

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université du 20 août 1955 - SKIKDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

## Mémoire de Master

Filière : Chimie - Spécialité : Chimie organique

**Présenté par :**

Sayeb wiam

Bouhain Sara

### **THEME**

**La prédiction du potentiel toxique de nouveaux composés organophosphorés par inhibition de la Cholinestérase : Approches par modélisation et Docking moléculaire.**

Soutenu le : 27/06/2022

**Devant le jury :**

Dr. BOUDERMINE	MCA	Univ. de Skikda	Président
Dr. NAILI	MCA	Univ. de Skikda	Encadreur
Dr. CHEKKAL	MCB	Univ. de Skikda	Examineur

**Année Universitaire : 2023/2024**



## Remerciement

En premier lieu et avant toute chose, nous louons et remercions Allah pour nous avoir aidé à accomplir ce modeste travail.

C'est avec un énorme plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

Nous tenons particulièrement à remercier notre encadreur, **Dr Naili.N**, pour ses conseils, sa confiance et sa patience, qui ont été une contribution majeure sans laquelle il aurait été impossible d'achever ce travail de manière adéquate. Merci pour votre présence et votre gentillesse. Que ce travail soit un hommage vibrant à sa noble personnalité.

Nous remercierons vivement **Dr Chekkal**

Ces mêmes remerciements s'adressent à **Dr Boudermine**

D'avoir accepté de juger le contenu de present mémoire.



## إهداء

بإرادة الله تبارك وتعالى الذي وفقني ومنحني القوة للبقاء والجرأة للتغلب على كافة الصعوبات من أجل القيام بهذا العمل المتواضع.

وبكل حب اهدي ثمرة نجاحي وتخرجي

الى نفسي الطموحة أولا.

الى اعز كائنات العالم الذين سعوا لأجل سعادتي وزرعوا الثقة والإصرار بداخلي "والديا"

الى القلب الحنون والشمعة التي كانت لي في الليالي المظلمة، الى التي احتضني قلبها قبل يديها وسهلت لي الشدائد بدعائها "امي". الى من دعمني بلا حدود واعطاني بلا مقابل، الى من علمني ان الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة "ابي".

الى من قيل فيهم:

"سنشد عضدك بأخيك"

الى الشموع التي تنير لي الطريق وانتظروا هذه اللحظة بشوق ليفخروا بي كما افخر بهم وبوجودهم، من ساندوني بكل حب عند ضعفي اخواني الأعزاء:

"اصيل، انيس وامين"

الى من شاركني هذا المشوار الطويل وقضيت معها أجمل ايامي صديقتي واختي "سارة" اود ان اعبر لك عن امتناني العميق وتقديري الكبير لكل الجهود التي بذلتها في بحثنا المشترك انا فخورة جدا بما حققناه سويا وأتطلع لمستقبل مشرق لك.

الى صديقة الدرب رفيقة الروح الثابتة، الى من كانت موضع الاحباء في كل عثرائي، الى من امنت بي ودعمتني "عبير" أتمنى ان تحظي بالسعادة والنجاح في كل خطوة تخطيها في حياتك، شكرا لك واتطلع لمواصلة بناء ذكرياتنا المميزة سويا.

الى كل صديقاتي وزميلاتي بدون استثناء.

الى كل من يحب وثام بصدق.

من قال انا لها نالها.

فالحمد لله شكرا وامتنانا على البدء والختام

واخر دعوانا ان الحمد لله رب العالمين

## وثام

## إهداء

(وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

الحمد لله ما تم حمد ولا ختم سعي الا بفضله وما تخطى العبد من صعوبات الا بتوفيقه ومعونته

بعد عناء طويل وبعد تعب وجد وسنوات طويلة ها انا اخطو خطوات تخرجي كم من السرور احمل لهاذا اليوم كم من مصاعب الحياة واجهت لأكمل دراستي

اهدي تخرجي الى اعز الناس وأقربهم الى قلبي الى من ساندني وخطى معي خطواتي الى من كان لي خلال السنوات العجاف غيثا الى من كان ملجائي ومهجتي ومصدر قوتي

ابي

الى من جعل الله الجنة تحت اقدامها الى من سهرت ليال من اجل راحتي واستيقظت فجرًا لدعاء لي اهدي تخرجي الى النور الذي اثار دربي

امي

الى رفيقة الطريق وشريكة اللحظات الجميلة التي لم تتردد يوما في مد يد العون ولم تعرقل خطاي الا لكي تسهم في نجاحي وسعادتي الى الكنف الدائم الذي لم ينحني ابدا اختي وصديقتي وثام

الى من وهبني الله نعمه وجودهم في حياتي الى العقد المتين من كانوا لي عونا اخواني واخواتي

توئمي ايمان ورفيقتي سارة

الى من يفرحهم نجاحي ويحزنهم فشلي احبتي اين ماكانو وحيث ماحلوا

لكل بداية نهاية

ابتدأت بطموح وانتهيت بنجاح

## سارة

### Résumé

Cette étude a exploré le potentiel toxique des composés organophosphorés (OPs) par leur capacité à inhiber l'enzyme cholinestérase (ChE) en utilisant des techniques avancées de modélisation et de docking moléculaire. Les résultats ont révélé des corrélations significatives entre les propriétés physico-chimiques des OPs et leur efficacité inhibitrice, montrant que les composés avec un poids moléculaire élevé et une grande surface de contact ont une meilleure affinité avec l'enzyme. La modélisation moléculaire s'est avérée précieuse pour prédire les propriétés pharmacologiques et toxicologiques, permettant de concevoir des OPs plus sûrs et efficaces. Cette étude souligne la nécessité d'innovations continues dans l'évaluation des risques chimiques pour protéger la santé publique et l'environnement. En somme, elle offre des perspectives nouvelles pour le développement de composés chimiques plus durables et sûrs.

**Mots clés:** OPs, inhibition, AChE, BChE, Docking, Toxicité

## ABSTRACT

---

### Abstract

This study explored the toxic potential of organophosphorus compounds (OPs) through their ability to inhibit the enzyme cholinesterase (ChE) using advanced molecular modeling and docking techniques. The results revealed significant correlations between the physicochemical properties of OPs and their inhibitory efficiency, showing that compounds with a high molecular weight and large surface area have better affinity with the enzyme. Molecular modeling proved valuable in predicting pharmacological and toxicological properties, facilitating the design of safer and more effective OPs. This study underscores the need for continuous innovation in chemical risk assessment to protect public health and the environment. Overall, it offers new perspectives for the development of more sustainable and safe chemical compounds.

**Keywords:** OPs, inhibition, AChE, BChE, docking, toxicity

## الملخص

استكشفت هذه الدراسة الإمكانيات السامة للمركبات العضوية الفوسفورية (OPs) من خلال قدرتها على تثبيط إنزيم الكولينستراز (ChE) باستخدام تقنيات متقدمة للنمذجة الجزيئية والالتحام الجزيئي. كشفت النتائج عن وجود علاقات كبيرة بين الخصائص الفيزيائية الكيميائية للمركبات وكفاءتها في التثبيط، مما أظهر أن المركبات ذات الوزن الجزيئي العالي والمساحة السطحية الكبيرة تتمتع بتفاعل أفضل مع الإنزيم. ثبت أن النمذجة الجزيئية قيمة في التنبؤ بالخصائص الدوائية والسامة، مما يسهل تصميم مركبات OPs أكثر أمانًا وفعالية. تؤكد هذه الدراسة على الحاجة إلى الابتكار المستمر في تقييم المخاطر الكيميائية لحماية الصحة العامة والبيئة. في المجمل، تقدم هذه الدراسة آفاقًا جديدة لتطوير مركبات كيميائية أكثر استدامة وأمانًا.

