions du ligand 2 similaire du bocéprevir avec le site actif.....	84
Figure 23:	2, 5-diamino-1, 3, 4-thiadiazole.....	87
Figure 24:	Structure des complexes (M=Co(II), Ni(II), Cu(II)).....	90
Figure 25:	Position du complexe cuivrique dans le site actif.....	92
Figure 26:	Acides aminés du site actif.....	92
Figure 27:	Dimensions de la cavité.....	93
Figure 28:	Dimensions de nos complexes.....	94

## SOMMAIRE

<b>Introduction général</b> .....	01
<b>Chapitre 01 : Les méthodes de modélisation moléculaire.</b>	
I-Introduction.....	05
II- Méthodes de chimie quantique.....	06
II.1-Approximations Fondamentales.....	06
II.1.1-L'approximation Born-Oppenheimer.....	07
II.1.2- L'approximation d'Orbitales Moléculaires.....	08
II.2- Méthode Hartree-Fock.....	08
II.3-Méthodes semi-empiriques .....	09
II.4-Méthodes basées sur la théorie de la Fonctionnelle de la Densité(DFT).....	11
II.5- Energie de corrélation.....	13
III- Méthodes de chimie non quantique.....	14
III.1- Modélisation des interactions moléculaires.....	14
III.2- La Mécanique Moléculaire .....	14
III.2.1- Fonction d'énergie potentielle.....	15
III.2.2- Différents champs de force en mécanique moléculaire.....	17
III.3- La dynamique moléculaire.....	18
III.4-Docking moléculaire.....	20
Références.....	26
<b>Chapitre 02 : Métaux de transitions et complexes.</b>	
I-Métaux de transitions.....	31

I.1-Introduction.....	31
I.2- CARACTERISTIQUES DU CUIVRE, COBALT ET NICKEL.....	31
A.1-Le cuivre.....	31
A.2-Le cuivre dans l'organisme.....	32
B.1- Le cobalt.....	34
B.2-Le Cobalt dans l'organisme.....	34
B.2-l'utilisations industrielles et médicales.....	35
C- Le nickel.....	35
II- les complexes.....	36
II.1-Définition d'un complexe.....	36
II.2 -Géométrie d'un complexe.....	36
II.3- Les principaux facteurs qui influent sur la complexation .....	37
a-Nature du ligand.....	37
b-Nature du métal.....	37
c-Stabilité du complexe.....	38
II.4- Les complexes de l'activité antimicrobienne.....	48
III-Enzyme.....	39
III.1-Définitions caractéristiques essentielles.....	39
III.2-Classification.....	41

III.3-Structure, site actif.....	42
Références.....	44
<b>Chapitre 03: Résultat et discussions.</b>	
I-Méthodologie de calculs.....	46
I. 1- Préparation du récepteur.....	46
I .2- Préparation des inhibiteurs.....	48
<b>Etude 01</b> : Prédiction des ligands ayant l'activité inhibitrice contre le	
Virus Hépatite VHC.....	54
I-Data mining.....	55
II-Docking moléculaire .....	57
III-Résultats.....	66
<b>Etude 02</b> : Prédiction de nouveau médicament pour virus de l'hépatite C	
VHC.....	67
I-Télaprévir.....	67
II-Le docking moléculaire.....	73
IV-Bocéprévir.....	72
V- Docking moléculaire.....	73
VI- Résultat.....	75
<b>Etude 03</b> : Des études sur des complexes avec des ions métalliques et	
leur activité antimicrobienne par DFT et le docking moléculaire.....	77
I-Théorie de la fonctionnelle de densité DFT.....	78
I.1-Géométrie de ligand.....	78
I.2-La formation des complexes métalliques .....	79

I.3-Méthodologie des calculs.....	79
I.4-Coordination de 6 autour de l'atome central.....	81
II-Docking moléculaire.....	82
II.1-Résultats de scoring de nos complexes avec l'enzyme PBP .....	82
III-Résultat .....	86
Références.....	87
<b>Conclusion générale</b> .....	92
Références.....	96

## LISTE DES ABREVIATIONS

**Amber:** Assisted Model Building with Energy Refinement ff03.r1: parm99.dat  
+ frcmod.ff03 + frcmod.ionsjc\_tip3p.

**Arg:** Arginine.

**B3LYP:** Becke 3-parameter Lee-Yong-Parr.

**BOC :** Bocéprivir .

**DFT :** Density functional theory.

**DM :** Dynamique moléculaire.

**EMO:** Energy of Molecule.

**HOMO:** Highest Occupied Molecular Orbital.

**MM:** Mécanique moléculaire.

**PDB:** Protein Data Bank.

**LUMO:** Lowest Unoccupied Molecular Orbital.

**MOE:** Molecular Operating Environnement.

**NS5B:** Non Structural 5B.

**RMSd:** *Root mean square deviation.*

**TVR:** Télaprivir.

**PBP:** Penicillin Binding Protein.

**VHC:** Virus de l'Hépatite C.

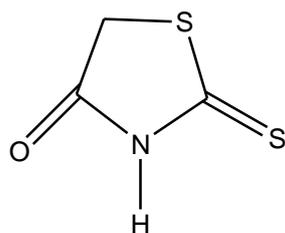
# **Introduction Générale**

Le virus de l'hépatite C (VHC) a été découvert en 1989 par l'équipe de Michael Houghton grâce à de nouvelles méthodes de biologie moléculaire qui ont permis de séquencer le virus à partir du plasma d'un chimpanzé expérimentalement infecté par le sang d'un patient présentant une hépatite post-transfusionnelle non-A non-B.

Récemment ; les rhodanines sont un sujet de débat. Surtout, le succès clinique avec la rhodanine analogique en faveur de son innocuité chez les humains.

Les composés portant le motif de la rhodanine sont des inhibiteurs du VHC NS5B.

Pour prédire l'activité inhibitrice des ligands similaires des composés de la rhodanine (figure1) contre le virus d'hépatite C(VHC) avec l'enzyme polymérase non-structurale 5B(NS5B) , ce virus présente un problème de santé publique, car il est responsable de la majorité des cancers du foie dans le monde.

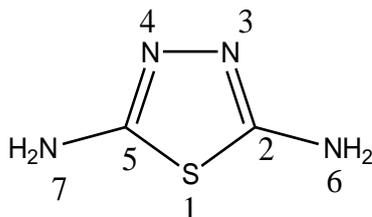


**Figure 1** : la rhodanine

Le thiadiazole est un système cyclique à 5 chaînons contenant des liaisons hydrogène, un atome de soufre, et deux atomes d'azote donneur d'électrons (-N = C-S) qui présentent une grande variété d'activité biologique.

Le thiadiazole occupe une position importante dans la chimie médicinale parce qu'il a un large spectre d'activités pharmacologiques, en particulier une activité antimicrobienne contre une large variété de microbes.

La confirmation du mécanisme de complexation du ligand tridentée 2, 5-diamino-1,3, 4-thiazole (figure 2) avec le Co(II), le Ni(II) et le Cu(II) a été réalisé par La théorie de la fonctionnelle de la densité électronique (DFT). Ces complexes sont biologiquement actifs, ces derniers ont été testés pour l'activité inhibitrice antimicrobienne avec l'enzyme PBP (Penicillinen Binding Protéine).



**Figure 2:**2,5- diamino-1,3,4-thiazole

Les éléments de transition représentent une large fraction de la classification périodique. Ils constituent essentiellement le bloc d. Leurs métaux et alliages possèdent des propriétés mécaniques, électriques, magnétiques remarquables utilisés dans la vie de tous les jours (fer, cuivre, zinc ...). Ils ont une chimie extrêmement riche, de multiples degrés d'oxydation, de nombreux types de liaison, des complexes moléculaires de structures très variables.

La modélisation moléculaire est un ensemble de méthodes permettant d'expliquer le fonctionnement du vivant. En effet, le vivant est une succession d'interaction entre différentes molécules : protéines, ADN, ARN, membranes, etc. Ces molécules interagissent les unes par rapport aux autres en fonction de plusieurs paramètres : leurs formes, leurs propriétés chimiques et leur environnement.

La théorie de la fonctionnelle de la densité électronique (DFT) a été le paradigme d'unification de ces concepts. Cette théorie dont les fondements mathématiques est due à Walter Kohn ; substitue la densité électronique aux

fonctions d'onde. Il est intéressant de constater qu'une fois encore, c'est sous l'impulsion d'une nouvelle méthode de calcul que les concepts chimiques ont été rationalisés au XX<sup>ème</sup> siècle.

Dans ce travail, nous avons utilisé les indices de réactivité dérivant de la DFT pour interpréter et prédire les mécanismes de complexation des métaux de transition avec un ligand qui a une activité antimicrobienne. Et pour savoir aussi que les ions métalliques ne subsistent dans l'organisme que sous forme de chélates avec les molécules biologiques. Ces dernières sont de nature et de complexité très diverses. Si certaines espèces bio-métalliques ont vu leur structure résolue (hémoglobine, cytochrome,...), beaucoup d'autres restent mal connues. Une meilleure connaissance de ces complexes, en particulier de leur composition, de leur stabilité et de leur structure, permettrait d'élucider le rôle physiologique mis en cause, qui aussi pathologique, des ions métalliques.

Or, il est très difficile, sinon impossible, d'étudier directement les coordinats biologiques mis en cause, qui ont, le plus souvent une masse molaire élevée, et présentent une grande multiplicité fonctionnelle, par contre, il est possible d'étudier des substances plus simple chimiquement, qui représentent la partie active d'une macromolécule.

L'objet de ce travail est de faire une étude détaillée de méthodes de modélisation appliquées à l'analyse des mécanismes de reconnaissance moléculaire et à la conception de nouveaux composés bioactifs. La faisabilité et l'efficacité de ces méthodes seront démontrées par leur application.

***Le manuscrit de cette thèse est articulé sur trois chapitres :***

- Introduction générale.
- Dans le premier chapitre, nous exposons les méthodes de modélisation moléculaire (les méthodes quantiques et les méthodes non quantiques).
- Dans le deuxième chapitre, est réservé à un rappel sur les métaux de transition (Cuivre, Nickel, Cobalt) et les complexes, ainsi que les enzymes.
- Le troisième chapitre de cette thèse est consacré aux différentes applications effectuées pour étudier théoriquement l'activité biologique de certains ligands grâce :
  - ✓ à la méthode de data mining (criblage virtuelle) ;
  - ✓ au docking moléculaire,
  - ✓ aux indices de Fukui et les nucléophilies locales pour confirmer la structure de quelques complexes métalliques et l'utilisation de ces complexes pour inhiber l'activité microbienne, muni d'une discussion de résultats.

Conclusion générale et perspectives : que nous envisageons de réaliser dans une future proche.

# **Chapitre I :**

***Méthodes de Modélisation***

***Moléculaire***

## I-Introduction

La modélisation moléculaire regroupe les différentes méthodes qui permettent d'étudier des systèmes moléculaires. Elle repose sur deux formalismes théoriques totalement différents :

- ✓ La mécanique quantique qui tient compte des électrons et s'appuie sur la résolution de l'équation de Schrödinger pour décrire les interactions.
- ✓ La mécanique moléculaire où les atomes sont représentés par des sphères ayant une masse et possédant une charge et les liaisons sont décrites comme des ressorts.

La mécanique moléculaire repose sur l'utilisation de la relation fondamentale de la dynamique. C'est-à-dire la loi de Newton. Cependant, seule la mécanique quantique permet de représenter correctement les systèmes atomiques au niveau microscopique. La longueur d'onde thermique  $\lambda$  de De-Broglie représente un moyen de déterminer si le système doit être considéré de manière quantique ou classique. La mécanique moléculaire peut être envisagée si l'onde thermique de De-Broglie associée au système possède une longueur d'onde inférieure à la plus petite distance interatomique.

Cette longueur d'onde s'exprime suivant l'équation suivante :

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2 \pi m K_b T}} \quad (1)$$

Où

- $h$  correspond à la constante de Planck,
- $m$  la masse du système étudié,
- $K_b$  la constante de Boltzmann

- T la température.

Pour les systèmes moléculaires à température ambiante, cette contrainte est respectée et la mécanique moléculaire peut être utilisée pour étudier un tel système.

Ce chapitre est dédié au passage en revue des méthodes de modélisation moléculaire s'appuyant sur la mécanique moléculaire pour simuler des systèmes biomoléculaires en développant leur construction ainsi que les techniques de calcul de l'enthalpie libre de liaison.

## **II- Méthodes de chimie quantique**

### **II.1- Approximations Fondamentales**

Le premier axiome de la théorie quantique stipule que tout état d'un système n'évoluant pas, dans le temps constitué de N particules est complètement décrit par une fonction mathématique  $\Psi$ , appelée *fonction d'onde*, qui dépend des coordonnées de chacune des particules. Même si la fonction d'onde ne possède aucune signification physique, la quantité  $|\Psi|$  [1] permet de déterminer la probabilité de présence des particules dans un élément de volume.

Le second axiome énonce que l'action d'un opérateur mathématique hermétique sur cette fonction permet d'atteindre la grandeur physique observable correspondante. Ainsi l'opérateur associé à l'énergie E est l'opérateur Hamiltonien H. La fonction d'onde exacte est fonction propre de l'opérateur Hamiltonien complet :

$$\mathbf{H} \Psi = \mathbf{E} \Psi \quad (2)$$

### II.1.1-L'approximation Born-Oppenheimer

Les noyaux ayant une masse beaucoup plus importante que celle des électrons, il est alors possible, selon l'approximation de Born-Oppenheimer [2], de considérer leurs mouvements comme étant très lents par rapport à celui des électrons. Les électrons se déplacent alors dans un champ de noyaux fixes. Dans ce cadre, l'énergie cinétique des noyaux peut être supposée constante et nulle et la répulsion entre les différentes paires de noyaux considérées également comme constante.

Cet Hamiltonien est alors utilisé pour résoudre l'équation de Schrödinger électronique :

$$\mathbf{H_e} \cdot \Psi_e = \mathbf{E_e} \cdot \Psi_e \quad (3)$$

$\Psi_e$  est la fonction d'onde électronique. Elle dépend explicitement des coordonnées électroniques et paramétriquement des coordonnées nucléaires. Selon le principe de Pauli [3], la fonction d'onde doit changer de signe lors de la permutation des coordonnées de deux électrons.

$\mathbf{E_e}$  représente l'énergie électronique. Pour obtenir l'énergie totale  $\mathbf{E'}$  dans un champ de noyaux fixes, on ajoute un terme de répulsion nucléaire à l'énergie électronique :

$$\mathbf{E'} = \mathbf{E_e} + \sum_A \sum_{B>A} \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad (4)$$

Dans la suite de ce manuscrit les symboles H,  $\Psi$  et E désigneront respectivement l'Hamiltonien électronique, la fonction d'onde électronique et l'énergie totale calculée pour des positions fixes des noyaux.

### II.1.2- L'approximation d'Orbitales Moléculaires

La fonction d'onde la plus simple qui respecte le principe de Pauli peut s'écrire sous la forme d'un déterminant, appelé déterminant de Slater [4]. Ce

déterminant pondéré par un facteur de normalisation est construit à partir d'un ensemble de fonctions monoélectroniques, ou spinorbitales  $\chi$ , définies comme le produit d'une fonction spatiale, ou orbitale moléculaire (OM)  $\Psi$ , par une fonction de spin  $\alpha$  ou  $\beta$  :

$$\chi_i(\mathbf{x}) = \Psi_i(\mathbf{x}) \cdot \alpha_i(\mathbf{x}) \quad (7)$$

$$\chi_j(\mathbf{x}) = \Psi_j(\mathbf{x}) \cdot \alpha_j(\mathbf{x}) \quad (8)$$

Ce déterminant peut également s'écrire plus simplement :

$$\Psi = | \chi_1 \chi_2 \dots \chi_n | \quad (9)$$

## II.2- Méthode Hartree-Fock

Dans la méthode Hartree-Fock [5,6] l'équation de Schrödinger est résolue selon le principe vibrationnel. On cherche les orbitales moléculaires donnant une énergie minimale du système en s'appuyant sur la condition d'extremum par résolution itérative des équations de Hartree-Fock (méthode du champ auto-cohérent ou Self-Consistent-Field). En appliquant l'approximation LCAO aux équations de Hartree-Fock, on exprime les orbitales moléculaires à l'aide d'une combinaison linéaire d'orbitales atomiques. On obtient ainsi les équations de Roothaan [2].

Dans le formalisme restreint (RHF) on raisonne en terme d'orbitales atomiques et non en terme de spin orbitales. On travaille en couches fermées. Dans le cas du formalisme non restreint (UHF) on sépare les électrons de spin  $\alpha$  et  $\beta$  et ceci conduit à un ensemble d'équations pratiquement analogues (connues sous le nom d'équations de Berthier-Pople-Nesbet [7] à celle du formalisme RHF.

Pour décrire la méthode de Hartree-Fock, nous nous placerons dans le cas d'un système à couches fermées.

### **II.3-Méthodes semi-empiriques :**

Dans les méthodes *ab-initio* la quasi-totalité du temps de calcul est consommé par les calculs des intégrales, et dans le but de réduire ce temps de calcul, il est nécessaire de simplifier les équations de Roothann.

Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-Fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales (l'hamiltonien est toujours paramétré par comparaison avec des références). En générale toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits données voisines à celles utilisées pour la paramétrisation.

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

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

- **MINDO/3**: Proposée par Bingham, Dewar et Lo en 1975. La paramétrisation est effectuée en se référant aux résultats expérimentaux et non pas aux résultats *ab-initio*, de plus l'algorithme d'optimisation utilisé est très efficace (Davidon- Fletcher-Powell).

Cependant, elle surestime la chaleur de la formation des systèmes insaturés et sous-estime celle des molécules contenant des atomes voisins ayant des paires libres.

- **MNDO**: (Modified Neglect of Diatomic Overlap) Proposée par Dewar et Thiel en 1977, méthode basée sur l'approximation NDDO (Neglect of Diatomic Differential Overlap) qui consiste à négliger le recouvrement différentiel entre orbitales atomiques sur des atomes différents. Cette méthode ne traite pas les métaux de transition et présente des difficultés pour les systèmes conjugués.
- **AM 1** : (Austin Model 1) La méthode est proposée par Dewar en 1985. Il a tenté de corriger les défauts de MNDO.
- **PM 3** : (Parametric Method 3) La méthode est proposée par Stewart en 1989, elle présente beaucoup de points en commun avec la méthode AM1 ; d'ailleurs il existe toujours un débat concernant les mérites relatifs de paramétrisation de chacune d'elles.
- **SAM 1** : (Semi-*ab-initio* Model 1) La méthode la plus récente proposée par Dewar en 1993. Elle inclut la corrélation électronique [8].

## **II.4- Méthodes basées sur la théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT)**

La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) se distingue des méthodes *abinitio* basées sur les équations HF car elle s'appuie sur la notion de densité électronique  $\rho(\mathbf{r})$  et non sur celle de fonction d'onde multiélectronique. Cette approche est basée sur deux théorèmes dus à Hohenberg et Kohn [9]. Le premier stipule que "l'énergie totale d'un système dans son état fondamental ne dépend que de sa seule densité électronique  $\rho(\mathbf{r})$ " (l'énergie est donc une fonctionnelle de la densité électronique). Toute propriété de l'état fondamental, dont l'énergie, peut s'écrire comme une fonctionnelle de la densité électronique. Le second théorème est l'analogie du principe variationnel appliqué à la densité et montre que la densité est stationnaire pour l'état fondamental

Parr a défini le potentiel chimique électronique par :

$$\mu = (\delta E / \delta N) \mathbf{v}(\mathbf{r}) = - \chi \quad (1)$$

Le concept de la dureté a trouvé son identification mathématique dans la DFT, c'est la dérivée seconde de l'énergie totale par rapport au nombre d'électrons [10, 11].

$$\eta = (\delta^2 E / \delta N^2) \mathbf{v}(\mathbf{r}) = (\delta \mu / \delta N) \mathbf{v}(\mathbf{r}) \quad (2)$$

$$\sigma = 1/\eta \quad (3)$$

Le potentiel d'ionisation (I) est défini comme la quantité d'énergie nécessaire pour arracher un électron d'une molécule [10]. Il est lié à l'énergie de l'HOMO par l'équation :

$$I = - E_{\text{HOMO}} \quad (4)$$

L'affinité d'électrons (A) est définie comme l'énergie libérée quand un proton est ajouté à un système [10]. Elle est liée à  $E_{LUMO}$  par l'équation :

$$\mathbf{A} = -\mathbf{E}_{LUMO} \quad (5)$$

La quantité  $-(I+A)/2$  n'est autre que l'électronégativité de Mulliken :

$$\mathbf{x} = (\mathbf{I} + \mathbf{A}) / 2 \quad (6)$$

$$\mathbf{\eta} = \mathbf{I} - \mathbf{A} \quad (7)$$

Le potentiel chimique électronique  $m$  et la dureté globale  $\eta$  peuvent être calculés à partir des énergies des orbitales moléculaires frontières  $E_{HOMO}$  et  $E_{LUMO}$  comme suit [11,12]:

$$\mathbf{x} = -(\mathbf{E}_{LUMO} + \mathbf{E}_{HOMO}) / 2 \quad (8)$$

$$\mathbf{\eta} = (\mathbf{E}_{LUMO} - \mathbf{E}_{HOMO}) \quad (9)$$

La fonction Fukui (FF) mesure la sensibilité du potentiel chimique d'un système et la perturbation externe à un point particulier. En fait, une grande attention est accordée au calcul des valeurs FF comme indicateurs de réactivité, ce qui peut éviter l'étude précise de l'hypersurface d'énergie. Pour un système atomique ou moléculaire, les dérivés ci-dessus sont discontinus et difficiles à évaluer. Ainsi différentes définitions opérationnelles de FF sont toujours en cours d'élaboration [13,14] et appliquées [15,16].

