



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

UNIVERSITE ABOU-BEKER BELKAID - TLEMCCEN

THÈSE

Présentée à la :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité : Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire

Par :

Mr MOSTEFAOUI Larbi

Sur le thème

**Modélisation de l'interaction enzyme – macromolécules
biologique dans un solvant :
Cas de la maladie de
L'HYPERTENSION ARTERIELLE (HTA)**

Soutenue devant le jury composé de :

Mme Malika MOKHTARI	Pr	Université de Tlemcen	Présidente
Mme Safia TAÏRI-KELLOU	Pr	Université d'Alger	Examinatrice
Mr Ismail DAOUD	MC-A-	Université de Biskra	Examineur
Mr Nadjib MELKEMI	MC-A-	Université de Biskra	Examineur
Mr Tewfik BOUCHAOUR	Pr	Université de Tlemcen	Invité
Mme Meriem MERAD	Pr	Université de Tlemcen	Directrice de Thèse
Mr Saïd GHALEM	Pr	Université de Tlemcen	Co-directeur de Thèse

Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives « LASNABIO »

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.

La présente thèse a été réalisée au sein de laboratoire LASNABIO" laboratoire des Substances naturelles et bioactives", au sein de l'équipe de modélisation moléculaire.

*Je remercie tout d'abord Madame M. **BENYAROU** Professeur 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, sa disponibilité, sa patience et sa gentillesse et pour la bienveillante attention dont elle m'a entouré.*

*Je remercie Monsieur S. **GHALEM** Professeur de 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 pour m'avoir fait bénéficier de ses connaissances en chimie théorique et en modélisation moléculaire.*

*Mes sincères remerciements et toute ma gratitude vont aussi à Madame **M. MOKHTARI** Professeur de l'université de Tlemcen, faculté des sciences qui a bien voulu présider ce jury.*

*Mes vifs remerciements vont également à Madame S. **TAÏRI-KELLOU**, Professeur à l'Université d'Alger (USTHB) Faculté de Chimie Département de Chimie Physique et Théorique, qui a accepté de faire partie de ce jury et de juger ce modeste travail.*

*Un grand Merci, à Messieurs **I. DAOUD**, **N. MELKEMI** de l'université de Biskra, qui ont accepté de faire le déplacement de Biskra pour évaluer ce travail*

*Je remercie Monsieur **T. BOUCHAOUR** Professeur à l'université de Tlemcen d'avoir accepté de participer à ce jury.*

*J'exprime ma profonde reconnaissance à Madame **F. MESLI** Professeur à l'université de Tlemcen et à toute l'équipe de modélisation moléculaire pour leurs disponibilités, leurs conseils et leurs nombreuses discussions qui m'ont aidé tout au long de ce travail.*

En fin j'adresse tous mes chaleureux remerciements aux enseignants qui ont contribué à ma formation, pour leur dévouement et abnégation

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à deux personnes le plus proches de mon cœur et plus les chères du monde, qui sont la source de ma réussite, mes parents qui n'ont pas cessé de me soutenir et m'encourager durant toutes ces années.

A mes frères, et mes sœurs.

A tous mes collègues et mes amis.

Liste des tableaux

Chapitre 2

Tableau 1 : Classification de l'hypertension artérielle selon l'Organisation Mondiale de la Santé

Chapitre 4

Tableau 01 : Propriétés des récepteurs

Tableau 02 : Données cristallographiques des enzymes

Tableau 03 : Différents ligands préparés

Tableau 04 : Propriétés des inhibiteurs de l'enzyme (3VHU)

Tableau 05 : Série 01 des molécules

Tableau 06 : Série 02 des molécules

Tableau 07 : Propriétés des inhibiteurs de l'enzyme (4YYZ)

Tableau 08 : Energie de minimisation de l'enzyme 3VHU

Tableau 09 : Energie de minimisation des ligands (MOE).

Tableau 10 : Différents sites actif d'enzyme « 3VHU »

Tableau 11 : Score des énergies des complexes

Tableau 12 : Interactions H_bond de complexe E-L4 en milieu non solvato.

Tableau 13 : Score des énergies des complexes en milieu solvato.

Tableau 14 : Interactions H_bond de complexe E-L4 en milieu solvato

Tableau 15 : Score des énergies des complexes en milieu non solvato

Tableau 16 : Score des énergies des complexes en milieu solvato

Tableau 17 : Différents sites actif du l'enzyme (2AA2)

Tableau 18 : Résultats des énergies de docking en milieu non solvato

Tableau 19 : Distances des liaisons hydrogène (Å°)

Tableau 20 : Résultats des énergies de docking dans le solvant

Tableau 21 : Energies sans et avec solvant

Tableau 22 : Energie minimisation des molécules

Tableau 23 : Paramètre de solvant

Tableau 24 : Poses du ligand L4

Tableau 25 : Energie des complexes, et les propriétés biochimiques des inhibiteurs de 11b-HSD1

Tableau 26 : Distances des interactions enzymes_ligand

Tableau 27 : Détails relatifs aux 11β-HSD1 et 11β-HSD2.

Tableau 28 : Energie de minimisation des composés dérivés du triazole (Kcal / mol) et paramètre solvant

Tableau 29 : Bilan énergétique des complexes formés par 5 dérivés de composés triazoles (Kcal / mol)

Tableau 30 : Résultats Liaisons entre les atomes des composés et les résidus du site actif en 11 β -HSD1 et 11 β -HSD2

Tableau 31 : Propriétés thermodynamiques calculées en unités réel. Pressure $W_p = W_p^* \varepsilon / \sigma^{-3}$, Energy of configuration $EC = EC^* N\varepsilon$, Translation Energy $ET = ET^* N\varepsilon$ and Enthalpy $EH=EH^* N\varepsilon$.

Tableau 32 : Propriétés de bioactivité ADME pour deux composés de plomb ayant obtenu les meilleurs scores.

Liste des figures

Chapitre 1

Figure 1 : Énergie entre atomes liés

Figure 2 : Interactions de Van Der Waals

Figure 3 : Ponts hydrogène

Figure 4 : Interaction électrostatiques

Figure 5 : Représentation schématique du principe d'une minimisation d'énergie « statique »

Figure 6 : Principe générale d'un programme de docking

Chapitre 2

Figure 01 : Exemples d'atteinte d'organes cibles en présence d'hypertension artérielle

Figure 2 : Dérivés de triazoles

Figure 03 : Structure de la Spironolocatone.

Figure 4 : Structure d'aldostérone.

Chapitre 3

Figure1 : Réaction soluté_ solvant

Figure 2 : Dans une simulation de solvant implicite, l'effet de l'eau est inclus dans un potentiel de force moyenne, visualisé sous forme de flèches.

Figure 3 : Représentation implicite du solvant : le solvant est un milieu continu de constante diélectrique $\epsilon_s = 80$ et le soluté un milieu de constante diélectrique $\epsilon_i = 1$.

Figure 4 : Une vue de l'intérieur de la boîte initiale pour une simulation qui inclut explicitement les molécules d'eau ;

Figure 5 : Représentation explicite du solvant

Figure 6 : Création des 26 images autour du système initial pour appliquer les conditions périodiques aux limites.

Figure 7 : Position du ligand dans le site actif

Chapitre 4

Figure 01 : Étapes typiques d'un docking moléculaire.

Figure 02 : Enzyme 4YYZ

Figure 03 : Enzyme 2AA2

Figure 04 : Enzyme 3VHU

Figure 05 : Modèle simplifié (3VHU)

Figure 06 : Modèle simplifié (2AA2)

Figure 07 : Modèle simplifié (4YYZ)

Figure 08 : Structure de Spironolactone

Figure 09 : AMP phosphoramidate

Figure 10 : Structure d'Aldostérone

Figure 11 : Data mining des ligands le logiciel Knime

Figure 12 : Courbe de contrôle de la règle Lipinski des similaires d'aldostérone

Figure 13 : Courbe de contrôle de la règle Lipinski de similaire d'AMP phosphoramidate

Figure 14 : Structure de 1,2,4-triazole

Figure 15 : Isolation du site actif de l'enzyme

Figure 16 : Interactions H_bond de complexe E-L4 en milieu non solvato

Figure 17 : Boîte de solvant

Figure 18 : Interactions H_bond de complexe E-L4

Figure 19 : Taille de ligand L4 et de site actif de l'enzyme.

Figure 20 : Boîte de complexe

Figure 21 : Ligand L4 dans le site actif

Figure 22 : Complexe dans un box de solvant (eau)

Figure 23 : Ligand dans le site actif au milieu solvato

Figure 24 : Dimensions de cavité enzymatique

Figure 25 : Interactions enzyme 2aa2-L5
Figure 26 : Interactions enzyme 2aa2-D2
Figure 27 : Enzyme Miniracorticoid récepteur (2aa2) dans sphère de solvant (eau).
Figure 28 : Interactions enzyme-L5
Figure 29 : Interactions enzyme-D2
Figure 30 : Interactions enzyme-L11 dans le solvant
Figure 31 : Interactions enzyme-D2 dans le solvant
Figure 32 : Création et isolé le site actif de l'enzyme
Figure 33 : Formation d'une sphère de solvant
Figure 34 : Correction entre l'activité biologique log IC50 des ligands, et leur énergie d'interactions avec 11 β -HSD1 enzyme
Figure 35 : Interactions 11 β -HSD1-ligand 4 dans la cavité (3D)
Figure 36 : Interactions H_bond de complexe E-L4 (2D)
Figure 37 : Dérivés sous-évalués des 1,2,4-triazoles
Figure 38 : Modèle simplifié de 11 β -HSD1
Figure 39 : Modèle simplifié de 11 β -HSD2
Figure 40 : Composé -1 est bien ancré dans le site de liaison de la protéine 1-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 et au score de quai le plus élevé. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 800 ps.
Figure 41 : Composé -2 est bien ancré dans le site de liaison de la protéine 1-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 et a le score de quai le plus élevé. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 800 ps
Figure 42 : Ligand de dissolution - Substrat en cube.

Liste des abréviations

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
SCRF : Résonance Magnétique Nucléaire
HTA : Hypertension artérielle
OMS : Organisation mondial de la santé
PAS : Pression artérielle systolique
PAD : Pression artérielle diastolique
ESH : The European Society of Hypertension

ESC : The European Society of Cardiology
RCV : Risque cardio-vasculaire
AVC : Un accident vasculaire cérébral
IEC : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion
ARAI : Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II
HAS : Haute autorité française de santé
Ica : Inhibiteurs calciques
QM : Mécanique quantique
MM : Mécanique Moléculaire
MM2 : Mécanique Moléculaire 2
OPLS : Optimized Potentials for Liquid Simulations
GROMOS : Groningen Molecular Simulation Program Package
CHARM : Chemistry at HARvard Molecular mechanics
SPASIBA : Spectroscopic Potentiel Algorithm for Simulating Biomolecular conformational Adaptability
EMO : Energy of Molecule
AMBER : Assisted Model Building with Energy Refinement
DM : Dynamique Moléculaire SD
ABNR : Adopted-basis Newton-Raphson
RMSD : Root-Mean-Square Deviation
MOE : Molecular Operating Environment
PDB : Protein Data Bank
VDW : Van Der Waals
2D : 2 Dimension
3D : 3 Dimension
IC₅₀ : Concentration Inhibitrice.
Asn : Asparagine
Cys : Cystéine
Gln: Glutamine
Gly : Glycine
Ile : Isoleucine
Leu : Leucine
Met : Méthionine
Phe : Phénylalanine

Ser: Serine

Thr : Thréonine

ARG : Arginine

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme, et Excrétion

**TABLE
DES
MATIERES**

INTRODUCTION GENERALE	1
Références	6
CHAPITRE 1 : METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE	
Introduction	9
1. Mécanique moléculaire	10
1.1. Fonction d'énergie potentielle	10
1.2. Différents champs de force en mécanique moléculaire	12
1.3. Minimisation d'énergie	12
2. Dynamique Moléculaire (DM)	15
2.1. Mise en œuvre d'un calcul de DM	16
3. Docking moléculaire	16
3.1. Principe théorique	17
3.2. Interaction protéine-ligand	18
3.3. Principe de fonctionnement	19
3.4. Calcul du RMSD	19
3.5. Fonctions de score	20
Références	21
CHAPITRE 2 : SOLVATATION	
1. Introduction	26
2. solvation	26
2.1. Couches de solvation	27
2.2. Nombre de solvation	27
2.3. Etude de la solvation par les méthodes théoriques	28
A. Méthodes implicites	29
B. Méthodes explicite	31
3. Références	36
CHAPITRE 3 : MALADIE DE L'HYPERTENSION ARTERIELLE	
Introduction	38
1. prévalence de la maladie hypertensive	39
1.1. En Algérie	39
1.2. Au niveau mondial	39
2. Classification de l'hypertension	40
3. Physiopathologie de l'HTA	41
4. Facteurs de risqué	43
5. Diagnostique de l'hypertension artérielle	43

6. Le traitement non pharmacologique et pharmacologique de l'hypertension	44
6.1. Traitement non pharmacologique de l'hypertension	44
A. Repas équilibrés	44
B. Réduire la consommation de sodium	44
C. Exercice régulièrement	44
D. Arrêter de fumer /boire	44
E. Gérer le stress	44
6.2. Traitement pharmacologique de l'hypertension	44
6.2.1. Médicaments utilisés pour traiter l'hypertension artérielle	45
A. Diurétiques (thiazidiques)	45
B. Bêta-bloquants	45
C. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)	45
D. Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II	45
E. Antagonistes du calcium (inhibiteurs calciques)	46
F. Inhibiteurs de la rénine (aliskirène)	46
7. Enzymes	46
A. Site Actif	46
B. Récepteur minéralocorticoïde (RM)	47
C. 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11 β -HSD1)	57
8. Ligands	48
A. Dérivés de triasole	48
B. Spirallactone	48
C. Aldostérone	49
9. Références	51
CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION	
Introduction	52
1. Protocole général du docking	53
2. Logiciels retenus	54
2.1. MOE	54
2.2. UCSF Chimera	54
2.3. Hyperchem 8.0.3	55
2.4. RASMOL	55
3. Méthodologie de calculs	55
3.1. Préparation du récepteur	55
3.2. Préparation des inhibiteurs	59
A. La première étude	59
B. La deuxième étude	61
C. La troisième étude	66
D. la quatrième étude	67

4. Résultats et discussion	68
4.1. Première étude	68
A. Première partie	70
B. Deuxième partie	75
Conclusion	79
4.2. Deuxième étude	80
a. Résultats du docking moléculaire en milieu non solvato	80
b. Résultats du docking moléculaire en milieu solvato	82
Conclusion	85
4.3. Troisième étude	86
A. Minimisation d'énergie des inhibiteurs et le récepteur	86
B. Préparation de boîte de solvant	87
C. Résultats et discussion	88
Conclusion	94
4.4. Quatrième étude	94
1. Matériels et méthodes	95
1.1. Récupération de la structure des macromolécules	95
1.2. Analyse des drogues	97
1.3. Simulation de dynamique moléculaire (MD)	97
1.4. Propriétés ADME	98
2. Résultats et discussion	98
2.1 docking moléculaire	98
2.2 Dynamique moléculaire	102
2.3 Évaluation in silico des propriétés ADME et de la ressemblance médicamenteuse	102
3. Conclusion	104
4. Références	106
CONCLUSION GENERALE	111
Annexe	116

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les organismes vivants sont constitués essentiellement de macromolécules formées de longues chaînes d'atomes qui adoptent, en se repliant, une structure spatiale bien définie. La fonction biologique de chaque macromolécule est étroitement liée à sa structure d'où l'intérêt de déterminer celle-ci. Les années cinquante, l'importance des relations structure-fonction a largement encouragé le développement de méthodes de détermination de structures moléculaires [1] citons : la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire regroupe l'ensemble des techniques de visualisation des molécules de calcul de leurs conformations et la simulation de leur comportement. Les outils de modélisation moléculaire sont particulièrement performants pour l'étude au niveau atomique d'interactions entre deux entités moléculaires. Ce type d'étude fait appel le plus souvent aux techniques de "*docking moléculaire*" (*arrimage moléculaire*).

La modélisation moléculaire trouve de nos jours d'importantes applications, parmi lesquelles deux applications classiques sont :

- *Le développement de nouveaux médicaments :*

Le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteurs (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans différentes maladies, que ce soit une protéine d'un organisme pathogène ou du propre organisme humain. L'élucidation de la structure tridimensionnelle des protéines impliquées dans plusieurs pathologies a permis, via des simulations informatiques, la découverte d'inhibiteurs puissants pour ces pathologies, en réduire considérablement le nombre d'essais de screening nécessaires pour aboutir à un nouveau médicament [2].

- *La rationalisation de l'énergie enzymatique :*

Le fondement est le même que celui du développement du médicament : en permettant d'étudier les interactions entre les substrats (ligands) et les enzymes (récepteurs), la modélisation moléculaire apporte une meilleure compréhension de la sélectivité enzymatique, au niveau moléculaire. Ce qui peut rendre possible, par la suite, le développement d'approches prédictives pour la sélectivité des enzymes natives vis-à-vis d'un substrat ou d'une classe de substrats donnée, ou encore, d'identifier des acides aminés dont la mutation ponctuelle permettait de modifier la sélectivité ou la spécificité enzymatique [3, 4].

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle important dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques [5], la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques. Connaître la manière dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées. Le développement d'approches prédictives ouvre l'opportunité à la conception assistée par ordinateur

INTRODUCTION GENERALE

de systèmes protéiques aux propriétés modifiées et présente donc un intérêt indéniable pour la recherche en industrie pharmaceutique et médicale.

Dans le domaine de la chimie théorique, le docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux entités moléculaires en interaction et formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules.

Cependant, chaque programme de docking moléculaire diffère par rapport aux autres par leurs algorithmes d'échantillonnage, par leur manière de manipuler le ligand flexible et de la protéine et par leurs fonctions d'évaluation des complexes. Il existe deux approches du docking moléculaire :

- Le docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Actuellement cette approche est utilisée dans le docking protéine-protéine.
- L'approche la plus récente dans le traitement de la flexibilité considère la cible protéique comme un corps rigide tandis que le ligand est flexible [6].

En effet elle représente l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels ou programmes de docking moléculaire. Néanmoins, celle-ci reste approximative, du fait que le récepteur ne doit pas être considéré comme corps rigide (au moins la flexibilité du site d'interaction doit être prise en compte).

Ces macromolécules dans la cellule baignent dans un solvant, l'eau, qui par des phénomènes dit de solvation, intervient d'un point de vue stérique et électrostatique dans la stabilisation de leurs structures tridimensionnelles et lors de leurs interactions. L'étude de la solvation des biomolécules apparaît indispensable pour rationaliser l'influence de l'eau sur les processus biochimiques et représente donc un enjeu majeur de la biologie moderne.

Les méthodes expérimentales, telles que la cristallographie par diffraction des rayons X et la résonance magnétique nucléaire (RMN) permettent aujourd'hui d'identifier un certain nombre de molécules d'eau fortement immobilisées dans les premières couches d'hydratation de nombreux acides nucléiques et protéines. Mais ces méthodes ne permettent pas de quantifier ni de rationaliser précisément les effets de la solvation dans les processus de structuration et de complexation.

D'autres méthodes expérimentales basées sur des mesures thermodynamiques apportent des informations énergétiques sur l'hydratation des édifices macromoléculaires. Elles permettent en particulier de mesurer l'énergie libre de solvation, grandeur thermodynamique intervenant dans le repliement et la complexation des biomolécules, ainsi que dans la catalyse enzymatique. Mais les

INTRODUCTION GENERALE

résultats obtenus par ces méthodes thermodynamiques dont l'interprétation se révèle souvent ambiguë sont difficiles à relier aux informations structurales de l'hydratation. Ces différentes méthodes expérimentales, si elles sont de plus en plus précises, ne donnent chacune que des informations partielles sur la solvation et la dynamique des macromolécules biologiques.

Pour cela les méthodes théoriques de modélisation moléculaire présentent un grand intérêt pour l'étude de la structure et de la solvation des macromolécules biologiques [7].

Deux grandes stratégies se distinguent pour représenter le solvant en modélisation moléculaire méthode implicite et méthode explicite :

- ❖ Les méthodes implicites représentent les effets du solvant de façon macroscopique.
- ❖ Les méthodes explicites représentent le solvant de façon microscopique. Pour solvater la molécule, il faut l'immerger dans une "boite de solvant". Cette boite de solvant, de forme (cubique, parallélépipédique ou octaédrique tronquée) doit avoir une densité très proche de la valeur expérimentale du solvant [8].

Dans la cellule des organismes vivants, l'eau représentant le solvant joue un rôle très important dans la stabilisation des structures tridimensionnelles des macromolécules biologiques et lors de leurs interactions. Les méthodes théoriques de simulation de modélisation moléculaire permettent de compléter les informations partielles sur l'hydratation des biomolécules obtenues par les méthodes expérimentales.

L'eau est le constituant le plus abondant dans les tissus vivants : elle représente 60% à 95 % de leur masse, ses propriétés particulières font de l'eau une molécule indispensable à la vie :

- Par sa propriété (molécule polaire).
- L'eau est un excellent solvant.
- Capable de créer des liaisons d'hydrogène avec d'autres molécules polaires.

Outre son rôle de solvant, l'eau est aussi le substrat et le produit de multiples réactions chimiques. Elle est également fondamentale dans la structure tridimensionnelle et l'assemblage des molécules biologiques.

En effet, les repliements et assemblages macromoléculaires sont stabilisés par l'élimination de l'eau des régions non polaires (effet hydrophobe) et la création de liaisons hydrogène avec les hétéroatomes. Enfin, sa concentration en ions hydrogène H^+ , c'est-à-dire le pH, peut modifier l'état ionique des molécules biologiques, rendant les processus biologiques très sensibles à ces variations [9].

Au cours du XX^{ème} siècle, l'hypertension artérielle a connu une ampleur dans son dépistage, sa compréhension et son traitement. Cette affection mal comprise n'était pas traitée pendant la première

INTRODUCTION GENERALE

moitié du XX^{ème} siècle. Puis, avec le développement de thérapeutiques et l'apparition de nouvelles recommandations, la prise en charge de l'hypertension artérielle s'est généralisée [10-12]. L'hypertension artérielle est, actuellement, fréquemment rencontrée en médecine générale. Beaucoup d'individus en sont atteints dans le monde. D'après un rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2008 dans la population mondiale, la prévalence de l'hypertension artérielle était de 29,2 % chez les hommes de plus de 25 ans et de 24,8% chez les femmes de plus de 25 ans. L'hypertension artérielle a un retentissement important sur la morbidité et sur la mortalité cardiovasculaire [13].

L'hypertension artérielle (HTA) avec ses complications (IC - Insuffisance Cardiaque, AVC - Accident vasculaire Cérébral, d'IM - Infarctus Myocardique) est un réel et important problème de santé public, en particulier pour les pays développés par rapport à ceux sous-développés. L'hypertension artérielle (HTA) a acquis ce statut pour plusieurs raisons :

- ❖ Est classée au premier rang des causes de la mortalité cardio- vasculaire, notifiés à l'OMS ; Est la maladie en soi, mais aussi un facteur de risque ; A une prévalence élevée et une distribution inégale [14] ;
- ❖ Elle ne bénéficie pas d'un contrôle satisfaisant, contrôle objectif dans la réalisation des valeurs cibles recommandées par les directives de L'OMS [15].

Le traitement de l'hypertension est un facteur clé dans la prévention de la morbidité et la mortalité cardiovasculaires. Ainsi, l'optimisation du traitement antihypertenseur ayant comme résultat rationnel, la réduction de la morbidité et la mortalité cardiovasculaires, est un défi pour n'importe quel clinicien et pour les organisations scientifiques qui mettent en œuvre cette approche dans le développement des lignes directrices utiles dans la détection, l'évaluation et le traitement de l'hypertension. Ces dernières années, le traitement de l'hypertension a fondamentalement changé et tend à être le plus approprié scientifiquement. La découverte des médicaments antihypertenseurs avec des actions à différents niveaux des chaînes de pathogènes, la possibilité de sélection de médicaments en relation avec les facteurs individuels et des essais thérapeutiques avec une méthodologie rigoureuse menée sur les grands groupes de l'hypertension, ont permis le développement de programmes de traitement largement tolérés [14].

Notre recherche consiste à étudier l'inhibition des enzymes « le récepteur minéralocorticoïde, et *11 β -HSD* 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase type 1 » impliqués dans la maladie de l'hypertension avec des séries d'inhibiteurs, les spironolactones pour la première étude, concernant les similaires d'AMP phosphoramidate et l'hormone aldostérone pour la deuxième. La troisième et la quatrième étude est réservée aux similaires de la molécule 1, 2,4-triazole.

INTRODUCTION GENERALE

Ces études ont pour but de minimiser la formation des complexes et par suite retarder sa progression. Afin de rationaliser les propriétés [16] des inhibiteurs et de déterminer les processus réactionnels impliquant ces complexes formés, à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire :

- Etudier au point de vue énergétique (les énergies d'interactions).
- L'élucidation des mécanismes d'interactions (récepteur-ligand) en vue d'inhiber les enzymes impliquées dans cette maladie par pseudo-expérience [17].

Notre but majeur dans cette démarche est d'essayer l'analyse l'évolution des conformations du complexe protéine -ligand en milieu neutre et en milieu solvaté au cours du temps et de caractériser les différents types d'interaction par l'utilisation du docking moléculaire.

On s'intéresse à déterminer le mode d'interaction du complexe par la fixation de l'inhibiteur dans le site actif de l'enzyme engendrant un bon inhibiteur avec une meilleure et forte complémentarité donc une bonne inhibition.

Ces résultats sidèrent au développement d'un outil thérapeutique efficace pour lutter contre le développement de la maladie de l'hypertension artérielle

La présente thèse s'organise en quatre chapitres :

Le premier chapitre concerne la principale approche de la modélisation moléculaire : la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire, et le Docking moléculaire.

Dans le deuxième chapitre nous avons effectué une recherche bibliographique portant sur l'hypertension artérielle.

Le troisième chapitre porte sur le phénomène de solvatation, un facteur très important contrôlant une grande variété de processus biologiques.

Le quatrième chapitre est réservé à la discussion des résultats obtenus.

La conclusion générale résume l'ensemble des approches réalisés et présente les perspectives que nous envisagerons dans l'avenir.

Références

- [1] Lubert Stryer, Jeremy Mark Berg, John L. Tymoczko (trad. Serge Weinman), *Biochimie*, Flammarion, « Médecine-Sciences », Paris, 5^e éd. (ISBN 978-2-257- 17116-0), 2003.
- [2] P. Braiuca, C. Ebert, A. Basso, P. Linda, L. Gardossi. Computational methods to rationalize experimental strategies in biocatalysis. *Trends in Biotechnology*; 24: 419-425, 2006.
- [3] J. Damborsky, J. Brezovsky. Computational tools for designing and engineering biocatalysts. *Current Opinion in Chemical Biology*, 13: 26-34; 2009.
- [4] D.C. Young:" Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems", Éditions Wiley Inter-Science, Chapitre 6-Molecular Mechanics, 49-59, 2001
- [5] T. Schulz-Gasch, M. Stahl. Scoring functions for protein-ligand interactions: a critical perspective. *Today Technologies* ; 1: 231-239, 2004.
- [6] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes à l'aide de techniques de « docking » (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Mentouri Constantine. Algérie, p 90 ; 2007.
- [7] Marie BRUT ; Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les Modes Statiques thèse de doctorat l'Université Toulouse III - Paul Sabatier LAAS-CNRS ; p25 ; 2009
- [8] Nathalie Basdevant - Capitaine ; Un Modèle de Solvatation Semi-Implicite pour la Simulation des Macromolécules Biologiques ; thèse de doctorat universite D'evry-Val-D'essonne, p56, 2003.
- [9] Jacques METZGER, Chimie des solutions,p : 130-132, 2004.
- [10] Ménard J. « Les va-et-vient de l'histoire de l'hypertension artérielle ». *La Revue du Praticien*, 60, p. 638-643, 2010.
- [11] Redmond N, Baer HJ, Hicks LS. « Health behaviors and racial disparity in blood pressure control in the national health and nutrition examination survey”. *Hypertension*, 57, p. 383–389 ; 2011.
- [12] Sarradon-Eck A., « Comprendre la physiopathologie profane ». *Ethica Clinica*, 51, p. 20-28,2008.
- [13] Organisation Mondiale de la Santé, Statistiques sanitaires mondiales 2012, Suisse : éditions de l'OMS, p 178 ; 2012.
- [14] Mihai (Țânțu) Marilena Monica « Etude sur l'efficacité de la thérapie avec des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine chez les patients hypertendus à Argeș » thèse de doctorat université de médecine et pharmacie de craiova ,p4 Craiova ,Roumanie ; 2012.
- [15] Léon Kabamba Ngombe, Karen Cowgill, Ben Bondo Monga, Benjamin Kabyla Ilunga, Wembonyama Okitotsho Stanis, et Oscar Luboya Numbi; “Prevalence of hypertension in the population of the millers of the city of Lubumbashi, Democratic Republic of CongoPan” *Afr Med J* .DOI : 10.11604/pamj.2015.22.152.6677. 2015.

INTODUCTION GENERALE

[16] G. Náray-Szabó, I. Berente, Computer Modeling of Enzyme Reaction, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, p637-644, 2003.

[17] D. Liotta. *Advances in MolecularModeling, Ed, JAI Press, P1,1988.*

CHAPITRE 01

METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

Introduction

Aujourd'hui, l'information concernant les séquences en monomères constitutifs et les structures des macromolécules biologiques est en pleine explosion. Cette information est diffusée rapidement et facilement à travers des réseaux informatiques. Le développement de ces réseaux associé à la démocratisation de l'accès aux moyens informatiques et graphiques fait que la modélisation a déjà pénétré dans la plupart des laboratoires qui étudient les macromolécules [1]. A cause de la faible puissance des ordinateurs, la modélisation moléculaire ne permettait que l'étude des petits systèmes moléculaires ; aujourd'hui, comme les ordinateurs sont plus de plus puissants, les systèmes étudiés contiennent plus d'atomes (molécule de solvant explicite pouvant atteindre des dizaines de milliers d'atomes, protéines, grandes surfaces moléculaires) et avec des équations théoriques moins simplifiées. De ce fait les temps de simulation se sont nettement allongés (de l'ordre de la nanoseconde) et un phénomène de compétition entre la taille des systèmes moléculaires et la puissance des superordinateurs est apparu [2].

La naissance de logiciel plus convivial et la parallélisations des ordinateurs ont apportés une aide significative au développement de la modélisation moléculaire. Contrairement à ses débuts, la modélisation moléculaire est aujourd'hui mieux reconnue.

D'ailleurs, en 1981, Kenichi Fukui, Roald Hoffmann reçut le même prix pour leurs travaux théoriques sur les réactions chimiques, De même en 1992, Rudolf A, Marcus reçut le prix Nobel pour ses travaux théoriques sur les transferts des électrons, et en 1998, le prix Nobel de chimie a été décerné à John. A Pople et Walter Kohn pour leurs travaux dans le domaine de la chimie informatique et la modélisation moléculaire (chimie quantique) [3].

La modélisation moléculaire est un outil complémentaire à l'expérimentation. De plus, elle permet d'obtenir des grandeurs qui sont au-delà des possibilités expérimentales et ceci dans des conditions parfaitement contrôlées de pureté, de pression, de température, etc. [4].

Lorsque nous utilisons un modèle particulier pour prédire les propriétés d'un système moléculaire, nous partons d'hypothèses (ex : validité de la reproduction des valeurs expérimentales), d'approximations (ex : champs de forces utilisés) et de limitations (ex ; temps de simulation) fournies par le modèle. Dans les systèmes moléculaires complexes, la présence de nombreux vibrateurs a pour conséquence de générer des modes normaux répartis sur une grande partie du domaine spectral et d'engendrer des recouvrements qui rendent difficile l'interprétation des spectres. Les méthodes spectroscopiques sont des méthodes analytiques fondées sur la mesure d'une radiation électromagnétique et des interactions avec les échantillons.

METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

La modélisation moléculaire permet pour simuler des systèmes moléculaires, des méthodes de calcul théoriques telles que la mécanique quantique (QM) (*ab initio* ou semi empirique), la dynamique moléculaire (DM), la mécanique moléculaire (MM) et docking moléculaire, depuis quelques années, l'association QM/MM qui apparaît très porteuse [5,6].

1. Mécanique moléculaire

Malgré le grand succès qu'ont reçu les méthodes de la mécanique quantique, leurs utilisations restent restreintes. En effet, les méthodes de MQ sont classées parmi les méthodes les plus vigoureuses mais elles sont très couteuses en temps de calculs et parfois même il sera impossible de faire un calcul en utilisant les méthodes MQ pour des systèmes de grosse taille moléculaire même en utilisant les méthodes abrégées (semi empiriques). Si l'on désire donc modéliser une grosse molécule de taille supérieure à celles accessibles par la méthode semi- empirique alors il est possible d'éviter la mécanique quantique en utilisant la méthode de mécanique moléculaire (MM) [7].

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.

1.1. Fonction d'énergie potentielle

Dans l'expression fonctionnelle des champs de forces classiques, l'énergie potentielle totale du système (E_{tot}) est exprimée comme étant la somme des contributions énergétiques des termes liés et de celles des termes non liés [8] :

$$E_{Total} = E_{stretch} + E_{bend} + E_{tors} + E_{Van\ der\ Waals} + E_{electro} + \dots$$

$E_{atomes-liés}$ $E_{atomes-non-liés}$

Equation 1

Les interactions intramoléculaires ne dépendent que des coordonnées internes des molécules c'est-à-dire des liaisons, des angles de valence, et de torsions ($E_{atomes-liés}$).

Les interactions intermoléculaires prennent en compte les interactions qui n'interagissent pas par des termes de liaison, d'angle de valence et d'angle de torsion. Le potentiel non liant s'exprime en trois termes : un terme de Van Der Waals, terme d'énergie électrostatique et un terme des liaisons hydrogène ($E_{\text{atomes-non-liés}}$) (figure1) [9].

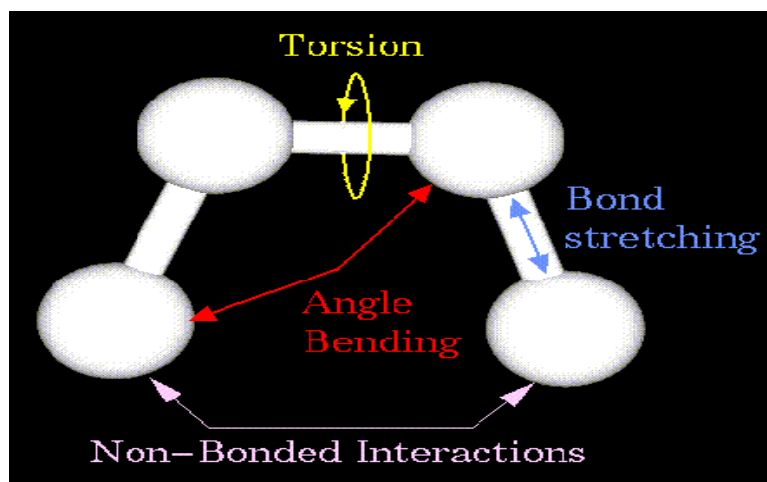


Figure1 : Énergie entre atomes liés

Les interactions de Van Der Waals sont des dipôles non permanents de faible rayon d'action (figure 2). Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice.



Figure 2 : Interactions de Van Der Waals

Les ponts hydrogène avec une force de l'ordre de 2 à 4 Kcal/mol agissent, dans les systèmes biologiques, à très courte distance (0,8 à 2,8 Å) entre un H lié à un O ou un N avec un O ou un N (Figure 3). Ils sont peu nombreux et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°).

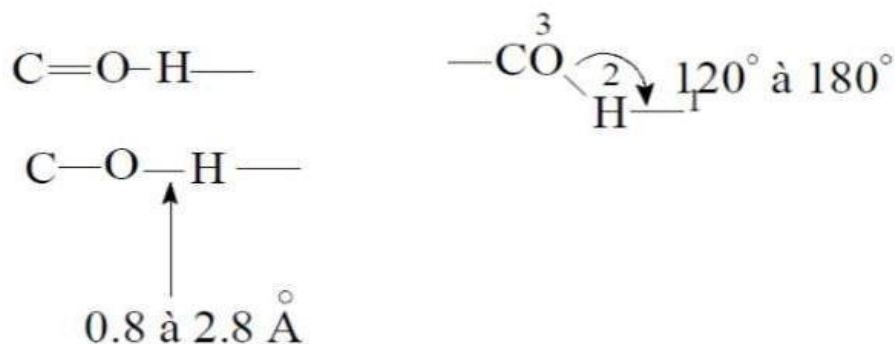


Figure 3 : ponts hydrogène

Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés. La distance pour une liaison saline, par exemple, est de 3,7 à 4,5 Å (Figure 4), et sa force est de l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau [10].

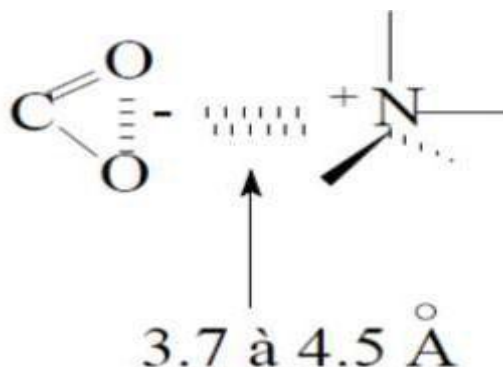


Figure 4 : Interaction électrostatiques

1.2. Différents champs de force en mécanique moléculaire :

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de manières différentes. Les champs de forces en MM peuvent être groupés en trois classes principales [11] :

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

- MM2/MM3/MM4

MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col. [13-14]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amines...), mais ses

METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

versions améliorées MM3 (1989) et MM4 (1996) [15] lui permet de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

- OPLS

Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indique son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Il est écrit par W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives [16].

- GROMOS

GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), est écrit par Van Gunsteren [17] et conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines.

- CHARM (Bio+)

Développé par Karplus et col [18-19], pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force est conçu pour les acides aminés et les protéines, maintenant il traite d'autres biomolécules.

- SPASIBA

(Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating biomolecular conformational Adaptability), élaboré par Gérard Vergoten et col. (1995). Il combine le champ de force spectroscopique modifié de Urey-Bradley-Shimanouchi [20] 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 [21]

- AMBER

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement), a été écrit par Kollman [22]. Le champ est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules. Dans le cadre de ces travaux, nous utiliserons ce champ de force, puisque on va traiter les protéines.

- EMO

Le programme EMO (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaise [23-24], il est basé sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :

Menu 1 : entrée de la molécule à l'aide d'un clavier. Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.

Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire.

1.3. Minimisation d'énergie

Une simulation typique de mécanique moléculaire est la minimisation d'énergie, le but est de trouver une conformation de faible énergie d'une molécule ou d'un système moléculaire. La fonction d'énergie potentielle E , possède $3N$ variables (N = nombre d'atomes du système étudié). C'est cette fonction objective $E(\mathbf{r}_i)$ qu'il faut minimiser, où $\mathbf{r}_i = (x_i, y_i, z_i)$ représente les coordonnées de chaque atome i du système. Formellement, la minimisation de l'énergie potentielle d'un système moléculaire consiste donc à résoudre un problème d'optimisation à plusieurs variables indépendantes : à partir des coordonnées cartésiennes des atomes dans la structure initiale (x_i, y_i, z_i) , on recherche un nouveau jeu de coordonnées optimisées (x^*_i, y^*_i, z^*_i) qui réduit l'énergie du système au minimum. Pour cette raison, la minimisation d'énergie est aussi appelée optimisation de géométrie, les deux phénomènes étant indissociables. Le principe consiste à prendre la dérivée première de l'énergie E par rapport à chacun des degrés de liberté du système et à trouver l'endroit sur son hypersurface énergétique où, pour chaque coordonnée :

$$\partial E / \partial \mathbf{r}_i = 0$$

Équation 2

Les algorithmes numériques qui exécutent cette tâche sont itératifs et ont, au moins, un point en commun : on commence en un endroit donné de l'hypersurface et on descend vers le minimum le plus proche, sans savoir si ce minimum est local ou absolu (Figure 5).

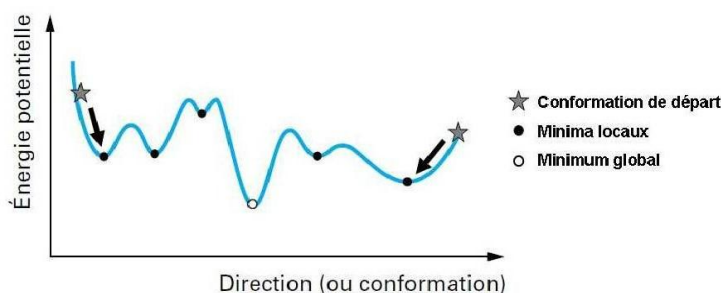


Figure 5 : Représentation schématique du principe d'une minimisation d'énergie « statique »

A partir d'un ensemble de coordonnées atomiques (conformation) de départ, l'algorithme retrouve le minimum local de la fonction d'énergie le plus proche, ainsi que la nouvelle conformation correspondant à ce minimum.

Les procédures sont de deux types : les unes utilisent uniquement la pente de la surface (dérivée première), comme les algorithmes :

- * Steepest Descent (SD)
- * Conjugate Gradients (CG)

Les autres, utilisent à la fois cette pente et la courbure de la surface (les dérivées première et seconde), comme l'algorithme Adopted-basis Newton-Raphson (ABNR) [12-13].

