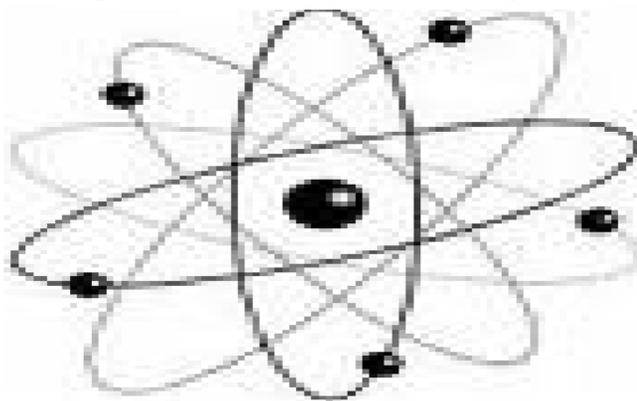




République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Med Khider Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département des Sciences de la Matière
Domaine : Sciences de la Matière
Filière : Chimie
Spécialité : Chimie Pharmaceutique



Mémoire de fin d'étude en Master
Intitulé :

***Synthèse, étude in vitro et in silico de quelques
dérivés de base de schiff***

Présenté par :

Djoudi Zineb

Devant les jury:

Y. Boumedjan

Université Med Khider de Biskra

Président

D.Harkati

Université Med Khider de Biskra

Encadreure

A.Zekri

Université Med Khider de Biskra

Examinatrice

Liste des tableaux	
Listes des figures	
Liste des abréviations	
Introduction Générale	09
Références	11

Chapitre I :

aperçu bibliographie sur les bases de schiff et le récepteur biologique

I.1 Introduction :	13
I.2 Le mécanisme réactionnel de formation des bases de schiff :	14
I.3 Différentes méthodes de synthèse des imines :	15
I.4 Application des bases de schiff :	16
I.5 Base de schiff et l'activité biologique :	17
I.5.1 Activité antibactérienne	18
I.5.2 Activité anti-inflammatoire.....	18
I.5.3 Activité Antifongique :	18
I.5.4 Activité antioxydante :	19
I.6 ETUDE DE L'ALBUMINE HUMAINE :	19
I.6.1 Structure biochimique de l'albumine :	19
I.6.2 Synthèse de l'albumine :	20
I.6.3 Propriétés physico-chimiques de l'albumine humaine.....	20
I.6.4 Fonction de transport :	21
Références	22

Chapitre II :

Aperçu bibliographier sur la modélisation moléculaire

II.1 Introduction	27
II.2 Méthodes quantiques	28
II.2.1 Méthodes ab-initio (Hartree- Fock- Roothann):	29
II.2.2 Théorie d la fonctionnelle de la densité (DFT).....	30

II.2.3	Méthodes semi-empiriques	31
II.3	Méthodes non quantiques	32
II.3.1	Mécanique moléculaire	32
II.3.2	Champ de force :	33
II.3.3	Énergie d'interaction entre atomes liés :	34
II.3.4	Énergie d'interaction entre atomes non liés	36
II.3.5	Différents champs de force en mécanique moléculaire	39
II.3.6	Minimisation d'énergie :	40
II.4	Dynamique moléculaire :	41
II.4.1	Principe de la dynamique moléculaire :	41
II.4.2	Applications de la dynamique moléculaire	42
II.5	Docking moléculaire	42
II.5.1	Principes théoriques	42
II.5.2	Un processus de Docking Moléculaire :	44
II.5.3	Représentation du système	44
REFERENCES	46

Chapitre III :

Synthèse et évaluation de l'activité biologique in vitro et in silico

III.1	Introduction :	52
III.2	Matériels et méthodes utilisées :	53
III.2.1	La chromatographie sur couche mince CCM :	54
III.2.2	Le point de fusion :	55
III.2.3	Spectroscopie infrarouge IR :	56
III.2.4	Appareils utilisées :	56
III.3	La synthèse des dérivés de base de schiff :	56
III.3.1	Mode opératoire :	57
III.3.1.1	Mode opératoire générale	57
III.3.1.2	Mode opératoire utilisé :	57
III.3.2	Synthèse de la molécule(E) -N-Benzylideneaniline (A) :	57
III.3.2.1	Caractéristiques physico-chimique :	58
III.3.3	Synthèse de la molécule(E) -2-((phenylimino)methyl) phenol (B) :	59
III.3.3.1	Caractéristiques physico-chimique :	60

III.3.4 Synthèse de la molécule N-Benzylidene-1-phenylmethanamine (C) :	61
Caractéristiques physico-chimique :	62
III.3.5 Synthèse de 2-((benzylimino)méthyl) phenol (D) :	61
III.3.5.1 Caractéristiques physico-chimique :	63
III.3.6 Étude spectrales :	64
III.4 L'évaluation de l'activité biologique in vivo (activité antioxydant) :	64
III.4.1 Les antioxydants :	64
III.4.2 Protocole générale :	65
III.4.3 Préparation de la solution mère :	65
III.4.4 Résultats et discussion :	66
III.5 Évaluation de l'activité biologique in silico (docking moléculaire) :	70
III.5.1 Introduction :	70
III.5.2 Préparation de protéine :	71
III.5.2.1 Dynamique moléculaire de l'albumine :	75
III.5.3 Préparation des ligands :	76
III.5.4 Le docking moléculaire :	79
III.5.5 Résultat de docking moléculaire :	79
III.5.5.1 Le site actif dans l'albumine :	79
III.5.5.2 Interaction albumine-ligand (HSA- oxyphenbutazone) :	80
III.5.5.3 Interaction HSA-ligands :	82
III.5.5.4 La distance stérique :	85
III.6 Conclusion :	90
Conclusion générale.....	94

Annex

Liste des tableaux

Chapitre II

Tableau 1: Fonctions d'énergie associées aux atomes liés.	35
Tableau 2: Fonctions d'énergie associées aux atomes non liée	38

Chapitre III

Tableau 3: Solvants et réactifs	53
Tableau 4: Propriétés physico-chimique et donnés spectrales de composé (A)	59
Tableau 5: Propriétés physico-chimique et donnés spectrales de composé (B).....	60
Tableau 6: Propriétés physico-chimique et donnés spectrales de composé (C).....	62
Tableau 7: Propriétés physico-chimique et donnés spectrales de composé (D)	63
Tableau 8 : valeurs d'inhibition en fonction de concentration composé (A).....	66
Tableau 9: valeurs d'inhibition n fonction de concentration composé (B).....	67
Tableau 10 : valeurs d'inhibition n fonction de concentration composé (c).....	68
Tableau 11: valeurs d'inhibition n fonction de concentration composé (D).....	69
Tableau 12: les valeurs énergétiques des ligands.....	78
Tableau 13: valeurs d'RMSD.....	80
Tableau 14: Résultats énergétiques de l'interaction de ligand de référence	81
Tableau 15 : valeurs de score et RMSD des 4 ligands	83
Tableau 16: Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (A)	86
Tableau 17: Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (B).....	87
Tableau 18: Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (c).....	88
Tableau 19: Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (D)	89

Liste des figures et schéma :

Chapitre I

Figure 1: la Structure générale d'une base de Schiff.....	13
Figure 2: Exemples de bases de Schiff bioactives, produit naturels, composés 7	14
Figure 3 : des bases de Schiff de dérivés de quinazolinone	18
Figure 4 : dérivés chitosane, bases de schiff	18
Figure 5: Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures.....	20

Chapitre II

Figure 6: Interactions intramoléculaires entre atome liés et non liés.....	34
Figure 7: déterminer les minimas de l'énergie globale d'interaction.....	41
Figure 8: Principe général d'un programme de docking	43
Schéma 1: Mécanisme de formation d'une base de Schiff [13].....	15

Chapitre III

Figure 9: Méthodologie de travail.....	51
Figure 10 : plaque CCM.....	55
Figure 11: La plaque CCM de la réaction de composé (A)	58
Figure 12: la plaque CCM de la réaction de composé (B)	60
Figure 13: la plaque CCM de la réaction de composé (C)	61
Figure 14: la plaque CCM de réaction de composé (D).....	63
Figure 15 activité anti radicalaire de le composé (A)	66
Figure 16: activité anti radicalaire de le composé (B).....	67
Figure 17: activité anti radicalaire de le composé (C).....	68
Figure 18: activité anti radicalaire de le composé (D)	69
Figure 19: la structure 3D de l'HSA (2BxB) avec oxyphenbutazone	72
Figure 20: structure 3D de le HSA après la minimisation d'énergie	73

Figure 21: La forme monomère de HSA avec l'oxyphenbutazone.....	74
Figure 22: structure 2D et 3D de l'oxyphenbutazone	74
Figure 23: la structure 3D de l'HSA après la dynamique moléculaire.....	76
Figure 24: les structures 2D des ligands.....	77
Figure 25: les structures 3D des ligands optimisés	78
Figure 26: le site actif sélectionnée et le ligand de référence dans l'HSA.....	80
Figure 27: les interactions entre les résidus de site actif de l'HSA avec l'oxyphenbutazone (Image 3D)	81
Figure 28: les interactions entre les résidus de site actif de l'HSA avec l'oxyphenbutazone ..	82
Figure 29: interaction entre les résidus de site actif et ligand (A).....	83
Figure 30: interaction entre les résidus de site actif et ligand (B).....	84
Figure 31: interaction entre les résidus de site actif et ligand (C).....	84
Figure 32: interaction entre les résidus de site actif et ligand (D).....	85
Schéma 2: Réactionnel de la synthèse de (B).....	59
Schéma 3: Schéma réactionnel de la synthèse de (C).....	61

Liste d'abréviation :

2D : Deux dimensions

3D : Trois dimensions

λ : La longueur d'onde

A

AMBER: Assisted Model Building and Energy Refinement

Abs : Absorbance

Arg : L'arginine

C

C : Concentration

$^{\circ}\text{C}$: Température en degrés Celsius

CCM Chromatographie sur couche mince

D

DM: Dynamique Moléculaire

E

E:Energie.

I

I: Inhibition

IC50 : la concentration d'inhibiteur pour laquelle la vitesse initiale de formation de produit diminue jusqu'à la moitié de sa valeur mesurée en absence d'inhibiteur.

Ile: Isoleucine

IR Infrarouge

K

k.j : kilo joule

G

g : Gramme

M

ml : Millilitre

MM: Mécanique Moléculaire

mmole : Millimole

N

nm : Nanomètre

P

PDB:Protein Data Bank

R

Rdt : Le rendement

Rf : Rapport frontal

T

Tf : Indique la température de fusion

V

VDW : Van Der Waals

Introduction Générale

Dans le domaine de la recherche de nouvelles biomolécules, plusieurs investigations portent sur les modifications structurales que l'on peut apporter à des molécules modèles telles que les médicaments synthétiques et les biomolécules naturelles. Beaucoup de recherches ont été consacrées à la synthèse et au développement de nouvelles molécules capables de s'hybrider sélectivement ou bien d'interférer avec les processus biologiques, ces synthèses s'articulent essentiellement autour de la chimie des hétéroatomes, notamment celle de l'imine.

Les imines représentent une classe d'intermédiaires réactifs biologiques qui a fait l'objet de recherches toxicologiques intensives ces dernières années. Les imines et bis-imines sont une classe importante de composés organiques [1].

Les composés contenant un groupe $>C=N-$ groupe sont connus comme imines ou azométhine ou animal, mais en général elles sont connues en tant que « base de schiff » en l'honneur de schiff qui a synthétisé ces types de composés pour la première fois. Les bases de schiff sont des produits de la réaction entre des aldéhydes ou des cétones et des amines aliphatiques ou aromatiques primaires, constituent une famille de composés organiques connus et étudiés depuis fort longtemps. Le grand intérêt accordé à ces composés est dû principalement à leur procédé facile de préparation, réalisé en général en une seule étape, leur obtention avec de bon rendements [1-2].

La formation de la base de Schiff a lieu généralement sous l'effet catalytique d'un acide, d'une base ou avec la chaleur. Les communes bases de Schiff sont des solides cristallins faiblement basiques [3- 4].

Nous devons faire remarquer que la synthèse des bases de Schiff constitue un thème de recherche d'actualité qui ne cesse d'attirer de nombreuses équipes de recherche à travers le monde, que ce soit sur le plan universitaire ou industriel. Cela peut être associé essentiellement à l'importance et à la diversité des applications de ce type de composés. L'activité biologique des bases de schiff a été largement explorée durant ces dernières décennies. Leurs propriétés antibactérienne, antifongique anti-inflammatoires et anticancéreuses ont été testées avec succès [5].

Les interactions entre molécules sont à la base de la plupart des mécanismes biologiques. Étudier les détails d'interactions, à l'échelle moléculaire, entre un ligand et la cible thérapeutique s'avère donc d'un très grand intérêt. Le docking moléculaire est devenu, un outil indispensable dans

Le domaine de la conception de molécules médicamenteuses qui pourraient agir le plus favorablement, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre que les méthodes classiques [6-7].

Les méthodes de la modélisation moléculaire offrent des moyens de sonder les propriétés énergétique et dynamique des protéines dont certaines sont difficiles à mesurer expérimentalement. Notre sujet de fin d'étude a l'objectif de mieux comprendre les interactions entre la protéine (HSA) et les dérivés des bases de schiff (Capacité d'identifier et à lier avec le protéine), en employant une méthode informatique d'amarrage (docking) afin de prédire les structures des complexes et d'évaluer la nature et la forces des interactions

Vue l'intérêt biologique de ces structures des bases de schiff, nous sommes particulièrement intéressés dans ce travail à la synthèse des dérivés de base de schiff, et évaluer de leurs activités biologiques in silico et in vitro (évaluation de l'activité antioxydant, étudier les interactions entre les dérivés de bases de schiff (4ligands) et le récepteur albumine humain (code : 2BXB)

Ce travail s'articule autour de trois chapitres :

- ✓ **Une introduction générale** : dans laquelle nous avons donné l'objectif de notre travail.
- ✓ **Le premier chapitre** porte sur une mise au point bibliographique des Bases de Schiff : leur réaction de formation, leurs types et leurs domaines d'application.
- ✓ **Dans le deuxième chapitre** : nous avons effectué une recherche bibliographique sur la modélisation moléculaire.
- ✓ **Le troisième chapitre** est consacré à :
 - La synthèse et la caractérisation des ligands obtenus par condensation des amines aromatiques avec des aldéhydes aromatiques. Ces composés sont caractérisés par la présence d'une fonction C=N (imine)
 - Évaluation de l'activité biologique :
 - L'activité anti oxydante des ligands synthétisés au laboratoire en utilisant la méthode analytique (réduction du radical libre DPPH)
 - Docking moléculaire
- ✓ **Une conclusion générale**

Références :

- [1] Amel MESSAI. Thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine, (2010).
- [2] DAR KEBIRA, Fatma. Synthèses, caractérisations et étude structurale des complexes de nickel et de cuivre. Thèse de doctorat..
- [3] MAHMUD, Tariq. Synthesis and characterization of the amino acid Schiff bases and their complexes with copper (II). 2010..
- [4] KUMAR, Shalin, DHAR, Durga Nath, et SAXENA, P. N. Applications of metal complexes of Schiff bases-A review. 2009
- [5] GUPTA, Neeraj Kumar, VERMA, Chandrabhan, QURAIISHI, M. A., et al. Schiff's bases derived from l-lysine and aromatic aldehydes as green corrosion inhibitors for mild steel: experimental and theoretical studies. *Journal of Molecular Liquids*, 2016, vol. 215, p. 47-57
- [6] CHENG, Alan C., COLEMAN, Ryan G., SMYTH, Kathleen T., et al. Structure-based maximal affinity model predicts small-molecule druggability. *Nature biotechnology*, 2007, vol. 25, no 1, p. 71
- [7] YURIEV, Elizabeth, AGOSTINO, Mark, et RAMSLAND, Paul A. Challenges and advances in computational docking: 2009 in review. *Journal of Molecular Recognition*, 2011, vol. 24, no 2, p. 149-164.

CHAPITRE I

I.1 Introduction :

Les ligands bases de Schiff représentent un rôle important dans différents domaines de la chimie. En effet, des efforts considérables ont été déployés pour développer les méthodes de synthèse de ces composés, qui ont suscité, pendant très longtemps une attention très particulière chez beaucoup de chercheurs en se basant sur leur importance dans le domaine biologique, médicinale, pharmaceutique ainsi que dans le domaine industriel

Les bases de Schiff sont des composés contenant le groupe azométhine (-HC=N-). Elles ont été rapportées pour la première fois par Hugo Schiff en 1864 et sont produites de la condensation des cétones ou des aldéhydes avec des amines primaires. La formation de la base de Schiff a lieu généralement sous l'effet catalytique d'un acide, d'une base ou avec la chaleur. Les communes bases de Schiff sont des solides cristallins faiblement basiques. [1]

- Une base de Schiff est définie comme tout produit comportant une fonction imine dont l'un des constituants sur le carbone ou sur l'azote, est un groupement aromatique [2, 3]
- Une base de Schiff est définie comme étant la condensation d'une amine primaire avec une cétone ou un aldéhyde. Par extension, on appelle base de Schiff tout produit comportant une double liaison C=N issue de la réaction entre un azote nucléophile et un composé carbonyle [4, 5].

Les bases de Schiff ont la structure générale suivante (Figure I-1) :

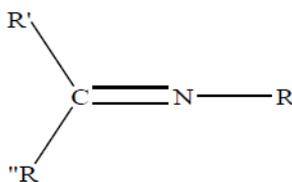


Figure 1: la Structure générale d'une base de Schiff.

En effet, les groupes imines ou azométhines sont présents dans différents produits naturels, composés dérivés d'un produit naturel, et composé non-naturel, la figure I.2 montre certains exemples. Le groupe imine présent dans ces composés a été démontré d'être indispensable à leurs activités biologiques [6,7].

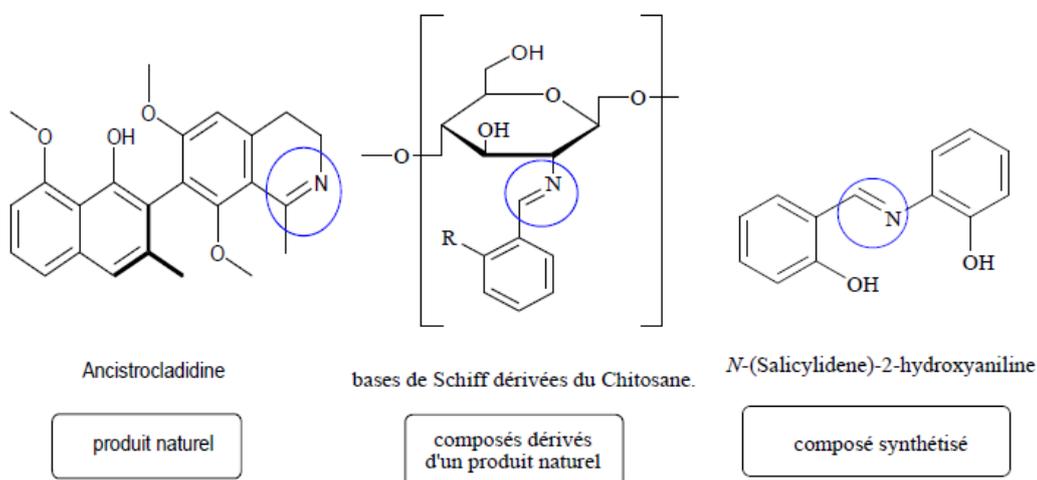


Figure 2:Exemples de bases de Schiff bioactives, produit naturels, composés 7

Les bases de schiff contenant des substituants aromatiques sont généralement plus stables que ceux ne contenant que des substituants aliphatique (alkyles ou cycloalkyles), cependant la basicité des bases de schiff aliphatiques est largement supérieure à celle des bases de schiff aromatiques [8-10].

La formation des bases de Schiff à partir d'un aldéhyde ou une cétone est une réaction réversible et s'effectue généralement sous catalyse acide ou basique, ou par chauffage [11].

I.2 Le mécanisme réactionnel de formation des bases de schiff :

Le mécanisme de formation d'une base de schiff est l'addition d'un nucléophile au groupe carbonyle. Dans ce cas, le nucléophile est une amine. Dans la première partie du mécanisme l'amine réagit avec l'aldéhyde ou la cétone pour donner un composé de condensation instable appelé amino alcool. Les amino alcools se déshydratent en milieu acide pour donner des imines encore appelées bases de schiff ainsi qu'en thèrle de synonyme dite azométhine [12].

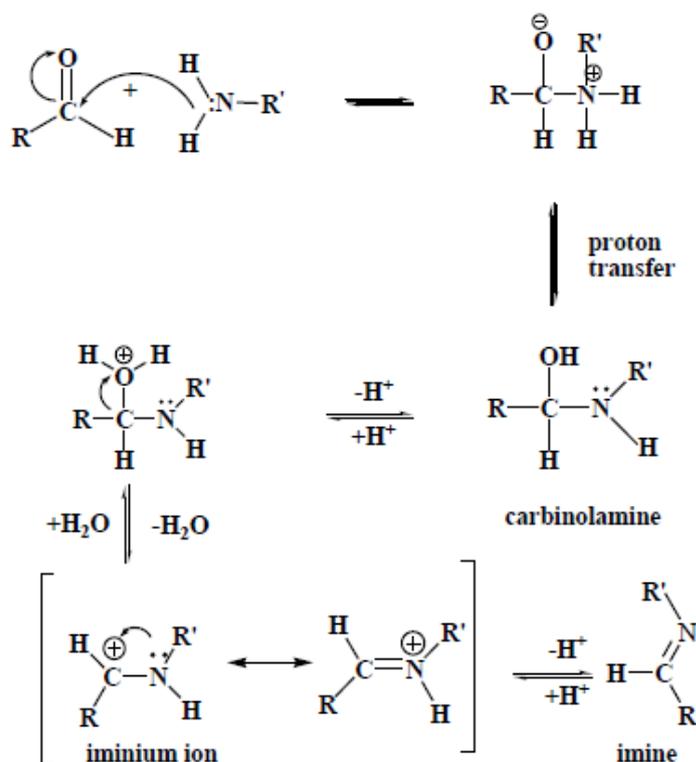


Schéma 1: Mécanisme de formation d'une base de Schiff [13].

Généralement les aldéhydes réagissent plus vite que les cétones dans ces réactions de condensation puisque la base de Schiff résultante de l'aldéhyde présente moins de gênes stériques que ceux d'une cétone. De plus, la densité électronique sur l'atome de carbone du groupe carbonyle est plus faible dans le cas de la cétone que dans le cas de l'aldéhyde faisant en sorte que l'efficacité de l'attaque nucléophile de l'amine est régulée en tant que telle.

Les bases de Schiff sont généralement des solides qui précipitent au fur et à mesure de leur formation dans le milieu réactionnel facilitant ainsi leur éventuelle séparation qui peut être aisément réalisée par filtration [14].

I.3 Différentes méthodes de synthèse des imines :

La première préparation des imines a été rapportée au 19^{ème} siècle par Schiff (1864). Depuis, diverses méthodes de synthèse des imines ont été décrites [15].

La synthèse classique rapportée par Schiff implique la condensation d'un composé carbonyle avec une amine sous une distillation azéotrope [16].

Des tamis moléculaires sont alors utilisés pour éliminer complètement l'eau formée dans le système [17].

Dans les années 90, une méthode d'élimination de l'eau a été mise au point en utilisant des solvants déshydratants tels que l'orthosilicate de tétraméthyle ou l'orthoformiate de triméthyle [18, 19].