**الكلمات المفتاحية:** المركبات العضوية الفوسفورية (OPs) ، التثبيط، إنزيم الكولينستراز (AChE) ، إنزيم بيوتيريل كولينستراز (BChE) ، الالتحام الجزيئي، السمية.

## Liste des abréviations

---

<b><math>\Delta E</math> :</b>	Différence d'énergie
<b>ABS :</b>	Les sites de liaison de l'acétyl et de la choline
<b>ACh :</b>	L'acétylcholine
<b>AChE :</b>	L'acétylcholinestérase
<b>ADT :</b>	Auto Dock Tools
<b>ARN :</b>	Acide ribonucléique
<b>ARNr :</b>	Acide ribonucléique ribosomal
<b>BChE :</b>	Butyrylcholinestérase
<b>CAS :</b>	Le site actif catalytique
<b>CE :</b>	L'électrophorèse capillaire
<b>ChE :</b>	Enzyme cholinestérase
<b>FID :</b>	La détection par ionisation de flamme
<b>FPD :</b>	Détection par photométrie de flamme
<b>FPD :</b>	La détection de flamme photoionique
<b>GC :</b>	L'analyse colorimétrique des gaz
<b>HOMO :</b>	Highest occupied molecular orbital (orbitale moléculaire la plus occupée)
<b>HPLC :</b>	La chromatographie liquide à haute performance
<b>iLogP :</b>	Lipophilic (Indice logarithmique de la partition).
<b>IMS :</b>	Spectroscopie de mobilité ionique
<b>IR :</b>	La spectroscopie Infra-Rouge
<b>LUMO :</b>	Lowest unoccupied molecular orbital (orbitale moléculaire inoccupée la plus basse)
<b>MR :</b>	Molar refractivity (le volume moléculaire).

## Liste des abréviations

---

<b>MS :</b>	La spectrométrie de masse
<b>MW :</b>	Molecular weights (la Poids Moléculaire).
<b>nHA :</b>	Numbers of heavy atoms (nombres d'atomes lourds).
<b>nHBA :</b>	Numbers of H-bond acceptors (nombres d'accepteurs de liaisons hydrogène).
<b>nHBD :</b>	Numbers of H-bond donors (nombres de donateurs de liaisons hydrogène).
<b>nRB :</b>	Numbers of rotating bonds (nombres de liaisons rotatives).
<b>OAH :</b>	Le site des oxyanions
<b>Op :</b>	Les composés organophosphorés
<b>PAS :</b>	Le site aromatique périphérique
<b>PDB :</b>	Base de données des protéines
<b>PLP :</b>	Potentiel Linéaire de Pièces.
<b>RMN :</b>	La résonance magnétique nucléaire.
<b>TPSA :</b>	Polar surface area topological (Surface totale de l'aire polaire de la molécule).

## Table des matières

---

Remerciement

Dédicace

Résumé

Introduction générale ..... 1

## **Chapitre I : Étude des organophosphorés et de la cholinesterase**

<b>I.1. Les Composés organophosphorés</b> .....	5
I.1.1. Définition d'organophosphorés.....	5
I.1.2. Structures et Propriétés Chimiques des Composés organophosphorés.....	5
I.1.3. Classification des Composés Organophosphorés.....	6
a. Neurotoxique .....	6
b. les pesticides organophosphorés.....	7
b.1. Historique .....	7
b.2. Définition.....	7
I.1.4. Mécanismes d'Action des Composés Organophosphorés .....	8
I.1.5. Méthodes de Détection et d'Analyse des Composés Organophosphorés.....	9
a. Les techniques conventionnelles en laboratoire .....	9
b. Les techniques sur le domaine.....	10
b.1. La spectroscopie Infra-Rouge (IR).....	10
b.2. La colorimétrie .....	10
b.3. Détection par spectroscopie de mobilité ionique (IMS).....	10
b.4. Détection par photométrie de flamme (FPD) .....	11
b.5. La spectroscopie Raman.....	11
c. Les capteurs développés .....	11
<b>I.2. Généralités sur La Cholinestérase</b> .....	12

## Table des matières

---

I.2.1. Introduction .....	12
I.2.2. Définition de Cholinestérase .....	13
I.2.3. Classification.....	13
I.2.3.1. L'acétylcholinestérase (AChE).....	13
I.2.3.2. Butyrylcholinestérase (BChE).....	14
I.2.4. Biologie moléculaire de cholinestérase.....	15
I.2.4.1. Structure et fonction des enzymes.....	15
I.2.4.2. Les sites actifs important.....	16
a. Le site aromatique périphérique .....	16
b. Les sites de liaison de l'acétyle et de la choline.....	16
c. Le site actif catalytique .....	16
d. Le trou des oxyanions.....	17
I.2.5. Inhibiteurs du cholinestérase.....	17
I.2.5.1. Inhibiteurs réversibles .....	17
I.2.5.2. Les inhibiteurs irréversibles - composés organophosphorés.....	17

## Chapitre II :

### La modélisation et le Docking Moléculaire

II.1. Introduction.....	25
II.2. Modélisation moléculaire .....	25
II.3. Définition du Docking moléculaire .....	26
II.3.1. Types de Docking.....	27
a. Le Docking rigide .....	27
b. Le Docking semi-flexible .....	27
c. Le Docking flexible .....	27
II.3.2. Principe du Docking moléculaire.....	27
a. Représentation du système .....	28
b. Processus de score .....	29

## Table des matières

---

II.4. Les principales classes d'interaction .....	30
II.4.1. Les interactions électrostatiques .....	30
II.4.2. Liaison hydrogène.....	30
II.4.3. Les interactions de Van Der Waals.....	32
II.4.4. Interactions hydrophobes :.....	33

## Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Introduction .....	40
III.2. Détails des calculs .....	40
III.2.1. Méthode de calcul.....	40
a. Logiciels de Modélisation et Visualisation Moléculaire.....	40
b. Logiciels de Chimie Quantique et Calcul.....	41
c. Logiciels de Visualisation et Analyse de Données Scientifiques.....	41
d. Logiciels de Docking Moléculaire .....	41
III.2.2. Préparation des ligands (composés organophosphorés) .....	42
III.2.3. Préparation des enzymes .....	48
III.3. Discussion des résultats .....	49
Conclusion générale .....	62