Il est important de noter que, étant donné le nombre important de variables de la fonction d'énergie $E(x_i, y_i, z_i)$, celle-ci présente, généralement, plusieurs minima et maxima. Ces algorithmes de minimisation ne permettent de trouver que le minimum local le plus proche de la configuration de départ, sans franchir les barrières énergétiques.

2. Dynamique Moléculaire (DM)

La dynamique moléculaire est la méthode la plus fréquemment utilisée pour la simulation de systèmes réels. Le principe de base de cette méthode est l'échantillonnage de l'espace conformationnel du système étudié par l'intégration des équations du mouvement de Newton pour tous les atomes présents dans le système.

Les simulations de DM consistent à calculer les positions et les vitesses d'un système d'atomes [25]. Elles sont très importantes pour la recherche du comportement structural des biomolécules en fonction du temps.

En utilisant la DM, on peut étudier la flexibilité ou la rigidité des biomolécules :

- Mesurer les interactions intermoléculaires entre la protéine et les ligands ou d'autres biomolécules,
- Calculer l'énergie libre ou bien étudier l'effet du solvant sur la structure des biomolécules.

Ainsi, au contraire de la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire produit des conformations qui dépendent moins de la structure initiale.

Les champs de forces utilisés sont les mêmes que ceux employés dans les méthodes de minimisation. La dynamique moléculaire introduit donc la dimension du temps dans l'étude des molécules. L'évolution temporelle ou trajectoire d'une molécule est décrite par la résolution de l'équation (3) du mouvement de Newton :

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

Équation 3 (mouvement de Newton)

→

F_i : Vecteur force agissant sur l'atome i.

→

m_i : Masse de l'atome i.

→

a_i : Vecteur accélération de l'atome i.

→

r_i : La position de l'atome i.

2.1. Mise en œuvre d'un calcul de DM

Avant de commencer une simulation de DM, il est important d'avoir un modèle de départ proche de la structure réelle.

- Minimisation par mécanique moléculaire : on part, en général d'une conformation optimisée par la MM.
- Dynamique moléculaire : en général, un calcul de DM se décompose en trois phases :
 - Thermalisation : il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée (généralement 300 K), cette montée en température demande 2 à 10 ps de simulation (2000 à 10000 pas d'intégration).
 - Equilibration : est une phase importante au cours de laquelle, on stabilise la T du système. Il y a alors un échange important entre l'énergie potentielle et l'énergie cinétique. Cette étape peut durer entre 10 et 20 ps. La température est calculée après chaque étape et ramenée à la T de référence par la formule (équation 4) :

$$\frac{dT}{dt} = \tau^{-1} (T_0 - T)$$

Équation 4

Avec :

- τ : Temps de relaxation, la valeur de τ doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement égale à 10 fs).

- T_0 : température de référence. T : température du système.
- Dynamique ou production : c'est la phase réellement exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100 ps. Au cours de cette simulation, les conformations sauvegardées toutes les 0.05 ou 0.1ps [26].

2.2. Docking moléculaire

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques [27], la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques.

Connaître la façon dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées. Le développement d'approches prédictives ouvre la voie à la conception assistée par ordinateur de systèmes protéiniques aux propriétés modifiées et présente donc un intérêt indéniable pour la recherche et l'industrie pharmaceutique et médicale.

Dans le domaine de la chimie théorique, le docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules.

Cependant, chaque programme de docking moléculaire diffère par rapport aux autres par leurs algorithmes d'échantillonnage, par leur manière de manipuler la flexibilité du ligand et de la protéine et par leurs fonctions d'évaluation des complexes.

Il existe deux grands types de docking moléculaire. Le docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte [28].

Actuellement cette approche est utilisée dans le docking protéine-protéine. L'approche la plus récente dans le traitement de la flexibilité, considère la cible protéique comme corps rigide tandis que le ligand est flexible.

En effet elle représente l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels ou programmes de docking moléculaire. Néanmoins, celle-ci reste approximative, du fait que le récepteur ne doit pas être considéré comme corps rigide (au moins la flexibilité du site d'interaction doit être prise en compte).

2.2.1. Principe théorique

Docking (amarrage) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine [29].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et la fonction de scoring (figure 6) :

- La première est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- La deuxième (la fonction de scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking moléculaire. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [30-31].

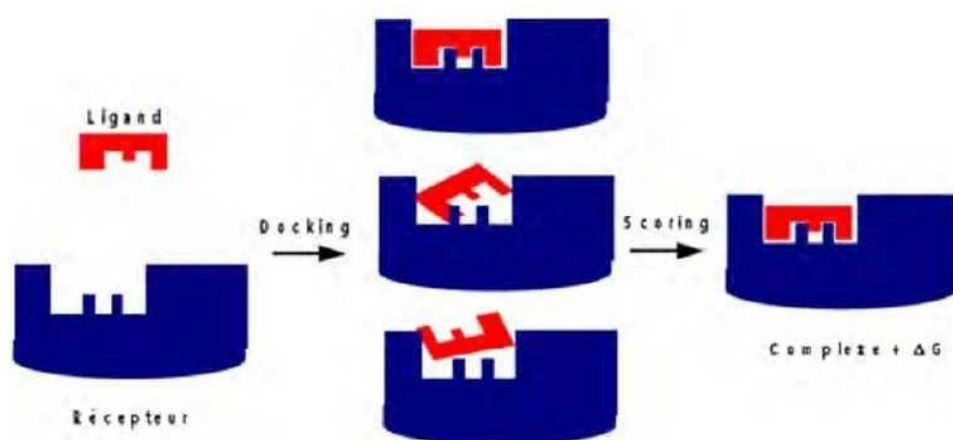


Figure 6 : Principe générale d'un programme de docking

2.2.2. Interaction protéine-ligand

Pour attacher un ligand à une protéine (docking) le problème est de prédire la conformation et l'orientation du ligand relative au site actif de la protéine cible. Le docking moléculaire est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction. À chaque protéine cible de structure connue

METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

le docking moléculaire se révèle être la clé dans le design de nouveaux médicaments [32-34]. Le ligand est considéré comme une petite molécule organique. Les interactions qui peuvent exister entre cette petite molécule (le ligand) et la protéine sont : des interactions polaires (liaisons hydrogène, liaisons ioniques) et des interactions hydrophobiques (contact entre des groupes hydrophobes).

Les interactions entre la protéine et le ligand suivent le concept de la complémentarité stérique. Récemment d'autres algorithmes, se basant sur le « matching of interacting group », ont été développés [35]. Ces algorithmes sont moins performants car ils modélisent les différentes interactions de la même manière. Pour contourner cette carence la technique utilisée considère trois niveaux de types d'interaction :

- Les interactions du 3^{ème} niveau concernent les liaisons hydrogène et les liaisons ioniques, elles sont les plus restrictives géométriquement à cause de leur courte distance



- Les interactions du 2^{ème} niveau sont les interactions hydrophobiques entre le centre d'un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'un amide ou des groupements méthyle. La géométrie de ce type d'interaction est légèrement moins restrictive, on peut alors le séparer des interactions purement hydrophobiques. Des études sur l'interaction protéine-ligand ont montré que ce type d'interaction est le plus fréquent.

- Les interactions du 1^{er} niveau sont les contacts hydrophobiques non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatique ou aromatique. Ces interactions sont généralement sphériques avec un rayon de 4 Å et elles couvrent la plus grande partie du ligand [35-36].

Pour le placement du ligand dans le site actif de la protéine, les interactions du 3^{ème} niveau sont utilisées en premier, ensuite celles du 2^{ème} niveau, et enfin celles du 1^{er} niveau.

Les interactions entre une protéine et un ligand sont en général de nature non covalente. L'énergie libre de Gibbs se calcule selon l'Équation 5.

$$\Delta G = -RT \ln K_i = \Delta H - T\Delta S$$

Équation 5 (Énergie libre de Gibbs).

R : constante des gaz (8,314 J. K⁻¹.mol⁻¹), T: Température (K) K_i: constante d'inhibition

Les composantes de l'énergie libre sont :

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

- Les liaisons hydrogène

Les molécules d'eau dans les cavités des protéines peuvent parfois être un élément fondamental [37]. Elles sont capables d'assurer le relais entre le récepteur et le ligand et ainsi créer des réseaux de liaisons hydrogène.

3.2. Principe de fonctionnement

Le Docking moléculaire peut se rapporter à un problème d'optimisation selon une valeur numérique qui rendrait compte de la conformation plus ou moins favorable de deux entités (e.g. l'énergie libre totale du système protéine-ligand). Pour cela le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires durant la première étape, le programme tend à rechercher les conformations du ligand aptes à établir des interactions idéales avec le récepteur. La deuxième étape, appelée score de docking permet d'évaluer ces conformations par un calcul rapide de l'énergie libre totale du système protein-ligand formé [38].

Pour que La capacité d'un programme est performante il est habituellement jugé au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square derivation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal. Le ratio admis est une différence maximum de deux angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non pertinente [39].

3.2. Calcul du RMSD

Les différentes conformations issues de la dynamique sont analysées et comparées entre elles par des superpositions et des calculs de déviations (RMSD) (Equation 6) [40].

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N \sum_i (r_{i1} - r_{i2})^2}}$$

Équation 6 : Expression du RMSD

Avec : N le nombre d'atomes du système étudié.

r_{i1} Le vecteur position de l'atome i dans la structure 1

r_{i2} Le vecteur position de l'atome i dans la structure 2

3.3. Fonctions de score :

La procédure de Docking permet de générer une liste de complexes représentant les modes d'association favorables entre le ligand et le récepteur macromoléculaire. L'étape suivante consiste à

METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

évaluer ces complexes, afin de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel. L'association entre protéines et ligands est gouvernée de reproduire au mieux le mode d'association réel. L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques : les interactions hydrophobes, les interactions électrostatiques, les liaisons hydrogène, les effets de solvatation et les effets d'entropie. Théoriquement, le complexe est favorable si la variation d'énergie libre globale de complexation est négative ($G_{\text{complexation}} < 0$).

En pratique, l'évaluation de l'énergie libre des complexes est une tâche souvent coûteuse d'un point de vue informatique, ce qui limite son utilisation en routine [41]. De ce fait, des méthodes approximatives ont été développées pour distinguer (évaluer et classer) les meilleurs complexes parmi ceux générés par une procédure de Docking : les fonctions de score [42]. Selon les principes utilisés dans leur conception, les fonctions de score sont classées en : fonctions de score basées sur des champs de force, fonctions de score knowledge-based et fonctions de score empiriques [43-44]. Ces fonctions de score sont construites à partir de règles fondées sur une analyse statistique des complexes protéine- ligand résolus expérimentalement. La fonction PMF (Potential of Mean Force) fait partie de cette classe de fonction [45].

Il s'agit d'une technique de classement de complexes qui combine les résultats individuels de plusieurs fonctions de score afin de compenser les faiblesses des unes avec les forces des autres, en augmentant ainsi la fiabilité du résultat final.

Le principe consiste à vérifier la fréquence à laquelle chaque complexe apparaît parmi les X complexes les mieux classés selon différentes fonctions de score ($X = 5$ ou 10 le plus souvent). D'un point de vue statistique, plus cette fréquence d'un complexe est élevée, plus la probabilité de ce dernier représente le mode réel d'interaction protéine-ligand est élevée [46- 47].

Références

- [1] R. Brasseur, "Molecular Description of Biological Membranes by Computer Aided Conformational Analysis". *CRC Press Volumes 1*, ISBN 9780849363757; p285, (1990).
- [2] P. Bartol, M. Comba, Melter, M. Zimmer, Conformational searching of transition metal compounds, *Journal of Computational Chemistry*, Vol.20, No.14, 1549-1558, 1999.
- [3] B. Lipkowitz, Review in *Computational Chemistry* ;(1990-2000).
- [4] R. Lavery. « La modélisation moléculaire : un outil pour étudier les macromolécules biologiques et leurs interactions. De la matière au vivant : les systèmes moléculaires organisés ». *Paris : CNRS-Images de la Recherche*, p. 199–204, 1994.
- [6] M.F. Ruiz-López, J.L. Rivail, "Combined quantum mechanics and molecular mechanics approaches to chemical and biochemical reactivity". *Enc. Comp. Chem.* 1, Ed. P.v.R. Schleyer, Wiley & sons, 437-448, (1998).
- [7] W.J. Geldenhuys, K.E. Gaasch, M. Watson, D.D. Allen, C.J. Van Der Schyf. "Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery". *Drug Discovery Today*; 11: 127-132, 2006.
- [8] M. LEDECQ, thèse de doctorat, *Université de Notre-Dame de la Paix*, France, 2004.
- [9] Bensegueni. A. « Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase ». Thèse de Doctorat : Biochimie appliquée. *Université Mentouri Constantine. Algérie*, p 91,2007.
- [10] I. Soury-Lavergne Navizet, thèse de doctorat, *Université Paris 6, France*, 2004.
- [11] wassila soufi « contribution a la modélisation des interactions dans les biomolécules : cas de la maladie de parkinson, thèse doctorat en chimie physique ;université de Tlemcen,2016.
- [12] D. Van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A.E. Mark, H.J.C. Berendsen. GROMACS: fast, flexible and free. *Journal of Computational Chemistry*; 26: 1701-1718, 2005.
- [13] J. C. Smith, M. Karplus, « Empirical force field study of geometries and conformational transitions of some organic molecules »*J. Am. Chem. Soc*, 114, 805 , 1992.
- [14] T. Shimanouchi, « Force constants of small molecules » *Pure Appl. Chem*, 7, 131. 1963.
- [15] N.L. Allinger:" Calculation of Molecular Structure and Energy by Force-Field Methods", *Adv. Phys .Org. Chem.*, 13, 1-82, 1976.
- [16] U. Burkert, N.L. Allinger:" Molecular Mechanics", ACS Monograph 177", *American Chemical Society, Washington DC*. 1982.
- [17] N.L. Allinger, Y. H. Yuh, J-H. Li:" Molecular Mechanics, The MM3 Force Field for Hydrocarbons", *J. Am .Chem. Soc.*,111, 8551, 1989.

METHODES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

- [18] N.L. Allinger, K. Chen, J-H. Lii:” An improved force field (MM4) for saturated Hydrocarbons”, *J. Comp. Chem.*, 17, 642, 1996.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] B.R. Brooks, R.E. Bruccoleri, B.D. Olafson, D.J. States, S. Swaminathan, M. Karplus, J.M. Charrm:” A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations”, *Comp.Chem.*, 4, 187–217, 1983.
- [22] 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.
- [23] T. Shimanouchi:” Force constants of small molecules”, *Pure. Appl. Chem.*, 7, 131-146, 1963.
- [24] F. Tristram, V. Durier, G. Vergoton:” 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.
- [25] 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.
- [26] 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*, , 71,381- 393. 1989.
- [27] B. Blaive, G. Legsaï, R. Laï:” Utilization of d0, d1, d2 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.
- [28] M.R. Hestenes, E. Stiefel. Methods of conjugate gradients for solving linear systems. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*; 49: 409-438, 1952.
- [29] Rosen E. D., O’Donnell A. L., Koenig R. J. ,« Protein-protein interactions involving erb A superfamily receptors: through the TRAP door”. *Molecular and Cellular Endocrinology*.78: C83-C88. 1991.
- [30] Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. « Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications ». *Drug discovery*. 3: 935-949. 2004.
- [31] Warren G. L., Andrews C.W., Capelli A. M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H.,Lindvall M., Nevins N., Semus S. F., Senger S., Tedesco G., Wall I.D., Woolven J. M.,Peishoff C. E., Head M. S. “A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions”. *Journal of Medicinal Chemistry*. 49: 5912-5931. 2006.

- [32] Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R. "Principles of Docking: An Over view of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions". *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. 47: 409-443. 2002.
- [33] Mostefaoui Iarbi « contribution à la description et à la compréhension de la solvation des biomolécules par modélisation moléculaire », Mémoire de magister *université de Tlemcen*, 2011
- [34] Böhm H.J. « The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure ». *J. Comput. Aided. Mol. Des.*, 8(3) : 243-256. 1994.
- [35] Oshiro C. M., Kuntz I.D. "Characterization of receptors with a new negative image: Use in molecular docking and lead optimization *Proteins: Structure, Function, and Genetics*" 30 (3) : 321-336, 1998.
- [36] Given J.A., Gilson M.K. A "hierarchical method for generating low-energy conformers of a protein-ligand complex. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*", *ANR Dock* 33(4) : 475-495. 1998.
- [37] Rarey M., Kramer B., Lengauer T. "Docking of hydrophobic ligands with interaction-based matching algorithms". *Bioinformatics*, 15 (3) : 243-250. 1999.
- [38] Maréchal, Yvus. "The hydrogen bond and the water molecule" *Elsevier Science & Technology* , eBook ISBN:9780080469294. Hardcover ISBN: 97804445195732007
- [39] Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. « A Fast Flexible Docking Method Using an Incremental Construction Algorithm ». *J. Mol. Biol.* 261 : 470-489,1996.
- [40] R.D. Clark, A. Strizhev, J.M. Leonard, J.F. Blake, J.B. Matthew. "Consensus scoring for ligand/protein interactions". *Journal of Molecular Graphics and Modelling*; 20: 281-295, 2002.
- [41] I.D. Kuntz, J.M. Blaney, S.J. Oatley, R. Langridge, T.E. Ferrin, "A geometric approach to macromolecule-ligand interactions", *J Mol Biol* ., 161, 269-288,1982.
- [42] G. Schneider, H.J. Böhm. « Virtual screening and fast automated docking methods ». *Combinatorial Chemistry*; 7: 64-70, 2002.
- [43] A. Jain. « Scoring functions for protein-ligand docking ». *Current Protein and Peptide Science*; 7: 407-420, 2006.
- [44] T. Schulz-Gasch, M. Stahl. « Scoring functions for protein-ligand interactions : a critical perspective » ; *Today Technologies*; 1: 231-239, 2004.
- [45] Chikhi A. « Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes à l'aide de techniques de « docking » (arrimage) moléculaire ». *Thèse doctorat. Université Mentouri Constantine. Algérie*; 90p, 2007.
- [46] R.D. Clark, A. Strizhev, J.M. Leonard, J.F. Blake, J.B. Matthew. « Consensus scoring for ligand/protein interactions ». *Journal of Molecular Graphics and Modelling*; 20: 281-295, 2002.

[47] M. Feher. « Consensus scoring for protein–ligand interactions ». *Drug Discovery Today*; 11: 421-428, 2006.

[48] A. Grosdidier. “ Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives“, Thèse de doctorat en pharmacie. *Université Joseph Fourier. Grenoble France*. p 90, 2007.

CHAPITRE 02

SOLVATATION

SOLVATATION

1. Introduction

Les solvants sont des produits chimiques capables de dissoudre et de diluer d'autres substances sans changer leurs structures, ni se modifier eux-mêmes. Un solvant est un liquide dans lequel on introduit une ou plusieurs substances (les *solutés*) de manière à constituer une phase homogène (la *solution*) [1].

Le solvant est donc défini non par sa structure chimique, mais par son état physique (l'état *liquide*) et par l'usage qui en est fait ; il existe ainsi une variété infinie de solvants : l'eau, les composés organiques (alcools, acides, hydrocarbures, etc.) sont les plus classiques, et des gaz condensés ou sous pression, comme l'ammoniac ou le dioxyde de carbone [2].

L'eau est le constituant le plus abondant dans les tissus vivants : elle représente environ 75 % de leur masse. Ses propriétés particulières font de l'eau une molécule polaire indispensable à la vie.

Outre son rôle de solvant, l'eau est aussi le substrat et le produit de multiples réactions chimiques. Elle est également fondamentale dans la structure tridimensionnelle et l'assemblage des molécules biologiques. En effet, les repliements et assemblages macromoléculaires sont stabilisés par l'élimination de l'eau des régions non polaires (effet hydrophobe) et la création de liaisons hydrogène avec certains atomes. Enfin, sa concentration en ions H_3O^+ , peut modifier l'état ionique des molécules biologiques, rendant les processus biologiques très sensibles à ces variations à cause du pH [3].

1. La solvation

Selon l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) [4] la solvation étant définie comme toute interaction stabilisante d'un soluté et d'un solvant mettant en jeu généralement des forces électrostatiques, de Van der Waals, ainsi que des effets plus spécifiques chimiquement, tels que la formation de liaisons hydrogènes.

Une solution est un mélange homogène dans lequel une entité chimique est présente en grande quantité (le solvant), et où une ou plusieurs autres entités chimiques (les solutés) sont présentes en plus faible quantité [5].

Quand le soluté est en phase condensée (liquide ou solide), la solvation entre dans le bilan énergétique qui met en jeu la séparation des molécules ou des ions dans le soluté avant sa dispersion dans le solvant. Le soluté ne se dissout que si les interactions soluté-solvant compensent la perte des interactions soluté-soluté et solvant-solvant du fait de la dissolution :

- Soit par réaction chimique ;
- Soit en affaiblissant suffisamment les liaisons (par exemple, l'eau divise les forces électrostatiques par environ 80) [6].

SOLVATATION

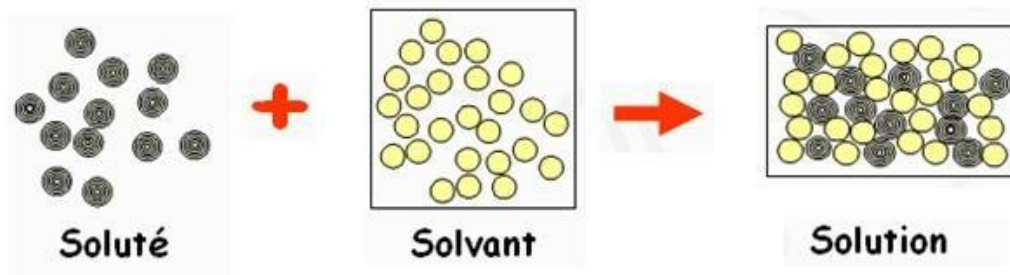


Figure1 : réaction soluté_ solvant (Wikipédia)

2.1. Couches de solvation

L'ion (ou la molécule) solvaté est entouré de molécules de solvant qui lui sont directement liées, qui sont orientées (dans le cas d'une interaction ion-dipôle), et qui ne s'échangent que lentement avec des molécules extérieures à cette première sphère de solvation.

Cette première sphère est entourée d'autres molécules de solvant qui sont indirectement liées à l'ion, qui sont peu orientées, qui s'échangent rapidement avec des molécules de solvant du reste de la solution, et qui s'échangent lentement avec les molécules de la première sphère.

Le reste de la solution est constitué de molécules de solvant qui sont dans le même état qu'en l'absence de soluté. La littérature anglo-saxonne appelle ces molécules le *bulk*.

Si cette structuration de la solution est commune aux différents solvants et solutés, le nombre de molécules de solvant dans chaque sphère de solvation est propre à chaque type de solution [7].

2.2. Nombre de solvation

Le nombre de solvation est le nombre (sans unité) de molécules de la première sphère de solvation ou, suivant les cas, le nombre total de molécules de solvant des deux couches de solvation. Le nombre de solvation dans la première sphère est une notion assez facile à définir, étant donnée la stabilité des interactions solvant-soluté. Le nombre de solvation total, incluant les molécules de solvant de la seconde sphère de solvation, est plus délicat à définir. Il est le plus souvent défini par la méthode utilisée pour la mesure de nombre de solvant [8]. Cette disparité, qui peut paraître perturbante en première instance, traduit en fait l'importance de la notion de nombre de solvation dans des situations variées.

Les méthodes de détermination des nombres de solvation sont :

- les calculs expérimentaux.
- les calculs théoriques.

2.1. Etude de la solvation par méthodes expérimentales

On peut étudier l'hydratation des macromolécules biologiques à l'aide de plusieurs méthodes qui apportent chacune des informations spécifiques, différentes et complémentaires. On peut distinguer parmi ces méthodes expérimentales deux grandes familles de méthodes :

- Les méthodes structurales (cristallographie par diffraction des rayons X et résonance magnétique nucléaire), permettent de détecter la présence (pour la cristallographie) et la dynamique (pour la RMN) de molécules d'eau spécifiques autour de la structure des macromolécules.
- Les méthodes thermodynamiques, reposant sur des mesures de microcalorimétrie, permettent d'accéder à l'énergie libre de solvation des molécules et à ses variations lors de repliement ou de complexation ; ces mesures de microcalorimétrie couplées à des approches volumétriques ou de pression osmotique permettent de caractériser, en termes de nombre de molécules et d'énergie, les premières couches de solvation.

Les méthodes expérimentales permettant d'étudier l'hydratation sont actuellement de plus en plus précises. Cependant, elles posent des difficultés d'interprétation, et elles ne permettent le plus souvent que d'obtenir des informations partielles sur l'hydratation des molécules biologiques. Il est donc nécessaire d'envisager des méthodes théoriques permettant d'étudier de façon plus exhaustive les processus de solvation et de confirmer et compléter les résultats [9].

2.2. Etude de la solvation par les méthodes théoriques

Les méthodes théoriques, telles que la modélisation moléculaire [10-11], permettent aujourd'hui de préciser au niveau atomique et de mieux rationaliser la relation structure/fonction des systèmes biologiques complexes dont les études expérimentales ne sont pas toujours simples à mettre en œuvre, ni évidentes à interpréter. Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'eau joue un rôle très important dans la structure des édifices bio- moléculaires et il apparaît donc essentiel de bien représenter ce solvant autour des solutés dans les études de modélisation moléculaire.

Deux grandes stratégies se distinguent pour représenter le solvant en modélisation :

- Les méthodes explicites, qui représentent le solvant de façon microscopique,
- Les méthodes implicites, qui représentent les effets du solvant de façon macroscopique.

SOLVATATION

Plus récemment, de nouvelles méthodes implicites sont apparues, exploitant l'efficacité des méthodes implicites sans négliger l'aspect moléculaire et microscopique des particules de solvant [7].

A. Méthodes implicites

Afin de calculer les grandeurs thermodynamiques de solvation du système de façon beaucoup plus avantageuse, des méthodes de solvation appelées implicites ont été développées [12]. Elles reposent sur le fait que les effets de l'eau sur les molécules sont principalement d'ordre électrostatique, et qu'ils peuvent être moyennés dans le temps et l'espace.

Dans la simulation de solvant implicite, l'effet de l'eau est inclus dans un potentiel de force moyenne, visualisé sous forme de flèches figure 2.

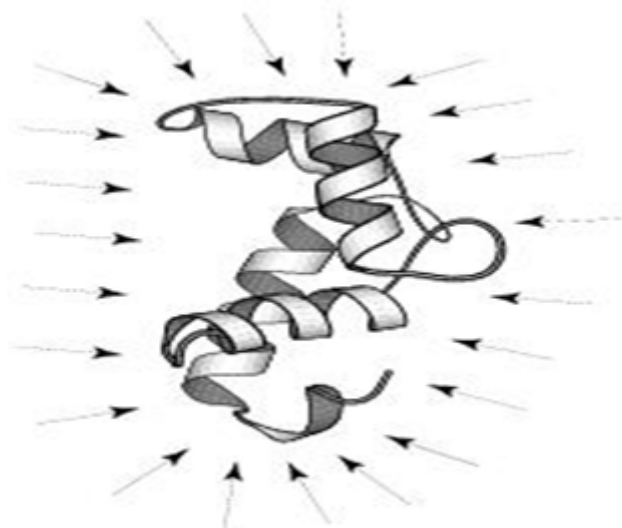


Figure 2 : Simulation de solvant implicite [13-14]

Le solvant est alors représenté comme un milieu continu, sans structure microscopique, de constante diélectrique ϵ_s élevée, dont les propriétés diélectriques découlent des lois macroscopiques de l'électrostatique [13-14]. Le soluté est une cavité de faible constante diélectrique immergée dans le solvant, avec des charges partielles fixées (figure 3). L'intérêt de ces méthodes est qu'elles calculent des grandeurs moyennes et permettent donc de traiter directement les interactions soluté-solvant en termes d'énergie libre. Dans le cas des trajectoires de dynamique moléculaire avec un solvant continu, le but n'est plus de reproduire des trajectoires réalistes comme avec un solvant explicite que nous allons détailler mais d'explorer l'espace conformationnel de façon efficace, en plus du calcul de l'énergie libre de solvation.

SOLVATATION

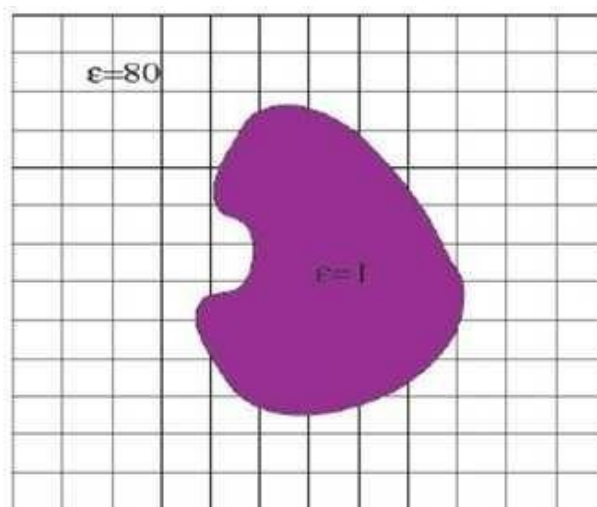


Figure 3 : Représentation implicite du solvant [13]

Le solvant est un milieu continu de constante diélectrique $\epsilon_s = 80$ et le soluté un milieu de constante diélectrique $\epsilon_i = 1$.

Les méthodes de solvation implicites permettent donc de calculer l'énergie libre de solvation ΔG_S , que l'on peut décomposer en deux contributions de la façon suivante :

$$\Delta G_S = \Delta G_p + \Delta G_{np}. \quad (1)$$

Le terme ΔG_p est la contribution électrostatique ou polaire à l'énergie libre de solvation, dont nous présenterons les différentes méthodes de calcul par la suite. Le terme

ΔG_{np} représente la contribution non polaire à l'énergie libre de solvation, il comprend donc les interactions de Van Der Waals ΔG_{vdw} entre le solvant et le soluté, et l'énergie libre nécessaire pour former la cavité dans le solvant ΔG_{cav} .

La méthode la plus répandue pour calculer ΔG_{np} repose sur le calcul de la surface accessible au solvant de la macromolécule étudiée (méthode appelée SASA pour « Solvent Accessible Surface Area ») [13-15].

Cette méthode considère que l'énergie de solvation non polaire provient de la première couche de solvation, et que le nombre de molécules d'eau de cette première couche est proportionnel à la surface accessible au solvant A de la macromolécule étudiée.

Cette surface est calculée en tenant compte des volumes de Van Der Waals des atomes de la molécule exposés au solvant, ainsi que des volumes des molécules d'eau de la première couche de solvation.

SOLVATATION

On exprime alors l'énergie de solvation non polaire par la formule :

$$\Delta G_{np} = \Delta G_{vdw} + \Delta G_{cav} = \gamma A + b \quad (2)$$

Les paramètres γ (représentant la tension de surface microscopique) et b sont obtenus par interpolation linéaire à partir du calcul d'énergie de solvation de différents hydrocarbures dont l'énergie de solvation est majoritairement non polaire et connue expérimentalement.

Parmi les méthodes implicites qui permettent le calcul de la contribution électrostatique de l'énergie libre de solvation, on distingue, les méthodes de continuum qui font partie des méthodes (SCRF) Résonance Magnétique Nucléaire de champ réactionnel auto-cohérent. Ces méthodes considèrent le solvant comme un milieu continu de constante diélectrique « ϵ » élevée ou le soluté est placé dans une cavité entourée par le solvant. Les modèles de solvation implicite diffèrent par la nature de la cavité du solvant.

B. Solvation explicite

Pour calculer les propriétés de solvation on peut envisager d'utiliser une représentation microscopique réaliste du système étudié, c'est-à-dire représenter explicitement les molécules de solvant et de soluté. En choisissant un modèle des interactions entre molécules, on peut placer un ensemble de molécules à des positions diverses, et calculer l'énergie de cette configuration microscopique.

La théorie physique microscopique pertinente pour déduire les propriétés macroscopiques à l'équilibre à partir de la connaissance des configurations microscopiques est la physique statistique [16].

La boîte initiale pour une simulation, vue de l'intérieur, inclut explicitement les molécules d'eau

Traiter le solvant de manière explicite, c'est-à-dire ajouter les molécules de solvant au système étudié, est très certainement la manière la plus rigoureuse d'appréhender le comportement d'une molécule.

Cependant le coût calculatoire est extrêmement important puisqu'il faut tenir compte dans le calcul de la fonction d'énergie potentielle, non seulement des termes qui concernent le soluté, mais aussi de ceux qui concernent le solvant, entraînant ainsi des temps de calcul autrement plus longs que ceux résultant d'un simple traitement implicite du solvant.

De plus, il est nécessaire d'avoir les paramètres physico-chimiques de la molécule de solvant calculés spécifiquement pour le champ de forces que l'on utilise [5].

SOLVATATION

Les méthodes explicites représentent chaque molécule d'eau autour du soluté comme une molécule triatomique H_2O , de charges et rayons atomiques donnés, comme représenté schématiquement sur la Figure 4.

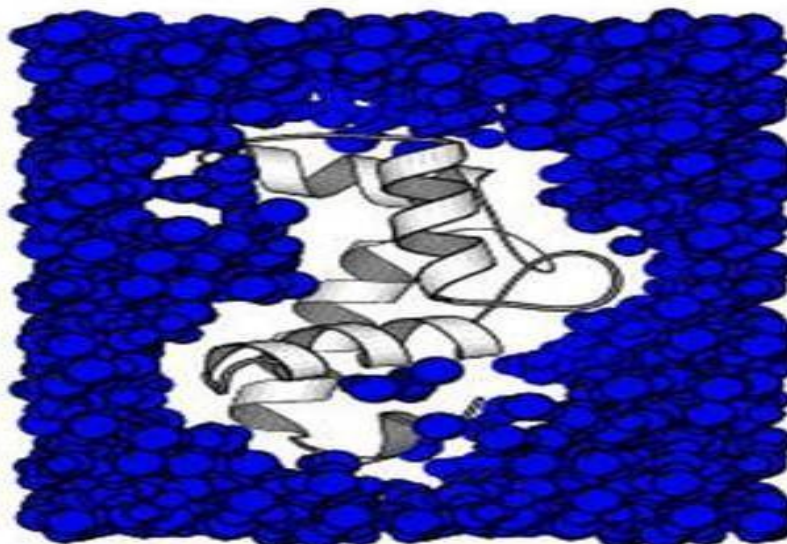


Figure 4 : boîte initiale pour une simulation [13]

L'avantage d'une telle méthode est que le soluté et le solvant sont tous deux représentés de façon cohérente par une description atomique.

La dynamique des molécules d'eau peut alors être calculée par les méthodes classiques de dynamique moléculaire. Une telle méthode permet d'étudier précisément la trajectoire de toutes les molécules d'eau en parallèle de l'évolution de la structure du soluté.

De plus, elle permet d'observer directement les liaisons hydrogène que chaque molécule d'eau peut former avec le soluté, puisque chaque atome d'hydrogène ou oxygène est représenté explicitement. La représentation explicite a aussi l'avantage de déterminer naturellement la frontière entre le soluté et le solvant par les rayons de Van Der Waals des atomes du système.

Les modèles de solvant explicites permettent de représenter l'eau de façon réaliste, grâce à des modèles paramétrés en accord avec l'expérience.

Cependant, pour un système avec des conditions aux bords périodiques comme on utilise habituellement en modélisation pour simuler un milieu infini, on devra considérer un très grand nombre de molécules d'eau, jusqu'à plusieurs dizaines de milliers.

Le calcul des interactions solvant-solvant va prendre la majorité du temps de calcul par rapport aux interactions soluté-solvant, et soluté-soluté, alors que la trajectoire exacte de toutes les molécules d'eau n'est pas l'information la plus intéressante des simulations.

SOLVATATION

Les modèles de solvant explicites permettent de représenter l'eau de façon réaliste, grâce à des modèles paramétrés en accord avec l'expérience.

Cependant, pour un système avec des conditions aux bords périodiques comme on utilise habituellement en modélisation pour simuler un milieu infini, on devra considérer un très grand nombre de molécules d'eau, jusqu'à plusieurs dizaines de milliers.

Le calcul des interactions solvant-solvant va prendre la majorité du temps de calcul par rapport aux interactions soluté-solvant, et soluté-soluté, alors que la trajectoire exacte de toutes les molécules d'eau n'est pas l'information la plus intéressante des simulations.

De plus, en ce qui concerne les propriétés diélectriques et thermodynamiques, comme par exemple l'énergie libre de solvation, il est nécessaire de faire des moyennes sur un très grand nombre de configurations différentes afin d'avoir une statistique suffisante pour obtenir une moyenne représentative des systèmes étudiés, et il faut utiliser des méthodes de physique statistique évoluées (méthodes de perturbation ou « umbrella sampling » [17,18]) pour calculer les grandeurs thermodynamiques. Or la convergence de ces propriétés est connue pour être très lente [19], et l'étude des propriétés thermodynamiques d'un système bio- moléculaire par les méthodes de solvation explicites sera donc assez peu précise et très coûteuse en temps de calcul.

Il existe différents modèles explicites pour représenter l'eau en modélisation moléculaire, car divers paramètres peuvent être ajustés par le nombre de sites de 3 jusqu'à 5 sites, afin de mieux représenter la structure tétraédrique de l'eau à cause :

- Des deux doublets électroniques de son atome d'oxygène [20]),
- Les charges et les rayons de ces sites,
- La longueur des liaisons
- La valeur des angles de valence entre les sites [21,22].

Les molécules d'eau peuvent être considérées comme flexibles ou rigides, selon le degré de précision désirée (Figure 5).

SOLVATATION

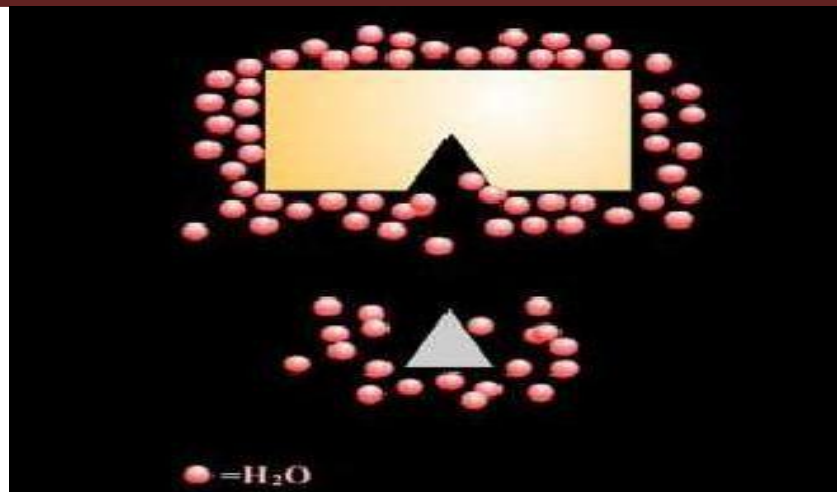


Figure 5 : Représentation explicite du solvant

Nous avons utilisé un type de solvant spécialement paramétré pour le champ de forces AMBER : l'eau.

Pour étudier une molécule en solvant explicite, il est nécessaire de la solvater, c'est-à-dire de la plonger entièrement dans une "boîte de solvant". Cette boîte de solvant, quelle que soit sa forme (cubique, parallélépipédique ou octaédrique tronquée) doit avoir une densité très proche de la valeur expérimentale du solvant. Pour cela, il est nécessaire que le nombre de molécules N de solvant soit calculé précisément suivant le volume désire de la boîte de solvant

$$N = \frac{N_0 \times d \times V}{M} \quad (3)$$

Avec N_0 : nombre d'Avogadro, d : densité du solvant, V : volume de la boîte de solvant et M : masse molaire du solvant.

Par exemple, dans le cas d'une boîte d'eau cubique de 50 Å d'arête, le nombre de molécules d'eau nécessaires pour avoir densité d'eau = 1.0 (conditions standard) est :

$$N = \frac{6,02 \cdot 10^{23} \times 1,0 \times (50 \cdot 10^{-9})^3}{18 \cdot 10^{-3}} \approx 4181 \text{ molécules d'eau} \quad (4)$$

Pour éviter non seulement que la densité du solvant au voisinage du soluté ne varie pas, mais aussi que la zone de solvant ne soit au contact direct du vide (effets de bord), des conditions périodiques aux limites sont imposées.

Le système soluté-solvant constitue la boîte primaire qui est reproduite sous forme d'images dans toutes les directions de l'espace pour un total de $[(3 \times 9) - 1] = 26$ images (figure6).

SOLVATATION

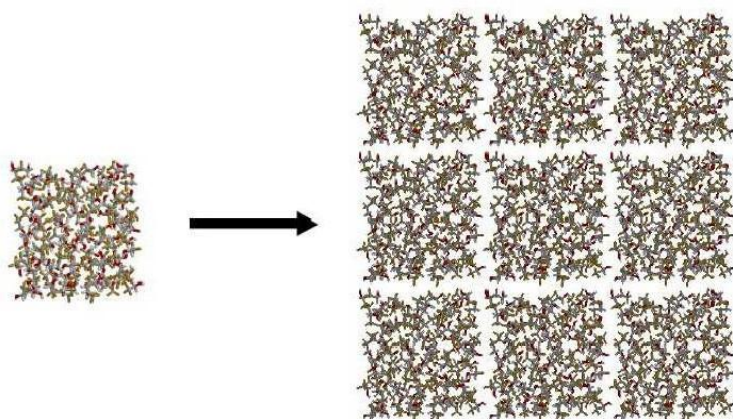


Figure 6 : système initial _ application des conditions périodiques aux limites

Il est à préciser que, puisque les molécules de solvant sont explicitement présentes, elles vont directement participer à l'évaluation de l'énergie du système et donc la constante diélectrique aura une valeur fixée à 1[23].

