

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MOHAMED Boudiaf – M'Sila

Faculté des sciences

Département de chimie

Mémoire de Fin d'Études

En vue de l'obtention du diplôme de

Master (LMD)

Spécialité : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Intitulé :

**Étude théorique de l'activité chimique d'une réaction 1,3 dipolaire et
de l'activité biologique de dérivés du benzimidazole**

Présenté par :

SIDALI E-cheyma

BOUDRAA Fatima

Encadré par :

Dr. BOUACHA Samir

Promotion 2019-2020



Remerciements

On remercie tout d'abord Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

Nous tenons à remercier aussi :

Notre encadreur Monsieur BOUACHA Samir

Monsieur le chef de département de chimie : DAKHOUCHE
Achour

Nos chères familles.

Tous les enseignants du département de chimie et les étudiants de la promotion 2019 /2020. Et tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce travail :

- ✓ *À mes très chers parents pour leurs sacrifices (Saleh et Salima).*
- ✓ *À mon mari(Ridha) et les chers parents (Antar et Fatima).*
- ✓ *À mes sœurs (Batoul, Meriem, somia, Nina et Zohra) .et leurs enfants (Douaa, Maria, Sami, Tadj, Akram, Fatima, Mohamed Saleh, Ahmed, Hanine et Mohamed).*
- ✓ *À mon frère (Saïd) et sa femme (wafa)*
- ✓ *À mon binôme(Fatima).*
- ✓ *À toute ma famille.*
- ✓ *À tous ceux, qui de près ou de loin m'ont aidé à mener à bon terme la réalisation de ce travail.*

SIDALI E-cheyma

Dédicace

Je dédie ce travail :

- ✓ À mes très chers parents pour leurs sacrifices (Mohammed, Zahra).
- ✓ À mes sœurs (Aïcha, Nacira) .et leurs enfants (Nessrine, Imane, Fathi, Saïf, Ayoub, Anisse, Rafike, Amina, Mohammed).
- ✓ À mes frères (Djamel, Nadji, Mostapha, Lazhar) et leurs femmes (Akila, Afaf, Fatima)
- ✓ À mon binôme (Chaima).
- ✓ À toute ma famille.
- ✓ À tous ceux, qui de près ou de loin m'ont aidé à mener à bon terme la réalisation de ce travail.

BOUDRAA Fatima

ملخص

في هذا العمل، من ناحية، اقترحنا دراسة النشاط الكيميائي للتفاعل بين اثيل ازيد أسيتات وألكيلين ثلاثي الفلورمثيل باستخدام عدة طرق نظرية مختلفة: حساب حواجز التنشيط، نموذج Domingo واستخدام نموذج Houk (المدارات الحدودية). حيث كانت النتائج النظرية للانتقائية تتفق مع البيانات التجريبية. من ناحية أخرى، تمكنا من دراسة النشاط البيولوجي لمشتقات البنزيميدازول التي هي مثبطات بوليميراز HCV- NS5B باستخدام تقنية الالتحام الجزيئي. تتميز المركبات 1 و 8 و 10 بأعلى نشاط وأفضل درجات الالتحام. يمكن استخدام المعلومات التي تم الحصول عليها من الالتحام الجزيئي لتصميم مشتقات البنزيميدازول كمثبطات جديدة قوية لـ بوليميراز RNA- NS5B لفيروس الكبد من النوع س.

الكلمات المفتاحية:

تفاعل الضم الحلقي 1-3 ثنائي القطب، DFT، الالتحام الجزيئي، بوليميريز RNA، NS5B، التهاب الكبد C

Résumé

Dans ce travail, d'une part nous avons proposé d'étudier la réactivité chimique (la régiosélectivité) d'une réaction de entre d'éthyle azidoacétate et l'alcynyle trifluorométhyle en utilisant plusieurs approches théoriques différentes : calcul des barrières d'activation, application du modèle de Domingo et utilisation de la règle de Houk (les orbitales frontières). Les résultats théoriques de la régiosélectivité sont en accord avec les données expérimentales. D'une autre part, on peut étudier l'activité biologique de dérivés du benzimidazole comme des inhibiteurs de la polymérase du VHC-NS5B en utilisant la technique d'amarrage moléculaire. Les ligands actifs 1, 8 et 10 ont la plus haute activité et les meilleurs scores d'amarrage. Les informations obtenues à partir d'amarrage moléculaire peuvent être utilisées pour la conception de dérivés du benzimidazole comme des nouveaux inhibiteurs puissants de l'ARN polymérase VHC-NS5B.

Mots clés : Cycloaddition 1-3 dipolaires, DFT, Amarrage moléculaire, ARN polymérase, NS5B, Hépatite C.

Summary

In this work, on the hand, we propose to study the chemical reactivity (regioselectivity) of a 1, 3-dipolar cycloaddition reaction between ethyl azidoacetate and alkynyl trifluoromethyl using several different theoretical approaches: calculation of activation barriers, application of the Domingo model and use of Houk's rule. The theoretical results of regioselectivity are in agreement with the experimental data. On the other hand, we were able to study the biological activity of benzimidazole derivatives such as HCV-NS5B polymerase inhibitors using the molecular docking. Active ligands 1, 8 and 10 have the highest activity and the best docking scores. The information obtained from molecular docking can be used to design benzimidazole derivatives as new potent inhibitors of hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase.

Keywords: 1-3 dipolar reactions, DFT, Docking, Benzimidazole derivatives, Hepatitis C Virus, NS5B RNA-dependent RNA polymerase.

Liste des abréviations

- CD 13** : Cycloaddition 1,3 dipolaires
- FMO** : la théorie des orbitales moléculaires frontières
- HOMO** : Highest Occupied Molecular Orbital
- LUMO** : Lowest Unoccupied Molecular Orbital
- DFT** : la théorie de la Fonctionnelle de la Densité.
- OM** : Orbite moléculaire
- B3LYP** : **Becke 3- parameter Lee-Yang-Parr**
- IC50** : Inhibitory concentration 50
- RMSD** : Root-mean-square derivation
- PDB** : Protein data bank
- VHC** : Virus de l'Hépatite C

Liste des figures

Figure	Titre	Page
A-1.1	Structure de résonance des dipôles 1,3	7
A-1.2	Exemples de dipôles -1,3 type anion allyle	8
A-1.3	Figure 3 : A.3 : Exemples de dipôles -1,3 type anion propargyle-allényle	8
A-1.4	Le mécanisme des réactions de cycloaddition 1, 3-dipolaire	9
A-1.5	Cycloaddition dipolaire-1,3 avec des alcènes monosubstitués	9
A-1.6	Structure de résonance des azides	10
A-1.7	Cycloaddition dipolaire-1,3 entre l'azide et des alcynes avec ou sans catalyseur (Cu(I)).	10
A-1.8	Cycloadditions 1, 3-dipolaire d'azidoalcane (R ₂ CNN) avec certains dipolarophiles	11
A-2.1	Diagramme énergétique des orbitales moléculaires frontières	18
A-2.2	Profil énergétique d'une réaction chimique en deux étapes	20
A-2.2	Stimulation du Docking et scoring	21
B-1.1	Résultat expérimental de réaction CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyle trifluorométhyle (ATM)	28
B-1.2	États de transition TS _{ortho} et TS _{meta} correspondants aux 2 modes de cyclisation entre d'éthyle azidoacétate et l'alcynyle trifluorométhyle dans le solvant toluène	36
B-1.3	Illustration de la règle de Houk	41
B-1.4	Les interactions plus favorisées selon la Règle de Houk	42
B-1.5	Prédiction des deux centres d'interactions favorisés des indices ω_k^+ (Electrophile) / NK (Nucléophile).	43
B-2.1	Structure schématique de la particule virale VHC	44

B-2.2	Structure du génome du VHC	48
B-2.3	Structure de benzimidazole	49
B-2.4	Ligands 1, 8 et 10 (composés de référence) présentent respectivement l'activité la plus élevée	51
B-2.5	Interaction de liaison 2D et 3D du composé 1 dans le site actif de 2HAI	56
B-2.5	Interaction de liaison 2D et 3D du composé 8 dans le site actif de 2HAI	57
B-2.5	Interaction de liaison 2D et 3D du composé 10 dans le site actif de 2HAI	58

Liste des tableaux

Figure	Titre	Page
B-1.1	Énergies des orbitales frontalières pour les différents composés au niveau théorique B3LYP/6-31G (d,p)	37
B-1.2	Propriétés globales du Dipôle (EZA) et Dipolarophile(ATM)	38
B-1.3	Energies relatives (énergie d'activation et énergie de réaction) en kcal/mol au niveau B3LYP/6-31G (d, p) pour la réaction CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyletrifluorométhyle (ATM) dans le solvant toluène	40
B.2.2	code des ligands & Activité (IC50) de dérivés du benzimidazole.	52
B.2.3	Résultats de l'analyse d'amarrage des composés 1, 8 et 10 respectivement	55

Liste des schémas

Schéma	Titre	Page
A.2.1	Approches de la structure moléculaire	18
B-1.1	Énergies des orbitales frontières HOMO/LUMO et les interactions entre les OMs	38
B-1.2	Profile énergétique, en Kcal/mol de la réaction de CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyletrifluorométhyle (ATM) dans le solvant toluène	42

Table des matières

Résumé.....	V
Summary	VI
Liste des abréviations.....	VII
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux	X
Liste des schémas.....	XI

INTRODUCTION GENERALE.....	1
----------------------------	---

PARTIE A : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE A.1 : Les réactions de cycloadditions	6
A.1. 1. Préambule.....	6
A.1.2. La réaction de cycloaddition 1,3-Dipolaire	6
A.1.2. 1. Type des dipôles 1,3.....	7
A.1.2.2. Mécanisme.....	8
A.1.2. 3. La régiosélectivité.....	9
A.1.2.4. Les travaux sur l'azide	10
REFERENCES.	12

CHAPITRE A.2 : Approches théoriques	16
A.2.1. La modélisation moléculaire :.....	16
A.2.2. Approches théoriques de la réactivité chimique	19
A.2.2.1. La théorie des orbitales moléculaires frontières (FMO).....	19
A.2.2.2. La théorie de l'état de transition.....	20
A.2.2.3.Exploration de la surface de potentiel, application à la réactivité chimique.	20
A.2.2.4. Indices chimiques globaux dérivant de la DFT.....	22
A.2.2.5. Indices locaux de réactivité dérivant de la DFT conceptuelle.....	24
A.2.2.6. Modèle polaire de Domingo basé sur l'utilisation des indices ω_k et N_k	26
A.2.3. L'amarrage moléculaire « Docking »	26
A.2.4. Les outils du docking moléculaire	28
A.2.4. 1. Ligand	29
A.2.4. 2. Récepteur.....	29

A.2.4.3. Comparaison et superposition de molécules.....	30
A.2.4. 4. Les programmes du docking	31
REFERENCES.	32
<u>PARTIE B : RÉSULTATS ET DISCUSSION</u>	34
CHAPITRE B-1 : Etude théorique de la régéosélèctivité de la réaction1, 3 dipolaire entre un alcynyle trifluorométhyle et d'éthyle azidoacétate	
B-1. 1. Introduction.....	36
B-1. 2. Résultats et discussions.....	37
B-1. 2.1. Prédiction du caractère NED/IED.....	37
B-1. 2.2. L'analyse par des propriétés globales	39
B-1. 2.3. Prédiction et rationalisation de la régiosélèctivité expérimentale :.....	39
B-1. 2.3.1. Calcul des barrières d'activation.....	39
B-1. 2.3.2. Utilisation de la règle de Houk :.....	42
B-1. 2.3.3. L'analyse basée sur des propriétés locales.	44
CONCLUSION	45
REFERENCES	46
CHAPITRE B-2 : Réactivité biologique de Benzimidazoles par la technique d'amarage (docking)	
B.2.1. Introduction	48
B.2.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	52
B.2.2.1. Préparation de protéine.....	52
B.2.2.2. Préparation des ligands.....	53
B.2.2.3. Génération des grilles du récepteur.....	53
B.2.2.4. L'amarrage	53
B.2.3. Résultats et discussion.....	54
REFERENCES	59
CONCLUSION GENERALE.....	61

Introduction générale

La modélisation par ordinateur d'une molécule implique généralement une représentation graphique de sa géométrie, suivie de l'application d'une méthode théorique de calcul pour évaluer les propriétés physiques et chimiques de la molécule à étudier. Ces méthodes de calculs peuvent être par exemple : la mécanique quantique semi empirique, ou encore la mécanique moléculaire.

L'étude d'une réaction chimique nécessite l'usage de méthodes d'évaluation de l'énergie du système prenant en compte la nature quantique de la liaison chimique. Dans le cadre de ce travail, nous avons choisi la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT, pour Density Functionnal Theory) qui est un bon compromis entre précision et temps de calcul.

Tout d'abord, ces études montrent la nécessité d'une démarche conjointe théorie/expérience. Ces deux facettes sont extrêmement complémentaires : les résultats expérimentaux interrogent et guident les études théoriques et vice-versa.

Les théories quantiques de la réactivité chimique permettent, actuellement, de justifier et prédire d'une façon rationnelle les régiosélectivités et stéréosélectivité expérimentales. En effet, plusieurs travaux relatifs à la prédiction théorique de la régiosélectivité et la stéréosélectivité dans les réactions de cycloaddition Diels-Alder et dipolaires 1,3 ont fait l'objet d'études théorique et expérimentales.

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement préclinique [22]. L'identification et la mise au point de nouveaux médicaments se fait par l'amarrage moléculaire ou docking moléculaire sert souvent à déterminer l'orientation de petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité. Ainsi, l'amarrage joue un rôle important dans la conception pensée de nouveaux médicaments.

Dans ce travail, on se propose d'étudier la réactivité chimique d'une réaction de cycloaddition 1,3 dipolaires en utilisant plusieurs approches théoriques et on étudie aussi la réactivité biologique de Benzimidazoles par la technique l'amarrage (docking).

La thèse comprend deux parties :

- La première partie est consacrée pour l'essentiel aux différents concepts et outils théoriques que nous avons utilisés pour étudier la réactivité chimique d'une réaction de cycloaddition 1,3 dipolaire et la réactivité biologique des produits de cette réaction.
- La deuxième partie (partie pratique) est exposée les résultats de la modélisation et simulation de la réaction cyloaddition dipolaire-1,3 entre d'éthyle azidoacétate et l'alcynyle trifluorométhyle et les résultats de la réactivité biologique -inhibiteurs de l'ARN polymérase VHC-NS5B - de benzimidazoles.

Enfin, cette mémoire se termine par une conclusion générale.

Partie A

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE **(Aspects théoriques)**

CHAPITRE A-1

Les réactions de cycloaddition

A.1. Les réactions de cycloadditions

A.1. 1. Préambule

L'hétérocycle constitue le squelette de base pour une grande variété de composés d'intérêt chimique, biologique, pharmacologique et industriel [1,2]. De ce fait, la chimie hétérocyclique est devenue le centre d'intérêt d'une grande communauté de chimistes expérimentateurs et théoriciens.

Les réactions de cycloaddition constituent l'une des méthodes les plus efficaces pour la synthèse des cycles et hétérocycles à partir de petits fragments. Parmi ces réactions, on peut distinguer, entre autres [3-4] :

- Les réactions de cycloaddition [2+1]
- Les réactions de cycloaddition [2+2]
- Les réactions de cycloaddition [4+1]
- Les réactions de Diels-Alder ou cycloaddition [4+2]
- Les réactions 1,3-Dipolaires ou cycloaddition [3+2]

Notre travail est basé sur la réaction de cycloaddition 1,3-Dipolaires, donc il faut faire un bref rappel sur ce type de réactions de cycloadditions.

A.1.2. La réaction de cycloaddition 1,3-Dipolaire

La réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire est une méthode de choix pour la synthèse des composés cycliques et hétérocycliques à cinq chaînons [5,6]. Ces réactions sont également utilisées pour la synthèse des produits naturels comme les dérivés du sucre [7], les β -lactames [8], les aminoacides [9], les alcaloïdes [10] et des produits d'intérêt pharmacologique comme les pyrazolines ayant plusieurs activités biologiques (anti-inflammatoire, analgésique, agents anti-implantation et les herbicides) [11].

Les dipôles possèdent quatre électrons π répartis sur 3 atomes voisins. Chaque dipôle présente au moins une structure de résonance où les charges opposées sont dans une relation 1,3 (figure A.1). C'est cette caractéristique structurale qui a conduit à l'appellation réaction de cycloaddition dipolaire 1,3 [12-13]. La figure A.1 présente la structure d'un dipôle 1,3 définie comme a-b-c qui subit une réaction de cycloaddition avec une dipolarophile [12-14-15].

A.1.2. 1. Type des dipôles 1,3

Les dipôles 1,3 [16] peuvent être divisés en deux types :

- **Type d'anion allyle**

Ce type d'anion est caractérisé par quatre électrons dans trois orbitales Pz parallèles et perpendiculaires au plan du dipôle, ainsi le dipôle -1,3 est incliné. Il a deux structures de résonance dans lesquelles les trois centres ont un octet d'électron, et deux structures dans lesquelles a ou c ont un sextet d'électron. L'atome central b peut être l'azote, l'oxygène ou le soufre.