Les définitions les plus couramment utilisés sont ceux proposés par Yan et Parr [17]

$$\mathbf{f}^+_{\mathbf{K}} = \mathbf{q}_{\mathbf{N}+1} - \mathbf{q}_{\mathbf{N}} \quad \text{pour une attaque nucléophile (10)}$$

$$\mathbf{f}^-_{\mathbf{K}} = \mathbf{q}_{\mathbf{N}} - \mathbf{q}_{\mathbf{N}-1} \quad \text{pour une attaque électrophile (11)}$$

$$\mathbf{f}^\circ_{\mathbf{K}} = (\mathbf{q}_{\mathbf{N}+1} - \mathbf{q}_{\mathbf{N}-1}) \quad \text{pour une attaque radicalaire (12)}$$

$\mathbf{q}_{\mathbf{N}}$  : population électronique de l'atome  $k$  dans la molécule neutre.

$\mathbf{q}_{\mathbf{N}+1}$  : population électronique de l'atome  $k$  dans la molécule neutre.

$q_{N-1}$  : population électronique de l'atome k dans la molécule cationique.

L'indice de nucléophilie (Nu) empirique (relatif) est défini comme suit [18] :

$$N = E_{\text{HOMO(Nu)}} - E_{\text{HOMO(TCE)}} \quad (13)$$

Cet indice a été valide avec succès par les données expérimentales cinétiques disponibles pour des amines, des diamines, des anilines, des alcools, des éthers, des alcènes.

$$N = \sum N_k \quad (14)$$

La nucléophilie locale a été montré récemment que le site le plus nucléophile peut être facilement identifié par l'indice de la nucléophilie locale,  $N_k$  [18] défini comme le produit de l'indice de nucléophile globale Nu et l'indice de Fukui nucléophilique  $f^-_k$ .

$$N_k = N f^-_k \quad (15)$$

## II.5- Energie de corrélation

L'énergie de corrélation est la différence entre l'énergie exacte non relativiste et l'énergie Hartree-Fock. La prise en compte de cette énergie est en général nécessaire pour une bonne description des systèmes et processus chimiques. La méthode la plus répandue pour calculer cette énergie, consiste à effectuer un calcul de perturbation sur la fonction d'onde SCF. Cette méthode est connue sous le nom de Møller-Plesset [19] et est en générale conduite aux ordres 2 ou 4 (notées respectivement MP2, MP4). La deuxième méthode est basée sur le principe variationnel. On utilise l'espace des configurations pour développer une expression approchée des fonctions propres de l'Hamiltonien. Cette méthode porte le nom d'interaction de configuration [20]. Le nombre de configurations étant très important (nombre de façons de répartir n électrons

sur N niveaux), on se limite souvent aux mono et diexcitations. L'approche de la DFT possède l'avantage d'introduire les effets de corrélation électronique à un coût moindre par rapport aux méthodes *ab initio* traditionnelles. Très souvent, la qualité d'un calcul B3LYP se situe au niveau de ceux obtenus au niveau MP2, voire même MP4, mais aucune règle générale n'est connue. Néanmoins elles restent des méthodes très attractives en raison de leur très bon rapport précision / rapidité.

### **III- Méthodes de chimie non quantique**

#### **III.1- Modélisation des interactions moléculaires**

L'association non covalente et réversible d'un récepteur (R) et d'un ligand (L) pour former un complexe récepteur-ligand (RL), dans un milieu aqueux contenant des électrolytes peut être décrite par l'Équation 10 :



À l'équilibre, cette réaction est déterminée par l'énergie libre de liaison  $\Delta G^\circ$ . Cette quantité est liée (Équation 10) aux constantes d'association ( $K_a$ ) et de dissociation ( $K_d$ ), qui peuvent être déterminées expérimentalement (Équation 11). Elle contient une composante enthalpique ( $\Delta H^\circ$ ) et entropique ( $T\Delta S^\circ$ ) (T étant la température absolue).

$$\mathbf{\Delta G^\circ = -RT \ln K_a = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ} \quad \mathbf{(11)}$$

$$\mathbf{K_a = K_d^{-1} = ([RL]) / ([R][L])} \quad \mathbf{(12)}$$

#### **III.2- La Mécanique Moléculaire**

La mécanique Moléculaire (MM) ne prend en compte la structure électronique qu'implicitement et les atomes sont alors représentés par des

sphères ayant des masses et des rayons différents et possédant une charge. Les liaisons sont décrites comme des ressorts de différentes constantes de force. Ces charges et constantes de force peuvent être obtenues par divers moyens (données cristallographiques ou spectroscopie vibrationnelle, calcul *ab initio*) et sont contenues dans le champ de force. Ce dernier représente l'ensemble des paramètres permettant de calculer l'énergie potentielle du système.

La Mécanique Moléculaire permet le calcul de l'énergie d'interaction d'un système en fonction des seules positions des noyaux, en ignorant ainsi le mouvement des électrons. L'approximation de Born-Oppenheimer est aussi utilisée, cependant, le mouvement des noyaux n'est plus décrit par un Hamiltonien quantique comme en Mécanique Quantique, mais par les descriptions de la mécanique classique où les atomes sont assimilés à des points massiques (éventuellement chargés) et les liaisons chimiques à des ressorts mécaniques.

### **III.2.1- Fonction d'énergie potentielle**

La fonction énergie potentielle est représentée comme une hyper-surface à  $3N-6$  dimensions. Elle est définie empiriquement comme étant la somme des différentes contributions traduisant les interactions physiques inter et intramoléculaires du système étudié. La fonction d'énergie est généralement décrite en termes internes reliés directement aux liaisons covalentes des atomes (interactions liantes) et en termes externes traduisant les interactions entre atomes non liés de manière covalente (interactions non liantes). L'ensemble de ces termes et ces paramètres sont utilisés pour décrire chaque

type d'atome rencontré qui se traduit par un champ de forces qui comporte généralement cinq contributions principales [21].

$$E_{\text{atomes-liés}} = E_{\text{liaisons}} + E_{\text{angles}} + E_{\text{diédres}} \quad (13)$$

$$E_{\text{MM}} = E_{\text{liaisons}} + E_{\text{angles}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{vdW}} + E_{\text{électrostatique}} + (E_{\text{croisés}}) \quad (14)$$

Les trois premiers termes correspondent à la déformation des liaisons, des angles et des angles diédres. Les termes  $E_{\text{vdW}}$  et  $E_{\text{électrostatique}}$  représentent respectivement les interactions de Van der Waals et électrostatique entre les atomes non liés. Enfin, le dernier terme correspond aux termes croisés entre ces différentes contributions. Les conformations stables de systèmes moléculaires correspondent aux minima énergétiques de cette énergie en fonction des coordonnées nucléaires.

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 [22]. 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 [23] de macromolécule comme les protéines et les acides nucléiques [23], de nucléotides [15] de complexes organométalliques [23]. Il est donc dans un premier temps important de vérifier si le champ choisi est adapté au système à étudier.

### III.2.2- Différents champs de force en mécanique moléculaire.

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais paramétrés de manières différentes. Les champs de forces en MM peuvent être groupés en trois classes principales [25]:

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

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

**MM2/MM3/MM4** : MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col [27-28]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcènes, alcynes non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [29] et MM4 (1996) [30] permettent de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

**OPLS** : Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indique son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvatation. Il est élaboré par W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives [31].

**GROMOS** : (Groningen Molecular Simulation Program Package), développé par Van Gunsteren [32] Il est 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 [33-34], pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force était conçu pour les aminoacides et les protéines, actuellement on l'utilise pour étudier 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 d'Urey-Bradly-Shimanouchi[35] 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 [36].

**AMBER:** (Assisted Model Building with Energy Refinement) réalisé par Kollman [37]. Ce champ de force est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules.

**EMO** : Le programme EMO (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaive [38-40], il est basé sur un champ de force qui contient 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.

### **III.3- La dynamique moléculaire**

L'objectif de la modélisation moléculaire est notamment d'obtenir des valeurs macroscopiques à partir de données microscopiques. Pour cela, il faut accumuler un grand nombre de statistiques (échantillonnage du système). Cette statistique sera dépendante de l'ensemble thermodynamique du

système, c'est-à-dire un ensemble statistique représentant la probabilité de distribution des micro-états du système.

Une simulation de dynamique moléculaire consiste à calculer l'évolution d'un système de particules au cours du temps. Dans ces simulations, le temps évolue de manière discrète et l'on souhaite connaître la position et la vitesse des particules à chaque pas de temps. Le calcul des forces d'interaction entre les particules permet de déterminer l'évolution des vitesses, et donc des positions, en utilisant les lois de la dynamique classique de Newton. L'énergie est constituée de l'énergie potentielle et cinétique du système considéré. Les forces correspondantes sont obtenues à partir des dérivées premières de l'énergie. Les équations du mouvement de Newton ( $F = ma$ ) doivent être résolues, elles peuvent s'écrire sous la forme :

$$-dV/dr = md^2r/dt^2(15)$$

Où  $V$  est l'énergie potentielle à la position  $r$ . Le vecteur  $r$  contient les coordonnées de toutes les particules du système.

Plusieurs algorithmes peuvent être invoqués pour résoudre les équations du mouvement. En général les positions à un temps  $t+\Delta t$  sont obtenues par extension en une série de Taylor impliquant la vitesse et l'accélération des particules. Pour plus de détails, le lecteur peut consulter l'ouvrage d'Allen & Tildesley. [41]

Le pas d'intégration  $\Delta t$  d'une dynamique moléculaire est considéré en fonction du mouvement moléculaire le plus rapide. Pour les systèmes moléculaires courants, le mouvement le plus rapide est l'élongation des liaisons impliquant un atome d'hydrogène. Dans notre travail, nous avons fait l'hypothèse que ce degré de liberté n'influence que très peu les propriétés

calculées dans les simulations des complexes en solution. Nous avons donc choisi de fixer ces liaisons afin de pouvoir augmenter le pas d'intégration  $\Delta t$ .

### **III.4-Docking moléculaire**

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

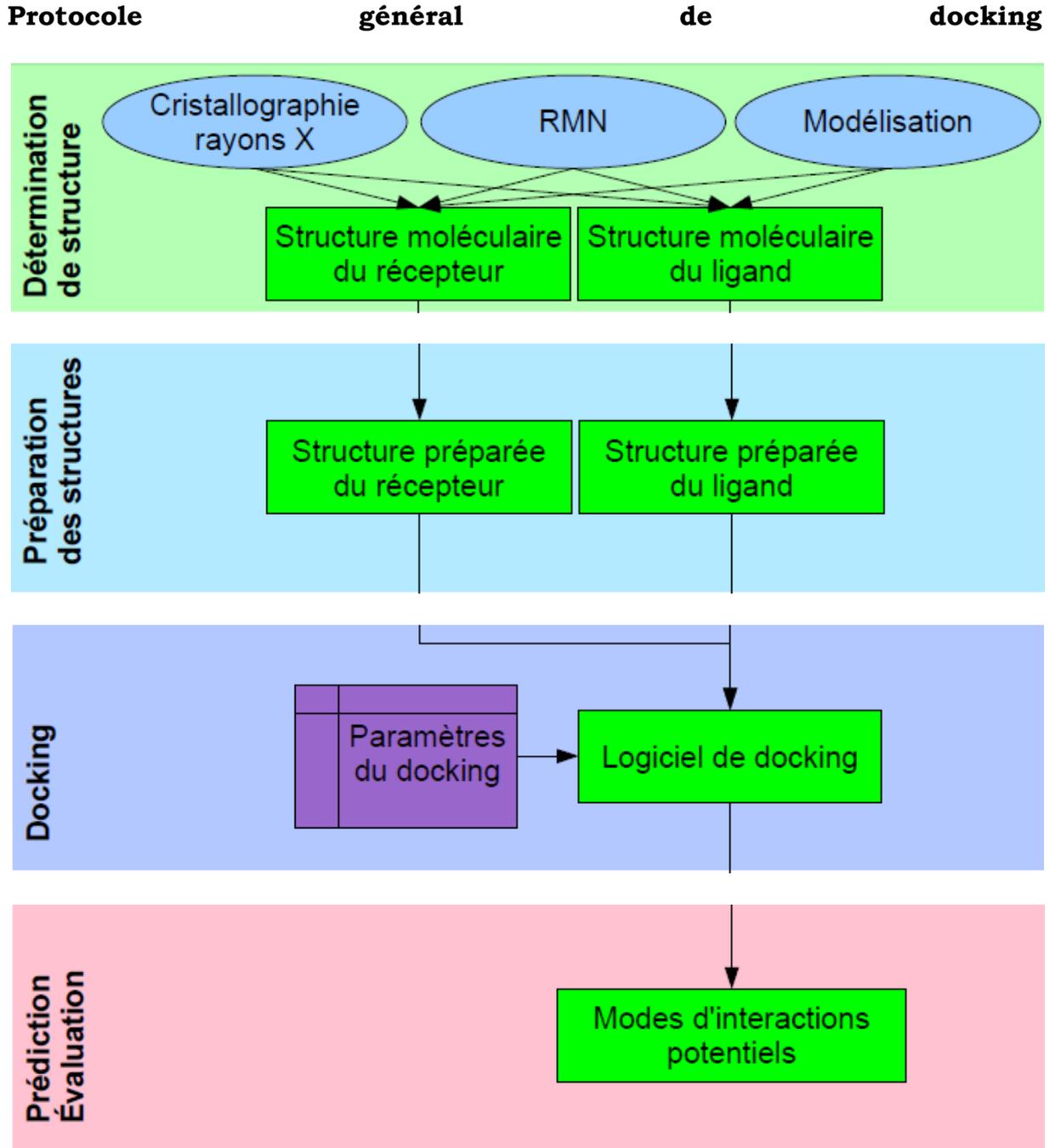
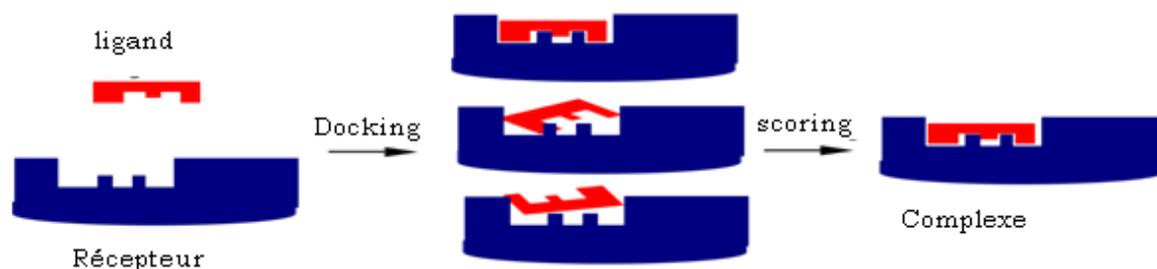


Figure 1: Étapes typiques d'un docking moléculaire.

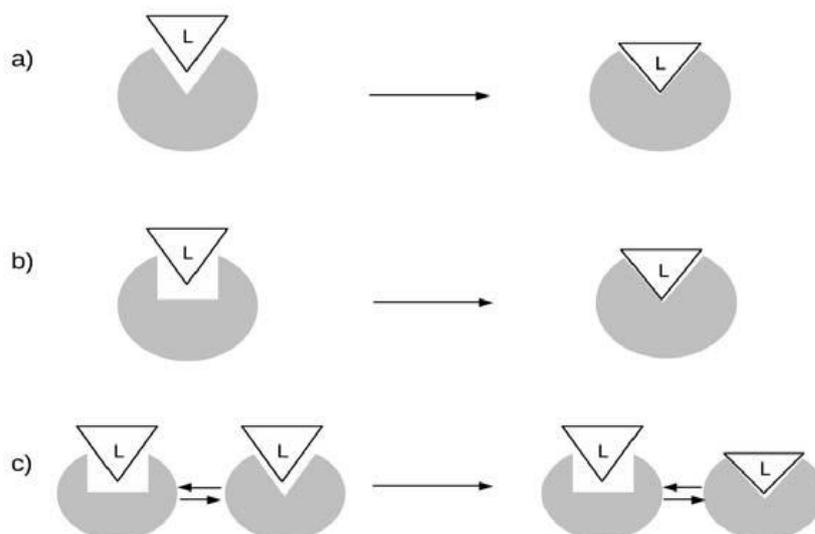
Tous les programmes de "docking" peuvent se décomposer en deux étapes, la partie de recherche des conformations possibles du ligand et la partie d'évaluation de ces conformations ou fonction de score. Celle-ci doit permettre d'attribuer le meilleur score au complexe le plus réaliste déterminé expérimentalement. Pour effectuer ce choix la fonction de score est basée classiquement sur la complémentarité stérique des fonctions et des groupements chimiques. Il existe de nombreuses fonctions de score mais envisager tous les paramètres physico-chimiques qui entrent en jeu dans les interactions intermoléculaires est pour l'instant irréalisable. [42]



**Figure 2** : Principes de base de la conception de la notion clé-serrure. [43]

Les méthodes initiales étaient basées sur le modèle clé-serrure proposé en 1894 par Emile Fischer figure1 [44] : la reconnaissance a lieu lorsque le récepteur et son ligand offrent une complémentarité géométrique exacte. Il faut attendre 1958 pour que Koshland [45] Marie BRUT, Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les modes statiques, propose un nouveau modèle, considérant l'adaptation mutuelle d'un récepteur et de son ligand lors d'une interaction

L'introduction de la flexibilité, mais aussi de paramètres donnant lieu à une reconnaissance chimique (interactions électrostatiques, liaisons hydrogène...), ont complexifié le problème, mais toujours dans le souci d'établir le cadre d'un modèle rigoureux pour atteindre une grande qualité de prédiction (voir figure 2) [46].



**Figure 3 :** Schéma des 3 niveaux de représentation de la flexibilité d'une protéine. a) modèle clé-serrure. b) modèle induced-fit. c) configurations pré-existantes à l'équilibre

Cependant, parmi les forces en jeu, certaines sont plus importantes que d'autres. Ainsi les liaisons hydrogène constituent une des composantes jouant un rôle primordial dans les interactions intermoléculaires. Ceci est dû principalement à l'ubiquité des groupements polaires dans les macromolécules biologiques.

Le plus important problème pour l'étape de Docking moléculaire est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter

des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique et déterministe [42].

### **L'approche combinatoire**

Cette approche est basée sur des grilles de valeurs pour chaque degré de liberté, et chacune de ces grilles est explorée de manière combinatoire au cours de la recherche. En raison de l'effet combinatoire, le nombre d'évaluations augmente bien plus rapidement que le nombre de degrés de liberté. Pour cela, des critères de fin sont imposés pour éviter à l'algorithme de parcourir des portions de l'espace qui ne mèneraient qu'à de mauvaises solutions.

### **L'approche stochastique**

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Habituellement il s'agit de modifier un degré de liberté à chaque fois. L'un des points faibles de cette méthode est l'incertitude de convergence. Pour l'éviter, il faut multiplier les calculs, indépendamment les uns des autres. Un des principaux algorithmes stochastiques est la méthode de Monte Carlo [47].

