



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار-عنابة

UNIVERSITÉ BADJI-MOKHTAR-ANNABABADJI-
MOKHTAR-ANNABA- UNIVERSITY

FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE CHIMIE
LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUÉE

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de **Doctorat**

Filière: Chimie

Spécialité: Chimie pharmaceutique

THEME

**Etude théorique, analyse bio-informatique et activité
biologique de nouvelles molécules synthétiques**

Présentée par : Mr. Ali DEKIR

Devant le jury

Mr. Fouad FERKOUS	Président	Pr. Université Badji-Mokhtar-Annaba
Mme Malika BERREDJEM	Directrice de thèse	Pr. Université Badji-Mokhtar-Annaba
Mr. Hacene KTIR	Examineur	MCA. Université Badji-Mokhtar-Annaba
Mr. Mohamed DEHAMCHIA	Examineur	Pr. Université Hama Lakhdar El-Oued
Mme. Radia BOUASLA	Examinatrice	MCA. ENSTI
Mme. Chahrazed BENZAID	Membre invité	MCA. Université Badji-Mokhtar-Annaba

Année universitaire : 2022/2023

Dédicace

A ma mère

A mon père

A ma femme

A ma petite fille

A mes sœurs et mes frères

A mes belles sœurs et beaux frères

A toute ma famille

A tous mes amis

Remerciements

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse ont été menés au sein du Laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA) du Groupe "Synthèse des Biomolécules et Modélisation Moléculaire" (SBMM), rattaché à l'Université Badji Mokhtar-Annaba en Algérie.

Chère *Professeuse Malika BERREDJEM*, Je tiens à vous exprimer mes plus sincères remerciements pour votre soutien et votre accompagnement tout au long de la rédaction de ma thèse. Votre expertise et votre expérience ont été d'une aide inestimable dans la réalisation de ce projet de recherche. Je suis reconnaissant(e) pour la patience dont vous avez fait preuve à chaque étape de la thèse, en m'aidant à surmonter les obstacles et à atteindre mes objectifs. Votre expertise et votre rigueur ont été un exemple pour moi, et j'ai appris énormément à vos côtés. Je n'oublierai jamais votre disponibilité et votre bienveillance, qui ont fait de ce travail une expérience enrichissante et constructive. Votre contribution a été déterminante pour la réussite de cette thèse, et je vous en suis infiniment reconnaissant. Merci encore pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous adresse mes plus sincères salutations.

Mes remerciements et ma profonde considération vont aussi aux membres de jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

Je exprime ma gratitude à monsieur *Foued FERKOUS* professeur à l'Université d'Annaba, pour le grand honneur d'avoir présidé le jury de cette thèse.

Je remercie *Dr. Chahra BENZAID* pour la réalisation des tests biologiques et l'interprétation des résultats obtenus et d'avoir acceptée de juger ce travail.

Mes sincères remerciements à madame *Radia BOUASLA*, Maitre de conférences à l'ENSTI, Pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir acceptée de participer à ce jury, d'examiner et de juger ce travail.

Je tiens également à remercier vivement monsieur *Mohamed DEHAMCHIA*, professeur à l'université Hama Lakhdar El-Oued, Pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir examiné mon travail de thèse.

Je remercie monsieur *Hacene KTIR*, Maitre de conférences A à l'université d'Annaba pour sa participation au jury de thèse et pour son acceptation de juger ce travail.

Je exprime ma reconnaissance à Monsieur *Sofiane BOUACIDA*, Professeur à l'Université d'Oum el Bouaghi, pour l'analyse DRX effectuée.

Je remercie *Dr. Mohamed AISSAOUI* de l'université d'Annaba pour son aide, sa présence, sa disponibilité ainsi que pour les conseils dont j'ai pu prendre ma route dans le domaine de simulation informatique.

Je remercie infiniment *Dr. Billel BELHANI, Dr. Ismahene GRIB et Dr. Seif Eddine DJAOUAD* pour leur grande générosité en termes de partage des informations.

Je remercie également tous les membres de notre laboratoire de chimie organique appliquée (LCOA).

Enfin, je suis profondément reconnaissant envers **mes parents** qui ont été une source inestimable de soutien tout au long de ma vie. Leurs encouragements constants ont été essentiels pour moi, et je leur exprime ma gratitude la plus sincère. Je souhaite également exprimer ma sincère gratitude envers tous ceux qui m'ont accompagné de près ou de loin dans la réalisation de ce travail. Leur soutien, leurs conseils et leur présence ont été précieux, et je leur suis reconnaissant pour leur contribution à la concrétisation de ce projet.

في مجال المستحضرات الصيدلانية، تحتل مشتقات *N*- أسيل سلفوناميدات مكانًا ملموسًا للغاية، كعوامل مضادة للسرطان ومضادة للالتهابات ومضادة للبكتيريا ومثبطات لفيروس التهاب الكبد الوبائي نوع "ج".

يهدف عملنا إلى إعداد سلسلتين من مشتقات الكربوكسيل سلفوناميد الجديدة التي تحتوي على عنصر *N*- أسيل سلفوناميد النشط بيولوجيًا والقوي.

في السلسلة الأولى، قمنا بإعداد كربوكسيل سلفوناميدات على خطوتين؛ الكاربامويلاسيون مع الكحوليات مثل ميثوكسيفينول وسيكلوهكسانول، متبوعًا بالسلفامويلاسيون مع المورفولين باستخدام ازدواجية الوضيفة لإيزوسيانيت كلورو سلفونيل، وهو المتفاعل الأساسي لإدخال مجموعة *N*- أسيل سلفوناميد.

في السلسلة الثانية، استخدمنا ثلاثي البيوتانول في تفاعل الكاربامويلاسيون والإسترات الأمينية في تفاعل السلفامويلاسيون لتكوين كربوكسيل سلفوناميد.

تم إجراء دراسة محاكاة نظرية (ديناميكيات الالتحام والجزئيات) على جميع المركبات المركبة بهدف محاكاة التفاعلات و النظر في مدى استقرار هذه المركبات في المستقبل البيولوجي المختار. وكذلك تم إجراء دراسات (DFT) و (ADME) لتحديد التفاعل الكيميائي والحركية الدوائية.

تم اختبار الأنشطة المضادة للبكتيريا والمضادة للالتهابات لجزئيات السلسلة الأولى في المختبر وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها تأثيرًا بارزًا.

تم استخدام مختلف الرنين المغناطيسي النووي (^1H , ^{13}C) وطرق التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء والدراسة البلورية بواسطة الأشعة السينية لتحديد الخصائص الهيكلية للجزئيات المركبة.

الكلمات الدالة: *N*- أسيل سلفوناميدات ، الكاربامويلاسيون ، الالتحام الجزيئي السلفامويلاسيون ، الديناميكيات الجزيئية ، DFT و ADME.

Dans le domaine pharmaceutique, les *N*-acylsulfonamides occupent une place très appréciable, en tant qu'agents anticancéreux, antiinflammatoires, antibactériens, et inhibiteurs de virus de l'Hépatite C.

L'objectif de notre travail consiste à la préparation de deux séries de nouveaux dérivés de carboxylsulfamide contenant le motif *N*-acylsulfonamides biologiquement actifs et puissants. Dans la première série, nous avons préparé les carboxylsulfonamides en deux étapes; carbamoylation avec des alcools tels que le méthoxyphénol et le cyclohexanol, ensuite la sulfamoylation avec la morpholine en utilisant la bifonctionnalisation de l'isocyanate de chlorosulfonyle ICS, qui est le réactif de base pour introduire le groupement *N*-acylsulfonamides.

Dans la deuxième série, nous avons utilisé le tertiobutanol dans la réaction de carbamoylation et les aminoesters dans la réaction de sulfamoylation pour former des carboxylsulfamides.

Une étude de simulation théorique (docking et dynamique moléculaire) a été réalisée sur tous les composés synthétisés dans le but de simuler les interactions et la stabilité de ces composés dans le récepteur biologique choisis. Ainsi que des études DFT et ADME ont été effectuées pour identifier la réactivité chimique et la pharmacocinétique.

Les activités antibactérienne et anti-inflammatoire des molécules de la première série ont été testées *in vitro* et es résultats obtenus ont montré un effet significatif.

Les différentes méthodes spectroscopiques RMN (^1H et ^{13}C), infrarouge et l'étude cristallographique par rayon X ont été mises à profit pour établir les caractéristiques structurales des molécules synthétisées.

Mots clés. *N*-acylsulfonamides, carbamoylation, sulfamoylation docking moléculaire, dynamique moléculaire, DFT et ADME.

In the pharmaceutical field, N-acylsulfonamides hold a significant position as anticancer, anti-inflammatory, antibacterial, and Hepatitis C virus inhibitors.

The objective of our work is the preparation of two series of novel carboxylsulfamide derivatives containing biologically active and potent N-acylsulfonamide motifs.

In the first series, the carboxylsulfonamides were prepared in two steps: carbamoylation with alcohols such as methoxyphenol and cyclohexanol, followed by sulfamoylation with morpholine using the bifunctionalization of chlorosulfonyl isocyanate (ICS) as the key reagent for introducing the N-acylsulfonamide group.

In the second series, we employed tert-butanol in the carbamoylation reaction and aminoesters in the sulfamoylation reaction to form carboxylsulfamides.

A theoretical simulation study (docking and molecular dynamics) was conducted on all the synthesized compounds to simulate their interactions and stability within the chosen biological receptor. Additionally, DFT and ADME studies were performed to identify the chemical reactivity and pharmacokinetics.

The antibacterial and anti-inflammatory activities of the molecules in the first series were tested in vitro, and the obtained results demonstrated a significant effect.

Various spectroscopic methods such as NMR (¹H and ¹³C), infrared spectroscopy, and X-ray crystallography were employed to establish the structural characteristics of the synthesized molecules.

Keywords: N-acylsulfonamides, carbamoylation, sulfamoylation, molecular docking, molecular dynamics, DFT, ADME.

Liste des abréviations.....	10
Liste des figures.....	12
Liste des schémas.....	14
Liste des tableaux.....	14
Introduction.....	16

Chapitre I

Aperçu bibliographique sur les N-acylsulfonamides

I.1. Intérêt pharmacologique des N-acylsulfonamides	21
I.1.1. N-acylsulfonamides comme inhibiteurs enzymatiques.....	21
N-acylsulfonamides inhibiteurs de protéase NS3.....	21
N-acylsulfonamides inhibiteurs d'enzymes bactériennes.....	22
N-acylsulfonamides antiprolifératifs	23
Inhibiteurs de l'asparagine synthétase	24
Inhibiteurs de l'anhydrase carbonique	25
I.1.2. N-acylsulfonamides ciblant les récepteurs	26
Agonistes et antagonistes des PPAR.....	26
Antagonistes des récepteurs EP ₃ -EP ₄ (antagonistes des récepteurs prostanoides).....	26
I.2. Relation structure-activité des N-acylsulfonamides.....	27
I.3. Méthodes d'accès aux N-acylsulfonamides	29
I.3.1. A partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle	29
I.3.2. A partir des arylamines	30
I.3.3. A partir des sulfonamides	31
Conclusion.....	32

Chapitre II

Aspects théoriques sur le docking et la simulation dynamique moléculaire

II.1. Simulations de docking moléculaire.....	34
II.1.1. Principe théorique de docking	34
II.1.2. Etapes typiques du Docking moléculaire.....	35
II.1.2.1. Détermination des structures	35
II.1.2.2. Préparation des structures	36
II.1.2.3. Docking moléculaire.....	36
II.1.2.4. Prédiction et évaluation	39

II.1.3. Logiciels utilisés	48
a) AUTODOCK	49
b) AutoDock VINA	50
c)GLIDE.....	51
d) GOLD	53
e) DOCK6	54
f) PLANTS	55
II.2. Simulation dynamique moléculaire	56
II.2.1 principe théorique	56
II.2.2. Paramètres de mise en œuvre	57
Conclusion.....	59

Chapitre III

Résultats et discussions

III.1. Synthèse des <i>N</i> -acylsulfonamides à partir d'isocyanate de chlorosulfonyle	62
III.1.1. Etude théorique.....	67
III.1.1.1. Etude de Docking moléculaire	67
III.1.1.2. Etude de simulation dynamique moléculaire	69
III.1.1.2. Etude DFT	74
III.1.1.3. Etude ADMET	77
III.1.2. Evaluation Biologique.....	79
III.1.2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	79
III.1.2.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	83
III.2 Synthèse des carboxylsulfamides dérivés d'aminoesters	84
III.2.1. Etude cristallographique de composé a	88
III.2.2. Etude théorique.....	91
III.2.2.1. Etude de Docking moléculaire	91
III.2.2.2. Etude de simulation dynamique moléculaire	96
III.2.2.3. Etude DFT	103
III.2.2.4. Etude ADMET	108

Chapitre IIII

Protocoles Expérimentaux

III.1 Conditions générales	112
III.2 Logiciels et programmes de calcul.....	113
III.2.1 Logiciel Chem Draw professional 16.0	113
III.2.2 Logiciel Guassian.....	113
III.2.3 Programmes de la suite Schrodinger.....	113
III.2.4 Programme de visualisation UCSF CHIMERA.....	114

III.3 Méthodes de synthèse	114
III.3.1 Synthèse des <i>N</i> -acylsulfonamides à partir d'isocyanate de chlorosulfonyle.....	114
III.3.2 Synthèse des carboxylsulfamides à partir d'aminoesters.....	116
<i>Conclusion générale</i>	120

Liste des abréviations

CCM	chromatographie sur couche mince	d	doublet
IR	(spectroscopie) infrarouge	dd	doublet de doublet
RMN	résonance magnétique nucléaire	T_f	température de fusion
q	quadruplet	M	(MS) masse molaire
J	constante de couplage	s	singulet
δ	déplacement chimique	t	triplet
σ	(IR) fréquences d'absorption	dt	doublet de triplet
UV	ultraviolet	m	multiplet

Unités et constantes physiques

atm	atmosphère	mol	mole
cm	centimètre	min	minute
°C	degré Celsius	MHz	mégahertz
éq	équivalent	ppm	partie par million
F	point de fusion	m	mètre
h	heure	mg	milligramme
Hz	hertz	Rdt	rendement
g	gramme	s	seconde
ns	nanoseconde	t	temps
ml	millitre	W	watt
Å	ångström	λ	longueurs d'onde
kcal	kilocalories	mm	millimètre

Solvants et produits chimiques

DCM	dichlorométhane	DMSO	diméthylsulfoxyde
ICS	Isocyanate de chlorosulfonyle	TEA	Triéthylamine

Autres abréviations

DHPS	Dihydroptorate Synthase	SP	Simple précision
PABA	Para-aminobenzoïque	RMSF	Fluctuation quadratique moyenne des résidus
COX	Cycloxygénase	UGM	Uridine diphosphate galactopyranose mutase
DHPP	pyrophosphate de dihydroptérine	MEP	Potentiel électrostatique moléculaire
DFT	Théorie de la densité fonctionnelle	GCPII	Glutamate carboxypeptidase II liée à la membrane
OM	Orbital moléculaire	NPT	Température de pression normale
HOMO	Orbitale moléculaire la plus haute occupée	TR	Rapport thérapeutique
Da	Dalton	AHAS	Acétohydroxyacide synthase
LUMO	Orbitale moléculaire la plus basse inoccupée	TPSA	Surface polaire topologique
DM	Dynamique moléculaire	VHC	Virus de l'hépatite C
RMSD	Ecart quadratique moyen	CI	Concentration inhibitrice
IUPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée	LLA	Leucémie lymphoblastique aiguë
PPAR	Récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes	LBD	Domaine de liaison au ligand
PGE	Prostaglandine E	RSA	Relation structure-activité
ASS	Acide sulfurique sur silice		

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
1	Propagation des cellules cancéreuses	16
2	Structures des dérivés <i>N</i> -acylsulfonamide bioactifs 1, 2 et 3.	17
3	Structure générale des sulfonamides protégés par <i>Boc</i> (carboxylsulfamides)	17
I.1	Structures chimiques des <i>N</i> -acylsulfonamides anti-VHC	23
I.2	Structures chimiques des <i>N</i> -acylsulfonamides ciblant les enzymes bactériennes.	24
I.3	Structures chimiques des <i>N</i> -acylsulfonamides antiprolifératives.	24
I.4	Structure chimique de <i>N</i> -acylsulfonamide inhibiteur de l'asparagine synthétase humaine.	25
I.5	Structures chimiques des <i>N</i> -acylsulfonamides bicycliques inhibiteurs de l'anhydrase carbonique humaine I et II.	26
I.6	Structures chimiques des <i>N</i> -acylsulfonamides ciblant les PPAR.	27
I.7	Structures chimiques de certains <i>N</i> -acylsulfonamides antagonistes des récepteurs prostanoïdes.	28
I.8	Structures chimiques de Carbutamide et Tolbutamide	28
I.9	Structures chimiques de Gliclazide et Glibenclamide.	29
II.1	Formation du complexe protéine-ligand	34
II.2	Etapes typiques d'un docking	35
II.3	Interaction entre deux molécules de charges différentes.	44
II.4	Exemples d'une liaison hydrogène.	45
II.5	Patch hydrophobe.	47
II.6	Interface d'Autodock 4.	48
II.7	Interface du logiciel Glide.	50
II.8	Interface du logiciel Dock6.	54
II.9	(a) Une molécule de soluté (sphère bleue) entourée par une cellule cubique de solvant répliquée en trois dimensions. (b) Vue schématique du système	58
III.1	Spectre RMN ¹ H du <i>N</i> -acylsulfonamide M1.	61
III.2	Spectre RMN ¹³ C du <i>N</i> -acylsulfonamide M1.	62
III.3	Spectre IR du <i>N</i> -acylsulfonamide M1.	62
III.4	Spectre RMN ¹ H du <i>N</i> -acylsulfonamide M2.	63
III.5	Spectre RMN ¹³ C du <i>N</i> -acylsulfonamide M2.	63
III.6	Spectre IR du <i>N</i> -acylsulfonamide M1	64
III.7	Re-docking du ligand co-cristallisé, les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.	66
III.8	Analyse du Docking moléculaire du composé M1 (rose) dans le site d'action de la DHPS (PDB id 3TZF), les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.	67
III.9	Analyse du Docking moléculaire du composé M2 (vert) dans le site d'action de la DHPS (PDB id 3TZF), les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.	67
III.10	Déviations quadratiques moyennes (RMSD) des atomes C-alpha des protéines et des ligands (A: Protein-M1, B: Protein-M2, C: Protein-Ligand/réf) avec le temps. L'axe Y à gauche montre la variation des RMSD de la protéine et l'axe Y à droite montre la variation des RMSD du ligand à travers le temps.	69
III.11	Fluctuation quadratique moyenne des résidus (RMSF) des complexes protéiques (A : Protéine-M1, B : Protéine-M2, C : Protéine-Ligand/réf)	70
III.12	Répartition des éléments de la structure secondaire des protéines par indice de résidu dans toutes les structures protéiques complexées avec le	71

	ligand (A : Protéine-M1, B : Protéine-M2, C : Protéine-Ligand/réf). Les colonnes rouges indiquent les hélices alpha et les colonnes bleues indiquent les bêta -brins.	
III.13	L'histogramme de contact protéine-ligand (A : protéine-M1, B : protéine-M2, C : protéine-ligand/ref).	72
III.14	Structures optimisées et orbitale moléculaire (HOMO, LUMO) des N-acylsulfonamides étudiés (M1, M2) obtenus par B3LYP/6-31G (d, p).	74
III.15	Carte de potentiel électrostatique moléculaire des N-acylsulfonamides étudiés de la densité totale.	75
III.16	Radar lié aux propriétés physico-chimiques des composés M1 et M2.	77
III.17	Structures chimiques des composés testés.	78
III.18	Spectre RMN ¹ H du carboxylsulfamide a.	83
III.19	Spectre RMN ¹³ C du carboxylsulfamide a.	84
III.20	ORTEP de carboxylsulfamide (composé a)	86
III.21	Diagramme d'emballage de carboxylsulfamide (composé a) tout le long de l'axe a montrant des couches parallèles au plan (011), qui sont reliées entre elles par des liaisons hydrogène C-H...O et N-H...O.	87
III.22	Re-docking du ligand co-cristallisé (PDB : 2c6c). Re-docking du ligand co-cristallisé, les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.	89
III.23	Superposition de dérivés de Boc-sulfonamide ancrés dans GCPII (PDB : 2c6c, 2 Å) montrant la similitude dans la coordination des ions Zn ; composé a (violet), composé b (rose), composé c (magenta), composé d (marron), composé e (turquoise) et composé f.	90
III.24	3D et 2D de dérivés de Boc-sulfonamide ancrés dans GCPII (PDB : 2c6c, 2 Å) ; (A) composé a (violet), (B) composé b (rose) et (C) composé c (magenta). Les liaisons hydrogène sont représentées en ligne cyan et les interactions ZBG sont représentées en ligne noire.	91
III.25	3D et 2D de dérivés de Boc-sulfonamide ancrés dans GCPII (PDB : 2c6c, 2 Å) montrant la similitude dans la coordination des ions Zn ; (D) composé d (marron), (E) composé e (turquoise) et (F) composé f (violet). Les liaisons hydrogène représentées en ligne cyan et les interactions ZBG représentées en ligne noire.	92
III.26	Déviations quadratiques moyennes (RMSD) des atomes C-alpha des protéines et de nos ligands (A : Protéine-a, B : Protéine-b, C : Protéine-c, D : Protéine-d, E : Protéine-e, F : protéine-f et R : ligand de référence protéique) au cours du temps. L'axe Y de gauche montre la variation de la protéine RMSD avec le temps. L'axe Y de droite montre la variation du ligand RMSD avec le temps.	97
III.27	Fluctuations quadratiques moyennes (RMSF) des complexes protéine-ligand (A : Protéine-a, B : Protéine-b, C : Protéine-c, D : Protéine-d, E : Protéine-e, F : Protéine-f et R : ligand de référence protéique) au cours du temps. L'axe Y de gauche montre la variation de la protéine RMSD avec le temps. L'axe Y de droite montre la variation du ligand RMSD avec le temps.	98
III.28	Histogramme décrivant les interactions protéine-ligand pour GCPII avec les ligands étudiés et l'inhibiteur co-cristallisé pendant le temps de simulation (50 ns).	99
III.29	Structures optimisées et orbitale moléculaire (HOMO, LUMO) des carboxylsulfamides étudiés (a-b) obtenues par B3LYP/6-31G (d,p).	101
III.30	Carte de potentiel électrostatique moléculaire des carboxylsulfamides étudiés de la densité totale.	104
III.31	Radar lié aux propriétés physicochimiques des composés (a-f)	107

Liste des schémas

Schémas	Titres	Pages
I.1	Synthèse des <i>N</i> -acylsulfonamides à partir de l'ICS	30
I.2	Synthèse des <i>N</i> -acylsulfonamides à partir de lactate d'éthyle	30
I.3	Synthèse des <i>N</i> -acylsulfonamides à partir d'arylamines.	31
I.4	Acylation des sulfonamides en présence de ASS.	32
I.5	Acylation des sulfonamides en présence de Al(HSO ₄) ou Zr(HSO ₄) ₄	32
II.1	Protocol général de docking moléculaire.	37
III.1	Synthèse des <i>N</i> -acylsulfonamides.	60
III.2	Synthèse des carboxylsulfamides.	82

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
II.1	Avantages et inconvénients des différentes fonctions de score.	43
III.1	Caractéristiques des dérivés des <i>N</i> -acylsulfonamides synthétisés.	64
III.2	Classement des deux dérivés de <i>N</i> -acylsulfonamide après l'étude docking.	66
III.3	Energie (HOMO, LUMO), gap énergie et paramètres de réactivité des <i>N</i> -acylsulfonamides étudiés (M1 et M2).	73
III.4	Paramètres pharmacocinétiques des <i>N</i> -acylsulfonamides synthétisés.	76
III.5	Calculs d'Osiris des composés M1, M2 et le sulfaméthoxazole	76
III.6	Activité antimicrobienne (zones d'inhibition en mm) par rapport à un médicament antimicrobien.	79
III.7	Effet des molécules synthétisées sur la dénaturation de l'albumine.	81
III.8	Caractéristiques des dérivés des carboxylsulfamides synthétisés.	84
III.9	Données cristallographiques et paramètres de raffinement pour le composé a	86
III.10	Distances en (Å) et les angles (°) des liaisons hydrogène du composé a.	87
III.11	Classement des dérivés de Boc-sulfonamide après l'étude d'amarrage.	93
III.12	Analyse des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes des dérivés ancrés à l'intérieur du site actif de GCPII.	93
III.13	Energie (HOMO, LUMO), gap énergie et paramètres de réactivité des carboxylsulfamides étudiés (a-f).	100
III.14	Paramètres de réactivité locale des composés étudiés.	103
III.15	Régions de plus positives (PP) et plus négatives (PN) potentielles des carboxylsulfamides étudiés.	104
III.16	Les normes des exigences en matière de médicaments oraux	105
III.17	Les propriétés physicochimiques, lipophilicité et ressemblance médicamenteuse prédites des composés (a-f) par SwissADME.	106

Introduction générale

Depuis la découverte et l'application des antibiotiques, le taux de mortalité à travers le monde a été considérablement réduit. Cependant, les maladies infectieuses ont encore causé environ 20 % des décès en 2010¹ et demeurent un défi médical pour les chercheurs et les organismes de santé. D'autre part, Le cancer présente un problème majeur de santé publique dans le monde et la deuxième cause de décès aux États-Unis. Il y a eu 18,1 millions de nouveaux cas de cancer dans le monde en 2020. On prévoit qu'il y aura 28 millions de nouveaux cas de cancer dans le monde chaque année d'ici 2040, si l'incidence reste stable et que la croissance et le vieillissement de la population se poursuivent conformément aux tendances récentes². Il s'agit d'une augmentation de 54,9 % par rapport à 2020. Le cancer est une maladie caractérisée par la croissance et la propagation incontrôlées des cellules anormales dans le corps. Le cancer peut se développer dans n'importe quelle partie du corps et se propager à d'autres parties du corps par la circulation sanguine ou le système lymphatique (Figure 1). Le traitement du cancer dépend du type et du stade de la maladie, mais peut inclure la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'immunothérapie et la thérapie ciblée.

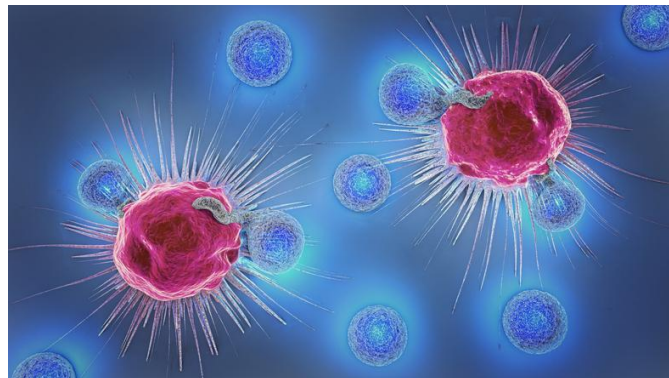


Figure 1. Propagation des cellules cancéreuses

Ces dernières années, les progrès de la recherche sur les maladies infectieuses et le cancer ont conduit au développement de nouveaux antibiotiques et anticancéreux de différentes familles plus efficaces, parmi lesquelles on trouve les sulfonamides.

Les sulfonamides et en particulier les *N*-acylsulfonamides sont à la pointe de la recherche scientifique dans divers domaines tels que la chimie, la biologie et la médecine. L'intérêt croissant pour les dérivés de *N*-acylsulfonamide est mis en évidence par le grand nombre de médicaments et de composés lead décrits ces dernières années. Le *N*-acylsulfonamide ($R-SO_2-$

¹ R. Lozano, M. Naghavi, K. Foreman, S. Lim, K. Shibuya, V. Aboyans, *The Lancet*, **2012**, *380*, 2095–2128.

² International Agency for Research on Cancer, GLOBOCAN 2020 accessed via Global Cancer Observatory. Accessed February 2023.

NH-CO) est une fraction structurale commune d'une large gamme de composés possédant activité pharmacologique, certains d'entre eux ont été utilisés comme inhibiteurs enzymatiques puissants³ (**1**), antitumoraux⁴ (**2**) et antibactériens⁵ (**3**) (Figure 2).

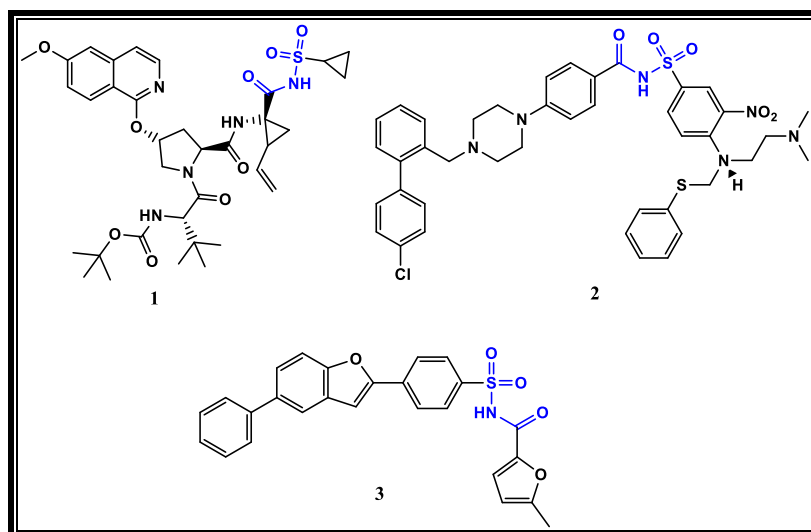


Figure 2. Structures des dérivés *N*-acylsulfonamide bioactifs **1**, **2** et **3**.

Les carboxylsulfamides sont des sulfonamides protégés par le groupement protecteur *Boc*, ils contiennent le fragment *N*-acylsulfonamide (Figure 3).

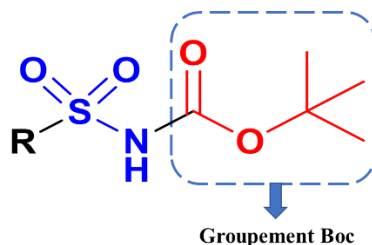


Figure 3. Structure générale des sulfonamides protégés par le *Boc* (carboxylsulfamides)

D'un autre côté, La chimie computationnelle est un domaine de la chimie qui utilise les simulations informatiques et la modélisation pour étudier les systèmes chimiques. Cela implique l'utilisation des méthodes théoriques et d'algorithmes pour calculer et prédire les propriétés et le comportement des molécules, tels que leurs structures, leurs propriétés et leurs réactions. Cette chimie computationnelle peut être utilisée pour étudier une large gamme de phénomènes chimiques, y compris les interactions moléculaires, les mécanismes de réaction et les propriétés thermodynamiques et cinétiques. Il est également utilisé pour concevoir et

³ P.M. Scola, A.X. Wang, A.C. Good, L.Q. Sun, K.D. Combrink *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1708-1729.

⁴ T. Oltersdorf, S.W. Elmore, A.R. Shoemaker, R.C. Armstrong, *Nature.* **2005**, 435, 677-681.

⁵ D.E. Ehmann, J.E. Demeritt, K.G. Hull, S.L. Fisher, *Biochim. Biophys. Acta.* **2004**, 1698, 167-174.

optimiser de nouveaux médicaments, catalyseurs et matériaux, ainsi que pour étudier les propriétés de systèmes biologiques.

Le docking moléculaire est une application spécifique de la chimie computationnelle qui se concentre sur la prédiction du mode de liaison et de la force d'une petite molécule (comme un médicament candidat) avec une protéine cible ou un biomolécule. Il utilise des méthodes informatiques pour rechercher les poses des liaisons les plus favorables et pour estimer l'énergie des liaisons du complexe ligand-récepteur. Ainsi, Les simulations de dynamiques moléculaires utilisent des méthodes informatiques pour étudier la dynamique et le comportement des molécules dans le temps.

Dans ce contexte, et dans le but de découvrir de nouvelles structures contenant le motif *N*-acylsulfonamide. Nous avons synthétisé deux dérivés de *N*-acylsulfonamide et une série de carboxylsulfamides. Nous avons également effectué les simulations informatiques sur les composés synthétisés tels que le docking moléculaire, les simulations de la dynamique moléculaire, l'ADME et la DFT. Le travail présenté dans cette thèse comporte quatre chapitres.

Au cours du **premier chapitre**, nous avons présenté un bref aperçu bibliographique sur l'intérêt biologique et chimique des *N*-acylsulfonamides, ainsi que les différentes méthodes d'accès à ces composés.

Dans le **deuxième chapitre**, Une mise au point bibliographique sur les simulations de docking moléculaire et dynamique moléculaire a été abordé.

Les résultats de nos travaux concernant la synthèse, l'étude structurale, l'étude théorique, et l'évaluation biologique des *N*-acylsulfonamides, seront interprétés et discutés dans le **troisième chapitre**.

Les protocoles expérimentaux et la caractérisation structurale de toutes les molécules obtenues seront rassemblés dans le **dernier chapitre**.

Chapitre I

Aperçu bibliographique sur les N-acylsulfonamides

Le groupe fonctionnel *N*-acylsulfonamide (**R-SO₂-NH-CO**) est un motif structurel très répandu dans le domaine de la chimie organique, on le trouve dans de nombreux médicaments synthétiques. Au cours des dernières années, un nombre croissant de brevets ont révélé des structures de *N*-acylsulfonamide comme agents thérapeutiques potentiels et présentent un large spectre d'activité biologique⁶. Ils sont fréquemment employés en tant qu'agents antibactériens⁷, inhibiteurs d'anhydrase carbonique⁸, agents diurétiques⁹, agents hypoglycémiques¹⁰, anti-tumoraux¹¹, anti-cancéreux¹² et comme inhibiteurs de protéase¹³.

I.1. Intérêt pharmacologique des *N*-acylsulfonamides

De nombreux sulfamides et dérivés *N*-acylés ont été conçus comme des isostères d'acides carboxyliques, les caractéristiques de ces groupes fonctionnels étant très proches. De plus, les *N*-acylsulfonamides montrent également une bonne stabilité chimique à l'hydrolyse enzymatique, étant de bons candidats pour développer des inhibiteurs enzymatiques.

Au cours des dernières années, plusieurs médicaments prometteurs à base de *N*-acylsulfonamide ont été synthétisés et classés en fonction de cibles pharmacologiques, d'enzymes ou de récepteurs.

I.1.1. *N*-acylsulfonamides comme inhibiteurs enzymatiques

N-acylsulfonamides inhibiteurs de protéase NS3

Le virus de l'hépatite C (VHC) est une maladie débilitante, ou les patients souffrant de cirrhose avancée et de carcinome hépatocellulaire. La découverte de nouveaux composés capables d'inhiber la protéase NS3 a apporté une amélioration significative pour le traitement de l'infection par le VHC.

Une vaste campagne de criblage de Bristol-Myers Squibb a permis d'identifier un acylsulfonamide tripeptidique (BMS-605339, **1**), qui est apparu comme un nouveau composé

⁶ (a) C. Hansch, P. G. Sammes, J. B. Taylor, In *Comprehensive Medicinal Chemistry*, Pergamon Press: Oxford, 1990, Vol. 2. (b) E. E. Cannor, *Sulfonamide Antibiotics Prim. Care Update Ob. Gyn.* **1998**, 5, 32. (c) P. R. Hanson, D. A. Probst, R. E. Robinson, M. Yau, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 4761.

⁷ A.R. Massah, H. Adibi, R. Khodarahmi, R. Abiri, M. B. Majnooni, S. Shahidi, B. Asadi, M. Mehrabi, M. A. Zolfigol, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 5465.

⁸ J.Y. Winum, A. Innocenti, J. Nasr, J. L. Montéro, A. Scozzafava, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 2353

⁹ T. H. Maren, *Physiol. Rev.* **1967**, 47, 595.

¹⁰ J. Drew, *Science.* **2000**, 287, 1960.

¹¹ C.T. Supuran, A. Scozzafava, A. Casini, *Med. Res. Rev.* **2003**, 23, 146.

¹² T. Tite, L. Tomas, T. Docsa, P. Gergely, J. Kovensky, D. Gueyrand, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 959.

¹³ H. Tu, J. Powers, J. Liu, S. Ursu, A. Sudom, X. Yan, H. Xu, D. Meininger, M. DeGraffenreid, X. He, J. C. Jaen, D. Sun, M. Labelle, H. Yamamoto, B. Shan, N. P. C. Walker, Z. Wang, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 8922.

lead pour le développement des agents antiviraux¹⁴. A partir d'un acide carboxylique, la modification bioisostérique en acylsulfonamide a produit plusieurs dérivés, Le BMS-605339 incorpore une fraction cyclopropyl-acylsulfonamide en tant que motif structurel clé et il est associé à une puissance antivirale accrue et à une pharmacocinétique améliorée. Beaucoup d'autres drogues contenant le motif *N*-acylsulfonamide ont été classées parmi les composés antiviraux tels que ; l'asunaprévir¹⁵ (2), le paritaprévir¹⁶ (3) et le danoprévir¹⁷ (4) (Figure I.1).

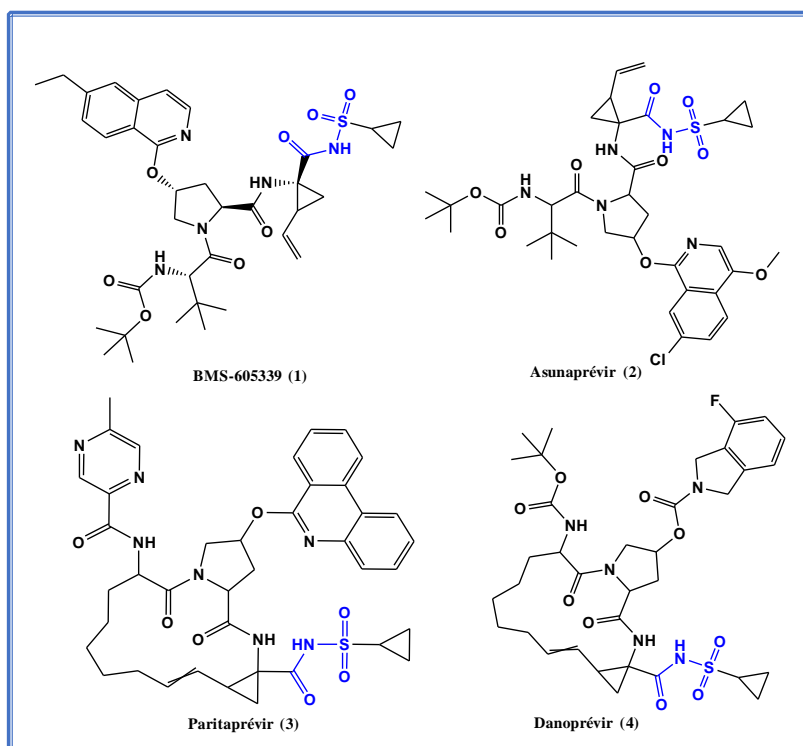


Figure I.1. Structures chimiques des *N*-acylsulfonamides anti-VHC

N-acylsulfonamides inhibiteurs d'enzymes bactériennes

Le besoin urgent de nouveaux antibactériens est un problème croissant en raison de la résistance croissante des bactéries. Les souches bactériennes résistantes ont limité l'efficacité d'un grand groupe de médicaments antibactériens, notamment les β -lactamines, les macrolides, la vancomycine et les fluoroquinolones. L'inhibition des enzymes ciblées dans les voies métaboliques des bactéries est une stratégie émergente pour identifier de nouveaux agents antibactériens. Parmi les composés décrits dans la littérature, certains dérivés de *N*-acylsulfonamide ont été découverts comme antibactériens prometteurs. Ehman et *al.* ont

¹⁴ P.M. Scola, A.X. Wang, A.C. Good, L. -Q. Sun, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1708 .

¹⁵ L. -Q. Sun, E. Mull, B. Zheng, S. D'Andrea, Q. Zhao, *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 8042.

¹⁶ T. Pilot -Matias, R. Tripathi, D. Cohen, I. Gaultier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, 59, 988.

¹⁷ Y. Jiang, S.W. Andrews, K.R. Condroski, B. Buckman, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1753.

identifié une série d'acylsulfonamides dérivés de benzofurane comme inhibiteurs de l'UDP-N-acétylmuramyl-L-alanine ligase (MurC) d'*Escherichia coli*, c'est une enzyme bactérienne essentielle impliquée dans la biosynthèse des peptidoglycanes¹⁸. La littérature récente décrit de nouveaux *N*-acylsulfonamides antibactériens tels que: l'inhibiteurs de l'enzyme uridine diphosphate galactopyranose mutase¹⁹ (UGM) (5), et les *N*-acylsulfonamides de triazolopyrimidine 6 inhibiteurs de l'enzyme acétohydroxyacide synthase²⁰ (AHAS) (Figure I.2).

