

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen

## Thèse LMD

Présentée à :



FACULTE DES SCIENCES - DÉPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT

**Spécialité** : Molécules Bioactives, Synthèses et Applications

Par:

M<sup>r</sup> BENMILOUD Kamal

Sur le thème

---

### ÉTUDE DES RELATIONS STRUCTURE CHIMIQUE-ODEUR: PRÉDICTION DE CERTAINES MOLÉCULES ODORANTES

---

Soutenue publiquement le à Tlemcen devant le jury composé de : 23/01/2021

Mr TABTI Boufeldja	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mr BOUCHAOUR Tewfik	Professeur	Université de Tlemcen	Examineur
M <sup>me</sup> TAÏRI-KELLOU Safia	Professeure	USTHB, Alger	Examinatrice
Mr BENSEGUENI Abderrahmane	Professeur	Université Constantine	Examineur
M <sup>me</sup> BENYAROU née MERAD Meriem	Professeure	Université de Tlemcen	Directrice du Thèse
Mr GHALEM Said	Professeur	Université de Tlemcen	Co-Directeur

*Année Universitaire.2019- 2020*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à ma mère, qu'elle trouve ici  
toute ma gratitude pour leur soutien tout au long  
de mes études.*

*A mon père Amar, puisse Dieu l'accueillir dans son vaste paradis ;*

*A mes sœurs et mes frères*

*A ma femme Hanane et mes enfants Wail issa et Amar ;*

*A toute ma grande famille ;*

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

*A tous mes collègues et amies*

## *Remerciements*

*Avant toute chose je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordée toute la force, la patience et la bonne conduite pour réaliser ce travail.*

Ce travail a été réalisé au laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO) et sous la direction du Madame M. BENYAROU née MERAD Professeure au Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université *Abou Bekr Belkaid* de Tlemcen. Je tiens à lui formuler mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance pour l'honneur qu'elle a fait d'avoir acceptée la direction de cette Thèse.

Je remercie Monsieur Saïd GHALEM Professeur au Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université *Abou Bekr BELKAID* de Tlemcen, Directeur de Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO).

Je tiens à remercier chaleureusement Monsieur TABTI Boufeldja Professeur au Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université *Abou Bekr BELKAID* de Tlemcen, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury,

Je tiens à remercier Madame Safia Kellou-Taïri Professeure au Département de Chimie Physique et Théorique, Faculté de Chimie, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) et Monsieur Tewfik BOUCHAOUR Professeur à l'université *Abou Bekr BELKAID* de Tlemcen ; Monsieur Abderrahmane BENSEGUENI Professeur à l'Université de Constantine, qui ont accepté d'examiner ce travail et de participer à ce du jury.

Je remercie Mr Salim BOUCHENTOUF Maitre de Conférence au Département Chimie Université Moulay Tahar de Saïda

J'exprime mes vifs remerciements à toutes les personnes de l'université d'Aveiro Département de chimie(Portugal) pour leur contribution et leur aide concernant la réalisation des analyses RMN.

Pour n'oublier aucune personne, je tiens à remercier infiniment toute les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse en particulier Messieurs L. MOSTEFAOUI, Dr N. MISSOUM...

***Merci à toutes et à tous....***

# Table des matières

<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
------------------------------------	----------

## Chapitre I: Synthèse bibliographique

<b>I. Synthèse bibliographique .....</b>	<b>8</b>
--	----------

<b>I.1. Les odeurs .....</b>	<b>8</b>
------------------------------	----------

I.1.A. Définition d'une odeur.....	8
------------------------------------	---

I.1.B. Solubilité des odeurs .....	8
------------------------------------	---

I.1.C. Mécanismes de perception des odeurs .....	9
--	---

I.1.D. Aspects moléculaires .....	10
-----------------------------------	----

I.1.E. Phénomènes de régulation de l'information olfactive .....	10
--	----

I.1.F. Récepteurs olfactifs .....	11
-----------------------------------	----

I.1.G. Apport de la modélisation moléculaire à l'étude de la perception olfactive .....	11
---	----

I.1.H. Protéines de transport des odorants et leurs complexes avec les odorants .....	12
---	----

I.1.I. Récepteurs olfactifs et leurs complexes avec les odorants.....	12
---	----

I.1.J. Odeur musquée .....	14
----------------------------	----

I.1.K. Relation structure-odeur .....	14
---------------------------------------	----

I.1.L. Influence de la concentration des substances odorantes .....	15
---	----

<b>I.2. Synthèse de molécules odorantes dérivées du m-xylene .....</b>	<b>16</b>
--	-----------

I.2.A. Le musc naturel d'origine animale .....	16
--	----

I.2.B. Le musc naturel d'origine végétale.....	17
--	----

I.2.C. Le musc chimique ou l'art de la synthèse .....	18
---	----

## Chapitre II: Modélisation Moléculaire

<b>II. Méthodes de la modélisation moléculaire .....</b>	<b>26</b>
--	-----------

<b>II.1. Introduction .....</b>	<b>26</b>
---------------------------------	-----------

<b>II.2. Méthodes quantiques (MQ).....</b>	<b>27</b>
--	-----------

II.2.A. Méthodes ab-initio (Hartree- Fock- Roothann).....	28
---	----

II.2.B. Méthodes empiriques.....	28
----------------------------------	----

II.2.C. Méthodes semi-empiriques.....	28
---------------------------------------	----

II.2.D. Méthodes qui traitent la corrélation.....	29
---	----

a. Méthodes post- Hartree-Fock (HF) .....	29
b. Les méthodes de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) :.....	29
<b>II.3. Méthodes non quantiques .....</b>	<b>30</b>
II.3.A.Mécanique moléculaire (MM).....	30
A. Champ de force .....	31
B. Classes des champs de force en mécanique moléculaire .....	33
II.3.B.Dynamique moléculaire (DM).....	34
<b>II.4. Docking moléculaire (Amarrage moléculaire).....</b>	<b>35</b>
II.4.A.Principe.....	36
II.4.B.Processus de Docking Moléculaire.....	37
II.4.C.Un programme de docking moléculaire .....	37
<b>II.5. Etude théorique de la solvation.....</b>	<b>38</b>
a. Méthodes implicites .....	38
b. Solvation explicite.....	40
<b>II.6. Méthodologie.....</b>	<b>41</b>
II.6.A.Minimisation .....	41
II.6.B.Simulation.....	42

### **Chapitre III: Les enzymes**

<b>III. Enzymes .....</b>	<b>51</b>
<b>III.1.Introduction .....</b>	<b>51</b>
<b>III.2.Site actif .....</b>	<b>51</b>
<b>III.3.Cinétique Enzymatique.....</b>	<b>52</b>
<b>III.4.Fonctionnement des enzymes .....</b>	<b>52</b>
<b>III.5.Catalyse enzymatique.....</b>	<b>52</b>
<b>III.6.Complexe enzyme – substrat .....</b>	<b>53</b>
<b>III.7.Spécificité de l'association protéine - ligand, site actif .....</b>	<b>54</b>
<b>III.8.Modélisation moléculaire des complexes ROs-odorants.....</b>	<b>55</b>
III.8.A.L'affinité odorant-récepteur .....	57
III.8.B.Mécanismes régulant le spectre de reconnaissance d'un RO.....	57

III.8.C.Activation des récepteurs - vers la démorphinisation computationnelle.....	58
--	----

## Chapitre IV: Résultats et discussions

<b>IV. Résultats et Discussions .....</b>	<b>63</b>
<b>IV.1. Matériel et méthodes .....</b>	<b>63</b>
IV.1.A.Introduction.....	63
IV.1.B.Logiciels utilisés .....	64
a) MOE .....	64
b) Hyperchem 8.0.3 .....	64
c) ChemDraw .....	64
d) Origine 5.0 .....	64
e) Ordinateur .....	65
f) Spectromètre RMN .....	65
IV.1.C.Protocole général de docking.....	65
IV.1.D.Préparation de l'enzyme .....	66
IV.1.E.Méthodologie des calculs .....	70
A. Préparation du récepteur .....	70
B. Préparation des ligands .....	72
1) Première étude.....	72
2) Deuxième étude.....	74
3) Troisième étude : Synthèse des molécules musquées dérivées des m-xylène .....	75
A. Alkylation de m-xylène.....	75
B. Nitration .....	76
C. Acétylation .....	77
D. Etude théorique des ligands synthétisés .....	77
<b>IV.2. Résultats et discussions .....</b>	<b>79</b>
IV.2.A.Introduction.....	79
IV.2.B. Première étude : Etudes de la relation structure- odeur musquée avec protéine G couplés aux récepteurs (GPCRs) par docking moléculaire .....	81
IV.2.C. Seconde étude : étude informatique de l'interaction entre le récepteur de la chimiokine olfactive et les musques de diénone .....	85

IV.2.D. Troisième étude : Synthèse et étude théorique des molécules musquées et non musquées par modélisation moléculaire.....	95
A. Interprétation des spectres des molécules synthétisées.....	96
B. Etude théoriques.....	101
1. Etude théorique en milieu non solvato.....	101
2. Etude théorique en milieu solvato.....	104

### **Conclusion générale**

<b>Conclusion générale.....</b>	<b>117</b>
---------------------------------	------------

### **Annexe**

<b>Annexe.....</b>	<b>121</b>
--------------------	------------

## Liste des abréviations

- AMPC:** adénosine monophosphate cyclique
- DFT:** théorie de la fonctionnelle de la densité
- GRK:** kinases spécifiques aux récepteurs couplés aux protéines G
- GTP:** guanosine triphosphate
- IP<sub>3</sub>:** inositol triphosphate
- MOE :** Molecular Operating Environment
- NO:** neurones olfactifs
- OBP:** protéines de transport des odorant (odorant binding protéine)
- OBP2a:** protéines de transport des odorant (humaine)
- PDB:** Bookhaven Protein Data Bank
- pH:** potential hydrogène
- PKA:** Protéine kinase A
- PKC:** Protéine kinase C
- RCPGs:** récepteurs couplés aux protéines G
- RMN:** Résonance magnétique nucléaire
- RO:** récepteur olfactif

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Substitution de musc dans la famille « m-xylene » .....	72
<b>Tableau 2 :</b> Structures des différents ligands dérivés du m-xylène .....	73
<b>Tableau 3 :</b> Différentes structures – musques diénone .....	74
<b>Tableau 4 :</b> Différentes structures des ligands synthétisé .....	78
<b>Tableau 5:</b> Données des enzymes téléchargées à partir de la PDB: .....	79
<b>Tableau 6:</b> Résultats du score Enzyme - ligands .....	81
<b>Tableau 7:</b> Analyse des descripteurs moléculaires de 13 ligands à l'aide du logiciel MOE.....	86
<b>Tableau 8:</b> Résultats du score Enzyme – ligands.....	89
<b>Tableau 9:</b> Résultat d'interaction entre enzyme (3VB1) et différentes ligands synthétisés en milieu non solvate.....	101
<b>Tableau 10:</b> Résultats d'interaction entre enzyme (3VB1) et différentes ligands synthétisés en milieu solvate.....	105
<b>Tableau 11 :</b> Paramètres du solvant .....	108
<b>Tableau 12:</b> Energie du complexe après la dynamique .....	110

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> cascade biochimique permettant la dépolarisation de la membrane lorsque l'odorant se complexe au RO .....	10
<b>Figure 2:</b> Chevrotain porte musc.....	16
<b>Figure 3:</b> <i>Abelmoschus moschatus</i> .....	17
<b>Figure 4 :</b> <i>Angelica archangelica</i> .....	18
<b>Figure 5 :</b> <i>Costus deistellii</i> .....	18
<b>Figure 6:</b> Principe général d'un programme de docking moléculaire.....	37
<b>Figure 7 :</b> Représentation implicite du solvant . .....	39
<b>Figure 8:</b> Représentation explicite du solvant.....	40
<b>Figure 9:</b> Exemple des deux types de boîte d'eau.....	42
<b>Figure 10 :</b> Représentation de la catalyse enzymatique .....	53
<b>Figure 11:</b> Schéma du profil énergétique du mécanisme d'activation des ROs à spectre large et restreint. ....	58
<b>Figure 12 :</b> Étapes d'un docking moléculaire.....	65
<b>Figure 13 :</b> Site actif des enzymes isolées . .....	66
<b>Figure 14:</b> Distribution générale des protéines 4J4Q.....	66
Figure 15: Distribution générale de protéine 3ODU.....	67
<b>Figure 16:</b> Distribution générale des protéines 3VB1.....	67
<b>Figure 17 :</b> Protocole de préparation de l'enzyme .....	69
<b>Figure 18:</b> Protéine G couplée au récepteur (GPCRs) (PDB ID: 4J4Q).....	71
<b>Figure 19:</b> Protéine G couplée au récepteur (GPCRs) (PDB ID: 3VB1).....	71
<b>Figure 20:</b> Protéine réceptrice de chimiokine (CXCR4) sous le code 3ODU. ....	71
<b>Figure 21 :</b> Modèle simplifié de la 4J4Q. ....	80
<b>Figure 22 :</b> Modèle simplifié de la 3VB1. ....	80
<b>Figure 23:</b> Modèle simplifié de la 3ODU. ....	80
<b>Figure 24 :</b> Structure du complexe : enzyme (4J4Q) avec l'inhibiteur(L2).....	84
<b>Figure 25 :</b> Dimension de la cavité enzymatique (enzyme 4J4Q) et de ligand L2. ....	85

<b>Figure 26:</b> Site actif isolé de l'enzyme CXCR4.....	87
<b>Figure 27 :</b> Diagramme d'interaction du complexe CXCR4- L7. ....	88
<b>Figure 28:</b> Diagramme d'interaction of CXCR4-L12.....	89
<b>Figure 29:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4- L11. ....	89
<b>Figure 30:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L9. ....	91
<b>Figure 31:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L2 ....	91
<b>Figure 32:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L10. ....	91
<b>Figure 33:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L3 ....	92
<b>Figure 34:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L13. ....	92
<b>Figure 35:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L5 ....	92
<b>Figure 36:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L8 ....	93
<b>Figure 37:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L1 ....	93
<b>Figure 38:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L6 ....	93
<b>Figure 39:</b> Diagramme d'interaction de CXCR4 - L4. ....	94
<b>Figure 40:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L <sub>2</sub> .....	102
<b>Figure 41:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L <sub>4</sub> .....	102
<b>Figure 42:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L <sub>3</sub> .....	102
<b>Figure 43:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L <sub>5</sub> .....	103
<b>Figure 44:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L <sub>1</sub> .....	103
<b>Figure 45:</b> Boite de simulation Enzyme 3VB1 dans la boite.....	104
<b>Figure 46:</b> Dimension de la cavité enzymatique (enzyme 3VB1) et ligand L5.....	104
<b>Figure 47:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 + L1 avec solvation.....	105
<b>Figure 48:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 + L2 avec solvation.....	105
<b>Figure 49:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L3 avec solvation.....	106
<b>Figure 50:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L4 avec solvation.....	106
<b>Figure 51:</b> Diagramme d'intéraction d'enzyme 3VB1 - L4 avec solvation.....	106
<b>Figure 52:</b> Evaluation d'énergie potentielle du complexe le plus stable 3VB1-L5 en milieu non solvatoé en fonction de temps.....	109

<b>Figure 53:</b> Evaluation d'énergie potentielle du complexe le plus stable 3VB1-L5 en milieu solvato en fonction de temps .....	109
<b>Figure 54:</b> Représentation la stabilité de la production du complexe 3VB1-L5 en milieu non solvato en fonction du temps.....	110
<b>Figure 55:</b> Représentation la stabilité de la production du complexe 3VB1-L5 en milieu solvato en fonction du temps .....	111
<b>Figure 56:</b> Energie potentielle du complexe 3VB1-L5 en milieu non solvato en fonction du temps .....	111
<b>Figure 57:</b> Energie potentielle du complexe 3VB1-L5 en milieu solvato en fonction du temps....	112
<b>Figure 58:</b> Stabilité de la production du complexe en milieu non solvato en fonction du temps ..	112
<b>Figure 59:</b> Stabilité de la production du complexe en milieu solvato en fonction du temp.....	113

# **Introduction**

## **générale**

## **Introduction générale**

Les molécules organiques odorantes sont utilisées dans la majorité des produits de consommation pour inciter les consommateurs à associer des impressions favorables à un produit donné.

L'odorat, système de détection très puissant, est paradoxalement souvent considéré comme un sens mineur. La sensation d'odeur provient de l'interaction entre des molécules chimiques et la muqueuse olfactive située dans les fosses nasales. Cette interaction génère un message nerveux qui est transmis au bulbe olfactif puis dans les autres zones du cerveau qui régulent et interprètent le message olfactif [1].

Globalement, la réponse à un stimulus olfactif dépend du nombre de molécules qui vont être :

- adsorbées dans le mucus,
- de la distribution aléatoire des molécules odorantes adsorbées dans le mucus,
- de la distribution aléatoire des molécules odorantes sur les différentes protéines réceptrices,
- De la fabrication des molécules odorantes qui est plutôt faite artificiellement c'est à dire synthétique, puisque l'extraction des molécules naturelles n'est pas toujours possible.

Que ce soit des odeurs naturelles ou artificielles, une fois la fabrication de ces molécules réalisée, elles sont alors perceptibles par l'homme. Nous nous sommes donc interrogés de quelles manières ces odeurs peuvent être perçues. Ce système de perception est l'olfaction, pour cela l'organe essentiel humain est le nez. C'est à partir d'ici que les molécules pénètrent, dès lors le système complexe débute et de nombreuses étapes sont traversées par ces molécules, notamment la traversée du nerf et du bulbe olfactif, jusqu'à atteindre les cellules nerveuses, le lieu d'interprétation des odeurs [3].

En effet, une fois l'olfaction terminée, ces molécules odorantes sont interprétées par l'homme, ici, l'organe principal est le cerveau qui lui, a enregistré précédemment des odeurs, et qui fait ensuite fonctionner son système mémorial permettant à l'homme l'apparition de nombreuses émotions. Cependant pour une bonne interprétation, les molécules odorantes possèdent chacune des caractéristiques différentes comme par exemple leur structure, leur concentration, ou bien leur solubilité. C'est donc avec l'aide de plusieurs méthodes scientifiques que l'on peut fabriquer des odeurs tant naturelles qu'artificielles, une fois ces molécules obtenues elles peuvent être perçues par

l'homme, et doivent alors traverser les multiples étapes de l'olfaction, pour ensuite être interprétées de différentes manières [4].

La prédiction d'une odeur est extrêmement complexe car, contrairement à la chimie médicinale, l'interaction entre les molécules odorantes et les récepteurs olfactifs (ROs) ne relève pas du paradigme. Il existe environ 400 ROs fonctionnels chez l'homme. Il a été montré qu'une molécule odorante peut activer plusieurs ROs et qu'un RO peut être activé par plusieurs odorants différents [5]. La sensation olfactive correspond donc à une combinaison de signaux provenant de différents ROs, on parle ici de signal combinatoire. Il est donc extrêmement complexe de prédire une odeur sur une base moléculaire [6]. Cette complexité croît avec le nombre de molécules différentes contenues dans l'effluve odorante car entrent alors en jeu les concepts d'agoniste/antagoniste. Un antagoniste peut empêcher l'activation d'un RO par agoniste [7].

Malgré cette complexité apparente, la théorie des odeurs primaires basées sur les idées de Montcrieff [8] puis reprise par Amoore [9, 10] a permis d'initier les premières recherches de relations structure/odeur. En se basant sur la fréquence et la similitude des descripteurs employés par les chimistes, Amoore a regroupé les odeurs en sept classes d'odeurs primaires :

- Éthérée,
- Camphrée,
- Mentholée,
- Florale,
- Putride,
- Piquante,
- Musquée,

Auxquelles il associe la forme générale des molécules ayant cette classe d'odeur [11].

La découverte des anosmies spécifiques (inaptitude à percevoir une odeur spécifique alors que d'autres odeurs sont normalement perçues) laissait penser que ces anomalies étaient liées au défaut d'expression des récepteurs associés à l'une des odeurs primaires. Cependant, environ 90 anosmies différentes ont été caractérisées engendrant du coup une perte d'intérêt de cette théorie.

Plus récemment, le concept d'olfactophore/odotope (on parle de pharmacophore dans le domaine de chimie médicinale) a fait son apparition afin de décrire la disposition spatiale relative des groupes susceptibles d'interagir avec les récepteurs olfactifs [12]. Comme dans le cas des pharmacophores, ces groupes ne correspondent pas forcément à des fonctions chimiques mais plutôt à des types d'interaction (donneur/accepteur de liaison hydrogène, site hydrophobe ...). Ces modèles sont générés en comparant les structures de molécules ayant des odeurs similaires

indépendamment de la structure des récepteurs. Un olfactophore correspond donc à une odeur précise et certains modèles se sont révélés intéressants pour la conception *in silico* d'odorants [12].

D'autres modèles ne permettent cependant pas d'établir de relations fiables [13], soulignant la nécessité de considérer explicitement la structure des protéines associées à la cascade d'évènements.

Sur le plan physico-chimique, la compréhension des phénomènes de structure-odeur des composés d'arôme via notamment l'étude des interactions ligand-récepteur. Ces équilibres sont régis notamment par les interactions qui ont lieu entre les constituants de la matrice et les composés volatils. Les quantités d'arôme libérées vont dépendre non seulement de la concentration en composés d'arôme de la matrice mais également de leur nature : fonction chimique, conformation et de la structure de la matrice alimentaire. Les interactions entre le milieu alimentaire et les molécules odorantes apparaissent donc comme un élément déterminant de l'équilibre rétention-libération.

La recherche des nouvelles molécules odorantes proches de molécules commerciales existantes et pour comprendre d'une manière précise de l'odeur et la relation structure-odeur, il est nécessaire de décrire finement les interactions possibles de la molécule avec les récepteurs, à partir de caractéristiques chimiques appropriées, fort différentes de celles que l'on considère dans les réactions chimiques usuelles.

Au niveau de ce travail de recherche, deux objectifs sont sélectionnés :

- Le premier but est de décrire d'un point de vue moléculaire les acteurs de la perception des molécules odorantes en étudiant les interactions entre odorat et les protéines impliquées. Pour cela nous avons utilisé la modélisation moléculaire qui permet d'obtenir une description des phénomènes au niveau atomique complétant et radiobalisant des données macroscopiques issues de l'expérience.
- Le deuxième but est la synthèse des différentes molécules dérivant du m-xylène.

Notre travail aborde les problématiques suivantes :

1. Obtention de molécules odorantes perceptibles par l'homme issu du m-xylène
2. L'étude de l'interaction RCPG –substrat « molécules odorantes » par l'approche de la modélisation moléculaire (Docking moléculaire)

Le manuscrit de cette thèse est subdivisé en quatre chapitres :

- Le premier chapitre concerne une recherche bibliographique sur la notion de l'odeur.
- Dans le deuxième chapitre nous présentons les principales approches de la modélisation moléculaire

- Le troisième chapitre est consacré à la notion d'enzyme
- Le quatrième chapitre est réservé à la discussion des résultats obtenus.

La conclusion générale résume l'ensemble des approches réalisées et présente les perspectives que l'on peut envisager dans des travaux de recherche futurs.

## Références bibliographiques

- [1] « Traitement des odeurs par ozonisation dans les stations d'épuration des eaux usées ». [http://www.ozone.ch/index.php?option=com\\_content&view=article&id=201&Itemid=872](http://www.ozone.ch/index.php?option=com_content&view=article&id=201&Itemid=872) (consulté le juill. 20, 2015).
- [2] O. V. Stepanenko *et al.*, « Hydrophobic interactions and ionic networks play an important role in thermal stability and denaturation mechanism of the porcine odorant-binding protein », *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 71, n° 1, p. 35-44, avr. 2008, doi: 10.1002/prot.21658.
- [3] M. Staiano *et al.*, « Time-resolved fluorescence spectroscopy and molecular dynamics simulations point out the effects of pressure on the stability and dynamics of the porcine odorant-binding protein », *Biopolymers*, vol. 89, n° 4, p. 284-291, avr. 2008, doi: 10.1002/bip.20908.
- [4] A. Marabotti *et al.*, « Mutant bovine odorant-binding protein: Temperature affects the protein stability and dynamics as revealed by infrared spectroscopy and molecular dynamics simulations », *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 72, n° 2, p. 769-778, févr. 2008, doi: 10.1002/prot.21966.
- [5] B. Malnic, J. Hirono, T. Sato, et L. B. Buck, « Combinatorial receptor codes for odors », *Cell*, vol. 96, n° 5, p. 713-723, mars 1999.
- [6] J. B. Fine-Levy, P. C. Daniel, M.-N. Girardot, et C. D. Derby, « Behavioral resolution of quality of odorant mixtures by spiny lobsters: differential aversive conditioning of olfactory responses », *Chem. Senses*, vol. 14, n° 4, p. 503-524, août 1989, doi: 10.1093/chemse/14.4.503.
- [7] S. I. Cromarty et C. D. Derby, « Inhibitory receptor binding events among the components of complex mixtures contribute to mixture suppression in responses of olfactory receptor neurons of spiny lobsters », *J. Comp. Physiol. A*, vol. 183, n° 6, p. 699-707, déc. 1998, doi: 10.1007/s003590050292.
- [8] R. W. Moncrieff, « The American perfumer and essential oil review. », *Am. Perfum. Essent. Oil Rev.*, 1940.
- [9] J. E. Amoore, « Stereochemical Theory of Olfaction », *Nature*, vol. 199, n° 4896, p. 912-913, août 1963, doi: 10.1038/199912b0.
- [10] J. E. Amoore, « Stereochemical and Vibrational Theories of Odour », *Nature*, vol. 233, n° 5317, p. 270-271, sept. 1971, doi: 10.1038/233270a0.

- [11] J. E. Amoore, « Specific anosmia and the concept of primary odors », *Chem. Senses*, vol. 2, n° 3, p. 267-281, mars 1977, doi: 10.1093/chemse/2.3.267.
- [12] P Kraft, JA Bajgrowicz, C Denis, G Fráter , « Odds and Trends: Recent Developments in the Chemistry of Odorants Note on trademarks», *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, vol. 39, no 17, p. 2980-3010, sept. 2000.
- [13] L. Turin, « Rational Odorant Design », in *Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances*, Wiley-Blackwell, 2009, p. 261-273.

# **Chapitre I**

## **Synthèse**

### **bibliographique**

## I. Synthèse bibliographique

### I.1. Les odeurs

#### I.1.A. Définition d'une odeur

Une odeur est une émanation transmise par l'air et perçue par l'appareil olfactif. Les récepteurs olfactifs sont situés dans les fosses nasales et sont reliés au cerveau par le nerf olfactif. Il existe sept odeurs primaires qui correspondent aux sept types de récepteurs sensoriels situés sur les cils des cellules olfactives.

Des substances ayant des odeurs semblables ont des molécules de forme similaire. La forme d'une molécule détermine la nature de son odeur. Ces molécules se fixent sur les récepteurs. Une même molécule peut se fixer sur plusieurs sites si elle possède la " clé " de récepteurs différents. Ce phénomène est le début d'une série d'événements : transmission de l'influx par le nerf olfactif et perception d'une odeur par le cerveau [1].

On peut distinguer sept odeurs de base : Camphrée, musquée, florale, mentholée, éthérée, piquante, putride.

#### I.1.B. Solubilité des odeurs

Pour être odorante, une substance doit être légèrement soluble dans l'eau, donc posséder une partie hydrophile pour se dissoudre au niveau du mucus sécrété par l'épithélium olfactif recouvrant les cellules nerveuses sensorielles. Afin d'atteindre les récepteurs olfactifs, la substance doit ensuite pouvoir traverser la membrane cellulaire constituée de lipides (graisses). La solubilité dans les lipides doit être suffisante : elle doit donc présenter une partie lipophile [2].

Les molécules odorantes se partagent en *deux familles distinctes* ayant chacune leurs caractéristiques :

- **Les molécules oxygénées** : Ce sont les plus odorantes. Elles regroupent :
  - *Les aldéhydes* caractérisés par leur groupement  $\text{-CHO}$ , *exemple* : la vanilline à l'odeur de vanille.
  - *Les cétones* caractérisés par leur groupement  $\text{>C=O}$ , *exemple*: civétone à l'odeur de musc.
  - *Les esters* caractérisés par leur groupement  $\text{RCOOR'}$  (R et R' différent selon l'alcool / acide réagissant), *exemple* : coumarine à l'odeur d'herbe coupée
- **Les hydrocarbures** : Molécules non-oxygénées. Cette famille regroupe :
  - *Les alcènes*, *exemple* : le limonène à l'odeur d'agrume.
  - *Les terpènes*, *exemple* : le pinène présent dans la menthe ou la sauge.

### **I.1.C. Mécanismes de perception des odeurs**

La perception olfactive résulte des interactions entre les odorants et les récepteurs olfactifs (ROs) se trouvant au niveau des cils des neurones olfactifs (NO), eux-mêmes situés dans l'épithélium olfactif [3, 4].

Chaque NO comporte à une de ses extrémités une touffe de 20 à 30 cils qui baignent dans le mucus olfactif. Les mucus assure divers rôles comme la défense immunitaire, la concentration et l'élimination des odorants et le lavage permanent de la muqueuse olfactive. Les NOs ont la particularité d'exprimer qu'un seul type de récepteur. A son autre extrémité, le NO prolonge son axone qui traverse l'os ethmoïde séparant la boîte crânienne des fosses nasales. Cet os est aussi appelé lame criblée dans la mesure où cet os est percé de nombreux trous permettant le passage des axones jusqu'au glomérule. Un glomérule correspond en fait à un regroupement de plusieurs milliers de synapses de NOs avec la condition que tous ces NOs expriment le même récepteur olfactif [5]. Les NOs ayant une durée de vie limitée d'environ deux mois chez l'homme, chaque nouveau NO doit effectuer un câblage axonal avec le glomérule qui lui est associé. Ce sont déjà les ROs exprimés au niveau de l'axone qui guident le câblage axonal afin que le NO trouve le glomérule adéquat parmi tous les autres [6].

Les glomérules sont ensuite reliés à des cellules relais nommées cellules mitrales dont les axones se regroupent pour former le faisceau du nerf olfactif qui assure les connections avec le cortex olfactif. Plusieurs méthodes montrent que de nombreuses zones du cerveau sont activées lors des stimuli olfactifs, notamment le système limbique qui régit la mémoire et l'émotion et le cortex orbitofrontal qui combine la perception sensorielle et l'information de nature émotionnelle.

Il est à noter que d'autres neurones sensoriels ayant un rôle dans l'olfaction ont été identifiés dans un organe alternatif appelé "organe voméronasal" qui détecte les phéromones et traite les informations issues de l'activation de récepteurs spécifiques. Cet organe joue donc un rôle important dans la reproduction et le comportement au sein des espèces. Il est cependant atrophié chez l'homme et quelques primates supérieurs, ne permettant pas alors de maintenir cette activité[7].

Comme nous avons signalé dans le contexte, l'étude des systèmes olfactifs est un champ d'investigation pluridisciplinaire. Le chimiste est avant tout concerné par l'interaction de l'odorant et par les aspects moléculaires de ce processus et le rôle de squelette moléculaire dans la détection d'odeur.

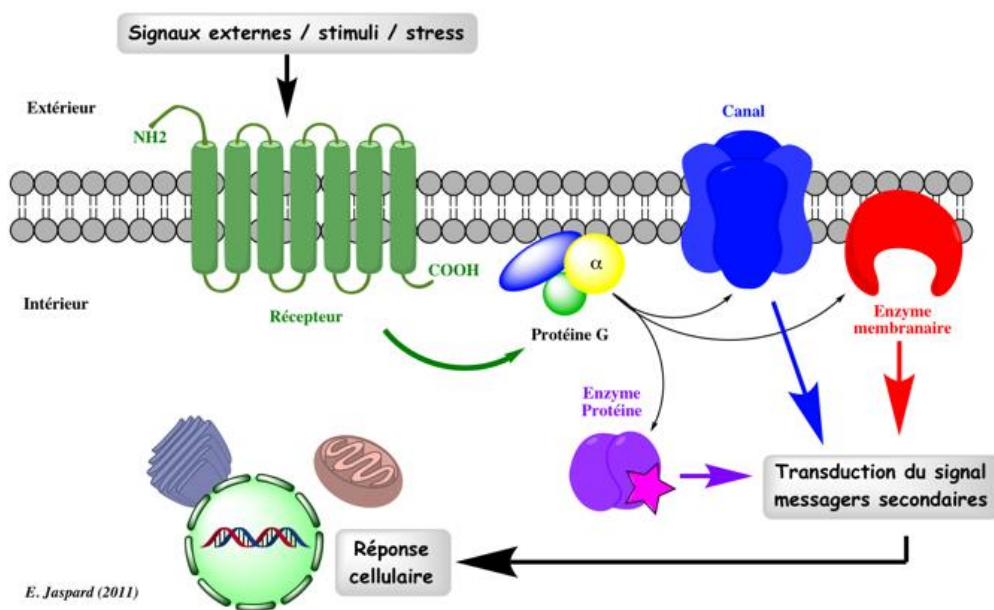
### I.1.D. Aspects moléculaires

Le signal olfactif est engendré par une dépolarisation de la membrane du NO. Cette dépolarisation résulte de l'ouverture d'un canal à ions provoquant ainsi une modification de la différence de potentiel entre le milieu intra et extracellulaire de la membrane du NO. Il existerait cependant plusieurs voies de signalisation permettant la création de signal olfactif.

- La voie de signalisation AMPc (adénosine monophosphate cyclique) dépendante.
- La voie de signalisation IP<sub>3</sub> (inositol triphosphate) dépendante.

L'activation des récepteurs couplés aux protéines G correspond à une cascade d'événements (Figure 1) tels que :

- l'activation du récepteur par la fixation de son ligand
- l'activation d'une protéine G par hydrolyse du GTP (guanosine triphosphate)
- l'activation ou l'inhibition d'une protéine effectrice par une sous-unité de la protéine G



**Figure 1:** cascade biochimique permettant la dépolarisation de la membrane lorsque l'odorant se complexe au RO [8]

### I.1.E. Phénomènes de régulation de l'information olfactive

Il existe plusieurs types processus de régulation de l'information olfactive. Ces mécanismes ont très probablement dû se développer afin de permettre, par exemple, de se nourrir sans être saturé par les odeurs et ainsi pouvoir ressentir la présence de prédateurs potentiels mais aussi de pouvoir se guider avec une odeur en suivant son gradient.

La simulation prolongée des neurones olfactifs induit une désensibilisation qui se traduit par la perte temporaire de la perception de l'odeur associée au mélange odorant.

La désensibilisation des neurones olfactifs s'effectue par divers mécanismes ;

- Des kinases spécifiques aux récepteurs couplés aux protéines G (GRK) phosphorylant l'extrémité carboxy-terminale des récepteurs [9].
- D'autres kinases (PKA et PKC) effectuent aussi des phosphorylations des ROs [10].
- Le calcium libéré par le canal ionique permet un rétrocontrôle en se complexant avec la calmoduline [11].
- L'action de divers enzymes contenues dans le mucus permettent la métabolisation des odorants.

### **I.1.F. Récepteurs olfactifs**

Les récepteurs olfactifs sont les protéines dont l'interaction avec les odorants est directement responsable de la perception olfactive. Leur activation permet la création du signal olfactif via une dépolarisation de la membrane. Ce mécanisme d'activation n'est cependant pas encore connu. L'activation du RO via un changement conformationnel n'a pas été démontrée. De plus, comme les OBPs (odorant binding protéine), les ROs ne sont pas exprimés uniquement au niveau des neurones olfactifs et leurs rôles dans cet autre organe restent inconnus, à l'exception de ceux exprimés dans les spermatozoïdes

Les sites de liaison des ROs seraient similaires à celui des RCPGs en général (entre les hélices 3, 4, 5, 6 et 7 à environ 10Å de la surface extracellulaire). Cependant, les ROs se différencient des autres RCPGs par leur mode d'activation. En effet, il semblerait que les résidus impliqués dans le passage de la forme passive à la forme active des ROs soient différents de ceux des autres RCPGs de classe A.

L'étude des ROs par modélisation moléculaire s'avère donc plus délicate que celle des OBPs. Les ROs ont certes un site de liaison identique à celui des RCPGs cristallisés, ils n'en demeurent pas moins très différents avec un pourcentage d'identité inférieur à 20%.

### **I.1.G. Apport de la modélisation moléculaire à l'étude de la perception olfactive**

L'expérience permet d'obtenir des informations quantitatives sur les interactions ligand/récepteur grâce à la mesure de l'enthalpie de liaison par exemple. Elle fournit aussi, dans la plupart des cas, des informations macroscopiques qui nécessitent d'être complétées par une représentation microscopique du modèle invoqué. Les informations au niveau atomique ou moléculaire sont généralement difficiles à obtenir expérimentalement.

### **I.1.H. Protéines de transport des odorants (OBPs) (odorant binding protéine) et leurs complexes avec les odorants**

Dans nombreux travaux, la mécanique moléculaire est utilisée pour obtenir une description des résidus des sites de liaison des OBPs, sans chercher plus précisément le fonctionnement de ce type d'édifice moléculaire [12–16].

Tcatchoff et al [17] ont proposé un modèle sur la sélectivité de l'OBP2a humaine pour les aldéhydes et les acides. Cette OBP n'étant pas cristallisée, les autres ont procédé à sa reconstruction par homologie sur la base de la structure cristallisée de la lipocaline humaine contenue dans les larmes. Ce modèle leur permet alors d'identifier les résidus du site de liaison. Au sein de ce site, trois lysine sont susceptibles de former des liaisons d'hydrogène avec les odorants. Les constantes des dissociations (mesurées par spectroscopie de fluorescence) augmentent dans les phénomènes de reconnaissance.

#### **I.1.I. Récepteurs olfactifs et leurs complexes avec les odorants**

Les cellules réceptrices du système olfactif sont des neurones bipolaires localisés au sein d'un épithélium spécialisé recouvrant la paroi dorsale des cavités nasales. Ces neurones envoient un axone unique non ramifié vers le bulbe olfactif homolatéral, à travers la lame criblée de l'ethmoïde, et leur dendrite vers la lumière de la cavité nasale. Au contact de cette cavité, les dendrites se terminent en une protubérance, d'où projettent cinq à vingt cils dans l'épaisse couche de mucus tapissant l'épithélium. Les cils constituent le siège de la réception des signaux olfactifs. Le corps cellulaire du neurone contient, quant à lui, les canaux responsables de la production des potentiels d'action. Les neurones olfactifs possèdent la particularité, unique parmi les neurones de vertébrés supérieurs, de proliférer tout au long de la vie à partir d'une population de cellules souches, et donc de régénérer à la suite de la disparition régulière des cellules différenciées. Le système olfactif peut distinguer plusieurs milliers de substances odorantes. Ce remarquable pouvoir discriminant est dû à l'interaction de ces substances odorantes avec des récepteurs spécifiques portés par les cils des neurones olfactifs. La stimulation des récepteurs olfactifs conduit à la stimulation rapide de l'adénylyl cyclase ou de la phospholipase C, en fonction de la structure chimique de la molécule [10, 18].

L'examen des propriétés physico-chimiques des substances permet de rendre compte du fait qu'elles sont odorantes ou non mais n'indique rien sur la qualité (boisée, musquée, florale, etc.) de l'odeur. Pour comprendre la qualité de l'odeur, il est nécessaire de décrire finement les interactions possibles de la molécule avec les récepteurs, à partir de caractéristiques chimiques appropriées, fort différentes de celles que l'on considère dans les réactions chimiques usuelles. Mais il n'est pas nécessaire qu'une substance odorante possède des groupes fonctionnels particuliers ou qu'elle soit

réactive chimiquement. Néanmoins, la présence de certains groupes fonctionnels confère aux molécules qui les portent une odeur spécifique. Le cas du groupe S-H est bien connu à cet égard : les thiols ont une odeur facilement reconnaissable. En fait, presque toutes les substances volatiles sont odorantes et il est remarquable de constater que l'on n'ait pas retrouvé deux molécules différentes ayant des odeurs strictement identiques [19].

Près de 10% de la surface de la cavité nasale totale représente l'épithélium olfactif de l'homme. Il compte environ 6 millions de neurones olfactifs qui s'y terminent par d'étroits appendices appelés cils. Ces cils sont protégés de la déshydratation et des infections bactériennes par un mucus produit au niveau de l'épithélium olfactif par les cellules de soutien et les glandes de Bowman [20]. Ils contiennent dans leur membrane les récepteurs olfactifs, découverts en 1990 par Buck et Axel [21].

Afin d'être perçues, les molécules odorantes présentes dans les cavités nasales doivent traverser le mucus nasal et atteindre les récepteurs olfactifs. Ce mucus est de nature aqueuse, ce qui constitue une barrière pour les molécules odorantes qui sont majoritairement hydrophobes. La solubilisation des molécules odorantes et leur temps de diffusion au travers de celui-ci dépend alors de leur solubilité dans l'eau [22]. Cette observation suggère aussi qu'il puisse exister de grandes variations entre la composition en molécules odorantes dans l'air de la cavité nasale et celle dans le mucus au niveau des terminaisons nerveuses olfactives.

La diffusion dans le mucus nasal des molécules odorantes est facilitée par l'action de protéines solubles présentes dans ce dernier, les protéines de transport des odorants (odorant binding protéine) (OBP) [23]. Elles font partie de la grande famille des lipocalines [24] et sont produites par les glandes de Bowman de l'épithélium olfactif [25]. Les OBP se lient de façon réversible aux molécules odorantes de façon à les libérer au niveau de l'épithélium olfactif. Cette libération serait due à un changement de conformation de la structure de l'OBP en raison d'une diminution de pH du mucus nasal au niveau de l'épithélium olfactif. Mais ce phénomène n'a pas été clairement démontré à ce jour. Les molécules odorantes libérées au niveau des cellules sensorielles de l'épithélium olfactif se fixent aux récepteurs olfactifs présents dans la membrane de ces dernières, de façon réversible.

Les récepteurs olfactifs font partie de la grande famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Les RCPG ont une structure générale similaire composée de 7 régions hydrophobes transmembranaires structurées en hélices [26] et sont plus ou moins spécifiques d'une molécule odorante. En raison de la grande diversité des molécules odorantes, il est probable qu'il n'existe pas un récepteur olfactif spécifique à chacune d'elle.

### **I.1.J. Odeur musquée**

L'odeur musquée trouve en parfumerie un débouché très important en raison de leur utilisation dans les eaux de Cologne, les parfums, cosmétiques, savons et autres.

Les muscs naturels du chevrotin des haute montagnes d'Asie est extrêmement rare et assez cher, par conséquent, les parfumeurs ont dépensé un temps considérable pour la recherche des produits qui remplacent cette odeur naturelle musquée.

Un nombre de différents muscs synthétiques ont été découverts et sont classés selon le groupement structurel en quatre principales catégories :

#### **a) Muscs macrocycliques**

#### **b) Musc aromatiques nitriques**

- a. Musc xylène
- b. Musc cétone
- c. Musc tibétène
- d. Musc ambrette
- e. moskène

#### **c) Muscs polycycliques**

- a. Musc indanique
- b. Musc isochromanique
- c. Musc tétranilique

#### **d) Divers muscs**

### **I.1.K. Relation structure-odeur**

De nombreux travaux ont été consacrés aux relations structure-odeur, à l'analyse de la nature et de la position des différents substituant sur le cycle, afin de préparer des produits encore plus performants [23-27].

L'examen des propriétés physico-chimiques des substances permet de rendre compte du fait qu'elles sont odorantes ou non mais n'indique rien sur la qualité (boisée, musquée, florale, etc.) de l'odeur. Pour comprendre la qualité de l'odeur, il est nécessaire de décrire finement les interactions possibles de la molécule avec les récepteurs, à partir de caractéristiques chimiques appropriées, fort différentes de celles que l'on considère dans les réactions chimiques usuelles [27]. Mais il n'est pas nécessaire qu'une substance odorante possède des groupes fonctionnels particuliers ou qu'elle soit réactive chimiquement. Néanmoins, la présence de certains groupes fonctionnels confère aux molécules qui les portent une odeur spécifique.

Les protéines réceptrices des molécules odorantes sont particulièrement riches en groupements chimiques -CONH, -COOH et -NH<sub>2</sub> susceptibles de donner et de recevoir des liaisons hydrogène. Aussi, on peut raisonnablement supposer que la reconnaissance des molécules par les récepteurs se fait, pour partie au moins, par l'intermédiaire de ces liaisons, qui sont très sensibles à la relation géométrique entre les éléments liés [27].