### **L'approche déterministe**

Dans l'approche déterministe, l'état initial détermine les mouvements à effectuer pour générer l'état suivant. Cet état devant être d'énergie égale ou inférieure à celle de l'état initial. Le problème des systèmes déterministes est qu'ils peuvent facilement rester piégés dans un minimum local car leurs

capacités à surmonter des barrières énergétiques sont faibles. Il s'agit de l'approche la plus simple et la plus directe.

L'exemple le plus répandu est la simulation de dynamique moléculaire. Cette méthode est très rarement employée en Docking moléculaire du fait des moyens qu'elle demande et de son biais pour les minima locaux.

Pour simuler les interactions protéines-ligands, nous avons choisi trois programmes de docking moléculaire. Il s'agit des programmes, Molegro virtuedockor (MDV) UCSF chimera et Molecular Operating Environment (MOE).

## Références

1. Atkins, P.W. *Molecular Quantum Mechanics*. Oxford University Press: Oxford, **1983**
2. Born, M.; Oppenheimer, J.R. Zur Quantentheorie der Molekeln. *Ann. Physik* 84, 457-484, **1927**.
3. Atkins, P.W. *Molecular Quantum Mechanics*. Oxford University Press: Oxford, **1983**.
4. Szabo; Ostlund, N.S. *Modern Quantum Chemistry*. Macmillan: New York, **1982**.
5. Rivail, J.L. *Eléments de Chimie Quantique à l'Usage des Chimistes*. InterEditions: Paris, **1994**
6. Leach, A.R. *Molecular Modeling. Principles and applications*. Addison Wesley Longman: Essex, England, **1996**.
7. Pauli Jr., W. *Z. Physik* 1925, 31, 765, Slater, J.C. *The Theory of Complex Spectra*. *Phys. Rev.* 34, 1293-1322, **1929**.
8. Leach, A.R., *Empirical force field models: molecular mechanics*, in *Molecular modeling: principles and applications*, Longman, A.W., Editor: Harlow, England. **1996**.
9. Honenberg, P.; Kohn, W. *Inhomogeneous Electron Gas*. *Phys. Rev.* 136, B864-B871, **1964**.
10. R. G. Parr, W. Wang, *Density Theory for atoms and Molecules*, Oxford University Press: Oxford, **1989**.
11. T. M. Lowry, *Chem. Ind.* 42, 43, **1923**.

12. Nalewajski, R. F.; Korchowicz, J. *Charge Sensitivity Approach to Electronic Structure and Chemical Reactivity*: World-Scientific: Singapore, **1997**.
13. Mineva, T.; Neshev, N.; Russo, N.; Sicilia, E.; Toscano, M. *Adv. Quantum Chem.* **33**, 273, **1999**.
14. Cohen, M. H. In *Topics in Current Chemistry Vol 183: Density Functional Theory IVs Theory of Chemical Reactivity*: Nalewajski, R. F., Ed.; Springer-Verlag: Heidelberg, p 143, **1986**.
15. Yang, W.; Mortier, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 5708, **1986**.
16. R. G.; Yang, W. *Density Functional Theory of Atoms and Molecules*; Oxford University Press: New York, **1989**.
17. (a) L. R. Domingo, E. Chamorro, P. Perez, *J. Org. Chem.*, **73**, 4615, **2008**.
18. P. Pérez, L.R. Domingo, M. Duque-Noreña, E. Chamorro: "A condensed-to-atom nucleophilicity index. An application to the director effects on the electrophilic aromatic substitutions", *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **895**, 86-91, **2009**.
19. Moller, C.; Plesset, M.S. Note on an Approximation Treatment for Many-Electron Systems. *Phys. Rev.* **46**, 618-62, **1934**.
20. Foresman, J.B.; Head-Gordon, M.; Pople, J.A.; Frisch, M.J. Toward a systematic molecular orbital theory for excited states. *J. Phys. Chem.* **96**, 135-149, **1992**.
21. M. LEDECQ, Thèse de doctorat, Université de Notre-Dame de la Paix, France, **2004**.
22. K.B. Lipkowitz: "Abuses of molecular mechanics: Pitfalls to avoid", *J. Chem.*, **72**, 1070-1075, , **1995**.

23. San Diego; Biosym/MSI, Discover User Guide,. October 1995.
24. 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, 230–252, **1986**.
25. U. Dinur, A.T. Hagler:” New Approaches to Empirical Force Fields”, *Reviews in computational Chemistry* , vol 2, K.B. Lipkowitz and D.B. Boyd, Eds VCH, Weinheim ,Germany pp. 2-99, **1991**.
26. N.L. Allinger, J.A. Chen, S.R Katzenellenbogen, G.M. Anstead:“ Hyperconjugative effect on carbon-carbon bond lengths in molecular mechanics (MM4)“, *J. Comp. Chem.*, 17, 747, **1996**.
27. N.L. Allinger:” Calculation of Molecular Structure and Energy by Force-Field Methods”, *Adv. Phys .Org. Chem*, 13, 1-82, **1976**.
28. U. Burkert, N.L. Allinger:“ Molecular Mechanics”, ACS Monograph 177”, American Chemical Society, Washington DC. **1982**.
29. N.L. Allinger, Y. H. Yuh, J-H. Li:” Molecular Mechanics, The MM3 Force Field for Hydrocarbons”, *J. Am .Chem. Soc.*111, 8551, **1989**.
30. N.L. Allinger, K. Chen, J-H. Lii:” An improved force field (MM4) for saturated Hydrocarbons”, *J. Comp. Chem.* 17, 642, **1996**.
31. W.L. Jorgensen, J.T. Rives:” The OPLS Potential Functions for Proteins. Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin”, *J. Am. Chem. Soc* , 110,1657–1666, **1988**.
32. W.F. Van Gunsteren, M. Karplus:” Protein dynamics in solution and in a crystalline environment: a molecular dynamics study”, *Biochemistry* , 21 (10), 2259–2274, **1982**.

33. B.R. Brooks, R.E. Bruccoleri, B.D. Olafson, D.J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, J.M. Charmm: "A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations", *Comp.Chem*, 4, 187-217, **1983**.
34. J.C. Smith, M. Karplus: "Empirical force field study of geometries and conformational transitions of some organic molecules" *J. Am Chem. Soc.* 114 (3), 801-812, **1992**.
35. T. Shimanouchi: "Force constants of small molecules", *Pure. Appl. Chem.*, 7, 131-146, **1963**.
36. F. Tristram, V. Durier, G. Vergoten: "The structures and vibrational frequencies of a series of aliphatic alcohols as obtained using the spectroscopic potential SPASIBA", *Journal of Molecular Structure.*, 378, 249-256, **1996**.
37. A. Bouraoui, M. Fath Allah, B. Blaive, R. Gallo: "Design and molecular mechanics calculations of new iron chelates", *J.Chem.Soc. Perkin Trans 2*. 1211-1214, **1990**.
38. A. Bouraoui, M. Fath Allah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo: "Modeling of Molecular Structures and Properties", *Proceeding of an International Meeting Nancy, France, 11-15, Studies in Physical and Theoretical chemistry*, 71, 381-393, **1989**.
39. B. Blaive, G. Legsaï, R. Lai: "Utilization of d<sub>0</sub>, d<sub>1</sub>, d<sub>2</sub> electron configurations to obtain parameters for transition metals in the molecular mechanics of dioxo- or diimidotetrahedral complexes (Cr, Mo, Re, Os)", *J. Mol. Struct.*, 354, 245-250, **1995**.

40. 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, 230–252, **1986**.
41. Allen, M.P.; Tildesley, D.J. *Computer Simulations of Liquids*. Oxford University Press: Oxford ; **1987**.
42. Chikhi Abdelouahab *Calculs Et Modélisations Des Interactions Peptide Deformylase Substances Antibacteriennes A L’aide De Techniques De “Docking” (Arrimage) Moléculaire*, Thèse De Doctorat D’etat En Microbiologie, Universite Mentouri Constantine, 2007
43. ERLANSON D. A., *Fragment-based lead discovery: a chemical update.*, *Curr Opin Biotechnol*, 17 : 643-652, **2006**,.
44. Fischer E., *Einfluss der configuration auf die wirkung der enzyme*. *Ber. Dtsch. Chem.Ges.* 27, 2985-2993, **1894**
45. Koshland D.E. Jr., *Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis*. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 44, 98-104, **1958**.
46. Carlson H.A., McCammon J.A., *Accommodating protein flexibility in computational drug design*. *Pharmacology* 57, 213-218, **2000**.  
Brooijmans N., Kuntz I.D., *Molecular recognition and docking algorithms*. *Annu. Rev.Biophys. Biomol. Struct.* 32, 335-373, **2003**. Ehrlich L.P., Nilges M., Wade R.C., *The impact of protein flexibility on protein-protein docking*. *Proteins* 58, 126-133, **2005**
47. Holland JH. *Adaptation in Natural and Artificial Systems*. University of Michigan Press: Ann Arbor, MI. **1975**

# Chapitre II :

*Métaux de transitions et complexes*

## **I-Métaux de transitions**

### **I.1-Introduction**

D'un point de vue purement chimique, les éléments de la classification périodique formant des cations en solution sont des métaux.

Parmi les métaux de transition  $3d$ , le fer, le cobalt et le nickel et le cuivre présentent la propriété remarquable de posséder une aimantation spontanée en l'absence de champ magnétique en dessous de la température de Curie (TC) : ils sont ferromagnétiques. Cette aimantation spontanée augmente lorsque la température décroît et devient maximale à  $0^\circ \text{K}$ .

### **I.2- CARACTERISTIQUES DU CUIVRE, COBALT ET NICKEL**

#### **A.1-Le cuivre**

Le cuivre (Cu) a été découvert depuis des milliers d'années, est un élément pur présent sur ses surfaces fraîches une teinte rosée à pêche. C'est un métal ductile possédant une conductivité électrique et thermique particulièrement élevées qui lui confèrent des usages variés. Il intervient également comme matériau de construction et entre dans la composition de nombreux alliages.

Les composés du cuivre se présentent sous plusieurs états d'oxydation, généralement +II ( $\text{Cu}^{+2}$ ), par lesquels ils confèrent une couleur bleu ou verte aux minéraux qu'ils constituent.

Le sulfate de cuivre et ses formes hydratées font partie des sels de cuivre les plus courants. C'est un composé formé par la combinaison d'un ion cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) et d'un ion sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). Les formes les plus commercialisées du sulfate de cuivre sont ses formes soit :

- Hydratées de formule  $\text{CuSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  ( $x = 1, 3, 5$ )

- Anhydre de formule  $\text{CuSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  [1,2].

### **A.2-Le cuivre dans l'organisme**

Le cuivre est présent dans tous les tissus et la plupart des fluides organiques (voir tableau 1 établi d'après les références [3,4]).

L'organisme d'un adulte en contient entre 1,4 mg/Kg et celui d'un nourrisson trois fois plus [5], ce qui explique l'importance du cuivre dans le métabolisme.

Ingéré par l'alimentation, le cuivre est absorbé par l'estomac et l'intestin grêle. Il est stocké par le foie et normalement excrété par la bile. Ceci explique sa présence notable dans ces tissus.

On le trouve en quantité importante dans le cerveau, le cœur et le système rénal. Le foie libère le cuivre en majorité sous forme de céruloplasmine, une enzyme de masse molaire de 132.000, concernant de 6 à 8 atomes de cuivre chélatés [6] et, plus faiblement, sous forme d'un complexe avec l'albumine du sérum qui assure le transport de cet ion dans le sang [5].

On observe ainsi des échanges avec d'autres coordinats, donnant naissance à de nombreux composés cuivrés. Les protéines contenant le cuivre se répartissent en trois classes, intervenant à plusieurs niveaux du métabolisme.

**Tableau 01** : Concentration moyenne du cuivre dans quelques tissus et fluides biologiques humains [3,4].

Tissus	( $\mu\text{g/g}$ de cendre du tissu)	Fluides	( $\mu\text{g/ml}$ )
Vésicule biliaire	750	Bile	547
Foie	680	Suc pancréatique	105
Cerveau	370	Sang (total)	1.01
Cœur	350	Erythrocytes	0.98
Rein	270	Plasma	1.12
Intestins	180 à 300	Sérum	1.19
Estomac	230	Sueur	0.55
Glandes surrénales	210	Lait	0.2 à 0.5
Pancréas	150	Salive	0.08
Oesophage	140	Urine	0.04
Ovaire, Poumon	130		
Peau, vessie	120		
Prostate, utérus	110		
Thyroïde	100		
Aorte	97		
Testicules	95		
Rate	93		
Muscle	85		
Os	25		
Ongles	23		

### **B.1- Le cobalt**

Le cobalt (Co) a été découvert par Georg Brandt vers 1735, c'est un élément chimique de la série des métaux de transition. C'est un métal dur, gris, brillant et ferromagnétique. Il ne réagit ni avec l'eau, ni avec l'air à température ambiante. Le cobalt est un élément utilisé dans les batteries, dans les alliages résistants à l'usure.

En solution, le cobalt peut exister aux états d'oxydation  $II^+$  et  $III^+$ , l'état  $II^+$  ( $Co^{2+}$ ) étant considéré comme le plus stable dans la plupart des conditions environnementales.

Le sulfate de cobalt et ses formes hydratées font partie des sels de cobalt les plus courants. C'est un composé inorganique de formule  $CoSO_4$ , c'est le sel de cobalt bivalent de l'acide sulfurique. Les formes de ce composé les plus commercialisées sont ses formes hydratées  $CoSO_4 \cdot 7H_2O$ , et anhydre  $CoSO_4 \cdot H_2O$ .

Le sulfate de cobalt peut être obtenu à partir de plusieurs réactifs : le cobalt métallique, l'oxyde de cobalt(II), l'hydroxyde de cobalt(II) et le carbonate de cobalt(II) [1,7].

### **B.2-Le Cobalt dans l'organisme**

Le cobalt est lui-aussi essentiel à la vie, mais beaucoup moins présent que le cuivre dans l'organisme. Le principal composé biologique est la cyanocobalamine (vitamine B12) qui ne contient qu'un seul atome de cobalt. Elle joue un grand rôle dans les processus de croissance et, à ce titre, semble impliquée dans le développement des tumeurs cancéreuses [8].

Le cobalt possédant plusieurs isotopes radioactifs, la découverte d'un complexe se fixant sélectivement sur les tumeurs, ou un organe atteint, serait

d'un grand intérêt. L'antibiotique bléomycine A2 (ou un de ses deux cents analogues) peut chélater un ion métallique. Le complexe formé avec  $^{57}\text{Co}$  est fixé par les cellules cancéreuses avec une très bonne sélectivité puisque le rapport [complexe dans la tumeur]/[complexe dans la sang]= 50 [9-10] alors qu'il est de l'ordre de l'unité pour les complexes avec  $^{111}\text{In}$ ,  $^{64}\text{Cu}$  et  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Malheureusement, la période relativement grande de  $^{57}\text{Co}$  (270 jours) le rend quasiment inapte à tout usage clinique [11].

Il n'en est pas moins intéressant de comparer les aptitudes complexantes des ions  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Co}^{2+}$ , ce que nous avons fait pour quelques composés.

### **B.3-l'utilisations industrielles et médicales**

Compte tenu de leur activité spécifique élevée, les sources de Co sont utilisées dans les domaines médical (radiothérapie) et industriel (gammagraphie, jauges de niveau, stérilisation de matériel, ionisation d'aliments) et en recherche (métrologie et irradiation). Les sources scellées de Co se présentent généralement sous la forme de capsules métalliques cylindriques à simple ou double enveloppe contenant la matière radioactive. Dans le cas d'un irradiateur industriel, il s'agit d'un empilement de sources élémentaires.

### **C- Le nickel**

Le nickel(Ni) a été découvert par Axel Fredrik Cronstedt en 1751, c'est un métal blanc argenté, brillant, dur, malléable et ductile. Résiste à la corrosion, soluble dans les acides, excepté  $\text{HNO}_3$ , ne réagit pas avec les alcalins. Il a des propriétés mécaniques voisines de celles du fer et sert à la préparation de nombreux alliages, en particulier des aciers au nickel.

Grâce à sa résistance à l'oxydation et à la corrosion, il est utilisé dans les pièces de monnaie, pour le plaquage du fer, du cuivre.

A l'état naturel, le nickel est un mélange de 5 isotopes stables  $^{58}\text{Ni}$  (68.25%),  $^{60}\text{Ni}$  (26.10%),  $^{61}\text{Ni}$  (1.15%),  $^{62}\text{Ni}$  (3.60%) et  $^{64}\text{Ni}$  (0.90%) et de 6 autres instables [1].

## **II- Les complexes**

### **II.1-Définition d'un complexe**

Un complexe ou composé de coordination est une structure formée par l'association d'un cation métallique central avec des molécules ou des ions qui l'entourent et qui sont susceptibles de fournir un doublet électronique au cation, ces donneurs sont appelés ligands (appelés aussi coordinats). Les ligands peuvent être des ions constitués d'un seul atome (comme les ions halogénures :  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ), des molécules neutres (contenant un ou plusieurs hétéroatomes donneurs) ou des ions moléculaires (organiques : comme l'acétate  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  ou minéraux comme le phosphate  $\text{PO}_4^{3-}$ ).

### **II.2 -Géométrie d'un complexe**

La structure d'un complexe dépend de son nombre de coordination (NC) qui est égal au nombre de liaisons  $\sigma$  entre les ligands et l'atome central. Le nombre de coordination est égal au nombre de ligands liés à l'ion métallique si les ligands sont monodentés. Ce nombre de ligands est compris entre 2 et 9, mais les complexes comprenant un grand nombre de ligands (supérieur à 6) sont peu courants. Les géométries régulières (la distance cation-ligand est considérée comme identique) dont les plus répandues sont :

- NC=2 : linéaire.
- NC=3 : trigonal plan.

- NC=4 : tétraédrique ou plan carré.
- NC=5 : bipyramidale à base triangulaire ou pyramidale à base carrée.
- NC=6 : octaédrique ou prisme à base carrée.

### **II.3- Les principaux facteurs qui influent sur la complexation**

#### **a-Nature du ligand**

La nature du ligand joue un rôle primordial dans la formation du complexe et dans sa géométrie. Selon le nombre de liaisons qu'un ligand forme avec le métal, nous distinguons les ligands monodentés ayant une liaison avec le centre métallique et les ligands polydentés ayant plusieurs liaisons avec le centre métallique. Les ligands polydentés sont classés en plusieurs catégories : bidentés, tridentés, tétradentés, .....

Le ligand doit être sélectif à l'espèce (cation) qu'on veut extraire. Le nombre de sites de complexation doit correspondre au mieux au nombre de coordination du cation à complexer.

D'autre part, la dureté ou la mollesse des ligands constitue une propriété assez importante qui doit être prise en considération lors de la formation d'un complexe. Généralement les ligands durs forment des complexes stables avec les cations durs et les ligands mous forment des complexes stables avec les cations mous.

#### **b-Nature du métal**

Les propriétés des complexes dépendent généralement du métal, de son nombre d'oxydation et de son nombre de coordination avec les ligands. Deux types de cations sont à distinguer dans ce contexte : les cations durs et les cations mous.

Les cations durs sont peu polarisables. C'est l'exemple des métaux alcalins et alcalino-terreux (exemples :  $\text{Li}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ti}^{4+}$ ).

Alors que les cations mous sont polarisables et en général de configuration électronique  $nd^{10}$ . C'est l'exemple des métaux  $\text{Cd}^{2+}$  et  $\text{Hg}^{2+}$ .

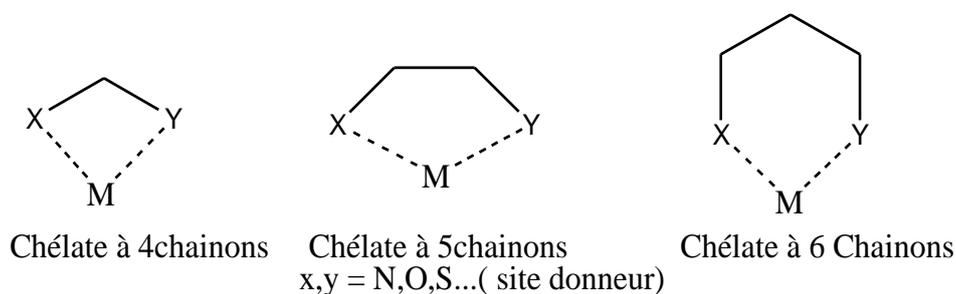
Les métaux de transition ainsi que les cations avec configuration électronique  $nd^{10} (n+1) s^2$  (par exemple :  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ) se situent entre "dur" et "mou".