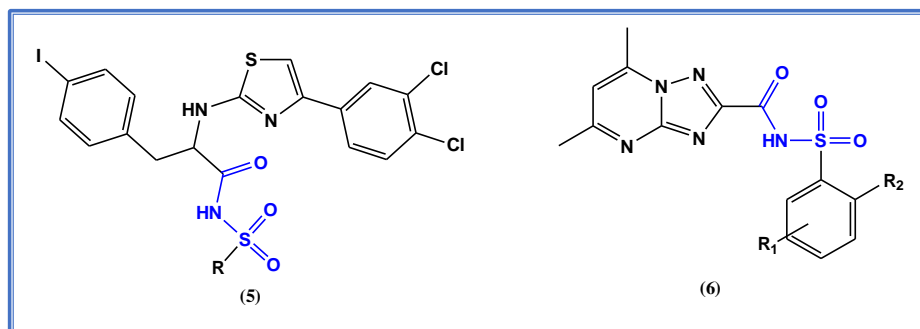


Figure I.2. Structures chimiques des *N*-acylsulfonamides ciblant les enzymes bactériennes.

N-acylsulfonamides antiprolifératifs

Différents *N*-acylsulfonamides décrits dans la littérature ont été cliniquement étudiés comme candidats médicaments pour leur activité antiproliférative sur les tumeurs. Parmi les composés les plus étudiés, LY573636- sodium (tasisulam, 7), ABT-737 (8), ABT-263 (Navitoclax) (9) et **ABT-199** (Venetoclax) (10) (Figure I.3).

¹⁸ D.E. Ehmann, J.E. Demeritt, K.G. Hull, S.L. Fisher, *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1698, 167.

¹⁹ V.J. Winton, C. Aldrich, L.L. Kiessling, *ACS Infect. Dis.* **2016**, 2, 538.

²⁰ V. Patil, M. Kale, A. Raichurkar, B. Bhaskar, D. Prahlad, M. Balganes, S. Nandan, P.S. Hameed, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 2222.

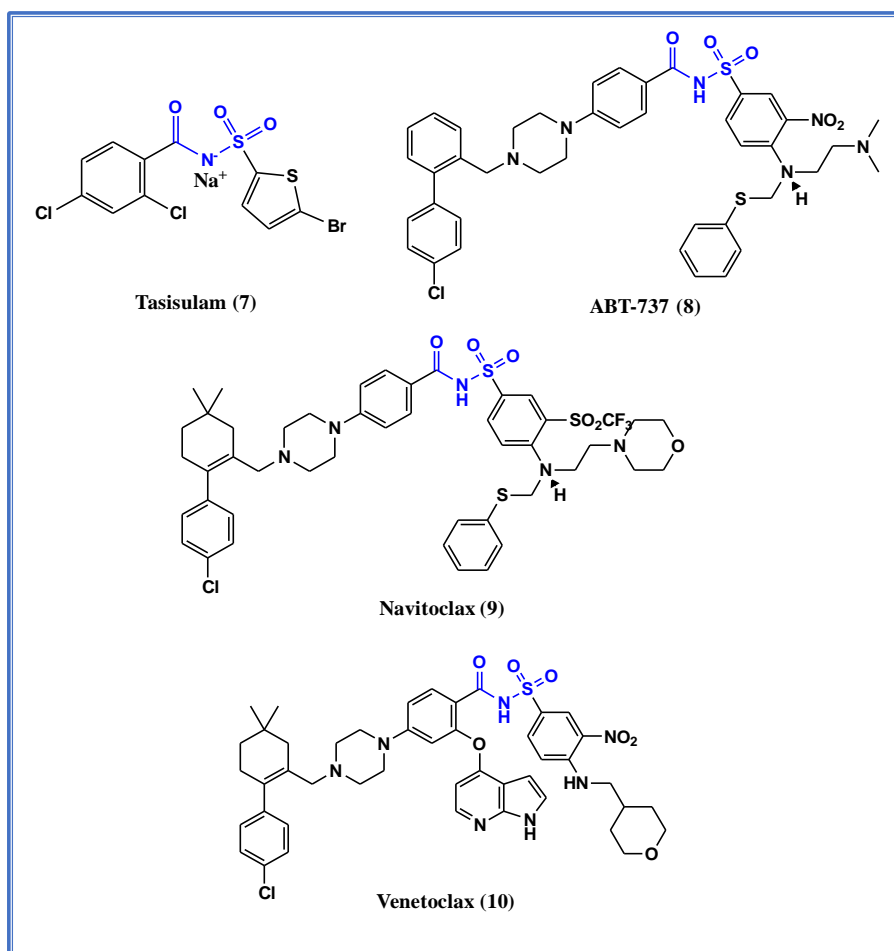


Figure I.3. Structures chimiques des N-acylsulfonamides antiprolifératives.

Le tasisulam agit par un double mécanisme d'action impliquant la mort médiée par la caspase et l'inhibition de l'angiogenèse : chez l'homme, il a montré une activité contre plusieurs sous-types de tumeurs, et des études cliniques sont en cours ou ont été terminées sur le cancer du sein métastatique, le cancer du poumon, le sarcome tissulaire, le cancer de l'ovaire, et la leucémie myéloblastique aiguë²¹. Les composés de la collection ABT exercent leur activité antitumorale en ciblant lymphome à cellules B (Bcl-2), cette famille de protéines a été impliquée dans la mort cellulaire programmée : ils sont surexprimés dans de nombreux types de cancer, contribuant à l'initiation de la tumeur, à la progression et à la résistance aux thérapies.

Inhibiteurs de l'asparagine synthétase

L'asparagine synthétase humaine est une enzyme impliquée dans la biosynthèse de l'asparagine, elle a montré une surexpression dans certaines conditions pathologiques telles que la leucémie lymphoblastique aiguë (ALL). A partir de ces preuves, l'inhibition de l'asparagine synthétase a

²¹ T. Meier, M. Uhlik, S. Chintharlapalli, M. Dowless, R. Van Horn, *Mol. Cancer Ther.* **2011**, 10(11), 2168.

I.1.2. *N*-acylsulfonamides ciblant les récepteurs

Agonistes et antagonistes des PPAR

Les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR) appartiennent à la grande famille des récepteurs nucléaires. Trois isoformes de récepteurs (PPAR α , PPAR γ et PPAR δ) contrôlent les fonctions métaboliques et ils présentent une cible thérapeutique intéressante des médicaments hypolipémiants et sensibilisants à l'insuline. En 2015, Ohashi *et al.* ont décrit l'identification du composé (14), un analogue *N*-acylbenzènesulfonamide du TIPP-703 (15) (Figure I.6), un agoniste complet de PPAR γ , qui a montré un agonisme partiel sur ce récepteur. L'analyse de la structure aux rayons X a révélé un mode d'action différent du composé (14) dans le LBD, ce qui explique l'agonisme partiel²⁵.

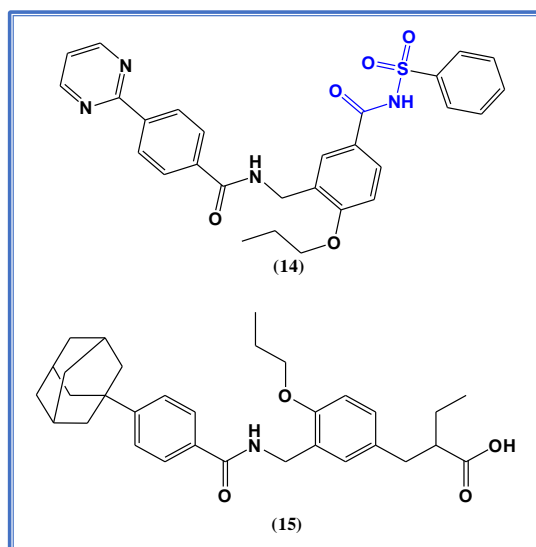


Figure I.6. Structures chimiques des *N*-acylsulfonamides ciblant les PPAR.

Antagonistes des récepteurs EP₃-EP₄ (antagonistes des récepteurs prostanoides)

L'activité biologique de la prostaglandine E₂ (PGE₂) est médiée par différents sous-types de récepteurs, à savoir les récepteurs EP₁₋₄. Ils appartiennent à la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G ; les sous-types EP₁ et EP₃ sont principalement impliqués dans les actions excitatrices, tandis que EP₂ et EP₄ interviennent dans l'activité inhibitrice.

Dans les études SAR réalisées sur les acides carboxyliques ciblant les récepteurs EP, le remplacement bioisostérique par des *N*-acylsulfonamides a conduit à la découverte de nouveaux antagonistes EP²⁶.

²⁵ M. Ohashi, T. Oyama, H. Miyachi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25, 2639.

²⁶ R.L. Jones, M.A. Giembycz, D.F. Woodward, *Br. J. Pharmacol.* **2009**, 158, 104.

Plusieurs *N*-acylsulfonamides ont été développés avec succès en tant qu'antagonistes de l'EP3, en tant que composés de Merck (L-798106, **16**) et de CODE Genetics (DG-041, **17**), montrant respectivement les fragments benzènesulfonamide et thiénylsulfonamide^{27, 28} (Figure I.7).

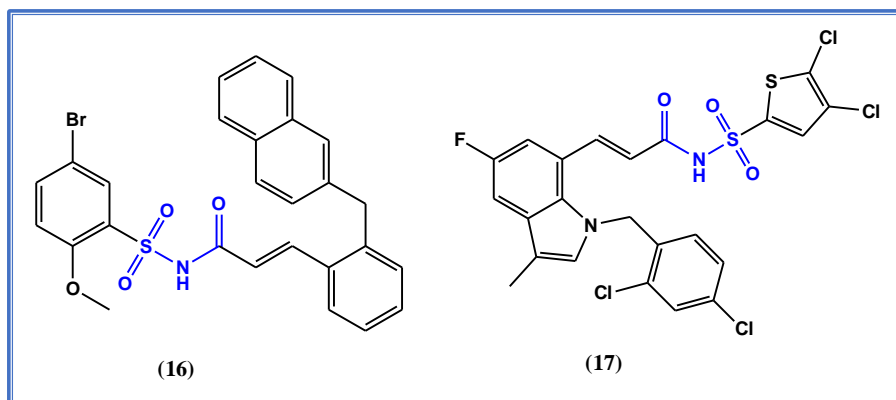


Figure I.7. Structures chimiques de certains *N*-acylsulfonamides antagonistes des récepteurs prostanoides.

I.2. Relation structure-activité des *N*-acylsulfonamides

Des observations cliniques montrent que les modifications structurales des *N*-acylsulfonamides donnent des activités multiples ou des améliorations sur le plan activité biologique.

Le carbutamide (**18**) est un agent antibiotique avec un effet secondaire antidiabétique, le remplacement du groupe amino ($-NH_2$) par un groupe méthyle ($-CH_3$) a donné lieu à la formation de son analogue le tolbutamide (**20**), un médicament antidiabétique sans activité antibiotique (Figure I.8).

²⁷ M. Gallant, M.C. Carrière, A. Chateauneuf, D. Denis, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2583.

²⁸ J. Singh, W. Zeller, N. Zhou, G. Hategen, R. Mishra, A. Polozov, *ACS Chem Biol* **2009**, *4*, 115.

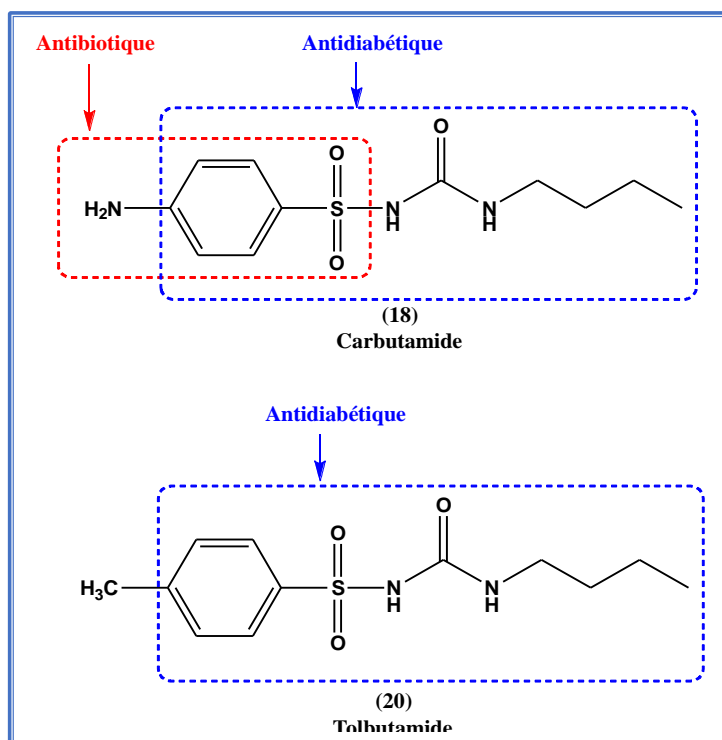


Figure I.8. Structures chimiques de Carbutamide et Tolbutamide

Les N-acylsulfonamides hypoglycémisants de première génération, parmi lesquels le (Gliclazide DIAMICRON) (21) est le seul représentant restant, sont des médicaments utilisés pour traiter l'hyperglycémie ou le diabète, Les produits de deuxième génération des N-acylsulfonamides hypoglycémisants, tels que le Glibenclamide (22), sont 100 à 500 fois plus actifs que ceux de la première génération. Ces médicaments possèdent un substituant R plus encombrant, ce qui contribue à leur plus grande activité pharmacologique (Figure I.9).

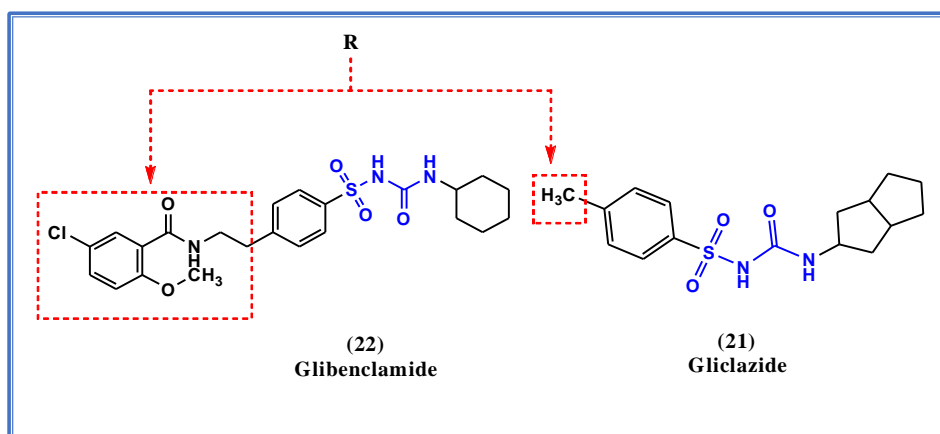


Figure I.9. Structures chimiques de Gliclazide et Glibenclamide.

I.3. Méthodes d'accès aux *N*-acylsulfonamides

Il existe plusieurs méthodes de synthèse des *N*-acylsulfonamides qui ont été décrites dans la littérature parmi lesquelles on peut citer les exemples suivants:

I.3.1. A partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle

La synthèse des *N*-acylsulfonamides (**23**) a été réalisée en suivant une procédure standard. Elle consiste en la condensation de l'isocyanate de chlorosulfonyle avec du tertio-butanol et l'amine primaire ou secondaire correspondante dans du dichlorométhane à une température de 0°C, en présence de triéthylamine. La réaction est ensuite suivie d'une déprotection²⁹ du groupement Boc dans l'eau à une température de 100°C. La réalisation de la réaction d'acylation des sulfonamides avec le lactate d'éthyle en présence d'un catalyseur SnCl₄ a été accomplie par Bouchareb et al³⁰. Les nouveaux analogues des *N*-acylsulfonamides ont été obtenus avec de bons rendements (Schéma I.1)

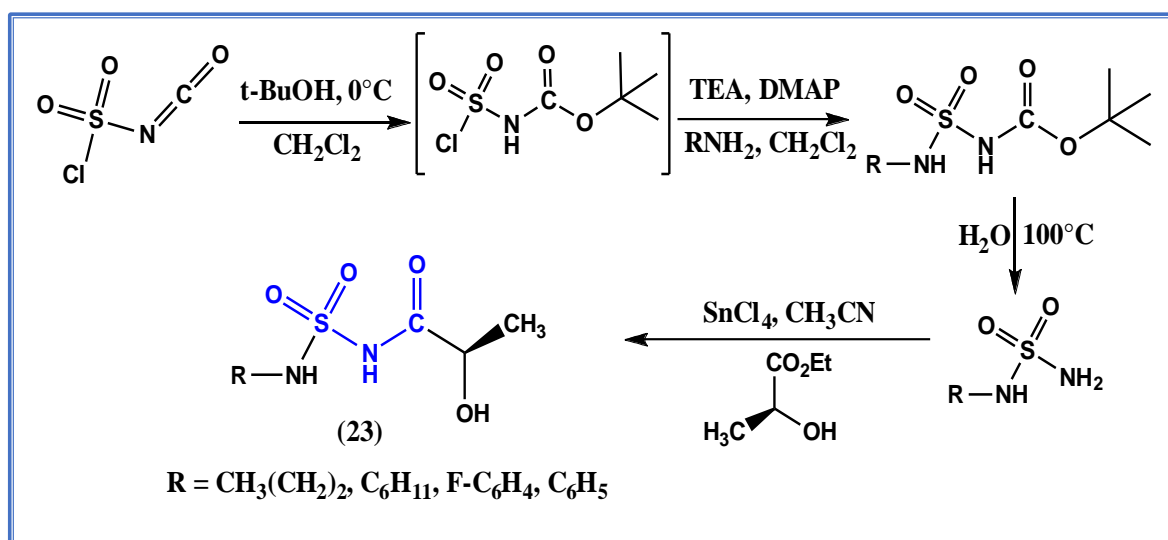


Schéma I.1. Synthèse de *N*-acylsulfonamides à partir de l'ICS

Cheloufi et al.³¹ ont réalisé une autre méthode d'accès aux *N*-acylsulfonamides basée sur l'aménagement bifonctionnel de l'isocyanate de chlorosulfonyle, en deux étapes successives, commençant par l'addition du α -hydroxyester sur l'ICS. Le carbamate de chlorosulfonyle (**24**) ainsi formé subit une réaction de sulfamoylation avec une série d'amines primaires ou

²⁹ Z. Cheraïet, S. Ouarna, J. Zoubir, M. Berredjem, N. E. Aouf, *International Journal of Chemistry*, **2012**, 4, 73-79.

³⁰ F. Bouchareb, W. Boufas, H. Cheloufi, M. Berredjem, N. E. Aouf, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2014**, 189, 587.

³¹ H. Cheloufi, M. Berredjem, W. Boufas, F. Bouchareb, A. Djahoudi, N. E. Aouf, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2014**, 189, 1396.

secondaires en présence de triéthylamine pour former le dérivé N-acylsulfonamide (25) (Schéma I.2).

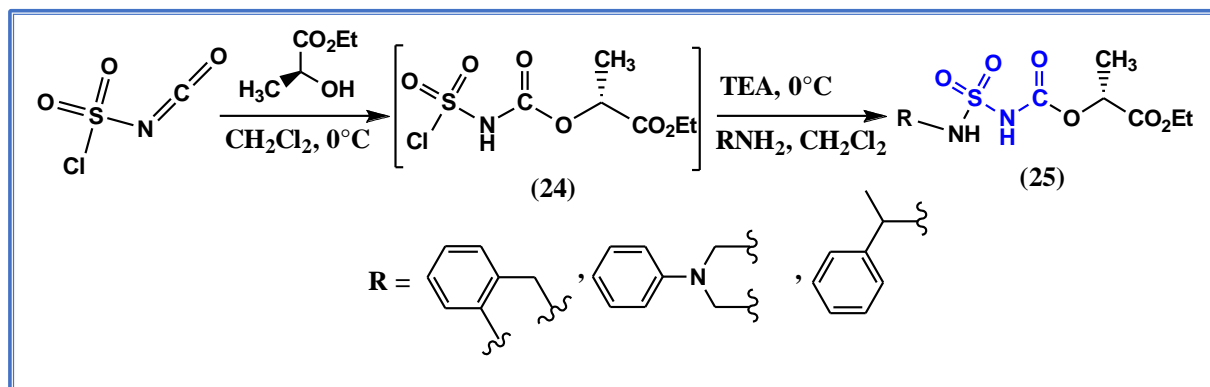


Schéma I.2. Synthèse des N-acylsulfonamides à partir de lactate d'éthyle

I.3.2. A partir des arylamines

La synthèse one-pot est activement recherchée par les chimistes et ce, dans le but d'éviter les longs processus de séparation et de purification des composés intermédiaires, car ils leur permettent de gagner du temps et d'augmenter le rendement chimique global. Une synthèse one-pot des N-Acylsulfonamides a été réalisée par Massah et *al.*³² à partir des différents dérivés d'aniline monosubstitués (26) en effectuant une réaction de sulfonylation avec l'arylbenzène de chlorosulfonyle, en présence d'une base NaHCO₃. L'intermédiaire formé N-arylsulfonamide est acylé directement sans séparation et purification par le chlorure de benzoyle, en présence de K₂CO₃ et en absence de solvant. Le produit désiré N-aryl-N-benzoylsulfonamide (27) est obtenu avec de bons rendements (Schéma I.3).

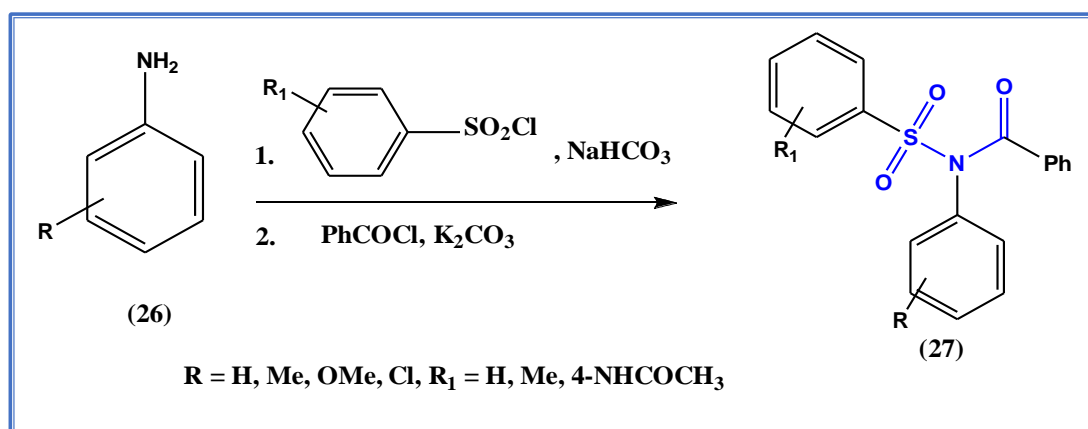


Schéma I.3. Synthèse des N-acylsulfonamides à partir d'arylamines.

³² Massah, A. R.; Azadi, D.; Aliyan, H.; Momeni, A. R.; Naghash, H. J.; Kazemi, F. *Monatsh.Chem.* **2008**, *139*, 233.

I.3.3. A partir des sulfonamides

Le même groupe de chercheurs ont mis au point une autre voie de synthèse des N-acylsulfonamides en commençant par un sulfonamide déjà synthétisé ou commercial. Cette voie est basée sur l'utilisation des différents catalyseurs hétérogènes dans la réaction d'acylation de sulfonamides pour aboutir aux produits désirés. Dans des conditions douces et sans solvant, une réaction d'acylation de divers sulfonamides primaires et secondaires a été effectuée par un large excès de différents agents acylants dérivés des anhydrides ou chlorures d'acide³³.

La présence d'acide sulfurique sur silice (ASS) en quantité catalytique est obligatoire pour aboutir aux produits désirés (Schéma I.4).

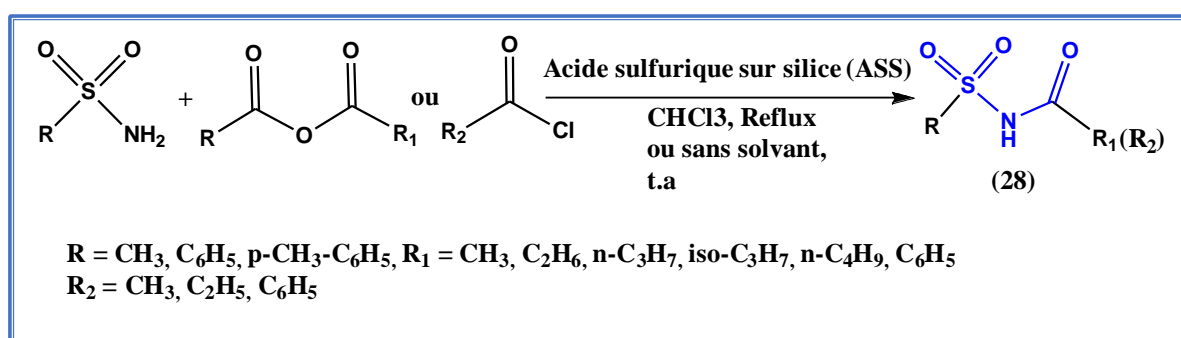


Schéma I.4. Acylation des sulfonamides en présence de ASS.

Dans un deuxième temps, un autre catalyseur hétérogène métallique de sulfate d'hydrogène Al(HSO₄)³ ou Zr(HSO₄)⁴ a montré une efficacité dans la même réaction d'acylation³⁴, une quantité catalytique de ce catalyseur a été ajoutée au mélange de sulfonamides substitués avec l'anhydride ou le chlorure d'acide dans le dichlorométhane ou sans solvant à température ambiante. Après quelques minutes la réaction est terminée et les produits désirés sont obtenus avec de bons rendements (Schéma I.5).

³³ Massah, A.R.; Adibi, H.; Khodarahmi, R.; Abiri, R.; Majnooni, M. B.; Shahidi, S.; Asadi, B.; Mehrabib, M.; Zolfigole, M.A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 5465.

³⁴ Massah, A.R.; Asadi, B.; Hoseinpour, M.; Molseghi, A.; Kalbasi, R.J.; Naghash, H. *J. Tetrahedron* **2009**, 65, 7696.

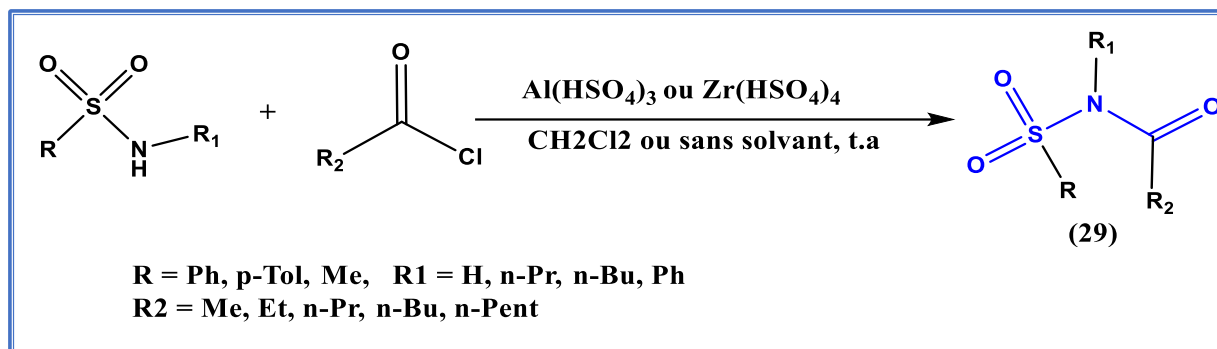


Schéma I.5. Acylation des sulfonamides en présence de $\text{Al(HSO}_4)_3$ ou $\text{Zr(HSO}_4)_4$

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons rapporté un aperçu bibliographique sur l'intérêt pharmacologique des N-acylsulfonamides. Nous avons également mis l'accent sur cette famille, en exposant leur relation structure-activité ainsi que quelques méthodes de synthèses décrites dans la littérature.

Chapitre II

Aspects théoriques sur le docking et la simulation dynamique moléculaire

II.1. Simulations de docking moléculaire

La résonance magnétique nucléaire (RMN) et la cristallographie aux rayons X (X-ray) sont deux techniques de pointe qui permettent d'analyser les interactions entre molécules à une résolution atomique. Cependant, ces méthodes expérimentales présentent des contraintes et des coûts importants qui les rendent difficiles à mettre en œuvre. L'amarrage moléculaire, également connu sous le terme anglo-saxon "docking", est une approche informatique qui constitue une alternative complémentaire aux méthodes expérimentales telles que la RMN et la cristallographie aux rayons X. De nos jours, le docking moléculaire est très largement utilisé dans la recherche de nouvelles molécules à des fins thérapeutiques.

II.1.1. Principe théorique de docking

Le Docking est une opération utilisée pour explorer la conformation de liaison entre un complexe de deux molécules³⁵. Une procédure de Docking est utilisée comme guide pour identifier l'orientation la plus probable pour un ligand avec une macromolécule (Protéine) (fig. II.1). Le ligand garanti la possibilité de subir de petits changements de conformation pour éviter la répulsion stérique et de produire des interactions favorables avec le récepteur. Dans une procédure d'amarrage (Docking) automatisée, avec la structure 3D d'une protéine, le programme est capable d'effectuer le Docking, c'est-à-dire, adapter un ligand à une cavité dans une conformation plausible. Au départ, vous aurez une orientation approximative, qui sera ensuite optimisée pour tirer le meilleur parti des interactions favorables. Le calcul se termine lorsque vous obtenez un minimum d'énergie pour le complexe³⁶.

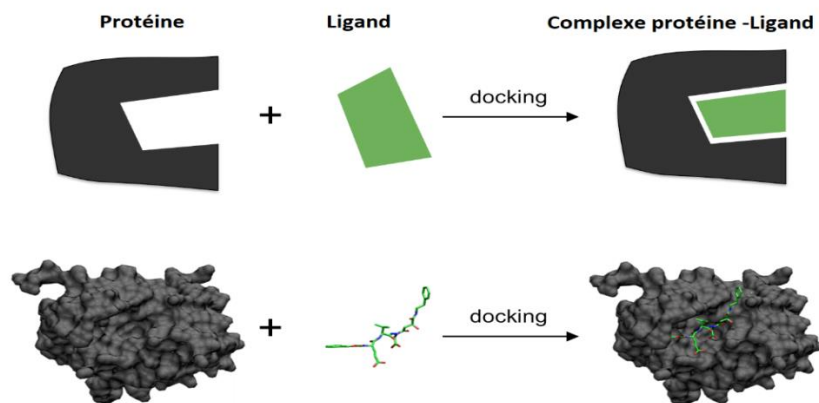


Figure II.1. Formation du complexe protéine-ligand

³⁵ G. Klebe, *Drug Discov Today*, **2006**, 11, 580-594

³⁶ <https://bioinfo-fr.net/la-modelisation-moleculaire>.

II.1.2. Étapes typiques du Docking moléculaire

Le docking moléculaire est un processus qui implique l'interaction d'un ligand avec un récepteur, qui est généralement de nature protéique. Le docking comprend essentiellement quatre étapes clés. (Figure II.2) :

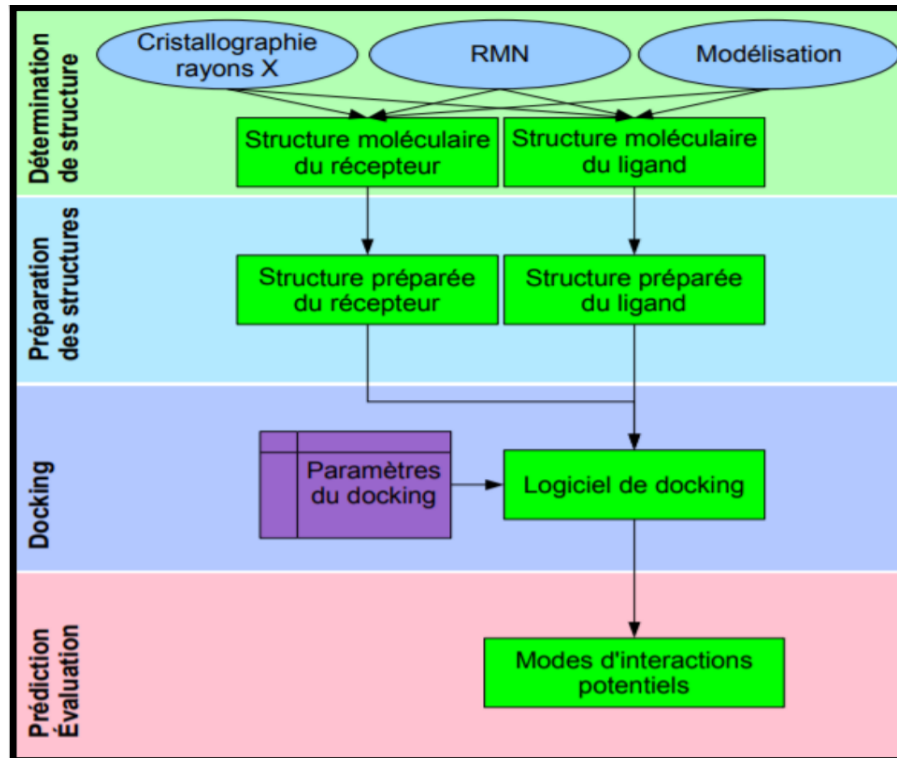


Figure II.2. Étapes typiques d'un docking³⁷

II.1.2.1. Détermination des structures

Pour déterminer les structures moléculaires impliquées dans le docking moléculaire, une étape préliminaire est effectuée. Cette étape consiste à utiliser trois méthodes d'analyse, à savoir la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. Ces méthodes permettent d'obtenir les structures du récepteur et du ligand. Ces méthodes expérimentales (fig.2) permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines³⁸.

La plupart des structures protéiques sont accessibles via la "Protein Data Bank"³⁹ (PDB). La disponibilité d'un grand nombre de structures d'une même molécule protéinique, qu'elle soit avec ou sans ligand, fournit des informations pertinentes. Dans le cas où la méthode

³⁷ G. Aurélien, *Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier - Faculté de pharmacie de Grenoble*. 2007, 17.

³⁸ G.C. Howard, W.E. Brown, *CRC press*. 2001, 272.

³⁹ H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, P.E. Bourne. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28, 235-242.

expérimentale n'est pas possible ou n'a pas été encore réalisée, la solution à envisager en premier est une approche par modélisation comparative⁴⁰.

II.1.2.2. Préparation des structures

Une fois que les structures moléculaires en jeu ont été identifiées, il est nécessaire de préparer le récepteur pour le docking. Cette étape implique la résolution des problèmes de clash stérique, qui se produisent lorsque des atomes se superposent de manière incorrecte, ainsi que la prise en compte des états de protonation³. Il est indispensable de suivre les étapes ci-dessous pendant la préparation du récepteur qui sera utilisé pour le traitement du docking. L'hierarchie de ces étapes se présente comme suit :

- 1- Suppression de toute molécule d'eau située à la surface de la protéine dans le cas de la simulation en l'absence de l'eau.
- 2- Vérification des parties manquantes et qui sont à proximité du site actif connu, dans la chaîne polypeptidique étudiée.
- 3- Vérification de l'existence des chaînes latérales qui sont à modéliser. Si une chaîne latérale manque à proximité du site actif, il faut la positionner au mieux, afin d'augmenter les possibilités d'interactions entre le ligand et la protéine.
- 4- Vérification du clash stérique après l'ajout des atomes d'hydrogènes manquants sur la protéine et le ligand.
- 5- Vérification de la protonation des histidines en contact avec le ligand car il arrive souvent que le tautomère du groupement imidazole dans la molécule de l'histidine soit mal choisi lors du positionnement des atomes d'hydrogène. Si un tel problème se pose il faudra donc corriger ces erreurs manuellement. La correction de ce mauvais positionnement est observée par l'existence d'un contact direct entre le groupement hydroxyle ou amide du ligand et la fonction amide du groupement imidazole de l'histidine. Cet indice révèle que le H de l'histidine est au mauvais endroit et donc à retirer puis le positionner sur l'atome d'azote en sp² de l'autre côté du groupement imidazole.
- 6- Une fois ces étapes sont validées on pourra compléter par les groupements amides manquants sur les résidus comme les glutamines ou l'asparagine.

II.1.2.3. Docking moléculaire

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking est une méthode utilisée pour calculer l'orientation préférentielle d'une molécule par rapport à une autre lorsqu'elles se lient

⁴⁰ B. Al-Lazikani, J. Jung, Z. Xiang, B. Honig. *Current Opinion in Structural Biology*, **2001**, 5, 51-56.

pour former un complexe stable.⁴¹ Le docking moléculaire se fait généralement en trois étapes (schéma II.1).

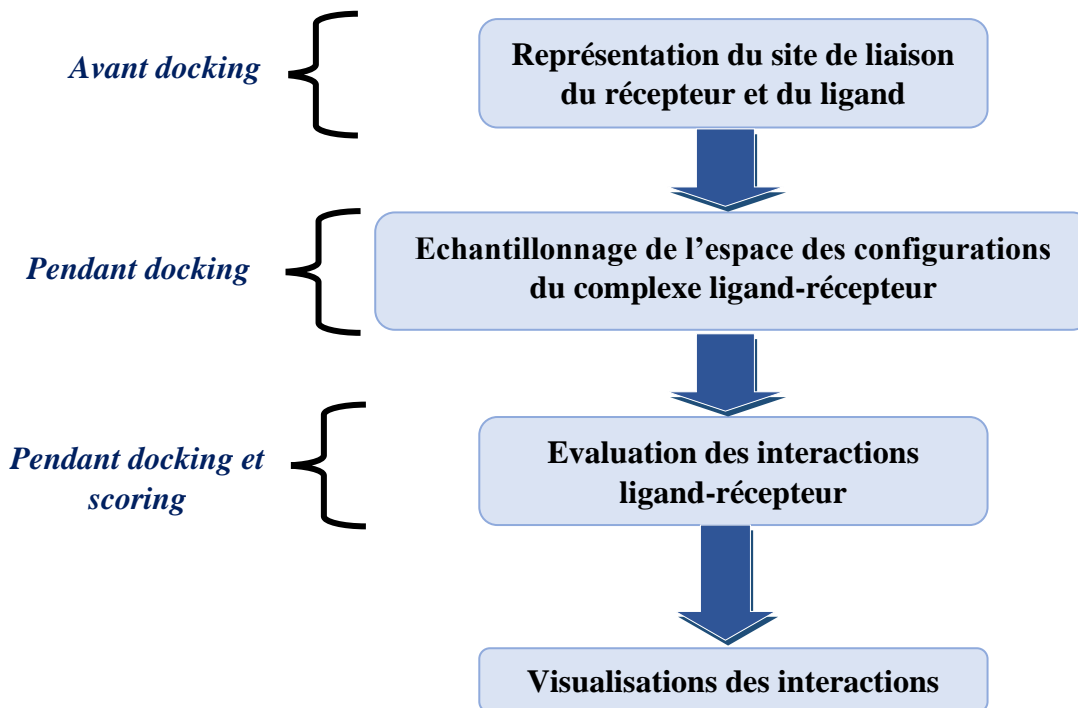


Schéma II.1. Protocol général de docking moléculaire.

L'utilisation de la technique de « docking » apparaît comme une alternative très intéressante quand on n'a pas une réelle connaissance sur le site actif. Le problème le plus important pour l'étape de docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel c'est-à-dire l'Echantillonnage de l'espace des configurations du complexe ligand-récepteur.

La complexité de ce problème dépend de plusieurs paramètres tels que : le nombre de degrés de liberté obtenus pour la translation et la rotation vis-à-vis des conformations de départ possibles du ligand. Dans notre cas nous avons choisi le « Grid-based Ligand Docking with Energetics (GLIDE) » comme programme pour la modélisation.

Le docking rigide implique uniquement six degrés de liberté de rotation et de translation. L'introduction de la flexibilité augmente considérablement le nombre de degrés de liberté, l'espace de recherche et donc le coût de calcul. On peut distinguer trois niveaux de docking:

- Le docking rigide est le niveau le plus simple et il est souvent utilisé pour le docking protéine-protéine.
- Le docking semi-flexible est une approche "asymétrique" couramment utilisée pour le docking protéine-ligand. Dans cette méthode, le ligand est considéré comme

⁴¹ T. Lengauer, M. Rarey, *Current Opinion in Structural Biology*. 1996, 6(3), 402-406.

flexible, tandis que la protéine est maintenue rigide.

- Le docking flexible est une méthode qui prend en compte la flexibilité des deux molécules, mais cette flexibilité est limitée et simplifiée à l'aide de modèles.

Pour éviter des calculs trop longs ou impossibles à réaliser, plusieurs approximations peuvent être utilisées. Parmi les algorithmes de recherche de flexibilité du ligand, trois approches principales sont souvent distinguées : l'approche combinatoire, l'approche stochastique et l'approche déterministe.³

a) Approche combinatoire

Cette approche repose sur l'utilisation de grilles de valeurs pour chaque degré de liberté, et chaque grille est explorée de manière combinatoire pendant la recherche. Dans un premier temps, le ligand est divisé en parties rigides et flexibles. Des "ancres" rigides sont définies entre les points où des rotations sont possibles. Ensuite, une première partie rigide interagit avec le récepteur, puis les parties flexibles sont ajoutées successivement en explorant les angles de torsion⁴². Cette méthode a été intégrée dans plusieurs programmes, tels que Dock⁴³ et FlexX⁴⁴. Le programme FlexX utilise une modélisation des interactions chimiques pour positionner l'ancre et effectue une sélection automatique des fragments de base.^{45,46}

b) Approche stochastique

L'approche stochastique implique d'effectuer des modifications aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Généralement, cela consiste à modifier un degré de liberté à la fois. L'un des inconvénients de cette méthode est l'incertitude quant à la convergence. Pour y remédier, il est nécessaire de réaliser de nombreux calculs indépendants les uns des autres. L'un des principaux algorithmes stochastiques utilisés est la méthode de Monte Carlo⁴⁷.