D'un autre côté, on peut s'attendre, par analogie avec les interactions connues en pharmacologie, à ce que les forces dites de Van Der Waals et les interactions hydrophobes jouent aussi un grand rôle. Ces forces s'exercent à courte distance, entre des parties de molécules peu chargées, constituées essentiellement de carbone et d'hydrogène.

Enfin, alors que les molécules odorantes ne présentent pas de charge électrique globale, elles peuvent fort bien présenter des charges localisées, parfois importantes, qui entraînent la présence de dipôles dans la molécule.

### **I.1.L. Influence de la concentration des substances odorantes**

Les trois principales dimensions des odeurs (bien qu'il en existe d'autres), sont l'intensité (force), leur qualité (identité) et leur tonalité hédonique (agrément/désagrément).

L'intensité de la perception est reliée à la concentration de la substance. Certaines substances ont un seuil olfactif très bas, sans que l'on sache pourquoi. L'odeur de certaines molécules peut être perçue à des concentrations extrêmement faibles. Par exemple, la pyrrolidino[1,2]-4H-2,4-diméthyl-1,3,5-dithiazine (2,4-dimethyl-hexahydropyrrolo [2,1-d] [1,3,5]dithiazine) dont les deux énantiomères peuvent être détectés par l'homme à une concentration de 10<sup>-18</sup> g/L d'eau, ce qui correspond à environ 4 µg dans une piscine olympique (2500 m<sup>3</sup> d'eau) [19].

La sensibilité aux odeurs des êtres humains est variable. La sensibilité olfactive d'un sujet pour une molécule odorante s'évalue par la détermination du seuil de détection (concentration à laquelle le sujet détecte l'odeur avec une probabilité de 50%) [28].

Mais, il a été noté que la perception d'un odorant peut être fortement modifiée en fonction de sa concentration. C'est le cas du thioterpinéol qui est décrit comme ayant une odeur de fruit tropical à faible concentration, une odeur de raisin à concentration plus élevée, alors qu'il devient même nausée à forte concentration. La combinatoire associée aux interactions des odorants avec les récepteurs olfactifs et l'image bulbaire qui en résulte sont donc variables avec la concentration de l'odorant [19].

## **I.2. Synthèse de molécules odorantes dérivées du m-xylene**

Le musc se divise en 3 catégories, parmi lesquelles :

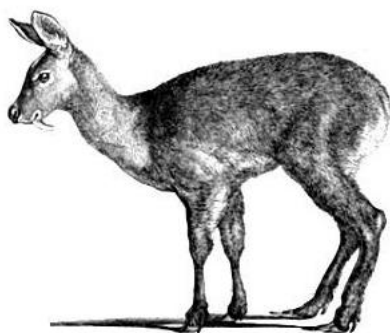
- Le musc naturel d'origine animale (ex : musc tonkin, Assam, ...)
- Le musc naturel d'origine végétale
- Le musc chimique (ou musc de synthèse)

### **I.2.A. Le musc naturel d'origine animale**

Le musc en réalité est une matière primaire animale. Il est extrait des glandes abdominales des cerfs porte-musc d'Asie centrale, Sibérie et dans l'Himalaya. D'autres espèces animales peuvent également produire une substance qualifiée de musc, notamment les civettes, les rats musqués, l'érismature à barbillons, le canard musqué ou le bœuf musqué.

Il est issu de la poche de musc du chevrotain porte-musc. C'est la matière odorante du musc, la sécrétion localisée dans une poche située sous le ventre de l'animal devant les organes sexuels du mâle, qui est utilisée en parfumerie.

L'organe glandulaire qui sécrète le musc est composé de deux parties : des vésicules constituées en un réseau externe produisent le musc "précoce" ou immature ; puis cette sécrétion mûrit et se conserve dans une poche centrale. ·



**Figure 2:** Chevrotain porte musc[29]

De plus, la glande à musc du chevrotain mâle n'est pas l'unique glande odorante qu'il possède. En effet, une glande caudale sécrète une substance jaune et visqueuse dont l'odeur est tout à fait différente de celle du musc. On extrait les grains de musc à l'aide d'une petite cuillère. Il faut pour cela immobiliser l'animal après anesthésie ou par immobilisation physique. Il existe des élevages de chevrotains en Chine. Il est en revanche chassé au Népal et en Inde.

La récolte du musc pouvant entraîner la mort de l'animal, sa chasse est aujourd'hui strictement interdite, et tous les muscs utilisés en parfumerie sont depuis longtemps d'origine synthétique

### **I.2.B. Le musc naturel d'origine végétale**

Certaines espèces végétales ont aussi une vague odeur de musc, tels que les graines d'ambrette ou la racine de certaines angéliques qui sont cultivées pour cette caractéristique

Certains organes d'espèces végétales ont une vague odeur naturelle de musc, et ils ont été cultivés pour cette caractéristique. Il s'agit clairement d'une solution naturelle pour obtenir une odeur musquée si l'on se réfère à la réglementation internationale, et donc de la seule manière de se procurer un parfume naturel le plus proche du musc original ; l'exemple de végétaux à odeur musquée utilisés en parfumerie :

**L'ambrette :** L'ambrette est une espèce de plante herbacée du genre *Abelmoschus*, appartenant à la famille des *Malvaceae*, originaire de l'Inde et des régions tropicales d'Asie et d'Australasie. Elle est largement cultivée pour ses graines dont on tire une huile essentielle à odeur musquée

*Règne : Plantae*

*Sous-règne : Tracheobionta*

*Classe : Magnoliopsida*

*Ordre : Malvales*

*Famille : Malvaceae*

Genre *Abelmoschus*



**Figure 3:***Abelmoschus moschatus*[30]

**L'angélique :** la famille des Apiacées (ombellifères), l'angélique est une plante qui aime les régions humides et marécageuses, ainsi que le bord des rivières. On la trouve principalement en Europe et en Sibérie. Les essences de racines et de graines d'angélique sont obtenues par distillation à la vapeur d'eau.

Règne : *Plantae*  
Sous-règne : *Angiospermes*  
Classe : *Astériidées*  
Sous-classe : *Campanulidées*  
Ordre : *Apiales*  
Famille : *Apiaceae*  
Genre : *Angelica*



**Figure 4 :***Angelica archangelica* [30]

**Le costus essence :** Costus est un genre d'environ 150 espèces de plantes de l'ordre des zingibérales, de la famille des Costaceae. Il est présent dans toutes les régions tropicales. Les racines de cette plante sont lavées et distillées pour donner l'essence de Costus.

Règne : *Plantae*  
Sous-règne : *Tracheobionta*  
Classe : *Liliopsida*  
Sous-classe : *Zingiberidae*  
Ordre : *Zingiberales*  
Famille : *Costaceae*  
Genre : *Angelica*



**Figure 5 :***Costus deistellii*[30]

### I.2.C. Le musc chimique ou l'art de la synthèse

C'est le musc le plus utilisé comme parfum, des nombreuses molécules chimiques ont été créées depuis un siècle, à titre de substituant du musc naturel animal, mais elles ne reproduisent qu'un aspect partiel de l'ensemble de ses senteurs et propriétés. Ces nouveaux muscs ont cependant ouvert la voie à un nouveau style de composition en parfumerie ou ils remplacent les muscs naturels bien trop coûteux.

Dans l'industrie l'emploi des isomères aromatique en C<sub>8</sub> (xylène) est largement développé, leur séparation constitue une étape importante dans la chaîne de production des aromatique. Le m-xylène ayant peu d'application directe, c'est le produit de base dans la synthèse des muscs.

L'objectif dans cette partie consiste à la synthèse des différents dérivés du m-xylène.

### A. Généralité

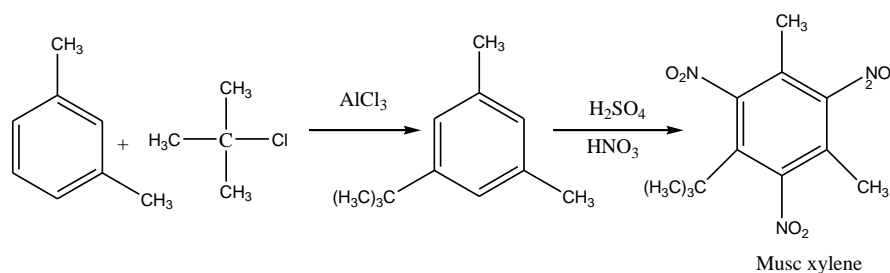
Dans cette partie, qui est en relation direct avec notre étude expérimentale. Nous nous intéresserons à l'étude de l'effet des substituent sur l'odeur. Parmi les muscs synthétiques, on fabrique régulièrement les muscs des groupes du méta-xylène qui offrent une importance commercialisation, du point de vue prix et accessibilité facile

### B. Synthèse des muscs dérivés du méta-xylène

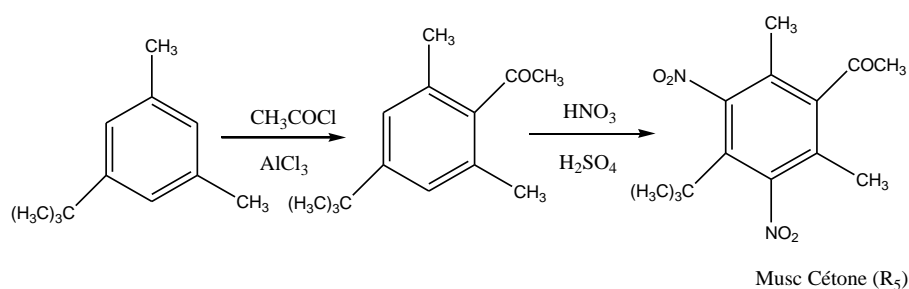
En 1888, **Albert Baur** réalisa la synthèse du premier musc nitré, nommé « Musc de Baur » en l'honneur de son invention. Il travaillait sur le trinitrotoluène (TNT) et avait préparé un dérivé portant un groupement t-butyle : le composé obtenu sentait le musc. Il réalisa ensuite diverses variantes de cette molécule qui furent les premiers produits chimiques à l'odeur musquée employés en parfumerie [31] :

**Musc xylène (MX)** : Il se présentent sous forme de cristaux blancs, utilisés en grande quantité dans les parfums , les savons et les produits domestiques [32].

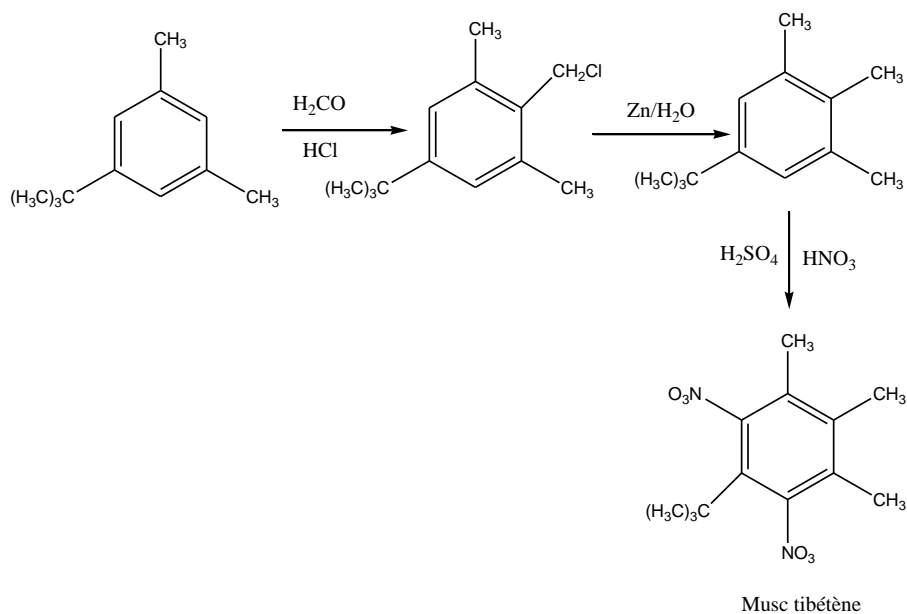
La synthèse des muscs aromatiques nitrés nécessite une alkylation ou une acylation suivie d'une nitration du composé aromatique :



**Le musc cétone (MC)**: de la même manière que le MX, le MC est obtenu par acylation du 5-t-Butyl-m-xylène suivi par une dinitrations. Le musc cétone a des propriétés similaires que le musc naturel. Il est largement utilisé dans les compositions dites fleuries [33]



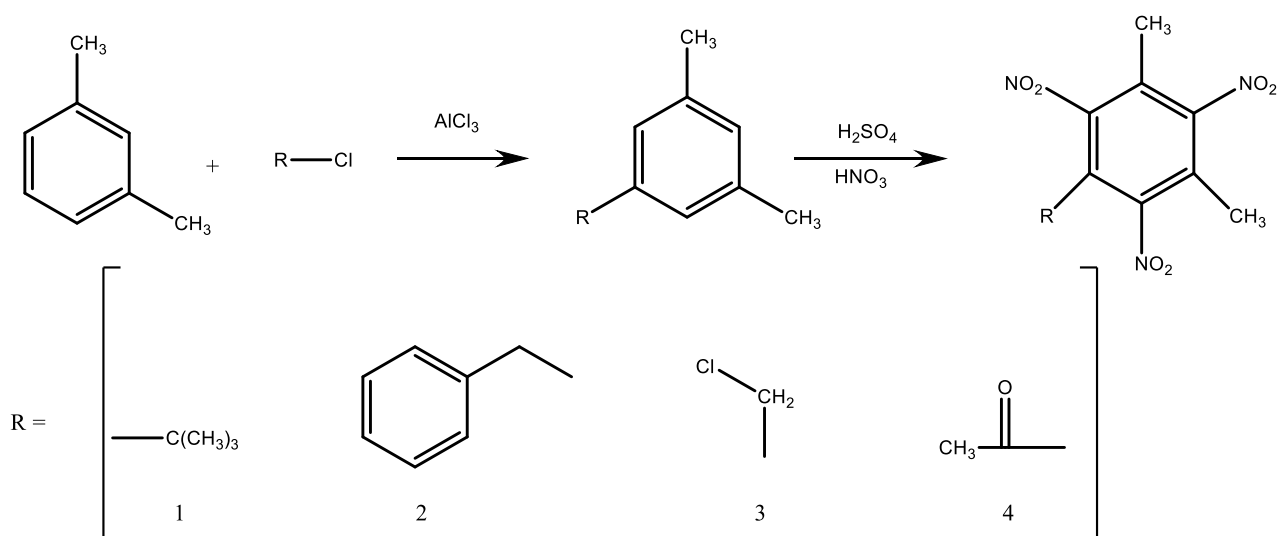
**Le musc tibétène (MT)** : est synthétisé à partir du 5-t-Butyl-m-xylène; par une chlorométhylation suivie d'une hydrogénolyse puis d'une dinitration [34].



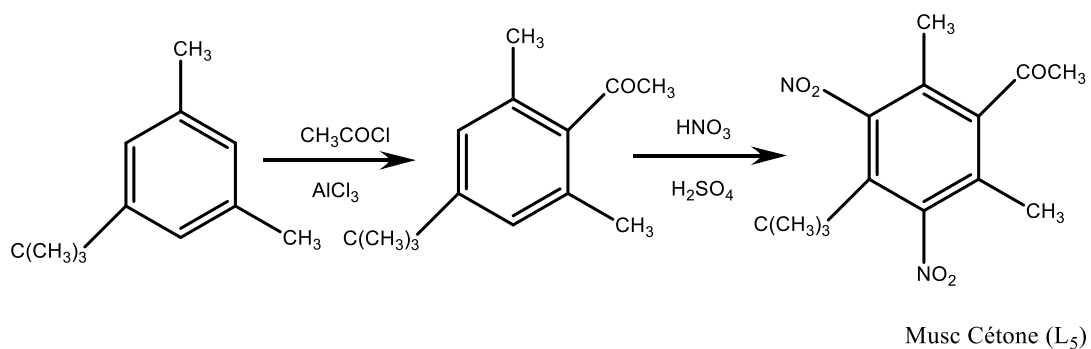
Notre objectif dans ce travail est de synthétiser différentes molécules issues du m-xylène par alkylation avec quatre chlorures différents :

- chlorure de tertio-butyle
- 1-(chlorométhyl)benzène
- Dichlorométhane
- chlorure d'acétyl

Cette alkylation se fait par une substitution électrophile. Les produits obtenus subissent une dinitration par l'acide sulfonitrique [34].



L'obtention du musc Cétone est obtenu à partir de l'acylation du « 1-tert-butyl-3,5-diméthylbenzène » suivi de la nitration du 1-(4-tert-butyle-2,6-diméthylphényl)éthanone [34].



## Références bibliographiques

- [1] « Traitement des odeurs par ozonisation dans les stations d'épuration des eaux usées ». [En ligne]. Disponible sur:  
[http://www.ozone.ch/index.php?option=com\\_content&view=article&id=201&Itemid=872](http://www.ozone.ch/index.php?option=com_content&view=article&id=201&Itemid=872).  
[Consulté le: 20-juill-2015].
- [2] M. Chastrette, D. Cretin, et El Aïdi, « Structure–Odor Relationships: Using Neural Networks in the Estimation of Camphoraceous or Fruity Odors and Olfactory Thresholds of Aliphatic Alcohols », *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, vol. 36, no 1, p. 108-113, janv. 1996, doi: 10.1021/ci950154b.
- [3] D. E. Gloriam, R. Fredriksson, et H. B. Schiöth, « The G protein-coupled receptor subset of the rat genome », *BMC Genomics*, vol. 8, p. 338, sept. 2007, doi: 10.1186/1471-2164-8-338.
- [4] S. M. DeWire, S. Ahn, R. J. Lefkowitz, et S. K. Shenoy, « Beta-arrestins and cell signaling », *Annu. Rev. Physiol.*, vol. 69, p. 483-510, 2007, doi: 10.1146/annurev.physiol.69.022405.154749.
- [5] P. Mombaerts, « Odorant receptor gene choice in olfactory sensory neurons: the one receptor–one neuron hypothesis revisited », *Curr. Opin. Neurobiol.*, vol. 14, n° 1, p. 31-36, 2004, doi: 10.1016/j.conb.2004.01.014.
- [6] P. Feinstein, T. Bozza, I. Rodriguez, A. Vassalli, et P. Mombaerts, « Axon Guidance of Mouse Olfactory Sensory Neurons by Odorant Receptors and the  $\beta$ 2 Adrenergic Receptor », *Cell*, vol. 117, n° 6, p. 833-846, juin 2004, doi: 10.1016/j.cell.2004.05.013.
- [7] P. A. Brennan et F. Zufall, « Pheromonal communication in vertebrates », *Nature*, vol. 444, n° 7117, p. 308-315, nov. 2006, doi: 10.1038/nature05404.
- [8] L. Charlier, « Étude des interactions moléculaires entre molécules odorantes et protéines impliquées dans les premières étapes de la perception olfactive », thèse de Doctorat, Nice France, 2009.
- [9] T. M. Dawson *et al.*, « Beta-adrenergic receptor kinase-2 and beta-arrestin-2 as mediators of odorant-induced desensitization. », *Science*, vol. 259, n° 5096, p. 825-9, févr. 1993.
- [10] H. Breer, I. Boekhoff, et E. Tareilus, « Rapid kinetics of second messenger formation in olfactory transduction », *Nature*, vol. 345, n° 6270, p. 65-68, mai 1990, doi: 10.1038/345065a0.

- [11] M. Liu, T. Y. Chen, B. Ahamed, J. Li, et K. W. Yau, « Calcium-calmodulin modulation of the olfactory cyclic nucleotide-gated cation channel. », *Science*, vol. 266, n° 5189, p. 1348-54, nov. 1994.
- [12] O. V. Stepanenko *et al.*, « Hydrophobic interactions and ionic networks play an important role in thermal stability and denaturation mechanism of the porcine odorant-binding protein », *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 71, n° 1, p. 35-44, avr. 2008, doi: 10.1002/prot.21658.
- [13] M. Staiano *et al.*, « Time-resolved fluorescence spectroscopy and molecular dynamics simulations point out the effects of pressure on the stability and dynamics of the porcine odorant-binding protein », *Biopolymers*, vol. 89, n° 4, p. 284-291, avr. 2008, doi: 10.1002/bip.20908.
- [14] A. Mazzini, E. Polverini, M. Parisi, R. Sorbi, et R. Favilla, « Dissociation and unfolding of bovine odorant binding protein at acidic pH », *J. Struct. Biol.*, vol. 159, n° 1, p. 82-91, juill. 2007, doi: 10.1016/j.jsb.2007.02.007.
- [15] A. Marabotti *et al.*, « Wild-Type and Mutant Bovine Odorant-Binding Proteins To Probe the Role of the Quaternary Structure Organization in the Protein Thermal Stability », *J. Proteome Res.*, vol. 7, n° 12, p. 5221-5229, déc. 2008, doi: 10.1021/pr800528b.
- [16] A. Marabotti *et al.*, « Mutant bovine odorant-binding protein: Temperature affects the protein stability and dynamics as revealed by infrared spectroscopy and molecular dynamics simulations », *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 72, n° 2, p. 769-778, févr. 2008, doi: 10.1002/prot.21966.
- [17] L. Tcatchoff, C. Nespoulous, J.-C. Pernollet, et L. Briand, « A single lysyl residue defines the binding specificity of a human odorant-binding protein for aldehydes », *FEBS Lett.*, vol. 580, n° 8, p. 2102-2108, avr. 2006, doi: 10.1016/j.febslet.2006.03.017.
- [18] H. Breer, « Molecular reaction cascades in olfactory signal transduction. », *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 39, n° 4B, p. 621-5, oct. 1991.
- [19] U. J. MEIERHENRICH, J. GOLEBIOWSKI, X. FERNANDEZ, et D. CABROL-BASS, « De la molécule à l'odeur : Les bases moléculaires des premières étapes de l'olfaction », *Actual. Chim.*, n° 289, p. 29-40, 2005.
- [20] E. Douek, L. H. Bannister, et H. C. Dodson, « Recent advances in the pathology of olfaction. », *Proc. R. Soc. Med.*, vol. 68, n° 8, p. 467-70, août 1975.

- [21] L. Buck et R. Axel, « A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. », *Cell*, vol. 65, n° 1, p. 175-87, avr. 1991.
- [22] Rob Linfoth, Fiona Martin, Michelle Carey, and Jim Davidson, et A. J. Taylor, « Retronasal Transport of Aroma Compounds », 2002, doi: 10.1021/JF011022N.
- [23] R. A. Steinbrecht, « Odorant-Binding Proteins: Expression and Function », *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 855, n° 1 OLFACTION AND, p. 323-332, nov. 1998, doi: 10.1111/j.1749-6632.1998.tb10591.x.
- [24] D. R. Flower, « The lipocalin protein family: structure and function. », *Biochem. J.*, n° Pt 1, p. 1-14, août 1996.
- [25] J. Pevsner, P. B. Sklar, et S. H. Snyder, « Odorant-binding protein: localization to nasal glands and secretions. », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 83, n° 13, p. 4942-6, juill. 1986.
- [26] P. Mombaerts, « Seven-transmembrane proteins as odorant and chemosensory receptors. », *Science*, vol. 286, n° 5440, p. 707-11, oct. 1999.
- [27] M. Chastrette, D. Zakarya, et C. Pierre, « Relations structure-odeur de bois de santal: recherche d'un modèle d'interaction fondé sur le concept d'hypermotif santalophile », *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 25, n° 5, p. 433-440, juin 1990, doi: 10.1016/0223-5234(90)90007-P.
- [28] J. Bossy, *Anatomie clinique: Neuro-anatomie*. France: Springer, 1990.
- [29] OumNaturel, « Dossier – Musc, qu'achetez-vous vraiment? », *Oum Naturel*. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.oumnaturel.com/musc-ou-pas-musc>. [Consulté le: 24-déc-2019].
- [30] « Ambrette », Wikipédia. oct.11, 2018, Consulté le: déc. 24, 2019. [En ligne]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Ambrette&oldid=152955764>.
- [31] J. Emsley, *Guide des produits chimiques à l'usage du particulier*. Paris: Odile Jacob, 1996.
- [32] Henri Fouquet, *La technique moderne et les formules de la parfumerie*. 1929.
- [33] W. A. Poucher, *Poucher's Perfumes, Cosmetics and Soaps: Volume 3: Cosmetics*, 9<sup>e</sup> éd. Springer Netherlands, 1993.
- [34] F. LOUAFI, « synthese des muscs à partir du méta-xylènes », mémoire de Magister, BOUMERDES, Algerie, 2000.

# **Chapitre II**

## **Modélisation**

### **Moléculaire**

## **II. Méthodes de la modélisation moléculaire**

### **II.1.Introduction**

On définit la modélisation moléculaire comme une application des méthodes théoriques et des méthodes de calcul pour résoudre des problèmes impliquant la structure moléculaire et la réactivité chimique. Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire, elles peuvent être extrêmement complexes et demandent des centaines d'heures de calcul sur un ordinateur, même sur un super-ordinateur. En plus, ces méthodes utilisent souvent des moyens infographiques très sophistiqués qui facilitent grandement la transformation de quantités impressionnantes de données numériques en quelques représentations graphiques facilement interprétables [1].

Avec l'arrivée des méthodes théoriques de calcul et des ressources de computation plus accessibles, Ces dernières années les techniques de modélisation moléculaires sont considérées comme une technique analytique au même titre que la RMN ou d'autres techniques spectroscopiques (IR, UV, ...) du côté prédiction et interprétation des résultats.

La chimie par ordinateur est maintenant accueillie comme un outil de plus en plus utile à la fois pour le milieu académique et l'industrie. La modélisation moléculaire par ordinateur d'une molécule implique généralement une présentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes de la molécule suivie de l'application d'une méthode théorique, comme la mécanique quantique semi-empirique ou encore la mécanique moléculaire, pour évaluer les propriétés physiques de la molécule à l'étude [2].

La conversion de la majorité des équipes de recherches à la réalisation de calculs théoriques avant le passage à la synthèse se justifie par la possibilité prédictive à une approche des phénomènes délicats au niveau atomique par ailleurs très difficiles à analyser avec des outils classiques. Un autre point non négligeable est la possibilité d'effectuer une étude préparatoire, en général peu coûteuse, d'un phénomène d'intérêt afin de planifier une analyse expérimentale qui sera coûteuse, cela dans le but d'éviter au maximum les gaspillages des produits et un gain de temps.

A cause de l'augmentation continue de la puissance des processeurs, et ce à cout quasiment constant, pratiquement tout le monde dispose sur son bureau d'une puissante machine de calcul largement suffisante pour effectuer des calculs routiniers de minimisation, Drug design ou calculs de dynamique moléculaire pour des protéines ou de petits systèmes [3]. On peut donc dire que le but principal de la modélisation moléculaire est de prévoir la structure et la réactivité des molécules

ou des systèmes de molécules. Les méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être classées en deux catégories [4]:

- Les méthodes quantiques.
- Méthodes non quantiques.

## **II.2.Méthodes quantiques (MQ)**

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

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

La chimie quantique définit la structure moléculaire comme un noyau autour duquel gravitent des électrons, qui sont décrits par leur probabilité de présence en un point et représentés par des orbitales [5]. Les équations de la chimie quantique sont basées sur la résolution de l'équation de SCHRÖDINGER qui s'écrit pour les états stationnaires [6] :

$$H\Psi = E\Psi$$

Où:

**$\Psi$**  : Fonction d'onde de la molécule.

**$H$** : Hamiltonien totale d'une molécule comportant  **$N$**  noyaux et  **$n$**  électrons. Il est défini par la somme de cinq termes (cinétique des électrons, cinétique des noyaux, répulsion entre électrons, répulsion entre noyaux et le terme d'attraction électrons-noyaux).

**$E$**  : Energie totale d'une molécule.

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

### II.2.A. Méthodes *ab-initio* (Hartree- Fock- Roothann)

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

Dans les méthodes *ab-initio*, toutes les particules (noyaux et électrons) sont traitées explicitement.

### II.2.B. Méthodes empiriques

Les méthodes empiriques, comme, par exemple, « Hückel Molecular Orbital » (HMO) or Extended Hückel Theory (EHT) réduisent considérablement les temps de calcul en ne considérons que les parties "nécessaires" ou "intéressantes" [7]. Ces méthodes utilisent des approximations très grossières qui produisent de grandes erreurs de calcul, et donc ne sont employées que très rarement.

### II.2.C. Méthodes semi-empiriques

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

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

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

- **Méthode CNDO/2** (Complete Neglecting of Differential Overlap / version 2) : Cette méthode a été proposé par *Pople Santryet Segalen* 1965-1966. Elle est basée sur l'approximation valentielle et ZDO (Zero- differential overlap).
- **Méthode INDO** (Intermediate Neglecting of differential Overlap): 1967. Elle permet de distinguer entre les états singulets et les états triplets d'un système en conservant les intégrales d'échange.
- **Méthode NDDO** (Neglect of Diatomic Differential Overlap): propose par Pople en 1965. Toutes les intégrales biélectroniques bicentrées sont retenues.

- **Méthode MINDO/3** (Modified INDO, version 3):1975. Elle est paramétrée pour reproduire les données expérimentales et elle utilise un algorithme Davidon- Fletcher qui est plus sophistiqué.
- **Méthode MNDO** (Modified Neglect of Diatomic Differential Overlap): proposée par Dewar en 1977.
- **Méthode AM1** (Austin Model 1): proposée par Dewar en 1985. Elle corrige le terme de répulsion coeur- coeur.
- **Méthode PM3** (Parametric Method 3) : proposée par Stewart en 1989. Elle utilise une procédure de paramétrisation automatique au cours des calculs.

## II.2.D. Méthodes qui traitent la corrélation

### a. Méthodes post- Hartree-Fock (HF)

Malheureusement, la limite HF n'est pas encore l'énergie réelle à cause de quelques approximations supplémentaires dans la théorie HF. Cette théorie, par exemple, ne prend pas en compte les possibles effets relativistes, par exemple que la masse des électrons n'est pas forcément constante et qu'elle peut changer en fonction de leur vitesse.

Une autre approximation, selon laquelle l'électron est en mouvement dans le potentiel moyen des autres électrons, et donc que sa position n'est pas affectée par la position des électrons voisins, ne permet pas de représenter les effets de corrélation électronique. Cette énergie de corrélation est définie comme la différence entre l'énergie exacte et l'énergie limite d'HF.

De nombreuses méthodes qui traitent la corrélation électronique, appelées aussi méthodes post- Hartree-Fock, ont été développées pour inclure l'énergie de corrélation dans le calcul [8]. Les méthodes les plus populaires et les plus fréquemment utilisées sont, par exemple,

- La méthode de perturbation Møller-Plesset [9].
- Les méthodes d'interaction de configuration « configuration-interaction (CI) » [10, 11]
- Les méthodes de coupled clusters (CC) [12].

### b. Les méthodes de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) :

Les méthodes de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) [13] dans leur utilisation comme alternatives aux méthodes *ab initio* sont fondées sur un autre niveau de théorie ; les théorèmes de Hohenberg-Kohn [14]. Le gros avantage de la théorie de la fonctionnelle de la densité par rapport aux méthodes *ab initio* est qu'on n'a pas besoin de calculer la fonction d'onde entière du système à N particules, mais que seule la densité électronique totale est calculée pour obtenir toutes les propriétés de l'état fondamental [15]. La charge de calcul est beaucoup plus faible, car la densité électronique  $\mathbf{r}$ , fonction de trois variables, est un objet plus simple que la fonction d'onde  $\Psi$  à N

variables. Une autre simplification du calcul découle du fait que la DFT n'exige qu'une minimisation du potentiel d'énergie  $E[\mathbf{r}(\mathbf{r})]_{\text{vext}}$  au lieu de la solution exacte de l'équation Schrödinger comme c'est le cas dans les méthodes *ab initio*.

Généralement les méthodes de densité DFT (**Kohn-Sham (KS-DFT)**)[16] nécessitent la construction de la fonctionnelle d'énergie. Les fonctionnelles utilisées le plus fréquemment sont la fonctionnelle d'énergie échange **Becke-88**[17], les fonctionnelles d'énergie de corrélation de **Vosko-Wilk-Nussair**[18] et de **Lee-Yang-Parr**[19], la combinaison de **Becke-88** avec **Lee-Yang-Parr** appelée la fonctionnelle hybride **B3LYP** (Becke 3-parameters Lee-Yang-Parr) [20].

## II.3.Méthodes non quantiques

### II.3.A.Mécanique moléculaire (MM)

Le terme « Mécanique Moléculaire » désigne une molécule comme un ensemble d'atomes reliés entre eux par des liaisons chimiques on calcule l'énergie d'interaction entre ces atomes en faisant la somme d'une série de fonctions de potentiel, d'où l'expression de "champ de force", (ou force field en anglais) utilisée pour désigner ces méthodes de calcul. Cette énergie se décompose donc en une somme de termes correspondants aux contributions d'interactions de types différents.

$$E_{\text{total}} = E_{\text{Elongation}} + E_{\text{Déformation angulaire}} + E_{\text{Torsion}} + E_{\text{Déformation hors du plan}} + E_{\text{Electrostatique}} \\ + E_{\text{Van der Waals}} + E_{\text{Liaison hydrogène}}$$

La première utilisation de la MM est apparue en 1930 d'après les travaux de **Andrews D**[21]. A partir des années soixante, elle s'est développée à l'apparition des ordinateurs plus performants. La mécanique moléculaire est basée sur l'approximation de Born-Oppenheimer selon laquelle les électrons sont beaucoup plus rapides que les noyaux et ces derniers sont donc implicitement traités. La mécanique moléculaire est une méthode empirique une méthode non quantique, où les atomes sont représentés par des sphères, et les liaisons par des ressorts de différentes forces. Les valeurs de ces forces proviennent de données expérimentales de spectroscopie vibrationnelle (IR, Raman), de données de diffraction de rayons X ou de valeurs obtenues par les méthodes *ab-initio*. Le calcul de l'ensemble de ces forces, selon les règles établies pour les oscillateurs harmoniques, permet d'obtenir l'énergie moléculaire et de déterminer la structure tridimensionnelle.

La mécanique moléculaire a un intérêt pour les grands systèmes ; comme dans le cas des systèmes biologiques qu'on ne peut aborder avec les méthodes quantiques [22]. La mécanique moléculaire (MM), appelée parfois "calcul par champ de force empirique" [23], pour les molécules possédant un grand nombre de conformères, il existe des procédures automatiques de recherche des minimums locaux d'énergie (recuit simulé) [22].

La mécanique moléculaire ressemble aux modèles de type " tiges et boules". Elle a pour but de déterminer la somme de toutes les contributions énergétique est minimisée ; ses résultats concernant surtout la géométrie et l'énergie du système. L'idée directrice de cette méthode est d'établir, par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, le "champ de force", qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire [16]. Son but est de calculer l'énergie potentielle d'une molécule (ou d'un système de molécule) en fonction de coordonnées des atomes :

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

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

$E_p$  : Énergie potentielle.

La mécanique moléculaire est basée sur les approximations suivantes :

- chaque atome constitue une particule,
- l'atome est considéré comme une sphère rigide ayant un rayon et une charge déterminée,
- Les liaisons sont considérées comme des ressorts,
- les énergies sont calculées par des formules dérivées de la mécanique classique [4].

### **C. Champ de force**

Le champ de force c'est un modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire.

En biologie moléculaire, l'utilisation de la mécanique quantique n'est pas possible. Les macromolécules sont représentées comme un ensemble d'atomes ponctuels dont les interactions sont décrites par un potentiel semi-empirique ou champ de force, Il exprime réellement la moyenne les interactions électroniques entre les atomes [20].

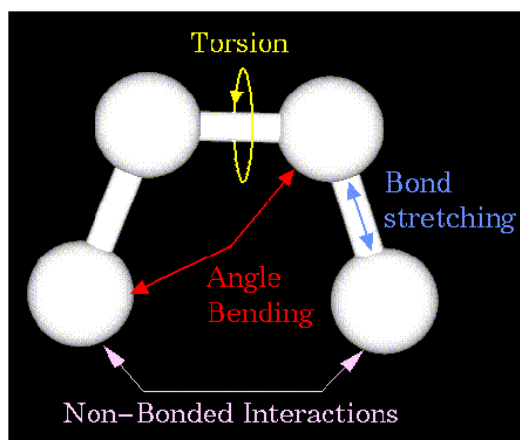
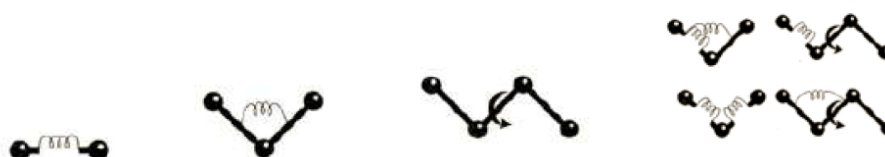
Le champ de force permet d'accéder à l'hypersurface énergétique d'une molécule en établissant un lien entre les déformations structurales du système et son énergie potentielle. Il désigne à la fois l'équation mathématique (fonction d'énergie potentielle) et les paramètres qui la composent [4]. La fonction d'énergie potentielle définit une énergie empirique, l'énergie totale étant décomposée en une somme de termes additifs représentant chacun des interactions inter atomiques. Elle est exprimée comme une somme de contributions de plusieurs types d'interaction [24, 25]. Elle peut se décomposer en termes d'interaction intramoléculaire et un terme d'interaction intermoléculaire.

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

$$V_{\text{intermoléculaires}} = \sum_{\text{atomes non liés}} V_{\text{Van der Waals}} + \sum_{\text{atomes non liés}} V_{\text{électrostatique}}$$

Les interactions intramoléculaires ne dépendent que des coordonnées internes des molécules c'est-à-dire des liaisons, des angles de valence, et de torsions. En fait pour, affiner l'expression du terme potentielle est rendre plus fidèle la description du système, des termes de couplages entre différents atomes ont été introduit. Le potentielle intramoléculaire peut s'écrire de façon générale

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



Il est important de noter que les champs de forces constituent une approche purement empirique. Ils sont paramétrés de manière à ce que l'ensemble des différentes contributions permette de reproduire une série de résultats expérimentaux. Un champ doit donc toujours être considéré comme une entité indivisible et il est exclu de combiner les termes et/ou les paramètres de deux champs dans l'espoir d'obtenir un meilleur ensemble [26]. En outre, le paramétrage vise souvent à ce que le champ de forces puisse traiter de manière réaliste une catégorie particulière de composés. On peut ainsi trouver des champs destinés plus spécialement à la modélisation de petites molécules organiques, de macromolécule comme les protéines et les acides nucléiques, de nucléotides [27] de complexes organométalliques, quant à elle, permet de modéliser tous les

éléments du tableau périodique. Il est donc dans un premier temps important de vérifier si le champ de force choisi est adapté au système à étudier.

#### **D. Classes des champs de force en mécanique moléculaire**

- 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** ne considérant pas que les termes de la mécanique moléculaire classique mais aussi les effets chimiques comme l'électronégativité [28].

##### **MM2/MM3/MM4**

MM2 est le premier champ de force développé par **Allinger et col** [29– 31]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [32] et MM4 (1996) [33] permettent de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

##### **OPLS**

Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indique son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Il est élaboré par **W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives**[34].

##### **GROMOS**

GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), développé par **Van Gunsteren**[35] il est conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines.

##### **AMBER**

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement) réalisé par **Kollman**[36]. Ce champ de force est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules.

##### **CHARM (Bio+)**

Développé par **Karplus et col** [37– 40], pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force était conçu pour les aminoacides et les protéines, actuellement en l'utilise pour étudier d'autres biomolécules.

##### **SPASIBA**

(Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating biomolecular conformational Adaptability), élaboré par **Gérard Vergoten et col.** (1995). Il combine le champ de force spectroscopique modifié de Urey-Bradley-Shimanouchi [41] et le champ de force AMBER.

Il permet de trouver les structures, les énergies de conformation et les fréquences vibrationnelle au minimum énergétique d'une molécule [42].

### **EMO**

Le programme EMO (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaive[27, 43– 45]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.

### **MMFF94x**

Développé par Merck ; parfois appelés le champ de force moléculaire Merck (MerckMolecular Force Field) [46], bien que MMFF94 ne soit plus considéré comme un acronyme. La méthode fournit une bonne précision à travers une gamme de molécules organiques et assimilables à des médicaments. La paramétrisation de base a été fournie par des calculs quantiques de haute qualité.

## **II.3.B. Dynamique moléculaire (DM)**

La dynamique moléculaire est comme son nom l'indique une méthode permettant de simuler l'évolution dynamique d'un système moléculaire, et simule aussi à partir des lois de la mécanique classique, les trajectoires des atomes en phase cristalline, en solution ou en phase gazeuse [47]. Elle repose généralement sur l'utilisation de la relation fondamentale de la dynamique (ou loi de Newton).

Le mouvement moléculaire dépend du mouvement atomique qui est associée à la loi de Newton :

$$\mathbf{F}_i = \mathbf{m}_i \times \mathbf{a}_i$$

Où  $\mathbf{F}_i$  représente la somme des forces exercées sur l'atome  $i$  de masse  $\mathbf{m}_i$ .  $\mathbf{a}_i$  son accélération.

On note bien que la notion de mouvement est ancrée dans cette relation car l'accélération est reliée à la vitesse, elle-même reliée à la position de la particule considérée.

Notons toutefois que cette énergie peut être une énergie qui contiendra des termes issus de la mécanique quantique (par exemple la contribution de l'énergie électronique à l'énergie totale peut être obtenue par la résolution de l'équation de Schrödinger électronique).

Une dynamique moléculaire se compose de trois phases distinctes :

- **Thermalisation**

Il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée. On utilise comme structure initiale la structure minimisée. On tire aléatoirement le jeu de vitesse initiale, soit à Zéro à des vitesses correspondants à quelques dizaines de Kelvin. On intègre ainsi les équations du mouvement en multipliant régulièrement les vitesses afin d'augmenter la température jusqu'à la température de référence (généralement 300K). Une montée en température demande en général 2 à 10ps de simulation (200 à 1000ps pas d'intégration  $\Delta t$ ).

- **Equilibration**

C'est une phase importante au cours de laquelle on stabilise la température du système, il y a alors un échange important entre énergie potentielle et énergie cinétique. C'est une phase où on contrôle régulièrement la température que l'on ramène dans la fenêtre souhaitée. La température de déviation se fait suivant un processus de relaxation ou la température est recalculée après chaque étape et ramenée à la température de référence par la formule :

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

$\tau$ : temps de relaxation

$T_0$ : Température de référence

$T$  : Température du système

Durant la phase d'équilibration la valeur de  $\tau$  doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement  $\tau=10$  fs) Cette phase peut durer de 10 à 20 ps.

- **Dynamique ou production**

C'est la phase réellement exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100 ps. Au cours de cette simulation, on doit sauvegarder les conformations, énergies..., toutes les 0.05 ou 0.1 ps.

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

## II.4.Docking moléculaire (Amarrage moléculaire)

La découverte de diverses cibles protéine / récepteur de la recherche génomique se développe rapidement. Avec l'automatisation de la synthèse organique et du criblage biochimique, cela apporte un changement majeur dans tout le domaine de la recherche sur la découverte de médicaments. Dans le processus de découverte de médicaments traditionnels, l'industrie teste des composés par milliers. Avec la synthèse automatisée, le nombre de composés à tester pourrait être

de plusieurs millions. Cette expansion bidimensionnelle entraînera une demande importante de ressources, à moins que les bibliothèques de produits chimiques ne soient fabriquées à bon escient[83]

Les structures atomiques des molécules de protéines fournissent des informations pour comprendre les rôles biologiques des protéines. Avec la caractérisation géométrique, nous pouvons acquérir un aperçu important sur la base structurelle des protéines. En estimant directement le modèle d'évolution de la substitution des résidus pour les cavités ou les poches; nous pouvons séparer la pression de sélection due au rôle biologique de celle due à la nécessité de maintenir la structure protéique la plus stable.

#### **II.4.A. Principe**

La docking moléculaire est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable, Savoir l'orientation préférée sert à prévoir la solidité de l'union entre deux molécules.

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking récepteur-ligand » [49].