- **Type d'anion propargyle-allényle**

Ce type d'anion possède une orbitale π supplémentaire située dans le plan orthogonal à l'orbitale moléculaire (OM), donc cette dernière orbitale n'est pas impliquée directement dans la structure de résonance et ainsi dans les réactions du dipôle. Ce type d'anion est linéaire dont l'atome central b est limité à l'azote.

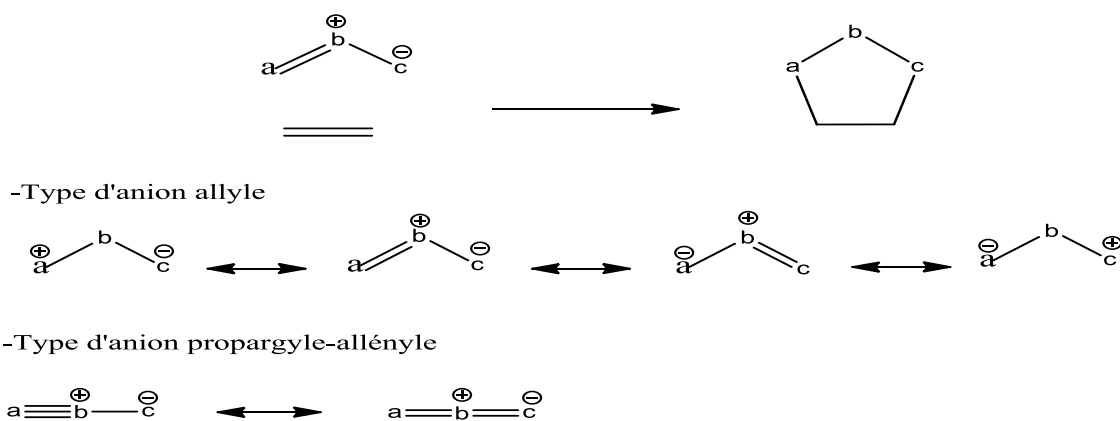


Figure A.1 : Structure de résonance des dipôles 1,3.

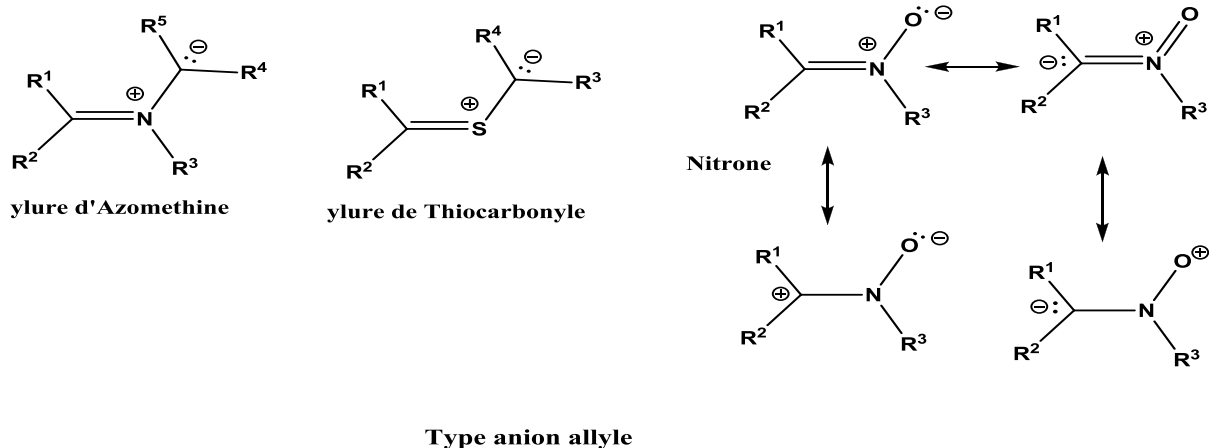


Figure A.2 : Exemples de dipôles -1,3 type anion allyle.

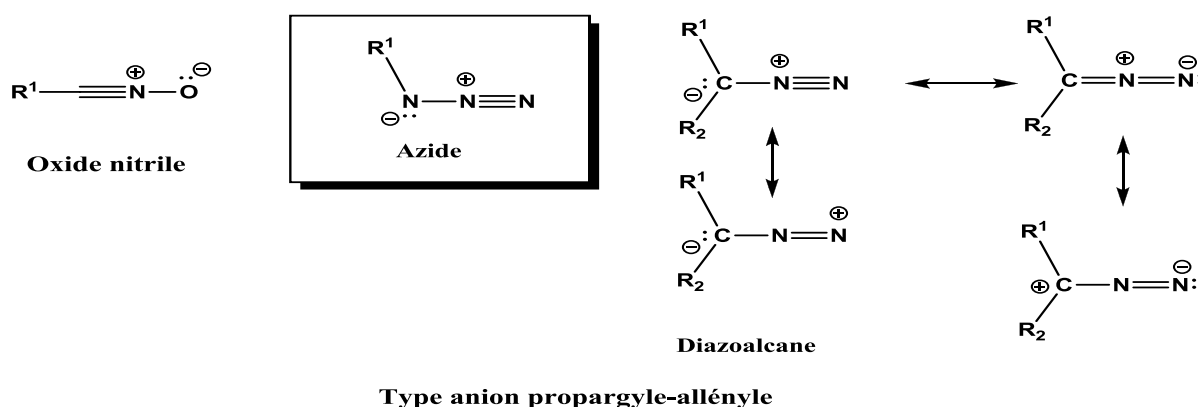


Figure A.3 : Exemples de dipôles -1,3 type anion propargyle-allényle.

A.1.2.2. Mécanisme

Le mécanisme des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire a beaucoup suscité l'intérêt des chimistes expérimentateurs [17-18] et théoriciens [19-20]. Néanmoins, deux cas de figure peuvent se présenter en général :

- i. Soit un mécanisme concerté caractérisé par la formation simultanée de deux liaisons σ (réaction à 4 centres) avec un degré d'asynchronicité qui dépend des substituants portés par le dipôle et/ou le dipolarophile.
- ii. Soit un mécanisme en deux étapes (stepwise) passant par un intermédiaire biradicalaire ou zwitterionique.
- iii. Mécanisme radicalaire : sur la base de la stéréospécificité [21- 22]. Firestone [23] considère que la réaction de CD-1,3 procédait via un intermédiaire di-radical.

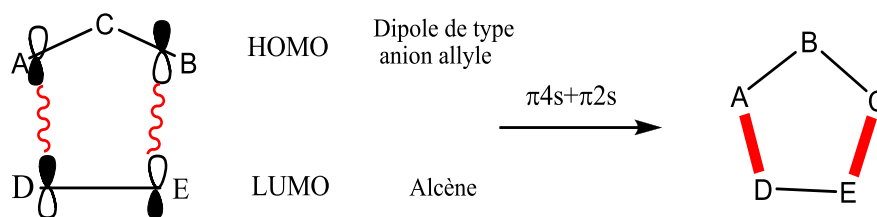


Figure A.4 : Le mécanisme des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire

A.1.2. 3. La régiosélectivité

Quand le dipôle et le dipôlarophile sont asymétriques, il y a deux orientations possibles pour l'addition. Les facteurs des effets stériques et électroniques jouent un rôle déterminant dans la régiosélectivité d'addition. En générale l'interprétation satisfaisante de la régiosélectivité de la CD-1,3 est basée sur le concept des orbitales frontières [24]. Comme dans les réactions de Diels Alder, l'orientation la plus favorisée est celle qui donne l'interaction de plus basse énergie entre les orbitales moléculaires frontières du dipôle et du dipôlarophile (Voir la figure A.5).

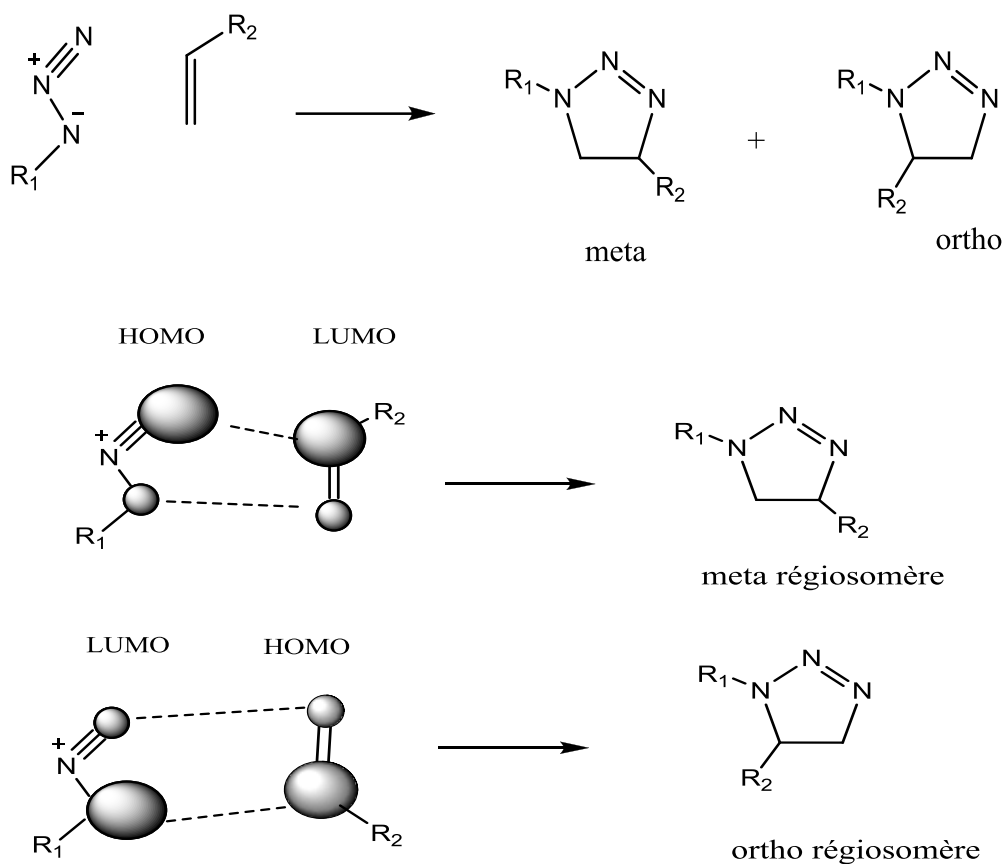


Figure A.5 : Cycloaddition dipolaire-1,3 avec des alcènes monosubstitués.

A.1.2.4. Les travaux sur l'azide

Les azides sont considérés comme des composés très importants dans l'industrie et dans l'application biologique [25]. Les dérivés d'azide ont été utilisés en vulcanisation du caoutchouc, pour produire des polymères, teintures, écume de plastiques, médicaments, pesticides et herbicides [26]. Beaucoup de composés d'azide possèdent des activités mutagènes [27].

La chimie des azides a donc attiré l'attention de beaucoup de chimistes, puisque, plusieurs des composés d'azides jouent un rôle important dans la chimie organique [28-29]. Une des applications synthétiques les plus utiles des azides est la préparation des 1,2,3-triazolines par la réaction cycloaddition 1,3-dipolaire des azides avec des alcènes substitués [30].



Figure.A.6 : Structure de résonance des azides.

Fahmi Himo et ses collaborateurs ont étudié des réactions 1,3-dipolaire entre les azides et les alcynes utilisant en la méthode DFT (B3LYP/6-311G(d,p)) en présence de solvants (H₂O, Acetonitrile) par le modèle de solvation COSMO, ils ont trouvé pour le mécanisme concerté et sans catalyseur (cuivre), deux régiosomères 1,4 et 1,5 du 1,2,3-triazole, qui possèdent des barrières d'activation très proche : 25,7 et 26,0 kcal/mol, respectivement. L'expérience appuie cette prédiction : un mélange 1:1 dans le procédé thermique. Mais dans le catalyseur Cu(I), le mécanisme change et devient non concerté (stepwise) en donnant un seul régiosomère 1,4 du 1,2,3-triazole (voir Figure.A.7). [31]

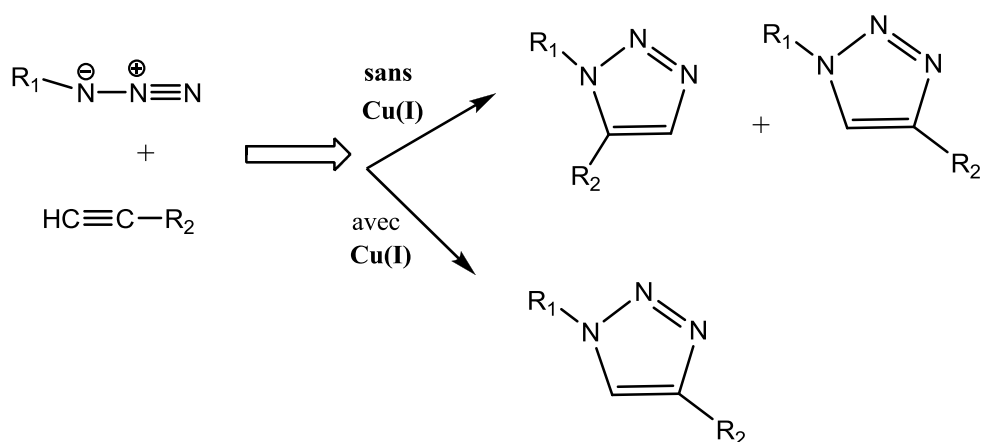


Figure A.7 : Cycloaddition dipolaire-1,3 entre l'azide et des alcynes avec ou sans catalyseur (Cu(I)).

Nguyen et ses collaborateurs, ont étudié des réactions de cycloadditions 1,3-dipolaire du diazoalcane ($R_2C=N=N$), l'acide hydrazoïque ($HNNN$), et de l'oxyde nitreux (N_2O). avec certains dipolarophiles simples. comme les acétyléniques, les phosphalcyne et les cyanures en utilisant des calculs de chimie quantique DFT sous le niveau B3LYP/6-311++G (d, p), dans les cas les plus simples, en associant également la méthode CCSD (T) , les coefficients des orbitales moléculaires frontières, les indices de réactivité dérivant de la DFT ont tous constitué un outil utile pour prédire la régiosélectivité dans ces réactions de cycloaddition. Ces études confirment la régiosélectivité obtenue expérimentalement. [32]

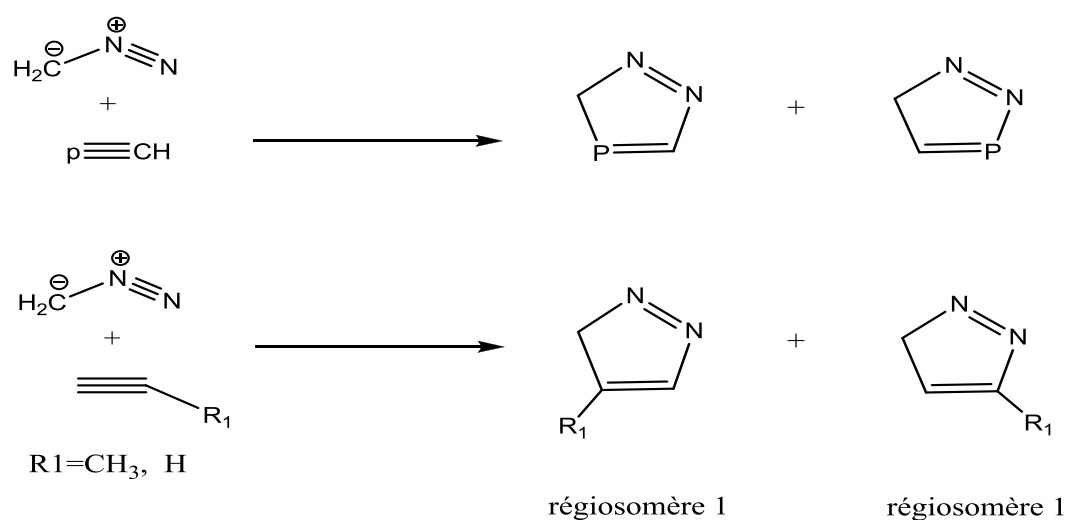


Figure A.8 : Cycloadditions 1,3-dipolaire du diazoalcane ($R_2C=N=N$) avec certains dipolarophiles.

Ji-Cai Fan a étudié les réactions de cycloadditions 1,3-dipolaires des azides avec des oléfines riches en électrons sous haute pression utilisant la méthode DFT avec le fonctionnel B3LYP et les bases 6-31G (d) et 6-31+G (d, p), il a trouvé que la haute pression diminue les barrières d'énergies de façon négligeable par rapport les autres facteurs comme : le solvant et l'acide de Lewis. Les résultats des calculs théoriques indiquent également que le mécanisme concerté est préféré du point de vue cinétique et thermodynamique par rapport au mécanisme à deux étapes (stepwise). [33]

RÉFÉRENCES.