Dans la méthode de Monte Carlo, le ligand est considéré dans sa globalité et des changements peuvent être effectués à la fois sur les translations, les rotations et les torsions. À chaque mouvement, la molécule est soumise à une minimisation de son énergie. La conformation obtenue par cette transformation est ensuite évaluée selon un critère de sélection basé sur

⁴² A. Merzoug, A. Chikhi, A. Bensegueni, H. Boucherit, K.S. Hioual, H. Mokrani, S. Teniou, *Les technologies de laboratoire*. **2012**, 7, 27.

⁴³ I.D. Kuntz, *Science*. **1992**, 257, 1078-1082.

⁴⁴ M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, G. Klebe, *Journal of Molecular Biology*. **1996**, 26, 470-489.

⁴⁵ M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **1997**, 11, 369-384.

⁴⁶ M. Rarey, S. Wefing, T. Lengauer, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **1996**, 10, 41-54.

⁴⁷ J.H. Holland, *Adaptation in Natural and Artificial Systems*, Thèse de doctorat, University of Michigan Press. Ann Arbor, MI **1975**.

l'énergie. Si la conformation satisfait ce critère, elle est sauvegardée et le programme génère la prochaine conformation. Les itérations se poursuivent jusqu'à ce qu'un nombre prédéfini de conformations soit collecté. L'avantage principal de la méthode de Monte Carlo est que les changements effectués peuvent être assez importants pour permettre au ligand de surmonter les barrières énergétiques présentes sur la surface d'énergie potentielle. Cela peut être difficile à atteindre avec les méthodes de simulation basées sur la dynamique moléculaire⁴⁸.

c) Approche déterministe

Le problème avec les systèmes déterministes est qu'ils ont tendance à rester piégés dans des minima locaux, car ils ont une capacité limitée à surmonter les barrières énergétiques. Cette approche est la plus simple et la plus directe. L'exemple le plus courant est la simulation de dynamique moléculaire. Cependant, cette méthode est rarement utilisée en docking en raison de la puissance de calcul requise et de son biais en faveur des minima locaux.⁴⁹.

II.1.2.4. Prédiction et évaluation

Après avoir établi les paramètres du docking moléculaire, le programme procède à la phase de prédiction et d'évaluation. Cette étape vise à déterminer les modes potentiels d'interaction entre le ligand et le récepteur. Voici comment cette étape est généralement réalisée :

II.1.2.4.1. Algorithme de docking

Idéalement, un algorithme de docking doit être en mesure de produire les modes de liaison souhaités pour les ligands. Pour y parvenir, il est essentiel que l'algorithme de recherche conformationnelle explore de manière exhaustive et efficace l'espace conformationnel possible.

L'aptitude d'un algorithme à trouver la position correcte du ligand par rapport à son récepteur est généralement évaluée à l'aide de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (Root-Mean-Square Deviation) entre le modèle généré par le logiciel et les coordonnées cartésiennes (xpose, ypose, zpose) par rapport aux coordonnées cartésiennes de la structure cristallographique (xcristal, ycristal, zcristal). L'écart RMSD est calculé à l'aide de l'équation

⁴⁸ Y.M. Xuan, X.Z. Hong, M. Mihaly, C. Meng, *Current Computer-Aided Drug*. **2011**, 7(2), 146–157.

⁴⁹ A. Chikhi, Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase -substances anti-bacteriennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine. **2007**.

suivante:

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_{crystal i} - x_{pose i})^2 + (y_{crystal i} - y_{pose i})^2 + (z_{crystal i} - z_{pose i})^2} \quad Eq.1$$

La valeur acceptable généralement admise pour la déviation quadratique moyenne (RMSD) est une différence maximale de deux angströms. Au-delà de cette valeur, la prédiction du docking est considérée comme non adéquate. Les erreurs dans le docking moléculaire sont généralement attribuées à un échantillonnage insuffisant de l'espace conformationnel ou à l'utilisation d'une fonction de score inadéquate^{50,51}.

II.1.2.4.2. Fonctions de score

La fonction de score dans le docking moléculaire est une mesure numérique qui permet de quantifier le degré de complexation entre un ligand et un récepteur. Elle représente généralement une approximation de l'énergie libre résultant de la transition de la forme libre de la protéine et du ligand vers leur association sous forme de complexe.⁵² Le principe thermodynamique est le suivant (Eq. 2):

$$\Delta G = \Delta G_{complexe} - \Delta G_{ligand} - \Delta G_{protéine} \quad Eq.2$$

L'établissement d'une fonction de score appropriée est en effet un problème crucial dans le docking moléculaire. Il est courant de constater que la solution évaluée comme étant la plus probable ne correspond pas nécessairement à la conformation native attendue du complexe ligand-récepteur. Cela peut être dû au fait que la conformation native ne correspond pas toujours à celle qui présente la plus grande surface d'accès ou le plus grand nombre de liaisons hydrogène disponibles.

Il existe différents types de fonctions de score qui sont basées sur différents critères. Ces fonctions de score visent à évaluer l'affinité chimique entre le ligand et le récepteur en calculant l'énergie libre de Gibbs (ΔG) pour une certaine température T. L'énergie libre de Gibbs est une mesure de l'énergie disponible pour effectuer un travail chimique à pression constante et à température constante (Eq. 3).^{53,54}

⁵⁰ M. Vieth, J.D. Hirst, A. Kolinski, C.L, *Journal of Computational Chemistry*. **1998**, 19, 1612-1622.

⁵¹ J. Gabb, R.M. Jackson, M.J. Sternberg. *Journal of Molecular Biology*. **1997**, 272(50), 106–120.

⁵² P.A. Kollman, I. Massova, C. Reyes, B. Kuhn, S. Huo, L. Chong, M. Lee, T. Lee, Y. Duan, W. Wang, O. Domini, P. Cieplak, J. Srinivasan, D.A. Case, T.E. Cheatham, *Accounts of Chemical Research*. **2000**, 33, 889-897.

⁵³ R. Storm, K. Price, Tech-report, International Computer Science Institute, Berkley **1995**.

⁵⁴ J.A. Nelder, R. Mead, *Computer journal*. **1965**, 7, 308-313.

$$\Delta G_l = -RT \ln K_{eq}$$

Eq. 3

Où, R est la constante des gaz parfaits et K_{eq} est la constante d'équilibre. Cependant, le calcul de l'énergie libre est souvent très coûteux et devient impraticable lorsqu'il s'agit d'évaluer un grand nombre de complexes. Par conséquent, l'estimation de l'affinité entre le ligand et le récepteur repose généralement sur des calculs d'énergie qui utilisent plusieurs approximations. Ainsi, différentes fonctions de score ont été développées et ajustées dans les programmes de docking, et elles ont été l'objet de nombreuses publications scientifiques^{55,56} et ⁵⁷. Ces fonctions de score sont généralement classées en quatre familles:

- Les fonctions de score basées sur un champ de force,
- Les fonctions de score empiriques,
- Les fonctions de score consensus,
- Les fonctions de score de type knowledge-based.

a) Fonctions de score basées sur un champ de force

Les fonctions de score utilisent un champ de force calculé par mécanique moléculaire pour évaluer l'énergie d'interaction du complexe ainsi que l'énergie interne du ligand. Par exemple, le G-Score⁵⁸ utilise le champ de force de Tripos, tandis que AutoDock⁵⁹ utilise celui d'AMBER. Ces fonctions de score permettent de quantifier la stabilité et l'affinité d'interaction entre le ligand et la cible, et sont essentielles dans le processus de docking moléculaire pour évaluer la qualité des poses générées⁶⁰.

b) Fonctions de score empiriques

Les fonctions de score empiriques sont largement utilisées pour interpréter l'énergie d'interaction d'un complexe récepteur-ligand. Elles se basent sur une équation de sommation des interactions chimiques localisées entre les différents composants du complexe.⁶¹ Ce type de fonction est basé sur la régression multiple afin d'ajuster les coefficients des

⁵⁵ H. Gohlke, G. Klebe, *Angewandte Chemie International Edition*. **2002**, 41 (15), 2644-2676.

⁵⁶ P. Ferrara, H. Gohlke, D.J. Price, G. Klebe, *Interactions Journal of Medicinal Chemistry*. **2004**, 47, 3032-3047.

⁵⁷ R. Wang, Y. Lu, X. Fang, S. Wang, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. **2004**, 44 (6), 2114-2125.

⁵⁸ M.L. Verdonk, J.C. Cole, M.J. Hartshorn, C.W. Murray, R.D. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. **2003**, 52(4), 609-623.

⁵⁹ G.M. Morris, D.S. Goodsell, R.S. Halliday, R. Huey, W.E. Hart, *Journal of Computational Chemistry*. **1998**, 19, 1639-1662.

⁶⁰ B. Kramer, M. Rarey, T. Lengauer, *Proteins*. **1999**, 37, 228-241.

⁶¹ L.J. Ignarro, J.M. Fukuto, J.M. Griscavage, N.E. Rogers, R.E. Byrns, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **1993**, 90, 8103-8107.

fonctions en fonction de la physique du système. Ces coefficients sont ajustés à partir d'un ensemble de données comprenant des complexes récepteurs-ligands avec des affinités mesurées.⁶²

Les fonctions de score empiriques comprennent généralement des termes décrivant les interactions ioniques, les interactions hydrophobes, les ponts ou liaisons hydrogène, ainsi que les effets liés aux changements d'entropie (pénalité d'entropie). Ces fonctions de score calculent une somme pondérée de ces différents termes, qui décrivent les divers types d'interactions moléculaires présentes dans le complexe récepteur-ligand.⁶³ La plupart des logiciels de docking utilisent ce type de fonction en raison de son efficacité en termes de rapidité et de précision. Cependant, leur principal inconvénient réside dans leur forte dépendance aux données de calibration des paramètres. Cela signifie que la performance et la fiabilité des fonctions de score empiriques peuvent varier en fonction de la qualité et de la pertinence des données utilisées pour ajuster ces paramètres.

c) Les fonctions de score type knowledge-based

Ces fonctions sont dérivées de l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés expérimentalement. Des règles définissant la géométrie préférentielle des interactions sont extrapolées à partir de ces structures en utilisant des méthodes statistiques. Cette approche, en tant qu'alternative aux fonctions empiriques, est plus tolérante envers les interactions présentes dans le complexe, et ses expressions sont moins restrictives.^{64, 65, 66, 67 et 68}

Les fonctions de score de type knowledge-based ont été largement utilisées avec succès dans des études de docking impliquant différentes cibles protéiques. Elles ont démontré une amélioration notable dans la prédiction des modes de liaison corrects et le classement des complexes protéine-ligand par rapport aux fonctions de score empiriques et basées sur le champ de force.⁶⁹

d) Fonctions de score consensus

⁶² M. Lafond, *Schrödinger*. **2015**.

⁶³ M.K. Holloway, *Journal of Medicinal Chemistry*, **1995**, 38, 305-317.

⁶⁴ H.J. Boehm, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **1994**, 8, 243-256.

⁶⁵ H.J. Boehm, Prediction of binding constants of protein ligands: a fast method for the prioritization of hits obtained from de novo design or 3D database search programs, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **1998**, 12, 309-323.

⁶⁶ R.D. Head, M.L. Smyte, T.I. Oprea, C.L. Waller, S.M. Green, G.R. Marshall, *Journal of the American Chemical Society*. **1996**, 118, 3959-3969.

⁶⁷ I. Muegge, Y.A. Martin, *Journal of Medicinal Chemistry*. **1999**, 42; 791-804.

⁶⁸ I. Muegge, *Perspectives in Drug Discovery and Design*. **2000**, 20, 99-114.

⁶⁹ G. Schneider, H.J. Böhm, *Combinatorial Chemistry*. **2002**, 7, 64-70.

L'idée principale de ces fonctions est de combiner les informations provenant de différents scores obtenus, sachant que chacun de ces scores pris individuellement est insuffisant pour fournir une évaluation complète⁷⁰. Plusieurs études ont démontré que ces fonctions sont capables de prédire avec précision les énergies libres des complexes protéine-ligand, surpassant ainsi les performances des fonctions individuelles pour décrire les interactions entre la protéine et le ligand.^{71 et 72}. Un exemple de fonction de score consensus est X-CSCORE⁷³ qui combine un PMF^{74, 75 et 76}, et ChemScore⁷⁷. Le tableau suivant récapitule les avantages et les désavantages des différentes fonctions de score.

Tableau II.1. Avantage et inconvénients des différentes fonctions de score.

Fonction de score	Avantages	Inconvénients
Basé sur les champs de force	<ul style="list-style-type: none"> - Les termes des FFs sont bien étudiés et ont une base physique. - Ces fonctions sont transférables et rapides lorsqu'elles sont utilisées sur une grille pré-calculée. 	<ul style="list-style-type: none"> - Les champs de force moléculaires considèrent seulement une fraction de l'énergie potentielle totale. - Dans certains cas, des termes de solvation et d'entropie peuvent être ajoutés pour augmenter leur précision - L'électrostatique est souvent surestimée.
Empirique	<ul style="list-style-type: none"> - Estimation rapide et directe de l'énergie de liaison. 	<ul style="list-style-type: none"> - Il est rare de trouver des complexes avec à la fois des structures et des énergies de liaison précisément connues. - Forte dépendance sur l'orientation des atomes d'hydrogène. - Pas de véritables pénalités pour les mauvaises structures.
Knowledge-based	<ul style="list-style-type: none"> - Similaire aux méthodes empiriques, mais plus générales. - Existence de données d'inter-distances plus que d'énergies de liaison expérimentales. 	<ul style="list-style-type: none"> - Les PMF sont "pairwise", alors que la probabilité de trouver les atomes A and B à une distance r n'est pas "pairwise" et dépend aussi des autres atomes.

⁷⁰ P.S. Charifson, J.J. Corkery, M.A. Murcko, W.P. Walters, *Journal of Medicinal Chemistry*. **1999**, 42, 5100-5109.

⁷¹ C. Bissantz, G. Folkers, D. Rognan, *Journal of Medicinal Chemistry*. **2000**, 43, 4759-4767.

⁷² G.E. Terp, B.N. Johansen, I.T. Christensen, F.S. Jørgensen, *Journal of Medicinal Chemistry*. **2001**, 44, 2333-2343.

⁷³ R.X. Wang, L.H. Lai, S.M. Wang, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **2002**, 16, 11-26.

⁷⁴ I. Muegge, PMF. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, 49, 5895-5902.

⁷⁵ I. Muegge, Y.C. Martin, *Journal of Medicinal Chemistry*. **1999**, 42, 791-804.

⁷⁶ I. Muegge, *Journal of Computational Chemistr*. **2001**, 22, 418-425.

⁷⁷ M.D. Eldridge, C.W. Murray, T.R. Auton, G.V. Paolini, R.P. Mee, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **1997**, 11, 425-445.

II.1.2.4.3. Interaction protéine-ligand

Les systèmes biologiques fonctionnent grâce à des mécanismes d'assemblage et de reconnaissance qui impliquent des interactions moléculaires non covalentes de faible énergie. Les informations biologiques encodées dans leur structure ne peuvent être exprimées que par le biais d'interactions spécifiques qui s'établissent, souvent de manière réversible, avec d'autres partenaires.

Lors du processus de docking, le défi consiste à prédire la conformation et l'orientation du ligand par rapport au site actif de la protéine cible. Pour chaque protéine cible dont la structure est connue, le docking joue un rôle clé dans la conception de nouveaux médicaments. De nombreux types d'interactions non covalentes ont été identifiés dans les complexes protéine-ligand.

Parmi les interactions possibles entre le ligand, qui est généralement une petite molécule organique, et la protéine, on trouve des interactions polaires telles que les liaisons hydrogène et les liaisons ioniques, ainsi que des interactions hydrophobes résultant du contact entre des groupements hydrophobes^{78,79 et 80}.

a) Interaction ionique

Les interactions entre molécules portant des charges électriques obéissent à la loi de Coulomb. L'énergie potentielle d'interaction entre deux charges électriques Q1 et Q2, séparées par une distance d, est calculée en déterminant le travail nécessaire pour les séparer à une distance infinie (fig.3). L'énergie potentielle (V) de deux molécules de charges différentes est exprimée par l'équation 4.

$$V = \frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon\epsilon_0 d} \quad \text{Eq.4}$$

Avec :

ϵ_0 : permittivité du vide.

ϵ : permittivité du milieu dans lequel évoluent les charges.

d : distance entre les deux charge.

⁷⁸ A.R. Leach, I.D. Kuntz, *Journal of Computational Chemistry*. **1992**, 13, 730-748.

⁷⁹ H.J. Böhm, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **1992**, 6(6), 593-606.

⁸⁰ H.J. Böhm, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **1994**, 8 (3), 243-256.

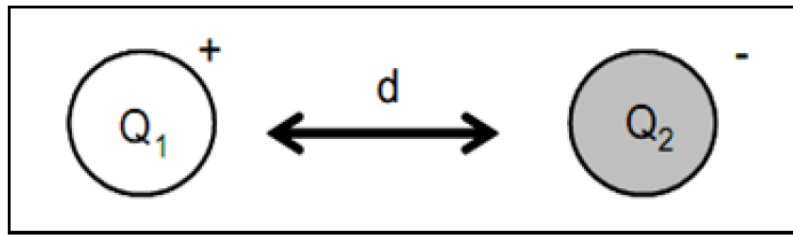


Figure II.3. Interaction entre deux molécules de charges différentes.

En milieu aqueux, les acides aminés chargés se trouvent principalement à la surface de la protéine et sont donc fortement solvatés, c'est-à-dire entourés de molécules d'eau. Cette solvation des acides aminés chargés a un effet significatif sur les interactions électrostatiques entre ces charges.

b) Interaction hydrogène

La liaison hydrogène est une interaction chimique non covalente qui se forme entre deux molécules ou entre deux groupements au sein d'une molécule. Elle repose sur l'interaction dipôle-dipôle entre ces molécules ou groupements. La liaison hydrogène se produit principalement lorsque l'une des molécules possède un atome donneur d'électrons tel que l'oxygène (O), l'azote (N) ou le fluor (F), et que l'autre molécule possède un atome d'hydrogène (H) capable d'accepter ces électrons, par exemple dans les groupements OH (hydroxyle) ou NH₂ (amine)⁸¹. Cette liaison est illustrée ci-dessous par des exemples (fig.II.4).

⁸¹ W. Peter Atkins, *Chimie Physique 6ème édition*, 1997.

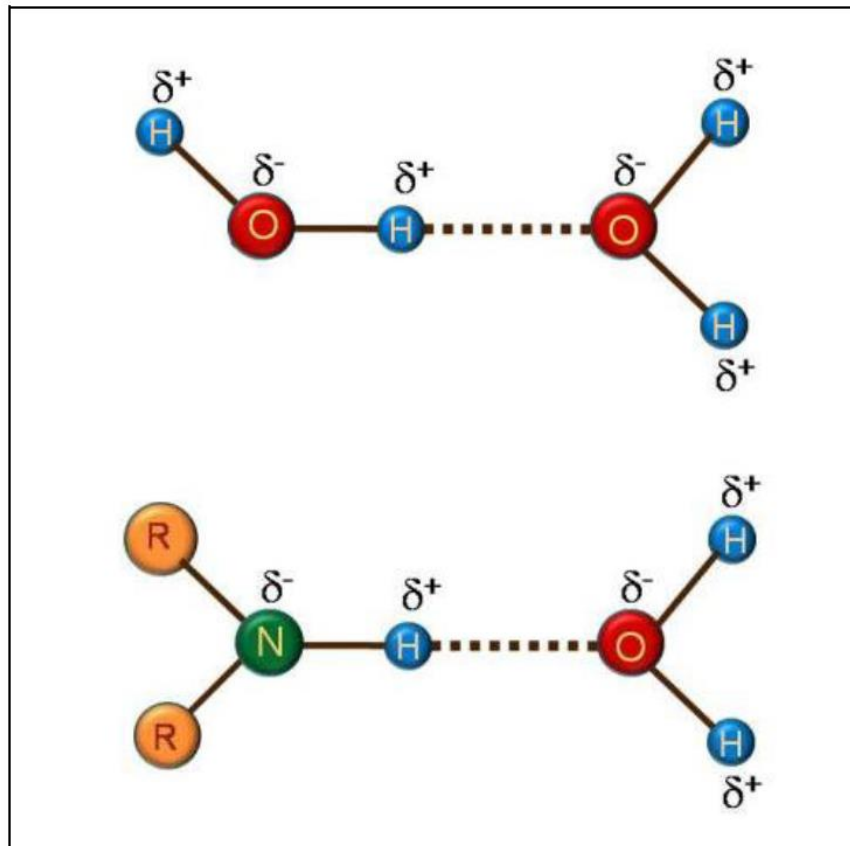


Figure II.4. Exemples d'une liaison hydrogène.

Les liaisons hydrogène jouent un rôle crucial tant en chimie qu'en biochimie. Elles contribuent aux propriétés uniques de l'eau, telles que sa capacité à former des structures en réseau. De plus, elles sont responsables de la stabilisation de la structure secondaire des macromolécules biologiques. Les liaisons hydrogène se trouvent dans les protéines (dans leur structure tertiaire et quaternaire), les acides nucléiques (où elles stabilisent la double hélice), ainsi que dans les interactions moléculaires impliquant la reconnaissance de petites molécules par des récepteurs, par exemple.

Comparées aux interactions de Van der Waals, les liaisons hydrogène sont plus fortes, avec des énergies estimées entre 3 et 9 kcal/mol. Elles contribuent à la stabilité et à la spécificité des interactions moléculaires, permettant des reconnaissances sélectives et des associations réversibles. La compréhension et la manipulation des liaisons hydrogène sont d'une importance capitale dans la conception de médicaments, la catalyse enzymatique et de nombreux autres domaines de la chimie et de la biochimie.

c) Les interaction de Van der Waals

Ces interactions ont été étudiées par J.D. van der Waals, un physicien hollandais et lauréat

du prix Nobel de physique en 1910. Elles résultent des interactions entre les dipôles électriques formés par les molécules. On distingue trois types d'interactions de van der Waals :

1. Interaction dipôle permanent - dipôle permanent ou effet d'orientation de Keesom : Ce type d'interaction se produit entre deux molécules polaires qui possèdent des dipôles permanents.
2. Interaction dipôle permanent - dipôle instantané ou effet d'induction de Debye : Ce type d'interaction se produit entre une molécule polaire et une molécule quelconque, qu'elle soit polaire ou apolaire. La molécule polaire induit un dipôle temporaire dans la molécule non polaire, ce qui entraîne une interaction attractive.
3. Interaction dipôle instantané - dipôle instantané ou dispersion de London : Ce type d'interaction se produit entre deux molécules quelconques, qu'elles soient polaires ou apolaires. Les fluctuations aléatoires des charges dans les molécules créent des dipôles instantanés qui entraînent une attraction transitoire entre les molécules.

Ces interactions de van der Waals sont généralement faibles, mais lorsque l'on considère un grand nombre de molécules, comme dans le cas des macromolécules, leur cumul crée une force significative. Ces interactions jouent un rôle essentiel dans la structure et la stabilité des macromolécules biologiques, ainsi que dans de nombreux autres phénomènes chimiques et physiques.⁸².

d) Les interactions hydrophobes

Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à s'agréger, créant ainsi une force de liaison hydrophobe. Il s'agit d'interactions entre des molécules ou des groupes fonctionnels qui ont une faible affinité pour le solvant dans lequel ils sont dissous, généralement l'eau. Ces groupes vont s'organiser de manière à minimiser leur surface de contact avec l'eau. Par conséquent, ils vont s'attirer mutuellement par des forces de dispersion, telles que les forces de London.

Dans de nombreux complexes, plusieurs acides aminés hydrophobes se trouvent en contact à l'interface grâce à leur complémentarité hydrophobe. Cette interaction hydrophobe joue un rôle stabilisant important dans de nombreux complexes. Les acides aminés non polaires ont tendance à former des regroupements d'interactions hydrophobes entre eux, appelés "patches" hydrophobes, renforçant ainsi

⁸² A. Gerschel, Paris, EDP Sciences, 2e édition. 2012. p288.

la cohésion de la structure du complexe⁸³ (fig.5).

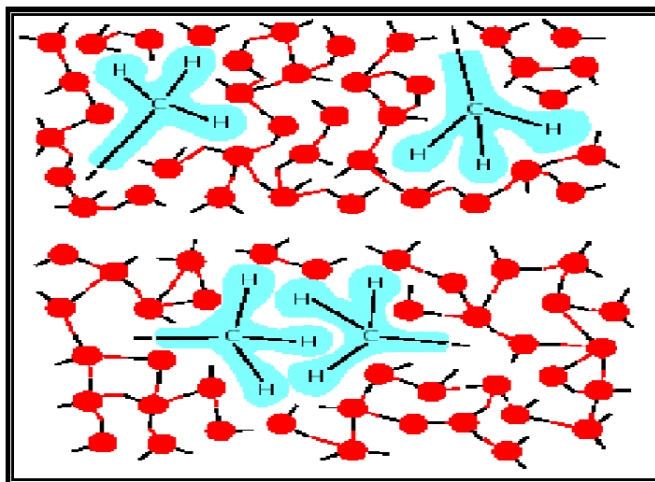


Figure II.5. Patch hydrophobe.

Il existe plusieurs types d'interactions hydrophobiques. Parmi elles, on trouve les interactions entre le centre d'un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'un amide ou des groupements méthyle. La géométrie de ce type d'interaction est légèrement moins contraignante, ce qui le distingue des interactions purement hydrophobiques. Des études sur les interactions protéine-ligand ont montré que ce type d'interaction est le plus fréquent.

Un autre type d'interaction hydrophobe se produit lors de contacts hydrophobiques non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatiques ou aromatiques. Ces interactions sont généralement de forme sphérique avec un rayon d'environ 4 Å, et elles couvrent la majeure partie du ligand⁸⁴. Pour le placement du ligand dans le site actif de la protéine, les interactions hydrogène sont généralement considérées en premier. Une fois que les interactions hydrogène ont été prises en compte, les interactions hydrophobes sont également importantes.

II.1.3. Logiciels utilisés

Le docking moléculaire vise principalement à prédire la conformation la plus favorable du ligand à l'intérieur de son récepteur, en termes de position et d'orientation relatives. Depuis ses débuts dans les années 1980, ce domaine s'est considérablement développé et est maintenant devenu un outil indispensable dans la recherche de composés biologiquement

⁸³ J.N. Israelachvili, *Academic Press, 2e édition, Londres. 1997.*

⁸⁴ M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, *Bioinformatics. 1999*, 15 (3), 243-250.

actifs.⁸⁵

Actuellement, il existe plus de 30 programmes de docking moléculaire disponibles, qu'ils soient commerciaux ou non. Parmi les plus largement cités, on trouve AUTODOCK, GLIDE, GOLD, DOCK et PLANTS. Ces logiciels sont largement utilisés dans la communauté scientifique pour leurs capacités de prédiction et leur facilité d'utilisation dans le domaine du docking moléculaire.

a) AUTODOCK

AutoDock⁸⁶ est une suite d'outils de Docking automatisés, qui comprend deux programmes principaux : Autodock 4 et Vina Autodock. Il existe une interface graphique (AutoDockTools ou ADT) (Fig. II.6), mais vous pouvez également lancer les deux programmes de l'interpréteur de commandes (The shell). L'algorithme d'exploitation d'Autodock est de type génétique, nommé Lamarckian Genetic Algorithm.

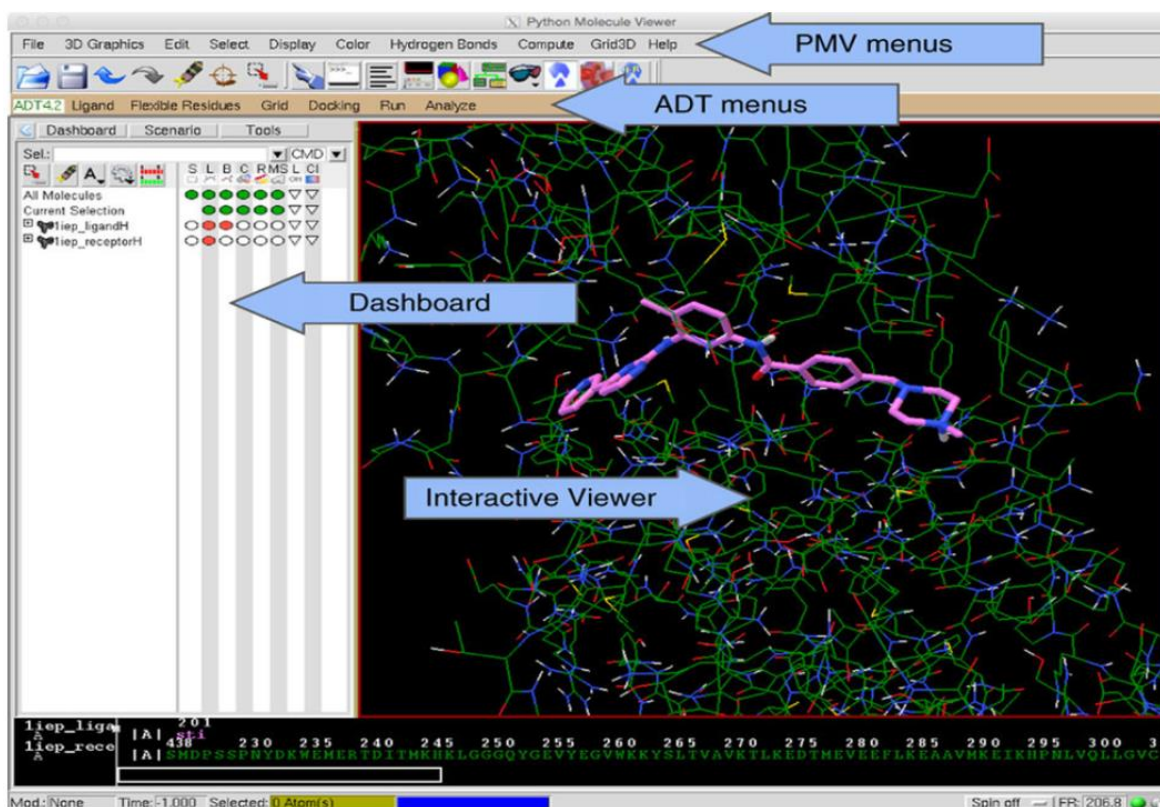


Figure II.6. Interface d'Autodock 4.

D'une manière similaire à la théorie d'évolution naturelle de Lamarck, chaque fois qu'une

⁸⁵ E. Thiriot, *Thèse de doctorat d'université: Chimie informatique et théorique, Nancy: Université de Nancy. France. 2009*, 291.

⁸⁶ G.M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M.F. Sanner, R.K. Belew, D.S Goodsell, A.J. Olson, *Journal of computational chemistry. 2009*, 30(16), 2785–2791.

nouvelle population est générée, il sera possible d'optimiser les solutions en considérant « l'énergie autour » ; De cette façon, le « génotype », c'est-à-dire la chaîne binaire à laquelle chaque ligand correspond sera influencée par des facteurs externes. En plus de l'Algorithme Génétique Lamarckien (LGA), des algorithmes de recuit transgénique sont également disponibles.

Le point de départ est une population initiale à partir de laquelle l'algorithme sélectionne un ensemble de solutions basées sur la fonction de notation, qui donnera lieu à une nouvelle population de solutions enfants, à partir de laquelle un cycle de génération supplémentaire va commencer. Les populations de solutions sont obtenues par des opérateurs génétiques (mutations, croisements et migrations) qui imitent les produits biologiques. Les degrés de liberté sont codés dans des gènes ou des chaînes binaires, et aux gènes et chromosomes sont attribués une valeur basée sur l'aptitude de la fonction de notation. Les opérations de mutation provoquent des changements dans la valeur d'un gène, tandis que le crossover déplace un ensemble de gènes d'un chromosome « parent » à un autre ; La migration déplace plutôt les gènes individuels d'une sous-population à une autre. Autodock 4 utilise une fonction de notation d'énergie libre pour évaluer les conformations durant le Docking. Le champ de force est semi empirique, il a été paramétré avec un grand nombre de complexes inhibiteurs-protéines pour lesquels la structure et la constante d'inhibition (K_i), sont connus. L'interaction entre le ligand et la protéine est évaluée en deux phases. La première évalue la variation de l'énergie intramoléculaire dans la transition de la conformation de ligand libre à celle liée ; La deuxième phase tient compte de la variation de l'énergie intermoléculaire du complexe protéine-ligand dans la conformation liée.

b) AutoDock VINA

Vina⁸⁷ représente la nouvelle version d'AutoDock, et présente en fait de nombreuses similitudes avec son prédécesseur mais, en même temps, de nombreuses différences ; Une différence importante est la rapidité de calcul, puisque Vina est très peu coûteuse à cet égard ; Une autre différence fondamentale est que lors du calcul de la grille, Vina calcule automatiquement les cartes de grille (grid maps), en comparaison avec Autodock. C'est un grand avantage en termes de facilité et de rapidité d'exécution. De plus, les fonctions de scoring et les algorithmes utilisés dans ce type d'analyse sont complètement différents de ceux de son prédécesseur⁸⁸ et ⁸⁹, ce qui conduit à considérer Vina comme un logiciel

⁸⁷ O. Trott, A.J. Olson, *Journal of computational chemistry*. **2010**, 31(2), 455–461.

⁸⁸ R. Wang, L. Lai, S. Wang, *Journal of computer-aided molecular design*. **2002**, 16(1) :11–26.

⁸⁹ R. Wang, X. Fang, Y. Lu, S. Wang, *Journal of medicinal chemistry*. **2004**, 47(12), 2977–2980.

autonome. En outre, ce programme, qui utilise un algorithme génétique pour les calculs de Docking, nécessite des fichiers avec une extension PDBQT, contenant ainsi les paramètres de coordonnées déjà observés pour AUTODOCK. Ils seront créés de la même manière que la suite précédente. La grille (The grid) requise pour le Docking est beaucoup plus simple : grâce à une commande shell, vous obtiendrez un fichier modifiable appelé config.txt qui contiendra toutes les informations et les paramètres nécessaires pour créer une grille appropriée.

c) GLIDE

Grid-based Ligand Docking with Energetics (GLIDE)⁹⁰. Il s'agit d'un programme développé par la société Schrödinger qui utilise une série de filtres hiérarchiques pour identifier les conformations possibles d'un complexe ligand-protéine. La forme et les propriétés du récepteur sont représentées par une grille à travers différents types de champs qui garantissent une précision progressivement plus élevée dans le calcul de la notation des poses de ligand. Chaque ligand est subdivisé en une région de noyau et un certain nombre de groupes de roulement. Chaque groupe est attaché au noyau par une liaison roulante, mais ne contient aucune liaison roulante supplémentaire. Pendant la génération de la conformation, chaque noyau est représenté par une série de conformations de base (typiquement 500), dont le nombre dépend du nombre de liaisons de rotation et d'autres paramètres limitants géométriquement. Pour chaque conformation, une recherche approfondie des orientations possibles au sein du site protéique actif est réalisée. Figure II.7 montre l'interface du logiciel Glide.

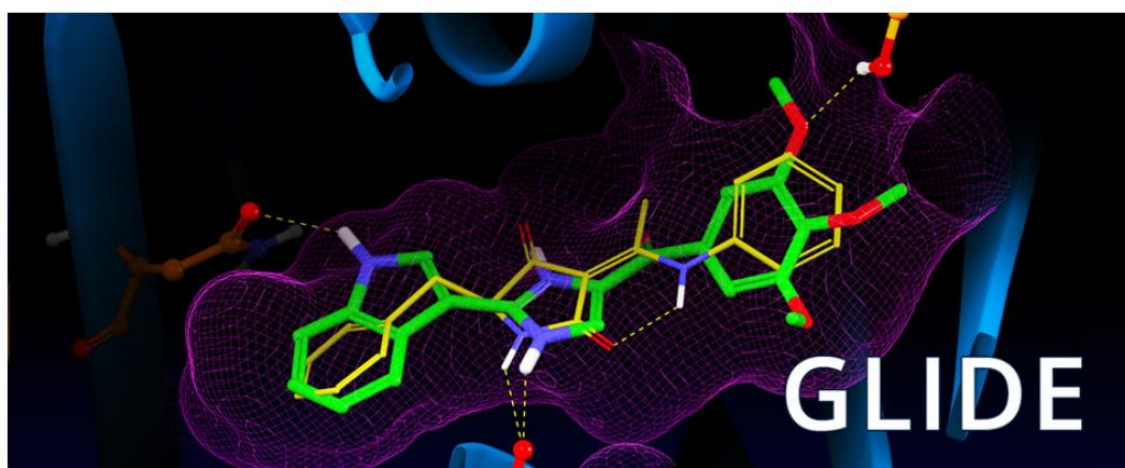


Figure II.7. Interface du logiciel Glide.

⁹⁰ R.A. Friesner, J. L. Banks, R.B. Murphy, T.A. Halgren, J.J Klicic, D.T. Mainz, M.P. Repasky, E.H. Knoll, M. Shelley, J.K Perry, al. Glide, *Journal of medicinal chemistry*. **2004**, 47(7), 1739–1749.

GLIDE vous permet de choisir entre 3 fonctions de score :

- **HTVS** (high-throughput virtual screening) : extrêmement rapide mais peu fiable. Convient pour le screening préliminaire de bases de données à grande échelle ;
- **SP** (standard precision)⁵⁸ : La fonction de score ChemScore est largement utilisée dans le domaine du docking moléculaire. Elle est basée sur une approche spécifique qui vise à réduire les faux négatifs, ce qui en fait un outil adapté au criblage de grandes bases de données. Comparée à la deuxième fonction de score de Glide (XP), ChemScore est considérée comme plus permissive, ce qui signifie qu'elle peut tolérer un éventail plus large de conformations et d'interactions entre le ligand et le récepteur. Cela lui confère une certaine flexibilité lors de la prédiction des complexes ligand-récepteur.
- **XP** (extra precision)⁹¹ : la fonction de score ChemScore est plus contraignante par rapport à certains aspects physico-chimiques, tels que l'orientation des groupements chargés ou fortement polaires par rapport au solvant. Si une position de docking est en désaccord avec ces principes, ChemScore appliquera des pénalités plus fortes, ce qui peut affecter la notation finale du complexe ligand-récepteur. Cette contrainte supplémentaire vise à favoriser les positions de docking qui respectent davantage les interactions et les propriétés chimiques attendues entre le ligand et le récepteur, améliorant ainsi la précision des prédictions de docking.

Toute la procédure de Docking a été réalisée à l'aide de l'interface graphique implémentée dans le programme Maestro. Pour effectuer un calcul Docking avec Glide, la première étape consiste à sélectionner les "site points", c'est-à-dire les points égaux à une distance de 2 Å appartenant à la grille de site actif, et qui seront utilisés pour le placement des atomes. Dans une deuxième étape, les conformations qui ont trop de répulsions stériques avec le récepteur sont écartées, afin de sélectionner les orientations possibles du diamètre du ligand (compris comme la liaison reliant les deux atomes les plus éloignés entre eux). À ce stade, les interactions de tous les atomes capables de fournir des liaisons hydrogène sont évaluées, et un score leur est attribué ; si c'est assez bon alors un score de toutes les interactions avec le récepteur est donné. Pour ce faire, on utilise la fonction de *Chemscore*, qui reconnaît les interactions hydrogène et hydrophobes en tant que des interactions favorables, tout en pénalisant la répulsion de la Stérique. Seul un petit nombre de poses est capable de passer à la troisième étape, où la minimisation de l'énergie est appliquée sur la base des grilles

⁹¹ R.A. Friesner, R.B. Murphy, M.P. Repasky, L.L. Frye, J.R. Greenwood, T.A. Halgren, P.C. Sanschagrin, D.T. Mainz, *Journal of medicinal chemistry*. **2006**, 49(21), 6177– 6196.

électrostatiques, des interactions van der Waals, et de force-field OPLS-AA. Enfin, les poses minimisées sont réévaluées à l'aide de *GlideScore*, une fonction de notation basée sur *ChemScore* mais qui diffère pour certains termes, tels que le calcul des déséquilibres électrostatiques. Le choix de la meilleure pose pour chaque ligand est donné par la fonction Emodel, qui combine la partition de la grille d'énergie, celle de *GlideScore*, et l'énergie interne de la molécule.

d) GOLD

Genetic Optimisation for Ligand Docking (GOLD)⁹². C'est un algorithme génétique pour le placement de ligands flexibles dans un site de liaison avec une protéine, et qui contient quatre différentes fonctions de forme physique :

— **GoldScore** ; La fonction de score GoldScore est la fonction de score originale utilisée dans le logiciel GOLD. Elle évalue les interactions entre le ligand et les atomes du site actif de la protéine en prenant en compte différents éléments. Cela inclut l'énergie des liaisons hydrogène, l'énergie électrostatique, l'énergie de van der Waals, les interactions potentielles avec des ions métalliques, ainsi qu'une pénalité basée sur la torsion du ligand. L'ensemble de ces critères permet d'estimer la qualité de l'interaction entre le ligand et le récepteur, contribuant ainsi à la prédiction du docking.