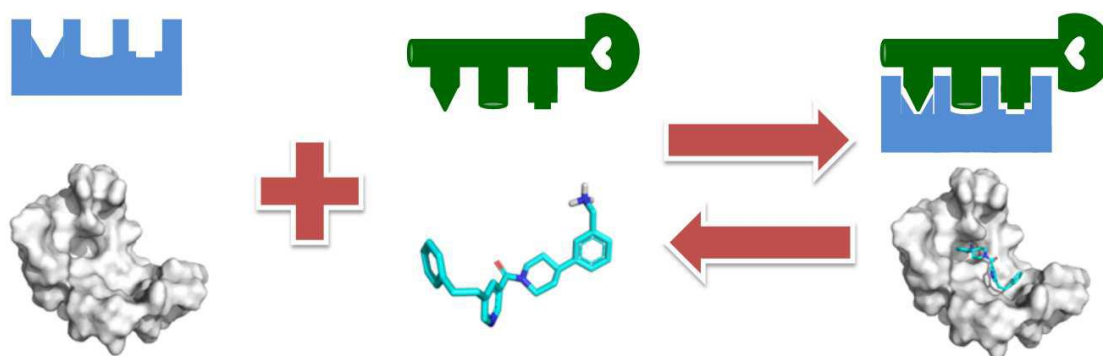
Connaitre la structure en trois dimensions des macromolécules et comprendre leurs mécanismes de compléxation fondamental pour la compréhension des systèmes biologiques, et donc essentiel dans de nombreux domaines.

Dans ce but, la chimie apporte sa collaboration à la biologie structurale qui s'intéresse quant à elle au rapport qui existe entre la structure des molécules et leur fonction biologique. Le plus souvent, le récepteur est une protéine qui possède un ou plusieurs sites actifs spécifiques, plus ou moins accessibles selon les cas. Le ligand, est généralement une molécule flexible étrangère de petite taille. La liaison entre le ligand et le récepteur introduit un signal biologique qui peut avoir diverses formes [50].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking moléculaire proprement dit et le scoring [49]:

- **Le docking** : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.

- **Le scoring** : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking moléculaire. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées (**figure6**).



**Figure 6:** Principe général d'un programme de docking moléculaire [50]

#### II.4.B. Processus de Docking Moléculaire

L'intérêt du Docking Moléculaire est de déterminer le mode d'interaction et de formation d'un complexe de deux molécules (un ligand et un récepteur) ou de plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur, et la structure obtenue confère les propriétés du complexe ainsi formé [52].

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

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

A la fin de chaque cycle d'exploration, on va enregistrer la meilleure pose avec le ligand (la plus faible énergie) [53].

#### II.4.C. Un programme de docking moléculaire

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (payant ou gratuit) sont disponibles [54]. Parmi tous ces programmes d'amarrage moléculaire qui ont déjà prouvé leur efficacité, on peut trouver : comme GOLD [55], FlexX [56], DOCK [57], AutoDock [58], MOE (Molecular Operating Environnement) [59] ou bien UCSF Chimera [60] et Molegro Virtuel Docker (MVD) [61].

## II.5. Etude théorique de la solvation

Les méthodes théoriques, telles que la modélisation moléculaire [63, 64], 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.

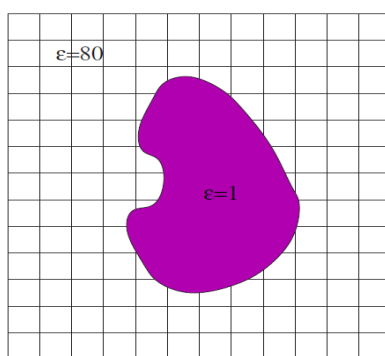
Plus récemment, de nouvelles méthodes implicites sont apparues, exploitant l'efficacité des méthodes implicites sans négliger l'aspect moléculaire et microscopique des particules de solvant[64].

### a. Méthodes implicites

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

Afin de calculer les grandeurs thermodynamiques de solvation du système de façon beaucoup plus avantageuse, des méthodes de solvation appelées implicites ont été développées [65]. 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.

Le solvant est alors représenté comme un milieu continu de constante diélectrique  $\epsilon_s$  élevée, dont les propriétés diélectriques découlent des lois macroscopiques de l'électrostatique [67, 68]. Le soluté est une cavité de faible constante diélectrique immergée dans le solvant, avec des charges partielles fixées. L'intérêt de ces méthodes est de calculer des grandeurs moyennes et de permettre 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 conformationnelle de façon efficace, en plus du calcul de l'énergie libre de solvation (**figure 7**).



**Figure 7 :** Représentation implicite du solvant : le solvant est un milieu continu de constante diélectrique  $\epsilon_s = 80$  et le soluté un milieu de constante diélectrique  $\epsilon_i = 1$  [68].

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

$$\Delta G_s = \Delta G_p + \Delta G_{np}$$

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

La méthode la plus répandue pour calculer  $\Delta G_{np}$  repose sur le calcul de la surface accessible au solvant de la macromolécule étudiée (méthode appelée SASA pour < Solvent Accessible Surface Area >) [67, 68, 70].

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.

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

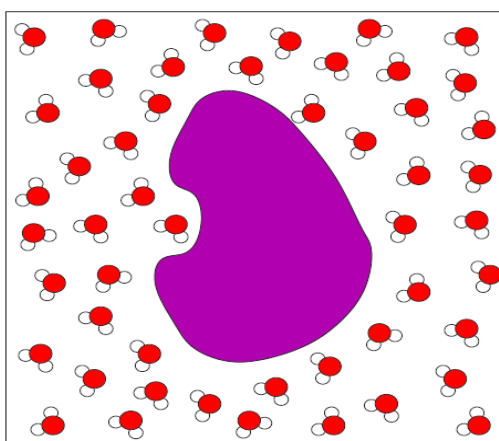
$$\Delta G_{np} = \Delta G_{vdw} + \Delta G_{cav} = \gamma A + b$$

Les paramètres  $\gamma$  (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 «  $\epsilon$  » 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

Les méthodes explicites représentent chaque molécule d'eau autour du soluté comme une molécule triatomique  $H_2O$ , de charges et rayons atomiques donnés, comme on l'a représenté schématiquement sur **la figure 8**. L'avantage d'une telle méthode est que soluté et solvant sont tous deux représentés de façon cohérente, par une description atomique.



**Figure 8:** Représentation explicite du solvant : chaque molécule d'eau triatomique est représentée autour du soluté [68].

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 à l'évolution de la structure du soluté. De plus, elle permet d'observer directement les liaisons hydrogène que peut former chaque molécule d'eau avec le soluté, puisque chaque atome hydrogène et 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. Il existe différents modèles explicites pour représenter l'eau en modélisation moléculaire, car divers paramètres peuvent être ajustés :

- 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 [70], les charges et rayons de ces sites, la longueur des liaisons et la valeur des angles de valence entre les sites [72, 73].

- Les molécules d'eau peuvent être considérées flexibles ou rigides, selon le degré de précision désirée.

## **II.6.Méthodologie**

Dans cette partie nous allons décrire les différentes approches théoriques que nous avons utilisées pour étudier les propriétés mécaniques des protéines. Suivant la taille des protéines et les informations que l'on veut obtenir on choisit une description plus ou moins fine du système (les protéines étudiées et leur environnement). La description du système peut se faire dans l'espace des coordonnées cartésiennes où chaque atome est décrit par des données des trois coordonnées x, y, z dans un repère orthonormé. Le champs de force MMFF94x (Assisted Model Building with Energy Refinement) [74 –76] implémenté dans le logiciel MOE [76] est un programme de mécanique moléculaire et de dynamique moléculaire. Les coordonnées internes, où chaque atome est défini par rapport aux autres atomes du système avec la donnée de distances et d'angles basée sur la structure chimique, représentent une alternative avec minimisation d'énergie.

Ce potentiel empirique est constitué de deux parties représentant les interactions entre atomes non liés (électrostatique et Lennard-Jones) et les interactions entre atomes liés (représentation harmonique des déformations des liaisons, des angles de valence et des barrières énergétiques des angles de torsion propres et impropres).

### **II.6.A. Minimisation**

La minimisation des structures utilisant la dynamique moléculaire est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts interatomiques. Ceci permet notamment d'éviter les changements de conformation trop brusques dès le début d'une dynamique.

Les structures « minimisées » correspondent généralement au minimum local le plus proche de la structure de départ plutôt qu'au minimum global d'énergie. La minimisation correspond donc à la première étape d'un protocole de dynamique moléculaire, elle peut être aussi utilisée en alternance avec les phases d'équilibration (phases de dynamique sous contrainte) de façon à relaxer le solvant et à accélérer son équilibration autour du soluté.

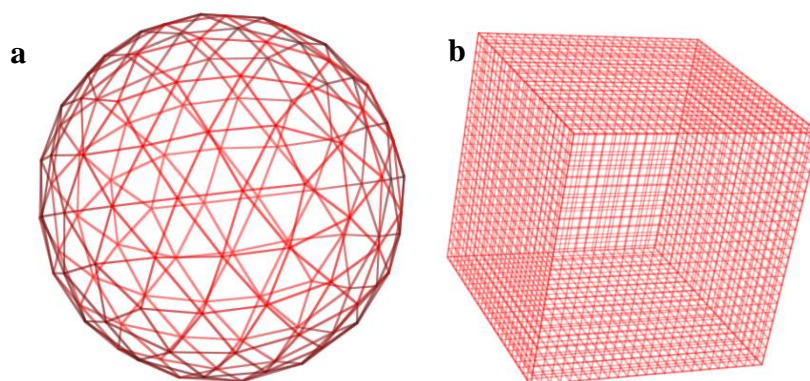
De même, la minimisation dans les programmes de mécanique moléculaire comme MOE permet de trouver le minimum d'énergie potentielle dans le champ de force étudié et sous les contraintes imposées. Ces méthodes autorisent généralement des changements de conformation plus importants grâce à la réduction du nombre et de la nature des variables ou la simplification du champ de force.

Les méthodes de minimisation sont basées sur le calcul des dérivées de la fonction d'énergie et utilisent des processus itératifs : à partir de l'énergie potentielle et du gradient, calculés pour un jeu de coordonnées, ces algorithmes génèrent un nouveau jeu de coordonnées correspondant à une énergie potentielle plus basse.

### II.6.B. Simulation

Dans les simulations des macromolécules en solution, la taille finie du système pose des problèmes d'effets de bords à l'interface avec le vide environnant. Pour masquer les discontinuités aux frontières et simuler l'aspect infini d'une solution, on applique des conditions périodiques aux limites [7].

Au cours des expériences, plusieurs sortes de boîtes de simulation utilisées : des boîtes de type tétraédrique ; des boîtes de forme sphérique et des boîtes de forme octaédrique tronquée telles que l'on peut voir sur **la Figure 9**.



**Figure 9:** Exemple des deux types de boîte d'eau .a) boîte d'eau de type sphère et b) boîte d'eau de type cube.

Le soluté et les contre-ions sont placés dans une boîte d'eau qui est répliquée dans toutes les directions de l'espace de manière à créer un système de dimension infinie. On construit ainsi un réseau cristallin dans lequel le comportement moléculaire est le même dans chaque maille. L'application des conditions périodiques aux limites consiste alors à faire en sorte que, si une particule sort de la boîte centrale par une face, son image dans la boîte adjacente y rentre par la face opposée. De même, lors du calcul des forces sur un atome, toutes les interactions avec les autres atomes situés dans les boîtes voisines sont prises en compte. Par contre, il faut s'assurer que le soluté n'interagit pas avec ses images dans les boîtes voisines. On introduit donc un critère de seuil (cutoff) au-delà duquel les interactions ne sont plus calculées. Ce seuil doit être au maximum égal à la moitié de la plus petite distance entre deux surfaces de la boîte.

## Références bibliographiques

- [1] Dennis. Liotta, *Advances in molecular modeling : a research annual*. JAI Press, 1988.
- [2] H. Dugas, *Principes de base en modélisation moléculaire : aspects théoriques et pratiques*, 4ème éd. Montréal: Librairie de l'Université de Montréal, 1996.
- [3] M. Laguerre, « Molecular modelling and drug design. », *Bull. Cancer (Paris)*, vol. 94, n° 7 Suppl, p. F115-27, 2007, doi: 10.1684/BDC.2007.0439.
- [4] J. Debord, « Introduction à la modélisation moléculaire », p. 37-41, 2004.
- [5] D. B. Boyd et K. B. Lipkowitz, « Molecular mechanics: The method and its underlying philosophy », *J. Chem. Educ.*, vol. 59, n° 4, p. 269, avr. 1982, doi: 10.1021/ed059p269.
- [6] E. Schrödinger, « Quantisierung als Eigenwertproblem », *Ann. Phys.*, vol. 384, n° 4, p. 361-376, 1926, doi: 10.1002/andp.19263840404.
- [7] D. A. Leach, *Molecular Modelling: Principles and Applications*, 2° éd. Harlow, England ; New York: Prentice Hall, 2001.
- [8] D. Chatfield, « Christopher J. Cramer: Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models », *Theor. Chem. Acc. Theory Comput. Model. Theor. Chim. Acta*, vol. 108, n° 6, p. 367-368, déc. 2002, doi: 10.1007/s00214-002-0380-8.
- [9] Chr. Møller et M. S. Plesset, « Note on an Approximation Treatment for Many-Electron Systems », *Phys. Rev.*, vol. 46, n° 7, p. 618-622, oct. 1934, doi: 10.1103/PhysRev.46.618.
- [10] W. J. Hehre, « Ab initio molecular orbital theory », *Acc. Chem. Res.*, vol. 9, n° 11, p. 399-406, nov. 1976, doi: 10.1021/ar50107a003.
- [11] H. F. Schaefer, Éd., *Methods of Electronic Structure Theory*. Boston, MA: Springer US, 1977.
- [12] J. Čížek, « On the Correlation Problem in Atomic and Molecular Systems. Calculation of Wavefunction Components in Ursell-Type Expansion Using Quantum-Field Theoretical Methods », *J. Chem. Phys.*, vol. 45, n° 11, p. 4256-4266, déc. 1966, doi: 10.1063/1.1727484.
- [13] W. Koch et M. C. Holthausen, *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001.

- [14] P. Hohenberg et W. Kohn, « Inhomogeneous Electron Gas », *Phys. Rev.*, vol. 136, n° 3B, p. B864-B871, nov. 1964, doi: 10.1103/PhysRev.136.B864.
- [15] M. Springborg, *Density-functional methods in chemistry and materials science*. Wiley, 1997.
- [16] J. S. Lomas, « La Mécanique Moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire », *L'actualité Chim.*, vol. 7, 1986.
- [17] A. D. Becke, « Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior », *Phys. Rev. A*, vol. 38, n° 6, p. 3098-3100, sept. 1988, doi: 10.1103/PhysRevA.38.3098.
- [18] S. H. Vosko, L. Wilk, et M. Nusair, « Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis », *Can. J. Phys.*, vol. 58, n° 8, p. 1200-1211, août 1980, doi: 10.1139/p80-159.
- [19] C. Lee, W. Yang, et R. G. Parr, « Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density », *Phys. Rev. B*, vol. 37, n° 2, p. 785-789, janv. 1988, doi: 10.1103/PhysRevB.37.785.
- [20] Frank. Jensen, *Introduction to computational chemistry*. John Wiley & Sons, 2007.
- [21] D. H. Andrews, « The Relation Between the Raman Spectra and the Structure of Organic Molecules », *Phys. Rev.*, vol. 36, n° 3, p. 544-554, août 1930, doi: 10.1103/PhysRev.36.544.
- [22] Patrick. Chaquin, *Manuel de chimie théorique : application à la structure et à la réactivité en chimie moléculaire*. Ellipses, 2000.
- [23] J. E. Williams, P. J. Stand, et P. R. Schleyer, « Physical Organic Chemistry: Quantitative Conformational Analysis; Calculation Methods », *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 19, n° 1, p. 531-558, oct. 1968, doi: 10.1146/annurev.pc.19.100168.002531.
- [24] J. P. Bowen et N. L. Allinger, « Molecular Mechanics: The Art and Science of Parameterization », John Wiley & Sons, Inc., 1991, p. 81-97.
- [25] P. Comba et T. W. Hambley, *Molecular Modeling of Inorganic Compounds*. Wiley-VCH, 1995.
- [26] K. Lipkowitz, « Abuses of Molecular Mechanics: Pitfalls to Avoid », *J. Chem. Educ.*, vol. 72, n° 12, p. 1070, déc. 1995, doi: 10.1021/ed072p1070.

- [27] S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. T. Nguyen, et D. A. Case, « An all atom force field for simulations of proteins and nucleic acids », *J. Comput. Chem.*, vol. 7, n° 2, p. 230-252, avr. 1986, doi: 10.1002/jcc.540070216.
- [28] N. L. Allinger, K. Chen, J. A. Katzenellenbogen, S. R. Wilson, et G. M. Anstead, « Hyperconjugative effects on carbon-carbon bond lengths in molecular mechanics (MM4) », *J. Comput. Chem.*, vol. 17, n° 5-6, p. 747-755, avr. 1996, doi: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<747::AID-JCC10>3.0.CO;2-5.
- [29] N. L. Allinger, « Calculation of Molecular Structure and Energy by Force-Field Methods », 1976, p. 1-82.
- [30] N. L. Allinger, « Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 99, n° 25, p. 8127-8134, déc. 1977, doi: 10.1021/ja00467a001.
- [31] U. Burkert et N. L. Allinger, *Molecular mechanics*. American Chemical Society, 1982.
- [32] N. L. Allinger, Y. H. Yuh, et J. H. Lii, « Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 1 », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 111, n° 23, p. 8551-8566, nov. 1989, doi: 10.1021/ja00205a001.
- [33] N. L. Allinger, K. Chen, et J.-H. Lii, « An improved force field (MM4) for saturated hydrocarbons », *J. Comput. Chem.*, vol. 17, n° 5-6, p. 642-668, avr. 1996, doi: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<642::AID-JCC6>3.0.CO;2-U.
- [34] W. L. Jorgensen et J. Tirado-Rives, « The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 110, n° 6, p. 1657-1666, mars 1988, doi: 10.1021/ja00214a001.
- [35] W. F. van Gunsteren et M. Karplus, « Protein dynamics in solution and in a crystalline environment: a molecular dynamics study. », *Biochemistry*, vol. 21, n° 10, p. 2259-74, mai 1982.
- [36] A. Bouraoui *et al.*, « Design and molecular mechanics calculations of new iron chelates », *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, vol. 5, n° 7, p. 1211, 1990, doi: 10.1039/p29900001211.

- [37] J. C. Smith et M. Karplus, « Empirical force field study of geometries and conformational transitions of some organic molecules », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 114, n° 3, p. 801-812, janv. 1992, doi: 10.1021/ja00029a001.
- [38] F. A. Momany et R. Rone, « Validation of the general purpose QUANTA ®3.2/CHARMm® force field », *J. Comput. Chem.*, vol. 13, n° 7, p. 888-900, sept. 1992, doi: 10.1002/jcc.540130714.
- [39] I. K. Roterman, K. D. Gibson, et H. A. Scheraga, « A Comparison of the CHARMM, AMBER and ECEPP Potentials for Peptides. I. Conformational Predictions for the Tandemly Repeated Peptide (Asn-Ala-Asn-Pro)<sub>9</sub> », *J. Biomol. Struct. Dyn.*, vol. 7, n° 3, p. 391-419, déc. 1989, doi: 10.1080/07391102.1989.10508502.
- [40] B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, et M. Karplus, « CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations », *J. Comput. Chem.*, vol. 4, n° 2, p. 187-217, 1983, doi: 10.1002/jcc.540040211.
- [41] T. Shimanouchi, « Force constants of small molecules », *Pure Appl. Chem.*, vol. 7, n° 1, p. 131-146, janv. 1963, doi: 10.1351/pac196307010131.
- [42] F. Tristram, V. Durier, et G. Vergoten, « The structures and vibrational frequencies of a series of aliphatic alcohols as obtained using the spectroscopic potential SPASIBA », *J. Mol. Struct.*, vol. 378, n° 3, p. 249-256, 1996, doi: 10.1016/0022-2860(95)09183-1.
- [43] F. Société française de chimie. Division de chimie physique. International Meeting (44th : 1989 : Nancy, J. L. (Jean L. Rivail, et Société française de chimie. Division de chimie physique., *Modelling of molecular structures and properties : proceedings of the 44th International Meeting of Physical Chemistry on modeling of molecular structures and properties in physical chemistry and biophysics*. Elsevier, 1990.
- [44] B. Blaive, G. Legsaï, et R. Laï, « Utilization of d0, d1, d2 electron configurations to obtain parameters for transition metals in the molecular mechanics of dioxo- or diimido-tetrahedral complexes (Cr, Mo, Re, Os) », *J. Mol. Struct.*, vol. 354, n° 3, p. 245-250, août 1995, doi: 10.1016/0022-2860(95)08894-2.
- [45] A. Zinelabidine, A. Bouraoui, F. Mhenni, B. Blaive, et R. Gallo, « Molecular mechanics modelling of siderophores », *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, vol. 286, p. 267-274, oct. 1993, doi: 10.1016/0166-1280(93)87169-E.

- [46] T. A. Halgren, « Merck molecular force field. II. MMFF94 van der Waals and electrostatic parameters for intermolecular interactions », *J. Comput. Chem.*, vol. 17, n° 5-6, p. 520-552, 1996, doi: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<520::AID-JCC2>3.0.CO;2-W.
- [47] A. Rahman et F. Stillinger, « Molecular dynamics study of liquid water », *J. Chem. Phys.*, 1971.
- [48] A. K. Ghose, V. N. Viswanadhan, et J. J. Wendoloski, « A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases », *J. Comb. Chem.*, vol. 1, n° 1, p. 55-68, janv. 1999, doi: 10.1021/cc9800071.
- [49] G. L. Warren *et al.*, « A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions », *J. Med. Chem.*, vol. 49, n° 20, p. 5912-5931, oct. 2006, doi: 10.1021/jm050362n.
- [50] W. F. van Gunsteren et H. J. C. Berendsen, « Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry », *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, vol. 29, n° 9, p. 992-1023, sept. 1990, doi: 10.1002/anie.199009921.
- [51] L. Hoffer, « Développement et validation du logiciel S4MPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design », thesis, Strasbourg, 2013.
- [52] D. Duhovny, R. Nussinov, et H. J. Wolfson, « Efficient Unbound Docking of Rigid Molecules », Springer Berlin Heidelberg, 2002, p. 185-200.
- [53] A. M. Clark et P. Labute, « Detection and Assignment of Common Scaffolds in Project Databases of Lead Molecules », *J. Med. Chem.*, vol. 52, n° 2, p. 469-483, janv. 2009, doi: 10.1021/jm801098a.
- [54] A. Grosdidier, « Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives ». p. 91, 27-juin-2007.
- [55] G. Jones, P. Willett, et R. C. Glen, « Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. », *J. Mol. Biol.*, vol. 245, n° 1, p. 43-53, janv. 1995.

- [56] M. Rarey, S. Wefing, et T. Lengauer, « Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins », *J. Comput. Aided Mol. Des.*, vol. 10, n° 1, p. 41-54, févr. 1996, doi: 10.1007/BF00124464.
- [57] I. D. Kuntz, J. M. Blaney, S. J. Oatley, R. Langridge, et T. E. Ferrin, « A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. », *J. Mol. Biol.*, vol. 161, n° 2, p. 269-88, oct. 1982.
- [58] A. J. O. D.S. Goodsell, « Structure, Function and Genetics », *Proteins*, vol. 8, p. 195-202, 1990.
- [59] S. Vilar, G. Cozza, et S. Moro, « Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery. », *Curr. Top. Med. Chem.*, vol. 8, n° 18, p. 1555-72, 2008.
- [60] E. F. Pettersen *et al.*, « UCSF Chimera?A visualization system for exploratory research and analysis », *J. Comput. Chem.*, vol. 25, n° 13, p. 1605-1612, oct. 2004, doi: 10.1002/jcc.20084.
- [61] E. F. F. da Cunha, E. F. Barbosa, A. A. Oliveira, et T. C. Ramalho, « Molecular Modeling of Mycobacterium Tuberculosis DNA Gyrase and its Molecular Docking Study with Gatifloxacin Inhibitors », *J. Biomol. Struct. Dyn.*, vol. 27, n° 5, p. 619-625, avr. 2010, doi: 10.1080/07391102.2010.10508576.
- [62] R. Zhou, « Free energy landscape of protein folding in water: explicit vs. implicit solvent », *Proteins*, vol. 53, n° 2, p. 148-161, nov. 2003, doi: 10.1002/prot.10483.
- [63] D. A. Leach, *Molecular Modelling: Principles and Applications*, 2<sup>e</sup> éd. Harlow, England ; New York: Prentice Hall, 2001.
- [64] M. P. Allen et D. J. Tildesley, *Computer Simulation of Liquids: Second Edition*. Oxford University Press, 2017.
- [65] N. Basdevant, « Un Modèle de Solvation Semi-Implicite pour la Simulation des Macromolécules Biologiques », phdthesis, Université d'Evry-Val d'Essonne, 2003.
- [66] B. Roux et T. Simonson, « Implicit solvent models », *Biophys. Chem.*, vol. 78, n° 1, p. 1-20, avr. 1999, doi: 10.1016/S0301-4622(98)00226-9.
- [67] B. Honig, K. Sharp, et A. S. Yang, « Macroscopic models of aqueous solutions: biological and chemical applications », *J. Phys. Chem.*, vol. 97, n° 6, p. 1101-1109, févr. 1993, doi: 10.1021/j100108a002.

- [68] Isabelle SOURY-LAVERGNE NAVIZET, « Modélisation et analyse des propriétés mécaniques des protéines », thèse de Doctorat, Université PARIS 6, France, 2004.
- [69] T. Simonson, « Electrostatics and dynamics of proteins », *Rep. Prog. Phys.*, vol. 66, n° 5, p. 737–787, avr. 2003, doi: 10.1088/0034-4885/66/5/202.
- [70] M. W. Mahoney et 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.*, vol. 112, n° 20, p. 8910-8922, mai 2000, doi: 10.1063/1.481505.
- [71] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, et M. L. Klein, « Comparison of simple potential functions for simulating liquid water », *J. Chem. Phys.*, vol. 79, n° 2, p. 926-935, juill. 1983, doi: 10.1063/1.445869.
- [72] H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, et T. P. Straatsma, « The missing term in effective pair potentials », *J. Phys. Chem.*, vol. 91, n° 24, p. 6269-6271, nov. 1987, doi: 10.1021/j100308a038.
- [73] D. A. Pearlman *et al.*, « AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules », *Comput. Phys. Commun.*, vol. 91, n° 1, p. 1-41, sept. 1995, doi: 10.1016/0010-4655(95)00041-D.
- [74] W. D. Cornell *et al.*, « A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 117, n° 19, p. 5179-5197, mai 1995, doi: 10.1021/ja00124a002.
- [75] W. D. Cornell *et al.*, « A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 5179–5197 », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 118, n° 9, p. 2309-2309, janv. 1996, doi: 10.1021/ja955032e.
- [76] « Molecular operating environment (MOE) version 2014.09; Chemical Computing Group Inc. Montreal 2014 ». .

# **Chapitre III**

## **Les enzymes**

### **III. Enzymes**

#### **III.1. Introduction**

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

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

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

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

#### **III.2. Site actif**

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

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

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

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

### III.3. Cinétique Enzymatique

La cinétique est la science qui a pour objet l'étude de la vitesse des réactions chimiques. La cinétique enzymatique englobe le rôle biologique des catalyseurs enzymatiques et les mécanismes qui permettent leur activité catalytique. Avec la cinétique enzymatique, on cherche à déterminer la vitesse maximale de la réaction que l'enzyme catalyse et à mesurer son affinité pour les substrats et les inhibiteurs. La connaissance précise de la cinétique enzymatique est indispensable pour la conception rationnelle d'un nouveau médicament et le succès de son action pharmacologique [1].

La cinétique enzymatique a fait l'objet d'études au début des années 1900. **Leonor Michaelis** et **Maud L. Menten** ont proposé en 1913 une théorie générale de l'action enzymatique compatible avec les résultats expérimentaux [2]. Leur modèle cinétique est basé sur la formation du complexe enzyme- substrat selon les étapes suivantes :



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

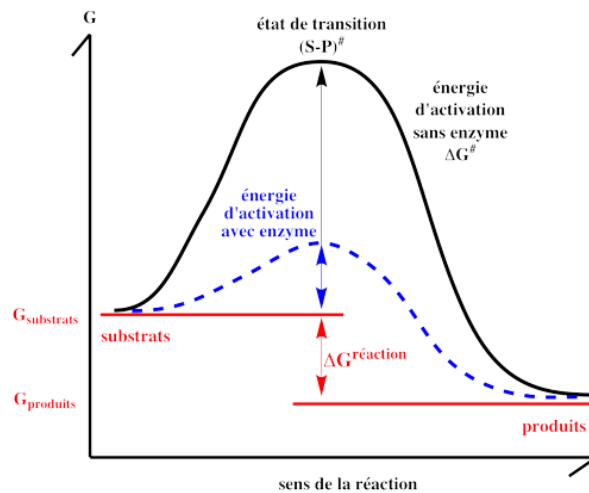
### III.4. Fonctionnement des enzymes

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

### III.5. Catalyse enzymatique

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

Un catalyseur a pour effet d'abaisser l'énergie d'activation en favorisant la stabilité de l'état de transition. Les énergies des réactifs et des produits restent inchangées, ce qui explique pourquoi le rapport à l'équilibre de ces diverses molécules ne varie pas (**figure 10**).



**Figure 10 :** Représentation de la catalyse enzymatique

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

### III.6. Complexe enzyme – substrat

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

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

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

b. La formation de la courbe dite de saturation : vitesse initiale de la réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat ( $v_i = f([S])$ ) [2]

c. Le fait que les substrats protègent souvent les enzymes de l'inactivation. L'hypothèse "clé -serrure", bien qu'extrêmement satisfaisante, ne peut rendre compte de certaines observations :

- i. par exemple, certains composés qui ressemblent chimiquement à un substrat mais qui ont des groupements moins volumineux ne sont pas catalysés, bien qu'ils doivent encore mieux s'insérer dans le site actif
- ii. Il existe un mécanisme enzymatique à deux substrats appelé "fixation ordonnée" pour lequel un substrat B ne peut se fixer que si le substrat A l'est déjà. Or, selon l'hypothèse "clé - serrure", le substrat B devrait se fixer d'emblée.

### **III.7. Spécificité de l'association protéine - ligand, site actif**

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

- a. Toutes les protéines se replient dans une conformation dite native et c'est dans cette conformation qu'elles acquièrent leur activité biologique (leur pouvoir de catalyseur dans le cas des enzymes). Ce repliement aboutit à une structure tridimensionnelle unique de la protéine.
- b. Cette structure globale de la macromolécule permet à une région particulière, (souvent enfouie au sein de la protéine), d'adopter elle aussi une structure spatiale qui est reconnue par le ligand spécifique de la protéine (et, le cas échéant, par un petit nombre de molécules dont la structure est proche de celle du ligand).
- c. Le site actif est constitué d'un petit nombre d'acides aminés, qui le plus souvent ne sont pas proches dans l'enchaînement de la chaîne polypeptidique. Ces acides aminés sont caractérisés par une chaîne latérale dont à la fois la nature chimique (groupement ionisable ou polarisable) et la structure (encombrement stérique) sont particulières.
- d. La stéréochimie qui résulte de cet agencement unique des acides aminés qui constituent le site actif est la cause de la stéréospécificité de reconnaissance entre ces acides aminés et le (ou les) ligand(s).

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

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

Parmi tous les enzymes olfactifs trouvés, on a choisi trois enzymes pour réaliser ce travail sont des protéines de signalisation (4J4Q ; 3ODU ; 3VB1).

a) **protéines de signalisation:** sont une famille de récepteurs membranaires chez les mammifères. Parmi les nombreux récepteurs qui jouent un rôle dans la communication cellulaires, les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) constituent la plus grande famille de récepteurs membranaires de mammifères puisqu'elle représente 3,4% du génome[3]. Plus de la moitié des agents pharmacologiques agissent sur les RCPG : ils sont une classe de protéines d'importance thérapeutique majeure, aussi appelées protéines G. Ces protéines transmettent le signal provenant du récepteur à différents effecteurs intracellulaires permettant la génération d'une réponse cellulaire appropriée.

b) **protéines de liaison aux odeurs:** sont des protéines solubles localisées dans le mucus nasal des Vertébrés et la lymphe sensillaire des Insectes. La micro-diversité des protéines de liaison aux odeurs au sein du même animal ainsi que leur propriété de se lier spécifiquement à certaines molécules odorantes indiquent que ces protéines réalisent la première étape du codage des signaux sémiachimiques. Les complexes spécifiques formés par la liaison OBP-odeur constitueraient un stimulus pour les récepteurs olfactifs caractérisés chez les Vertébrés, encore inconnus chez l'Insecte [4].

### **III.8. Modélisation moléculaire des complexes ROs-odorants**

L'étude des interactions et les relations structure-odeur sur une base physiologiquement inspirée nécessite la prise en compte des récepteurs olfactifs. La modélisation moléculaire permet notamment de prédire la structure d'une protéine ou de son complexe avec une molécule odorant, d'évaluer l'énergie d'interaction et d'observer son comportement dynamique. Les protocoles permettant de réaliser chacune de ces étapes sont variés.

Plusieurs méthodes théoriques sont couramment étudiées les RCPGs. Afin de se rapprocher des conditions physiologiques du récepteur, les modèles étudiés sont souvent constitués d'une membrane solvatée dans laquelle le récepteur est imbriqué. Les lois de la physique sont appliquées aux atomes formant ces systèmes pour observer le comportement dynamique. Ces protocoles ont été employés avec succès sur des RCPGs non-olfactifs [5].

Les molécules odorantes sont perçues par les mammifères grâce à des mécanismes subtiles extraordinaires, notamment des récepteurs odorants (ROs)[6]. Chez l'homme, la famille de gènes codant pour les ROs est l'une des plus grandes, car elle représente plus de 2% de notre génome. Au niveau des protéines, les ROs représentent plus de 4% de notre protéome et constituent la plus grande sous-famille de récepteurs couplés aux protéines de classe A (ou Rhodopsin) G (GPCR). Les GPCR sont des protéines à sept domaines transmembranaires (7 TM) qui transmettent des signaux extracellulaires à travers la membrane plasmique. Bien que les structures de certains membres de la Classe A aient été résolues expérimentalement, aucune structure expérimentale n'est disponible à ce jour pour tout RO. Pour l'instant, la modélisation moléculaire apparaît comme le seul moyen de proposer des mécanismes au niveau atomique de la sélectivité du ligand ou de l'activation du récepteur pour ces protéines sur une base structurelle. Les modèles peuvent être soit *ab-initio*, soit basés sur une homologie de séquence par rapport à des structures expérimentales connues [7]. La reconstruction par homologie d'une protéine repose essentiellement sur l'alignement de la séquence de la protéine ciblée avec celles des modèles de référence. Les séquences des ROs de mammifères partagent des motifs d'acides aminés conservés. Ces derniers caractérisent les protéines de cette sous-famille. Ils sont présents dans chacune des sept hélices des ROs et représentent un point d'ancrage pour aligner de façon non-ambiguë leur séquence. Aucune structure expérimentale de RO n'est disponible. Toutefois, la structure de 21 RCPGs non-olfactifs de « classe A » a été élucidée expérimentalement. Ils sont, à ce jour, le modèle de référence optimal pour la reconstruction de la structure des ROs par homologie.

La mutagenèse dirigée permet d'identifier expérimentalement le rôle d'un résidu ciblé. Elle consiste à remplacer ce résidu par un autre à travers la modification du gène de la protéine. Le mutant ainsi obtenu est exprimé dans la cellule et sa réponse à un composé ou plusieurs est quantifiée. Des indices sur le rôle de cet acide aminé sont obtenus grâce à l'éventuelle modification du phénotype de la protéine. Sous la contrainte de ces données, les acides aminés sont alignés non pas par leur nature mais par leur fonction dans le récepteur. La pertinence de l'alignement obtenu permet de construire des modèles de ROs validés par des contraintes expérimentales, dans la limite des connaissances actuelles et dans l'attente qu'une structure expérimentale d'un RO soit disponible[8].

### III.8.A. L'affinité odorant-récepteur

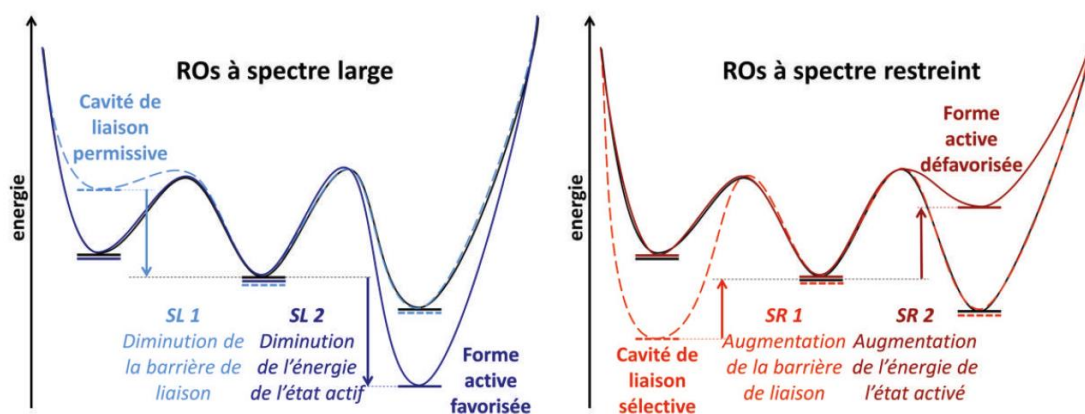
L'affinité d'un ligand avec la cavité d'un récepteur peut être déterminée grâce au calcul de la variation de l'enthalpie libre de liaison ( $\Delta G_{\text{liaison}}$ ). Le calcul d'affinité odorant-récepteur permet manifestement de faire un premier tri entre les molécules agonistes et non-agonistes d'un RO ; en utilisant le calcul d'affinité pour discriminer les agonistes des non-agonistes d'un RO à large spectre (hOR1G1) ; les résultats de modélisation moléculaire prédisent les données expérimentales obtenues par imagerie calcique *in vitro*. La génération du signal olfactif depuis la molécule odorante jusqu'à la perception consciente passe par l'interaction de cette molécule avec nos récepteurs olfactifs. L'identification des couples odorant-RO(s) est donc nécessaire au décryptage du code combinatoire associé aux odeurs. Le récepteur olfactif va déclencher un signal si le ligand est capable de remplir deux conditions :

- a. avoir une certaine affinité avec le site de liaison du récepteur,
- b. déclencher des changements conformationnels du RO pour engendrer son couplage à la protéine G, à l'origine de la signalisation cellulaire.

### III.8.B. Mécanismes régulant le spectre de reconnaissance d'un RO

Selon les travaux de **Yiqun Yu et al** [9]; ils ont étudié une série de ROs des souris, celle des mOR256-X. Ils possèdent la particularité de partager une grande identité de séquence mais de posséder des spectres de reconnaissance allant du large au restreint. Cette différence de reconnaissance est donc due à des phénomènes subtils. Ils ont démontré dans ce travail que le spectre de reconnaissance d'un RO est contrôlé à la fois par la permissivité de sa cavité et par sa capacité à s'activer (**figure 11**). Ces caractéristiques peuvent être schématisées par un profil d'énergie dépendant de deux paramètres :

- La permissivité de la cavité de liaison de l'OR,
- Sa capacité a passé d'un état inactif à un état actif.



**Figure 11:** Schéma du profil énergétique du mécanisme d'activation des ROs à spectre large et restreint. Gauche - profils énergétiques correspondant à un RO à large spectre possédant une cavité de liaison permissive (SL1 - bleu clair) ou une faible barrière d'activation (SL2 - bleu foncé). Droite - profils énergétiques correspondant à un RO à spectre restreint possédant une cavité de liaison sélective (SR1 - corail) ou une forte barrière d'activation (SR2 - bordeaux) [9].

### III.8.C. Activation des récepteurs - vers la démorphinisation computationnelle

Afin de décrypter le code combinatoire lié à la perception olfactive, il est nécessaire de pouvoir identifier l'activation neuronale engendrée par une molécule odorante. Cette activation est déclenchée par la présence d'une molécule odorante agoniste dans la cavité du récepteur

Claire de March et al ont montré que l'affinité est un paramètre efficace pour discriminer les agonistes des non agonistes d'un RO. Toutefois, il n'est pas exclu que cette grandeur devienne limitée dans certains cas. En effet, les molécules antagonistes et agonistes inverses se lient à la cavité d'un récepteur mais n'en déclenchent pas l'activation. Dans ces deux cas, le calcul d'une enthalpie libre de liaison est insuffisant pour les discriminer des agonistes car ces ligands montrent une certaine affinité pour le RO étudié. Un mécanisme plus subtil doit être décrit [10].

L'étude en modélisation moléculaire de l'activation d'un neurone nécessite la réalisation de simulations à durée suffisamment longue permettant d'échantillonner le comportement dynamique du récepteur et d'observer le passage d'une conformation dite « inactive » à une autre dite « active » si un agoniste est présent dans sa cavité.

Grâce à une approche commune entre modélisation moléculaire, analyses bio-informatiques et génie génétique associée à de l'expression *in vitro*, selon l'article de Claire de March et al ils ont déterminé et sélectionné les résidus dans les séquences de RO qui gouvernent son activation.

Le caractère agoniste ou non-agoniste est très vaste rendent le large espace chimique des odorants et le nombre important de ROs chez l'être humain. La sélection d'un couple RO/agoniste pertinente est importante pour la suite de l'étude. Idéalement, dans le cadre de la mise au point

d'une preuve de principe, le RO doit posséder un agoniste connu expérimentalement. L'étude de Yue Jiang et al sur les couples OR/agoniste hOR7D4/androstenone et androstadienone sont choisis pour le reste de l'étude sur l'activation des ROs [11]. Un contrôle négatif hOR7D4/non-agoniste ((Z)-2-décenal) est ajouté à l'étude pour s'assurer du caractère sélectif du modèle [11].

Les simulations de dynamiques moléculaires sur ces systèmes ont permis de reproduire les données expérimentales, c'est-à-dire d'échantillonner des états actifs dans le cas des agonistes et des états inactifs dans le cas du non-agoniste. La prédiction du phénomène d'activation a donc été possible grâce aux techniques de modélisation moléculaire. Sur la base du modèle, des résidus sont suspectés d'être impliqués dans la communication entre la cavité de liaison aux odorants et le site de couplage à la protéine G et donc dans le phénomène d'activation. Donc cette activation échantillonnée par des modèles théoriques est une preuve de principe que la création d'un nez virtuel est maintenant possible.

## Références bibliographiques

- [1] L. Stryer, J. Berg, J. Tymoczko, et M. Darmon, *Biochimie*, 6e édition. Paris: Médecine-Sciences, 2008.
- [2] K. A. Johnson, R. S. Goody, K. A. Johnson, et R. S. Goody, « The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper », *Biochemistry*, vol. 50, n° 39, p. 8264-8269, oct. 2011, doi: 10.1021/bi201284u.
- [3] J. Bockaert et J. P. Pin, « Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success », *EMBO J.*, vol. 18, n° 7, p. 1723-1729, avr. 1999, doi: 10.1093/emboj/18.7.1723.
- [4] P. N. Meillour, « Le rôle des protéines liant les odeurs (OBP) dans la transduction olfactive », *L'Année Biol.*, vol. 37, n° 2, p. 69-93, avr. 1998, doi: 10.1016/S0003-5017(98)80001-9.
- [5] L. Charlier, J. Topin, C. A. de March, P. C. Lai, C. J. Crasto, et J. Golebiowski, « Molecular Modelling of Odorant/Olfactory Receptor Complexes », in *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, vol. 1003, 2013, p. 53-65.
- [6] L. Buck et R. Axel, « A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. », *Cell*, vol. 65, n° 1, p. 175-87, avr. 1991.
- [7] T. Yarnitzky, A. Levit, et M. Y. Niv, « Homology modeling of G-protein-coupled receptors with X-ray structures on the rise. », *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, vol. 13, n° 3, p. 317-25, mai 2010.
- [8] C. A. de March, S.-K. Kim, S. Antonczak, W. A. Goddard, et J. Golebiowski, « G protein-coupled odorant receptors: From sequence to structure », *Protein Sci.*, vol. 24, n° 9, p. 1543-1548, sept. 2015, doi: 10.1002/pro.2717.
- [9] Y. Yu *et al.*, « Responsiveness of G protein-coupled odorant receptors is partially attributed to the activation mechanism », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 112, n° 48, p. 14966-14971, déc. 2015, doi: 10.1073/pnas.1517510112.
- [10] C. A. de March *et al.*, « Conserved Residues Control Activation of Mammalian G Protein-Coupled Odorant Receptors », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 137, n° 26, p. 8611-8616, juill. 2015, doi: 10.1021/jacs.5b04659.