- [1]. I. W. Southon, J. Buckingham, «Dictionary of Alkaloids», Chapman & Hall, New York, **1989**.
- [2]. K.V. Gothelf, K. A. Jørgensen, Chem. Rev. **1998**, 98, 863.
- [3]. S. Ma, Chem. Rev. **2005**, 105, 2829.
- [4]. S. E. Denmark, A. Thorarensen, Chem. Rev. **1996**, 96, 137.
- [5]. (a) D. P. Curran, Ed, « Advances in Cycloaddition », JAI: Greenwich, **1988**, 1; **1990**, 2.
(b) A. Padwa, « Intermolecular 1,3-Dipolar Cycloaddition », B. Trost, I. M. Fleming, Eds, « In Comprehensive Organic Synthesis », Pergamon: Oxford, **1991**, 4, 1069
- [6]. P. De Shong, J. M. Leginus, S. W. Lander, J Org Chem, **1986**, 51, 574.
- [7]. T. Kametani, S.-D. Chu, T. Honda, J Chem Soc Perkin Trans. **1988**, 1, 1598.
- [8]. R. Annuziata, M. Chinquini, F. Cozzi, L. Raimondi, Tetrahedron. **1987**, 43, 4051.
- [9]. (a) J. Tufariello, J Acc Chem Res **1979**, 11, 369. (b) S. A. Ali, J. H. Khan, M. I. M. Wazeer, Tetrahedron. **1988**, 44, 5911. (c) A. Hall, K. P. Meldrum, P. R. Therond, R. H. Wightman, Synlett **1997**, 123. (d) A. Goti, V. Fedi, L. Nannelli, F. De Sarlo, A. Brandi, Synlett **1997**, 577.
- [10]. (a) Elugero, « In Comprehensive Heterocyclic Chemistry », A. R. Katritzky, C. W. Rees, Eds, Pergamon Press: Oxford **1984**, 5. (b) N. Araino, J. Miura, Y. Oda, H. Nishioka, Chem Abstr **1996**, 125, 300995. (c) C. R. Harrison, R. M. Lett, S. F. McCann, R. Shapiro, T. M. Stevenson, Chem Abstr **1996**, 124, 202246. (d) N. I. Gusar, L. I. Gulko, N. R. Gorodetskova, B. M. Klebanov, Chem Abstr **1995**, 122, 290766. (e) P. Pankaj, K. Sushil, S. Manish, P. Hansa, IL FARMACO **1995**, 50.
- [11]. R. B. Woodward, R. Hoffmann, « The Conservation of Orbital Symmetry », Verlag Chemie: Weinheim, **1970**.
- [12]. R. Huisgen, A. Padwa, « In 1, 3-Dipolar Cycloaddition Chemistry », Wiley- Interscience: New York, **1984**, 1-2.

- [13]. A. Padwa, *Angw. Chem. Int. Ed. Engl.* **1976**, 15, 123.
- [14]. A. Padwa, «In *Comprehensive Organic Synthesis* », B. M.Trost, I. Flemming, Eds, Pergamon Press: Oxford, **1991**, 4, 1069.
- [15]. P. A. Wade, «In *Comprehensive Organic Synthesis*», B. M.Trost, I. Flemming, Eds, Pergamon Press: Oxford, **1991**, 4, 1111.
- [16]. A. Padwa, « In *1, 3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* », Wiley-Interscience: New York, **1984**, 1-2.
- [17]. K. Elender, P. Riebel, A. Weber, J. Sauer, *Tetrahedron*.**2000**, 56, 4261.
- [18]. M. P. Pekasky, W. L. Jorgensen, *Faraday Discuss.* **1998**, 110, 379.
- [19]. L. R. Domingo, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2265.
- [20]. R. A. Firestone, *J. Chem. Soc.A.* **1970**, 1570.
- [21]. R. A. Firestone, *J. Org. Chem.***1972**, 37, 2181.
- [22]. R. A. Firestone, *J. Org. Chem.***1968**, 33, 2285.
- [23]. R. B. Woodward, R. Hoffmann, «*The Conservation of Orbital Symmetry*», Verlag Chemie, Weinheim, **1970**.
- [24]. Scriven, E. F. V, «*Azides and Nitrenes: Reactivity and Utility*», Academic Press: Orlando, Fla, **1984**.
- [25]. C. Sander, F. J. Muehlbour, *Enviromental Exp. Bot.* **1977**, 17, 43.
- [26]. W. Owais, J. L. Rosichan, R. C. Roland, A.Kleinhofs, R. N. Nilan, *Mut. Res.* **1983**, 118, 299.
- [27]. E. F. V. Scriven, K. Turnbull, *Chem. Rev.* 1983, 88, 35.
- [28]. A.N. Ridois, *J. Heterocycl. Chem.* **1984**, 21, 1169.
- [29]. P .Carmela, P .Grunanger, « In *1, 3-Dipolar Cycloadition Chemistry*», A. Padwa, Ed, John Wiley: New York,
- [30]. B .Loubinoux, J. L. Colin, S.Tabbache, *J. Heterocycl. Chem.* **1984**.

[31]. F.Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, J. Am. Chem. Soc. **2005**, 9, 1,127.

[32]. L. T. NGUYEN, AL. J. Phys. Org. Chem. **2003**, 16, 615–625.

[33]. J. C. Fan, al, Journal of Molecular Structure: Theochem. **2007**, 8211, 45–152.

CHAPITRE –A2

Approches théoriques

A.2. Approches théoriques

Le développement au cours de ces dernières années des moyens informatiques (ordinateurs puissants, logiciel...etc.) a permis à la chimie de s'enrichir d'outils spécialement dédiés à la représentation des molécules : *la modélisation moléculaire*. Il est aujourd'hui nécessaire, sinon obligatoire de faire appel à une description physique et tridimensionnelle [1] des molécules dans le développement et la compréhension de certains aspects en chimie générale et plus particulièrement en chimie médicinale et biologique.

A.2.1. La modélisation moléculaire :

a) Principe.

Modéliser une molécule consiste à préciser, à partir de calculs, la position des atomes qui la constituent, dans l'espace et de calculer l'énergie de la structure ainsi engendrée. Une représentation " *la plus proche possible de la réalité* " correspondra à une structure de la plus basse énergie.

b) Calcul.

C'est une méthode qui s'adresse à un grand nombre de disciplines : sciences physiques, sciences des matériaux, domaines des polymères et de la catalyse...mais c'est à travers l'interface de la chimie (surtout organique et biologique) que les développements ont été les plus spectaculaires, avec deux grandes applications : la conception rationnelle de médicaments (drug design) et la génération des protéines.

Les utilisateurs de la modélisation moléculaire se divisent en deux groupes :

- ceux qui font des calculs relativement précis sur des petites molécules (environ 100 atomes).
- ceux qui cherchent par des méthodes plus approximatives à déterminer la structure des Macromolécules.

Les méthodes de calculs utilisées répondent plus ou moins bien à ces deux types de préoccupation :

- **la Mécanique Moléculaire (MM)** : elle est basée sur des calculs de mécanique classique qui permettent d'obtenir l'énergie stérique du système. Elle utilise comme outil le "**champ de force**".

Exemples de champs de force en mécanique moléculaire :

- CHARMM ("Chemistry at HARvard Molecular Mechanics") : protéines, acides nucléiques
 - AMBER ("Assisted Model Building and Energy Refinement") : protéines, acides nucléiques
 - GROMACS ("**GRO**ningen **MA**chine for **C**hemical **S**imulations") : protéines
 - SYBYL (Tripos) : molécules organiques
 - MM2/MM3/MM4 (molécules organiques) (Allinger et al. 1989, 1996)
- **Méthodes quantiques et semi-empiriques** : en mécanique quantique on se préoccupe de la distribution des électrons (orbitaux) dans l'espace. Les meilleurs programmes comportent des processus d'optimisation de la géométrie.

L'objectif de la mécanique quantique est principalement de déterminer l'énergie et la distribution électronique. Ainsi les énergies moléculaires sont calculées en utilisant l'équation de Schrödinger avec le formalisme des orbitales moléculaire (**MO**). L'équation de Schrödinger d'un système moléculaire peut être résolue sans approximation (*ab initio*), ou en introduisant des approximations (semi-empirique). L'introduction ces dernières années d'une nouvelle approche dite (**DFT**) (Density fonctionnal théory) basée sur le calcul de l'énergie du système à partir de la densité et non plus des orbitales moléculaires, demande moins de calculs pour des résultats similaires. Enfin on citera pour être complet que l'association **MQ/MM** depuis quelques années parait très porteuse.

Le choix du type de calcul dépendra donc du problème étudié (degré de liberté du système et précision de calcul souhaitée) et évidemment des ressources de calculs (puissance de l'ordinateur).

- Exemples de méthodes semi-empiriques :

- Méthode de Hunckel (1930)
- Méthode de CNDO (Pople, Santry & Segal 1965).
- Méthode de MNDO (Dewar & Thiel 1977).
- Méthode de AM1 (Dewar, Zoebisch, Healy & Siewart 1985).
- Méthode de PM3 (Siewart 1989).

- Exemples de méthodes quantiques :

- Méthodes *ab initio* : HF, MP2, MP3, MP4, CCSD....
- Méthodes DFT : B3LYP, B3PW91....

c) Approches de la structure moléculaire.

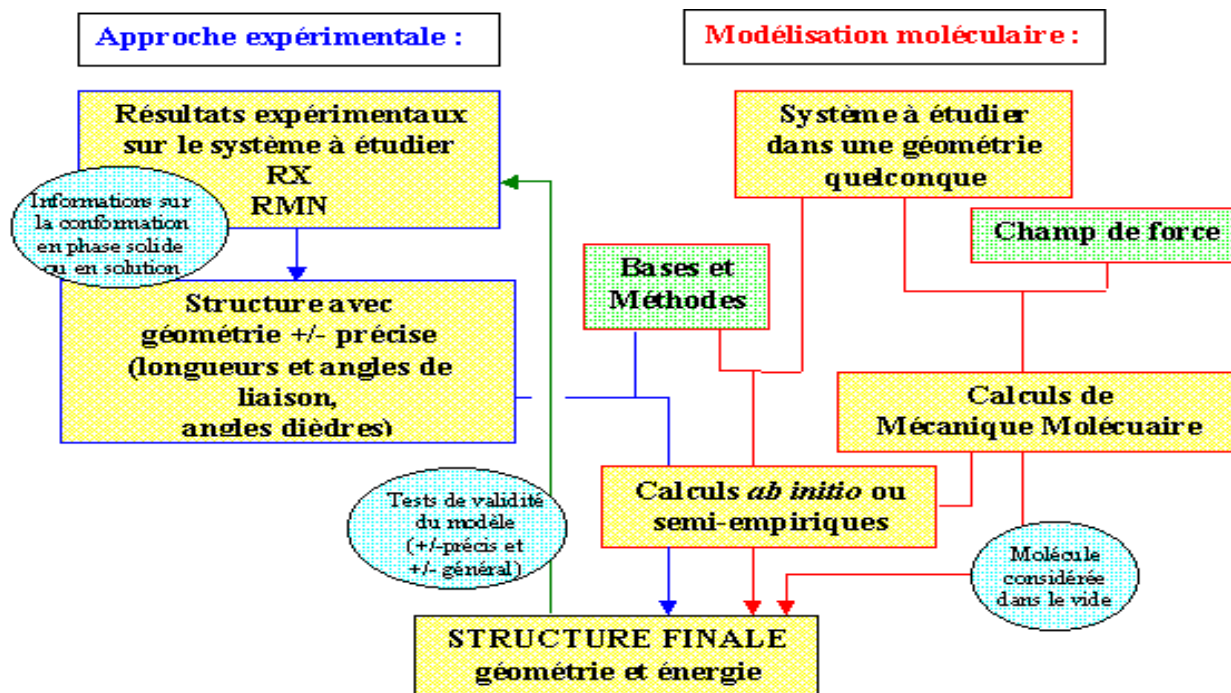


Schéma A.2.1 : Approches de la structure moléculaire.

❖ Approche expérimentale :

Il y a deux techniques spectroscopiques qui fournissent les éléments indispensables à la connaissance de la géométrie moléculaire :

- **Les Rayons X (RX)** (lorsqu'elle est accessible !) fournit les paramètres de base (positions atomiques : longueurs et angles des liaisons, angles dièdres) correspondant à la conformation en milieu solide.
- **Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN)**, qui par les déplacements chimiques, les constantes de couplage, les techniques bidimensionnelles et les NOE, permettent de reconstituer une structure tridimensionnelle correspondant à la conformation en solution.

Construite à partir de ces données, l'énergie de la structure peut être déterminée par des calculs de mécanique quantique.

❖ Approche par Modélisation moléculaire :

A partir d'une structure quelconque du système étudié, **le calcul de l'énergie** est réalisé par **mécanique moléculaire** ou par **mécanique quantique** ; les deux types de calcul pouvant être couplés. La **minimisation** de l'énergie permet une représentation probable. Celle-ci est

obtenue indépendamment de toute interaction extérieure au système donc considérée **dans le vide**. Il est cependant possible par des techniques plus ou moins sophistiquées de tenir compte du milieu extérieur (constante diélectrique du milieu, interactions avec les molécules de solvant, ...).

A.2.2. Approches théoriques de la réactivité chimique

A.2.2.1. La théorie des orbitales moléculaires frontières (FMO).

La théorie FMO est basée sur les approximations suivantes :

- 1- Toutes les interactions entre OM occupées peuvent être négligées.
- 2- Toutes les interactions occupée-vacante, à l'exception des interactions frontalières HOMO-LUMO, peuvent être négligées.
- 3- Le système est correctement décrit par une seule configuration électronique.
- 4- Les OF utilisées dans le traitement standard sont celles des réactifs de départ.
- 5- La théorie des OF ne s'applique qu'aux réactions bimoléculaires. Les systèmes unimoléculaires sont formellement découpés en fragments appropriés, dont la recombinaison est ensuite traitée comme une réaction bimoléculaire.

L'approximation des orbitales frontières a permis d'interpréter les règles de Woodward-Hoffmann [2] établies en 1965. Ces règles sont une extension de la description quantique de la liaison au déroulement des réactions chimiques.

La théorie des orbitales moléculaires frontières (OMF) permet d'analyser la réactivité des molécules en termes d'interactions des orbitales moléculaires des réactifs. Le concept d'orbitales frontières simplifie le problème en ne considérant que les interactions les plus importantes [3].

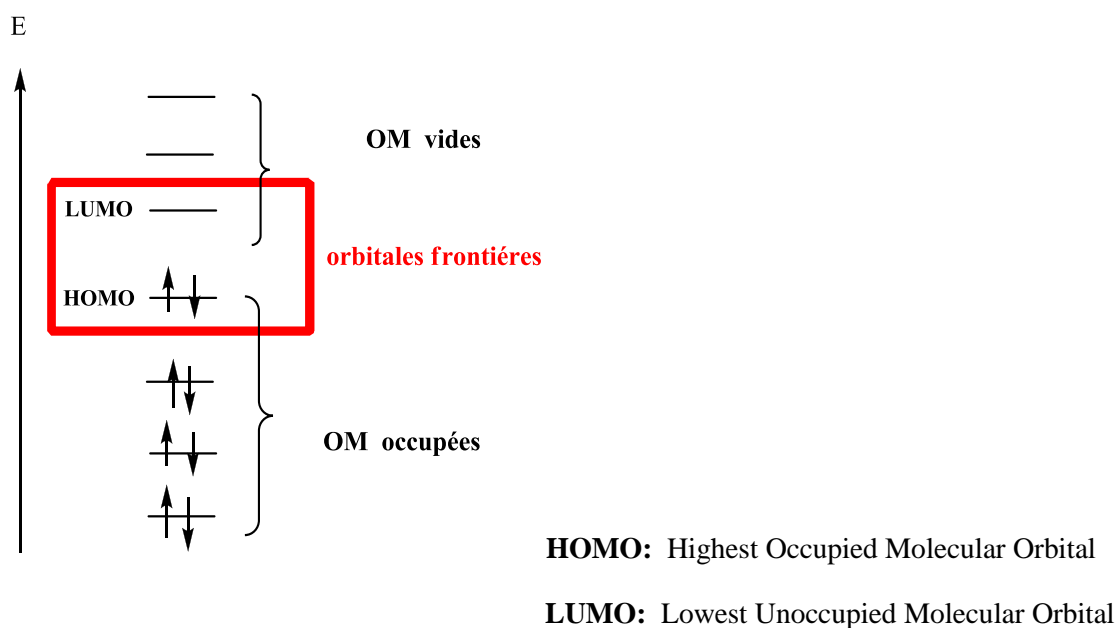


Figure A.2.1 : Diagramme énergétique des orbitales moléculaires frontières.

A.2.2.2. La théorie de l'état de transition

La théorie de l'état de transition (TST) développée en 1935 par Eyring [4, 5] est la théorie la plus largement utilisée pour le calcul des vitesses des réactions. La popularité de TST est due à leur simplicité et utilité pour la tendance de corrélérer les vitesses des réactions en termes d'interpréter les quantités. Cette théorie affirme que les réactifs (état initial) doivent passer par un état de transition en forme de complexe active avant de former les produits (état final), et que la vitesse de cette réaction est proportionnelle à la concentration de ce complexe active. La barrière d'activation calculée par :

$$E_a = E(\text{TS}) - E(\text{reactifs}) \quad (\text{Eq.1})$$

A.2.2.3. Exploration de la surface de potentiel, application à la réactivité chimique.