— **Chemscore** ; La fonction de score ChemScore a été introduite dans le logiciel GOLD en 2003. Cette fonction de score est basée sur l'adaptation par Baxter et al⁹³. de la fonction de score développée initialement par Eldridge et al⁹⁴. Elle a été dérivée empiriquement à partir de multiples régressions linéaires effectuées sur un ensemble de 82 complexes protéine-ligand provenant de la banque de données de protéines (PDB).

— **Astex Statistical Potential (ASP)**⁹⁵; La fonction de score ASP est une fonction de score de type "knowledge-based" qui est similaire à d'autres fonctions de score du même type, telles que PMF (Potentials of Mean Force) et Drugscore. Cette fonction de score est basée sur une analyse statistique des distances entre paires d'atomes dans les complexes protéine-ligand qui favorisent les interactions. Les distances utilisées dans la fonction de score ASP sont dérivées à partir d'une base de données de complexes protéine-ligand. Cette base de

⁹² M.L. Verdonk, J.C. Cole, M.J. Hartshorn, C.W. Murray, R.D. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*. **2003**, 52(4),609–623.

⁹³ C.A. Baxter, C.W. Murray, D.E. Clark, D.R. Westhead, M.D Eldridge, *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*. **1998**, 33(3), 367– 382.

⁹⁴ M.D. Eldridge, C.W. Murray, T.R. Auton, G.V. Paolini, R.P Mee, *Journal of computer-aided molecular design*. **1997**,11(5), 425–445.

⁹⁵ W. Mooij, M.L. Verdonk, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. **2005**, 61(2), 272–287.

données contient des informations sur les distances observées entre les atomes des protéines et des ligands dans ces complexes. En analysant ces données de manière statistique, la fonction de score ASP identifie les distances qui sont les plus favorables pour les interactions entre la protéine et le ligand. En utilisant cette fonction de score, il est possible d'évaluer la qualité de l'interaction entre la protéine et le ligand lors du processus de docking moléculaire. Cela permet de prédire et de classer les complexes protéine-ligand en fonction de leur affinité et de leur stabilité.

— *Piecewise Linear Potential (CHEMPLP)*⁹⁶ ; La fonction de score ASP est une fonction empirique qui intègre des termes énergétiques pour les liaisons hydrogène provenant de la fonction de score ChemScore, ainsi que plusieurs potentiels linéaires pour tenir compte des interactions de type van der Waals et des termes de répulsion. Cette fonction de score est reconnue pour sa rapidité, étant supérieure à ChemScore et jusqu'à cinq fois plus rapide que GoldScore. En termes de précision, la fonction de score ASP est généralement considérée comme plus précise que les autres méthodes pour le docking moléculaire et le criblage virtuel. Elle est d'ailleurs utilisée par défaut dans les dernières versions du logiciel GOLD. Les configurations de base de GOLD peuvent être ajustées par l'utilisateur en fonction des besoins du projet. Par exemple, GOLD peut prendre en compte la flexibilité du récepteur et propose différentes options de vitesse de calcul. De plus, GOLD offre la possibilité d'appliquer diverses contraintes pour garantir le maintien de liaisons hydrogène clés ou pour orienter les résultats du docking vers un modèle de liaison spécifique.

e) DOCK6

DOCK6⁹⁷ est un programme développé par l'Université de Californie à San Francisco, qui utilise un algorithme stochastique qui prend le nom d'anchor-and-growth ou anchor-first (premier ancrage). La figure II.8 montre l'interface du logiciel Dock6. L'algorithme de dock génère automatiquement autant d'orientations et de conformations que possible pour un ligand dans une poche du récepteur. La forme de la poche du récepteur est décrite par des sphères, et le centre de chaque sphère est considéré comme un point potentiel du Docking pour un atome du ligand. En utilisant la stratégie anchor-first, on prend en compte la flexibilité du ligand : d'abord, DOCK détecte les plus grandes sous-structures rigides des ligands, qui sont orientées de manière rigide vers le site actif au centre des sphères. Les différents « ancrages » sont évalués et classés en fonction de leur contribution énergétique à

⁹⁶ O. Korb, T. Stutzle, T.E. Exner, *Journal of chemical information and modeling*. **2009**, 49(1), 84–96.

⁹⁷ W.J. Allen, T.E. Balius, S. Mukherjee, S.R. Brozell, D.T. Moustakas, P.T. Lang, D.A. Case, I.D. Kuntz, R.C. Rizzo, *Journal of computational chemistry*. **2015**, 36, 15, 1132–1156.

travers une grille de notation, et par la suite les portions flexibles du ligand sont construites autour des conformations les plus probables de la structure rigide. La suite de programmes comprend :

- **sphgen** : Pour l'identification du site actif, et génération des sphères de Docking ;
- **grid** : Pour générer la grille (The grid) de scoring ;
- **dock6** : Pour effectuer le calculer de Docking.

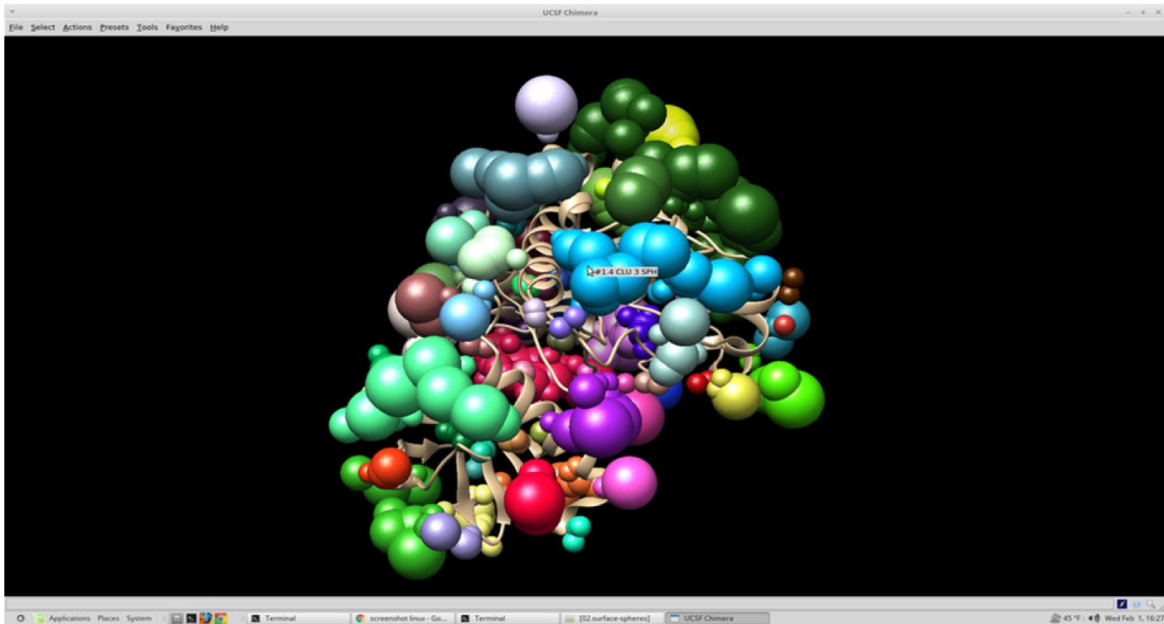


Figure II.8. Interface du logiciel Dock6.

f) PLANTS

Protein-Ligand ANT System (PLANTS)⁹⁸ un logiciel de Docking développé en 2006. L'algorithme d'amarrage PLANTS est basé sur une classe d'algorithmes stochastiques pour l'optimisation appelée Ant Colony Optimization (ACO), inspiré par le comportement des fourmis à trouver le chemin le plus court entre elles, et la bonne source de nourriture. Les fourmis utilisent un moyen de communication indirecte sous la forme de traces de phéromones qui marquent des voies entre la fourmi et la source de la nourriture. Dans le cas d'un amarrage de ligand-protéine, une colonie de fourmis artificielles est utilisée pour trouver la conformation d'énergie la plus basse du ligand dans son site de liaison. Les fourmis virtuelles sont utilisées pour imiter le comportement des vraies fourmis et marquer les conformations à basse énergie d'un ligand avec des traces de phéromones artificielles. Cette information est ensuite modifiée en itérations pour générer des configurations à haute

⁹⁸ O. Korb, T. Stützle, T.E. Exner, *Springer*, 2006, 247–258.

probabilité et faible énergie.

II.2. Simulation dynamique moléculaire

II.2.1 principe théorique

La dynamique moléculaire est une méthode de simulation qui permet d'étudier les interactions entre atomes et molécules au fil du temps, en prenant en compte les mouvements atomiques dans des conditions de température spécifiques. Cette approche permet de modéliser et d'analyser les comportements dynamiques des systèmes moléculaires, tels que les protéines, les complexes protéine-ligand, ou même les systèmes biologiques plus complexes⁹⁹.

L'équation de mouvement de Newton est la base théorique de la dynamique moléculaire. Elle s'écrit sous la forme différentielle suivante :

$$-\frac{dV}{d\mathbf{r}_i} = m_i \frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} \quad \text{Eq.5}$$

où la fonction d'énergie potentielle V , définie selon un champ de forces, est une fonction qui dépend des positions spatiales (x_i, y_i, z_i) de chaque atome i du système. La masse de chaque atome est représentée par m_i . L'équation met en évidence la corrélation entre les variations de l'énergie potentielle du système et les variations de position des atomes au fil du temps. Dans la première étape de la dynamique moléculaire, une configuration initiale du système moléculaire est donnée. Ensuite, une vitesse initiale "aléatoire" est attribuée à chaque atome du système en utilisant une fonction de distribution de probabilités basée sur la loi de Boltzmann (Eq. 6). Cette fonction permet de calculer la vitesse la plus probable pour chaque atome à une température T donnée.

$$f(v) = 4\pi \left(\frac{m}{2\pi kT} \right)^{3/2} v^2 \exp \left[\frac{-mv^2}{2kT} \right] \quad \text{Eq.6}$$

k est la constante de Boltzmann, m est la masse de l'atome et la vitesse v est la résultante des composantes dans les trois directions spatiales x, y et z :

$$v = \sqrt{v_x^2 + v_y^2 + v_z^2} \quad \text{Eq.7}$$

⁹⁹ J.C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R.D. Skeel, L. Kalé, K. Schulten, *Journal of Computational Chemistry*. **2005**, 26, 1781-1802.

À partir des coordonnées spatiales initiales des atomes, de leurs vitesses estimées et d'un pas de temps discret ($dt \approx \Delta t$), un algorithme d'intégration numérique est appliqué à l'équation de mouvement. Cet algorithme permet de calculer les nouvelles coordonnées spatiales de chaque atome du système au temps $(t + \Delta t)$. En répétant cette procédure de manière itérative, une séquence de configurations est obtenue, donnant un aperçu de l'évolution temporelle du système. Cette séquence de configurations est communément appelée "trajectoire".

Pour réaliser cette intégration numérique, différents algorithmes intégrateurs sont utilisés dans les logiciels de dynamique moléculaire. Parmi les plus couramment implémentés, on trouve les algorithmes de Verlet et de Verlet-Leapfrog. Ces algorithmes permettent de calculer les positions et les vitesses des atomes à chaque pas de temps en utilisant des approximations numériques basées sur les équations de mouvement. Ils sont efficaces et largement utilisés en raison de leur précision et de leur stabilité dans la simulation de la dynamique moléculaire¹⁰⁰.

II.2.2. Paramètres de mise en œuvre

La mise en œuvre des simulations de dynamique moléculaire nécessite également la définition d'autres paramètres, tels que la température, le pas d'intégration (Δt), la durée de la trajectoire et l'ensemble thermodynamique utilisé.⁶⁹.

- La température est un paramètre fondamental dans les simulations de dynamique moléculaire, car elle détermine l'agitation thermique du système. Cette agitation est représentée par les vitesses initiales des atomes, qui sont généralement déterminées de manière "aléatoire" en suivant une distribution de probabilités de Maxwell-Boltzmann (Eq. 6, ci-dessus).
- Le pas d'intégration définit la taille de l'intervalle de temps entre chaque mise à jour des positions et des vitesses des particules. Il doit être choisi avec soin pour éviter les erreurs numériques dues à la discrétisation de l'équation de mouvement. Dans de nombreux cas, un pas d'intégration de $\Delta t = 1$ femtoseconde (1 fs) est couramment utilisé. Cette valeur est choisie en se basant sur la fréquence d'élongation la plus rapide des liaisons covalentes dans les systèmes moléculaires courants, en particulier les liaisons impliquant des atomes d'hydrogène. Le choix du temps de trajectoire doit être adapté aux ressources informatiques disponibles et au système modélisé. Il doit être suffisamment court pour permettre des calculs dans un délai raisonnable, tout en étant

¹⁰⁰ P. Rabinowitz, P.J. Davis, *Methods of Numerical Integration*, 2007.

assez long pour représenter de manière réaliste le phénomène étudié. Par exemple, des trajectoires de l'ordre de la nanoseconde sont généralement adéquates pour étudier le comportement d'un ligand dans le site actif d'une protéine, tandis que les changements conformationnels d'une chaîne protéique ne peuvent être observés qu'après des temps de l'ordre de la milliseconde.

- Dans les simulations de dynamique moléculaire, l'utilisation d'ensembles thermodynamiques permet de spécifier les conditions pour les variables macroscopiques du système, telles que la température, la pression et le volume. Ces ensembles permettent de contrôler et de reproduire au mieux les conditions expérimentales correspondantes. Les trois ensembles thermodynamiques couramment utilisés sont les suivants :
 - L'ensemble microcanonique (NVE) : Dans cet ensemble, le système est isolé et conserve une énergie totale constante (N pour le nombre de particules, V pour le volume, et E pour l'énergie). La température n'est pas contrôlée explicitement, mais elle émerge de manière dynamique à partir des interactions entre les particules. Cet ensemble est souvent utilisé pour des simulations à l'état solide ou lorsque la température n'est pas un paramètre d'intérêt spécifique.
 - L'ensemble canonique (NVT) : Dans cet ensemble, la température (T) est contrôlée de manière constante, tandis que le nombre de particules (N) et le volume (V) restent constants. Cela se fait en couplant le système à un thermostat, qui régule les échanges d'énergie avec l'environnement pour maintenir une température constante. L'ensemble canonique est couramment utilisé pour simuler des systèmes en équilibre thermique avec leur environnement à une température donnée.
 - L'ensemble isobare-isotherme (NPT) : Dans cet ensemble, à la fois la température (T) et la pression (P) sont contrôlées de manière constante, tandis que le nombre de particules (N) est conservé. Cela se fait en couplant le système à un thermostat et un barostat, qui maintiennent à la fois la température et la pression constantes. L'ensemble NPT est couramment utilisé pour simuler des systèmes dans des conditions expérimentales réalistes, où la température et la pression doivent être maintenues constantes.

Le choix de l'ensemble thermodynamique dépend des objectifs spécifiques de la simulation et des conditions expérimentales que l'on souhaite reproduire. Il est important de noter que chaque ensemble a ses propres limitations et considérations, et il est essentiel de sélectionner judicieusement l'ensemble approprié en fonction du système étudié et des questions de recherche. Lorsque des simulations de dynamique moléculaire sont effectuées dans le vide,

il est possible que les molécules de solvant s'éloignent les unes des autres et s'évaporent du système. Pour éviter ce phénomène, on peut utiliser des "conditions périodiques" ou "conditions de frontière" (PBC, pour Periodic Boundary Conditions).

Le concept des PBC consiste à reproduire la maille unitaire de la simulation dans un espace tridimensionnel. Cette maille unitaire contient une ou plusieurs macromolécules entourées de molécules de solvant. Lorsqu'une molécule de solvant traverse une face de la maille, elle réapparaît de l'autre côté avec la même vitesse, de sorte qu'elle n'est pas perdue et reste dans le système ¹⁰¹ (Fig. II.9). Chaque répétition de la maille unitaire est communément appelée une "image", tandis que les molécules présentes dans ces répétitions sont désignées comme des "molécules fantômes". En théorie, il est possible de reproduire la maille centrale de manière infinie dans les trois directions de l'espace. Cependant, dans la plupart des cas, on reproduit la maille centrale en triple dans chaque direction.

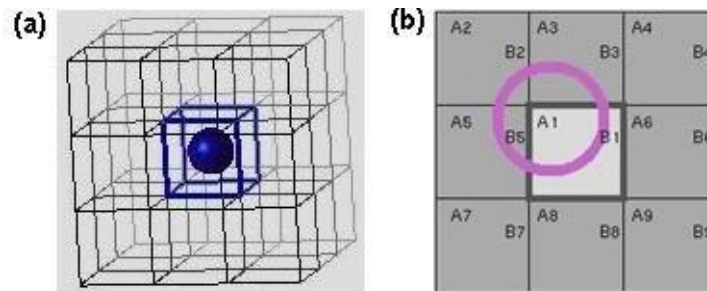


Figure II.9. (a) Une molécule de soluté (sphère bleue) entourée par une cellule cubique de solvant répliquée en trois dimensions. (b) Vue schématique du système, montrant que chaque molécule interagit avec, au maximum, une image de chaque molécule « réelle » (B1 et B5 étant la même molécule, A1 ne doit interagir qu'avec l'une des deux)⁷¹.

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté un aperçu bibliographique sur le docking moléculaire en détaillant son principe et leurs étapes typiques. Nous avons donné plusieurs exemples de logiciels utilisés à ce stade en expliquant le principe de chacun d'entre eux. Nous avons préalablement intégré la notion de dynamique moléculaire avant le docking afin d'incorporer l'information sur la variabilité structurale de la cavité. De plus, nous avons décrit les fonctions de scoring et expliqué la manière dont les informations qu'elles

¹⁰¹ M.P. Allen, D. Tildesley, *Computer Simulations of Liquids*. 1987.

fournissent doivent être interprétées. Cette approche combinée de dynamique moléculaire et de scoring offre une compréhension plus approfondie des interactions moléculaires et permet une meilleure évaluation des résultats du docking.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Synthèse des *N*-acylsulfonamides à partir d'isocyanate de chlorosulfonyle

La synthèse des *N*-acylsulfonamides a été réalisée en deux étapes^{102,103}; carbamoylation et sulfamoylation à partir du cyclohexanol ou du méthoxy-phénol en utilisant la bifonctionnalisation de l'isocyanate de chlorosulfonyle ICS, qui est le réactif de base pour introduire le groupement sulfonyle.

- Réaction de carbamoylation

Dans cette étape, l'addition du cyclohexanol ou du méthoxy-phénol sur l'isocyanate de chlorosulfonyle dans le dichlorométhane (CH_2Cl_2) anhydre à 0 °C permet la formation de carbamate de *N*-chlorosulfonyle, pendant une demi-heure.

- Réaction de sulfamoylation

Dans la deuxième étape, la sulfamoylation est effectuée par l'addition le carbamate de *N*-chlorosulfonyle résultant sur une solution de la morpholine en présence de triéthylamine (TEA) à 0°C. La réaction a été achevée en 2 heures et les *N*-acylsulfonamides formés ont été obtenus avec de bons rendements, après recristallisation dans l'éther diéthylique (Schéma III.1).

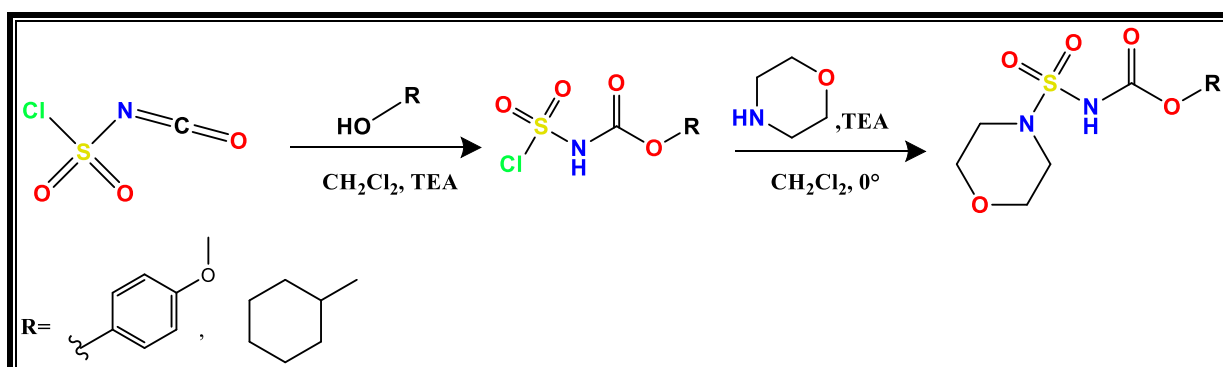


Schéma III.1. Synthèse des *N*-acylsulfonamides.

Etude structurale

En RMN ^1H , La structure du *N*-acylsulfonamide a été caractérisée par l'apparition de deux triplets vers 3.75 et 3.45 ppm correspondent aux huit protons des quatre groupements $2\text{CH}_2\text{-N}$ et $2\text{CH}_2\text{-O}$ de la morpholine, les trois protons du groupement méthoxy $\text{CH}_3\text{-O}$ résonnent sous forme d'un singulet à 3.77 ppm et les quatre protons de cycle aromatique du composé **M1**

¹⁰² M. Berredjem, R. Bouasla, N. E. Aouf, C. Barbey, *X-ray Struct.*, **2010**, 26, 13–14.

¹⁰³ F. Bouchareb, W. Boufas, H. Cheloufi, M. Berredjem, N. E. Aouf, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2014**, 189(5), 587–595.

résonnent sous forme de deux doublets entre [6.85-7.11] ppm. La structure du composé **M2** a été caractérisée par l'apparition de trois multiplets entre [1.23-1.93] ppm correspond aux dix protons du cyclohexyl et les huit protons de la morpholine sortent sous forme de deux multiplets entre [3.38-3.76].

En RMN 13C, La structure du *N*-acylsulfonamide est caractérisée par l'apparition de trois signaux caractéristiques des **C=O** et **2Cq** situés dans l'intervalle [158-143] ppm. Les **4(CH₂)** de la morpholine résonnent dans l'intervalle [55- 66] ppm.

En IR, les structures sont confirmées par les bandes d'absorption de groupement **NH** entre [3124-3284] cm^{-1} , une bande d'absorption entre [1733-1742] cm^{-1} de la fonction carbonyle **C=O** et deux bandes intenses entre [1357.87 -1380] et [1154-1156] cm^{-1} qui correspondent au groupement **SO₂**.

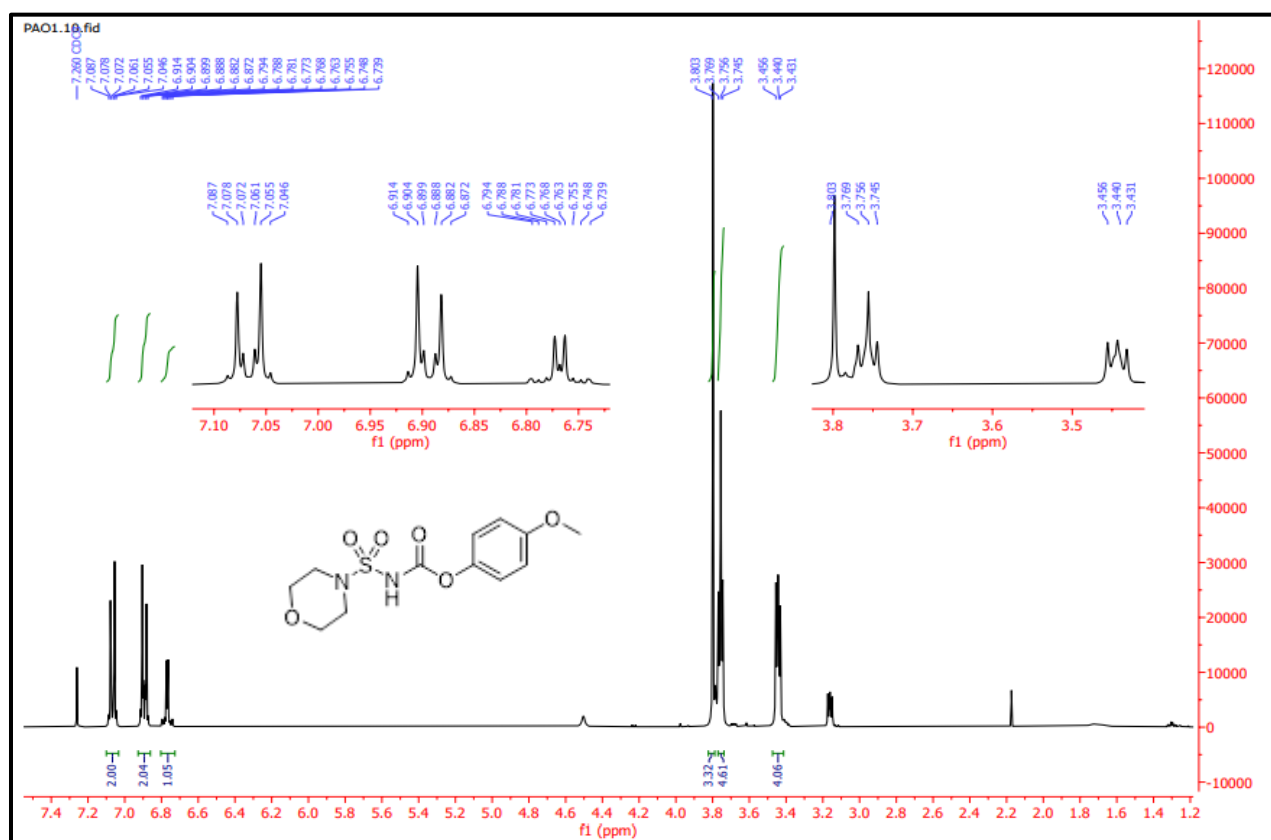


Figure III.1. Spectre RMN ¹H du *N*-acylsulfonamide **M1**.

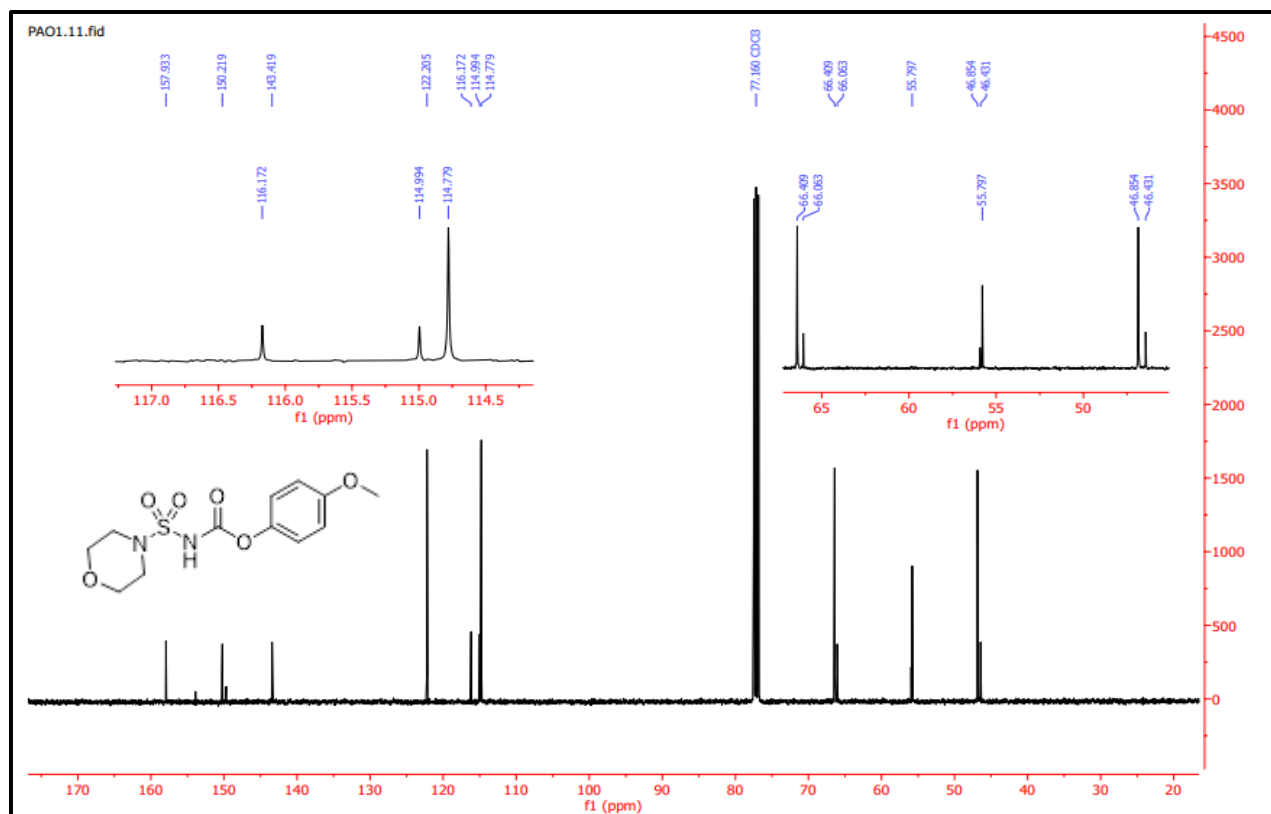


Figure III.2. Spectre RMN ¹³C du *N*-acylsulfonamide M1.

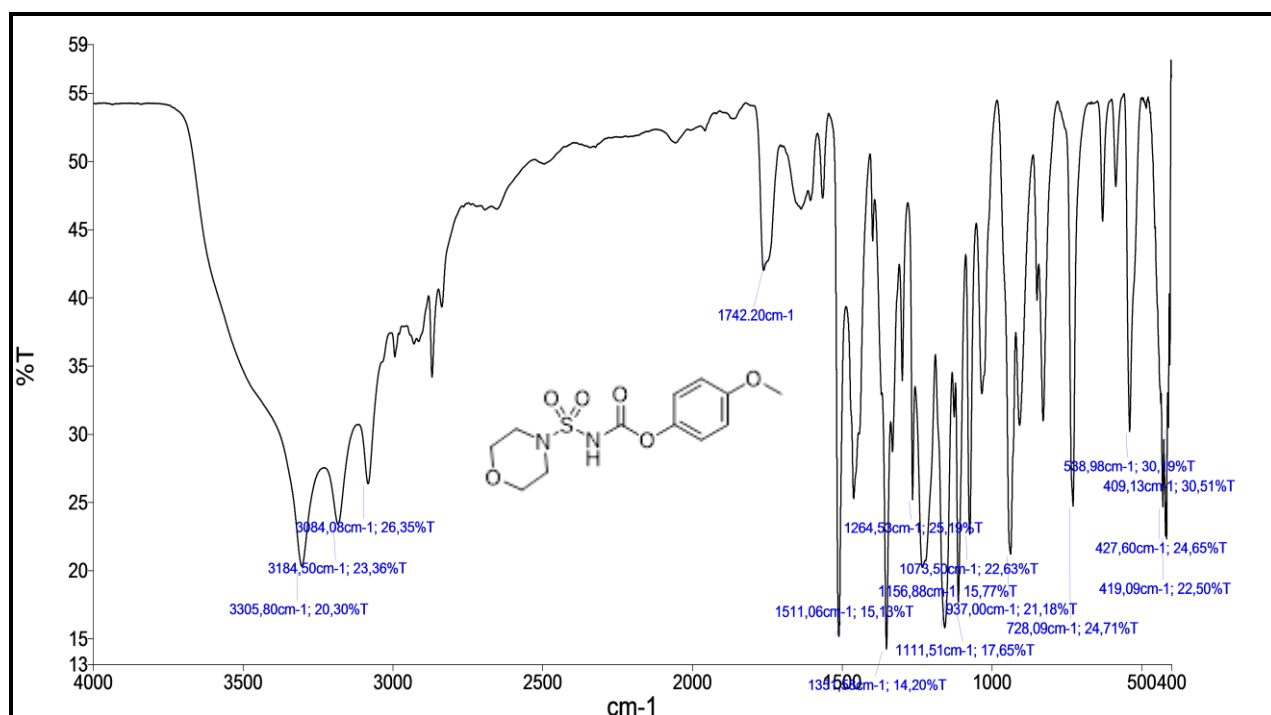


Figure III.3. Spectre IR du *N*-acylsulfonamide M1.

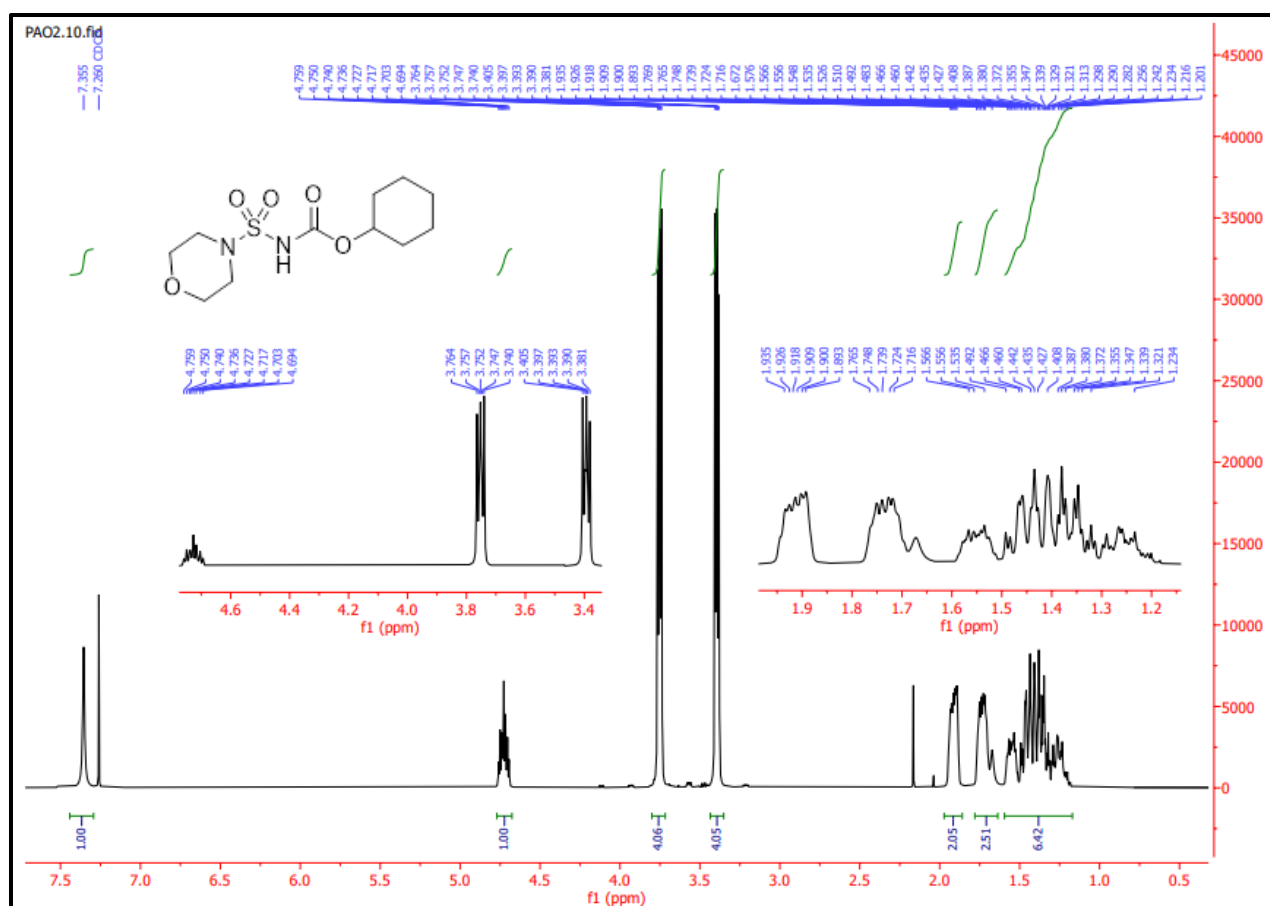


Figure III.4. Spectre RMN ^1H du *N*-acylsulfonamide M2.

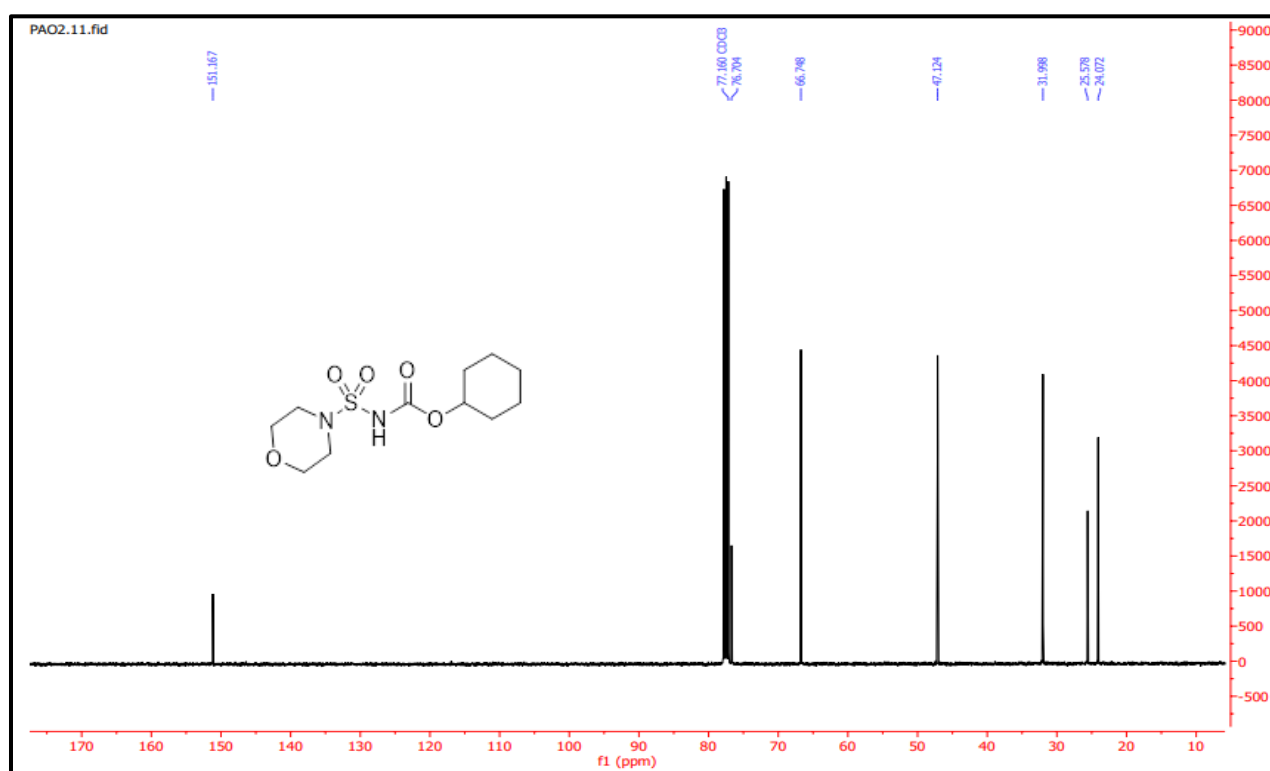


Figure III.5. Spectre RMN ^{13}C du *N*-acylsulfonamide M2.

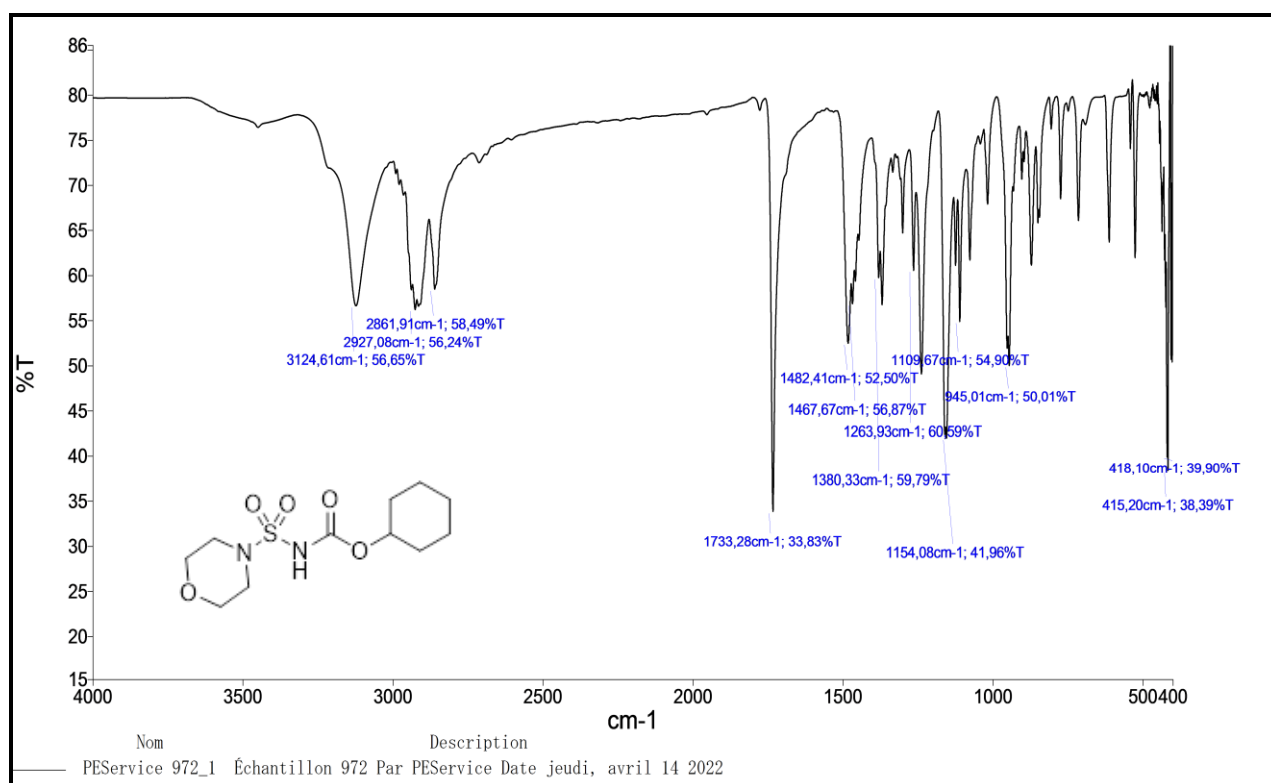


Figure III.6. Spectre IR du *N*-acylsulfonamides **M2**.