- [11] Y. Jiang, N. N. Gong, X. S. Hu, M. J. Ni, R. Pasi, et H. Matsunami, « Molecular profiling of activated olfactory neurons identifies odorant receptors for odors in vivo. », *Nat. Neurosci.*, vol. 18, n° 10, p. 1446-54, oct. 2015, doi: 10.1038/nn.4104.
- [12] F. LOUAFI, « synthese des muscs à partir du méta-xylènes », memoire de Magister, BOUMERDES, Algerie, 2000.

# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussions**

## **IV. Résultats et Discussions**

### **IV.1. Matériel et méthodes**

#### **IV.1.A. Introduction**

La modélisation moléculaire regroupe les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules, elle exploite des lois de la chimie, de la physique et de la biologie dans des programmes informatiques spécifiques afin de calculer structures et propriétés d'entités chimiques et biochimiques (protéines, acides nucléiques, complexes moléculaires, solides, cristaux etc.). La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules [1].

L'interprétation est facilitée par de nombreux outils de représentation graphique et permet ainsi d'analyser les résultats expérimentaux. La modélisation moléculaire détermine les structures tridimensionnelles de ces biomolécules, c'est le point de départ pour des simulations visant à comprendre leurs interactions ligand-enzyme, entre elles ou avec des petites molécules, ce qui est à la base d'un grand nombre de phénomènes chimiques, biologiques et biochimiques [2]. Ainsi les différentes applications sont regroupées, parmi lesquelles trois exemples classiques sont :

- Etude des propriétés des matériaux : à partir de simulations moléculaires, un lien peut être établi entre les résultats de calculs menés à l'échelle microscopique (sur un échantillon représentatif d'atomes en interaction) et des propriétés mesurables à l'échelle macroscopique (sur les systèmes matériels réels que l'on souhaite maîtriser). Ainsi, peuvent être étudiées les propriétés mécaniques des polymères, les propriétés électroniques de solides cristallins ou encore les propriétés thermodynamiques et spectroscopiques d'une large gamme de composés d'intérêt scientifique et technologique [3].

- Développement de nouveaux médicaments: le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteur (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement d'une pathologie, que ce soit une protéine d'un microorganisme pathogène ou d'un organisme humain. L'élucidation de la structure tridimensionnelle de protéines impliquées dans plusieurs pathologies a permis, via des simulations informatiques, la découverte d'inhibiteurs puissants pour ces protéines, en réduisant considérablement le nombre d'essais de screening nécessaires pour aboutir à un nouveau médicament [4].

- Rationalisation de l'ingénierie enzymatique: le fondement est le même que celui du développement de médicaments : en permettant d'étudier les interactions entre les substrats (ligand) et les enzymes (récepteurs), la modélisation moléculaire apporte une meilleure compréhension de la sélectivité enzymatique, au niveau moléculaire. Ceci 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 [5, 6], ou encore, d'identifier des acides aminés dont la mutation ponctuelle permettrait de modifier la sélectivité ou la spécificité enzymatiques [7, 8].

#### **IV.1.B. Logiciels utilisés**

##### **a) MOE [9]**

MOE (Molecular Operating Environment) est un ensemble de plusieurs logiciels destiné 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 stable de ces molécules odorantes. Il permet également de docke plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. Le logiciel MOE présente une forme de docking flexible dans lequel le récepteur est rigide et l'inhibiteur est flexible, change de conformation et s'adaptent à l'environnement. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand primitif.

##### **b) Hyperchem 8.0.3 [10]**

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 visualisation 3D, hyperchem peut faire des calculs de mécanique, de dynamique moléculaire et même quantiques.

##### **c) ChemDraw [11]**

ChemDraw ultra 8.0 est un programme simple à utiliser qui permet de dessiner intuitivement et efficacement des représentations bidimensionnelles simples de molécules organiques. Il est disponible pour le PC ainsi que pour la plate-forme Mac.

##### **d) Origine 5.0 [12]**

Origine est un logiciel de traitement et d'analyse de données scientifiques pour environnement Microsoft Windows développé par OriginLab.

Il permet notamment de tracer des graphes 2D et 3D et possède des fonctions d'analyse des graphes. Il est aussi capable d'importer et exporter des fichiers de divers formats tels que Excel, ASCII, athena ou Sigma Plot, et d'exporter les graphes sous format JPEG, GIF, Tiff, ...etc

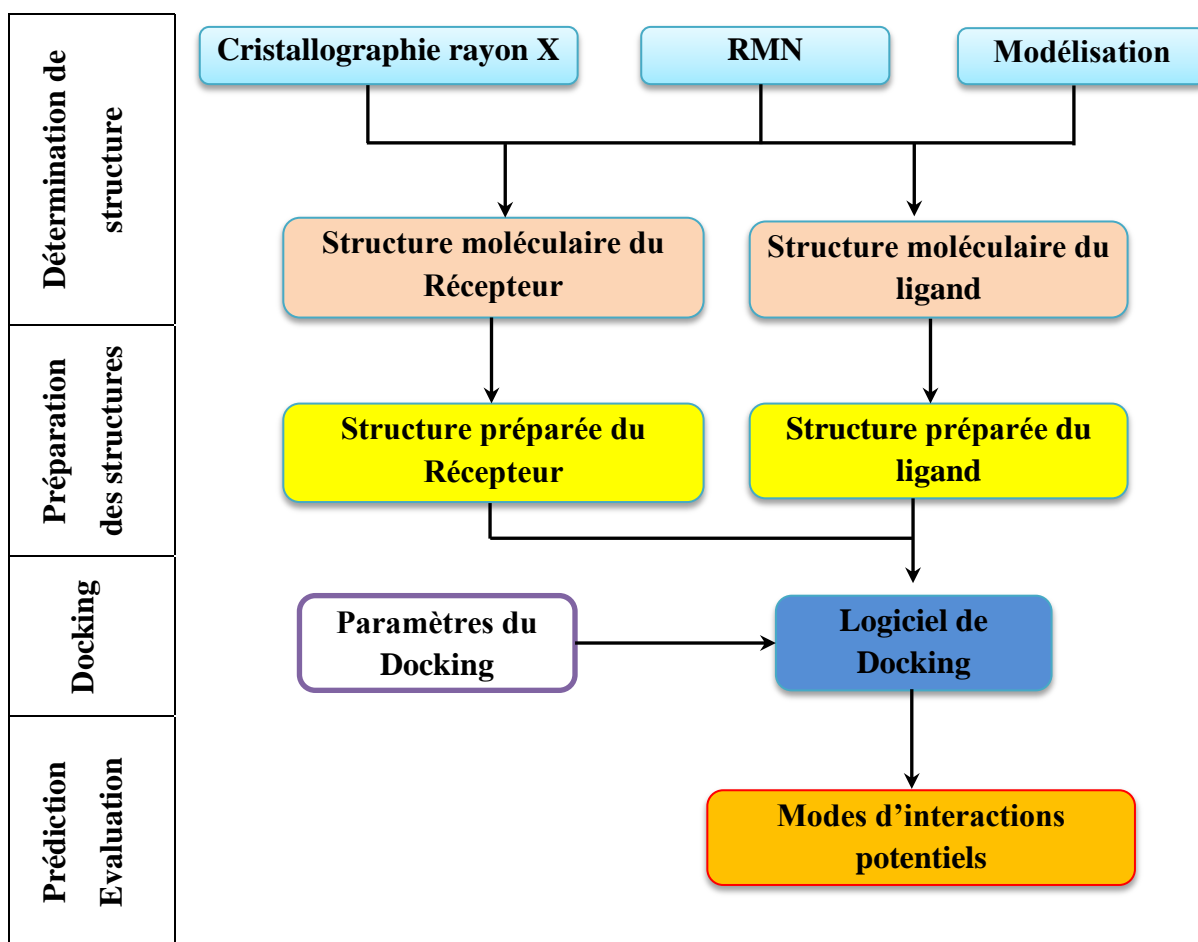
e) **Ordinateur**

L'ordinateur utilisé pour l'exécution et l'analyse de ces travaux, possède un processeur Intel(R) Core(TM) i3-2375M CPU @ 1,50 GHz, équipé de 4 Go de mémoire RAM.

f) **Spectromètre RMN**

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur le spectromètre Bruker Avance 300 MHz (300,13 pour H1 et 75,47 MHz pour C13).

IV.1.C. **Protocole général de docking**



**Figure 12** : Étapes d'un docking moléculaire.

Les protocoles de simulation de dynamique moléculaire que nous avons utilisés suivent les étapes suivantes :

Tout d'abord, si la simulation est réalisée en présence de molécules d'eau (milieu solvaté), 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 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 qu'on remplit de molécules d'eau. Le docking moléculaire en milieu solvaté a été réalisé par le logiciel MOE (Molecular Operating Environment).

Après une première minimisation d'énergie, le système est chauffé à 300K, pH = 7, la géométrie a été optimisée en utilisant le champ de force MMFF94x implanté dans le MOE et Hamiltonian AM1.

#### IV.1.D. Préparation de l'enzyme

Les enzymes olfactifs étudiées appartiennent à la classe des protéines de signalisation. Elles sont téléchargées de la base de donnée "PDB" (code d'accès 4J4Q ; 3ODU ; 3VB1), puis élimination des molécules d'eau et les inhibiteurs de la Co-cristallisation.

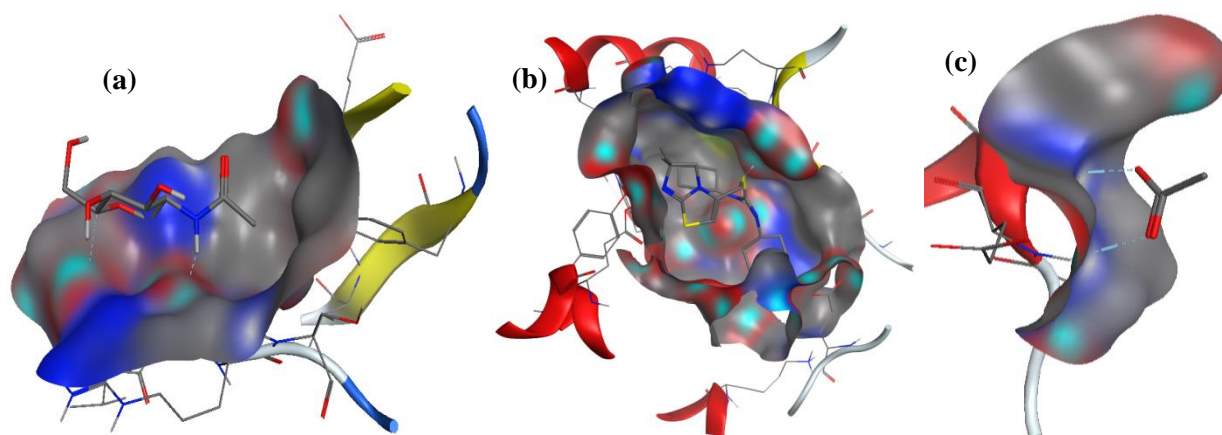


Figure 13 : Site actif des enzymes isolées (4J4Q<sup>(a)</sup> ; 3ODU<sup>(b)</sup> ; 3VB1<sup>(c)</sup>).

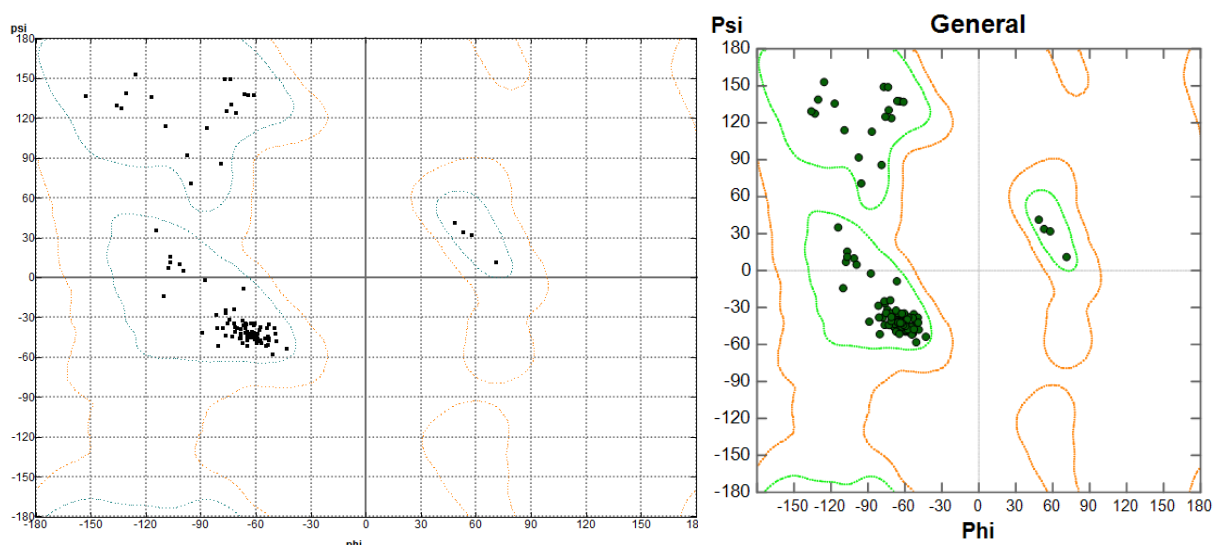


Figure 14: Distribution générale des protéines 4J4Q

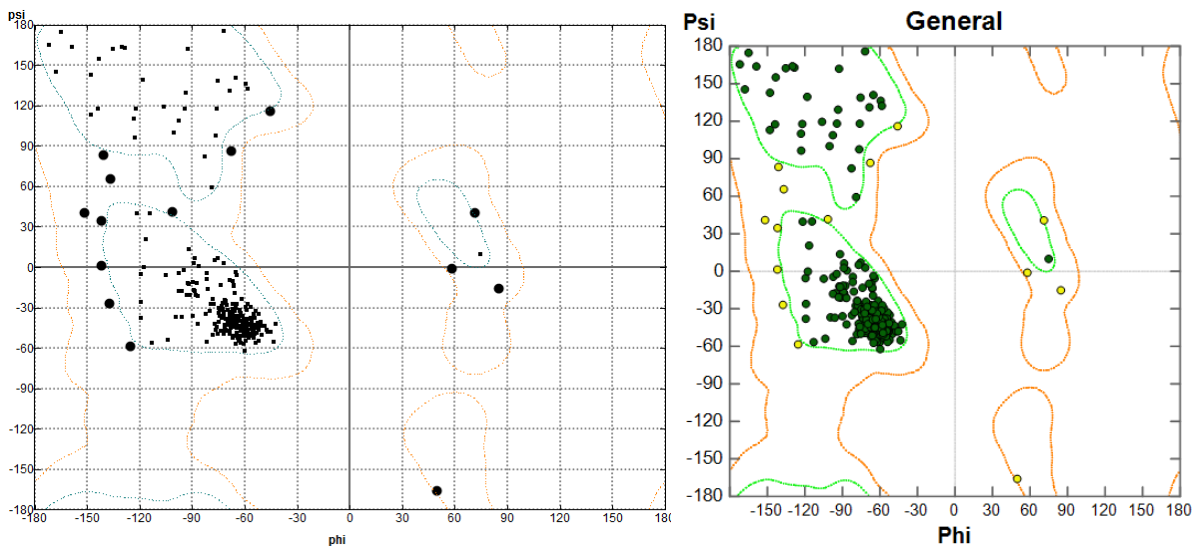


Figure 15: Distribution générale de protéine 3ODU

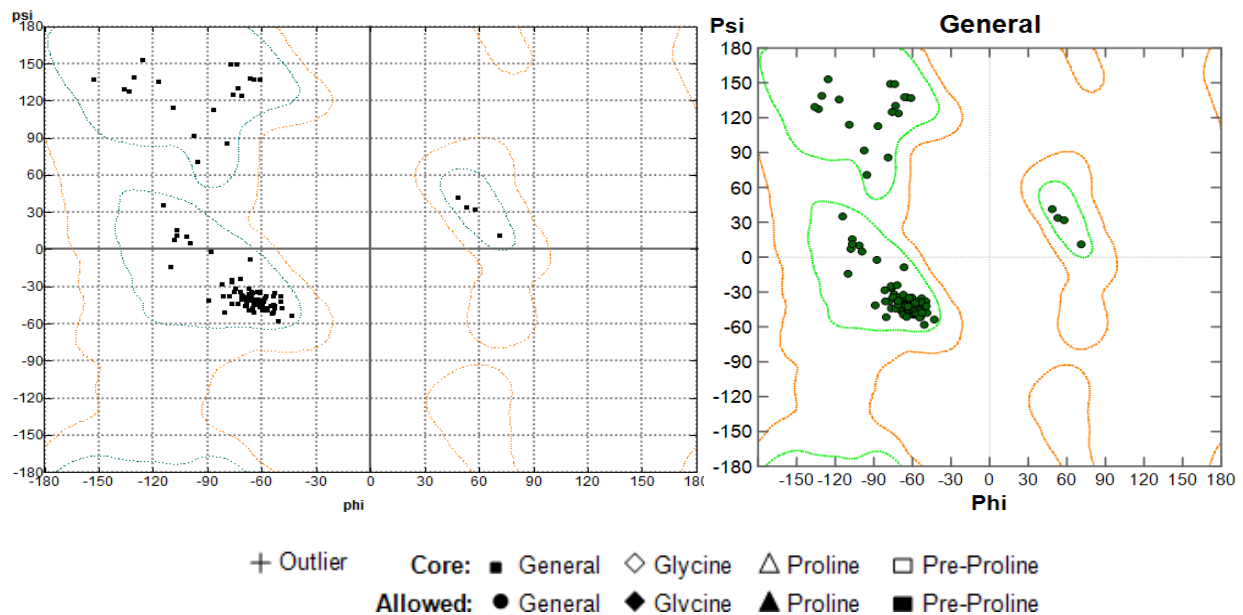


Figure 16: Distribution générale des protéines 3VB1

Les calculs effectués pour cette étude sont :

- ✚ Un calcul de mécanique moléculaire (optimisation de la géométrie moléculaire).
- ✚ Un calcul de dynamique moléculaire effectué pour toutes les structures de départ.
- ✚ Le positionnement des complexes le plus stable dans le site actif de l'enzyme, c'est-à-dire le docking moléculaire.

Une fois que le complexe enzyme-ligand est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable correspondante au niveau énergétique le plus faible, cette conformation qui sera

recherchée lors des simulations par dynamique moléculaire effectuée pour tous les complexes formés.

La discussion des résultats de calcul est basée sur l'énergie d'interaction obtenue entre PCRG et les ligands.

**I. Première étape:** elle consiste au téléchargement de l'enzyme directement à la Bank PDB (<http://www.pdb.org>) qui contient plusieurs milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie (rayons X), soit par RMN. Après le téléchargement de la cible, nous utilisons MOE pour voir avec quels ligands l'enzyme est Co-cristallise (eau, ligands, ion,...).

La préparation de l'enzyme consiste deux étapes :

**A. Première étape**

- Elimination des autres chaines conduit la protéine à une chaîne unique
- Toutes les molécules d'eau ont été retirées de la surface de la protéine

**B. Seconde étape**

- Protonation de la protéine est ainsi effectuée
- Elimination des molécules d'hydrogène
- la minimisation de l'énergie de la protéine et l'optimisation de la géométrie ont été réalisés en utilisant le champ de force MMFF94x et hamiltonien AM1 implémenté dans MOE Software [13]

L'identification de la distribution générale des protéines et la caractérisation du site actif protéique a été réalisé respectivement par « site finder » et surfaces and maps

**II. Deuxième étape:** elle concerne les structures du (ou des) ligand(s) utilisé(s) lors du docking moléculaire. Notons l'existence de deux grandes bases de données de structures chimiques des ligands :

- La première représente ces structures par les programmes d'informatiques de modélisation moléculaire, où les différentes structures sont générées par optimisation de géométrie. Ces structures sont gouvernées par les lois de la chimie quantique.
- Dans la deuxième ; elles sont obtenues à partir des bases de données comme PubChem Project ou autres bases de données des structures. Ces dernières ont différentes extensions comme PDB (Protein Data Bank), SDF, ect...

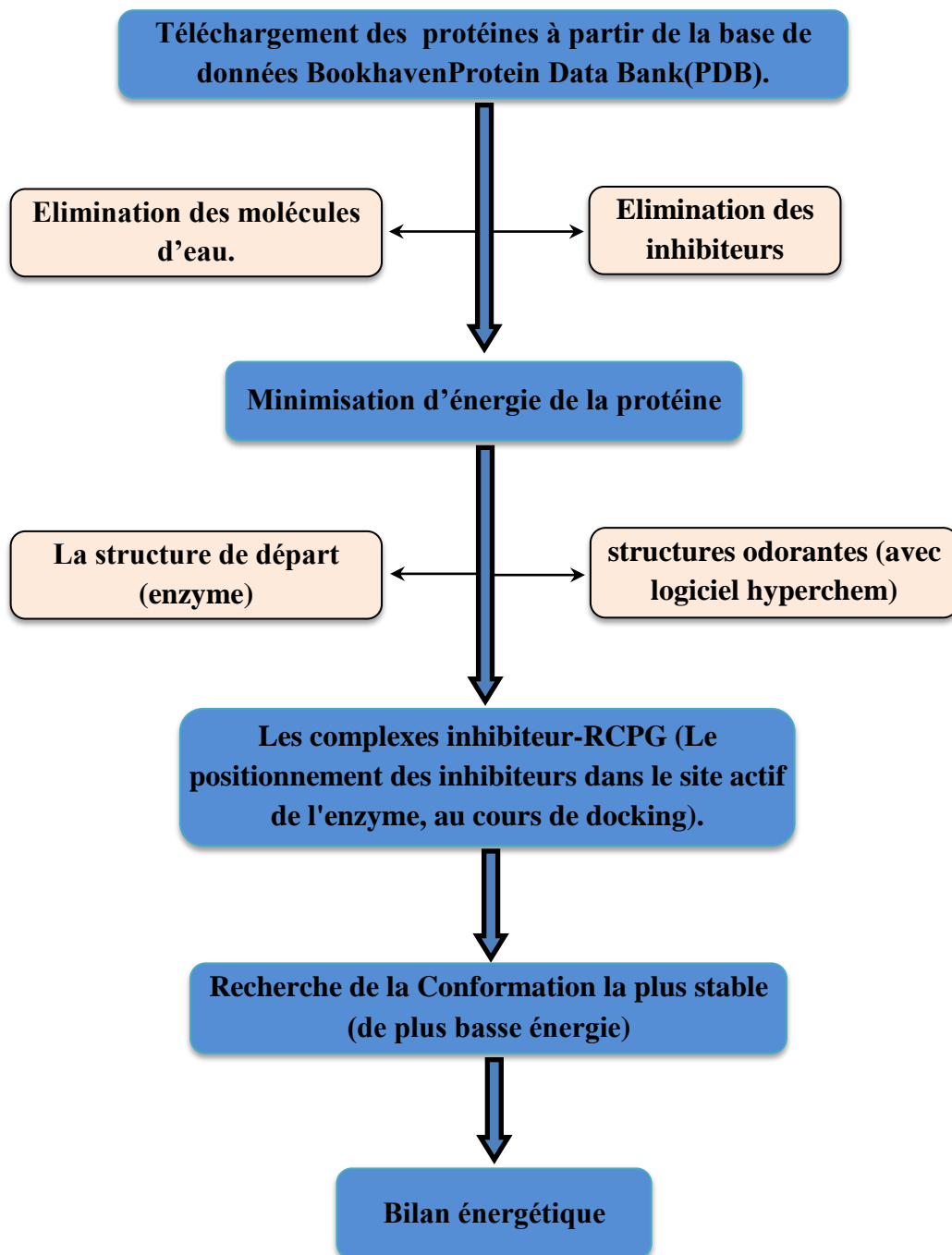


Figure 17 : Protocole de préparation de la protéine G couplée au récepteur

Trois études ont été effectuées dans le cadre de ce travail :

**1. La première étude:**

**"Studies of the relationship structure-musky smell with G Protein-Coupled Receptors (GPCRs)"**

**"Etudes de la relation structure- odeur musquée avec protéine G couplés à la récepteurs (GPCRs)"**

**2. La deuxième étude:**

**"Computational Study of Interaction Between Olfactory Chemokine Receptor and DienoneMusks"**

**"Étude informatique de l'interaction entre le récepteur de la chimiokine olfactive et les musques de diénone"**

**3. La troisième étude**

**"Synthesis of musks and not musks molecules derived from meta-xylene"**

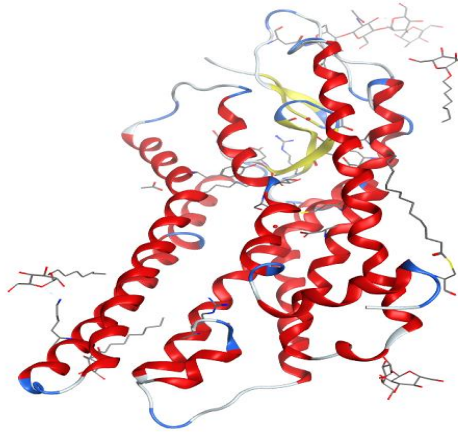
**"Synthèse des molécules musqués et non musqués issus du méta-xylène"**

**IV.1.E. Méthodologie des calculs**

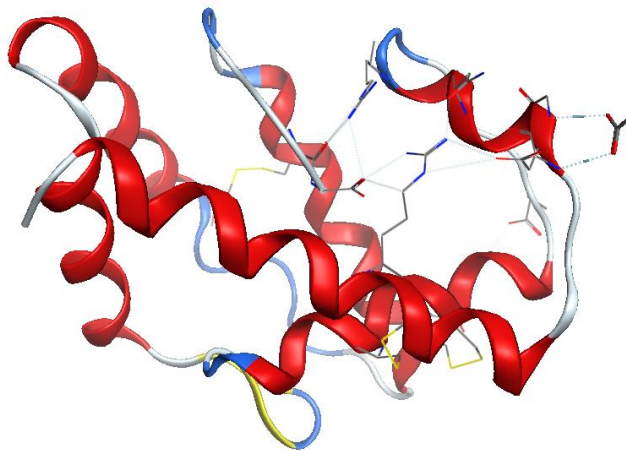
**A. Préparation du récepteur**

L'optimisation de l'énergie de la protéine a été réalisées à l'aide de l'Hamiltonien AM1 et le champ de force AMBER implanté dans le logiciel MOE avec des paramètres par défaut (300K, pH=7), puis le site actif a été identifié et isolé à l'aide du module de recherche «site finder » et « surfaces and Maps ».

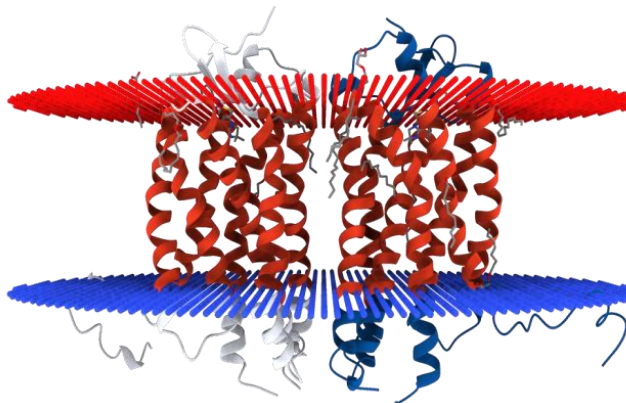
La discussion des résultats des calculs a été basée sur l'énergie d'interaction obtenue entre le RCPG et les ligands et différentes types d'interaction entre eux.



**Figure 18:** Protéine G couplée au récepteur (GPCRs) (PDB ID: 4J4Q).



**Figure 19:** Protéine G couplée au récepteur (GPCRs) (PDB ID: 3VB1).



**Figure 20:** Protéine réceptrice de chimiokine (CXCR4) sous le code 3ODU.

## B. Préparation des ligands

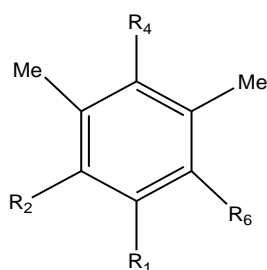
Pour notre étude théorique basée sur le docking moléculaire à l'aide de logiciel MOE (Molecular Operating Environment), les musc nitrés et des muscs diénone ont été pris de la littérature[14].

L'exécution des calculs se fait en deux étapes [9]:

- Désigné les ligands à l'aide de logiciel chemdraw 8.0
- Optimisation des ligands à l'aide de MOE

Les inhibiteurs utilisés dans nos travaux sont :

- 1) **Première étude :** "Etudes de la relation structure- odeur musquée avec les récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs)"

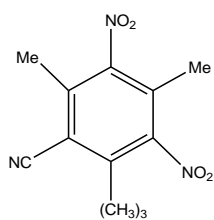


Squelette de m-xylene

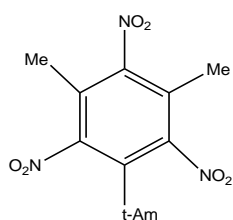
**Tableau 1:** Substitution de musc dans la famille « m-xylene »

Ligands	Odeur	R6	R4	R2	R1
L1	Musquée	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	CN	tBu
L2	Musquée	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	tAm
L3	Musquée	NO <sub>2</sub>	Me	NO <sub>2</sub>	tAm
L4	Musquée	NO <sub>2</sub>	COMe	NO <sub>2</sub>	tAm
L5	Non	CHO	Me	NO <sub>2</sub>	tBu
L6	Non	-	OMe	NO <sub>2</sub>	tBu
L7	Non	NO <sub>2</sub>	Br	Br	tBu
L8	Non	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	COPh	tBu
L9	Non	NO <sub>2</sub>	Me	Me	tBu
L10	Non	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	Me

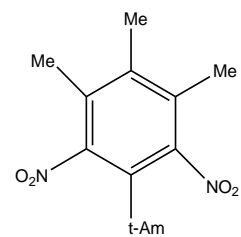
**Tableau 2 : Structures des différents ligands dérivés du m-xylène**



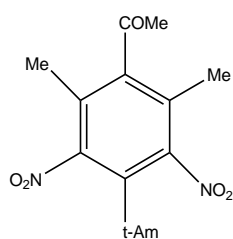
L1



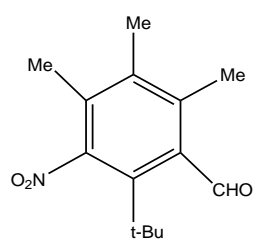
L2



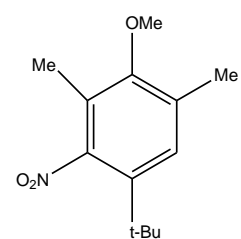
L3



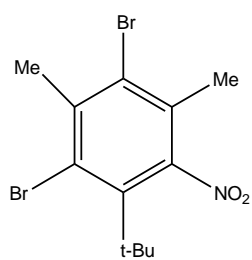
L4



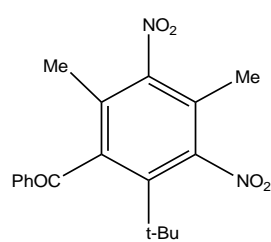
L5



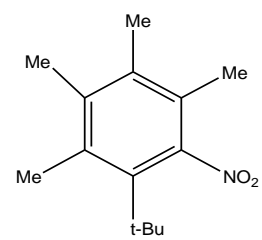
L6



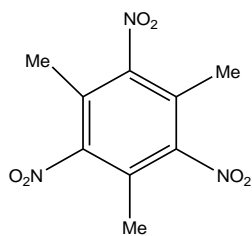
L7



L8



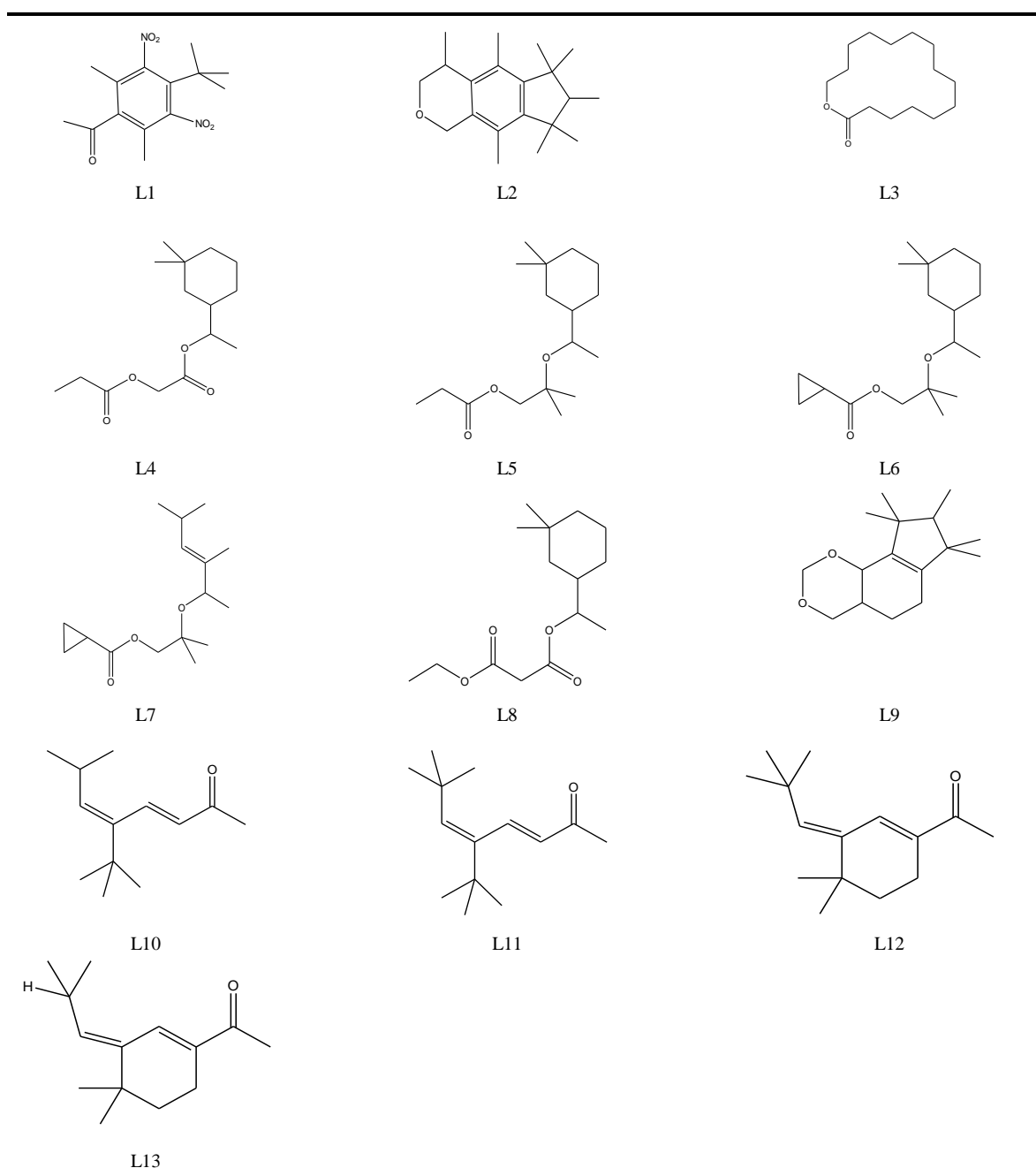
L9



L10

2) **Deuxième étude :** Étude informatique de l'interaction entre le récepteur de la chimiokine olfactive et les musques de diénone

**Tableau 3 :** Différentes structures – musques diénone



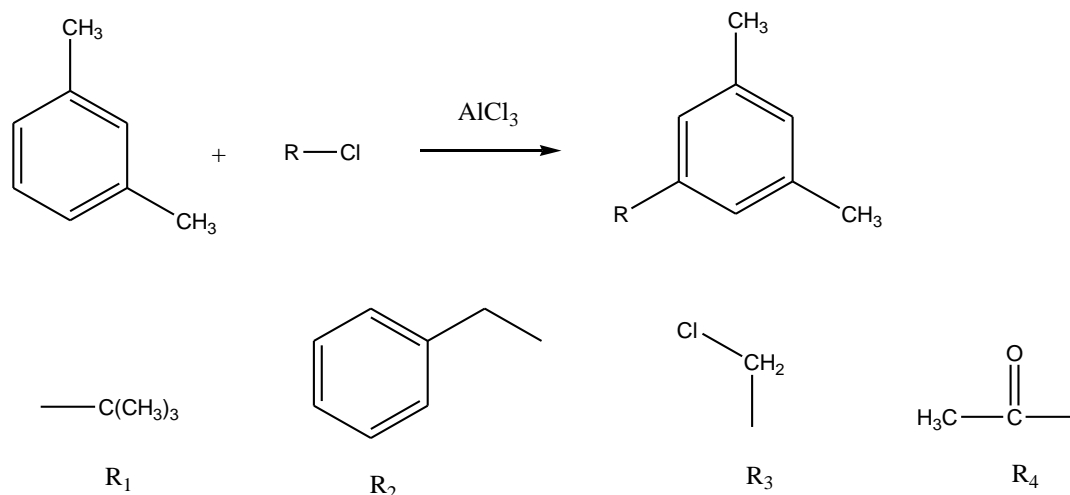
L'étude de l'interaction entre le site actif de la protéine et les inhibiteurs pour former un complexe stable est réalisée à l'aide du logiciel MOE (Molecular Operating Environment) [9]. L'élimination des molécules d'eau et les hétéroatomes de Co-cristallisation nous permettent d'obtenir un modèle simplifié de la protéine.

Une fois que le complexe ligand-récepteur est formé celui-ci va adapter la conformation la plus stable de niveau énergétique le plus faible.

### 3) Troisième étude : Synthèse des molécules musquées dérivées des m-xylène

La réaction principale de la préparation des muscs dérivant du méta-xylène est l'alkylation. Dans cette étude nous traitons l'alkylation de m-xylène en présence d' $\text{AlCl}_3$ .

#### A. Alkylation de m-xylène

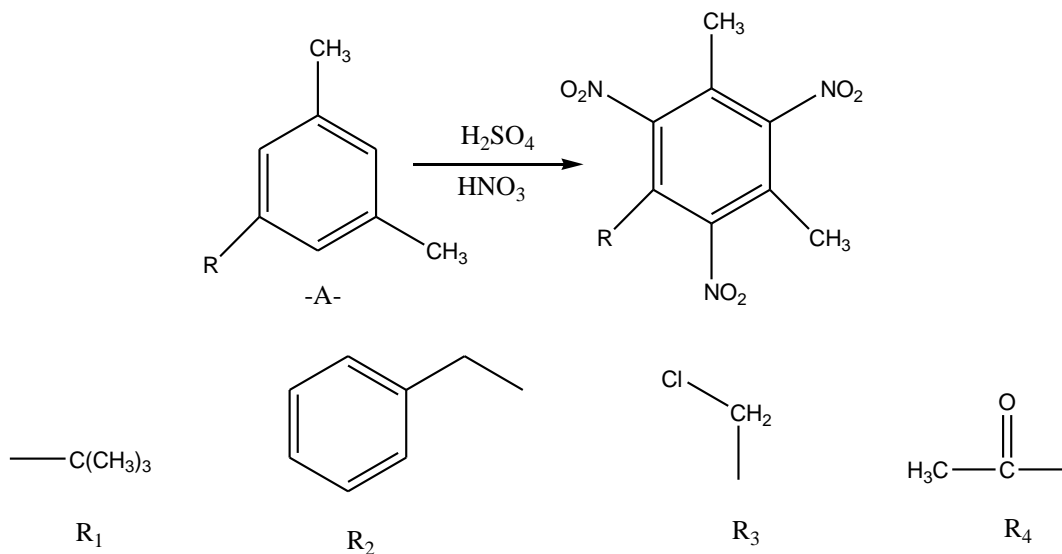


Dans un ballon, placer 20 g (15 ml, 0,1 mole) du m-xylène et 12 g (0,1 mole) de  $\text{AlCl}_3$  anhydre, ajouter progressivement à l'aide d'une ampoule à brome 0,1 mole de  $\text{RCl}$  pendant une heure sous agitation et à température ambiante.

A la fin de la réaction, le mélange réactionnel est refroidi dans un bain de glace, le chlorure d'aluminium n'ayant pas réagi est décomposé avec l'eau froid on obtient deux phases, une phase aqueuse et une phase organique qu'on sépare par décantation.

La phase aqueuse est extraite ( $2 \times 50$ ) ml de l'éther diéthylique; l'extrait éthérique est ensuite mélangé à la phase organique, sécher sur  $\text{MgSO}_4$  anhydre; puis filtrer. Evaporer le solvant d'extraction, purification des produits obtenus.

## B. Nitration



Sous la hotte et dans un bain eau-glace, placer 0,5 mole d'acide nitrique concentré dans un ballon de 500 ml muni d'un thermomètre, à l'aide d'une ampoule à brome ajouter par petites portions et en agitant 0,75 mole d'acide sulfurique concentré.

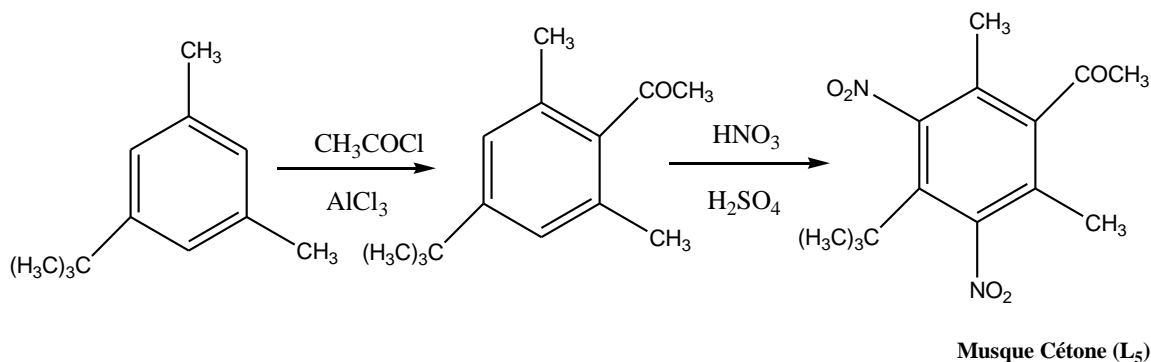
Introduire par petite quantité 0,33 mole du composé -A- ; bien agiter le mélange réactionnel jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. La température du mélange ne doit dépasser 55°C. Si nécessaire, refroidir le mélange dans de l'eau froide ou dans de l'eau glacée.

Lorsque tout le composé -A- a été ajouté, ajuster un réfrigérant à reflux dans le ballon et le chauffer dans un bain d'eau maintenu à 60°C pendant 40-45 minutes.

Retirer le ballon de temps en temps du bain et le secouer énergiquement pour assurer un bon mélange des couches non miscibles.

Verser le contenu du ballon dans un bêcher contenant 500 ml d'eau froide, bien agiter le mélange et laisser reposer. Séparer la phase organique de la phase aqueuse à l'aide d'une ampoule à décanter, extraire la phase aqueuse avec 2x 30ml d'éther, réunir les phases organiques. Laver la phase organique à l'eau pour éliminer toute trace d'acide puis la sécher sur  $\text{MgSO}_4$ , filtrer et purifier le produit. Le produit obtenu est identifié par spectroscoie RMN  $^{13}\text{C}$ , RMN  $^1\text{H}$

### C. Acétylation



Sous la hotte dans un ballon tricol muni d'un thermomètre et sous de forte agitation, introduire 0,5 mole de 5-tert-butyl m-xylène, ajouter pendant une heure 0.5 mol chlorure d'acétyle et 0.7 mole chlorure d'aluminium. Ajouter ensuite, par petites quantités le mélange sulfonitrique dans le ballon. Une fois l'addition terminée, porter le mélange réactionnel à reflux dans un bain d'eau maintenu à 80°C pendant une heure. Le 4-tert-butyl-2,6 diméthyl acétophénone est recristallisé dans le méthanol puis analysé par spectroscopie RMN <sup>13</sup>C, RMN <sup>1</sup>H , avec un rendement de 47%. La température de fusion de la littérature est 395°C

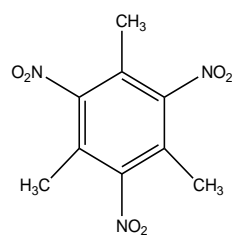
### D. Etude théorique des ligands synthétisés

#### • Représentation du solvant (eau)

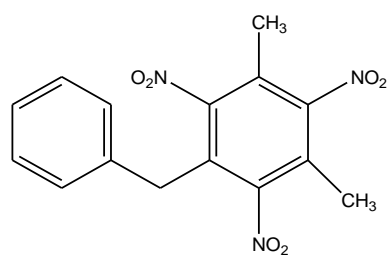
La modélisation moléculaire et la dynamique moléculaire des différentes molécules synthétisées peuvent se réaliser pour des molécules placées dans le vide et dans un milieu solvato. Cependant, il est très intéressant de tenir compte des effets du solvant lors de l'étude des molécules biologiques (notamment les protéines), ceux-ci jouant un rôle primordial dans la structuration de ces dernières. Il existe ainsi deux approches à tenir compte de ces effets :

- Utilisation de molécules d'eau explicites
- utilisation de fonctions énergétiques représentant les interactions avec le solvant.