Les chimistes s'intéressent non seulement aux grandeurs thermodynamiques (stabilité relative des différentes espèces, etc.) associées à un processus réactionnel mais également aux grandeurs cinétiques (coefficient de vitesse, etc.) du système étudié.

D'un point de vue thermodynamique, pour qu'une réaction s'effectue spontanément, il faut que la variation d'enthalpie de la réaction soit négative ($\Delta G_{\text{réaction}} < 0$) ; on parle alors de réaction exothermique. Dans le cas contraire, la réaction est endothermique. Le calcul des énergies d'activation (ΔG^\ddagger), correspondant à la différence entre l'énergie d'un état stationnaire et celle d'un état de transition, permet d'accéder aux différentes grandeurs cinétiques. Lorsqu'un processus réactionnel se décompose en plusieurs étapes, on parle d'étape cinétiquement déterminante pour l'étape présentant l'énergie d'activation la plus élevée (par exemple ΔG^\ddagger_1 sur la Figure A.2.2). D'un point de vue mécanistique, une réaction bien que thermodynamiquement favorisée peut être cinétiquement défavorisée si l'énergie d'activation de l'étape cinétiquement déterminante est beaucoup trop élevée. Pour mieux appréhender un processus chimique et les grandeurs énergétiques associées, il est commode de représenter son profil énergétique en deux dimensions comme sur la **Figure A.2.2**.

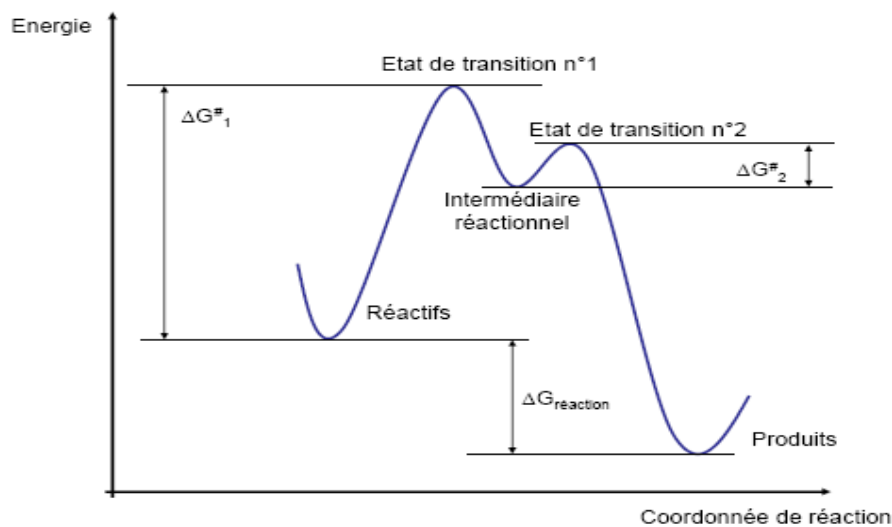


Figure A.2.2 : Profil énergétique d'une réaction chimique en deux étapes.

A.2.2.4. Indices chimiques globaux dérivant de la DFT

La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) constitue actuellement une vraie source de concepts chimiques comme le potentiel chimique électronique, l'électronégativité, la dureté, la mollesse, l'électrophilicité, ...etc. La DFT est fondée sur le principe variationnel. En effet, l'énergie d'un système est une fonctionnelle de la densité électronique.

$$E = E[\rho] \quad (\text{Eq.2})$$

Pour obtenir la densité optimale, on minimise l'énergie E en tenant compte de la contrainte suivante :

$$\int \rho(r) dr = n \quad (\text{Eq.3})$$

En se basant sur la méthode de variations, cette contrainte est introduite via la méthode de multiplicateur de Lagrange conduisant à la condition variationnelle suivante.

$$\delta [E - \mu \rho] = 0 \quad (\text{Eq.4})$$

Où μ est le multiplicateur de Lagrange :

$$V(r) + \frac{\delta F_{HK}}{\delta \rho} = \mu \quad (\text{Eq.5})$$

$v(r)$ est le potentiel externe (i.e. du aux noyaux) et F_{HK} est la fonctionnelle de Hohenberg et Kohn contenant les opérateurs de l'énergie cinétique des électrons et des répulsions interélectroniques. [6]

a) Potentiel chimique électronique

Selon Pearson [6], le multiplicateur de Lagrange peut être défini comme le potentiel chimique électronique μ

$$\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_V = -\chi \quad (\text{Eq.6})$$

Cette définition est exactement la même déduite par Pearson.

b) Dureté globale et mollesse globale :

L'expression fondamentale de la DFT correspondant à la variation de l'énergie d'un état stationnaire a un autre est donnée par :

$$dE = \mu dN + \int \rho(r) \delta v(r) dr \quad (\text{Eq.7})$$

μ , $\rho(r)$ et $v(r)$ étant le potentiel chimique, la densité électronique et le potentiel externe du système respectivement. Les quantités μ , $\rho(r)$ peuvent être considérées comme la fonction de réponse aux perturbations dN et $\delta v(r)$ respectivement. La première dérivée partielle de μ par rapport à N (le nombre total d'électrons) est définie comme la dureté (hardness) globale η du système. [7]

$$2\eta = \left[\frac{\partial \mu}{\partial N} \right]_{v(r)} = \left[\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right]_{v(r)} = \frac{1}{S} \quad (\text{Eq.8})$$

S'étant la mollesse (softness) globale du système. Vue la discontinuité de l'énergie en fonction de N , on utilise généralement l'approximation de la différence finie pour obtenir η et S . Dans le cadre de cette approximation, η et S peuvent être écrits comme suit. [7]

$$\eta = \frac{I - A}{2} \quad (\text{Eq.9})$$

$$S = \frac{1}{I - A}$$

I et A sont le potentiel de la 1^{ère} ionisation verticale et l'affinité électronique de la molécule respectivement.

Remarque :

Le potentiel chimique électronique μ et la dureté globale η peuvent être calculées à partir des énergies des orbitales frontières ϵ_{HOMO} et ϵ_{LUMO} comme suit [5-7] :

$$\mu = (\epsilon_{HOMO} - \epsilon_{LUMO}) / 2 \quad (\text{Eq.10})$$

$$\eta = (\epsilon_{LUMO} - \epsilon_{HOMO}) \quad (\text{Eq.11})$$

c) Indice d'électrophilicité globale

L'indice d'électrophilicité ω est lié au potentiel chimique μ (Eq. 12) par la relation suivante [8] :

$$\omega = \mu^2 / 2\eta \quad (\text{Eq.12})$$

Cet indice exprime la capacité d'un électrophile d'acquérir une charge électronique supplémentaire.

On note que cet indice d'électrophilicité a été utilisé pour classer une série de réactifs intervenant dans les réactions Diels–Alder et les réactions de cycloaddition dipolaires 1,3 [9]. Une bonne corrélation entre la différence d'électrophilicité pour les couples (diène/diènophile) ou (dipôle/dipolarophile) et la faisabilité de cycloaddition a été trouvée. [10]

d) Indice de nucléophilie globale

Domingo et al [11] sont définis le nucléophilie globale comme suit :

$$N = \varepsilon_{HOMO(Nu)} - \varepsilon_{HOMO(TCE)} \quad (\text{Eq.13})$$

Où tétracyanoéthylène (TCE) prise comme une référence car elle présente la plus basse énergie HOMO dans une grande série de molécules déjà étudiées dans le cadre des cycloadditions.

A.2.2.5. Indices locaux de réactivité dérivant de la DFT conceptuelle.

Le principe HSAB appliqué dans un sens global nous permet de calculer le potentiel chimique électronique μ , l'électronégativité χ , la dureté globale η et la mollesse globale S d'une molécule. Toutes ces propriétés caractérisent le système moléculaire à l'état isolé. Cependant, les chimistes s'intéressent surtout aux interactions entre molécules, c'est à dire à la réactivité chimique.

Pour déterminer les sites réactifs d'une molécule lors de l'approche d'un agent électrophile, nucléophile ou radicalaire, les chimistes utilisent les charges nettes pour favoriser une interaction par rapport à une autre. Cependant, il est bien connu que les charges nettes calculées sur les différents sites d'une molécule n'est pas un bon descripteur pour décrire les interactions entre molécules, particulièrement, pour les réactions contrôlées par les frontières c'est à dire les

interactions Soft-Soft. En effet, la prédiction de la réactivité à l'aide des charges nettes peut conduire à des prédictions contradictoires avec l'expérience [12,13].

Comme alternative au calcul des charges, les études récentes [14-15] ont bien montré l'utilité d'appliquer le principe HSAB dans un sens local pour l'étude des interactions entre molécules.

Dans ce qui suit, nous présentons succinctement le fondement théorique des principaux indices locaux utilisés actuellement pour la prédiction des sites réactifs d'une molécule, en l'occurrence : les indices de Fukui et les molleses locales.

a) Indices de Fukui

La fonction de Fukui f_k , correspondant au site k d'une molécule, est définie comme la première dérivée de la densité électronique $\rho(r)$ d'un système par rapport au nombre d'électrons N à un potentiel externe $v(r)$ constant [16] :

$$f_k = \left[\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right]_{v(r)} = \left[\frac{\delta \mu}{\delta v(r)} \right]_N \quad (\text{A.14})$$

La forme condensée des fonctions de Fukui dans une molécule avec N électrons a été proposée par Yang et Mortier [17] :

$$f_k^+ = q_k(N+1) - q_k(N) \quad (\text{A.15}) \quad \text{pour une nucléophile}$$

$$f_k^- = q_k(N) - q_k(N-1) \quad (\text{A.16}) \quad \text{pour une attaque électrophile}$$

$$f_k^0 = q_k(N+1) - q_k(N-1) / 2 \quad (\text{A.17}) \quad \text{pour une attaque radicalaire}$$

$q_k(N)$: population électronique de l'atome k dans la molécule neutre.

$q_k(N+1)$: population électronique de l'atome k dans la molécule anionique.

$q_k(N-1)$: population électronique de l'atome k dans la molécule cationique.

Il a été montré [18], pour les réactions contrôlées par les frontières, qu'une grande valeur de l'indice de Fukui signifie une grande réactivité du site.

b) Electrophilicité locale :

L'électrophilicité locale, ω_k^+ [19] est définie par :

$$\omega_k^+ = \omega f_k^+ \quad (\text{A.18})$$

ω : indice d'électrophilicité globale.

f_k^+ : indice de Fukui électrophilique.

c) Nucléophilie locale

Le site le plus nucléophile peut être facilement identifié par l'indice de la nucléophilie locale, N_k [20] ; défini comme le produit de l'indice de nucléophile globale N et l'indice de Fukui nucléophilique f_k^- .

$$N_k = N f_k^- \quad (\text{A.19})$$

Avec

$$N = \sum N_k$$

A.2.2.6. Modèle polaire de Domingo basé sur l'utilisation des indices ω_k et N_k

Dans ce modèle proposé par Domingo en 2009 [21], la formation de la liaison chimique est due à l'interaction électrophile-nucléophile la plus favorable. Elle a lieu entre le site le plus électrophile (caractérisé par la plus grande valeur de ω_k) de la molécule électrophile et le site le plus nucléophile (caractérisé par la plus grande valeur de N_k) de la molécule nucleophile.

A.2.3. L'amarrage moléculaire < Docking >

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement préclinique [22]. L'identification et la mise au point de nouveaux médicaments se fait par l'amarrage moléculaire ou docking moléculaire sert

souvent à déterminer l'orientation de petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité. Ainsi, l'amarrage joue un rôle important dans la conception pensée de nouveaux médicaments. En raison de sa valeur biologique et pharmaceutique, on s'est efforcé d'améliorer les méthodes qui calculent l'amarrage moléculaire.

Plusieurs méthodes permettent d'étudier l'interaction ligand-récepteur ou encore l'interaction d'une molécule avec un site actif.

Le docking peut être défini comme étant l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. Il a des applications pratiques dans l'ingénierie des protéines et la conception de nouveaux médicaments. Il y a différents types de docking dont ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine.

Le « docking » moléculaire consiste à prédire la ou les structures des complexes formés entre une molécule active et une protéine.

- Les algorithmes de calcul génèrent aléatoirement un grand nombre d'orientations possibles pour trouver « la meilleure façon d'insérer » la molécule dans une protéine (au niveau du récepteur ou du site actif).
- Le programme prend en compte tous les degrés de liberté de la molécule (translation et rotation).
- Pour chaque possibilité l'énergie est calculée en Mécanique Moléculaire, prenant ainsi en compte toutes les interactions ligand-récepteur (liaisons de Van der Waals, liaisons H, hydrophobie...).
- On obtient ainsi un « score » pour estimer la meilleure interaction ligand/ récepteur.
- Le score est l'enthalpie libre de liaison (il doit être minimisé) [23].

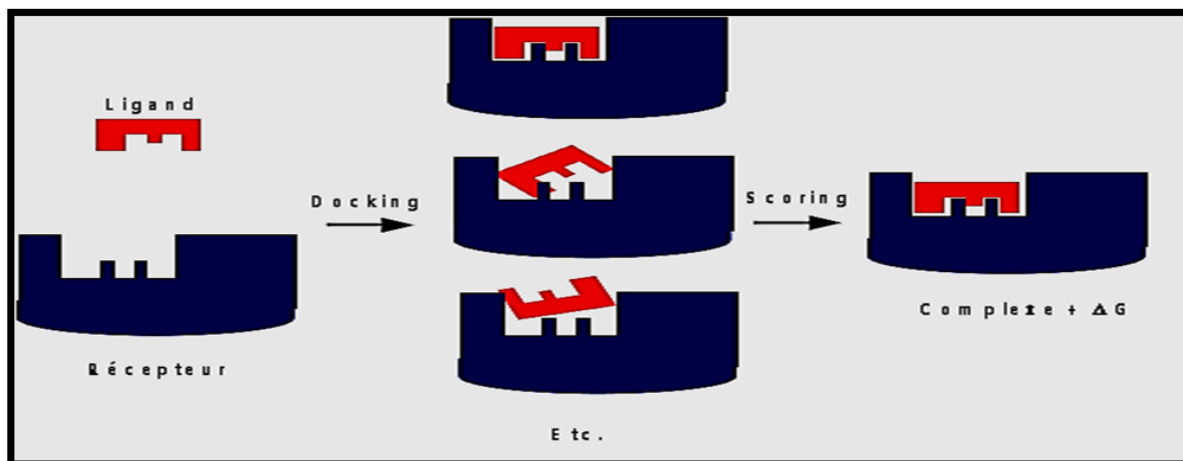


Figure A.2.2 :Simulation du Docking et scoring.

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring.

- **Le Docking (la première) :** est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
-
- **Le Scoring (la deuxième) :** 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. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [24].

A.2.4. Les outils du docking moléculaire

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 (protéine).

A.2.4. 1. Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique (branches de la chimie inorganique).

En biologie, un ligand (du latin *ligandum*, liant) est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions.

La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en trois dimensions (3D). L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet de promouvoir ce changement de conformation, appelé ajustement induit. Cette modification structurale peut ainsi moduler éventuellement son état fonctionnel et son activité. [25].

La structure des ligands est obtenue par deux moyens :

-Le premier : consiste à utiliser des ligands du pdb ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...) grâce à des logiciels de

Construction moléculaires tels que Titan

-Le deuxième : consiste à utiliser des collections de molécules (chimiothèques) virtuelles aussi bien commerciales, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique les plus utilisées, nous citons la PubChem [26].

A.2.4. 2. Récepteur

Est macromoléculaire étant le plus souvent une protéine [27] ; pour l'obtention des récepteurs, on utilise les structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la

banque de donnée PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN). Les données structurales sont obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN et sont accessibles gratuitement sur internet via des sites Web définis de ses organisations membres dont : RCSB PDB, PDBj, PDBe,... etc.

Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension *pdb* lisibles par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ...etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée.

Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [24].

A.2.4.3. Comparaison et superposition de molécules

L'activité biologique d'une molécule est souvent corrélée à sa capacité à interagir avec le site actif d'une enzyme ou bien encore au niveau d'un récepteur. Modéliser l'ensemble de l'interaction ligand-récepteur peut être relativement coûteux en temps de calcul. Parfois même si la structure 3D du récepteur n'est pas connue et n'est pas encore disponible dans la PDB, rendant cette étude quasiment impossible. Dans une première approximation on peut superposer la structure 3D (préalablement optimisée) d'une molécule nouvelle avec une molécule biologiquement active et connue pour une pathologie donnée.

On peut alors savoir si la nouvelle molécule a une chance d'être active et si elle a un mécanisme d'action similaire à la molécule de référence.

A.2.4. 4. Les programmes du docking

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : Glide, AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM. Ils permettent notamment un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés. Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques (Algorithme génétique, Recuit Simulé...), leur protocole est composé de 2 étapes essentielles *Docking / Scoring* [28].