Les *N*-acylsulfonamides ont été obtenus sous forme de poudre blanche après une recristallisation dans l'éther diéthylique avec de bons rendements 82 et 85 % (tableau III.1).

Tableau III.1. Caractéristiques des dérivés des *N*-acylsulfonamides synthétisés.

Entré	Composé	Formule brute	Rdt (%)	T _f (°C)
M1	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)OC(=O)NS(=O)(=O)N2CCOCC2</chem>	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₆ S	85%	158-160
M2	 <chem>C1CCN(C1)S(=O)(=O)NC(=O)O2CCCCC2</chem>	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₅ S	82%	118-120

III.1.1. Etude théorique

III.1.1.1. Etude de Docking moléculaire

La structure de protéine de la DHPS (Dihydroptérate Synthase de *Versinia pestis*, PDB ID **3TZF**)¹⁰⁴ a été téléchargée à partir de la banque de données des protéines du RCSB (<http://www.pdb.org>)¹⁰⁵ et a été sélectionné comme récepteur pour l'étude d'amarrage. Ce récepteur a été préparé, optimisé et minimisé à l'aide du protocole de l'assistant de préparation des protéines par la suite de Schrödinger¹⁰⁶. Ensuite, les ligands ont été préparés par le *LigPrep version 3.8* pour définir correctement les états de protonation et les types d'atomes. Les ordres de liaison ont été attribués et les atomes d'hydrogène ont été ajoutés aux structures. Le fichier de grille pour 3TZF a été généré à l'aide du protocole *Glide Grid Generation* dans *MAESTRO version 16.8* avec les ligands liés comme centroïdes. Le facteur d'échelle pour le récepteur van der Waals pour les atomes non polaires a été fixé à 0,8 pour permettre une certaine plasticité. Les autres paramètres ont été définis par défaut. Le docking flexible a été effectué avec le mode d'amarrage simple précision (SP).

L'enzyme dihydroptérate synthase est responsable de la synthèse des folates bactériens. Où, la synthèse de folate est une voie cruciale pour la préparation des acides aminés¹⁰⁷. Le DHPS possède deux poches de connexion ; la première lie le pyrophosphate de dihydroptérine (DHPP) et la seconde lie l'acide p-aminobenzoïque (pABA)¹⁰⁸. Zhao et al.¹⁰⁹, ont rapporté que les résidus d'acides aminés Asp96, Asn115, Asp185, Lys221 et Arg255 sont essentiels pour l'interaction avec la ptérine, tandis que, Phe190, Lys221 et Ser222 sont cruciaux pour l'interaction avec le PABA La dihydroptérate synthase (DHPS) représente la cible de sulfamides antibactériens¹¹⁰. Par conséquent, l'objectif de cette étude est d'explorer le mode d'interaction de notre dérivés (*N*-acylsulfonamides) à l'intérieur de la poche de DHPS en utilisant l'étude de docking computationnel¹¹¹. La validation de la méthodologie d'amarrage a

¹⁰⁴ M. K. Yun, Y. Wu, Z. Li, Y. Zhao, M. B. Waddell, A. M. Ferreira, R. E. Lee, D. Bashford, S. W. White, *Science (New York, NY)*, **2012**, 335, 1110–1114.

¹⁰⁵ H. M. Berman, T. Battistuz, T. N. Bhat, *Biol. Crystallogr.*, **2002**, 58, 899–907.

¹⁰⁶ G. M. Sastry, M. Adzhigirey, T. Day, R. Annabhimoju, W. Sherman, *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **2013**, 27, 221–234.

¹⁰⁷ J. Slock, D. P. Stahly, C. Y. Han, E. W. Six, I. P. Crawford, *Journal of Bacteriology*, **1990**, 172, 7211–7226.

¹⁰⁸ K. E. Hevener, M. Yun, J. Qi, I. D. Kerr, K. Babaoglu, J. G. Hurdle, K. Balakrishna, S. W. White, R. E. Lee, *J. Med. Chem.*, **2010**, 53, 166–177.

¹⁰⁹ Y. Zhao, W. R. Shadrack, M. J. Wallace, Y. Wu, E. C. Griffith, J. Qi, M. K. Yun, S. W. White, R. E. Lee, *Bioorg Med. Chem. Lett.*, **2016**, 26, 3950–3954.

¹¹⁰ M. L. Dennis, M. D. Lee, J. R. Harjani *Chemistry*, **2018**, 24, 1922–1930.

¹¹¹ I. D. Kuntz, *Science (New York, NY)*, **1992**, 257, 1078–1082.

été réalisée par re-docking du ligand co-cristallisé (sulfaméthoxazole) et elle a été faite avec succès avec une RMSD $<1\text{\AA}$ (Figure III.7).

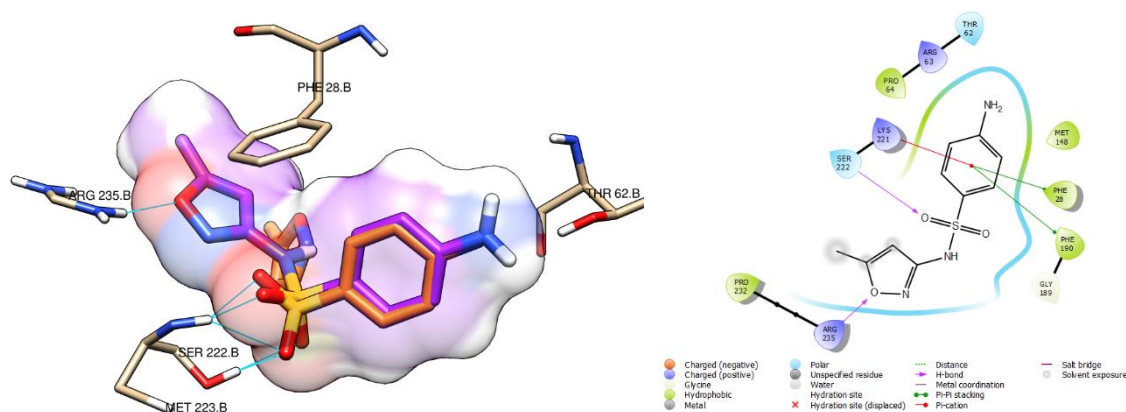


Figure III.7. Re-docking du ligand co-cristallisé, les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.

Afin d'établir un mode d'interaction provisoire et de comprendre la différence d'inhibition observée entre les dérivés d'intérêt (2 ligands : **M1** et **M2**), nous avons docké tous ces ligands à l'intérieur de la structure cristalline **DHPS** en utilisant le protocole *Glide Grid Generation* dans MAESTRO. Les composés ont été classés par les valeurs de docking score dans le tableau III.2.

Tableau III.2. Classement des deux dérivés de *N*-acylsulfonamide après l'étude docking.

Composé	Docking score (kcal/mol)
M1	-5.279
M2	-5.028
Ligand co-cristallisé	-6.100

Lorsque les poses de docking du composé **M1** dans **DHPS** ont été analysés, on peut voir que ce composé a formé cinq interactions dans le site actif de l'enzyme **DHPS** ; trois liaisons hydrogène, une interaction d'empilement p-p et une interaction p-cation. La première liaison hydrogène est observée entre l'atome d'oxygène de ligand et le résidu SER222 (Figure III.8), la seconde liaison hydrogène a été formé entre le groupe carbonyle et le résidu ARG235, et la dernière est également observée entre l'atome d'oxygène de la morpholine et le ARG63. L'interaction p-p se fait entre le cycle de phényle du composé et le résidu PHE28, le même cycle a formé l'interaction p-cation avec le résidu LYS221.

Selon les poses de docking du composé **M2**, deux liaisons hydrogène ont été observées entre les deux atomes d'oxygène du groupe sulfonyle et le résidu de SER222 comme indiqué dans la version 3D dans la figure III.9.

Les résultats de docking ci-dessus ont démontré que ces nouveaux *N*-acylsulfonamides ont été accommodés avec la cavité de DHPS notamment le composé **M1**, qui a un bon docking score et un nombre important d'interactions avec les résidus protéiques en comparant avec le ligand co-cristallisé.

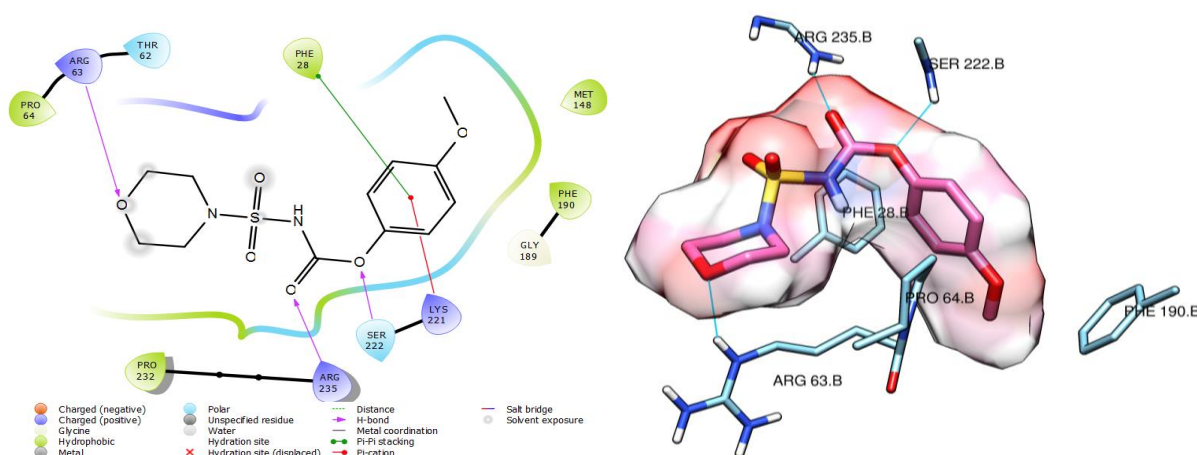


Figure III.8. Analyse du Docking moléculaire du composé **M1** (rose) dans le site d'action de la DHPS (PDB id 3TZF), les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.

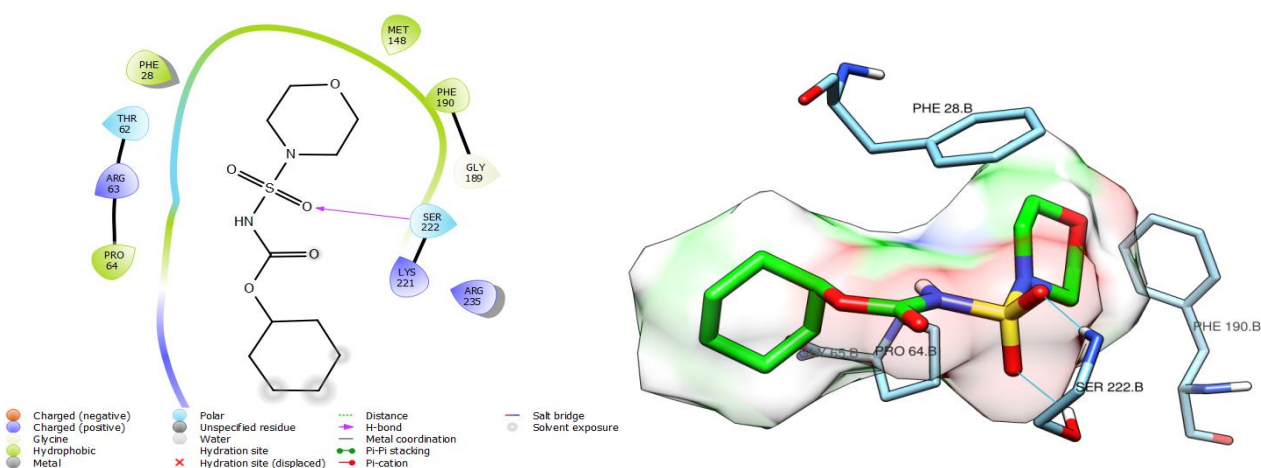


Figure III.9. Analyse de docking moléculaire du composé **M2** (vert) dans le site d'action de la DHPS (PDB id 3TZF), les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.

III.1.1.2. Etude de simulation dynamique moléculaire

Les deux complexes dockés ont été sélectionnés et soumis à la simulation de dynamique moléculaire classique (DM) en utilisant le logiciel Desmond de la suite Schrödinger. Les

complexes récepteur-ligands ont été prétraités à l'aide de l'assistant de préparation des protéines (*Protein Preparation Wizard*) de Maestro, suivi par une optimisation et minimisation des complexes. Les complexes protéine-ligand ont été insérés dans la boîte orthorhombique d'un modèle d'eau TIP3P prédéfini, les ions (Na^+ et Cl^-) ont été ajoutés pour neutraliser la charge globale du système, le volume de la boîte a été également minimisé. Dans la simulation, le champ de force OPLS 2005 a été utilisé¹¹². La pression et la température ont été maintenues constantes à 300 K et 1,0132 bar, et l'ensemble NPT a été utilisé pour effectuer des simulations en tenant compte du nombre d'atomes, de la pression et de l'échelle de temps. Les modèles ont été détendus avant la simulation. Les trajectoires ont été sauvegardées pour une examination après chaque 100 ps, et la stabilité de la simulation a été vérifiée par comparaison avec l'écart quadratique moyen de la protéine et du ligand (RMSD) dans le temps¹¹³.

Pendant 50 nanosecondes, le logiciel Desmond a été utilisé pour modéliser la dynamique moléculaire¹¹⁴. La phase la plus précoce des complexes récepteurs et ligands pour la simulation de la dynamique moléculaire a été le docking (l'amarrage). Les études du docking moléculaire peuvent prédire l'état de liaison du ligand dans des situations statiques. Le docking est utile car il fournit une vue statique de la pose de liaison d'une molécule dans le site actif d'une protéine¹¹⁵. En intégrant l'équation classique du mouvement de Newton, les simulations MD calculent généralement les mouvements des atomes à travers le temps.

Pour évaluer la flexibilité résiduelle du récepteur (Carbones-alpha) via la simulation DM. Le graphe du RMSD a été généré pour évaluer le comportement structurel des protéines. La figure III.10 représente l'évolution des valeurs RMSD pour les atomes C-alpha des protéines liées au ligand à travers le temps. Selon le tracé du RMSD (Figure III.10 : A), le complexe Protéine-M1 a atteint la stabilité à 10 ns. Par la suite, les fluctuations des valeurs RMSD restent inférieures à 1,0 Angström pendant toute la durée de la simulation, ce qui est parfaitement bien. Le ligand a fluctué entre 1,5 Angström jusqu'à 50 ns, après avoir obtenu l'équilibre et il est resté stable pendant toute la durée de la simulation.

Le graphe du RMSD du complexe Protéine-M2 (Figure III.10 : B) montre que le complexe a atteint la stabilité à 10 ns. Puis, les fluctuations des valeurs RMSD pour les atomes C-alpha des

¹¹² D. Shivakumar, J. Williams, Y. Wu, W. Damm, J. Shelley, W. Sherman, *J. Chem. Theory Comput.*, **2010**, 6, 1509–1519.

¹¹³ V. N. Maiorov, G. M. Crippen, *J. Mol. Biol.*, **1994**, 235, 625–634.

¹¹⁴ K. J. Bowers, D. E. Chow, H. Xu, R. O. Dror, M. P. Eastwood, B. A. Gregersen, J. L. Klepeis, I. Kolossvary, M. A. Moraes, F. D. Sacerdoti, J. K. Salmon, Y. Shan, D. E. Shaw, *Proceedings of the 2006 ACM/IEEE Conference on Supercomputing*, **2006**, 43.

¹¹⁵ L. G. Ferreira, R. N. D. Santos, G. Oliva, A. D. Andricopulo, *Molecules*, **2015**, 20, 13384–13421.

protéines restent inférieures à 1,0 Angström pendant la période de simulation. Le RMSD du ligand après 3,5 ns a été augmenté à 23 Angström par un retournement de ligand. Après cela, les valeurs du RMSD du ligand ont été adaptés à la protéine et il a oscillé à moins de 1,5 Angström jusqu'à 50 ns. Le complexe Protein-Ligand/réf a atteint la stabilité à 10 ns (Figure III.10 : C), selon le tracé RMSD. Ensuite, pendant la période de simulation, les changements dans les valeurs RMSD restent à moins de 2,0 et les valeurs RMSD du ligand fluctuent entre 1,5 Angström et jusqu'à 50 ns.

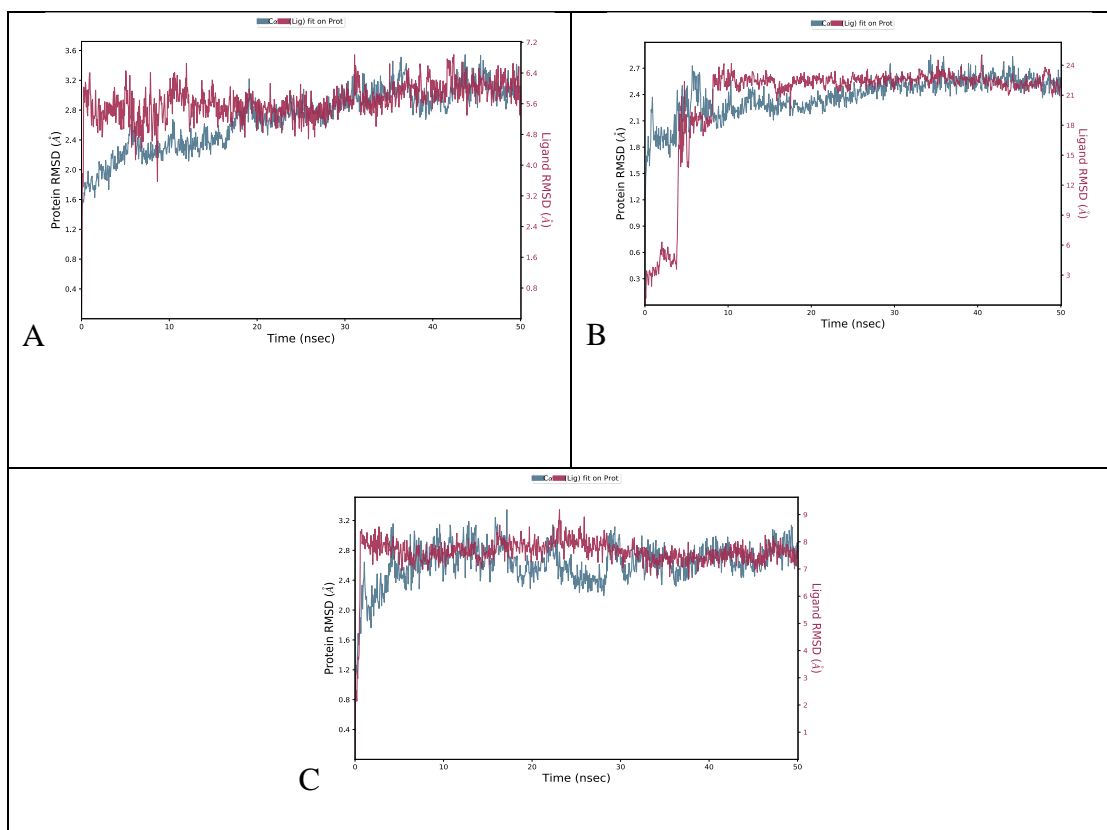


Figure III.10. Déviation quadratique moyenne (RMSD) des atomes C-alpha des protéines et des ligands (A: Protein-M1, B: Protein-M2, C: Protein-Ligand/réf) avec le temps. L'axe Y a gauche montre la variation des RMSD de la protéine et l'axe Y a droite montre la variation des RMSD du ligand à travers le temps.

Le RMSF est utile pour caractériser les changements locaux le long de la structure protéique. Les valeurs RMSF des protéines couplées aux ligands ont été montrées dans la figure III.11. Les résidus avec les pics les plus élevés appartiennent aux zones de boucle ou N et C-terminal, comme montré par les trajectoires DM (Figure III.11). La stabilité de la liaison du ligand à la protéine est indiquée par des faibles valeurs RMSF. Les pourcentages d'hélice et de brin dans le complexe protéine-M1 ont été déterminés à 35,48 % et 12,56 %, respectivement, et les éléments

de la structure secondaire globale ont été trouvés à 48,05 % (Figure III.12 : A). L'hélice et le brin ont représentés 36,91 % et 13,09 %, respectivement pour le complexe protéine-M2, et les éléments de la structure secondaire globale ont été trouvés à 50 % au total (Figure III.12 : B). Dans le cas de Protein-Ligand-ref, le les pourcentages de Helix et Strand ont été 37,35 % et 13,42 %, respectivement, et le total des éléments de la structure secondaire ont été trouvés à 50,77 %.

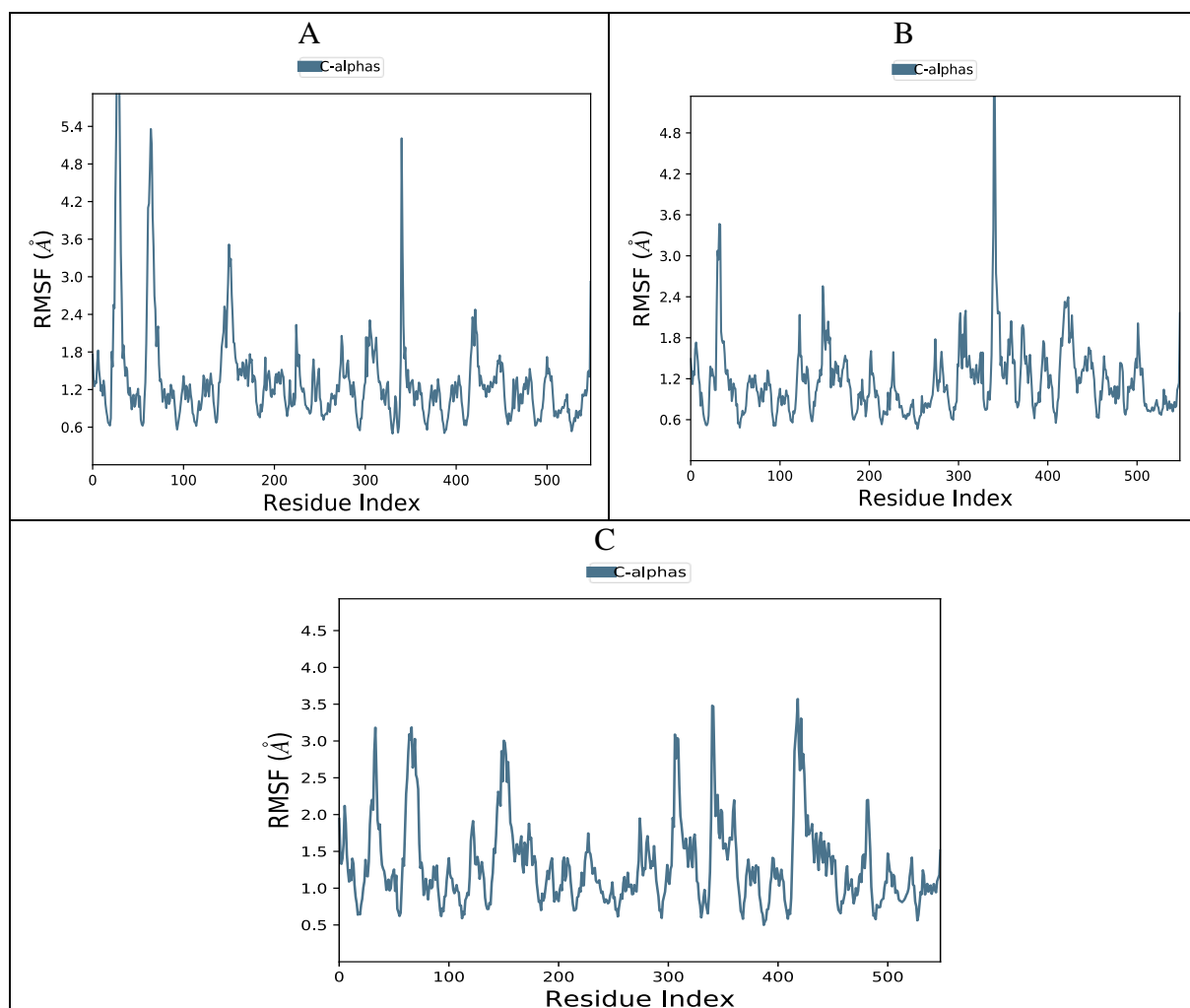


Figure III.11. Fluctuation quadratique moyenne des résidus (RMSF) des complexes protéiques (A : Protéine-M1, B : Protéine-M2, C : Protéine-Ligand/réf).

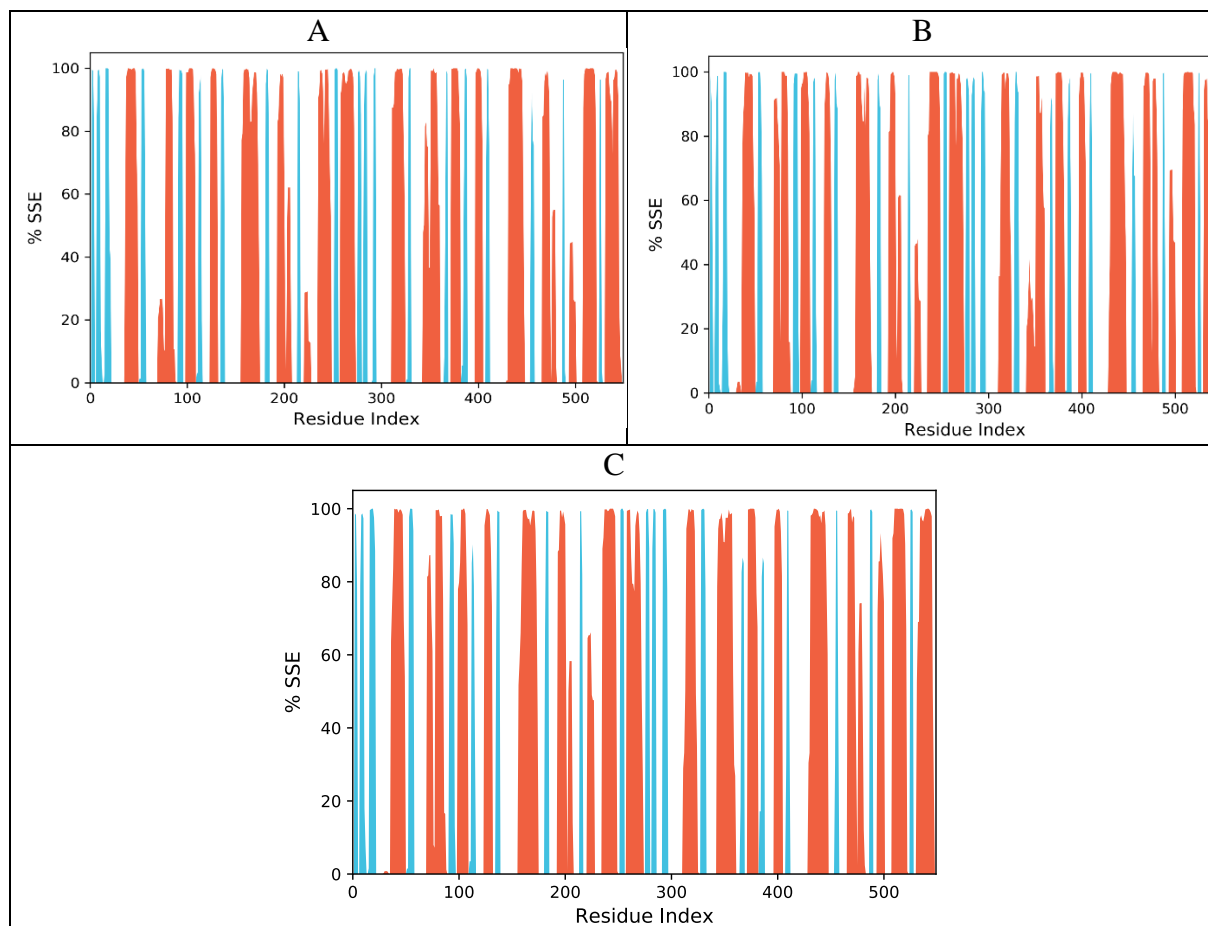


Figure III.12. Répartition des éléments de la structure secondaire des protéines par indice de résidu dans toutes les structures protéiques complexées avec le ligand (A : Protéine-**M1**, B : Protéine-**M2**, C : Protéine-Ligand/réf). Les colonnes rouges indiquent les hélices alpha et les colonnes bleues indiquent les bêta -brins.

Comme on le voit dans figure III.13, la plupart des interactions significatives protéine-ligand qui ont été déterminées par DM sont des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes. Pour le complexe Protéine-**M1**, en termes d'interactions hydrophobes, PHE 28, LYS 221 et ARG 255 sont les plus importants, alors que ARG 255 est important en termes de liaison hydrogène (Figure III.13 : A). Le résidu GLU 270 est vital pour les liaisons hydrogène dans le cas du complexe protéine-**M2** (Figure III.13 : B). Pour le complexe Protéine-Ligand/ref, les résidus PHE 28, ILE 117, PHE 190 et ARG 220 sont les plus cruciaux en termes d'interactions hydrophobes, et les résidus THR 62, SER 219 et HIS2 57 ont produit des contacts de liaisons hydrogène (Figure III.13 : C). Les diagrammes à barres empilées ont été normalisés au cours de la trajectoire : par exemple, une valeur de 1,0 indique que l'interaction a été maintenue à 100 % à travers le temps de la simulation. Parce que certains résidus protéiques peuvent faire

plusieurs interactions du même sous-type avec le ligand et donc les valeurs supérieures à 1.0 sont réalisables.

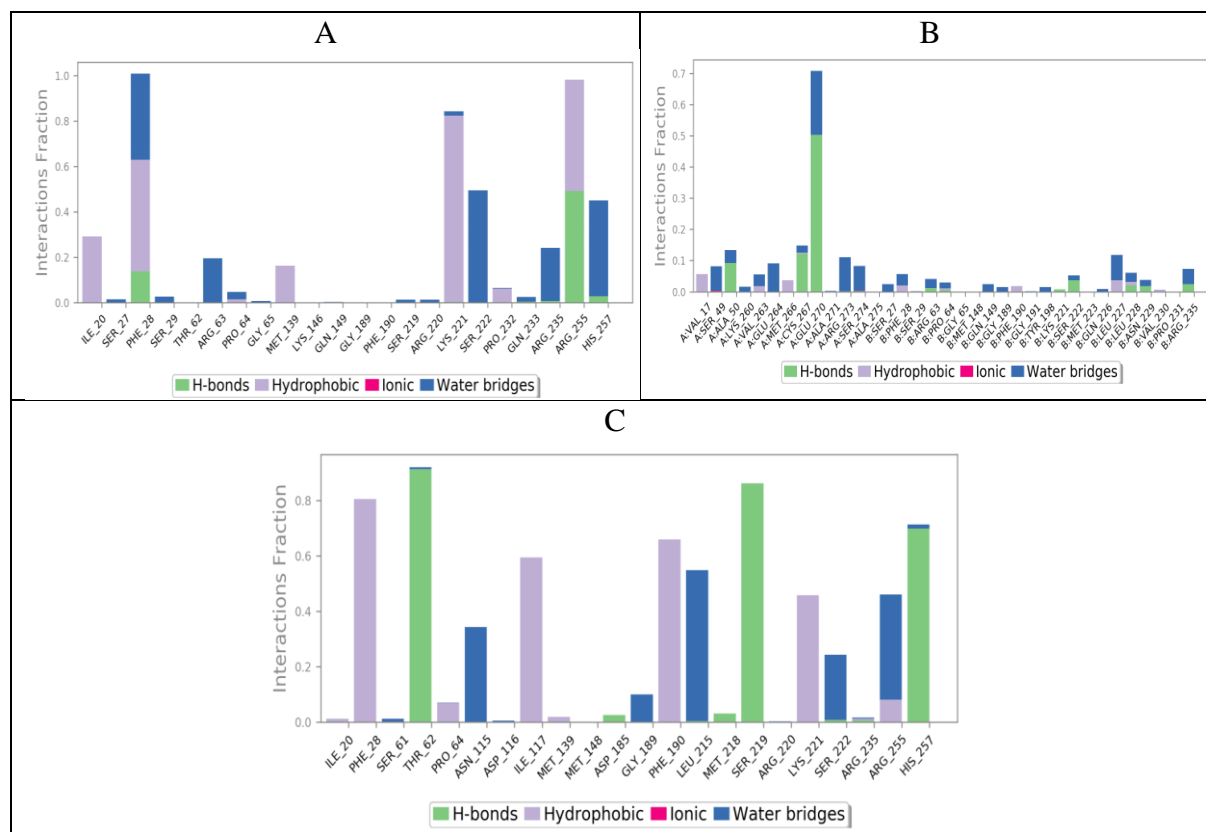


Figure III.13. L'histogramme de contact protéine-ligand (A : protéine-M1, B : protéine-M2, C : protéine-ligand/ref).

III.1.1.2. Etude DFT

Les orbitales moléculaires frontières connues par la plus haute orbitale occupée (HOMO) et la plus basse orbitale inoccupée (LUMO) sont des paramètres critiques pour connaître la réactivité chimique des molécules. L'orbitale HOMO signifie la capacité de donner un électron, tandis que celui de LUMO signifie la capacité d'accepter un électron. Ces orbitales sont indispensables pour prédire les caractéristiques électriques d'une molécule ainsi que sa réactivité vis-à-vis d'autres espèces¹¹⁶. Il est connu que l'énergie E_{HOMO} est directement proportionnelle au potentiel d'ionisation, en revanche l'énergie E_{LUMO} est proportionnelle à l'affinité électronique. Les orbitales HOMO et LUMO des composés synthétisés ont été étudiés afin d'indiquer les propriétés d'excitation qualitativement. Selon la littérature, certaines molécules bioactives

¹¹⁶ M.Guerfi, M. Berredjem, R. Bahadi, S. E. Djouad, A. Bouzina, M. Aissaoui, *J. Mol. Struct.*, **2021**, 1236, 130327.

potentielles ont été identifiées à l'aide d'indices d'électrophilie et les plus faibles valeurs de potentiel chimique^{117, 118, 119}.

Au cours de ce travail, une étude de la théorie fonctionnelle de la densité (DFT) a été réalisée afin d'étudier la réactivité chimique de deux composés *N*-acylsulfonamides.

- **Optimisation de la géométrie**

La DFT utilisant la méthode (B3LYP)¹²⁰ et la base 6-31G (d,p) ont été employées afin d'optimiser les structures des composés étudiés. Tous les calculs ont été effectués en appliquant le logiciel Gaussian09¹²¹ et le Gauss view 5.0 pour la visualisation¹²².

- **Réactivité chimique des *N*-acylsulfonamides**

Les énergies HOMO, LUMO ainsi que leur Egap (HOMO-LUMO) calculées en employant la méthode DFT B3LYP/6-31G (d,p) sont présentées dans le tableau III.3. Le potentiel d'ionisation (I), l'affinité électronique (A), l'électronégativité (χ), la dureté (η), l'indice d'électrophilie (ω) et la mollesse (S)^{123, 124 et 125} ont été calculés à partir des énergies E_{HOMO} et E_{LUMO} , les valeurs sont également illustrées dans (Tableau III.3).

Tableau III.3. Energie (HOMO, LUMO), gap énergie et paramètres de réactivité des *N*-acylsulfonamides étudiés (M1, M2).

Descripteurs (eV)	M1	M2
E_{HOMO}	- 5.8967	- 7.1473
E_{LUMO}	- 0.1774	- 0.5243
ΔE_{gap}	5.7193	6.6230
$I = - E_{\text{HOMO}}$	5.8967	7.1473
$A = - E_{\text{LUMO}}$	0.1774	0.5243
$\chi = (I+A)/2$	3,0370	3,8358
$\mu = - (I+A)/2$	- 3,0370	- 3,8358
$\eta = (I-A)/2$	2,8596	3,3115
$S = 1/2\eta$	0,1748	0,1509
$\omega = \mu^2/2\eta$	1,6122	2,2202

¹¹⁷ M. Chalkha, A. El-Moussaoui, T. Ben Hadda, M. Berredjem *J. Mol. Struct.*, **2022**, 1252, 131818.

¹¹⁸ A. Bouzina, M. Berredjem, S. Bouacida, K. Bachari, C. Marminon, M. L. Borgne, Z. Bouaziz, Y. O. Bouone, *J. Mol. Struct.*, **2022**, 1257, 132579.

¹¹⁹ A. R.Bhat, R. S. Dongre, F. A. Almalki, M. Berredjem, M. Aissaoui, R.Touzani, T. Ben Hadda, M. S. Akhter, *Bioorg. Chem.*, **2022**, 106, 104480.

¹²⁰ V. Patil, M. Kale, A. Raichurkar, B. Bhaskar, D. Prahlad, M. Balganes, S. Nandan, P.S. Hameed, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 2222-2225.

¹²¹ P.M. Scola, A.X. Wang, A.C. Good, L.Q. Sun, K.D. Combrink, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1708-1729.

¹²² S. Huang, P. J. Connolly, R. Lin, S. Emanuel, S.A. Middleton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 3639-3641.

¹²³ P. Senet, *Chem. Phys. Lett.* **1997**, 275, 527-532.

¹²⁴ R.G. Parr, R.G. Pearson, *Am. Chem. Soc.* 1983, 105, 7512-7516.

¹²⁵ W. Boufas, N. Dupont, M. Berredjem, K. Berrezag, I. Becheker, H. Berredjem, N.E. Aouf, *J. Mol. Struct.* **2014**, 1074, 180-185.

Le composé **M1** possède la plus petite valeur de gap et la plus grande valeur de mollesse par rapport au composé **M2**, ce qui confirme qu'il est le plus réactif.

- **Analyse des orbitales moléculaires frontières**

Les orbitales frontières HOMO et LUMO ainsi que les structures optimisées des *N*-acylsulfonamides étudiés sont illustrées dans la figure III.14.

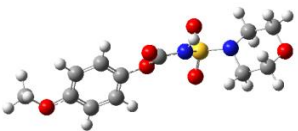
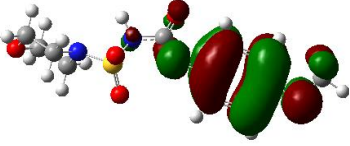
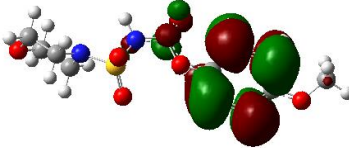
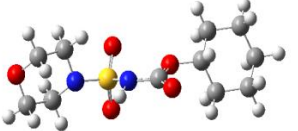
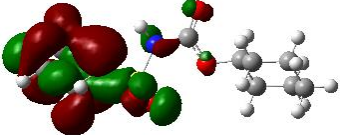
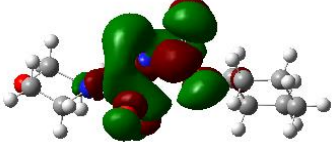
Ref.	Structure optimisée	HOMO	LUMO
M1		- 6,4553 	- 0,0182 
M2		- 5,6025 	- 0,7453 

Figure III.14. Structures optimisées et orbitale moléculaire (HOMO, LUMO) des *N*-acylsulfonamides étudiés (**M1**, **M2**) obtenus par B3LYP/6-31G (d, p).

D'après cette figure, nous constatons que les orbitales HOMO et LUMO de la molécule **M1** sont distribués sur la partie conjuguée, et celles de la molécule **M2** sont distribuées sur la partie des hétéroatomes, ce qui confirme la réactivité de chaque molécule dans sa partie de distribution.