En 2004, Chakraborti et al ont démontré que l'efficacité de ces méthodes dépend de l'utilisation de composés carbonyles fortement électrophiles et d'amines fortement nucléophiles. Ils ont proposé comme alternative l'utilisation de substances qui fonctionnent comme des acides de Brønsted-Lowry ou de Lewis pour activer le groupe carbonyle des aldéhydes, catalyser l'attaque nucléophile par les amines et déshydrater le système, éliminant l'eau comme étape finale. Des exemples d'acides de Brønsted-Lowry ou de Lewis utilisés pour la synthèse de bases de Schiff comprennent $ZnCl_2$, $TiCl_4$, PPTS, $Ti(OR)_4$, H_2SO_4 , $NaHCO_3$, $Mg(ClO_4)_2$, CH_3COOH , $Er(OTf)_3$, P_2O_5/Al_2O_3 , HCl [20].

I.4 Application des bases de schiff :

Grâce à leurs importances dans la vie humaine, les bases de schiff et ses complexes sont exploités dans divers domaines, parmi lesquels on cite leurs utilisations dans :

- Le traitement de quelques maladies (accumulation du cuivre dans le foie, le cerveau et les reins ou certaines formes de cancer).
- L'activité biologique (activité antifongique, antibactérienne...).
- Dans le domaine d'optimisation le taux de décharge des batteries ainsi leur capacité

- Dans le domaine de la chimie analytique (titrage, précipitation et séparation des métaux).
- L'oxydation catalytique des hydrocarbures qui sont diversifiés suivant la nature de fonction chimique des composés organiques, tel que l'oxydation des alcools, carboxylation des halogénures, oxydation des amines primaire, les phénols et les hydrocarbures [21]

I.5 Base de schiff et l'activité biologique :

Les composés de la famille des bases de schiff (imines) présentent une large exploitation depuis le 19^{ème} siècle. En raison de leur large éventail d'activités biologiques. En effet les groupes imines sont présent dans des divers composés : naturels, dérivés d'un produit naturel, et non-naturel. Le groupe imine présent dans ces composés s'est révélé d'être essentiel pour leurs activités biologiques [22].

Par ailleurs les propriétés bilologiques des bases de schiff peuvent etre attribuées à différents groupement présents dans leurs structures, à savoir : l'hydroxyle (OH), méthoxy, les halogènes ainsi qu'à certains hétéroatomes constituant les parties cycliques de la molécule, tels sue l'azote, l'oxygène et le soufre [23].

Depuis quelques années, on assiste à travers la littérature scientifique à un intérêt concernant les bases de Schiff qui présentent des activités biologiques spécifiques en général reliées à la présence de ce groupement fonctionnel. Je citerai ici quelques exemples récents concernant diverses pathologies et maladies majeures en relation avec des activités antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, anticancéreuse ...

I.5.1 Activité antibactérienne

Les bases de schiff ont été présentées comme agents antibactériens prometteurs. Par exemple, la N-(salsylidène)-2-hydroxyaniline est efficace contre le mycobacterium tuberculosis. Qui présent une valeur MIC de 8mg/ ml [24]

I.5.2 Activité anti-inflammatoire

Les réactions inflammatoires sont induites par les infections microbiennes et virales ; l'exposition aux allergènes, les radiations et les produits chimiques toxiques, les maladies

auto-immunes et chroniques, l'obésité, la consommation d'alcool, l'utilisation de tabac, et une alimentation riche en calories [25, 26].

Plus récemment, en 2015 Rakesh, K et coll [27], ont rapporté la synthèse et in vitro activité anti-inflammatoire des bases de Schiff de dérivés de quinazolinone . Les composés suivants 5 et 6 (Figure3), présentaient une excellente activité avec des valeurs IC_{50} 84, $67\mu M/mL$, respectivement, beaucoup mieux que l'aspirine standard ($IC_{50} = 166 \mu M/mL$). La CI_{50} a été déterminée pour les composés présentant une concentration d'inhibition supérieure à 50%.

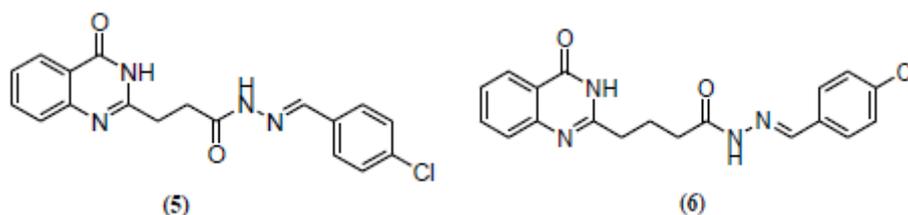


Figure 3 :des bases de Schiff de dérivés de quinazolinone

I.5.3 Activité Antifongique :

Les composés 1 et 2 sont des complexes des exemples de dérivés chitosane, bases de schiff ayant une activité antifongique. Ils inhibent la croissance de botrytis cinerea et colletotrichum lagenarium de 26-33% et 35-38% à 1000 ppm respectivement [28]

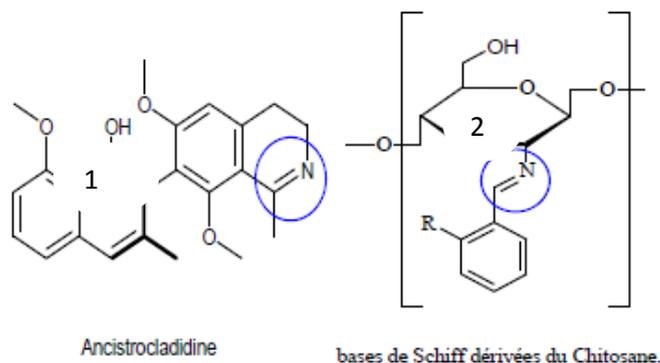


Figure 4 : dérivés chitosane, bases de schiff

I.5.4 Activité antioxydante :

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. En d'autres termes, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (ROS), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates. Les bases de Schiff ont été présentées également comme agents antioxydant prometteurs [29].

Kumar. M et coll [30]. Ont rapporté en 2014 la synthèse et l'activité antioxydante d'une série de base de Schiff dérivés de cholestérol. Les composés présentaient une excellente activité antioxydante que la vitamine C ($IC_{50}= 32,50\mu M$) respectivement, dans le dosage de DPPH.

I.6 ETUDE DE L'ALBUMINE HUMAINE :

L'albumine est une protéine plasmatique produite par le foie, l'intervalle normal de concentration en albumine dans le sang est 35 à 50 g/l, et elle représente habituellement environ 60% des protéines plasmatiques, toutes les autres protéines du plasma sont désignées collectivement sous le nom de globulines.

L'albumine est essentielle pour le maintien de la pression oncotique indispensable pour la bonne répartition des liquides entre les vaisseaux sanguins et les tissus

I.6.1 Structure biochimique de l'albumine :

Le sérum albumine humaine est une protéine monocaténaire de 585 résidus ayant un poids moléculaire de 68000 Daltons. La séquence polypeptidique a été depuis confirmée par la séquence génomique. Une étude de la séquence en acides aminés a permis de dénombrer 35 cystéines dont les positions influent sur la structure tertiaire de la molécule en la stabilisant par 17 ponts sulfures. L'organisation de la molécule en domaines et

boucles a été confirmée par les études de fragmentation de l'albumine, en particulier, l'action du bromure de cyanogène.

Celle-ci a permis l'obtention de trois fragments A, B et C résultant d'une coupure au niveau des résidus méthionines 123 et 198 localisés sur les brins ralliant les boucles [31-34] (figure I-6).

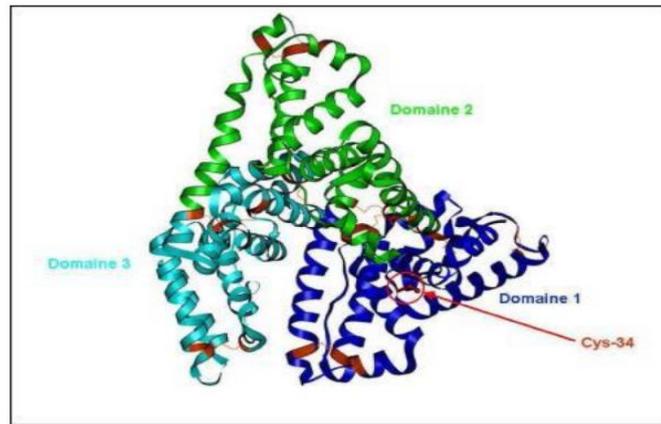


Figure 5: Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures.

I.6.2 Synthèse de l'albumine :

L'albumine est synthétisée par le foie et représente 50% de l'ensemble des protéines plasmatiques. La synthèse de cette protéine est soumise à une régulation très fine par le statut nutritionnel, l'insuline, le cortisol, le glucagon ou les hormones thyroïdiennes. La demi-vie est de deux à trois semaines puis la molécule est catabolisée par le système réticulo-endothélial [35]

L'albumine est synthétisée par le foie à raison de 10-15 g/j qui sont déversés presque intégralement dans la circulation et se répartissent entre le plasma et ensuite par diffusion dans les tissus interstitiaux (5% par heure) d'où ils sont résorbés par le système lymphatique [36].

I.6.3 Propriétés physico-chimiques de l'albumine humaine

À l'intérieur du pool des protéines plasmatiques, l'albumine humaine occupe quantitativement et qualitativement une place prépondérante, c'est en effet le constituant majeur du sérum.

Le taux d'albumine humaine est compris entre 38 et 44 g/l dans une population normale, lorsque l'albumine est dépourvue de tous les ligands, c'est une protéine incolore, dont la molécule porte plus de 200 résidus chargés, ce qui confère une hydrophilie importante et lui assure une grande solubilité.

Sa charge électrique nette est de -18 dans les conditions physiologiques, et son point isoélectrique se situe entre 4,8 et 5,6 sa valeur exacte dépend de la force ionique du milieu. L'hydrophilie élevée de l'albumine, lui permet de prendre en charge 75 à 80% de l'effet oncotique du plasma. C'est une protéine soluble isolée de la fraction V de Colin, qui peut être obtenue sous forme cristallisée par addition de sels minéraux.

Elle est dotée d'une grande capacité de combinaison in-vivo (acides gras, bilirubine, quinine, strychnine, pénicilline). Grâce à ses groupements tyrosyl, elle peut aisément fixer l'iode.

Une couche dense de molécules d'albumine disposées sur une surface dans le sens de leur longueur (couchées) correspond à une concentration interfaciale d'environ 0,2 µg/cm²; une couche dense de molécules orientées perpendiculairement à la surface (debout) donne une concentration interfaciale de 0,71 µg/cm². La séparation des différentes formes moléculaires est réalisée par la technique de l'électrophorèse en gel polyacrylamide, c'est la molécule la plus rapide en électrophorèse [32-36].

L'albumine est une composante importante du bon fonctionnement du corps humain [37].

De ce fait, elle est douée de plusieurs propriétés, parmi ces propriétés nous citons :

I.6.4 Fonction de transport :

Une grande fonction de l'albumine est liée à ses capacités de transport et de fixation de petites molécules de tout type, cette forte aptitude qui permet de comparer cette protéine à une « éponge », s'explique essentiellement par la flexibilité de sa structure qui s'adapte volontiers aux différents ligands. La fonction de transport (hormones, oligoéléments, médicaments) et donc d'épuration (radicaux libres oxygénés, médiateurs de l'inflammation) est une fonction essentielle de l'albumine. La répercussion d'une hypo albuminémie profonde sur le maintien de cette fonction est mal connue. Des dysrégulations sont observées à partir de valeurs inférieures au seuil de 20 g/L [38].

Références

- [1]. HOLM, R. H. et O'CONNOR, M. J. The stereochemistry of bis-chelate metal (II) complexes. *Progress in inorganic chemistry*, 1971, p. 241-401..
- [2]. CHIBOUB FELLAH, Fatima Zohra. *Synthèse et détermination structurale de complexes de métaux de transition et d'entités 3d-4f*. 2008. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier..
- [3]. CHIBOUB FELLAH, Fatima Zohra. *Synthèse et détermination structurale de complexes de métaux de transition et d'entités 3d-4f*. 2008. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier..
- [4]. OUARI, Kamel. *Synthèse de ligands bases de schiff tetradentates non symétriques et obtention de complexes de métaux de transition.-propriétés électro catalytiques appliquées au modèle cytochrome p450*. 2014. Thèse de doctorat..
- [5]. GUO, Zhanyong, XING, Rong, LIU, Song, et al. Antifungal properties of Schiff bases of chitosan, N-substituted chitosan and quaternized chitosan. *Carbohydrate research*, 2007, vol. 342, no 10, p. 1329-1332..
- [6]. BRINGMANN, Gerhard, DREYER, Michael, FABER, Johan H., et al. Ancistrotananzanine C and Related 5, 1 '-and 7, 3 '-Coupled Naphthylisoquinoline Alkaloids from *Ancistrocladus tanzaniensis*. *Journal of natural products*, 2004, vol. 67, no 5, p. 743-748.
- [7]. SOUZA, Ana O. de, GALETTI, Fabio, SILVA, Célio L., et al. Antimycobacterial and cytotoxicity activity of synthetic and natural compounds. *Química Nova*, 2007, vol. 30, no 7, p. 1563-1566..
- [8]. R.M.Issa A.M. Khedr and H. Rizk. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 55, 857, (2008).
- [9]. KAMEL, Barakat AF. Preparation and Theoretical Study of the Schiff Base 1, 3-bis [(E)-(2-hydroxy-3-nitrophenyl) methyl indene] urea and its Complexes using Semi-empirical Method (PM6). *Al-Mustansiriyah Journal of Science*, 2016, vol. 27, no 1, p. 29-32..
- [10]. ABDUL, Rauf. *Synthesis and biological studies of some Schiff base compounds and their transition metal complexes*. 2005. Thèse de doctorat. Bahauddin Zakariya University Multan..
- [11]. A. Xavier, N. Srividhya. *Journal of applied chemistry (IOSR-JAC)*. 7(11), 06 (2014)

- [12]. TALLON, Theresa M. *Synthesis of imidazole schiff base ligands, their silver (I) complexes and their activities against candida albicans*. 2010. Thèse de doctorat. National University of Ireland Maynooth..
- [13]. DERAFA, Wassila. *Synthèse de nouveaux complexes de base de schiff de métaux de transition non symétriques (manganèse ou fer) contenant un résidu moléculaire électropolymérisable*. 2014. Thèse de doctorat.
- [14]. ZHENG, Yunfeng, MA, Kun, LI, Hui, et al. One pot synthesis of imines from aromatic nitro compounds with a novel Ni/SiO₂ magnetic catalyst. *Catalysis letters*, 2009, vol. 128, no 3-4, p. 465-474..
- [15]. DA SILVA, Cleiton M., DA SILVA, Daniel L., MODOLO, Luzia V., et al. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced research*, 2011, vol. 2, no 1, p. 1-8..
- [16]. WESTHEIMER, F. H. et TAGUCHI, Kazuo. Catalysis by molecular sieves in the preparation of ketimines and enamines. *The Journal of Organic Chemistry*, 1971, vol. 36, no 11, p. 1570-1572..
- [17]. LOVE, Brian E. et REN, Jianhua. Synthesis of sterically hindered imines. *The Journal of Organic Chemistry*, 1993, vol. 58, no 20, p. 5556-5557.
- [18]. LOOK, Gary C., MURPHY, Martin M., CAMPBELL, David A., et al. Trimethylorthoformate: a mild and effective dehydrating reagent for solution and solid phase imine formation. *Tetrahedron letters*, 1995, vol. 36, no 17, p. 2937-2940..
- [19]. CHAKRABORTI, Asit K., BHAGAT, Srikant, et RUDRAWAR, Santosh. Magnesium perchlorate as an efficient catalyst for the synthesis of imines and phenylhydrazones. *Tetrahedron letters*, 2004, vol. 45, no 41, p. 7641-7644.
- [20]. BAYALA, Bagora. *Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes*. 2014. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
- [21]. SOUZA, Ana O. de, GALETTI, Fabio, SILVA, Célio L., et al. Antimycobacterial and cytotoxicity activity of synthetic and natural compounds. *Química Nova*, 2007, vol. 30, no 7, p. 1563-1566..

- [22]. SCHETTER, Aaron J., HEEGAARD, Niels HH, et HARRIS, Curtis C. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. *Carcinogenesis*, 2009, vol. 31, no 1, p. 37-49..
- [23]. AGGARWAL, Bharat B., VIJAYALEKSHMI, R. V., et SUNG, Bokyung. Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. *Clinical Cancer Research*, 2009, vol. 15, no 2, p. 425-430..
- [24]. GUO, Zhanyong, XING, Rong, LIU, Song, *et al.* Antifungal properties of Schiff bases of chitosan, N-substituted chitosan and quaternized chitosan. *Carbohydrate research*, 2007, vol. 342, no 10, p. 1329-1332.
- [25]. BAYALA, Bagora. *Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes*. 2014. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II.
- [26]. KUMAR, Madasamy, PADMINI, Tamilenth, et PONNUVEL, Kandasamy. Synthesis, characterization and antioxidant activities of Schiff bases are of cholesterol. *Journal of Saudi Chemical Society*, 2017, vol. 21, p. S322-S328..
- [27]. RICHARD, C. Sir Alexander Fleming, le découvreur de la pénicilline et son biographe André Maurois. *L'Eurobiologiste*, 1996, vol. 30, no 224, p. 23-27..
- [28]. WOLTERS, F. L., RUSSEL, M. G. V. M., et STOCKBRÜGGER, R. W. Has disease outcome in Crohn's disease changed during the last four decades?. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 2004, vol. 20, no 5, p. 483-496.
- [29]. ARNOLD, E. et ROSSMANN, M. G. Perspectives for the future. In : *International Tables for Crystallography Volume F: Crystallography of biological macromolecules*. Springer, Dordrecht, 2006. p. 26-43..
- [30]. PETERS JR, Theodore. Serum albumin. In : *Advances in protein chemistry*. Academic Press, 1985. p. 161-245..
- [31]. PETERS JR, Theodore. *All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications*. Academic press, 1995.
- [32]. PETERS JR, Theodore. *All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications*. Academic press, 1995.

- [33]. FARRUGIA, Albert. Albumin usage in clinical medicine: tradition or therapeutic?. *Transfusion medicine reviews*, 2010, vol. 24, no 1, p. 53-63..
- [34]. KEDROUSSI, Mohammed Ibrahim. *L'intérêt de l'utilisation de l'Albumine péri opératoire dans les anastomoses digestives: étude descriptive*. Thèse de doctorat..
- [35]. CARTER, Daniel C., HE, XIAO-M., MUNSON, Sibyl H., *et al.* Three-dimensional structure of human serum albumin. *Science*, 1989, vol. 244, no 4909, p. 1195-1198.
- [36]. SIMARD, Jeffrey R., ZUNSZAIN, Patricia A., HAMILTON, James A., *et al.* Location of high and low affinity fatty acid binding sites on human serum albumin revealed by NMR drug-competition analysis. *Journal of molecular biology*, 2006, vol. 361, no 2, p. 336-351.
- [37]. PETERS JR, Theodore. Serum albumin. In : *Advances in protein chemistry*. Academic Press, 1985. p. 161-245.
- [38]. <http://www.sfar.org/article/266/utilisation-des-solutions-d-albumine-humaine-en-anesthesiereanimation-chirurgicale-de-l-adulte-cc-1995>.

Chapitre 2 :

II.1 Introduction

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques et biochimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire. La modélisation moléculaire est un terme technique de graphisme moléculaire et de chimie computationnelle permettant de dessiner, afficher, analyser, calculer et stocker les propriétés des molécules, non seulement de représenter les propriétés et les réactions chimiques mais aussi de manipuler les modèles des structures en deux ou trois dimensions.

La modélisation moléculaire implique l'utilisation des méthodes de calcul théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, mécanique quantique,). Elle associée à une représentation infographique des stéréochimies permet d'interpréter des phénomènes physico-chimiques, de suggérer des nouvelles expériences et d'analyser ainsi des résultats d'une façon plus critique que les expériences classiquement utilisées, mais ces deux approches purement théoriques ou expérimentales sont complémentaires.

Le comportement des molécules peut être simulé de façon statique ou dynamique. Cette simulation inclut notamment la flexibilité des molécules en solution, les mécanismes réactionnels et interactions mises en jeu dans la catalyse enzymatique, la reconnaissance ou la complexation, la prédiction de propriétés et de fonctionnalités se font à partir d'analogies de structure. La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules.

La recherche des conformations stables d'une molécule consiste à déterminer les minima de l'énergie globale d'interactions.

Les méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être rangées en trois catégories :

- Les méthodes non quantiques.
- Les méthodes semi-empiriques.
- Les méthodes quantiques [1].

Les principales méthodes qui permettent de déterminer la géométrie d'une molécule sont les méthodes de diffractions, les méthodes spectroscopiques et les techniques de calcul.

Les informations que ces méthodes peuvent apporter concernant la structure moléculaire sont de deux sortes : qualitatives (forme générale et symétrie d'une molécule) et/ou quantitatives (positions relatives de tous les atomes dans une molécule, angles et longueurs des liaisons et angles de torsion).

Parmi les méthodes dont dispose le chimiste théoricien, les méthodes quantiques et les méthodes dites de champ de force ou "mécanique moléculaire" qui conduisent à la connaissance de la structure 3D des molécules.

II.2 Méthodes quantiques

La mécanique quantique décrit la matière comme un ensemble de noyaux atomiques autour desquels gravitent des électrons, eux-mêmes décrits explicitement par leur probabilité de présence en un point et représentés par des fonctions d'onde.

En d'autres termes, en appliquant les lois de la mécanique ondulatoire aux électrons, elle permet de déterminer l'état électronique d'un système d'atomes, mais aussi l'ensemble de ses propriétés observables (structurales : géométries, angles, longueurs... ; énergétiques : énergies de liaison, d'excitation... ; spectroscopiques : fréquences de vibration, spectres UV-visible, IR et micro-onde... ; électroniques, magnétiques et réactionnelles : barrières d'activation...).

Les bases du calcul quantique ont été posées en 1925 par Heisenberg, Born et Jordan, puis finalisées en 1926 par Schrödinger et sa fameuse équation (1), dont le formalisme permet de décrire rigoureusement la nature microscopique de la matière [2,3].

Les équations de la chimie quantique sont basées sur la résolution de l'équation de Schrödinger qui s'écrit pour les états stationnaires [4] :

$$H \Psi = E \Psi \quad (1)$$

Où : Ψ : Fonction d'onde de la molécule.

H : Hamiltonien total d'une molécule comportant N noyaux et n électrons.

E : Energie totale d'une molécule.

Il est défini par la somme de cinq termes (cinétique des électrons, cinétique des noyaux, répulsion entre électrons, répulsion entre noyaux et le terme d'attraction électrons -noyaux).

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

II.2.1 Méthodes ab-initio (Hartree- Fock- Roothann):

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

Dans les méthodes ab-initio, toutes les particules (noyaux et électrons) sont traitées explicitement. On n'utilise aucun paramètre empirique dans le calcul de l'énergie. L'hamiltonien d'un système à n électrons et N noyaux est donné par :

$$H_{TOT} = T_E + T_N + V_{EN} + V_{EE} + V_{NN}$$

Avec : **T_E** : l'énergie cinétique des n électrons.

T_N : l'énergie cinétique des N noyaux.

V_{EN} : l'énergie d'attraction électrons- noyaux.

V_{EE} : l'énergie de répulsion électron- électron.

V_{NN} : l'énergie de répulsion noyau- noyau.

