

CONCEPTION *IN SILICO* DES INIBITEURS DE L' α -GLUCOSIDASE

Mémoire Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Professeur de l'Enseignement Secondaire

Deuxième Grade (D.I.P.E.S II) en Physique par

SOKOUDJOU FOTSING Boris

Matricule : 13K2708

Sous la supervision de

Luc C. OWONO OWONO

Professeur

Laboratoire de simulation et de biophysique moléculaire Laboratory for simulation
and molecular physics

Année académique 2018-2019

TABLES DES MATIÈRES

| | |
|--|-----|
| LISTE DES TABLEAUX | iv |
| LISTE DES FIGURES | iv |
| LISTE DES ABREVIATIONS | v |
| DEDICACE | vi |
| REMERCIEMENTS | vii |
| RESUME | ix |
| ABSTRAT | x |
| INTRODUCTION GÉNÉRALE | 1 |
| GÉNÉRALITÉS | 3 |
| 1.1 Conception des médicaments par ordinateur | 3 |
| 1.1.1 Les protéines | 3 |
| 1.1.2 Structures des protéines..... | 3 |
| 1.1.3 Rôle biologique des protéines | 4 |
| 1.1.4 Ligand..... | 5 |
| 1.1.5 Mécanique moléculaire | 5 |
| 1.2 Dynamique moléculaire | 8 |
| 1.3 Modèle de relations quantitatives structures-activités (QSAR) | 13 |
| ▪ Définition du QSAR | 13 |
| ▪ Le principe du QSAR..... | 14 |
| ▪ Objectif du modèle QSAR | 14 |
| 1.3.1 Les descripteurs du modèle QSAR | 14 |
| 1.4 La méthode de <i>Docking</i> | 16 |
| MATERIELS ET METHODES | 17 |
| 2.1. MATERIELS | 17 |
| 2.1.1 Données structurales et biologiques..... | 17 |
| 2-1.2.Outisinformatique | 22 |
| 2.2. Méthodes de travail | 23 |
| 2.2.1. Préparation de la protéine cible | 23 |

Tables des matières

| | |
|---|-----------|
| 2-2-2 PREPARATION DES LIGANDS (molécules)..... | 24 |
| 2.2.3 Génération d'une data base (mdb) | 25 |
| 2.2.4 Le docking proprement dit | 25 |
| RESULTATS ET DISCUSSIONS | 26 |
| 3.1 Résultats | 26 |
| 3.2 Discussions | 30 |
| 3.2.1 Discussion sur reproduction des poses par les deux fonctions scoring london et alpha..... | 31 |
| 3.2.2 Discussion sur la validité des modèles QSAR | 31 |
| IMPLICATIONS PEDAGOGIQUES | 33 |
| • Implications pédagogiques | 34 |
| CONCLUSION GENERALE | 35 |
| BIBLIOGRAPHIE | 36 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Table 1: Structures des 12 inhibiteurs, Les valeurs de l'activité expérimentale utilisée dans chaque docking (jeu d'essai) et leurs masses molaires moléculaires : Ces molécules ont été redessinées à l'aide du logiciel chemDraw | 19 |
| Table 2: Inhibiteur constituant le jeu de validation et son activité mesuré expérimentalement | 22 |
| Table 3: Valeurs des scores obtenus par les trainings set | 27 |
| Table 4: Valeurs du score obtenu avec ce docking | 28 |
| Table 5: Structure des 05 inhibiteurs qui ont été créés. Ils ont été dessinés à l'aide du logiciel | 29 |
| Table 6: valeurs des scores, masses molaires et activités prédites | 30 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1: Structure tertiaire de la protéine [2] (code PDB 3W37 | 4 |
| Figure 2: Schéma d'un programme de dynamique moléculaire [11]. | 11 |
| Figure 3: Les forces de Van der Waals. | 12 |
| Figure 4: La liaison hydrogène..... | 13 |
| Figure 5: Structure de la protéine..... | 18 |
| Figure 6: Structure du ligand natif..... | 18 |
| Figure 7: Squelette de base | 19 |
| Figure 8: Inhibiteur du jeu de validation | 22 |
| Figure 9: Grille qui définit la zone où doit se faire le docking. | 24 |
| Figure 10: Pose du ligand avec alpha. | 27 |
| Figure 11: Pose du ligand avec london | 27 |
| Figure 12: Graphe de corrélation entre les scores london et les pIC50..... | 29 |
| Figure 13: Graphe de corrélation des scores alpha et pIC50 | 29 |

LISTE DES ABREVIATIONS

OM : Orbitale moléculaire

IC₅₀ : Inhibition constante

MOE : Molecular Operating Environmen

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

DT1 : Diabète de type 1

DT2 : Diabète de Type 2

OMS : Organisation mondiale de la santé

PDB: Protein Data Bank

QSAR: Quantitative Structure Activity Relationships

QSPR : Quantitative Structure-Property Relationship

Ox : Oxadiazole

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

A

MES PARENTS

REMERCIEMENTS

La présente recherche soumise à l'appréciation des jurys a été rendu possible grâce au concours d'un certain nombre de personnes que nous tenons à remercier : Je tiens à exprimer ma gratitude aux personnes qui m'ont soutenues et plus particulièrement :

- Au Professeur OWONO OWONO Luc Calvin qui est le Directeur de cette institution, Chef de département de physique et mon directeur de mémoire, pour son enseignement de qualité, l'accent mis sur notre formation dans cette école, sa bonne volonté, et pour avoir mis à ma disposition l'outil de calcul nécessaire pour réaliser ce travail.

- À tous les enseignants qui malgré leurs occupations, ont accepté de participer à mon jury.
- À Tous les enseignants de l'école normale supérieure de Yaoundé et

spécialement ceux du département de physique pour leurs enseignements et leurs conseils.

- À M. BEKONO Boris Davy, pour son suivi permanent tout au long de ce travail et son soutien incondicional.
- Aux camarades et amis de promotion, pour la collaboration et les encouragements mutuels.
- Je tiens à adresser mes remerciements à toute ma famille et plus particulièrement à, ma mère DJOUTCHOUANG LUCIE et ma grande sœur

DJOUKA FOTSING NADINE pour leur soutien financier, moral

et toute l'attention dont ils m'accordent et pour avoir subi une éducation de qualité en famille. Ma profonde gratitude et ma reconnaissance et la confiance dont ils m'ont honoré. Je remercie également mes grandes sœurs et petit frère donc je ne vais pas citer le nom ici pour toutes leurs prières de chaque jour à mon nom. Également pour tous les efforts qu'elles fournissent chaque jour pour me voir réussir.

Je remercie vivement ma grand-mère KENGNE ELENE EPOUSE TABEUTSING POUR l'éducation de base que ma donner et pour toutes les prières que le fait pour Grand merci

à mon grand frère **FOTSING Patrick Romuald** pour ces encouragements et son soutien financier qu'il m'accorde chaque jour.

Je remercie mes beau-frère Michel ; Yanick et Raoul pour tout le soutien et l'attention dont qu'il mon accorder tout au long de ma formation pour leur soutien financier qu'il mon donner.

Je tiens à adresser mes remerciements à tous mes amis et particulièrement à **Ghislain TAGOU et TAKAM Parfait** sans oublier mes camarades **MOMO, NDJITACK, TSAFACK, et FAKOUO** pour leur amitié sincère, leur soutien moral, leur soutien matériel, logistique et pour tous ses moments de joie et de tristesse passés ensemble.

Je ne saurais clore ces remerciements sans penser à tous ceux et celles que je n'ai pas mentionnés une attention à mon égard. Et remercier le dieu tout puissant pour tout l'énergie et l'intelligence qu'il me donne chaque jour plus précisément celui qu'il ma donner pour rédiger ce mémoire.

RESUME

Le diabète est une maladie chronique qui ne se guérit pas, mais que l'on peut traiter et contrôler. Il est causé par le manque ou défaut d'utilisation d'une hormone appelée insuline ; considéré comme la menace mondiale la plus rapide pour la santé humaine, une insuffisance métabolique conduit à la Maladie rénale. Des médicaments ont été fabriqués pour lutter contre cette dernière. Toutefois cette maladie a déjà plus de quarante ans d'âge et depuis quelques années, il y a développement de résistances à cette maladie ceci est devenu un problème majeur pour lequel de nouvelles méthodes sont activement recherchées. Le but ici est d'étudier les propriétés antidiabétiques des dérivés d'oxadiazole via les QSAR et Docking moléculaire.

Nous avons utilisé un jeu d'inhibiteurs de l'oxadiazole pour faire des calculs de docking et les résultats nous ont permis de bâtir un modèle QSAR avec un coefficient de corrélation 0.92 susceptible de prédire les activités des molécules. En observant les interactions des inhibiteurs les plus actifs nous avons conçu cinq molécules donc les activités ont été prédites à partir du modèle précédemment construit. Dans notre travail nous avons mené les études *in silico* en vue de concevoir de nouvelles molécules anti-diabétique à très grand effet inhibiteur sur le diabète.