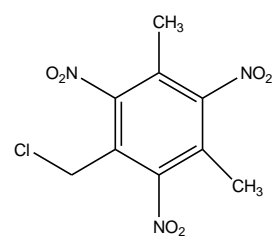
**Tableau 4 :** Différentes structures des ligands synthétisé



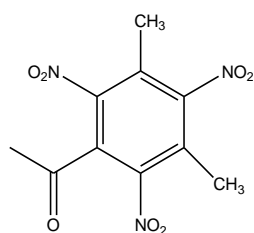
L1



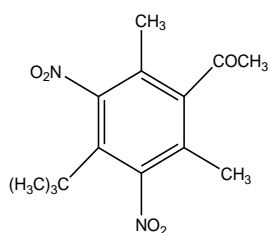
L2



L3



L4



L5

## IV.2. Résultats et discussion

### IV.2.A. Introduction

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

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 modélisation moléculaire regroupées sous le nom d' "amarrage" ou "Docking" moléculaire ont été développées.

Par conséquent, l'optimisation des interactions de **Van Der Waals** de type attractif a lieu lorsque les géométries du site actif de liaison de l'enzyme et celle du substrat deviennent d'avantages complémentaires. Il est à noter qu'une parfaite complémentarité de forme entre la protéine et le substrat est très rare.

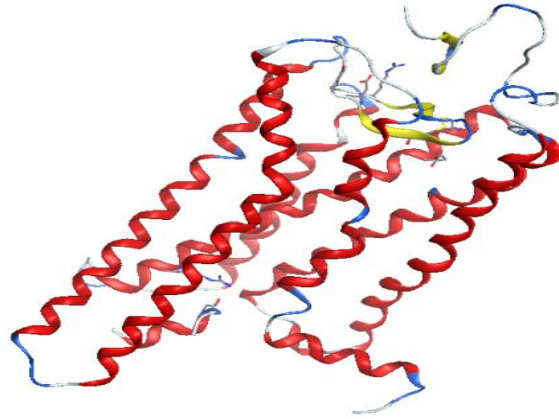
Il faut signaler tant que les atomes du substrat et de la protéine ne sont pas trop proches, les interactions de type de **Van Der Waals** restent de nature attractive et certainement vont stabiliser le complexe formé. Il existe des situations défavorables dans lequel nous avons un très grand espace « vide » entre la protéine et le substrat. Cette situation peut engendrer un changement conformationnelle qui se produit afin de pouvoir accommoder l'établissement d'une nouvelle interaction entre le RCPG et le substrat.

La structure tridimensionnelle des deux enzymes a été obtenue par diffraction de rayon-X [15]. Les caractéristiques de l'enzyme sont résumées dans **le tableau 5** :

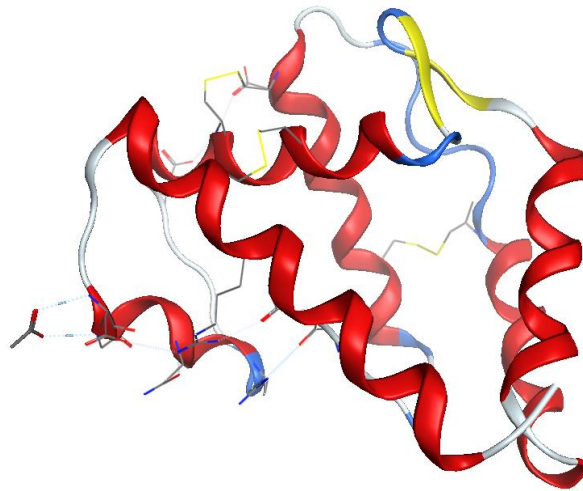
**Tableau 5:** Données des protéines téléchargées à partir de la PDB:

Enzymes	Classification	Poids moléculaire (KDa)	Polymère	Chaîne	Résolution (Å)
GPCRs code PDB 4J4Q	protéine de signalisation	43 115,04	1	A	2,65
3VB1		13 527.00	1	A	2
3ODU		118 216,37	1	A	2,5

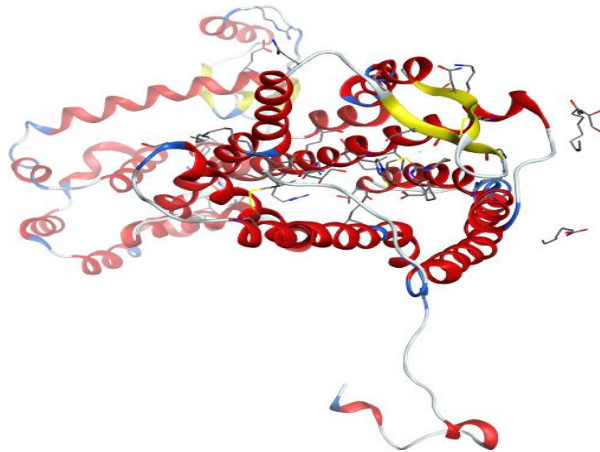
L'effet réducteur de la modélisation moléculaire, nous a permis d'obtenir un modèle simplifié comportant les acides aminés formant le site actif (**figures 21, 22,23**).



**Figure 21 :** Modèle simplifié de la 4J4Q.



**Figure 22 :** Modèle simplifié de la 3VB1.



**Figure 23:** Modèle simplifié de la 3ODU.

### IV.2.B. Première étude : Etudes de la relation structure- odeur musquée avec protéine G couplés aux récepteurs (GPCRs) par docking moléculaire

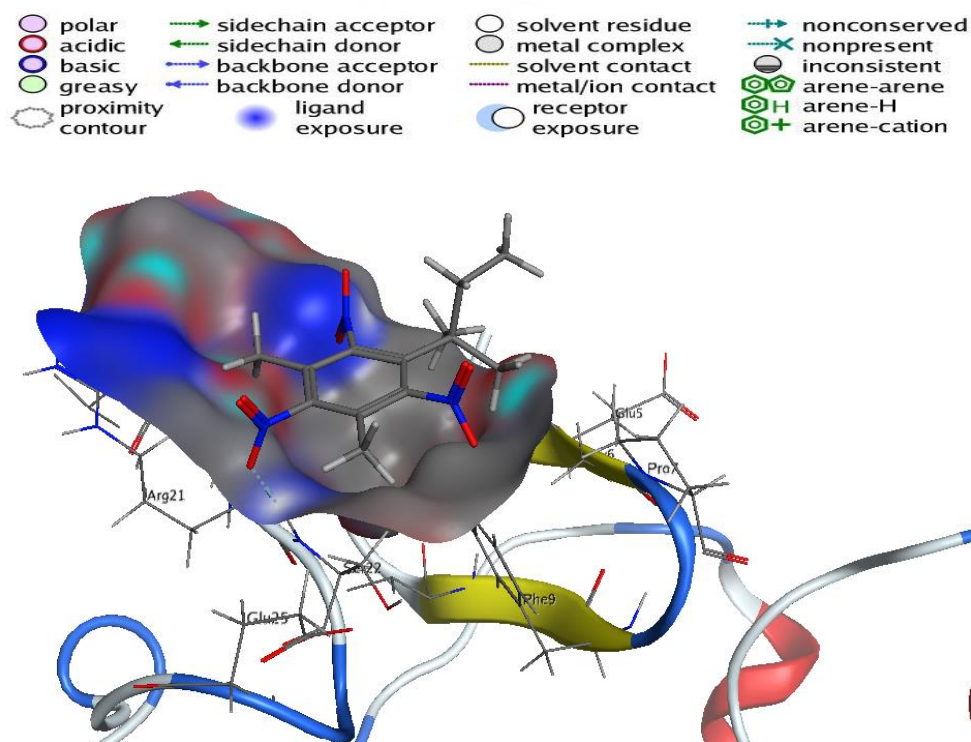
Après la simplification de la protéine on a calculé l'énergie de minimisation avec le logiciel MOE pour atteindre la conformation la plus stable, les résultats obtenus sont reportés dans le **tableau 6** suivant :

**Tableau 6:** Résultats du score Enzyme - ligands

Ligands	Score	RMSD_Refine	Distance	Energie d'interaction (Kcal/mol)	Liaisons hydrogène
L1	-3.7898	2.1604	3.27	-2.1	
L2	-3.7097	1.7288	3.20	-2.4	

L3	-4.0526	2.4115	3.03	-3.7	
L4	-3.9110	1.7885	3.19	-2.7	
L5	-3.8509	1.1318	-	-	
L6	-3.8064	1.4004	-	-	

L7	-3.7471	2.0900	-	-	
L8	-3.7360	1.8817	-	-	
L9	-3.7422	1.6973	-	-	
L10	-3.4770	1.3921	-	-	



**Figure 24 :** Structure du complexe : protéine (4J4Q) avec l'inhibiteur(L2)

D'après les résultats obtenus (**tableau 06**), nous avons remarqué que les liaisons formés par les quatre ligands L1, L2, L3, L4 ; forment des interactions avec les résidus du site actif du récepteurs olfactif (avec acide aminé Ser 22) ; par contre les différents ligands : L5, L6, L7, L8, L9, L10 ; ne présentent aucune interaction avec le site actif du récepteur olfactif.

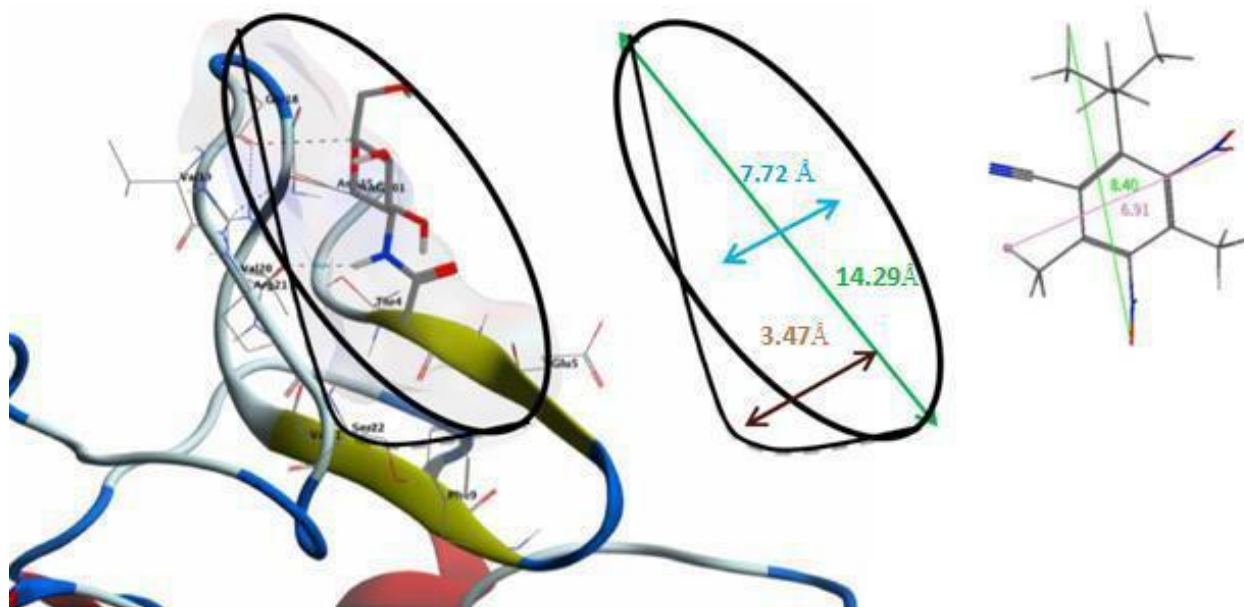
A partir des résultats du docking moléculaire obtenu, on constate que les énergies des inhibiteurs L1, L2 et L4 sont du même ordre. Ceci peut s'expliquer par la présence de groupes fortement attracteurs tels que (-NO<sub>2</sub>, -CN et -COMe) qui déstabilisent le cycle aromatique. D'autre part, l'inhibiteur L3 est stabilisé par des groupes donneurs (3 groupes -Me, t-Am) et possédant l'énergie la plus faible, il est probablement le meilleur inhibiteur.

Les interactions entre 2,5 Å et 3,1 Å sont considérées comme des fortes ; et ceux entre 3,1 Å et 3,55 Å sont supposés moyennes ; interactions supérieures à 3,55 Å sont faibles ou absentes [16].

Les distances entre les résidus du site actif et le L1 ; L2 ; L3 ; L4 varie entre 3,03 Å et 3,27 Å. On remarque que la plus part des distances appartiennent à l'intervalle des interactions fortes ou moyennes [16]. Donc nos résultats confirment bien les travaux de

Carpenter et al [14]. Les ligands L1 ; L2 ; L3 ; L4 forment des complexes stable ; par contre les autres ligands (L5, L6, L7, L8, L9, L10) ne présentent aucune interaction avec le RCPG.

Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif, dans notre cas, la poche protéique possède une largeur de 7,72 Å et une profondeur de 14,29 Å.



**Figure 25 :** Dimension de la cavité protéique (protéine 4J4Q) et de ligand L2.

L'examen de la cavité protéique, et le calcul des distances entre les inhibiteurs R et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées, confirment que l'inhibiteur L2 avec l'azote de la ser22 présente une interaction (H-accepteur) et une meilleure complémentarité protéine de signalisation (4J4Q). L'inhibiteur L2 peut être proposé comme molécule ayant une bonne activité odorante (**Figure 25**).

#### IV.2.C. Seconde étude : étude informatique de l'interaction entre le récepteur de la chimiokine olfactive et les musques de diénone

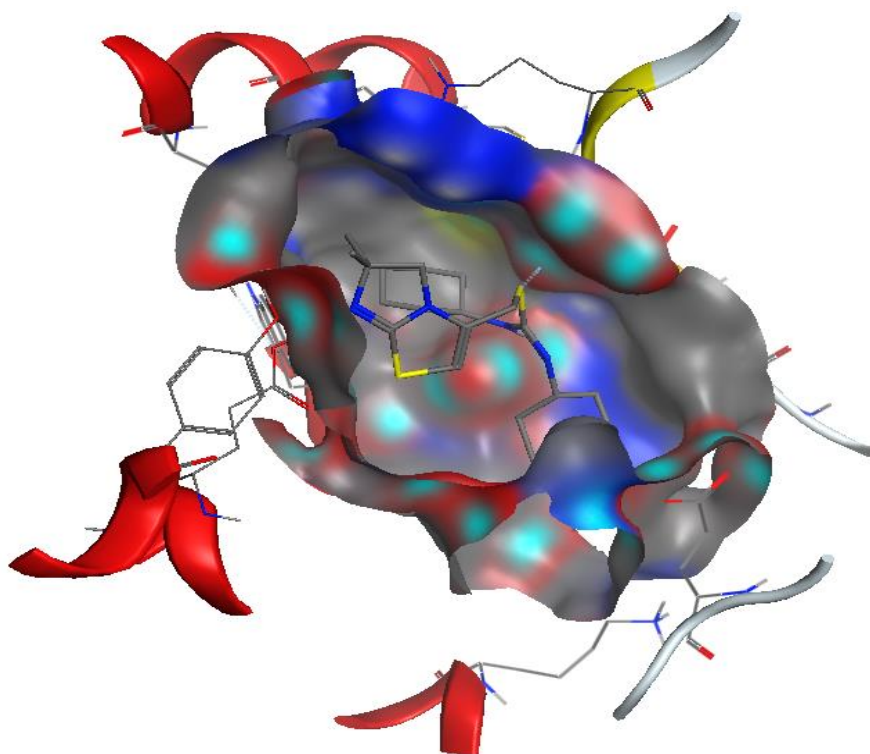
Le positionnement du ligand dans le site actif de la protéine nous a permis d'établir des interactions protéine-substrat à l'aide de logiciel MOE [17]

**Tableau 7:** Analyse des descripteurs moléculaires de 13 ligands à l'aide du logiciel MOE

Ligand	MW	LogP	LogS	TPSA	H-bonds donors	H-bonds acceptors	Toxicity
<b>1</b>	294.30	3.62	-5.30	108.71	0	1	NO
<b>2</b>	258.40	5.41	-6.77	9.23	0	1	NO
<b>3</b>	240.38	4.61	-5.27	36.30	0	1	NO
<b>4</b>	256.34	3.09	-4.15	52.60	0	2	NO
<b>5</b>	284.43	4.34	-4.54	35.53	0	2	NO
<b>6</b>	268.39	4.34	-4.64	35.53	0	2	NO
<b>7</b>	268.39	3.73	-3.31	35.53	0	2	NO
<b>8</b>	270.36	3.09	-4.15	52.60	0	2	NO
<b>9</b>	250.37	3.77	-4.19	18.46	0	2	NO
<b>10</b>	196.33	3.76	-4.80	17.07	0	1	NO
<b>11</b>	208.34	4.15	-5.31	17.07	0	1	NO
<b>12</b>	220.36	4.29	-4.91	17.07	0	1	NO
<b>13</b>	206.33	3.90	-4.40	17.07	0	1	NO

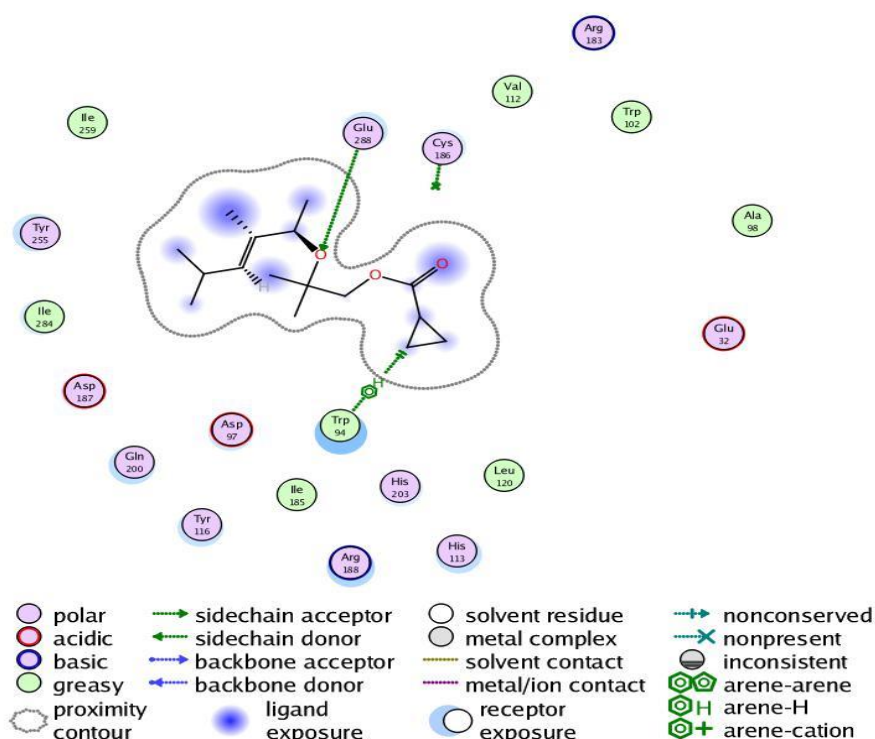
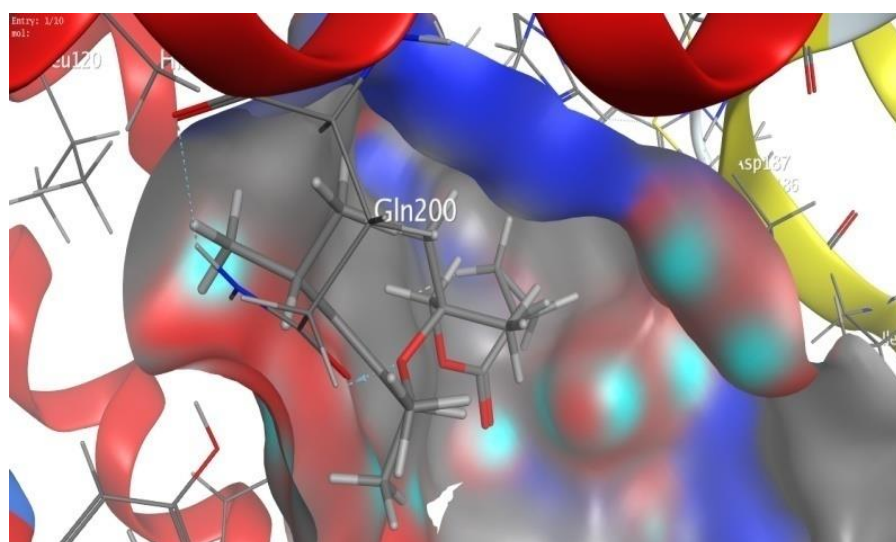
MW: poids moléculaire (g / mol), TPSA: surface polaire ( $\text{\AA}^2$ ), logP: coefficient de partage octanol-eau, logS: solubilité dans l'eau, H- bonds donors: nombre de donneurs de liaisons H, H- bonds acceptors: nombre des accepteurs de liaisons H.

Les résultats obtenus sont classés par ordre décroissant dans **le tableau 7**. La structure des molécules joue un rôle important dans le positionnement des ligands odorants dans le site actif du récepteur. A la lumière de ces résultats on conclut que l'introduction de groupes volumineux provoque un réarrangement de la conformation au sein de la cavité du site actif, ce qui sera probablement la complémentarité et donc la stabilité. Le logiciel MOE est conçu pour visualiser les sites actifs du complexe (protéine-ligand). Le ligand est préparé à l'aide d'un algorithme de représentation 2D et les résidus de protéines sont disposées autour de celui-ci pour indiquer la proximité spatiale des liens entre eux [17, 18]. S'il existe plusieurs canaux dans le système nerveux, les positions sont précédées des lettres de l'alphabet.



**Figure 26:** Site actif isolé de la protéine CXCR4.

Pour le complexe protéine - L7 (**figure 27**): interagit avec les acides aminés [accepteur GLU 288 (A) H]; [TRP 94 (A) Pi-H] à une distance de 3,16 Å, 4,04 Å respectivement pour la 1<sup>ère</sup> interaction est moyenne et la 2<sup>ème</sup> interaction est faible), le ligand L7 pourrait être le probablement le meilleur inhibiteur de CXCR4 (tableau 6) [18].



**Figure 27 :** Diagramme d'interaction du complexe CXCR4- L7.

Pour les complexes protéine-ligand L12 et L11 (**Fig. 28, 29**), il n'existe aucune liaison entre les deux complexes formés, les seules forces possibles sont électriques (Glu 288 et Cys 186), avec des énergies totales respectives : -4,9191 Kcal/mol; -5,0816 Kcal/mol respectivement sont faibles. Pour les autres complexes formés, les énergies et le type de liaisons formés avec les acides aminés sont résumés et insérés dans **le tableau 8**. D'après le résultat obtenu, le ligand L7 possède l'énergie la plus faible -6.5731 Kcal / mol donc probablement l'inhibiteur idéal possédant la meilleur odeur.

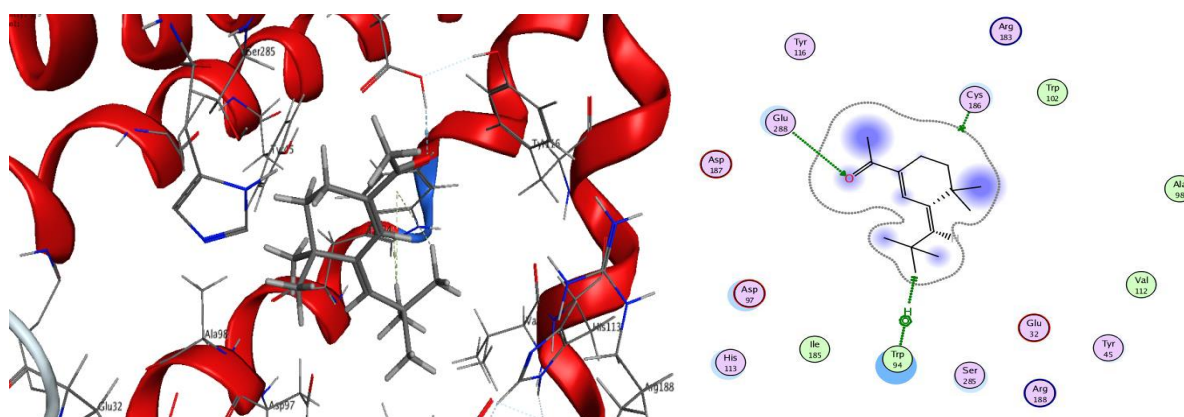


Figure 28: Diagramme d'interaction of CXCR4-L12.

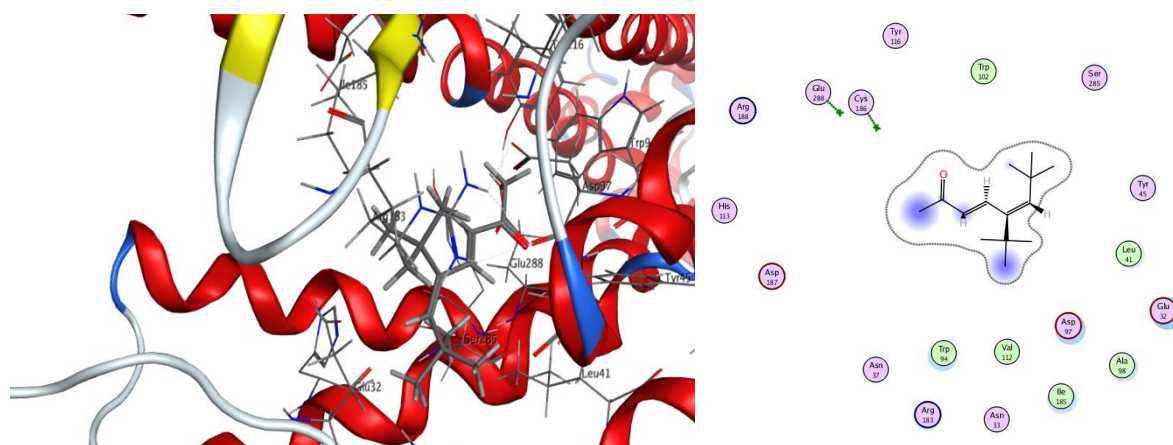


Figure 29: Diagramme d'interaction de CXCR4- L11.

Tableau 8: Résultats du score protéine – ligands

Compose	Score	RMSD	Distance	Energy of interaction (Kcal/mol)	Type of interaction	Aminoacid bond	Type of bond
Ref - ligand	-6.4566	6.0116	3.28	-1.9	Mean	Glu 288	H-acceptor
			3.81	-1.4	Absent	Cys 186	H-donor
L9	-4.2717	2.9242	3.13	-1.2	Mean	Glu 288	H-acceptor
			4.03	-0.6	Absent	Trp 94	Pi- H
L12	-4.7634	2.8529	3.01	-1.5	Strong	Glu 288	H-acceptor
			4.09	-0.8	Absent	Trp 94	Pi- H
L2	-4.7666	1.4525	4.11	-0.7	Absent	Trp 94	Pi- H
			4.06	-0.8	Absent	Glu 288	Pi- H
L10	-4.9191	2.0776	/	/	/	Glu 288	Force electric
			/	/	/	Cys 186	
L3	-4.9551	2.4397	4.07	-0.8	Absent	Trp 94	Pi- H
L13	-4.9996	1.1229	2.80	-4.9	Strong	Glu 288	Pi- H
			4.22	-0.6	Absent	Trp 94	Pi- H

<b>L11</b>	-5.0816	1.0065	/	/	/	Glu 288 Cys 186	electric Force
<b>L5</b>	-5.4131	1.7104	3.86	-0.9	Absent	His 113	Pi- H
<b>L8</b>	-5.5317	1.6436	2.79	-2.6	Strong	Glu 288	H-acceptor
			4.03	-0.8	Absent	Trp 94	Pi- H
			4.00	-0.7	Absent	Trp 94	Pi- H
<b>L1</b>	-5.5758	1.2898	3.05	-1.6	Strong	Glu 288	H-acceptor
<b>L6</b>	-5.6162	1.6605	2.92	-1.2	Strong	Glu 288	H-acceptor
			3.99	-0.7	Absent	Trp 94	Pi- H
			3.99	-0.9	Absent	Trp 94	Pi- H
<b>L4</b>	-5.6403	2.1331	3.90	-0.8	Absent	His 113	Pi- H
			4.00	-0.7	Absent	Trp 94	Pi- H
<b>L7</b>	<b>-6.5731</b>	<b>2.0822</b>	<b>3.16</b> <b>4.04</b>	<b>-1.3</b> <b>-0.6</b>	<b>Mean</b> <b>Absent</b>	<b>Glu 288</b> <b>Trp 94</b>	<b>H-acceptor</b> <b>Pi- H</b>

Pour le complexe CXCR4 - L9 (**Fig30**): le ligand interagit avec les acides aminés [Glu 288 (H-accepteur), Trp 94 (Pi- H)] à une distance de 3.13 Å, 4.03Å respectivement.

Pour le complexe CXCR4 - L2 (**Fig31**): le ligand interagit avec les acides aminés [Glu 288 (Pi- H)] à une distance de 4.06 Å.

Pour le complexe CXCR4 - L10 (**Fig 32**): le ligand interagit avec les acides aminés [Glu 288 (H-accepteur), Trp 94 (Pi- H)] à une force électrique.

Pour le complexe CXCR4 - L3 (**Fig 33**): le ligand interagit avec les acides aminés [Trp 94 (Pi- H)] à une distance de 4.07 Å.

Pour le complexe CXCR4 - L13 (**Fig 34**): le ligand interagit avec les acides aminés [Glu 288 (Pi- H), Trp 94 (Pi- H)] à une distance de 2.80 Å, 4.22Å respectivement.

Pour le complexe CXCR4 - L5 (**Fig 35**): le ligand interagit avec les acides aminés [His 113 (Pi- H)] à une distance de 3.86 Å.

Pour le complexe CXCR4 - L8 (**Fig 36**): le ligand interagit avec les acides aminés [Glu 288 (H-accepteur), Trp 94 (Pi- H), Trp 94 (Pi- H)] à une distance de 2.79 Å, 4.03Å et 4.00 Å respectivement.

Pour le complexe CXCR4 - L1 (**Fig 37**): le ligand interagit avec les acides aminés [Glu 288 (H-accepteur)] à une distance de 3.05 Å.

Pour le complexe CXCR4 - L6 (**Fig 38**): le ligand interagit avec les acides aminés [Glu 288 (H-accepteur), Trp 94 (Pi- H), Trp 94 (Pi- H)] à une distance de 2.92 Å, 3.99Å et 3.99 Å respectivement.



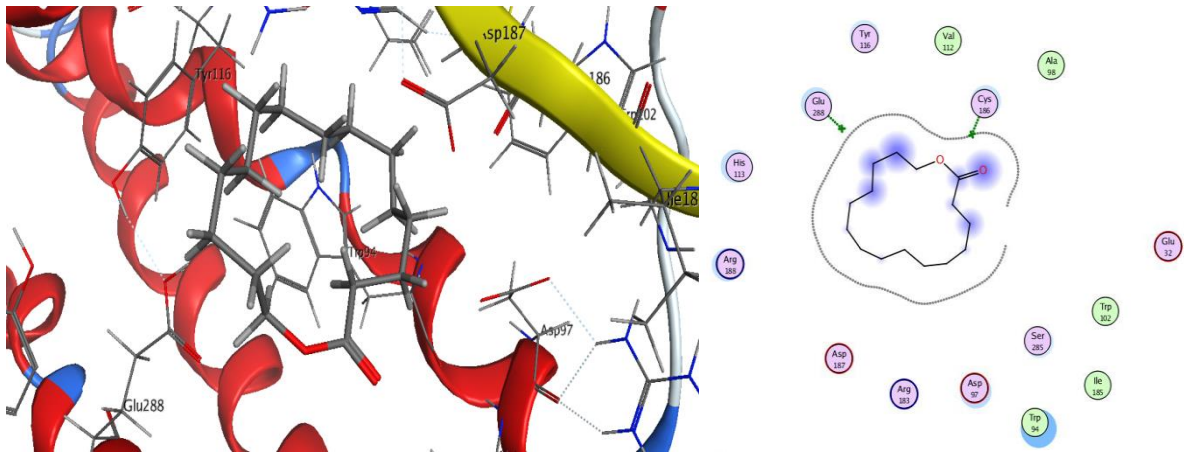


Figure 33: Diagramme d'interaction de CXCR4 - L3

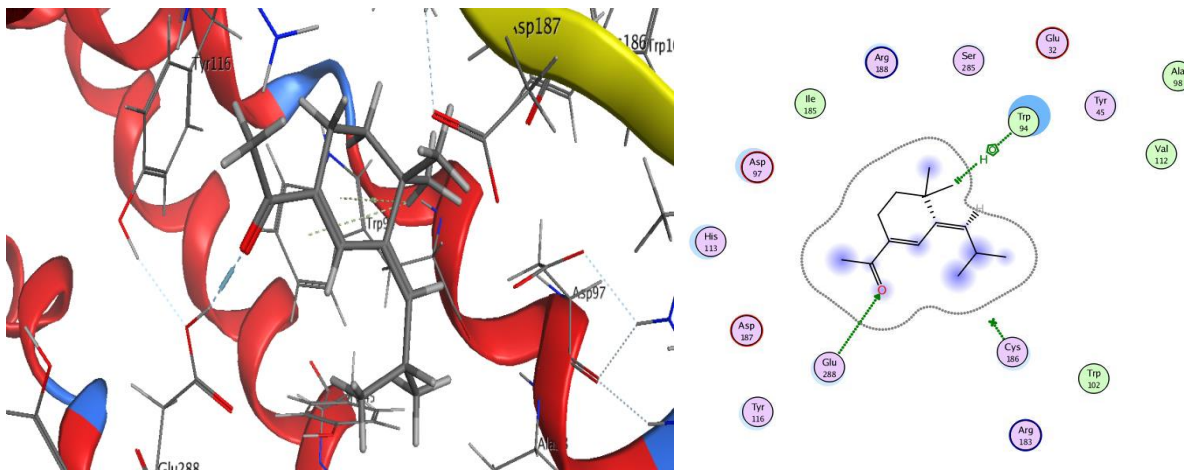


Figure 34: Diagramme d'interaction de CXCR4 - L13.

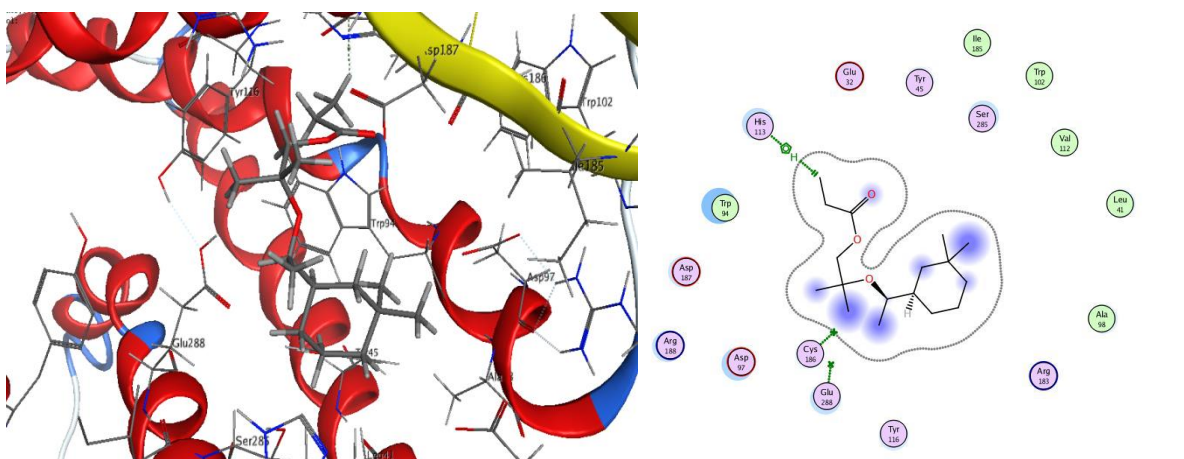


Figure 35: Diagramme d'interaction de CXCR4 - L5

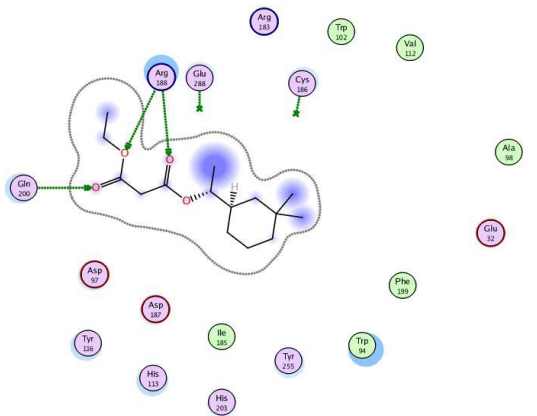
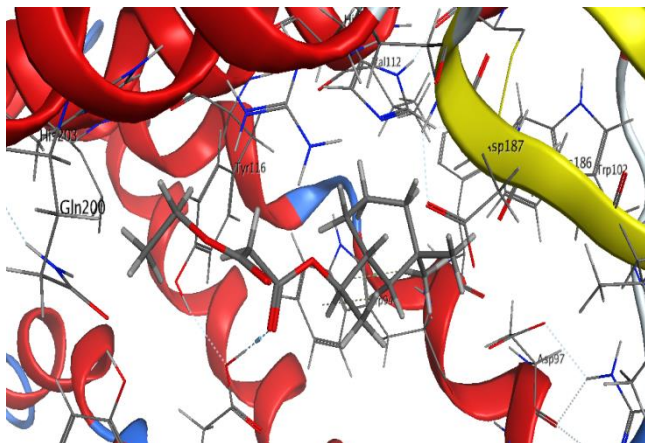


Figure 36: Diagramme d'interaction de CXCR4 - L8

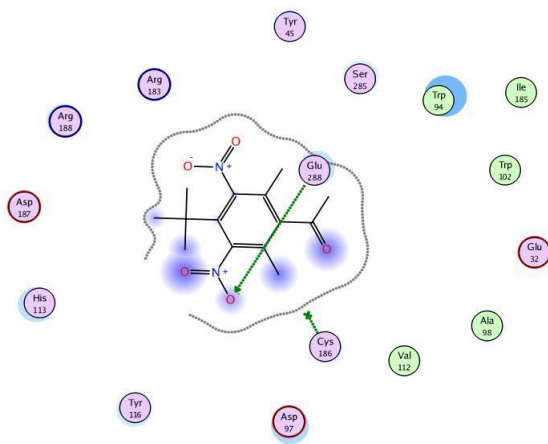
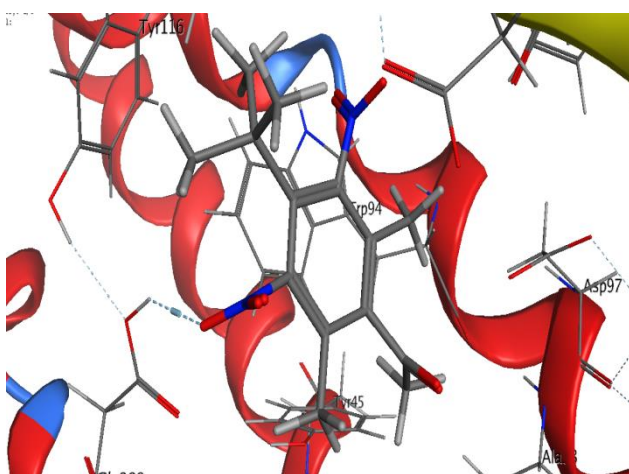


Figure 37: Diagramme d'interaction de CXCR4 - L1

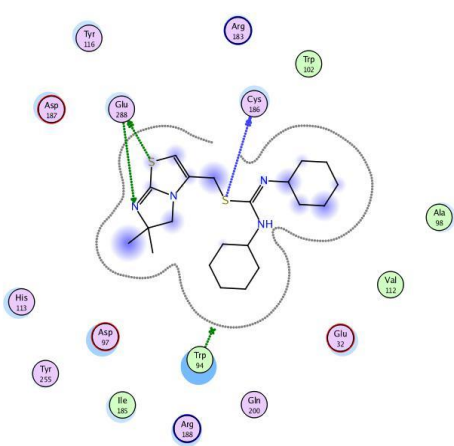
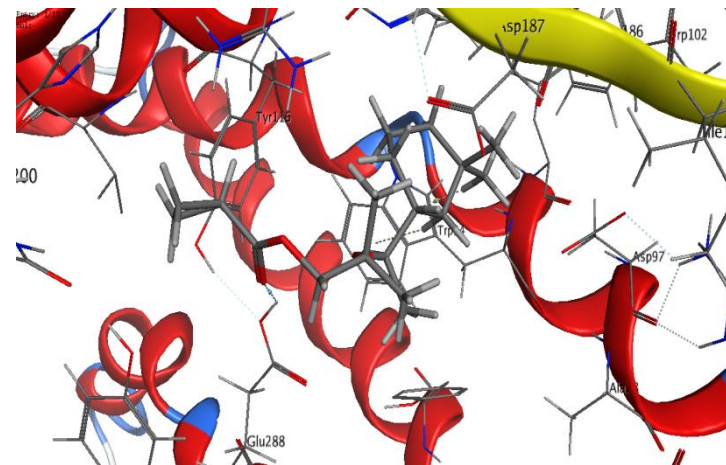


Figure 38: Diagramme d'interaction de CXCR4 - L6

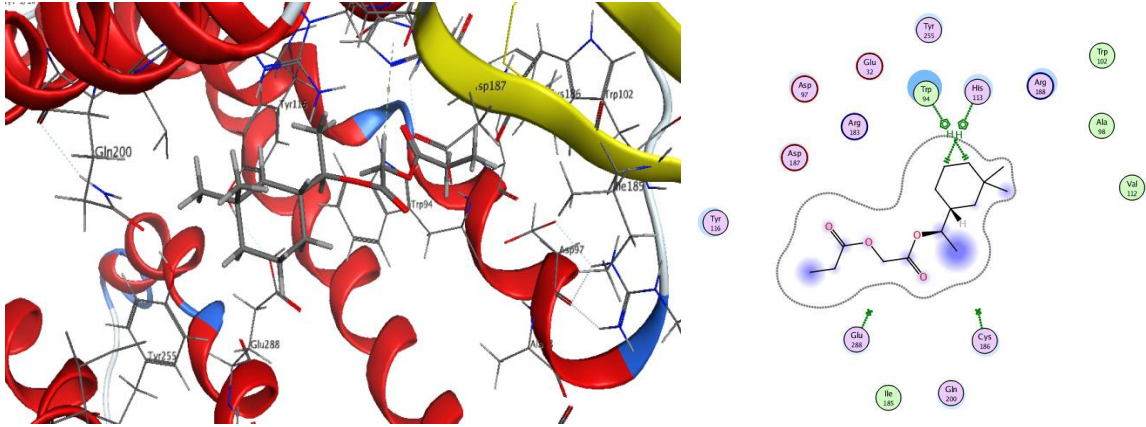
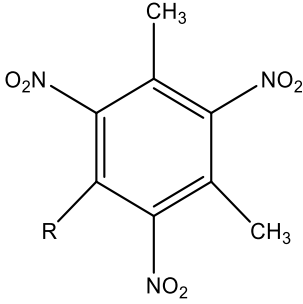
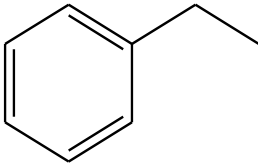
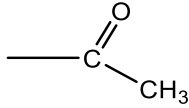
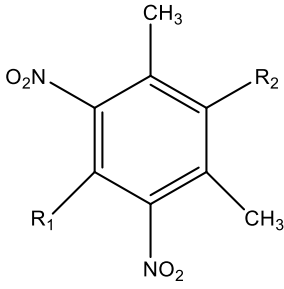
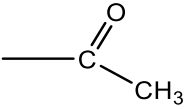


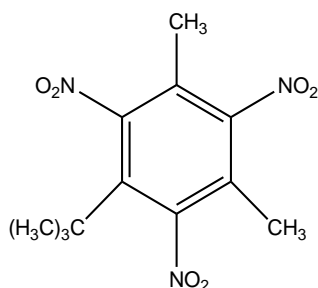
Figure 39: Diagramme d'interaction de CXCR4 - L4.