Un ligand peut se lier directement à un récepteur ou indirectement à travers des molécules d'eau positionnées entre le ligand et la protéine (figure 7).

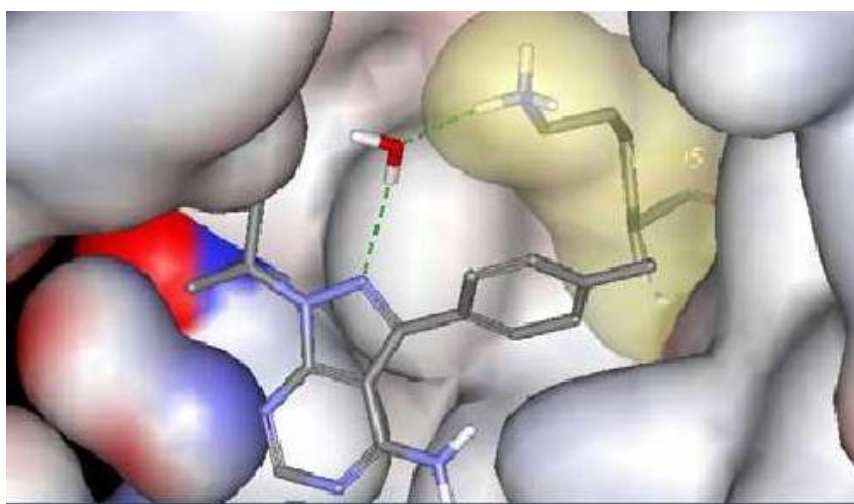


Figure 7 : Position du ligand dans le site actif

En ce qui concerne l'eau, la liaison hydrogène est donc une force intermoléculaire qui implique un atome d'hydrogène et un atome d'oxygène. L'eau joue un double rôle donneur et récepteur d'Hydrogène, la possibilité d'établir 4 liaisons hydrogène par molécule d'eau rend puissante cette liaison intermoléculaire. C'est donc la liaison hydrogène qui rend compte des anomalies de l'eau en expliquant la force de sa cohésion intermoléculaire. La portée de cette liaison peut s'étendre à de grandes distances d'interaction et, dans les milieux condensés (liquide et solide), s'appliquer à tout le milieu.

Références

- [1] Moore, J.W., Stanitski, C.L. & Wood J.L. "The chemical world : Concepts and applications". (2nd ed.) USA: Harcourt Brace & Company. 1998.
- [2] Yves GAUTIER, Pierre SOUCHAY. « Rôle de solvant », p4, 2004.
- [3] Jacques METZGER « Chimie des solutions» page : 130-132, 2004
- [4] Nič, M, Jiráť, J, Košata, B, Jenkins, A, & McNaught, A, eds." IUPAC Compendium of Chemical Terminology " : Gold Book. (IUPAC, Research Triangle Park, NC), 2.1.0 edition,2009.
- [5] Daniel Borgis « Une théorie de la fonctionnelle de la densité moléculaire pour la solvation dans l'eau, Thèse doctorat; *Pôle de Physicochimie Théorique UMR 8640 PASTEUR et dans l' ED 388* ;16 Juillet 2014.
- [6] Cramer, CJ; Truhlar, DG, "modèles de solvation pour les énergies libres en solution aqueuse", *Chem. Rev*, 99, 216, 1999.
- [7] M. P. Allen ET D. J. Tidesley. "In Computer Simulations of Liquids". *Oxford University Press*, New-York, 1987.
- [8] Bashford, D. and Case, D. A. "Generalized born models of macromolecular solvation effects". *Annu Rev Phys Chem* 51: 129-130, 2000.
- [9] Im W, Feig M, Brooks CL. "An implicit membrane generalized born theory for the study of structure, stability, and interactions of membrane proteins". *Biophys. J*. 85, November 2003.
- [10] Zhou R. "Free energy landscape of protein folding in water : explicit vs. implicit solvent". *Proteins* 53 (2): 148–61, November 2003
- [11] A. R. Leach. In Longman, "Molecular Modelling. Principles And Applications » *.Singapore*, 1996.
- [12] Nathalie BASDEVANT -CAPITAINE, Un Modèle de Solvation Semi-Implicite pour la Simulation des Macromolécules Biologiques ; *Thèse de doctorat, université d'evry- val-d'essonne*, p56, 2003
- [13] B. Roux, T. Simonson. « Implicit solvent models » *Biophys. Chem.*, 78:1–20,1999.
- [14] B. Honig, K.Sharp, & A. Yang. "Macroscopic models of aqueous solutions : biological and chemical applications"*J. Phys. Chem.*, 97:1101–1109, 1993.
- [15] T. Simonson. "Electrostatics and dynamics of proteins"*Rep. Prog. Phys.*, 66:737–787, 2003.
- [16] F. Fologari, G. Esposito, P. Viglino, H. Molinari. *J. Comput. Chem.*, 22:1830– 1842; 2001.
- [17] Colonna-Cesari, F. and Sander, C. "Excluded volume approximation to protein- solvent interaction". *Biophys J* 57(5):1103, 1990.
- [18] D. Frenkel , B. Smit." In Understanding Molecular Simulation". *Academic Press*, 1996.
- [19] C. J. F. Bottcher. "In Theory of Electric Polarization". *Elsevier Press*, Amsterdam, 1973.

SOLVATATION

- [20] M. W. Mahoney , W. L. Jorgensen. “A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions “*J. Chem. Phys.*, 112:8910–8922;2000.
- [21] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, & M. L. Klein. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water *J.Chem.Phys*,79 :926– 935, 1983.
- [22] H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, & T. P. Straatsma. “The Missing Term in Effective Pair Potentials” *J. Phys. Chem.*, 91 :6269–6271,1987.
- [23] Eisenberg, D. and McLachlan, A. D. “Solvation energy in protein folding and binding”. *Nature* 319(6050): 199-202,1986.

CHAPITRE 03

HYPERTENSION ARTERIELLE (HTA)

HYPERTENSION ARTERIELLE

La définition de l'hypertension artérielle (HTA) est un compromis entre les études d'observation indiquant que le risque cardio-vasculaire croît avec le niveau de la pression artérielle et les essais d'intervention qui ont montré la réversibilité partielle de ce risque sous traitement antihypertenseur.

La pression artérielle normale de l'adulte est arbitrairement définie comme une pression systolique égale ou inférieure à 140 mm Hg et une pression diastolique inférieure ou égale à 90 mm Hg. En fait, il faut plus considérer l'HTA comme un facteur de risque cardio-vasculaire.

La définition et les seuils décisionnels utilisés sont orientés vers un objectif pratique : réduire l'incidence des maladies cardio-vasculaires, telles que :

- L'accident Vasculaire Cérébral,
- La Maladie Coronaire,
- L'insuffisance Cardiaque,
- L'insuffisance Rénale

En tenant compte de la pression artérielle habituelle et aussi celui des facteurs de risque vasculaire associés comme :

- Le tabagisme,
- La sédentarité,
- Les dyslipidémies.
- Le diabète [1].

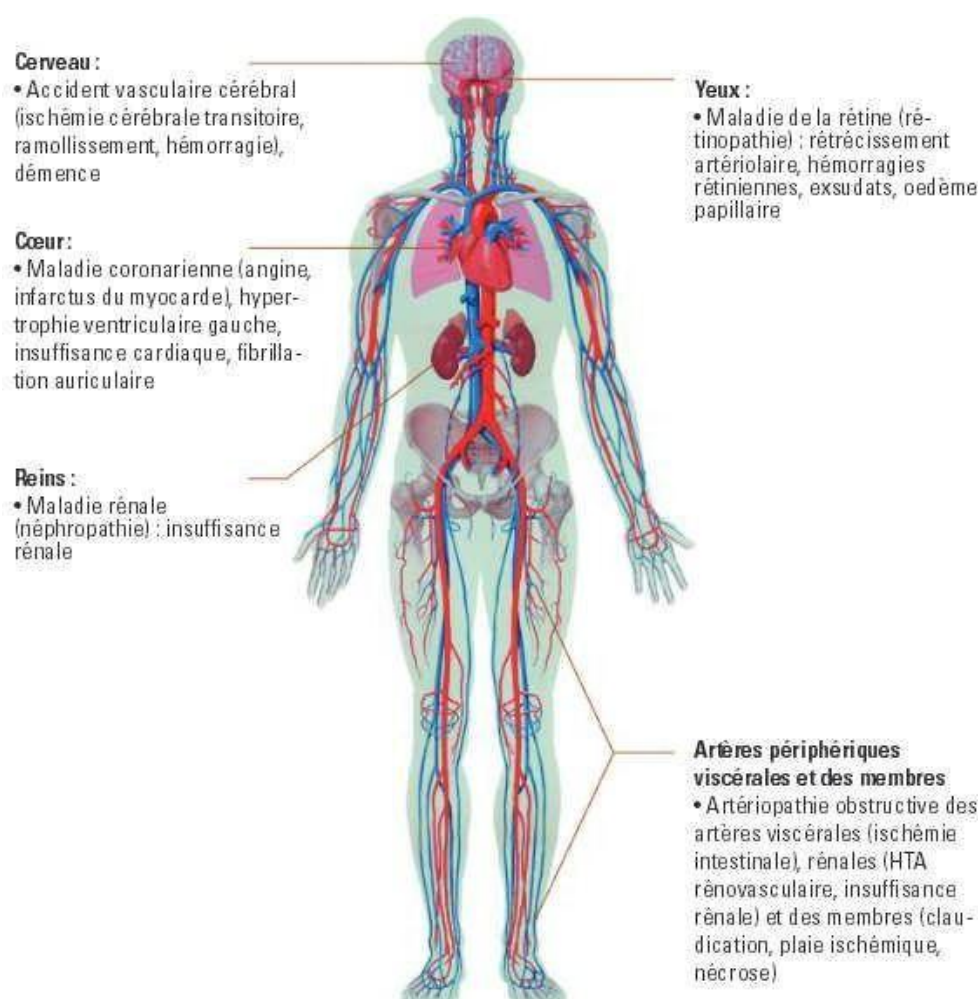


Figure 01 : Exemples d'atteinte d'organes cibles en présence d'hypertension artérielle [2]

1. La prévalence de la maladie hypertensive

1.1. En Algérie

Selon le dernier rapport de l'OMS (organisation mondiale de la santé), publié en 2011 près de 8 millions de décès par an soit 13% des décès annuels, sont liés aux complications de l'hypertension artérielle à échelle mondiale. En Algérie, 30 % des adultes souffrant de l'HTA. Un pourcentage de 60% est enregistré dans le sud algérien. L'HTA pose un problème de santé publique liés à divers origines (génétique, stress...). [3]

1.2. Au niveau mondial

Selon le journal scientifique « *The Lancet* », 972 millions d'individus souffrent d'HTA (le quart de la population mondiale adulte), dont 333 millions dans les pays développés et 639 millions dans les pays en voie de développement. En 2025, le nombre d'adultes HTA devrait croître de 60% pour atteindre un total d'un 1,56 million. L'HTA est donc considérée comme un défi majeur de santé publique au niveau mondial.

HYPERTENSION ARTERIELLE

La prévention, la détection, le traitement et le contrôle de ce phénomène doivent être pris en considération avec prudence [4].

La pression artérielle est répartie de façon continue dans la population et on peut distinguer deux sous populations :

- La première normale
- La deuxième hypertendue

2. Classification de l'hypertension

La pression artérielle a une distribution unimodale (Se dit d'une loi de probabilité, d'une distribution statistique à un seul mode) dans la population [5] et une relation continue avec le risque cardiovasculaire jusqu'à des valeurs de pression artérielle systolique (PAS) et pression artérielle diastolique (PAD) de 110- 115 mm Hg et 70-75 mm Hg respectivement [6,7]. Ce fait rend scientifiquement discutable le terme même « hypertension », et sa classification fondée sur des valeurs seuils est arbitraire. Néanmoins, changer cette terminologie universellement connue et admise peut générer une confusion dans les esprits, et l'usage de valeurs seuil simplifie l'approche diagnostique et thérapeutique dans la pratique quotidienne.

C'est pourquoi la classification de l'hypertension utilisée dans la recommandation 2003 de l'ESH/ESC a été maintenue avec les conditions suivantes :

Lorsque la PAS et la PAD d'un patient se situent dans des catégories différentes, c'est la catégorie la plus élevée qui doit conditionner la quantification du risque cardiovasculaire global, la décision d'un traitement et l'estimation de son efficacité.

- L'HTA systolique doit être hiérarchisée (grades 1, 2, 3) suivant les mêmes valeurs de PAS que celles utilisées pour l'hypertension diastolique. Cependant l'association à une valeur basse de la PAD (par exemple : 60-70 mm Hg) doit être considérée comme un élément de majoration du risque.
- Le seuil d'hypertension (et la nécessité d'un traitement médicamenteux) doit être considéré comme flexible, et fondé sur le niveau et le profil du risque cardiovasculaire. Par exemple, un certain niveau de pression artérielle peut être considéré trop élevé et nécessitant un traitement à un niveau de risque élevé, mais acceptable pour un risque plus bas.

HYPERTENSION ARTERIELLE

Tableau 1 : Classification de l'hypertension artérielle selon l'Organisation Mondiale de la Santé

CATÉGORIE	SYSTOLIQUE (mm Hg)		DIASTOLIQUE (mm Hg)
Optimale	< 120	et/ou	< 80
Normale	< 130	et/ou	< 85
Normale élevée	130-139	et/ou	85-89
Grade 1	140-159	et/ou	90-99
Grade 2	160-179	et/ou	100-109
Grade 3	≥ 180	et/ou	≥ 110
Hypertension systolique isolée	≥ 140	et	< 90

L'HTA systolique isolée doit être classée (1, 2, 3) selon la PAS dans les fourchettes indiquées, pourvu que la PAD soit < 90 mm Hg. Les grades 1, 2 et 3 correspondent à une HTA légère, modérée et sévère respectivement. Ces dénominations ne sont plus utilisées pour éviter toute confusion avec la quantification du risque cardiovasculaire global. [8]

3. Physiopathologie de l'HTA

La pression artérielle est le produit du débit cardiaque par les résistances artérielles systémiques. L'élément permanent de l'HTA est lié à une augmentation des résistances périphériques.

Les élévations passagères (par exemple à l'occasion d'un effort ou d'une émotion) sont liées à une augmentation du débit cardiaque.

Les causes de l'élévation des résistances périphériques sont certainement multiples et font intervenir des facteurs vasculaires, une stimulation sympathique, une stimulation du système rénine-angiotensine-aldostérone, une réduction de la masse néphrotique, un excès pondéral, des facteurs endocriniens ou alimentaires (l'HTA est pratiquement inconnue dans les populations qui consomment peu de sel). Le rein est un organe central dans la régulation de la pression artérielle.

Il est capable d'éliminer le sodium en excès, grâce à sa fonction endocrine (système rénine-angiotensine-aldostérone) et un rétrocontrôle pression-diurèse : toute élévation de la pression artérielle entraîne une augmentation du sodium excrété, d'où une réduction de la volémie, et le rétablissement

HYPERTENSION ARTERIELLE

d'une pression artérielle normale. Cette régulation possède un gain indéfini, c'est-à-dire une capacité de correction complète à long terme de toute anomalie de la pression artérielle. Inversement, si le rétro contrôle pression-diurèse est perturbé, une HTA apparaît sans être jamais compensée par les autres facteurs régulateurs.

Dans 95% des cas, l'HTA est essentielle, sans cause identifiée. Différents facteurs prédisposants peuvent intervenir :

- Le syndrome X lié à une résistance à l'insuline associée à un hyperinsulinisme, une surcharge pondérale, une HTA, une dyslipidémie, une intolérance au glucose, une hyper sympathicotomie, une surcharge de sodium dans le muscle -lisse vasculaire avec réactivité vasculaire augmentée.

- Chez les sujets de plus de 50 ans, l'augmentation de rigidité des gros troncs artériels intervient beaucoup, plus que la réduction de calibre des petites artères.

- L'augmentation de la pression pulsée aortique se caractérise par une élévation de la pression artérielle systolique (PAS) et une diminution de la pression artérielle diastolique (PAD). Les conséquences de l'HTA sont multiples :

- * L'hypertrophie ventriculaire gauche, responsable d'une altération de la fonction diastolique, une diminution de la pression de perfusion coronaire favorisant l'ischémie myocardique.

- * L'hypertrophie auriculaire gauche prédisposant à la fibrillation auriculaire.

- * L'artériolosclérose, une hypertrophie du média, pouvant aller jusqu'à la nécrose artériolaire et la mort du tissu en aval (par exemple nécrose glomérulaire en cas d'atteinte de l'artéiole pré glomérulaire, d'où insuffisance rénale) ;

- * Artériosclérose, touchant notamment les troncs supra-aortiques, les artères coronaires et celles des membres inférieurs.

Certains accidents paraissent nettement liés à l'HTA mais sont rares :

- ❖ Dissection aortique, accident vasculaire oculaire (thrombose de l'artère centrale de la rétine, hémorragie rétinienne importante, thrombose veineuse, un croisement artériel), avec souvent baisse importante de l'acuité visuelle.

- ❖ De nombreuses études épidémiologiques, notamment celle de Framingham ont montré une interrelation entre l'HTA et l'augmentation de nombreux accidents cardio-vasculaires : l'insuffisance coronaire sous toutes ses formes, l'insuffisance cardiaque,

HYPERTENSION ARTERIELLE

AVC (ischémique ou hémorragique), artériopathie des membres inférieurs, insuffisance rénale, mortalité cardio-vasculaire [9].

4. Facteurs de risqué

Dans 90 % des cas, l'hypertension est dite essentielle ou primaire, c'est-à-dire qu'elle est de cause inconnue, mais fortement reliée à l'hérédité ou à l'environnement. L'âge et le sexe sont des facteurs de risques considérables dans le développement de l'hypertension artérielle essentielle.

Il y a aussi des facteurs de risques reliés au mode de vie dont l'obésité, la consommation d'alcool, la consommation en sel, le tabagisme, le stress et le manque d'exercice physique.

Ces derniers facteurs ont la possibilité d'être modifiés par les personnes atteintes d'hypertension et pour donner suite à l'adoption d'un mode de vie sain, il en résulte une réduction de leur la pression artérielle (PA). De plus, il est important de savoir que les facteurs de risques tendent à être multiplicatifs plutôt qu'additifs. D'autre part, les autres cas d'hypertension sont dits secondaires et causés par une autre pathologie identifiable, comme des maladies rénales [10].

5. Diagnostique de l'hypertension artérielle

De nos jours, Il n'existe pas de seuil de pression artérielle individualisé au-delà duquel le risque cardiovasculaire (RCV) peut être considéré comme nul. Le rôle délétère de la pression artérielle diastolique (PAD) a été le premier mis en évidence mais c'est la pression artérielle systolique (PAS) qui a la signification pronostique la plus impactant. Quant à la pression pulsée (PAS-PAD) traduit une altération de la compliance (ou fonction d'amortissement) des gros vaisseaux.

L'HTA est également un composant permettant la détermination du RCV absolu [9] mais la PA est fréquemment mesurée en clinique, au cabinet du médecin, ce qui altère souvent sa signification pronostique [11].

Au niveau cardiaque, l'HTA favorise la formation de plaques athéromateuses au niveau des gros troncs coronariens, générant ainsi une authentique insuffisance coronarienne organique.

De même, elle contribue en collaboration avec divers facteurs neuro- hormonaux, à l'apparition d'une hypertrophie ventriculaire gauche associant hypertrophie myocytaire et expansion du tissu de soutien [12]. Les traitements antihypertenseurs ont un effet direct sur la morbidité et la mortalité ACV en réduisant nettement le taux de survenue des AVC (de 30 à 40% suivant les populations considérées) et des accidents coronariens (10 à 15%) [13]. Ainsi, l'haute autorité de santé [Prise en charge des patients adultes atteints d'HTA essentielle–Actualisation 2005] préconisait les objectifs tensionnels suivants :

- PAS/PAD < 140/90 mm Hg chez l'adulte d'âge moyen,
- PAS < 150 mm Hg chez le sujet âgé avec HTA systolique,

HYPERTENSION ARTERIELLE

- PAS/PAD < 140/80 mm Hg chez le diabétique de type 2,
- PAS/PAD < 130/85 mm Hg chez l'insuffisant rénal sans protéinurie,
- PAS/PAD < 125/75 mm Hg chez l'insuffisant rénal avec protéinurie > 1g/j.

6. Traitement non pharmacologique et pharmacologique de l'hypertension

6.1. Traitement non pharmacologique de l'hypertension

Hypertension, le terme médical pour l'hypertension artérielle, peut parfois être traitée sans médicaments sur ordonnance. Il y a des changements de style de vie qui peuvent être faits qui aident à diminuer la pression artérielle. Même si une voie strictement naturelle ne doit être recherchée avec la supervision d'un médecin, traitements non pharmacologiques de l'hypertension ont été couronnés de succès pour de nombreuses personnes [14].

A. Repas équilibrés

Bien que tout le monde doive adhérer à un régime alimentaire sain, ceux souffrant d'hypertension devraient accorder une attention particulière aux aliments qu'ils consomment. Des aliments entiers non transformés qui sont faibles en gras sont les plus sains, les patients devraient essayer d'éviter la restauration rapide, autant que possible.

Aliments spécifiques qui ont été montrés pour réduire les niveaux de pression artérielle incluent les grains entiers, des fruits frais, des légumes frais et des poissons. Il est également important de consommer la quantité quotidienne recommandée de potassium.

B. Réduire la consommation de sodium

Un régime alimentaire qui est riche en sodium peut grandement contribuer à l'hypertension artérielle. « The National Institutes of Health » a publié un communiqué en 1998 sur « le sodium et l'hypertension artérielle ». Ce communiqué stipule que les personnes « ne devraient pas consommer plus de 2400 mg de sodium par jour.

C. Exercice régulièrement

L'activité physique améliore la santé globale du patient, en particulier le système cardio-vasculaire. Quand le cœur est sain et fort, il peut pomper le sang avec facilité. Cela allège la pression sur les artères et abaisse la pression artérielle naturellement.

D. Arrêter de fumer /Boire

Le tabac et la consommation excessive d'alcool augmentent considérablement le risque d'accident vasculaire cérébral et de crise cardiaque.

E. Gérer le stress

Les effets à long terme du stress sur l'hypertension ne sont pas clairs, mais il est connu que le stress peut provoquer des pics temporaires de la pression artérielle. [15].

6.2. Traitement pharmacologique de l'hypertension

De nombreuses substances sont utilisées dans le traitement de l'hypertension. Certaines agissent directement sur les hormones de l'organisme qui régulent la tension artérielle, d'autres rendent les parois des artères plus souples, d'autres encore permettent d'éliminer le surplus de sel et d'eau que contient l'organisme, d'autres enfin tendent à faire diminuer la pression dans les artères. Comme leur mode d'action est différent, ces médicaments peuvent être associés pour avoir un effet plus important [12].

6.2.1. Médicaments utilisés pour traiter l'hypertension artérielle

Six classes de médicaments, dits antihypertenseurs, sont utilisées pour le traitement de l'hypertension.

A. Diurétiques (thiazidiques)

Sont les médicaments les plus anciens utilisés contre l'hypertension.

Ils favorisent l'élimination d'eau et de sel par les reins, diminuant de ce fait le volume de liquide qui circule dans les artères et abaissant la pression qui s'exerce sur leur paroi. Certains d'entre eux sont responsables d'une baisse du taux de potassium dans le sang qui doit être surveillé.

En 2014, la *Revue Prescrire* estimait que chez les personnes non diabétique et sans atteinte cardiovasculaire ni rénale, les diurétiques thiazidiques demeuraient le traitement de premier choix de l'hypertension artérielle.

B. Bêta-bloquants

Les bêta-bloquants entraînent un ralentissement de la fréquence cardiaque et une diminution de la force de contraction du cœur.

Ils bloquent l'action d'hormones telles que l'adrénaline en prenant la place de ces dernières sur les récepteurs mais provoquent moins de réaction de la part du récepteur.

Les bêtabloquants sont généralement prescrits aux personnes hypertendues ayant déjà subi un infarctus du myocarde, souffrant d'angine de poitrine ou dont la fréquence cardiaque de repos est rapide. Des effets secondaires le plus fréquemment rencontrés sont des troubles digestifs, une fatigue, une sensation de pieds et de mains froids, un ralentissement du rythme cardiaque, des troubles du sommeil et des troubles de l'érection.

HYPERTENSION ARTERIELLE

C. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) bloquent la production de l'angiotensine, une hormone produite par les reins, qui favorise la contraction des vaisseaux.

Les IEC sont utilisées chez des personnes hypertendues qui présentent également des troubles cardiaques.

D. Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA2, ARAII ou sartans)

Les antagonistes de l'angiotensine II (ARA2) s'opposent à l'action de l'angiotensine qui favorise la contraction des vaisseaux.

Une évaluation médico-économique de la HAS (*Haute autorité française de santé*) rendue publique en mai 2013 concluait que le coût deux fois plus élevé des ARAII comparativement à d'autres classes de médicaments antihypertenseurs n'est pas justifié au regard des bénéfices cliniques supplémentaires qu'ils apportent. Il s'agit pourtant de la classe la plus prescrite (38 % des prescriptions). La HAS préconisait de considérer plutôt les diurétiques, les IEC et les inhibiteurs calciques (ICa) en instauration de traitement.

E. Antagonistes du calcium (inhibiteurs calciques)

Les antagonistes du calcium, ou inhibiteurs calciques, freinent l'entrée du calcium dans les muscles responsables de la contraction des artères. Ils entraînent ainsi la baisse de la tension artérielle par relâchement des artères. Ils sont également utilisés pour traiter l'angine de poitrine.

F. Inhibiteurs de la rénine (aliskirène)

Les inhibiteurs de la rénine bloquent l'action de la rénine, une enzyme produite par les reins, qui intervient dans la régulation de la pression artérielle. Actuellement, seul un inhibiteur de la rénine, l'aliskirène, est commercialisé. Il peut être utilisé seul ou en association avec d'autres antihypertenseurs [16].

7. Enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs d'une très grande efficacité. Ce sont des protéines fabriquées par l'organisme qui permettent l'activation ou l'accélération de réactions chimiques. Ces enzymes jouent un rôle dans toutes les fonctions.

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 lieu la transformation du substrat) permettant de transformer le substrat grâce à des acides aminés qui interagissent avec le substrat.

A. Site actif

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.

L'interaction entre une protéine, et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu :

- L'affinité entre deux molécules.
- Les distances entre les acides aminés de site actif de l'enzyme et ceux des inhibiteurs.
- Energies d'interaction.

De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires, regroupées sous le nom " d'amarrage" ou "docking" moléculaire ont été développées.

La flexibilité des molécules biologiques résulte de la haute dimensionnalité des systèmes, mais aussi de l'intervention d'un grand nombre d'interactions faibles (Van Der Waals, liaisons hydrogène, effet hydrophobe, ...). On sait aujourd'hui qu'elle fait partie intégrante de la dynamique des macromolécules et de leur bon fonctionnement.

La négliger dans les calculs introduit des erreurs, il convient donc de déterminer la flexibilité intrinsèque d'une molécule mais aussi de pouvoir l'introduire, au moins partiellement, dans une procédure de Docking moléculaire [17- 18].

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'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [19].

HYPERTENSION ARTERIELLE

Parmi tous les enzymes trouvés de l'hypertension, on a choisi quatre enzymes pour réaliser cette thèse (le Minéralocorticoïde : **2AA2**, et **3VHU**, et le 11 β – hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 : **11 β -HSD1** :**3HFG** et **4YYZ**)

B. Récepteur minéralocorticoïde (RM)

Le RM est une protéine de la superfamille des récepteurs nucléaires, famille des récepteurs stéroïdes, liant l'aldostérone. Il est codé par un seul gène *NR3C2* (sous famille 3 des récepteurs nucléaires, groupe C, membre 2), situé sur le chromosome 4 chez l'Homme, sur le chromosome 19 chez le rat et sur le chromosome 8 chez la souris.

Le gène *NR3C2* s'étend sur plus de 400 kb et est composé de 10 **exons** et de 8 **introns**.

Les deux premiers exons (1 α et 1 β) ne sont pas codants. Les 8 autres exons (E2 à E9) codent pour une protéine de 984 acides aminés d'une masse moléculaire de 107 kDa [20].

C. 11 β –hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11 β -HSD1)

La 11 β -HSD appartient à la superfamille des déshydrogénases d'alcool à chaîne courte. Deux isoformes ont été caractérisées. Le gène de l'isoforme de type 1, d'une taille de 30 kb, est localisé sur le chromosome 1 en q32.2, comporte six exons et code pour une protéine de 34 kDa.

L'enzyme est présente dans le réticulum endoplasmique et son activité est dépendante de la NADP(H) (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate déshydrogénase). La 11 β -HSD-1 est bidirectionnelle et exerce une activité de type déshydrogénase (convertissant le cortisol en cortisone, qui est inactive) et de type réductase (convertissant la cortisone en cortisol). On admet classiquement qu'*in vivo*, c'est l'activité réductase qui prédomine, cependant, cette notion a été récemment controversée. La 11 β -HSD-1 est présente dans de nombreux tissus de l'organisme (foie, poumon, tissu adipeux, gonades, os, œil, muscle lisse vasculaire, peau et système nerveux central).

Au niveau hépatique, la 11 β -HSD-1, en conjonction avec la 5 α - réductase, participe au métabolisme des glucocorticoïdes, modulant ainsi les concentrations circulantes de cortisol. Dans les autres tissus cibles, la 11 β -HSD-1 va moduler localement l'exposition aux glucocorticoïdes en réglant la conversion locale de cortisone et donc les concentrations intracellulaires de cortisol [21].

8. Les inhibiteurs de 11 β –hydroxystéroïde déshydrogénase

Dérivés des triazoles

EN 1881 Luigi Brugnatelli a isolé pour la première fois le composé hétérocyclique alloxan (2, 4, 5,6-pyrimidinetetrone [22], une branche très importante de la chimie organique qui représente près d'un tiers des publications modernes. En fait, deux tiers des composés organiques sont des composés hétérocycliques. L'azote, l'oxygène et le soufre sont les hétéroatomes communs, mais les cycles hétérocycliques contenant d'autres hétéroatomes sont également largement connus [23]

HYPERTENSION ARTERIELLE

En 1885, Bladin a été le premier scientifique à donner le nom de triazole au système cyclique carbonnitrogène[24] . Le triazole, également connu sous le nom de pyrrodiazole, existe sous deux isomères (formes tautomère) et ils sont considérés comme des nucléus importants sur le plan pharmacologique [25] :

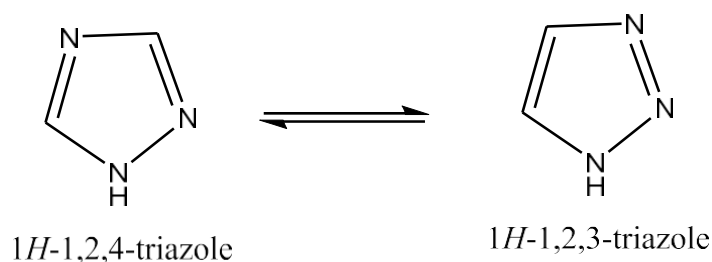


Figure 2 : dérivés de triazoles

La synthèse de 1, 2,4-triazoles fusionnés à un autre noyau hétérocyclique a attiré une grande attention en raison de leurs diverses applications comme antiviraux, antitumoraux, anti-inflammatoires, pesticides, herbicides, colorants, lubrifiants et réactifs analytiques [26].

9. Les inhibiteurs du Récepteur minéralocorticoïde

A. Spironolactone

La spironolactone est également indiquée pour soigner ou prévenir une hypokaliémie (trop peu de potassium dans le corps) quand d'autres méthodes thérapeutiques ne conviennent pas. La spironolactone agit en aidant le corps à éliminer l'excès d'eau et de sel, mais elle réduit la perte de potassium du corps [27].

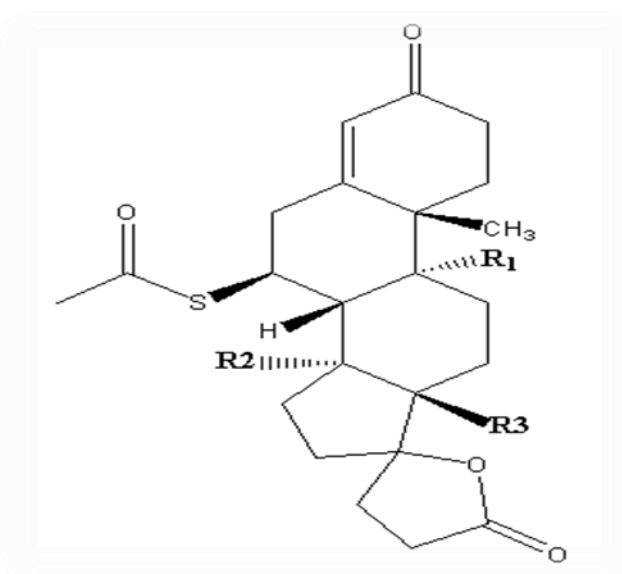


Figure 03 : Structure de la Spironolactone

HYPERTENSION ARTERIELLE

La spironolactone peut être associée à un bloqueur du système rénine-angiotensine sans risque d'hyperkaliémie aussi longtemps que la fonction rénale est normale [28].

B. Aldostérone

Pendant de nombreuses années, l'aldostérone a été considérée comme une hormone dont la seule activité était de régler l'excrétion de sel dans les tissus épithéliaux, en premier lieu dans le tube distal du rein. Aujourd'hui, de nombreuses études expérimentales ont révélé de nouvelles propriétés de l'aldostérone en particulier au niveau cardiovasculaire.

Ce regard nouveau sur le rôle physiopathologique de l'aldostérone a abouti à l'étude RALES (Randomized Aldactone Evaluation Study) qui a démontré l'intérêt clinique du blocage sélectif des récepteurs minéralocorticoïdes dans le traitement de l'insuffisance cardiaque sévère.

La spironolactone et les médicaments interférant avec l'activité de l'aldostérone ont aussi trouvé une nouvelle place dans le traitement de l'hypertension artérielle car il semble que l'hyperaldostéronisme primaire est plus fréquent que prévu et qu'il ne s'accompagne pas toujours d'une hypokaliémie [29].

L'aldostérone est un stéroïde qui contrôle l'équilibre hydrominéral en agissant sur la rétention du sodium, d'où son importance dans la régulation de la tension artérielle.

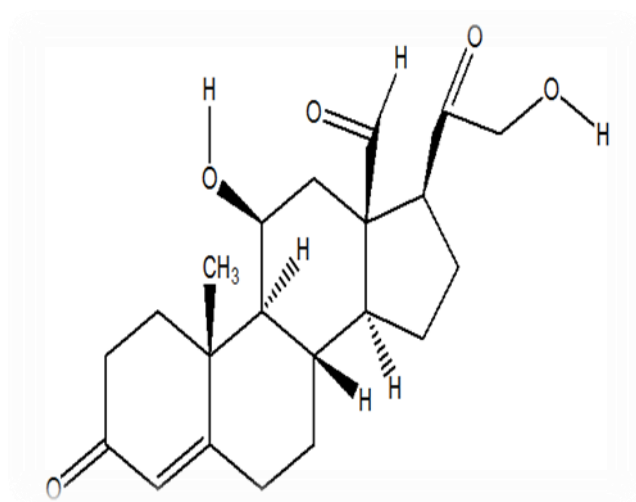


Figure 4 : Structure d'aldostérone.

Dès 1934, Wintersteiner démontrait que l'animal, privé de surrénales, pouvait être maintenu en vie à l'aide d'une fraction amorphe extraite de la partie corticale de ces glandes.

En 1953, Wettstein et Reichstein ont isolé, à partir de cette fraction, une substance hormonale comportant une fonction aldéhyde et ils lui ont donné le nom d'aldostérone. Wettstein en a réalisé la synthèse en 1955.

Références

- [1] Mr : Nouhoum ouologuem « place de l'hypertension artérielle dans la pathologie cardiovasculaire dans le district de bamako en 2002 » ; Thèse doctorat ; Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie, université de Bamako Mali ; p12; 2005.
- [2] Cloutier L, Poirier L. éd. « Prise en charge systématisée des personnes atteintes d'hypertension artérielle », Société québécoise d'hypertension artérielle, Montréal, Canada p16, 2011.
- [3] Pr. Djamaledine Nibouche « En Algérie, un quart de la population hypertendue n'est pas équilibrée ; ce qui l'expose aux mêmes complications que les sujets hypertendus, non traités » Santé-MAG ; N°14 - Janvier 2013.
- [4] Said El Shamieh, « régulation génétique de la pression artérielle - une approche de génomique moléculaire relevant l'implication de l'inflammation de faible niveau », Thèse de doctorat, université de lorraine p24, 2012.
- [5] Pickering G. "The nature of essential hypertension". J& A. Churchill Ltd; 1- 151.RV ; London1961.
- [6] Mac Mahon S, PetoR, CutlerJ, Collins R, Sorlie P,Neaton J,Abbott R, Godwin J, Dyer A,Stamler J. "Blood pressure, stroke,and coronary heart disease.Part 1, prolonge differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias". Lancet. 31;335(8692):765-774 ;1990.
- [7] Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual- blood pressure to vascul armortality: ameta-analysis of individual data for one million adults in 61prospectivestudies.; 360: 1903- 1913.MA. Lancet 2002.
- [8] Marie-eve rancourt « mécanismes de l'hypertension artérielle causée par le traitement à l'érythropoïétine : rôle du stress oxydatif, universite laval » ; Thèse de doctorat en medecine experimentale université laval québec canada, 2008.
- [9] Denis Drouin m.d.et Alain Milot m.d., M.Sc. « GuideThérapeutique de la Société québécoise d'hypertension artérielle », La Société québécoise d'hypertension artérielle, ISBN 2-9806257-1-X ;Deuxième édition, janvier 2002.
- [10] Celletti, F. L., J. M. Waugh, P. G. Amabile, A. Brendolan, P. R. Hilfiker, and M. D. Dake. "Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression". Nat Med 7: 425-429,2001.
- [11] Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Vander Hoorn S, Murray CJ, "Comparative Risk Assessment Collaborating Group. Selected major risk factors and global and regional burden of disease". Lancet; 360:1347-1360.RV,2002.

HYPERTENSION ARTERIELLE

- [12] NPES : Guides nutrition pour tous. "La santé vient en mangeant" et "La santé vient en bougeant". Documents élaborés dans le cadre du Plan national nutrition-santé 2001.
- [13] HAS : Surpoids et obésité de l'adulte : prise en charge médicale de premier recours- Recommandations. Septembre 2011.
- [14] Jacques Amar, Athanase Benetos, Jacques Blacher (rédacteur), Guillaume Bobrie, Bernard Chamontin, Xavier Girerd, Jean-Michel Halimi, Daniel Herpin, Claire Mounier-Vehier, Jean-Jacques Mourad, Jean Ribstein, Bruno Schnebert, Bernard Vaisse Recommandation. Mesures de la pression artérielle pour le diagnostic et le suivi du patient hypertendu. Société française d'hypertension artérielle (SFHTA). Paris ; 2011.
- [15] National Health Service (NHS). High blood pressure (hypertension). Site internet : NHS choices. Londres ; 2014.
- [16] Carlson H.A, Mc Common J.A. "Accommodating protein flexibility in computational drug design". *Pharmacology*; 57: 213-218, 2000.
- [17] Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group Relationship between baseline risk factors and coronary heartdisease and total mortality in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group*; 15:254–273. *OS. PrevMed* 1986.
- [18] Teague S.J. "Implications of protein flexibility for drug discovery". *Nature rev. drug Discov*; 2: 527-541, 2003.
- [19] Grosdidier A. « Conception d'un logiciel de Docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. p 90, 2007.
- [20] Cat-Tuong, Aurélie NGUYEN DINH CAT « Roles physiopathologiques des récepteurs Corticostéroïdes des dans le rein et dans l'endothélium Vasculaire : apports des modèles conditionnels transgéniques », Thèse de doctorat. universite pierre et marie curie; 2013.
- [21] Odile Paulmyer-Lacroix¹, Sandrine Boullu-Ciocca^{2,3}, Charles Oliver^{2,3}, Anne Dutour^{2,3} et Michel Grino^{1*} « Glucocorticoïdes, 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 et obésité viscérale», *Med Sci (Paris)*.; 19(4): 473–476. doi: 10.1051/medsci/2003194473. April 2003.
- [22] Guzeldemirci NU and Kucukbasmaci O: Synthesis and antimicrobial activity evaluation of new 1,2,4-triazoles and 1,3,4-thiadiazoles bearing imidazo[2,1-b]thiazole moiety. *Eur J Med Chem*, 2010; 4:63-68.2
- [23]. Alaraji YH, Shneine JK and Ahmed ANAA: Synthesis, characterization, and antibacterial activity of new schiff's bases with 1,2,4-triazole moiety. *Journal of Science* 2015; 5(5):293-299.3

HYPERTENSION ARTERIELLE

- [24] Abdulrasool MMandJawad AH:Synthesis, characterization and evaluation of biological activity of new heterocyclic compounds containing 1,2,4-triazoleand 1,3,4-thiadiazole rings. Int. J. App. Sci.Tech2012; 2(10):155-16
- [25] Parminder Kaur*, Rajwant Kaur, Manish Goswami, " A REVIEW ON METHODS OF SYNTHESIS OF 1,2,4-TRIAZOLE DERIVATIVES". Int. Res. J. Pharm. 2018, 9 (7)
- [26] K. T. Potts, "The chemistry of 1,2,4-triazoles,"Chemical Reviews,vol. 61, no. 2, pp. 87–127, 1961.
- [27] <https://ressourcessante.salutbonjour.ca/drug/getdrug/aldactone> (consulté le 12/07/2020).
- [28] B. Waeber Hypertension artérielle. La spironolactone : une arme à ne pas oublier en cas d'hypertension réfractaire Rev Med Suisse ; volume 0. 23474. 2004.
- [29] M. Burnier . « La renaissance de l'aldostérone et de ses antagonistes. Rev Med Suisse ; volume - 2. 22290 ; 2002

CHAPITRE 04

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

L'étude du Docking moléculaire est une étape capitale dans la compréhension des réactions biologiques et dans la conception de médicaments. Les tentatives de Docking moléculaire ont longtemps été basées sur le concept *clé-serrure* [1].