ABSTRAT

Diabetes is a chronic disease that does not heal, but can be treated and controlled. It is caused by the lack or defect of use of a hormone called insulin; considered the fastest global threat to human health, metabolic insufficiency leads to kidney disease. Drugs have been manufactured to combat the latter. However, this disease has already more than forty years of age and in recent years there is development of resistant to this disease this has become a major problem for which new are actively sought. We used a set of oxadiazole inhibitors to make docking calculations and the results allowed us to construct a QSAR model with a correlation coefficient 0.92 that could predict the activities of the molecules. By observing the interactions of the most active inhibitors we designed five molecules so the activities were predicted from the previously constructed model. In our work, we conducted in silico studies to design new anti-diabetic molecules has very large inhibitory effect on diabetes.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le diabète est une insuffisance métabolique critique caractérisé par une hyperglycémie chronique (taux de glucose dans le sang trop élevé) liée à une déficience soit de la sécrétion de l'insuline, soit de l'action de l'insuline, soit des deux. Le diabète peut être définie cliniquement comme une glycémie à jeun supérieure à 1,26g/l à 2 reprises ou supérieur à 2,00g/l à n'importe quel moment de la journée, seulement si elle s'associe à des symptômes du diabète. Il est considéré comme la menace mondiale la plus rapide pour la santé humaine. Ce dernier est cause majeure de cécité, d'insuffisance rénale, d'accidents cardiaque, d'accidents vasculaires cérébraux et imputation des membres inférieures. Il existe différents types de diabète soit le pré diabète, le diabète de type un(DT1), moins fréquente (environ 6% des cas de diabète traiter de l'adulte) le diabète de type deux(DT2) qui est la forme la plus fréquente du diabète (plus de 92% des cas de diabète traiter d'adulte), et autres. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, si aucune mesure n'est prise d'ici 2030, il y aura au moins 350 millions de personnes atteintes de la maladie dans le monde. Une glucosidase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse de glucides pour produire un excès de glucose. Il est situé dans le tissu de l'épithélium de l'intestin grêle. Les inhibiteurs sont des classes de médicaments utilisés pour traiter le diabète en inhibant l' α -glucosidase. Les composés hétérocycliques sont des composés organiques contenant azote, oxygène et soufre avec de nombreuses applications sur le terrain de l'agriculture, de la pharmacie et des industries. Les oxalates sont des composés hétérocycliques formes de cinq chaînons contenant atomes d'oxygène et d'azote (. Un nouveau dérivé des analogues de la α -hydroxyaurone ont été rapportés comme un puissant agent antidiabétique contre l' α -glucosidase. Un grand nombre de composés ayant un cycle 1, 3,4-oxadiazole ont été rapportés à titre d'agents antidiabétiques actifs. Autres activités biologiques ont été rapportés pour des molécules ayant un cycle 1, 3, 4-oxadiazole qui inclut ; anti-glycation ; anti-leishmanial et inhibiteurs de la β -glucosidase. Les nouveaux médicaments sont généralement collectés à l'aide de tests et les méthodes d'erreur, qui prennent du temps et sont coûteuses. Avec une augmentation de la puissance de calcul, une étude in silico a conduit l'évaluation de nouveaux médicaments actifs avec moins d'effets secondaire. Des études du

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Docking moléculaire ont été menées pour prédire les affinités de liaison de différents composés [1]. Et pour illustrer des zones spécifiques d'interaction entre les ligands et le récepteur le but de

Le but ici est d'étudier les propriétés antidiabétiques des dérivés d'oxadiazole via les QSAR et Docking moléculaire.

Le travail présenté dans ce mémoire est composé de quatre chapitres présentés de la façon suivante : La première partie présente la revue de littérature .dans cette partie nous allons présente la conception des médicaments et les généralités sur la mécanique moléculaire. Dans le second chapitre, nous décrivons l'approche théorique, le matériel utilisé pour étudier ces interactions. Ce chapitre traite également de la mise en œuvre pratique des simulations moléculaires effectuées. Dans le cadre du troisième chapitre, nous présenterons en deux volets les différents résultats obtenus : le premier concerne la comparaison des poses obtenues par docking du ligand natif dans le site actif de la glucosidase avec les différentes fonctions scoring et sa pose naturelle. Le deuxième est essentiellement quantitatif et est décrit par les corrélations entre les activités (expérimentales et prédites) et les scores in silico par les modèles QSAR. Enfin le quatrième chapitre est consacré aux implications pédagogiques. Une conclusion et des perspectives clôtureront ce travail.

GÉNÉRALITÉS

1.1 Conception des médicaments par ordinateur

La conception des médicaments par ordinateur nécessite la compréhension d'un certain nombre de notions tels que les protéines, les ligands et la mécanique moléculaire

1.1.1 Les protéines

Les protéines sont les molécules les plus complexes et les plus variées des êtres vivants. Un être humain fabriquerait au total 100 000 sortes de protéines. Chaque cellule en fabrique en moyenne 15 000 sortes. Près de 50% du poids sec d'un être vivant est fait de protéines. Leurs structures aussi bien que leurs fonctions sont incroyablement complexes et variées. Par exemple, certaines protéines, les enzymes, jouent le rôle de catalyseurs de réactions biochimiques, tandis que l'hémoglobine se charge du transport de l'oxygène dans le sang, ou que l'actine et la myosine permettent la contraction musculaire et donc, le mouvement. En résumé, on peut dire que les protéines régulent un grand nombre de processus biologiques.

1.1.2 Structures des protéines

Les protéines sont organisées de manière hiérarchique. Leur structure peut se diviser en quatre niveaux dont les structures primaires, les structures secondaires, les structures tertiaires et les structures quaternaires. Mais nous ne présenterons ici que celles qui interviendront dans la suite de nos travaux à savoir les structures tertiaires.

- Structure tertiaire ou 3D des protéines

La structure tertiaire d'une protéine est sa disposition tridimensionnelle : c'est la donnée de l'agencement des structures secondaires et de l'organisation spatiale des chaînes latérales. C'est

elle qui permet à la protéine d'assurer sa fonction. Par exemple, l'hémoglobine accueille l'oxygène dans une cavité de sa structure tertiaire. De plus, il faut savoir qu'une protéine être

Constituée non pas d'une seule chaîne polypeptidique mais de plusieurs.

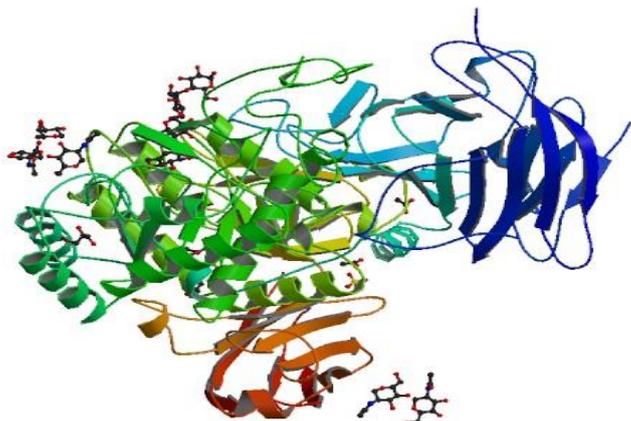


Figure 1: Structure tertiaire de la protéine [2] (code PDB 3W37)

1.1.3 Rôle biologique des protéines

Les protéines ont un très grand rôle dans les organismes vivants, on peut citer comme exemples la catalyse enzymatique, car la protéine peut augmenter la vitesse d'une catalyse, le transport membranaire ou cellulaire, la protection immunitaire (anticorps), le mouvement (les protéines musculaire comme l'actine et la myosine), la création et la transmission de l'influx nerveux (système nerveux), le contrôle de la croissance et la différenciation cellulaire (information génétique, hormones...) [3]. Dans la majorité des rôles biologiques cités, la protéine joue le rôle de récepteur et dans la conception des médicaments, elle est le site potentiel par rapport au mode de fixation de différents conformères. La structure tertiaire ou tridimensionnelle (3D) d'une protéine est le paramètre fondamental dont dépend l'expression de ses fonctions biologiques. C'est d'elle que dépendent des interactions protéine-ligand. Ces interactions ont lieu au niveau d'une zone bien précise de la protéine appelée site d'interactions ou site actif de la protéine.

1.1.4 Ligand

Un ligand est une molécule chimique, qui pourrait être composée d'un ou de plusieurs fragments (groupements) [4, 5]. Il peut être : un substrat (molécule qui se fixe au site actif de la protéine ou de l'enzyme pour subir une réaction : décarboxylation, hydrolyse, déshydrogénation...), une coenzyme (molécule qui complète l'action de certaines enzymes) un activateur (composé chimique qui entraîne un changement de conformation du site actif de l'enzyme pour augmenter son affinité), un inhibiteur (contrairement à l'activateur, ce type de ligand modifie la structure électronique du site actif en diminuant l'affinité de l'enzyme moléculaire trouve sa raison d'être d'une part

1.1.5 Mécanique moléculaire

Elle consiste en la construction de modèles tridimensionnels à partir de données. La modélisation dans les limitations expérimentales des méthodes de détermination de structure des protéines et d'autre part dans l'incapacité actuelle de prédire la structure 3D d'une protéine. En outre, elle permet d'investiguer les changements de conformations liées à des mutations à partir des structures 3D expérimentales. La modélisation moléculaire est une application des méthodes théoriques et des méthodes de calcul pour résoudre des problèmes impliquant la structure moléculaire. Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire elles peuvent être extrêmement complexes et demander des centaines d'heures de calculs même sur un super-ordinateur. Parmi les méthodes de modélisation moléculaires que l'on dispose certaines sont décrites ci-après :

1-1.5.1 Notion de chimie quantique

La Mécanique quantique est une théorie qui se fonde sur un ensemble d'axiomes, l'un d'eux stipule que tout état d'un système n'évoluant pas dans le temps constitué de N particules est complètement décrit par une fonction mathématique ψ , appelée *fonction d'onde*, qui dépend des coordonnées de chacune des particules, la fonction d'onde ne possède aucune signification physique, en revanche, la quantité $|\psi^2|$ permet de déterminer la probabilité de présence des particules dans un élément de volume. Un second axiome énonce que l'action d'un opérateur mathématique hermétique sur cette fonction permet d'atteindre la grandeur physique observable correspondante. Ainsi l'opérateur associé à l'énergie E est l'opérateur hamiltonien H . La fonction d'onde exacte est fonction propre de l'opérateur hamiltonien complet

$$H\psi = E\psi \quad (1-1)$$

La résolution exacte de l'équation (1.1) n'est possible que pour l'atome d'hydrogène et les systèmes hydrogénoïdes. Pour les systèmes poly-électroniques, il est nécessaire de faire appel aux méthodes d'approximation.

La première approximation en chimie quantique est de considérer l'équation de *Schrödinger* (1.1) [6] non relativiste indépendante du temps où l'hamiltonien est défini par :

$$H = -\frac{1}{2} \sum \Delta_i - \frac{1}{2} \sum \Delta_A - \sum_i \sum_A \frac{z_A}{r_{iA}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{1}{r_{ij}} + \sum_A \sum_{B>A} \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad (1.2)$$

Les indices qui apparaissent sous les symboles de sommation s'appliquent aux électrons (i et j) et aux noyaux (A et B). Dans l'expression (1.2), les deux premiers termes correspondent aux opérateurs associés à l'énergie cinétique des électrons et des noyaux, le troisième terme représente l'attraction coulombienne entre les noyaux et les électrons, tandis que les deux derniers décrivent la répulsion entre les électrons et entre les noyaux.