REFERENCES.

- [1]. F. Madi, Mémoire de Magister : étude par modélisation moléculaire d'inclusion des 2-chloroethylnitrososulfamides(CENS) dans la β - cyclodextrine, **2004**.
- [2]. R. Hoffmann et R. B. Woodward, « Stereochemistry of Electrocyclic Reactions», J .Chem. Am. Soc. **1965**, 87, 395-397 ; 2046; 2511; 4389; Angewandte Chemie International Edition in English, **1969**, 8, 781.
- [3]. A.Rauk, « Orbital interaction theory of organic chemistry », John Wiley and sons, 73, **1994**.
- [4]. H. Eyring. ; M. Polanyi. Phys, Chem, **1931**, 12, 279.
- [5]. H. Eyring. J. Chem.Phys, **1935**, 3,107.
- [6]. R. G. Pearson, Inorg. Chem. **1988**, 27, 734.
- [7]. R. G. Pearson, J. Am. Chem. Soc. **1983**, 105, 7512.
- [8]. R G. Parr, L V .Szentpaly , S Liu , J. Am.Chem. Soc. **1999**, 21.
- [9]. L R. Domingo, M Arno, R .Contreras , P. Perez , J. Phys. Chem. **2002**, A106, 952.
- [10]. L. Salem, « Electrons in Chemical Reaction: First Principles», J. Wiley, New York, **1982**.
- [11]. L. R. Domingo, M.J. Aurell, P. Perez, R. Contreras, Tetrahedron. **2002**, 58, 4417.
- [12]. L. R. Domingo, M. Duque-Noreña, E. Chamorro, J. Mol. Struct. **2009**, 86, 895.
- [13]. R. G. Pearson, J. Songstad, J. Am. Chem. Soc. **1967**, 89, 1827 .
- [14]. R. G. Pearson, «Hard and Soft Acids and Bases», Dowden. Hutchinson et Ross:Stroudenbury, PA, **1973**.
- [15]. P. Geerlings, F. De Proft, W. Langenaeker, Chem. Rev. **2003**, 103, 1793 .
- [16]. A. K. Chandra, M. T. Nguyen, Int. J. Mol. Sci. **2002**, 3, 310.

- [17]. R. G. Parr, W. Yang, J. Am. Chem. Soc. **1984**, 106, 4049.
- [18]. W. Yang, W. J. Mortier, J. Am. Chem. Soc. **1986**, 108, 5708.
- [25]. P. K. Chattaraj, S. Nath, A. B. Sannigrahi, J. Phys. Chem. **1994**, 98, 9143. W. Yang, R. G. Parr, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **1985**, 82, 6723.
- [19] a) L.R. Domingo, M.J. Aurell, P. Perez, R. Contreras, Tetrahedron. **2002**, 58 4417 . b) P. Perez, L.R. Domingo, A.J. Aurell, R. Contreras, Tetrahedron. **2003** ,59 .
- c) P. Pérez, L.R. Domingo, A. Aizman, R. Contreras, « The electrophilicity index in organic chemistry. In Theoretical Aspects of Chemical Reactivity », Toro*Labbe, A. Ed. Elsevier Science: Oxford, **2007**; 19, 139.
- [20-21]. L. R. Domingo, J. A. Saez, Org. Biomol. Chem. **2009**, 7, 3576.
- [22] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2007. 90 p.
- [23] Trouillas P. Chapitre 4 - Modélisation Moléculaire et Biologie. Thèse de doctorat en biophysique. Université de Lille. France. 2009. 17p.
- [24] BOUCHERIT H. Étude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molécules. Thèse de magister en biochimie. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 71 p.
- [25] Leach A.R. Molecular modelling Principles and application. Pearson Education Canada. 2001. **582**. 10-6p.
- [26] Mokrani E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75p.
- [27] El Hadji Said K. Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Thèse de Master d'université de TLEMCCEN Faculté des Sciences Département de Chimie. Tlemcen. Algérie. 2016. 50P.
- [28] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2007. 90 p.

Partie B

RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE B-1

**Étude théorique de la
régéosélectivité de la réaction 1, 3
dipolaire entre un alcynyle
trifluorométhyle et d'éthyle
azidoacétate**

B-1. 1. Introduction

Les réactions cycloaddition sont un des processus importants et plus intérêt synthétique dans la chimie organique. Ces dernières années, la réaction 1,3-dipolaire est une méthode flexible pour préparer des composés hétérocyclique à cinq chaînons qui sont d'importance fondamentale dans les champs divers de chimie [1].

Plusieurs traitements théoriques ont été consacrés à l'étude de régio et stéréosélectivité des réactions CD13 d'azides avec des alcynes substitués. La réaction d'azides avec une variété d'alcynes mène à la formation de triazoles. La synthèse des triazoles suscite un grand engouement depuis le développement conjoint par les groupes de Meldal et Sharpless d'une version catalysée au cuivre de la cycloaddition de Huisgen entre un azide et un alcyne. Cet intérêt s'explique par la grande régiosélectivité de cette réaction ainsi que la possibilité de la réaliser dans des conditions extrêmement douces ainsi que dans des milieux très variés y compris dans des milieux biologiques.

L'azide est un anion de type propargyle-allényle [2], il est largement utilisé comme dipôle dans les réactions 13 DC avec des alcènes et des alcynes. Expérimentalement, il a été trouvé que la cycloaddition d'éthyle azidoacétate (EZA) avec l'alcynyle trifluorométhyle (ATM), donne le cycloadduit ortho comme régioisomère majoritaire et le cycloadduit para méta comme régioisomère minoritaire (figure. B-1.1) [3].

Dans ce qui suit, on se propose de justifier théoriquement la régiosélectivité observée expérimentalement par différentes approches théoriques : le calcul des énergies d'activation, la théorie des OF et les indices de la réactivité dérivant de la DFT conceptuelle) en tenant compte du fait ce type de réactions sont contrôlées cinétiquement.

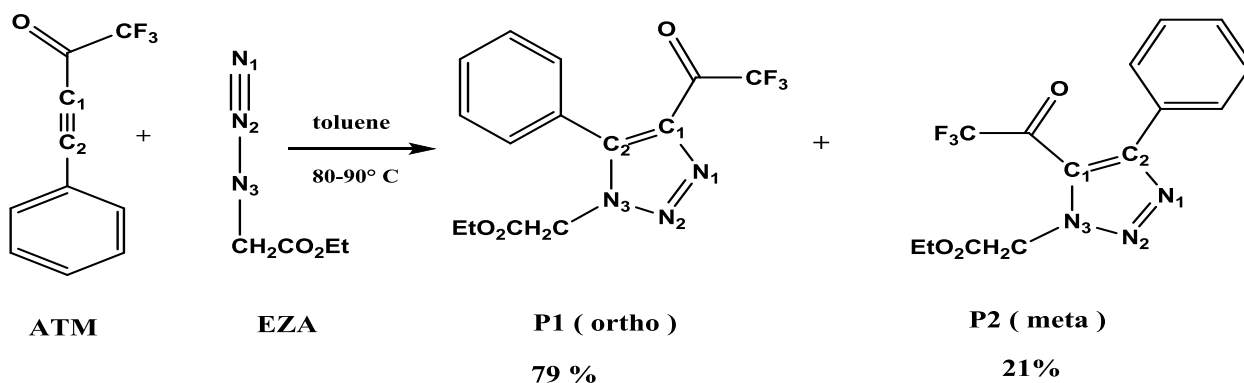


Fig. B-1.1. Résultat expérimental de réaction CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyle trifluorométhyle (ATM).

B-1. 2. Résultats et discussions

B-1. 2.1. Prédiction du caractère NED/IED

Pour clarifier les caractères DEN (demande de l'électron normale) ou DEI (demande de l'électron inverse) de la réaction CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyle trifluorométhyle (ATM), nous avons calculé: les énergies des gaps HOMO/LUMO pour les deux combinaison possible entre le Dipôle (EZA) et le Dipolarophile (ATM) (tableau B-1.1), le potentiel chimique électronique, μ , l'indice de l'électrophilicité ω et l'indice nucleophilicité N (Tableau B-1.2). Le tableau B-1.1 montre que les écarts des énergies correspondants à la combinaison HOMO (Dipôle) / LUMO (Dipolarophile) est inférieure que celle qui correspondent à la combinaison HOMO(Dipolarophile) / LUMO (Dipôle), ce qui montre que le dipôle (EZA) se comporte comme un donneur d'électrons et le dipolarophile (ATM) comme un accepteur. Par conséquent, la réaction CD13 porte un caractère DEN (demande de l'électron normale).

Réactifs	HOMO	LUMO	$\Delta E(I)^a$ (NED)	$\Delta E(II)^b$ (IED)
EZA	-0.2726	-0.0623	----	----
ATM	-0.2730	-0.113	0.1596	0.2107

^a $\Delta E(I) = \text{HOMO}_{\text{dipole}} - \text{LUMO}_{\text{dipolarophile}}$, ^b $\Delta E(II) = \text{HOMO}_{\text{dipolarophile}} - \text{LUMO}_{\text{dipole}}$.

Tableau B-1.1: Energies des orbitales frontalières pour les différent composés au niveau théorique B3LYP/6-31G (d, p).

E kcal/mol

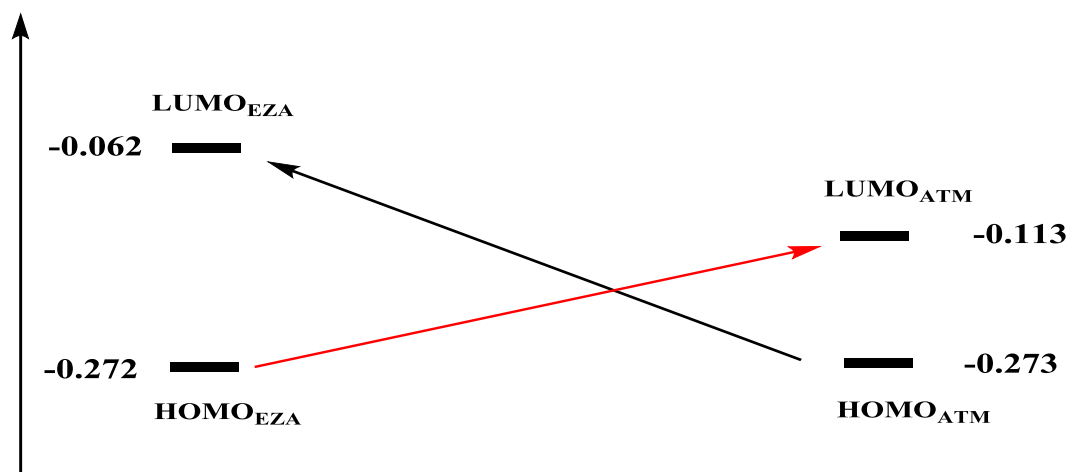


Schéma B-1.1 : Énergies des orbitales frontières HOMO/LUMO et les interactions entre les OMs.

compounds	μ (a.u.)	η (a.u.)	ω (Ev)	N (Ev)
EZA	-0.1674	0.2103	1.81	1.70
ATM	-0.1929	0.1600	3.16	1.69

Tableau B-1.2 : Propriétés globales du Dipôle (EZA) et Dipolarophile (ATM).

B-1. 2.2. L'analyse par des propriétés globales

D'après le tableau B-1.2 on constate que le potentiel chimique électronique du dipôle (EZA) (-0,1674ua) est supérieur à celui du dipolarophile (ATM) (-0,1929ua) ; ce qui implique que le transfert d'électrons aura lieu du EZA vers ATM.

L'indice d'électrophilicité du dipolarophile (ATM) (3,16eV) est supérieur à celui du dipôle (EZA) (1,81eV). Par conséquent, le ATM va se comporter comme électrophile alors que le EZA va se comporter comme nucléophile. D'une autre part, l'indice de nucléophilie du EZA ($N=1.70$ eV) est supérieur à celui de ATM ($N=1.69$), ce qui signifie que le EZA est un nucléophile alors que ATM est un électrophile. La dureté du ATM ($\eta=0,1600$ eV) est inférieure à celle de EZA ($\eta=0.2103$ eV), ce qui signifie que le ATM est conserve peu les électrons dans son environnement, contrairement à EAZ qui le maintien dans son propre environnement, et que par conséquence le transfert d'électrons a lieu du dipôle (EZA) vers dipolarophile (ATM).

En conclusion, les approches précédentes montrent que le dipôle (EZA) agit comme un nucléophile alors que le dipolarophile (ATM) agit comme un électrophile.

B-1. 2.3. Prédiction et rationalisation de la régiosélectivité expérimentale :

Afin de prédire et de rationaliser la régiosélectivité observée expérimentalement de la réaction CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyle trifluorométhyle (ATM), nous avons utilisé trois approches théoriques :

B-1. 2.3.1. Calcul des barrières d'activation.

Selon la théorie de l'état de transition, le passage des réactifs (état initial) aux produits (état final) nécessite le passage par un état de transition. L'affranchissement de la barrière d'activation est nécessaire pour atteindre l'état final. Les états de transitions TS1 et TS2 correspondants aux deux régioisomères ortho et meta respectivement, ont été localisés au niveau de calcul B3LYP/6-31G (d, p). Les états de transitions ont été confirmés par la présence d'une et une seule fréquence imaginaire dans la matrice hessienne. Les structures optimisées des états de transitions TS1 et TS2 sont représentées dans la Figues B-1.2 et barrières d'activation sont affichées dans le tableau B-1.3.

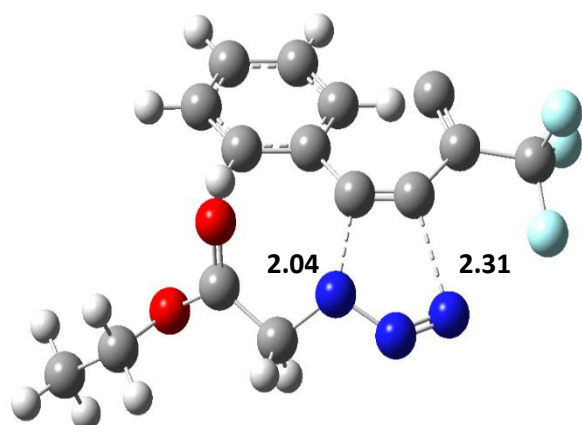
Le tableau B-1.3 montre que l'énergie d'activation correspondant à l'état de transition TS1 (**21.5 kcal/mol**) est plus faible à celle correspondant à l'état de transition TS2 (**22.2 5 kcal/mol**) ; ce qui montre que le régioisomère ortho est plus favorisé cinétiquement que le régioisomère para. D'après le tableau B-1.3 on remarque que le cycloadduit ortho est plus stabilisé thermodynamiquement (-58.95 Kcal/mol) par rapport au cycloadduit meta (-51.75 Kcal/mol). Par conséquent, on obtient un mélange de deux régioisomères observés expérimentalement. (Voir le schéma B-1.2)

Avec le calcul IRC (Intrinsic Reaction Coordinate) [4], l'optimisation complète des structures obtenues (direction vers le produit) nous a confirmé l'inexistence d'un intermédiaire zwitterionique. Par conséquent, la réaction suit un *mécanisme concerté*.

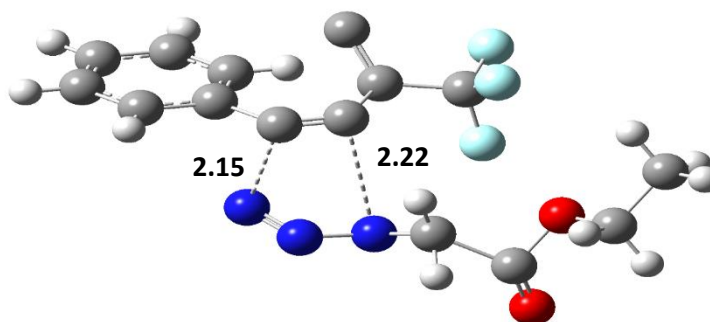
	ΔE^\ddagger (kcal/mol)	ΔE (kcal/mol)
TS₁	21.5	--
TS₂	22.25	--
CA_{ortho}	--	-58.95
CA_{para}	--	-51.75

Tableau B-1.3 : Energies relatives (énergie d'activation et énergie de réaction) en kcal/mol au niveau B3LYP/6-31G (d, p) pour la réaction CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyle trifluorométhyle (ATM) dans le solvant toluène.

Les paramètres de la géométrie des TSs sont montrés dans la figure B.1.2. Les résultats calculés montrent que les longueurs de C1-N1 et C2-N3 sont 2.314 et 2.054 Å respectivement, pour l'isomère ortho, alors que les longueurs C1-N3 et C2-N1 sont 2.149 et 2.217 respectivement, pour l'isomère meta. Ces résultats indiquent que les nouvelles liaisons formées montrent que le mécanisme est *concerté asynchrone*.



TS ortho



TS meta

Fig. B-1.2. États de transition TSortho et TSmeta correspondant aux 2 modes de cyclisation entre d'éthyle azidoacétate et l'alcynyle trifluorométhyle dans le solvant toluène.