Tous les programmes de "Docking moléculaire" 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 scoring. Cette dernière 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.

Cependant, parmi les forces mises 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 aux groupements polaires dans les macromolécules biologiques.

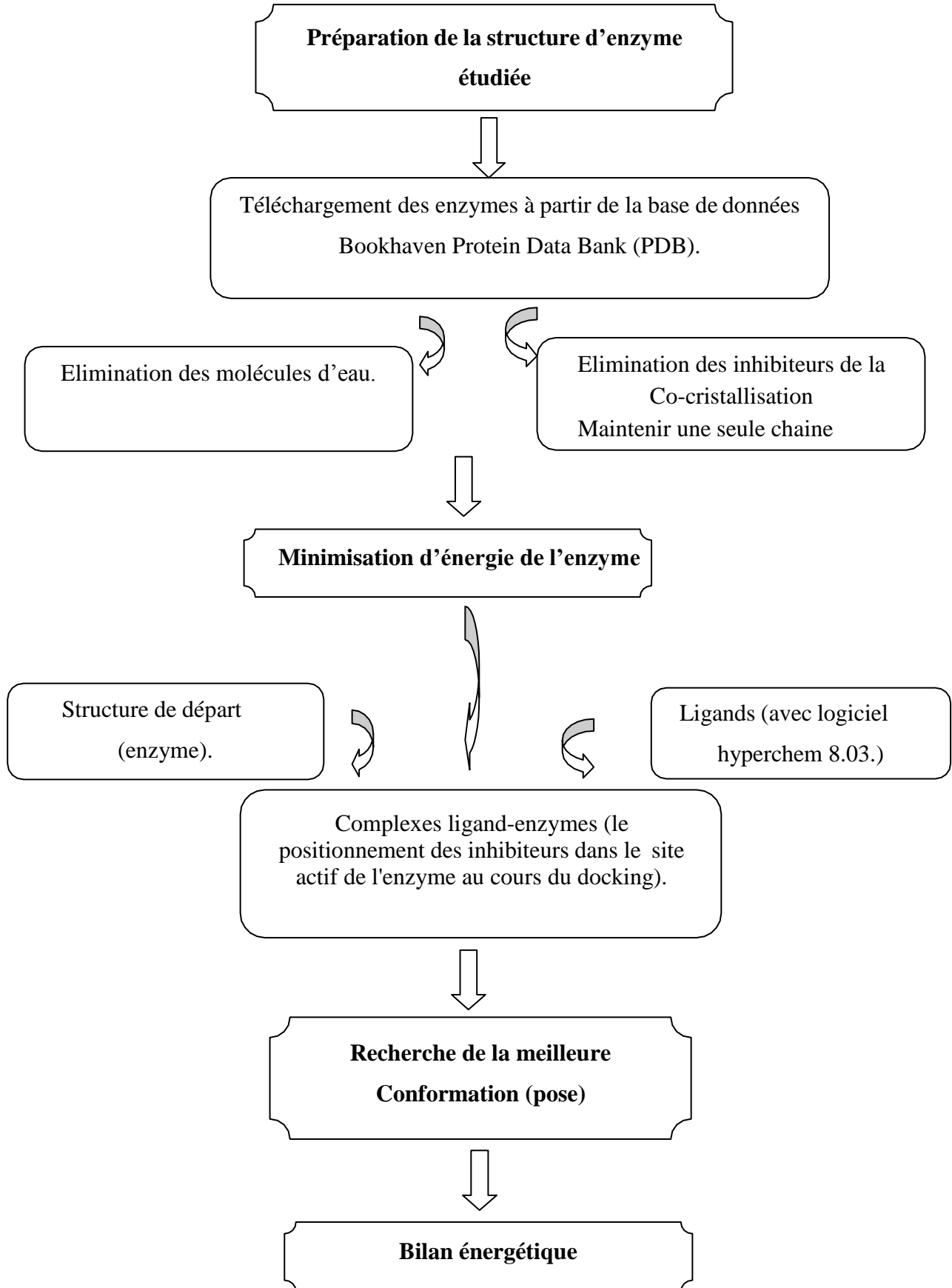
Le premier objectif de ce travail est d'évaluer les programmes disponibles pour effectuer un Docking moléculaire entre une enzyme et des divers ligands [1].

Ce travail consiste à étudier les interactions entre les différents inhibiteurs et divers enzymes dans un milieu solvaté et non solvaté par les méthodes de la modélisation moléculaire [2].

Dans ce chapitre nous avons rassemblé tous les résultats de calcul effectués dans ces quatre études et la discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interaction, les distances entre certains groupements de la chaîne latérale du site actif de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Protocole générale



2. Logiciels retenus

2.1. MOE (2014) [3]

MOE (Molecular Operating Environment) est un ensemble de plusieurs logiciels destinés à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir la meilleure conformation de ces molécules. Il permet également de dock plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. Ce logiciel présente une forme de docking flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand primitif.

2.2. UCSF Chiméra [4]

Les études de Docking moléculaire ont été réalisées avec UCSF Chiméra qui est un programme extensible pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires et les données connexes y compris des cartes de densité, des alignements de séquences, les résultats obtenus et de dynamique moléculaire [4], interactive pour obtenir l'affinité et mode de liaison des inhibiteurs du site actif de l'enzyme.

L'optimisation de la géométrie de cette dernière a été réalisée en utilisant le champ de force AMBERff03.r1 [5] et par des calculs d'énergie par Auto Dock Vina implémenté dans le logiciel UCSF Chiméra (www.cgl.ucsf.edu/chimera) [6]. Auto Dock Vina, un nouveau programme pour le Docking moléculaire et criblage virtuel permet l'exécution des calculs ligand-récepteur à l'aide Auto Dock Vina en utilisant 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 [7] et un programme de simulation d'amarrage de ligand flexible sur un récepteur rigide.

2.3. Hyperchem 8.0.3 [8]

Hyperchem 8.0.3 est un logiciel de modélisation moléculaire développé par Auto Desk et distribué par hypercube, (Ontario, Canada). C'est un logiciel connu pour sa qualité sa facilité d'usage, unissant l'animation et la visualisation 3D, Hyperchem peut faire des calculs de mécanique, de dynamique moléculaire et même des calculs quantiques.

2.4. Rasmol [9]

Le logiciel **RASMOL** fonctionne sous Windows, il est exploitable à partir d'un ensemble de deux fenêtres :

RESULTATS ET DISCUSSION

- La première fenêtre donnant l'accès à des macros commandes (menu) et à l'affichage de l'image.
 - La deuxième fenêtre on récupère des informations (séquence, position, distance ...) et on signifie les instructions en utilisant un langage simple de commande.
 - Il ouvre des fichiers de molécules assez volumineuses (plus) de 1000 atomes).
 - Il comporte des fonctions d'affichage des informations (nom des molécules, sa séquence par chaîne, ses structures) qui sont lues dans le fichier PDB.
 - Il permet d'avoir différents modes de visualisation du modèle moléculaire : sphère, bâtonnets.
- Quatre études ont été effectuées dans le cadre de cette thèse :

❖ *Etude de l'interaction récepteur de minéralocorticoïde (MR) et similaire de spironolactone en milieu solvato par docking moléculaire.*

❖ *Etude de l'interaction de l'enzyme " minéralocorticoïde "et de ses inhibiteurs" aldostérone et phosphoramidate AMP et leurs similaires ", en milieu solvato et non solvato*

❖ *Le docking moléculaire de 11 β -HSD1 avec ses inhibiteurs (les dérivés de 1, 2,4 triazole) dans un milieu solvato*

❖ *Criblage Virtuel des Inhibiteurs Triazoles de l'Enzyme 11 β - Hydroxystéroïde Deshydrogénase en utilisant ADME, Docking Moléculaire et Dynamique Moléculaire.*

3. Méthodologie de calculs

3.1. Préparation du récepteur

Le téléchargement des trois enzymes a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb).

Tableau 01 : Propriétés des récepteurs

Nom	Code d'accès	Inhibiteurs	Nombre de Résidus	Nombre d'Atomes
(MR)	3VHU	Spironolactone (C ₂₄ H ₃₂ O ₄ S)	249	2043
(MR)	2AA2	Aldosterone (C ₂₁ H ₂₈ O ₅)	252	2020
(11 β -HSD1)	4YYZ	Nadp nicotinamide-adenine_dinucleotide phosphate (C ₂₁ H ₂₈ N ₇ O ₁₇ P ₃)	517	3960

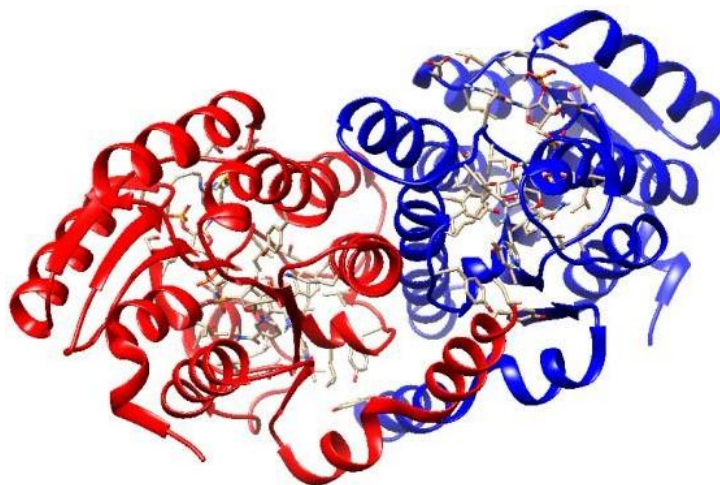


Figure 02 : Structure de l'enzyme 4YYZ

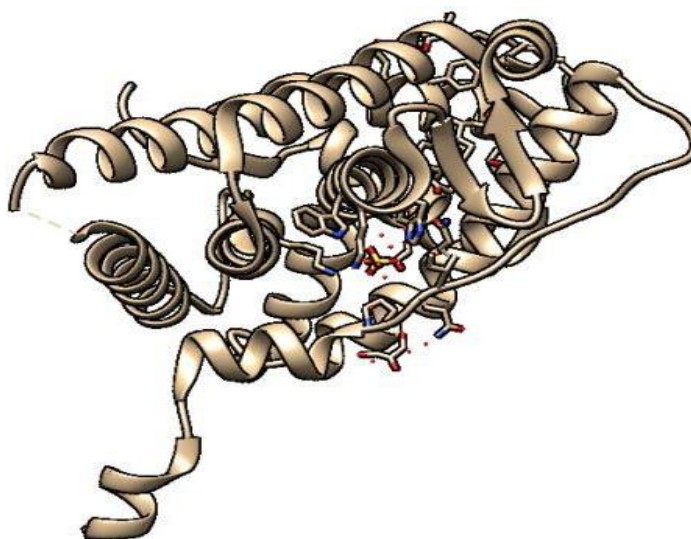


Figure 03 : Structure de l'enzyme 2AA2

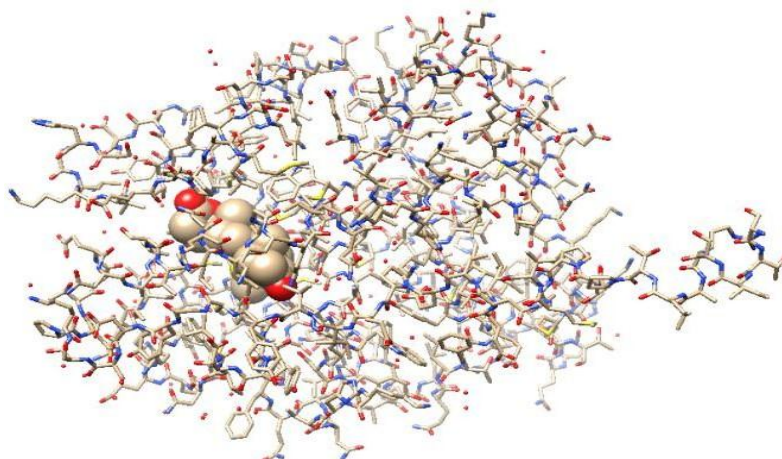


Figure 04 : Structure de l'enzyme 3VHU

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 02 : Données cristallographiques des enzymes

Enzyme	Classification	Poids moléculaire (KDa)	Nombre de Chaîne	Résolution (Å)
(MR) (code d'accès : 3VHU)	Transcription/ Inhibiteur	34423.09	A	2.11
(MR) (code d'accès : 2AA2)	Transcription	32543.84	A	1.95
(11 β -HSD1) (code d'accès : 4YYZ)	Oxidoreductase	58935.63	A, B	3.2

Avec la réduction de l'effet de la modélisation moléculaire, nous avons simplifié les trois modèles des enzymes et on a retenu seulement un monomère pour **MR** (code d'accès : 3VHU) [10] (Figure 5), un monomère pour **MR** (code d'accès : 2AA2) [11] (Figure 6), et dimères pour (**11 β -HSD1**) (code d'accès : 4YYZ) [12] (Figure 7).

La protéine a été préparée pour le Docking moléculaire en utilisant (MOE, Chiméra) en ajoutant tous les atomes d'hydrogènes en utilisant des procédures standard. Les molécules d'eau et d'autres hétéroatomes de Co-cristallisation ont été supprimées.

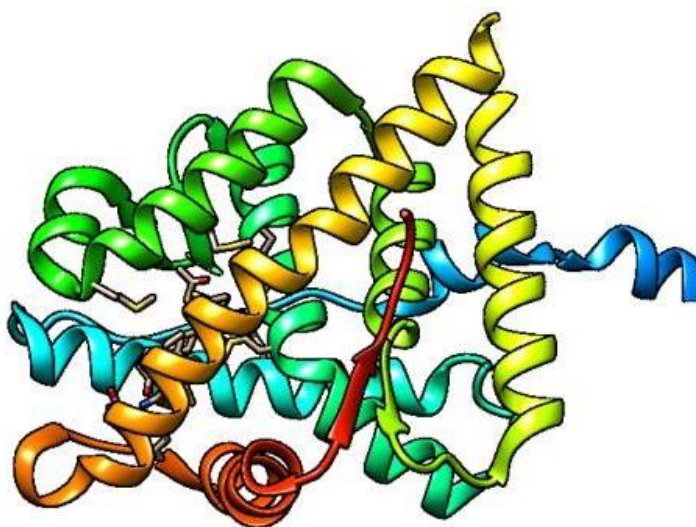


Figure 05 : Modèle simplifié (3VHU)

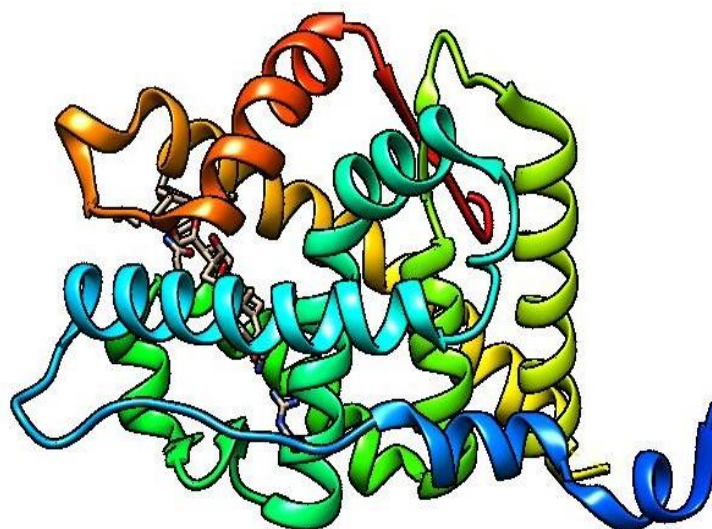


Figure 06 : Modèle simplifié (2AA2)

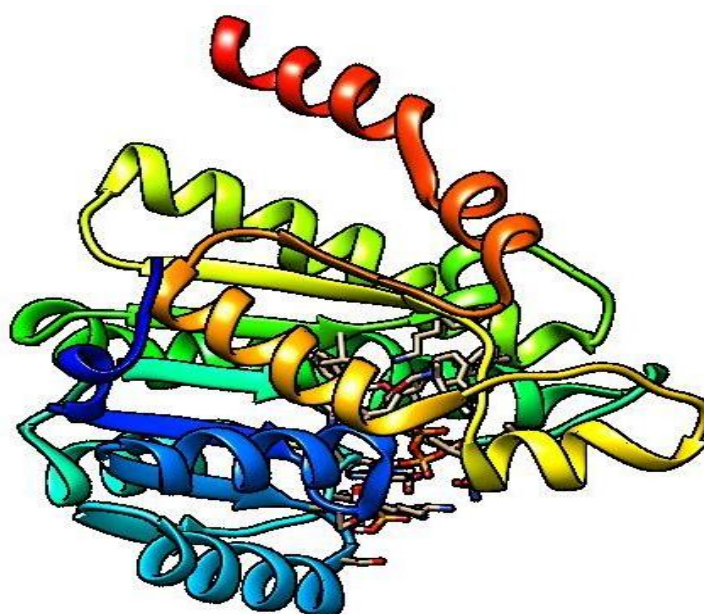


Figure 07 : Modèle simplifié (4YYZ)

3.2. Préparation des inhibiteurs

A. Première étude

La structure de spironolactone (CID :5833) a été téléchargée à partir de la base de donnée PubChem (www.pubchem.com). Pour mener à bien notre étude, on a conservé la structure de base (le squelette de spironolactone) et on a modifié les substituants de la chaîne latérale.

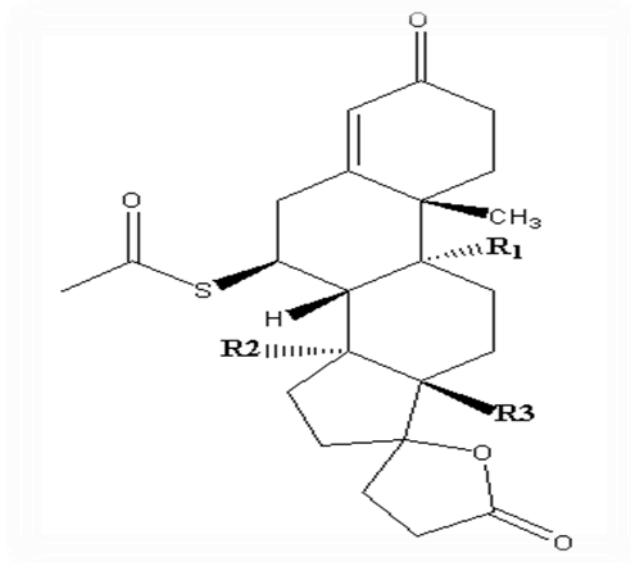


Figure 08 : Structure de la Spironolactone

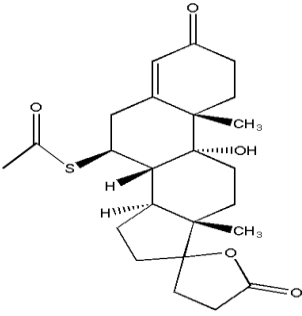
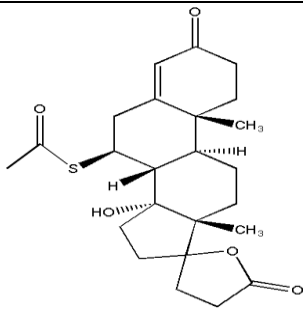
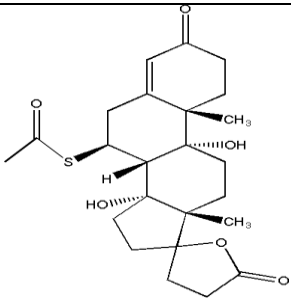
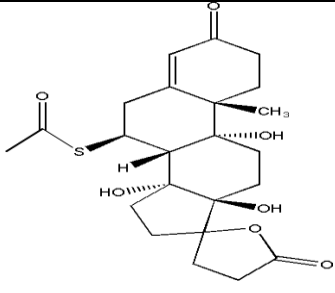
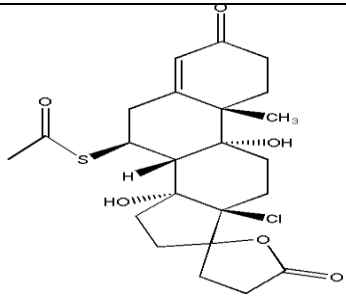
Tableau 03 : Différents ligands similaires de la Spironolactone

Molécule \ R	R1	R2	R3
L1	-OH	-H	-CH3
L2	-H	-OH	-CH3
L3	-OH	-OH	-CH3
L4	-OH	-OH	-OH
L5	-OH	-OH	-Cl

Dans le tableau 04 les résultats obtenus sont reportés après l'application de la règle de lipinski sur les ligands choisis pour notre étude.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 04 : Propriétés des inhibiteurs de l'enzyme 3VHU

Propriétés	Structures moléculaires
<p>Toxique : non Poids : 416.58 g/mol Log p : 4.85 Groupe d'hydrogène : Donneur : 0 Accepteur : 3</p>	
<p>Toxique : non Poids : 432.58 g/mol Log p : 3.97 Groupe d'hydrogène : Donneur : 1 Accepteur : 4</p>	
<p>Toxique : non Poids : 446.56 g/mol Log p : 3.96 Groupe d'hydrogène : Donneur : 0 Accepteur : 5</p>	
<p>Toxique : non Poids : 448.58 g/mol Log p : 3.08 Groupe d'hydrogène : Donneur : 2 Accepteur : 5</p>	
<p>Toxique : oui Poids : 469,00 g/mol Log p : 3.05 Groupe d'hydrogène : Donneur : 2 Accepteur : 5</p>	

RESULTATS ET DISCUSSION

B. Deuxième étude

Les ligands similaires de l'aldostérone (série1) et les similaires d'AMP phosphoramidate (série 2) ont été téléchargés à partir de la banque de donnée pubchem ([https:// www pubchem.com](https://www.pubchem.com)).

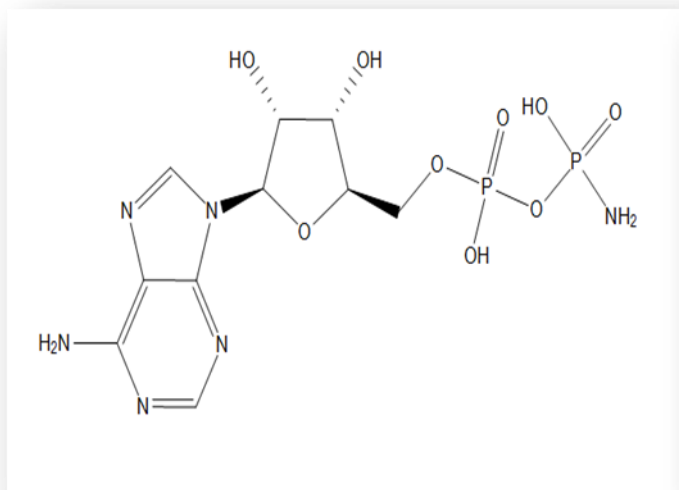


Figure 09 : Structure de l'AMP phosphoramidate

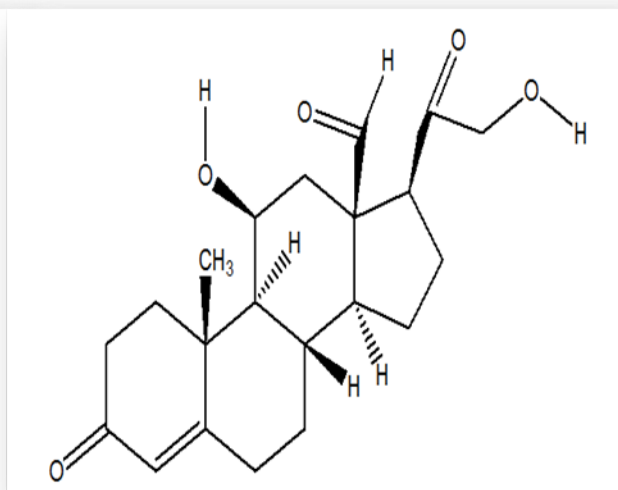
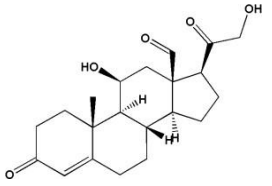
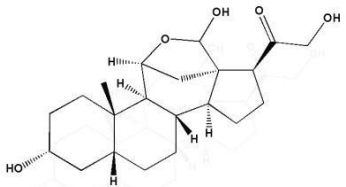
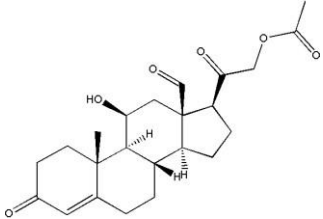
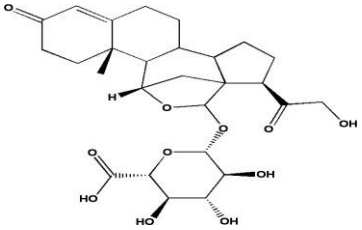
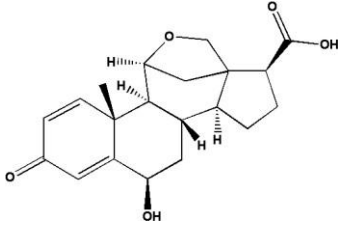
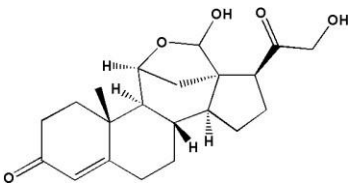
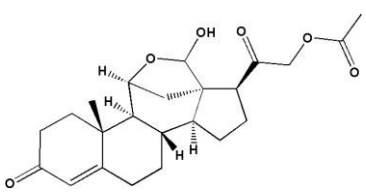


Figure 10 : Structure de l'Aldostérone

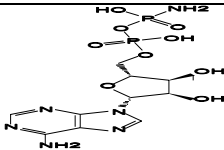
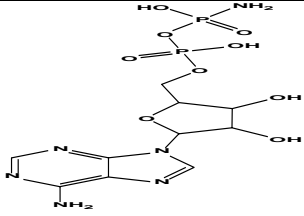
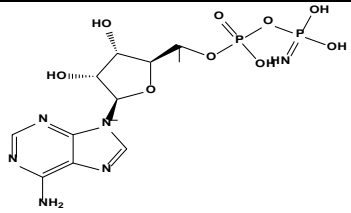
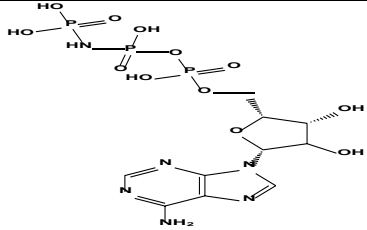
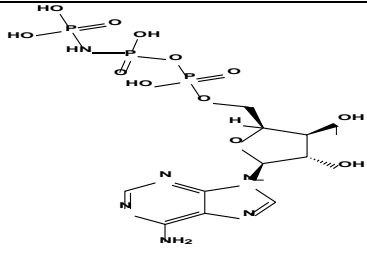
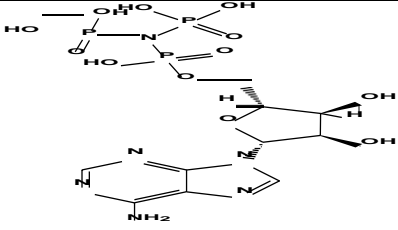
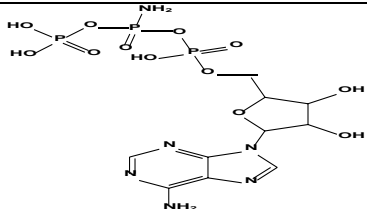
RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 05 : Série 01 des molécules de l'aldostérone.

Molécules	Codes
 <p>The structure shows the steroid nucleus of aldosterone with a ketone at C3, a double bond at C4, and a dihydroxyethyl side chain at C17.</p>	CID : 5839
 <p>The structure shows the steroid nucleus with a dihydroxyethyl side chain at C17 and an acetonide group protecting the 11 and 17 hydroxyl groups.</p>	CID : 122135
 <p>The structure shows the steroid nucleus with a dihydroxyethyl side chain at C17, where the terminal hydroxyl group is acetylated.</p>	CID : 101637
 <p>The structure shows the steroid nucleus with a dihydroxyethyl side chain at C17 and a glucuronic acid moiety attached to the 17-hydroxyl group.</p>	CID : 160706
 <p>The structure shows the steroid nucleus with a dihydroxyethyl side chain at C17, where the terminal hydroxyl group is converted to a carboxylic acid group.</p>	CID : 3083022
 <p>The structure shows the steroid nucleus with a dihydroxyethyl side chain at C17 and an acetonide group protecting the 11 and 17 hydroxyl groups.</p>	CID : 5461066
 <p>The structure shows the steroid nucleus with a dihydroxyethyl side chain at C17, where the terminal hydroxyl group is acetylated.</p>	CID : 71313076

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 06 : Série 02 des molécules de l'AMP

Molécules	Codes
	CID: 448170
	CID:4373101
	CID:53813146
	CID:60063697
	CID:66575078
	CID:87535957
	CID:76090100

RESULTATS ET DISCUSSION

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 l'AMP phosphoramidate et de l'Aldostérone contre **MR (2AA2)**.

Les ligands téléchargés à partir de Pubchem doivent vérifier la règle de Lipinski c' [13,14] : doivent être en relation directe avec les propriétés biologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) éventuelles des molécules étudiées, repose sur cinq propriétés physico-chimiques à savoir :

- Un poids moléculaire (PM) maximum de 500 g/mol.
- Nombre d'angles de rotations (LF) <5,
- LogP calculée ($-2 < \log P < 5$),
- 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).

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

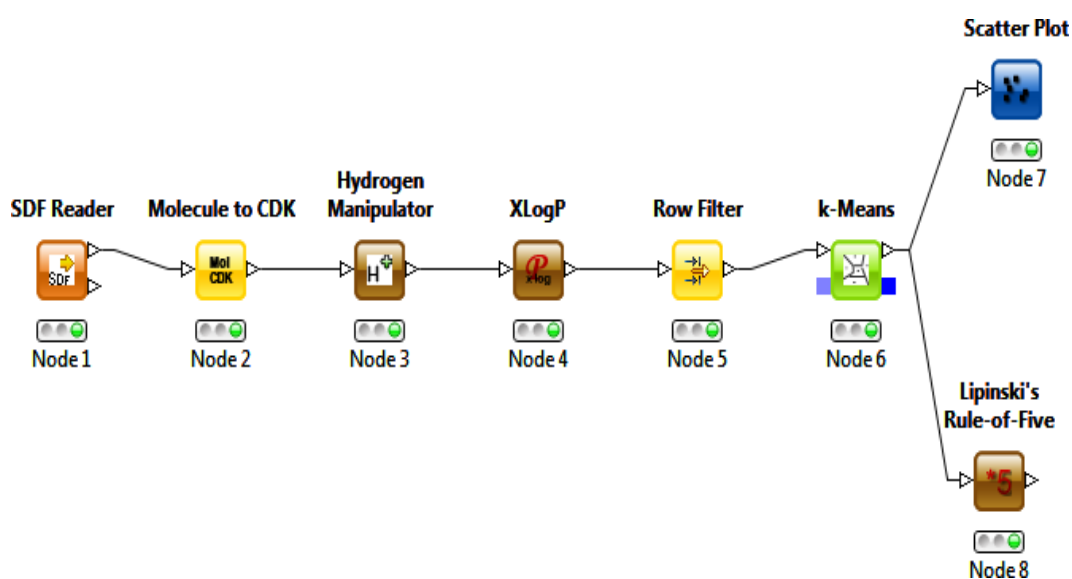


Figure 11 : Data Mining des ligands du logiciel KNIME

RESULTATS ET DISCUSSION

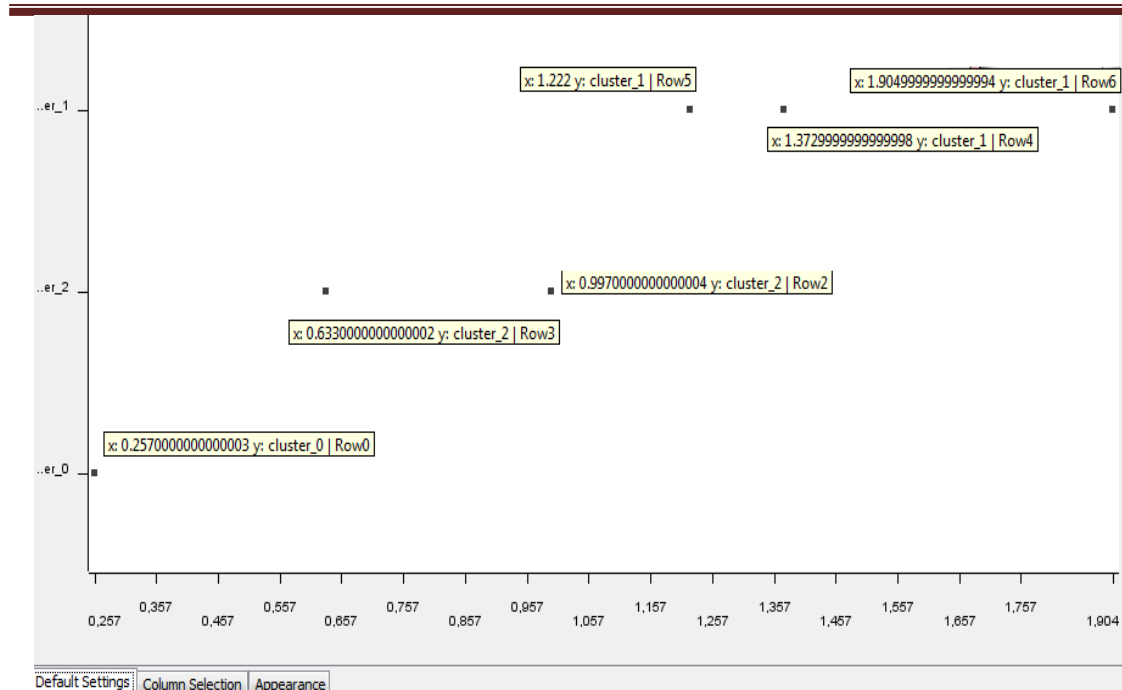


Figure 12 : Courbe de contrôle de la règle Lipinski des similaires d'aldosterone

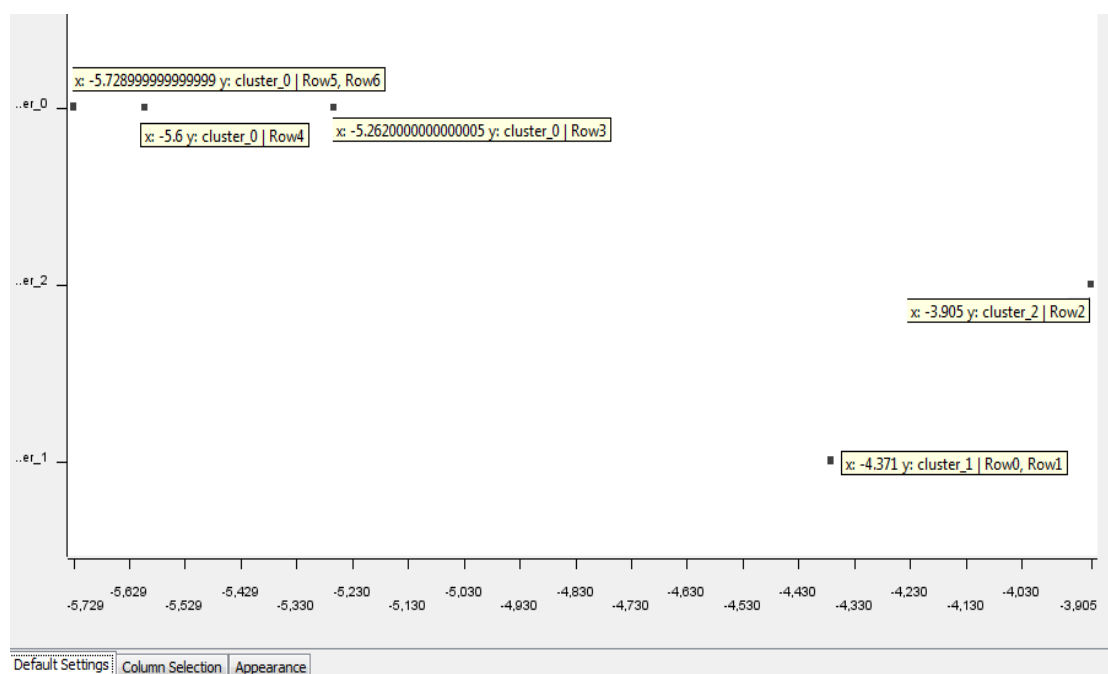


Figure 13 : Courbe de contrôle de la règle Lipinski des similaires d'AMP phosphoramidate

D'après le Data Mining de nos ligands et les résultats obtenus reportés dans la figure 12 et la figure 13 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.

C. Troisième étude

La base de données PubChem (www.pubchem.com) permet le téléchargement des structures sous forme de fichiers SDF. On a téléchargé la molécule 1,2,4 triazole, on a maintenu le cycle du 1,2,4 triazole et on a modifié la chaîne latérale.

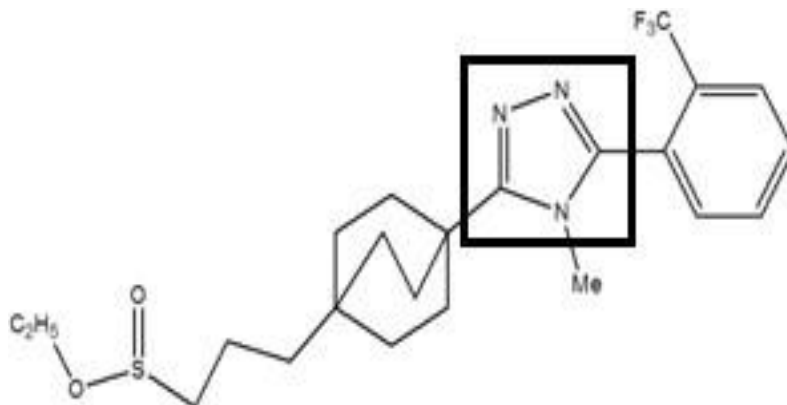
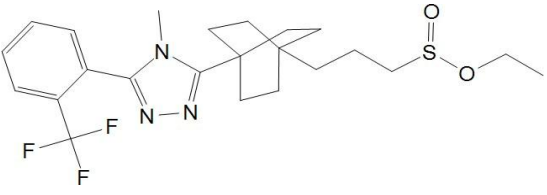
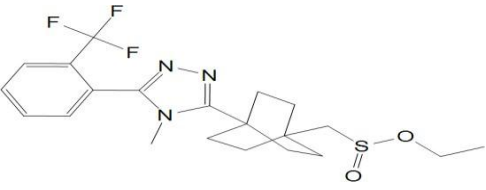
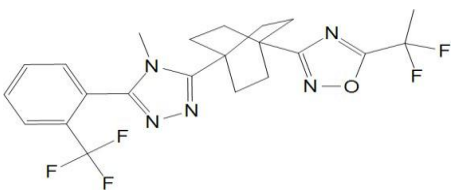
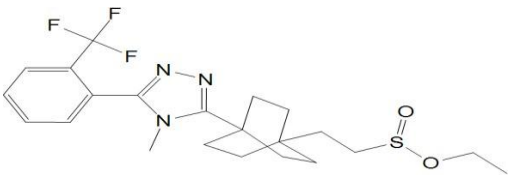
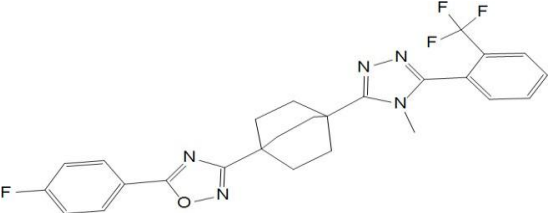


Figure 14 : Structure de 1, 2,4 triazole [15]

Avant d'entamer les calculs des interactions entre l'enzyme et les quatre composés, il est nécessaire d'évaluer les paramètres permettant leur validation comme médicament.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau07 : Propriétés des inhibiteurs de l'enzyme (4YYZ) MOE

Les inhibiteurs	Propriétés
 <p style="text-align: center;"><i>Inhibiteur 0</i></p>	<p>Toxique : non Poids :469.57g/mol Logp : 6.24 Groupe d'hydrogène : Donneur : 0 Accepteur : 4</p>
 <p style="text-align: center;"><i>Inhibiteur 1</i></p>	<p>Toxique : non Poids :441.52 g/mol Logp :5.46 Groupe d'hydrogène : Donneur : 0 Accepteur : 4</p>
 <p style="text-align: center;"><i>Inhibiteur 2</i></p>	<p>Toxique : non Poids :467.44g/mol Logp :6.52 Groupe d'hydrogène : Donneur : 0 Accepteur : 4</p>
 <p style="text-align: center;"><i>Inhibiteur 3</i></p>	<p>Toxique : non Poids :455.54g/mol Logp: 5. 85 Groupe d'hydrogène : Donneur : 0 Accepteur : 4</p>
 <p style="text-align: center;"><i>Inhibiteur 4</i></p>	<p>Toxique : non Poids :497.50g/mol Logp :6.90 Groupe d'hydrogène : Donneur : 0 Accepteur : 4</p>

D'après le tableau 07 les ligands vérifient la règle de Lipinski. Ce complément d'information sur d'autres propriétés moléculaires nous confirme que ces molécules sont biologiquement actives.