D'après l'approximation de Born Oppenheimer qui suppose que les noyaux sont fixes, l'énergie cinétique des noyaux s'annule et l'énergie de répulsion entre noyaux se ramène à une constante.

$$H_{tot} = T_E + V_{EN} + V_{EE} + V_{NN}$$

$$H_{tot} = H_{\text{électronique}} + H_{\text{nucléaire}}$$

AVEC : $H_{\text{ELECTRONIQUE}} = T_E + T_{E+VEE}$

$H_{\text{NUCLEAIRE}} = V_{NN}$

Et d'après le théorème des électrons indépendants l'énergie totale sera égale à :

$$E_{\text{tot}} = E_{\text{électronique}} + E_{\text{nucléaire}}$$

Donc le problème réside dans le calcul de l'énergie électronique et l'équation à résoudre est de la forme : [5]

$$H_{\text{élec}} \Psi_{\text{élec}} = E_{\text{élec}} \Psi_{\text{élec}}$$

II.2.2 Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

La théorie de fonctionnelle et de densité (en Anglais : *Density Functional Theory DFT*) est une théorie basée sur la mécanique quantique ; elle s'est développée au début du XXI^{ème} siècle, son but est de donner une relation entre la densité électronique et l'énergie. Thomas et Fermi sont les premiers à avoir exprimé l'énergie en fonction de la densité. La DFT repose sur plusieurs théorèmes et approximations qui expriment la base et le principe de cette théorie.

La densité électronique est définie comme la distribution moyenne dans l'espace d'un électron dans le champ des autres. Cette densité est une observable et peut être déterminée expérimentalement. Le modèle de la fonctionnelle de la densité (DFT) est incontestablement celui qui donne le meilleur compromis qualité/ temps à l'heure actuelle, la formulation des deux théorèmes d'Hohenberg et Kohn que l'approche DFT a pu se développer en montrant notamment que l'énergie de tout système atomique ou moléculaire est une fonctionnelle de la densité [6].

Cette théorie dont les applications en chimie quantique sont très nombreuses et très importantes. Elle peut être employée pour expliquer différents résultats expérimentaux ou pour obtenir des grandeurs difficilement accessibles par l'expérience. Elle est aussi employée pour calculer des énergies de systèmes chimiques, donnant accès

aux géométries, à leur structure électronique ou encore à leur proportion. La DFT est une théorie de l'état fondamental électronique [7].

II.2.3 Méthodes semi-empiriques

Dans les méthodes ab-initio le quasi-totalité du temps de calcul est consommé par les calculs des intégrales, et dans le but de réduire ce temps de calcul, il est nécessaire de simplifier les équations de Roothann. Une méthode semi-empirique est une méthode dans laquelle une partie des calculs nécessaires aux calculs Hartree-Fock est remplacé par des paramètres ajustés sur des valeurs expérimentales (l'hamiltonien est toujours paramétrée par comparaison avec des références). En générale toutes ces méthodes sont très précises pour des familles de produits données voisines de celles utilisées pour la paramétrisation.

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

- CNDO/2 : (Complète Neglect of Differential Overlap/version 2) 1ere méthode semi empirique, elle a été proposée par Pople, Segal et Santry en 1965. Méthode présentant certains défauts entre autres : elle ne tient compte de la règle de Hund.
- INDO :(intermediate Neglect of Differential Overlap) proposée par Pople Beveridge et Dobosh en 1967. Elle permet de distinguer entre les états Singulets et les états triplets d'un système en conservant les intégrales d'échange.
- MINDO/3: Proposée par Bingham, Dewar et Lo en 1975. Parametisation effectuée en se référant aux résultats expérimentaux et non pas aux résultats ab-initio, de plus l'algorithme d'optimisation utilise est très efficace (Davidon- Fletcher-Powell). Cependant, elle surestime la chaleur de la formation des systèmes instables et sousstime celle des molécules contenant des atomes voisins ayant des paires libres.
- MNDO : (Modified Neglect of Diatomic Overlap) Proposée par Dewar et Thiel en 1977. Méthodes basée sur l'approximation NDDO (Neglect of Diatomic Differential Overlap) qui consiste à négliger le recouvrement différentiel entre orbitales atomiques sur des atomes différents. Cette méthode ne traite pas les métaux de transition et présente des difficultés pour les systèmes conjugués.

- AM 1 : (Austin Model 1) Proposée par Dewar en 1985. Il a tenté de corriger les défauts de MNDO.
- PM 3 : (Parametric Method 3) Proposée par Stewart en 1989. Présente beaucoup de points en commun avec AM1, D'ailleurs il existe toujours un débat concernant les mérites relatifs de paramétrisation de chacune d'elles.
- SAM 1 : (Semi-empirical Model 1) La méthode la plus récente proposée par Dewar en 1993. Elle inclut la corrélation électronique [8].

II.3 Méthodes non quantiques

Les méthodes empiriques sont des méthodes de mécanique moléculaire basées sur des concepts de la mécanique classique où les atomes et leurs électrons sont confondus en une collection de points matériels. Ces derniers agissent les uns sur les autres par l'intermédiaire d'un potentiel empirique encore dit champ de forces ne dépendant que de la position relative des atomes dans l'espace. Au sein de l'ordinateur, la représentation d'une molécule consiste donc en un ensemble de coordonnées atomiques, une liste de liaisons chimiques et un jeu de fonctions et de paramètres constituant le potentiel d'interaction. Le potentiel empirique qui détermine l'énergie conformationnelle de la molécule est constitué de deux types de termes représentant, respectivement, les interactions entre les atomes liés (longueur de liaison, angle de valence, angle dièdre) et les atomes non liés (Van der Waals, électrostatique) [9].

II.3.1 Mécanique moléculaire

En mécanique moléculaire, les équations utilisées obéissent aux lois de la physique classique. Celle-ci sont appliquées aux noyaux des molécules sans tenir compte des électrons, en un sens, chaque molécule est traitée comme s'il s'agissait d'un ensemble de sphères (les atomes) connectées entre elles par des ressorts (les liaisons), grâce aux équations dérivées de la mécanique classique, il est possible de calculer les différentes interactions entre ces atomes, ainsi que les conséquences énergétiques (les champs de forces) des elongations des liaisons, des pliages des angles et des mouvements de torsions. Ces calculs nécessitent des paramètres qui sont stockés dans des tables au sein du programme et qui décrivent les interactions existant entre les divers ensembles d'atomes. Les énergies ainsi calculées selon la mécanique moléculaire n'ont pas de

signification en valeur absolu mais sont fort utiles lorsqu'il s'agit de comparer des conformations différentes d'une même molécule, les calculs moléculaire sont moins astreignants pour les ordinateurs que ceux ayant trait à la mécanique quantique. Ils peuvent donc être exécutés rapidement mais il ne donne aucune information quant aux propriétés électroniques des molécules puisque les électrons n'ont pas été pris en considération [10].

Principes théoriques :

Dans les approches de mécanique moléculaire, quatre simplifications sont considérées de manière à permettre la description du système modélisé en appliquant des approximations empiriques, à partir des concepts de la mécanique classique :

-Chaque atome est considéré comme une particule sphérique, dotée d'un rayon (typiquement le rayon de Van Der Waals) et d'une charge électrique constante (généralement dérivés de calculs quantiques ou de déterminations expérimentales).

-Chaque liaison covalente est considérée comme un ressort, avec une distance d'équilibre : soit calculée par des méthodes quantiques, soit déterminée par des méthodes expérimentales (rayon X, RMN etc.).

-Les atomes non liés peuvent interagir via des interactions électrostatiques et de Van Der Waals.

-Les propriétés des atomes dans les molécules sont transférables à d'autres molécules structurellement corrélées.

Ces simplifications permettent d'exprimer l'énergie potentielle d'un système moléculaire en fonction des paramètres géométriques de celui-ci. L'expression mathématique correspondante est connue sous le nom « fonction de potentiel » ou « champ de forces », qui est la dénomination la plus couramment utilisée. [11]

II.3.2 Champ de force :

On appelle champ de force le modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire. Le champ de force exprime

réellement à la moyenne des interactions électroniques entre les atomes [12]. IL permet d'accéder à l'hypersurface énergétique d'une molécule en établissant un lien entre les déformations structurales du système et son énergie potentielle. Il désigne à la fois l'équation mathématique (fonction d'énergie potentielle) et les paramètres qui la composent [13].

Un champ de force est constitué de plusieurs fonctions d'énergie potentielle qui dérivent les interactions intramoléculaires entre atomes liés et non liés [14]

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

$E_{\text{liés}}$
 $E_{\text{non-liés}}$

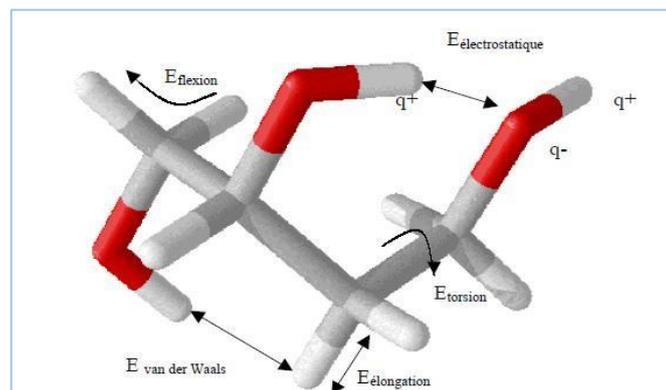


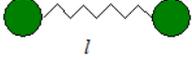
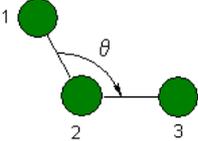
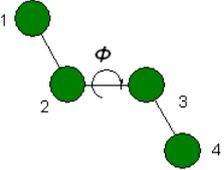
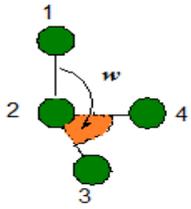
Figure 6: Interactions intramoléculaires entre atome liés et non liés.

II.3.3 Énergie d'interaction entre atomes liés :

- **Élongation des liaisons :(stretching)**

L'élongation des liaisons, E_{stretch} , est un terme destiné à réguler la distance entre deux atomes liés de façon covalente. À l'origine, cette contribution a été exprimée sous forme d'un potentiel de Morse ou, de manière à simplifier les calculs, par un potentiel harmonique (en x^2) issu de la loi de

Tableau 1: Fonctions d'énergie associées aux atomes liés.

	Expression générale	Description	champs de force Illustration
<p>Energie de liaisons</p> <p>l_0 : longueur de liaison à l'équilibre</p> <p>k_l : constante de force</p>	$E_{liaisons} = \sum_l k_l (l - l_0)^2$	<p>Définit l'énergie mise en jeu par les variations de la longueur r des liaisons après extension et compression à partir de leurs valeurs d'équilibre.</p>	
<p>Énergie de déformation des angles de valence</p> <p>θ_0 : angle à l'équilibre</p> <p>k_θ : constante de force</p>	$E_{angles} = \sum_\theta k_\theta (\theta - \theta_0)^2$	<p>Définit l'énergie impliquée dans les variations d'angle θ entre deux liaisons contiguës, autour d'une valeur d'équilibre θ_0.</p>	
<p>Energie de torsion</p> <p>la molécule</p> <p>k_ϕ : constante de force</p> <p>n : périodicité ($n = 1, 2, 3, 4, 6$)</p>	$E_{torsions} = \sum_\phi K_\phi [1 + \text{Cos}(n\phi)]$	<p>Définit l'énergie impliquée dans la rotation d'une partie d'une molécule autour d'une liaison.</p>	
<p>Energie des angles impropres</p> <p>d'atomes</p> <p>k_w : constante de force</p> <p>w_0 : valeur idéale définie</p>	$E_{impropres} = \sum_w k_w (w - w_0)^2$	<p>Assure le maintien de la planéité ou de la chiralité d'un groupe déterminés dans le champ de force.</p>	

Hooke qui décrit l'énergie associée à la déformation d'un ressort. Par analogie, les

Sont souvent comparés à des modèles assimilant les atomes à des boules reliées entre elles par des ressorts.

- **Déformation des angles de valences : (binding)**

La déformation des angles de valence, E_{bend} , est fréquemment représentée par une expression similaire à celle de l'élongation de liaison et comporte souvent un terme en θ^2 .

- **Energie de torsion :**

La variation des angles dièdres (angles de torsion), E_{torsion} , impose l'utilisation d'un terme périodique. La torsion correspond à la rotation autour d'une liaison simple. L'énergie potentielle s'exprime en fonction de l'angle de rotation ϕ (angle dièdre). Le terme énergétique représentant la déformation des angles dièdres est représenté par une fonction développée en série de Fourier et il est calculé par la formule [15].

Chacun des termes de $E_{\text{atomes liés}}$ est décrit et illustré dans le Tableau II-1.

II.3.4 Énergie d'interaction entre atomes non liés

Les deux derniers termes traduisent les interactions entre atomes non liés de manière covalente, seuls les atomes séparés de plus de trois liaisons sont considérés comme pouvant avoir des interactions non liées.

Ce terme s'exprime sous la forme :

$$E_{\text{atomes-non liés}} = E_{\text{VdW}} + E_{\text{elec}} + E_{\text{liaisons-hydrogène}} + \dots$$

- **Interaction de Van der Waals :**

Les interactions de Van Der Waals sont des dipôles non permanents de faible rayon d'action Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice [16]. Il est constitué d'un terme répulsif en r_{ij}^{-12} représentant le principe d'exclusion de Pauli et la répulsion internucléaire à courte distance. Il contient également un terme attractif en r_{ij}^{-6} représentant les interactions d'origine dipolaire dues aux fluctuations des nuages

électroniques de chacun des atomes (forces de London) [17]. La distribution asymétrique des électrons dans les orbitales induits de dipôles instantanés. Ces dipôles oscillent et produisent une force attractive : la force de dispersion de London. À très courte distance, la répulsion entre les deux nuages électroniques est très forte.

- **Interactions électrostatiques:**

Il s'agit des interactions entre deux atomes portant chacun une charge. L'énergie de cette interaction est décrite par la loi de Coulomb. Cette constante diélectrique est une propriété macroscopique du milieu environnant les charges; son évaluation n'est pas aisée. Elle prend les valeurs 1,0 et 78,8 dans le vide et dans l'eau respectivement, alors que des valeurs de D entre 4,0 et 7,0 sont employées pour simuler un environnement de protéine [18].

- **Energie des liaisons hydrogène**

Les liaisons hydrogène sont le résultat des interactions électrostatiques (70%) et de van der Waals (30%) entre un atome électronégatif (généralement un atome d'oxygène ou d'azote) portant un doublet d'électron libre et un atome d'hydrogène porté par un atome électronégatif [19].

L'expression générale de ces termes est reportée dans le Tableau 2:

Tableau 2: Fonctions d'énergie associées aux atomes non liés.

Aucune entrée de table d'illustration n'a été trouvée.	Expression générale
Energie de Van der Waals	$E_{vdw} = \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right]$ <p>A_{ij}, B_{ij} : paramètres dépendant de la nature des atomes i et j, distants de r_{ij}.</p>
Energie des interactions électrostatiques	$E_{elec} = \sum_{i,j} \left(\frac{q_i q_j}{\epsilon_{ij} r_{ij}} \right)$ <p>q_i, q_j : charges partielles des atomes i et j, distants de r_{ij}</p> <p>ϵ_{ij} : constante diélectrique rendant compte de l'atténuation de l'interaction électrostatique par l'environnement (solvant ou molécule elle-même)</p>
Energie des liaisons hydrogène	$E_{Liaisons_hydrogène} = \sum_{i < j} \left[\left(\frac{A'}{r_{AD}^{12}} \right) - \left(\frac{B'}{r_{AD}^{10}} \right) \right] \cos^m \theta_{A-H-D} \cos^n \theta_{AA-A-H}$ <p>A', B' : paramètres dépendant de la nature du donneur et de l'accepteur de liaisons H, distants de r_{AD}. θ_{A-H-D} : angle formé par l'accepteur (A), l'hydrogène (H) et le donneur (D). θ_{AA-A-H} : angle formé par l'antécédent de l'accepteur (AA), A et H. m, n : exposants donnés par le type de D et A, $m = 0, 2, 4$; $n = 0, 2$.</p>

II.3.5 Différents champs de force en mécanique moléculaire

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais paramétrés de manières différentes [20] :

MM2/MM3/MM4 :

MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col. [21-22]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amines...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [23] et MM4 (1996) [24] lui permettent de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

-OPLS :

Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indiquent son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Il est écrit par W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives [25].

-GROMOS

GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), est écrit par Van Gunsteren [26] et conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines.

-CHARMM (Bio+)

CHARMM (Chemistry at Harvard Molecular mechanics), développé par Karplus et col [27, 28], pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force est conçu pour les acides aminés et les protéines, maintenant il traite d'autres biomolécules.

- SPASIBA

(Spectroscopic Potential Algorithm for simulating biomolecular conformational adaptability), élaboré par Gérard Vergoten et col. (1995). Il combine le champ de force spectroscopique modifié d'Urey-Bradley-Shimanouchi [29] et le champ de force AMBER. Il permet de trouver les structures, les énergies de conformation et les fréquences vibrationnelles au minimum énergétique d'une molécule [30].

-EMO :

Le programme Emo (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaive [31,32], il est basé sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :

- Menu 1 : entrée de la molécule à l'aide d'un clavier.
- Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.
- Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire.

- AMBER:

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement), a été décrit par Kollman [33]. Le champ est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites.

II.3.6 Minimisation d'énergie :

L'étape de minimisation de l'énergie potentielle d'un système est cruciale dans le cadre de la préparation du modèle pour les simulations de dynamique moléculaire. Elle permet de corriger les défauts des structures initiales, mais également d'adapter le système au champ de force, et ainsi de trouver le minimum de la nouvelle surface d'énergie potentielle associée à la méthode utilisée. Le point de départ d'un modèle repose sur l'existence de structures cristallographiques (obtenues avec la cristallographie par rayons X ou par RMN), ou obtenues par des protocoles de reconstruction par homologie.

La minimisation étant un processus différent de la simulation de dynamique moléculaire, dans lequel chaque point est décarrelé du suivant, aucune notion temporelle ou de température ne sont ici considérées.

La surface d'énergie potentielle représente le lien entre l'énergie du système et sa géométrie. Le principe général d'une minimisation est de modifier la géométrie du système (par déplacement d'atomes par exemple) afin que ce dernier puisse se déplacer sur la surface d'énergie et se retrouver dans un puits de potentiel [33].

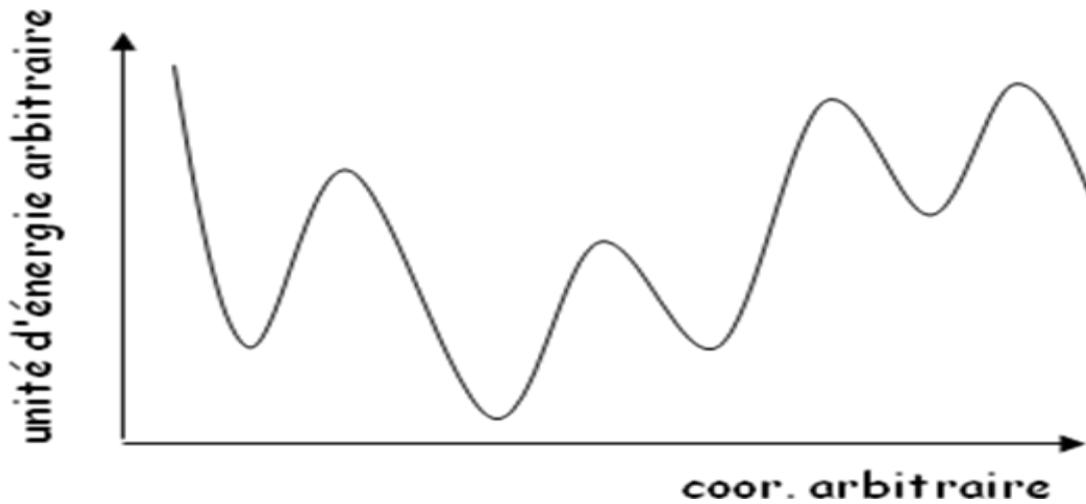


Figure 7: déterminer les minimas de l'énergie globale d'interaction.

II.4 Dynamique moléculaire :

II.4.1 Principe de la dynamique moléculaire :

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

Une simulation de dynamique moléculaire consiste à calculer l'évolution d'un système de particules au cours du temps. Dans ces simulations, le temps évolue de manière discrète et l'on souhaite connaître la position et la vitesse des particules à chaque pas de temps. Le calcul des forces d'interaction entre les particules permet de déterminer l'évolution des vitesses, et donc des positions, en utilisant les lois de la dynamique classique de Newton. L'énergie est constituée de l'énergie potentielle et cinétique du système considéré. Les forces correspondantes sont obtenues à partir des dérivées premières de l'énergie.

Les équations du mouvement de Newton ($F = ma$) doivent être résolues, elles peuvent s'écrire sous la forme :

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

Où V est l'énergie potentielle à la position r .

Le vecteur r contient les coordonnées de toutes les particules du système. Plusieurs algorithmes peuvent être invoqués pour résoudre les équations du mouvement. En général les positions à un temps $t+\Delta t$ sont obtenues par extension en une série de Taylor impliquant la vitesse et l'accélération des particules. Pour plus de détails, le lecteur peut consulter l'ouvrage d'Allen & Tildesley. [34]

Le pas d'intégration Δt d'une dynamique moléculaire est considéré en fonction du mouvement moléculaire le plus rapide. Pour les systèmes moléculaires courants, le mouvement le plus rapide est l'élongation des liaisons impliquant un atome d'hydrogène. Dans notre travail, nous avons fait l'hypothèse que ce degré de liberté n'influence que très peu les propriétés calculées dans les simulations des complexes en solution. Nous avons donc choisi de fixer ces liaisons afin de pouvoir augmenter le pas d'intégration Δt .

II.4.2 Applications de la dynamique moléculaire

Une application importante de la dynamique moléculaire est l'analyse des modes normaux de vibration le long de la trajectoire. Une autre application est l'optimisation et l'affinement des structures 3D d'après les données de la cristallographie et/ou de la RMN. La mise en œuvre de cette méthode requiert néanmoins des moyens de calcul particulièrement puissants (CRAY par exemple) et elle est coûteuse en temps et en argent.

Elle se généralise cependant pour les études de peptides et de petites protéines [35].

II.5 Docking moléculaire

II.5.1 Principes théoriques

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un «

docking protéine-ligand » [36]. Le docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring.

- La première (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables. Bien que pouvant être faite manuellement, cette étape est le plus souvent exécutée de manière automatisée à l'aide d'algorithmes de docking, ce qui améliore la vitesse et la précision des simulations.
- La deuxième (scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente. Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommés fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonnent ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables [36,37].