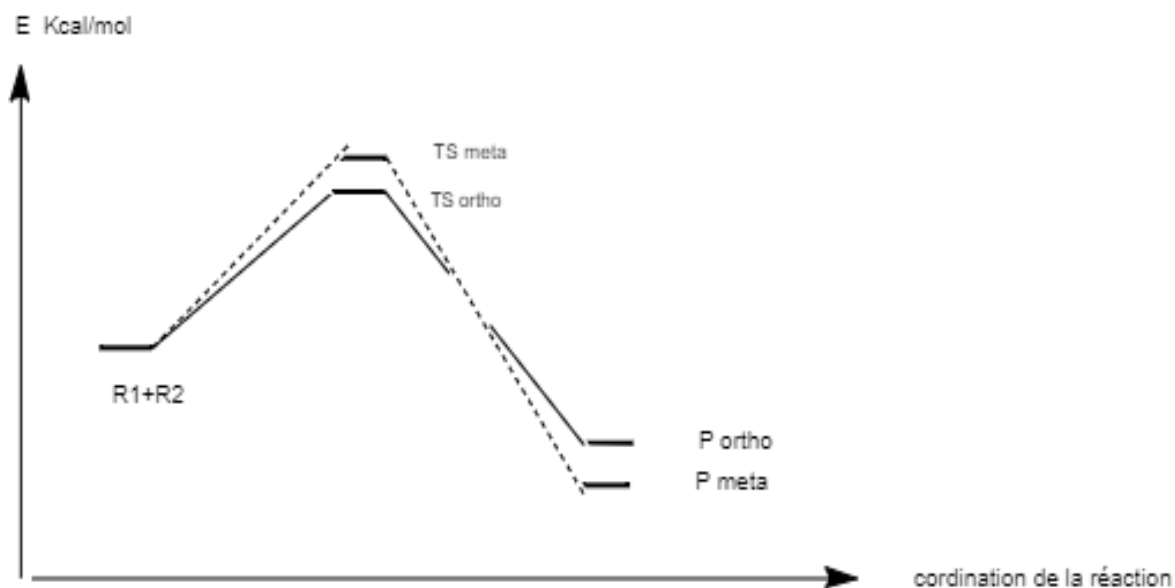


Schéma B-1.2 : Profil énergétique, en Kcal/mol de la réaction de CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyle trifluorométhyle (ATM) dans le solvant toluène.

B-1. 2.3.2. Utilisation de la règle de Houk :

La régiosélectivité peut être interprétée par l'examen des coefficients des orbitales frontières HOMO /LUMO de dipôle et dipolarophile. Dans ce cas, les coefficients des orbitales frontières constituent un indice important pour favoriser un mode de cyclisation par rapport à un autre. L'utilisation de cette approche est bien régie par la règle de Houk. Selon les règles de Houk [5], les interactions de type « large-large » et « petite- petite » sont plus favorisées par rapport aux interactions « large- petite » et « petite -large » (voir la **Fig. B. 1.3**).

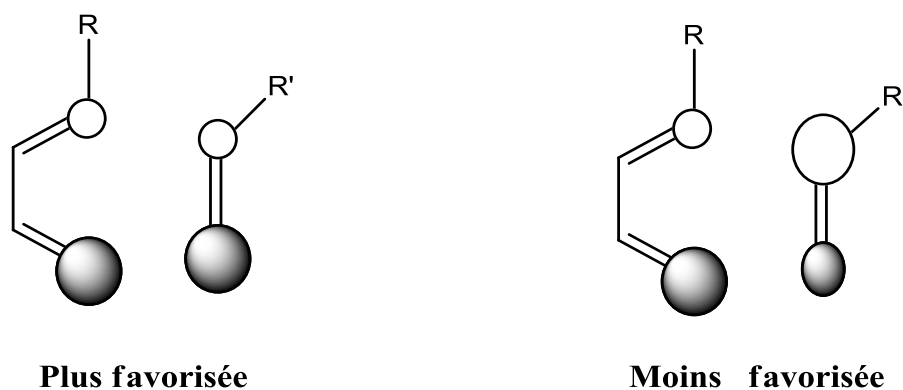
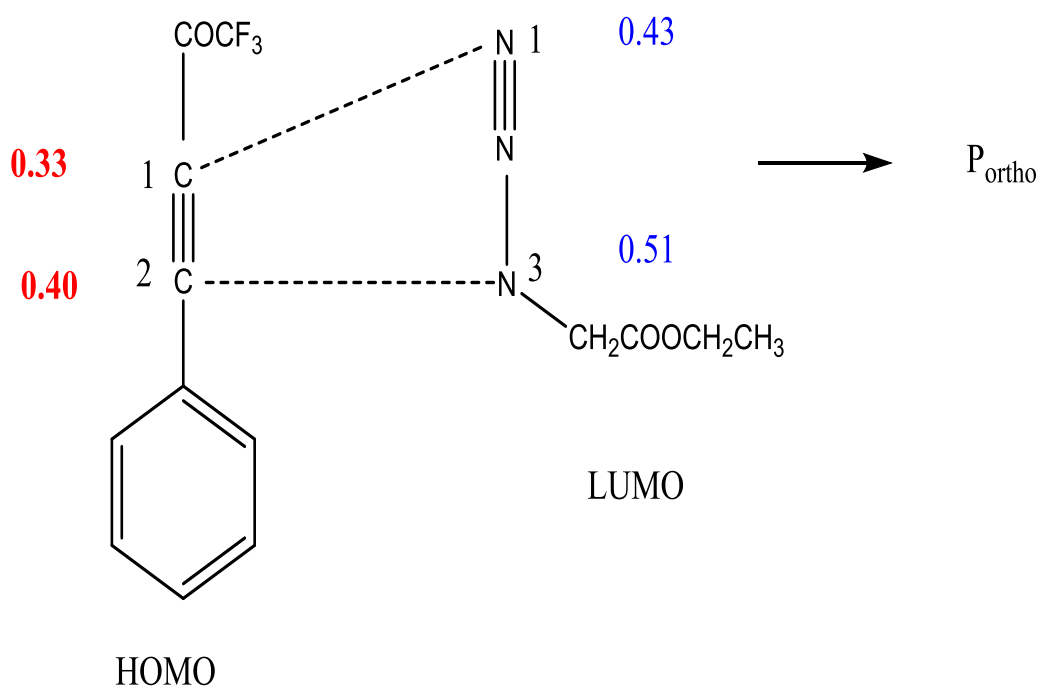


Fig. . B. 1.3 : Illustration de la règle de Houk.

Les coefficients des orbitales frontières sont calculés au niveau HF/STO-3G pour HOMO et LUMO. Les valeurs des coefficients d'HOMO et LUMO des dipolarophiles et du dipôle sont présentées dans la figure **B. 1.4**.

Les interactions les plus favorisées pour la réaction sont entre le N1 () du dipôle avec le C1 du dipolarophile et le N3 du dipôle avec le C2 du dipolarophile. Ces interactions mènent à la formation du régioisomère ortho. Le résultat confirme la régiosélectivité observée expérimentalement. La fig. B.1.4 montre bien que la règle de Houk (ou la règle des interactions « large-large » et « petite - petite ») est bien respectée.



Règle de HOOK

Fig B-1.4 : Les interactions plus favorisées selon la Règle de Houk.

B-1. 2.3.3. L'analyse basée sur des propriétés locales.

La figure B-1.5 est groupé les valeurs d'électrophilicité locale ω_k^\pm (eV) et nucléophilicité locale (N_k) pour le dipôle et le dipolarophile.

- **Cas d'un processus en deux centres (utilisation du modèle polaire de Domingo)**

Dans ce modèle proposé par Domingo en 2009 [6], la formation de la liaison chimique est due à l'interaction électrophile-nucléophile la plus favorable. Elle a lieu entre le site le plus électrophile (caractérisé par la plus grande valeur de ω_k) de la molécule électrophile et le site le plus nucléophile (caractérisé par la plus grande valeur de N_k) de la molécule nucléophile. Les indices de nucléophilie locale N_k pour les sites N1 et N3 du dipôle et les indices d'électrophile locale ω_k pour les sites C1 et C2 du dipolarophile sont données dans la figure B-1.5. L'analyse de population prédit que l'interaction la plus favorisée aura lieu entre le N3 de l'éthyle azidoacétate (EZA) et le C2 de l'alcynyle trifluorométhyle (ATM). On constate que le regioisomère ortho est plus favorable que le regioisomère meta par l'analyse fondée sur les indices nucléophilicité N_k et l'électrophilicité locale ω_k . Ce résultat est en accord avec les analyses montrées par le calcul des barrières d'activation et la de Houk.

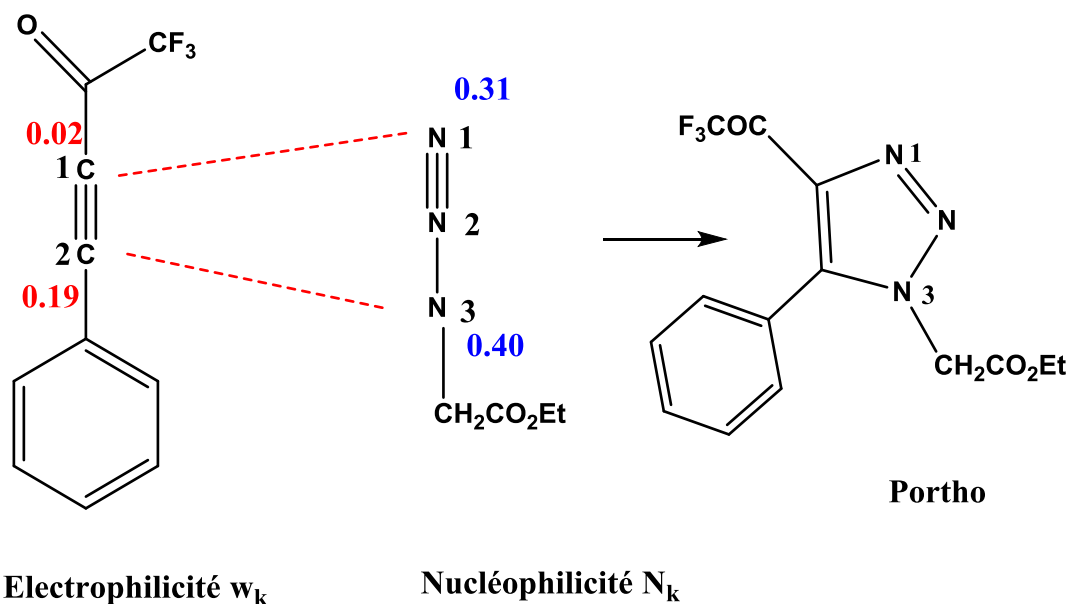


Fig. B-1.5 : Prédiction les deux centre d'interactions favorisés des indices ω_k^\pm (Electrophile) / N_k (Nucléophile).

Donc, on peut dire que le modèle polaire de deux centre, basé sur les charges électrostatiques, nous permettent de caractériser les deux centres d'interactions les plus favorables au long d'un processus asynchrone de formation des liaisons et prédit correctement la régiosélectivité expérimentale.

CONCLUSION

La régiosélectivité observée expérimentalement dans la réaction réaction CD13 entre d'éthyle azidoacétate (EZA) et l'alcynyle trifluorométhyle (ATM) a été rationalisé par 3 approches théoriques différentes : calcul des barrières d'activation, application du modèle de Domingo et utilisation de la règle de Houk (les orbitales frontières).

REFERENCES

[1]. (a) R.R. Kumar, S. Perumal, H.B. Kagan, R. Guillot, *Tetrahedron*.2006, 12380, 62; (b) P.K. Kalita, B. Baruah, P.J. Bhuyan, *Tetrahedron Lett.* 2006, 7779, 47; (c) M.P. Sibi, L.M. Stanley, T. Soeta, *Adv. Synth. Catal.* 2006, 2371, 348; (d) W.J. Choi, Zh. D. Shi, K.M. Worthy, L. Bindu, R.G. Karki, M.C. Nicklaus, R.J. Fisher Jr., T.R. Burke, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 5262.

[2] .K. V. Gothelf ET K. A. Jorgensen, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 863.

[3]. A. Benalloua, , Z.Lakbaibib, H. Garmesc, H. El Alaoui ., *J. Fluorine Chemistry.* **2019**, 219, 79–91

[4]. J. L. Gazquez, F.J. Mendez, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 9298.

[5]. K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.*1973, 95, 4092.

[6] .L. R. Domingo, J. A. Saez, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 3576.

CHAPITRE B-2

**Réactivité biologique de
Benzimidazoles par la
technique d'amarrage
(docking).**

B.2.1. Introduction

L'infection par le virus de l'hépatite C (VHC), qui devient chronique dans environ 80 % des cas, est une cause majeure de morbidité et de mortalité, avec 160 millions de personnes porteuses du virus dans le monde et 350 000 décès imputables par an. L'atteinte hépatique est due à une accumulation progressive de fibrose, pouvant évoluer jusqu'à la cirrhose et/ou au carcinome hépatocellulaire [1-2].

Depuis 2011, de nouveaux traitements ciblent directement les protéines virales NS3, NS5A ou NS5B et sont appelés antiviraux à action directe (AAD). Le nombre de molécules disponibles est actuellement en expansion rapide. Ils ont prouvé leur efficacité très supérieure au traitement habituel par interféron pegylé et ribavirine et ce, avec des effets secondaires bien moindres. Cependant, ce bouleversement dans la prise en charge de l'hépatite C chronique a également vu émerger sous la pression de sélection thérapeutique des virus porteurs de mutations de résistance.

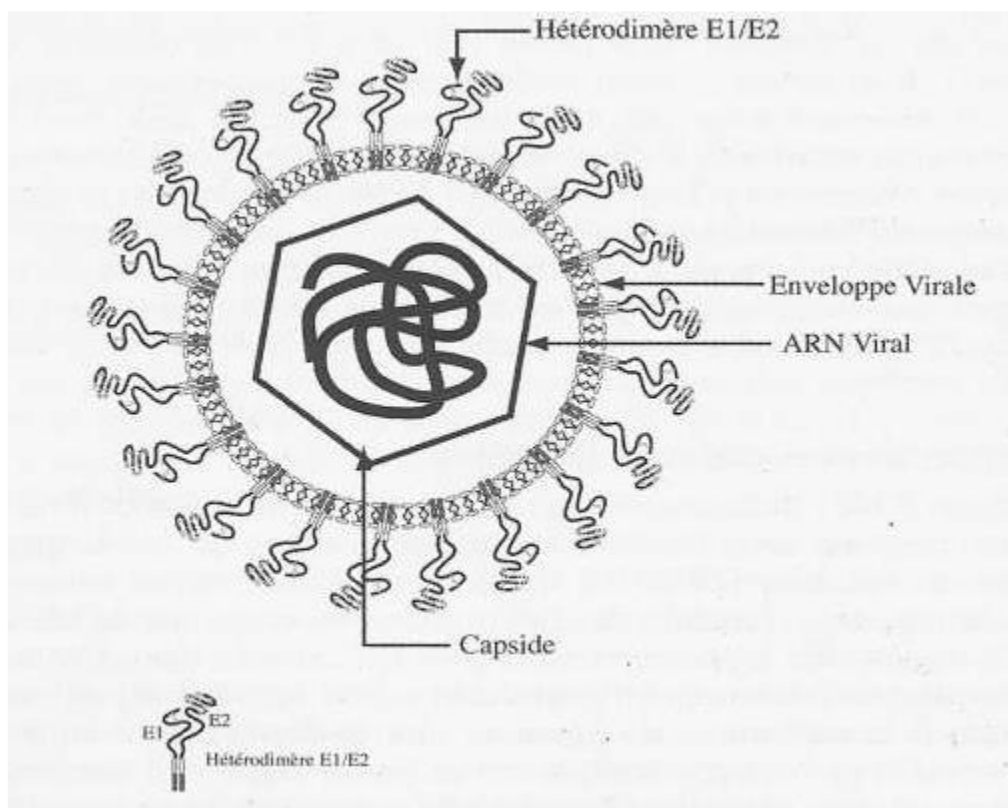


Figure B.2.1 : Structure schématique de la particule virale VHC.

❖ Structure du génome

Le génome du VHC est constitué d'un ARN simple brin de polarité positive, d'environ 9600 paires de bases (pb) comportant trois régions : deux régions non codantes très conservées aux extrémités 5' et 3' encadrant une région codant les protéines virales (figure B.2.2).