Deux autres approximations sont adoptées et employées : l'approximation de *Born Oppenheimer*, l'approximation d'orbitales moléculaires.

1.1.5.1.1 L'approximation de Born-Oppenheimer

L'approximation de *Born-Oppenheimer* [7] trouve son origine dans le fait que les noyaux possèdent une masse beaucoup plus importante que celle des électrons et qu'il est alors possible de considérer leur mouvement comme étant très lent par rapport à celui des électrons. On peut donc supposer que les électrons se déplacent dans un champ de noyaux fixes. Ainsi, dans le cadre de cette approximation, l'énergie cinétique des noyaux peut être supposée constante et nulle et la répulsion entre les différentes paires de noyaux considérées également comme constante, les termes restant de l'équation (3.1) permettent alors de définir l'hamiltonien électronique :

$$H_e = -\frac{1}{2} \sum \Delta_i - \sum_i \sum_A \frac{z_A}{r_{iA}} + \sum_i \sum_{j>i} \frac{1}{r_{ij}} \quad (1.3)$$

Ce hamiltonien est alors utilisé pour résoudre l'équation de *Schrödinger* électronique

$$\mathbf{H}_e \psi_e = E_e \psi_e \quad (1.4)$$

Ψ est la fonction d'onde électronique. Elle dépend explicitement des coordonnées électroniques et paramétriquement des coordonnées nucléaires. Dans le cas d'un système multiélectronique, la fonction d'onde doit changer de signe lors de la permutation des coordonnées de deux électrons (principe de *Pauli* [8])

E_e représente l'énergie électronique, pour obtenir l'énergie totale E' dans un champ de noyaux fixes, on ajoute un terme de répulsion nucléaire à l'énergie électronique :

$$E' = E_e + \sum_A \sum_{B>A} \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad (1.5)$$

Dans la suite de ce manuscrit les symboles H , ψ et E désignerons respectivement l'hamiltonien électronique, la fonction d'onde électronique et l'énergie totale calculée pour des positions fixes des noyaux.

1.1.5.1.2 L'approximation d'Orbitales Moléculaires

La fonction d'onde la plus simple qui respecte le principe de *Pauli* peut s'écrire sous la forme d'un déterminant, appelé déterminant de *Slater* [9]. Ce déterminant pondéré par un facteur de normalisation est construit à partir d'un ensemble de fonctions nanoélectroniques, ou spin orbitales ϕ définies comme le produit d'une fonction spatiale, ou orbitale moléculaire (OM) ψ . Par une fonction de spin α ou β :

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(1) & \phi_1(2) & \dots & \phi_1(N) \\ \phi_2(1) & \phi_2(2) & \dots & \phi_2(N) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_N(1) & \phi_N(2) & \dots & \phi_N(N) \end{vmatrix} \quad (1.6)$$

Et

$$\phi_i(x) = \psi_i(x) \cdot \alpha_i(x) \quad (1.7)$$

$$\phi_j(x) = \psi_i(x) \cdot \alpha_j(x) \quad (1.8)$$

Ce déterminant peut également s'écrire plus simplement :

$$\psi = |\phi_1 \phi_2 \phi_3 \dots \phi_n| \quad (1.9)$$

1.1.5.2 La Méthode Variationnelle

Pour des systèmes multi-électroniques, l'équation de *Schrödinger* indépendante du temps est solutionnée avec la méthode variationnelle qui garantit que l'énergie du système déterminée par :

$$E|\psi\rangle = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle \quad (1.10)$$

Sera supérieure ou égale à l'énergie exacte de l'état fondamental E_0 , c'est-à-dire que

$$E|\psi\rangle = E_0 \quad (1.11)$$

Selon la méthode variationnelle, les paramètres de la fonction d'essai sont variés jusqu'à ce que la valeur attendue de l'énergie atteigne un minimum ce qui correspond à minimiser la fonctionnelle $E|\psi\rangle$ par rapport à toutes les N fonctions d'onde multiélectroniques. Mathématiquement, ceci se traduit par

$$E_0 = \min E|\psi\rangle \quad (1.12)$$

En pratique, on détermine les extremums de $\langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle$, avec la contrainte $\langle \psi | \psi \rangle = 1$, en solutionnant

$$\delta \left[\langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle - E \langle \psi | \psi \rangle \right] = 0 \quad (1.13)$$

Où E est employé comme multiplicateur de *Lagrange*. Cette équation permet d'aller de N et $v(r)$ vers ψ et de là, avec l'équation variationnelle (3.10), à l'énergie du système.

L'énergie totale du système E est donc une fonctionnelle de N et de $v(r)$.

1.2 Dynamique moléculaire

a) Définition.

La dynamique moléculaire est une méthode de modélisation qui permet de simuler l'évolution des atomes et des molécules au cours du temps pour une température supérieure à

OK. Ainsi elle permet de sonder les propriétés des matériaux à partir de l'échelle microscopique.

- **Principe**

Dans le but de suivre l'évolution temporelle des atomes ou des molécules, la dynamique moléculaire adopte l'approximation de Born-Oppenheimer [10]. Cette approximation suggère que, du fait du mouvement très rapide des électrons par rapport à celui des noyaux, on peut considérer que ces deux mouvements sont découplés l'un de l'autre. En dynamique moléculaire, cette approximation revient à moyennner l'effet des électrons, et les atomes se retrouvent ainsi représentés par leurs noyaux. En général, on met de côté les aspects quantiques et on se concentre sur la physique Newtonienne. Ici Ces noyaux sont traités comme des masses ponctuelles et obéissent donc aux équations classiques du mouvement de Newton :

$$F_i = m_i \gamma_i \quad (1.14)$$

Où F_i représente la force s'exerçant sur la particule i ; m_i sa masse et γ_i son accélération. La force F_i est un champ de force agissant sur la particule de masse m_i s'obtenant par dérivation d'un potentiel d'interaction.

$$F_i = - \frac{\partial U}{\partial r_i} \quad (1.15)$$

Ainsi, la réalisation d'un calcul de dynamique moléculaire exige tout d'abord qu'on se dote d'un champ de force. Ensuite, il faut résoudre numériquement les équations du mouvement, afin d'obtenir les différents paramètres dynamiques de la particule de masse m_i (position, vitesse et accélération) ; ce sont ces paramètres qui, judicieusement exploités, font de la dynamique moléculaire une technique très efficace.

b) Champ de force.

- **Définition.**

Un champ de force est un modèle mathématique qui représente un ensemble de potentiels et de paramètres permettant de décrire la Structure de l'énergie potentielle d'un système d'atomes. La bonne description du champ de force dépend de la qualité du résultat des simulations numériques par comparaison avec les valeurs expérimentales. Les champs de force les plus répandus actuellement sont : CHARMM, CFF, AMBER, GROMOS, OPLS, GAFF et COMPASS. Ceux-ci sont en constante évolution, et sont tous suffisamment polyvalents ; ils permettent la simulation des petites molécules organiques, des polymères, des protéines, des membranes [11]. Cependant l'objectif d'un champ de force est de prendre en compte les interactions intermoléculaires et les interactions intramoléculaires. Dans la section suivante, nous allons développer les liaisons chimiques faibles d'importance biologique.

- **Les interactions intermoléculaires.**

Mises à part quelques exceptions, les atomes ne sont pas isolés dans les conditions habituelles. Ils établissent entre eux des liaisons chimiques covalentes, ou liaisons fortes, afin de former des molécules. Une particularité des molécules biologiques qui rend leur étude d'autant plus complexe est l'importance, aussi bien dans leur structure que lors d'interactions, de la formation de liaisons non covalentes, ou liaisons faibles.

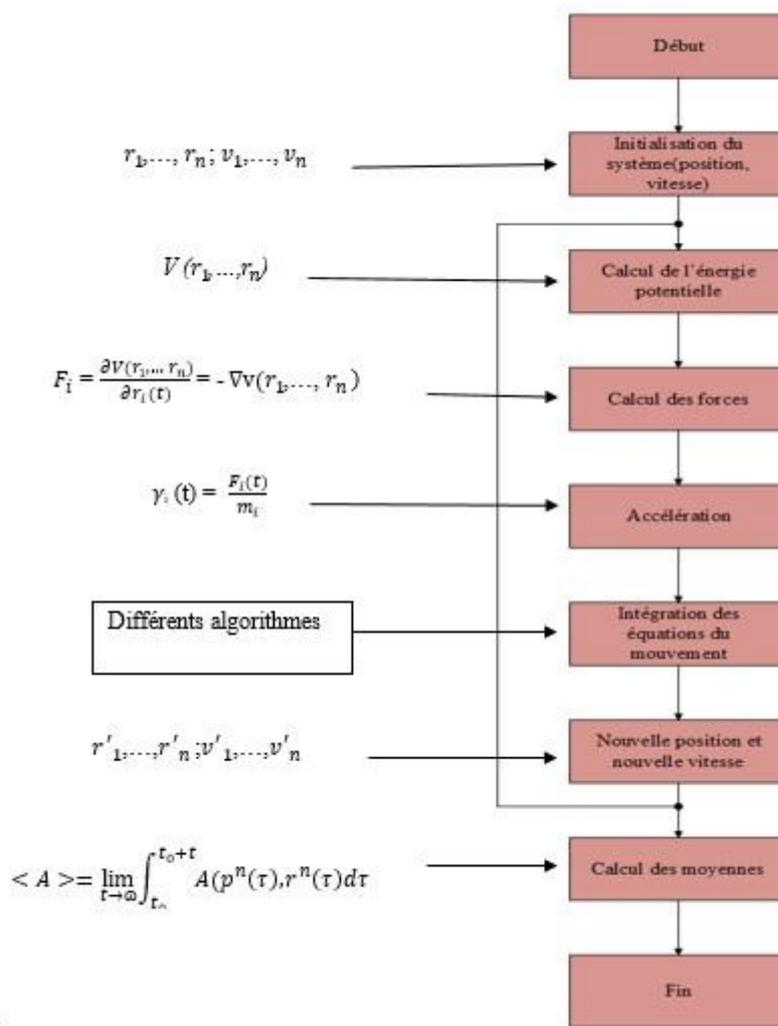


Figure 2: Schéma d'un programme de dynamique moléculaire [11].