## Liste des figures

---

<b>Figure I.1</b> : Le mécanisme d'action toxique des Organophosphorés.....	8
<b>Figure I.2</b> : Représentation de la synapse cholinergique.....	12
<b>Figure I.3</b> : Cholinestérase .....	13
<b>Schéma I.1</b> : Hydrolyse de l'acétylcholine par l'Ache.....	14
<b>Figure I.4</b> : Butyrylcholinestérase (BCHE).....	14
<b>Figure I.5</b> : Représentation schématique du site actif de l'AChE .....	15
<b>Figure I.6</b> : Inhibition irréversible de l'acétylcholinestérase par un organophosphoré. ....	18
<b>Figure II.1</b> : Illustration d'une surface de Connolly. La surface de Connolly est représentée en bleu. En violet, la balle d'eau virtuelle. Couleur gris, les différents atomes de la molécule....	28
<b>Figure II.2</b> : Interactions électrostatiques ioniques .....	30
<b>Figure II.3</b> : Liaison hydrogène.....	31
<b>Figure II.4</b> : Les forces de Keesom : dipôle permanent/permanent. ....	32
<b>Figure II.5</b> : Les forces de Debye : dipôle permanent/induit .....	33
<b>Figure II.6</b> : Les forces de London : dipôle induit/induit.....	33
<b>Figure II.7</b> : Interaction hydrophobe .....	34
<b>Figure III.1</b> : Corrélations entre les MW (Da) et le score d'inhibition.....	51
<b>Figure III.2</b> : Corrélations entre les (nHA) et le score d'inhibition.....	52
<b>Figure III.3</b> : Corrélations entre les (nHBA, nHBD) et le score d'inhibition .....	53
<b>Figure III.4</b> : Corrélations entre MR (m <sup>3</sup> /mol) et le score d'inhibition .....	55
<b>Figure III.5</b> : Corrélations entre les nRB et le score d'inhibition.....	56
<b>Figure III.6</b> : Corrélations entre les TPSA et le score d'inhibition.....	57
<b>Figure III.7</b> : Corrélations entre les iLogP et le score d'inhibition.....	58
<b>Figure III.8</b> : Corrélations entre les propriétés électroniques et le score d'inhibition .....	59

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau II.1</b> : Les trois catégories de liaison hydrogène.....	31
<b>Tableau III.1</b> : Les composés organophosphorés .....	43
<b>Tableau III.2</b> : La boîte GRID BOX des enzymes.....	48
<b>Tableau III.3</b> : Propriétés Chimiques des Molécules et Leur Interaction avec les Enzymes AChE et BChE .....	50

## Introduction générale

Les composés organophosphorés (OPs) représentent une classe importante de substances chimiques largement utilisées dans divers secteurs industriels, notamment l'agriculture, la santé publique, et l'industrie chimique. Leur utilisation est principalement due à leurs propriétés insecticides, herbicides et neurotoxiques, qui les rendent efficaces dans le contrôle des organismes nuisibles. Cependant, leur omniprésence et leur potentiel toxique élevé suscitent des préoccupations croissantes concernant leurs effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement [1].

Le mécanisme d'action des OPs repose principalement sur leur capacité à inhiber l'enzyme cholinestérase (ChE), une enzyme cruciale impliquée dans la transmission des influx nerveux au niveau des synapses. En inhibant la Cholinestérase, les OPs perturbent le métabolisme de l'acétylcholine, un neurotransmetteur clé, entraînant une accumulation de cette substance dans les synapses [2]. Cette accumulation conduit à une stimulation prolongée des récepteurs cholinergiques, perturbant ainsi la fonction normale du système nerveux et induisant une gamme variée de symptômes toxiques, allant des troubles neurologiques aux cas extrêmes de paralysie et de décès [3].

Face à ces risques potentiels pour la santé humaine et l'environnement, il devient impératif de développer des méthodes efficaces pour prédire le potentiel toxique des nouveaux composés organophosphorés. Une approche prometteuse dans ce domaine est l'utilisation de techniques de modélisation moléculaire et de Docking moléculaire, qui permettent de prédire les interactions entre les composés OPs et la Cholinestérase, fournissant ainsi des informations cruciales sur leur capacité à inhiber cette enzyme de manière sélective et potentiellement toxique [4,5].

Les communautés internationales ont besoin d'outils efficaces pour évaluer les risques potentiels des nouvelles substances organophosphorées, afin d'assurer la sécurité publique et la protection de l'environnement. En étudiant les effets de ces composés sur la Cholinestérase à l'aide de la modélisation moléculaire et du docking moléculaire, des progrès significatifs peuvent être réalisés pour le développement de substances plus sûres et plus efficaces dans les domaines de l'agriculture, de la médecine et d'autres industries.

## Introduction Générale

---

Notre mémoire est structurée en trois chapitres. Le premier chapitre discutera des composés organophosphorés, de leurs mécanismes d'action, ainsi que d'une revue générale de l'enzyme cholinestérase, de sa structure et de ses inhibiteurs. Le deuxième chapitre abordera le principe de fonctionnement et le processus des programmes de docking moléculaire. Enfin, le troisième chapitre détaillera les méthodologies utilisées pour étudier les structures cibles, ainsi que les protocoles de docking moléculaire, les résultats obtenus et les discussions associées.

### Références bibliographiques

- [1] Jacquet, P., Poirier, L., Daudé, D., & Chabrière, E. (2019, September). Intoxication aux organophosphorés : vers des traitements enzymatiques. In *Annales Pharmaceutiques Françaises* (Vol. 77, No. 5, pp. 349-362). Elsevier Masson.
- [2] Turdean, G., Popescu, I. C., & Oniciu, L. (2002). Biocapteurs ampérométriques a cholinestérasas pour la détermination des pesticides organophosphorés. *Canadian journal of chemistry*, 80(3), 315-331.
- [3] Giacobini, E. (2004). Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. *Pharmacological research*, 50(4), 433-440.
- [4] Leach, A. R. (2001). *Molecular modelling: principles and applications*. Pearson education.
- [5] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*, 3(11), 935-949.

---

**Chapitre I :**

**Étude des organophosphorés et de la  
cholinesterase**

---

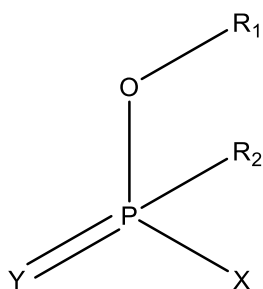
## I.1. Les Composés organophosphorés

### I.1.1. Définition d'organophosphorés

Les composés organophosphorés (OP) sont des substances hautement toxiques employées principalement comme insecticides et agents de guerre neurotoxiques [1]. Caractérisés par leurs propriétés neurotoxiques, ils perturbent le système nerveux en inhibant l'enzyme acétylcholinestérase, ce qui bloque la communication cholinergique et provoque une intoxication aiguë potentiellement mortelle [2]. Leur manipulation exige le strict respect des consignes de sécurité. Particulièrement dans les pays en voie de développement avec une fréquence avoisinant trois millions d'intoxications par an dans le monde entier et une mortalité de l'ordre de 200 000 personnes par année [3].

### I.1.2. Structures et Propriétés Chimiques des Composés organophosphorés

Les composés organophosphorés, sont dérivés chimiquement des acides phosphoriques. Ils sont généralement des esters, des amides ou des dérivés thiol des acides phosphoriques. La formule générale est la suivante [4].



- **La Classe I** où X contient un ammonium quaternaire ; les OP de cette classe possèdent un puissant pouvoir toxique et ne sont pas utilisés en agriculture.
- **La Classe II** : X = F ; les OP de la classe II sont aussi toxiques que ceux de la classe I, ils possèdent, en outre, une forte tension de vapeur. Ces deux propriétés expliquent leur utilisation prédominante comme gaz de combat (tabun) tandis que peu d'entre eux ont été utilisés en agriculture tels que le diméthoate et le fenthion, responsables de la majorité des

décès [5], et le dichlorvos (DDVP) qui est à l'origine de la plupart des intoxications aiguës dans notre pays.

- **La Classe III** :  $X = \text{CN}, \text{OCN}, \text{SCN}$  ou un halogène autre que F ; les OP de la classe III ont une toxicité intermédiaire entre les classes II et IV. Certains, comme le sarin, ont été également utilisés comme gaz de combat.