### c-Stabilité du complexe

Un complexe est dit stable si l'équilibre est déplacé du côté des produits. La constante de stabilité globale  $K$  est grande et la variation d'enthalpie libre de la formation du complexe est négative :  $\Delta G^\circ < 0$ .



La stabilité des complexes est due essentiellement à la nature des chélates formés. Les chélates sont plus stables que les complexes formés avec les ligands monodentés correspondants. Il est connu [12] que les chélates à cinq chaînons sont plus stables que les chélates à six chaînons ainsi que les chélates à quatre chaînons.



**Figure 1** : Chélates à 4,5 et 6 chaînons.

### **III-Enzyme :**

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

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

Les enzymes sont constituées de deux parties :

- Le site de reconnaissance (ou site de liaison au substrat); permettant de fixer le substrat grâce à certains acides aminés.
- Le site catalytique (où a lieu la transformation du substrat) permettant de transformer le substrat grâce à des acides aminés qui interagissent avec le substrat.
- Le **site actif** désigne en catalyse la partie du catalyseur qui va interagir avec le(s) substrat(s) pour former le(s) produit(s). Cette notion concerne tous les types de catalyseurs, mais on l'associe généralement aux enzymes. Le site actif des catalyseurs fait l'objet d'études poussées dans le cadre de la recherche de nouveaux catalyseurs et de l'étude des mécanismes réactionnels en biochimie.
- L'activité des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le **site actif** qui a la forme d'une cavité ou d'un sillon. Les molécules ou ligands sur lesquelles agit une enzyme sont définies comme les substrats de la réaction enzymatique. Elles se fixent dans le site

actif de l'enzyme en formant des interactions avec la surface de la cavité du site actif. Ces interactions permettent en particulier d'orienter le(s) substrat(s) pour favoriser la réaction. Les groupements fonctionnels de certains résidus d'acides aminés qui forment la cavité du site actif peuvent alors participer à la réaction. On parle de résidus catalytiques ou de résidus du site actif.

Plusieurs méthodes de régulation existent, qu'elles soient dues aux gènes, au besoin de cofacteurs ou par l'utilisation d'inhibiteurs.

De nombreuses étapes sont franchies entre le moment du premier contact entre le VHC et la cellule cible, la transformation de celle-ci en mini-usine à virus et la libération de la première nouvelle copie de VHC par la cellule. En théorie, chacune de ces étapes peut servir de cible pour la mise au point de médicaments susceptibles de bloquer l'infection par le VHC et la production de nouvelles copies virales.

Une fois à l'intérieur de la cellule, le VHC lance le processus de production de protéines dont de nombreuses enzymes nécessaires pour transformer la cellule en mini-usine à virus. Les gènes que porte le VHC contiennent les renseignements nécessaires à la fabrication de deux groupes de protéines, comme suit :

- protéines structurales
- protéines non structurales

**Les protéines structurales** : sont utilisées pour créer un contenant naturel pour le virus. En voici quelques exemples :

- C
- E1

- E2

**Les protéines non structurales** : sont les nombreux enzymes et cofacteurs qui aident à déclencher la fabrication de nouvelles copies de VHC. En voici quelques exemples :

- NS1
- NS2
- NS3
- NS4A
- NS4B
- NS5A
- NS5B

### **III.2-Classification**

On classe les enzymes en fonction du type de réaction qu'elles catalysent.

Elles ont donc chacune un **numéro d'ordre**, un **nom systématique** et un **nom commun** pour certaines.

- **Oxydoréductases** : Échange H entre le donneur et le receveur (ex : oxydation, réduction, respiration, fermentation ...)
- **Transférases** : Échange d'un groupement entre le donneur et le receveur
- **Hydrolases** : Rupture d'un groupement avec H<sub>2</sub>O (ex : digestion, dégradation ...)
- **Lyases** : Formation ou rupture de liaisons entre deux atomes autres que l'hydrogène
- **Isomérases** : Modifications internes de la molécule (ex : changement d'isomère)

➤ **Ligases** (ou synthétases) : Condensation de deux molécules (ex : ATPase)

### **III.3-Structure, site actif**

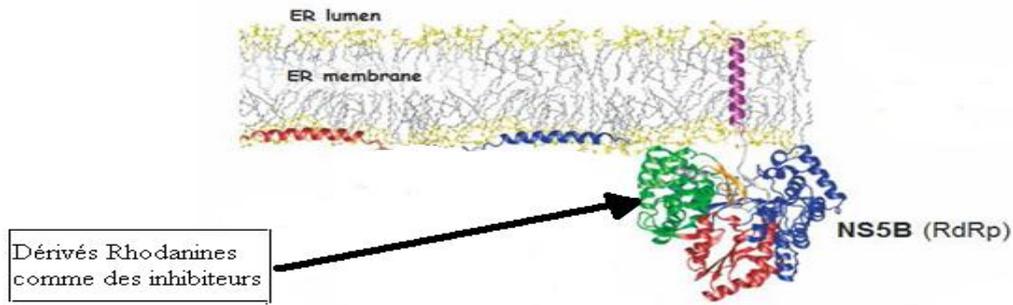
La structure s'obtient grâce à la cristallographie, la spectroscopie des rayons X et la modélisation informatique.

Le pouvoir catalyseur de l'enzyme dépend de sa **conformation** et de son **repliement**. Elle possède une structure particulière appelée le **site actif**, composée de quelques acides aminés (pas forcément contigus). Ce site reconnaît le substrat et effectue la réaction, on dit qu'il contient un **site de fixation** et un **site d'action**. On observe qu'un changement d'un seul des acides aminés du site actif suffit à complètement changer l'activité et la spécificité de l'enzyme. Au contraire, une modification des acides aminés hors du site actif peut n'avoir aucune conséquence sur le métabolisme de l'enzyme.

Un **inhibiteur enzymatique** est une substance se liant à une enzyme et qui en diminue l'activité. Un inhibiteur peut empêcher la fixation du substrat sur le site actif en se fixant à sa place, ou provoquer une déformation de l'enzyme qui rend celle-ci inactive (inhibiteur allostérique). L'inhibition des enzymes joue un rôle important dans le contrôle des mécanismes.

### **Enzyme impliquée dans le VHC [13]**

Pour développer des nouvelles molécules antivirales, il est nécessaire d'avoir une meilleure connaissance des différentes protéines du VHC mais également de leurs interactions avec les facteurs cellulaires, car chacune de ces interactions est une cible potentielle pour un nouveau médicament antiviral.



**Figure 2** : Complexe de réplication du virus de l'hépatite C avec les protéines virales NS5B.

La protéine NS5B [14 ,15] a une fonction bien définie, c'est l'ARN-dépendante ARN polymérase qui permet la réplication du génome du virus de l'hépatite C [16].

### **Enzyme impliquée dans l'activité antimicrobienne**

PBP (Penicilline Binding Protéine) une protéine associée à la membrane qui catalyse l'étape finale de la biosynthèse de murein [17].

**Références**

1. F.A.Cotton,G.Wilinson, *Advanced Inorganique chemistry*, Fithed.John Wiley and Sons,**1988**.
2. E.J.Underwood,N,F.Suttle,Copper.In: *The mineral nutrition of livestock*.Ed.3, CABI Publishing, Wallingford, UK, 283-342, **1999**.
3. G.V. IYENGAR, W.E. KOLLMER et H.J.M.BOWEN,"the elemental composition of human tissue and of human tissue and body fluids", Springer , New-York, **1978**.
4. I.H. TIPTON et M.J. COOK, *Health phys*, 9, 105, **1963**.
5. B. SAKKAR in "Metal ions in biological systems",MARCEL DEKKER Inc., New-York and Basel, 10, 253, **1980**.
6. U.WESSER, L.M. SCHUBOTZ et M.YOUNES in"Copper in the environment", Part 2: Health effects, WILLEY, New-York, **1977**.
7. J.D.Donaldson, D.Beyersmann"Cobalt and Cobalt Compounds" in Ullman's *Encyclopedia of Industrial Chemistry* ,ed.Wiley-VHC,**2005**.
8. S.Kanopkaite et G.Brazenas in «"metal ions in biological systems",Marcel Dekker Inc., New-york and Basel,10,253 , **1980**.
9. H.Renaut, J.Rapin et L.Wicart,Compte rendus Acad. *Sci.,série c*,1971,273,**2013**.
10. J.P. Nouel, *Gann Monog. Cancer Res.*, 19, 301,**1976**.
11. A.Yokoyama et H.Saji in"Metal ions in biological systems", Marcel Dekker Inc., New-York and Basel, 10,313, **1980**.
12. C. Mazet, L. H. Gade, *Organomet.*, 100, 79. **2001**.
13. Clark VC, Peter JA, Nelson DR. New therapeutic strategies in HCV: second-generation protease inhibitors. *Liver International* 2013 Feb 33

- Suppl 1:80-4. , Asselah T, Marcellin P. Interferon free prtherapy with direct acting antivirals for HCV. *Liver International* Feb;33 Suppl 1:93-104,**2013**.
14. EASL International consensus conference on hepatitis C. Consensus statement. *J Hepatol*; 30: 956-61,**1999**.
15. Hépatite C : prévalence mondiale. *Relevé épidémiologique hebdomadaire* .72: 341-348,**1997**.
16. Behrens, S. E., Tomei, L. & De Francesco, R. Identification and properties of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *EMBO J*. 15, 12-22,**1996**.
17. Navratna, S.Nadig,V.Sood,K.Prasad,Gayathri.A and Sir Dorabji Tata Center for and B. Gopal (Molecular Basis for the Role of *Staphylococcus aureus* PenicillinBinding Protein 4 in Antimicrobial Resistance) *J. BACTERIOLOGY*, Jan. Vol. 192(1) 134-144,**2010**.

# **Chapitre III :**

***Résultats et Discussion***

Ce travail consiste à étudier les interactions entre les différents inhibiteurs et des différentes enzymes par les méthodes de la modélisation moléculaire.

Dans ce chapitre nous avons englobé tous les résultats de calcul effectués dans notre travail et la discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interactions, les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs.

Le travail de cette thèse a englobé les parties suivantes :

- **Etude 1** : Prédiction des ligands ayant l'activité inhibitrice contre le Virus Hépatite C(VHC).
- **Etude 2** : Prédiction de nouveau médicament pour le virus de l'hépatite C (VHC).
- **Etude 3** : Etudes de complexes avec des ions métalliques. Activité antimicrobienne par DFT et de docking moléculaire.

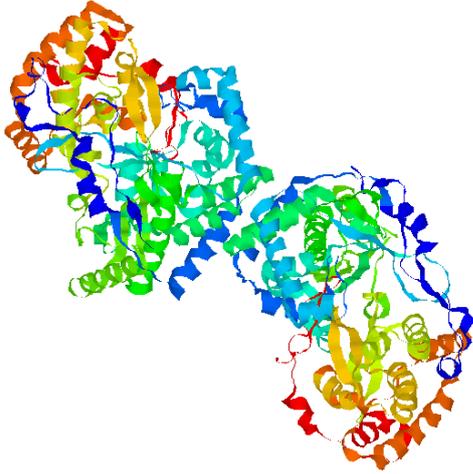
### I-Méthodologie de calculs

#### I.1-Préparation du récepteur

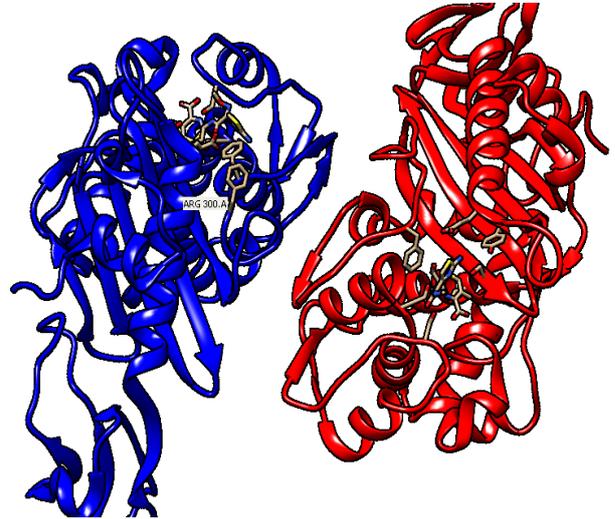
Le téléchargement des deux enzymes a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)) [1] :

- La polymérase NS5B (non structurale 5B code pdb : 3TYV) [2] (figure 1) cristallise sous forme de dimère avec 8787 atomes est une cible clé pour l'anti-VHC.
- Protéine de Liaison à la Pénicilline (PBP : Penicilline Binding Protéine code pdb : 3HUM) [3](figure 2) cristallise sous forme de dimère avec 5634

atomes est une protéine associée à la membrane qui catalyse l'étape finale de la biosynthèse de murein (peptidoglycane, ou mucocomplexe, ou mucopeptide) [3].



**Figure 1 :** Enzyme NS5B.  
Code 3TYV

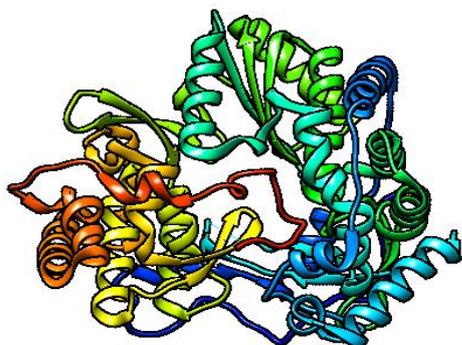


**Figure 2 :** EnzymePBP.  
Code 3HUM

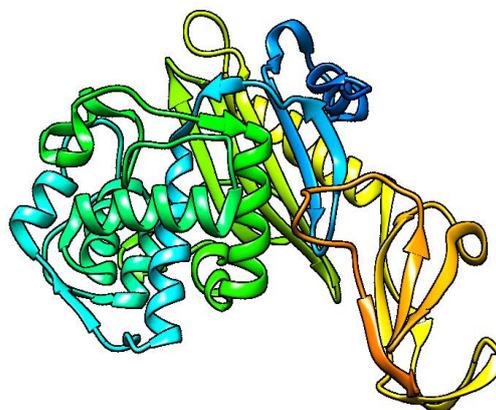
**Tableau 1 :** Données cristallographiques

Enzyme	Classification	Poids moléculaire(KDa)	Polymère	Chaîne	Résolution(Å)
La polymérase NS5B (3TYV)	Transférase	129510.38	2	A et B	1.65
Penicilline Binding Protéine (3HUM)	Hydrolase	102161.71	2	A et B	2.3

Avec l'effet réducteur de la modélisation moléculaire, les deux modèles des enzymes sont simplifiés. On retient seulement un monomère pour la polymérase (3TYV) (figure 3) et le PDP (3HUM) (figure 4).



**Figure 3** : Enzyme NS5B simplifié



**Figure 4** : Enzyme PBP simplifié

## II.2-Préparation des inhibiteurs

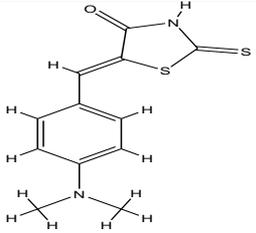
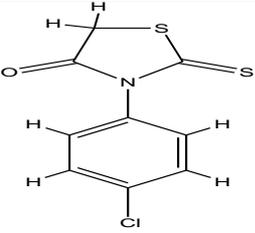
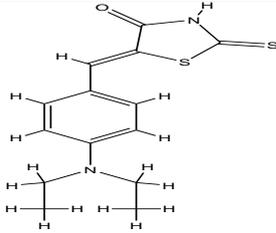
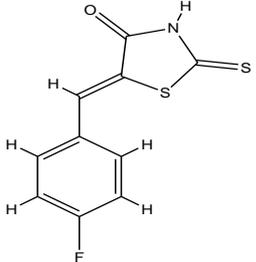
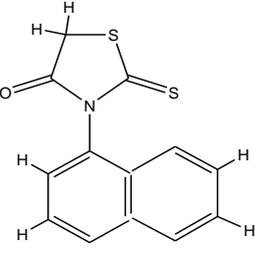
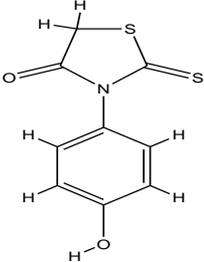
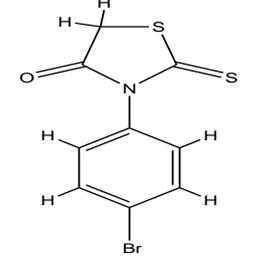
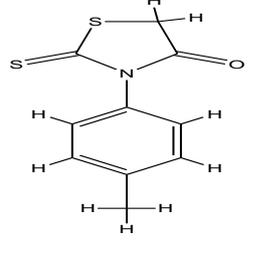
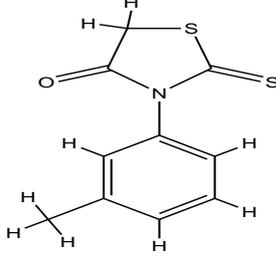
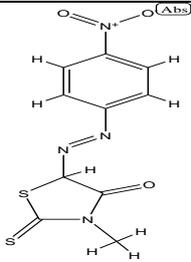
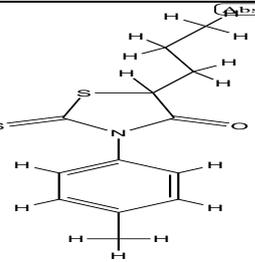
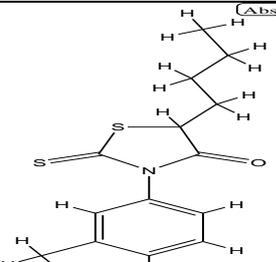
Dans la première étude, toutes les structures ont été optimisées par le logiciel EMO (Energy of Molecule), pour la deuxième étude les structures sont optimisées par MOE (Molecular Operating Environment). Dans la troisième étude, les ligands ont été optimisés par la méthode de la DFT en utilisant la base B3LYP (6-31G\*) implémentée dans le programme gaussian 03[4].

Le calcul des indices de Fukui, nucléophilie, HOMO et LUMO nous permet de prévoir le site d'attaque entre les ligands et les métaux étudiés (Ni(II), Co(II) et Cu(II)).

Dérives de la rhodanine

Les dérivés de la rhodanine [5,6] ont été téléchargés grâce à la base de données pubchem ([www.pubchem.com](http://www.pubchem.com)).

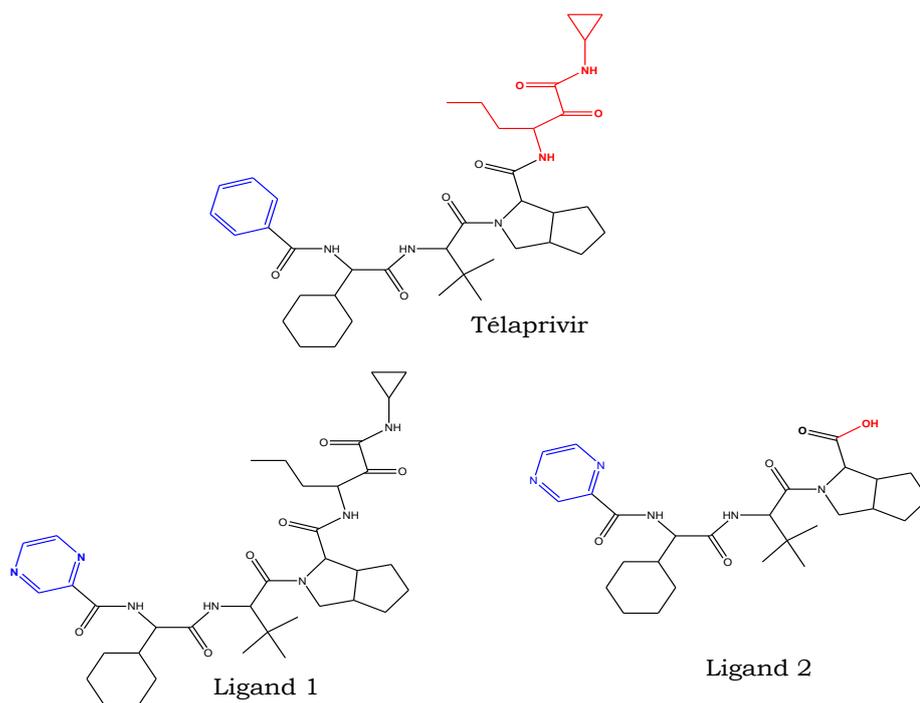
Tableau 2 : Composés similaires de la rhodanine

		
<b>Ligand1 (CID 1273212)</b>	<b>Ligand2 (CID 83070)</b>	<b>Ligand3 (CID 1237173)</b>
		
<b>Ligand4 (CID1207359)</b>	<b>Ligand5 (CID 211702)</b>	<b>Ligand6 (CID 210591)</b>
		
<b>Ligand7 (CID 99598)</b>	<b>Ligand8 (CID 98686)</b>	<b>Ligand9 (CID 95741)</b>
		
<b>Ligand10 (CID 211718)</b>	<b>Ligand12 (CID 211716)</b>	<b>Ligand13 (CID 13752)</b>

### Ligands similaires du télaprivir

Le télaprivir est un inhibiteur de la protéase NS3/4A du virus de l'hépatite C de génotype 1 commercialisé.