Ces liaisons sont essentielles pour expliquer les propriétés des molécules biologiques. Du fait de leur faible énergie (généralement comprise entre 4 et 30 kJ/mol), elles peuvent se rompre et se rétablir très facilement à la température physiologique, permettant ainsi des interactions temporaires entre molécules [12, 13, 14].

- Les forces de Van der Waals.

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres (figure 1.3). Pour des atomes distants de 3-4% , l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Les interactions de Van der Waals sont très faibles, mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au total une force importante [12, 13, 14].

- La liaison hydrogène.

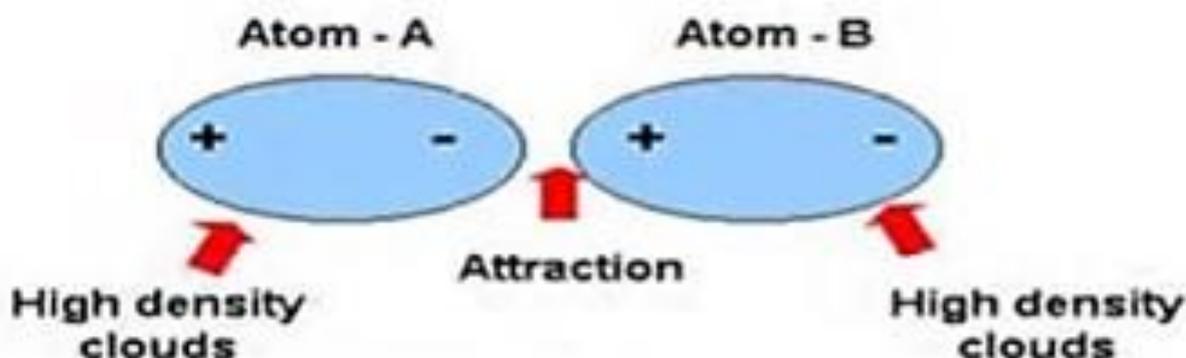
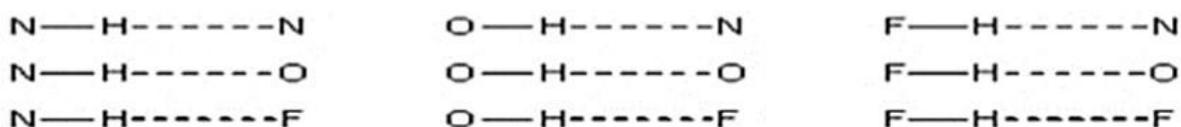


Figure 3: Les forces de Van der Waals.

Cette liaison, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électronégatif (le donneur D) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur A). Le nuage électronique de l'hydrogène est attiré par l'atome donneur qui est relativement plus électronégatif que l'atome d'hydrogène créant ainsi une charge partielle positive sur l'hydrogène (figure 1.8). Cette charge positive est attirée par la charge partielle négative portée par l'atome accepteur donnant ainsi naissance à une interaction désignée par pont hydrogène, sa force est de l'ordre de 12 à 30 kJ/mol. Elle agit, à très courte distance (0,8 à 2,8 Å°).

Les liaisons hydrogènes habituelles sont :



Les liaisons hydrogène sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°). Elle est définie par ; la distance entre les deux atomes qui forment la liaison covalente D-H de type δ , la longueur de l'interaction H...A et l'angle D-H...A [12, 13].

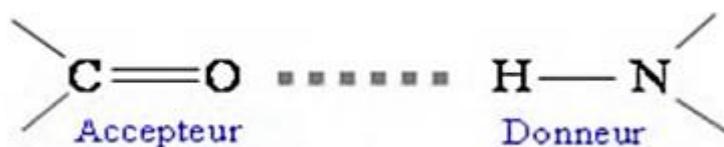


Figure 4: La liaison hydrogène.

- Algorithme.

Dans la méthode de la dynamique moléculaire, la résolution des équations du mouvement se fait de manière discrète, en utilisant une méthode de différences finies. Si, à un instant donné t , la position, la vitesse et l'accélération d'une particule sont connues, on peut calculer la position r , la vitesse v et l'accélération γ de cette particule à l'instant $t + \delta t$ à l'aide d'un développement en série de Taylor :

$$r(t + \delta t) = r(t) + v(t)\delta t + 1/2\gamma(t)\delta t^2 + \dots \quad (1.16)$$

Où δt est le pas d'intégration. Le choix d'un algorithme est souvent déterminé sur la base de la précision des solutions, des coûts induits par l'ordinateur (temps et mémoire), et de simplicité de programmation. Divers algorithmes d'intégration (Smart minimize, Verlet simple, Verlet Leap-frog, vitesse de Verlet etc.) existent et diffèrent par la manière dont le développement de Taylor est implémenté. Dans ce travail de mémoire, nous allons utiliser l'algorithme Smart minimize car de nombreux travaux dans la littérature montrent qu'il produit de bons résultats.

1.3 Modèle de relations quantitatives structures-activités (QSAR)

▪ **Définition du QSAR**

L'analyse quantitative des relations existantes entre les structures d'un ensemble de composés et leurs activités permet d'identifier et d'évaluer l'impact des propriétés qui influencent l'activité biologique. Cette relation peut être décrite par une équation qui corrèle mathématiquement les influences réciproques des paramètres concernés. L'extrapolation de ces résultats peut servir de base à la prédiction de l'activité de nouveaux composés [15].

▪ **Le principe du QSAR**

Le principe des méthodes QSAR est d'établir une relation mathématique de manière quantitative des propriétés moléculaires (descripteurs) avec un observable macroscopique (activités biologique) ; la formule d'un tel modèle est la suivante :

$$\boxed{\text{Activité} = f(D_1, D_2, \dots, D_n)} \quad (1.17)$$

Avec D_1, D_2, \dots, D_n des descripteurs des structures moléculaires

▪ **Objectif du modèle QSAR**

L'objectif d'une telle méthode est d'analyser les données structurales afin de détecter les facteurs déterminants pour l'activité mesurée. Pour ce faire différents types d'outils statistiques peuvent être employés.

- Par la corrélation entre les données biologiques et physico-chimiques en utilisant les techniques régressions ;
- Par la classification des composés ou méthodes d'identification de modèle ;

Une fois cette relation est établie et validée, elle peut alors être employée pour la prédiction de l'activité de nouvelles molécules.

1. 3. 1 Les descripteurs du modèle QSAR

L'information contenue dans la structure des molécules et ces structures elles-mêmes en un ensemble de nombres réels appelés descripteurs qui sont soit empiriques soit théoriques.

1. 3.1.1 Les descripteurs moléculaires théoriques :

- **Les descripteurs 1D** : sont accessibles à partir de la formule brute de la molécule décrivent des propriétés globales du composé comme le nombre d'atomes et la masse Moléculaire.
- **Les descripteurs 2D** : sont calculés à partir de la formule développée de la formule de la molécule.

- **Les indices constitutionnels** : qui caractérisent les différents composants de la molécule. Il s'agit par exemple du nombre de liaison simple ou multiple, du nombre de cycle.
- **Les indices 2D topologiques** : donne l'information sur la taille, la forme globale et ses ramifications.

Ces descripteurs permettent de prédire les propriétés physiques mais sont insuffisantes pour expliquer certaines propriétés et activités biologiques.

- **Les descripteurs 3D** : sont évalués à partir des positions relatives des atomes dans l'espace, et décrivent des caractéristiques plus complexes. Leurs calculs nécessitent donc de connaître la géométrie 3D de la molécule.

- **Les descripteurs 3D géométriques** : les plus importants sont le volume moléculaire, la surface accessible au solvant, le moment principal d'inertie.
- **Les descripteurs 3D électroniques** : permettent de quantifier les différents types d'interactions inter et intramoléculaire, de grande influence sur l'activité biologique des molécules. Le calcul de la plupart de ses descripteurs nécessite la recherche de la géométrie pour laquelle l'énergie est minimale et fait souvent appelle à la chimie quantique.

1. 3.1.2 Les descripteurs moléculaires empiriques :

Il existe plusieurs descripteurs qui peuvent être qui peuvent être mesuré en expérimentalement tel quel que le coefficient de partage (octanol/eau) ($\log p$), la polarisabilité (α).

- **Coefficient de partage (octanol/eau) k_{ow} ($\log p$)**

Le coefficient de partition est défini comme le rapport de la concentration du soluté dans la phase huileuse C' à la concentration du soluté non ionisé dans la phase aqueuse C , à l'équilibre.

$C' > C \Rightarrow P > 1 \Rightarrow \log P > 0$: le soluté est dit lipophile ;

$C' < C \Rightarrow P < 1 \Rightarrow \log P < 0$: le soluté est dit hydrophile ;

- **La validation externe**

Cette méthode consiste à prédire l'activité d'une série de molécule (test) qui ne sont pas dans la série de développement du modèle. Cette validation est caractérisée par les méthodes $R^2(test)$ $R_{cv}^2(test)$ pour vérifier le pouvoir prédictif des modèles QSAR.

1.4 La méthode de *Docking*

Le *Docking* est utilisé pour prédire la structure du complexe intermoléculaire résultant de l'association entre au moins deux molécules. Quand il s'agit de deux protéines, on parle de *Docking* protéine-protéine [15]. Par opposition au *Docking* protéine-ligand que nous avons utilisé pour ce travail.

A cet effet, celui-ci combine l'utilisation d'un algorithme de recherche permettant de générer et améliorer des modes de liaisons (orientation et/ou conformation) du ligand dans le site actif de la protéine et fait intervenir une fonction de score qui évalue la qualité de la pose générée selon un score prédit d'affinité. Il existe trois types de *docking* :

- Obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte.

- Le *docking* flexible il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de *docking* moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de *docking* flexible.