D. Quatrième étude

Pour notre étude, nous avons choisi les ligands de la littérature [16]. Les structures L1 CID : 59255569 et L5 CID : 5231054 ont été récupérées au format SDF et ont été convertis au format PDB en utilisant PyMol. (www.pubchem.com), mais L2, L3 et L4 ont été schématisés avec ChemDraw 8.0. Dans nos travaux antérieurs, nous avons déjà étudié l'enzyme 11 β -Hydroxystéroïde déshydrogénase (11 β -HSD1) par d'autres inhibiteurs pris dans la même référence [17].

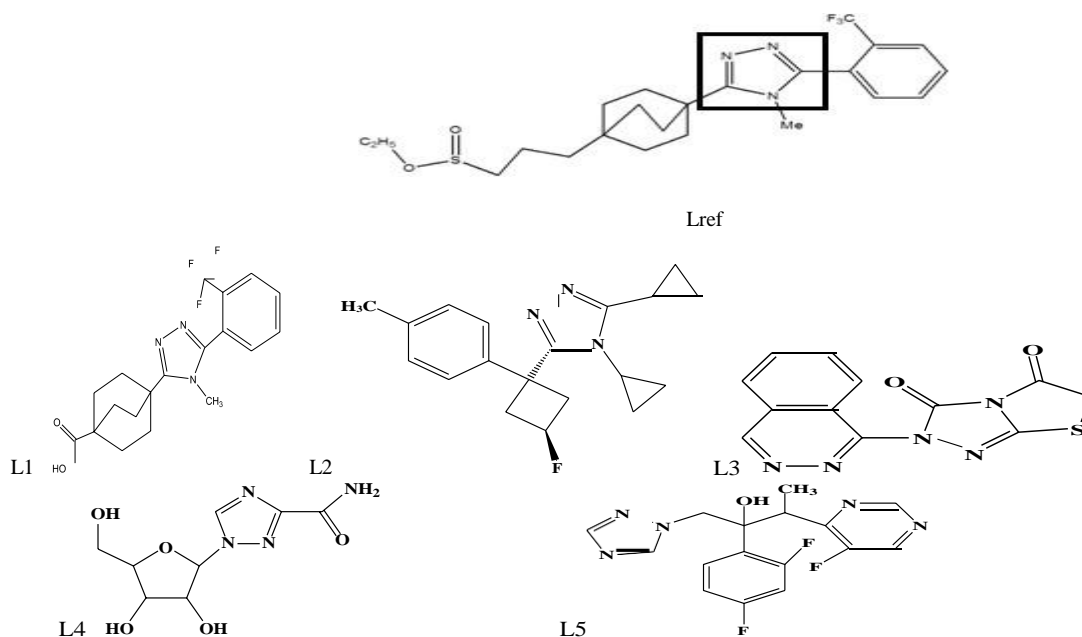


Figure 15 : Dérivés substitués de 1,2,4-triazole [17]

4. Résultats et discussion

4.1. Première étude : *Etude de l'interaction récepteur de minéralocorticoïde (MR) etsimilaire de spironolactone en milieu solvato par docking moléculaire*

Etude de l'interaction récepteur de minéralocorticoïde (MR) et les similaires de spironolactone en milieu solvato par docking moléculaire.

Nous avons pris comme enzyme le récepteur miniracorticoid (MR) (code : 3VHU), l'énergie de liaison a été observée pour chaque complexe protéine -ligand, en utilisant le logiciel MOE (Molecular Operating Environment), et UCSF Chimera1.8.1software.

La base de données PubChem (www.pubchem.com) permet le téléchargement des structures sous forme de fichiers SDF.

RESULTATS ET DISCUSSION

Après la simplification de l'enzyme on a calculé l'énergie de minimisation avec le logiciel MOE pour atteindre la conformation la plus stable.

Tableau 08 : Energie de minimisation de l'enzyme **3VHU**

MM: [14]	E: 6.38931e+002	grad: 7.3830e-001	rmsd: 0.256
MM: [15]	E: 6.35986e+002	grad: 5.3068e-001	rmsd: 0.265
MM: [16]	E: 6.31623e+002	grad: 9.9488e-001	rmsd: 0.274
MM: [17]	E: 6.23032e+002	grad: 1.0464e+000	rmsd: 0.286
MM: [18]	E: 6.19626e+002	grad: 5.4567e-001	rmsd: 0.285
MM: [19]	E: 6.18081e+002	grad: 3.8815e-001	rmsd: 0.287
MM: [20]	E: 6.12675e+002	grad: 6.3728e-001	rmsd: 0.290
MM: [21]	E: 6.11924e+002	grad: 1.7975e-001	rmsd: 0.290
MM: [22]	E: 6.07701e+002	grad: 6.2041e-001	rmsd: 0.300
MM: [23]	E: 6.06475e+002	grad: 4.4588e-001	rmsd: 0.305
MM: [24]	E: 6.02337e+002	grad: 6.2992e-001	rmsd: 0.323
MM: [25]	E: 6.00097e+002	grad: 3.5290e-001	rmsd: 0.327
MM: [26]	E: 5.96420e+002	grad: 3.9211e-001	rmsd: 0.341
MM: [27]	E: 5.95916e+002	grad: 2.4042e-001	rmsd: 0.343
MM: [28]	E: 5.92598e+002	grad: 4.4887e-001	rmsd: 0.354
MM: [29]	E: 5.91383e+002	grad: 3.1124e-001	rmsd: 0.356
MM: [30]	E: 5.88360e+002	grad: 4.6181e-001	rmsd: 0.367
MM: [31]	E: 5.87550e+002	grad: 2.4813e-001	rmsd: 0.368
MM: [32]	E: 5.84348e+002	grad: 7.2650e-001	rmsd: 0.381
MM: [33]	E: 5.81244e+002	grad: 6.5927e-001	rmsd: 0.388
MM: [34]	E: 5.80515e+002	grad: 2.3138e-001	rmsd: 0.387
MM: [35]	E: 5.77462e+002	grad: 3.7841e-001	rmsd: 0.394
MM: [36]	E: 5.76510e+002	grad: 2.5413e-001	rmsd: 0.395
MM: [37]	E: 5.74908e+002	grad: 2.6808e-001	rmsd: 0.401
MM: [38]	E: 5.74651e+002	grad: 1.4389e-001	rmsd: 0.401
MM: [39]	E: 5.73226e+002	grad: 2.3953e-001	rmsd: 0.413
MM: [40]	E: 5.71684e+002	grad: 3.1400e-001	rmsd: 0.428
MM: [41]	E: 5.71462e+002	grad: 9.9057e-002	rmsd: 0.428

Tableau 09 : Energie de minimisation des ligands obtenue à l'aide du logiciel MOE.

R	R1	R2	R3	E (kcal/mol)	RMSD (Å)
Molécule					
L1	-OH	-H	-CH3	9.448 e+0.002	0.813
L2	-H	-OH	-CH3	1.061 e+0.002	0.846
L3	-OH	-OH	-CH3	1.080 e+0.002	0.855
L4	-OH	-OH	-OH	1.193 e+0.002	0.892
L5	-OH	-OH	-Cl	1.158 e+0.002	0.303

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 10 : Différents sites actif de l'enzyme « 3VHU »

Site ▲	Size	PLB ▼	Hyd	Side	Residues
1	97	2.80	44	65	1: (LEU766 LEU769 ASN770 LEU772
2	93	2.01	45	75	1: (GLU746 PRO747 GLU748 ILE749
3	34	0.77	16	30	1: (GLN803 TYR804 SER805 SER808
4	41	0.45	14	26	1: (ALA752 GLY753 TYR754 ASP755
5	20	0.41	17	30	1: (PRO738 PRO788 GLY789 ASN792
6	33	0.40	25	34	1: (VAL781 ALA784 LYS785 PHE790
7	24	-0.02	13	22	1: (SER936 ASP937 LEU939 GLU940
8	19	-0.22	13	17	1: (ASN744 ILE745 GLU746 PRO747
9	9	-0.25	11	13	1: (PHE946 SER949 VAL954 GLU955
10	15	-0.44	5	18	1: (THR865 GLU867 GLU868 MET906

Notre enzyme contient 18 cavités différentes, le choix de la cavité est basé sur la taille du ligand de référence.

Afin d'effectuer les calculs par docking moléculaire le site actif de l'enzyme a été isolé (détermination des résidus impliqués dans l'interaction) par le logiciel MOE.

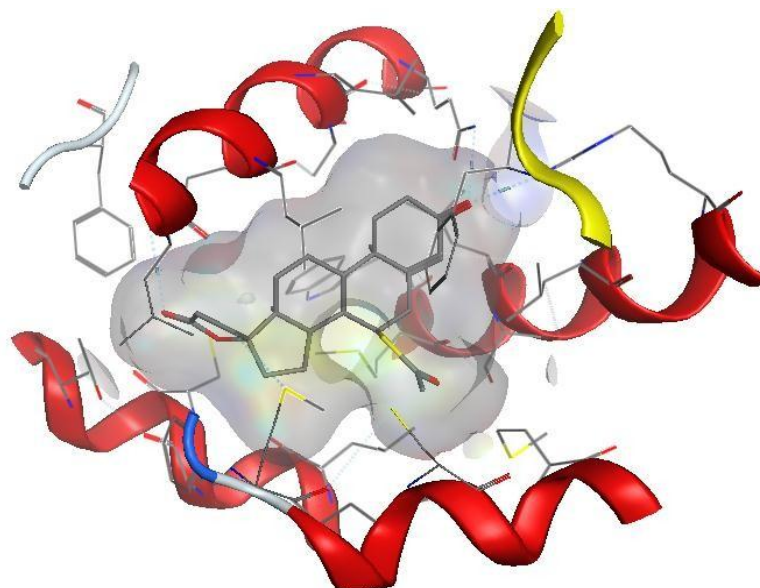


Figure 16 : Isolation du site actif de l'enzyme « 3VHU »

A. Première partie

Les calculs de Docking moléculaire ont été réalisés à l'aide du logiciel MOE :

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Milieu non solvaté

Tableau 11 : Score des énergies des complexes

Complexes	E (kcal/mol)	RMSD(Å)
E-L1	-11.37	0.93
E-L2	-10.83	1.04
E-L3	-11.29	1.39
E-L4	-11.71	1.67
E-L5	-11.18	1.32

On remarque que le complexe **E-L4** a une énergie égale à **-11.71** Kcal/mol qui est la plus faible, c'est le complexe le plus stable. On conclut que **L4** est probablement le meilleur inhibiteur pour l'enzyme, plus le RMSD est faible plus le complexe est stable.

Le RMSD inférieur à **2 Å** est considérés comme faible, et entre **2Å** et **4 Å** est supposée moyen et supérieure à **4 Å** est fort. ($\text{RMSD} \leq 2$),

Le RMSD de nos ligands est entre 0 et 2, la prédiction du ligand est acceptable si la valeur ne dépasse pas **2 Å**, [18].

Pour plus de détail on a calculé les interactions et les distances des liaisons hydrogène entre le ligand **L4** et les acides aminés de site actif.

Tableau 12 : Interactions des liaisons hydrogène de complexe **E-L4** en milieu non solvaté.

Ligand	Récepteur	Interaction	Distance(Å)	E (kcal/mol)
O 29	MET 845(A)	H-donor	3.27	-1.7
O 3	ASN 770(A)	H-acceptor	3.27	-1.2
O 4	GLN 776(A)	H-acceptor	3.33	-1.0
O 4	ARG 817(A)	H-acceptor	2.80	-3.7

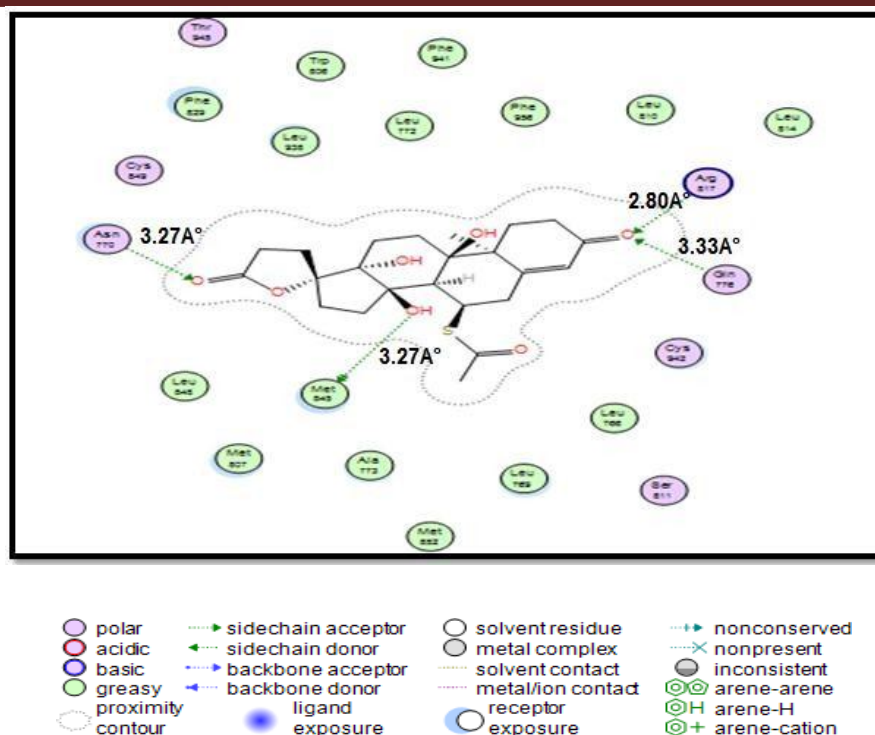


Figure 17 : Interactions des liaisons hydrogène du complexe E-L4 en milieu non solvato

La formation d'un complexe stable dépend de la fixation de l'inhibiteur dans le site actif. La figure 17 présentée ci-dessus montre que le ligand **L4** prend 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.

2. Milieu solvato

L'ensemble des simulations qui seront présentées dans ce travail ont été effectuées en utilisant un modèle de solvant représenté explicitement.

On crée une boîte d'une dimension définie (mode : Droplet, forme : boîte, marge : 2, c'est la distance entre le complexe et le bord de la sphère) autour du complexe qu'on remplit de molécules d'eau. On lance les calculs de docking moléculaire et enfin on fait une étude comparative des résultats obtenus en milieu solvato et non solvato.

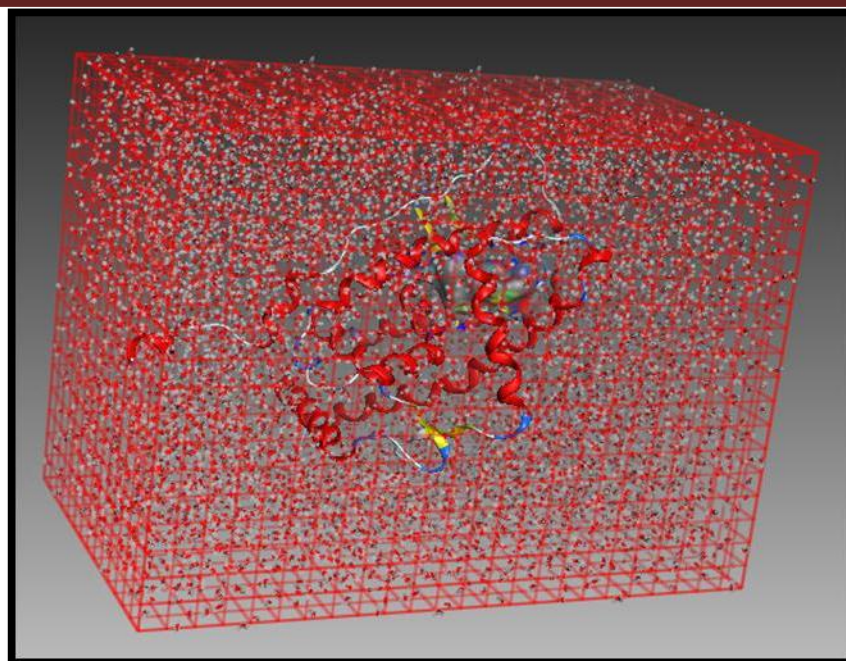


Figure 18 : boîte de solvant

Tableau 13 : Score des énergies des complexes en milieu solvaté.

complexes	E (kcal/mol)	RMSD(Å)
E-L1	-13.31	1.40
E-L2	-13.57	1.11
E-L3	-13.37	1.02
E-L4	-13.69	1.04
E-L5	-13.28	1.68

D'après le tableau 13 on remarque que l'énergie de complexation est plus faible que dans le milieu non solvaté. L'effet de solvant augmente la stabilité des complexes.

On a estimé les interactions des liaisons hydrogène pour confirmer les résultats aux énergies relatifs.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 14 : Interactions des liaisons hydrogène du complexe E-L4 en milieu solvaté

Ligands	Récepteurs	Interactions	Distances Å	E (kcal/mol)
O 29	MET 845(A)	H-donneur	3.27	-1.7
O 3	ASN 770 (A)	H-accepteur	3.27	-1.2
O 4	GLN 776 (A)	H-accepteur	3.37	-0.8
O 4	ARG 817 (A)	H-accepteur	2.81	-2.9

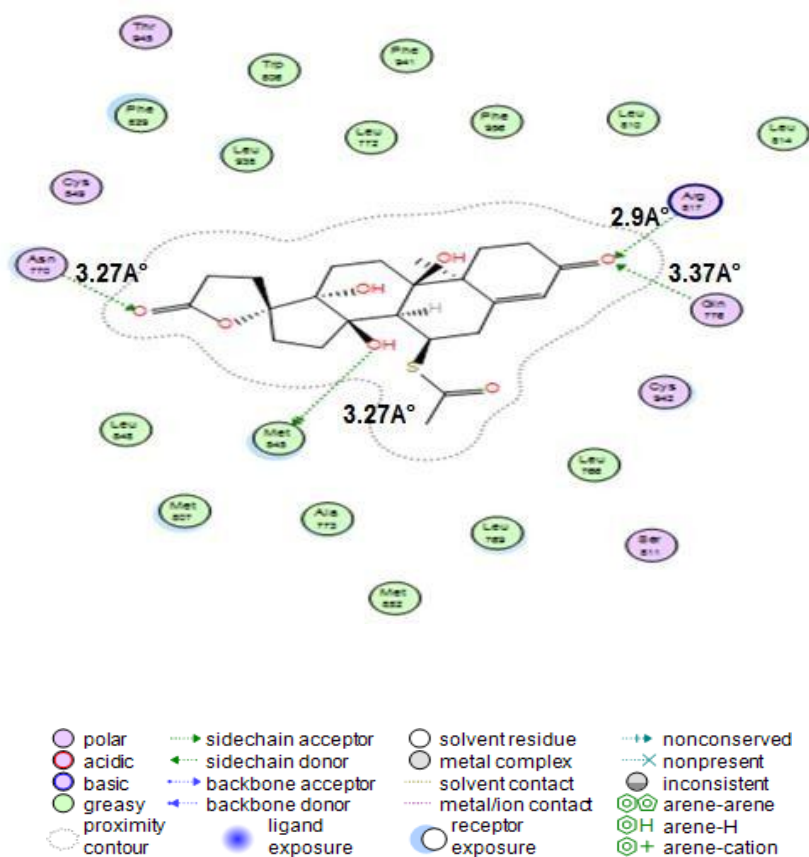


Figure 19 : Interactions des liaisons hydrogène du complexe E-L4

Nous avons mesuré les distances entre les groupes R des différents ligands et les chaînes latérales d'acides aminés qui forment le site actif et éventuellement d'autres groupes de la chaîne principale de l'enzyme responsable de l'interaction (ce qui peut générer une conformation favorable à un niveau élevé de complémentarité résultant de l'activité cohérente).

Les distances mesurées varient entre **2,55 Å** et **3,24 Å** pour tous les complexes étudiés. Les interactions entre **2,5 Å** et **3,5 Å** sont considérés comme fortes et celles entre **3,1 Å** et **3,55 Å** sont

RESULTATS ET DISCUSSION

supposées moyennes. Interactions supérieures à $3,55 \text{ \AA}$ sont faibles ou absents. Ces valeurs sont applicables aux carbohydrates selon *Imberty* [19], on peut par analogie concernant nos macromolécules pouvoir appliquer ces intervalles.

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif, dans notre cas, elle possède une largeur de $19,36 \text{ \AA}$ et une profondeur de $11,55 \text{ \AA}$.

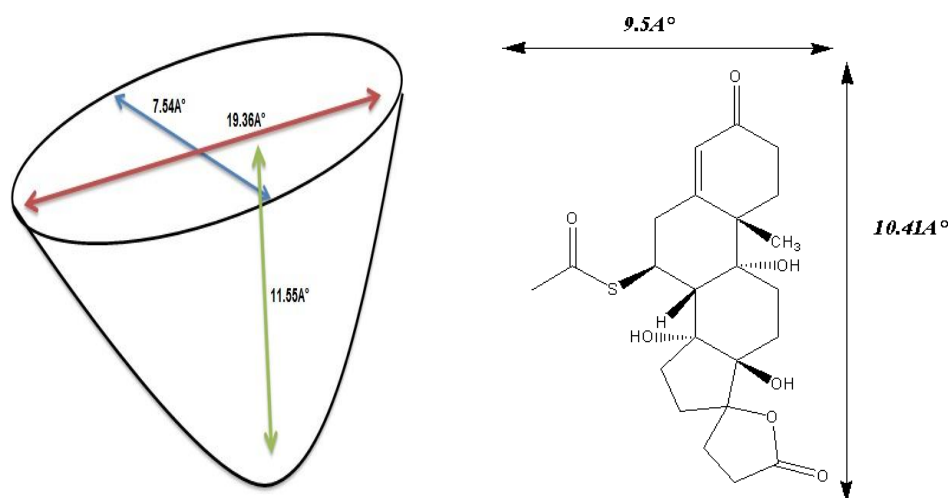


Figure 20 : Dimension du ligand L4 et du site actif de l'enzyme.

L'examen de la cavité enzymatique et le calcul des distances entre les inhibiteurs L et les chaînes latérales des résidus constitutifs du site actif et des énergies obtenus confirment que l'inhibiteur **L4** avec les trois groupements OH présentent une forte interaction de liaison hydrogène et une meilleure complémentarité avec le récepteur Miniracorticoïde (code : 3VHU).

B. Deuxième partie

Le docking moléculaire à l'aide de logiciel **Chimera**.

1. Milieu non solvato

Après la préparation de l'enzyme, l'enzyme et le ligand sont immergés dans une boîte de paramètres connus et le docking moléculaire est exécuté.

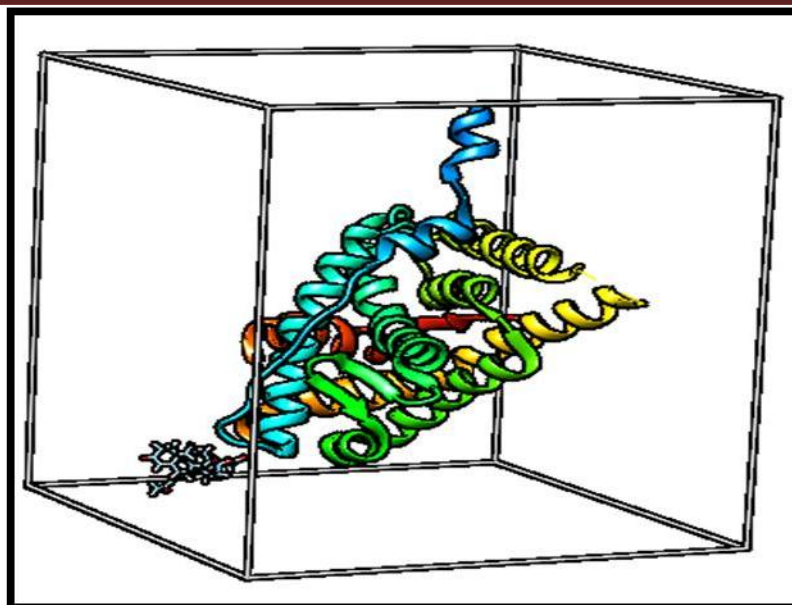


Figure 21 : boîte du complexe E-L4

Tableau 15 : Score des énergies des complexes en milieu non solvaté.

Complexes	E (kcal/mol)
E-L1	-6.6
E-L2	-7.8
E-L3	-7.4
E-L4	-8.0
E-L5	-7.0

D'après les résultats obtenus dans ce travail, il apparaît que les valeurs des énergies d'interaction obtenues à l'aide d'AutoDock Vina implémenté dans l'UCSF Chimera sont du même ordre de grandeur pour tous les inhibiteurs à l'exception de deux inhibiteurs : **L2** et **L4**. Ces derniers possèdent une basse énergie similaire (**-7.8Kcal/mol**, **-8Kcal/mol**) donc ceux sont les inhibiteurs les plus stables et présentent une bonne complémentarité. Le complexe **E-L4** possède l'énergie la plus faible donc le complexe le plus stable.

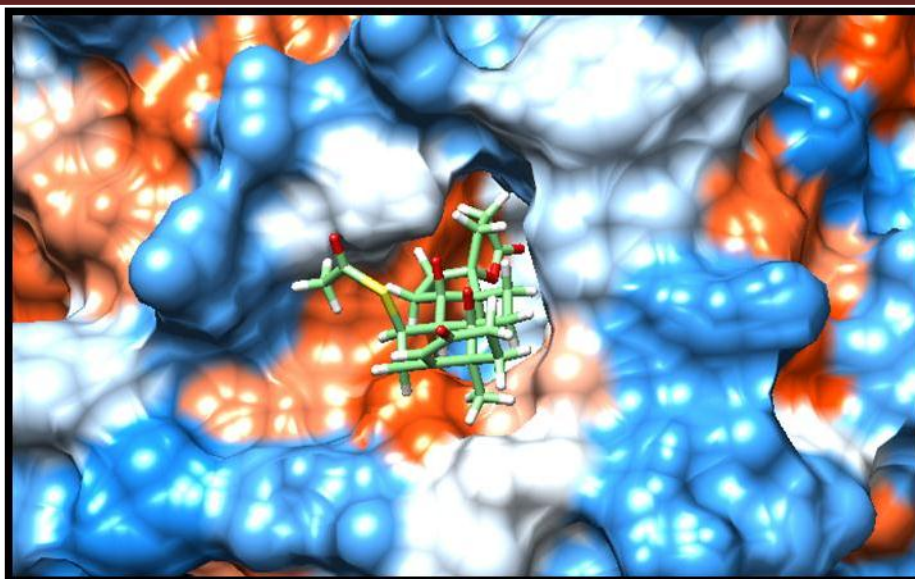


Figure 22 : Ligand L4 dans le site actif

2. Milieu solvaté

Pour étudier une molécule en solvant explicite, il est nécessaire de la solvater, c'est-à-dire l'immergé entièrement dans une "boîte de solvant". Cette méthode représente chaque molécule d'eau autour du soluté comme une molécule triatomique donnée (figure 23).

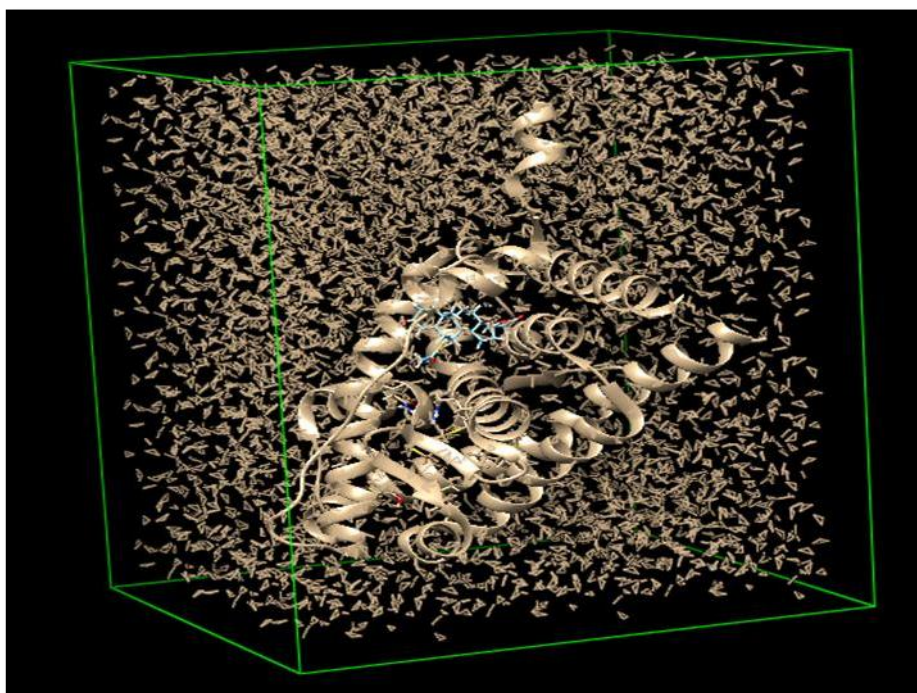


Figure 23 : Complexe dans une boîte de solvant (eau)

Tableau 16 : Score des énergies des complexes en milieu solvaté

Complexes	E (kcal/mol)
E-L1	-11.0
E-L2	-8.0
E-L3	-8.0
E-L4	-12.3
E-L5	-12.1

D'après le résultat obtenu on remarque que l'énergie de complexation des complexes diminue lorsqu'on ajoute l'eau donc la stabilité augmente. Le complexe **E-L4** possède l'énergie la plus faible donc le complexe le plus stable. Le ligand **L4** est l'inhibiteur probablement le plus efficace pour notre enzyme.

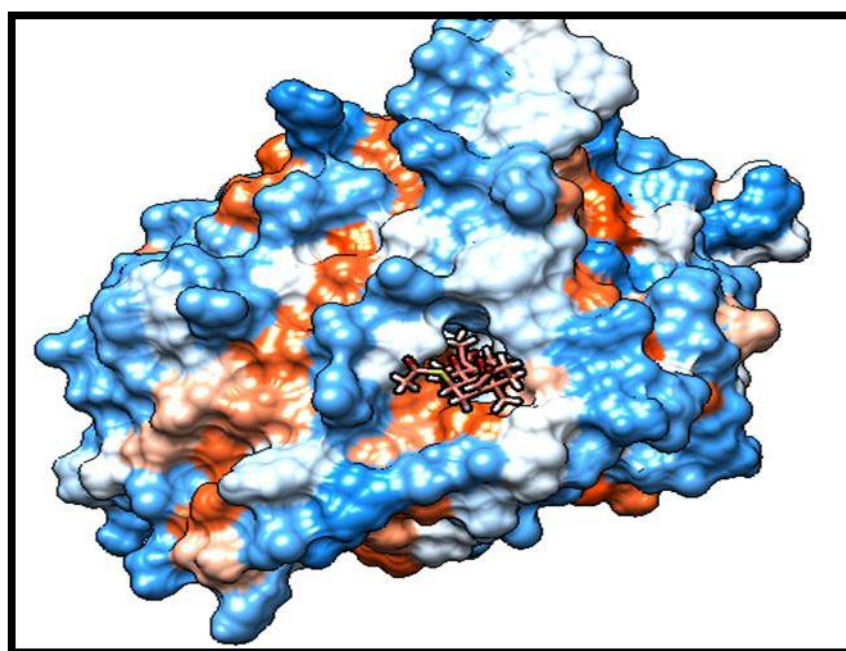


Figure 24 : Ligand dans le site actif au milieu solvaté

RESULTATS ET DISCUSSION

L'ensemble des molécules a été modélisé à l'aide de logiciel **CHIMERA**, chaque modèle a été relaxé en énergie afin de trouver sa conformation énergétique minimale.

A la lumière de bilan énergétique des cinq complexes reportés dans le tableau 16, tous les inhibiteurs interagissent avec notre enzyme.

Selon les résultats du docking moléculaire dans le milieu non solvato, le complexe E-L4 présente le meilleur score par rapport aux autres complexes formés (énergie la plus faible **-11.71 kcal/mol**) < E-L1 (-11.37) < E-L3 (E=-11.29kcal/mol) < E-L5 (E=-11.18) < E-L2 avec une énergie de (-10.83kcal/mol). Cette stabilité des complexes est du même ordre des calculs dans un milieu solvato et non solvato

D'après la règle de lipinski, le ligand L5 est toxique il ne peut être classé parmi les inhibiteurs retenus.

Le complexe **E-L4** a une énergie de **-13.69kcal/mol** (en milieu solvato) et **-11.71 kcal/mol** en milieu non solvato, ce qui nous amené à conclure que le complexe **E-L4** possède probablement la conformation la plus stable.

On peut conclure que l'introduction de groupes volumineux provoque un réarrangement de conformation à l'intérieur de la cavité du site actif, ce qui sera probablement le plus stable et d'une complémentarité importante et par conséquence activité relative.

Dans la solvato explicite ou la présence d'eau, les énergies obtenus sont plus basses que celles en milieu non solvato, donc l'ajout de l'eau augmente les interactions entre le ligand et les résidus de site actif, l'effet de solvant stabilise les complexes et aide les inhibiteurs a diminué l'activité biologique de l'enzyme.

La liaison d'un ligand à une enzyme est un processus complexe dans lequel les entités qui réagissent deviennent partiellement désolvatées. Cette chaîne de réactions conduit à la formation d'interactions favorables entre le ligand et la protéine. Par exemple, après la liaison, les parties hydrophobes du ligand entrent dans les poches hydrophobes du récepteur afin de minimiser leur contact avec l'eau. Ces résultats montrent que l'orientation des ligands joue un rôle très important pour le positionnement des ligands dans le site actif de l'enzyme.

Conclusion

Dans le but de déterminer les interactions enzyme- substrat nous avons effectué des calculs de docking moléculaire pour rechercher la conformation la plus stable qui correspond à une énergie la plus faible qu'adopte le complexe formé.

Les résultats obtenus à l'aide des deux programmes de docking moléculaire nous confirment que le ligand **L4** est probablement le meilleur inhibiteur de notre enzyme.

RESULTATS ET DISCUSSION

En général les deux programmes ont donné des résultats comparables. En effet, dans l'étude de l'inhibition de la 3HVU par les cinq ligands, les deux programmes ont ressorti le même composé **L4** comme meilleur inhibiteur de l'enzyme.

4.2. Deuxième étude : Etude de l'interaction de l'enzyme" Miniracorticoïde "et de ses inhibiteurs" Aldostérone et Phosphoramidate AMP et leurs similaires ", en milieu solvato et non solvato

Ce travail consiste à étudier les interactions entre les différents inhibiteurs (similaires de l'aldostérone et les similaires d'AMP Phosphoramidate) et l'enzyme **Miniracorticoïde** (code : 2AA2) de l'hypertension par les méthodes de la modélisation moléculaire sans et avec solvant, et vérifier l'effet de solvant sur la stabilité du complexe enzyme-substrat par le docking moléculaire.

A. Résultats du docking moléculaire en milieu non solvato

Pour mieux comprendre le mécanisme de l'inhibition, on a utilisé le docking moléculaire (logiciel MOE (Modeling Operating Environment)).

Tableau 17 : Différents sites actif du l'enzyme (2AA2)

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	177	3.75	76	122	1:(GLU746 PRO747 GLU748 ILE749 VAL750 LEU766 LEU769 ASN770 LEU771)
2	34	0.27	25	34	1:(VAL781 ALA784 LYS785 PHE790 LEU795 GLN798 ILE799 ILE802 GLN803)
3	26	0.14	15	22	1:(GLN803 TYR804 THR800 HIS932 VAL935 SER936 LEU939 GLN967 VAL968)
4	8	-0.00	7	19	1:(GLN825 PHE826 LEU827 PHE835 ASN836 GLU837 MET840 GLN850 HIS851)
5	8	-0.09	10	15	1:(TRP918 PHE921 TYR922 THR925 HIS982)
6	10	-0.19	11	13	1:(PHE946 SER949 VAL954 GLU955 PHE956 VAL961)
7	25	-0.19	6	17	1:(GLU763 ASN764 SER767 SER949 HIS950 LYS953 VAL954 GLU955)
8	19	-0.20	11	15	1:(ASN744 ILE745 GLU746 PRO747 GLN779 LYS782 TRP783 VAL786)
9	15	-0.27	13	23	1:(PRO738 PRO788 GLY789 LYS791 ASN792 MET895 ASN898 TYR899 GLU900)
10	17	-0.29	13	17	1:(SER936 LEU939 GLU940 PHE943 VAL971 GLU972 GLY974 ALA976 PRO977)
11	18	-0.31	13	16	1:(PRO747 GLU748 ILE749 VAL750 TYR751 LYS775 ILE778 GLN779)
12	6	-0.38	5	14	1:(LYS926 ASP929 SER930 HIS932 ASP933 TYR980 ARG983)
13	9	-0.39	6	9	1:(TYR754 PRO831 ASP832 LEU833 VAL834 LYS839)
14	10	-0.40	7	13	1:(GLU796 ASP797 THR800 PRO882 GLY885 LEU886 LYS887)
15	9	-0.63	7	9	1:(LYS977 PRO978 LEU979 TYR980)
16	5	-0.79	6	9	1:(LYS785 LYS791 LEU793 LEU795 GLN798)

Notre enzyme contient 16 cavités enzymatiques avec différents acides aminés, on a choisi la première parmi les 16 cavités car elle est la plus volumineuse, possède la plus grande surface et contient le plus grand nombre d'acides aminés. La figure 25 ci-dessous montre la dimension de la cavité préparée.

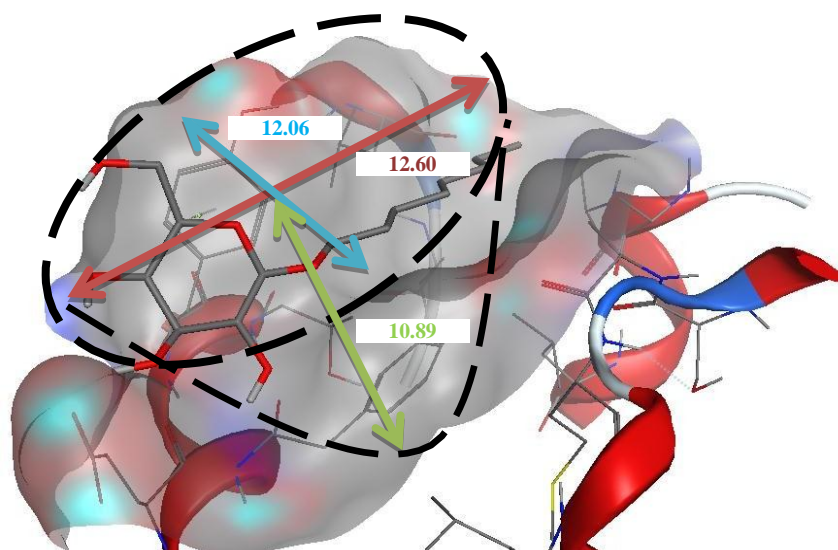


Figure 25 : Dimensions de cavité enzymatique

Tableau 18 : Résultats des énergies de docking moléculaire en milieu non solvaté

Série1		Série2	
Complexes	S (kcal/mol)	Complexes	S (kcal/mol)
E-L1	-9.16	E-D1	-6.55
E-L2	-9.14	E-D 2	-7.77
E-L3	-8.12	E-D 3	-6.59
E-L4	-8.29	E-D4	-5.53
E-L5	-10.20	E-D 5	-5.62
E-L6	-9.53	E-D 6	-7.73
E-L7	-6.85	E-D 7	-3.89

A la lumière des résultats obtenus dans le (tableau18), les scores sont des énergies d'interaction entre les atomes liées et non liées et l'énergie d'interaction entre récepteur et ligand. Aux vues de ces résultats on remarque que pour la série 01 le ligand **L5** à une énergie égale à **-10.20 Kcal/Mol** c'est le meilleur pour l'inhibition et le ligand **D2** a une énergie de **-7.77 Kcal/Mol** pour la série 02. Ceux sont probablement les meilleurs inhibiteurs pour l'enzyme **Miniracorticoide** (code : 2AA2).