Dans notre travail on va comparer l'activité inhibitrice de ce ligand avec des ligands similaires pour l'enzyme NS5B contre le VHC.



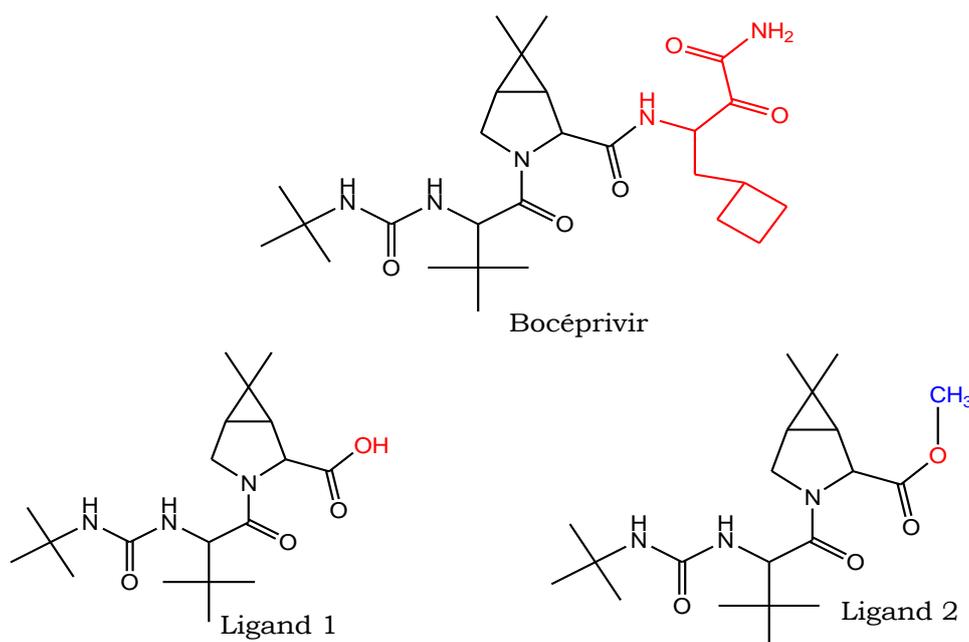
**Figure5** : Ligand 1 et 2 similaires du télaprivir.

- Tlaprivir** (1S, 3aR, 6aS)-2-[(2S)-2-[[[(2S)-2-cyclohexyl-2-(pyrazine-2-carboxylamino)acetyl]amino]-3,3-dimethylbutanoyl]-N-[(3S)-1-(cyclopropylamino)-1,2-dioxohexan-3-yl]-3,3a,4,5,6,6a-hexahydro-1H-cyclopenta[c]pyrrol-1-carboxamide
- Ligand1** 1S, 3aR, 6aS)-2-[(2S)-2-[[[(2S)-2-cyclohexyl-2-(pyrazine-2-carboxylamino)acetyl]amino]-3,3-dimethylbutanoyl]-N-[(3S)-1-(cyclopropylamino)-1,2-dioxohexan-3-yl]-3,3a,4,5,6,6a-hexahydro-1H-cyclopenta[c]pyrrol-1-carboxamide
- Ligand2** 2-[2-[[2-cyclohexyl-2-(pyrazine-2-carboxylamino)acetyl]amino]-3,3-dimethylbutanoyl]-3,3a,4,5,6,6a-hexahydro-1H-cyclopenta[c]pyrrole-3-acide carboxilique

### Ligands similaires du Bocéprivir

Le bocéprévir est un inhibiteur de la protéase NS3/4A du virus de l'hépatite C de génotype 1 commercialisé.

Dans notre travail on va comparer l'activité inhibitrice de ce ligand avec des ligands similaires pour l'enzyme NS5B contre le VHC.

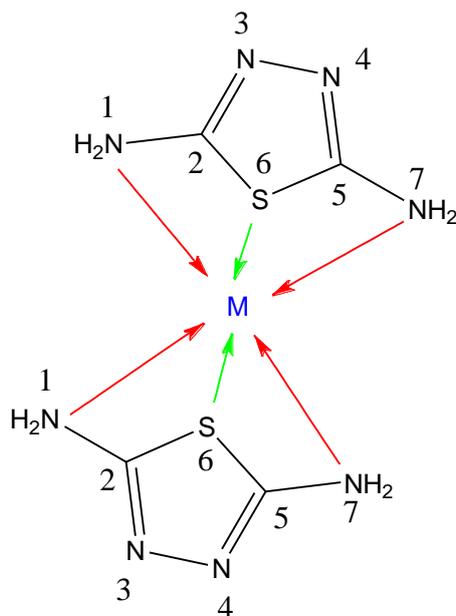


**Figure 6:** Ligand 1 et 2 similaires du Bocéprivir

- Bocéprivir** (1R,2S,5S)-N-[(2)-4-amino-1-cyclobutyl-3,4-dioxobutan-2-yl]- 3-[(2S)-2-[(tert-butylcarbamoyl)amino]-3,3-diméthylbutanoyl]- 6,6-diméthyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamide
- Ligand1** (3S,3aS,6aR)-2-[(2S)-2-[[2-(2-cyclohexyl-2-(pyrazine-2-carbonylamino)acetyl)amino]-3,3-diméthylbutanoyl]-N-[(3R)-1-(cyclopropylamino)-1,2-dioxohexan-3-yl]-3,3a,4,5,6,6a-hexahydro-1H-cyclopenta[c]pyrrole-3-carboxamide
- Ligand2** 2-[2-[[2-cyclohexyl-2-(pyrazine-2-carbonylamino)acetyl]amino]-3,3-diméthylbutanoyl]-3,3a,4,5,6,6a-hexahydro-1H-cyclopenta[c]pyrrole-3-acide carboxilique

### Complexes métalliques thiadiazoliques

Les complexes utilisés comme inhibiteurs sont formés à partir de, 2,5-Diamino-1, 3, 4-thiadiazole et les différents métaux de transition (Co(II), Ni(II) et Cu(II)) (figure 8).



**Figure 7 :** Structures des complexes de (Co(II), Ni(II) et Cu(II)) [34]

### **Etude 01 : Prédiction des ligands ayant l'activité inhibitrice contre le Virus Hépatite VHC**

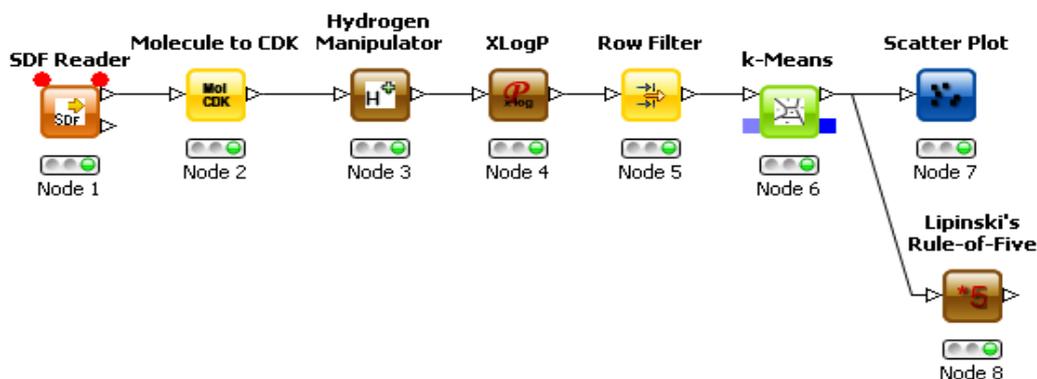
L'étude des systèmes biologiques par modélisation moléculaire implique la connaissance tridimensionnelle des structures. On a effectué ces calculs pour prédire l'activité inhibitrice des ligands similaires des composés de la rhodanine contre le virus de l'hépatite C(VHC) [7,11].

Les ligands téléchargés à partir de pubchem (tableau 2) doivent vérifier la règle le Lipinski [12] est en relation directe avec les propriétés biologiques d'absorption, de digestion, de métabolisme et d'excrétion (ADME) éventuelles des molécules étudiées, repose sur cinq propriétés physico-chimiques à savoir :

- Un poids moléculaire (PM) minimum de 500g/mol.
- Nombre d'angles de rotations (LF) <5,
- LogP calculée (-2 <logP <5),
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5 (DH)(OH ou NH).
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10 (AH) (O ou N).

#### **I-Data mining**

Pour vérifier l'activité biologique des dérivés de la rhodanine (Tableau 2), on a appliqué le data mining de ces ligands à partir du logiciel Knime (<http://www.knime.org/>) pour vérifier la règle Lipinski (la règle de 5).

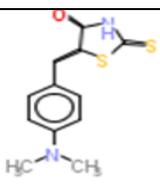
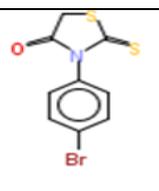
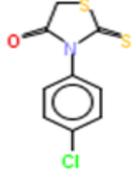
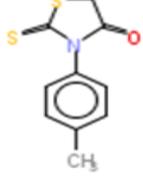
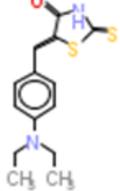
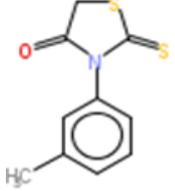
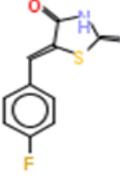
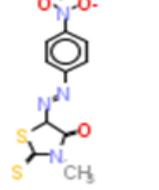
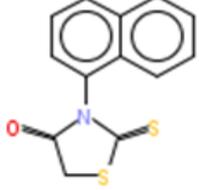
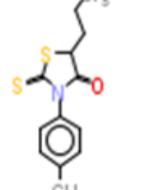
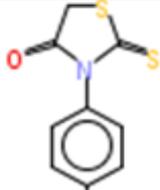
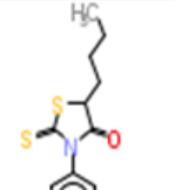


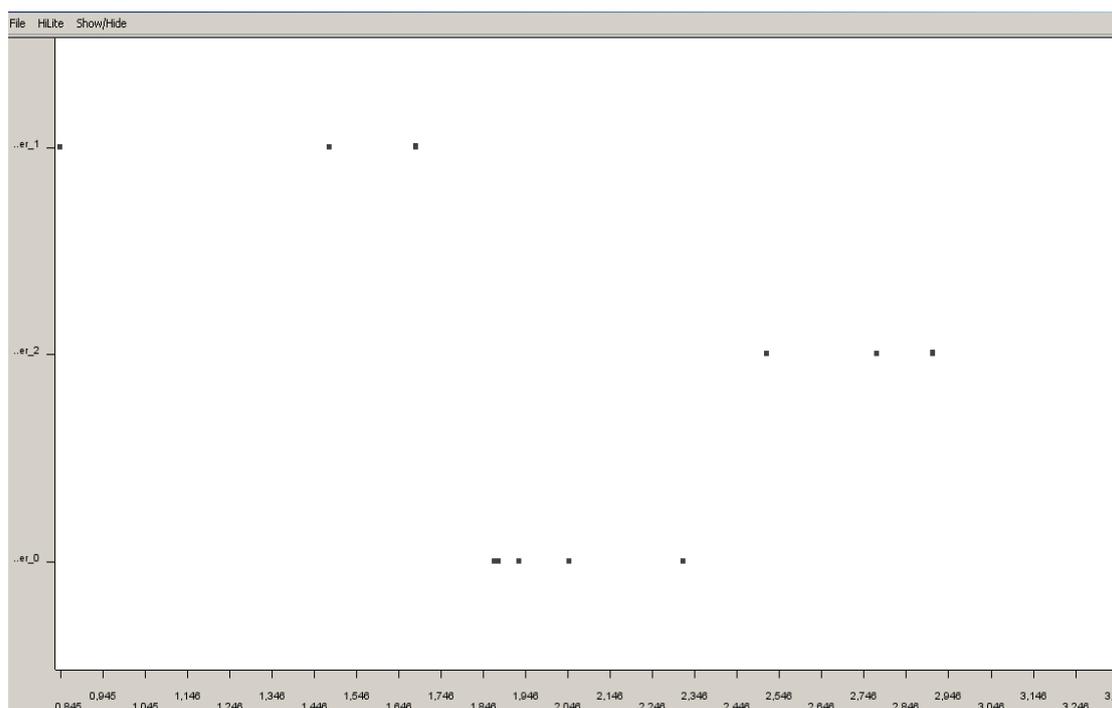
**Figure 8 :** Data mining des ligands similaires de rhodanine avec le logiciel Knime

Filtre pharmacologique :

- ✓ Création des nœuds.
- ✓ Configuration du premier nœud pour la lecture des fichiers de ligands.
- ✓ Ajout du deuxième nœud pour analyse et affichage des structures.
- ✓ L'ajout d'un troisième nœud pour addition d'hydrogènes manquants au niveau des structures.
- ✓ Un quatrième nœud nous renseigne sur la valeur de XLogP.
- ✓ Cinquième nœud pour filtrer les structures.
- ✓ Le sixième nœud va dessiner le graphe.

Tableau 3 : Résultats de LogP

Ligand	LogP	Ligand	LogP
 1	1.931	 7	2.05
 2	1.874	 8	1.689
 3	2.777	 9	1.689
 4	1.883	 10	1.483
 5	2.518	 11	2.909
 6	0.846	 12	3.478



**Figure 9** : Résultats du logiciel Knime

D'après le data mining de nos ligands et les résultats obtenues reportés dans le tableau 3 et la figure 10 tous les ligands vérifient la règle de Lipinski.

Ce complément d'information sur d'autres propriétés moléculaires nous confirme qu'il s'agit des molécules biologiquement actives dont l'effet inhibiteur doit être vérifié expérimentalement.

### **II-Docking moléculaire**

Les logiciels USCF Chimera l'interface AutoDock Vina et le logiciel MOE (Modeling Operating Environment) sont utilisés pour mieux comprendre le mécanisme moléculaire de l'inhibition. Nous avons analysé les énergies de la conformation des composés similaires de la rhodanine et de l'enzyme polymérase (VHC NS5B code pdb : 3TYV) [13]

Les paramètres du calcul AutoDock Vina [14] sont :

- ✓ Les noms des fichiers contenant le récepteur et ligand.

- ✓ L'état initial du ligand (position, orientation et conformation aléatoire ou précise) ;
- ✓ Dimensions de la grille à utiliser ;
- ✓ Enfin lancer le processus de Docking ;

A la fin de chaque cycle d'exploration, AutoDock Vina va enregistrer la meilleure interaction avec le ligand.

Pour permettre l'exécution des calculs ligand-récepteur à l'aide du logiciel UCSF Chimera [15] et son champ de force AMBERff03.r1 avec l'interface AutoDock Vina, qui est un nouveau programme pour l'amarrage moléculaire et criblage virtuel, on doit suivre les étapes suivantes :

- Représenter la macromolécule polymérase (3TYV) avec ses hydrogènes polaires
- ainsi que les charges partielles de tous ses atomes,

AutoDock Vina utilise une méthode de gradient d'optimisation sophistiquée dans sa procédure d'optimisation locale.

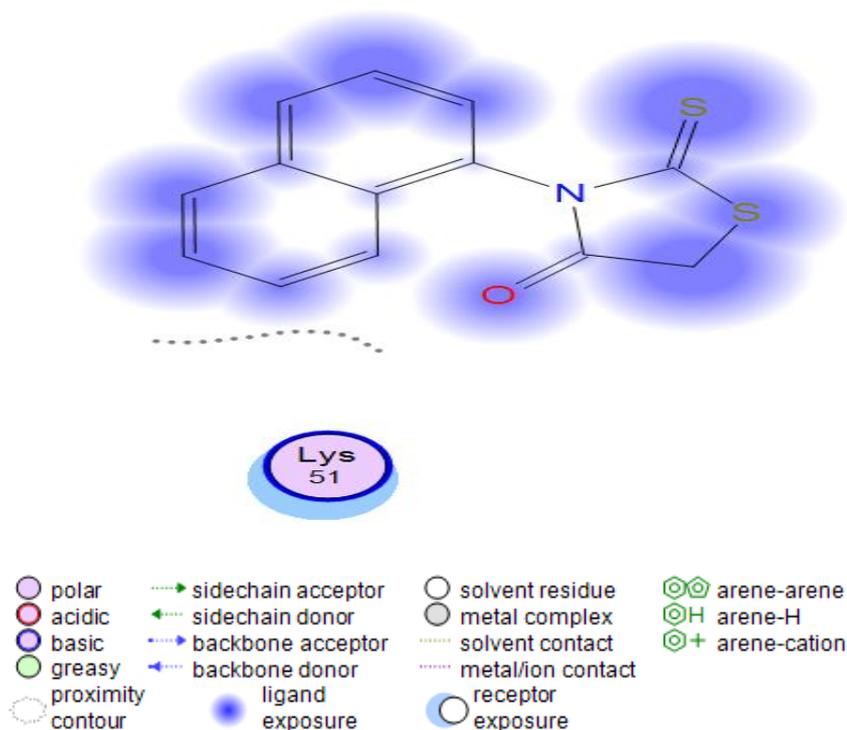
Le gradient donne en fait l'algorithme d'optimisation d'un « sens de l'orientation » à partir d'une seule évaluation [16] et un programme de simulation d'amarrage de ligand rigide sur un récepteur rigide.

On remarque que la polymérase cristallise sous la forme d'un dimère. Nous avons simplifié le modèle de l'enzyme par élimination des molécules d'eau et des hétéroatomes de la Co-cristallisation, le modèle de l'enzyme retenu est un monomère. La protéine ainsi préparée est enregistrée dans un fichier au format mol2 (Figure 2).

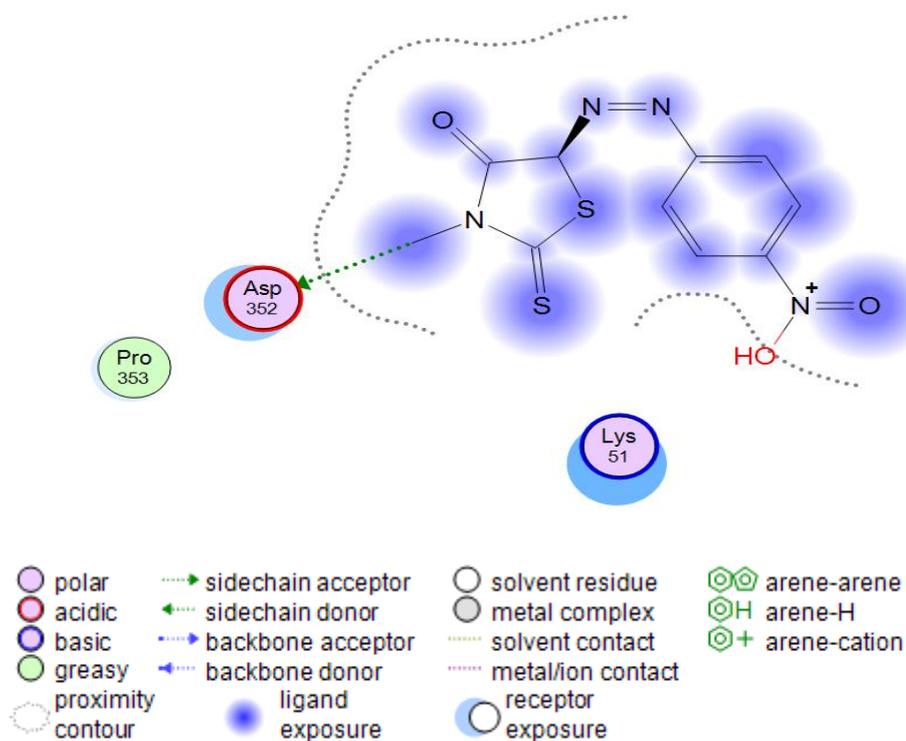
**Tableau 4** : Scores de l'interaction entre les composés similaires de rhodanine et NS5B

<b>Ligands</b>	<b><math>\Delta G</math> score (KJ/mol)</b>
Ligand1	-5.8
Ligand2	-5.7
Ligand3	-6.0
Ligand4	-5.9
Ligand5	<b><u>-6.9</u></b>
Ligand6	-6.0
Ligand7	-5.5
Ligand8	-5.9
Ligand9	-5.9
Ligand10	<b><u>-6.9</u></b>
Ligand11	-6.5
Ligand12	-6.3

A la lumière des résultats obtenus dans le (tableau 4), les scores sont des énergies d'interaction entre les atomes liées et non liées et l'énergie d'interaction entre récepteur et ligand. Au vu de ces résultats on remarque que pour les deux ligands 5 et 10 ont des énergies égales à **-6.9** KJ/Mol sont les meilleurs pour l'inhibition de VHC NS5B [18,19].