- **Surface de potentiel électrostatique moléculaire (MESP)**

Le potentiel électrostatique moléculaire (MEP) est considéré très important pour prédire les sites moléculaires responsables aux attaques électrophiles et nucléophiles en fonction de la distribution du potentiel électrostatique, il nous informe sur la polarité de la molécule. Dans MESP, les points électrostatiques positifs et négatifs sont associés respectivement à l'attaque nucléophile et électrophile, les différentes valeurs des potentiels électrostatiques sont représentées par des couleurs différentes sur la surface. L'attraction entre le proton et la densité électronique globale dans la molécule est indiquée par la région de potentiel électrostatique négatif (rouge), tandis que la répulsion entre le proton et les noyaux atomiques est présentée par la région de potentiel électrostatique positif (bleu), contrairement à la région verte situé

entre les deux extrêmes (rouge et bleu foncé), qui caractérise celle de potentiel nul. Selon le potentiel électrostatique, le sens d'augmentation de la couleur à la surface de la molécule est le suivant : rouge → jaune → vert → bleu clair → bleu. Dans ce contexte, comme il montre la figure III.15, le groupement amine des dérivés *N*-acylsulfonamide représente la région bleue de potentiel électropositive, et celle de potentiel électro négatif colorée en rouge correspond à l'atome d'oxygène de la fonction carbonyle. Par conséquent, la présence de groupement amine activé favorise la nucléophilie des composés étudiés (**M1** et **M2**).

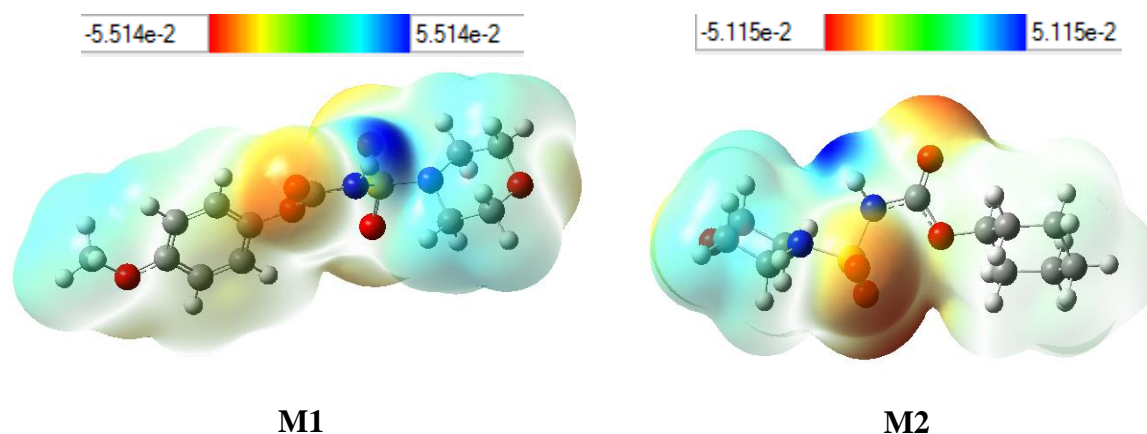


Figure III.15. Carte de potentiel électrostatique moléculaire des *N*-acylsulfonamides étudiés de la densité totale.

III.1.1.3. Etude ADMET

Les prédictions *in silico* de la pharmacocinétique, la similarité des médicaments et les propriétés physico-chimiques de nos petites molécules ont été évalué par Swiss ADME (absorption, distribution, métabolisme et excrétion). Les deux composés **M1** et **M2** ont été affichés de bons profils ADME et ont été suivis les cinq règles de Lipinski¹²⁶ pour la similarité des médicaments en termes de leur logP (<5), H-donneur (<5), H-accepteur (<10), nrotb (<10) et TPSA (<140°A²). Les résultats sont présentés dans les tableaux III.4 et III.5.

Tableau III.4. Paramètres pharmacocinétiques des *N*-acylsulfonamides synthétisés.

	Masse moléculaire (g/mole)	Liaisons rotative	Donneur de liaison Hydrogène	Accepteur de liaison Hydrogène	Violation	Log Po/W iLogP	Log S ESOL	GI	BBB	Log Kp cm/s	Score de Biodisponibilité
M1	316.33	6	1	7	0	1.86	-1.98	Haut	Non	-7.82	0.55
M2	292.35	5	1	6	0	2.32	-1.86	Haut	Non	-7.47	0.55
Réf	283.28	3	2	4	0	1.03	-2.25	Haut	Non	-7.21	0.55

¹²⁶ C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1997**, 23, 3–25.

Tableau III.5. Calculs d'Osiris des composés **M1**, **M2** et le sulfaméthoxazole.

Composé	MW	Risques de toxicité ^[a]				Calculs d'Osiris ^[b]			
		MUT	TUM	IRRI	REP	cLogP	cLogS	DL	DS
M1	316	+++	+++	---	+++	0.92	-1.97	-1.14	0.34
M2	292	+++	+++	+++	+++	1.03	-2.19	-6.19	0.46
Réf	253	+++	+++	+++	+++	0.44	-3.01	2.77	0.88

Très toxique: (---), non toxique: (+++), ^[a] MUT: Mutagène, TUM: Tumorigène, IRRIT: Irritant, RE: Reproductif efficace, ^[b] cLogS: Solubilité, DL: Drug-likeness, DS: Drug-Score.

D'autre part, la prédiction de la toxicité révèle la non-mutagène, non-tumorigène et aucun risque sur la reproductivité des composés **M1** et **M2**.

Les propriétés pharmacocinétiques telles que l'absorption gastro-intestinal (GI), solubilité dans l'eau (Log S), lipophilicité (LogPo/W), inhibiteur du CYP1A2 et barrière hémato-encéphalique (BBB) sont très importantes pour qu'un composé soit considéré comme un candidat médicament¹²⁷. La figure III.16 montre les propriétés physico-chimiques des candidats-médicaments selon les cinq règles qui ont été déterminées par Lipinski¹²⁸, Ghose¹²⁹, Veber¹³⁰, Egan¹³¹ et Muegge¹³².

¹²⁷ F. Ntie-Kang, L. L. Lifongo, J. A. Mbah, L. C. O. Owono, E. Megnassan, L. M. Mbaze, P. N. Judson, W. Sippl, A. M. N. Efangé, *In Silico Pharmacol.*, **2013**, 1, 12–23.

¹²⁸ C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **1997**, 23, 3–25.

¹²⁹ A. K. Ghose, V. N. Viswanadhan, J. J. Wendoloski, *J. Comb. Chem.*, **1999**, 1, 55–68.

¹³⁰ D. F. Veber, S. R. Johnson, H.-Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 2615–2623.

¹³¹ W. J. Egan, K. M. Merz, J. J. Baldwin, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 3867–3877.

¹³² I. Muegge, S. L. Heald, D. Brittelli, *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 1841–1846.

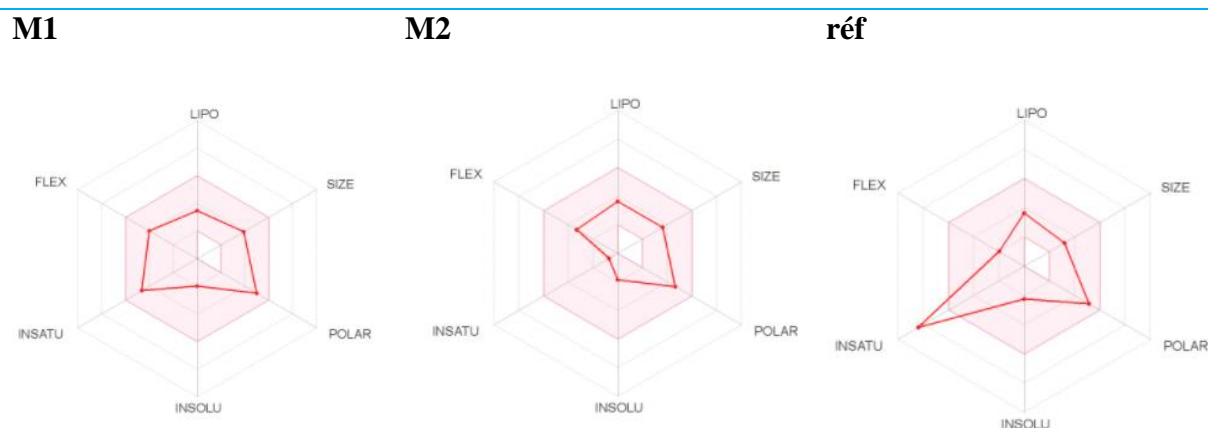


Figure III.16. Radar lié aux propriétés physico-chimiques des composés **M1** et **M2**.

Les *N*-acylsulfonamides avaient des valeurs FLEX et POLAR (ou TPSA) qui se trouvaient dans la plage souhaitée pour améliorer la biodisponibilité.

III.1.2. Evaluation Biologique

Le sulfonamide est un motif structurel commun dans les composés médicinaux naturels et synthétiques. L'intérêt croissant pour les sulfonamides et les dérivés *N*-acylés est attesté par un grand nombre de médicaments décrits ces dernières années, explorés dans différents domaines de la chimie médicinale et montrant une activité biologique. De nombreux dérivés d'acylsulfonamide ont été conçus et synthétisés sous forme d'isostères d'acides carboxyliques, les caractéristiques de ces groupes fonctionnels étant très proches. Partant des voies chimiques vers les *N*-acylsulfonamides¹³³.

L'objectif de ce travail est l'évaluation, *in vitro*, de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire des *N*-acylsulfonamides synthétisés. Ces évaluations ont été réalisées au sein du laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées du département de Biochimie, Université Badji-Mokhtar, Annaba.

III.1.2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

- Matériel biologique

L'activité antimicrobienne des composés a été testée *in vitro* contre 13 microorganismes :

- **06 Souches bactériennes :** Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été isolées à partir de prélèvements cliniques :

¹³³ A. Ammazalorso, B. D. Filippis, L. Giampietro, R. Amoroso, Chem. Biol. Drug Des., **2017**, 90, 1094–1105.

- **04 bactéries Gram négatif** : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*.
- **02 bactéries Gram positif** : *Streptococcus sp*, *Staphylococcus aureus*.
- **07 Levures et Champignons** : *Candida albicans*, *Candida spp*, *Penicillium spp*, *Aspergillus sp*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium sp*, et *Cladosporium spp*. Elles sont cultivées sur milieu Sabouraud (Oxoid) 48 heures, à 30 °C.

- Matériel chimique

Le matériel chimique consiste 2 dérivés de *N*-acylsulfonamides bien identifiées par les méthodes spectroscopiques usuelles (Figure III.17).

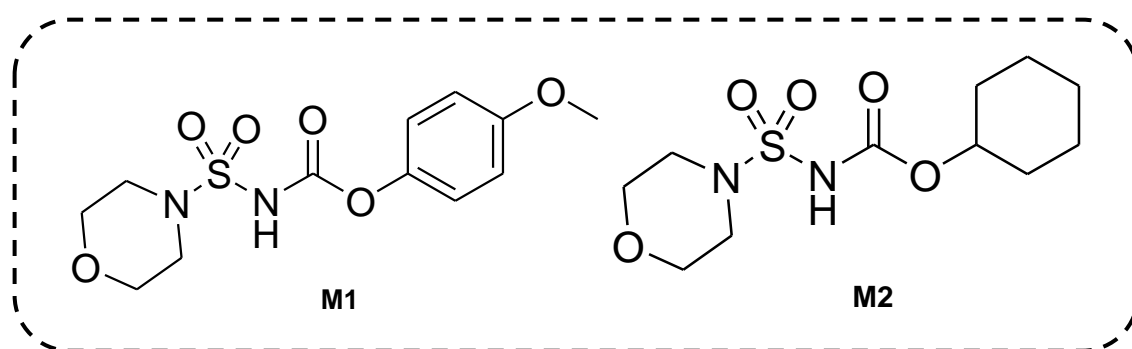


Figure III.17. Structures chimiques des composés testés.

- Méthodes

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide¹³⁴. La gélose Mueller Hinton (MH) (Oxoid) a été utilisée pour les bactéries et la gélose Sabouraud (Biokar) pour les levures et champignons.

1 mg de chaque composé chimique (M1 et M2) a été dissous dans 1 ml de DMSO et mélangés soigneusement pour former une solution.

✚ Préparation de l'inoculum

L'inoculum microbien a été préparé en prélevant une colonie de la culture mère qui a été introduite dans un tube stérile contenant l'eau physiologique stérile afin d'obtenir une suspension estimée à environ 0,5 Mac Farland soit à une DO 0.08 à 0.1 lue à 625 nm.

✚ Ensemencement

¹³⁴ K. Yaici, S. Dahamna, I. Moualek, H. Belhadj, K. Houali, *Phytothérapie*, 2021, 19, 226–234.

L'ensemencement a été fait par inondation puis l'excès a été éliminé. Les boîtes ont été séchées 20 minutes à l'étuve à une température de 37°C. Ensuite des puits ont été réalisés dans la gélose à l'aide d'un emporte-pièce stérile.

Suite à cette incubation, trois puits ont été réalisés sur un diamètre de 6mm de gélose avec des billes stériles et ont été remplis de 50 ul de composés synthétiques (M1, M2). Les contrôles expérimentaux comprennent le DMSO, un antibiotique (gentamicine) et un antifongique (amphotéricine-B). Ensuite, les plaques ont été incubées pendant 24 heures à 37 C et chaque test a été répété trois fois et la moyenne de la zone d'inhibition a été enregistrée dans le tableau III.6. Les zones d'inhibition supérieures à 8 mm indiquaient que le micro-organisme était sensible au composé chimique spécifique utilisé.

- Résultats

L'activité antimicrobienne des *N*-acylsulfonamides s'exprime chez les souches étudiées par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. L'activité antibactérienne peut être divisée en trois niveaux :

- Faible activité (zone d'inhibition ≤ 12 mm).
- Activité moyenne ($12 \text{ mm} < \text{zone d'inhibition} < 20$ mm).
- Forte activité (zone d'inhibition ≥ 20 mm).

Tableau III.6. Activité antimicrobienne (zones d'inhibition en mm) par rapport à un médicament antimicrobien.

Micro-organisme	M1	M2	Traitement	DMSO
<i>Escherichia coli</i>	16±	20±	46±	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34±	28±	30±	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24±	23±	41±	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	R	R	R	-
<i>Streptococcus sp</i>	R	R	R	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	24±	23±	60±	-
<i>Candida albicans</i>	R	R	25±	-

<i>Candida spp</i>	16±	18±	39±	-
<i>Aspergillus sp</i>	R	22±	12±	-
<i>Aspergillus flavus</i>	R	R	R	-
<i>Fusarium sp</i>	R	R	R	-
<i>Penicillium spp</i>	R	R	R	-
Le <i>Cladosporium spp</i>	R	R	16±	-

Le tableau III.6 montre que les micro-organismes testés avaient une sensibilité aux composés chimiques testés. En effet, le test antimicrobien a révélé une activité intéressante contre les micro-organismes testés avec des diamètres d'inhibition allant de 16 mm à 34 mm, sans aucune différence entre les bactéries Gram-positives ou Gram-négatives, encore mieux cette effet s'étend pour les levures et les champignons ; *A.baumannii* et *Streptococcus spp*. Etaient résistants aux *N*-acylsulfonamides testées et à l'action de l'antibiotique, ces deux bactéries sont connues dans les hôpitaux pour leur résistance aux traitements, et que les sulfonamides ne sont pas efficaces sur les *streptocoques*¹³⁵. Pour les champignons, *Candida albicans*, *Aspegillus flavus* et *Pénicillium spp* sont résistants et les deux derniers montrent également une résistance à l'amphotéricine B. Cette action antibactérienne du NAS a été rapportée par *Ehmann et al.* qui ont identifié une série d'acylsulfonamides de benzofurane agissant comme inhibiteurs d'enzymes reconnus notamment sur les mycobactéries où l'enzyme cible est l'uridine diphosphate la galactopyranose mutase (UGM)¹³⁶, une enzyme biosynthétique nécessaire à la formation du galactane, qui était un composant essentiel de la mycobactérie mur et l'enzyme acétohydroxyacide synthase (AHAS) pour le développement de nouveaux médicaments antituberculeux. En bloquant la biosynthèse des acides aminés à chaîne ramifiée suivants les acides : isoleucine, leucine et valine¹³⁷.

¹³⁵ G. Swedberg, S. Ringertz, O. Skold, *Antimicrob Agents Chemother*, **1998**, 42, 1062–1067.

¹³⁶ D. E. Ehmann, J. E. Demeritt, K. G. Hull, S. L. Fisher, *Biochimica et Biophysica Acta*, **2004**, 1698, 167–174.

¹³⁷ A. Ammazalorso, B. D. Filippis, L. Giampietro, R. *Chemical Biology & Drug Design*, **2017**, 90, 1094–1105.

III.1.2.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

- Méthodes

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des molécules a été évaluée selon la méthode de dénaturation des protéines de l'albumine de sérum bovin (BSA)^{138,139}. 0,5 ml de l'extrait ou du standard (Diclofénac 75 mg) a été mélangé avec 0,5 ml d'une solution de BSA (0,2 %) préparée dans un tampon Tris (pH 6,8). Les mélanges ont été incubés dans une étuve à 37 °C pendant 15 minutes, puis dans un bain-marie à 72 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement des tubes, la turbidité (niveau de précipitation des protéines) a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé à l'aide de l'équation suivante : % I = [(Contrôle – (échantillon - le blanc))/Contrôle] x 100

- Le blanc : 0.5 ml extract + 0.5 ml Tris-phosphate (pH : 6.8)

- L'échantillon : 0,5 ml d'extrait + 0,5 ml de BSA

- Le contrôle : 0.5 H₂O + 0.5 ml BSA

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées et les résultats sont comparés à 75 mg de Diclofenac.

- Résultats

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des molécules, nous avons opté pour la méthode de dénaturation des protéines à température croissante¹⁴⁰.

Tableau III.7. Effet des molécules synthétisées sur la dénaturation de l'albumine.

Inhibition			
PPM	M1	M2	Diclofenac
5000	92.85±0.28	44.68± 0.12	98± 0.17
1500	44.72± 0.11	25.97± 0.22	83± 0.25
1250	25.91±0.16	12.35± 0.32	59± 0.15
625	12.45±0.33	7.89±0.40	38± 0.17

¹³⁸ L. A. D. Williams, A. O'Connor, L. Latore, O. Dennis, S. Ringer, J. A. Whittaker, J. Conrad, B. Vogler, H. Rosner, W. Kraus, *West Indian Med. J.*, **2008**, 57, 327–331.

¹³⁹ S. Chandra, P. Chatterjee, P. Dey, S. Bhattacharya, *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **2012**, 2, s178–s180.

¹⁴⁰ H. Kumar, A. Tamatam, A. Pal, F. Khanum, *Neurotoxicology*, **2013**, 34, 150–159.

Le mécanisme réactionnel est une détérioration des liaisons électrostatiques, hydrogènes, hydrophobes et disulfures qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines¹⁴¹.

In vivo, cette dénaturation induit une réaction inflammatoire par la production d'auto-antigènes¹⁴². D'après nos résultats (Tableau III.7), on constate que le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine, par les différentes molécules, est proportionnelle à la concentration. Le composé **M1** montre une activité anti-inflammatoire très intéressante puisqu'avec une concentration de 5000 ppm, il a une action similaire à celui du Diclofénac, et concernant le composé **M2**, et avec la même concentration, il montre une activité modérée.

On retrouve une activité inflammatoire avec la sulfasalazine pour traiter une maladie intestinale inflammatoire. Comme on peut également trouver le motif sulfonamide avec des médicaments anti inflammatoires comme c'est le cas du Celecoxib, et qui vont agir comme des inhibiteurs d'isoenzyme COX dits spécifiques de la COX 2.

III.2 Synthèse des carboxylsulfamides dérivés d'amoesters

- **Réaction de carbamoylation**

Dans cette étape, l'addition de tertiobutanol sur l'isocyanate de chlorosulfonyle dans le dichlorométhane (CH₂Cl₂) anhydre à 0 °C pendant 30 min, permet la formation de carbamate de chlorosulfonyle.

- **Réaction de sulfamoylation**

La sulfamoylation se traduit par l'addition d'amoester sur le carbamate de chlorosulfonyle en présence de triéthylamine à basse température (0 °C) pendant 2h, pour former le carboxylsulfamide correspondant (Schéma III.2).

¹⁴¹ L. Barros, S. Falcao, P. Baptista, C. Freire, M. Vilas-Boas, I. Ferreira, *Food Chemistry*, **2008**, 111, 61–66.

¹⁴² Y. M. Bagad, A. R. Umkar, A. U. Tatia, S. J. Surana, *Journal of Pharmacy Research*, **2011**, 4, 1326–1332.

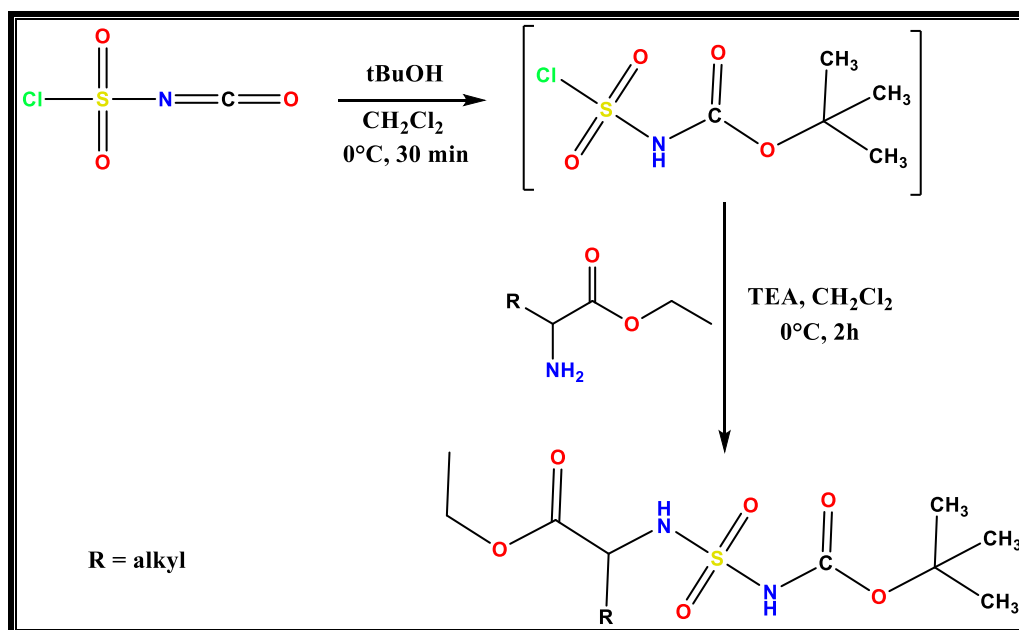


Schéma III.2. Synthèse des carboxylsulfamides.

Etude structurale

En RMN ^1H , les structures des carboxylsulfamides ont été caractérisées par l'apparition d'un doublet à 7.45 ppm qui correspond au proton porté par l'azote carbamique. Les neuf protons du groupement *Boc* résonnent sous forme d'un singulet entre [1.45-1.50] ppm.

En RMN ^{13}C , le signal du groupement $\text{C}=\text{O}$ (*Boc*) est observé entre [149.5-175.6] ppm. L'apparition de deux signaux de $(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$ situés respectivement dans l'intervalle [78.2-79.7] ppm et [27.61-28.4] ppm.

En infrarouge les structures sont confirmées par les bandes d'absorption suivantes : deux bandes entre [3268-3482] cm^{-1} de groupement NH , une bande d'absorption entre [1698-1718] cm^{-1} qui caractérise le groupement $\text{C}=\text{O}$ (*Boc*) et deux bandes intenses entre [1342-1358.2] et [1135-1162] cm^{-1} qui correspondent au groupement SO_2 .

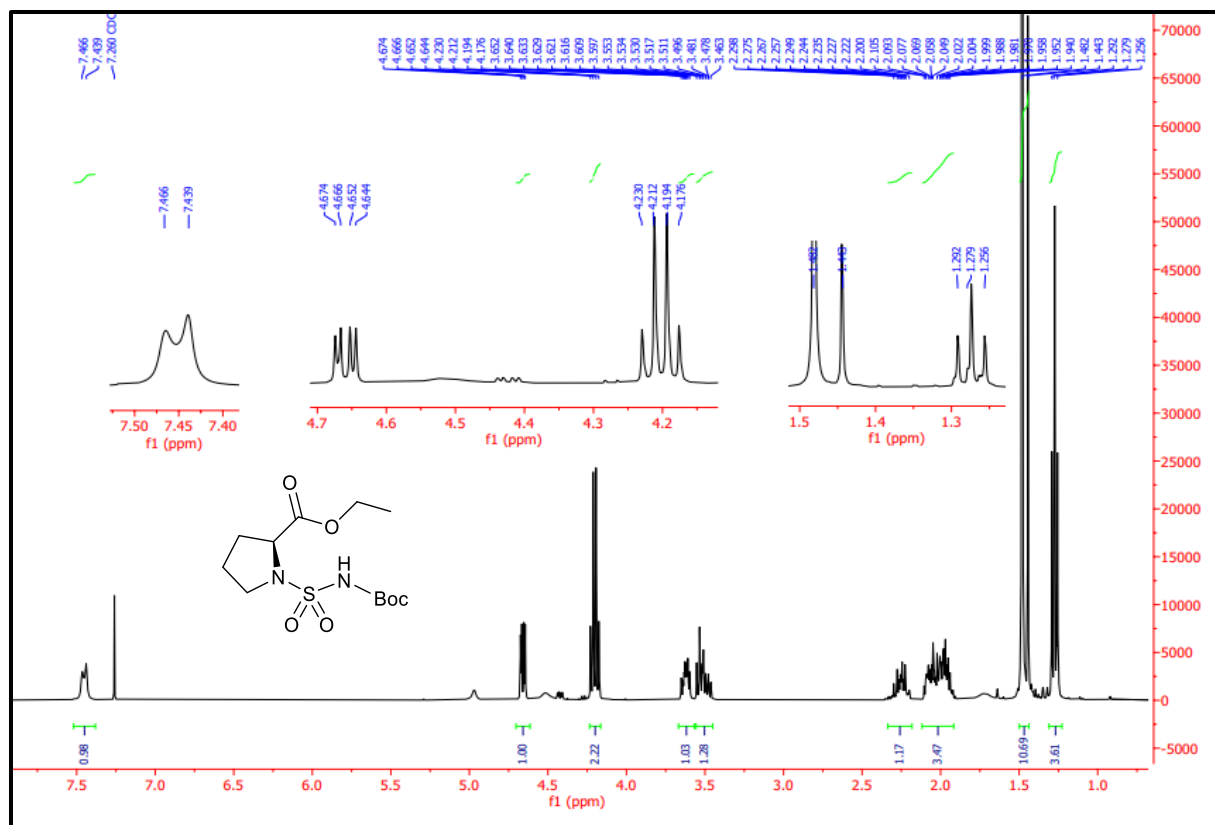


Figure III.18. Spectre RMN ^1H du carboxylsulfamide **a**.

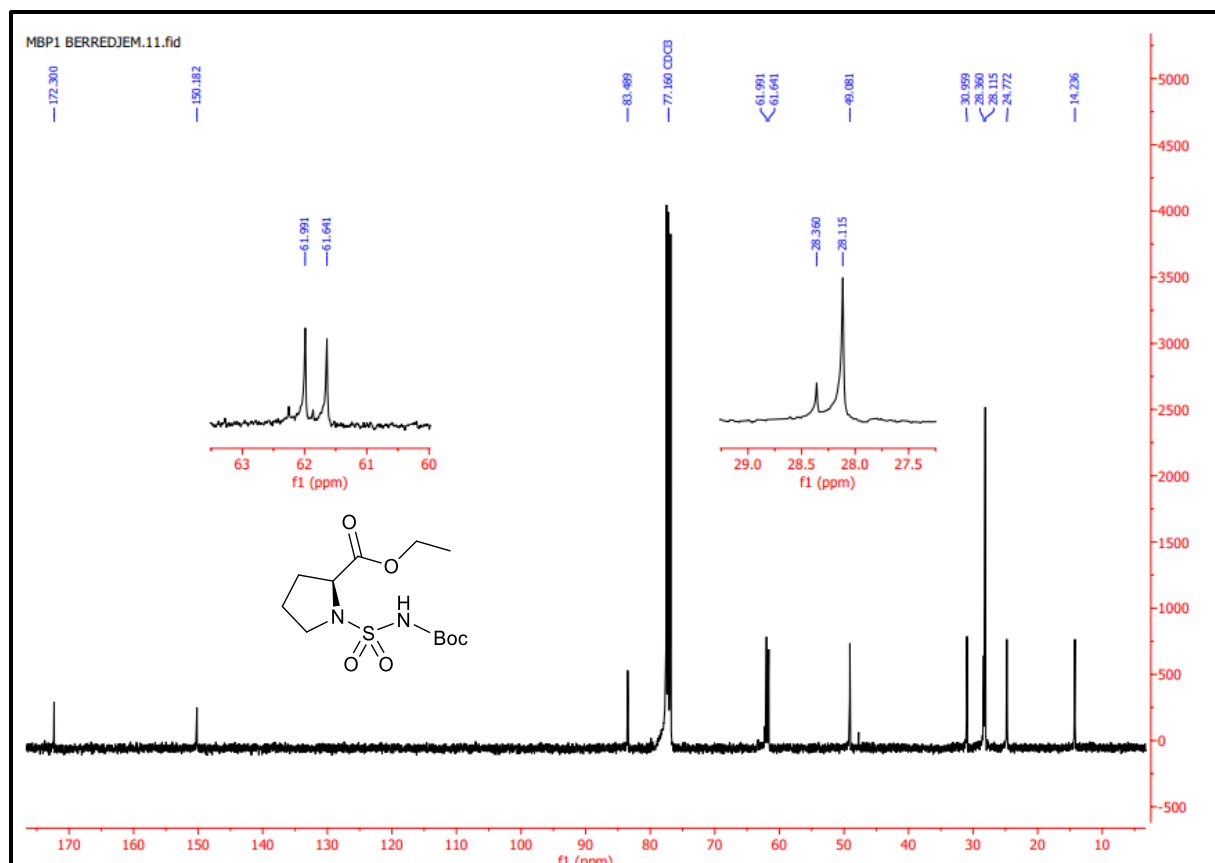
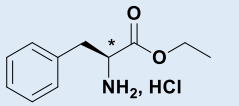
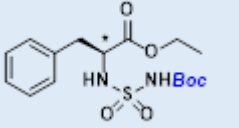
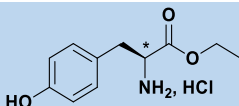
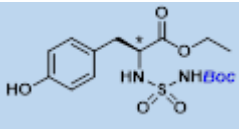
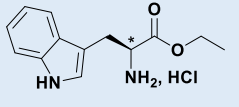
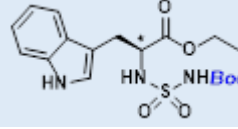


Figure III.19. Spectre RMN ^{13}C du carboxylsulfamide **a**.

Les carboxylsulfamides dérivés d'amoesters ont été isolés sous forme de poudre blanche avec un rendement compris entre 85 et 97% (Tableau III.8).

Tableau III.8. Caractéristiques des dérivés des carboxylsulfamides synthétisés.

Ref.	amoester	Composé	Formule brute	M (g/mol)	T_f ($^{\circ}\text{C}$)	Rdt(%)
a			$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$	322	100-102	97
b			$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$	324	52-54	92
c			$\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$	338	58-60	90

d			C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O ₆ S	372	64-65	86
e			C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O ₆ S	382	71-73	96
f			C ₁₈ H ₂₅ N ₃ O ₆ S	411	90-92	85

III.2.1. Etude cristallographique de composé a

Des monocristaux incolores prismatiques de carboxylsulfamide ont été montés avec un diffractomètre à détecteur de zone Bruker **APEX II** CCD équipé d'une caméra CCD et d'une source de rayonnement Mo K α monochromatique en graphite ($\lambda = 0,71073$ Å). Les structures ont été résolues par des méthodes directes à l'aide du programme SIR2012¹⁴³. Les raffinements ont été effectués par la méthode des moindres carrés de la matrice complète basée sur les valeurs F² contre toutes les réflexions et incluant les paramètres de déplacement anisotrope pour tous les atomes non-H en utilisant SHELXL-97¹⁴⁴. Les dessins des molécules ont été réalisés avec le programme ORTEP-3¹⁴⁵. Tous les calculs ont été effectués avec une suite de programme WINGX. Les données cristallines et les résultats de raffinement sont donnés dans le tableau III.8.

La résolution structurale a révélé que l'unité asymétrique est constituée d'une molécule de carboxylsulfamide (**composé a**) qui cristallise dans le système cristallin orthorhombique avec le groupe d'espace P 2₁2₁2₁ avec 4 unités de formule dans la cellule (Figure III.20, Tableau III.9).

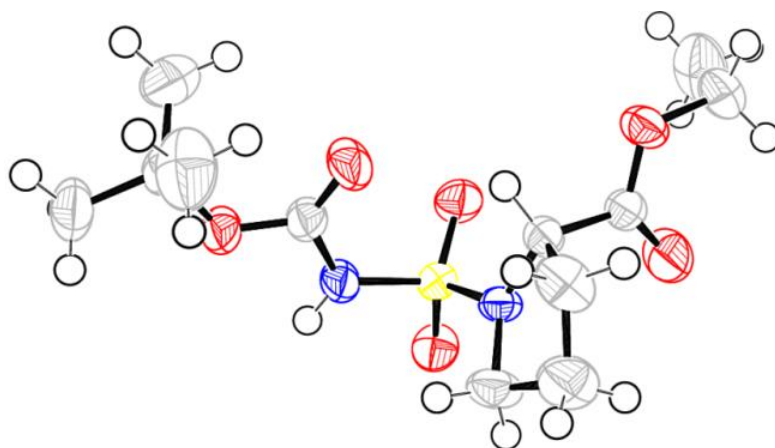
¹⁴³ M.C. Burla, R. Caliendo, M. Camalli, B. Carrozzini, G.L. Casciarano, L. De Caro, C. Giacovazzo, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Cryst.* **2003**, 38, 381-388.

¹⁴⁴ G.M. Sheldrick, *Acta. Cryst.* **2008**, 64, 112-122.

¹⁴⁵ L.J. Farrugia, *J. Appl. Cryst.* **2012**, 45, 849-854.

Tableau III.9. Données cristallographiques et paramètres de raffinement pour le composé **a**

Formule	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₆ S	Coefficient d'absorption (mm ⁻¹)	0.222
Poids moléculaire	322.37	F(000)	688
Couleur et forme du cristal	Prisme, transparent	Taille du cristal (mm)	0.12×0.23×0.31
Systeme	Orthorhombique	(θ °)	4.45 - 32.34
Groupe d'espace	<i>P</i> -19	Réflexions Collecté	9223
a (Å)	6.7036(4)	Réflexions Indépendante	5320
b (Å)	14.2196(7)	R _{int}	0.0175
c (Å)	17.3350(10)	Reflections avec I ≥ 2σ(I)	4734
α (°)	90	Nombres des paramètres	194
β (°)	90	Qualité d'ajustement sur F ²	1.063
γ (°)	90	indices R Final [I ≥ 2σ(I)]	0.0385
Volume (Å ³)	1652.42(16)	indices R [all data]	R ₁ =0.0461, wR ₂ =0.1039
Z, Z'	4, 4	Plus grand pic et trou (Å ⁻³)	0.358, -0.332
Densité (g cm ⁻³)	1.296	CCDC dépôt.	CCDC 1895275

**Figure III.20.** ORTEP de carboxylsulfamide (**composé a**)

L'emballage cristallin du carboxylsulfamide peut être décrit comme des couches parallèles alternées au plan (011), qui sont reliées entre elles par des liaisons hydrogène N-H...O et C-H...O intermoléculaires (Figure III.21, Tableau III.10). La structure cristalline est également soutenue par les interactions intramoléculaires de C-H...O (Tableau III.10).

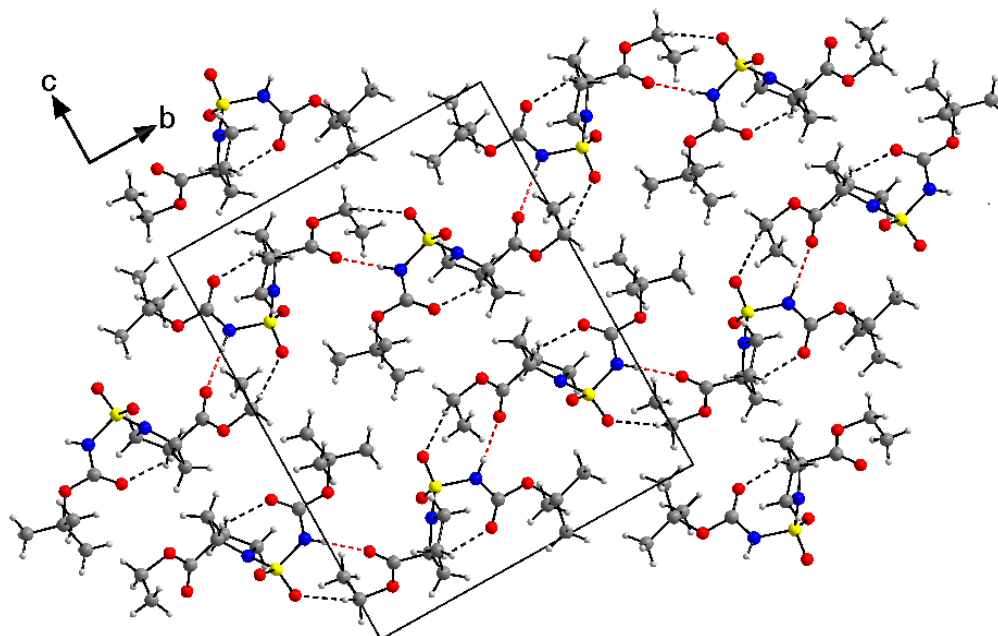


Figure III.21. Diagramme d'emballage de carboxylsulfamide (**composé a**) tous le long de l'axe a montrant des couches parallèles au plan (011), qui sont reliées entre elles par des liaisons hydrogène C-H...O et N-H...O.

Table III.10. Distances en (Å) et les angles (°) des liaisons hydrogène du composé **a**.

D-H...A	$d(D-H)$	$d(H...A)$	$d(D-A)$	D-H...A	Symétrie
N2-H2...O3	0.86	2.00	2.8626(2)	178	1-x,1/2+y,1/2-z
C1-H1a...O1	0.97	2.58	3.2484(2)	126	1+x,y,z
C6-H6a...O2	0.97	2.46	3.3924(2)	161	1-x,-1/2+y,1/2-z
C4-H4...O5	0.98	2.40	3.1754(2)	135	x, y, z
C11-H11a...O5	0.96	2.51	3.0564(2)	116	x, y, z
C12-H12c...O5	0.96	2.43	2.9844(2)	116	x, y, z

III.2.2. Etude théorique

III.2.2.1. Etude de Docking moléculaire

La structure de départ de la glutamate carboxypeptidase II liée à la membrane (GCPII) a été récupérée à partir de la banque de données de protéines (code PDB **2C6C**) avec une résolution de 2 Å¹⁴⁶ et ¹⁴⁷, cette enzyme a été choisie comme une cible pour l'étude d'amarrage et elle a été préparée, optimisée et minimisée à l'aide du protocole de l'assistant de préparation des protéines du suite de Schrödinger¹⁴⁸, les ordres de liaison ont été attribués et les atomes d'hydrogène ont été ajoutés aux structures, puis les structures 3D des dérivés des carboxylsulfamides utilisés dans la simulation d'amarrage ont été préparées et optimisées par *LigPrep 3.8* en utilisant le champ de force¹⁴⁹ (OPLS3e). De plus, le fichier de grille a été généré autour du site actif GCPII en choisissant le centroïde du ligand co-cristallisé à l'aide de protocole *Glide Grid Generation* implémentée dans MAESTRO. Les études d'amarrage ont été réalisées par le logiciel *Glide*¹⁵⁰ en utilisant le mode Standard Precision (SP)¹⁵¹.

Les fichiers de sortie des dérivés amarrés avec la glutamate carboxypeptidase II liée à la membrane ont été visualisés sur le logiciel *Chimera*.

La glutamate carboxypeptidase II liée à la membrane (GCPII) est une métalloenzyme à zinc qui est surexprimé dans les cellules tumorales de la prostate¹⁵². Les dérivés de sulfamides ont été décrits comme des inhibiteurs sélectifs de la glutamate carboxypeptidase II (GCP2) car ils agissent comme un groupe de liaison au zinc (ZBG) responsable de la liaison à l'ion zinc prothétique dans le site actif de GCP2¹⁵³ et ¹⁵⁴, c'est pour cette raison nos dérivés carboxylsulfamides ont été ancrés pour étudier la stabilité, la sélectivité et les interactions des dérivés contre GCPII en utilisant l'amarrage moléculaire¹⁵⁵. Le protocole d'amarrage a été testé

¹⁴⁶ H.M Berman, T. Battistuz, T.N. Bhat, W.F. Bluhm, *The Protein Data Bank*. 2002, 58, 899-907.