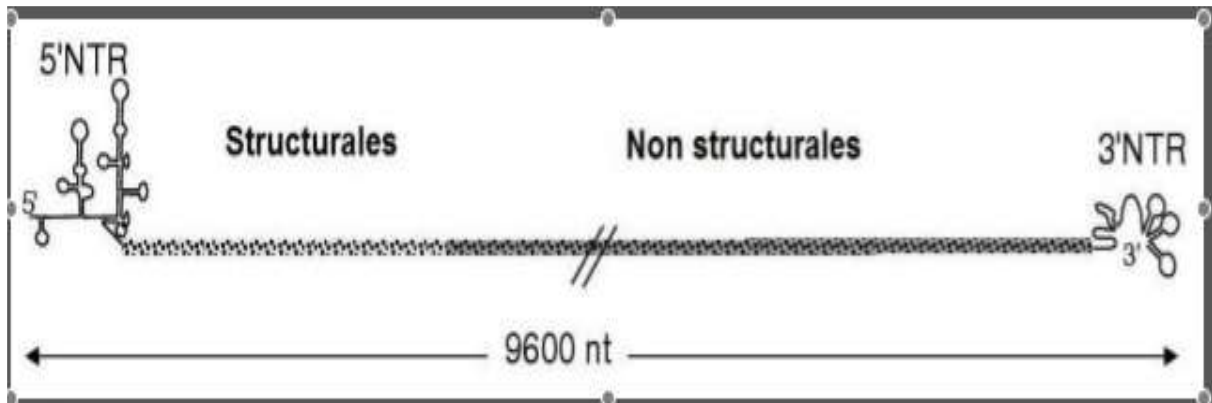


Figure B.2.2 : Structure du génome du VHC.

❖ Région 5' non codante

L'extrémité 5' non codante (5'NC) d'une longueur de 341 nucléotides est la région la plus conservée du génome entre les différents sous-types du VHC.

Elle présente des structures secondaires complexes en tige-boucle formant un site interne d'entrée du ribosome ou IRES (*Internal Ribosomal Entry Site*). L'IRES forme un complexe avec la petite sous-unité ribosomale 40S et des facteurs de traduction, essentiel à la production des protéines virales.

De plus, cette région 5'NC, à la fois par des séquences situées en amont de l'IRES, mais aussi au sein de l'IRES, semble être impliquée dans la réplication virale.

❖ Région codant les protéines virales

La région 5'NC est suivie d'un cadre de lecture ouvert débutant par un codon AUG initiateur de la traduction. Il comporte 9024 à 9111 nucléotides qui codent une grande polyprotéine de 3010 à 3033 acides aminés. Cette polyprotéine sera ensuite clivée pendant et après sa traduction par des protéases virales et des protéases cellulaires de l'hôte pour donner au

moins 10 protéines virales distinctes, de 5' en 3' : les protéines structurales (protéine de capsid C et glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2), une protéine appelée p7 et les protéines fonctionnelles non structurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et **NS5B**) [3].

❖ Région 3' non codante

L'extrémité 3'NC du génome, située en aval du codon stop du cadre de lecture ouvert, comporte trois régions successives, de 5' en 3' : une région non traduite de longueur et de séquences variables (28 à 42 nucléotides) d'une souche virale à l'autre ; une queue poly- U/UC de taille hétérogène (de 30 à 150 nucléotides) et une région 3' terminale très conservée de 98 nucléotides : la région X, repliée en trois tiges-boucles successives. Cette région X joue un rôle important dans l'initiation de la synthèse du brin d'ARN négatif, servant de matrice à la réplication virale et a également un rôle régulateur dans la traduction de la polyprotéine du VHC [3].

Plusieurs protéines sont apparues comme cibles privilégiées mais c'est l'ARN polymérase NS5B qui semble intéressé beaucoup plus les scientifiques car nécessaire pour la copie de l'ARN génomique du VHC et la transcription de l'ARNm

Le benzimidazole est un composé organique aromatique hétérocyclique. C'est un pharmacophore important et une structure privilégiée en chimie médicinale. C'est un composé bicyclique formé par la fusion des noyaux benzène et imidazole. Les composés hétérocycliques occupent une place centrale dans la chimie des médicaments et revêtent un intérêt particulier et une importance significative dans la recherche de nouvelles molécules bioactives dans l'industrie pharmaceutique [4]. Les hétérocycles contenant un atome d'azote, en particulier, présentent une gamme d'activités biologiques variée, due en partie à leurs similitudes avec de nombreuses molécules naturelles et synthétiques ayant des activités biologiques connues [5]. Les noyaux benzimidazoles ont été couramment utilisés comme échafaudages privilégiés pour le développement de molécules thérapeutiques d'intérêt pharmaceutique ou biologique (Figure B.2.3).

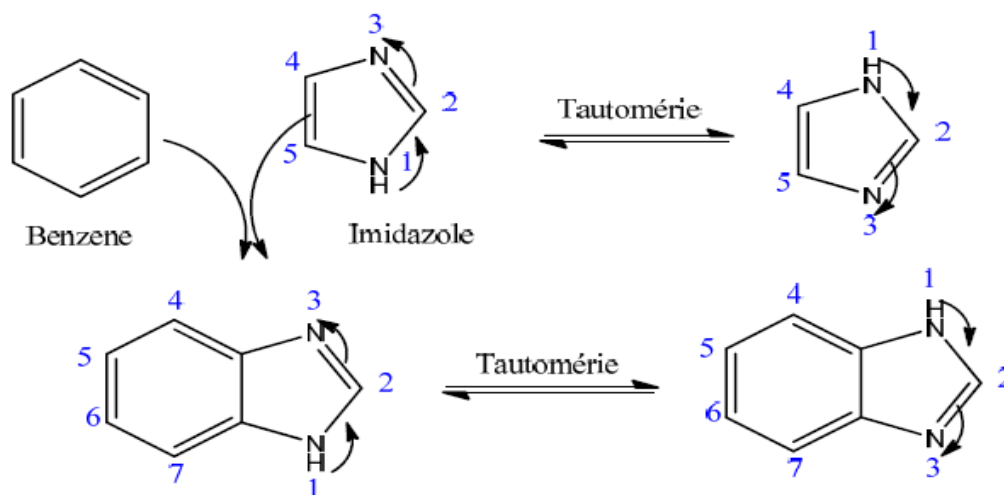


Figure B.2.3 : Structure de benzimidazole

Les dérivés de la benzimidazole, présentent un grand intérêt sur le plan biologique, on leur attribue un pouvoir anti-HIV, anti-trichinellose, anti-nociceptif, anti-tumoral, antagoniste des peptides liés au gène de la calcitonine (CGRP) **A**, antagoniste du récepteur canabinoïde 2 (HCB2) **B**, inhibiteur D-Aminoacide oxydase (DAAO) **C**, inhibiteur de l'enzyme Mycobacterium tuberculosis, antagoniste p53- mdm, antibactérien. Ils jouent un grand rôle en tant qu'antagonistes du récepteur de la progestérone.

D'autre part, ces dérivés de benzimidazole, condensés avec d'autres hétérocycles tels que le triazole, le pyrazole, le thiazole, le thiadiazole, l'azétidinone, ont montré diverses activités pharmacologiques. Cette mise au point souligne l'importance du benzimidazole dans le monde médical avec quelques exemples de médicaments utilisés en clinique. [6].

L'amarrage moléculaire est une méthode de calcul qui peut fournir de l'information sur les interactions intermoléculaires des protéines, des acides nucléiques, des lipides et des ligands. Le but de l'amarrage moléculaire est d'obtenir une conformation optimisée des protéines et des ligands et d'obtenir également une orientation relative entre les protéines et les ligands à travers l'énergie minimisée du système [7].

Dans ce chapitre, on utilise les méthodes les plus employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Au cours de ce chapitre, nous sommes appuyés sur le modèle d'amarrage (docking) afin de guider et de prioriser la synthèse de dérivés du benzimidazole comme des inhibiteurs de l'ARN polymérase VHC-NS5B..

B.2.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans la présente étude, un ensemble de 14 composés a été recherché dans la base de données Pubchem en tant qu'inhibiteurs puissants de de l'ARN polymérase NS5B du VHC (Voir le tableau B.2.1).

Ligand	code du Ligand & Activité	ligand	code du Ligand & Activité
1	103493745 (0.12 nM)	8	103493950 (0.13 nM)
2	103493781 (0.98 nM)	9	103493951 (0.21 nM)
3	103493783 (0.69 nM)	10	103493952 (0.12 nM)
4	103493784 (0.55 nM)	11	103493953 (0.18 nM)
5	103493796 (0.11 nM)	12	103494034 (0.18 nM)
6	103493820 (0.38 nM)	13	103494035 (0.63 nM)
7	103493850 (0.48 nM)	14	103494037 (0.29 nM)

Tableau 1: code des ligands & Activité (IC50) de dérivés du benzimidazole.

B.2.2.1. Préparation de protéine

La structure cristalline tridimensionnelle de l'ARN polymérase dépendant de l'ARN du virus de l'hépatite C NS5B (HCV NS5B RdRp) (PDB ID : 2HAI) a été téléchargée en format PDB à partir de la banque de données protéiques [8]. Par la suite, la structure a été préparée et affinée à l'aide du Protein Preparation Wizard de Schrödinger- Maestro v11.5 [9]. Des charges et des ordres de liaison ont été attribués, des hydrogènes ont été ajoutés aux atomes lourds et

toutes les molécules d'eau ont été supprimées. En utilisant le champ de force OPLS_2005, la minimisation a été effectuée en réglant le RMSD d'atome lourd maximum (root-mean-square-déviatiion) à 0,30 Å.

B.2.2.2. Préparation des ligands

Les dérivés du benzimidazole ont été récupérés à partir des bases de données Pubchem [10]. Toutes les molécules ont été construites dans la version 11.5 de Maestro et préparées à l'aide de Ligprep (module intégré dans Schrödinger software) pour convertir la structure bidimensionnelle en une structure 3D, déterminer l'état d'ionisation le plus probable à un pH défini, neutraliser les structures chargées, ajouter de l'hydrogène en appliquant le champ de force OPLS-2005 (potentiels optimisés pour les simulations de liquides)

B.2.2.3. Génération des grilles du récepteur

Les grilles de récepteurs ont été calculées pour les protéines préparées de telle sorte que diverses poses de ligands se lient à l'intérieur du site actif prévu pendant l'amarrage. Dans Glide [11], des grilles ont été générées en gardant les paramètres par défaut du facteur d'échelle de van der Waals 1,00 et la coupure de charge 0,25 soumis au champ de force OPLS 2005. Une boîte cubique de dimensions spécifiques centrée autour du centroïde des résidus du site actif (site actif du ligand de référence) a été générée pour le récepteur. La boîte de limitation a été réglée à $10 \times 10 \times 10$ Å pour les expériences d'amarrage.

B.2.2.4. L'amarrage

Une fois la grille de récepteur générée, les ligands ont été amarrés à la protéine en utilisant le Protocole d'amarrage de Glide. Les ligands ont été amarrés en utilisant une « Xtra Precision » (XP). Les conformères amarrés ont été évalués à l'aide du Glide (G) Score [11].

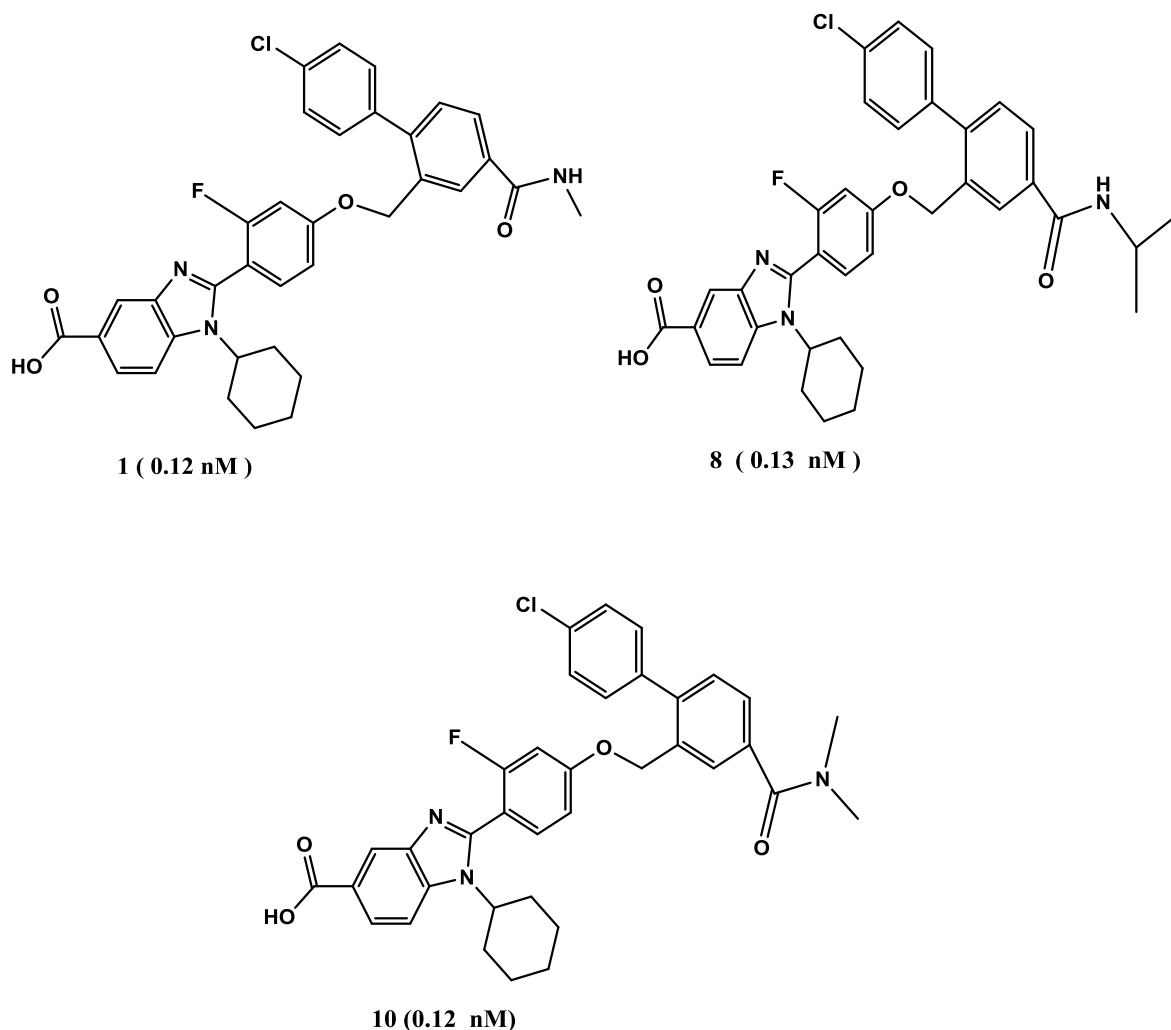


Figure Figure B.2.4: Ligands 1, 8 ET 10 (composés de référence) présentent respectivement l'activité la plus élevée.

B.2.3. Résultats et discussion

Des études de la structure d'amarrage ont été menées pour étudier l'interaction intermoléculaire entre le ligand et l'enzyme ciblée à l'aide de Glide (Glide 5.8, Schrödinger, 2018). L'amarrage a été effectué pour étudier le mode de liaison des composés actifs avec le récepteur : 2HAI et obtenir des informations pour de nouvelles améliorations structurelles. La génération de grille pour définir le site de liaison sur le récepteur a été effectuée à l'aide du panneau de génération de grille du récepteur avec les paramètres par défaut. L'amarrage Glide (XP) a été utilisé pour cette étude. Pour évaluer l'amarrage des ligands protonés, le score d'amarrage doit être utilisé. Ainsi, dans ce travail, le score d'amarrage a été utilisé pour

comparer la stabilité des complexes simulés. Le score d'amarrage moyen obtenu pour les inhibiteurs potentiels 1, 8 et 10 était respectivement de -1,858, -2,497 et -4,824. Ensuite, le complexe inhibiteur 8/ 2HAI est plus stable que les complexes inhibiteurs 1 / 2HAI et inhibiteurs 10 / 2HAI. Parmi ces d'inhibiteurs étudiés, l'inhibiteur 8 avait un score d'amarrage plus élevé par rapport aux inhibiteurs 1 et 10. Les résultats de l'analyse d'amarrage ont été décrits dans le tableau B.2.2 et les figures B.2.5a, b et c.

L'étude d'amarrage du composé 1 montre que le cycle benzénique (attaché au groupe amide) interagit avec le cycle aromatique du résidu TYR-477 du récepteur (Fig. **B.2.5a**). La figure **B.2.5b** montre que les deux atomes d'oxygènes du groupe COO⁻ du composé 8 interagissent avec l'atome H du squelette d'acide aminé d'ARG-32 via une liaison hydrogène du récepteur. La figure **B.2.5c** montre que les interactions du composé 10 avec le récepteur 2HAI : l'atome de l'oxygène du groupe amide interagit avec l'atome H du squelette d'acides aminés de LEU497 via une liaison hydrogène, l'atome de l'oxygène du groupe COO⁻ interagit avec l'atome H du squelette d'acide aminé de LYS533 par une liaison hydrogène et le cycle qui contient l'atome d'azote interagit avec l'atome d'azote du résidu ARG501.

	C1 ID : 103493745	C8 ID : 103493950	C10 ID : 103493952
Docking score	-1.858	-2.497	-4.824
Glide score (kcal/mol)	-2.217	-2.964	-5.183

Tableau B.2.2 : Résultats de l'analyse d'amarrage des composés 1, 8 et 10 respectivement.