Toutes ces méthodes permettent de prédire la puissance d'interaction et d'affinité de liaison. La formule utilisée pour la deuxième étape est dite « *scoring* ».

- Le *docking* semi-flexible : Seul le site actif de la protéine est flexible.

MATERIELS ET METHODES

Dans ce chapitre, nous présentons le matériel utilisé ainsi que les méthodes que nous avons exploitées dans le cadre de notre travail.

2.1. MATERIELS

2.1.1 Données structurales et biologiques

Avant de procéder au Docking il est judicieux de connaître où se trouvent les structures chimiques des cibles à traiter. Alors il faut aller dans la PDB (protein data Bank) [16] où sont déposées les structures de ces cibles. Il est à noter que le téléchargement de ces structures est gratuit. La banque des données est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle des macromolécules biologiques d'intérêt pharmaceutique : protéines essentiellement et acides nucléiques. Ces structures sont déterminées soit par cristallographie aux rayons X, soit par résonance magnétique nucléaire RMN. Ayant pour code 3W37 (figure 1.1) Le facteur R égal à 0,154 et nous l'avons obtenu par téléchargement à partir de la banque de données. Cette enzyme est issue de l' α -glucosidase utilisé pour le diabète.

2.1.1.1 Détails expérimentaux

La structure cristallographique que nous avons utilisée a été obtenue par diffraction aux rayons X. Elle appartient au groupe d'espace 222. Rappelons que le groupe d'espace.

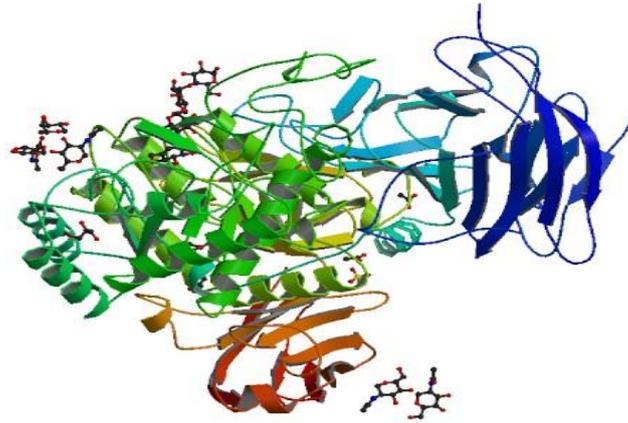


Figure 5: Structure de la protéine.

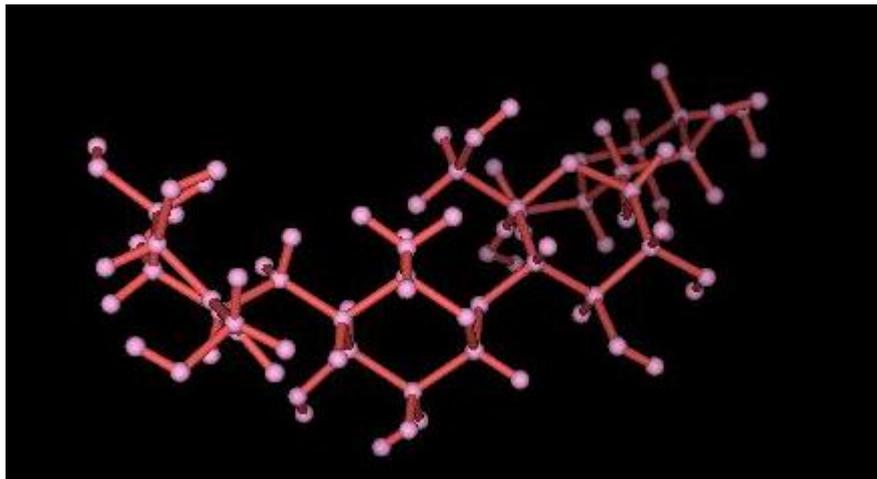


Figure 6: Structure du ligand natif

D'un cristal contient l'ensemble des opérations de symétrie de la structure cristalline. Les paramètres cristallins sont des grandeurs utilisées pour décrire la maille d'un cristal. On distingue trois longueurs a , b , c et trois angles α , β , γ , qui déterminent entièrement le parallélépipède qu'est la maille. Les paramètres cristallins de notre enzyme sont : $a = 86,36$ $b = 98,2$ $c = 108,75$ et $\alpha = 90,00$, $\beta = 90$ $\gamma = 90$; a , b , c sont en angström et α , β , γ en degré. Elle appartient donc au système réticulaire orthorhombique simple.

2.1.1.2 La sélection des ligands

Les inhibiteurs de l' α -glucosidase protéine réductase dérivant du oxadiazole utilisés dans cette étude (figure 2.4) ont été choisis pour leur activité mesurée expérimentalement. Les constantes d'inhibitions expérimentales de ses inhibiteurs sont comprises entre $1,1 \leq pIC_{50} \leq 2,21$

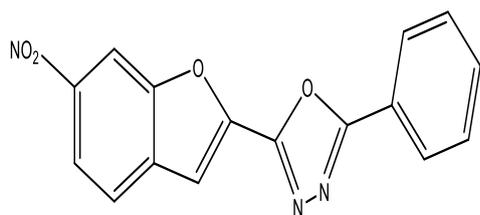
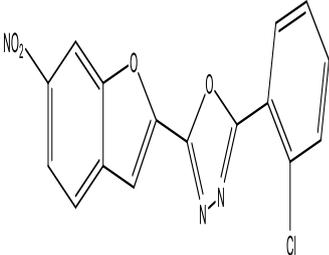
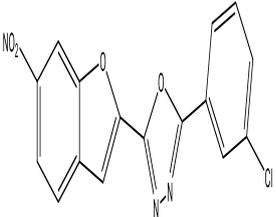
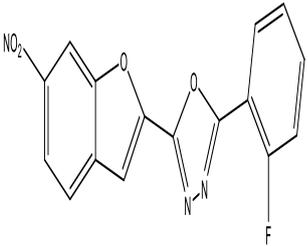
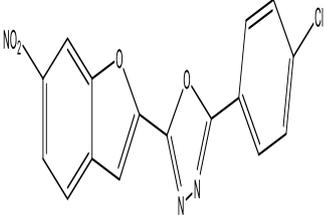
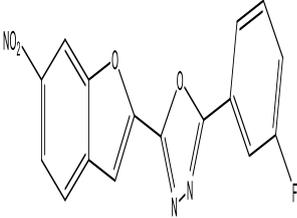
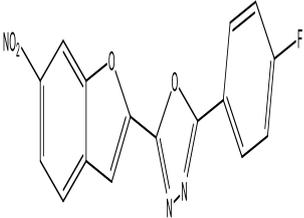
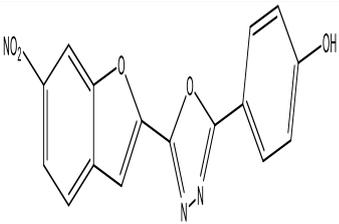
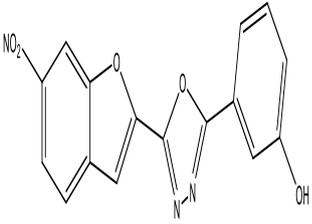
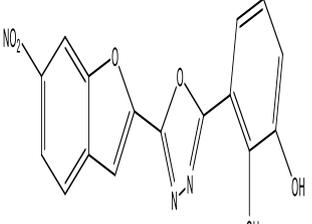
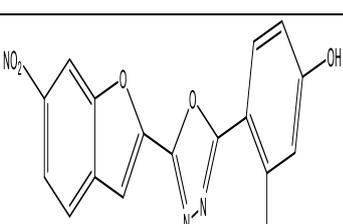
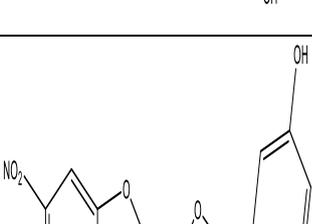
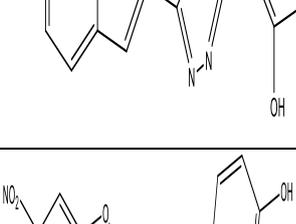


Figure 7: Squelette de base

Table 1: Structures des 12 inhibiteurs, Les valeurs de l'activité expérimentale utilisée dans chaque docking (jeu d'essai) et leurs masses molaires moléculaires : Ces molécules ont été redessinées à l'aide du logiciel chemDraw

| DESIGNATION | Ligands | M (g/mol) | IC ₅₀ (mM) | pIC ₅₀ |
|-------------|---|-----------|-----------------------|-------------------|
| Ox1 |  | 341,5 | 42,65 | 1,37 |
| Ox2 |  | 341,5 | 16,22 | 1,79 |
| Ox3 |  | 325 | 13,8 | 1,86 |
| Ox4 |  | 341,5 | 19,05 | 1,72 |
| Ox5 |  | 325 | 4,26 | 2,37 |
| Ox6 |  | 325 | 17,78 | 1,75 |

| | | | | |
|------|---|-----|-------|------|
| Ox7 |  | 323 | 18,19 | 1,74 |
| Ox8 |  | 323 | 54,95 | 1,26 |
| Ox9 |  | 339 | 23,44 | 1,63 |
| Ox10 |  | 339 | 34,67 | 1,46 |
| Ox11 |  | 339 | 7,5 | 2,12 |
| Ox12 |  | 339 | 6,16 | 2,21 |

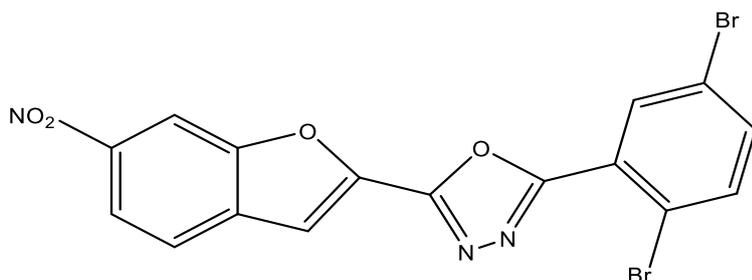


Figure 8: Inhibiteur du jeu de validation

2.1.1.3 Conception des potentiels inhibiteurs

Sur la base des interactions du ligand le plus actif avec les acides aminés de son site actif, nous avons créé 05 molécules. L'activité de ces molécules a été prédite à partir de notre modèle QSAR. En effet, on substitue la valeur du score obtenu de chaque molécule dans l'équation de notre modèle $pIC_{50} = -1,16(S_{Lon}) - 11,825$ et trouve son activité prédite. Ainsi les résultats obtenus sont présentés chapitre

Table 2: Inhibiteur constituant le jeu de validation et son activité mesuré expérimentalement

| Ligand | M(g/mol) | IC50(nM) | pIC50 |
|--------|----------|----------|-------|
| OXV | 465 | 2,51 | 2,6 |

2-1.2. Outis informatique

Les Ressources informatiques mises à notre disposition au laboratoire pour faire nos docking sont constituées des logiciels suivants : MOE, et chemDraw. Le premier est utilisé sous Linux tandis qu'avec le second, les calculs ont été réalisés sous Windows XP Professionnel. On note également que nous avons utilisé Un ordinateur portable de marque HP, nous avons travaillé dans Excel qui nous a permis d'avoir différentes courbes et les calculs. Un réseau internet comme outil principal pour le téléchargement des programmes, des complexes et des ligands dont on a besoin. Les ressources informatiques mises à notre disposition au laboratoire pour faire nos docking sont constituées des logiciels suivants : MOE et Discover que nous présenterons juste le premier celle donc nous avons utilisé.