- **La Classe IV** :  $X =$  autre substituant ;

Les OP de la classe IV regroupent la plupart des produits en agriculture. Dans la plupart des cas, le substituant X est fixé par une liaison P-O ou P-S, plus rarement P-N ou P-C. Les produits de cette classe possèdent des composés R-diéthyl (2  $\text{C}_2\text{H}_5$ ), diméthyl (2  $\text{CH}_3$ ) ou isopropyl ( $\text{S-C}_3\text{H}_7$ ) [6-8].

### I.1.3. Classification des Composés Organophosphorés

#### a. Neurotoxique

Les composés organophosphorés neurotoxiques (OP) représentent une menace redoutable pour la santé publique et la sécurité internationale. Leur utilisation répandue comme pesticides, couplée à leur potentiel d'arme chimique dévastateur, les place au cœur de préoccupations majeures. L'intoxication par les OP est un problème de santé publique de premier plan, particulièrement dans les pays en développement. Les symptômes caractéristiques, tels que le myosis, les céphalées, les larmoiements, la bronchoconstriction, les sécrétions excessives, les troubles digestifs, les fasciculations musculaires, la paralysie, les altérations de l'état mental et les crises d'épilepsie, résultent de l'inhibition de l'enzyme cholinestérase, entraînant une hyperactivité du système nerveux [9].

La recherche sur les OP demeure essentielle pour optimiser le diagnostic, le traitement et la prévention de l'intoxication. Le développement de nouvelles OPs plus efficaces et moins toxiques, ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes d'intoxication, sont des priorités majeures.

Face à la menace grandissante des OPs, une collaboration internationale s'avère indispensable. Des efforts concertés de la communauté scientifique, des autorités sanitaires et des organisations internationales sont nécessaires pour contrer ce danger multiforme et protéger la santé publique à l'échelle mondiale [10].

### b. Les pesticides organophosphorés

#### b.1. Historique

En 1932, le chimiste allemand Willy Lange a fabriqué quelques composés de phosphate organique et a remarqué leurs effets néfastes. Plus tard, Gerhard Schrader a développé des composés OP comme insecticides, mais certains étaient toxiques pour les mammifères. Pendant la Seconde Guerre mondiale, des composés tels que le tabun et le sarin ont été fabriqués comme armes chimiques. Après la guerre, l'intérêt pour les composés OP comme insecticides est revenu, et des composés moins toxiques et plus efficaces ont été développés. Ces composés ont été largement utilisés jusqu'aux années 1970, lorsque des insecticides plus durables les ont remplacés [11 ,12].

#### b.2. Définition

Le mot "pesticide" est un véritable tueur en série linguistique ! Issu du verbe latin "caedo, cadere" signifiant "tuer", il s'est associé à la racine anglaise "Pest" (nuisible) ou au mot français "peste" (fléau), tous deux dérivés du latin "Pestis" désignant une calamité ou une maladie mortelle [13].

"Les pesticides ", désignent toute substance ou produit chimique utilisé pour éliminer les organismes nuisibles aux activités humaines. [14] ; C'est un terme générique qui rassemble les insecticides, les fongicides, les herbicides, les parasitocides. Ils s'attaquent respectivement aux insectes ravageurs, aux champignons, aux mauvaises herbes et aux vers parasites. Ils englobent donc les substances phytosanitaires ou phytopharmaceutiques. Selon le Code de conduite de la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) sur la distribution et l'utilisation des pesticides (Version novembre 2002), la définition de pesticide est : « un pesticide est une substance ou association de substances qui est destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines et animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux » [15]. Mais les pesticides ne se contentent pas de massacrer les ennemis des cultures. Ils peuvent aussi réguler la croissance des plantes, les dépouiller de leurs feuilles, les dessécher ou encore optimiser leur stockage et leur transport. Leurs définitions précises et leurs classifications varient en fonction des contextes d'utilisation et des réglementations [16].

## I.1.4. Mécanismes d'Action des Composés Organophosphorés

Les effets toxiques des composés OP proviennent principalement de trois mécanismes biologiques spécifiques :

1- Le premier est l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase, une enzyme qui aide à la dégradation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur dans le corps. Cela conduit à l'accumulation d'acétylcholine dans la jonction neuromusculaire, provoquant des perturbations dans le transport neuronal.

Lorsque l'enzyme interagit avec un composé OP, l'interaction se produit uniquement sur le site actif de l'enzyme, contrairement à l'interaction qui implique l'enzyme et son substrat naturel. La présence d'une liaison coopérative entre l'atome de phosphore et le groupe hydroxyle des résidus de sérine sur l'enzyme permet la phosphorylation de l'enzyme et la décomposition du composé OP. La phosphorylation de l'ACHes empêche la formation de la liaison coopérative entre l'enzyme et le substrat naturel, empêchant ainsi sa décomposition hydrique et entraînant des effets toxiques (figure I.1).

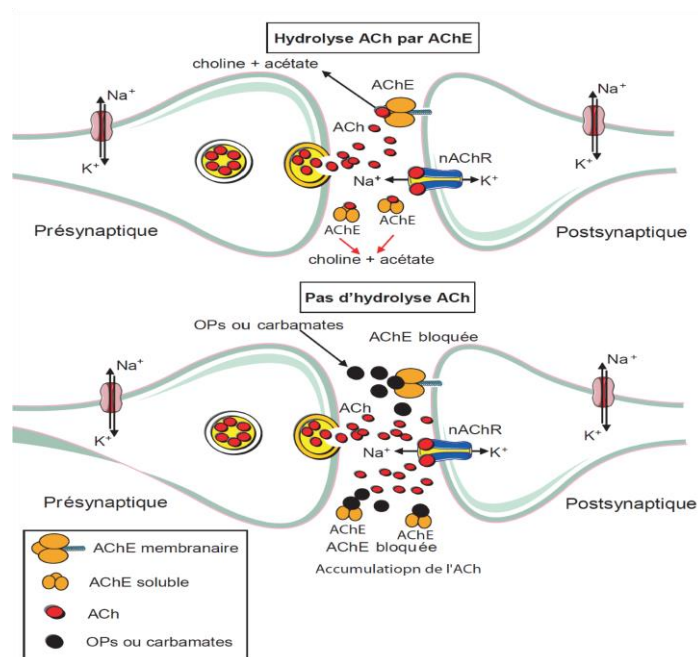


Figure I.1 : Le mécanisme d'action toxique des Organophosphorés [17]

2- Le deuxième mécanisme est l'inhibition des estérases cibles de la neuropathie retardée, des enzymes qui jouent un rôle dans le développement des neuropathies retardées, ce qui peut contribuer à l'apparition de symptômes neurologiques de la toxicité des composés OP.

3- Le troisième est la libération de groupes alkyle liés au site de phosphore, entraînant l'alcoylation de grosses molécules telles que l'ARN ribosomique (ARNr) et l'ADN, causant des dommages tissulaires et pouvant avoir un effet toxique sur les organismes vivants. En résumé, ces trois mécanismes agissent ensemble pour générer les effets toxiques des composés OP sur les organismes vivants, entraînant une variété de symptômes et de problèmes de santé [18].

### **I.1.5. Méthodes de Détection et d'Analyse des Composés Organophosphorés**

Les pesticides organophosphorés sont considérés comme une source majeure de pollution environnementale, car ils peuvent s'infiltrer dans l'environnement aquatique et rester dans le sol pendant de longues périodes, ce qui entraîne la pollution de l'eau et de la nourriture. Les réglementations concernant leur utilisation et leur commercialisation sont strictes, et des normes strictes sont définies pour la qualité de l'eau potable, exigeant de ne pas dépasser les limites autorisées de ces pesticides organophosphorés dans l'eau potable.