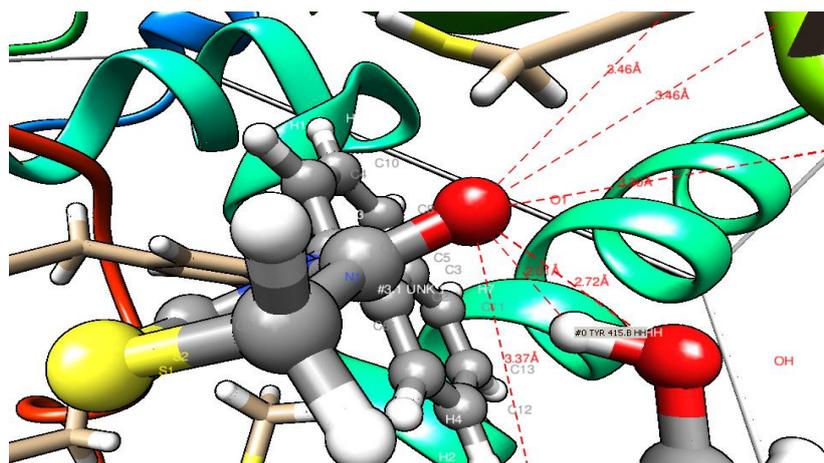
**Figure 10** : Ligand5 (CID 211702) dans la cavité de l'enzyme VHC NS5B.



**Figure 11** : Ligand10 (CID 211718) dans la cavité de l'enzyme VHC NS5B.

## Résultats et discussion

Pour approfondir les modes d'interaction et la sélectivité pour les deux ligands avec l'enzyme, la modélisation moléculaire a été réalisée par logiciel MOE (Molecular Operating Environment). D'après les figures 11 et 12 on remarque que le ligand 10 occupe mieux le site actif que le ligand 5.



**Figure 12** : Distances entre les acides aminés de sites actifs et ligand 5.

**Tableau 5** : Distances entre les résidus du site actif et ligand 5

Acides aminés	CID 211702 (Å)
ARG 200	<u>2.450</u>
ILE 447	<u>2.708</u>
PRO 197	3.436
TYR 448	3.213
SER 367	3.419
LEU 384	<u>2.635</u>
MET 414	<u>2.149</u>

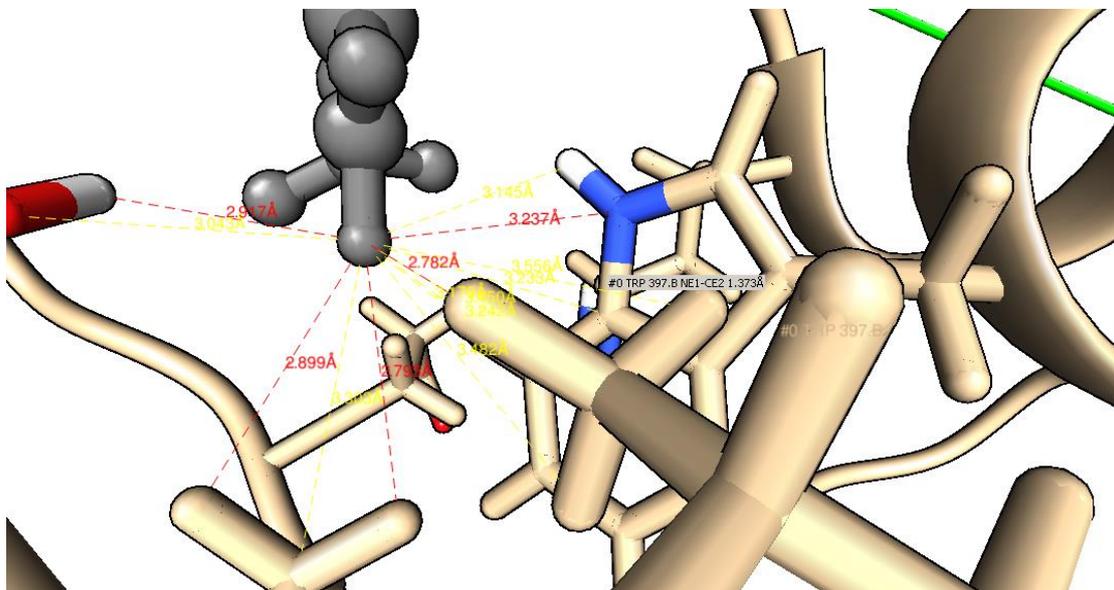
Selon IMBERTY [17] lorsque les distances entre ligands et les acides aminés varient entre :

$2.5 \text{ \AA} < R < 3.1 \text{ \AA}$  **interaction forte**

$3.1 \text{ \AA} < R < 3.55 \text{ \AA}$  **interaction moyenne**

$R > 3.55 \text{ \AA}$  **interaction faible ou absente**

On remarque qu'on a 4 interactions importantes entre les acides aminés du site actif 1 de l'enzyme VHC NS5B et le ligand 5.



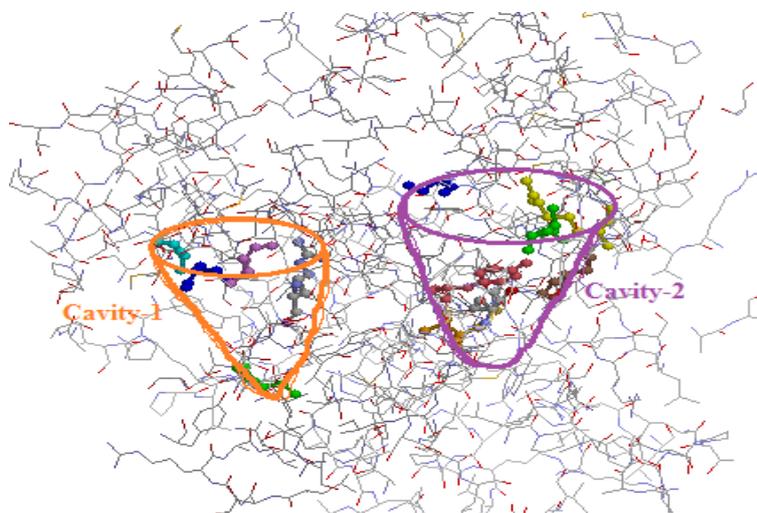
**Figure 13** : Distances entre les résidus du site actif et le ligand 10.

La formation d'un complexe stable dépend de la fixation de l'inhibiteur dans le site actif. Les figures 12 et 13 présentées ci-dessus montrent que les ligands 5 et 10 prennent une forme dans la cavité enzymatique formé par les résidus du site actif, ce qui signifie qu'il y a des interactions qui stabilisent le complexe et par la suite, une meilleure fixation de cet inhibiteur au niveau du site actif.

**Tableau 6 :** Distances entre les résidus du site actif et le ligand 10.

Acides aminés	CID 211718 (Å)
ARG 394	<u>2.174</u>
PRO 404	<u>2.135</u>
TRP 397	<u>2.430</u>
SER 142	<u>2.205</u>
ALA 39	<u>2.793</u>
VAL 144	<u>2.782</u>
SER 142	<u>2.914</u>

D'après les résultats obtenues (tableau 6) on remarque qu'on a des interactions fortes [17] entre les résidus du site actif 2 de l'enzyme VHC NS5B et le ligand10.



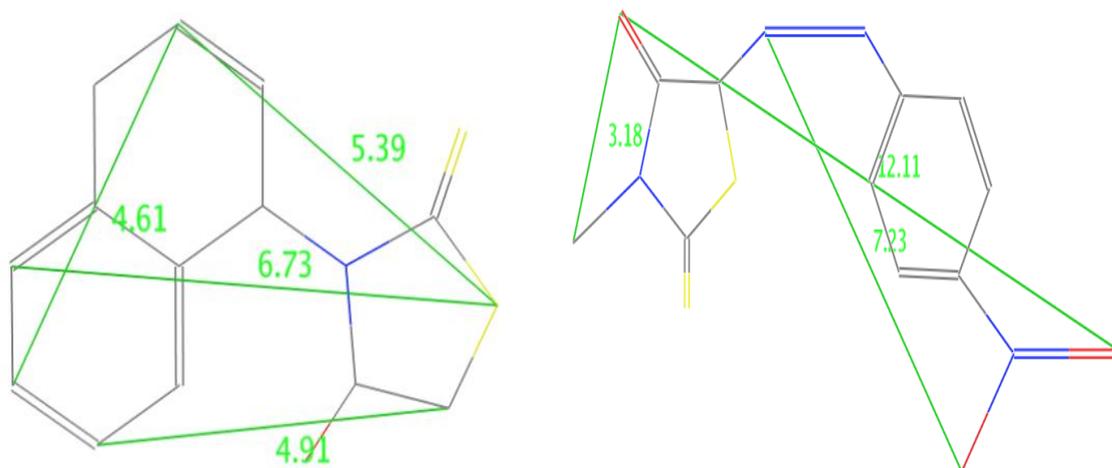
**Figure 14 :** Différents résidus des deux cavités de la chaîne B.

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle des poches des sites actifs ,dans notre cas, la poche enzymatique 1 possède une largeur de 26.40 Å et une profondeur

de 16.00 Å et la poche enzymatique<sup>2</sup> possède une largeur de 16.00 Å et une profondeur de 15.60 Å



**Figure 15 :** Dimensions des cavités de l'enzyme NS5B.



**Ligand 5 (CID 211702)**

**Ligand 10 (CID 211718)**

**Figure 16 :** Dimensions du ligand 5 et ligand10

L'examen de la cavité enzymatique, et le calcul des distances entre les inhibiteurs et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées, confirment que les inhibiteurs 5 (CID211702) et 10

(CID 211718) avec les groupes OH présentent une forte interaction de liaison hydrogène et une meilleure complémentarité avec la polymérase.

Les deux inhibiteurs 5 (CID211702) et 10 (CID211718) (Figure 17) peuvent être probablement proposés pour un traitement de la maladie virus de l'hépatite C après avoir effectué un test de toxicologie.

### III-Résultats

Ce travail est basé sur l'étude de modélisation moléculaire pour élucider les mécanismes de complexations pour des ligands des dérivés de la rhodanine et leurs activités inhibitrices du virus de l'hépatite C.

Pour déterminer l'activité biologique de nos ligands on a appliqué le data mining de ces composés avec le logiciel "Knime" et d'après les résultats on a remarqué que tous ces composés obéissent à la règle de Lipinski.

Après l'étape de docking ; les scores obtenus avec le logiciel Chemira, deux énergies remarquables pour le ligand 5 (CID 211702) et le ligand 10 (CID 211718) forment avec l'enzyme des complexes plus stables c'est-à-dire ce sont des meilleurs inhibiteurs et pour la simulation avec le logiciel MOE on remarque que le ligand 10 (CID 211718) occupe mieux le site actif avec des interactions plus importantes avec les résidus du site actif que le ligand 5 (CID 211702).

Donc en conclusion le ligand 10 (CID 211718) est probablement le meilleur inhibiteur pour le Virus de l'hépatite C.

### **Etude 02 : Prédiction de nouveau médicament pour le virus de l'hépatite C (VHC).**

Dans cette partie on a étudié l'activité inhibitrice de la télaprivir (Incivek) et la bocéprivir (Victrelis) et leurs dérivés similaire avec l'enzyme NS5B (non-structural protein 5B)

Les avancées thérapeutiques récentes du virus de l'hépatite C (VHC) ont permis le développement de nouveaux médicaments qui ciblent spécifiquement différentes protéines virales du cycle de réplication du VHC. Ces molécules, qui sont des antiviraux d'action directe (DDA) contre le VHC, sont actuellement à différents stades de développement.

Parmi ceux-ci, le bocéprivir (BOC) et le télaprivir (TVR) [20], deux inhibiteurs de la protéase NS3 du VHC, ont obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en septembre 2011 pour le traitement de l'hépatite C chronique chez les patients infecté par un virus de génotype 1, en association à la bithérapie standard. Les essais cliniques de ces deux médicaments montrent une réelle efficacité et un bénéfice important par rapport à la bithérapie standard.

## I-Télaprévir

**Tableau 07** : Résultats de l'activité biologique du télaprévir et ligands similaires

<b>Ligands</b> <b>Propriétés</b>	<b>Télaprévir</b>	<b>Ligand similaire1</b>	<b>Ligand similaire 2</b>
<b>Toxicité</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>
<b>Poids(g/ mol)</b>	<b>677.89</b>	<b>679.86</b>	<b>513.64</b>
<b>TPSA</b>	<b>153.78 A<sup>2</sup>(donneur : 4, accepteur : 6)</b>	<b>179.56 A<sup>2</sup> (donneur : 4, accepteur : 8)</b>	<b>141.59 A<sup>2</sup> (donneur : 3, accepteur : 7)</b>
<b>LogP</b>	<b>3.66</b>	<b>2.45</b>	<b>2.40</b>

D'après les résultats du tableau ci-dessus on remarque que tous les ligands ont le nombre de groupements donneurs inférieur à 5 et aussi un LogP inférieur à 5 et le nombre de groupements accepteurs inférieur à 10.

Ces ligands sont capables de présenter une activité biologique très importante conformément à la règle de Lipinski., et *al* (1997) [21] qui montre que toute molécule validant au moins trois conditions de la règle de Lipinski est considérée comme candidat potentiel.

## II-Le docking moléculaire

Pour étudier l'activité inhibitrice de VHC de nos ligands avec l'enzyme NS5B (code pdb : 3TYV)[2] on a effectué le docking moléculaire avec le logiciel MOE (version 2013).

**Tableau 08** : Résultats des énergies scoring

Molécule	rmsd(A°)	Escore(J/mol)
<b>Télaprivir</b>	3.6211	-8.8801
<b>Ligand1 similaire de Télaprivir</b>	2.2606	-6.4882
<b>Ligand2 similaire de Télaprivir</b>	1.7323	-6.7700

Pour les énergies de complexations on remarque des énergies importantes pour les deux ligands similaires.

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur. La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugé au moyen de la déviation quadratique moyenne.

Pour analyser mieux les résultats on fait souvent appel à l'écart quadratique moyen (*Root mean square deviation* ou RMSd) entre les différents positions des inhibiteurs au cours du docking et la structure de départ. Le RMSd entre deux structures 1 et 2 est calculé suivant l'équation :

$$\text{RMSd} = \sqrt{\frac{1}{M} \sum_i \|r_{i_1} - r_{i_2}\|^2}$$

M : Le nombre d'atome.

r : La distance entre les atome.

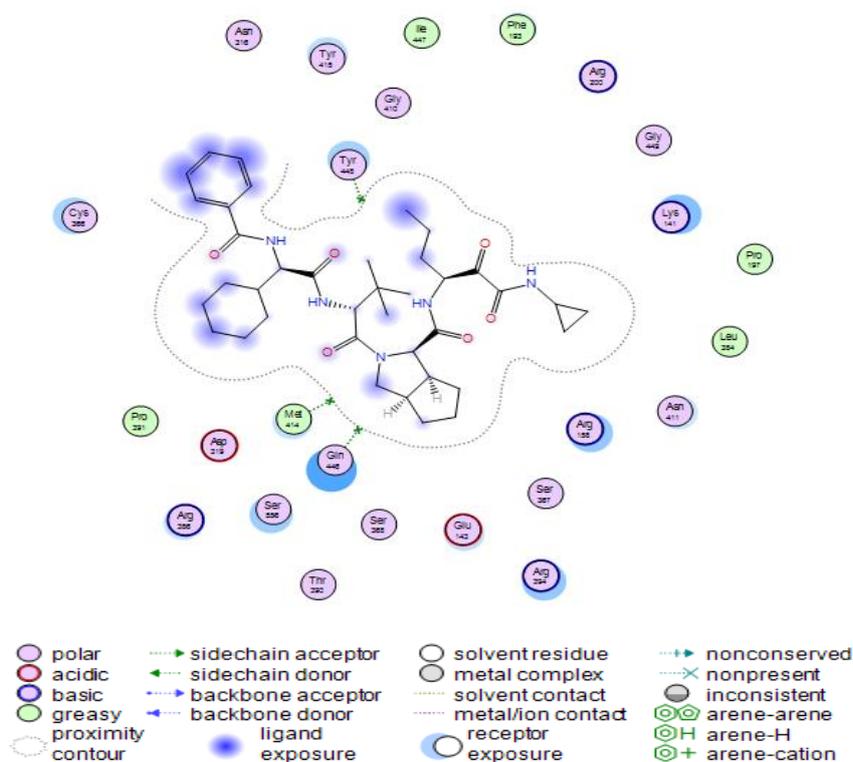
i : Le numéro d'atome.

## Résultats et discussion

La prédiction du ligand est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms [23].

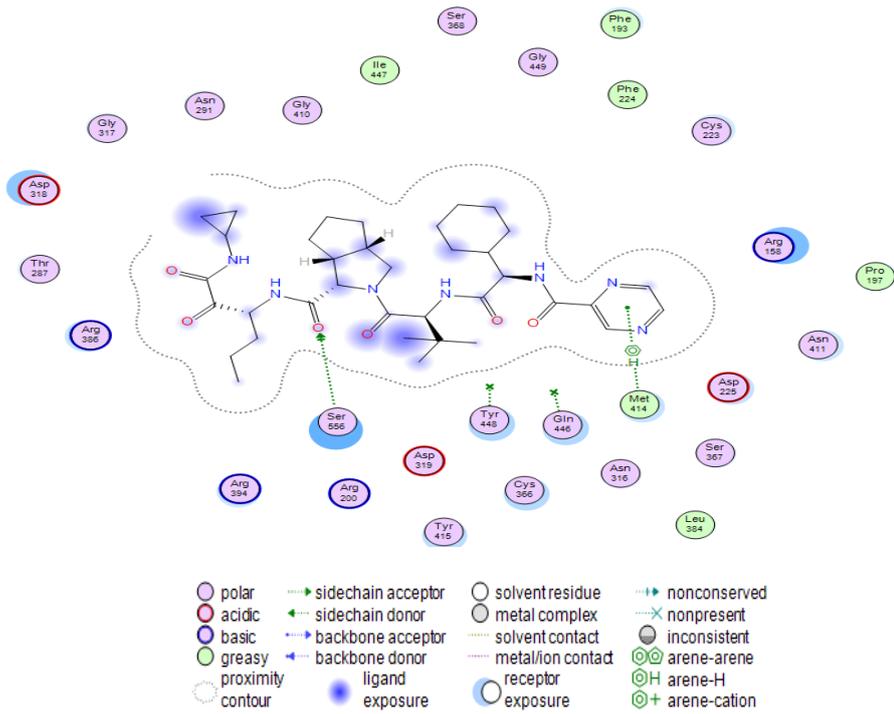
Le RMSd du ligand 1 et ligand 2 similaire de télaprivir calculés sont respectivement 1.7323Å et 2.2606 Å ils sont inférieurs au RMSd de télaprivir qui est égal à 3.6211.