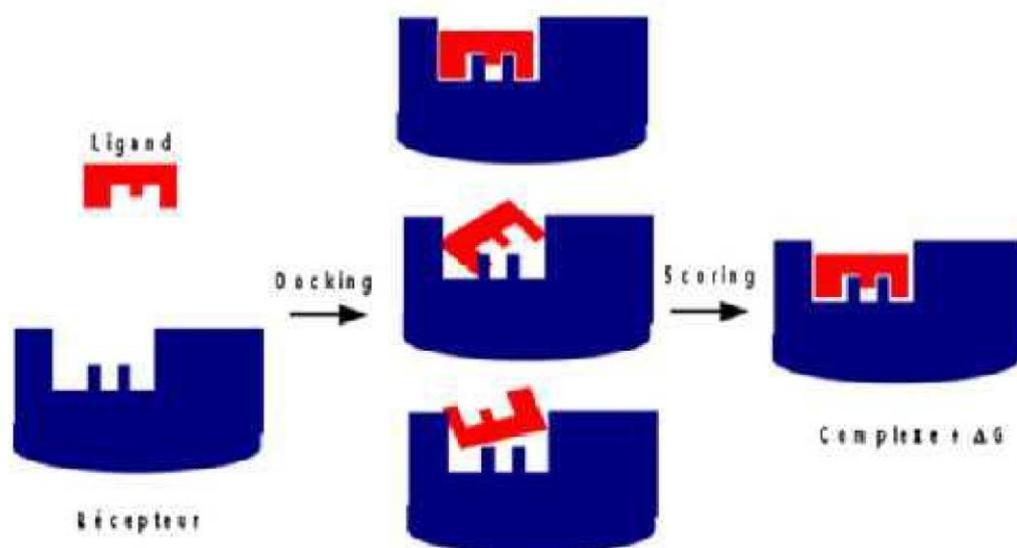


Figure 8: Principe général d'un programme de docking

II.5.2 Un processus de Docking Moléculaire :

Le but du Docking Moléculaire est de déterminer le mode d'interaction le mode du complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et de conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [38].

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

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

II.5.3 Représentation du système

Il existe trois façons de représenter le système moléculaire : les représentations par atomes, par surface ou par grille [39] :

✓ La représentation atomique, très complexe, est généralement associée à une fonction d'énergie potentielle et n'intervient que dans le stade final de la procédure de recherche pour affiner le résultat sans trop de dépense informatique [40].

✓ De nombreuses approches de docking représentent les molécules par une surface, elle-même ramenée à des caractéristiques géométriques : la surface proposée par Connolly en 1983 est construite à partir des rayons de van der Waals des atomes exposés reliés par un réseau de surfaces concaves ou convexes [41,42]. La recherche conformationnelle s'opère ensuite par complémentarité de surface jusqu'à trouver les minima et maxima d'affinité [43,44]. A cette représentation géométrique, il est possible d'ajouter des termes énergétiques, électrostatiques par exemple, pour compléter le modèle [45,46].

✓ La représentation de la molécule par une grille d'énergie potentielle est une autre approche très utilisée. Introduite par Goodford en 1985, elle fait généralement appel aux interactions électrostatiques et de van der Waals pour décrire la contribution énergétique du récepteur, qui n'a alors qu'à être lue durant le scoring [47].

On peut distinguer trois niveaux de docking :

- *le docking rigide* : est bien sûr le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine.



- *le docking semi-flexible* : est "asymétrique" généralement utilisé pour l'amarrage protéineligand, le ligand étant considéré comme flexible, la protéine gardée rigide.



- *le docking flexible* : enfin, traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité permise est limitée, simplifiée par des modèles [48].



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

Le but du Docking Moléculaire est de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou de plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [49].

REFERENCES

- [1]. SOUFI-LALOUT, WASSILA. Etude de l'interaction enzyme-substrat par modélisation moléculaire..
- [2]. NAGASAWA, Masao. Schrödinger equations and diffusion theory. Birkhäuser, 2012..
- [3]. SCHRÖDINGER, Erwin, BRILLOUIN, Marcel, PROCA, Alexandre, et al. Mémoires sur la mécanique ondulatoire. F. Alcan, 1933..
- [4]. E. Schrödinger, Ann.Phys.Leipzig, 79, 361, 489, 734. 1926.
- [5]. Andrews, D. H. Phys. Rev, 36, pp.544. 1930.
- [6]. KOCH, Wolfram et HOLTHAUSEN, Max C. A chemist's guide to density functional theory. John Wiley & Sons, 2015..
- [7]. DE VITO, David Antonio. Modélisation de réactions chimiques par des méthodes de chimie quantique: adsorption du méthanol sur une surface de γ -alumine: échange de molécules d'eau dans des complexes hexaquo de rhodium (III) et iridium (III). 2003. Thèse de doctorat. University of Geneva.
- [8]. Leach, A.R., Empirical force field models: molecular mechanics, in Molecular modeling: principles and applications, Longman, A.W., Editor: Harlow, England. 1996
- [9]. KARZAZI, Yasser. Structure électronique et champ de forces moléculaire des cycloimmonium ylures. 1996. Thèse de doctorat. Lille 1.Graham L.PATRICK. Chimie pharmaceutique. (Ed de boeck,) 320 .2002
- [10]. FONSECA GUERRA, C., VISSER, O., SNIJDERS, J. G., et al.Parallelisation of the Amsterdam Density Functional Programme. 1995.
- [11]. DUGAS, Hermann. Principes de base en modélisation moléculaire. Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l'Université de Montréal, 1996.
- [12]. DUGAS, Hermann. Principes de base en modélisation moléculaire. Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l'Université de Montréal, 1996.
- [13]. Marie LEDECQ, thèse de doctorat, Université de Notre-Dame de la Paix, France, 2004 14)
- [14]. ALLINGER, N. L. Calculation of molecular structure and energy by force-field methods. In : Advances in physical organic chemistry. Academic Press, 1976. p. 1-82..
- [15]. ALLINGER, Norman L. Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. Journal of the American Chemical Society, 1977, vol. 99, no 25, p. 8127-8134.
- [16]. LEBBAD, Fatima. Contribution à l'étude de la stabilité des complexes de «métaux-pyrazoles» par modélisation moléculaire. 2011.
- [17]. DUGAS, Hermann. Principes de base en modélisation moléculaire: aspects théoriques et pratiques. Librairie de l'Université de Montréal, 1996.
- [18]. ALLINGER, Janet et ALLINGER, Norman L. The conformers of 2-bromocyclohexanone. Tetrahedron, 1958, vol. 2, no 1-2, p. 64-74..

- [19]. P. Richard, Introduction à la modélisation moléculaire
- [20]. BOUZIANE, CHAHRAZED. Etude de l'interaction de la phospholipase A2 et flavanones isolées de l'Inule Visqueuse par modélisation moléculaire. Thèse de doctorat..
- [21]. J.E. Williams, P. Von, R. Schleyer,. Physic-Chemistry, P19, 1968. [15] U. Burkett, N.L. Allinger, "Molecular Mechanics", J.A.C.S., Washington, P45. 1982.
- [22]. M. Baaden, Outils pour étudier la structure et la dynamique des peptides et des protéines, (Institut de Biologie Physico-chimique, PARIS) CNRS UPR9080, P36. 200
- [23].
- [24]. LOMAS, J. La mécanique moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entités moléculaires. L'actualité chimique, 1986, vol. 5, p. 7-22..
- [25]. F. Jensen, Introduction to Computational Chemistry, John Wiley & Sons, Chichester.2001.
- [26]. G. Monard, Introduction à la Modélisation Moléculaire, Formation continue CNRS Nancy. 2003. 26) J.P. Browen, N.L. Allinger, in: K.B. Boyd (Eds.) reviews in computational chemistry, VCH, New York, P2. 1991.
- [27]. U. Brkert, N.L. Allinger, "Molecular Mechanics", ACS Monograph, ACS, Washington, D. C, P177. 1982.
- [28]. COMBA, P. Molecular Modeling, u: P. Comba, TW Hambley (urednici). Molecular Modeling of Inorganic Compounds, 1995..
- [29]. S. Diego, Discover, user guide, ed. Biosym/MSI. 1995.
- [30]. N.L. Allinger, K. Chen, J.A. Katzenellenbogen, S.R. Willson, G.M. Anstead, J.Como.Chem., 747.1996.
- [31]. ALLINGER, N. L. Calculation of molecular structure and energy by force-field methods. In : Advances in physical organic chemistry. Academic Press, 1976. p. 1-82..
- [32]. DIHARCE, Julien. Etude par modélisation moléculaire de systèmes multienzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes. 2014. Thèse de doctorat. Université Nice Sophia Antipolis..
- [33]. TILDESLEY, D. J. Computer Simulations of Liquids. Clarendon, Oxford, 1987.
- [34]. MCCAMMON, J. A. et HARVEY, S. C. Dynamics of Proteins and Nucleic Acids Cambridge Univ. Press, New York, 1987.
- [35]. G.L. Warren, C. Webster Andrews, A.M. Capelli, B. Clark, J. LaLonde, M.H. Lambert, M. Lindvall, N. Nevins, S.F. Semus, S. Senger, G. Tedesco, I.D. Wall, J.M. Woolven, C.E. Peishoff, M.S. Head. A critical assessment of docking programs and scoring functions. Journal of Medicinal Chemistry 49, 5912-5931; 2006.
- [36]. HALPERIN, Inbal, MA, Buyong, WOLFSON, Haim, et al. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 2002, vol. 47, no 4, p. 409-443.

- [37]. DUHOVNY, Dina, NUSSINOV, Ruth, et WOLFSON, Haim J. Efficient unbound docking of rigid molecules. In : International workshop on algorithms in bioinformatics. Springer, Berlin, Heidelberg, 2002. p. 185-200..
- [38]. HALPERIN, Inbal, MA, Buyong, WOLFSON, Haim, et al. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2002, vol. 47, no 4, p. 409-443.
- [39]. TAYLOR, Jeffrey S. et BURNETT, Roger M. DARWIN: a program for docking flexible molecules. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2000, vol. 41, no 2, p. 173-191..
- [40]. CONNOLLY, Michael L. Solvent-accessible surfaces of proteins and nucleic acids. *Science*, 1983, vol. 221, no 4612, p. 709-713..
- [41]. CONNOLLY, Michael L. Analytical molecular surface calculation. *Journal of applied crystallography*, 1983, vol. 16, no 5, p. 548-558..
- [42]. NOREL, Raquel, LIN, Shuo L., WOLFSON, Haim J., et al. Shape complementarity at protein-protein interfaces. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 1994, vol. 34, no 7, p. 933-940.
- [43]. NOREL, Raquel, PETREY, Donald, WOLFSON, Haim J., et al. Examination of shape complementarity in docking of unbound proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 1999, vol. 36, no 3, p. 307-317.
- [44]. NICHOLLS, A., BHARADWAJ, R., et HONIG, B. GRASP: graphical representation and analysis of surface properties. XXXVII. In : *Annual Meeting of the Biophysical Society, Washington DC, USA. 1993.*
- [45]. RITCHIE, David W. et KEMP, Graham JL. Protein docking using spherical polar Fourier correlations. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2000, vol. 39, no 2, p. 178-194..
- [46]. APAYDIN, Mehmet Serkan, GUESTRIN, Carlos E., VARMA, Chris, et al. Stochastic roadmap simulation for the study of ligand-protein interactions. *Bioinformatics*, 2002, vol. 18, no suppl_2, p. S18-S26..
- [47]. BROOIJMANS, Natasja et KUNTZ, Irwin D. Molecular recognition and docking algorithms. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, 2003, vol. 32, no 1, p. 335-373.
- [48]. KUNTZ, Irwin D. Structure-based strategies for drug design and discovery. *Science*, 1992, vol. 257, no 5073, p. 1078-1082..
- [49]. DUHOVNY, Dina, NUSSINOV, Ruth, et WOLFSON, Haim J. Efficient unbound docking of rigid molecules. In : *International workshop on algorithms in bioinformatics*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2002. p. 185-200.

Chapitr

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche et laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de la matière de l'université Mohamed kheider Biskra.

Ce travail de recherche présenté la synthèse des quatre dérivés des bases de Schiff. Ces composés seront testés dans le domaine biologique par l'étude de leurs activités notamment l'activité antioxydant. Et ces interactions par docking moléculaire.

Ce travail a été réalisé en deux axes : expérimentale et computationnel :

- Premièrement La synthèse des dérivés qui sont des bases de Schiff et leurs caractérisations par la spectrométrie IR. Suivi d'une étude du pouvoir antioxydant de ces produits par la méthode de DPPH.
- Deuxièmement L'étude de docking moléculaire.

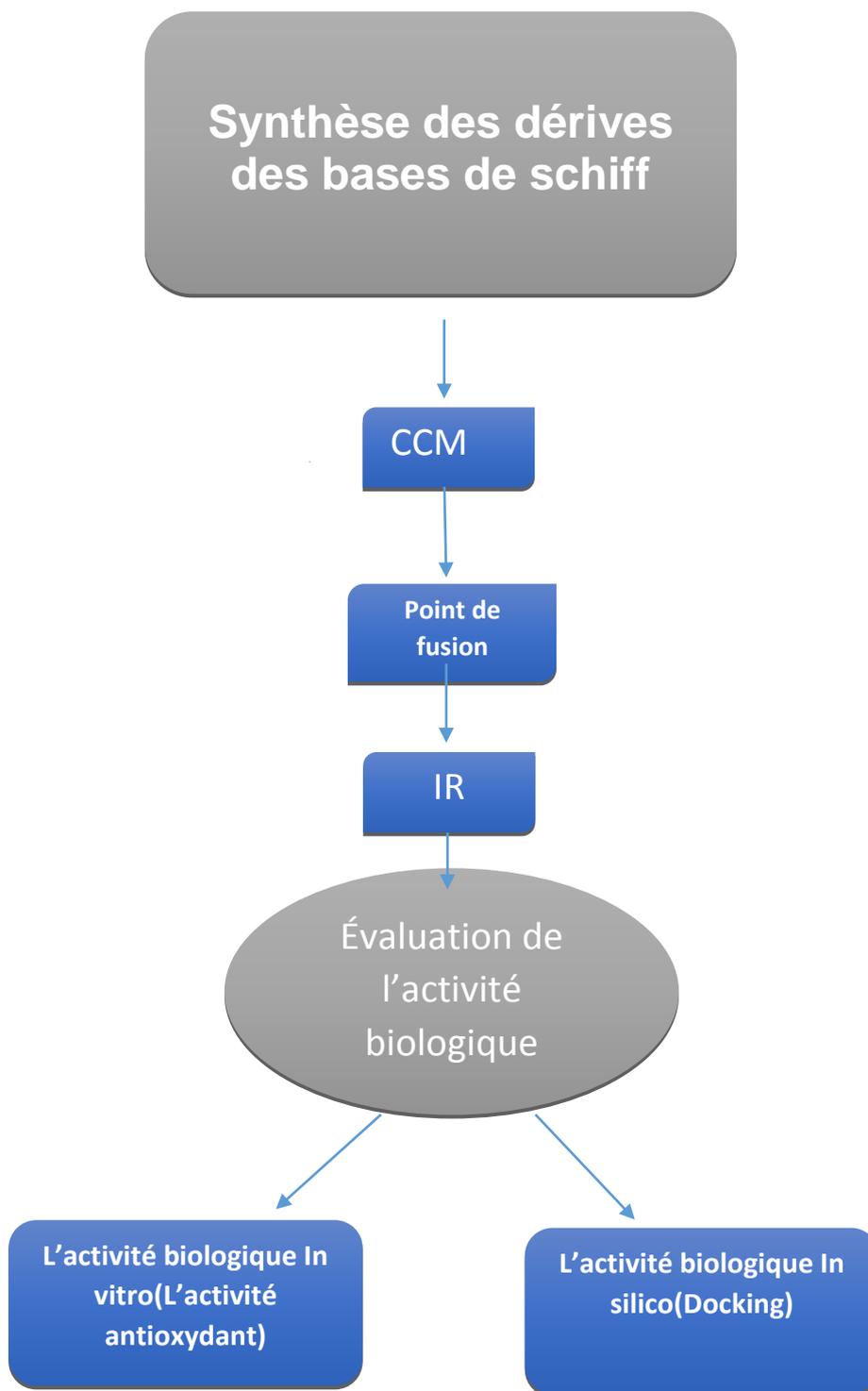


Figure 9: Méthodologie de travail.

Partie synthèse

III.1 Introduction :

La synthèse et l'élaboration de molécules à visé thérapeutique est un axe majeur de recherche en synthèse organique.

Dans le domaine de la recherche de nouvelles biomolécules, plusieurs investigations portent sur les modifications structurales que l'on peut apporter à des molécules modèles telles que les médicaments synthétiques et les biomolécules naturelles. Beaucoup de recherches ont été consacrées à la synthèse et au développement de nouvelles molécules capables de s'hybrider sélectivement ou bien d'interférer avec les processus biologiques, ces synthèses s'articulent essentiellement autour de la chimie des hétéroatomes, notamment celle de l'imine.

Les imines représentent une classe d'intermédiaires réactifs biologiques qui a fait l'objet de recherches toxicologiques intensives ces dernières années. Les imines et bis-imines sont une classe importante de composés organiques [1].

Ces composés biologiquement actifs signifient qu'il y aura une coordination suffisante avec les entités biologiques : ADN, ARN, lipide, protéine, etc. Maintenant, ces fragments de base imine ou Schiff ont suffisamment de potentiel pour interagir ou se coordonner avec ces entités et inhiber ou accélérer le processus biologique.

Plusieurs bases de Schiff ont été rapportées pour leurs activités biologiques significatives comme l'antitumeur, les agents anti-inflammatoires, l'activité insecticide, antibactérienne, antituberculeuse, antimicrobienne et anticonvulsivante [2].

III.2 Matériels et méthodes utilisées :

Nous rappelons que tous les produits et solvants présentés dans le tableau suivant sont utilisés sans aucune purification préalable dans la préparation de nos composés.

Tableau 3: Solvants et réactifs

Réactifs/solvants	Pureté %	Origine
Benzaldéhyde	99%	<i>Biochem chemopharma</i>
Aldéhyde salicylique	99%	<i>Fluka</i>
Aniline	99.5%	<i>Fluka</i>
Benzylamine	95%	<i>Fluka</i>
Éthanol	96%	<i>Biochem chemopharma</i>
Méthanol	99.5%	<i>Biochem chemopharma</i>
Acétate d'éthyle	99%	<i>Rectapur</i>
Éther de pétrole	95%	<i>Sigma – aldrich</i>

La caractérisation des bases de Schiff est généralement réalisée par une combinaison de méthodes spectroscopiques, de mesures de susceptibilité magnétique et de détermination du poids moléculaire. Les techniques spectroscopiques constituent le principal moyen d'identifier et de confirmer la structure moléculaire.

III.2.1 La chromatographie sur couche mince CCM :

La chromatographie sur couche mince est une technique d'analyse extrêmement utile. On l'utilise en générale pour suivre l'avancement des réactions, connaître la composition de fraction séparée sur colonne ou contrôler la pureté des produits. Il existe différentes sortes de plaques et d'adsorbants, parmi les plaques commerciales, certaines sont traitées par substance fluorescente qui permet la révélation en UV.

La C.C.M met essentiellement en jeu deux variables : La nature de la phase stationnaire (couche mince) et la nature de la phase mobile (mélange de solvants de développement).

La phase stationnaire est constituée d'une poudre, y a quatre substances les plus utilisées :

- Gel de silice (acide silique), alumine (oxyde d'aluminium), kieselguhr (terre d'infusoire) et cellulose.
- La phase mobile est n'importe quel solvant ou mélange de solvants [3].

Pour effectuer une séparation par une chromatographie surcouche mince, On distingue trois étapes :

❖ **Dépôt de l'échantillon** : On commence par déposer un petit volume de l'échantillon en solution diluée, à proximité du bord inférieur de la plaque sous forme d'une tache de 1 à 3 mm de diamètre.

Ce dépôt est réalisé manuellement, avec un tube capillaire la plaque ainsi préparée est introduite dans une cuve spéciale munie d'un couvercle, au fond de laquelle se trouve un peu de la phase mobile servant d'éluant. L'endroit où l'échantillon se trouve doit être situé au-dessus du niveau d'immersion.

❖ **Développement de la plaque** : La phase mobile migre par capillarité à travers la phase stationnaire sèche, entraînant à des vitesses différentes les constituants à séparer. Le temps de migration (plusieurs minutes) dépend de divers paramètres. Quand le front de solvant a parcouru une distance considérée comme suffisante (quelques centimètres), on retire la plaque de la cuve, on repère la position limite atteinte par la phase mobile et on évapore cette dernière.

❖ **Révélation post-chromatographique** : La localisation des composés après migration se fait sur la plaque débarrassée de l'éluant.

Les composés qui donnent des taches invisibles doivent être « révélés ». À cette fin la phase stationnaire contient un indicateur consistant en un sel de zinc qui émet une fluorescence verte lorsqu'on éclaire la plaque au moyen d'une lampe UV à ($\lambda = 254$ nm). Tout composé qui absorbe à cette longueur d'onde apparaît sous forme d'une tache sombre (ou quelquefois colorée) sur un fond illuminé en vert.

Le rapport des hauteurs de migration du composé et du front de l'éluant est appelé rapport frontale R_f défini par [4]:

$$R_f = d_{\text{substance}} / d_{\text{solvant}}$$

$d_{\text{substance}}$: la longueur de la migration du composé (mesuré au centre de la tache)

d_{solvant} : la longueur de la migration du front de solvant

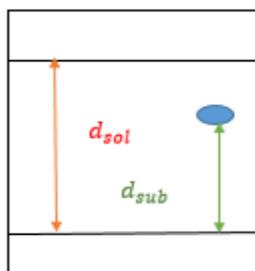


Figure 10 : plaque CCM

III.2.2 Le point de fusion :

C'est la température à laquelle une substance passe de l'état solide à l'état liquide sous la pression atmosphérique. Cette valeur, notée T_f est caractéristique d'un composé et permet d'en vérifier sa pureté, la présence d'impuretés dans le composé entraînant une diminution de la température de fusion.

LA méthode de mesure du point de fusion utilisée (banc Kofler) :

Diverses techniques permettent de mesurer cette valeur. Une des plus courantes est l'utilisation d'un **banc Kofler**. Cet appareil est constitué d'une plaque chauffante avec un gradient de température et d'une échelle de température. La mesure est rapide et précise à plus ou moins un degré Celsius mais ne convient que pour des substances dont la T_f est inférieure à 250°C [5, 6].

III.2.3 Spectroscopie infrarouge IR :

L'infrarouge est le domaine classique des molécules organiques donnant des informations sur les groupements fonctionnels présents dans une molécule. Les modes de vibration d'un groupement chimique dépendent fortement du reste de la molécule, chaque molécule produit un spectre d'absorption qui lui est caractéristique [7].

Le domaine qui représente le plus grand intérêt pour le chimiste est très limité et s'étend de 4000 à 660 cm^{-1} [8].

III.2.4 Appareils utilisés :

- ❖ Le Point de fusion : les températures de fusion des différents produits synthétisés ont été mesurés à l'aide d'un Banc Kofler
- ❖ Spectroscopie infrarouge : les spectres infrarouges ont été enregistrés sous forme de pastilles de KBr dans un spectrophotomètre de type SHIMADZU FTIR-8400S dans le laboratoire de chimie organique Biskra
- ❖ La mesure de l'absorption au cours de test de DPPH est réalisée par un appareil spectrophotométrique de type JENWAY 6300

III.3 La synthèse des dérivés de base de schiff :

Notre travail consiste à concevoir et à développer de nouvelles chimiothèques plus précisément la synthèse de la famille de base de schiff.

Dans le cadre du programme de recherche, nous nous sommes intéressés à la synthèse de quatre nouveaux produits des dérivés de base de schiff :

- Molécule (A):(E) -N-Benzylideneaniline.
- Molécule (B):(E) -2-((phenylimino)méthyl) phénol,
- Molécule (C) (3) : N-Benzylidene-1-phenylmethanamine
- Molécule (D) :2-((benzylimino)méthyl) phénol

En ce qui concerne la synthèse des différentes bases de Schiff, on a choisi comme mode opératoire celui-ci suivant :

III.3.1 Mode opératoire :

III.3.1.1 Mode opératoire générale

La synthèse des bases de schiff s'effectue par le procédé général de condensation des quantités équimolaires d'aldéhyde aromatique avec un dérivé de l'amine aromatique en milieu alcoolique (éthanol). Les dérivés des bases de schiff sont obtenus après la recristallisation sous formes de cristaux de couleur allant du jaune pâle à l'orange [8].