¹⁴⁷ K. Bechlem, M. Aissaoui, B. Belhani, K.O. Rachedi, S. Bouacida, R. Bahadi, S. Djouad, R. Ben Mansour, M. Bouaziz, F. Almalki, T. Ben Hadda, M. Berredjem, *J. Mol. Struct.* **2020**, 1210, 127990.

¹⁴⁸ G.M. Sastry, M. Adzhigirey, T. Day, R. Annabhimoju, W. Sherman, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2013**, 27, 221-234.

¹⁴⁹ S. Release, *LigPrep*, Version 3.4, Schrödinger, LLC, New York, NY, **2015**.

¹⁵⁰ R.A. Friesner, J.L. Banks, R.B. Murphy, T.A. Halgren, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 1739-1749.

¹⁵¹ R.A. Friesner, R.B. Murphy, M.P. Repasky, L.L. Frye, J.R. Greenwood, T.A. Halgren, T.D. Mainz, *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 6177-6196.

¹⁵² J.R. Mesters, C. Barinka, W. Li, T. Tsukamoto, P. Majer, B.S. Slusher, R. Hilgenfeld, *EMBO J.* **2006**, 25, 1375-1384.

¹⁵³ B.R. Blank, P. Alayoglu, W. Engen, J.k. Choi, C.E. Berkman, M.O. Anderson, *Chem. Biol. Drug Des.* **2011**, 77, 241-247.

¹⁵⁴ C. Barinka, Y. Byun, C.L. Dusich, S.R. Banerjee, Y. Chen, M. Castanares, J. Lubkowski, *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 7737-7743.

¹⁵⁵ I.D. Kuntz, *Science*. **1992**, 257, 1078-1082.

par ré-amarrage le ligand co-cristallisé et il a été réalisé avec succès avec RMSD <1 Å (Figure III.22).

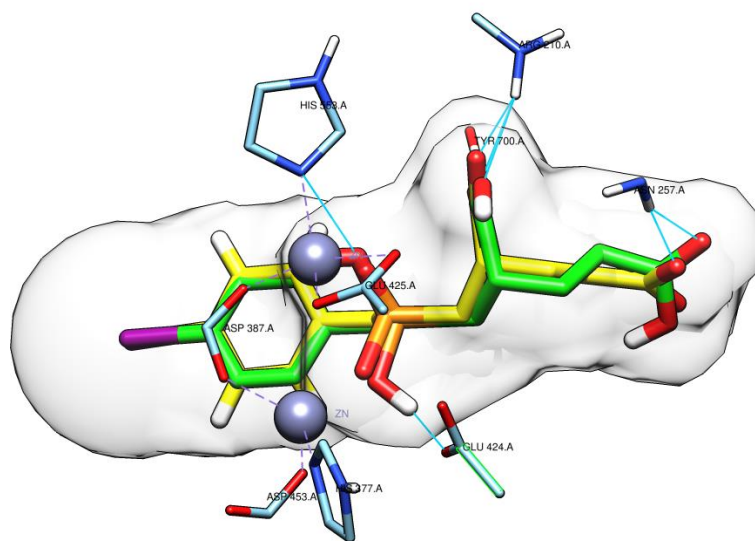


Figure III.22. Re-docking du ligand co-cristallisé (PDB : 2c6c). Re-docking du ligand co-cristallisé, les liaisons hydrogène sont marquées par des lignes cyan.

Les résultats de cette étude, y compris le docking score estimé et le glide emodel des positions ancrées, sont fournis dans le tableau III.11, la figure III.24 et la figure III.25. L'analyse des résultats d'amarrage moléculaire a montré que tous les dérivés ancrés prouvent une stabilité intéressante en raison des interactions avec les résidus à l'intérieur de la poche de GCP2 en particulier l'interaction ZBG, la figure III.23 montre la superposition des dérivés ancrés dans la GCPII, parmi ces six composés, le composé **d** a montré le meilleur résultat et peut être un puissant inhibiteur de GCP2 car il a donné un meilleur docking score et un bon valeur de glide emodel -6,757 kcal/mol, -84,947 kcal/mol, respectivement (Tableau III.11) par rapport aux autres composés. Le même composé a formé cinq liaisons hydrogène au total, deux d'entre elles ont été formées en utilisant l'atome d'oxygène (O7) avec Arg534 et Arg536 comme accepteur, une autre liaison hydrogène à travers l'atome d'oxygène du groupe sulfonyle avec Tyr552 comme accepteur, une liaison a été formée entre l'atome d'azote (N1) et Gly518 en tant que donneur, et la dernière liaison hydrogène a été formée via l'atome d'oxygène (O14) du groupe Boc avec Tyr700 en tant qu'accepteur. En outre, il a développé deux interactions électrostatiques à travers le cycle phényle avec Tyr549 en tant qu'interaction d'empilement π - π et avec Arg536 en tant qu'interaction π -cation. De plus, il y a aussi la présence des interactions hydrophobes entre le composé et les résidus non polaires tels que Tyr552, Tyr549, Tyr700,

Leu428, Phe209 et Phe521 (Figure III.24 et Tableau III.12), ce qui explique ses grandes valeurs de docking score et de glide emodel.

Ensuite, les composés **e** et **f** ont montré une bonne stabilité dans le site actif, ils ont formé quatre liaisons hydrogène au total, trois d'entre eux ont été formés entre les composés et les résidus (Arg534, Arg536 et Tyr552) tels que le composé **d**, l'autre liaison hydrogène a été formée à travers Gly518 avec l'atome d'azote (N5). Par conséquent, le composé **e** a montré que le cycle phényle a formé une interaction pi-cation avec Arg534 (Figure III.25 et Tableau III.12).

Dans le cas du composé **a** et **c**, ils ont formé 4 liaisons hydrogène, deux d'entre elles ont été formées comme le composé **d** avec Arg534 et Tyr552, les deux autres liaisons hydrogène ont été formées par l'atome d'azote (N5) et l'atome d'oxygène (O7) avec Gly518 et Asn519, respectivement (Figure III.24 et Tableau III.12).

Le composé **b** a présenté une potentialité inférieure à celle des autres composés car il n'a développé que deux liaisons hydrogène, la première entre Glu424 et l'atome d'azote (N5) en tant que donneur, la seconde via l'atome d'oxygène (O14) du groupe Boc avec Tyr700 en tant qu'accepteur (Figure III.24 et Tableau III.12).

Ainsi, les études de docking moléculaire ont révélé que tous les dérivés de Boc-sulfonamide ont présenté une stabilité intéressante due à l'interaction ZBG à travers l'atome d'oxygène du groupe sulfonyle, nous avons également remarqué que la présence d'un cycle phényle dans la structure du composé peut augmenter la stabilité en créant des interactions électrostatiques avec les résidus du site actif comme le cas du composé **d**.

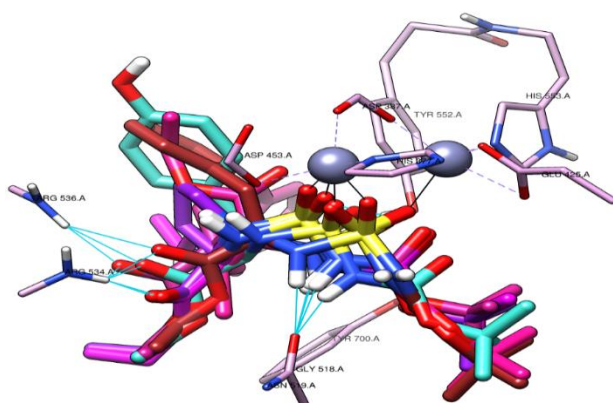


Figure III.23. Superposition de dérivés de Boc-sulfonamide ancrés dans GCPII (PDB : 2c6c, 2 Å) montrant la similitude dans la coordination des ions Zn ; composé **a** (violet), composé **b** (rose), composé **c** (magenta), composé **d** (marron), composé **e** (turquoise) et composé **f**

(violet).

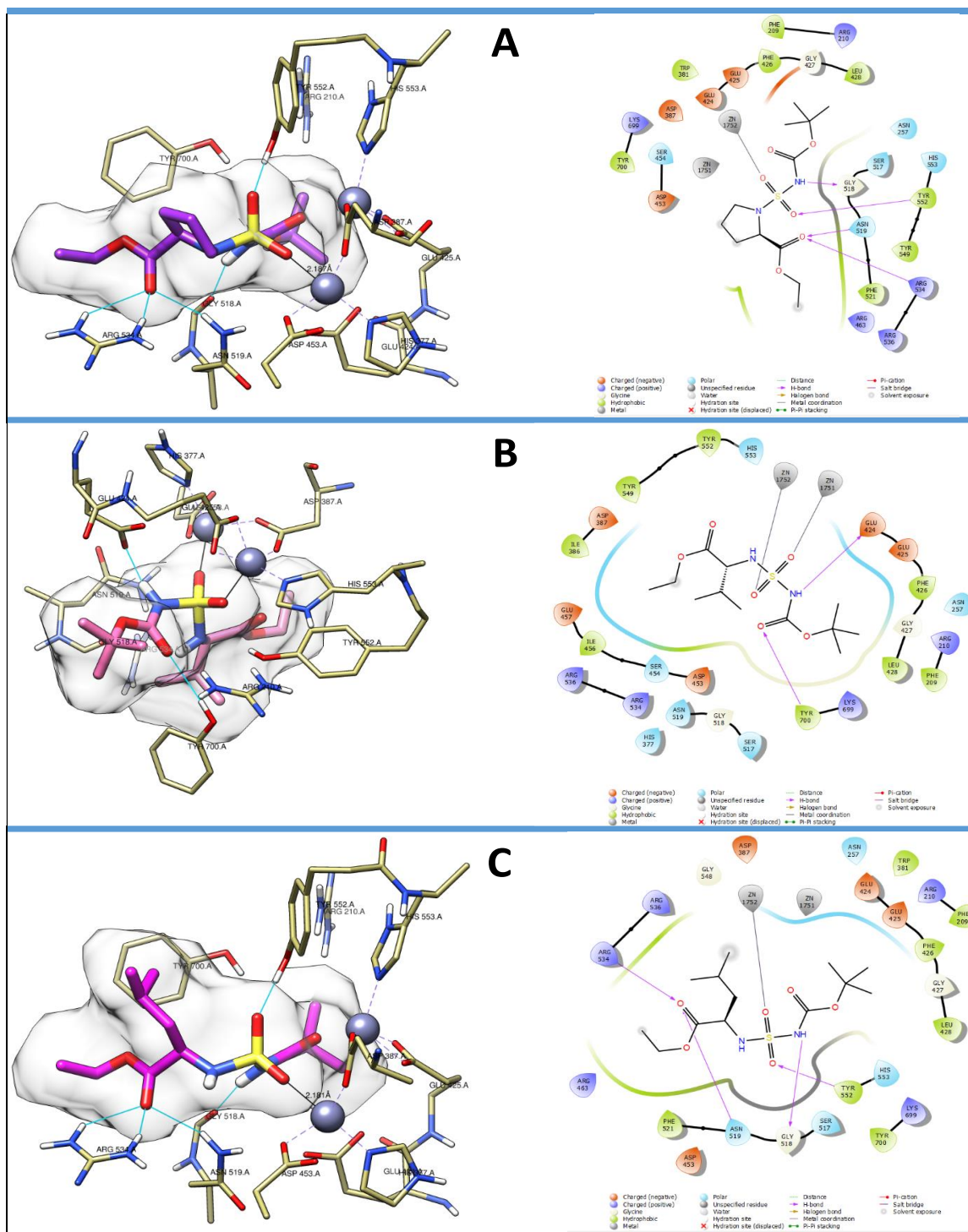


Figure III.24. 3D et 2D de dérivés de Boc-sulfonamide ancrés dans GCPII (PDB : 2c6c, 2 Å) ; (A) composé **a** (violet), (B) composé **b** (rose) et (C) composé **c** (magenta). Les liaisons hydrogène sont représentées en ligne cyan et les interactions ZBG sont représentées en ligne noire.

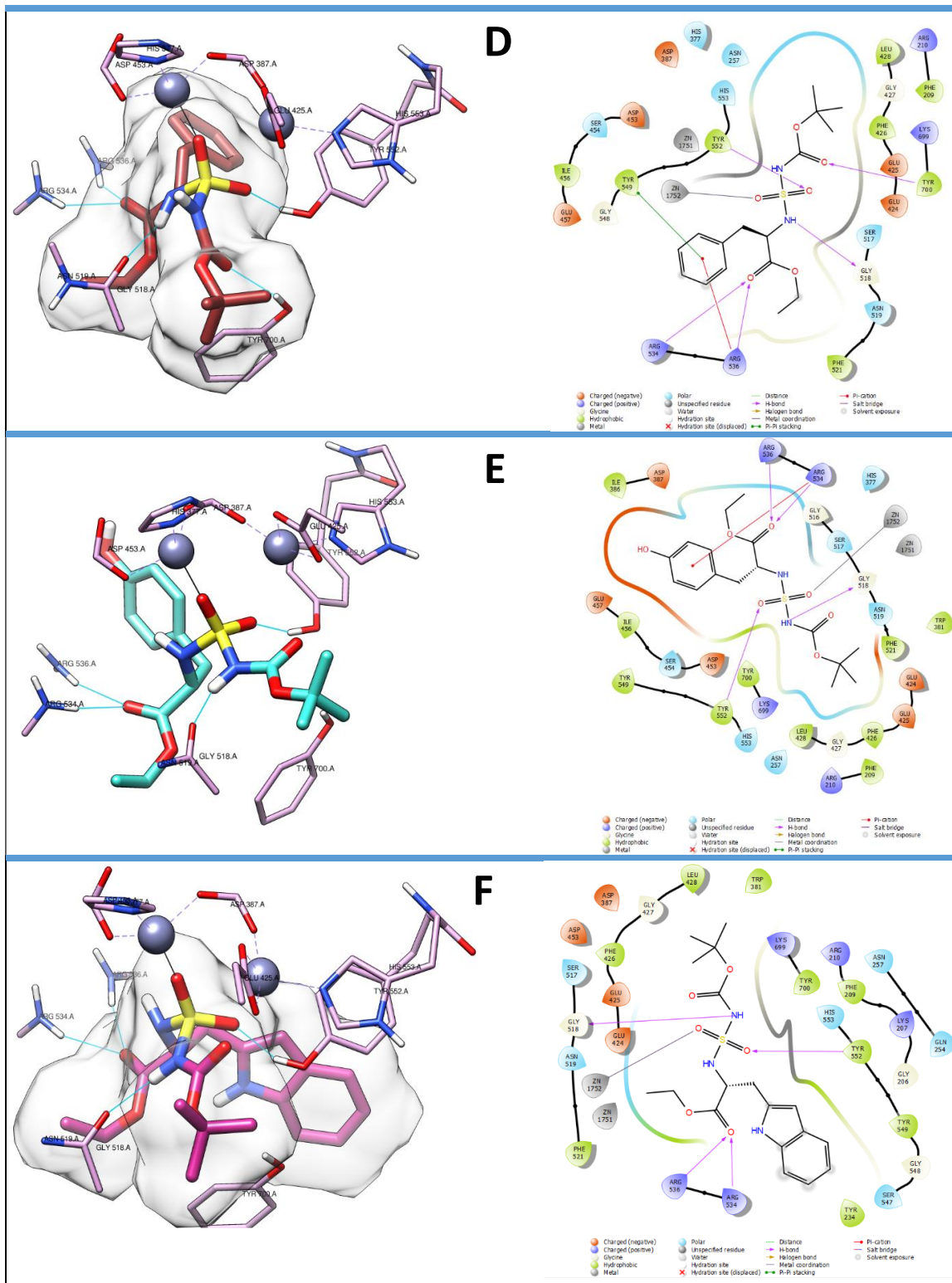


Figure III.25. 3D et 2D de dérivés de Boc-sulfonamide ancrés dans GCPII (PDB : 2c6c, 2 Å) montrant la similitude dans la coordination des ions Zn ; (D) composé **d** (marron), (E) composé **e** (turquoise) et (F) composé **f** (violet). Les liaisons hydrogène représentées en ligne cyan et les interactions ZBG représentées en ligne noire.

Tableau III.11. Classement des dérivés de boc-sulfonamide après l'étude d'amarrage.

Composé	docking Score	Glide emodel
a	-6.381	-83.078
b	-5.218	-64.582
c	-5.623	-71.194
d	-6.757	-84.947
e	-6.197	-79.544
f	-6.525	-84.120
co- cristallisé	-7.233	-107.462

Tableau III.12. Analyse des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes des dérivés ancrés à l'intérieur du site actif de GCPII.

Compound	Liaison hydrogène	Interaction hydrophobe
a	Arg534, Tyr552, Gly518 and Asn519	Tyr552, Tyr549, Tyr700, Leu428 Phe209, Phe521 and Trp381
b	Tyr700 and Glu424	Tyr552, Tyr549, Tyr700, Leu428, Phe209 and Ile386
c	Arg534, Tyr552, Gly518 and Asn519	Tyr552, Tyr700, Leu428, Phe521 and Trp381
d	Arg534, Arg536, Tyr552, Gly518 and Tyr700	Tyr552, Tyr549, Tyr700, Leu428, Phe209 and Phe521
e	Arg534, Arg536, Tyr552 and Gly518	Tyr552, Tyr549, Tyr700, Leu428 Phe209, Phe521, Trp381 and Ile386
f	Arg534, Arg536, Tyr552 and Gly518	Tyr552, Tyr549, Tyr700, Tyr234, Leu428 Phe209, Phe521 and Trp381

III.2.2.2. Etude de simulation dynamique moléculaire

Après les meilleures poses de nos ligands obtenues à partir d'études d'amarrage, les simulations de dynamique moléculaire (DM) ont été réalisées pour évaluer la stabilité de ces ligands au sein du site actif de la protéine (GCPII) à 50 ns¹⁵⁶. Les simulations MD ont été réalisées à l'aide du logiciel Desmond (Schrodinger 2015) de la suite de logiciel *Schrodinger*. Les procédures de

¹⁵⁶ K.J. Bowers, C. Edmond, X. Huafeng, R.O. Dror, M.P. Eastwood, *SC '06: Proceedings of the 2006 ACM/IEEE Conference on Supercomputing*. 2006, 43-43.

préparation, d'optimisation et de minimisation des complexes protéine-ligand ont été réalisées à l'aide de l'assistant de préparation des protéines de Maestro. L'outil *System Builder* a été utilisé pour préparer tous les systèmes. TIP3P (Transferable Intermolecular Interaction Potential 3 Points), un modèle de solvant avec une boîte orthorhombique, a été choisi. Les paramètres de champ de force pour le système protéine-inhibiteur ont été désignés à l'aide du champ de force OPLS-2005¹⁵⁷. Pour neutraliser le système et le rendre physiologiquement équilibré, le chlorure de sodium (NaCl) 0,15 M a été introduit. Le système a été stimulé avec une pression constante de 1 atm en utilisant la méthode du barostat Martyna-Tobias-Klein¹⁵⁸ et une température de pression normale (NPT) ensemble à 300 K en utilisant l'algorithme thermostatique Nose-Hoover. L'examen des trajectoires enregistrées a été fait toutes les 100 ps, la déviation quadratique moyenne (RMSD), la fluctuation quadratique moyenne (RMSF) et les contacts protéine-ligand des complexes protéine-ligand ont été analysés pendant les simulations¹⁵⁹.

La simulation dynamique moléculaire a donné des informations sur les interactions intermoléculaires pendant un temps de référence. La confirmation de la stabilité et des interactions intermoléculaires entre la protéine et nos composés sélectionnés avec la protéine GCPII a été effectuée en utilisant des approches de simulation DM jusqu'à 50 ns. Les RMSD et RMSF obtenus ont été rapportés et analysés, les interactions des ligands frontières ont également été évaluées en détail.

➤ Analyse RMSD des protéines

Sept composés ont été sélectionnés pour les simulations DM, y compris **a**, **b**, **c**, **d**, **e** et **f**, ainsi que le ligand co-cristallisé. Les déplacements des atomes C α des protéines par rapport à leurs positions initiales ont permis de prédire la stabilité conformationnelle de la protéine. Comme montré la figure III.26, les évolutions RMSD (axe Y gauche) de tous les complexes ont été calculées et ont atteint la stabilité à 10 ns, après cela les RMSD ont enregistré des valeurs inférieures à 3,00 Å pendant la période de simulation, ce qui est parfaitement acceptable pour ces protéines.

➤ Analyse RMSD des ligands :

¹⁵⁷ D. Shivakumar, W. Joshua, W. Yujie, D. Wolfgang, S. John, S. Woody, *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, 6, 1509-1519.

¹⁵⁸ G.J. Martyna, D.J. Tobias, M.L. Klein, *J. Chem. Phys.* 1994, 101, 4177-4189.

¹⁵⁹ S. Pant, M. Singh, V. Ravichandiran, U.S. Murty, H.K. Srivastava, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2020**, 39, 2904–2913.

Les RMSD ont été calculées pour les atomes des ligands en fonction des positions initiales des atomes lourds à l'intérieur du site actif de la protéine, comme montré la figure III.26. Tous les ligands ont montré une bonne stabilité à l'intérieur du site actif, comme le cas du composé **a** a atteint la stabilité à 10 ns et il a fluctué à moins de 1,2 Angström jusqu'à la fin du temps (Figure III.26 : A). Le RMSD du composé **b** (Figure III.26 : B) a montré des fluctuations dans les limites de 1,4 Angström jusqu'à 50 ns, ce qui est parfaitement bien. De plus, le composé **c** a atteint la stabilité à 5 ns et il s'est déplacé d'environ 3 Angström pendant le reste du temps de simulation (Figure III.26 : C). Le composé **d** a atteint la stabilité à 10 ns et il s'est déplacé d'environ 4 Angström dans les limites de 1 Å (Figure III.26 : D). Les composés **e** et **f** ont atteint la stabilité à 15 ns et 12 ns, respectivement, ils se sont déplacés à moins de 1,3 et 1,4 Angström, respectivement (Figure III.26 : E, F). D'autre part, le ligand co-cristallisé a atteint la stabilité à l'intérieur du site actif à 8 ns et il s'est déplacé de 2,1 Angstrom dans les limites de 1,1 Å (Figure III.26 : R). La comparaison des évolutions RMSD des ligands étudiés avec celle du ligand co-cristallisé a montré que les ligands ont bien été restés dans le site actif de la protéine.

➤ Analyse RMSF des protéines :

Le RMSF est utile pour déterminer les fluctuations de chaque résidu dans GCPII pendant la période de simulation de 50 ns. La figure III.27 montre que la plupart des acides aminés de la protéine ont fluctué avec des valeurs inférieures à 1 Angström, en particulier la majorité des résidus du site actif sont présentés dans l'intervalle de 400 et 550 résidus, ces résidus appartiennent à la structure secondaire sous forme d'hélices alpha et de brins bêta qui sont généralement plus rigides que les autres parties de la protéine. Les pics les plus élevés appartiennent aux zones de boucle ou régions N et C-terminales car ces régions oscillent plus que toute autre partie de la protéine. De plus, il existe une grande similarité entre les graphes RMSF des ligands étudiés et de l'inhibiteur co-cristallisé, ce qui prouve la stabilité de la protéine avec chaque ligand.

➤ Analyse des contacts protéine-ligand :

Comme on le voit dans la Figure III.28, la majorité des interactions ligand-protéine significatives comme les liaisons hydrogènes et les interactions hydrophobes ont été déterminées avec les simulations DM. Le composé **a** (Figure III.28 : A) forme des liaisons hydrogène avec les résidus suivants : ASN 257 (~58%), GLU 424 (~56%), GLY518 (~10%), TYR 552 (~30%) et TYR 700 (~30%). En outre, il a formé cinq interactions hydrophobes avec PHE 209 (~ 36%), LEU 261 (~ 10%), LEU 428 (~ 20%), TYR 552 (~ 05%) et TYR 700 (~

10%). Le composé **b** a formé huit liaisons hydrogène, quatre d'entre elles ont enregistré des pourcentages très élevés avec GLU 424 (~100%), SER 454 (~120%), GLY518 (~80%) et ASN 519 (~75%). De plus, ce composé a formé six interactions hydrophobes avec PHE 209 (~13%), LEU 261 (~13%), PRO 388 (~05%), LEU 428 (~40%), TYR 549 (~02%) et TYR 552 (~10%) tel que présenté dans (Figure 27 : B). Six liaisons hydrogène ont été formées avec le composé **c** via ASN 453 (~75%), GLY519 (~25%), ASN 519 (~180%), ARG 534 (~50%), TYR 552 (~100%) et TYR 700 (~25%), les interactions hydrophobes se sont formées avec PHE 209 (~25%), LEU 428 (~13%), TYR 549 (~13%) et TYR 552 (~35%) et TYR 700 (~40 %) (Figure III.28 : C). Six liaisons hydrogène ont été observées dans le cas du composé **d** avec des pourcentages élevés et qui ont été formées par ARG 210 (~50%), ASN 257 (~70%), GLU 424 (~175%), ASN 519 (~50%), TYR 552 (~90%) et TYR 700 (~100%), De plus, trois interactions hydrophobes intéressantes ont été formées avec PRO 388 (~ 75 %), TYR 552 (~ 10 %) et TYR 700 (~ 50 %) (Figure III.28 : D). Le composé **e** a formé huit liaisons hydrogène avec PHE 209 (~30%), ASP 327 (~55%), GLU 425 (~70%), SER 454 (~25%), GLY518 (~35%), ARG 536 (~100 %), TYR 552 (~12 %) et TYR 700 (~75 %), également, cinq interactions hydrophobes ont été formées par LYS 207 (~25 %), LEU 428 (~12 %), ARG 534 (~35 %), TYR 549 (~45%), TYR 552 (~45%) et TYR 700 (~75%) (Figure III.28 : E). Le dernier composé **f** a formé neuf interactions hydrogène avec ARG 210 (~10%), ASP 387 (~75%), GLU 424 (~45%), GLY518 (~50%), ASN 519 (~100%), ARG 534 (~10%), ARG 536 (~125%), TYR 552 (~100%) et TYR 700 (~90%), sept interactions hydrophobes ont été observées via PHE 209 (~50%), LEU 428 (~12%), ARG 534 (~10%), ARG 536 (~50%), TYR 549 (~50%), TYR 552 (~60%) et TYR 700 (~90%) (Figure III.28 : F). L'inhibiteur co-cristallisé a formé six liaisons hydrogène avec ARG 210 (~ 20 %), ASN 257 (~ 20 %), ASP 387 (~ 100 %), GLU 425 (~ 100 %), GLY518 (~ 10 %), TYR 552 (~ 110 %) et TYR 700 (~ 150 %), deux interactions hydrophobes se sont formées avec un faible pourcentage via PHE 209 (~ 05 %) et ARG 534 (~ 15 %) (Figure III.28 : R).

Un pourcentage supérieur à 100 indique la formation de plus d'une interaction de liaison hydrogène en même temps. Après l'analyse des interactions des liaisons de nos ligands au sein du GCPII pendant le temps de simulation (50 ns), nous avons observé que les interactions des ligands étudiés sont plus importantes que celles du ligand co-cristallisé.

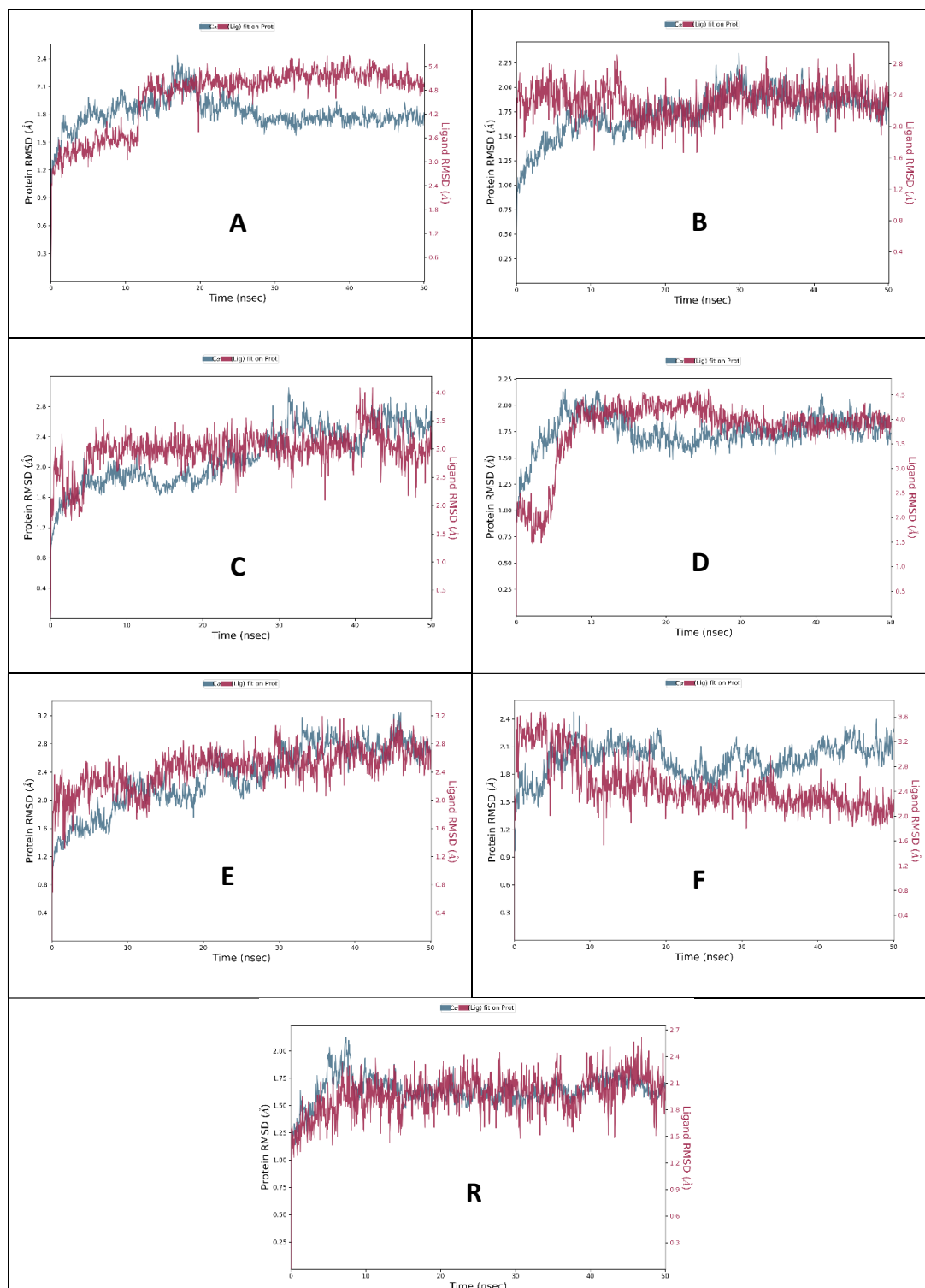


Figure III.26. Déviation quadratique moyenne (RMSD) des atomes C-alpha des protéines et de nos ligands (A : Protéine-a, B : Protéine-b, C : Protéine-c, D : Protéine-d, E : Protéine- e, F : protéine-f et **R** : ligand de référence protéique) au cours du temps. L'axe Y de gauche montre la variation de la protéine RMSD avec le temps. L'axe Y de droite montre la variation du ligand RMSD avec le temps.

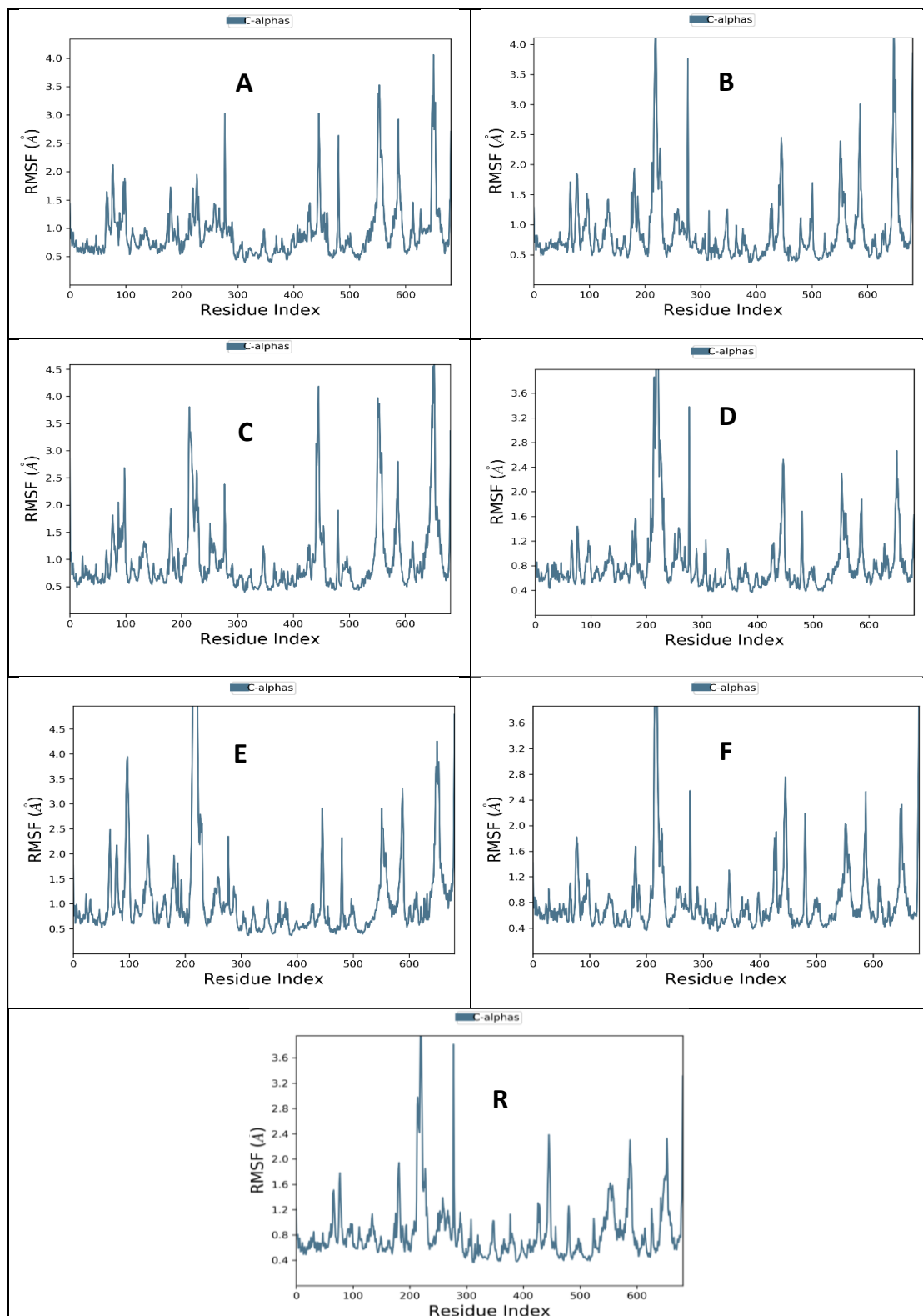


Figure III.27. Fluctuation quadratique moyenne (RMSF) des complexes protéine-ligand (A : Protéine-a, B : Protéine-b, C : Protéine-c, D : Protéine-d, E : Protéine-e, F : Protéine-f et R : ligand de référence protéique) au cours du temps. L'axe Y de gauche montre la variation de la protéine RMSD avec le temps. L'axe Y de droite montre la variation du ligand RMSD avec le temps.

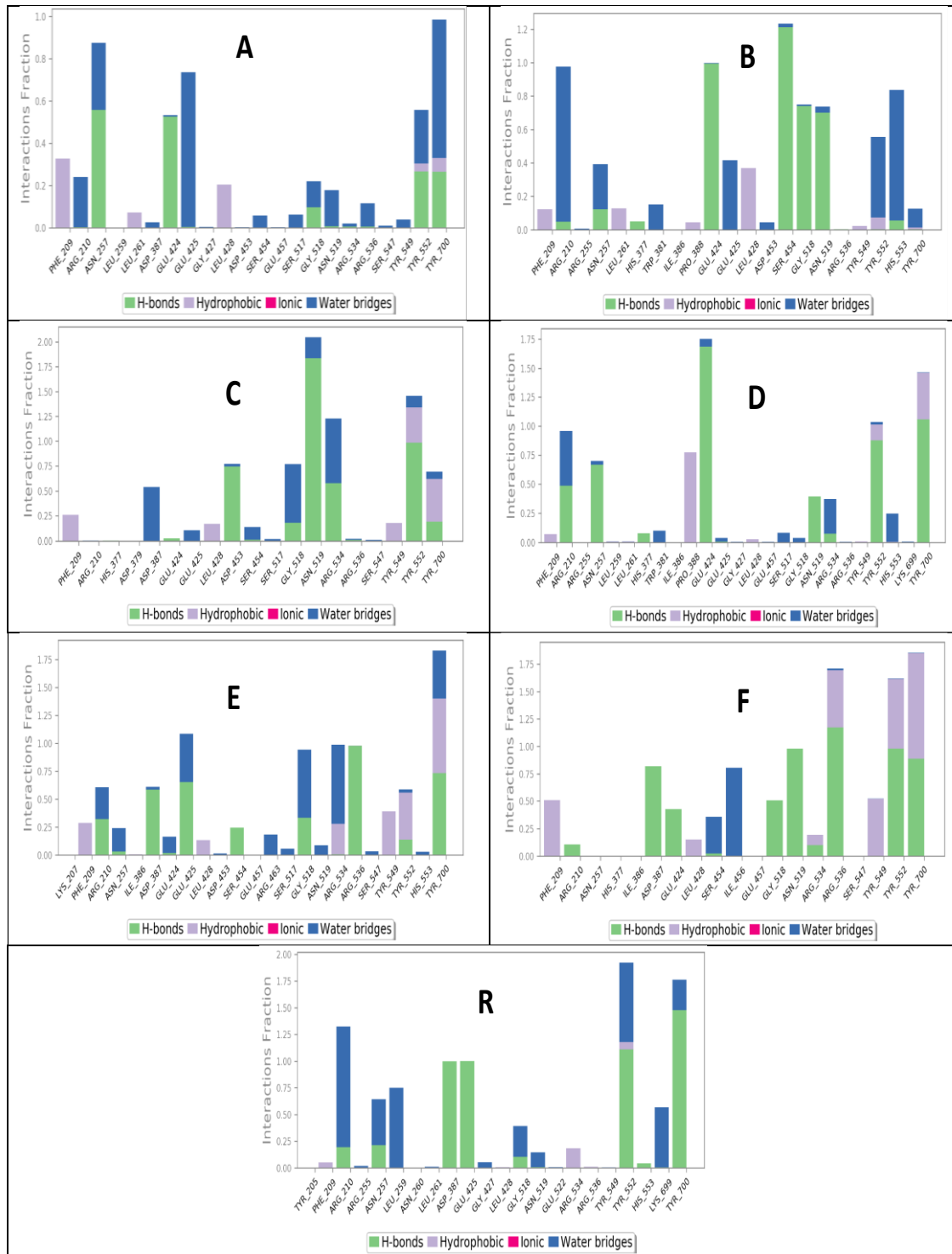


Figure III.28. Histogramme décrivant les interactions protéine-ligand pour GCPII avec les ligands étudiés et l'inhibiteur co-cristallisé pendant le temps de simulation (50 ns).

III.2.2.3. Etude DFT

III.2.2.3.1. Réactivité chimique des Carboxylsulfamides

- Paramètres de réactivité globale des Carboxylsulfamides

Les descripteurs de réactivités tels que (I), (A), (χ), (η), (ω) et (S) peuvent être calculés à partir des énergies des orbitales frontières (HOMO et LUMO), ces paramètres ainsi que les descripteurs quantiques (énergies HOMO, LUMO, énergie gap (HOMO-LUMO) et polarisabilité (α_{Tot})) calculés à partir de la méthode DFT B3LYP/6-31G (d, p) sont regroupés dans le tableau III.13.

Tableau III.13. Energie (HOMO, LUMO), gap énergie et paramètres de réactivité des carboxylsulfamides étudiés (a-f).

Descripteurs (eV)	a	b	c	d	e	f
α_{Tot} (Bohr ³)	172,62.	177,59	187,80	214,46	220,46	243,43
E_{HOMO}	- 7,01047	- 7,21265	- 7,18871	- 7,01510	- 6,31114	- 5,64745
E_{LUMO}	- 0,07157	- 0,52328	- 0,62015	- 0,67702	- 0,58287	- 0,60491
ΔE_{gap}	6,9389	6,68937	6,56856	6,33808	5,72827	5,04254
$I = - E_{HOMO}$	7,01047	7,21265	7,18871	7,01510	6,31114	5,64745
$A = - E_{LUMO}$	0,07157	0,52328	0,62015	0,67702	0,58287	0,60491
$\chi = (I+A)/2$	3,541	3,868	3,904	3,846	3,447	3,126
$\mu = - (I+A)/2$	- 3,541	- 3,868	- 3,904	- 3,846	- 3,447	- 3,126
$\eta = (I-A)/2$	3,469	3,345	3,284	3,169	2,864	2,521
$S = 1/2\eta$	0,288	0,299	0,304	0,316	0,349	0,397
$\omega = \mu^2/2\eta$	1,807	2,237	2,321	2,334	2,074	1,938

Selon le tableau des résultats, le composé (f) possède la plus petite valeur de gap et dureté par rapport aux autres composés étudiés, ce qui confirme qu'il est le plus réactif.