Ce qui nous ramène à déduire que le ligand 1 (RMSd=1.7323<2) est probablement le meilleur inhibiteur de l'enzyme polymérase NS5B.

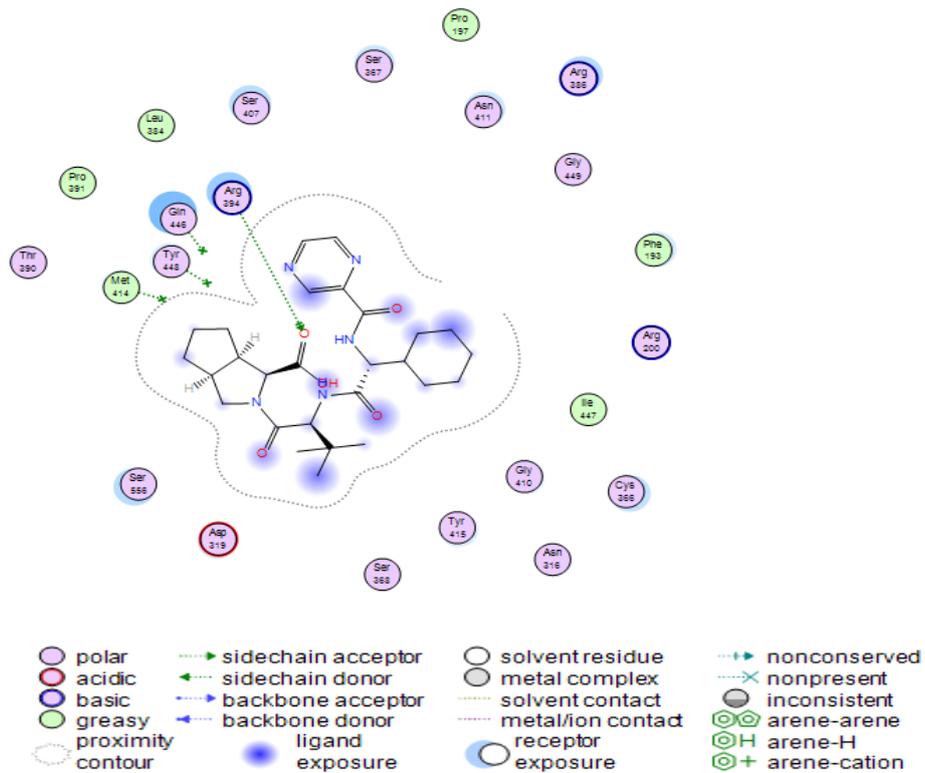


**Figure 17 :** Interactions de télaprivir avec le site actif

## Résultats et discussion



**Figure 18 :** Interactions du ligand 1 similaire de télaprevir avec le site actif



**Figure 19 :** Interactions du ligand 2 similaire de télaprevir avec le site actif

La figure 17, 18 et 19 montre le mode de liaison pour les composés télaprevir, ligand1 et ligand 2, en utilisant la poche enzymatique d'interaction du ligand 2D avec des acides aminés spécifiques [24]. On remarque que les groupements (substituant) changés ( phenyl – groupement pyrazine, et N-cyclopropyl-3- (methylamino)-2-oxohexanamide par methyl) se situent bien dans la cavité enzymatique et possèdent des interactions importantes avec les résidus du site actif.

### III. Bocéprevir

**Tableau 09** : Résultats de l'activité biologique des ligands

Ligands Propriétés	Bocéprevir	Ligand similaire1	Ligand similaire 2
<b>Toxicité</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>
<b>Poids(g/ mol)</b>	<b>519.69</b>	<b>367.49</b>	<b>381.52</b>
<b>TPSA</b>	<b>150.69 A<sup>2</sup>(donneur : 4, accepteur : 5)</b>	<b>98.74 A<sup>2</sup>(donneur : 3, accepteur : 4)</b>	<b>87.74 A<sup>2</sup> (donneur : 2, accepteur : 3)</b>
<b>LogP</b>	<b>1.71</b>	<b>2.07</b>	<b>2.15</b>
<b>LogS</b>	<b>-6.02</b>	<b>-3.26</b>	<b>-3.68</b>

D'après les résultats du tableau ci-dessus on remarque que tous les ligands ont le nombre de groupements donneurs inférieur à 5 et aussi un LogP

inférieur à 5 et le nombre de groupements accepteurs inférieur à 10. Donc ce sont des Ligands biologiquement actifs conformément la règle de Lipinski.

#### **IV-Docking moléculaire**

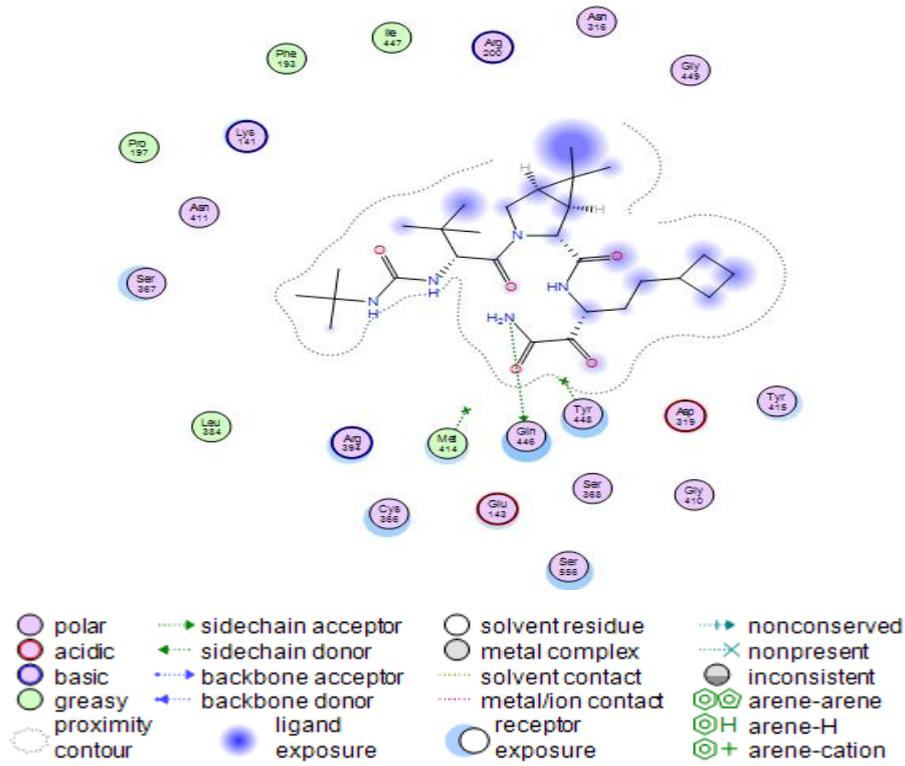
**Tableau 10** : Résultats des énergies scoring

<b>Molécule</b>	<b>rmsd(A°)</b>	<b>Escore(KJ/mol)</b>
<b>Bocéprévir</b>	1.9927	-7.5893
<b>Ligand1</b>	2.2609	-6.4875
<b>Ligand2</b>	0.7276	-6.8899

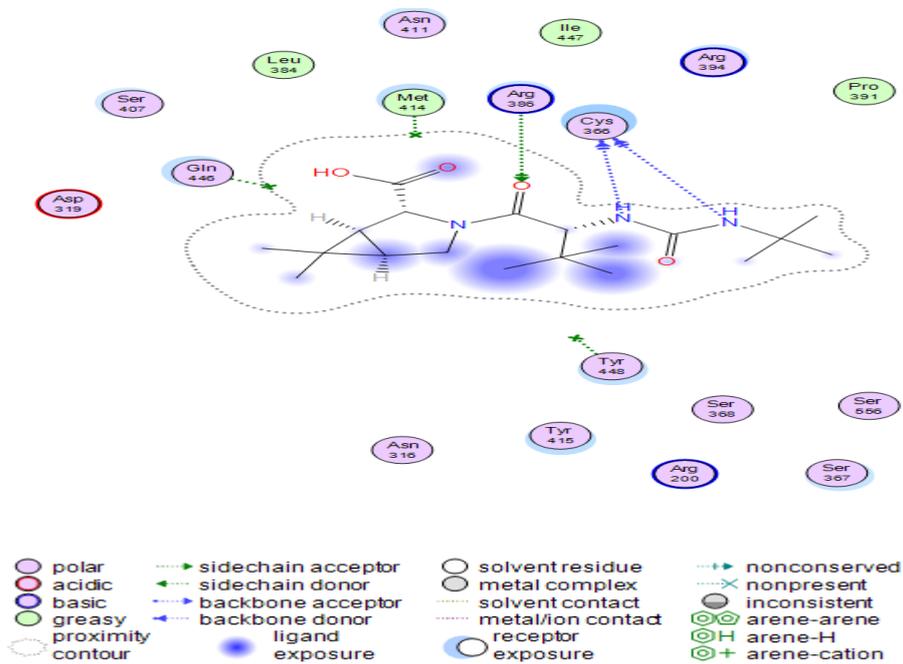
Pour les énergies de complexation on remarque des énergies importantes pour les deux ligands similaires.

Le RMSd du ligand 1 et ligand 2 similaire de Bocéprévir calculés sont respectivement 0.7276Å et 2.2606 Å Ce qui nous ramène à déduire que le ligand 1 (RMSd=1.7323<2) est probablement un inhibiteur de l'enzyme polymérase NS5B.

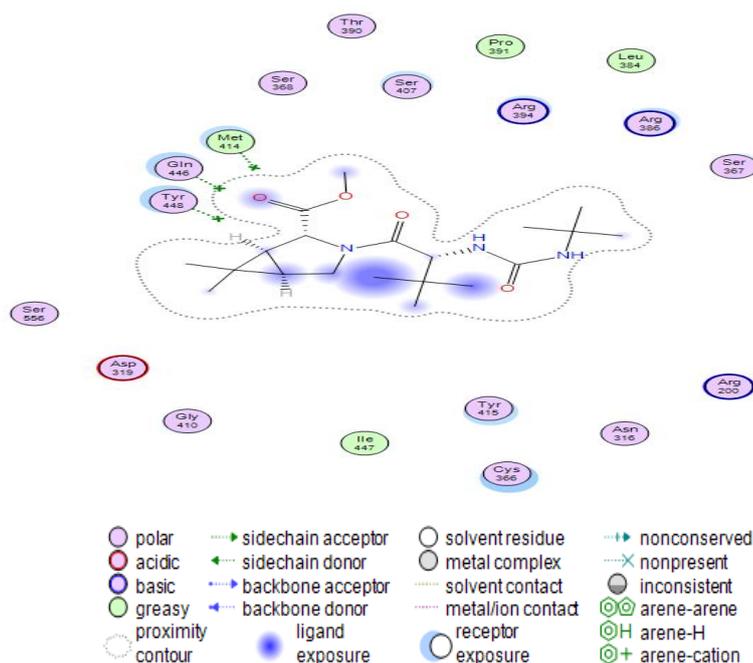
## Résultats et discussion



**Figure 20** : Interactions du Bocéprivir avec le site actif



**Figure21** : Interactions du ligand 1 similaire du Bocéprivir avec le site actif



**Figure 22** : les interactions du ligand 2 similaire du bocéprivir avec le site actif

La figure 21, 22 et 23 montrent le mode de liaison pour les composés bocéprivir, ligand1 et ligand 2, en utilisant la poche enzymatique d'interaction du ligand 2D avec des acides aminés spécifiques [24]. On remarque que les groupements (substituant) changés (groupement 4-cyclobutyl-3- (methylamino)-2-oxobutanamide par un hydroxy et un groupement 4-cyclobutyl-3- (methylamino)-2-oxobutanamide par methoxy) se situent dans la cavité enzymatique et possèdent d'importantes interactions avec les résidus du site actif [24].

### V- Résultat

D'après les résultats obtenus à partir du logiciel MOE on déduit que les inhibiteurs similaires des médicaments connus (le télaprivir et la bocéprivir) pour :

- télaprevir on a le ligand1 représente des interactions importantes avec les acides aminés du site actif et un RMSd= 1.7323 inférieure à celui de télaprevir
- bocéprevir on a aussi des meilleurs résultats pour le ligand similaire 1 avec des interactions importantes et meilleur valeur de Rmsd.

D'après les résultats des énergies de télaprevir et bocéprevir obtenue par le calcul du docking moléculaire, ces derniers ont une énergie plus basse que celle des ligands similaires proposés ce qui nous amène à conclure que les deux médicaments connus sont les meilleurs inhibiteurs pour l'enzyme (NS5B), ceci est due aux changements de groupement que nous avons proposé. Ces groupements ont diminué l'activité inhibitrice de ces composés.

### **Etude 03 : Des études sur des complexes avec des ions métalliques et leur activité antimicrobienne par DFT et le docking moléculaire.**

Dans cette partie on a étudié la complexation des métaux avec un ligand pour la formation des complexes biologiquement actifs.

La résistance croissante des micro-organismes vers antibiotiques a été conduite à de graves problèmes de santé dans les dernières années. La plupart des bactéries qui causent l'infection sont résistants à au moins un des antibiotiques qui sont généralement utilisés pour éradiquer l'infection [25].

Ce problème encourage les chercheurs à étudier des nouveaux agents qui peuvent inhiber efficacement la croissance microbienne.

Métallo-antibiotiques peuvent réagir avec beaucoup de biomolécules comme ADN, ARN, protéines et récepteurs de lipides nécessaires [26,27].

Les efficacités de nombreux agents thérapeutiques sont connues pour améliorer la coordination ; donc le médicament à base de métal est considéré comme alternative possible pour les médicaments actuels [28].

Ce travail a été réalisé pour confirmer le mécanisme de complexation de ligand tridentée 2, 5-diamino-1-3, 4-tiadiazole [29] avec Co(II), Ni(II) et Cu(II) en utilisant la DFT. La théorie fonctionnelle de la densité (DFT) [30] est l'un des outils les plus importants de la chimie quantique pour comprendre les concepts chimiques comme l'électronégativité et le potentiel chimique [31].

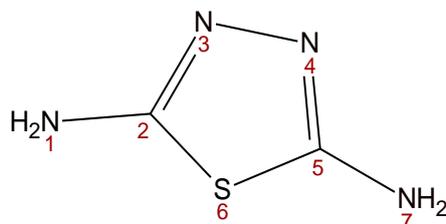
## **I-Théorie de la fonctionnelle de densité DFT**

La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) est actuellement la seule permettant l'étude de systèmes chimiques de grande taille avec la prise en compte des effets de la corrélation électronique de manière satisfaisante.

La théorie de la fonctionnelle de la densité est basée sur le postulat proposé par Thomas et Fermi qui dit que les propriétés électroniques peuvent être décrites en terme de fonctionnelles de la densité électronique, en appliquant localement des relations appropriées à un système électronique homogène [32].

### **I.1-Géométrie de ligand**

L'optimisation de ligand 5-Diamino-1, 3, 4-thiadiazole a été obtenue en utilisant le logiciel EMO (Energy of Molecule)



**Figure 23:** 2, 5-diamino-1, 3, 4-thiadiazole

Le calcul des indices de Fukui et de la nucléophilie local [33] effectué sur le 2,5-diamino-1, 3, 4-thiadiazole nous permet de prédire les sites d'attaque pour la formation des complexes.

### **I.2-La formation des complexes métalliques**

Les activités antimicrobiennes de ligand et de ses complexes ont été criblées en utilisant le test de sensibilité, la concentration d'inhibition

minimale et un procédé de concentration minimale bactérienne. Les complexes métalliques présentent une excellente activité anti-microbienne contre certains micro-organismes [34].

### **I.3-Méthodologie des calculs**

Les géométries des molécules neutres ont été optimisées à l'aide de la base B3LYP/6-311G (d, p) implémenté dans le Gaussien 03 [35]. Les géométries des molécules neutres sont maintenues constantes pour les systèmes cationiques et anioniques.

Les populations électroniques ont été calculées en utilisant l'analyse de population de Mulliken (MPA), et également par l'analyse de population naturelle (NPA) [36].

**Tableau 11:** Valeurs de la fonction Fukui  $f^+$  and  $f^-$ , les indices NK

	Neutre	Cation	Anion	$f^+$	$f^-$	$W^+$	NK
<b>N1</b>	-0,9576	-0,22012	-0,47656	-0,48104	0,73748	-0,01579495	2,76436848
<b>N3</b>	-0,31658	-0,01407	-0,1802	-0,13638	0,30251	-0,00447804	1,13392785
<b>N4</b>	0,33962	0,21067	0,17968	0,15994	-0,12895	0,00525163	- 0,48335591
<b>N7</b>	-0,95654	-0,21993	-0,48775	-0,46879	0,73661	-0,01539272	2,76110738
<b>S6</b>	-0,32139	-0,01388	-0,18196	-0,13943	0,30751	-0,00457818	1,15266984

**Tableau12** : Energies de la HOMO et LUMO, le gap HOMO-LUMO, potentiel, dureté, Electrophile et Nucléophilie.

Ligand	HOMO	LUMO	GAP	POTENTIEL	DUERTE	ELECTROPHILIE	NUCLEOPHILIE
Energies	-	-	-				
(KJ/mol)	0.21104	0.00587	0.20517	-0.108455	0.20517	0.0328501	3.7483979

Vu les résultats obtenus dans les tableaux 11 et 12 nous amènent à prédire que les sites d'attaque préférentiels sont N1, N7 et pour la formation des complexes (thiazol-métaux).

Selon l'article de Yogesh Kumar Gupta et al référencié [34] la structure proposée est un octaèdre. Suite aux calculs théoriques exécutés par différents méthodes de modélisation.

Il ressort que la structure que nous proposant est un plan carré de coordination N=4, les azotes se lient au métal au niveau du plan equatorial.

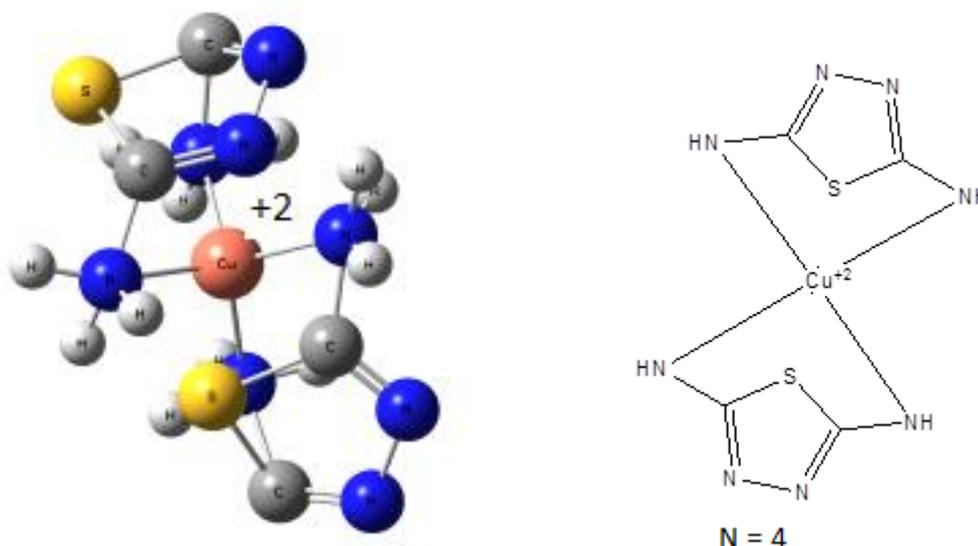


Figure 24 : Structure du complexe cuivrique proposée

La structure octaèdre proposé par l'auteur Yogesh Kumar Gupta resté à vérifier par les méthodes d'analyses spectrales (UV- visible et RPE).

Concernant les métaux Co et Ni les structures plan carré ou tétraèdre sont privilégiées.

Nos travaux consistent à une interaction entre nos ligands et les ions métalliques. La formation de ces complexes métalliques est due à la formation d'une liaison de coordination entre le doublet de l'azote de ligand et les orbitales vacantes des métaux [37].

D'après les résultats des calculs, les atomes N1, N7 sont les centres les plus réactifs, qui ont la plus grande capacité de se lier avec la surface métallique.

### **II-Docking moléculaire**

Dans cette partie on a étudié l'inhibition de l'activité microbienne en utilisant l'enzyme PBP (3HUM) voir la figure 25 qui a été obtenue à partir de banque de données de protéine 3D avec les trois complexes métalliques, ces complexes ont été construits en utilisant EMO (energy of molecule) après la minimisation d'énergie.