IV.2.D. Troisième étude : Synthèse et étude théorique des molécules musquées et non musquées par modélisation moléculaire

Composé	Ligand	Radical « R »	Rendement (%)	Point de fusion (°C)
	L <sub>1</sub>	$\text{—C(CH}_3\text{)}_3$	76,26	78
	L <sub>2</sub>		46,93	Liquide visqueux
	L <sub>3</sub>	$\text{—CH}_2\text{Cl}$	68,34	118
	L <sub>4</sub>		34,45	82
	L <sub>5</sub>	R <sub>1</sub> = $\text{—C(CH}_3\text{)}_3$	47,37	>292
		R <sub>2</sub> = 		

### A. Interprétation des spectres RMN C<sup>13</sup> et RMN H<sup>1</sup> des molécules synthétisées

1-(*tert*-butyl)-3,5-diméthyl-2,4,6-trinitrobenzène

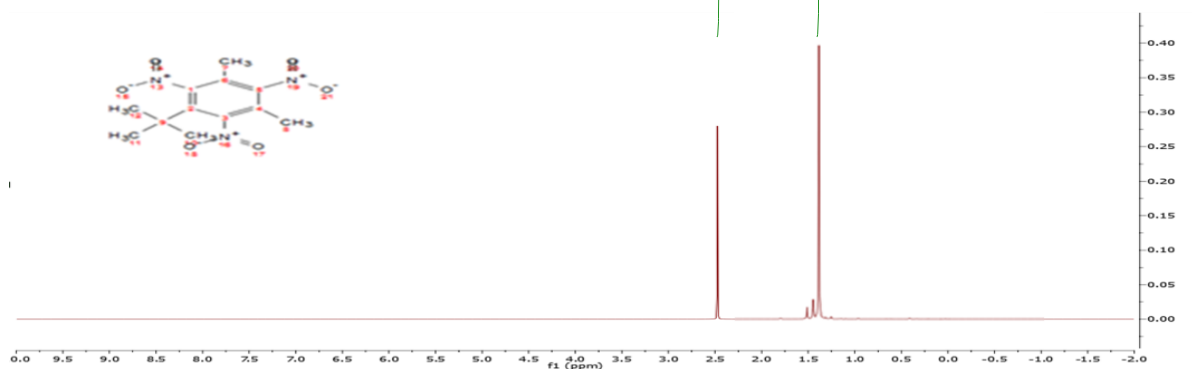


Rendement: 76,26%

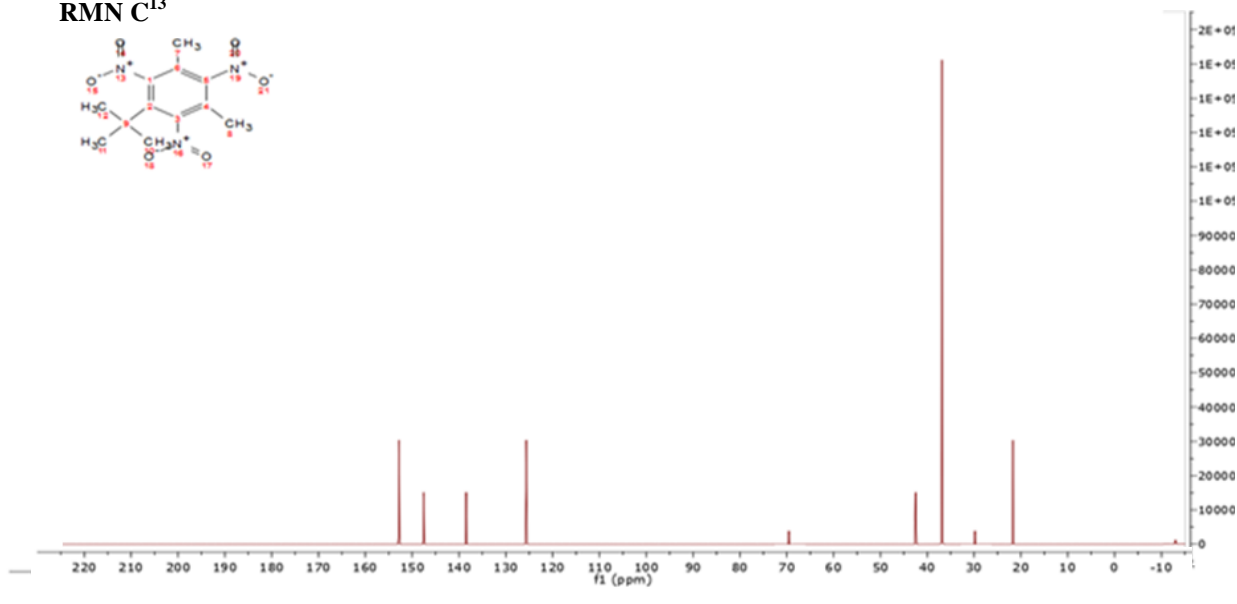
Formule Moléculaire : C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

PM: 297,27g/mol

RMN H<sup>1</sup>

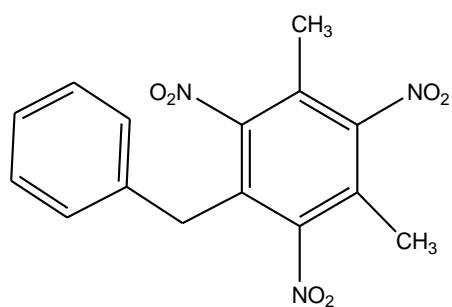


RMN C<sup>13</sup>



NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ = 1.37 ppm. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 2.47 (s, 6H, 2-CH<sub>3</sub>), 1.29 (s, 9H, 3-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 153.03 – 153.96, 148.06, 138.45, 125.60 – 124.94, 37.25, 31.24.

1-benzyl-3,5-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzene

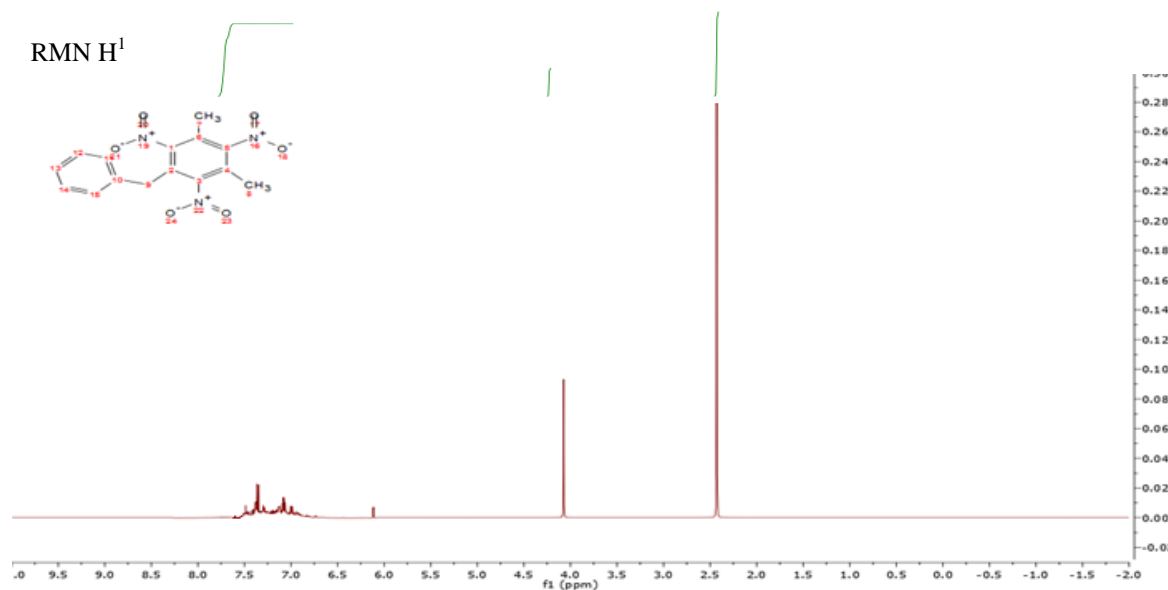


Yield : 46.93 %

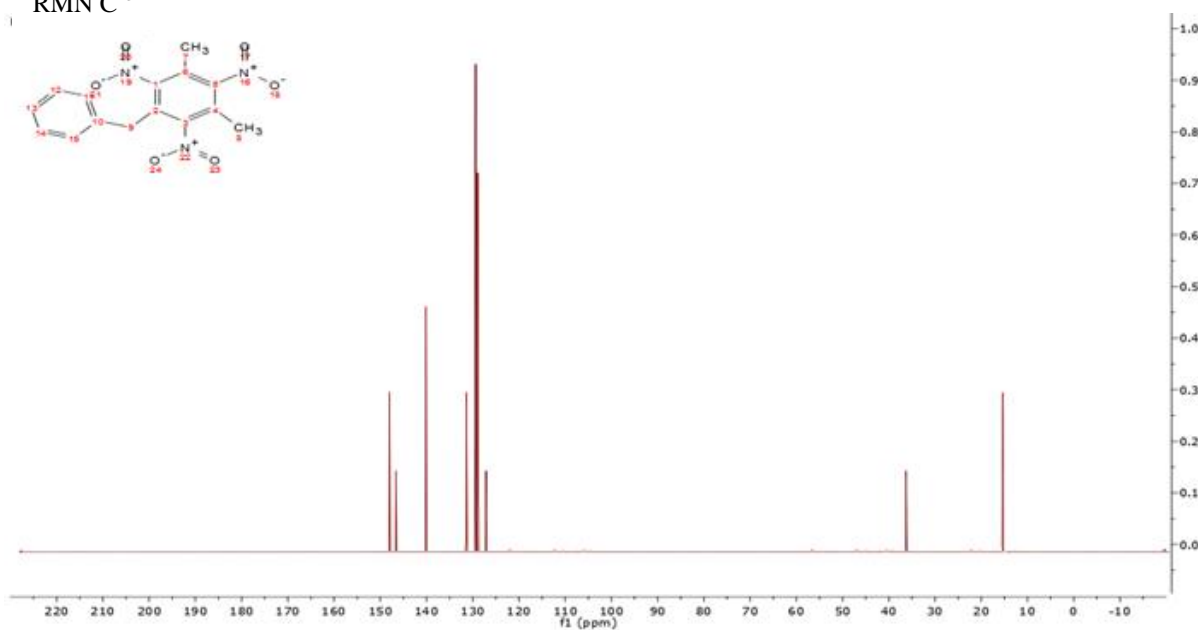
Molecular formula :  $C_{15}H_{13}N_3O_6$

MW : 331.28 g/mol

RMN  $H^1$

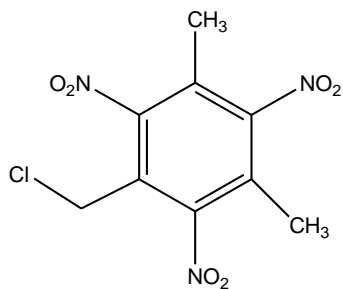


RMN  $C^{13}$



$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  7.40 – 7.07 (m, 1H), 4.09 (s, 2H,  $-CH_2-$ ), 2.43 (s, 3H, 2- $CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  147.32 (d,  $J = 174.6$  Hz), 146.62 (s), 140.12 (s), 131.39 (d), 129.37 (d), 128.99 (d), 128.86 (s), 127.10 (s), 36.30 (s), 15.35 (d).

1-(chloromethyl)-3,5-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzene

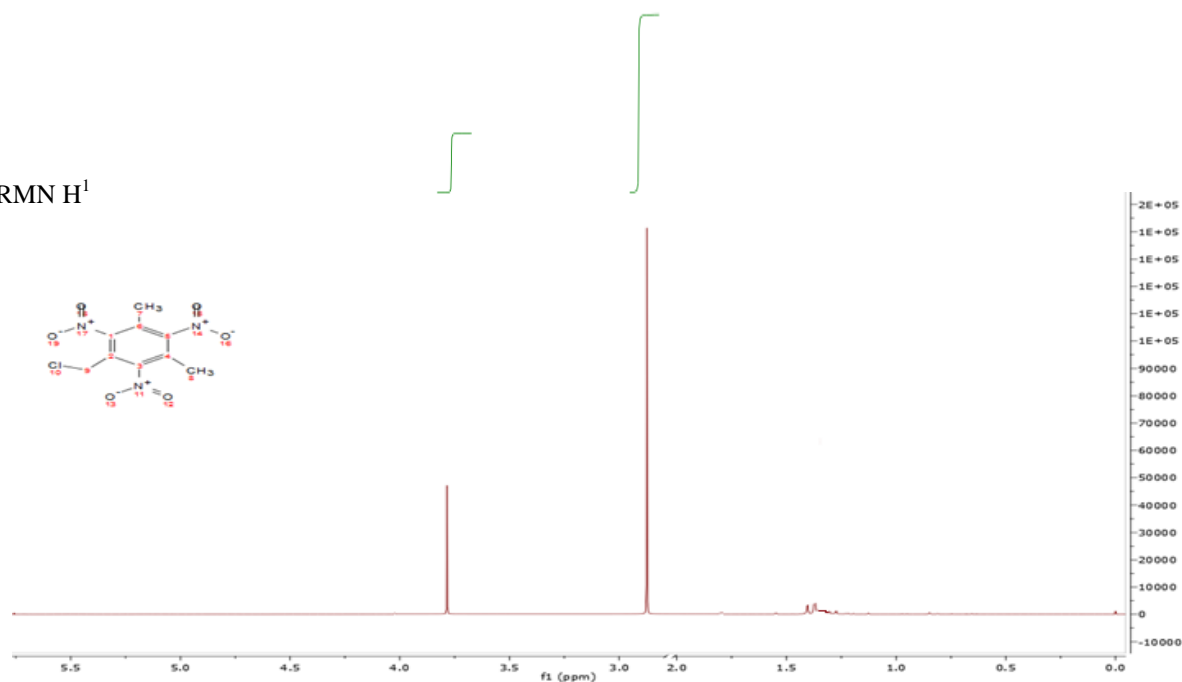


Rendement : 68.34 %

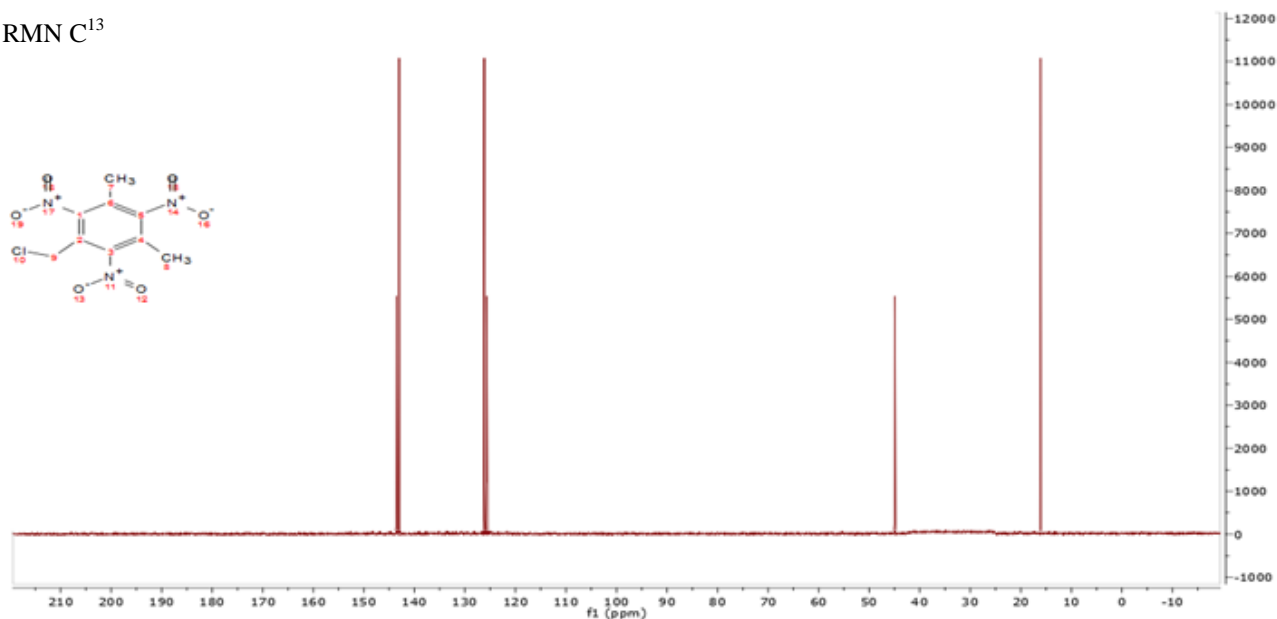
Formule moléculaire :  $C_9H_8ClN_3O_6$

PM : 289.63 g/mol

RMN  $H^1$

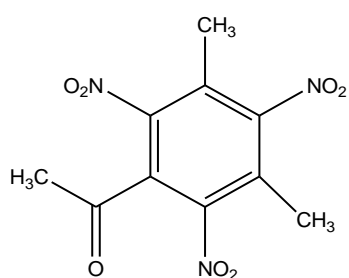


RMN  $C^{13}$



$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) $\delta$  4.58 (s, 2H, 1- $CH_2$ ), 2.43 (s, 6H, 2- $CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ ) $\delta$  148.74, 148.17, 148.17, 130.54, 130.54, 130.02, 45.54, 15.35, 15.35.

1-(3,5-diméthyl-2,4,6-trinitrophenyl)éthan-1-one

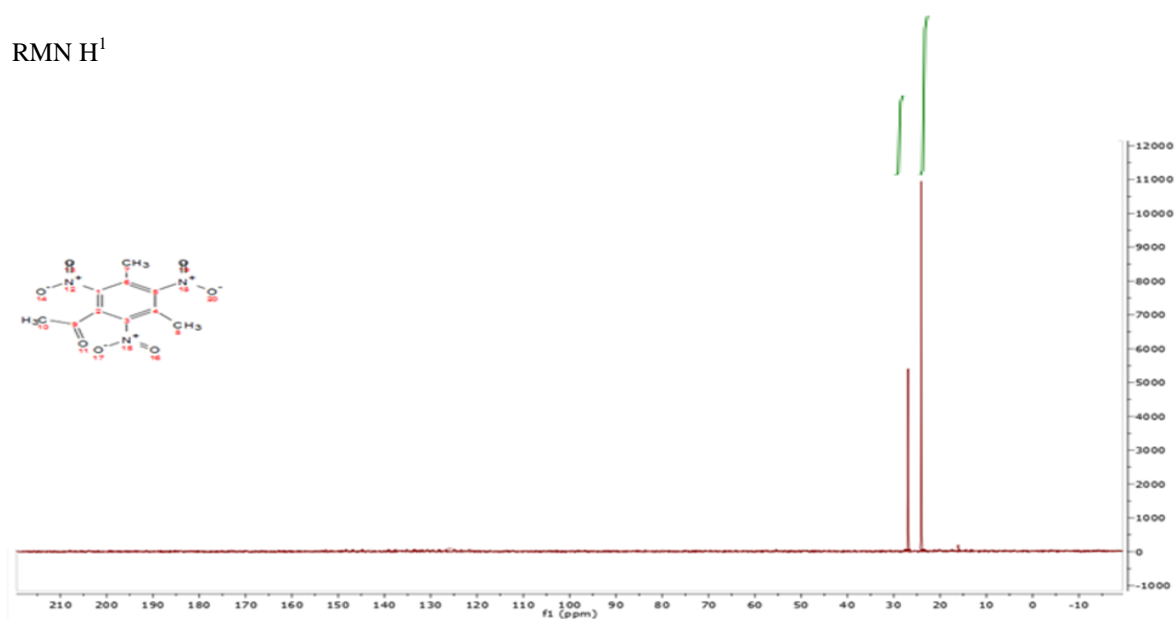


Rendement : 34,45 %

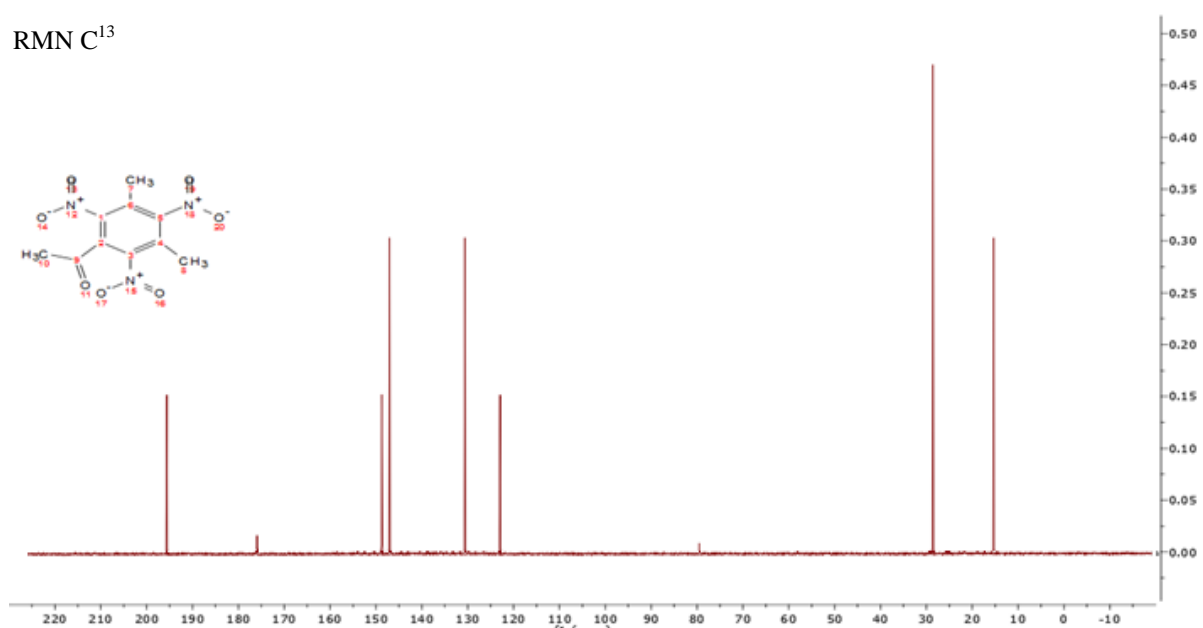
Formule moléculaire : C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>

PM : 283,20 g/mol

RMN H<sup>1</sup>

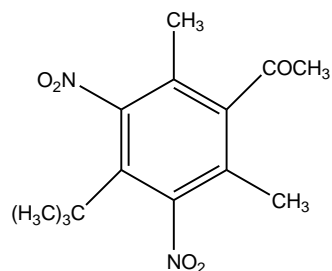


RMN C<sup>13</sup>



<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 2.44 (d, 6H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.56 (s, 3H, 1-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 15.35, 15.35, 28.58, 122.91, 130.61, 130.61, 147.06, 147.06, 148.74, 195.58.

1-(4-*tert*-butyl-2,6-dimethyl-3,5-dinitrophenyl)ethanone

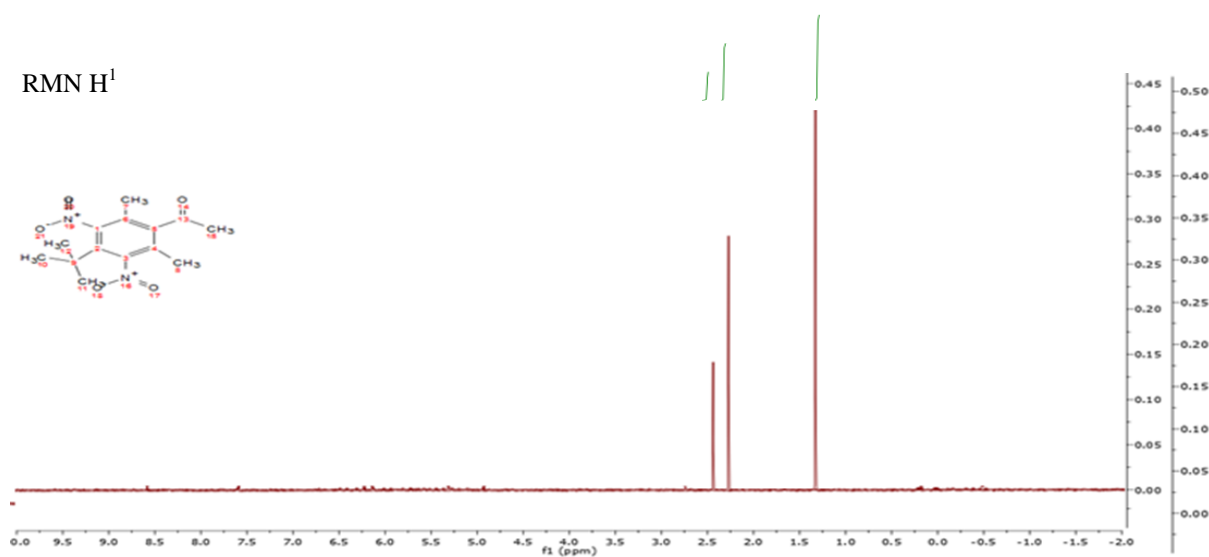


Rendement : 47,34 %

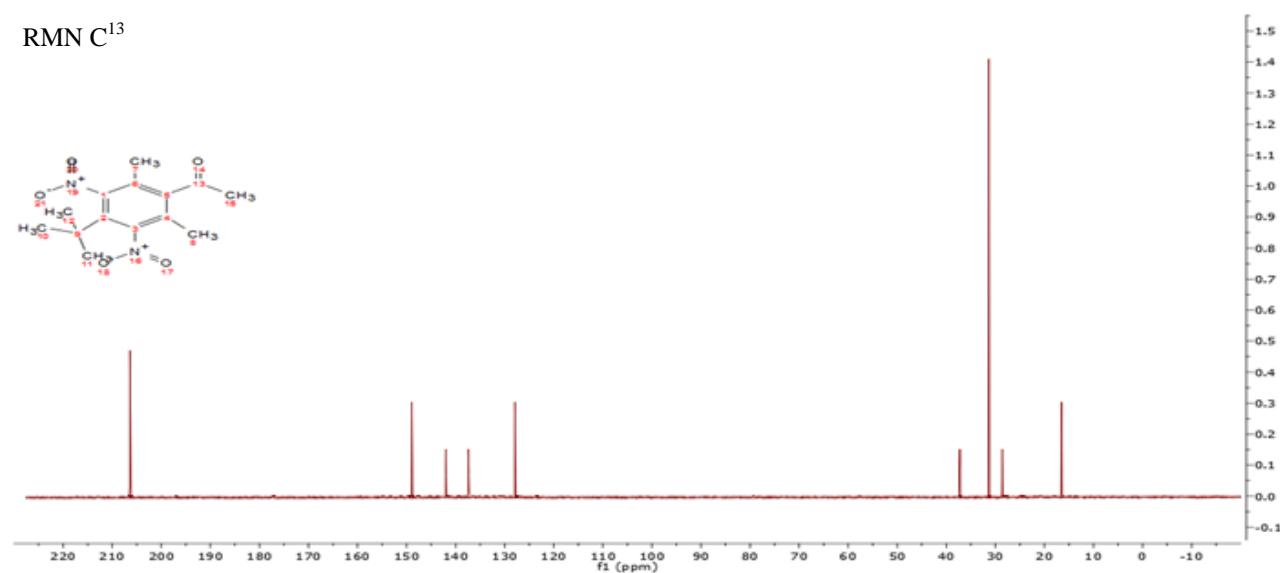
Formule Moléculaire: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

PM :294,31 g/mol

RMN H<sup>1</sup>



RMN C<sup>13</sup>



<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 2.57 (s, 3H, 1-CH<sub>3</sub>), 2.38 (s, 6H, 3,5-Me<sub>2</sub>); 1.44 (s, 9H, 1-*tert*-but). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 206.38, 148.77 – 147.74, 142.02, 137.43, 127.92, 37.25, 31.34, 31.34, 31.34, 28.58, 16.51.

## B. Etude théorique

### 1. Etude théorique en milieu non solvato

Les résultats de l'étude théorique de l'interaction des ligands synthétisés – protéine (3VB1) et les scores des complexes formés sont reportés dans le **tableau 9**. Le changement de la chaîne latérale des substituants joue un rôle important dans le positionnement du ligand dans la cavité protéique (site actif). Nous avons remarqué que :

- Une interaction absente indique l'absence de l'odeur de musc;
- Une interaction faible ou forte confirme l'odeur de musc ou ce qui sera probablement la complémentarité et donc l'activité odorante.

**Tableau 9:** Résultat d'interaction entre protéine (3VB1) et différents ligands synthétisés en milieu non solvato

Ligands	Score	RMSD_Refine	Distance	Energy of interaction (Kcal/mol)
L <sub>5</sub>	<b>-3.5936</b>	<b>1.8618</b>	<b>3.34</b> <b>4.13</b>	<b>-2.0</b> <b>-0.8</b>
L <sub>2</sub>	-3.4290	1.5777	/	/
L <sub>1</sub>	-3.4189	1.3705	3.33 4.05	-1.9 -0.7
L <sub>4</sub>	-3.2443	1.6617	/	/
L <sub>3</sub>	-3.2047	1.3986	4.27	-0.6

Les interactions entre 2,5 Å et 3,1 Å sont considérées comme fortes; et ceux compris entre 3,1 Å et 3,55 Å est supposé moyenne; les interactions supérieures à 3,55 Å sont faibles ou absentes [16].

Pour les complexes récepteur-ligand L<sub>2</sub> ; L<sub>4</sub> et L<sub>3</sub> (**Fig. 40, 41, 42**), il n'excite aucune interaction (type H-donneur ou H-accepteur) entre les ligands et les acides aminés du récepteur couplé au protéine G. Les seules forces possibles sont électriques (GLU 25 et ALA 24), avec les énergies totales de -3.4290 Kcal/mol ; -3.2443 Kcal/mol et -3.2047 Kcal / mol respectivement. Le ligand L<sub>5</sub> possède l'énergie la plus faible (-3.5936 Kcal / mol) probablement il forme le complexe le plus stable (**tableau 9**).

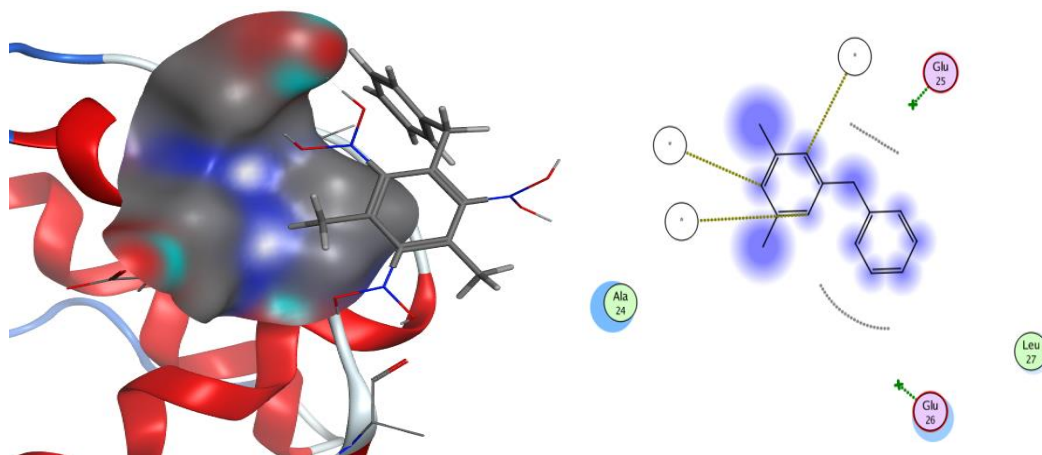


Figure 40: Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L<sub>2</sub>

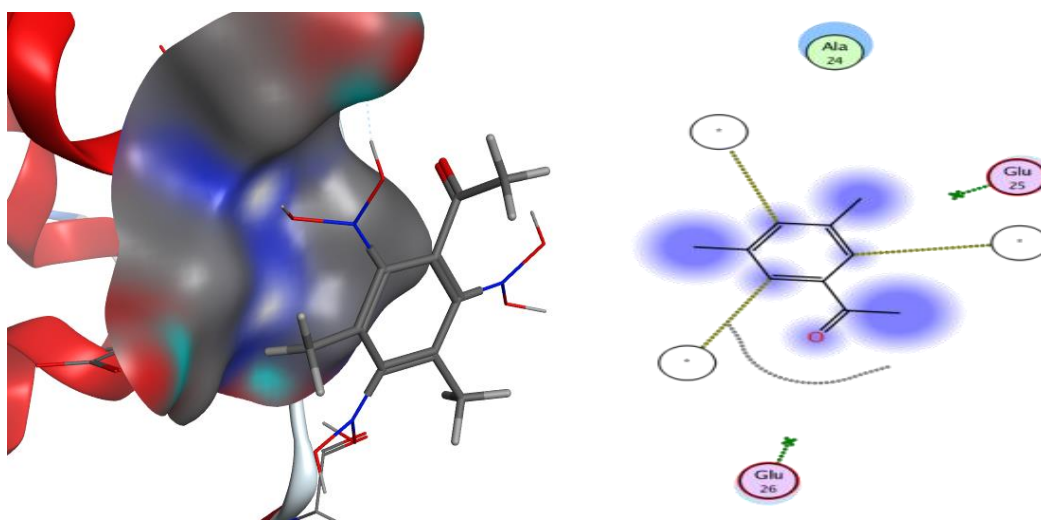


Figure 41: Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L<sub>4</sub>

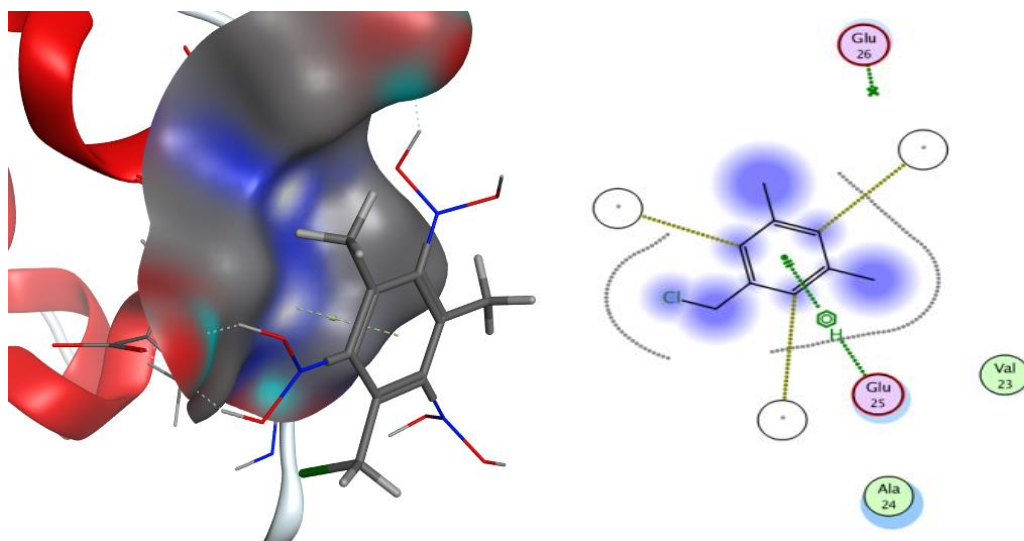
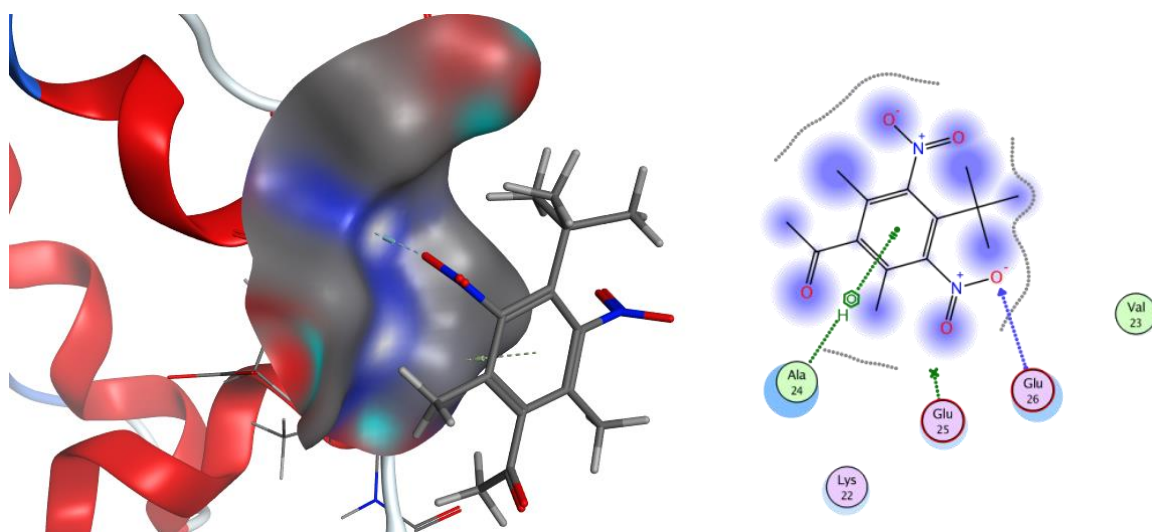


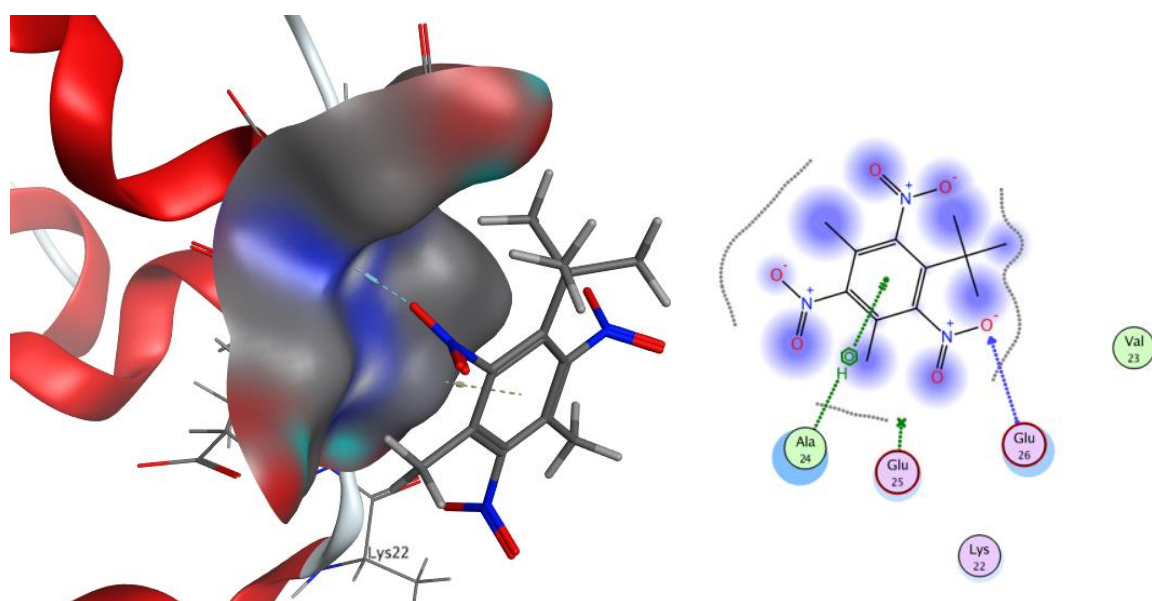
Figure 42: Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L<sub>3</sub>

Pour le complexe 3VB1 + L<sub>5</sub> (**figure 43**): le ligand interagit avec les acides aminés [GLU 26 (accepteur H), ALA 24 (Pi-H)] à une distance de 3.34 Å, 4.13 Å respectivement.

Pour le complexe 3VB1 + L<sub>1</sub> (**figure 44**): le ligand interagit avec les acides aminés [GLU 26 (accepteur H), ALA 24 (Pi-H)] à une distance de 3.33 Å, 4.05 Å respectivement.

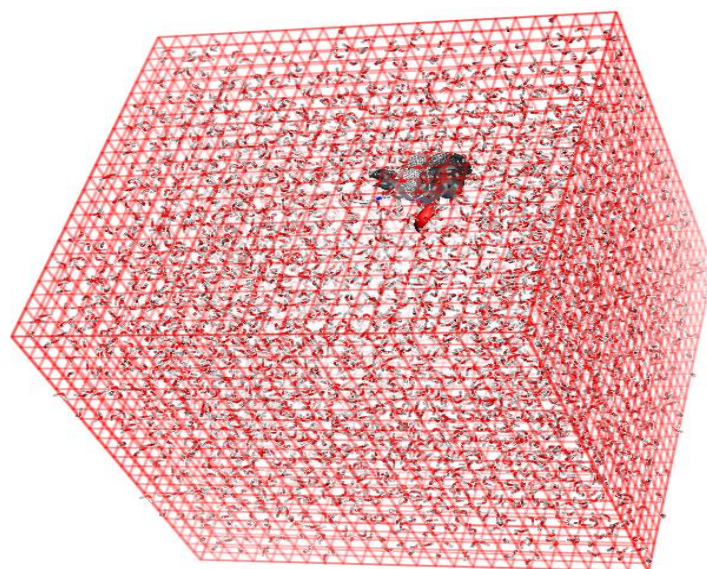


**Figure 43:**Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L<sub>5</sub>

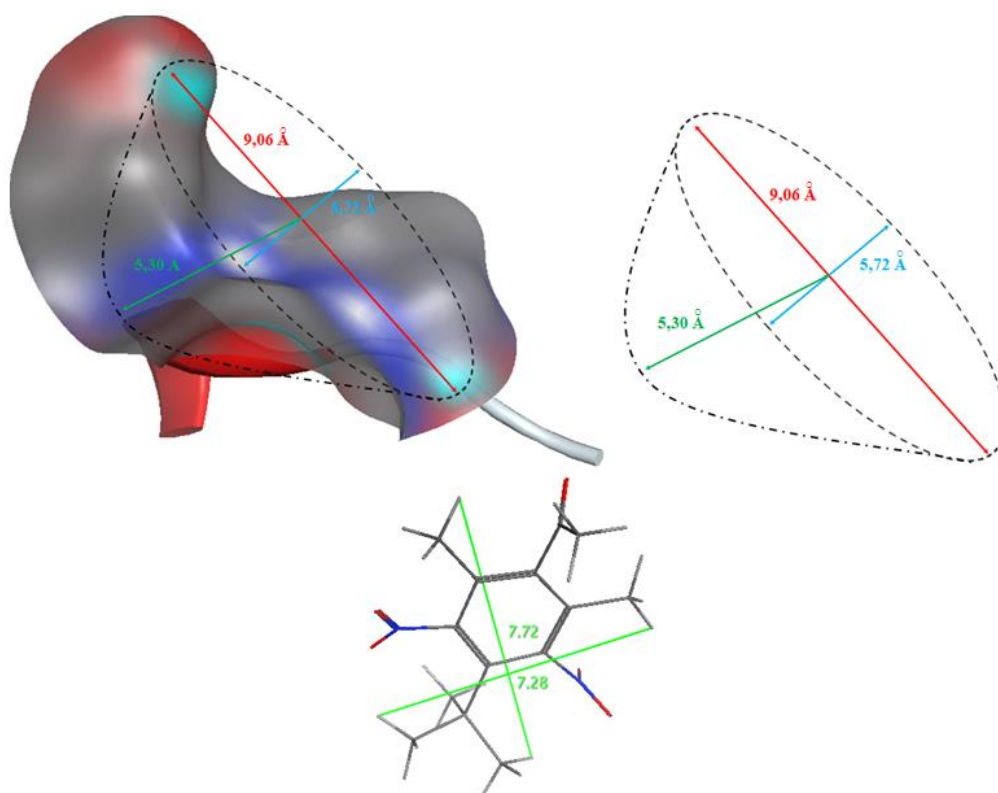


**Figure 44:**Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L<sub>1</sub>

## 2. Etude théorique en milieu solvaté



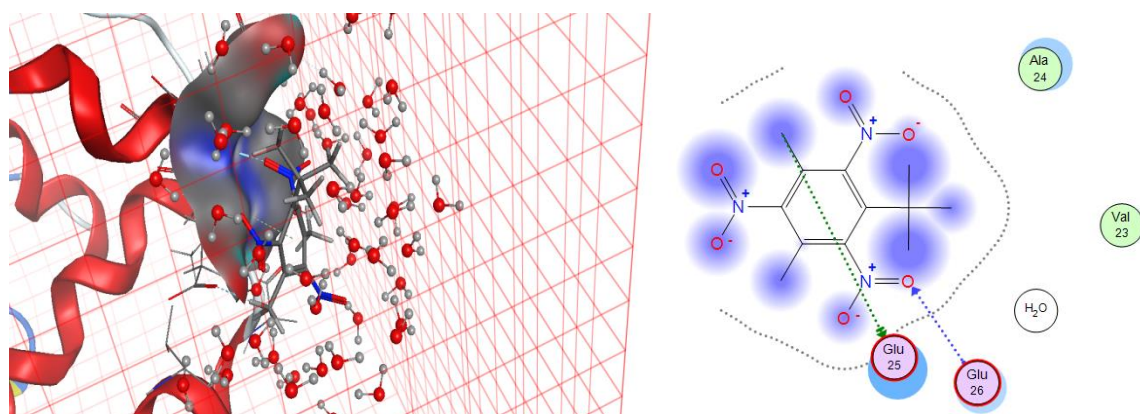
**Figure 45:**Boite de simulation protéine 3VB1 dans la boite



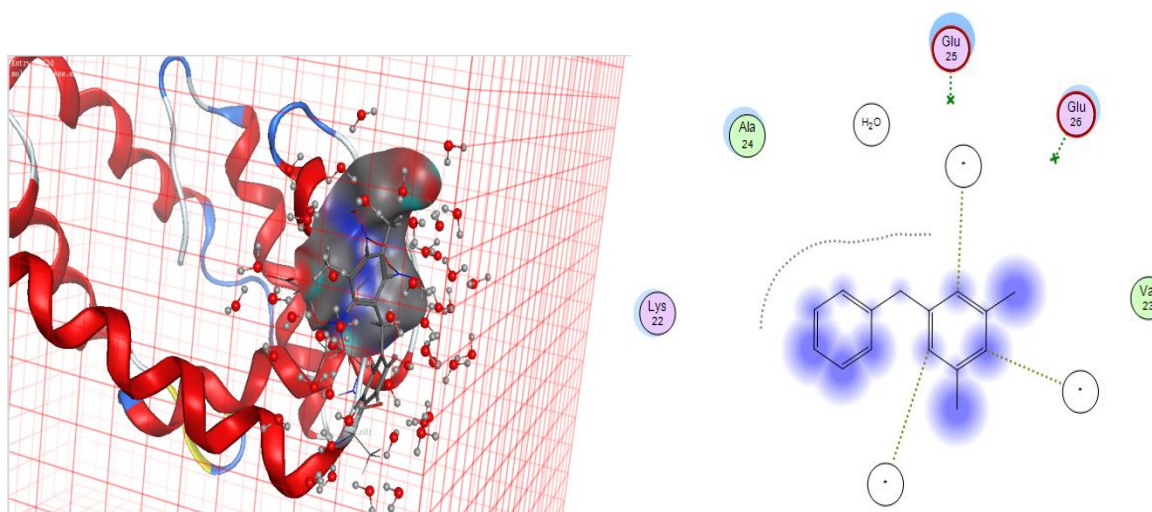
**Figure 46 :** Dimension de la cavité protéique (protéine 3VB1) et ligand L5.