RESULTATS ET DISCUSSION

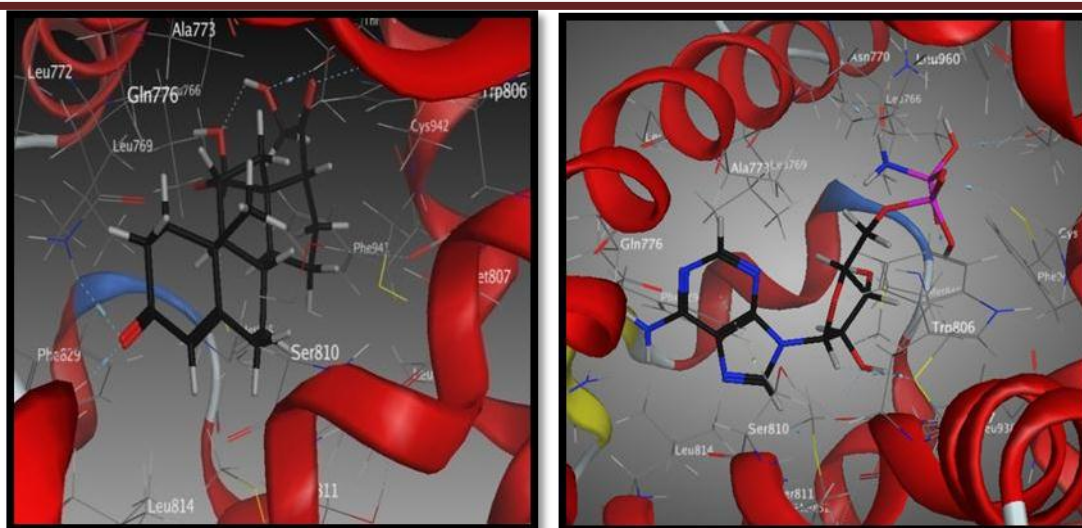


Figure 26 : Interactions enzyme 2AA2-L5 Figure 27 : Interactions enzyme 2AA2-D2

La formation d'un complexe stable dépend de la fixation de l'inhibiteur dans le site actif. Les figures 26 et 27 présentées ci-dessus montrent que les ligands **L5** et **D2** 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 19 : Distances des liaisons hydrogène (Å)

	THR 945	GLN 776	ARG 817	CYS 942	MET 807	PHE 829	SER 810
L5	2.97	3.28	2.90	-----	-----	-----	-----
D2	3.04	-----	-----	3.02	3.52	3.25	3.85

D'après les résultats obtenues (tableau 19) les interactions entre les résidus du site actif de l'enzyme et les ligands **L5** et **D2** sont importantes, les distances calculées dans les deux cas sont raisonnables se trouve dans l'intervalle de [2.90 Å, et3.85 Å] donc considéré comme forte et moyenne. On prédit qu'il ya une forte complexation des ligands avec notre enzyme.

B. Résultats du docking moléculaire en milieu solvaté

On a créé une sphère d'une dimension définie autour de la molécule que l'on remplit de molécules d'eau et on lance les calculs.

RESULTATS ET DISCUSSION

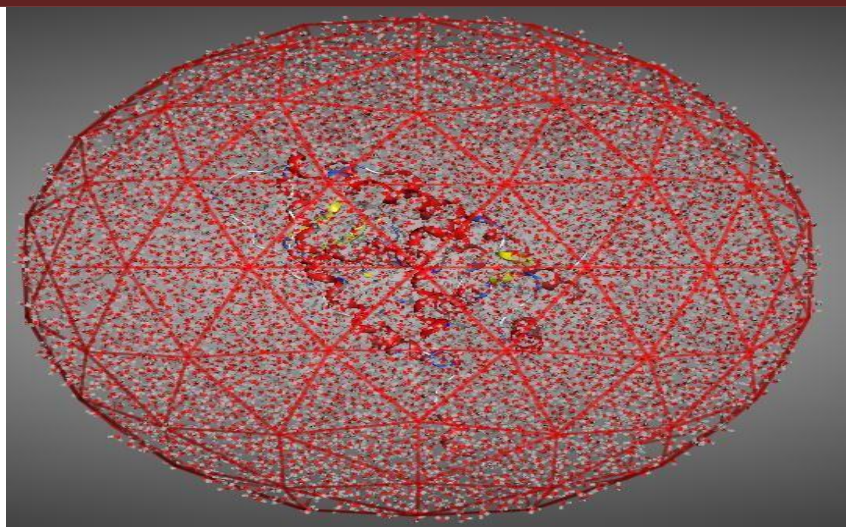


Figure 28 : Enzyme Miniracorticoid récepteur (2AA2) dans une sphère de solvant (eau)

Tableau 20 : Résultats des énergies de docking dans le solvant

Série1		Série2	
Complexes	E (kcal/mol)	Complexes	E (kcal/mol)
E-L1	-9.74	E-D1	-13.16
E-L2	-9.75	E-D 2	-15.08
E-L3	-9.06	E-D 3	-11.63
E-L4	-9.56	E-D 4	-4.95
E-L5	-12.05	E-D 5	-2.71
E-L6	-11.92	E-D 6	-4.70
E-L7	-8.40	E-D 7	-8.30

Pour les énergies de complexassions on remarque des énergies importantes pour les deux ligands similaires :

- Le ligand L5 de la série 1 a une énergie égale à **-12.05** Kcal/Mol,
- La série 2 l'inhibiteur D2 a une énergie de **-15.08** Kcal/Mol.

RESULTATS ET DISCUSSION

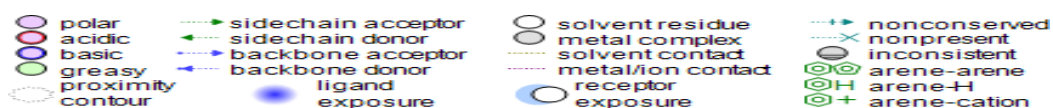
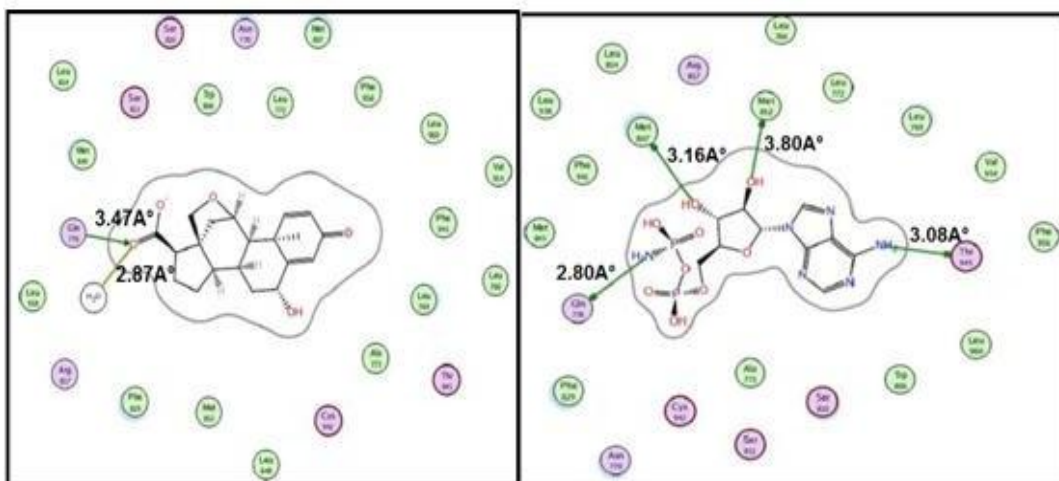


Figure 29 : Interactions enzyme-L5

Figure 30 : Interactions enzyme-D2

En plus des interactions importantes entre les ligands et les acides aminés de site actif de l'enzyme, il existe aussi des interactions avec les molécules d'eau ce qui augmente la stabilité du complexe.

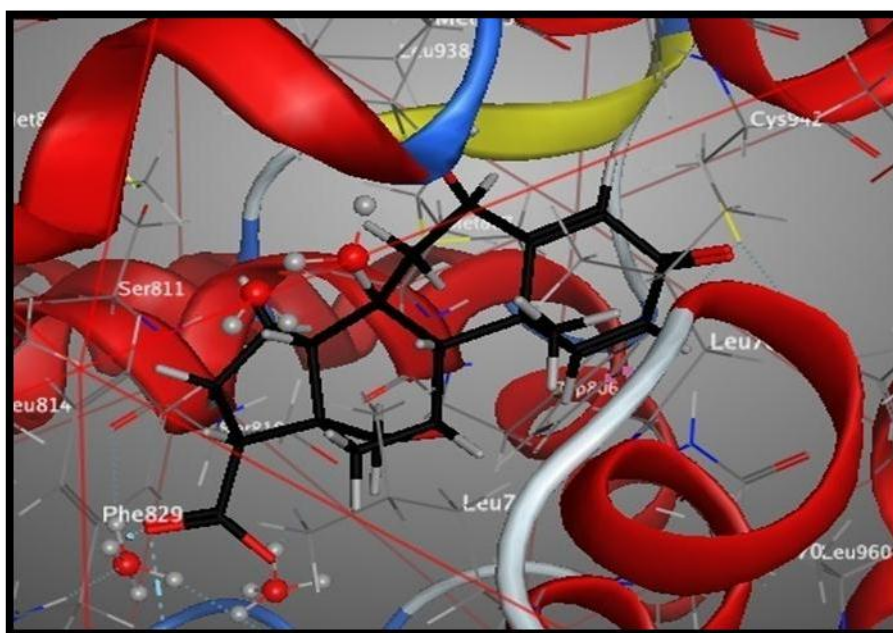


Figure 31 : Interactions enzyme-L5 dans le solvant

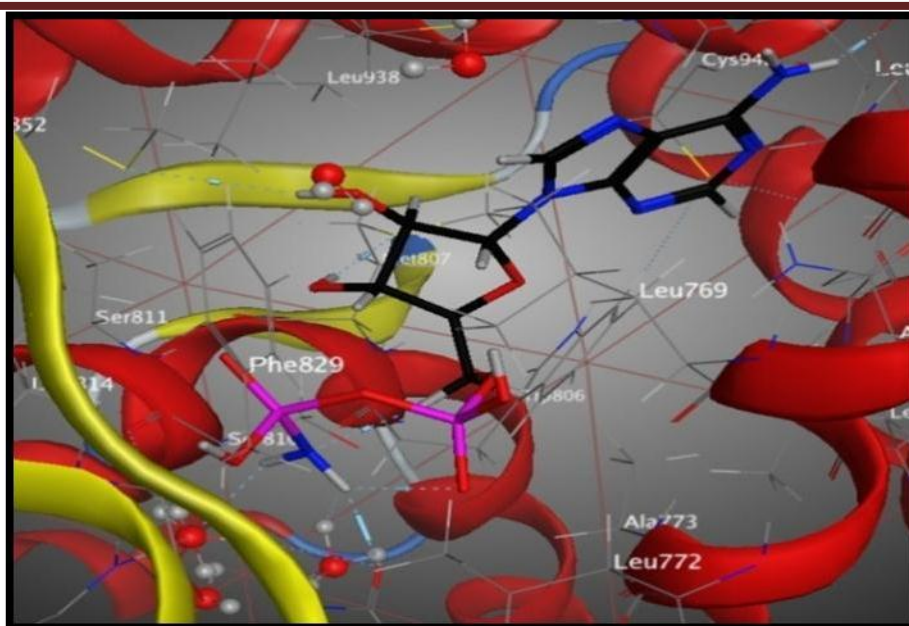


Figure 32 : Interactions enzyme-D2 dans le solvant

Conclusion

Dans le but de déterminer les interactions enzymes- substrat nous avons effectué des calculs de docking moléculaire pour rechercher la conformation la plus stable qui correspond à une énergie la plus faible qu'adopte le complexe formé.

Tableau 21 : Energies sans et avec solvant

Complexes	E(kcal/mol) sans solvant	E (kcal/mol) avec solvant
E- L5	-10.20	-12.05
E- D2	-7.77	-15.08

D'après le tableau 21, le docking moléculaire montre que L5 et D2 possède les énergies les plus faibles donc ce sont les plus stables.

On Remarque que l'effet de solvant stabilise les complexes car l'énergie obtenus est plus basse que celle en milieu non solvate.

D2 est un bon inhibiteur donc il représente une meilleure complémentarité pour notre enzyme. Pour cela on propose la synthèse du ligand **D2** et l'étude de différentes activités biologiques telles que l'effet de toxicologie.

RESULTATS ET DISCUSSION

4.3. Troisième étude : *Le docking moléculaire de 11 β -HSD1 avec ses inhibiteurs (les dérivés de 1, 2,4 triazole) dans un milieu solvaté*

Le docking moléculaire de 11 β -HSD1 avec les inhibiteurs : dérivés de (1, 2,4 triazole) dans un milieu solvaté.

Notre travail est basé sur l'étude de l'interaction de l'enzyme 11 β -HSD1 avec les dérivés de 1, 2,4 triazole par modélisation moléculaire précisément le docking moléculaire en milieu solvaté pour la confirmation des études expérimentaux de certains inhibiteurs des dérivés de 1, 2,4 triazole [16] avec l'enzyme 11 β -HSD1.

La méthode de solvation explicite représente le solvant de façon microscopique. Dans ce cas on génère une cage de solvation autour de la molécule, C'est-à-dire que l'on ajoute « tout simplement » et de manière aléatoire un nombre de molécules de solvant (eau) correspondant à sa densité. On crée une boîte ou une sphère d'une dimension définie autour de la molécule que l'on remplit de molécules d'eau. Le docking moléculaire en milieu solvaté [21] a été réalisé par le logiciel MOE (Molecular Operating Environment).

La protéine de l'hypertension choisie a été téléchargée à partir de la Banque de donnée « Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb) » 11 β -HSD1 (code : 4YYZ)

A. Minimisation d'énergie des inhibiteurs et le récepteur

L'énergie de minimisation de l'enzyme simplifié calculée est égale à (E=3.92829kcal/mol qui correspond à la conformation la plus stable

L'optimisation de l'énergie des inhibiteurs se fait à l'aide de champ de force AMBER implémenté dans logiciel Hyperchem 8.0.3, les résultats sont représentés dans le tableau 22.

Tableau 22 : Energie minimisation des molécules

Molécules	Energies (kcal/mol)
Molécule01	-1851.97
Molécule02	-1933.89
Molécule03	-2133.77
Molécule04	-2560.45

RESULTATS ET DISCUSSION

La création et l'isolation du site actif de l'enzyme se fait à l'aide de MOE.

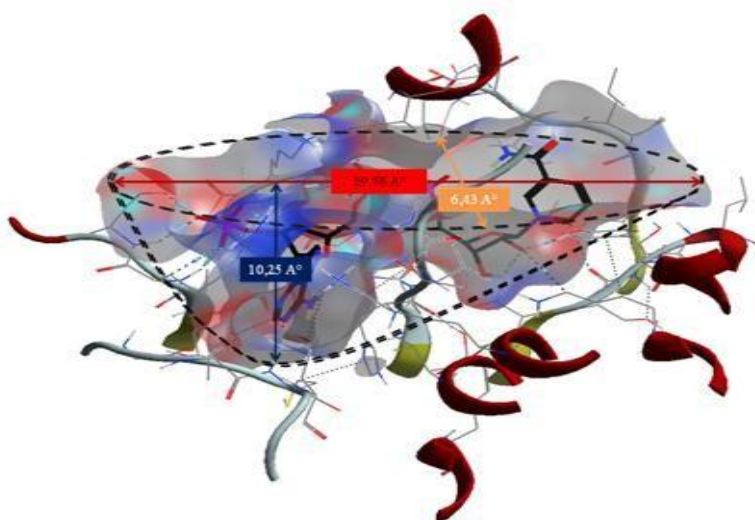


Figure 33 : Création et isolation du site actif de l'enzyme

B. Préparation de boîte de solvant

L'ensemble des simulations qui seront présentées dans ce travail a été effectué en utilisant un modèle de solvant représenté explicitement. Pour étudier une molécule en solvant explicite, il est nécessaire de la solvater, c'est-à-dire de la plonger entièrement dans une "boîte de solvant". Cette méthode représente chaque molécule d'eau autour de soluté comme une molécule triatomique donnée, comme elle est représentée schématiquement dans la figure 34.

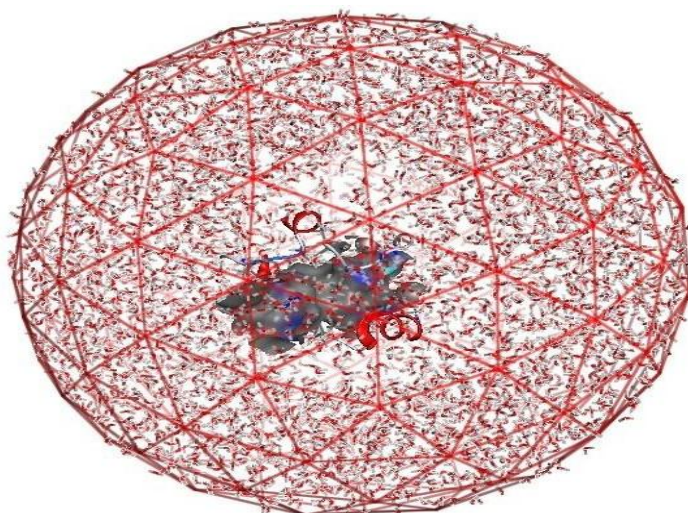


Figure 34 : Formation d'une sphère de solvant

RESULTATS ET DISCUSSION










Une sphère d'une dimension définie est créée autour du complexe rempli de molécules d'eau (solvant).

Tableau 23 : Paramètre de solvant

Mode	Droplet
shape	Sphere
margin	2.00
solvent	Water
delete	far
salt	"
center	0
align	0
UpdatePotential	1
ClashCutoff	10.00
wallForce	100.00
add_H	1
verbose	1

C. Résultats et discussion

Tableau 24 : Poses du ligand L4

	mol	rseq	mseq	S	rmsd_refine	E_conf	E_place	E_score1	E_refine	E_score2
1		1	1	-11.7119	0.8803	110.3024	-115.4555	-14.0198	-15.4875	-11.7119
2		1	1	-11.5698	2.5317	106.5940	-45.4826	-12.9866	-20.8902	-11.5698
3		1	1	-11.0829	1.1248	99.6140	-88.2702	-13.9216	-12.1789	-11.0829
4		1	1	-10.8060	1.3991	110.3295	-121.5264	-13.1389	-11.8219	-10.8060
5		1	1	-10.5635	1.2256	113.1086	-73.1899	-13.3215	-6.0819	-10.5635
6		1	1	-8.2359	1.3727	114.1966	-78.0917	-14.2648	14.6465	-8.2359
7		1	1	-8.2023	1.3777	120.0791	-40.1224	-13.8718	19.1371	-8.2023
8		1	1	-5.2369	1.3517	115.8709	-70.4597	-13.0380	43.4727	-5.2369
9		1	1	-4.8620	1.1156	120.8904	-1.9548	-13.5825	59.2194	-4.8620

La meilleure pose du ligand dans le site actif de l'enzyme a été choisie selon le meilleur Score.

Les résultats des énergies d'interaction obtenues par le logiciel MOE est sous la forme ΔG (énergie libre), ce dernier est corrélé avec constante d'inhibitrice K_i du même complexe selon la formule suivante [21] :

RESULTATS ET DISCUSSION

$$\Delta G = - RT \cdot \ln K_i$$

Avec R : constante de Gaz (1.937cal. Mol⁻¹k⁻¹), T : la température en kelvin (298k)

Les valeurs IC₅₀ sont déterminées expérimentalement dans littérature par des essais in vitro [21].

Tableau 25 : L'énergie des complexes et les propriétés biochimiques des inhibiteurs 11b-HSD1

Complexes	Rmsd-refine(Å)	Ic ₅₀ (nM)	log IC ₅₀	ki	Δ G(kcal/mol)
11β-HSD1_MOL1	1.43	31.2	1.49	101.62.10 ⁻²	-9.31
11β-HSD1_MOL2	0.73	30.4	1.48	101.72.10 ⁻²	-9.90
11β-HSD1_MOL3	1.76	7.5	0.87	101.81.10 ⁻²	-10.46
11β-HSD1_MOL4	0.88	3.0	0.47	102.72.10 ⁻²	-11.71

A la lumière des résultats obtenus le complexe 11β-HSD1_MOL4 a une énergie égale à **-11,71 Kcal / Mol** avec un faible RMSD égale à **0.88Å**, c'est le complexe le plus stable. On conclut que **MOL4** est probablement le meilleur inhibiteur de l'enzyme.

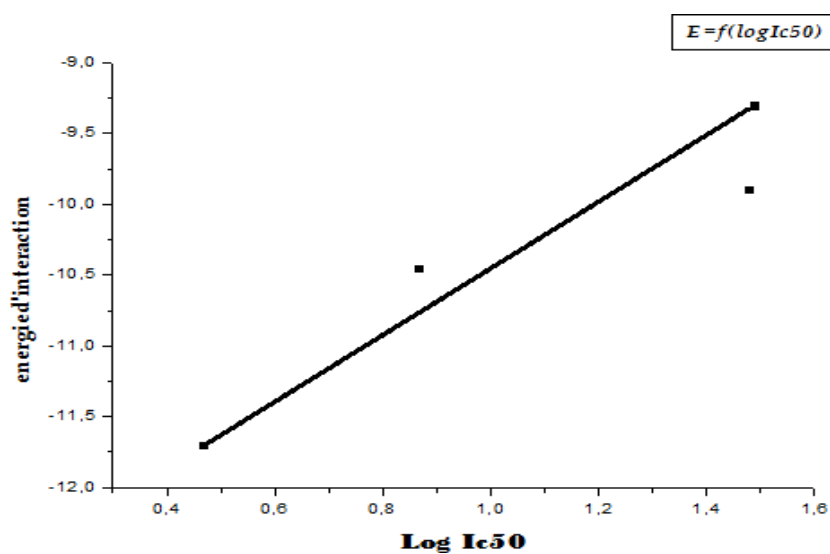


Figure 35 : Corrélation entre l'activité biologique log IC₅₀ des ligands et leur énergie d'interactions avec 11β-HSD1 enzyme

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse de régression linéaire réalisée entre les énergies d'interaction et IC₅₀ (log IC₅₀) fournit un diagramme de dispersion avec un coefficient de corrélation égale à 0.693. Cette valeur indique qu'il y a une faible corrélation entre les deux variables.

Les résultats du Docking moléculaire des quatre complexes présentent une valeur de RMSD inférieure à 2Å

Les distances mesurées varient entre 2,65 Å et 4.31 Å. Ces valeurs sont applicables aux carbohydrates selon *Imberty* [19], on peut par analogie concernant avec nos macromolécules pouvoir appliquer ces intervalles.

D'après les résultats obtenus des interactions formé entre les ligands et les résidus du site actif de l'enzyme 11β-HSD1 sont des liaisons hydrogène fortes et moyennes, on conclue qu'on a une meilleure fixation du ligand dans le site actif. Les résultats des interactions sont représentés dans le tableau 26.

Tableau 26 : Distances des interactions enzymes- ligand

Molécules	Ligands	Récepteurs	Interactions	Distances (A°)	E (kcal/mol)
Mol1	O 45	NH2 ARG 66	(A) H-accepteur	2.95	-7.8
Mol2	F 28	NH2 ARG 66	(A) H-accepteur	2.65	-1.0
Mol3	O 43	N ARG 66	(A) H-accepteur	2.95	-7.8
	O 43	NE ARG 66	(A) H-accepteur	3.36	-1.2
	O 43	NH2 ARG 66	(A) H-accepteur	3.34	-1.2
	5-ring	N ILE 46	(A) pi-H	4.31	-0.6
Mol4	N 9	CA GLY 45	(A) H-accepteur	3.30	-1.0
	N 22	N ILE 121	(A) H-accepteur	3.61	-0.6
	F 32	N MET 93	(A) H-accepteur	2.82	-1.0

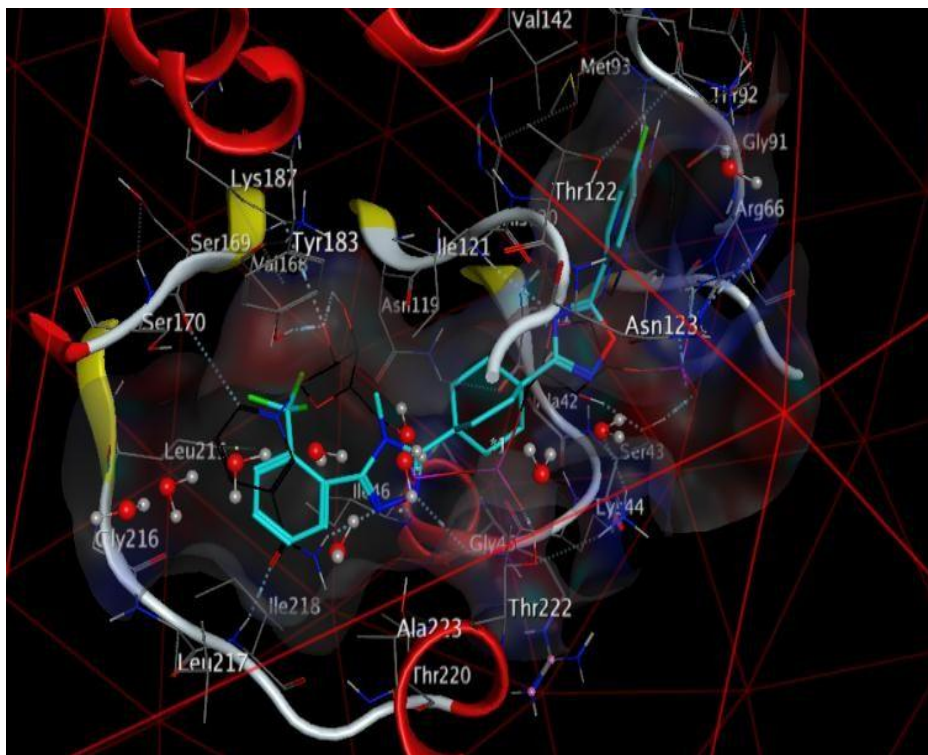


Figure 36 : Interactions 11β-HSD1-ligand 4 dans la cavité (3D)

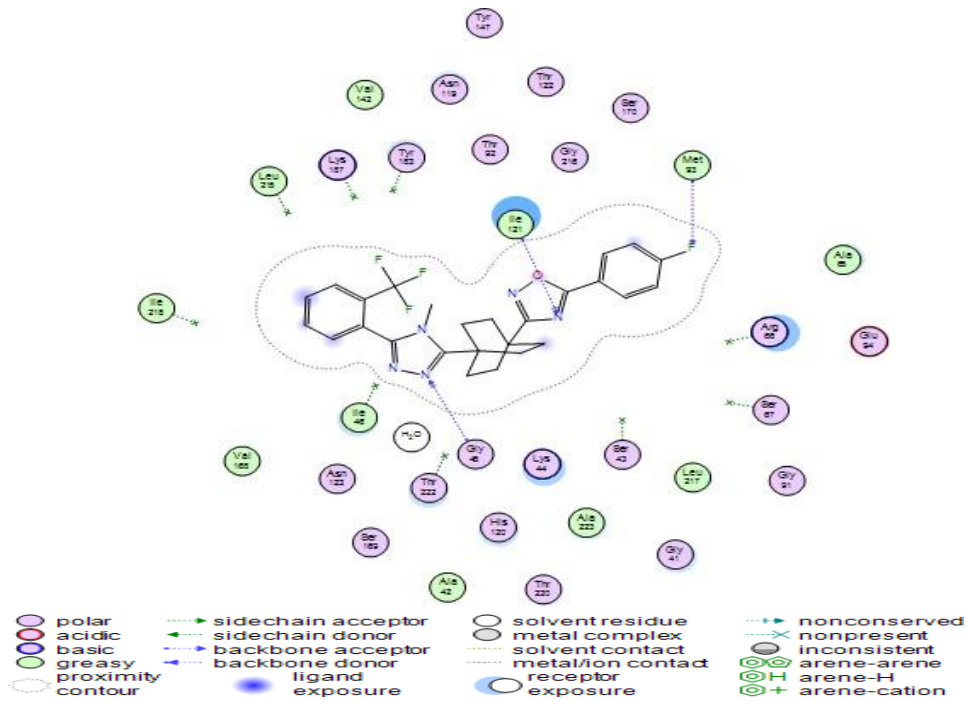
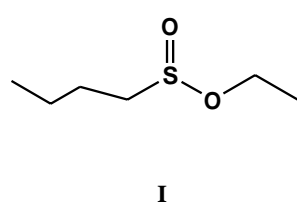
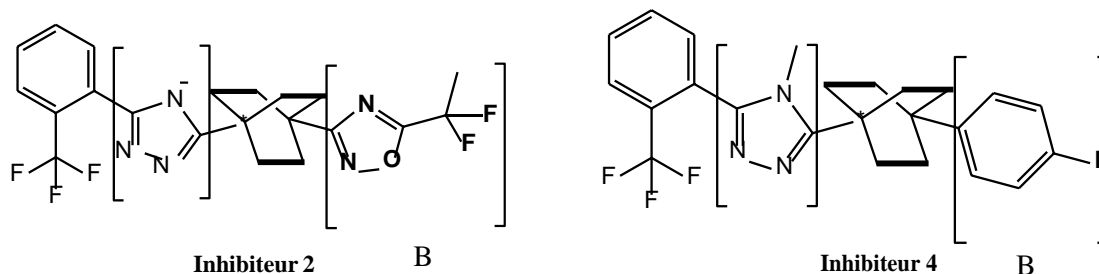
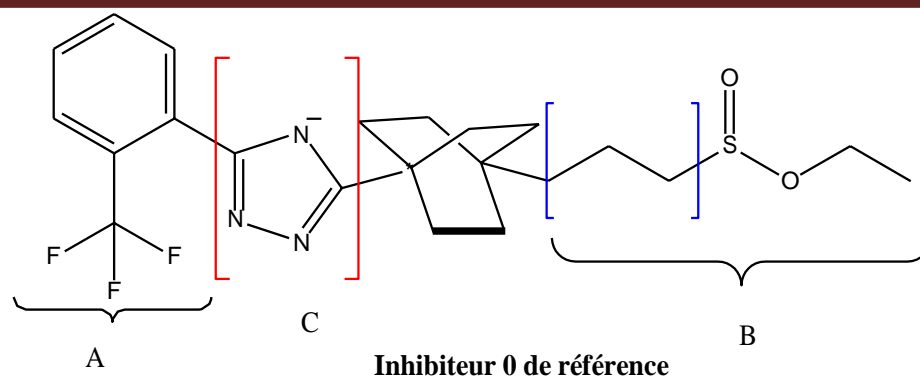
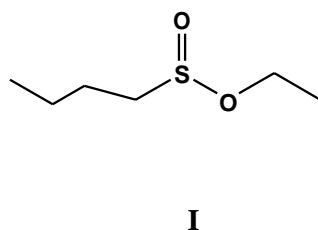
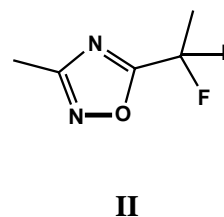


Figure 37 : Interactions H_bond de complexe E-L4 (2D)

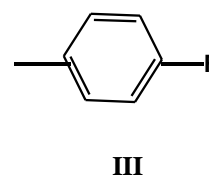
RESULTATS ET DISCUSSION



est remplacé



est remplacé



Dans la deuxième étape on a remplacé la chaîne latérale B par d'autres groupements :

- Substituant I par le substituant II,
- Substituant I par le substituant III

D'après les calculs du Docking moléculaire, le complexe formé avec l'inhibiteur **MOL4** est plus stable que le complexe formé avec l'inhibiteur **MOL2**. L'effet donneur mésomère du fluor

RESULTATS ET DISCUSSION

augment la conjugaison du cycle aromatique ainsi que la stabilité du complexe formé entre l'enzyme le 11 β -HSD1 et l'inhibiteur **MOL4**.

D'après les résultats obtenus le complexe-inhibiteur **MOL4** est le plus stable.

Conclusion

Dans le but de déterminer les interactions enzymes- substrat on a effectué des calculs de Docking moléculaire pour rechercher la conformation la plus stable qui correspond à une énergie la plus faible qu'adopte le complexe formé.

Les résultats du Docking moléculaire montrent que les quatre composés, présentent une activité inhibitrice mais l'inhibiteur **MOL4** est le plus stable car il possède une énergie la plus basse et une concentration inhibitrice **IC₅₀** la plus faible d'après la littérature [22]. Donc les calculs théoriques par Docking moléculaire ont bien confirmé les résultats expérimentaux [22]. En conclusion l'inhibiteur **MOL4** est probablement le meilleur inhibiteur de notre enzyme.

4.4. Quatrième étude : Criblage Virtuel des Inhibiteurs Triazoles de l'Enzyme 11 β -Hydroxystéroïde Déshydrogénase en utilisant ADME, Docking Moléculaire et Dynamique Moléculaire.

La 11-Bêta-Hydroxystéroïde déshydrogénase 11 β -HSD est une enzyme qui exerce une action régulatrice sur le métabolisme du cortisol avant d'accéder aux récepteurs. Cette enzyme existe sous formes : L'isoforme 11-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11- β -HSD-1) est largement exprimée dans le foie, les tissus adipeux, le cerveau, les poumons et d'autres tissus glucocorticoïdes¹, tandis que l'expression des isoformes 2 (11- β -HSD-2) est limité aux tissus qui expriment le récepteur minéralo-corticoïde, tels que le rein, l'intestin et le placenta.

La maladie est due à une mutation du gène CYP11B1 situé sur le chromosome 8q21. Le déficit en stéroïdes 11-bêta-hydroxylase entraîne une diminution de la sécrétion de cortisol et de l'hypertension en raison de l'accumulation de précurseurs glucocorticoïdes et de minéralocorticoïdes. L'enzyme (11- β -HSD1) joue un rôle majeur dans la régulation de la pression artérielle. Le 11 β -HSD2 assure la conversion du cortisol en cortisone.

L'excès de cortisol est associé à de nombreux troubles, notamment le diabète, l'obésité, la dyslipidémie, la résistance à l'insuline et l'hypertension.

Ainsi, le 11- β -HSD1 est une cible potentielle pour une thérapie associée à de nombreux troubles qui peuvent être améliorés par une réduction de l'action des glucocorticoïdes.

Par conséquent, l'inhibition du 11- β -HSD1 peut être utilisée pour prévenir, traiter ou contrôler les maladies médiées par des niveaux anormalement élevés de cortisol et d'autres 11- β -hydroxystéroïdes comme le diabète, l'obésité, l'hypertension ou la dyslipidémie. L'activité d'inhibition du 11- β -HSD-1 dans le cerveau [24], telle que la baisse des taux de cortisol, peut

RESULTATS ET DISCUSSION

également être utile pour traiter ou réduire l'anxiété, la dépression, les troubles cognitifs ou les dysfonctionnements cognitifs liés à l'âge [24].

La compréhension des mécanismes d'action de ces deux enzymes nous a conduit à chercher les meilleurs inhibiteurs ouvrant ainsi de nouvelles perspectives thérapeutiques. Après optimisation des ligands et de l'enzyme, nous procédons au positionnement des ligands dans le site actif des enzymes (4YYZ) et (3HFG) en utilisant (Docking moléculaire) avec le logiciel MOE (Molecular Operating Environment).

La recherche de modes de liaison est généralement limitée à une petite région spécifique du récepteur appelée site actif [25].

Nous avons ensuite enregistré le meilleur score, c'est-à-dire que celui avec l'énergie la plus faible correspondant aux meilleures interactions entre le ligand et le site actif de l'enzyme.

Les molécules d'eau dans les cavités enzymatiques peuvent parfois être un élément fondamental.

Ils sont capables d'assurer le relais entre le récepteur et le ligand et ainsi créer des réseaux de liaisons hydrogène. Nous nous sommes donc fixés pour objectif d'étudier nos complexes par solvatation.

Cette étude visait à élucider théoriquement l'activité d'inhibition de deux enzymes 11 β -HSD (11 β -HSD1 et 11 β -HSD2) par des dérivés de 1,2,4-triazoles en utilisant les deux méthodes de simulation, la dynamique moléculaire et le Docking moléculaire.

Les inhibiteurs synthétiques choisis pour (11 β -HSD1 et 11 β -HSD2) sont donnés dans (Fig 38). Ces résultats peuvent aider au développement d'un outil thérapeutique efficace pour prévenir le traitement de l'hypertension artérielle 1 (HAP).

1. Matériels et Méthodes

1.1 Récupération de la structure des macromolécules

Le téléchargement de la 11-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11 β -HSD1) a été effectué à partir de PROTEIN DATA BANK (<http://www.rcsb.org/pdb>) (ID: 4YYZ) avec trois dimensions structure obtenue par diffraction des rayons X (résolution 3,2 Å (Fig39 et 40) et type 2 (11 β -HSD2) a été réalisée à partir de (séquence de référence NCBI: NM_000196.3).

Les détails relatifs à la 11 β -HSD1 sont donnés dans (tableau 27) Premièrement, nous avons essayé d'aligner l'enzyme 11 β -HSD1 du code (4YYZ) et l'enzyme 11 β -HSD2 (séquence de référence NCBI: NM_000196.3) [26] afin de générer un modèle pour 11 β -HSD2 mais cela a été difficile pour atteindre, nous nous sommes donc basés sur la référence [26] et nous avons choisi une autre enzyme 11 β -HSD1 du code: (3HFG) et c'était faisable. 11 β -HSD2 (séquence de référence NCBI: NM_000196.3) [26] et les coordonnées de la structure cristalline de 11 β -HSD1 (code PDB: 3HFG) [27] ont été chargées dans le MOE.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les structures primaires de 11 β -HSD1 et 11 β -HSD2 ont été alignées, soigneusement vérifiées pour éviter les suppressions ou les insertions dans les régions préservées et corrigées lorsque cela était nécessaire.

Une série du modèle 11 β -HSD2 a été construite en utilisant une procédure randomisée pondérée par Boltzmann [28] combinée à une logique spécialisée pour le traitement des insertions et suppressions de séquences [29]. Parmi les 6 modèles générés pour 11 β -HSD2, le meilleur a été sélectionné dans notre étude pour une minimisation énergétique complète et une inspection plus approfondie. L'énergie de l'enzyme a été minimisée et la géométrie a été réalisée en utilisant Hamiltonian AM1 implanté dans le logiciel MOE puis l'isolement du site actif de l'enzyme (cible).

La géométrie la plus stable de chaque structure de molécule (ligand) a été minimisée par la même méthode (AM1). D'autres chaînes et molécules d'eau ont été retirées à l'aide de PyMol (Fig. 39). PyMol est un outil logiciel open source utile pour effectuer des graphiques moléculaires [30].

Le logiciel MOE (Molecular Operating Environment) nous a permis d'identifier et de présenter les résidus qui forment le site actif grâce au module "Site Finder" qui comprend un outil de détection de la cavité enzymatique, ainsi que le site le plus favorable [31, 32].

Tableau 27 : Détails relatifs aux 11 β -HSD1 et 11 β -HSD2.

Protéine	Méthodes	Résolution (Å)	R-Value Free	Nombre de résidus	Ligands de Co-cristallisation
11 β -HSD1	X-ray diffraction	3.2	0.267	518	Query on 4JX
11 β -HSD2	X-ray diffraction	2.9	0.274	1028	Query on NAD

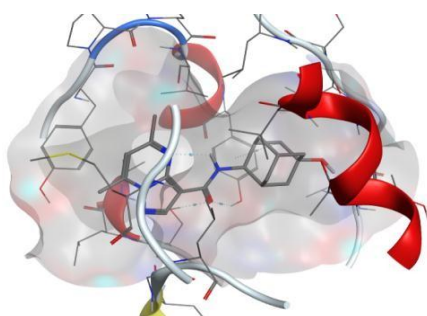


Figure 39 : Modèle simplifié de 11 β -HSD1

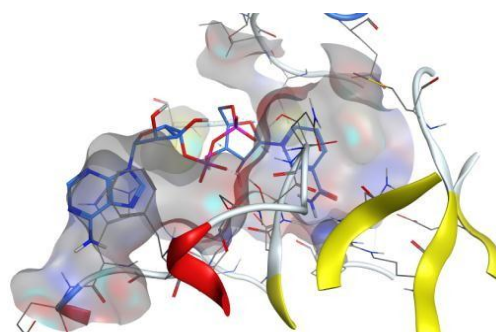


Figure 40 : Modèle simplifié de 11 β -HSD2

RESULTATS ET DISCUSSION

1.2 Analyse des drogues

Avant de calculer les interactions entre l'enzyme et les cinq composés, il est nécessaire d'évaluer les paramètres permettant leur validation en tant que médicament [33].

La règle de Lipinski également connue sous le nom de cinq règles (RO5) nous donne une information si ce médicament serait un composé oralement actif chez l'homme. Molinspiration (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>) a été utilisée pour calculer Les propriétés de Lipinski.

La règle a été formulée par Christopher A. Lipinski en 1997. Elle est basée sur l'observation et nous informe que les médicaments administrés par voie orale sont relativement plus petits et modérément lipophiles [13, 14]. Selon (tableau 28), les ligands satisfont à la règle de Lipinski. Ces informations supplémentaires sur d'autres propriétés moléculaires confirment que ces molécules sont biologiquement actives [33].

Tableau 28 : énergie de minimisation des composés dérivés du triazole (Kcal / mol) et paramètre solvant.

Land	Toxicity	Rsynth 100%	Weight g/mol	TPSA (Å ²)	logp	Logs
Ligref	No	62.50%	469.57g/mol	76.22 (donneur :0 ; accepteur : 4)	6.24	-7.19
Mol1	No	100 %	379.38g/mol	68.01 (donneur :1 ; accepteur : 4)	4.85	-4.37
Mol2	No	73.91%	311.40g/mol	30.71 (donneur :0 ;a accepteur : 5)	4.31	-3.46
Mol3	No	100 %	285.29g/mol	78.76 (donneur :0 ;a accepteur : 5)	1.42	-4.47
Mol4	No	100 %	244.21g/mol	143.72(d donneur :4 ; accepteur : 7)	-2.92	0.47
Mol5	No	100 %	349.32g/mol	76.72 (donneur : 1 ; accepteur :5)	2.75	-3.41
Mode	Shape	Margin	Update Potentiel	Clash Cutoff	Wall Force	Verbose
Droplet	Sphere	2.00	01.0	10.00	100.00	01.00

Ces composés sont capables de présenter une activité biologique très importante conformément à la règle de Lipinski., Et al. (1997) [27].