Les techniques de détection des composés organophosphorés sont variées dans la littérature scientifique, et elles dépendent des propriétés physiques et chimiques de ces polluants toxiques [19]. Les méthodes sont divisées en trois catégories :

#### **a. Les techniques conventionnelles en laboratoire**

Les composés organophosphorés peuvent être analysés à l'aide de différentes techniques en laboratoire, telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC), la résonance magnétique nucléaire (RMN), l'analyse colorimétrique des gaz (GC), l'électrophorèse capillaire (CE), et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Parmi ces techniques, la détection des phosphates organiques par GC est considérée comme optimale sous forme gazeuse [20]. Les détecteurs utilisés en GC incluent la détection par ionisation de flamme (FID) et la détection de flamme photoionique (FPD). De plus, l'analyse spectrale d'absorption et la spectrométrie de masse (MS) sont utilisées en conjonction avec la GC pour améliorer l'efficacité et obtenir des résultats précis.

La GC-MS est la méthode préférée pour la détection des phosphates organiques en laboratoire en raison de sa sensibilité et de sa sélectivité élevée [21]. Cependant, ce système présente des inconvénients tels que sa taille importante, sa complexité, son coût élevé, et le besoin de personnel qualifié.

### **b. Les techniques sur le domaine**

Les techniques d'analyse dans le domaine de la détection des armes chimiques reposent souvent sur des analyses classiques et présentent certains risques tels que les faux positifs et les taux élevés de faux négatifs. Elles sont utilisées pour détecter les produits chimiques dans l'environnement et prendre les mesures nécessaires. Le processus d'analyse nécessite des équipements sophistiqués et est effectué dans des laboratoires spécialisés [22].

#### **b.1. La spectroscopie Infra-Rouge (IR)**

La technique d'analyse spectrale des infrarouges (IR) repose sur l'absorption par les phosphates organiques des rayonnements infrarouges à des longueurs d'onde spécifiques, ce qui permet l'utilisation de détecteurs infrarouges pour les identifier [23]. Ces détecteurs reposent sur le principe de l'analyse spectrale des infrarouges, où les liaisons chimiques des groupes fonctionnels vibrent à des fréquences spécifiques correspondant à la région des infrarouges. Ces détecteurs présentent une sensibilité moyenne et un temps de réponse rapide, mais leur performance est influencée par les conditions environnementales et nécessite un coût élevé ainsi qu'un volume important des dispositifs [24].

#### **b.2. La colorimétrie**

Est une technique basée sur une réaction chimique spécifique entre l'échantillon et le réactif, ce qui entraîne un changement de couleur de l'échantillon visible à l'œil nu. L'intensité de la couleur est mesurée pour estimer la concentration chimique du composé souhaité, et cela se fait rapidement et facilement. Cette technique est largement utilisée dans divers domaines tels que l'armée [25].

#### **b.3. Détection par spectroscopie de mobilité ionique (IMS)**

Cette technique repose sur l'étude du mouvement des ions dans la phase gazeuse sous l'effet d'un champ électrique [25]. Les molécules sont ionisées dans le réacteur d'analyse et les

ions chargés se dispersent vers le collecteur où ils sont identifiés en fonction de leur masse, de leur charge et de leur mobilité. Un signal distinctif est ensuite généré et peut être comparé à une base de données [26].

### **b.4. Détection par photométrie de flamme (FPD)**

La technique de détection par photométrie de flamme (FPD) repose sur l'émission de rayonnement résultant du passage d'un atome ou d'une masse de l'état excité à l'état fondamental après exposition de l'échantillon à une flamme d'hydrogène dans l'air. Les composés peuvent être identifiés et mesurés en fonction du spectre d'émission unique de chaque composé, et leur sélectivité peut être augmentée en les couplant à une colonne de chromatographie gazeuse en laboratoire [27].

### **b.5. La spectroscopie Raman**

La technique de spectroscopie Raman exploite le phénomène de diffusion de la lumière pour identifier rapidement différents composés chimiques, en faisant interagir les photons de lumière avec les particules chimiques et en les dispersant. Cette technique se distingue par sa bonne spécificité grâce à la détection des vibrations fondamentales des composés chimiques, mais elle souffre de son incapacité à détecter les composés chimiques dispersés dans les échantillons solides et à distinguer les mélanges, ce qui réduit la précision des mesures [22].

### **c. Les capteurs développés**

Comparées aux analyseurs complexes, les capteurs chimiques modernes sont des systèmes simples composés d'une couche sensible capable d'identifier sélectivement les substances chimiques, et d'un convertisseur d'énergie qui transforme cette réaction chimique en un signal physique mesurable. Ces appareils se distinguent par leur petite taille, leur faible consommation d'énergie, leur coût réduit et leur temps de réponse relativement court. Ces caractéristiques en font des outils idéaux pour mesurer les substances chimiques sur site, mais l'analyse de mélanges complexes peut nécessiter l'utilisation d'un grand nombre de ces appareils pour chaque type de composé dans le mélange.

### I.2. Généralités sur La Cholinestérase

#### I.2.1. Introduction

Le système cholinergique est l'un des systèmes importants dans le système nerveux, affectant l'attention sélective et le cycle veille-sommeil. Il dépend principalement de l'acétylcholine comme neurotransmetteur principal, jouant un rôle crucial dans la régulation de l'éveil et de l'activité nerveuse pendant l'éveil. L'acétylcholine est libérée dans la fente synaptique pour l'activation et est dégradée par l'enzyme cholinestérase [28,29].

En 1932, Stedman et ses collègues ont proposé le terme « cholinestérase » pour décrire l'enzyme qui décompose l'acétylcholine et d'autres esters de choline plus rapidement que les esters non cholines [30]. Huit ans plus tard, une étude Alles et Hawes a montré une différence dans l'enzyme cholinestérase entre les érythrocytes humains et le plasma humain [31] (figure I.2). En 1942, une étude de Mendel et Rudney a confirmé l'existence de deux types d'enzyme, le premier étant hautement spécifique pour la choline acétylée, et le second capable de dégrader à la fois la choline et les esters aliphatiques, ce dernier étant appelé cholinestérase pseudo [32]. En 1964, le Comité des enzymes a nommé la cholinestérase spécifique « acétylcholinestérase », et la cholinestérase pseudo « butyrylcholinestérase ». Ces enzymes sont classées dans la catégorie des carboxyléstérases de type B conservées, et se distinguent par leur capacité à absorber la charge cationique, qui est leur caractéristique dominante [33].

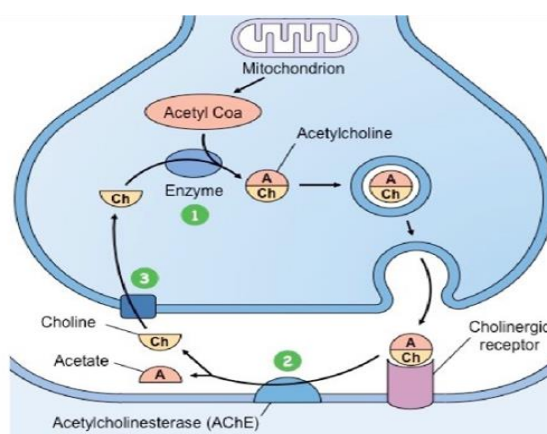


Figure I.2 : Représentation de la synapse cholinergique [34]

## Chapitre I : Étude des organophosphorés et de la cholinestérase

---

Dans cette partie, nous nous concentrerons sur l'explication détaillée de l'acétylcholinestérase, en fournissant une explication exhaustive de sa fonction et de son importance dans le corps, ainsi que de son impact sur les divers processus biologiques.