Les études de ces complexes métalliques donnent lieu à une activité antimicrobienne avec la protéine de Liaison à la Pénicilline (PBP : Penicilline Binding Protéine).

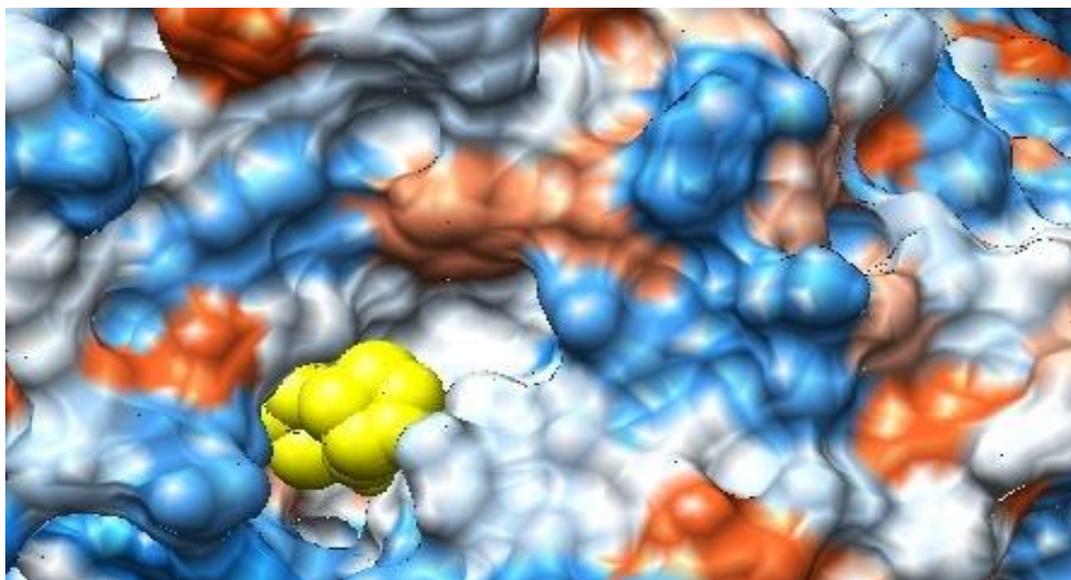
#### **II.1-Résultats de scoring de nos complexes avec l'enzyme PBP**

Les résultats ont été obtenus à l'aide du logiciel chimera.

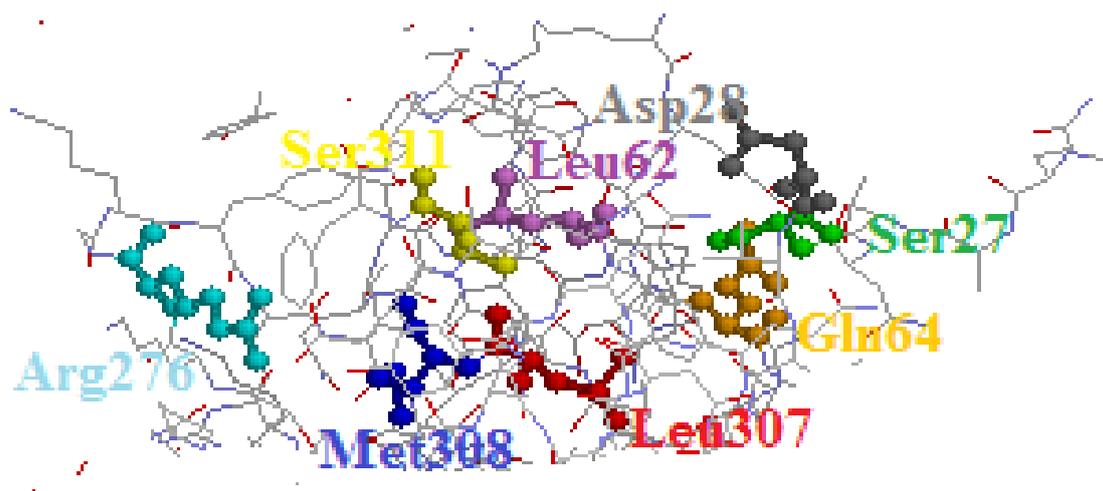
**Tableau 13** : Energies de complexations des 3 inhibiteurs avec la PBP

Complexes	Complexe cuivrique	Complexe de Nickel	Complexe de Cobalt
Energies (KJ/Mol)	<b>-7.4</b>	-6.8	-6.0

A la lumière des résultats de Tableau 13 on remarque que le meilleur inhibiteur est le complexe cuivrique qui a une énergie minimale de **-7,4 KJ/Mol**, c'est probablement le meilleur antibiotique.

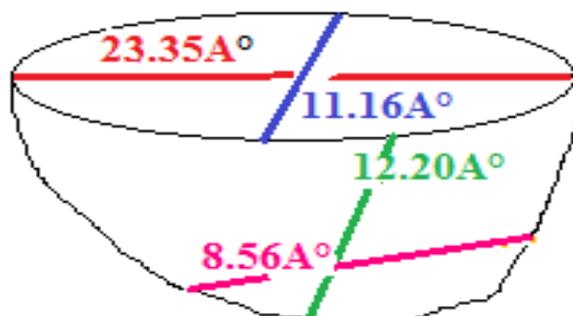
**Figure 25** : Position du complexe cuivrique dans le site actif de PBP (3HUM).

A la lumière des résultats théoriques tous les complexes ont une activité antibactérienne et le meilleur est le complexe cuivrique qui pourrait être un candidat pour le développement d'un nouveau médicament [35].



**Figure 26** : Acides aminés du site actif de PBP (3HUM).

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif [17], dans notre cas, la poche enzymatique possède une largeur de 23.35 Å et une profondeur de 12.20 Å.



**Figure 27** : Dimensions de la cavité de PBP (3HUM).

L'examen de la cavité enzymatique, et le calcul des distances entre les inhibiteurs et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées confirment que le complexe cuivrique présente une

forte interaction. Une meilleure complémentarité avec la Penicilline Binding Protéine peut être proposée pour un traitement de la maladie bactérienne.

**Tableau 14** : Distances entre les acides aminés du site actif et nos différents inhibiteurs.

	<b>Complexe cuivrique(Å)</b>	<b>Complexe Nickel(Å)</b>	<b>Complexe de Cobalt(Å)</b>
<b>LEU307</b>	2.826	3.107	3.775
<b>SER27</b>	1.936	3.054	3.284
<b>MET308</b>	2.686	2.797	3.078
<b>SER311</b>	3.457	3.257	3.458
<b>LEU62</b>	2.519	3.274	3.201
<b>GLN64</b>	3.309	3.527	3.118
<b>ARG 276</b>	2.478	3.787	3.921
<b>ASP28</b>	3.292	3.821	3.971

Pour confirmer les interactions entre les 3 inhibiteurs et les acides aminés dans le même site actif on remarque qu'on a des interactions remarquables entre les acides aminés et le complexe cuivrique.

### **III-Résultat**

Dans notre travail, nous avons confirmé la formation des complexes et centres d'attaque pour le ligand 2, 5-diamino-1, 3, 4-tiadiazole en utilisant la DFT et ils possèdent une activité antimicrobienne.

Les notions de mécanique quantique sont utilisées pour calculer les indices de Fukui (NK), et les énergies HOMO et LUMO pour confirmer l'attaque nucléophile

Dans notre étude, les indices locaux nucléophile  $N_k$  de notre ligand ont été discutés de manière simple mais précise. La distribution de la densité électronique montre que les composés étudiés avaient de nombreux centres d'attaque à caractère nucléophile. Les zones contenant les azotes de l'amine de la chaîne latérale du cycle thiazolidines ont plus de chance à former des liaisons avec la surface des ions métalliques, en donnant des électrons au métal. Cependant, les sites N1 et N7 sont les plus favorables pour l'attaque électrophile.

Ces complexes métalliques ont été utilisés pour étudier les activités antimicrobiennes avec le logiciel Chimera, il a été constaté que le meilleur complexe formé est celui du cuivre. Donc probablement il est le meilleur antibiotique.

**Références**

1. Berman H. M, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat T. N, Weissig H, et al. The ProteinData Bank. *Nucleic Acids Res*, 28, 235-242,**2000**.
2. Patel BA, Krishnan R, Khadtare N, Gurukumar KR, Basu A, Arora P, et al. Design and synthesis of L- and D-phenylalanine derived rhodanines with novel C5-arylidenes as inhibitors of HCV NS5B polymerase. *Bioorg Med Chem* 21(11): 3262-71,**2013**.
3. V.Navratna, S.Nadig,V.Sood,K.Prasad,Gayathri.A and Sir Dorabji Tata Center for and B. Gopal (Molecular Basis for the Role of *Staphylococcus aureus* PenicillinBinding Protein 4 in Antimicrobial Resistance) *J. BACTERIOLOGY*, Jan. Vol. 192(1) 134–144,**2010**.
4. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al.Gaussian 03, Revision D.01. Wallingford, CT: Gaussian, Inc, **2004**.
5. Hépatite C : prévalence mondiale. *Relevé épidémiologique hebdomadaire*; 72: 341-348,**1997**.
6. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis*; 15 : 5-14,**1995**.
7. EASL International consensus conference on hepatitis C. Consensus statement.*J Hepatol*; 30: 956-61,**1999**.
8. Choo, Q. L.; Kuo, G.; Weiner, A. J.; Overby, L. R.; Bradley, D. W.; Houghton, M.Science, 244, 359,**1989**.
9. Kanwal, F.; Hoang, T.; Kramer, J. R.; Asch, S. M.; Goetz, M. B.; Zeringue, A.;Richardson, P.; El-Serag, H. B. *BMC Gastroenterol*. 140, 1182,**2011**.
10. Sheridan, C. *Nat. Biotechnol*. 29, 553, **2011**.

11. Beaulieu PL. Non-nucleoside inhibitors of the HCV NS5B polymerase: progress in the discovery and development of novel agents for the treatment of HCV infections. *Curr Opin Investing Drugs*; **8**(8): 614-34,**2007**.
12. Poewrs JP, Piper DE, Li Y, Mayorga V, Anzola J, Chen JM, et al. SAR and mode of action of novel non-nucleoside inhibitors of hepatitis C NS5b RNA polymerase. *J Med Chem*; 49(3): 1034-46,**2006**.
13. Chen KX, Vibulbhan B, Yang W, Sannigrahi M, Velazquez F, ChanTY, et al. Structure-activity relationship (SAR) development and discovery of potent indole-based inhibitors of the hepatitis C virus(HCV) NS5B polymerase. *J Med Chem* **2011**;
14. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*, ,13, 1605-12,**2004**.
15. Li-Hua Mua, Bo Wanga, Hao-Yang Ren , Ping Liu , Dai-Hong Guo, Fu-Meng Wang, Lin Bai , Yan-Shen Guo. Synthesis and inhibitory effect of piperine derivates on monoamine oxidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22 , 3343–3348 ,**2012**.
16. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: l'amélioration de la vitesse et la précision de l'amarrage avec une nouvelle fonction de score, l'optimisation efficace, et le multithreading. *J Comput Chem*, **2010**, 2, 455-461.
17. A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Pérez:" Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline AG L Y C O B I O L O G Y, 1, 631–642,**1991**.

18. Talele TT, Arora P, Kulkarni SS, Patel MR, Singh S, Chudayeu M, et al. Structure-based virtual screening, synthesis and SAR of novel inhibitors of hepatitis C virus NS5B polymerase. *Bioorg Med Chem*; 18: 4630-8, **2010**.
19. Powers JP, Piper DE, Li Y, Mayorga V, Anzola J, Chen JM, et al. SAR and mode of action of novel non-nucleoside inhibitors of hepatitis C NS5b RNA polymerase. *J Med Chem*; 49(3): 1034-46, **2006**.
20. Sheridan, C. *Nat. Biotechnol.* 29, 553, **2011**.
21. Powers JP, Piper DE, Li Y, Mayorga V, Anzola J, Chen JM, et al. SAR and mode of action of novel non-nucleoside inhibitors of hepatitis C NS5b RNA polymerase. *J Med Chem*; 49(3), **2006**
22. Vieth M., Hirst J. D., Kolinski A., Brooks C. L. Assessing energy functions for flexible docking. *Journal of Computational Chemistry*; **19**: 1612-22, **1998**.
23. JORGENSEN W. L., The many roles of computation in drug discovery., *Science*, 303: 1813-1818, **2004**.
24. Werner J. Geldenhuys a, Altaf S. Darvesh a, Max O. Funk b, Cornelis J. Van der Schyf a, Richard T. Carroll , Identification of novel monoamine oxidase B inhibitors by structure-based virtual screening, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20; 5295–5298, **2010**.
25. Devendra B, Rakesh S, Yogesh C, Ramesh M, Nancy M. In vitro activity of antiamebic drugs against clinical isolates of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*; **3**:27-31, **2004**.
26. Sarker MMA, Rizwan F, Haque R, Siddique A, Parveen S, Islam S. In vitro sensitivity of different brands of antiamebic drugs (metronidazole

- tablets) against clinical isolates of *Entamoeba histolytica* in Bangladesh. *J Boi Sci.*; 8:925-929, **2008**.
27. Gutierrez L, Alzuet G, Borrás J, Gonzalez ML, Sanz F, Castineiras A. Influence of tetrahedral distortion of  $\text{CuN}_4$  complexes on spectroscopic properties. Synthesis, characterization and crystal structures of  $[\text{Cu}(\text{N}-(2\text{-methylpyridyl})\text{benzenesulfonylamidate})_2]$ ,  $[\text{Cu}(\text{N}-(2\text{-methylpyridyl})\text{toluenesulfonylamidate})_2]$  and  $[\text{Cu}(\text{N}-(2\text{-methylpyridyl})\text{naphthalenesulfonylamidate})_2]$  compounds. *Polyhedron.*; 20:703-709, **2001**.
28. Yogesh Kumar Gupta, Vinita Gupta, Sanchita Singh Synthesis and antimicrobial activities of Co (II), Ni (II) and Cu (II) complexes with N-S donor ligand. *International Journal of Chemical and Analytical Science*; 62-66, **2013**.
29. Hohenberg P and Kohn W *Phys. Rev.* B136: 864, **1964**.
30. Parr R G, Donnelly R A, Levy M and Palke W E *J Chem. Phys.* 68:3801, **1978**.
31. (a) R. G. Parr, W. Yang “*Density Functional Theory*” Oxford University Press, **1989**.
- a. (b) L. J. Bartolotti, K. Flurchick, *Rev. Comput. Chem.*, 7, 187, **1996**.
- b. (c) St-Amant. *Rev. Comput. Chem.* 7, 217, **1996**.
- c. (d) T. Ziegler. *Chem. Rev.* 91, 651, **1991**.
- d. (e) E. J. Baerends et O. V. Gritsenko. *J. Phys. Chem.*, 101, 5383, **1997**.
32. Geerlings, P.; Proft, F. De.; Langenaeker, W. *Chem. Rev.*, 103, 1793-1873, **2003**.
33. L R. Domingo, M Arno, R .Contreras , P. Perez, *J. Phys. Chem.*, 106, 952, **2002**.

34. Yogesh Kumar Gupta a, Vinita Gupta, Sanchita Singh Synthesis and antimicrobial activities of Co (II), Ni (II) and Cu (II) complexes with N-S donor ligand, international journal of chemical and analytical science 4,6 2- 66,**2013**.
35. M.J. Frisch et al., Gaussian 03, Revision C.02, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
36. A. E. Reed, F. J. Weinhold, *J. Chem. Phys*; 78, 4066,1983.
37. Szabo L, Herman K, Mircescu NE, et al. *Spectrochimica Acta A*.;93:266e273,**2012**.

# **Conclusion générale**

---

## Conclusion générale

---

Ce travail a été consacré à l'étude de docking moléculaire pour la prédiction de nouveaux inhibiteurs du virus de l'hépatite C et de l'activité antimicrobienne, pour mener à bien cette étude nous avons utilisé différentes stratégies applicables au criblage virtuel (data mining).

Cette étude comprend trois chapitres :

Dans le premier chapitre : nous exposons les méthodes de modélisation moléculaire (les méthodes quantiques et les méthodes non quantiques). Pour prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules aux moyens des programmes informatiques, nous avons montré l'intérêt du docking. Nous avons également introduit la notion de mécanique moléculaire qui est un outil puissant utilisé pour mieux comprendre les grands systèmes moléculaires et pour répondre à certaines questions concernant la structure électronique de molécules. La définition du champ de force est aussi apportée, le champ de force représente l'une des approximations en modélisation moléculaire et qui a pour objectif de décrire des classes entières de molécules avec une précision relativement probable, la notion de dynamique moléculaire en amont du docking afin d'introduire l'information de variabilité structurale de la cavité. Par ailleurs, les fonctions de score ont été décrites ainsi que la manière dont l'information doit en être interprétée.

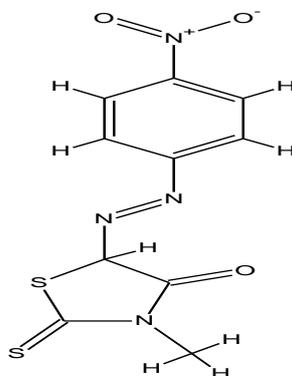
Le deuxième chapitre est réservé à un rappel sur les métaux de transition (Cuivre, Nickel, Cobalt) et les complexes, ainsi que les enzymes.

Dans le troisième chapitre, nous avons testé les performances sur deux projets pharmacologiquement différents :

## Conclusion générale

Dans la première application, nous avons décrit des méthodes utilisables pour analyser l'affinité d'une molécule organique pour une cible de nature protéique.

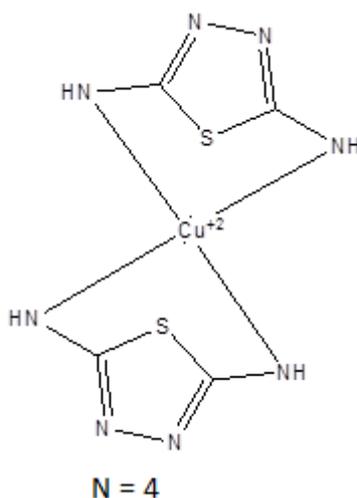
Par ailleurs, les fonctions de score ont été décrites dans l'objectif d'exploiter au mieux l'information numérique des fonctions scoring pour la prédiction de nouveaux médicaments ce sont des dérivés de la rhodanine pour inhiber le virus de l'hépatite C (VHC) et on a conclu que le ligand 5 (CID 13752) est le meilleur inhibiteur pour le Virus de l'hépatite C (figure 1)[1].



**Figure 1** : Ligand 10(CID 211718)

Dans la deuxième application, on a étudié l'activité inhibitrice de la télaprevir (Incivek) et la bocéprevir (Victrelis) et leurs dérivés similaires pour inhiber le virus de l'hépatite C.

Dans la deuxième partie nous avons utilisé la méthode B3LYP qui est une variante des méthodes DFT (*Density Functional Theory*). on a calculé les indices de réactivité (indice de Fukui, nucléophilies locales) en utilisant les populations électroniques pour la confirmation des formations des complexes d'intérêt biologique utilisés comme des antibiotiques. Le meilleur inhibiteur est probablement le complexe cuivrique [2].



**Figure 2** : Complexe cuivrique

Comme perspectives à ce travail, nous envisageons d'introduire la notion de flexibilité grâce à l'utilisation de la dynamique moléculaire par échantillonnage de ligands.

Une de nos préoccupations a également été d'évaluer le temps nécessaire à l'application d'une telle stratégie à un ensemble de molécules à cribler environ 1 million de composés.

Le choix des ligands issus de la dynamique moléculaire reste difficile à justifier.

Nous envisageons de tester l'utilisation de logiciels de classement des structures générées par dynamique moléculaire. Ceci apporterait une autre information pour ce choix mais cette méthode devra être validée.

**Références**

1. Fatima Lebbad, Meriem Merad, Wassila Soufi, Said Ghalem, Prediction of the ligands having the inhibitory activity against the HCV non-structural protein 5B polymerase, Asian Pac J Trop Dis ; 5(8): 650-653;**2015**.
2. F. Lebbad, M. Merad, W. Soufi, F. Boukli Hacene and S. Ghalem, Studies of some metal ions complexes and her antimicrobial activity by DFT and molecular Docking, Der Pharma Chemica, 7(11):142-148, **2015**.