• Présentation du logiciel MOE

Le logiciel MOE (Molecular Operating Environment) est conçu par le groupe chimique "computing" pour permettre la modélisation moléculaire, la bio-informatique et le criblage virtuel. Il peut aussi être utilisé pour construire de nouvelles applications. MOE permet la construction des molécules 3D. C'est un "package" qui comporte plusieurs modules utilisant les méthodes semi-empiriques, contrairement aux méthodes ab initio. Ici il faut savoir que le docking peut se faire de façon rigide ou flexible, les ligands épousent la forme du site actif de l'enzyme. Aussi avec le logiciel MOE on peut lancer le docking de plusieurs ligands à la fois et générer facilement un pharmacophore. C'est cet ensemble d'avantages qui nous ont amené à travailler avec ce logiciel, malgré le fait qu'il soit payant.

2.2. Méthodes de travail

2.2.1. Préparation de la protéine cible

La structure cristallographique de l'oxydiazole (Code pdb 3W37) étant entachée de quelques défauts, nous avons effectué un travail préliminaire avant de passer au docking : Suppression des molécules d'eau La structure du complexe a été protonée (ajout des hydrogènes) ; Nous avons sélectionné le ligand natif qui se trouve dans le site actif de notre enzyme puis nous avons étendu sa sélection à 4,5 Å. Cette opération consiste d'ailleurs à considérer tous les acides aminés se trouvant à un rayon du centre du ligand natif. Nous avons utilisé à chaque fois des contraintes spatiales sous forme de boîte. C'est dans le but d'appliquer une barrière au niveau du site actif de la protéine afin que les inhibiteurs aient une zone bien définie dans laquelle ils vont se mouvoir dans le site actif. Ainsi nos docking ont été effectués à l'intérieur d'une boîte ayant les caractéristiques suivantes :

-Origine : X = -4 ; Y = -3 ; Z = -23

--Rayon : X = 15 ; Y = 13 ; Z = 11

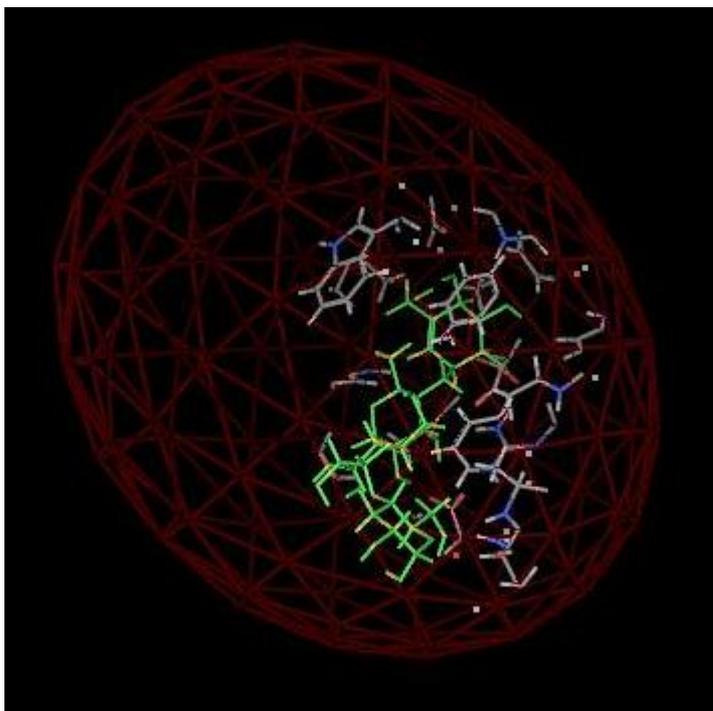


Figure 9:Grille qui définit la zone où doit se faire le docking.

2-2-2 PREPARATION DES LIGANDS (molécules)

Les ligands sont des molécules qui sont capables de se loger dans le site actif de l'enzyme. Les molécules que nous avons utilisées dans ce travail ont été dessinées à l'aide du logiciel MOE et minimisées. Il faut noter ici que la méthode de minimisation de l'énergie consiste à trouver des conformations du ligand (ou bien de la protéine et du complexe) de basse énergie (les plus stables) avec la procédure suivante : `computer-energie-minimize-Hamilton-gradient(0,01)`. Dans nos processus de minimisation nous avons utilisé l'algorithme `smart minimize` implémenté dans le package de Discovery Studio. Le rôle de la minimisation est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts interatomiques. Les structures " minimisées " correspondent généralement au minimum local de la structure de départ plutôt qu'au minimum global d'énergie.

2.2.3 Génération d'une data base (mdb)

Les molécules dessinées et minimisées ont été enregistrées dans une base mdb. La mdb permet de lancer une fois le docking de tous les ligands que l'on voudrait docker dans le site actif de notre protéine. Il faut savoir que tous les ligands ne sont pas dockés au même moment, mais chacun à son tour.

2.2.4 Le docking proprement dit

Nous avons réalisé deux docking différents. La différence entre ces docking repose au niveau des fonctions score que l'on a utilisé. Rappelons tout d'abord que l'utilisation des fonctions de scoring est double. Elles permettent de déterminer la conformation qui représentera au mieux le ligand concerné. Cette conformation est appelée "première pose". L'autre utilisation des scores est de pouvoir classer les premières poses de chaque ligand afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses. Le score est une donnée numérique utile pour quantifier la cohésion du ligand avec le récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Mais toute fois le meilleur score ne correspond pas toujours à la meilleure pose. Les fonctions scores que nous avons utilisées sont [18] : London DG Scoring, qui estime l'énergie libre de liaison de la pose considérée et Alpha DG Scoring qui est une combinaison de deux termes. Le premier terme mesure l'ajustement du ligand au site de liaison et le second terme mesure les effets des liaisons hydrogènes. Tous les inhibiteurs ont été dockés de la même façon.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans ce chapitre, nous présenterons et discutons les résultats de notre étude. Il s'agit notamment des poses avec London et avec alpha et les résultats des deux dockings. Nous présenterons différents QSAR déduit de ces dockings et la prédiction des activités de quelques inhibiteurs de l'oxadiazole.

3.1 Résultats

L'objectif principal de ce travail est de développer un modèle QSAR des inhibiteurs de l' α -glucosidase. Afin d'atteindre notre objectif, nous avons utilisé la méthode de docking. Les modèles sont utilisés dans le but d'identifier à partir de la data base, de potentiels inhibiteurs puissants la glucosidase.

-Le Docking

Le ligand natif, a été docké dans le site actif de l'enzyme avec les différentes fonctions scoring que nous avons présentées au chapitre 2. Les poses obtenues ont été comparées avec la pose naturelle dans le cristal. Ainsi les deux schémas suivants montrent la comparaison de ces poses du ligand natif avec celle de sa conformation naturelle dans le site actif du cristal obtenues en utilisant respectivement les fonctions scoring alpha et london lors du docking

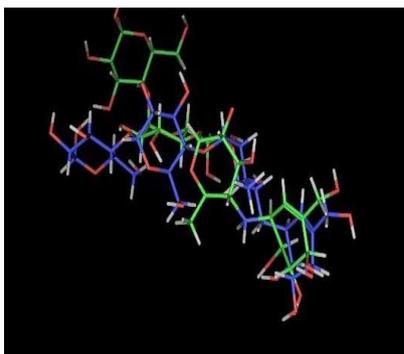


Figure 10: Pose du ligand avec alpha.

Le schéma suivant montre la pose du ligand natif obtenue en utilisant la fonction scoring london lors du docking avec celle de sa conformation naturelle dans le site actif du cristal.

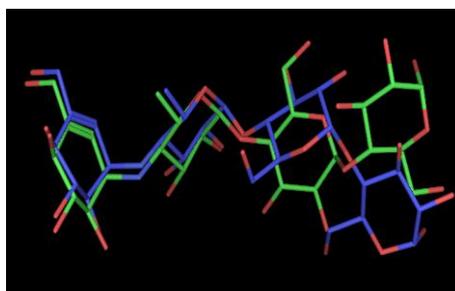


Figure 11: Pose du ligand avec london

Légende : Les atomes de carbones de la pose naturelle (conformation dans le cristal) sont en bleue de la pose obtenue en dockant sont en vert. Il ressort que les poses du ligand natif docker se superposent à sa pose naturelle dans le cristal par l'utilisation des deux fonctions scoring alpha et london. En revanche l'utilisation de la fonction scoring affinity n'a pas permis l'obtention d'une superposition entre les poses du ligand natif docké et sa pose naturelle dans le site actif. Ce qui signifie que, dans l'ensemble, les fonctions scoring utilisées dans MOE sont capables de reproduire les poses correctement. Cependant le fait que certaines fonctions reproduisent des poses et d'autres pas sera élucidé dans la partie discussion. Tous les inhibiteurs ont été dockés de la même façon, c'est-à-dire en utilisant les mêmes paramètres et les mêmes conditions de docking. Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux suivant ces tableaux montrent les différents résultats obtenus avec les inhibiteurs du jeu d'essai et du jeu de validation pour les docking que nous avons réalisé.