1.3 Simulation de dynamique moléculaire (MD)

Le meilleur conformère de deux protéines isozymes de la 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase avec des ligands a été soumis à la dynamique moléculaire DM a été réalisée pour les deux complexes en utilisant le logiciel MOE. La simulation dynamique du MOE utilise les équations de mouvement de Nosé-Poincaré Andersen (NPA) [30,31].

RESULTATS ET DISCUSSION

Les coordonnées ont été stockées toutes les 0,5 ps pour obtenir une vue précise du mouvement moléculaire. Dans toutes les simulations, la distance de coupure de van der Waals a été fixée à 8Å.

Les interactions des acides aminés du système ont été définies à l'aide de l'algorithme NPA et du champ de force MMFF94x.

Les protocoles et étapes par défaut du DM ont été utilisés pour optimiser l'équilibre du système à 50 ps et le cycle de production à 800 ps. Nous avons utilisé la simulation DM pour chaque complexe ligand-protéine pour évaluer la stabilité des interactions pour chaque pose d'amarrage.

Ici, nous avons montré l'analyse détaillée des résultats de simulation DM de seulement deux composés (L1, L2) avec la cible 11β-HSD1 et 11β-HSD2 (Fig 39 et 40) parce que ces composés montrent une meilleure affinité de liaison pour les deux récepteurs. En fin de compte et selon l'analyse de simulation de la dynamique moléculaire parmi ces 2 composés, les composés les plus actifs étaient L1 et L2 dans les protéines 11β-HSD1.

Propriétés ADME

Prédiction ADME / T L'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) des molécules sont leurs propriétés pharmacocinétiques et doivent être évaluées pour résoudre leur activité à l'intérieur du corps. Les propriétés ADMET des molécules ont été analysées en utilisant adm et SAR, un outil de prédiction ADMET en ligne (<http://lmm.d.ecust.edu.cn:8000/>) [34].

2. Résultats et discussion

2.1 Docking moléculaire

Afin de résoudre les interactions enzyme-substrat, nous avons effectué des calculs d'amarrage moléculaire afin de trouver la conformation la plus stable qui correspond à l'énergie la plus basse adoptée par le complexe formé.

Nous avons effectué les calculs en utilisant de l'eau comme solvant. (Tableau 29, 30) montrent que L2 et L1 interagissent tous les deux avec les différents acides aminés présentant une forte interaction de type H-accepteur avec des distances comparables de (2,99 Å - 3,85 Å) et 2,82 Å consécutivement.

Cependant, les résultats obtenus montrent que le complexe_11β-HSD1_LIG 02 a la plus faible énergie (-8,34 Kcal / mol) il est plus actif que le complexe_11β-HSD1_LIG 01 (-7,86 Kcal / mol) contrairement au complexe_11β-HSD2_LIG 01 (-7,48 Kcal / mol) a l'énergie la plus faible et est plus active que le complexe_11β-HSD2_LIG 02 (-6,18 Kcal / mol). Les inhibiteurs L2 et L1 interagissent tous les deux avec les différents acides aminés présentant une forte interaction de type H-accepteur 2,82 Å et (2,99 Å-3,85 Å) (Fig 41 et 42). Un point important est également obtenu à partir

RESULTATS ET DISCUSSION

du tableau 29 que l'énergie de (complexe-ref -5,67 Kcal / mol) pour (11 β -HSD1 est importante en comparaison avec celle obtenue par les 5 ligands.

Contrairement à (11 β -HSD2) l'énergie (complexe-ref -9,98 Kcal / mol) est faible par rapport à ceux des 5 ligands. Par conséquent, ces ligands inhibent mieux l'enzyme 11 β -HSD1.

Par conséquent, nous pouvons valider les dérivés L2 subsistants du 1,2,4-triazole comme meilleur inhibiteur.

Tableau 29 : Bilan énergétique des complexes formés par 5 dérivés de composés triazoles (Kcal / mol)

Complexes	E(kcal/mol)	RMSD-refine(Å)	E_conf	E_place	E_refine
11β-HSD1_LIG Ref	-5.67	2.19	-14.70	-14.70	47.54
11 β -HSD1_LIG01	-7.86	-65.82	-48.32	-48.32	-4.81
11 β -HSD1_LIG 02	-8.34	-32.79	-41.84	-41.84	-10.25
11 β -HSD1_LIG 03	-6.84	-94.00	-105.53	-105.53	-15.16
11 β -HSD1_LIG 04	-6.12	-107.19	-72.64	-72.64	-10.83
11 β -HSD1_LIG 05	-6.67	-48.82	-61.79	-61.79	2.49
11β-HSD2_LIG Ref	-9.98	2.11	68.43	-33.73	-7.94
11 β -HSD2_LIG01	-7.48	1.70	-70.82	-60.47	-8.50
11 β -HSD2_LIG 02	-6.18	1.776	-23.10	7.14	14.10
11 β -HSD2_LIG 03	-6.81	3.66	-89.34	-111.11	-4.39
11 β -HSD2_LIG 04	-6.22	2.97	-104.77	-102.77	-4.13
11 β -HSD2_LIG 05	-6.80	2.68	52.25	-32.88	-6.98

S: The final score; is the last step's score. **RMSD_refine:** The mean square deviation between the laying before refinement and after refinement poses. **E_conf:** Energy conformer. **E_place:** Score of the placement phase. **E_scor1:** Score of the first step of notation. **E_refine:** Score of the refinement step and the number of conformations generated by ligand. **E_scor2:** Score of the first step notation, number of poses: Number of conformation

RESULTATS ET DISCUSSION

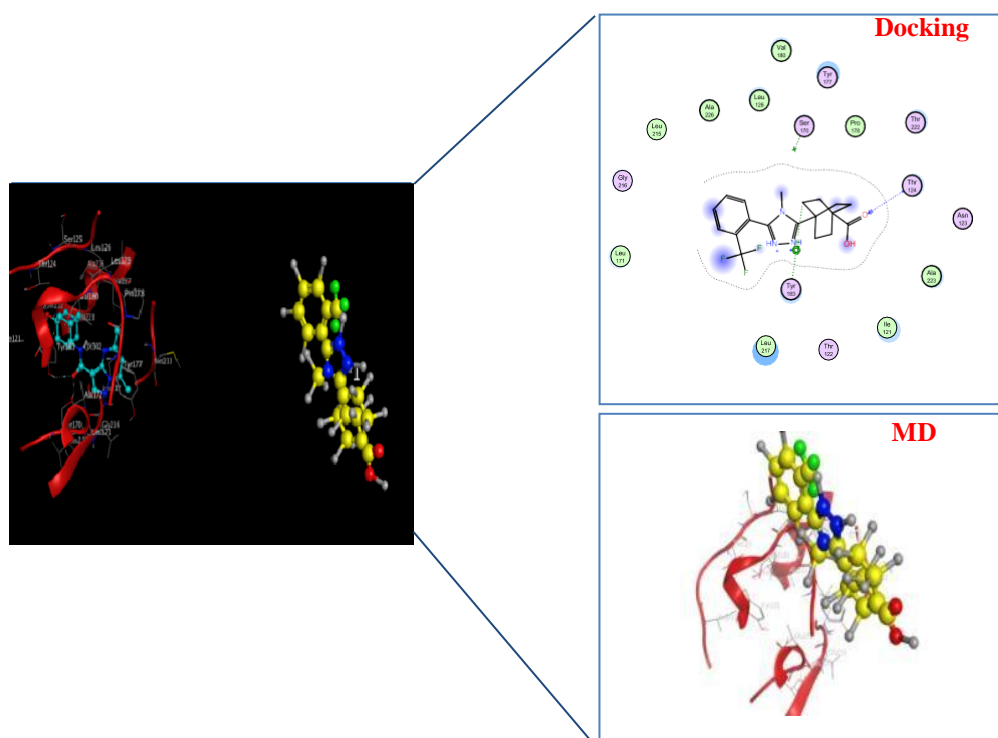


Figure 41 : Le composé -1 est bien ancré dans le site de liaison de la protéine 1-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 et a le score de qui le plus élevé. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 800 ps.

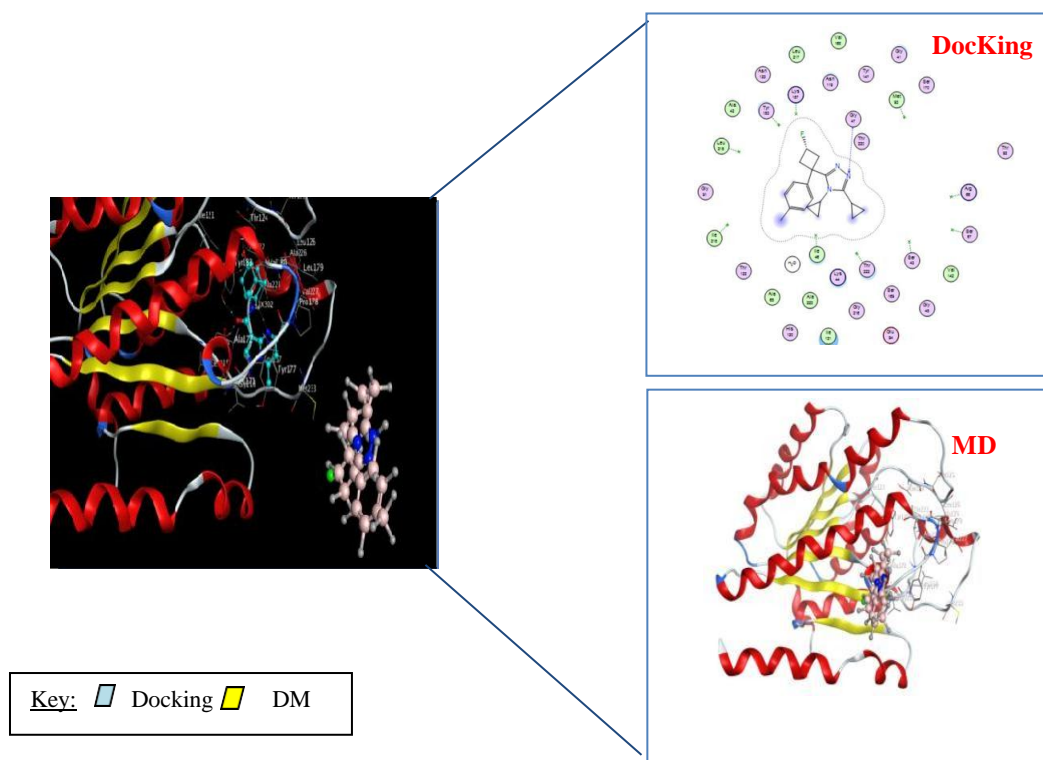


Figure 42 : Le composé -2 est bien ancré dans le site de liaison de la protéine 1-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 et a le score de qui le plus élevé. Il existe également une nette différence entre la pose d'accostage et la pose finale du ligand après une simulation de dynamique moléculaire (DM) de 800 ps

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 30 : Résultats Liaisons entre les atomes des composés et les résidus du site actif en 11 β -HSD1 et 11 β -HSD2

Complexes	Atome de composé	Atomes des récepteur impliqués	Résidus des récepteurs impliqués	Type de l'interaction	Distance (Å)	Energie (kcal/mol)
11β-HSD2_LIGRef	N 14	O	HOH(0)	H-acceptor	3.42	-0.7
	6-ring	6-ring	PHE (282)	Pi-pi	3.76	0.0
11 β -HSD2_LIG01	N3 13	O	HOH(0)	H-donneur	3.25	-3.7
	5-ring	O	HOH(0)	Pi-H	4.22	-1.1
11 β -HSD2_LIG 02	N14 14	O	ASP(274)	H- donneur	2.86	-9.7
	N15 15	OD2	ASP(274)	H- donneur	3.21	-7.4
	N14 14	OD2	ASP(274)	Ionic	3.45	-2.1
	N15 15	OD2	ASP(274)	ionic	3.21	-3.2
11 β -HSD2_LIG 03	N12 12	OD1	ASP(274)	H- donneur	3.25	-0.8
	N12 12	OD2	ASP(274)	H- donneur	3.68	-12.5
	S16 16	OD1	ASP(274)	H- donneur	3.35	-2.2
	N12 12	OD1	ASP(274)	Ionic	3.25	-3.0
	N12 12	OD2	ASP(274)	Ionic	3.68	-7.0
	5-ring	O	HOH(0)	Pi-H	4.73	-0.8
11 β -HSD2_LIG 04	N13 15	O	HOH(0)	H- donneur	2.65	-4.8
	O9 11	O	HOH(0)	H-accepteur	3.10	-3.2
	O9 11	O	HOH(0)	H- accepteur	2.87	-1.0
	C3 3	5-ring		H-Pi	4.00	-1.4
11 β -HSD2_LIG 05	N 30	OG1	THR(252)	H- accepteur	2.78	-1.6
	5-ring	NE2	HIS(253)	Pi-cation	3.76	-1.7
11β-HSD1_LIGRef	O 48	O	HOH (0)	H-a accepteur	2.87	-1.8
	C 60	6-ring	TYR(177)	H-Pi	3.87	-0.6
	6-ring	CB	TYR(177)	Pi-H	4.05	-0.7
	5ring	6-ring	TYR(183)	Pi-Pi	3.33	-0.0
11 β -HSD1_LIG01	O25 25	N	THR(124)	H- accepteur	2.99	-3.6
	C17 17	6-ring	THR(183)	H-Pi	3.85	-1.0
11 β -HSD1_LIG 02	N14 14	O	HOH(0)	H- donneur	2.82	-7.6
11 β -HSD1_LIG 03	6-ring	OG	SER(170)	Pi-H	3.87	-0.8
11 β -HSD1_LIG 04	O7 7	OG	SER(170)	H- accepteur	2.82	-0.6
11 β -HSD1_LIG 05	N20 20	O	GLY(216)	H- donneur	2.72	-4.2

In vitro, de nombreuses études ont porté sur l'effet inhibiteur des triazoles sur les enzymes clés liées à l'hypertension artérielle 1 (HAP), la 11-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11 β -HSD1) et de type 2 (11 β -HSD2). Beck et al ont identifié que l'itraconazole est un inhibiteur plus puissant du 11 β -HSD2 (IC₅₀ 139 \pm 14 nM), de son métabolite actif hydroxyitraconazole (IC₅₀ 223 \pm 31 nM) et du posaconazole (IC₅₀ 460 \pm 98 nM) [35].

Chapman et al ont également montré que l'inhibition du 11 β -HSD2 provoque un excès minéralocorticoïde apparent et une hypertension due à une activation inappropriée des glucocorticoïdes de la RM rénale [36].

Roberto et al ont identifié que le diéthylcarbamate est l'inhibiteur le plus puissant du 11 β -HSD2 (IC₅₀ 6,3 microM) et suggèrent que Abietic l'acide inhibe à la fois 11 β -HSD1 (IC₅₀ 27 microM pour la réduction et 2,8 microM pour l'oxydation) et 11beta-HSD2 (IC₅₀ 12 microM) [37].

Cela signifie que le logiciel adapté MOE (Molecular operating environment), ne détecte aucune trace de l'interaction hydrophobe s entre les dérivés subsistants L2 (meilleur inhibiteur) des

RESULTATS ET DISCUSSION

1, 2, 4-triazoles et les deux enzymes, ce qui peut être lié à la grande taille de ce ligand et au nombre élevé d'angles de torsion.

2.2 Dynamique moléculaire

Propriétés thermodynamiques :

En utilisant l'approche de simulation DM, nous avons étudié les propriétés thermodynamiques d'évolution du complexe 1 et du complexe 2 dans l'ensemble NVT (tableau 31).

Tableau 31 : Propriétés thermodynamiques calculées en réel unités. Pression $W_p = W_p^* \epsilon / \sigma^{-3}$,

Energie de configuration $EC = EC^* N\epsilon$, Energie de Translation $ET = ET^* N\epsilon$ et Enthalpie $EH = EH^* N\epsilon$.

Stage	Méthode	EH	EC	ET	Wp	V
SP ₁	NVT11β-HSD2_LIG01	0.02455±0.00550	32356.36±0.2451	2523.00±0.0214	110.2356±0.2251	35423.00±0.5541
	NVT11β-HSD2_LIG02	0.52140±0.01524	42536.23±0.4152	5425.00±0.0142	54.230±0.4451	3423.00±0.6523
	NVT11β-HSD2_LIG01	-0.12450±0.0245	3025.326±0.0215	2543.00±0.0012	105.550±0.5542	2054.23±0.0025
	NVT11β-HSD2_LIG02	1.21450±0.24510	3203.236±0.1425	4523.00±0.0012	85.365±0.5623	3425.30±0.2415
	NVT11β-HSD2_LIG01	2.23562±0.0256	2153.00±125420	5421.00±0.0145	55.236±0.4525	3243.00±0.555
	NVT11β-HSD2_LIG02	2.1252±1.2560	52142.00±1.0250	2745.00±0.2451	-155.236±0.4414	2542.00±0.5562
SP ₂	NVT11β-HSD2_LIG01	3.12540±1.5425	41253.00±0.5122	15412.00±0.1458	104.552±0.4174	3856.22±0.0125
	NVT11β-HSD2_LIG02	-2.2356±0.5485	2232.00±0.54215	3523.00±0.4152	144.55 ± 0.542	3482.33±0.0215
	NVT11β-HSD2_LIG01	3.2542±0.5623	2523.00±1.4521	1423.00±0.0215	145.236±0.5662	6458.22±0.00236
	NVT11β-HSD2_LIG02	2.3256±0.4585	4526.00±0.5255	2426.00±0.0022	-25.369±0.5425	4533.00±0.2351
	NVT11β-HSD2_LIG01	5.2563±0.24510	2421.00±0.0015	1586.00±0.1444	-1045.66±0.5552	3805.33±0.0245
	NVT11β-HSD2_LIG02	-4.2536±0.5632	3423.00±0.0256	14523.00±0.5424	-55.2365±0.6532	3859.33±0.025

Les résultats présentés dans le tableau 31 ont révélé que le composé LIG1 et le composé LIG2 ont une énergie élevée. Le complexe formé par LIG2 a une énergie très importante.

Contrairement au complexe formé par LIG2 leurs énergies obtenues sont faibles. Cependant les fluctuations de pression sont importantes car le complexe formé par LIG2 est de l'ordre de 0.2251-0.6532 ce qui explique l'instabilité du système par sa forte énergie de rotation et de vibration du mouvement.

En ce qui concerne la variation de la température moyenne de translation est fixée comme au départ en considérant l'ensemble isochores-isothermes. Par conséquent, LIG2 devrait être le système le plus interactif. Ces résultats sont en accord total avec les résultats de la prédiction Docking (Tableau 29).

2.3 Évaluation in silico des propriétés ADME et de la ressemblance médicamenteuse

Une étude informatique de deux composés de plomb ayant obtenu les meilleurs scores a été réalisés pour l'évaluation des propriétés ADME et la valeur obtenue est illustrée dans (Tableau 32).

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 32 : Propriétés de bioactivité ADME pour deux composés ayant obtenu les meilleurs scores.

Entry	ABS	TPSA (Å ²)	n-ROTB	MW	MLog P	n-ON acceptors	n-OHND donors	n violations	n rotb	Volume
Rule	-	-	-	<500	≤5	<10	<5	≤1	-	-
L2	High	30.72	4	311.40	3.15	3	0	0	4	289.27
L1	High	68.02	4	379.38	3.23	5	1	0	4	319.50
Ligands	GPCR Ligand		Ion Channel modulator		Kinase inhibitor		Nuclear receptor ligand		Protease inhibitor	Enzyme inhibitor
L2	0.09		-0.11		-0.15		0.10		-0.10	0.46
L1	0.24		-0.09		-0.27		0.41		-0.09	0.44

ABS: absorption, **TPSA:** topological polar surface area, **n-ROTB:** number of rotatable bonds, **MW:** molecular weight, **MLogP:** logarithm of partition coefficient of the compound between water and n-octanol:

n-OHND donors: number of hydrogen bonds donors, **n-ON acceptors:** number of hydrogen bond acceptors.

De nombreux agents thérapeutiques potentiels ne parviennent pas aux essais cliniques en raison de leurs paramètres défavorables d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'élimination (ADME) ; il ne vérifie pas non plus la similitude des médicaments. miLogP représente le coefficient de partage octanol / eau, TPSA est la surface polaire moléculaire, natoms est le nombre d'atomes de la molécule, nON et nOHND sont le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène et de donneurs de liaisons hydrogène respectivement, nviol est le nombre de violations de la Lipinsky Rule of Five [38], nrotb est le nombre de liaisons rotatives, le volume est le volume moléculaire et MW est le poids moléculaire du système étudié. Les ligands ont été traité en utilisant le calcul en ligne des propriétés moléculaires et du score de bioactivité (<https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties#>).

De tous ces paramètres pour les meilleurs composés de plomb. Les résultats présentés dans le tableau 31 ont révélé que le composé L2 et le composé L1 ont une absorption élevée.

De plus, les deux composés L2 et L1 sont conformes à la règle de Lipinski de 5, à la règle de Veber et à la règle d'Egan. où les valeurs de logP variaient entre 3,15-3,23), la gamme MW 311,40–379,38 (<500), la gamme HBA 3-5 (≤10) et la gamme HBD 0-1 (<5) (tableau 32), ce qui suggère que ces composés ne devrait causer des problèmes de biodisponibilité orale et montrer ainsi l'utilité possible des deux composés pour développer le composé ayant de bonnes propriétés de type médicament.

Pour étudier une molécule de solvant explicite, il faut la solvater, c'est-à-dire la plonger entièrement dans une «boîte de solvant» (tableau 28).

Cette méthode représente chaque molécule d'eau autour du soluté comme une molécule triatomique donnée, comme montré schématiquement dans (Fig 43). Pour cela, nous avons utilisé la simulation moléculaire pour prédire la solvation (voir tableau 29).

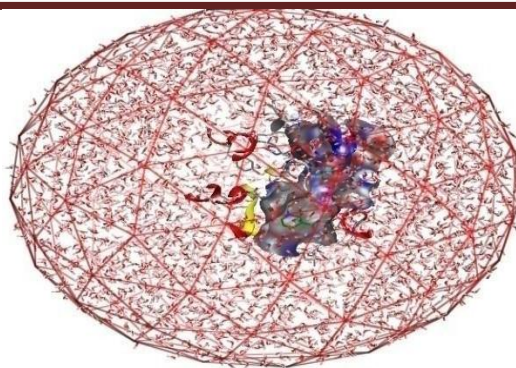


Figure 43 : Ligand de dissolution - Substrat dans le solvant.

Lorsque l'eau est incluse, la meilleure inhibition de l'évolution de la pathologie étudiée (Hypertension 1 (HAP)) est apportée. L'utilisation de la solvation est primordiale permet une relative stabilité des différentes conformations protéiques.

Ce dernier permet d'estimer l'énergie libre de liaison des ligands aux protéines, est précisément, les descriptions au niveau atomique de l'hydrophobicité et de l'amphiphilicité. La présence d'eau est parfois primordiale pour assurer un relais entre le ligand et le site actif [38].

3. Conclusion

Dans cette étude, les inhibitions de deux isozymes de la 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase (11 β -HSD) ont été théoriquement examinées par des analyses d'amarrage moléculaire en tenant compte des simulations de paramètres de solvation DM.

Nos calculs ont montré que l'inhibiteur synthétique 2 des dérivés subsistants des 1,2,4-triazoles fournit une inhibition plus optimisée de la 11-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11- β -HSD-1) pour le traitement de l'hypertension 1 (HAP). Ces interactions entre la 11-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11- β -HSD-1) et ces inhibiteurs subissent des interactions différentes entre le N-14 avec l'interaction des récepteurs d'oxygène H- donneur des synthétiques.

Cependant, les résultats de la simulation de docking moléculaire sont optimisés dans des conditions dynamiques par des simulations DM pour prouver la stabilité de l'interaction entre les deux protéines et chaque ligand. Bien que les composés L1 et L2 aient une affinité de liaison avec la protéine 11- β -HSD-1 dans la simulation d'amarrage, les interactions ligand-protéine mentionnées dans la simulation d'amarrage sont presque stables dans des conditions dynamiques.

Le modèle de solvation impliquant la coordination des molécules de solvant avec le complexe en interaction pour la 11-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11- β -HSD-1) montre une diminution considérable de l'énergie complexe de ces ligands par rapport aux énergies pour 11- bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (11- β -HSD-2) et là par une augmentation de l'activité inhibitrice.

Nous proposons également d'autres études pour développer des dérivés L2 subsistants du 1,2,4-triazole en un nouveau médicament.

Références

- [1] Warren G. L., Andrews C.W., Capelli A. M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H., Lindvall M., Nevins N., Semus S. F., Senger S., Tedesco G., Wall I.D., Woolven J. M., Peishoff C. E., Head M. S.. A “Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions”. *Journal of Medicinal Chemistry*. 49: 5912-5931. 2006.
- [2] R. Lavery. « La modélisation moléculaire : un outil pour étudier les macromolécules biologiques et leurs interactions. De la matière au vivant : les systèmes moléculaires organisés ». P a r i s : CNRS-, p. 199–204, 1994.
- [3] Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada 10, 2012.
- [4] Zheng Yang , Keren Lasker , Dina Schneidman-Duhovny , Ben Webb , Conrad C. Huang , Eric F. Pettersen , Thomas D. Goddard , Elaine C. Meng , Andrej Sali , Thomas E. Ferrin. UCSF Chimera, modeller, and IMP: “An integrated modeling system” *Journal of Structural Biology*; 179: 269–278. 2012
- [5] Duan Y, Wu C, Chowdhury S, Lee MC, Xiong G, Zhang W, Yang R, Cieplak P, Luo R, Lee T, Caldwell J, Wang J, Kollmann P. “Un champ de force au point de frais pour les mécaniques simulations moléculaires de protéines à base de phase condensée calculs de mécanique quantique ». *J Comput Chem*, 2003; 24 (16) :1999-2012.
- [6] 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* ;25(13):1605-12, 2004.
- [7] 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*; 31 (2):455-461, 2010.
- [8] hyperchem (molecular modeling system) hypercube, inc., 1115NW 4th street, gainesville, FL 32601, USA, 2005.
- [9] H.J. Bernstein, RasMol 2.7.1, Molecular graphics, Biomolecular Structures Group, copyright © 1998-1999.
- [10] Hasui, T., Matsunaga, N., Ora, T., Ohayabu, N., Nishigaki, N., Imura, Y., Igata, Y., Matsui, H., Motoyaji, T., Tanaka, T., Habuka, N., Sogabe, S., Ono, M., Siedem, C.S., Tang, T.P., Gauthier, C., De Meese, L.A., Boyd, S.A., Fukumoto, S. “Identification of Benzoxazin-3-one Derivatives as Novel, Potent, and Selective Nonsteroidal Mineralocorticoid Receptor Antagonists « *J. Med. Chem.* 54: 8616-8631 PubMed: 22074142 DOI: 10.1021/jm2011645 : 2011

RESULTATS ET DISCUSSION

- [11] Bledsoe, R.K., Madauss, K.P., Holt, J.A., Apolito, C.J., Lambert, M.H., Pearce, K.H., Stanley, T.B., Stewart, E.L., Trump, R.P., Willson, T.M., Williams, "S.P.A ligand-mediated hydrogen bond network required for the activation of the mineralocorticoid receptor». *The journal of biological chemistry*; 280(35),1283-93. DOI:10.1074/jbc.M504098200 ; 2005
- [12] Robb, G.R., Boyd, S., Davies, C.D., Dossiter, A.G., Goldberg, F.W., Kemmitt, P.D., Scott, J.S., Swales, J.G." Design of pyrozolo-pyrimidines as 11beta-HSD1 inhibitors through optimisation of molecular electrostatic potential". *Med chem. Comm* 6: 926-934; 2016
- [13] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings". *Adv. Drug Deliv. Rev*, 46 (1-3): 3–26. March 2001.
- [14] Lipinski CA "Lead- and drug-like compounds : the rule-of-five revolution". *Drug Discovery Today: Technologies*, December; 1 (4): 337–341; 2004.
- [15] Potts K. T. "The Chemistry of 1,2,4-Triazoles.". *Chemical Reviews*. **61** (2): 87–127. doi:10.1021/cr60210a001. 1961.
- [16] Mesli.F, Missoum. N, Ghalem.S. Study of Interaction Between Angiotensin-converting Enzyme ACE and Diuretic Inhibitor by Molecular Modeling. *American Journal of Chemical Engineering* 2019; 7(4): 113-119 doi: 10.11648/j.ajche.20190704.13
- [17] David R, Bauman A, Alan Whitehead B, Lisa C, Contino C, Jisong Cui A, Margarita Garcia-Calvo D, XinGub Nancy Kevin B, Xiuying Mac, Lee-yuhPai C, Kashmira Shah C, XiaolanShen E, Sloan Stribling C, Hratch J, Zokian D, JoeMetzger C, Diane, E, Shevell A, Sherman T, Waddell B. Evaluation of selective inhibitors of 11b-HSD1 for the treatment of hypertension . *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters* .2013,23 : 3650–3653.
- [18] A.chikhi ;A.bensegueni ; comparative study of the efficiency of three protein-ligand docking programs ; journal of proteomic and bioinformatics ;vol1 ;2008.
- [19] A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Pérez: "Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline a", *glycobiology*, 1, 631–642, 1991.
- [20] Nathalie BASDEVANT « Un Modèle de Solvation Semi-Implicite pour la Simulation des Macromolécules Biologiques » ; *thèse de DOCTORAT* de L'Université D'evryval-D'essonne france, p56, 2003
- [21] Maréchal, Yvus. "The hydrogen bond and the water molecule" Elsevier Science & Technology": eBook ISBN:9780080469294. Hardcover ISBN: 9780444519573, 2007.
- [22] David R. Bauman a, Alan Whitehead b, Lisa C. Contino c, Jisong Cui a, Margarita Garcia-Calvo d, Xin Gu b, Nancy Kevin b, Xiuying Mac, Lee-yuh Pai c, Kashmira Shah c, Xiaolan Shen e, Sloan Stribling c, Hratch J. Zokian d, Joe Metzger c, Diane E. Shevell a, Sherman T. Waddell b, "Evaluation

RESULTATS ET DISCUSSION

of selective inhibitors of 11 β -HSD1 for the treatment of hypertension Bioorganic". *Medicinal Chemistry Letters* 23, 3650–3653, 2013.

[23] Alixe HM Kilgour, Scott Semple, Ian Marshall, Peter Andrews, Ruth Andrew, and Brian R Walke. 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Activity in the Brain Does Not Contribute to Systemic Interconversion of Cortisol and Cortisone in Healthy Men. *J Clin EndocrinolMetab.* 2015 Feb,100 (2): 483–489.

[24] Flavie, D; Alain Gardier, M, Raphael Gaillard Denis David, J, and Jean-Philippe Guilloux. A Translational Review in Animal Models of the Disease .Pharmaceuticals (Basel). 2016 Mar, 9(1): 9.

[25] L. Mostefaoui, M. Merad, k.Benmiloud and Ghalem S. Molecular docking of 11 β -HSD1 with (1,2,4-triazole derivatives) inhibitors in a solvated medium. *Journal of Computational Chemistry & Molecular Modelling.* 20 2(2):135-14

[26] Yuan S, Chan HS, Hu Z. Using PyMOL as a platform for computational drug design. *Wiley interdisciplinary reviews. Comput Mol Sci,* 2017 ; 7(2):e1298.

[27] Robb GR, Boyd S, Davies CD, Dossiter AG, Goldberg FW, Kemmitt PD, Scott JS, Swales JG.Design of pyrozolo-pyrimidines as 11beta-HSD1 inhibitors through optimisation of molecular electrostatic potential. *Med chem. Comm* 2016, 6: 926-934;

[28] Yamaguchi H, Akitaya T, Kidachi Y, Kamiie K, Noshita T, UmetsuH, and Ryoyama; K..*Eur. J Med Chem.* 2011, 46: 25–30.

[29] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews.* 1997 Jan 15;23(1-3):3-25.

[30] Berendsen, HJC, Postma JPM, van Gusteren, WF. Molecular dynamics with coupling to an external bath.*J.Chem.Phys.*1984,81: 3684.

[31] Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry.* 2002 Jun 6;45(12):2615-23.

[32] Cheng F, Li W, Zhou Y, Shen J, Wu Z, Liu G, Lee PW, Tang Y. admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J Chem Inf Model,* 2012:3099–105.

[33] Katharina R. Beck, Murielle Bächler, Anna Vuorinen, Sandra Wagner, Muhammad Akram, Ulrich Griesser, Veronika Temml, Petra Klusonova, Hideaki Yamaguchi, Daniela Schuster, and Alex Odermatt. Inhibition of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2 by the fungicides itraconazole and posaconazole.*BiochemPharmacol.* 2017 Apr 15 : 130: 93–103. doi: 10.1016/j.bcp.2017.01.010.

RESULTATS ET DISCUSSION

- [34] Karen Chapman, Megan Holmes, and Jonathan Seckl. 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenases: Intracellular Gate-Keepers of Tissue Glucocorticoid Action. *Physiol Rev.* 2013 Jul; 93(3): 1139–1206. doi: 10.1152/physrev.00020.2012
- [35] Roberto A.S. Schweizer, Atanas G Atanasov, Brigitte M Frey, Alex Odermatt. A rapid screening assay for inhibitors of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases (11 β -HSD): Flavanone selectively inhibits 11 β -HSD1 reductase activity. January 2004 *Molecular and Cellular Endocrinology* 212(1-2):41-9 DOI: 10.1016/j.mce.2003.09.027
- [36] Egan WJ, Merz KM, Baldwin JJ. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *Journal of medicinal chemistry.* 2000 Oct 19 ;43(21):3867-77.
- [37] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports.* 2017 Mar 3;7:42717.
- [38] Klebe G. Virtual ligand screening : strategies, perspectives and limitations. *Drug discovery today.* 2006 Jul 1;11(1314):580-94.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le travail de thèse a été effectué au sein laboratoire LASNABIO (*Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives*)

Dans le cadre de l'étude des mécanismes régissant l'évolution de l'hypertension artérielle (HTA), nous nous sommes intéressés aux interactions moléculaires entre les trois enzymes étudiées et les différents inhibiteurs à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire plus précisément le docking moléculaire. Cette étude a été réalisée à l'aide des deux programmes de docking moléculaire : MOE (Molecular Operating Environment) et Chimera UCSF.

Le premier chapitre s'intéresse à des questions posées sur la maladie de l'hypertension :

- Qu'est-ce que l'hypertension ?
- Pourquoi l'hypertension est-elle dangereuse ?
- Comment l'hypertension peut-elle être prévenue et traitée ?
- Quelle est la prévalence de l'hypertension artérielle ?

Les différents aspects de la modélisation moléculaire sont abordés dans le deuxième chapitre. Une mise au point sur l'intérêt du docking moléculaire a été faite. Dans notre étude le ligand est flexible et l'enzyme rigide. La notion de champ de force, l'ensemble des termes de l'énergie stérique est défini précisément dans l'expression mathématique en mécanique moléculaire. L'importance de la paramétrisation justifie le choix du champ de force.

Le chapitre trois évoque les différentes méthodes théoriques existantes pour étude de la solvatation des macromolécules biologiques. L'étude de la solvatation des biomolécules apparaît indispensable pour rationaliser l'influence de l'eau sur les processus biochimiques et représente donc un enjeu majeur de la biologie moderne.

Le quatrième chapitre est consacré aux résultats obtenus ainsi qu'à la discussion et l'interprétation de ces derniers.

Nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre les trois enzymes étudiées et les différents inhibiteurs par visualisation des différents types de liaisons mises en jeu.

Dans la première application notre travail consiste à étudier l'activité inhibitrice des nouvelles molécules de la famille de la Spironolactone (**CID : 5833**) par la modification des substituants et en gardant le squelette de la structure principale. On a utilisé deux logiciels différents, les calculs sont effectués en milieu solvaté et non solvaté. Cette étude a été réalisée à l'aide des deux programmes de

CONCLUSION GENERALE

docking moléculaire MOE, et **Chimera** permettant de simuler les interactions entre enzymes et ligands.

Les résultats obtenus à l'aide des différents programmes sont relativement du même ordre de grandeur. En effet, dans l'étude de l'inhibition de la **Miniracorticoid (3HVU)** par les cinq ligands connus, les deux programmes font ressortir le même composé **L4** comme meilleur inhibiteur de l'enzyme dans les milieux non solvato et solvato (avec une meilleure stabilité dans le solvant).

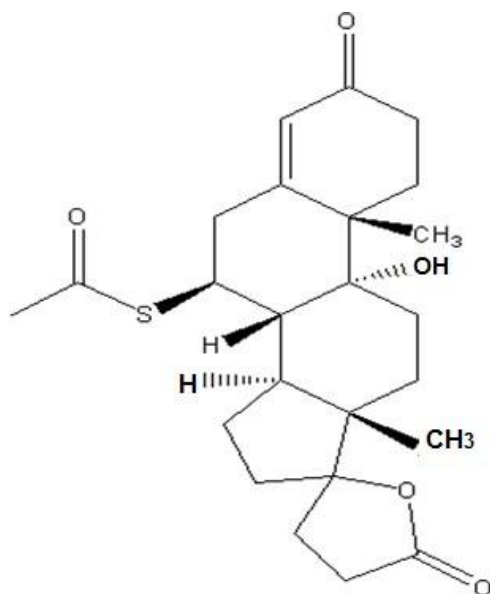


Figure 1 : structure de composé L4

Dans la deuxième application on a étudié les interactions entre l'enzyme miniracorticoid (code : **2AA2**) et des inhibiteurs (similaires de l'aldostérone et les similaires d'AMP phosphoramidate).

Les résultats obtenus après les calculs montrent que les inhibiteurs (**L5** de la série 1, et **D2** de la série 2) possèdent l'énergie la plus faible donc ceux sont les plus stables. On remarque que l'effet de solvant stabilise les complexes car l'énergie obtenue est plus basse que celle en milieu non solvato. **D2** est un bon inhibiteur donc il représente une meilleure complémentarité pour notre enzyme. Pour cela, on propose la synthèse du ligand **D2** et l'étude de différentes activités biologiques telles que l'effet de toxicologie.

CONCLUSION GENERALE

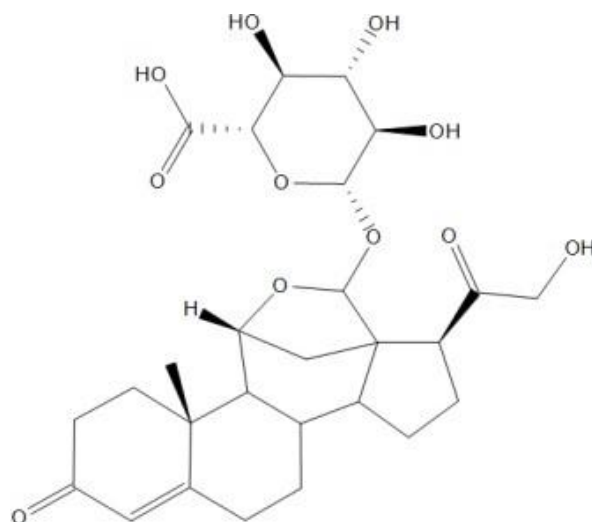


Figure 2 : Structure de L5 de la série 1

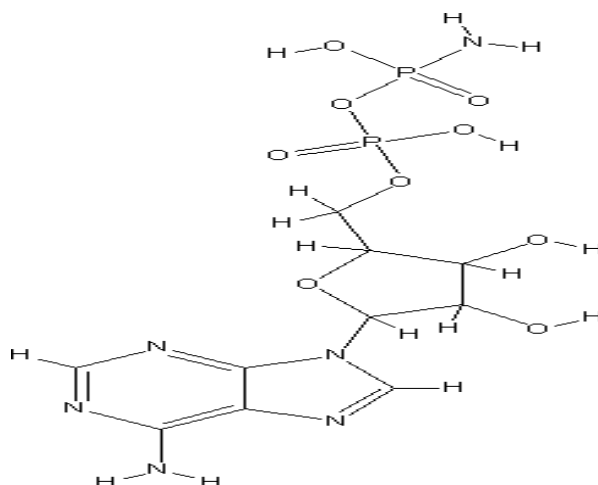


Figure 3 : Structure de D2 de la série 2

La troisième étude est consacrée à la :

- Discussion des résultats obtenus à partir des calculs effectués entre l'enzyme 11 β -Hydroxystéroïde déshydrogénase type1 (11 β -HSD1) avec des inhibiteurs (dérivés de 1, 2,4 -triazole).
- Comparaison des énergies obtenues par docking avec les IC₅₀ décrites dans la littérature.

La discussion est basée sur les énergies d'interaction minimale des complexes solvaté obtenus à l'aide du programme MOE.

CONCLUSION GENERALE

Le calcul des distances entre les inhibiteurs et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées confirment que l'inhibiteur **L4** est le plus stable car il possède une énergie la plus basse et une concentration inhibitrice IC_{50} la plus faible d'après la littérature. Les calculs théoriques par docking moléculaire confirment les résultats expérimentaux. Il est important de noter que les différents inhibiteurs de la **11 β -HSD1** testés par cette étude sont, en général, accord avec la règle de Lipinski.