III.2.2.3.2. Analyse des orbitales moléculaires frontières

Les orbitales frontières HOMO et LUMO et les structures optimisées des carboxylsulfamides étudiés sont illustrés dans la figure III.29.

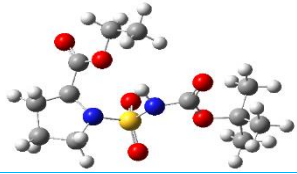
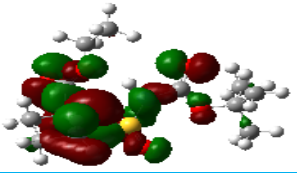
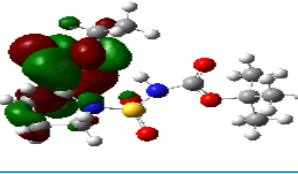
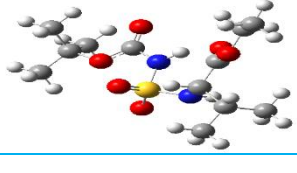
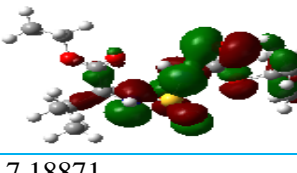
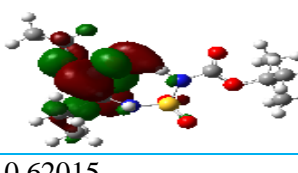
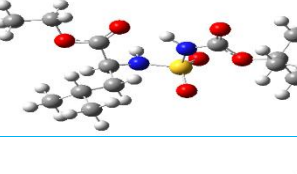
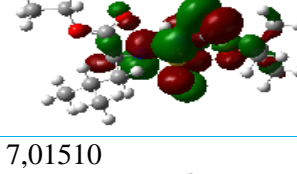
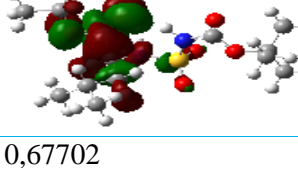
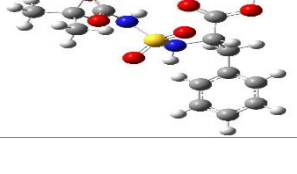
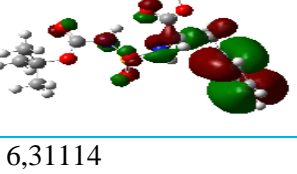
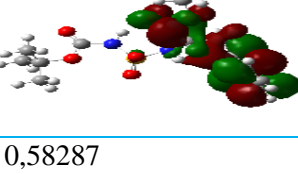
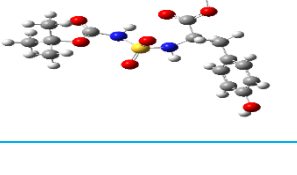
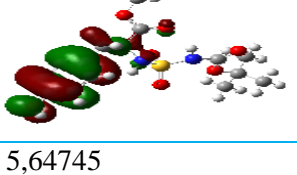
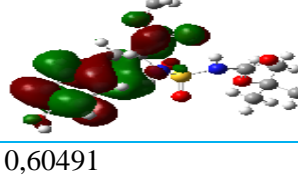
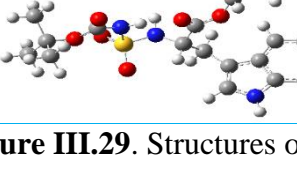
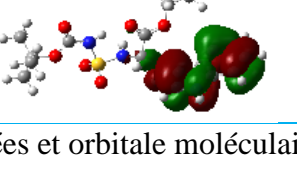
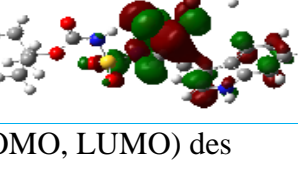
Comp.	Structure optimisée	HOMO - 7,01047	LUMO - 0,07157
3.3			
3.4			
3.5			
3.6			
3.7			
3.8			

Figure III.29. Structures optimisées et orbitale moléculaire (HOMO, LUMO) des carboxylsulfamides étudiés (a-b) obtenus par B3LYP/6-31G (d,p).

La figure III.29 montre que l'orbitale moléculaire HOMO de tous les composés est distribué sur la région des hétéroatomes, ce qui confirme la réactivité de cette partie.

III.2.2.3.3. Paramètres de réactivité locale des Carboxylsulfamides

✓ Indices de Fukui

Les fonctions de Fukui sont largement utilisées pour prédire la région des sites les plus électrophiles et plus nucléophiles dans une molécule. Ces paramètres mesurent la tendance de la molécule à perdre ou gagner un électron. Selon la littérature, il a été constaté qu'un site est

plus réactif, lorsqu'il possède les valeurs les plus élevées de la fonction Fukui (f_k)¹⁶⁰ et ¹⁶¹. Les fonctions de Fukui condensées ont été proposées par Yang et Mortier¹⁶², pour un atome k les trois formes de fonctions de Fukui sont définies comme suit :

$$\begin{aligned} f_k^+ &= [q_k(N+1) - q_k(N)] && \text{Pour une attaque nucléophile} \\ f_k^- &= [q_k(N) - q_k(N-1)] && \text{Pour une attaque électrophile} \\ f_k^0 &= \frac{[q_k(N+1) - q_k(N-1)]}{2} && \text{Pour une attaque radicalaire} \end{aligned}$$

Où : $q_k(N)$, $q_k(N+1)$ et $q_k(N-1)$ sont respectivement la population électronique de l'atome k sous la forme de la molécule neutre, anionique et cationique.

✓ Electrophilie Locale

L'électrophilie locale ω_k^+ ¹⁶³ peut être calculée à partir de l'indice d'électrophilie global (ω) et l'indice de fukui électrophile (f^+), l'équation de calcul est comme suit :

$$\omega_k^+ = \omega f^+$$

Les indices de Fukui et d'électrophilie locale calculés sont présentés dans le tableau III.14.

D'après les résultats de ce tableau, on peut conclure que les plus grandes valeurs de f^+ et ω^+ pour les carboxylsulfamides étudiés sont celles de l'atome d'oxygène de l'ester carbonyle (R-COO-tert-Butyle), sauf pour les composés **e** et **f**, en raison respectivement de l'influence de l'effet donneur du groupement hydroxyle du phénol (OH en position para), et de l'effet mésomère du doublet libre de l'atome d'azote du 1H-indole. Nous constatons également que les valeurs les plus élevées de f^+ et ω^+ sont celles du carbone carbonyle de l'ester (R-COO-C₂H₅) pour tous les composés. Ces résultats confirment que l'atome d'oxygène d'ester carbonyle (R-COO-tert-Butyle) est le plus sensible aux attaques électrophiles pour les composés (**a-d**), et le carbone carbonyle de l'ester (R-COO-C₂H₅) est le plus sensible aux attaques nucléophiles pour tous les composés.

¹⁶⁰ P.K. Chattaraj, S. Nath, A.B. Sannigrahi, Hardness, *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 9143-9145.

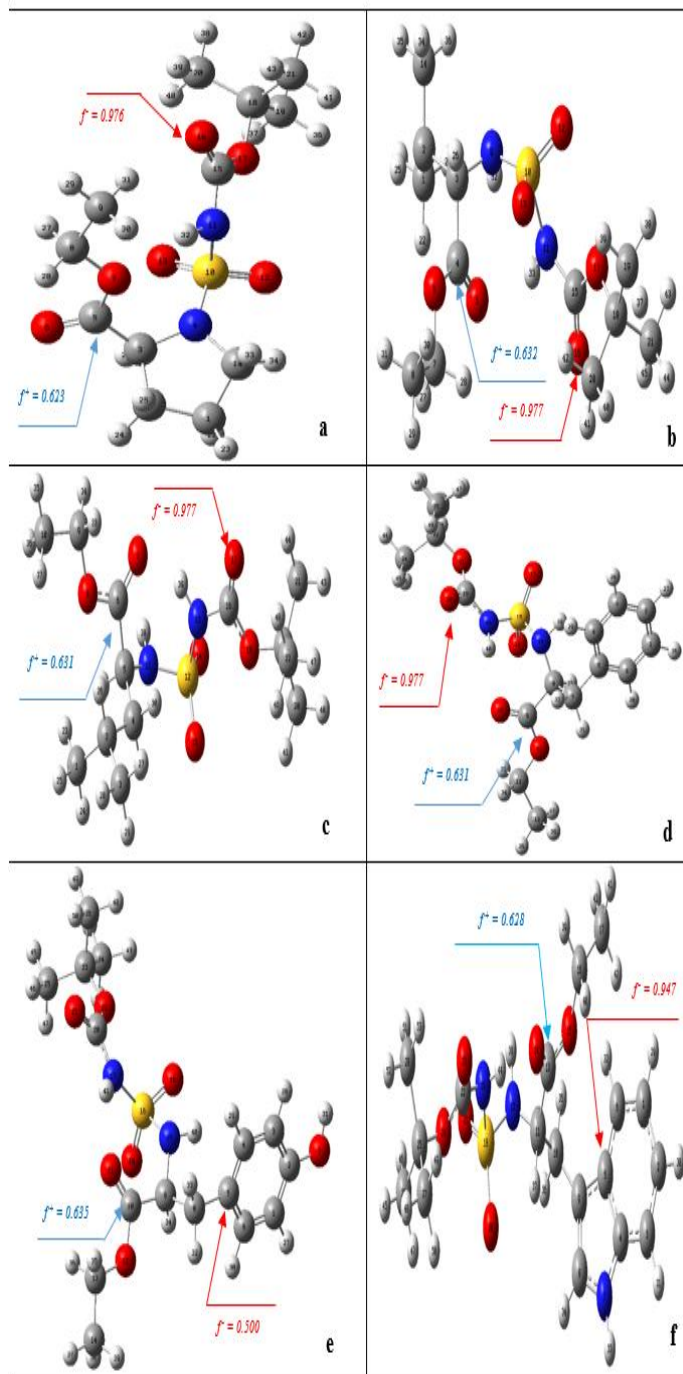
¹⁶¹ W. Yang, R.G. Parr, Hardness, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1985**, 82, 6723-6726.

¹⁶² W. Yang, W.J. Mortier, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 5708-5711.

¹⁶³ P. Pérez, L.R. Domingo, A. Aizman, R. Contreras, *Elsevier Science: Oxford.* **2007**, 19, 139.

Tableau III.14. Paramètres de réactivité locale des composés étudiés.

	Atome	f^{\bullet}	f^+	ω^+	ω^-
a	C5	0.000	0.623	0.544	0.000
	O6	0.000	0.354	0.309	0.000
	O16	0.976	0.000	0.000	0.852
b	C4	0.000	0.632	0.651	0.000
	O5	0.000	0.343	0.354	0.000
	C15	0.015	0.000	0.000	0.016
	O16	0.977	0.000	0.000	1.008
c	C6	0.000	0.631	0.732	0.000
	O7	0.000	0.347	0.402	0.000
	C16	0.016	0.000	0.000	0.019
	O17	0.975	0.000	0.000	1.131
d	C9	0.000	0.631	0.573	0.000
	O10	0.000	0.341	0.310	0.000
	C19	0.017	0.000	0.000	0.015
	O20	0.976	0.000	0.000	0.886
e	C3	0.015	0.000	0.000	0.014
	C4	0.456	0.000	0.000	0.438
	C5	0.500	0.003	0.003	0.480
	C6	0.014	0.001	0.001	0.014
	C10	0.001	0.635	0.610	0.001
	O11	0.000	0.335	0.322	0.000
f	C4	0.016	0.000	0.000	0.008
	C5	0.947	0.000	0.000	0.458
	C6	0.016	0.000	0.000	0.008
	C9	0.017	0.001	0.001	0.008
	C13	0.000	0.628	0.304	0.000
	O14	0.000	0.345	0.167	0.000



III.2.2.3.4. Surface de potentiel électrostatique moléculaire (MESP)

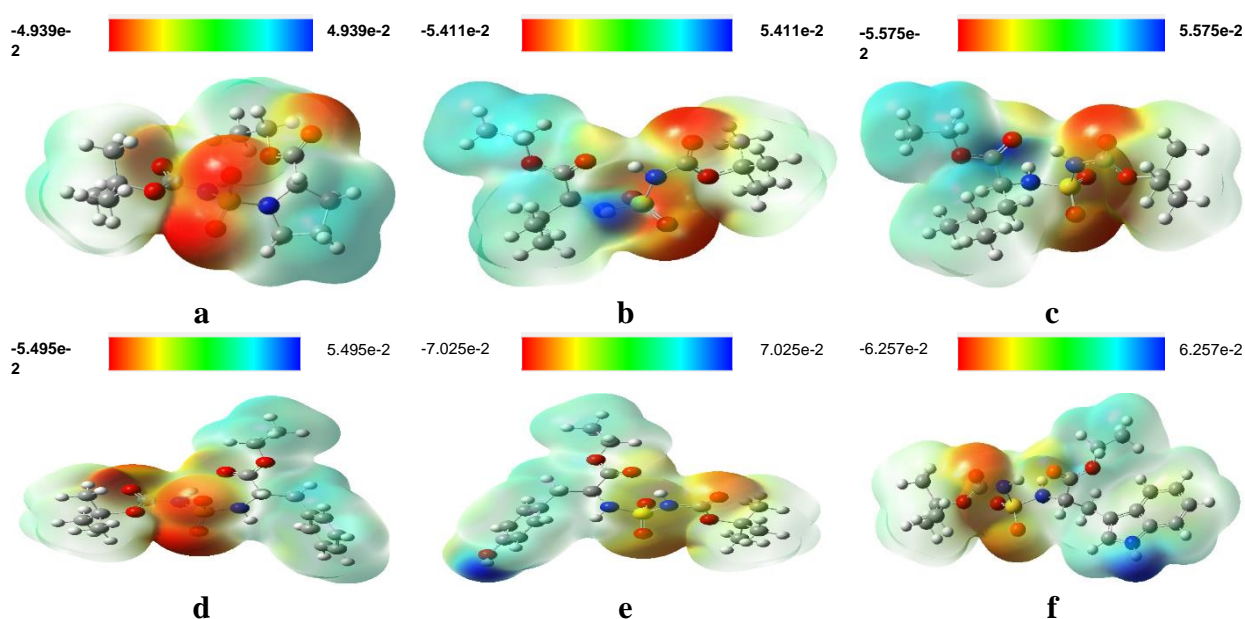


Figure III.30. Carte de Potentiel électrostatique moléculaire des carboxylsulfamides étudiés de la densité totale.

Comme le montre la figure III.30, la zone rouge pour tous les composés étudiés correspond au groupement sulfonyle, à l'exception de composé **e**, la zone bleue représente l'hydrogène d'amine, excepté pour les composés **a** et **e**, tandis que la zone verte correspond aux atomes d'hydrogènes et des carbones. Les régions de plus positives potentielles (PP) et celles de plus négatives potentielles (PN) sont regroupés dans le tableau III.15.

Tableau III.15. Régions de plus positives (PP) et plus négatives (PN) potentielles des carboxylsulfamides étudiés.

Composé	Élément	Région (PP)	Région (PN)	Couleur de région
a	S18		- 0.0489	Rouge
	O7		- 0.0404	Rouge
	O16		- 0.0480	Rouge
	C1	0.0260		Bleu
	C5	0.0262		Bleu
b	S10		- 0.0482	Rouge
	O12		- 0.0540	Rouge
	O13		- 0.0468	Rouge
	O16		- 0.0518	Rouge
	H32	0.0514		Bleu
c	S12		- 0.0544	Rouge
	O14		- 0.0533	Rouge
	O15		- 0.0546	Rouge
	O17		- 0.0526	Rouge
	H38	0.0554		Bleu

d	C6	0.0505		Bleu
	S15		- 0.0497	Rouge
	O17		- 0.0523	Rouge
	O18		- 0.0493	Rouge
	O20		- 0.0542	Rouge
	O21		- 0.0533	Rouge
	H40	0.0236		Bleu
e	C9	0.0247		Bleu
	H31	0.0700		Bleu
	O18		- 0.0514	Rouge
	O19		- 0.0503	Rouge
f	O21		- 0.0547	Rouge
	H33	0.0623		Bleu
	H38	0.0557		Bleu
	C13	0.0419		Bleu
	S18		- 0.0425	Rouge
	O20		- 0.0501	Rouge
	O21		- 0.0527	Rouge
O23		- 0.0540	Rouge	

III.2.2.4. Etude ADMET

Afin d'évaluer l'activité biologique des composés étudiés, une analyse de l'ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) a été utilisée. Ses caractéristiques pharmacocinétiques importantes et certains paramètres physicochimiques ont été donnés par le logiciel gratuit swiss ADME¹⁶⁴, et répertoriés dans le tableau III.16. La règle des cinq de Lipinski est largement utilisée pour prédire la similarité pharmacologique des médicaments. Dans ce contexte, le tableau III.17 énumère les besoins en médicaments oraux.

Tableau III.16. Les normes des exigences en matière de médicaments oraux¹⁶⁵ et ¹⁶⁶

characteristic	Parameter	Abbreviation	Norm
POLAR (polarité)	Surface polaire topologique (\AA^2)	TPSA	$117.07 < \text{TPSA} < 26.30$
LIPO [Lipophilie]	XLOGP3	XLOGP3	$- 0.00 < \text{XLOGP3} < 2.92$
INSOLU [Insolubilité]	Log S (ESOL)	Log S (ESOL)	$- 3.86 < \text{Log S (ESOL)} < 2.05$
FLEX [Flexibilité]	Nombre des liaisons rotatives	(RB)	$0 < \text{RB} < 7$

¹⁶⁴ A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Sci. Rep.* **2017**, 7, 42717-42729.

¹⁶⁵ C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 46, 3-26.

¹⁶⁶ D. Antoine, M. Olivier, Z. Vincent, *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, 54, 3284-3301.

taille	Masse moléculaire	MW (g.mol ⁻¹)	126.20 < MW < 204.36
INSATU [Insaturation]	Fraction d'atomes de carbone sp ³	Fraction Csp3	0.25 < Fraction Csp3 < 1

Les propriétés physicochimiques prévues, la lipophilie et la ressemblance médicamenteuse (drug-likeness) des composés (**a-f**) calculées par Swiss ADME sont fournies dans le tableau III.17.

Tableau III.17. Les propriétés physicochimiques, lipophilicité et ressemblance médicamenteuse prédites des composés (**a-f**) par SwissADME.

Les paramètres physicochimiques								
Composé	MW (≤500)	TPSA (Å ²)	HBA (≤10)	HBD (≤5)	RB (≤5)	cLogP (≤5)	Score de Biodisponibilité	La violation de Lipinski
a	322.38	110.39	7	1	8	1.11	0.55	0
b	324.39	119.18	7	2	10	1.45	0.55	0
c	338.42	119.18	7	2	11	1.75	0.55	0
d	372.44	119.18	7	2	11	1.99	0.55	0
e	388.44	139.41	8	3	11	1.69	0.55	0
f	411.47	134.97	7	3	11	2.25	0.55	0

Poids moléculaire MW, TPSA Surface polaire moléculaire totale, HBA Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène, HBD Nombre de donneurs de liaisons hydrogène, RB Nombre de liaisons rotatives, cLogP Consensus de la lipophilie calculée.

Nous pouvons conclure que tous les composés correspondent aux exigences de la règle de cinq de Lipinski. De plus, le nombre de liaisons rotatives (RB) des cinq molécules est compris entre 8 et 11 (> 5), les HBA, HBD et cLogP de tous les composés sont inclus dans les normes. Étant donné que ces composés ont des valeurs (TPSA) et (MW) acceptables. Les résultats de cette étude ont indiqué que les composés (**a-f**) possèdent de bonnes propriétés physiques et chimiques pour être un traitement médicamenteux potentiel. Le radar de biodisponibilité orale des molécules titrées est illustré dans la figure III.31. Comme le montre cette figure, les valeurs de

tous les paramètres se situaient dans l'intervalle souhaité pour une biodisponibilité améliorée, à l'exception de la flexibilité des composés (b-f).

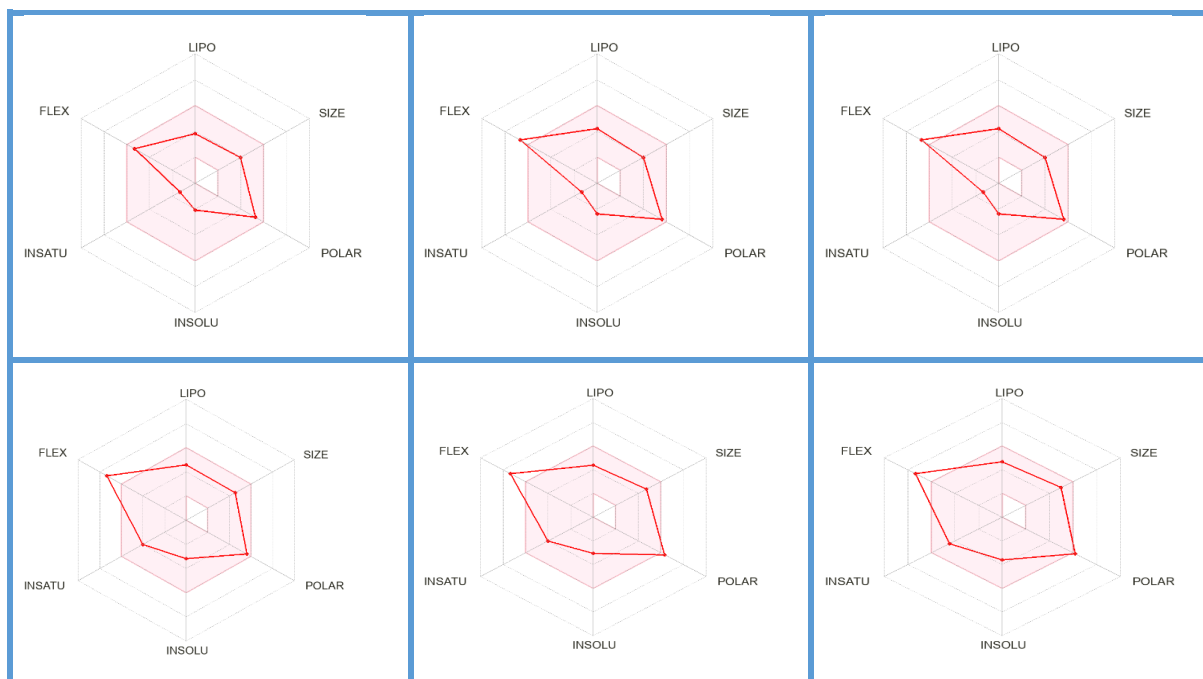


Figure III.31. Radar lié aux propriétés physicochimiques des composés (a-f)

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons préparé de nouvelles molécules dérivées de sulfonamide en deux étapes ; carbamoylation et sulfamoylation à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle. Les structures ont été identifiées par les méthodes spectrales.

Une étude de simulation théorique (docking et dynamique moléculaire) a été réalisée sur tous les composés synthétisés dans le but de simuler les interactions et la stabilité de ces composés dans le récepteur biologique choisis. Ainsi que des études DFT et ADME ont été effectuées pour identifier la réactivité chimique et la pharmacocinétique.

Les activités antibactérienne et anti-inflammatoire des *N*-acylsulfonamides préparés à partir du cyclohexanol ou du méthoxy-phénol ont été testés in vitro et les résultats obtenus ont montré un effet significatif.

Chapitre III

Protocoles Expérimentaux

III.1 Conditions générales

- **Température de fusion**

Les températures de fusion (T_f) sont déterminées en capillaire à l'aide d'un appareil électrothermal (**Barnstead / Electrothermal**).

- **Chromatographie**

La progression des réactions et la pureté des produits sont surveillées en utilisant la technique de chromatographie sur couche mince (CCM) sur des plaques de silice **Merck 60 F254**.

La révélation des composés est réalisée en observant les plaques sous une lampe **UV** à une longueur d'onde de **254 nm**, ce qui permet de détecter les composés contenant des groupements chromophores. Ensuite, une solution de ninhydrine est vaporisée sur les plaques, suivie d'un chauffage, afin de révéler les composés à l'aide de la réaction de la ninhydrine. Les purifications ont été effectuées en utilisant la chromatographie sur colonne de gel de silice avec deux types de silice : la silice **Carlo Erba** (Silica Gel **60 Å**, granulométrie : **35-70 μm**) ou la silice **Merck 60 H (Art.9385)**.

- **Résonance magnétique nucléaire**

Les spectres RMN du proton ont été enregistrés à température ambiante sur des appareils **AC Brüker à 400 MHz**. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm en utilisant le tétraméthylsilane comme référence interne, et les constantes de couplage **J** sont mesurées en Hertz. La multiplicité des signaux est indiquée par une ou plusieurs lettres minuscules : s (singulet), d (doublet), dd (doublet dédoublé), sl (singulet large), t (triplet), q (quadruplet) et m (multiplet).

Les spectres **RMN** du carbone ont été enregistrés à température ambiante sur des appareils **Brüker à 62, 100.62 MHz**. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane pris comme référence interne.

- **Infrarouge**

Les spectres **IR** ont été enregistrés sur un appareil **Perkin Elmer 781** en utilisant des cellules en chlorure de sodium d'épaisseur fixe pour les solutions liquides en film. Pour les solides, des pastilles ont été préparées en mélangeant 2 à 4 mg de l'échantillon avec 50 à 100 mg de KBr. La position des bandes caractéristiques est exprimée en cm^{-1} .

- **Spectrométrie de masse**

Les spectres de masse ont été réalisés sur un appareil **Shimadzu QP 1100 Ex** porté à un potentiel d'ionisation de **70 eV**.

- **Analyse élémentaire**

Les valeurs de l'analyse élémentaire ont été enregistrées sur un appareil **EURO 3000**.

- **Cristallographie**

Les analyses cristallographiques par diffraction des rayons X ont été réalisées à température ambiante et à basse température en utilisant un diffractomètre **APEX II**. Un faisceau monochromatique correspondant à la raie $\text{MoK}\alpha$ a été utilisé comme source de radiation.

III.2 Logiciels et programmes de calcul

III.2.1 Logiciel Chem Draw professional 16.0

Le ChemDraw professional 16.0 est un logiciel utilisé pour dessiner les structures moléculaires, prédire les spectres RMN et calcul des propriétés physicochimiques des molécules. Il existe actuellement trois versions de ce logiciel qui sont ChemDraw prime, ChemDraw professional et ChemOffice professional

III.2.2 Logiciel Guassian

Le Gaussian est un logiciel de chimie computationnelle, programme est utilisé pour l'optimisation des géométries moléculaires, la prédiction de charges, la visualisation des orbitales moléculaires et la prédiction des spectres IR et RMN. Dans notre travail on a employé deux versions de Gaussian :

-Le programme Gaussview5.0 : pour la construction et la visualisation des molécules.

-Le programme Gaussian09 : pour l'optimisation des géométries et le calcul de descripteurs.

III.2.3 Programmes de la suite Schrodinger

Maestro est une plate-forme unifiée pour l'utilisation des outils de *Schrodinger*, et permet ainsi une grande variété d'utilisations possibles. Parmi les caractéristiques du Maestro, on trouve ; la génération de modèles et la construction de molécules de toutes sortes; possibilité de visualisation de petites molécules à des complexes biomoléculaires, à la fois dans des modèles 3D et 2D et analyse structurale quantitative. Maestro comprend des instruments pour la mesure précise des caractéristiques structurales des molécules, ainsi que la possibilité de superposition des structures pour la comparaison; gestion et analyse des données, calcul des propriétés

moléculaires. En outre, les principaux programmes de la suite *Schrodinger* sont intégrés dans Maestro, y compris les plus pertinents pour mon travail de thèse :

— **GLIDE**, pour le docking moléculaire.

— **LigPrep**, pour générer des structures moléculaires d'énergie 3D minimales. LigPrep applique également des règles sophistiquées pour corriger les structures de Lewis et éliminer les erreurs possibles. A partir de molécules 2D à travers ligprep, il est possible de :

1. Ajouter des hydrogènes;
2. Retirer les contre-ions ou les molécules d'eau ;
3. Ioniser les molécules sur la base des conditions de pH spécifiées (dans mon travail de thèse, le pH a été fixé à 7,0);
4. Générer des tautomères;
5. Supprimer les structures endommagées;
6. Optimiser la géométrie tridimensionnelle des structures;
7. Définir le nombre d'états de tautomères / d'ionisation pour chaque composé; (la valeur d'une structure unique pour chaque molécule a été définie).

III.2.4 Programme de visualisation UCSF CHIMERA

Le software *Chimera*, développé par l'Université de Californie, San Francisco, est un programme multifonctionnel principalement utilisé pour la visualisation graphique et l'analyse de petites molécules, protéines et acides nucléiques. Ce programme a été choisi pour visualiser les résultats de docking moléculaire de notre travail de thèse.

III.3 Méthodes de synthèse

III.3.1 Synthèse des *N*-acylsulfonamides à partir d'isocyanate de chlorosulfonyl

- Carbamoylation

Dans un ballon de 50 ml, on dissout un équivalent d'isocyanate de chlorosulfonyl (ICS) dans le dichlorométhane anhydre, 1 équivalent du cyclohexanol ou du méthoxy-phénol est additionné goutte à goutte à 0°C à l'aide d'une ampoule à brome surmonté d'une garde à chlorure de calcium. La solution est maintenue sous agitation magnétique pendant 30 minutes.

- Sulfamoylation

Dans un ballon de 100 ml, la solution de carbamate de chlorosulfonyl formé préalablement est ajoutée lentement à 1 équivalent de la morpholine dissout dans le CH_2Cl_2 anhydre à basse température, en présence de 1,1 équivalent de triéthylamine.

La réaction est laissée sous agitation magnétique pendant 2 heures, le produit résultant est révélé par pulvérisation à la ninhydrine après chauffage.

- Traitement

La solution est diluée dans du dichlorométhane, puis elle est lavée avec une solution d'acide chlorhydrique (0,1N) jusqu'à obtenir un pH acide. Ensuite, elle est lavée à l'eau jusqu'à atteindre un pH neutre. La phase organique est séchée avec du sulfate de sodium anhydre, puis elle est évaporée sous vide.

Carbamate de 4-méthoxyphényl (morpholinosulfonyl) (M1)

M (g/mol) = 316.33 [$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$]

Rdt = 85%.

Rf = 0.74 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9/1)

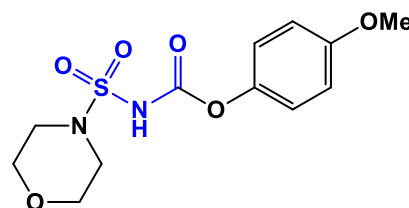
T_f = 158-160 °C

RMN ¹H (CDCl₃, δ ppm, J en Hz): 7.11–7.02 (m, 2H, HAr), 6.94–6.85 (m, 2H, HAr), 6.76 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, NH), 3.80 (s, 3H, CH₃-O), 3.76 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H, 2CH₂-O), 3.48–3.41 (t, 4H, 2CH₂-N) ppm.

RMN ¹³C (CDCl₃, δ ppm): 157.93, 150.22, 143.42, 122.21, 116.17, 114.99, 114.78, 66.41, 66.06, 55.80, 46.85, 46.43 ppm.

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3284 (NH), 1742 (C=O), 1357.87 et 1156 (SO₂).

AE: Calculer: C, 45.56; H, 5.10; N, 8.86; S, 10.14. **Trouver:** C, 45.59; H, 5.15; N, 8.83; S, 10.11.



Carbamate de cyclohexyl (morpholinosulfonyl) (M2)

M (g/mol) = 292.35 [C₁₁H₂₀N₂O₅S]

Rdt = 82%.

Rf = 0.69 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1)

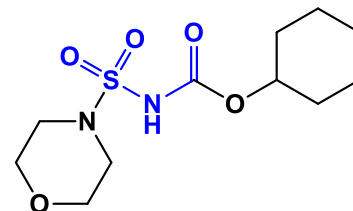
T_f = 118-120°C

RMN ¹H (CDCl₃, δ ppm, J en Hz): 7.36 (s, 1H, NH), 4.79–4.69 (m, 1H, CH), 3.76–3.74 (m, 4H, 2CH₂-O), 3.42–3.38 (m, 4H, 2CH₂-N), 1.93–1.89 (m, 2H, CH₂cyc), 1.76–1.71 (m, 2H, CH₂cyc), 1.56–1.23 (m, 6H, CH₂cyc) ppm.

RMN ¹³C (CDCl₃, δ ppm): 151.17, 76.70, 66.75, 47.12, 32.00, 25.58, 24.07 ppm.

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3124 (NH), 1733 (C=O), 1380 et 1154 (SO₂).

AE: Calculer: C, 45.19; H, 6.90; N, 9.58; O, S, 10.97; **Trouver:** C, 45.23; H, 6.87; N, 9.55; O, S, 10.94.



III.3.2 Synthèse des carboxylsulfamides à partir d'amoesters

- Carbamoylation

Dans un bicol immergé dans un bain de glace, une solution d'isocyanate de chlorosulfonyle (ICS) dans du dichlorométhane anhydre est préparée. À cette solution, une quantité équimolaire de tert-butanol dans le même solvant est ajoutée à l'aide d'une ampoule à brome de calcium surmontée d'une garde à chlorure de calcium, le tout étant effectué sous atmosphère d'argon. La solution est maintenue sous agitation magnétique pendant une demi-heure à la même température.

- Sulfamoylation

La solution de carbamate de chlorosulfonyle provenant de la première étape est transférée dans une ampoule à bromure de calcium surmontée d'une garde à chlorure de calcium. Cette solution est ensuite ajoutée goutte à goutte sur une quantité équivalente d'un aminoester dans du dichlorométhane anhydre, qui est placé dans un ballon bicol immergé dans un bain de glace.

Simultanément à l'ajout du carbamate, deux équivalents de triéthylamine (TEA) dans le même solvant sont également ajoutés dans le ballon à l'aide d'une deuxième ampoule à bromure de calcium surmontée d'une garde à chlorure de calcium. La progression de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM), et les produits sont révélés en utilisant de la ninhydrine après chauffage. Après deux heures d'agitation à température ambiante, le ballon est retiré du bain et la réaction est considérée comme terminée.

- Traitement

La solution obtenue est diluée avec du dichlorométhane et elle est ensuite lavée avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) de concentration 0,1N jusqu'à atteindre un pH acide. Ensuite, elle est lavée avec de l'eau jusqu'à ce que le pH devienne neutre. La phase organique est séchée en utilisant du sulfate de sodium anhydre. Après évaporation du solvant sous vide, le produit résultant de cette réaction est recueilli directement ou purifié en utilisant une colonne de gel de silice, qui est éluée avec du dichlorométhane pur ou mélangé avec du méthanol dans les proportions de (95 : 5).

(*N*-(tert-butoxycarbonylsulfamoyl)-L-prolinate d'éthyle (**a**))

M (g/mol) = 322 [C₁₂H₂₂N₂O₆S]

Rdt = 97%.

Rf = 0.72 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1)

T_f = 100-102 °C

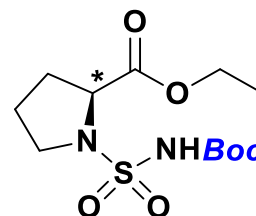
RMN ¹H (CDCl₃, δ ppm, J en Hz): 7.45 (s, 1H, NH), 4.66 (2d, *J* = 8 Hz, 1H, *CH), 4.20 (q, *J* = 18Hz, 2H, OCH₂), 3.52-3.49 (m, 2H, CH₂-N), 2.26-2.19 (m, 4H, -CH₂-CH₂-CH*), 1.46 (s, 9H, Boc), 1.26 (t, 3H, *J* = 13Hz, CH₃-CH₂O).

RMN ¹³C (CDCl₃, δ ppm): 14.23, 24.77, 28.11, 28.36, 30.96, 49.08, 61.64, 61.99, 83.48, 150.18, 172.30 ppm.

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3259 (NH), 1733 (C=O), 1367 et 1144 (SO₂).

AE: Calculer: C, 44.71; H, 6.88; N, 8.69; S, 9.94. **Trouver:** C, 44.77; H, 6.84; N, 8.75; S, 9.91.

(*N*-(tert-butoxycarbonylsulfamoyl)-L-phénylalaninate d'éthyle (**d**))

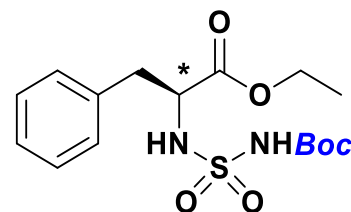


M (g/mol) = 372 [C₁₆H₂₄N₂O₆S]

Rdt = 86 %.

Rf = 0.68 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1)

T_f = 64 - 65°C



RMN ¹H (CDCl₃, δ ppm, J en Hz): 7.1-7.4 (m, 6H, 5CH_{Ar}+NH-Boc), 5.60 (d, 1H, J = 8.8 Hz, NH-SO₂), 4.40 (m, 1H, *CH), 4.10 (q, 2H, OCH₂), 3.00-3.20 (m, 2H, CH₂), 1.45 (s, 9H, Boc), 1.27 (t, J = 13Hz, 3H, CH₃)

RMN ¹³C (CDCl₃, δ ppm): 19.3, 27.4, 39.5, 52.5, 60.1, 79.2, 127.7, 129.8, 129.9, 136.6, 159.3, 173.5.

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3280, 3309 (2NH, NHBoc), 1744, 1724 (2C=O), 1372 et 1151 (SO₂).

AE: Calculer: C, 51.61; H, 6.45; N, 7.53; O, 25.80; S, 8.60; **Trouver:** C, 51.60; H, 6.50; N, 7.52; O, 25.77; S, 8.61.

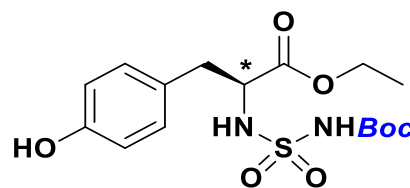
(N-(tert-butoxycarbonyl)sulfamoyl)tyrosinate d'éthyle (e)

M (g/mol) = 382 [C₁₆H₂₄N₂O₆S]

Rdt = 96 %.

Rf = 0.48 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1)

T_f = 71-73 °C



RMN ¹H (CDCl₃, δ ppm, J en Hz): 7.41 (s, 1H, NHBoc), 7.10 (d, J=2H, Ar-H), 6.70 (d, J = 10.08 Hz, 2H, Ar-H), 5.57 (d, J = 10.80 Hz, 1H, NH), 5.39 (s, 1H, OH), 4.35 (d, J = 10.80 Hz, 2H, CH₂), 3.02 (dd, J = 5.2 Hz, J' = 8.64 Hz, 1H, *CH), 4.05 (q, J = 8.82 Hz, 2H, OCH₂), 1.25 (t, J = 8.46 Hz, 3H, CH₃), 1.61 (s, 9H, Boc).

RMN ¹³C (CDCl₃, δ ppm): 22.3, 39.5, 52.5, 58.6, 127.7, 129.8, 129.9, 137.3, 173.5

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3472-3598(OH), 3482, 3261 (NHBoc, NH), 1776, 1745 (C=O), 1338 et 1152 (SO₂).

AE: Calculer: C, 49.46; H, 6.18; N, 7.21; S, 8.24; **Trouver:** C, 49.47; H, 6.23; N, 7.21; O, 28.83; S, 8.25.

(N-(tert-butoxycarbonyl)sulfamoyl)tryptophanate d'éthyle (f)

Conclusion

Générale

Le travail présenté dans cette thèse a pour premier objectif la préparation de nouveaux dérivés de sulfonamide qui possèdent des activités pharmacologiques diverses.

Le deuxième objectif de notre travail est l'étude de l'activité biologique des composés que nous avons synthétisés, les activités antiinflammatoire et antibactérienne ont été évaluées pour les N-acylsulfonamides.

Le troisième objectif de notre travail consiste à la réalisation d'une étude théorique par docking moléculaire en employant les programmes Dockv6.9 et le Maestro afin d'étudier les interactions avec la cible biologique et de comprendre la différence d'inhibition observée entre les dérivés d'intérêt. Toutes les molécules dockées ont été sélectionnées et soumis à la simulation de dynamique moléculaire classique (DM) en utilisant le logiciel Desmond de la suite Schrödinger dans le but de simuler les interactions et la stabilité de ces composés dans le récepteur biologique choisi.

Pour confirmer l'activité biologique de ces composés, nous avons utilisé le logiciel Gaussian pour expliquer l'influence des substituants sur la réactivité à l'aide de quelques descripteurs quantiques (HOMO, LUMO, E, ΔE_{gap} , α_{tot} et μ) et des indices de réactivité (η_s , μ , χ , ω) dérivant de la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT).

Les prédictions de la pharmacocinétique, la similarité des médicaments et les propriétés physico-chimiques de nos petites molécules ont été évalué par Swiss ADME (absorption, distribution, métabolisme et excrétion).

Notre étude montre que l'activité biologique de ces composés est prometteuse.