Faire recristalliser une substance brute, consiste dans les cas les plus simple à la dissoudre dans la quantité minimum d'un solvant choisi, à son point d'ébullition et à laisser refroidir la solution qui donne des cristaux purs.

III.3.1.2 Mode opératoire utilisé :

Un mélange des quantités équimolaires, de l'amine aromatique (0.1mol), et de l'aldéhyde aromatique (0.1mol), est mis en réaction dans un ballon de 100ml contenant 15ml d'éthanol, les tous sont mis sous reflux pendant 3h, Après fin de la réaction ont récupéré un solide d'après la solution jaune à l'aide d'un évaporateur rotatif ,récupérer la quantité de produit dans un erlenmeyer sec et ajouté 10 ml d'éthanol et chauffé jusqu'à le point d'ébullition de l'éthanol (dissolution des poudres), refroidir dans un bain de glace jusqu'à la formation des cristaux[9.10].

III.3.2 Synthèse de la molécule(E) -N-Benzylideneaniline (A) :

La réaction est le résultat de l'attaque nucléophile de l'azote de l'aniline sur le carbonyle de benzaldéhyde. Ceci entraîne la formation de la double liaison carbone-azote (-C=N-), et la formation de l'imine après élimination d'une molécule d'eau, comme indiqué dans (schéma III.1).

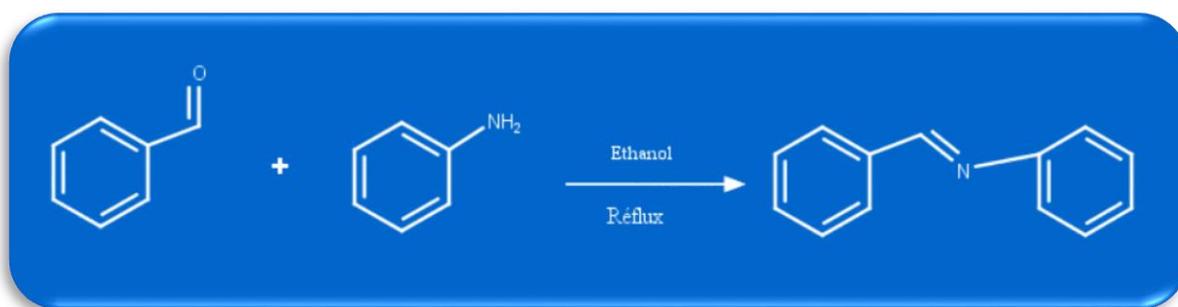


Schéma1:Schéma réactionnel de la synthèse de (A)

Après recristallisation dans l'éthanol, le produit est obtenu sous forme de poudre beige foncé avec un assez bon rendement (73%), le point de fusion obtenu généralement en accord avec la littérature $T_f = 59^\circ\text{C}$.

la réaction est suivie par CCM ,le produit est bien révélé avec $R_f = 0.82$, Le pourcentage de l'éluant utilisé (50% acétate d'éthyle, 50% éther de pétrole).

La plaque CCM montres qu'elle a une tache d'un R_f qui est différent à R_f des produits de départ (l'aniline, benzaldéhyde)

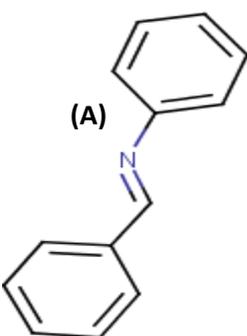


Figure 11: La plaque CCM de la réaction de composé (A)

III.3.2.1 Caractéristiques physico-chimique :

Les principales caractéristiques physico-chimique de ce composé dans le tableau suivant :

Tableau 4: Propriétés physico-chimique et donnés spectrales de composé (A)

Le composé	rendement	Aspect	formule	T_f
 <p>(A)</p>	71%	cristaux beige foncé	$C_{13}H_{11}N$	$59^{\circ}C$
Caractérisation				
IR		V(C=N):	V(C=C) :	V(C-H) :
KBr ,V : cm^{-1}		1625	1450	2889

III.3.3 Synthèse de la molécule (E) -2-((phenylimino)methyl) phenol (B) :

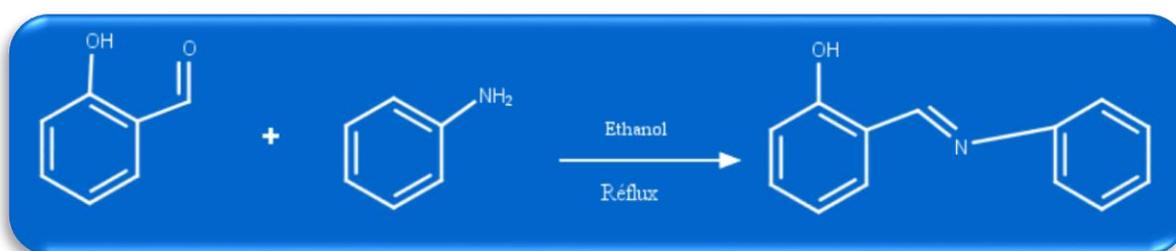


Schéma 2:Réactionnel de la synthèse de (B)

En conservant le même mode opératoire, cette réaction se déroule en milieu de l'éthanol à reflux, cette approche nous a permis d'obtenir la base de Schiff souhaité avec un rendement acceptable (67%), Le produit résulte de cette synthèse (la condensation de l'aniline avec l'aldéhyde salicylique) est obtenu à l'état de poudre et stable à température ambiante. On a suivi la réaction par la CCM ($R_f = 0.89$).



Figure 12: la plaque CCM de la réaction de composé (B)

III.3.3.1 Caractéristiques physico-chimique :

Les propriétés physico-chimique sont regroupées dans les tableau 5 :

Tableau 5: Propriétés physico-chimique et données spectrales de composé (B)				
Le composé	rendement	Aspect	formule	T_f
<p>(B)</p>	67%	Cristaux jaune	$C_{13}H_{11}NO$	$57^{\circ}C$
Caractérisation				
IR	V(O-H)	V(C=N)	V(C=C)	V(C-H)
KBr, $V : cm^{-1}$	3425	1617	1482	2850

III.3.4 Synthèse de la molécule N-Benzylidene-1-phenylmethanamine (C) :

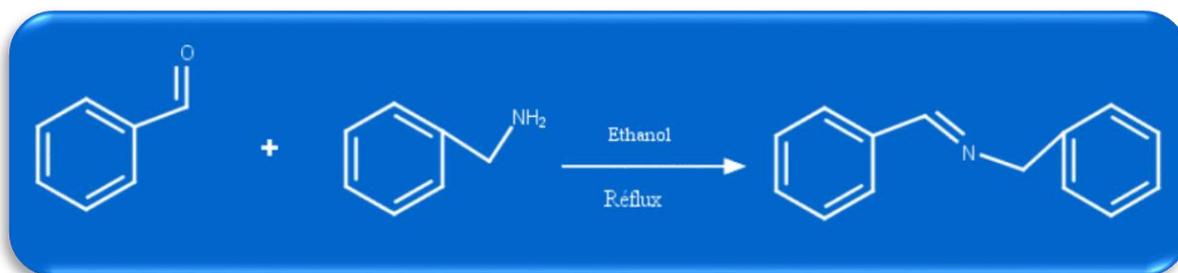


Schéma 3:Schéma réactionnel de la synthèse de (C)

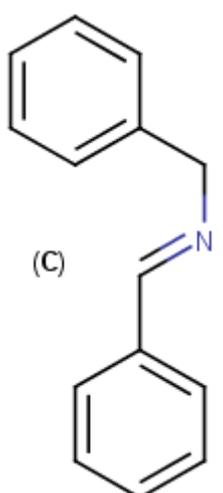
De même stratégie, nous avons synthétisé une nouvelle molécule de base de Schiff, [N-Benzylidene-1-phenylmethanamine] par la condenser le benzylamine avec l'Aldéhyde salicylique ; à des quantités équimolaires sous reflux dans l'éthanol. Le rapport frontale ($R_f=0.76$) est mesuré à l'aide d'une plaque CCM au cours de la réaction.



Figure 13:la plaque CCM de la réaction de composé (C)

Caractéristiques physico-chimique :

Tableau 6: Propriétés physico-chimique et données spectrales de composé (C)

Le composé	rendement	Aspect	formule	T_f
 <p>(C)</p>	85%	Cristaux marron	$C_{13}H_{11}N$	220°
Caractérisation				
IR		$\nu(C=N)$	$\nu(C=C)$	$\nu(C-H)$
KBr, $\nu : cm^{-1}$		1644	1451	2841

III.3.5 Synthèse de 2-((benzylimino)méthyl) phenol (D) :

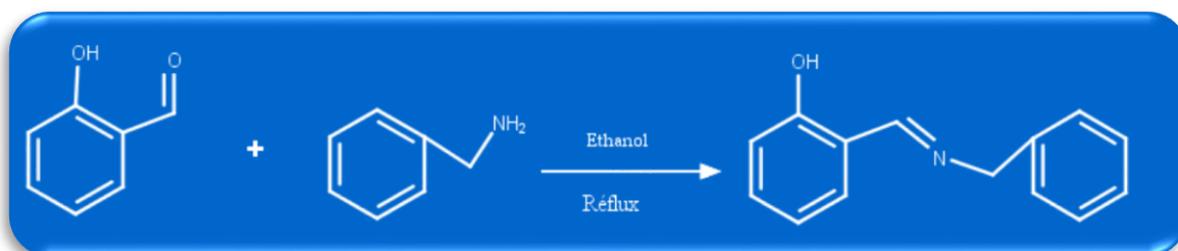


Schéma: 2: Mécanisme réactionnel de la synthèse de (D)

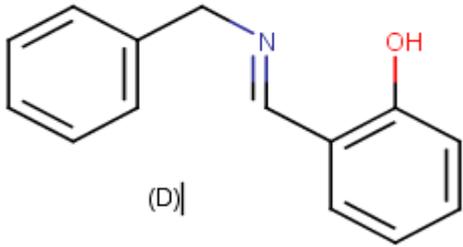
Tout comme dans les parties précédentes, la réaction a été réalisée en présence de l'éthanol conduisant à la condensation avec un rendement modéré de 65%. Nous avons trouvé un nouveau produit dont le $R_f = 0.76$



Figure 14: la plaque CCM de réaction de composé(D)

III.3.5.1 Caractéristiques physico-chimique :

Tableau 7: Propriétés physico-chimique et données spectrales de composé (D)

Le composé	rendement	Aspect	formule	T_f
 <p>(D)</p>	65%	Cristaux jaune pale	$C_{13}H_{11}N$	46°
Caractérisation				
IR	v(O-H)	v(C=N)	v(C=C)	v(C-H)
KBr, $v : cm^{-1}$	3450	1632	1497	2889

III.3.6 Étude spectrales :

L'étude structurale de nos composés synthétisés a été établie par la méthode spectroscopique usuelle, Infrarouge **IR**.

Tous les spectres infrarouges montrent la bande caractéristique des bases de Schiff à l'intervalle de 1600 à $1650 cm^{-1}$ attribuée à la fréquence de vibration du groupe azométhine (imine), $C=N$ confirme la formation des bases de schiff .

Les spectres des composés (B) et (D) présentent une bande caractéristique de 3400 au $3480 cm^{-1}$ et correspondant au OH phénolique.

Évaluation de l'activité biologique *in vivo*

III.4 L'évaluation de l'activité biologique *in vivo* (activité antioxydant) :

III.4.1 Les antioxydants :

Grâce à la propriété essentielle de l'antioxydant (piégeur des radicaux libres), plusieurs méthodes ont été mises au point pour évaluer l'efficacité des antioxydants à piéger les radicaux libres et d'empêcher les réactions radicalaires. La majorité de ces méthodes se base sur des phénomènes chimiques, des processus physiques et des instrumentations spécifiques. La plupart des procédés analytiques exigent un prétraitement avant la mesure.

En principe, si un composé montre une faible activité antioxydant *in vitro*, il est très rare qu'il présente une activité meilleure *in vivo* aussi les mécanismes d'oxydation et de prévention *in vivo* sont différents à cause de la perméabilité cellulaire et du processus de transport [11-12].

Une méthode très utilisée pour évaluer l'activité antioxydant d'un composé consiste à étudier sa réaction avec le DPPH, un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette et il reste stable plusieurs jours.

III.4.2 Protocole générale :

Préparation de la solution méthanolique de (DPPH) à (0.025g/l) : une quantité de (4mg) de (DPPH) est dissoute dans 100 ml de méthanol.

III.4.3 Préparation de la solution mère :

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par LOPES-LUTZ et al. (2008) (ATHAMENA et al., 2010) avec quelques modifications.

250µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (de 0,0125 à 5mg/ml) sont ajoutés à 750 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 250µl de méthanol avec 750µl de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; pour chaque concentration le test est répété 3 fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante[13] :

$$I\% = [(Abs\ contrôle - Abs\ test) / Abs\ contrôle] \times 100$$

I % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire

Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon à 517 nm.

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif à 517 nm.

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm.

A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe d'activité anti radicalaire qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de composé testé.

III.4.4 Résultats et discussion :

Les pourcentages d'inhibition et les résultats de l'étude de la variation de l'activité anti radicalaire en fonction de la concentration des composés présentée dans les tableaux de la page suivante :

Tableau 8 : valeurs d'inhibition en fonction de concentration composé (A)

Concentration (µl/ml)	% d'inhibition de DPPH
12,5	4,182 ± 2,150
500	8,184 ± 3,150
1000	12,067±5,200
2000	19,992±4,900
3000	50,603±4,410
4000	73,357±8,18
5000	79,096 ± 1,860
IC ₅₀	2943,10

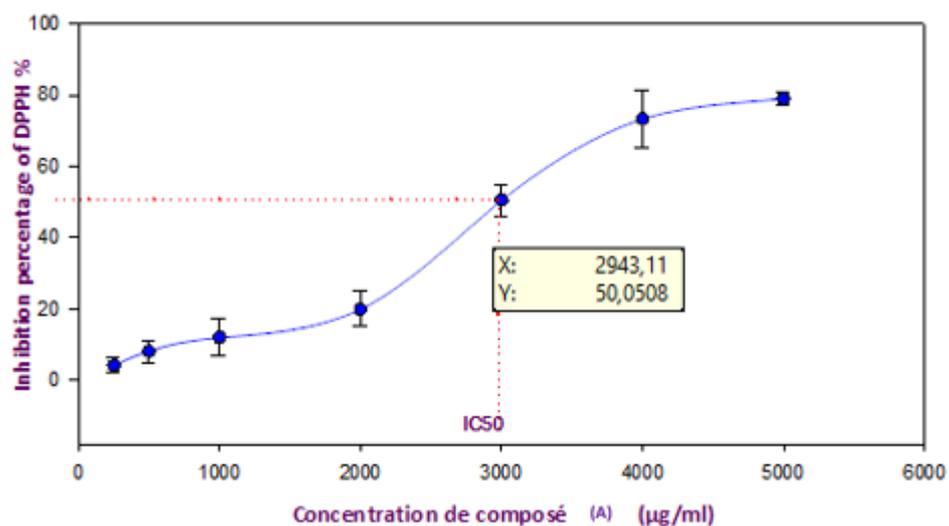


Figure 15 activité anti radicalaire de le composé (A)

Tableau 9: valeurs d'inhibition n fonction de concentration composé (B)

Concentration (µl/ml)	% d'inhibition de DPPH
12,5	38,351 ± 0,480
500	43,607 ± 2,390
1000	50,896 ± 0,780
2000	54,122 ± 1,450
3000	59,060 ± 1,940
4000	78,220 ± 1,450
5000	83,313 ± 1,830
IC ₅₀	972,230

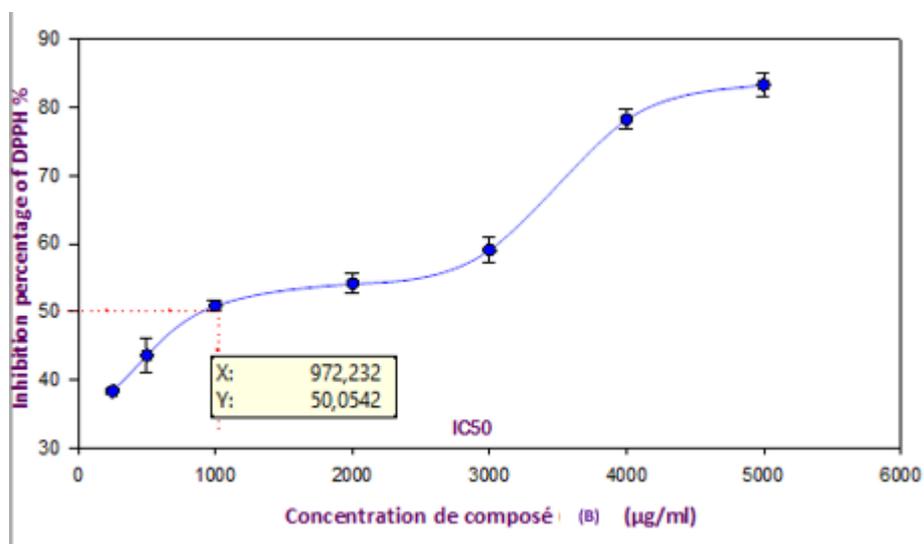


Figure 16: activité anti radicalaire de le composé (B)

Tableau 10 : valeurs d'inhibition n fonction de concentration composé (c)

Concentration (µl/ml)	% d'inhibition de DPPH
12,5	10,434 ± 2,430
500	20,390 ± 1,1500
1000	42,254 ± 4,320
2000	51,339 ± 2,360
3000	70,211 ± 0,380
4000	73,3570 ± 0,3200
5000	83,831 ± 2,3400
<i>IC</i> ₅₀	2016,67

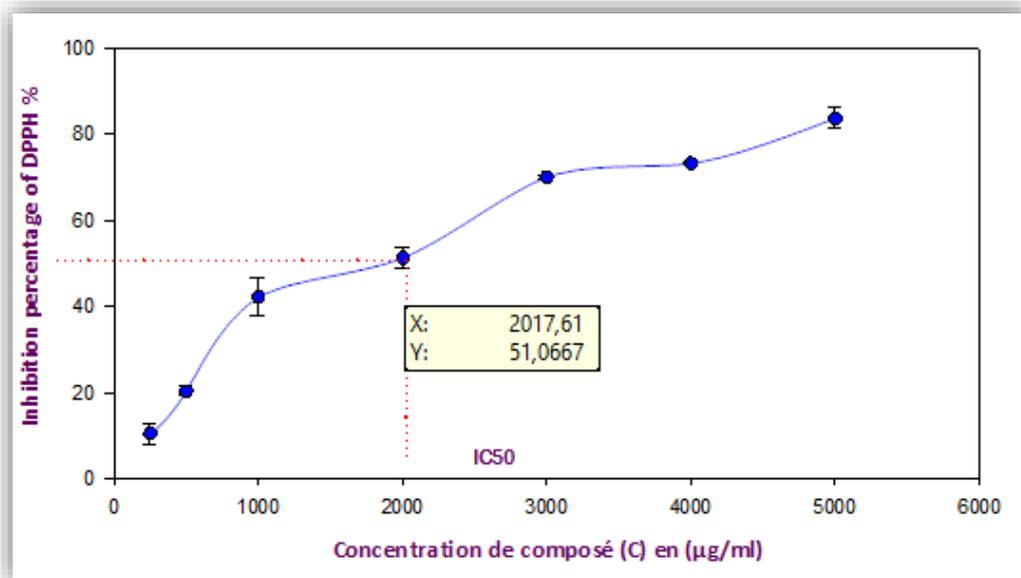
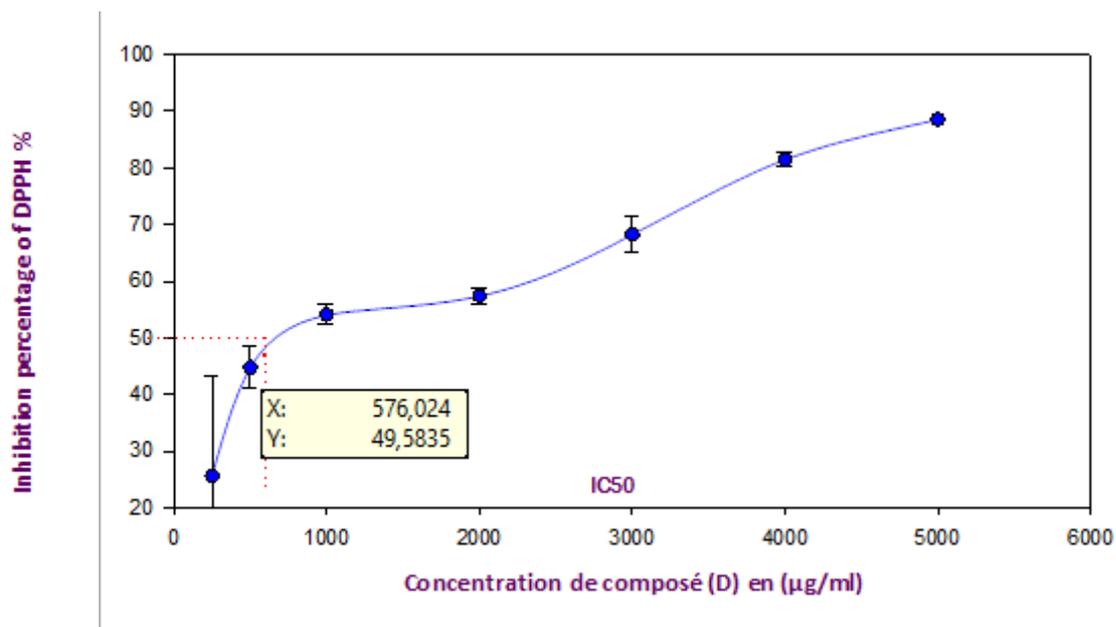


Figure 17:activité anti radicalaire de le composé (C)

Tableau 11:valeurs d'inhibition n fonction de concentration composé (D)

Concentration (µl/ml)	% d'inhibition de DPPH
<u>12,5</u>	<u>25,687 ± 17,480</u>
<u>500</u>	<u>44,802 ± 3,650</u>
<u>1000</u>	<u>54,0820 ± 1,810</u>
<u>2000</u>	<u>57,427 ± 1,320</u>
<u>3000</u>	<u>68,299 ± 3,230</u>
<u>4000</u>	<u>81,521 ± 1,240</u>
<u>5000</u>	<u>88,618 ± 0,190</u>
<i>IC</i> ₅₀	<u>577,018</u>

Figure 18:activité anti radicalaire de le composé (D)



Ces figures montrent que nos échantillons possèdent des capacités de neutralisation assez importantes. Cependant, il existe des différences de potentiel anti oxydant entre les ligands. Ces variations peuvent être attribuées aux structures de ces molécules. Les ligands (B) et (D), montrent les meilleures activités antioxydantes.

L'activité anti oxydante des ligands est mise en évidence en utilisant le paramètre définissant la concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH. (IC50) qui est inversement proportionnel au potentiel anti radicalaire d'un anti oxydant. Une valeur d'IC50 faible correspond à une activité élevée. [14].