**Tableau 10:** Résultats d'interaction entre protéine (3VB1) et différents ligands synthétisés en milieu solvaté

Ligands	Score	RMSD_Refine	Distance	Energy of interaction (Kcal/mol)
L <sub>5</sub>	-3.9938	1.8618	3.30 4.03	-2.2 -1.1
L <sub>2</sub>	-3.6445	1.6617	/	/
L <sub>1</sub>	-3.6299	1.3705	3.39 4.00	-1.8 -0.9
L <sub>4</sub>	-3.6191	1.5777	/	/
L <sub>3</sub>	-3.6049	1.3986	4.36	-0.8



**Figure 47:** Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 + L1 avec solvatisation



**Figure 48:** Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 + L2 avec solvatisation

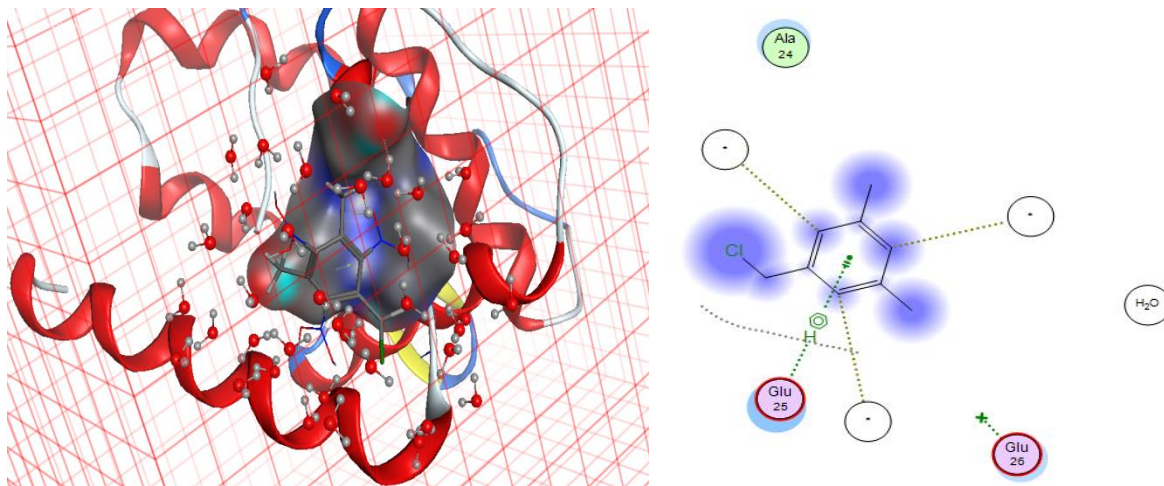


Figure 49: Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L3 avec solvation

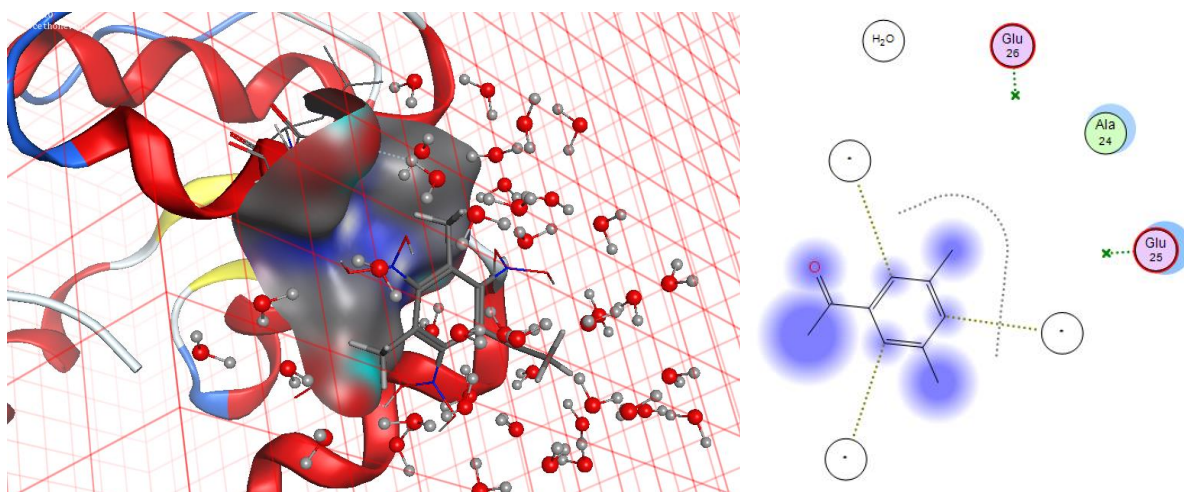


Figure 50: Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L4 avec solvation

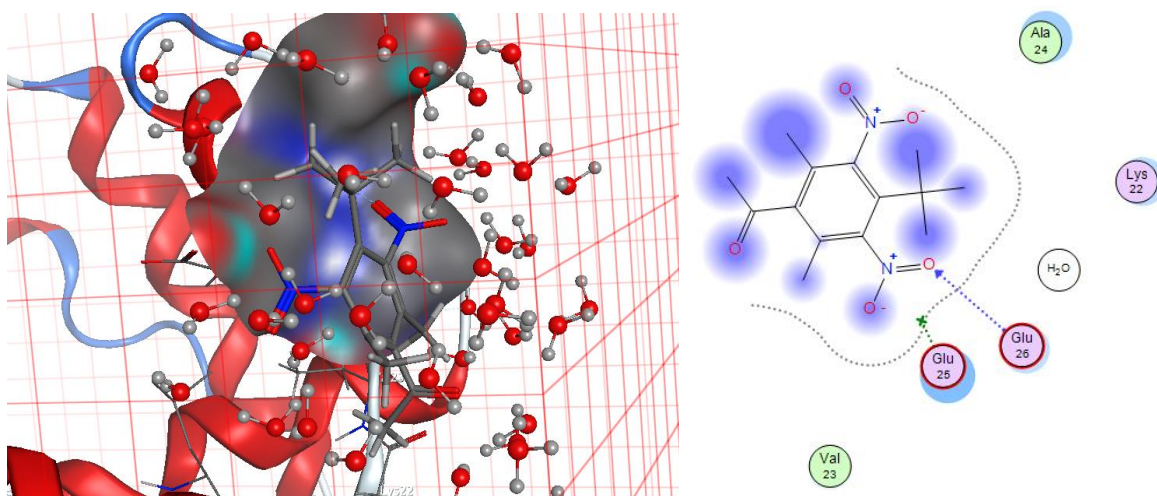


Figure 51: Diagramme d'interaction de la protéine 3VB1 - L4 avec solvation

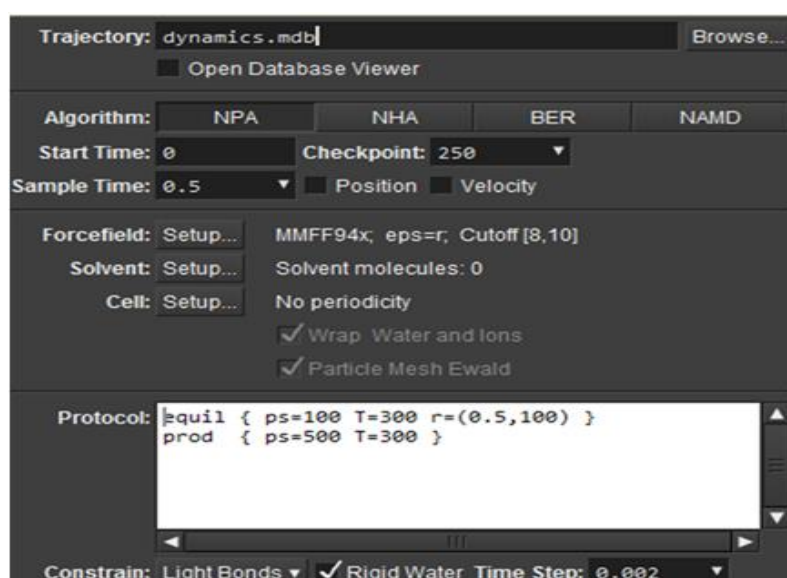
☞ **Dynamique moléculaire :**

Le principe de la dynamique moléculaire est de fournir de l'énergie cinétique au système pour franchir des barrières énergétiques et d'atteindre la convergence vers la conformation la plus stable.

Nous avons commencé la dynamique par une initialisation du système : à  $t=0$  nous avons  $r(t)=0.5$ , c'est-à-dire la structure initiale, précédemment minimisée. Puis nous avons chauffé le système jusqu'à 300 K pendant 100 ps avec un pas d'intégration de 1 fs.

A 300 K, il y a une équilibration : les vitesses sont réajustées pour conserver la température constante (il y a échange entre l'énergie cinétique et l'énergie potentielle).

Ensuite, il y a production de conformations. Le temps de simulation de la dynamique moléculaire est de 500 ps à une température de 300 K



Le meilleur complexe 3VB1-L5 dans le milieu non solvatoé et en milieu solvatoé possède une énergie de -3.5936 Kcal/mol ; -3.9938 Kcal/mol respectivement, soumis à une dynamique moléculaire en utilisant le champ de force MMFF94x implémenté dans le logiciel MOE aboutissant à des résultats relativement exploitables. Le processus de la simulation a été exécuté en deux phases :

- phase d'équilibre sur 100 ps et à une température de 300 K,
- et une seconde phase de production sur 500 ps et à une température de 300 K.

La dynamique moléculaire du complexe 3VB1-L5 a été réalisée dans un cube des géométries définies autour du complexe rempli des molécules d'eau avec des paramètres décrit dans **le tableau 11**

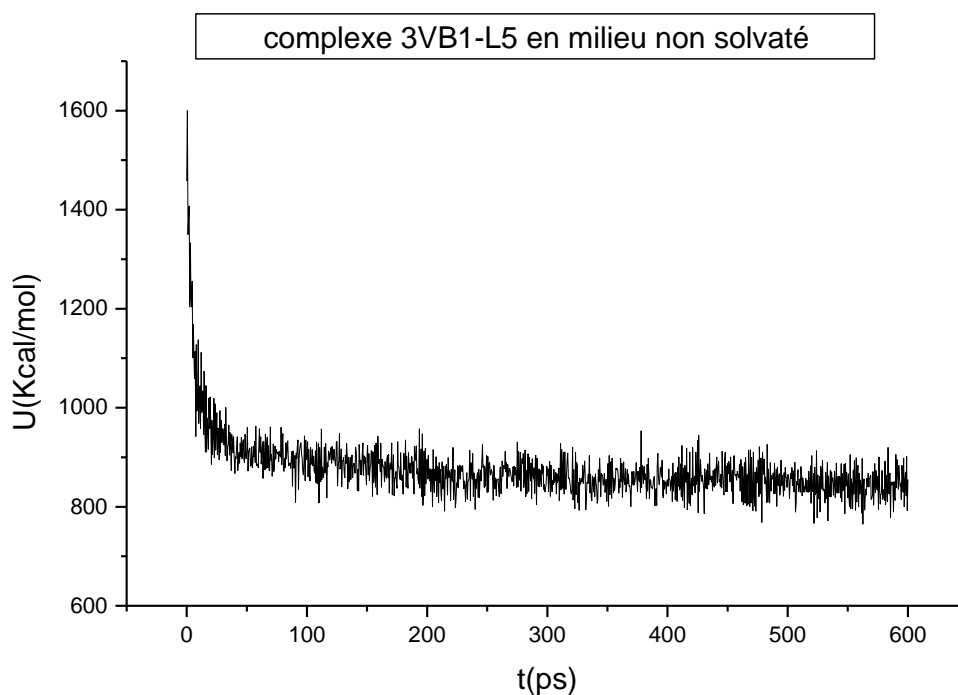
**Tableau 11 : Paramètres du solvant**

---

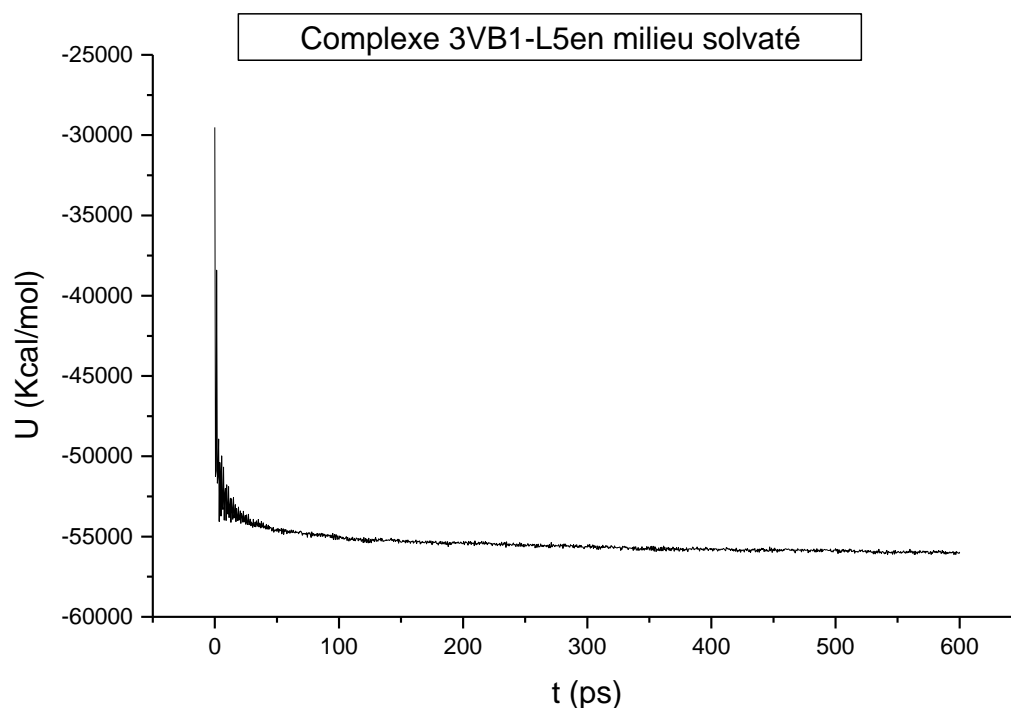
<b>Mode</b>	Droplet
<b>Shape</b>	Cube
<b>Margin</b>	2.00
<b>Solvent</b>	Water
<b>Delete</b>	far
<b>Salt</b>	"
<b>Center</b>	0
<b>Align</b>	0
<b>Update Potential</b>	1
<b>Clash Cutoff</b>	10.00
<b>Wall Force</b>	100.00
<b>add_H</b>	1
<b>Verbose</b>	1

---

Les courbes graphiques des figures 52 et 53 sont dessinées à l'aide du logiciel Origin5.0.



**Figure 52:** Evaluation d'énergie potentielle du complexe le plus stable 3VB1-L5 en milieu non solvato en fonction de temps



**Figure 53:** Evaluation d'énergie potentielle du complexe le plus stable 3VB1-L5 en milieu solvato en fonction de temps

### ⌘ Dynamique moléculaire du complexe 3VB1-L5

L'énergie du complexe après dynamique moléculaire est reportée dans le **tableau 12**. Le résultat nous a permis de conclure que le complexe se stabilise d'avantage en passant

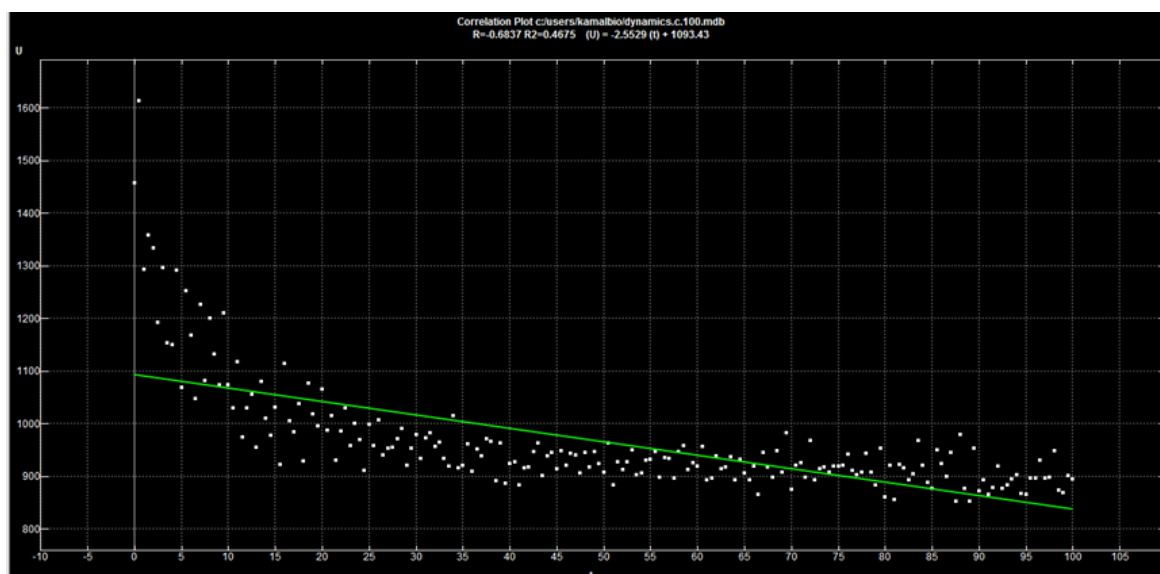
d'une énergie de 1457.8027 Kcal/mol à une énergie de 855.17419 Kcal/mol dans le milieu non solvatoé ; par contre dans le milieu solvatoé le complexe s'est stabilisé d'avantage en passant d'une énergie de -29515.424 Kcal/mol à une énergie de -55955.516 Kcal/mol

**Tableau 12:** Energie du complexe après la dynamique

Complexe-3VB1-L5	
Milieu	Energie (DM) (Kcal/mol)
Solvatoé	-55955.516
Non solvatoé	855.17419

▪ **Initiation :**

a. le résultat de la **figure 54** montre que l'interaction s'établit entre 3VB1-L5 dans le milieu non solvatoé ce qui explique une minimisation de l'énergie donc stabilisation du système au cours du temps avec une pente linéaire de  $U = -2.5529 (t) + 1093.43$  entre les valeurs  $R_1 = -0.6837$  et  $R_2 = 0.4675$ .



**Figure 54:** Représentation la stabilité de la production du complexe 3VB1-L5 en milieu non solvatoé en fonction du temps

b. le résultat de la **figure 55** montre que l'interaction s'établit entre 3VB1-L5 dans le milieu solvatoé ce qui explique une minimisation de l'énergie donc stabilisation du système au cours du temps avec une pente linéaire de  $U = -37.4834(t) - 52154.6$  entre les valeurs  $R_1 = -0.4749$  et  $R_2 = 0.2256$ .

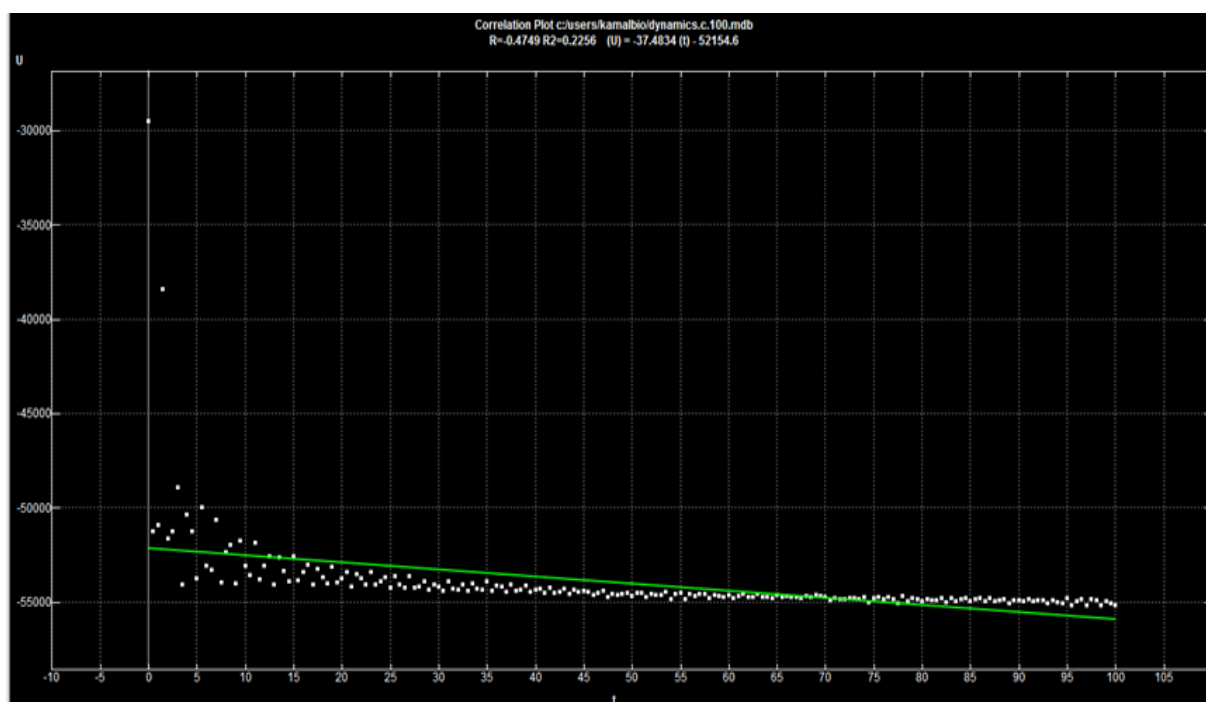


Figure 55: Représentation la stabilité de la production du complexe 3VB1-L5 en milieu solvaté en fonction du temps

▪ **Propagation**

a. La figure 56 montre que l'énergie potentielle dans le milieu non solvaté reste stable au cours du temps avec une pente linéaire  $U = -0.152068(t) + 904.479$  elle est stable entre deux valeurs  $R1 = -0.3516$  et  $R2 = 0.1236$ , entre 100 ps et 350 ps l'équilibre est stable.

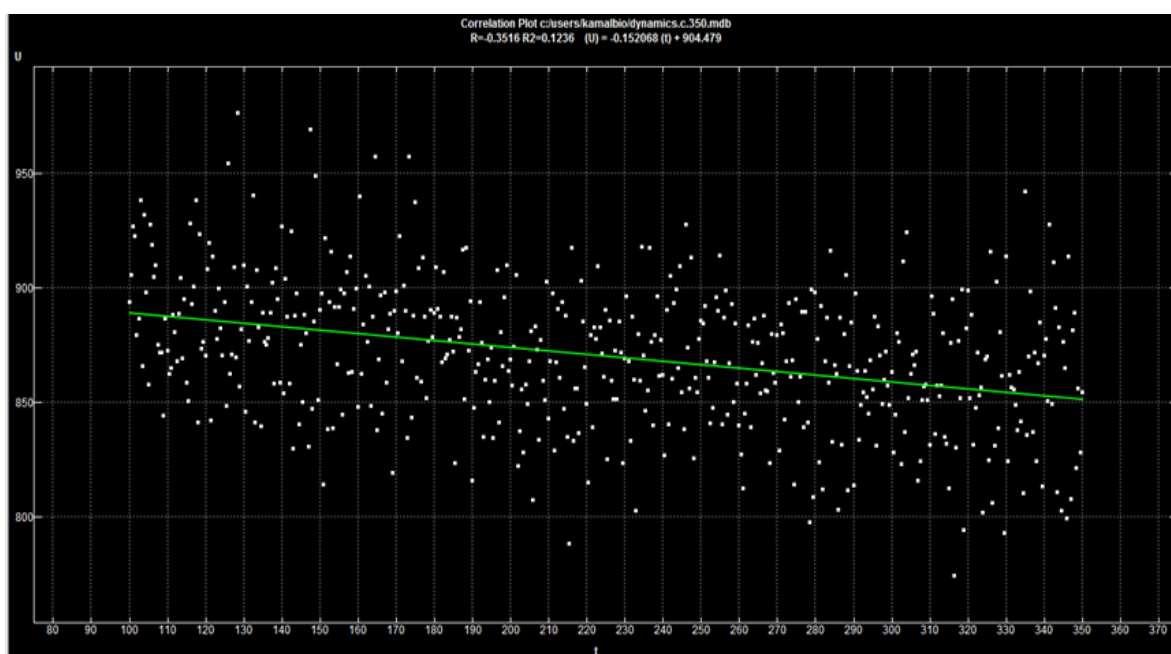


Figure 56: Energie potentielle du complexe 3VB1-L5 en milieu non solvaté en fonction du temps

b. La figure 57 montre que l'énergie potentielle dans le milieu solvaté reste stable au cours du temps avec une pente linéaire  $U = -0.24091(t) - 54917.5$  elle est stable entre deux valeurs  $R1 = -0.9173$  et  $R2 = 0.8414$ , entre 100 ps et 350 ps l'équilibre est stable.

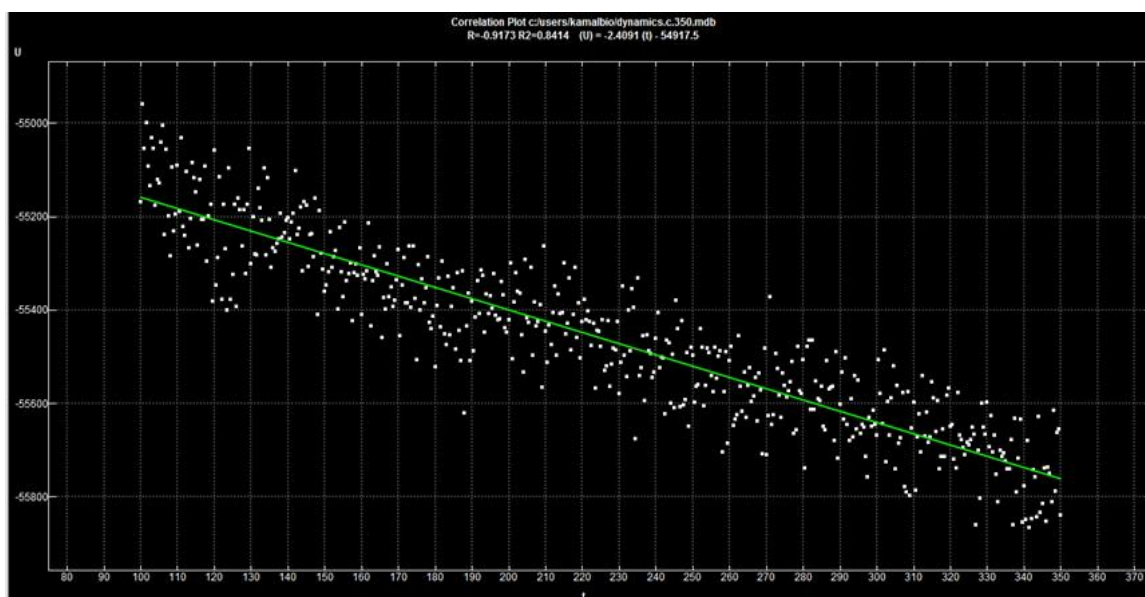


Figure 57: Energie potentielle du complexe 3VB1-L5 en milieu solvaté en fonction du temps

▪ **Production :**

a. La production dans le milieu non solvaté s'établit entre 350 ps et 600 ps avec un mouvement stable par rapport à la tangente de la pente linéaire  $U = -0.0645701(t) + 8740.25$  entre les valeurs  $R1 = -0.1694$  et  $R2 = 0.0287$  cela est donné dans la figure 58.

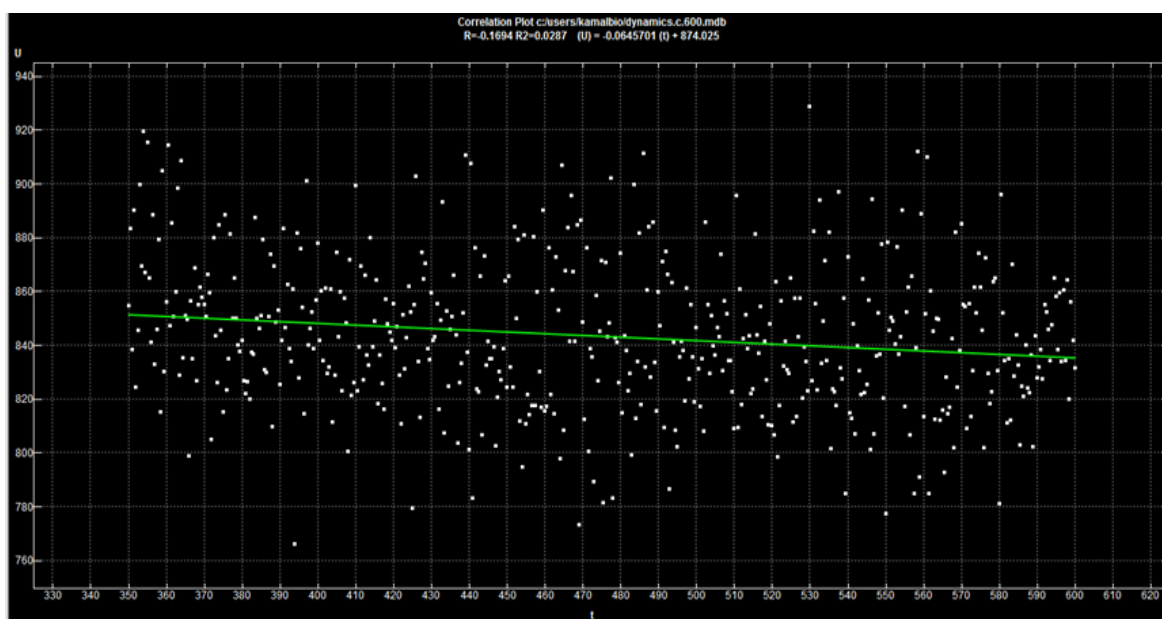


Figure 58: Stabilité de la production du complexe en milieu non solvaté en fonction du temps

b. La production dans le milieu solvaté s'établit entre 350 ps et 600 ps avec un mouvement stable par rapport à la tangente de la pente linéaire  $U = -1.02293(t) - 55388.7$  entre les valeurs  $R1 = -0.7238$  et  $R2 = 0.5239$  cela est donné dans **la figure 59**.

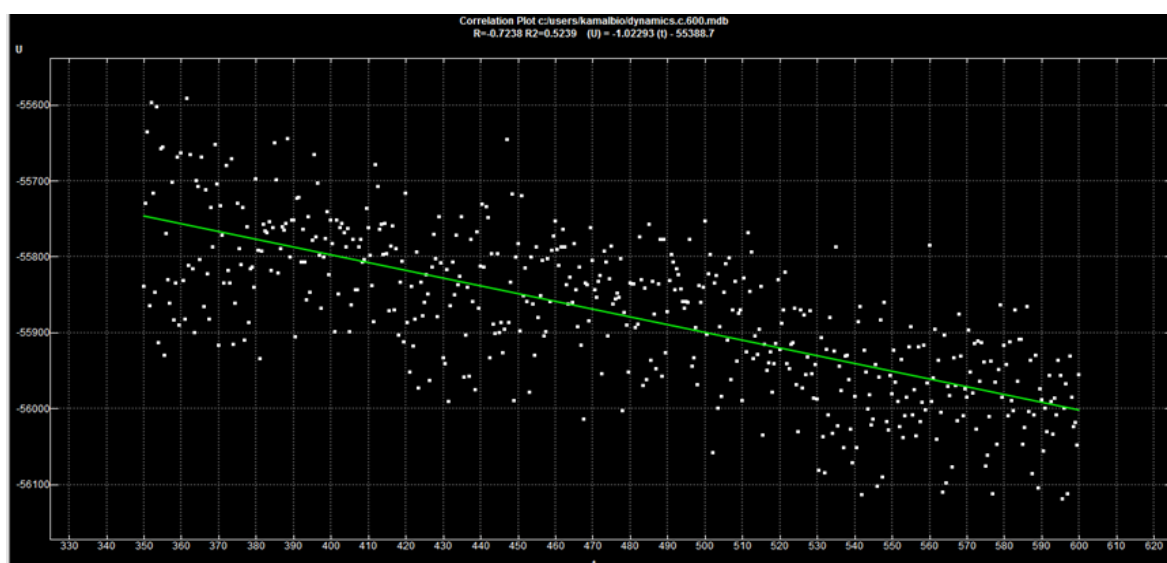


Figure 59: Stabilité de la production du complexe en milieu solvaté en fonction du temps

### Conclusion :

A la lumière des résultats obtenus ; le meilleur complexe 3VB1-L5 dans les milieux non solvaté et solvaté atteint une énergie de  $-3.5936$  Kcal/mol ;  $-3.9938$  Kcal/mol respectivement, ceci nous amène à avancer l'hypothèse de la stabilité du complexe dans le milieu solvaté, probablement le meilleur odorant.

## Références bibliographiques

- [1] J. R. Valverde, « Molecular Modelling: Principles and Applications », *Brief. Bioinform.*, vol. 2, n° 2, p. 199-200, mai 2001, doi: 10.1093/bib/2.2.199.
- [2] J. G. S. Mala et S. Takeuchi, « Understanding Structural Features of Microbial Lipases—An Overview », *Anal. Chem. Insights*, vol. 3, p. 9-19, mars 2008.
- [3] H. Toulhoat, « Modélisation moléculaire - Bases théoriques (partie 3) », *Ref: TIP452WEB - « Opérations unitaires. Génie de la réaction chimique »*, 10-juin-2007. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agroth2/modelisation-en-genie-des-procedes-42328210/modelisation-moleculaire-j1013/>. [Consulté le: 19-déc-2019].
- [4] W. J. Geldenhuys, K. E. Gaasch, M. Watson, D. D. Allen, et C. J. Van der Schyf, « Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery », *Drug Discov. Today*, vol. 11, n° 3, p. 127-132, févr. 2006, doi: 10.1016/S1359-6446(05)03692-5.
- [5] A. J. Mulholland, « Modelling enzyme reaction mechanisms, specificity and catalysis », *Drug Discov. Today*, vol. 10, n° 20, p. 1393-1402, oct. 2005, doi: 10.1016/S1359-6446(05)03611-1.
- [6] P. Braiuca, C. Ebert, A. Basso, P. Linda, et L. Gardossi, « Computational methods to rationalize experimental strategies in biocatalysis », *Trends Biotechnol.*, vol. 24, n° 9, p. 419-425, sept. 2006, doi: 10.1016/j.tibtech.2006.07.001.
- [7] pubmeddev et D. J. and B. J., « Computational tools for designing and engineering biocatalysts. - PubMed - NCBI ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19297237>. [Consulté le: 19-déc-2019].
- [8] pubmeddev et Q. Z. al et, « Recent progress in engineering alpha/beta hydrolase-fold family members. - PubMed - NCBI ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17183507>. [Consulté le: 19-déc-2019].
- [9] « Molecular operating environment (MOE) version 2014.09; Chemical Computing Group Inc. Montreal 2014 ». .
- [10] « HyperChem v8. Molecular Modelling System, Hypercube Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601,. USA (2009). »
- [11] L. D. Mendelsohn, « ChemDraw 8 Ultra, Windows and Macintosh Versions », *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, vol. 44, n° 6, p. 2225-2226, nov. 2004, doi: 10.1021/ci040123t.
- [12] P. M. Edwards, « Origin 7.0: Scientific Graphing and Data Analysis Software », *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, vol. 42, n° 5, p. 1270-1271, sept. 2002, doi: 10.1021/ci0255432.
- [13] *Molecular operating environment (MOE) version 2014.09; Chemical Computing Group Inc. Montreal 2014. .*
- [14] P. J. Teisseire, *Chimie des substances odorantes*. 1991.

- [15] E. R. G. Main, Y. Xiong, M. J. Cocco, L. D'Andrea, et L. Regan, « Design of Stable  $\alpha$ -Helical Arrays from an Idealized TPR Motif », *Structure*, vol. 11, n° 5, p. 497-508, mai 2003, doi: 10.1016/S0969-2126(03)00076-5.
- [16] A. Imberty, K. D. Hardman, J. P. Carver, et S. Pérez, « Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. », *Glycobiology*, vol. 1, n° 6, p. 631-42, déc. 1991.
- [17] A. M. Clark et P. Labute, « Detection and Assignment of Common Scaffolds in Project Databases of Lead Molecules », *J. Med. Chem.*, vol. 52, n° 2, p. 469-483, janv. 2009, doi: 10.1021/jm801098a.

# **Conclusion**

## **générale**

## **Conclusion générale**

Les récepteurs olfactifs sont couplés à une protéine G (RCPG) formant une famille entière et sont protagonistes essentiels de la perception des odeurs.

L'étude de ce système au niveau atomique a permis d'obtenir des informations sur la nature de leur interaction avec les molécules odorantes.

Notre étude consiste à l'acquisition des compétences en simulation informatique en particulier la modélisation moléculaire afin de contribuer à l'origine des différences d'affinité du récepteur pour certaines molécules odorantes.

Pour mener cette étude notre choix a été porté sur le logiciel de docking moléculaire MOE (Molecular Operating Environment) [1], utilisant un algorithme génétique. Cet outil nous a permis d'élucider les mécanismes d'interaction de molécules à activité thérapeutique ou odorante avec les récepteurs. Il s'agit de calculs entre des composés de petite molécule odorante et des récepteurs protéiques.

La fiabilité de ces molécules est remise en cause suite aux derniers travaux récents relatifs à ce domaine [2] affirmant l'émergence d'un besoin pour des approches plus précises du mode d'interaction. Cette précision est essentielle au calcul de l'énergie de liaison qui est directement liée à l'affinité du principe actif à la protéine cible et les molécules odorantes liées à son activité biologique. Une prédiction précise est d'une importance toute particulière pour la découverte et l'optimisation de nouvelles molécules odorantes.

Dans le cadre de l'étude de la relation structure – odeur nous nous sommes intéressés aux interactions moléculaires entre trois protéines étudiées et les différentes molécules odorantes à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire. Les outils informatiques retenus pour mener à bien cette étude sont :

- la mécanique moléculaire,
- la dynamique moléculaire
- et le Docking moléculaire.

Notre travail de thèse est basé sur l'interaction entre récepteur protéique et odorant par modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire. Trois protéines ont attiré notre attention ainsi que des ligands synthétisés au niveau du laboratoire et d'autres ligands de la littérature.

Cette étude comprend quatre chapitres :

🚦 Le premier chapitre comporte une synthèse bibliographique où nous avons présenté des notions sur :

- ✓ L'odeur,
- ✓ Les mécanismes de perception des odeurs.

✚ Le deuxième chapitre consiste en une étude de la modélisation moléculaire dont Méthodes quantiques, Méthodes non quantiques, Docking moléculaire ce qui nous permet d'élucider les modes d'interaction protéine-substrat.

✚ Le troisième chapitre est réservé à la notion d'enzyme et complexe enzyme substrat

✚ Le quatrième chapitre est consacré à diverse applications et à la discussion des résultats obtenus. L'accent a été mis sur la relation existante entre la structure moléculaire et les conformations menant à la stabilité [3]. Les différents modes opératoires pour la synthèse des molécules dérivés du m-xylène sont exposés.

Les résultats obtenus sont basés sur l'interprétation des énergies et les distances formés entre les complexes protéine-ligand

Ce travail nous a permis de faire un classement et de visualiser les interactions établies entre l'inhibiteur odorant et le récepteur olfactif. Pour déterminer les interactions du complexe formé « inhibiteur odorant-Enzyme » suite à l'application du champ de force MMFF94x implémenté dans le logiciel MOE [1], il a été effectué des calculs de dynamique moléculaire afin d'aboutir à la conformation la plus stable de faible d'énergie.

A la lumière des résultats obtenus,

- **La 1<sup>ère</sup> étude :** l'étude théorique des énergies de la complexation des ligands odorants avec récepteur olfactive forme des interactions avec les récepteurs de la protéine donc sont probablement parfumées, mais les autres molécules musquées et non-odorantes n'ont pas d'interactions avec le récepteur et donc nos résultats en commun accord avec les travaux de Carpenter et al [4]. Le ligand L3 formant le complexe de plus faible d'énergie -4.0526 Kcal/mol ; donc probablement le meilleur inhibiteur.
- **la 2<sup>ème</sup> étude :** les résultats obtenus permettent de conclure que le ligand L7 formant le complexe de plus faible énergie de -6.5731 Kcal/mol est le plus stable et probablement le meilleur inhibiteur de la protéine CXCR4. afin de trouver la meilleure odeur.
- **La 3<sup>ème</sup> étude :** les produits synthétisés ont été soumis à une étude théorique. Le ligand L5 est le meilleur inhibiteur possédant une énergie de -3.5936 Kcal/mol. On remarque que l'introduction de substituant volumineux tel qu'un groupement acétyl augmente la stabilité du complexe formé par l'enzyme 3VB1- musc cétone. Ces groupements provoquent un réarrangement conformationnelle dans la poche du site actif ce qui augmentera la complémentarité relative et par conséquent l'activité.

Comme perspectives nous envisageons:

☼ D'étudier le phénomène de dissociation des complexes enzyme-odorant (OR1G1-odorant).

☼ L'utilisation de méthode de dynamique moléculaire accélérée aléatoire (Random Acceleration Molecular Dynamics Simulations, RAMD) permettrait d'autres investigations prometteuses.

☼ D'introduire la notion de flexibilité grâce à l'utilisation de la dynamique moléculaire par échantillonnage des molécules odorantes.

☼ De trouver un lien, entre les modèles d'olfactophores d'une part, et d'autre part le pharmacophore de ROs, construit à partir de ses agonistes connus.