Table 3: Valeurs des scores obtenus par les trainings set

| Désignation | <i>DOCK1</i> <i>S(kcal/mol)</i> | DOCK2 <i>S(kcal/mol)</i> | <i>PIC</i> ₅₀ (<i>nM</i>) |
|-------------|------------------------------------|-----------------------------|--|
| Ox1 | -11,35 | -11,36 | 1,37 |
| Ox2 | -11,82 | -11,80 | 1,97 |

| | | | |
|------|--------|--------|------|
| Ox3 | -11,58 | -11,58 | 1,86 |
| Ox4 | -12,20 | -10,50 | 1,72 |
| Ox5 | -11,63 | -12,04 | 2,37 |
| Ox6 | -11,72 | -11,63 | 1,75 |
| Ox7 | -11,24 | -11,72 | 1,74 |
| Ox8 | -11,38 | -10,00 | 1,26 |
| Ox9 | -11,65 | -10,38 | 1,26 |
| Ox10 | -11,48 | -11,50 | 1,63 |
| Ox11 | -11,87 | -11,87 | 2,12 |
| Ox12 | -12,07 | -12,10 | 2,21 |

Table 4: Valeurs du score obtenu avec ce docking

| Désignation | $S_{london}(kcal/mol)$ | M(g/mol) | $pIC_{50}^{prd} / pIC_{50}^{exp}$ |
|-------------|------------------------|----------|-----------------------------------|
| Oxv | -13,03 | 442 | 1.012 |

Rappelons tout d'abord que de façon concrète, le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et le ligand. Un score ne prédire donc en rien une activité mais bien une affinité.

Nous avons corrélé les scores avec les activités expérimentales en faisant la correspondance

($pIC_{50} = -\log(IC_{50})$) du training set de 12 inhibiteurs de la glucosidase (OX1-OX12)

Les figures ci-dessous représente la corrélation entre les scores et les pIC_{50} obtenues.

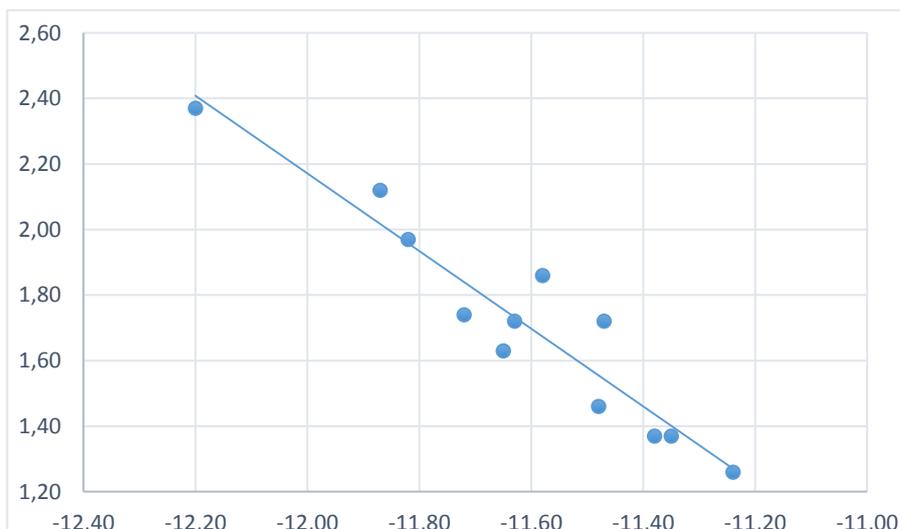


Figure 12: Graphe de corrélation entre les scores london et les pIC50.

La figure précédente la droite de corrélation entre les scores et les :pIC₅₀. L'équation QSAR correspondante s'écrit $pIC_{50} = -1,165(S_{lon}) - 11,825$. Elle a été obtenue avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,92$

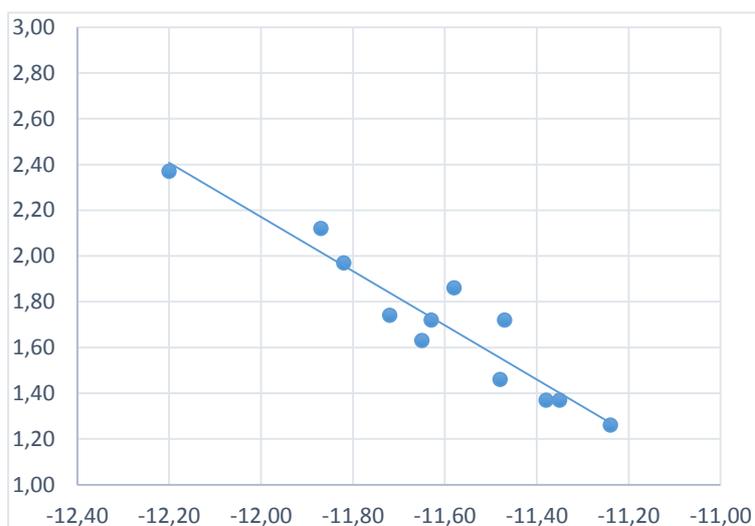


Figure 13: Graphe de corrélation des scores alpha et pIC50

La figure précédente la droite de corrélation entre les scores et les :pIC₅₀. L'équation QSAR correspondante s'écrit $pIC_{50} = -0,397(S_{alp}) - 2,79$. Elle a été obtenue avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,49$

Table 5: Structure des 05 inhibiteurs qui ont été créés. Ils ont été dessinés à l'aide du logiciel

| Ligand | M(g/mol) | IC50(nM) | pIC50 |
|--------|------------|-------------|-------------|
| | 386 | 5,62 | 2,25 |

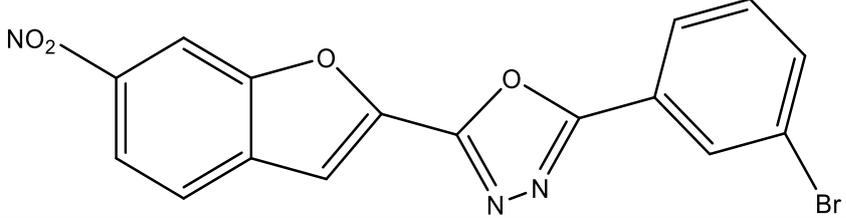
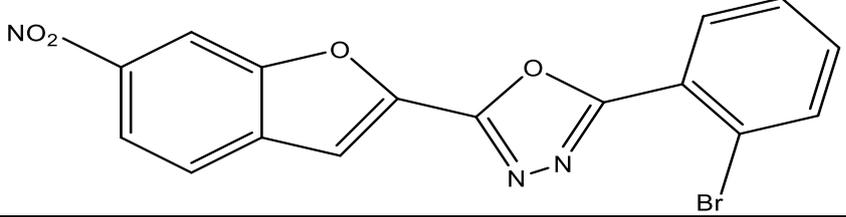
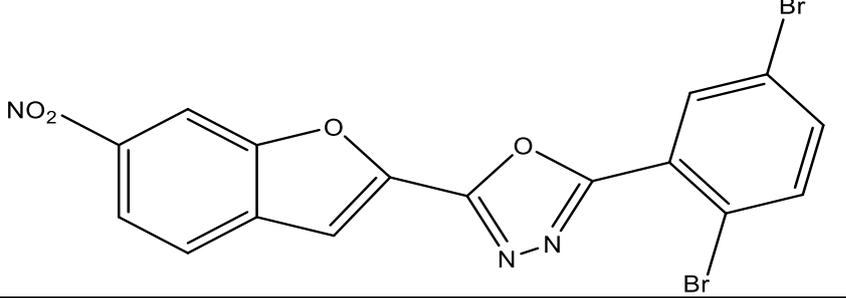
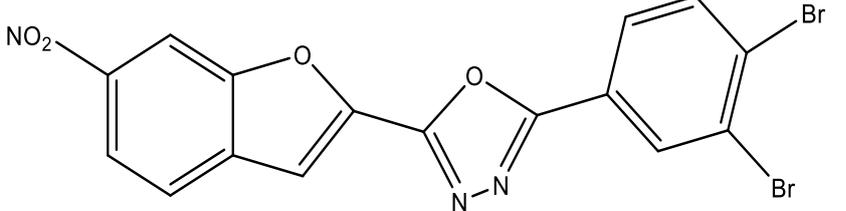
| | | | |
|---|------------|-------------|-------------|
|  | 386 | 3,38 | 2,47 |
|  | 386 | 1,73 | 2,76 |
|  | 465 | 1,58 | 2,80 |
|  | 465 | 1,09 | 2,96 |

Table 6: valeurs des scores, masses molaires et activités prédites

| Ligands | $S_{alp}(kcal/mol)$ | M(g/mol) | IC_{50} (nM) | pIC_{50} |
|---------|---------------------|----------|----------------|------------|
| Ox1 po | -9,76 | 386 | 38087,208 | 2,97 |
| Ox2 po | -9 ,87 | 386 | 12112,876 | 2,76 |
| Ox3 po | -8 ,59 | 386 | 21161,672 | 2,80 |
| Ox4 po | -7 ,54 | 465 | 4613,689 | 2,46 |
| Ox5 po | -6,66 | 465 | 9617,048 | 2,25 |

3.2 Discussions

Les résultats présentés dans ce travail portent sur deux volets. Le premier concerne la comparaison des poses obtenues par docking du ligand natif dans le site actif de la protéine avec les différentes fonctions scoring et sa pose naturelle. Le deuxième est essentiellement quantitatif et

est décrit par les corrélations entre les activités expérimentales et les scores in silico par les modèles QSAR.