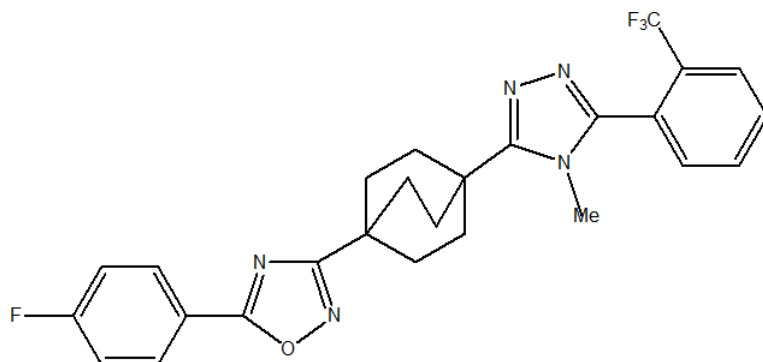


Figure 4 : ligand L4

La quatrième étude consiste à étudier l'inhibition des enzymes appliquées dans la maladie de l'hypertension artérielle (**11 β -HSD**) 11- β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 et de type 2 avec certains dérivés des 1,2,4-triazoles au moyen d'approches docking moléculaire et de dynamique moléculaire. Le calcul théorique a été effectué à l'aide des programmes MOE pour le docking moléculaire, HyperChem, et d'autres logiciels.

Les interactions entre les inhibiteurs étudiés et la cible ont été explorées plus avant à travers des simulations de docking moléculaire et de dynamique moléculaire en présence de molécules d'eau.

L'étude de la dynamique moléculaire a été réalisée pour les meilleurs dérivés des inhibiteurs des 1,2,4-triazoles (dédiés des meilleurs scores de docking pour complexe E-L2 et complexe E-L1 et le score le plus bas pour complexe E-Ligand de référence).

Quelques résidus clés (N-14 avec donneur H d'interaction du récepteur d'oxygène) au site de liaison de la 11-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 1 (11 β -HSD1) et de type 2 (11 β -HSD2) ont été identifiés. Le résultat de docking et de dynamique moléculaire obtenu conduit à la même conclusion et prévoit que L2 dérivé des 1, 2, 4-triazoles est le meilleur candidat inhibiteur.

CONCLUSION GENERALE

Les perspectives que nous envisageons de réaliser dans un futur s'articuleront autour des applications dans le domaine de l'activité biologique et l'étude des interactions protéine-protéine, ainsi que les effets de solvant.

L'utilisation d'autres programmes de docking moléculaire parmi les plus récents et les plus performants pour tester tous les inhibiteurs de différents enzymes étudiés jusqu'à présent afin de proposer les meilleurs.

**VIRTUAL SCREENING OF TRIAZOLES INHIBITORS OF
11 β -HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE ENZYMES USING -ADME -
MOLECULAR DOCKING, AND MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION
STUDIES**

L. Mostefaoui, F. Mesli*, M. Merad, S. Ghalem

Laboratory of Natural Products and Bioactives- LASNABIO, University of Tlemcen. B. P.
119, 13000 Tlemcen. Algeria.

Received: 04 February 2020 / Accepted: 16 April 2020 / Published online: 01 May 2020

ABSTRACT

Hypertension, or elevated arterial blood pressure, is a substantial public health problem. The two 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD) isozymes catalyze the interconversion of cortisol and cortisone. Our research consists in studying the inhibition of the enzymes with some derivatives of 1,2,4-triazoles by means of molecular docking and dynamics approaches. The interactions between the studied inhibitors and our target were further explored through molecular docking and molecular dynamics simulations, in the presence of water molecules. The molecular dynamics study was done for the best derivatives of 1,2,4-triazoles inhibitors (deducted from the docking best scores for L2 and L1, and lowest score for Lref). A few key residues (N-14 with oxygen receptor interaction H- donor) at the binding site of (11 β -HSD1) and (11 β -HSD2) were identified. Obtained Docking and molecular dynamics result, both leads to the same conclusion and predict that L2 substituted derivatives of 1, 2, 4-triazoles is the best inhibitor candidate.

Keywords: 11 β -HSD1; 11 β -HSD2; Hypertension ; 1,2,4-Triazoles ; Bioactivity Properties ; (Molecular Operating Environment)

Author Correspondence, e-mail: meslifouzia2018@gmail.com

doi: <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v12i2.13>



1. INTRODUCTION

11-Beta-Hydroxysteroid dehydrogenase 11 β -HSD are enzymes that exert a regulating action on the metabolism of cortisol before access to the receptors. The isoform 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11- β -HSD-1) is widely expressed in liver, adipose tissue, brain, lung and other glucocorticoid tissues, while the isoform expression 2 (11- β -HSD-2) is limited to tissues that express the mineralocorticoid receptor, such as kidney, gut and placenta. The disease is due to a mutation of the CYP11B1 gene located on chromosome 8q21. Steroid 11-beta-hydroxylase deficiency causes decreased cortisol secretion and hypertension due to accumulation of glucocorticoid precursors and mineralocorticoids. The enzyme 11- β hydroxysteroid dehydrogenase 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11- β -HSD-1) plays a major role in blood pressure regulation. 11 β -OHSD 2 assures the conversion of cortisol to cortisone. Excess cortisol is associated with numerous disorders, including diabetes, obesity, dyslipidemia, insulin resistance and hypertension. The administration of 11-beta-HSD1 inhibitors decreases the level of cortisol and other 11-beta hydroxysteroids in target tissues, thereby reducing the effects of excessive amounts of cortisol and other 11- β -hydroxysteroids. Thus 11-beta-HSD-1 is a potential target for therapy associated with numerous disorders that may be ameliorated by reduction of glucocorticoid action. Therefore, inhibition of 11- β -HSD-1 may be used to prevent, treat or control diseases mediated by abnormally high levels of cortisol and other 11- β -hydroxysteroids as diabetes, obesity, hypertension or dyslipidemia. Inhibition activity of 11- β -HSD-1 in the brain [1] such as to lower cortisol levels may also be useful to treat or reduce anxiety, depression, cognitive impairment or age-related cognitive dysfunction [2].

The understanding of the mechanisms of action of these two enzymes led us to try to find the best inhibitors thus opening up new therapeutic perspectives. After optimization of both ligands and enzyme, we proceed to positioning of ligands into active site of the enzymes (4YYZ) and (3HFG) using (Molecular Docking) with MOE software (Molecular operating environment). The search for binding modes is generally constrained to a small specific region of the receptor called the active site [3]. We then recorded the best score, i.e. the one with the lowest energy corresponds to the best interactions between the ligand and the active site of the enzyme. Water molecules in enzyme cavities can sometimes be a fundamental element. They are able to ensure the relay between the receptor and the ligand and thus create networks of hydrogen bonds. So, we set ourselves the goal of studying our complexes by

solvation.

This study aimed at theoretically elucidating the inhibition activity of two enzymes 11-Beta-Hydroxysteroid dehydrogenase 11 β -HSD (11 β -HSD1 and 11 β -HSD2) by some derivatives of 1,2,4-triazoles using the two simulation methods, molecular dynamics and molecular docking.

The synthetic inhibitors chosen for (11 β -HSD1 and 11 β -HSD2) are given in (Fig 1). These results can help in the development of an effective therapeutic tool to prevent arterial hypertension 1 (PAH) treatment.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Ligand structure retrieval

For our study we chose the ligands of the literature [4]. The structures L1 CID: [59255569](#) and L5 CID: [5231054](#) were retrieved in SDF format and were changed to PDB format using PyMol. (www.pubchem.com), but L2, L3 and L4 have been schematized with Chemdraw in order to resemble those of the reference [4]. (www.chemdraw.com). In our previous work we have already studied the enzyme 11-Beta-Hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD1) by other inhibitors taken in the same reference [5].

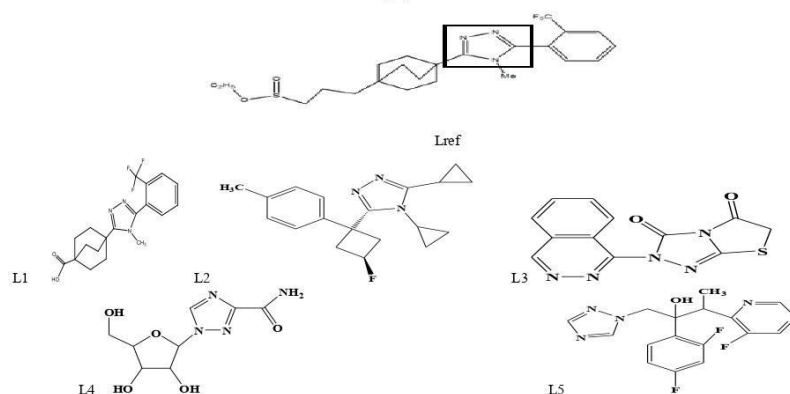


Fig.1. Substituted derivatives of 1,2,4-triazoles³

2.2 Macromolecules structure retrieval

Download of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase of type 1 (11 β -HSD1) was done from PROTEIN DATA BANK (<http://www.rcsb.org/pdb>) (ID: 4YYZ) With three dimensional

structure obtained by X-ray diffraction (resolution 3.2 Å (Fig 2 and 3) and type 2 (11β-HSD2) was done from (NCBI reference sequence: NM_000196.3). Details related to the 11β-HSD1 is given in (Table 1). First, we tried to align the 11β-HSD1 enzyme from the code (4YYZ) and the 11β-HSD2 enzyme (NCBI reference sequence: NM_000196.3) [6] in order to generate a model for 11bHSD2 but it was difficult to achieve, so we based ourselves on ref [7] and we chose another '11β-HSD1 enzyme from the code: (3HFG) and it was doable.

11bHSD2 (NCBI reference sequence: NM_000196.3) [6] and the coordinates of the crystal structure of 11bHSD1 (PDB code: 3HFG) [7] were loaded into the MOE. The primary structures of 11β-HSD1 and 11β-HSD2 were aligned, carefully checked to avoid deletions or insertions in the preserved and corrected regions wherever necessary. A series of the 11bHSD2 model was constructed using a randomized procedure weighted by Boltzmann [8] combined with specialized logic for the treatment of sequence insertions and deletions [9]. Among the 6 models generated for 11bHSD2, the best was selected in our study for a complete energy minimization and a more thorough inspection. The energy of the enzyme was minimized and geometry was conducted using Hamiltonian AM1 implanted in MOE software and then isolation of the active site of the enzyme (target). The most stable geometry of each molecule structure (ligand) was minimized by the same method (AM1). Other chains and water molecules were removed using PyMol (Fig. 1). PyMol is a useful open source software tools to perform molecular graphics [10]. The MOE (Molecular operating environment), software allowed us to identify and present the residues that form the active site using the "Site Finder" module which includes a tool for the detection of the enzymatic cavity, as well as the most favorable site [11, 12].

Table 1. Details related to the 11β-HSD1

Proteins	Methods	Resolution (Å)	R-Value Free	Residue Count	Co-crystallized ligands
11β-HS1 (4YYZ)	X-ray diffraction	3.2	0.267	518	Query on 4JX

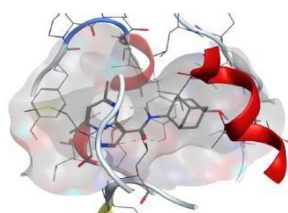


Fig.2. Simplified model of 11β-HSD1

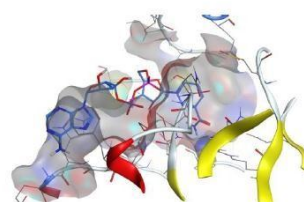


Fig.3. Simplified model of 11β-HSD2

2.3 Drug scan

Before calculating the interactions between the enzyme and the five compounds, it is necessary to evaluate the parameters allowing their validation as a drug [5]. The Lipinski rule also known as the five rules (RO5) gives us an information if this drug would be an orally active compounds in human. Molinspiration (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>) was used for calculating Lipinski's properties. The rule was formulated by Christopher A. Lipinski in 1997; it is based on observation and informs us that the drugs administered orally are relatively smaller and moderately lipophilic [13, 14]. According to (Table 2), the ligands satisfy the Lipinski rule. This additional information on other molecular properties confirms that these molecules are biologically active [5].

Table 2. Minimization energy of derivatives compounds of triazole (Kcal/mol) and solvent parameter.

Ligand	Toxicity	Rsynth 100%	Weight g/mol	TPSA (Å ²)	logp	logs
Ligref	No	62.50%	469.57g/mol	76.22A(donor : 0 ;acceptor : 4)	6.24	-7.19
Mol1	No	100%	379.38g/mol	68.01(donor : 1 ;acceptor : 4)	4.85	-4.37
Mol2	No	73.91%	311.40g/mol	30.71(donor : 0 ;acceptor : 5)	4.31	-3.46
Mol3	No	100%	285.29g/mol	78.76(donor : 0 ;acceptor : 5)	1.42	-4.47
Mol4	No	100%	244.21g/mol	143.72(donor : 4 ;acceptor : 7)	-2.92	0.47
Mol5	No	100%	349.32g/mol	76.72(donor : 1 ;acceptor : 5)	2.75	-3.41
Mode	Shape	Margin	Update Potentiel	Clash Cutoff	Wall Force	Verbose
Droplet	Sphere	2.00	01.0	10.00	100.00	01.00

These compounds are able to present a very important biological activity in accordance with the rule of Lipinski, et al.(1997) [11].

2.4 Molecular Dynamics (MD) Simulation

The best conformer of two 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase isozymes proteins with ligands was subjected to Molecular Dynamics Simulations MD was performed for both the complex using the MOE software [15]. MOE dynamics simulation uses the Nosé-Poincaré Andersen (NPA) equations of motion [16,17]. The coordinates were stored every 0.5ps to get an accurate view of molecular movement. In all simulations the van der Waals cut-out distance was set to 8Å. The interactions of the system's amino acids were defined using the NPA algorithm and MMFF94x force field. The default protocols and steps of the MD were used to optimize the system's equilibrium for 50 ps and the production run in 800 ps. We used MD simulation for each ligand-protein complex to evaluate the interactions' stability for each docking pose. Here, we have shown the detailed analysis of MD simulation results of only two compounds (L1, L2) with target 11 β -HSD1 and 11 β -HSD2 (Fig 4 and 5) because these compounds show better binding affinity for both receptors. In the end and according to the molecular dynamics simulation analysis among these 2 compounds the most active compounds were L1 and L2 in 11 β -HSD1 proteins.

2.5 ADME Properties

ADME/T prediction Absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) of the molecules are their pharmacokinetic properties and are needed to be evaluated to resolve their activity inside the body. The ADMET properties of the molecules were analyzed using admetSAR, an online ADMET prediction tool (<http://lmmmd.ecust.edu.cn:8000/>) [18].

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Molecular Docking

As a means to resolve the enzyme-substrate interactions we have carried out molecular docking calculations in order to find the most stable conformation which corresponds to the lowest energy adopted by the complex formed. We have done the calculations by employing water as a solvent. (Table 3- 4) show that L2 and L1 both interact with the different amino acid presenting an H-acceptor strong kind of interaction with comparable distances of (2.99Å - 3.85Å) and 2.82Å consecutively. However, results show also that complex2 has the lowest energy (-8.34 Kcal/mol) and is more active than complex -1 (-7.86 Kcal/mol) contrarily with (11 β -HSD2) the complexe-1- (-7.48 Kcal/mol) has the lowest energy and is more active than complexe-2 (-6.18 Kcal/mol) even at that time also L2 and L1 both interact with the different amino acid presenting an H-acceptor strong kind of interaction 2.82 Å and (2.99 Å

-3.85 Å) (Fig 4 and 5). One important point is also obtained from Table 1 that, The energy of (complexe-ref -5.67 Kcal/mol) for (11β-HSD1 is important in comparison with that obtained by the 5 ligands. contrarily with (11β-HSD2) The energy of (complexe- ref -9.98 Kcal/mol) is weak compared to those of the 5 ligands. therefore, these ligands better inhibit the enzyme 11β-HSD1. Therefore, we can validate L2 subsisted derivatives of 1,2,4-triazole as a best inhibitor.

Table 3. Energy Balance of complexes formed by 5 derivatives of triazoles compounds (Kcal/mol)

Complexes	E(kcal/mol)	Rmsd-refine(Å)	E_conf	E_place	E_refine
11β-HSD1_LIG Ref	-5.67	2.19	-14.70	-14.70	47.54
11β-HSD1_LIG01	-7.86	-65.82	-48.32	-48.32	-4.81
11β-HSD1_LIG 02	-8.34	-32.79	-41.84	-41.84	-10.25
11β-HSD1_LIG 03	-6.84	-94.00	-105.53	-105.53	-15.16
11β-HSD1_LIG 04	-6.12	-107.19	-72.64	-72.64	-10.83
11β-HSD1_LIG 05	-6.67	-48.82	-61.79	-61.79	2.49
11β-HSD2_LIG Ref	-9.98	2.11	68.43	-33.73	-7.94
11β-HSD2_LIG01	-7.48	1.70	-70.82	-60.47	-8.50
11β-HSD2_LIG 02	-6.18	1.776	-23.10	7.14	14.10
11β-HSD2_LIG 03	-6.81	3.66	-89.34	-111.11	-4.39
11β-HSD2_LIG 04	-6.22	2.97	-104.77	-102.77	-4.13
11β-HSD2_LIG 05	-6.80	2.68	52.25	-32.88	-6.98

S: The final score; is the last step's score. rmsd_refine: The mean square deviation between the laying before refinement and after refinement poses. E_conf: Energy conformer. E_place: Score of the placement phase. E_scor1: Score of the first step of notation. E_refine: Score of the refinement step and the number of conformations generated by ligand. E_scor2: Score of the first step notation, number of poses: Number of conformations.

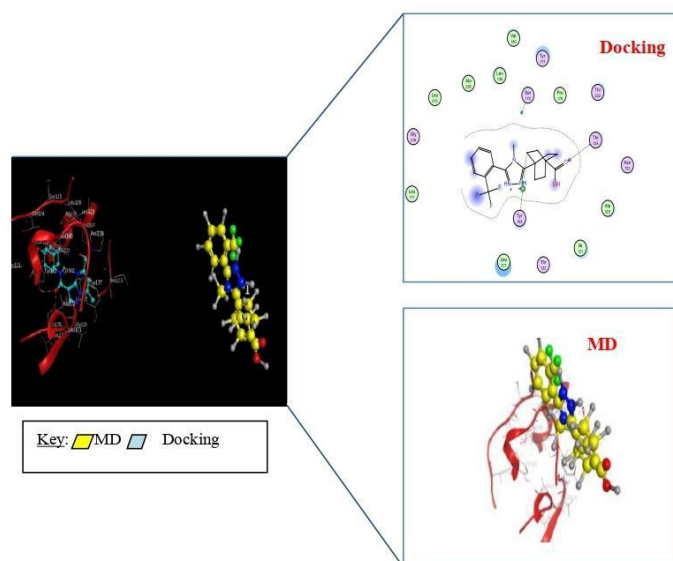


fig.4. The compound -1, is docked well into the binding site of protein 1-beta-hydroxysteroid dehydrogenase of type 1, and has the highest dock score. There is also a clear difference between the docking pose and the final ligand pose after a molecular dynamics (MD) simulation of 800 ps.

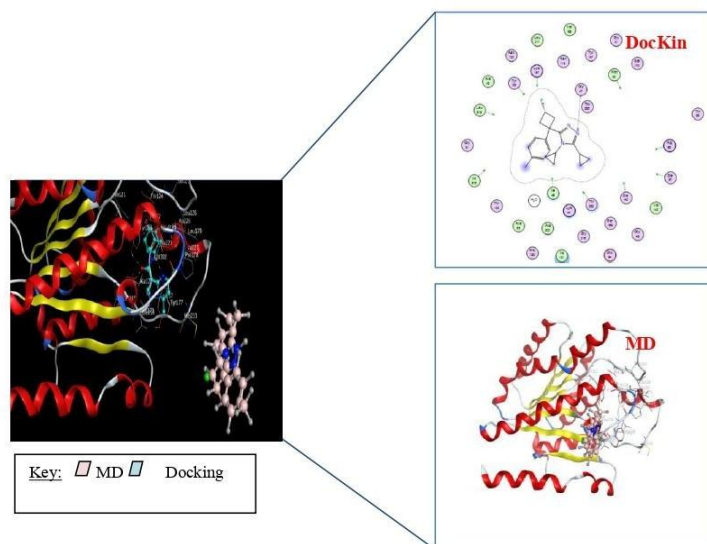


Fig.5. The compound -2, is docked well into the binding site of protein 1-beta-hydroxysteroid dehydrogenase of type 1, and has the highest dock score. There is also a clear difference between the docking pose and the final ligand pose after a molecular dynamics (MD) simulation of 800 ps

Table 4. Results Bonds between atoms of compounds and residues of active site into 11 β -HSD1 and 11 β -HSD2

Compounds	Atom of compound	Involved receptor atoms	Involved receptor residues	Type of interaction bond	Distance (Å)	Energies (kcal/mol)
11 β -HSD2_LIGRef	N 14 6-ring	O 6-ring	HOH(0) PHE(282)	H-acceptor Pi-pi	3.42 3.76	-0.7 0.0
11 β -HSD2_LIG01	N3 13 5-ring	O O	HOH(0) HOH(0)	H-donor Pi-H	3.25 4.22	-3.7 -1.1
11 β -HSD2_LIG 02	N14 14 N15 15 N14 14 N15 15	O OD2 OD2 OD2	ASP(274) ASP(274) ASP(274) ASP(274)	H-donor H-donor Ionic ionic	2.86 3.21 3.45 3.21	-9.7 -7.4 -2.1 -3.2
11 β -HSD2_LIG 03	N12 12 N12 12 S16 16 N12 12 N12 12 5-ring	OD1 OD2 OD1 OD1 OD2 O	ASP(274) ASP(274) ASP(274) ASP(274) ASP(274) HOH(0)	H-donor H-donor H-donor Ionic Ionic Pi-H	3.25 3.68 3.35 3.25 3.68 4.73	-0.8 -12.5 -2.2 -3.0 -7.0 -0.8
11 β -HSD2_LIG 04	N13 15 O9 11 O9 11 C3 3	O O O 5-ring	HOH(0) HOH(0) HOH(0)	H-donor H-acceptor H-acceptor H-Pi	2.65 3.10 2.87 4.00	-4.8 -3.2 -1.0 -1.4
11 β -HSD2_LIG 05	N 30 5-ring	OG1 NE2	THR(252) HIS(253)	H-acceptor Pi-cation	2.78 3.76	-1.6 -1.7
11 β -HSD1_LIGRef	O 48 C 60 6-ring 5ring	O 6-ring CB 6-ring	HOH (0) TYR(177) TYR(177) TYR(183)	H-acceptor H-Pi Pi-H PI-PI	2.87 3.87 4.05 3.33	-1.8 -0.6 -0.7 -0.0
11 β -HSD1_LIG01	O25 25 C17 17	N 6-ring	THR(124) THR(183)	H-acceptor H-Pi	2.99 3.85	-3.6 -1.0
11 β -HSD1_LIG 02	N14 14	O	HOH(0)	H-donor	2.82	-7.6
11 β -HSD1_LIG 03	6-ring	OG	SER(170)	Pi-H	3.87	-0.8
11 β -HSD1_LIG 04	O7 7	OG	SER(170)	H-acceptor	2.82	-0.6
11 β -HSD1_LIG 05	N20 20	O	GLY(216)	H-donor	2.72	-4.2

In vitro, many studies were focused on the inhibitory effect of triazoles on key enzymes linked to arterial hypertension 1 (PAH), 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase of type 1 (11 β -HSD1) and type 2 (11 β -HSD2. Beck *et al* have identified that itraconazole is a stronger inhibitor of 11 β -HSD2 (IC₅₀ 139 \pm 14 nM), its active metabolite hydroxyitraconazole (IC₅₀ 223 \pm 31 nM) and posaconazole (IC₅₀ 460 \pm 98 nM) [19]. Also Chapman *et al* had showed that 11 β -HSD2 inhibition causes apparent mineralocorticoid excess and hypertension due to inappropriate glucocorticoid activation of renal MR [20]. Roberto *et al* have identified that diethylcarbamate is the most potent inhibitor of 11 β -HSD2 (IC₅₀ 6.3 microM), and suggest that Abietic acid inhibited both 11beta-HSD1 (IC₅₀ 27 μ M for reduction and 2.8 microM for oxidation) and 11beta-HSD2 (IC₅₀ 12 microM) [21]. By that means the software

adapted MOE (Molecular operating environment), does not scout up any trace of the hydrophobic interactions between L2 (best inhibitor) subsisted derivatives of 1, 2, 4-triazoles and both the enzymes; what may be connected to the large size of this ligand and the high number of torsion angles.

3.2 Molecular Dynamics

Thermodynamic properties

Using the MD simulation approach, we have studied the evolution thermodynamic properties of the two complexes in NVT ensemble (Table 5).

Table 5. Thermodynamic properties calculated in reels units. Pressure $Wp = Wp * \epsilon / \sigma^{-3}$, Energy of configuration $EC = EC * N\epsilon$, Translation Energy $ET = ET * N\epsilon$ and Enthalpy $EH = EH * N\epsilon$

Stage	Method	EH	EC	ET	Wp	V
SP ₁	NVT11 β -HSD2_LIG01	0.02455 \pm 0.00550	32356.36 \pm 0.2451	2523.00 \pm 0.0214	110.2356 \pm 0.2251	35423.00 \pm 0.5541
	NVT11 β -HSD2_LIG02	0.52140 \pm 0.01524	42536.23 \pm 0.4152	5425.00 \pm 0.0142	54.230 \pm 0.4451	3423.00 \pm 0.6523
	NVT11 β -HSD2_LIG01	-0.12450 \pm 0.0245	3025.326 \pm 0.0215	2543.00 \pm 0.0012	105.550 \pm 0.5542	2054.23 \pm 0.0025
	NVT11 β -HSD2_LIG02	1.21450 \pm 0.24510	3203.236 \pm 0.1425	4523.00 \pm 0.0012	85.365 \pm 0.5623	3425.30 \pm 0.2415
	NVT11 β -HSD2_LIG01	2.23562 \pm 0.0256	2153.00 \pm 125420	5421.00 \pm 0.0145	55.236 \pm 0.4525	3243.00 \pm 0.555
	NVT11 β -HSD2_LIG02	2.1252 \pm 1.2560	52142.00 \pm 1.0250	2745.00 \pm 0.2451	-155.236 \pm 0.4414	2542.00 \pm 0.5562
SP ₂	NVT11 β -HSD2_LIG01	3.12540 \pm 1.5425	41253.00 \pm 0.5122	15412.00 \pm 0.1458	104.552 \pm 0.4174	3856.22 \pm 0.0125
	NVT11 β -HSD2_LIG02	-2.2356 \pm 0.5485	2232.00 \pm 0.54215	3523.00 \pm 0.4152	144.55 \pm 0.542	3482.33 \pm 0.0215
	NVT11 β -HSD2_LIG01	3.2542 \pm 0.5623	2523.00 \pm 1.4521	1423.00 \pm 0.0215	145.236 \pm 0.5662	6458.22 \pm 0.00236
	NVT11 β -HSD2_LIG02	2.3256 \pm 0.4585	4526.00 \pm 0.5255	2426.00 \pm 0.0022	-25.369 \pm 0.5425	4533.00 \pm 0.2351
	NVT11 β -HSD2_LIG01	5.2563 \pm 0.24510	2421.00 \pm 0.0015	1586.00 \pm 0.1444	-1045.66 \pm 0.5552	3805.33 \pm 0.0245
	NVT11 β -HSD2_LIG02	-4.2536 \pm 0.5632	3423.00 \pm 0.0256	14523.00 \pm 0.5424	-55.2365 \pm 0.6532	3859.33 \pm 0.025

The results presented in table 5 revealed that compound L1 and compound L2 have high energy. The complex formed by L2 has a very important energy. In contrast to the complex formed by L2 their energies obtained are low. By against on pressure fluctuations are significant for the complex formed by L2 is of order 0.2251-0.6532 which explains the instability of the system by its strong therefore the movement rotational and vibration energy is important oscillation. In regard to variation in the average temperature of translation is fixed as at the outset in considering isochors-isotherms ensemble. Therefore, L2 is predicted to be the most interactive system. These results are in total agreement with the Docking prediction results (Table 1). A computational study of two top scoring lead compounds was performed for assessment of ADME properties and the obtained value is depicted in (Table 6).

3.3 In silico assessment of the ADME properties and drug likeness

A computational study of two top-scoring lead compounds was performed for the assessment

of ADME properties and the obtained value is depicted in (Table 6).

Table 6. ADME bioactivity properties for two top scoring lead compounds

Entry	ABS	TPSA (Å ²)	n-ROTB	MW	MLog P	n-ON acceptors	n-OHND donors	n violations	n rotb	Volume
Rule	-	-	-	<500	≤5	<10	≤5	≤1	-	-
L2	High	30.72	4	311.40	3.15	3	0	0	4	289.27
L1	High	68.02	4	379.38	3.23	5	1	0	4	319.50
Ligands	GPCR Ligand	Ion modulator	Channel	Kinase inhibitor	Nuclear receptor ligand	Protease inhibitor	Enzyme inhibitor			
L2	0.09	-0.11		-0.15	0.10	-0.10		0.46		
L1	0.24	-0.09		-0.27	0.41	-0.09		0.44		

ABS: absorption, TPSA: topological polar surface area, n-ROTB: number of rotatable bonds, MW: molecular weight, MLogP: logarithm of partition coefficient of the compound between water and n-octanol, n-OHND donors: number of hydrogen bond donors, n-ON acceptors: number of hydrogen bond acceptors.

Many potential therapeutic agents fail to reach the clinic trials because of their unfavorable absorption, distribution, metabolism, and elimination (ADME) parameters; also it is not checking the drug-likeness. miLogP represents the octanol/water partition coefficient, TPSA is the molecular polar surface area, natoms is the number of atom of the molecule, nON and nOHND are the number of hydrogen bond acceptors and hydrogen bond donors respectively, nviol is the number of violations of the Lipinsky Rule of Five [12], nrotb is the number of rotatable bonds, volume is the molecular volume, and MW is the molecular weight of the studied system. were calculated using Calculation of molecular properties and bioactivity score (<https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties#>) online property calculation. From all these parameters for the top scoring lead compounds. The results presented in table 5 revealed that compound L2 and compound L1 have high absorption. Also, the two compounds L2 and L1 comply with Lipinski's rule of 5, Veber's rule and Egan's rule. where logP values ranged between 3.15-3.23), MW range 311.40– 379.38 (<500), HBA range 3-5 (≤10) and HBD range 0-1 (<5) (Table 6), suggesting that these compounds would not be expected to cause problems with oral bioavailability and thus showing possible utility of both compounds for developing the compound with good drug like properties.

To study an explicit solvent molecule, it is necessary to solvate it, that is to say to immerse it entirely in a "solvent box"(Table.3).This method represents each molecule of water around solute as a given triatomic molecule, as shown schematically in (Fig 6). For that, we used molecular simulation to predict solvation (see table 2).

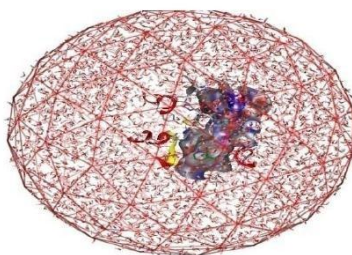


Fig.6. Solvation Ligand-Substrate in cube

When water is included, the best inhibition to the evolution of the pathology studied (Hypertension 1 (PAH)) is provided. The use of solvation is premedial allows a relative stability of the different protein conformations, (Figures 4-5). In addition, the latter allows to estimate the free energy of binding of ligands to proteins. Precisely, atomic level descriptions of hydrophobicity and amphiphilicity. The presence of water is sometimes paramount to ensure a relay between the ligand and the active site [23].

4 CONCLUSION

In this investigation, the inhibitions of two 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (11β -HSD) isozymes were theoretically examined by molecular docking analyses taking into account solvation parameter MD simulations. Our calculations showed that the synthetic inhibitor- 2 of subsisted derivatives of 1,2,4-triazoles provides more optimized inhibition of 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11β -HSD-1) for hypertension 1 (PAH) treatment. These interactions between 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11β -HSD-1) and those inhibitors are undergoing different interactions between N-14 with oxygen receptor interaction H- donor of synthetic ones. However, the docking simulation results are optimized under dynamic conditions by MD simulations to prove the stability of the interaction between both proteins and each ligand. Although compounds L1 and L2 have binding affinity with 11β -HSD-1 protein in the docking simulation, the ligand-protein interactions mentioned in docking simulation are almost stable in dynamic conditions. The solvation model involving the coordination of the solvent molecules with the interacting complex for 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11β -HSD-1) shows a considerable decrease of the complex energy of these ligands compared with the energies for 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11β -HSD-2) and there by an increase of the inhibition activity. We also propose further studies to develop L2 subsisted

derivatives of 1,2,4-triazole into a new drug.

5 ACKNOWLEDGEMENTS

Autors thanks the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research for the support under the PRFU project (approval No. B00L01UN130120190009). The authors thank director of Laboratory -LASNABIO for his financial support and ensure that there is no conflict of interest regarding this paper.

6 REFERENCE

- [1] Alixe HM Kilgour, Scott Semple, Ian Marshall, Peter Andrews, Ruth Andrew, and Brian R Walke. 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Activity in the Brain Does Not Contribute to Systemic Interconversion of Cortisol and Cortisone in Healthy Men. *J Clin EndocrinolMetab.* 2015 Feb,100 (2): 483–489.
- [2] Flavie, D; Alain Gardier, M, Raphael Gaillard Denis David, J, and Jean-Philippe Guilloux. A Translational Review in Animal Models of the Disease .Pharmaceuticals (Basel). 2016 Mar, 9(1): 9.
- [3] Mesli.F, Missoum .N, Ghalem.S. Study of Interaction Between Angiotensin-converting Enzyme ACE and Diuretic Inhibitor by Molecular Modeling. *American Journal of Chemical Engineering* 2019; 7(4): 113-119 doi: 10.11648/j.ajche.20190704.13
- [4] David R, Bauman A, Alan Whitehead B, Lisa C, Contino C, Jisong Cui A, Margarita Garcia-Calvo D, XinGub Nancy Kevin B, Xiuying Mac, Lee-yuhPai C, Kashmira Shah C, XiaolanShen E, Sloan Stribling C, Hratch J, Zokian D, JoeMetzger C, Diane, E, Shevell A, Sherman T, Waddell B. Evaluation of selective inhibitors of 11b-HSD1 for the treatment of hypertension . *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters* .2013,23: 3650–3653.
- [5] Larbi M, Merad M, kamal B and Ghalem S. Molecular docking of 11 β -HSD1 with (1,2,4-triazole derivatives) inhibitors in a solvated medium. *Journal of Computational Chemistry & Molecular Modelling.* 20 2(2):135-14
- [6] X.T. Ni, T. Duan, Z. Yang, C.M. Guo, J.N. Li, K. Sun, Role of human chorionicgonadotropin in maintaining 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2expression in human placental syncytiotrophoblasts, *Placenta.* 2009; 30:1023-1028.
- [7] Z.K. Wan, E. Chenail, J. Xiang, H.Q. Li, M. Ipek, J. Bard, K. Svenson, T.S. Mansour,X. Xu, X. Tian, V. Suri, S. Hahm, Y. Xing, C.E. Johnson, X. Li, A. Qadri, D. Panza,M. Perreault,

- J.F. Tobin, E. Saiah, Efficacious 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type I inhibitors in the diet-induced obesity mouse model, *J. Med. Chem.* 2009; 52: 5449-5461
- [8] M. Levitt, Accurate modeling of protein conformation by automatic segment matching, *J. Mol. Biol.* 1992; 226 : 507-533.
- [9] T. Fechteler, U. Dengler, D. Schomberg, Prediction of protein three-dimensional structures in insertion and deletion regions: a procedure for searching data bases of representative protein fragments using geometric scoring criteria, *J. Mol. Biol.* 1995; 253: 114-131
- [10] Yuan S, Chan HS, Hu Z. Using PyMOL as a platform for computational drug design. *Wiley interdisciplinary reviews. Comput Mol Sci*, 2017; 7(2):e1298.
- [11] Robb GR, Boyd S, Davies CD, Dossiter AG, Goldberg FW, Kemmitt PD, Scott JS, Swales JG. Design of pyrazolo-pyrimidines as 11 β -HSD1 inhibitors through optimisation of molecular electrostatic potential. *Med chem. Comm* 2016, 6: 926-934;
- [12] Yamaguchi H, Akitaya T, Kidachi Y, Kamiie K, Noshita T, Umetsu H, and Ryoyama; K. *Eur. J Med Chem.* 2011, 46: 25–30.
- [13] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews.* 1997 Jan 15;23(1-3):3-25.
- [14] Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* 1 December 2004,(4), 337–341.-
- [15] CCGI M. *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2013.08. Chemical Computing Group Inc., Montreal. 2016.
- [16] Berendsen, HJC, Postma JPM, van Gusteren, WF. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.* 1984,81: 3684.
- [17] Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry.* 2002 Jun 6;45(12):2615-23.
- [18] Cheng F, Li W, Zhou Y, Shen J, Wu Z, Liu G, Lee PW, Tang Y. admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J Chem Inf Model*, 2012:3099–105.
- [19] Katharina R. Beck, Murielle Bächler, Anna Vuorinen, Sandra Wagner, Muhammad Akram, Ulrich Griesser, Veronika Temml, Petra Klusonova, Hideaki Yamaguchi, Daniela Schuster, and Alex Odermatt: Inhibition of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2 by the

fungicides itraconazole and posaconazole. *Biochem Pharmacol.* 2017 Apr 15; 130: 93–103. doi: 10.1016/j.bcp.2017.01.010.

[20] Karen Chapman, Megan Holmes, and Jonathan Seckl: 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenases: Intracellular Gate-Keepers of Tissue Glucocorticoid Action. *Physiol Rev.* 2013 Jul; 93(3): 1139–1206. doi: 10.1152/physrev.00020.2012

[21] Roberto A.S. Schweizer, **Atanas G Atanasov**, Brigitte M Frey, Alex Odematt. A rapid screening assay for inhibitors of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases (11 β -HSD): Flavanone selectively inhibits 11 β -HSD1 reductase activity. January 2004 *Molecular and Cellular Endocrinology* 212(1-2):41-9 DOI: 10.1016/j.mce.2003.09.027

[22] Egan WJ, Merz KM, Baldwin JJ. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. *Journal of medicinal chemistry.* 2000 Oct 19;43(21):3867-77.

[23] Klebe G. Virtual ligand screening: strategies, perspectives and limitations. *Drug discovery today.* 2006 Jul 1;11(1314):580-94.

How to cite this article:

Mostefaoui L, Mesli F, Merad M, Ghalem S. Virtual screening of triazoles inhibitors of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase enzymes using -adme - molecular docking, and molecular dynamics simulation studies. *J. Fundam. Appl. Sci.*, 2020, 12(2), 713-727.

Résumé

Le développement important des moyens informatiques au cours de ces dernières années a permis à la chimie et à la biochimie de s'enrichir d'un outil informatique spécialement dédiée à l'analyse structurale des molécules chimiques et biologiques. Ce nouvel outil explique d'un point de vue structurel les propriétés des molécules : c'est la modélisation moléculaire, dans ce but qu'intervient le Docking qui est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable.

Notre recherche consiste à étudier l'inhibition des enzymes appliqués dans la maladie de l'hypertension artérielle avec des séries d'inhibiteurs à l'aide des programmes de docking moléculaire pour avoir l'effet inhibitrice de ces molécules, et voir l'effet de solvant (eau) sur la stabilité des complexes formés.

Mots Clés : Modélisation Moléculaire, Interactions, Hypertension Artérielle, Solvation.

Abstract

The important development of the computing resources over the last few years has allowed the chemistry and the biochemistry to be enriched by a computer tool specially dedicated to the structural analysis of chemical and biological molecules. This new tool explain from a point of structural property of molecular: this is molecular modeling, in order to think of docking which is a method that predicts the orientation of one molecule relative to the other to have the most stable complex.

Our research consists in studying the inhibition of enzymes applied in the disease of arterial hypertension with a series of inhibitors using molecular docking programs to have the inhibitory effect of these molecules and see the effect of solvent (Water) on the stabilities of the complexes formed.

Key Words : Molecular Modeling, Interactions, Arterial Hypertension, Solvation.

ملخص

التطور الهائل في تكنولوجيا الحاسوب في السنوات الأخيرة سمح للكيمياء والكيمياء الحيوية بإثراء أداة برمجية مخصصة تحديدا لتحليل البنيوي للجزيئات الكيميائية والبيولوجية. هذه الأداة الجديدة تفسر من جهة نظر هيكلية خصائص الجزيئات: النمذجة الجزيئية وفي هذا الشأن نجد الالتحام وهي الطريقة التي تتنبأ بتوجه أو اقتراب جزيء إلى آخر ليكون مجمع الأكثر استقرارا. بحثنا هو دراسة تثبيط الإنزيمات المعمول بها في مرض ارتفاع ضغط الدم مع سلسلة مثبطات باستخدام برامج الالتحام الجزيئية مع سلسلة من مثبطات باستخدام برامج الالتحام الجزيئية ونرى تأثير المذيب (الماء) على استقرار المجمعات المشكلة

كلمات البحث: النمذجة الجزيئية، التفاعلات، ارتفاع ضغط الدم، الإذابة