Ceci permet d'émettre l'hypothèse que les cavités des ROs impliqués dans le code combinatoire d'une odeur seraient encodées dans les modèles d'olfactophores associés à celle-ci.

Une de nos préoccupations a également été d'évaluer le temps nécessaire à l'application d'une telle stratégie à un ensemble de molécules à cribler environ 1 million de composés. Le choix des odorants issus de la dynamique moléculaire reste difficile à justifier. Nous envisageons de tester l'utilisation de logiciels de classement des structures générées par dynamique moléculaire. Ceci apporterait une autre information pour ce choix mais cette méthode devra être validée.

**Références bibliographiques:**

- [1] Molecular operating environment (MOE) version 2014.09; Chemical Computing Group Inc. Montreal 2014.
- [2] L. Charlier, « Étude des interactions moléculaires entre molécules odorantes et protéines impliquées dans les premières étapes de la perception olfactive », thesis, Nice, 2009.
- [3] G. M. Keresü, Molecular mechanics and conformational analysis in drug design /. Oxford ; Blackwell Science, 1999.
- [4] P. J. Teisseire, Chimie des substances odorantes. France, 1991, 480p.

# **Annexe**

## ACCEPTANCE LETTER

Available online [jbiochemtech.com](http://jbiochemtech.com)

Journal of Biochemical Technology



ISSN: 0974-2328  
Manuscript I. D. No: JBT-19807

---

29/07/2019

Title:

Computational Study of Interaction between Olfactory Chemokine Receptor and Dienone Musks

Dear Authors,

1. Kamel Benmiloud, 2. Meriam Merad, 3. Said Ghalem

With recommendations of the reviewers, I am glad to notify the following paper is officially accepted to be published in the 3, 2019 of the **Journal of Biochemical Technology**.

Thank you for considering our journal, please promote our journals with your learned society.

Chief Editor

---

Journal of Biochemical Technology: [jbiochemtech.com](http://jbiochemtech.com)

Sevas Publishing, Komatipalli Post, Bobbili Mandal, Vizianagaram Dt, Andhra Pradesh (St), India

Submission: [info@jbiochemtech.com](mailto:info@jbiochemtech.com)

---

## Computational Study of Interaction between Olfactory Chemokine Receptor and Dienone Musks

Kamel Benmiloud\*, Meriam Merad, Said Ghalem

Received: 16 May 2019 / Received in revised form: 12 September 2019, Accepted: 15 September 2019, Published online: 26 September 2019  
 © Biochemical Technology Society 2014-2019  
 © Sevas Educational Society 2008

### Abstract

Smell is an important human sense for a comfortable life which interested perfume and luxury industries till now. In this paper, we investigated theoretically interactions between chemokine receptor and synthetic odorants of the young family of dienone musks using molecular docking by exploring the steric and electrostatic complementarity. Interpreted results allowed better understanding of smelling process involving protein receptors and brought helpful ideas to design new odorant molecules.

**Keywords:** Smell- chemokine-olfaction- musks- molecular docking

### Introduction

The odor molecules are interpreted by man. The main organ involved in this processes is brain which previously has recorded odors and stored in memorial system, allowing human to express many emotions (Charlier, 2009). However, the odorant molecules of different families share different characteristics in structure and solubility (Dravnieks, 1974). The perception of smell is the result of at least three steps, involved sequentially after an odorant has reached the olfactory region (Charlier, 2009). The first one is detection and the two other steps, namely transduction and signal integration, both involve neuronal or even higher level protagonists, but do not involve odorants (Golebiowski et al., 2012). Detection is the most important step for chemists working in the field of flavor and fragrance, since it represents the primary link between the odorant and the full perception process. Odorant detection is usually thought to solely correspond to the chemoreception of odorants by olfactory receptors, which are

indeed the main protagonists of the molecular step in the perception of smell (Buck and Axel, 1991; Meierhenrich et al., 2004).

The olfactory apparatus in vertebrates is capable of distinguishing and recognizing thousands of volatile chemicals at different structures and this chemosensory function is characterized by a very large family of odor receptors with seven transmembranes encoded by about 1000 genes, the majority of which would be pseudogenes in humans (Zozulya, Echeverri and Nguyen, 2001; Zhang and Firestein, 2002; Niimura et al., 2003; Godfrey, Malnic and Buck, 2004; Malnic, Godfrey and Buck, 2004; Olender *et al.*, 2004), spurred a burgeoning research effort in domains ranging from the neurosciences to clinical applications.

However, the understanding of the mechanisms underlying the role of olfactory receptor genes prevents several problems. Among these concerns is how the discrimination of tens of thousands of odorants (combined into odors) is facilitated by a few hundred receptors (Crauto, Singer and Shepherd, 2001). Considering the recent discovery of nearly 5000 olfactory receptors (ORs) identified within the elephant genome, approximately 2000 of which are functional (Niimura, Matsui and Touhara, 2014). This is more than twice the number of functional ORs identified in mouse, rat or dog genomes. The human genome contains far fewer functional ORs (Zozulya, Echeverri and Nguyen, 2001; Niimura and Nei; 2003, Malnic, Godfrey and Buck, 2004; Glusman et al. 2000 ).

In recent years, significant efforts have been sought to provide a mechanistic basis for OR-odorant interactions at a molecular level through computational methods (Lai, Singer and Crauto, 2005; Lai and Crauto, 2012; Lai et al., 2014; Floriano et al., 2000; Vaidehi et al., 2002; Floriano, Vaidehi and Goddard, 2004). These methods have involved creating OR protein models and simulating interactions with odorants using static or dynamic methods. Modeling studies are essential as they provide a mechanistic view of OR-odorant interactions at the molecular level. Different methodologies have been adopted for creating OR models.

#### Kamel Benmiloud\*

Laboratory of Natural and bio-actives Substances, Tlemcen University- Faculty of Science, P.O.Box 119-Tlemcen-Algeria.  
 Laboratory of Naturals Products and Bio actives-LASNABIO- Faculty of Science- Department of Chemistry-University Aboubekr Belkaid-Tlemcen- Algeria

#### Meriam Merad, Said Ghalem

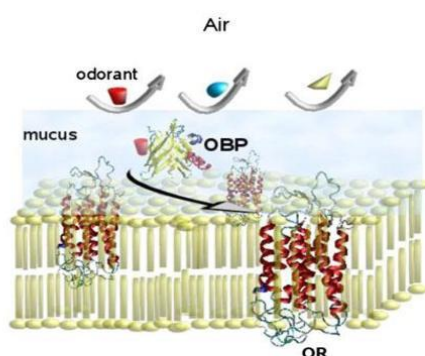
Laboratory of Natural and bio-actives Substances, Tlemcen University- Faculty of Science, P.O.Box 119-Tlemcen-Algeria.

\*Email: kamel\_benmiloud @ yahoo.fr

Although there is no direct evidence to support their functional role, OBPs appear as good candidates for the transport of odorants from the inhaled air to the bottom of the nasal mucus, where the olfactory neurons cilia expressing olfactory receptors are located (Golebiowski et al., 2012) (Figure 1).

The development and evolution of olfactory resources are more effective and more sustainable; and to understand the relationship, structure-smell represent important problems to solve and understand; there are several similar works to this idea such as the works of Jerome and his collaborators (March et al., 2015; Bushdid et al., 2019; Cong, Fiorucci and Golebiowski, 2018).

To the best of our knowledge our study is the first concerning chemokine interactions with diene musks by computational methods.



**Figure 1:** Odorant binding proteins (OBPs) in the nasal mucus capture odorants to putatively transport them to olfactory receptors (ORs) (Golebiowski et al., 2012)

## Materials and Methods:

Molecular docking is important tool to understand interaction mechanisms in biological systems by computational methods. It is also used in many fields. Likewise, new molecules with biological activity have been discovered by studying complex formation and stability. Many docking programs (academic and commercial) are used to study interaction between protein receptor and molecules (MOE, 2014). In this paper we used Molecular Operating Environment software (MOE). Docking can be achieved via two important steps: first; sampling conformation of the ligand in the active site of the protein, then ranking these conformations via scoring function.

### Description of the chemokine receptor (PDB CXCR4):

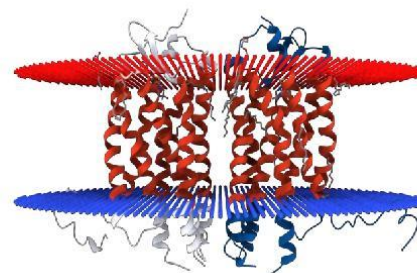
The chemokine receptor CXCR4 is a 352 amino acid rhodopsin-like GPCR (Busillo and Benovic, 2007) and selectively binds the CXC chemokine Stromal Cell-Derived Factor 1 (SDF-1) also known as CXCL12 (Murphy et al., 2000). All 397 human OR

sequences were aligned with the sequence of GPCRs for which the experimental structure is known. Manual adjustments were performed to be consistent with the data from 141 mutants previously described in the literature. A homology model was obtained using the crystal structures CXCR4 chemokine receptor (3ODU) as structural templates using Modeler.

### Preparation and optimization of both enzyme and ligands

Three dimensional structure of CXCR4 was downloaded from PROTEIN DATA BANK under code 3ODU with x-ray resolution equal to 2.5 Å. We note that the CXCR4 crystallizes as a monomer (Fig. 2) with residues and atoms (Desjardins et al., 2007; Wu et al., 2010; Wu et al., 2010). Ligands listed in table 2 were selected from literature (Kraft and Popaj, 2008) and drawn using build module implanted in MOE software, and their characteristics are shown in table 1.

Energy and geometry of the enzyme was performed using AMBER force field and Hamiltonian AM1 implanted in MOE under default parameters (300K, pH = 7), then the active site was identified and isolated using site finder module as shown in figures 3.



**Figure 2:** Simplified model of CXCR4 enzyme under PDB code 3ODU.

### Docking

The docking consists into positioning of the ligands in the active site in order to establish a favorable conformational binding between ligands and the enzyme (Clark and Labute, 2009) using dock module implanted in MOE.

Table 1: Molecular descriptors analysis of 13 ligands using MOE software

Ligand	MW	LogP	LogS	TPSA	H-bonds donors	H-bonds acceptors	Toxicity
1	294.30	3.62	-5.30	108.71	0	1	NO
2	258.40	5.41	-6.77	9.23	0	1	NO
3	240.38	4.61	-5.27	36.30	0	1	NO
4	256.34	3.09	-4.15	52.60	0	2	NO

5	284.43	4.34	-4.54	35.53	0	2	NO
6	268.39	4.34	-4.64	35.53	0	2	NO
7	268.39	3.73	-3.31	35.53	0	2	NO
8	270.36	3.09	-4.15	52.60	0	2	NO
9	250.37	3.77	-4.19	18.46	0	2	NO
10	196.33	3.76	-4.80	17.07	0	1	NO

11	208.34	4.15	-5.31	17.07	0	1	NO
12	220.36	4.29	-4.91	17.07	0	1	NO
13	206.33	3.90	-4.40	17.07	0	1	NO

MW: Molecular weight (g/mol), TPSA: Polar surface area ( $\text{\AA}^2$ ), logP: Octanol-water partition coefficient, logS: aqueous solubility, H- bonds donors: Number of H- bonds donors, H- bonds acceptors: Number of H- bonds acceptors.

Tableau 2: List of ligands

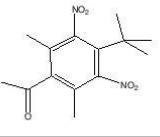
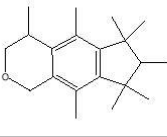
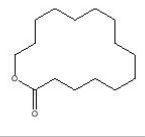
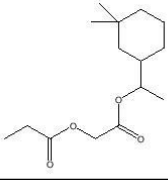
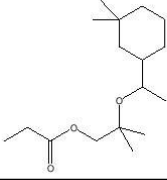
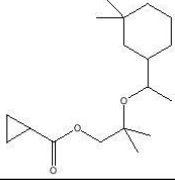
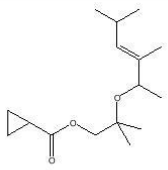
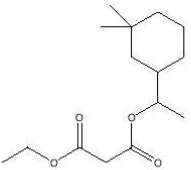
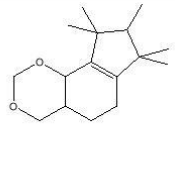
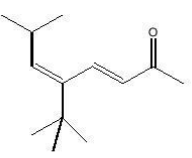
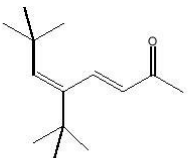
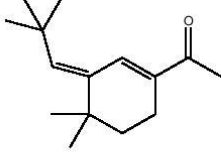
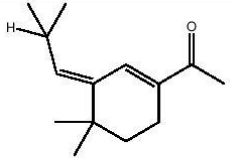
		
L1	L2	L3
		
L4	L5	L6
		
L7	L8	L9
		
L10	L11	L12
		
L13		

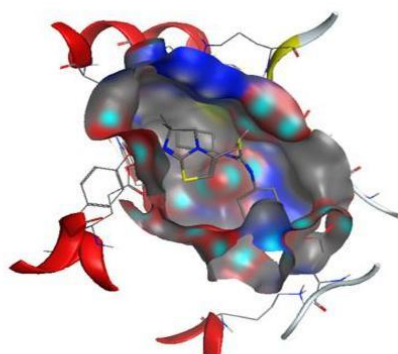
Tableau 3: Physico-chemical properties of odorant ligands

Ligants	IUPAC Name	Pubchem CID	Molar mass (g/mol)	formula
---------	------------	-------------	--------------------	---------

L1	1-(4-tert-butyl-2,6-dimethyl-3,5-dinitrophenyl)ethanone	6669	294.30	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
L2	4,6,6,7,8,8-hexamethyl-1,3,4,7-tetrahydrocyclopenta[gl]isochromene	91497	258.40	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O
L3	oxacyclohexadecan-2-one	235414	240.38	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>
L4	1-(3,3-dimethylcyclohexyl)ethyl 2-acetyloxyacetate	132530715	256.34	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>
L5	2-[1-(3,3-Dimethylcyclohexyl)ethoxy]-2-methylpropyl propionate	16063567	284.43	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>
L6	[2-[(E)-3,5-dimethylhex-3-en-2-yl]oxy-2-methylpropyl] cyclopropanecarboxylate	11277198	268.39	C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>
L7	2-methyl-2-((1,2,4-trimethyl-2-penten-1-yl)oxy)propyl ester	11277198	268.39	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>
L8	3-O-[1-(3,3-dimethylcyclohexyl)ethyl] 1-O-ethyl propanedioate	57759198	270.36	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>
L9	7,7,8,9,9-pentamethyl-4,4a,5,6,8,9b-hexahydrocyclopenta[h][1,3]benzodioxine	15552386	250.37	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>
L10	5-tert-butyl-7-methylocta-3,5-dien-2-ol	71424975	196.33	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O
L11	5-tert-butyl-7,7-dimethylocta-3,5-dien-2-one	71424970	208.34	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O
L12	(3'E)-1-[4',4'-Dimethylcyclohex-1'-enyl-3'-(2'',2''-dimethylpropylidene)] ethanone	/	220.36	C <sub>15</sub> H <sub>27</sub> O
L13	(3'E)-1-[4',4'-Dimethyl-3'-(2''-methylpropylidene)cyclohex-1'-enyl]-ethanone	/	206.33	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> O

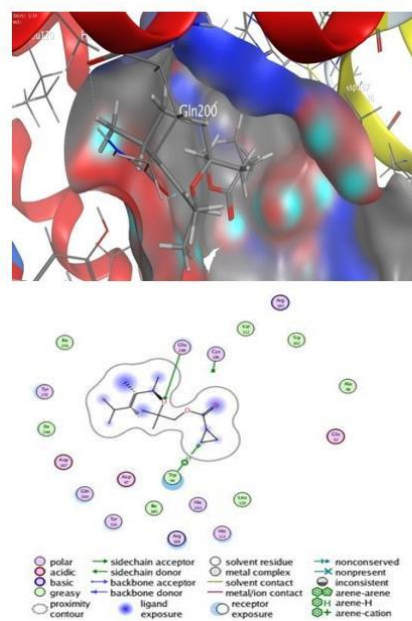
## Results and Discussion

The results obtained are ranked in descending order in Table 4. The structure of the molecules plays an important role in the positioning of the odorant ligands in the active site of the enzyme. It can be concluded that the introduction of bulky groups causes a rearrangement of conformation within the cavity of the active site, which will probably be the complementarity and therefore the activity. The two-dimensional molecular method of the screen has been attributed to the MOE software, designed to visualize the active sites of the complex (protein-ligand). The ligand is prepared and manufactured with an improved 2D representation layout algorithm, and a version of the protein residues is arranged around it to indicate the spatial proximity of the links (Clark and Labute, 2009). If there are multiple channels in the system, positions are preceded by letters of the alphabet. Interactions between 2.5 Å and 3.1 Å are considered high and those between 3.1 Å and 3.55 Å are average. The interactions greater than 3.55 Å are weak (Ritchie and Kemp, 2000).



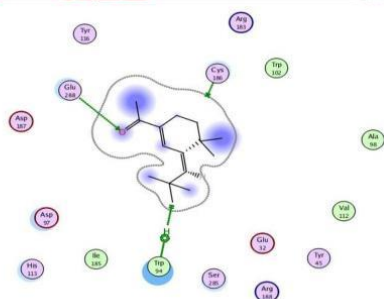
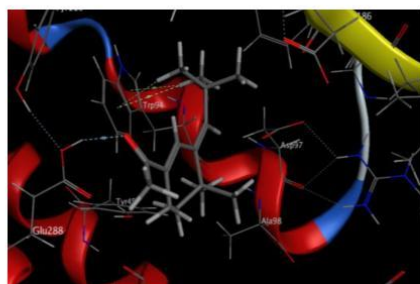
**Figure 3:** Isolated active site of CXCR4 enzyme.

The enzyme - L7 complex (Fig 4) interacts with amino acids, [GLU 288 (A) H-acceptor], [TRP 94 (A) Pi-H], at a distance of 3.16 Å, and 4.04 Å, respectively for the 1st mean interaction and 2nd weak interaction, suggesting that L7 ligand may be the best inhibitor of CXCR4 (Yamaguchi et al., 2014).



**Figure 4:** Diagram interaction of CXCR4 + L7.

For the enzyme-ligand complexes L12 and L11 (Fig 5, 6), we did not find any bonding for the two complexes formed; but the only possible forces are electric (Glu 288 and Cys 186), with total energies for the complexes -4.9191 Kcal/mol; -5.0816 Kcal/mol, respectively, which are low compared with the others (Table 4). For the other complexes formed, the bonds and types of bonds formed with amino acids are summarized and inserted in Table 4. The results revealed that the ligand L7 would be the best odor, which was confirmed by their weakest energies -6.5731 Kcal / mol.



**Figure 5:** Diagram interaction of CXCR4+ L12.



**Figure 6:** Diagram interaction of CXCR4+ L11.

**Table 4:** Results of score Enzyme – ligands

Compose	Score	RMSD	Distance	Energy of the distance (Kcal/mol)	Type of interaction	Amino acid bond	Type of bond
Ref-ligand	-6.4566	6.0116	3.28	-1.9	Mean	Glu 288	H-acceptor
			3.81	-1.4	Absent	Cys 186	H-donor
L9	-4.2717	2.9242	3.13	-1.2	Mean	Glu 288	H-acceptor
			4.03	-0.6	Absent	Trp 94	Pi- H
L12	-4.7634	2.8529	3.01	-1.5	Strong	Glu 288	H-acceptor
			4.09	-0.8	Absent	Trp 94	Pi- H
			4.11	-0.7	Absent	Trp 94	Pi- H
L2	-4.7666	1.4525	4.06	-0.8	Absent	Glu 288	Pi- H
L10	-4.9191	2.0776	/	/	/	Glu 288 Cys 186	Force electric
L3	-4.9551	2.4397	4.07	-0.8	Absent	Trp 94	Pi- H
L13	-4.9996	1.1229	2.80	-4.9	Strong	Glu 288	Pi- H
			4.22	-0.6	Absent	Trp 94	Pi- H
L11	-5.0816	1.0065	/	/	/	Glu 288	electric



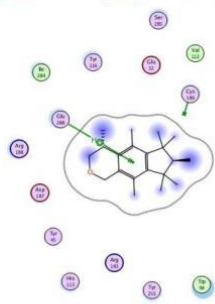
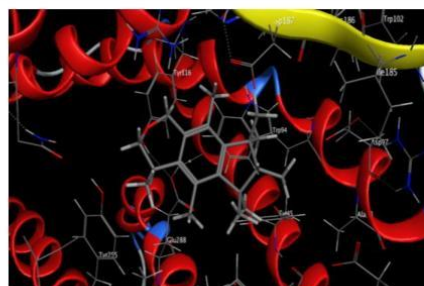


Figure 8: Diagram interaction of CXCR4 + L2

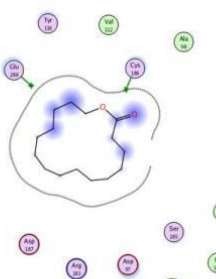
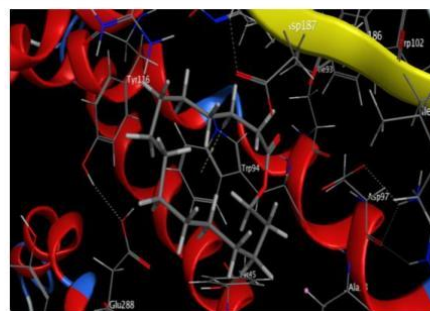


Figure 10: Diagram interaction of CXCR4 + L3

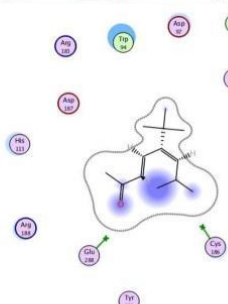
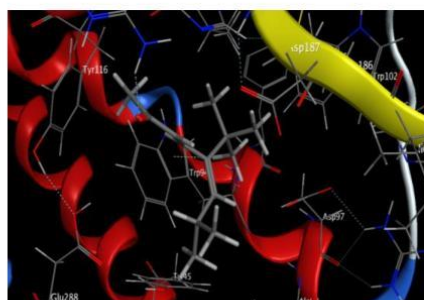


Figure 9: Diagram interaction of CXCR4+ L10.

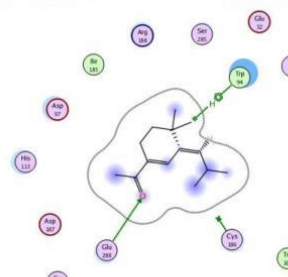
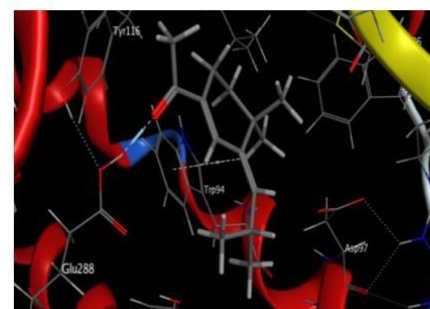


Figure 11: Diagram interaction of CXCR4+ L13.

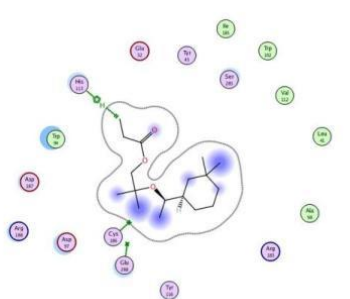
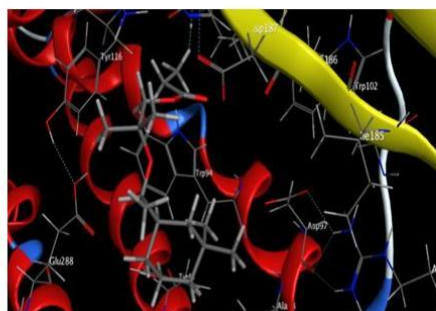


Figure 12: Diagram interaction of CXCR4 + L5

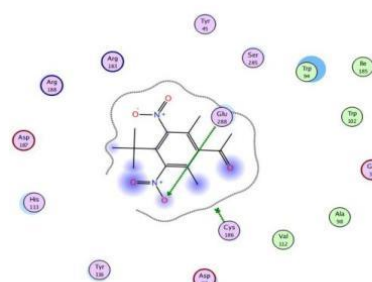
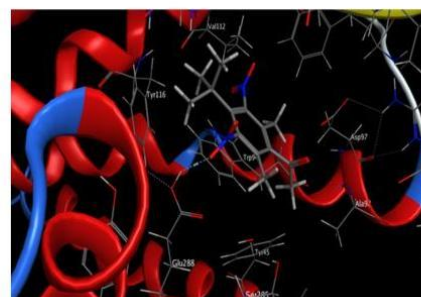


Figure 14: Diagram interaction of CXCR4 + L1

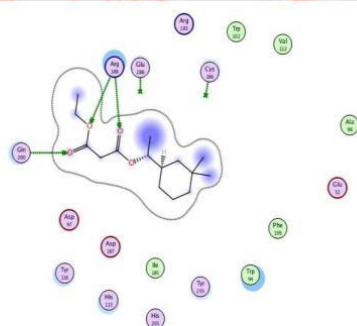
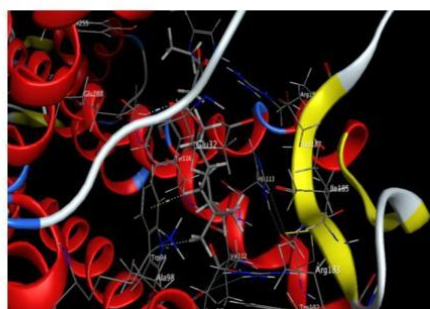


Figure 13: Diagram interaction of CXCR4 + L8

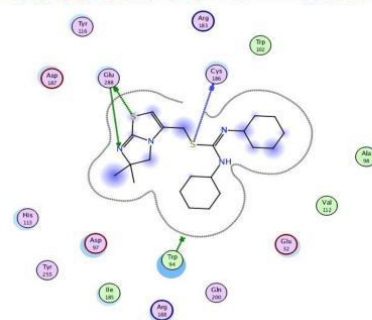
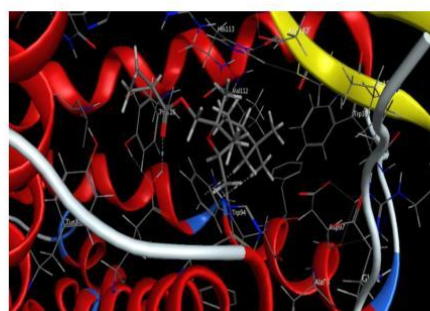


Figure 15: Diagram interaction of CXCR4 + L6



- Lai, P. C., Guida, B., Shi, J., & Crasto, C. J. (2014). Preferential binding of an odor within olfactory receptors: a precursor to receptor activation. *Chemical senses*, 39(2), 107-123.
- Lai, P. C., Singer, M. S., & Crasto, C. J. (2005). Structural activation pathways from dynamic olfactory receptor-odorant interactions. *Chemical senses*, 30(9), 781-792.
- Malnic, B., Godfrey, P. A., & Buck, L. B. (2004). The human olfactory receptor gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(8), 2584-2589.
- Meierhenrich, U. J., Golebiowski, J., Fernandez, X., & Cabrol-Bass, D. (2004). The molecular basis of olfactory chemoreception. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(47), 6410-6412.
- Montreal (2014). Molecular operating environment (MOE) version 2014.09; Chemical Computing Group Inc.
- Murphy, P. M., Baggiolini, M., Charo, I. F., Hébert, C. A., Horuk, R., Matsushima, K., ... & Power, C. A. (2000). International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacological reviews*, 52(1), 145-176.
- Niimura, Y., & Nei, M. (2003). Evolution of olfactory receptor genes in the human genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(21), 12235-12240.
- Niimura, Y., Matsui, A., & Touhara, K. (2014). Extreme expansion of the olfactory receptor gene repertoire in African elephants and evolutionary dynamics of orthologous gene groups in 13 placental mammals. *Genome research*, 24(9), 1485-1496.
- Olender, T., Fuchs, T., Linhart, C., Shamir, R., Adams, M., Kalush, F., ... & Lancet, D. (2004). The canine olfactory subgenome. *Genomics*, 83(3), 361-372.
- Ritchie, D. W., & Kemp, G. J. (2000). Protein docking using spherical polar Fourier correlations. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 39(2), 178-194.
- Vaidehi, N., Floriano, W. B., Trabanino, R., Hall, S. E., Freddolino, P., Choi, E. J., ... & Goddard, W. A. (2002). Prediction of structure and function of G protein-coupled receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(20), 12622-12627.
- Wu, B., Chien, E. Y., Mol, C. D., Fenalti, G., Liu, W., Katritch, V., ... & Hamel, D. J. (2010). Structures of the CXCR4 chemokine GPCR with small-molecule and cyclic peptide antagonists. *Science*, 330(6007), 1066-1071.
- Wu, B., Chien, E. Y., Mol, C. D., Fenalti, G., Liu, W., Katritch, V., ... & Hamel, D. J. (2010). Structures of the CXCR4 chemokine GPCR with small-molecule and cyclic peptide antagonists. *Science*, 330(6007), 1066-1071.
- Yamaguchi, H., Kamiie, K., Kidachi, Y., Noshita, T., Umetsu, H., Fuke, Y., & Ryoyama, K. (2014). Structural insight into the ligand-receptor interaction between 6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate and multidrug resistance-associated protein 1 nucleotide-binding domain 1. *Int J Comput Bioinform In Silico Modeling*, 3, 310-4.
- Zhang, X., & Firestein, S. (2002). The olfactory receptor gene superfamily of the mouse. *Nature neuroscience*, 5(2), 124.
- Zozulya, S., Echeverri, F., & Nguyen, T. (2001). The human olfactory receptor repertoire. *Genome biology*, 2(6), research0018-1.

Available online at [www.scholarsresearchlibrary.com](http://www.scholarsresearchlibrary.com)



Scholars Research Library  
**Der Pharmacia Lettre, 2017, 9 [5]:141-148**  
[\[http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html\]](http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html)



## Studies of the relationship structure-musky smell with G Protein-Coupled Receptors (GPCRs)

**Benmiloud Kamal, Meriem Merad<sup>\*</sup>, Mostefaoui Larbi, Said Ghalem**

*Laboratory of Naturals Products and Bio actives-LASNABIO Faculty of Science, Department of Chemistry, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria*

*\*Corresponding Author: Meriem Merad, Laboratory of Naturals Products and Bio actives-LASNABIO Faculty of Science, Department of Chemistry, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria email: merad\_meriem@yahoo.fr*

### ABSTRACT

*Odorant receptors (ORs) are the largest subfamily within class A G protein-coupled receptors (GPCRs), Mammals detect and discriminate numerous odors via a large family of G protein-coupled odorant receptors (ORs). The objective of this study is to identify the odorous molecules by molecular docking. Ten molecules were examined, based on scores and the energy of the bonding interactions hydrogen. L1, L2, L3, L4 are odorant molecules.*

**Keywords:** *G Protein-Coupled Receptors (GPCRs), Interaction enzyme-ligand*

### INTRODUCTION

The fragrant organic molecules are used in most consumer products to encourage consumers to associate favorable impressions in a given product. The musky scent is in perfumery very important market because of their use in colognes, the scents, cosmetics, soaps and others. For a substance has fragrant properties, it must have a moderate molecular weight, low polarity, some water solubility, vapor pressure and a high lipophilic nature. However, it is not necessary for it to have any particular functional groups or is chemically reactive [1]. Over the last thirty years, many theories have been advanced about the mode of interaction between odor molecules and olfactory neurons. Without developing include: vibrational theory originally advanced by Dyson[2] and recovery by Wright [3], that the diffusion of odor molecules through the membrane [4]; complexation with the carotenoids present in the epithelium [5] and yet the molecule for odor: the molecular basis of the first steps of olfaction [6].

141

**Scholar Research Library**

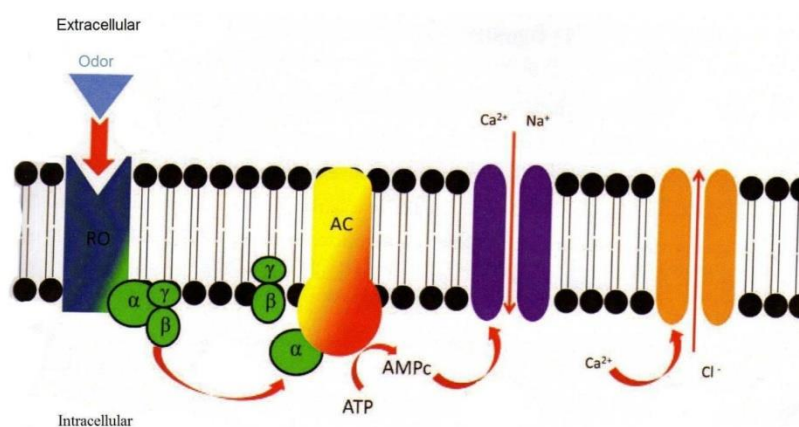


Figure 1: Biochemical cascade to the depolarization of the membrane when the odor is complex RO

Olfactory receptor (OR) are transmembrane receptor coupled G-protein (Golf named). This G-protein is composed of three subunits  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ . The complexation of odor with the receiver will cause the activation of adenylyl cyclase (AC) via the  $\alpha$  subunit of the G protein [7]. The AC will then produce cyclic AMP from ATP. Three molecules of AMPc can complex with a  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$  channel, triggering its opening [8]. The passage of these ions in the neuron causes an increase in the  $\text{Ca}^{2+}$  ion concentration in the intracellular medium and the result is a depolarization of the membrane constituting the origin of the nerve impulses. A mode of depolarization alternative is however, possible under the effect of the activation of a channel to  $\text{Cl}^{-}$  thanks to the ions  $\text{Ca}^{2+}$  past in the intracellular environment. The depolarization is here created by the passage of  $\text{Cl}^{-}$  ions in the extracellular medium. The cations are in the mucus which renews itself constantly and their concentrations, therefore they are not as well-regulated as the ions contained in compartments. This second possibility therefore exists to compensate possible deficit of cations [9]

## MATERIALS AND METHODS

### Preparation of the structure of the protein

The crystal structure by X-rays of the G protein coupled to the receptor GPCR (PDB ID: 4J4Q)[10] was downloaded from the Protein Data Bank (PDB) is a repository for 3D structure data of large biological molecules[11].Molecular docking is a way to know the three-dimensional structure of macromolecules and understand their complexation mechanisms is fundamental to the understanding of biological systems, and essential in many areas; Similarly, the discovery of new molecules activating or inhibiting the biological activity of a protein can be done by reading their respective affinity For this purpose, chemistry collaborates to structural biology which focuses in turn to the relationship between molecular structure and biological function. Several program of docking (paying or free) are available[12]. Among all these programs of molecular mooring; we used MOE (Molecular Operating Environment)[13]is that built three main menus:

- Optimize the positioning of the hydrogen atoms in the ATP binding pocket.
- Every crystal structure was subjected to protonated 3D; using the default settings.
- Subsequently, the co-crystallizing which does not interaction with the chain have been deleted.

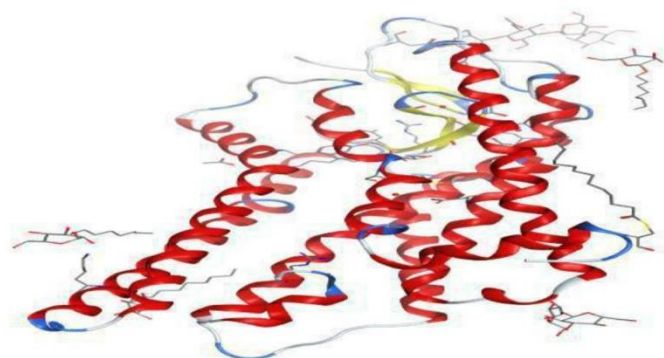


Figure 1: G protein coupled to the receptor GPCR (PDB ID: 4J4Q) (Resolution: 2.65 Å; R-Value Free: 0.230; R-Value Work: 0.217)

#### Structure of the ligands

For our study we took the "nitro musk" ligands synthesized by Carpenter, Wood and Easter[14]. To confirm or not their experience we made a theoretical study based on molecular docking; which are represented in the following table (Table1) We have kept the skeleton of m-xylene and we have changed the different substituting:

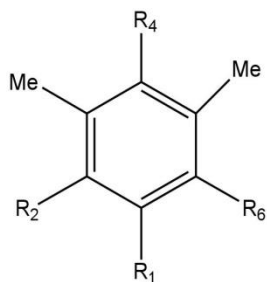


Figure-3 : the skeleton of m-xylene

Table-1: substitution and musky odor in the family "m-xylene

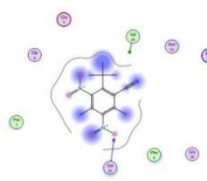
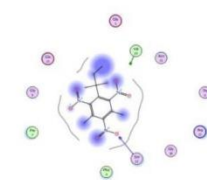
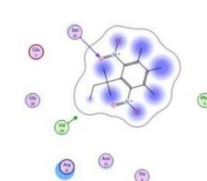
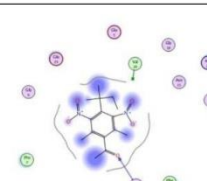
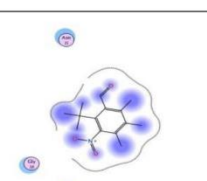
ligands	R1	R2	R3	R4	Odor
L1	tBu	CN	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	Musk
L2	tAm	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	Musk
L3	tAm	NO <sub>2</sub>	Me	NO <sub>2</sub>	Musk
L4	tAm	NO <sub>2</sub>	COMe	NO <sub>2</sub>	Musk
L5	tBu	NO <sub>2</sub>	Me	CHO	Not Musqué
L6	tBu	NO <sub>2</sub>	OMe	-	Not Musqué
L7	tBu	Br	Br	NO <sub>2</sub>	Not Musqué
L8	tBu	COPh	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	Not Musqué
L9	tBu	Me	Me	NO <sub>2</sub>	Not Musqué
L10	Me	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	Not Musqué

## RESULTS AND DISCUSSION

*Interaction enzyme-ligand*

According to the software Help MOE, the calculations relating to the energy of the score and distance of the bonds formed between the enzyme cavity and the ligand results are presented in the following Table 2:

Table-2: Results of score Enzyme – ligands

Ligands	Score Kcal/mol	RMSD_Refine	Distance (Å)	Energie de la distance (Kcal/mol)	Liaisons hydrogène
L1	-3.7898	2.1604	3.27	-2.1	
L2	-3.7097	1.7288	3.20	-2.4	
L3	-4.0526	2.4115	3.03	-3.7	
L4	-3.9110	1.7885	3.19	-2.7	
L5	-3.8509	1.1318	-	-	

L6	-3.8064	1.4004	-	-	
L7	-3.7471	2.0900	-	-	
L8	-3.7360	1.8817	-	-	
L9	-3.7422	1.6973	-	-	
L10	-3.4770	1.3921	-	-	

- polar
- acidic
- basic
- greasy
- proximity contour
- sidechain acceptor
- sidechain donor
- backbone acceptor
- backbone donor
- ligand exposure
- solvent residue
- metal complex
- solvent contact
- metal/ion contact
- receptor exposure
- nonconserved
- nonpresent
- inconsistent
- arene-arene
- arene-H
- arene-cation

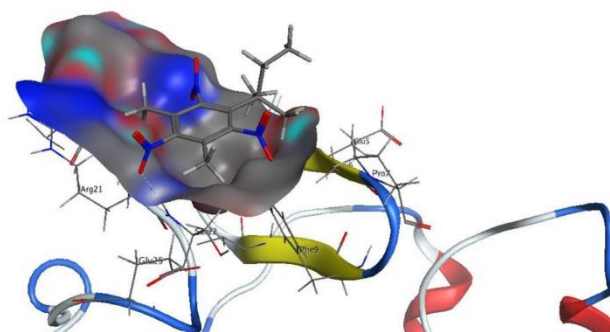


Figure-4: The structure of the complex: enzyme (4J4Q) with inhibitor (L2)

According to the results obtained (table 02), we noticed that the bonds formed by the four ligands L1, L2, L3, L4; form interactions with residues of the active site of the receptors, olfactory (with amino acid Ser 22); However different ligands: L5, L6, L7, L8, L9, L10. Have no interaction with the active site of the receptors olfactory. From the results of the molecular docking obtained, it can be seen that the energies of the inhibitors L1, L2 and L4 are of the same order. This can be explained by the

presence of strong attracting groups such as (-NO<sub>2</sub>, -CN and -COMe) which destabilizes the aromatic ring. On the other hand, the inhibitor L3 is stabilized by donor groups (3 groups -Me, t-Am) and has the lowest energy, it is probably the best inhibitor.

Interactions between 2.5Å and 3.1 Å are considered to be strong; and those between 3.1 Å and 3.55 Å are supposed to mean; higher than 3.55 Å interactions are weak or absent [15]. The distances between the active site residues and L1; L2; L3; L4 varies between 3.03Å and 3.27Å. It noted that much of the distance belong to the range of medium or strong interactions[15]. So our results confirm the work of Carpenter et al[14]. The ligands L1; L2; L3; L4 form stable complexes; However the other ligands (L5, L6, L7, L8, L9, L10) have no interaction with the enzyme.

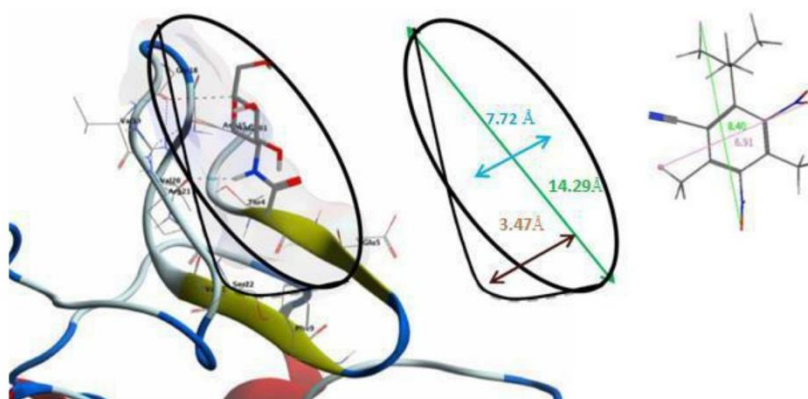


Figure-5: Dimension of enzymatic cavity and ligand

## Résumé :

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter les données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking"). L'emploi initial du "docking" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand. Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction.

Notre travail de thèse est basé sur l'étude de relation structure – odeur entre deux enzymes et plusieurs molécules de structures variées appartenant aux familles de squelette xylène ou diénone ou synthétisé, cette étude a été réalisée grâce d'un outil de modélisation moléculaire MOE (Molecular Operating Environment).

**Mots clés :** Odeur, Enzyme, Dérivés du Musc, Modélisation moléculaire et Docking Moléculaire.

## Abstract :

Research in biology can not currently be done without computer tools to process the data produced and optimize its advances. One of these tools is molecular modeling and more specifically molecular stowage (more commonly known as "docking"). The initial use of molecular "docking" was to predict and reproduce protein-ligand complexes. Docking is the basis for molecular recognition and the type of interaction.

Our thesis work is based on the study of the structure-odour relationship between two enzymes and several molecules of various structures belonging to the xylene or dienone skeleton families or synthesized, this study was carried out using a molecular modelling tool MOE (Molecular Operating Environment).

**Key words:** Odour, Enzyme, Musk Derivatives, Molecular Modelling and Molecular Docking.

## خلاصة:

فيما يخص الأبحاث البيولوجية لا يمكن القيام بها حاليا بدون استعمال أدوات الكمبيوتر لمعالجة النتائج المحصلة عليها و بالتالي تحسين هذه الأخيرة. بواسطة تقنيات النمذجة الجزيئية و بالتدقيق الالتحام الجزيئي عليها معروف بالمصطلح "الالتحام". الاستعمال الأولي للالتحام الجزيئي هو الاعتراف و الاستنساخ المركبات بروتين – مشبطات.

الالتحام التفاعل لكل بروتين الهدف من هيكل معروف التحام يبرهن على أن تكون المفتاح يستند عمل أطروحة لدينا على دراسة العلاقة بين بنية الرائحة بين إنزيمين وعدة جزيئات من هياكل مختلفة تنتمي إلى عائلات الزيولين أو الهيكل البنيوي ديانون أو المصنوعة ، وقد أجريت هذه الدراسة باستخدام أداة النمذجة الجزيئية (MOE) بيئة التشغيل الجزيئية

الكلمات المفتاحية: الرائحة ، الانزيم ، المسك ، النمذجة الجزيئية