### I.2.2. Définition de Cholinestérase

La Cholinestérase est une famille d'enzymes essentielles chez les vertébrés et les insectes, car elles dégradent l'acétylcholine, le neurotransmetteur principal du système nerveux (figure I.3). L'équilibre dans la fonction de ces enzymes joue un rôle crucial dans les processus de signalisation nerveuse, et cela concerne un large éventail de domaines tels que la toxicologie, la pharmacologie et la neurobiologie [35]. L'importance de la cholinestérase dans le cerveau est liée à la diversité individuelle des enzymes, ce qui affecte les fonctions de la mémoire et contribue au développement de maladies telles que la maladie d'Alzheimer [36]. Les enzymes de la cholinestérase se trouvent dans divers tissus et fluides corporels, ce qui reflète leur importance globale dans de nombreuses fonctions vitales.

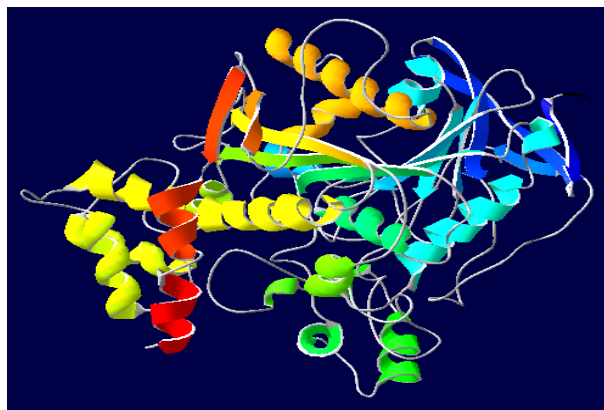


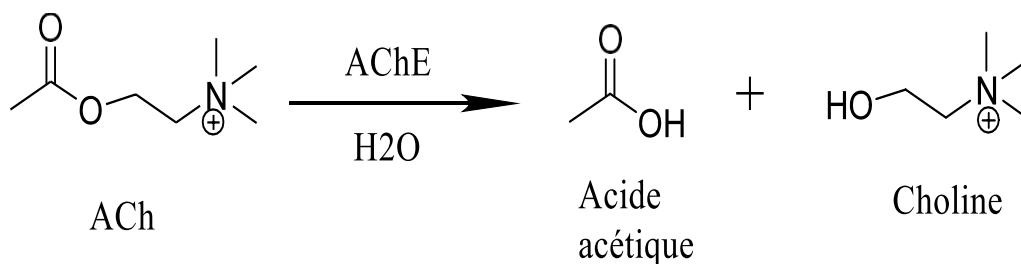
Figure I.3 : Cholinestérase

### I.2.3. Classification

Il est classé en deux types fondamentaux :

#### I.2.3.1. L'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase est l'un des principaux enzymes impliqués dans la transmission des signaux nerveux, contribuant ainsi à ramener les cellules nerveuses à leur état de repos en dégradant le composé de l'acétylcholine en choline et acide acétique [37] (Schéma I.1).

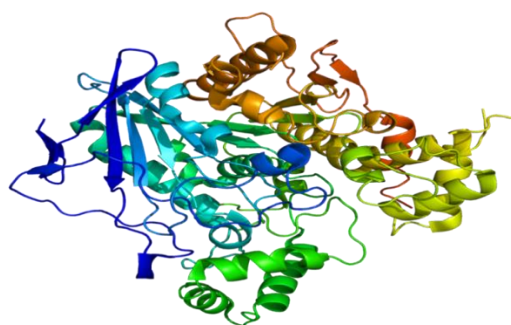


**Schéma I.1 :** Hydrolyse de l'acétylcholine par l'Ache

Cet enzyme est présent dans les synapses nerveuses, y compris dans le cerveau et d'autres parties vitales [38]. Son rôle est crucial dans le transfert des signaux nerveux dans le système nerveux central et périphérique, où il décompose l'acétylcholine (ACh), un neurotransmetteur cationique. Lorsque les cellules nerveuses libèrent de l'ACh, ce composé se lie à ses récepteurs sur les fibres musculaires, provoquant l'ouverture des canaux calciques dans les cellules et stimulant la contraction musculaire dans le système nerveux périphérique. Lorsque le signal nerveux atteint la synapse, l'acétylcholinestérase décompose rapidement l'ACh, interrompant ainsi la transmission du signal nerveux [39].

### I.2.3.2. Butyrylcholinestérase (BChE)

Le butyrylcholinestérase (BCHE) elle est découverte pour la première fois en 1932, est une protéine glycosylée produite dans le foie et sécrétée dans le plasma, ont présenté également dans le système nerveux central et périphérique, ainsi que dans la plupart des tissus (figure I.4).



**Figure I.4 :** Butyrylcholinestérase (BCHE)

Il est également connu sous le nom de pseudo cholinestérase ou cholinestérase non spécifique, une sérine hydrolase qui stimule la dégradation des esters de choline ainsi que de

nombreux autres esters, et n'a pas de fonction physiologique connue. Il se distingue par sa faible affinité pour l'acétylcholine et n'est pas inhibé par des concentrations élevées d'acétylcholine. Sa demi-vie est d'environ 12 jours, et ses valeurs normales varient entre 5900 et 13200 unités internationales par litre. De plus, des recherches récentes suggèrent la possibilité d'avoir des fonctions plus spécifiques pour la butyrylcholinestérase, telles que son expression dans des groupes distincts de cellules nerveuses et son rôle en tant que régulateur dans la neurotransmission cholinergique [40-42].

### I.2.4. Biologie moléculaire de cholinestérase

#### I.2.4.1. Structure et fonction des enzymes

Les enzymes AChE et BuChE présentent une similarité de 65 % dans la séquence des acides aminés et sont encodées par des gènes différents situés sur les chromosomes humains 7q22 et 3q26, respectivement [43]. Chaque enzyme contient un site actif hydrophobe, et les études cristallographiques aux rayons X révèlent que la profondeur de l'AChE est de 20 angströms, où l'acétylcholine se dégrade [44]. Lorsque l'acétylcholine pénètre dans le site actif de l'AChE elle se lie à deux sites différents à l'intérieur de l'enzyme. La simulation des dynamiques moléculaires de l'enzyme humaine BChE montre que les inhibiteurs peuvent accéder à la cavité active grâce à l'entrée flexible du canal, partiellement composée d'oméga Loop flexible ainsi que du site périphérique aromatique. Les études suggèrent que le canal latéral pourrait être une voie potentielle pour l'entrée des ligands dans la boucle, soulignant l'importance des interactions hydrophiles et des liaisons hydrogène dans ce processus [45] (figure I.5).