3.2.1 Discussion sur reproduction des poses par les deux fonctions scoring london et alpha

Sur la figure 11 de la première partie de ce chapitre, nous avons observé une superposition des poses du ligand natif avec celles reproduites par les fonctions scoring london. Par contre la fonction scoring alpha n'a pas pu reproduire de pose identique avec celle du ligand endogène. Le contraste entre ces différentes fonctions Scoring peut s'expliquer par plusieurs facteurs parmi lesquels les types d'interaction. Les fonctions Scoring ne tiennent pas en compte les mêmes types d'interactions. Ainsi si une fonction Scoring tient compte de telles ou telles interactions et que celles-ci sont absentes dans notre système, les poses obtenues avec cette fonction Scoring seront forcément de mauvaises qualités.

3.2.2 Discussion sur la validité des modèles QSAR

Les différents docking ayant été effectués sur la base d'un même training set et d'une même validation set, nous allons discuter les résultats obtenus par les deux graphes de corrélation précédente.

- La meilleure corrélation entre les scores et les activités des 12 inhibiteurs est 0.92 obtenue grâce au résultat du docking 1 avec un Rescoring 1 à London DG et le Rescoring 2 correspondant london DG, nous montre que 92% environ des interactions ont été pris en compte par l'équation du QSAR. Le rapport des $pIC_{50}^{pré}$ par pIC_{50}^{exp} tendant vers 1 c'est-à-dire que le résultat prédit est bien proche de la valeur expérimental, nous permet de confirmer que le docking a été bien fait.

- Pour ce qui est la corrélation $R^2 = 0,491$ a été obtenue grâce au résultat du docking 2 avec rescoring 1 à alpha pour Rescoring 2 alpha DG, nous pouvons relever que 49% des interactions entre les ligands et le site actif sont prises en compte par l'équation du QSAR. Le rapport des $pIC_{50}^{pré}$ par pIC_{50}^{exp} n'étant pas proche de 1, on conclut que notre docking n'a pas été bien fait. Ceci s'explique par le fait que le ligand le plus actif possède le plus grand score (la plus grande énergie). Il est pourtant le plus actif forme un complexe de plus faible énergie par rapport au moins actif.

Il est important de rappeler que lors de nos travaux, nous avons également établi des corrélations avec les fonctions Scoring affinity. Mais nous n'avons pas introduit dans ce mémoire car elle était de mauvaise qualité. C'est-à-dire on a obtenu un mauvais coefficient de corrélation

Donc nous pouvons conclure qu'en dehors du phénomène d'interactions évoqué plus haut, d'autres raisons doivent nous permettre d'interpréter ces mauvais résultats. Ainsi le Docking étant aléatoire, cela peut aussi entraîner la mauvaise évaluation des interactions entre la protéine et les ligands. Pour remédier à ce problème, il est donc préférable de répéter cette opération.

En dépit de tout, il s'avère que le modèle QSAR ainsi obtenu est exploitable dans la prédiction de l'activité de nouvelles molécules contre la glycémie. En effet, non seulement nous avons testé sa validité avec une molécule du jeu d'essai dont l'activité prédite est très proche de la valeur expérimentale, mais aussi, nous nous sommes servis de ce modèle pour prédire les activités de nos inhibiteurs que nous avons conçus. Par ailleurs le rapport de la valeur prédite sur la valeur expérimentale de ce ligand est de l'ordre de 1,012 sachant que la prédiction est parfaite lorsque ce rapport est égal à 1. Ici, l'erreur sur la prédiction de l'activité étant seulement de 1,2%, ce qui confirme la robustesse de notre modèle QSAR. Cependant, bien que le modèle obtenu soit acceptable, il reste néanmoins perfectible. Le protocole utilisé peut comporter des limites dans son ensemble. Des erreurs manuelles de construction graphique ainsi que celles dues aux performances des moyens informatiques ne sont pas non plus à omettre.

IMPLICATIONS PEDAGOGIQUES

Les potentiels médicaments que nous concevons à travers nos ordinateurs ne sont rien d'autre que des molécules capables de bloquer ou de réduire l'activité d'une autre molécule essentielle dans le processus vitale du microbe responsable de la maladie. Cependant, durant le processus de conception, nous avons abordé un certain nombre de notions impliquant plusieurs domaines parmi lesquels la biologie, l'informatique et la physique. Par ailleurs tous ces modules font partie du programme officiel dans l'enseignement secondaire.

En biologie, nous avons évoqué les notions de molécule, d'enzyme et de protéine. Ainsi pour les enseignants que nous sommes, cela est une occasion d'améliorer nos connaissances dans ce domaine et de mieux les aborder à partir des classes de quatrième au lycée. Mais pour les élèves, c'est une occasion d'acquérir de nouvelles notions et d'étendre leur champ de connaissances.

S'agissant de l'informatique, il n'épargne aucun domaine de nos jours. Par conséquent l'enseignant doit se doter d'une bonne maîtrise de l'outil informatique tant pour son usage personnel que didactique (saisie des cours et épreuves, projection des cours, réalisation des tutoriels vidéo et audio, logiciels d'apprentissages). Les apprenants quant à eux se réjouissent de cette discipline qui s'étend de l'enseignement primaire jusqu'à l'université. L'outil informatique leur permet de mener leurs propres recherches, d'améliorer leurs conditions d'apprentissage et de réduire le coût de la documentation.

Dans le domaine de la physique, le champ d'investigation est assez étendu. Mais dans ce présent travail, nous avons évoqué la notion de molécule, d'énergie et d'interaction. S'agissant de molécules, la compréhension de cette notion passe par celle d'atome car une molécule n'est qu'un assemblage d'atomes. D'où il est important pour l'enseignant de mieux appréhender ces notions afin de les rendre plus compréhensible à ses élèves.

• Implications pédagogiques

Les leçons sont instituées au lycée à partir de la classe de cinquième. Parlant de l'énergie et des interactions, ces notions sont plus qu'utiles d'autant plus que c'est elles qui régissent notre

Quotidien à travers diverses tâches domestiques (gaz domestique) et industrielles (usines). Les interactions quant à elles peuvent être visibles à travers la chute des objets. Il paraît donc nécessaire d'introduire ces notions dans le programme scolaire des apprenants afin que ces derniers soient outillés pour comprendre leur environnement.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail consistait à concevoir *in silico* d'analyser les inhibiteurs de l' α -glucosidase. Pour cela nous sommes parties sur une série de 12 inhibiteurs dériver d'oxadiazole pour bâtir un modèle QSAR. Cette étude a été réalisée grâce aux outils informatiques de simulation moléculaire disponible dans notre laboratoire. Les interactions ont été étudiées par le docking flexible des ligands au site actif de la protéine. De façon générale, on peut affirmer l'existence d'une forte corrélation entre activités biologique des inhibiteurs étudiier et l'affinité de fixation au site actif de la protéine cible spécifiquement, les équations du QSAR obtenues nous permettent de prédirent l'activité des molécules synthétisées. L'objectif ici est d'obtenir des inhibiteurs qui peuvent combattre le diabète. Il est donc question d'affiner notre étape de de base dans la conception assister par ordinateur des médicaments anti diabète.il faut garder en mémoire que cette technologie est très sensible au coordonnées 3D de la cible et peut générer malgré tout de nombreuses faux négatifs et faux positifs. Les principales sources pouvant être le site actif dénué de cavité, imprécision des fonctions d'évaluation flexibilité de la protéine et ligands, interaction non usuelle. C'est la raison pour laquelle le docking moléculaire reste une technologie à mettre en œuvre car elle doit être appliquée et constamment adapter en fonction du contexte dans lequel le projet se place. De ce fait nous envisagions le recours à d'autres méthodes d'études des interactions protéine -ligand. On peut d'ailleurs penser aux modèles pharmacophores, méthodes de complexation. Ceci permettra sans doute d'améliorer ces résultats obtenus dans ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Amit et al., 2014 ; Boukarai et al., 2017.
- [2] [http : //www.pdb.org](http://www.pdb.org) Consulté le 03/05/2018 à 15h32
- [3] [http : //www.rcsb.org](http://www.rcsb.org). Consulté le 03/05/2018 à 13h45
- [4] Morris A. L., MacArthur M. W. Hutchinson E.G., Thornton J. M. Stereochemical quality of protein structure coordinates *Proteins* 1992 12: 345-364.
- [5] Gopalakrishnan B., Aparna V., Jeevan J. *J Chem Inf Model* 2005 45: 1101-8.
- [6] Winder F.G., Collins P.B., Inhibition by isoniazid of synthesis of mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Gen Microbiol* 1970 63 : 41-8.
- [7] [http : //www.pdb.org](http://www.pdb.org) Consulté le 03/05/2018 à 15h32
- [8] Schrödinger E., Quantization as an Eigenvalue Problem, *Ann. Phys. Leipzig.*, 79, (1926), 361.
- [9] Born M. R., Oppenheimer, Zur Quantentheorie der Molekeln, *Ann. Phys.*, (Leipzig), 84, (1927), 457.
- [10] Pauli W., Über den Zusammenhang des Abschlusses der Elektronengruppen im Atom mit der Komplexstruktur der Spektren, *Z. Phys.*, 31, (1925), 765.
- [11] Slater J. C., The Theory of Complex Spectra, *Phys. Rev.*, 34, (1929), 1293.
- [12] Nakamura Y., Yamaguchi T., Takahashi S., Hashimoto S., Iwatani K., Nakagawa Y., *Pharmacobio J. Dyn* 1981
- [13] OTTOU. T, Etude par simulation de dynamique moléculaire de la structure et de la mobilité moléculaire des matériaux complexes d'intérêt thérapeutique, thèse Doctorat ; Université de Lille et Université de Yaoundé I, 27 Juin 2014.
- [13] Karp G. *Biologie moléculaire et cellulaire*. 3éme édition. France : De Boeck. 2004.
- [14] Voet D., Voet J. G. *Biochimie*. 2éme édition. France : De Boeck. 2005.
- [15] Patrick, G.L Aspect quantitatifs des relations structures-activité (RSA), in *chimie Pharmaceutique* (2002). P 648.
- [16] Berman H. M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T. N., Weissig H., Shindyalov I.N., P.E .Bourne, The Protein Data Bank., *Nucleic Acids Res* 2000 28 : 235-242
- [17] home/MOE2007-09/html/tutorial/docking