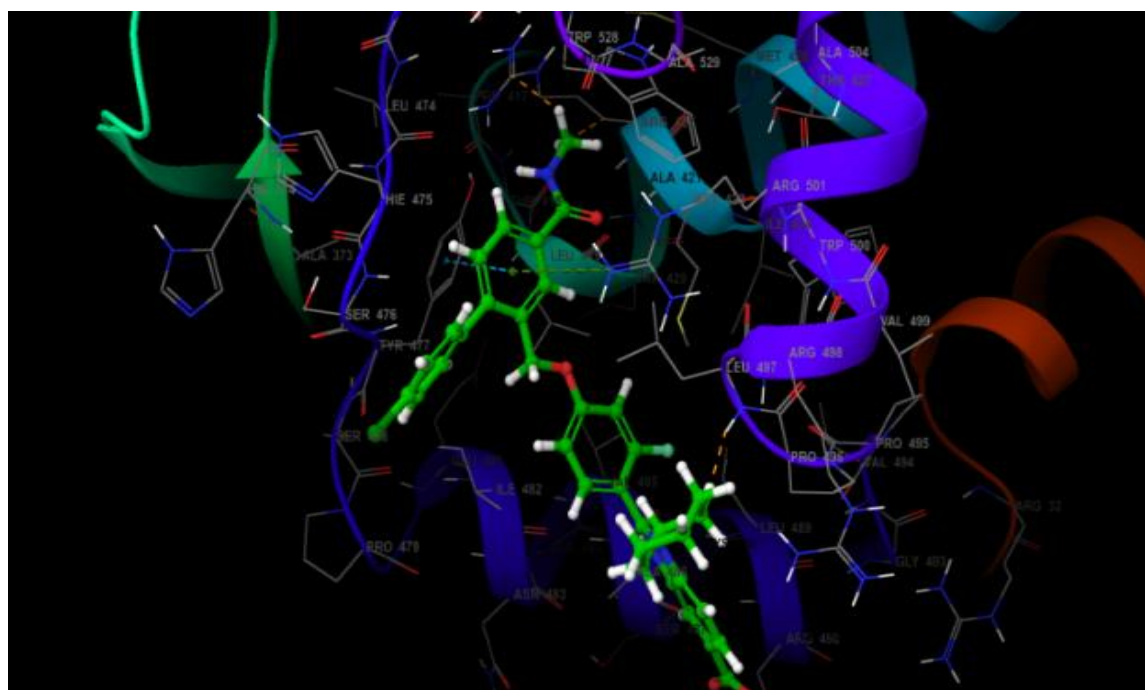
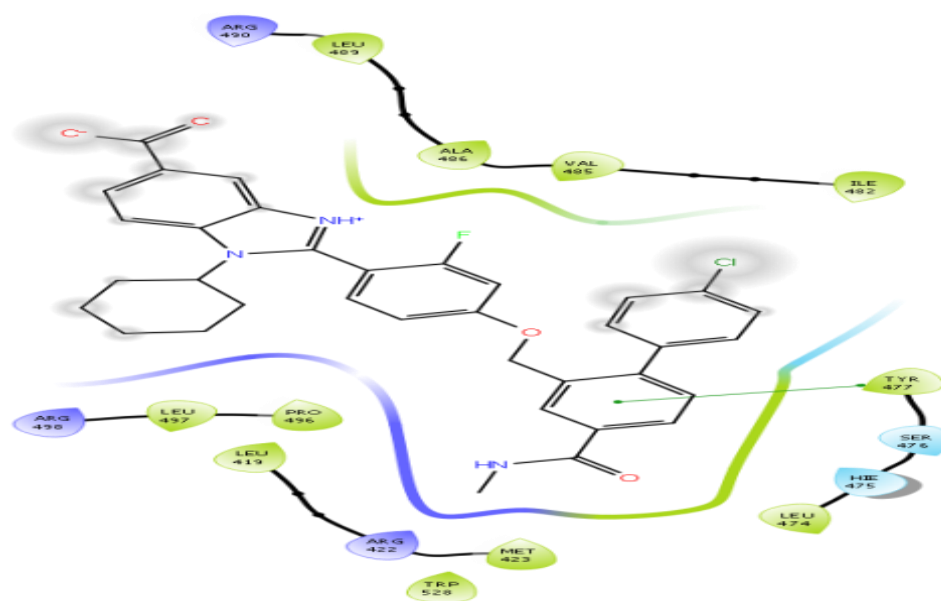


Figure B.2.5 a: Interaction de liaison 2D et 3D du ligand 1 dans le site actif de 2HAI.

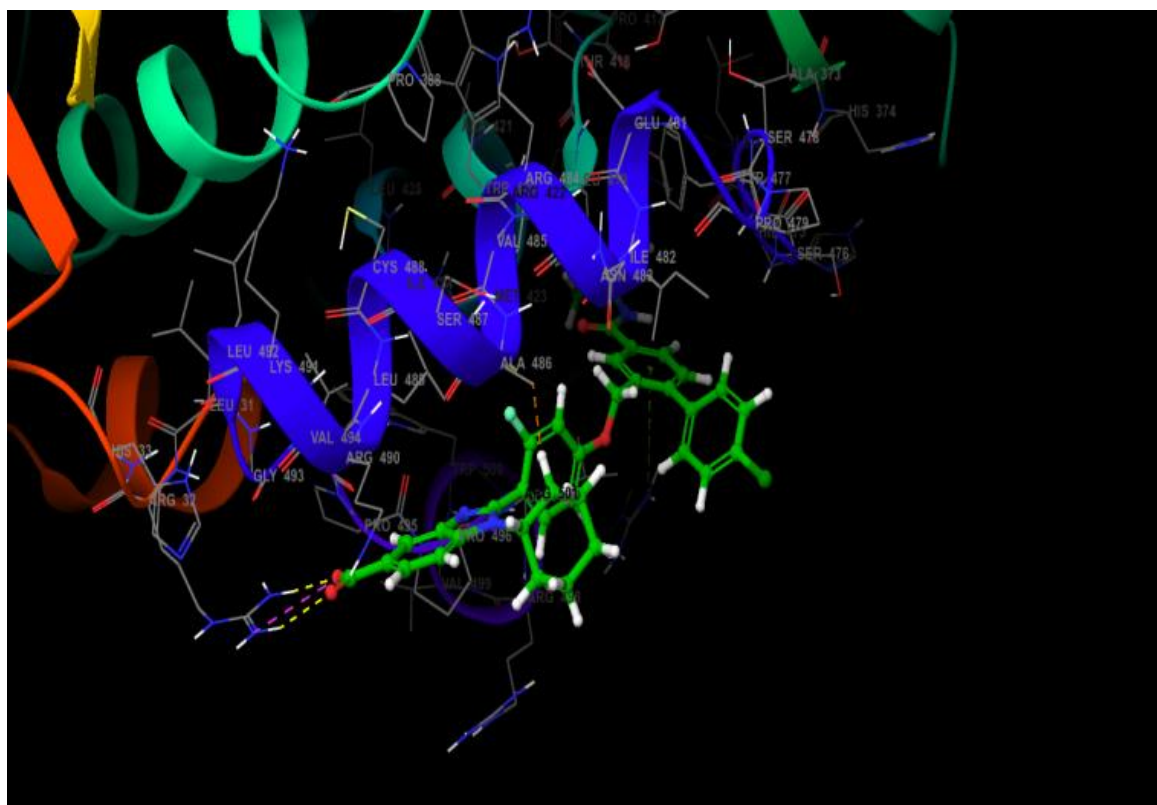
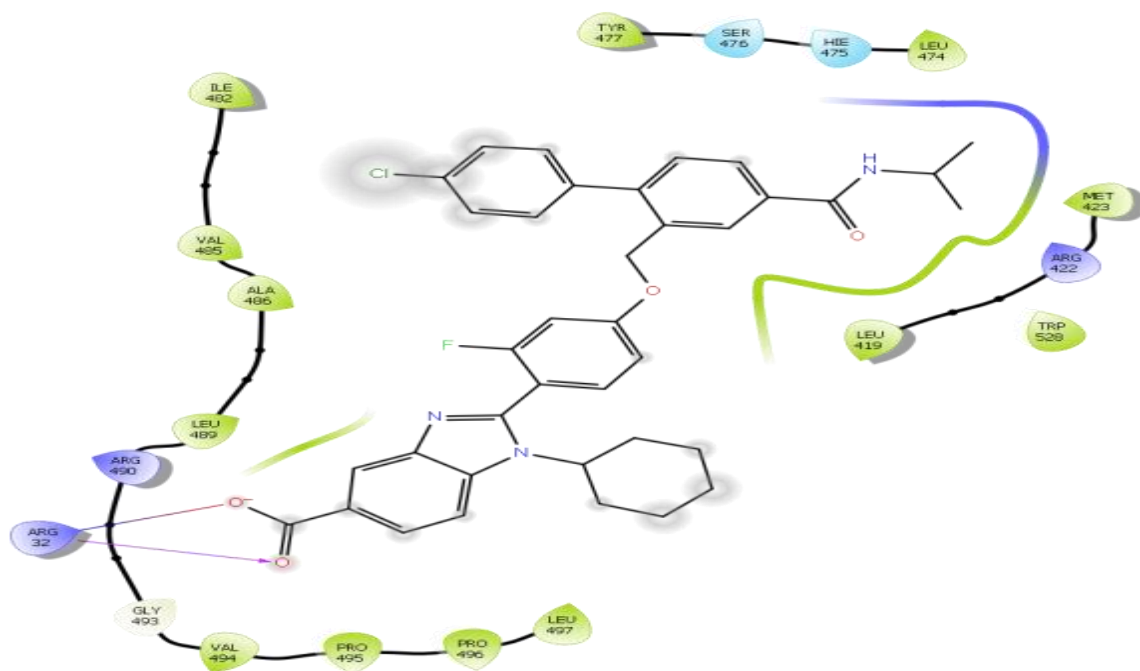


Figure B.2.5b: Interaction de liaison 2D et 3D du composé 8 dans le site actif de 2HAI.

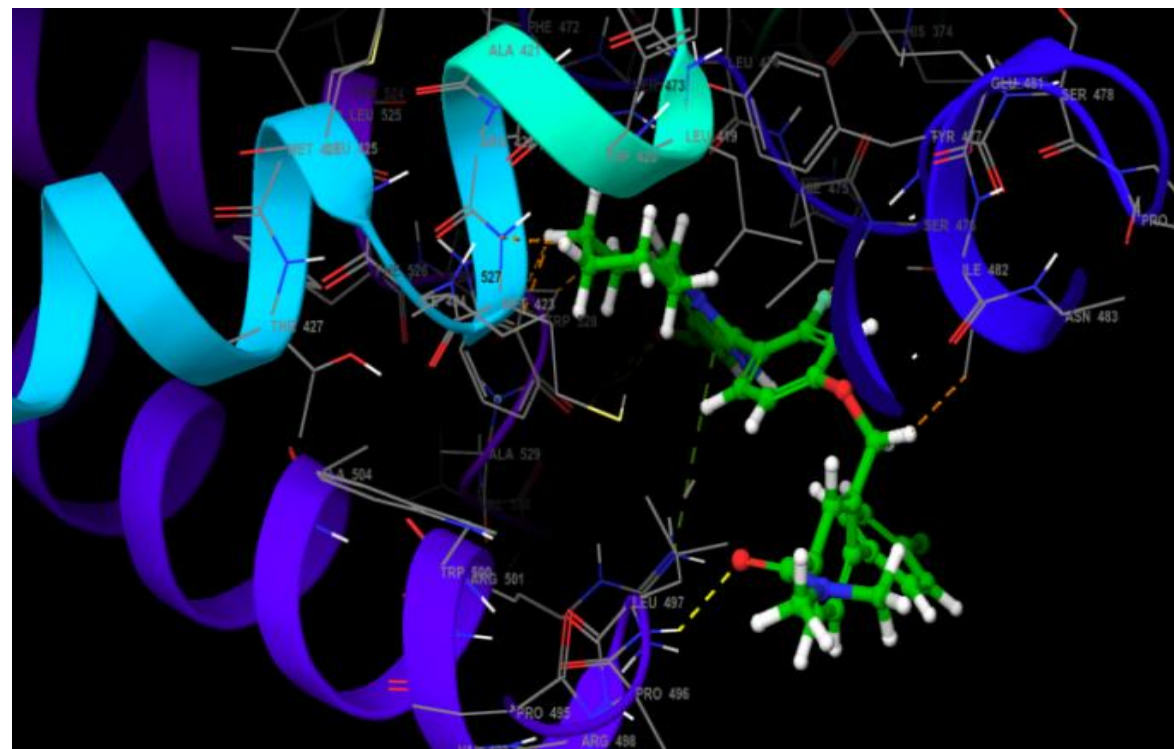
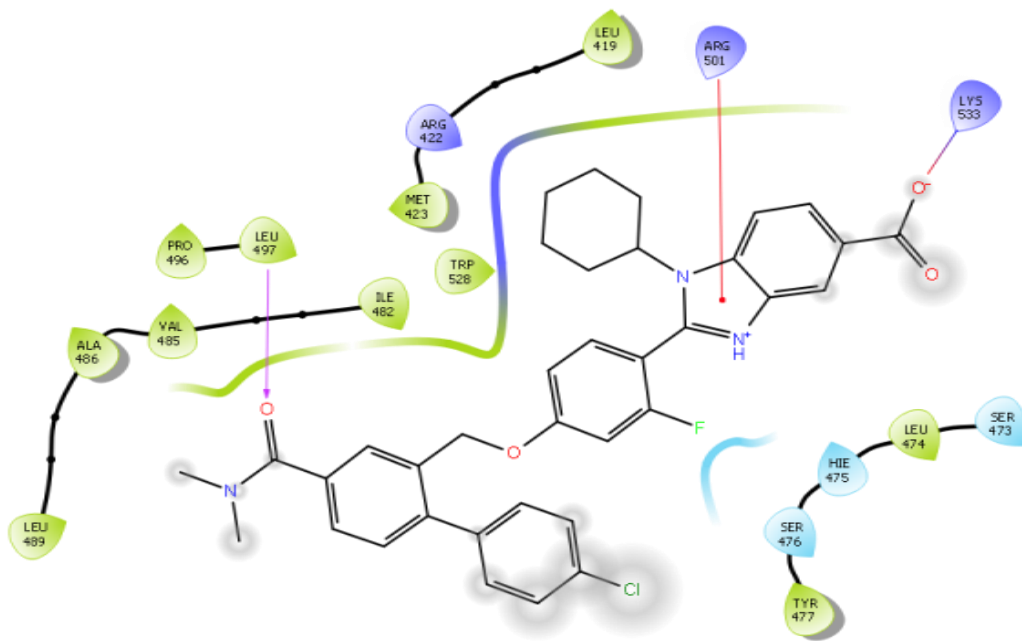


Figure B.2.5c: Interaction de liaison 2D et 3D du ligand 10 dans le site actif de 2HAI

REFERENCES

- [1-2]. OMS | Hépatite C : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/fr>; **2014**.
- [3]. **Thèse de doctorat : L'HÉPATITE A VIRUS C : LES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES TACTUELLES ET EN PLACE DU PHARMACIEN D'OFFICINE DANS LE CONSEIL ET LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS**, François-Xavier GUIRLET ; Université de Lorraine France ; **2012**.
- [4] M.Gaba, S.Singh, C. Mohan. . Eur J Med Chem. **2014**, 76, 494-505.
- [5]. R.W.DeSimone, K.S.Currie, S.A.Mitchell, J.W.Darrow, D.A.Pippin. Comb Chem High T Scr. **2004**, 7, 473-494.
- [6]. A. Saber, N. K. Sebbara, El Mokhtar Essassia .J. Mar. Chim. Heterocycl., **2019**, 18, 1-50.
- [7]. Ferreira, L. ; DosSantos, R. ; Oliva, G. ; Andricopulo, A. Molécules. **2015**, 20,133384-421.
- [8]. Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>).
- [9]. Maestro v11.5, Schrödinger, LLC, New York, USA
- [10]. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.
- [11].GLIDE, Schrodinger, LLC, New York, USA.

Conclusion générale

Dans ce travail, d'une part nous avons mené une étude théorique d'une réaction de type 1,3-Dipolaire entre d'éthyle azidoacétate et l'alcynyle trifluorométhyle. La régiosélectivité observée expérimentalement a été rationalisée par 3 approches théoriques différentes (calcul des barrières d'activation, application du modèle de Domingo et utilisation de la règle de Houk (les orbitales frontières)).

D'une autre part, on peut étudier l'activité biologique comme des inhibiteurs de la polymérase du VHC-NS5B en utilisant la technique d'amarrage moléculaire (Docking). Les ligands actifs 1, 8 et 10 ont la plus haute activité et les meilleurs scores d'amarrage. Les informations obtenues à partir d'amarrage moléculaire peuvent être utilisées pour la conception de dérivés du benzimidazole comme inhibiteurs puissants de l'ARN polymérase NS5B du virus de l'Hépatite C.

En perspective, dans le prochain travail on va étudier théoriquement :

- la régiosélectivité et la stéréosélectivité dans les réactions de type Diels-Alder intramoléculaires.
- Les méthodes les plus employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique comme : Pharmacophore et 3D QSAR.