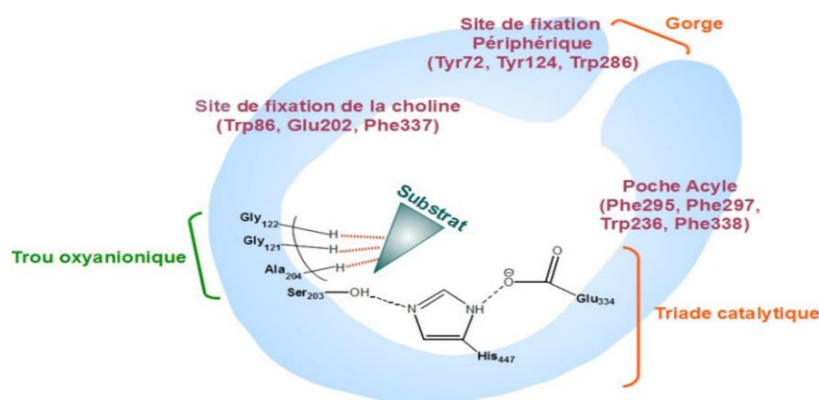


Figure I.5 : Représentation schématique du site actif de l'AChE

### I.2.4.2. Les sites actifs important

#### a. Le site aromatique périphérique

Le site aromatique périphérique (PAS), qui joue un rôle dans la liaison du substrat et la cohésion, est essentiel pour la fonction de l'enzyme cholinestérase. Il comprend certains acides aminés importants pour les enzymes cholinestérases AChE et BChE, et les résidus du PAS reflètent la nature aromatique des déchets environnants. Le PAS interagit avec de nombreuses boucles et éléments structuraux secondaires à la surface de la protéine, contribuant ainsi à assurer la flexibilité nécessaire. Les interactions cationiques dans le PAS peuvent stabiliser le complexe à l'entrée du défilé, et l'activité du PAS peut également inclure le dépôt d'amyloïdes, l'adhérence aux cellules et la croissance neuronale [46] (figure I.5).

#### b. Les sites de liaison de l'acétyle et de la choline

Les sites de liaison de l'acétyle et de la choline (ABS et CBS) jouent un rôle dans la localisation du ligand pour la stimulation dès son entrée dans le défilé. ABS et CBS sont principalement composés de tryptophane, de tyrosine et de phénylalanine dans AChE humaine, et certaines des résidus aromatiques ont été remplacés dans BChE, ce qui lui permet de lier des ligands et des inhibiteurs plus importants qu'AChE. De plus, ABS et CBS contribuent à la spécificité des enzymes et sont considérés comme des cibles primaires pour la fabrication d'inhibiteurs tels que les dérivés d'imidazole ou de pyridine.

#### c. Le site actif catalytique

Le site actif catalytique (CAS) est situé dans la partie inférieure du défilé d'AChE et BChE et est composé de résidus de sérine, d'acide glutamique et d'histidine, appelé "le triade catalytique". Le CAS contient quelques résidus aromatiques et acides et participe à des liaisons hydrogène de courte portée. Le CAS conserve un haut degré de stabilité et influence considérablement la structure et la fonction des enzymes. Les études expérimentales et de simulation soulignent l'importance du CAS dans la catalyse enzymatique et l'amélioration de sa capacité à se lier au ligand. L'existence d'un "porte arrière" dans AChE derrière le CAS, contrôlé par les résidus de tryptophane, a été suggérée et confirmée à la fois théoriquement et expérimentalement. Les changements de résidus dans le CAS ou à proximité affectent la structure et la fonction des enzymes, entraînant divers effets sur l'activité biologique et pharmacologique [47].

### **d. Le trou des oxyanions**

Le site des oxyanions (OAH), composé de glycine et d'alanine, est un site commun dans les protéases et les hydrolases, jouant un rôle dans la facilitation de l'acylation et de l'hydrolyse. L'OAH exerce une force d'attraction sur le départ des groupes pendant l'acylation, réduisant ainsi la barrière énergétique pour l'hydrolyse de l'ACh dans les cholinestérases. Les liaisons hydrogène entre l'OAH et le carbonyle des résidus jouent un rôle crucial dans les états intermédiaires et de transition, renforçant ainsi la stabilité et les réactions [48].

### **I.2.5. Inhibiteurs du cholinestérase**

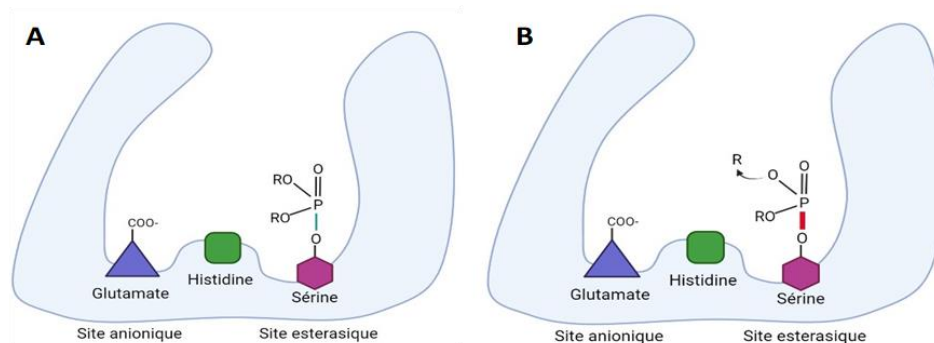
L'inhibition des enzymes peut se produire de différentes manières, y compris l'inhibition irréversible, où l'inhibiteur désactive complètement l'enzyme et l'empêche de fonctionner dans le corps. Il existe également l'inhibition réversible, où l'inhibiteur modifie la structure de l'enzyme et l'empêche de remplir correctement ses fonctions, ce qui est appelé régulation allostérique.

#### **I.2.5.1. Inhibiteurs réversibles**

Les inhibiteurs de l'AChE réversibles jouent un rôle essentiel dans le traitement médicamenteux pour réguler l'activité de l'enzyme. Ces inhibiteurs comprennent une variété de composés contenant des groupes fonctionnels tels que le groupe carbamate, le groupe ammonium quaternaire ou tertiaire. Ils ont été utilisés avec succès dans le diagnostic et le traitement d'une gamme variée de maladies telles que la myasthénie grave, la maladie d'Alzheimer, la constipation post-opératoire, l'incontinence urinaire, le glaucome, et même comme antidote en cas de surdosage d'anticholinergiques [49].

#### **I.2.5.2. Les inhibiteurs irréversibles - composés organophosphorés**

Les composés OPs causent leurs effets toxiques principaux en inhibant de manière irréversible l'estérase dans le système nerveux central. L'effet toxique aigu se manifeste par l'inhibition irréversible de l'enzyme AChE. Les OPs interagissent de manière similaire à la ligand naturel de l'enzyme ACh, où ils se lient de manière coopérative au site actif associé au groupe sérine-OH [50,51]. L'inhibition de l'ache par les composés (OP) implique la formation d'une liaison forte avec le site de sérine dans l'enzyme (figure I.6).



**Figure I.6 :** Inhibition irréversible de l'acétylcholinestérase par un organophosphoré [52].

Après cette inhibition, les molécules d'eau peuvent interagir avec le composé actif, mais lentement, et les molécules d'eau peuvent également réagir avec le groupe R pour fixer la liaison de manière permanente, formant ainsi une structure quadridimensionnelle stable. Dans ce cas, la liaison entre le phosphate et l'oxygène de la sérine devient irréversible, ce qui signifie que l'enzyme ne pourra pas revenir à son état initial, phénomène connu sous le nom de sénescence [53]. Blocage de l'AChE suite à la fixation de l'OP (A).

Dans cette configuration l'AChE reste encore réactivable. Si le groupement R se détache au bout d'un certain temps, l'AChE est impossible à réactiver, c'est le sénescence (B).