Selon les résultats enregistrés, nos échantillons sont dotés d'un pouvoir antioxydant modéré, leur IC50 sont respectivement de **2943,10, 972,230, 2016,67 et 577,018 µl/ml**. Parmi les 4 ligands testés, la molécule (B) et la molécule (D) ont montré les meilleurs pouvoirs anti oxydants vis-à-vis de la réduction du radical libre DPPH, Ceci est probablement dû à la présence du groupe OH sur

On note un changement instantané de la couleur violette vers la couleur jaune, surtout dans le cas du (D).

Évaluation de l'activité biologique *in silico*

III.5 Évaluation de l'activité biologique *in silico* (docking moléculaire) :

III.5.1 Introduction :

Le médicament ou la molécule thérapeutique est généralement une petite molécule activant ou inhibant la fonction d'une biomolécule telle que les protéines et entraînant un bénéfice thérapeutique pour le patient [15].

Le docking reste une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et par suite la conception de médicaments. Les approches dans le cadre du docking sont basées sur le concept "clé-serrure".

Le docking moléculaire a pour but d'étudier toutes les interactions existantes entre une protéine et son substrat ou une protéine et une autre protéine, afin de comprendre le mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, à savoir : l'affinité entre deux molécules, les distances entre les résidus du site actif de l'enzyme et ceux des inhibiteurs ainsi que l'énergie d'interaction [16].

Ce travail consiste à analyser les interactions existantes entre les différents ligands et l'albumine par les méthodes de docking moléculaire.

Dans cette partie nous avons regroupé tous les résultats de calcul effectués au cours de cette étude sachant que la discussion a été basée sur les valeurs des énergies d'interactions et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'albumine (HSA) et les ligands. Dans ce cadre nous avons réalisé une étude des interactions entre l'albumine (Code :2BXB) et les dérivés des bases de schiff par l'utilisation de logiciel MOE.

III.5.2 Préparation de protéine :

Brookhaven protein data bank ou PDB est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) de macromolécules biologique, protéines essentiellement, et acides nucléiques, ces structures sont

essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN [17].

Le téléchargement de l'enzyme a été fait à partir de la base de PDB (www.rcsb.org/pdb). Co-cristallisée avec la molécule [4-BUTYL-1-(4-HYDROXYPHENYL)-2-PHENYLPYRAZOLIDINE-3,5-DIONE], le complexe a été téléchargé au format PDB après l'introduction de son code d'accès 2BxB[18].

La structure 3D de HSA a été obtenue par diffraction en rayon X avec une résolution (3,2Å), R_value work (0,228), R-value free (0,276), l'enzyme a été préparée comme corps rigide.

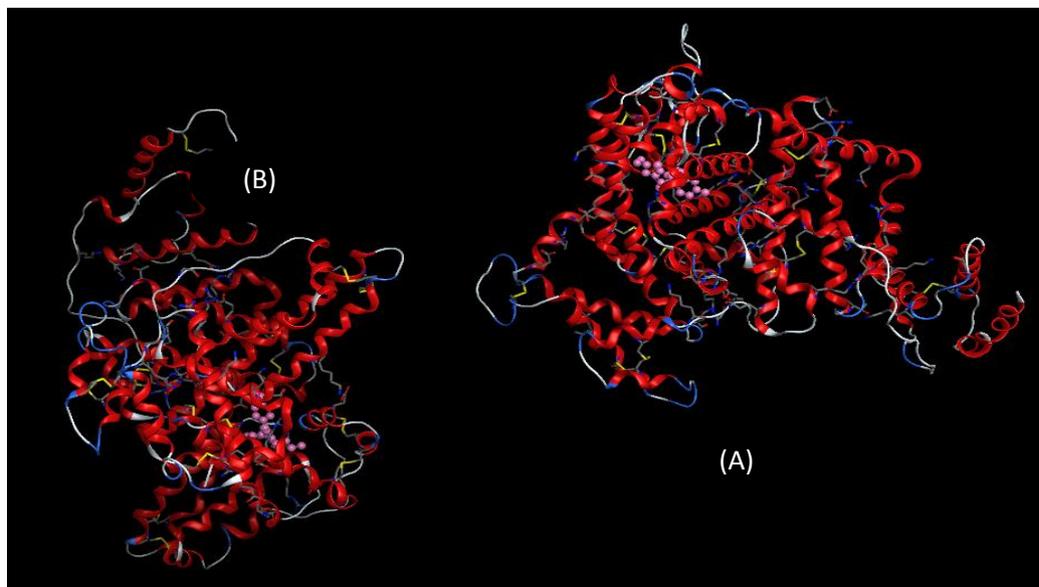


Figure 19: la structure 3D de l'HSA (2BxB) avec oxyphenbutazone

La minimisation de l'énergie de potentielle est l'une des méthodes les plus couramment employées pour optimiser la structure des biomolécules. Cette opération peut être utile afin de relaxer la structure initiale de la molécule et de chercher une géométrie de basse énergie, correspondant à un état stable du système.

Elle a été effectuée sur notre protéine(HSA)

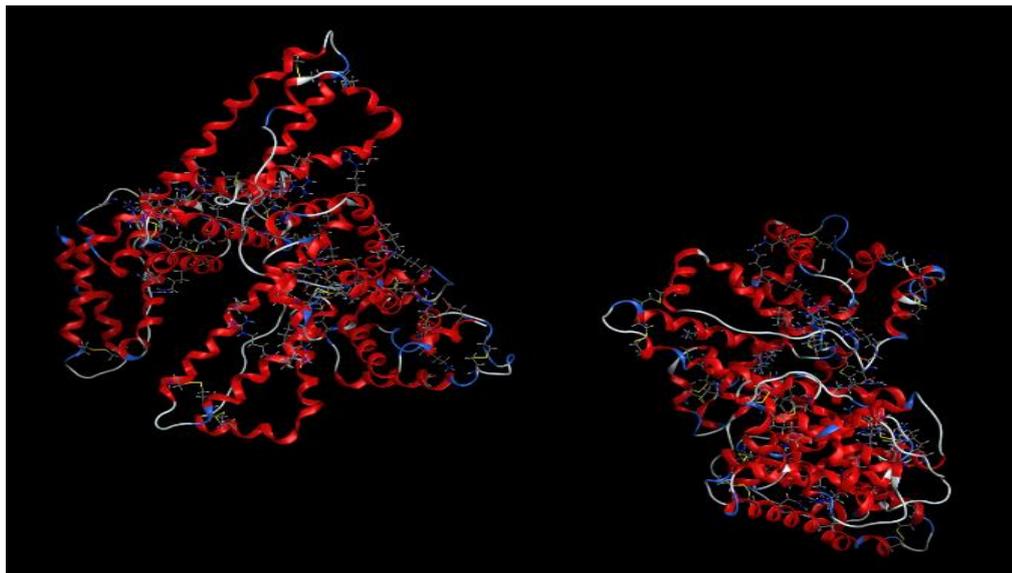


Figure 20:structure 3D de le HSA après la minimisation d'énergie

On a appliqué un processus de minimisation d'énergie sur la structure précédente par la méthode Amber 10, l'énergie potentiel totale de système après la minimisation est :

E Pot = -19986.8 Kcal/mol, en utilisant le même logiciel MOE

On remarque que l'albumine cristallise sous la forme d'un dimère *c.-à-d.* : Chaîne A et B (figure 20).

Nous avons retenu un seul monomère (la figure 22). Ce monomère comporte les résidus formant le site actif.

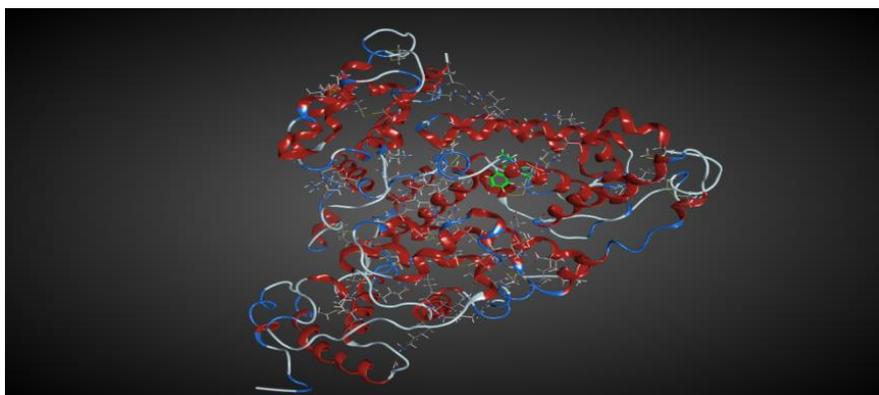


Figure 21:La forme monomère de HSA avec l'oxyphenbutazone

La structure chimique du ligand oxyphenbutazone au niveau de notre protéine est donnée dans la figure suivante :

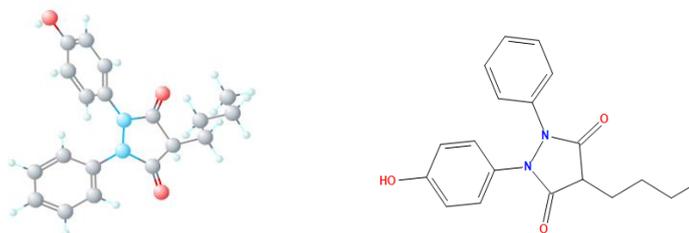


Figure 22: structure 2D et 3D de l'oxyphenbutazone

L'oxyphenbutazone est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). C'est un métabolite de la phénylbutazone. 4-butyl-3,5-dioxo-1-phényl-2-p-hydroxyphénylpyrazolidine, $C_{19}H_{20}N_2O$ [19]

Oxyphenbutazone est un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien. Il avait été utilisé par voie orale dans les troubles rhumatismaux tels que la spondylarthrite ankylosante, l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde. Les gouttes oculaires d'Oxyphenbutazone ont été employées à l'étranger dans la gestion de l'inflammation oculaire postopératoire, des lésions oculaires superficielles et de l'épisclérite [20].

III.5.2.1 Dynamique moléculaire de l'albumine :

En dynamique moléculaire, on essaie de simuler les mouvements intramoléculaires que l'on peut visualiser ensuite en temps réel. Ces mouvements correspondent à des vibrations autour d'un minimum ou au passage d'un minimum à un autre minimum d'énergie. Si l'énergie fournie virtuellement au système est suffisamment élevée, des barrières énergétiques importantes peuvent être franchies [21].

Le protocole typique de simulation de dynamique moléculaire contient :

- La création de la structure moléculaire de départ
- La minimisation de l'énergie
- Le chauffage du système
- L'équilibration du système à la température d'étude

- La production de la trajectoire
- L'analyse de la trajectoire

Typiquement, avant d'effectuer la simulation de dynamique moléculaire, les systèmes ont été chauffés de 0 K à 300 K pendant 20 Ps et équilibrés à la même température pendant encore 20 Ps [22].

L'algorithme utilisé est la NPA (les équations de mouvement Nosé-Poincaré-Andersen) cette méthode génère de variées trajectoire de *NPA*¹, *NHA*² et *BER*³, c'est le plus précise mais le plus sensible.

Nous avons commencé la dynamique par une initialisation du system :

À $t=0 \rightarrow r(t)=0$: c'est-à-dire la structure initiale, précédemment minimisée puis nous avons chauffé le système jusqu'à 300K

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

Ensuite, il y a production de conformations ou le temps de simulation de la dynamique moléculaire est de 500 picosecondes

La valeur d'énergie potentiel de système après la dynamique moléculaire est :

Epot = -
8487.09
Kcal/mol

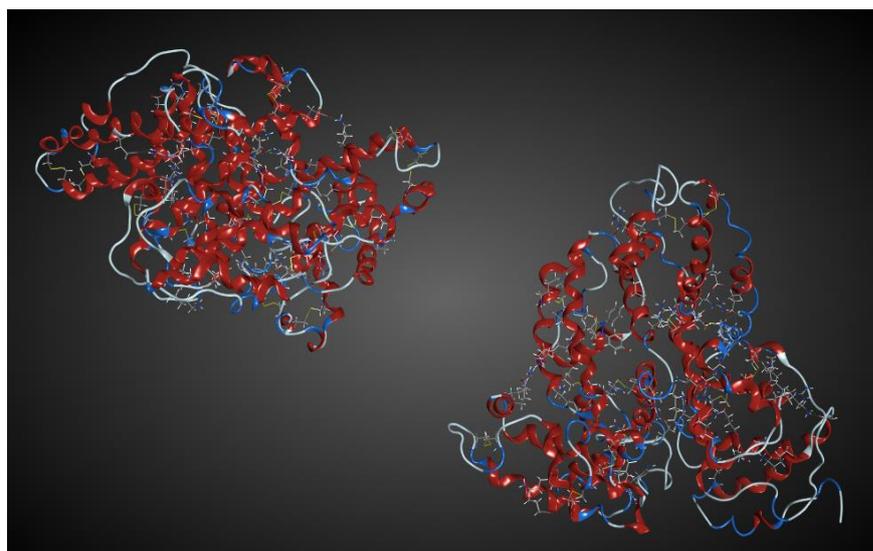
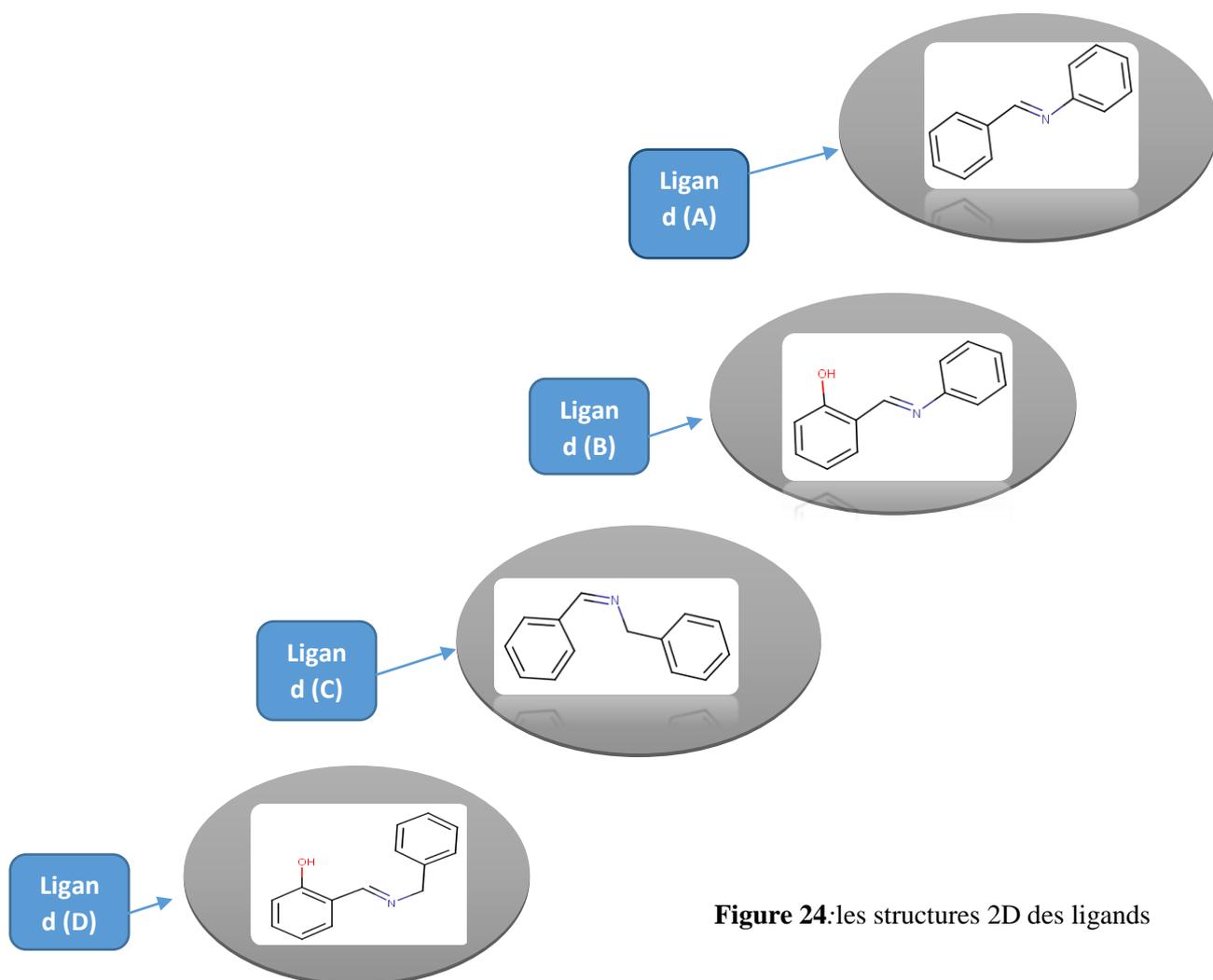


Figure 23: la structure 3D de l'HSA après la dynamique moléculaire

III.5.3 Préparation des ligands :

Ce travail basé sur 4 ligands qui sont capable de faire des interactions avec l'enzyme en question et par la suite forme des complexes stables. Les structures chimiques des ligands

sont données dans la figure suivante :



Toutes les structures ont été optimisées à l'aide de programme Hyperchem8.0.10, en premier temps par un calcul de mécanique moléculaire en utilisant le champ de force MM⁺, suivi par un autre calcul basé sur la méthode semi-empirique AM1, les conformations

obtenues ont été sauvegardées sous format MDL MOL après avoir enregistré son système d'énergie [23-24].

En utilisant le logiciel Gaussian 09, comme méthode de calcul on a choisi DFT avec B3LYP comme corrélation et la base 6-311G+ (d, p) pour optimiser les molécules précédentes.

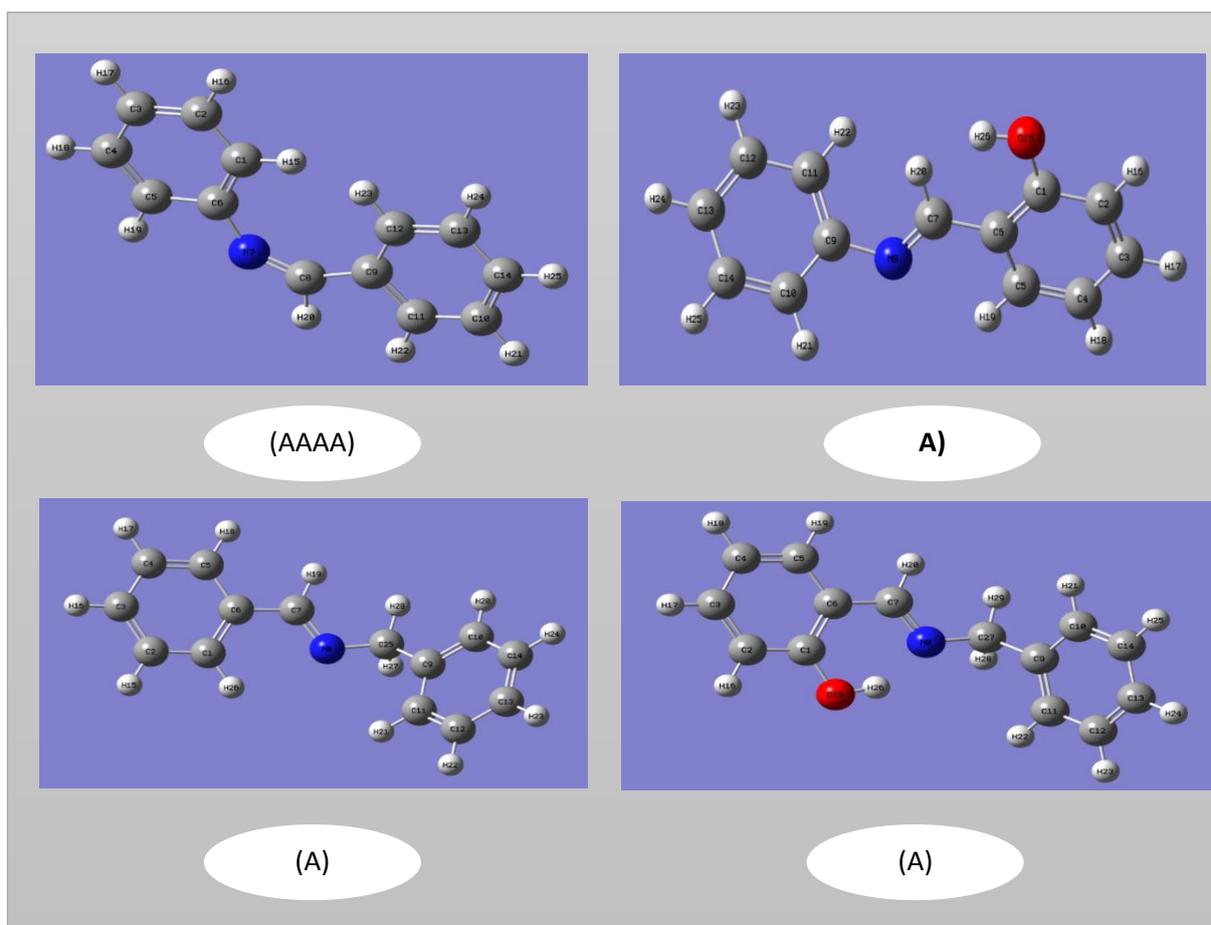


Figure 25: les structures 3D des ligands optimisés

(C)

(D)

Le tableau suivant regroupé l'énergie des molécules après l'optimisation :

Tableau 12: les valeurs énergétiques des ligands

ligand	Énergie
Ligand A	-632.137388
ligand B	-556.864659
Ligand C	-596.211731
Ligand D	-671.473285

III.5.4 Le docking moléculaire :

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

Connaître la façon dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées [25].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes :

- La première étape (le docking) : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner la conformations, position et orientation (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- La deuxième étapes (le scoring) : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce permettra de retenir la meilleure pose toutes celles proposées [26].

Le Docking Moléculaire est le rapprochement de deux entités moléculaires, ou bien c'est l'étude des interactions non liantes entre les résidus du site actif de l'enzyme et les ligands pour former des complexes stables. Parmi les logiciels de Docking moléculaire on peut citer : GOLD, FlexX, DOCK, AutoDock, MOE ou bien UCSF Chimera, Glide et Molegro Virtuel Docker (MVD) [27-35].

Dans notre étude. nous avons utilisé le logiciel MOE

III.5.5 Résultat de docking moléculaire :

III.5.5.1 Le site actif dans l'albumine :

Dans la figure suivante on a représenté la cavité sélectionnée pour notre étude de l'HSA

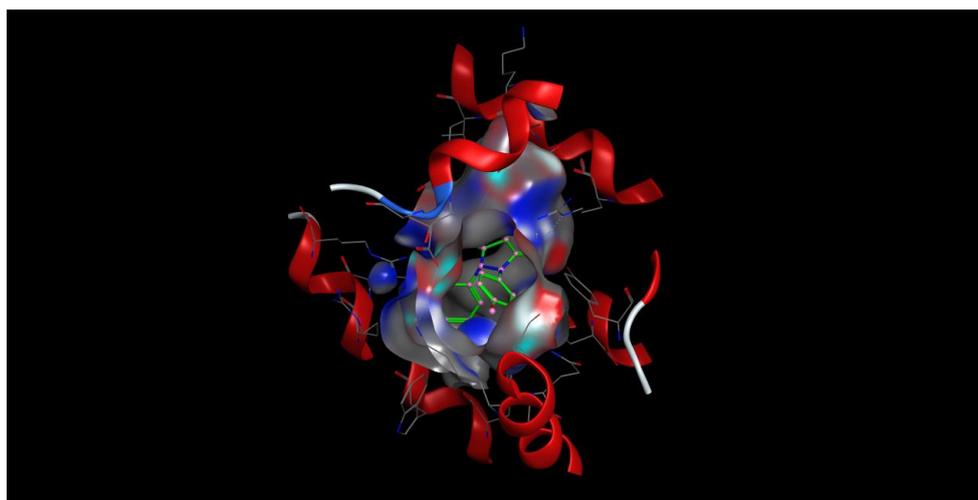


Figure 26:le site actif sélectionnée et le ligand de référence dans l'HSA

Ce site actif a été choisi pour faire notre calcul de docking car elle possède Le ligand qui Co-cristallisé de l'HSA

III.5.5.2 Interaction albumine-ligand (HSA- oxyphenbutazone) :

Dans notre étude l'interaction entre l'albumine (HSA) et de ligand de référence c'est-à-dire formation du complexe (HSA-oxyphenbutazone), nous permet d'obtenir les résultats suivants :

Nous avons effectué la dynamique moléculaire sur notre complexe (HSA-oxyphenbutazone) pour obtenir la meilleur conformation (plus stable).

Avant de faire une analyse des résultats obtenus, il est forcément de voir quelques définitions de basse :

Tableau 13:valeurs d'RMSD

RMSD	RMSD<1.5	1.5<RMSD<3.5	3.5<RMSD<6	6<RMSD
STRUCTURE	Parfait	Acceptable	Inadéquat	Inacceptable

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un 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.

Concrètement, le score est une estimation de l'affinité entre la macromolécule et la petite molécule organique. Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité.

Il n'est donc pas réaliste de corrélérer une activité mesurée avec la valeur d'un score. Il est plus judicieux d'établir une corrélation des constantes d'inhibition K_i avec les scores *in silico*. Une mauvaise corrélation entre les affinités expérimentales et les scores ne signifie pas pour autant que la fonction de scoring est mauvaise. En effet, les molécules dont on connaît les affinités mesurées expérimentalement ne couvrent qu'un très faible intervalle de score comparé au large intervalle proposé par une fonction de scoring[36]

Tableau 14: Résultats énergétiques de l'interaction de ligand de référence

Ligand	SCORE	RMSD
Oxyphenbutazone	-9,42528057	0,66752946

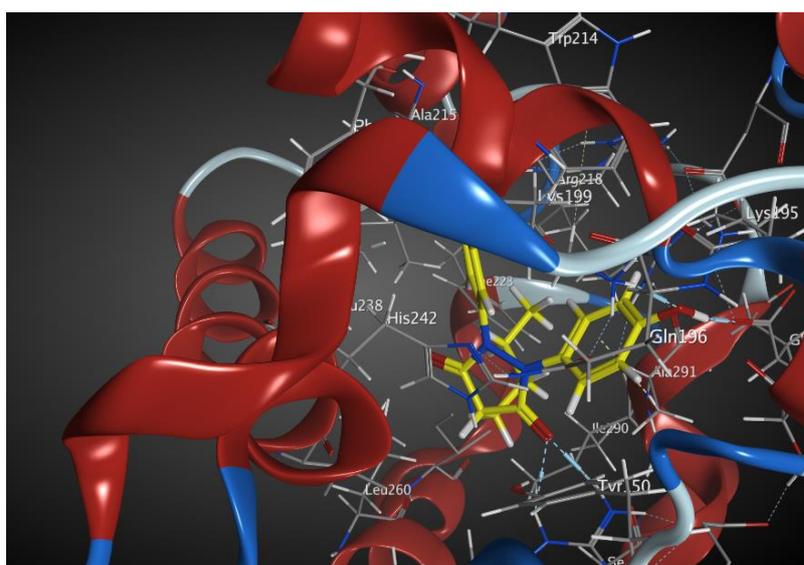


Figure 27: les interactions entre les résidus de site actif de l'HSA avec l'oxyphenbutazone (Image 3D)

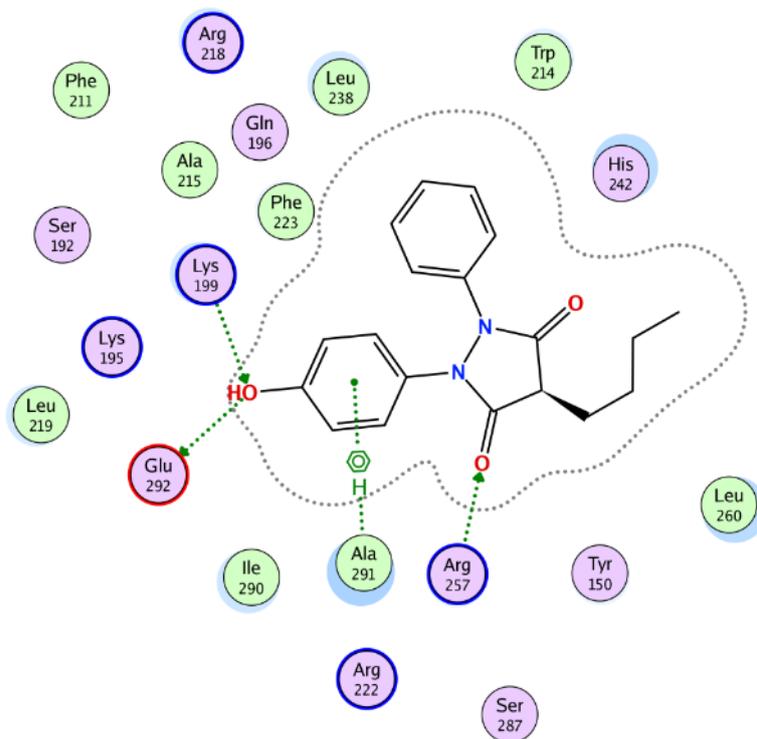


Figure 28: les interactions entre les résidus de site actif de l'HSA avec l'oxyphenbutazone

III.5.5.3 Interaction HSA-ligands :

La formation du complexesprotéine/ligand se fait en deux étapes, une première étape de reconnaissance, ou le ligand entre dans le site, puis une seconde étape ou le lien covalent se forme. Le docking permet d'appréhender la situation lors de la première étape. Le but du docking moléculaire est d'anticiper la possibilité d'un ligand quelconque puisse ou non se loger dans une poche de la protéine avec une bonne affinité. Ainsi, le docking chaque ligand généré un ensemble de mode de liaison appelés « poses » pour lesquelles un score est calculé. Ce score est une approximation de l'énergie de liaison du complexe (Kcal/mol) et donc plus il est négatif, le meilleur est l'affinité prédite. Cependant, le score en lui-même est peu informatif et il est plus intéressant de le comparer au score obtenu pour un inhibiteuroxyphenbutazonedont l'affinité et le mode de liaison sont connus. Le ligand Co-cristallisé représente alors souvent la référence idéale.

Tableau III.13 : : Résultats énergétiques de l'interaction de ligands

Tableau 15 : valeurs de score et RMSD des 4 ligands

ligand	SCORE	RMSD
Ligand (A)	-5,7273531	1,28465343
Ligand (B)	-5,66899204	1,04946113
Ligand (C)	-5,85150146	1,3710916
Ligand (D)	-5,94525528	0,97040033

D'après les résultat obtenus (tableau). On Peut conclure que les interactions mises en jeu entre les résidus de site actif et les ligands (A), (B), (C) et (D) peut former des complexes stables, on note aussi que les valeurs de score sont trop proches. Ainsi que les valeurs de RMSD sont considérées comme parfait pour les 4 ligands, et pour la valeur de ligand (D) est le plus proche de la valeur obtenue dans le ligand de référence.

Les différents résidus de site actif qui interviennent à la formation des complexes entre l'HSA et les ligands sont représentés dans les Figures suivante :

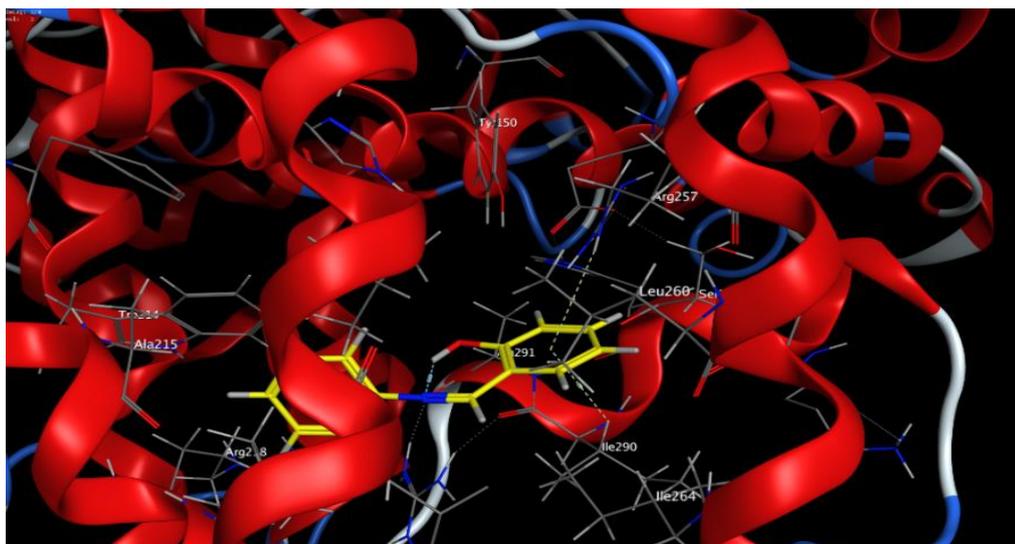


Figure 29:interaction entre les résidus de site actif et ligand (A)



Figure 30:interaction entre les résidus de site actif et ligand (B)

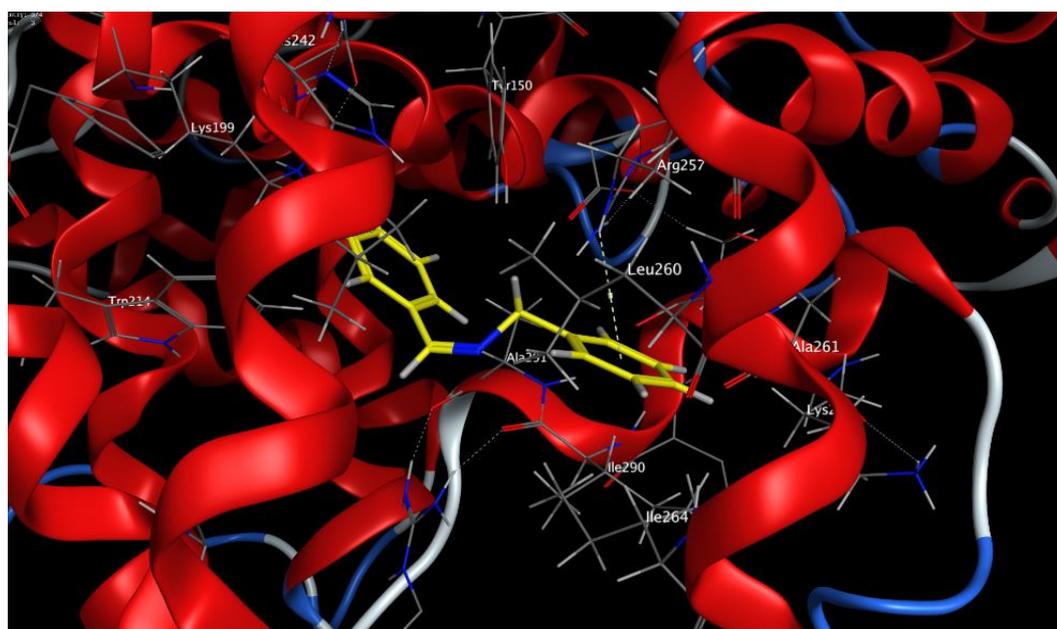


Figure 31:interaction entre les résidus de site actif et ligand (C)

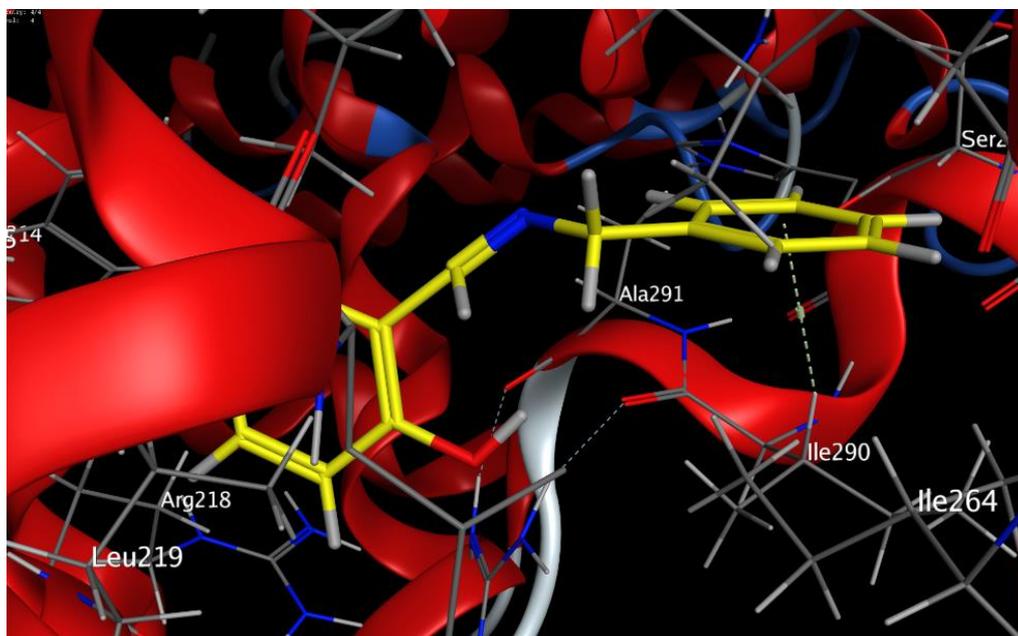


Figure 32:interaction entre les résidus de site actif et ligand (D)

III.5.5.4 La distance stérique :

Les interactions ayant des distances comprises entre 2.5Å et 3.1Å sont considérés comme fortes, celles ayant des distances comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes et quand leurs distances sont supérieures à 3.55Å, elles sont considérées faibles [37].

Les distances stériques mesurées entre l'HSA et les ligands sont reportées dans les tableaux suivants :

Tableau 16: Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (A)

ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
6-ring	NE ARG 257(B)	pi-cation	4.34	-0.6
6-ring	ILE 290 (B)	pi-H	4.19	-0.8

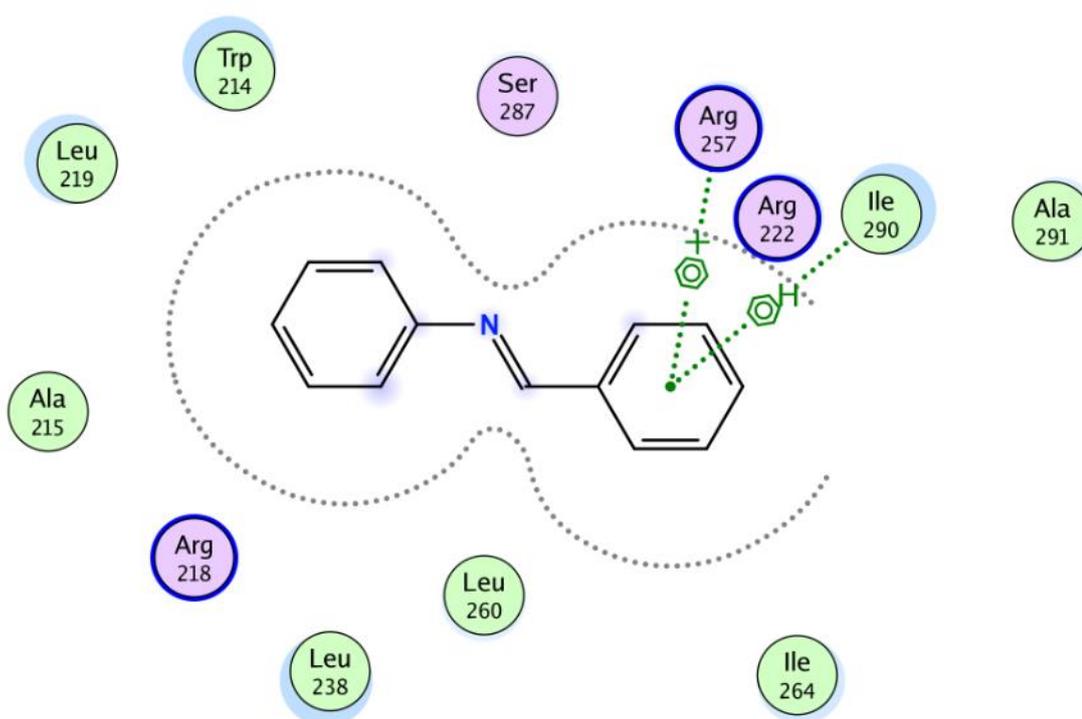


Tableau 17:Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (B)

ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
6-ring	NE ARG 257 (B)	pi-cation	4.22	-0.6
6-ring	CB ILE 290 (B)	pi-H	4.07	-0.8

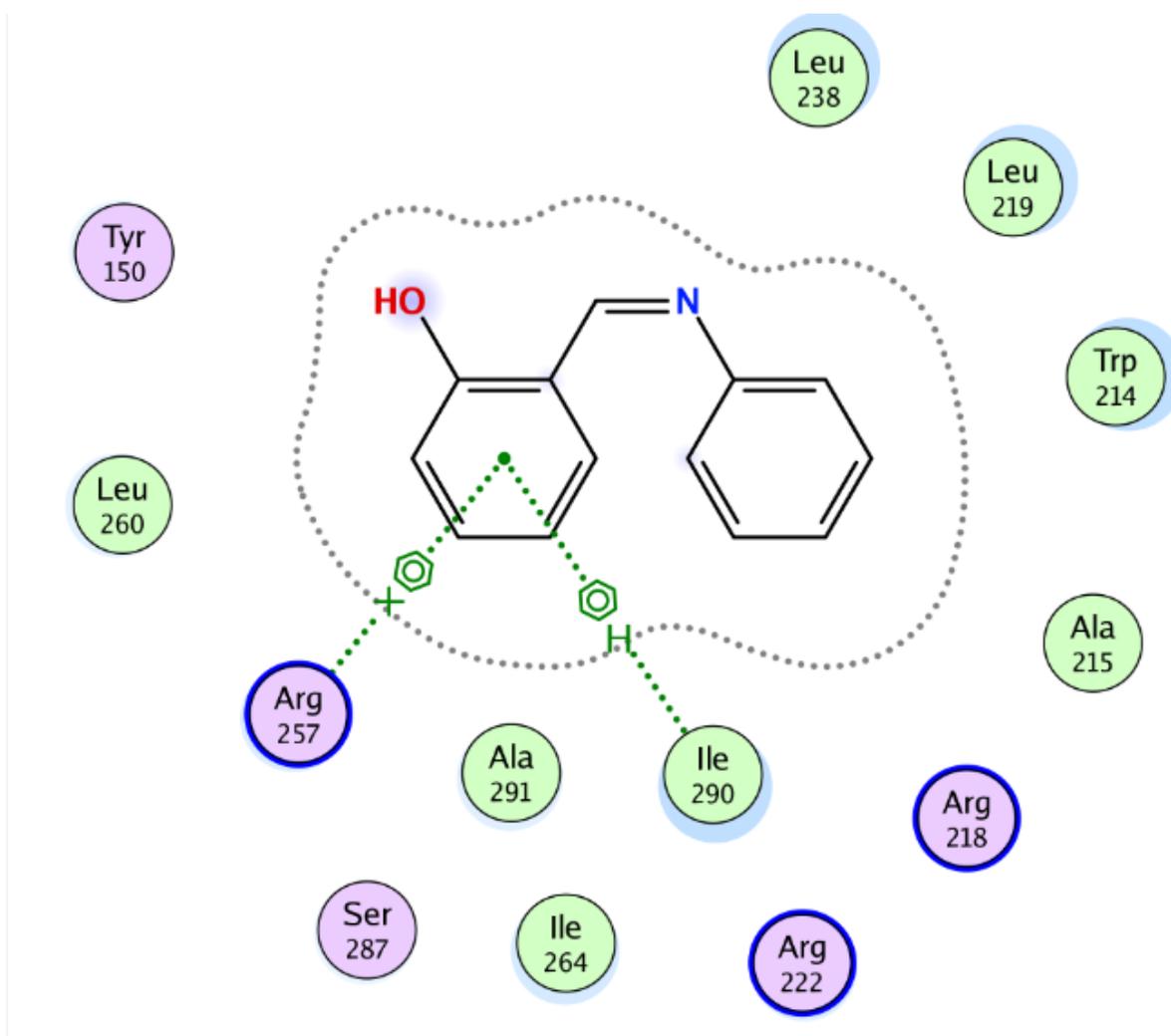


Figure 33 : les interactions entre le ligand (B) et les résidus de site actif

Tableau 18:Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (c)

ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
6-ring	NE ARG 257 (B)	pi-cation	4.34	-0.6

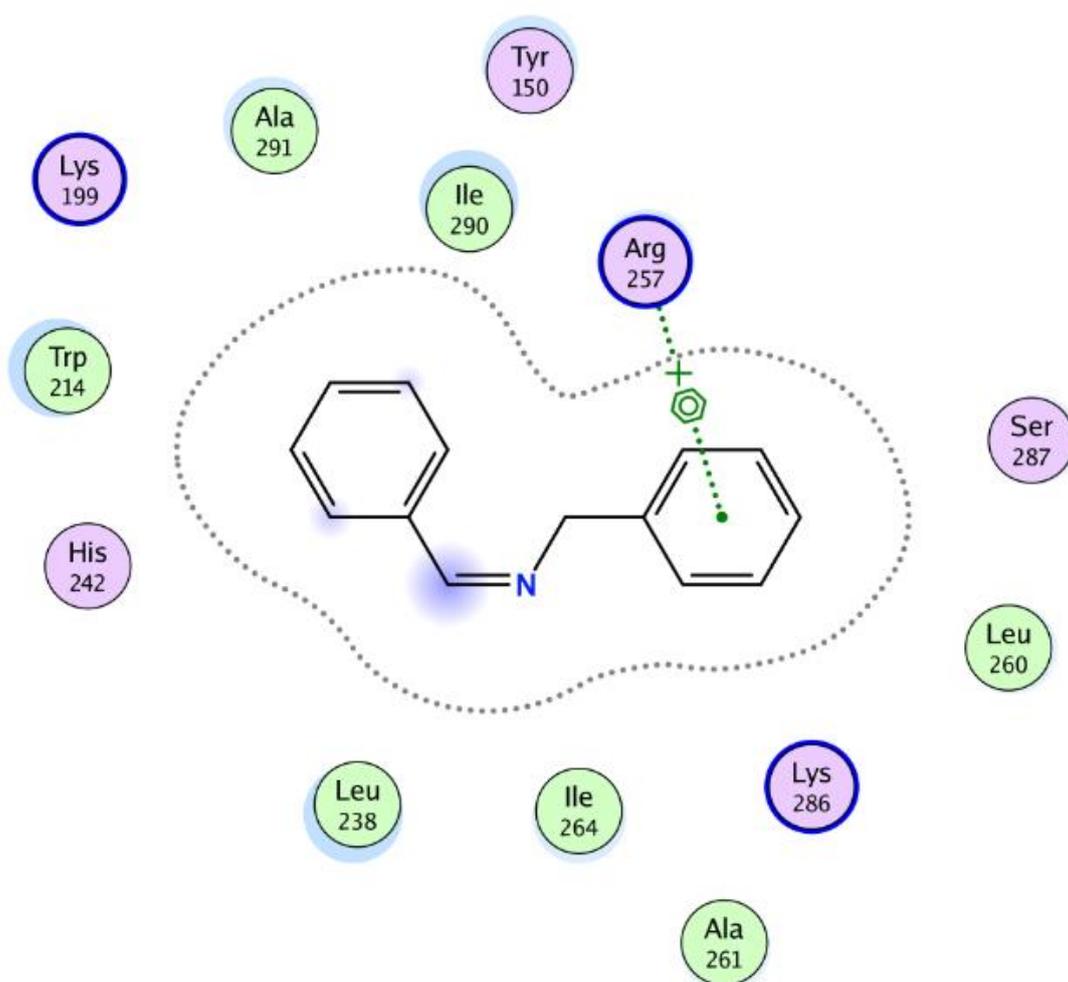


Figure 34 : les interactions entre le ligand (C) et les résidus de site actif

Tableau 19:Distance stérique entre les résidus de site actif et les atomes des ligand (D)

ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
6-ring	CB ILE 290 (B)	pi-H	4.20	-1.0

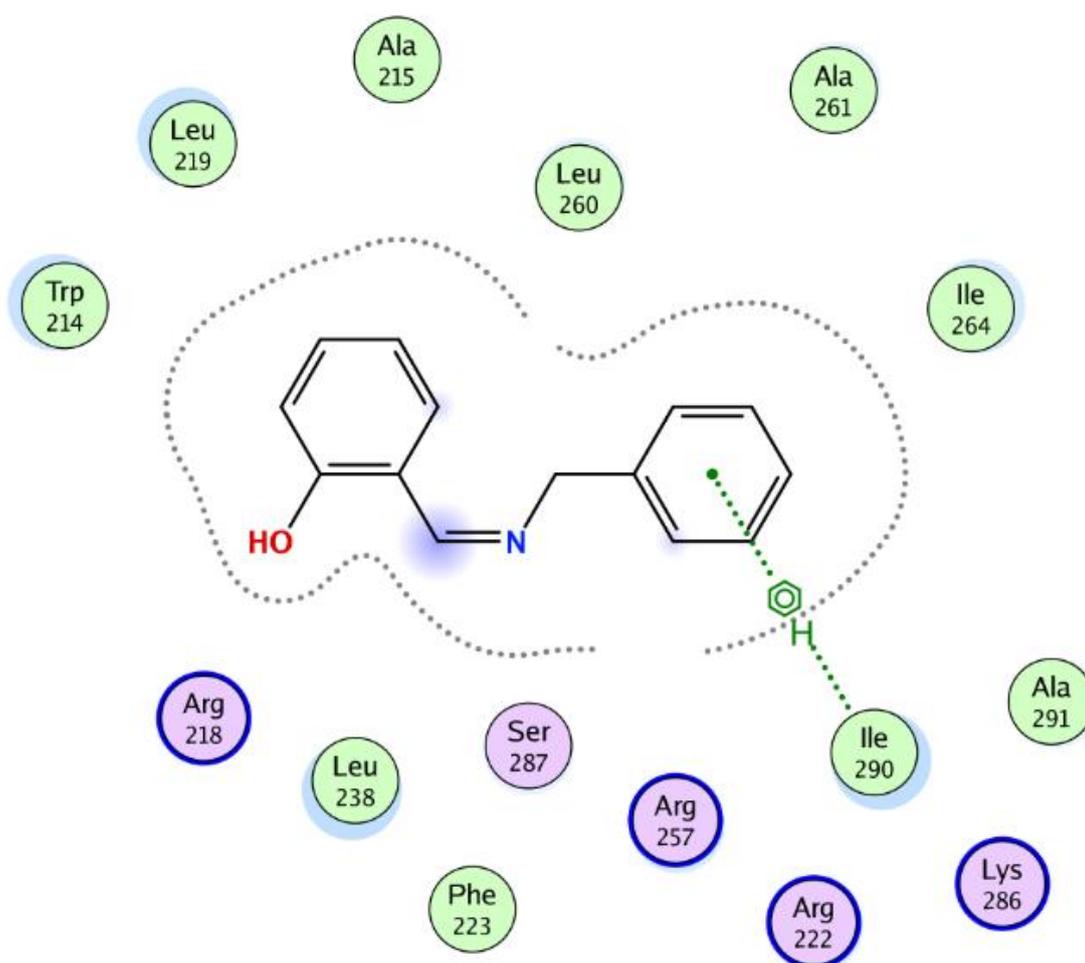


Figure 35 : les interactions entre le ligand (D) et les résidus de site actif

III.6 Conclusion :

Nous avons mesuré les distances entre les quatre ligands et les acides aminés qui constituent le site actif. Les distances mesurées varient entre **4.07 Å** et **4.34 Å** pour tous les complexes étudiés.

Dans les figures précédentes nous pouvons facilement constater que les deux composés (A) et (B) forment deux interactions avec les acides aminés de la cavité de notre protéine, alors que les ligands (c) et (D) ont une seule interaction avec les résidus de site actif

On note aussi pour les valeurs d'énergie de liaison pour chaque atome sont très basses ce qui permet l'obtention des complexes réversibles entre les ligands et les résidus de site actif.

Références :

- [1] STOHS, S. J. et SCRATCHLEY, G. A. Separation of thiazide diuretics and antihypertensive drugs by thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1975, vol. 114, no 2, p. 329-333.
- [2] ROUESSAC, Francis, ROUESSAC, Annick, et CRUCHÉ, Daniel. *Analyse chimique-6e éd.: Méthodes et techniques instrumentales modernes*. Dunod, 2004.
- [3] MESPLÈDE, Jacques et RANDON, Jérôme. *100 manipulations de chimie générale et analytique*. Editions Bréal, 2004.
- [4] Jensen, W.B. THE OESPER COLLECTIONS IN THE HISTORY OF Encyclopaedia Universalis , Chimie analytique (2004).
- [5] BENBOUDA, Mouna. *Synthèse et comportement spectroscopique et électrochimique d'un nouveau composé iminique. Détection et activité biologique de ses complexes métalliques comme agents antibactériens et antifongiques*. 2015. Thèse de doctorat..
- [6] PATEL, M. N., PATEL, C. B., et PATEL, R. P. Chelates of Cu (II) with some bidentate Schiff bases. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, 1974, vol. 36, no 12, p. 3868-3870.
- [7] Y.Boukraa, and T.Bdnabdellah. *Journal of coordination chemistry*, 65 (5), 832, (2011).
- [8] HANASAKI, Yukiko, OGAWA, Shunjiro, et FUKUI, Shozo. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 1994, vol. 16, no 6, p. 845-850.
- [9] ANTOLOVICH, Michael, PRENZLER, Paul D., PATSALIDES, Emilios, *et al.* Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 2002, vol. 127, no 1, p. 183-198..
- [10] MAJHENIC, Lucija. *Kerget MS and Knez Z (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry*, vol. 104, p. 1258-1268.
- [11] ABDELLAOUI, Asmae. *SYNTHESE ET ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE STRUCTURES BIPYRAZOLIQUES*. Thèse de doctorat.
- [12] HEAD, Martha S., GIVEN, James A., et GILSON, Michael K. "Mining minima": direct computation of conformational free energy. *The Journal of Physical Chemistry A*, 1997, vol. 101, no 8, p. 1609-1618.
- [13] CARLSON, Heather A. Protein flexibility is an important component of structure-based drug discovery. *Current Pharmaceutical Design*, 2002, vol. 8, no 17, p. 1571-1578.
- [14] <https://www.rcsb.org/structure/2BXB>

- [15] SINGH, Nagendra, JABEEN, Talat, SOMVANSI, Rishi K., *et al.* Phospholipase A2 as a target protein for nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): crystal structure of the complex formed between phospholipase A2 and oxyphenbutazone at 1.6 Å resolution. *Biochemistry*, 2004, vol. 43, no 46, p. 14577-14583.
- [16] MEALEY, K. L., MATTHEWS, N. S., PECK, K. E., *et al.* Comparative pharmacokinetics of phenylbutazone and its metabolite oxyphenbutazone in clinically normal horses and donkeys. *American journal of veterinary research*, 1997, vol. 58, no 1, p. 53-55.
- [17] KARPLUS, Martin et PETSKO, Gregory A. Molecular dynamics simulations in biology. *Nature*, 1990, vol. 347, no 6294, p. 631.
- [18] MULHOLLAND, Adrian J. et RICHARDS, W. Graham. Acetyl-CoA enolization in citrate synthase: A quantum mechanical/molecular mechanical (QM/MM) study. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 1997, vol. 27, no 1, p. 9-25.
- [19] CURTISS, Larry A., JONES, Christopher, TRUCKS, Gary W., *et al.* Gaussian-1 theory of molecular energies for second-row compounds. *The Journal of Chemical Physics*, 1990, vol. 93, no 4, p. 2537-2545..
- [20] STORER, Joey W., UCHIMARU, Tadafumi, TANABE, Kazutoshi, *et al.* Existence of a marginally stable intermediate during the base-catalyzed methanolysis of methylene phosphate and ab initio studies of the monohydration of the pentacoordinated oxyphosphorane intermediate. *Journal of the American Chemical Society*, 1991, vol. 113, no 14, p. 5216-5219.
- [21] THIRIOT, Eddy. *Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques: Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Métonine Sulfoxyde Réductases de classe A*. 2009. Thèse de doctorat. Nancy 1.
- [22] LAGANÀ, Antonio. Research and innovation actions. chemistry, molecular & materials sciences and technologies virtual research environment (CMMST-VRE). *VIRT&L-COMM*, 2015, vol. 6, p. 6-2014.1.
- [23] JONES, Gareth, WILLETT, Peter, et GLEN, Robert C. Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *Journal of molecular biology*, 1995, vol. 245, no 1, p. 43-53..
- [24] RAREY, Matthias, WEFING, Stephan, et LENGAUER, Thomas. Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins. *Journal of computer-aided molecular design*, 1996, vol. 10, no 1, p. 41-54.

- [25] KUNTZ, Irwin D., BLANEY, Jeffrey M., OATLEY, Stuart J., *et al.* A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 1982, vol. 161, no 2, p. 269-288.
- [26] JONES, Gareth, WILLETT, Peter, et GLEN, Robert C. Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *Journal of molecular biology*, 1995, vol. 245, no 1, p. 43-53
- [27] GOODSELL, David S. et OLSON, Arthur J. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 1990, vol. 8, no 3, p. 195-202..
- [28] VILAR, Santiago, COZZA, Giorgio, et MORO, Stefano. Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery. *Current topics in medicinal chemistry*, 2008, vol. 8, no 18, p. 1555-1572.
- [29] PETTERSEN, Eric F., GODDARD, Thomas D., HUANG, Conrad C., *et al.* UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, 2004, vol. 25, no 13, p. 1605-1612..
- [30] FRIESNER, Richard A., BANKS, Jay L., MURPHY, Robert B., *et al.* Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of medicinal chemistry*, 2004, vol. 47, no 7, p. 1739-1749..
- [31] Molegro Virtual Docker v. 5.1. Molegro ApS. Aarhus, Denmark, 2012.
- [32] DA CUNHA, Elaine FF, BARBOSA, Edilaine F., OLIVEIRA, Aline A., *et al.* Molecular modeling of Mycobacterium tuberculosis DNA gyrase and its molecular docking study with gatifloxacin inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2010, vol. 27, no 5, p. 619-625..
- [33] SEIFERT, Markus HJ. Assessing the discriminatory power of scoring functions for virtual screening. *Journal of chemical information and modeling*, 2006, vol. 46, no 3, p. 1456-1465.
- [34] IMBERTY, Anne, HARDMAN, Karl D., CARVER, Jeremy P., *et al.* Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. *Glycobiology*, 1991, vol. 1, no 6, p. 631-642
- [35] PETTERSEN, Eric F., GODDARD, Thomas D., HUANG, Conrad C., *et al.* UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, 2004, vol. 25, no 13, p. 1605-1612..
- [36] KUNTZ, Irwin D., BLANEY, Jeffrey M., OATLEY, Stuart J., *et al.* A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, 1982, vol. 161, no 2, p. 269-288

Conclusion générale :

Au cours du présent travail, nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux composés de dérivés bases de Schiff. Ces derniers sont obtenus essentiellement à partir d'une condensation d'amine aromatique avec un aldéhyde aromatique après 3 heures de chauffage sous agitation à reflux en présence de l'éthanol, Le succès des essais est jugé par les rendements obtenus au cours des réactions (71%, 67%, 85% et 65%)

Ces composés synthétisés sont identifiés et caractérisés au moyen des méthodes d'analyse physico-chimique comme la chromatographie sur couche mince (CCM), le point de fusion et l'infrarouge. Lors de la mise en œuvre de ces techniques d'analyse, nous avons pu mettre en évidence la formation des dérivés des bases de schiff, tout en appréciant leur pureté.

Une évaluation de l'activité antioxydante des composés (A), (B), (C) et (D) a été faite en utilisant la méthode analytique disponibles au sein de notre laboratoire ; la méthode DPPH•. Les résultats montrent un grand écart en ce qui concerne l'activité de ces derniers. La méthode de DPPH montre que la plus grande activité est obtenue avec la base de Schiff suivi respectivement, par celles de (B) et de (D). Les résultats de l'activité anti oxydante de nos ligands sont encourageants et montrent que ces composés peuvent avoir un avenir attrayant dans ce domaine.

Nous avons ainsi pu mettre en évidence un calcul de docking (amarrage) moléculaire pour tester les performances de cette méthode, cette dernière est basée sur les interactions existantes entre certain groupement de la chaîne latérale de protéine (appartiennent au site actif) et ceux de ligands. ce travail nous a permis de visualiser les interactions établies ainsi mesurer les distances entre les résidus de site actif et les dérivés de base de schiff.

Nos études ont révélé que les résidus Arg257 et Ile290 ont une importance fondamentale dans le site actif d'albumine. Arg257 et Ile290 sont impliqués dans la reconnaissance et l'interaction albumine-base de schiff

Les deux composés (A) et (B) formes deux interaction avec les acides aminés Arg257 et Ile290 de la cavité de notre protéine, alors que les ligands (c) et (D) ont une seule interaction avec les résidus de site actif.

On note aussi pour les valeurs d'énergie de liaison pour chaque atome sont très basse ce qui permet l'obtention des complexes moins stables par rapport le complexe de référence

En conclusion, tous nos nouvelles bases de schiff ont une capacité d'identification et de fixation sur l'albumine sérique pour former un complexe base de schiff-HSA.

Comme perspectives à ce travail, on peut proposer ce qui suit

- Orienter le travail vers la synthèse de complexes base de Schiff
- D'étudier d'autres propriétés biologiques de ces composés, à savoir les Propriétés anti-inflammatoires, antivirales et autres
- Testé l'activité biologique nos ligands avec d'autre enzyme

Il est à noter que la connaissance moléculaire des complexes protéine substrat est hautement difficile, et que notre contribution à la compréhension des processus reste certainement à compléter par l'utilisation des logiciels beaucoup plus performants que ceux que nous avons utilisés.

Annexe :



Annexe 1 : Montage de synthèse les bases de schiffe



Annexe 2 : L'appareil de la rota-vaporisation



Annexe 3 : Spectrophotomètre UV- Visible



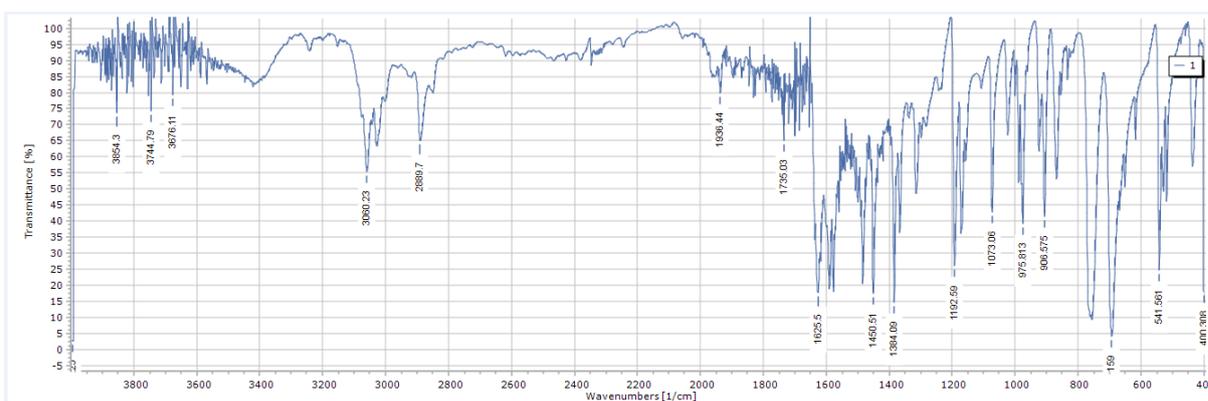
Annex4 : Annexe 04 : spectromètre IR



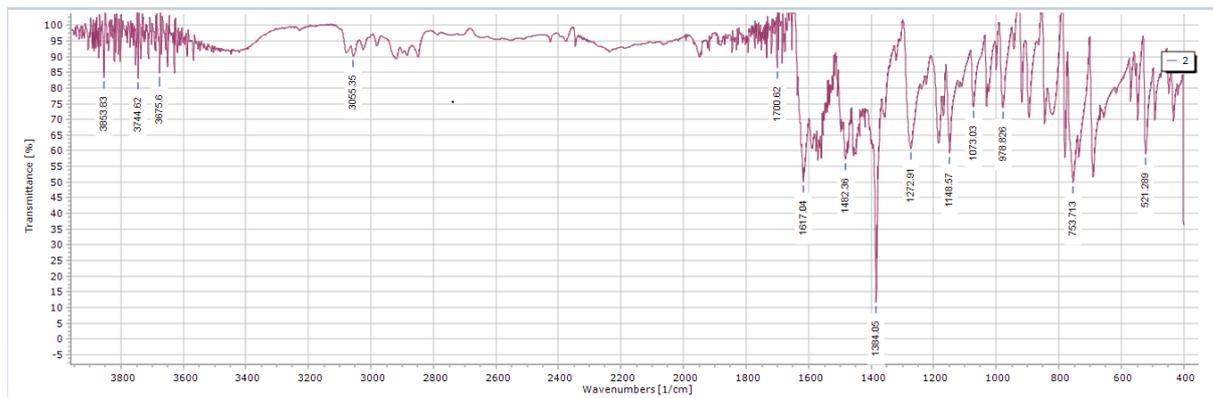
Annexe 5 : Test DPPH



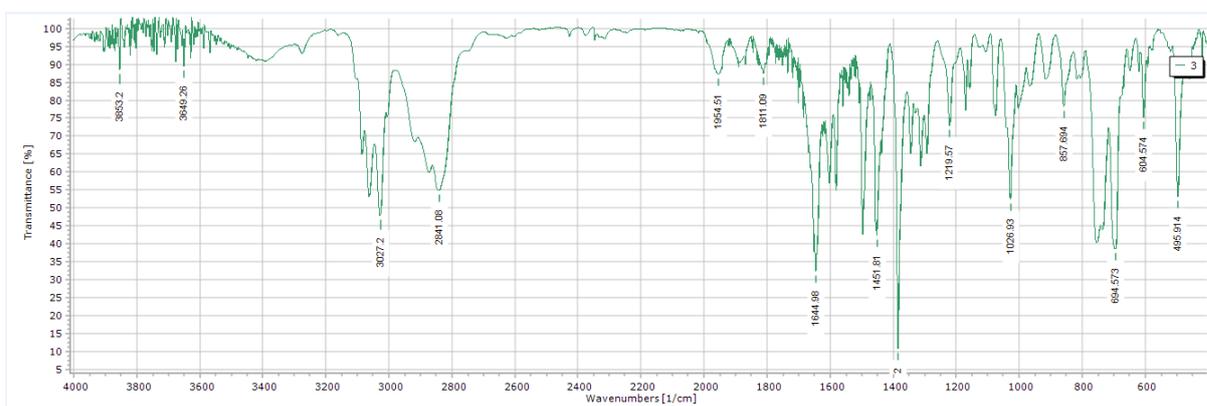
Annex 6 : appareil spectrophotométrique



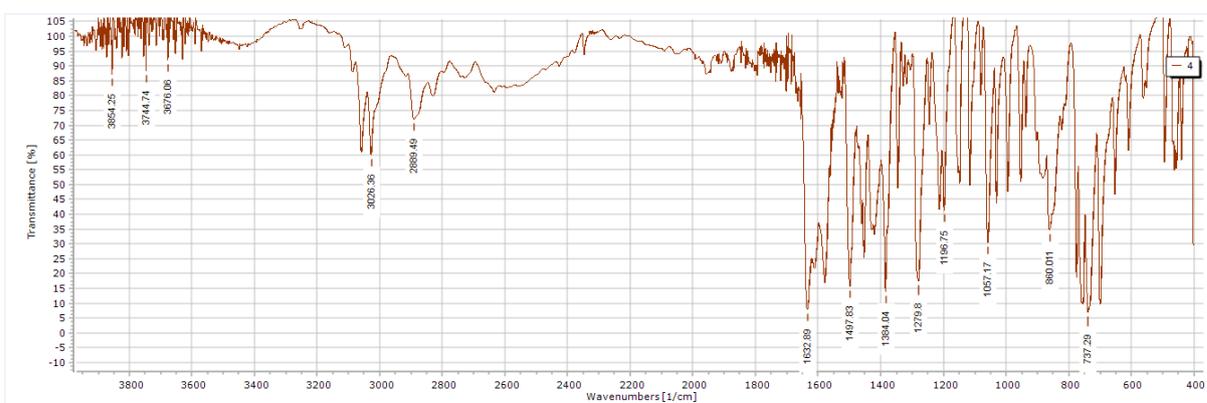
Annex 8 : spectre IR composé (A)



Annexe 9 spectre IR composé (B)



Annexe 19 : spectre IR de composé (C)



Annexe : spectre IR composé (D)

Résumé :

Dans cette étude, quatre composés ont été synthétisés dérivés bases de Schiff à partir de la condensation des dérivés d'amine aromatique (aniline, benzylamine) avec dérivés d'aldéhyde aromatique (Benzaldéhyde, Salicylique aldéhyde) dans un rapport molaire 1:1, On a pu obtenus des bons rendement , les produits obtenus analysés par l'appareil spectroscopie infrarouge.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH montre que la plus grande activité est obtenue avec la base de Schiff (D) suivi respectivement par celles de (B), (C) et de(A).

Ce travail nous a permis de visualiser les interactions établies ainsi mesurer les distances entre les résidus de site actif et les dérivés de base de schiff. Les deux composés (A) et (B) formes deux interaction avec les acides aminés de la cavité de notre protéine, alors que les ligands (c) et (D) ont une seule interaction avec les résidus de site actif.

Les valeurs d'énergie de liaison pour chaque atome sont très basse ce qui permet l'obtention des complexes moins stables par rapport le complexe de référence

Abstract :

In this study, four compounds were synthesized derived Schiff's bases from the condensation of aromatic amine derivatives (aniline, benzylamine) with aromatic aldehyde derivatives (Benzaldehyde, Salicylic aldehyde) in a molar ratio of 1: 1, was obtained good yields, the products obtained analyzed by infrared spectroscopy apparatus.

The study of the antioxidant activity by the DPPH method shows that the greatest activity is obtained with the Schiff base (D) followed respectively by those of (B), (C) and (A).

This work allowed us to visualize the established interactions and to measure the distances between the active site residues and the schiff base derivatives. The two compounds (A) and (B) form two interactions with the amino acids of the cavity of our protein, while the ligands (c) and (D) have a single interaction with the active site residues.

The binding energy values for each atom are very low, which makes it possible to obtain less stable complexes with than the reference complex.