### I.3. Références bibliographiques

- [1] Benaïssa, A., Bouhadiba, A., Naili, N., Chekkal, F., Khelfaoui, M., Bouras, I., . . . Madi, F. (2023). Computational investigation of dimethoate and  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex: molecular structures, intermolecular interactions, and electronic analysis. *Structural Chemistry*, 34(3), 1189-1204. doi : 10.1007/s11224-023-02162-8
- [2] Jacquet, P., Poirier, L., Daudé, D., & Chabrière, E. (2019, September). Intoxication aux organophosphorés : vers des traitements enzymatiques. In *Annales Pharmaceutiques Françaises* (Vol. 77, No. 5, pp. 349-362). Elsevier Masson.
- [3] Eddleston, M., Buckley, N. A., Eyer, P., & Dawson, A. H. (2008). Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *The Lancet*, 371(9612), 597-607.
- [4] Jeyaratnam J, Maroni M. Organophosphorous compounds. Toxicology. 1994; 91:15-27. doi: 10.1016/0300-483X (94)90236-4. PubMed PMID: 8052981.
- [5] Chekkal, F., Naili, N., Benaïssa, A., Zerizer, M. A., Zouchoune, B., & Redjem, N. (2024). A proposed process for trichlorfon and  $\beta$ -cyclodextrinInclusion complexation by DFT investigation. *Structural Chemistry*. doi: 10.1007/s11224-024-02300-w
- [6] Eddleston, M., Eyer, P., Worek, F., Mohamed, F., Senarathna, L., von Meyer, L., ... & Buckley, N. A. (2005). Differences between organophosphorus insecticides in human self-poisoning: a prospective cohort study. *The Lancet*, 366(9495), 1452-1459.
- [7] Jokanović, M., & Stojiljković, M. P. (2006). Current understanding of the application of pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in treatment of organophosphate poisoning. *European journal of pharmacology*, 553(1-3), 10-17.
- [8] Dorandeu, F., Dhote, F., Calas, G., & Nachon, F. (2014). Les oximes dans le traitement des intoxications aiguës par organophosphorés : est-il raisonnable de vouloir s'en passer ? *Toxicologie Analytique et Clinique*, 26(4), 218.
- [9] Hanak, A. S., & Calas, A. G. (2023). Nouvelles approches thérapeutiques contre les intoxications par des neurotoxiques organophosphorés. *Médecine de Catastrophe-Urgences Collectives*, 7(3), 191-194.
- [10] MAAI, O. (2022). Témoignage de l'intoxication aux huiles frelatés au Maroc en 1959.

## Chapitre I : Étude des organophosphorés et de la cholinestérase

---

- [11] LAIFA, A. Recensement Et Classification Des Pesticides Dans Le Ziban De L'EST.
- [12] López-Blanco, C., Gómez-Álvarez, S., Rey-Garrote, M., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2005). Determination of carbamates and organophosphorus pesticides by SDME–GC in natural water. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 383, 557-561.
- [13] Ramade, F. (1993). Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement.
- [14] Souissi, S. Determination of organophosphorus pesticide residues in tomatoes by gas chromatography.
- [15] Baldi, I., Cordier, S., Coumoul, X., Elbaz, A., Gamet-Payrastra, L., Lebailly, P., ... & Van Maele-Fabry, G. (2013). Pesticides : Effets sur la santé, une expertise collective de l'Inserm. Ed. INSERM.
- [16] Dubrana, L. (2020). *Modèles poisson zèbre de l'intoxication aux organophosphorés cholinergiques et neuropathiques et évaluation de l'efficacité d'antidotes* (Doctoral dissertation, Bordeaux).
- [17] Moreau, P. (2002). Étude exploratoire sur l'évaluation de l'impact de l'utilisation des organophosphorés sur la santé de la population limitrophe aux vergers : vergers de la Montérégie. National Library of Canada= Bibliothèque nationale du Canada, Ottawa.
- [18] Turdean, G., Popescu, I. C., & Oniciu, L. (2002). Biocapteurs ampérométriques a cholinestérases pour la détermination des pesticides organophosphorés. *Canadian journal of chemistry*, 80(3), 315-331.
- [19] Hill, H. H. & Martin, S.J. Conventional analytical methods for chemical, *Pure Appl. Chem.*, Vol.74, No. 12, 2281–2291, 2002.
- [20] Witkiewicz, Z., Mazurek, M. & Szulc, J. Chromatographic analysis of chemical warfare agents. *J. Chromatogr. A* 503, 293–357 (1990).
- [21] Lagarrigue, M. Détection, identification et préconcentration de produits de dégradation d'agents de guerre chimique organophosphorés par couplage électrophorèse capillaire-spectrométrie de masse. (Chimie ParisTech, 2007).
- [22] Joy Pacsial-Ong, Eden & Aguilar, Zoraida. Chemical warfare agent detection: A review of current trends and future perspective. *S5*, (2013).

## Chapitre I : Étude des organophosphorés et de la cholinestérase

---

- [23] Tomchenko, A. A., Harmer, G. P. & Marquis, B. T. Detection of chemical warfare agents using nanostructured metal oxide sensors. *Sens. Actuators B Chem.* 108, 41–55 (2005).
- [24] Sferopoulos, R. A Review of Chemical Warfare Agent (CWA) Detector Technologies and Commercial-Off-The-Shelf Items. (PN, 2009)
- [25] Creaser, C. S. et al. Ion mobility spectrometry: à review. Part 1. Structural analysis by mobility measurement. *Analyst* 129, 984–994 (2004).
- [26] Ong, K. Y., Longworth, T. & Barnhouse, J. L. Domestic Preparedness Program: Testing of APD2000 Chemical Warfare Agent Detector Against Chemical Warfare Agents Summary Report. (EDGEWOOD CHEMICAL BIOLOGICAL CENTER ABERDEEN PROVING GROUND MD,2001).
- [27] Wong, J. W. et al. Analysis of Organophosphorus Pesticides in Dried Ground Ginseng Root by Capillary Gas Chromatography–Mass Spectrometry and –Flame Photometric Detection. *J. Agric. Food Chem.* 55, 1117–1128 (2007).
- [28] Perry, E., Walker, M., Grace, J., & Perry, R. (1999). Acetylcholine in mind: à neurotransmitter correlate of consciousness? *Trends in neurosciences*, 22(6), 273-280.
- [29] Webster, R. (2001). Acetylcholine (ACh). *Neurotransmitters, drugs and brain function*, 117-136.
- [30] Stedman, E., Stedman, E., & Easson, L. H. (1932). Choline-esterase. An enzyme present in the blood-serum of the horse. *Biochemical Journal*, 26(6), 2056.
- [31] Alles, G. A., & Hawes, R. C. (1940). Cholinesterases in the blood of man. *Journal of Biological Chemistry*, 133(2), 375-390.
- [32] Mendel B, Rudney H. Studies on cholinesterase. I. Cholinesterase and pseudocholinesterase. *Journal of Biochemistry* 1943; 37: 59–63.
- [33] Tougu, V. (2001). Acetylcholinesterase: mechanism of catalysis and inhibition. *Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents*, 1(2), 155-170.
- [34] Vivegnis, A. (2018). Synthèses de modulateurs allostériques positifs des récepteurs AMPA et kaïnate, série des «1, 4-benzothiazines 1, 1-dioxyde ».
- [35] Miao, Y., He, N., & Zhu, J. J. (2010). History and new developments of assays for cholinesterase activity and inhibition. *Chemical reviews*, 110(9), 5216-5234.

- [36] Giacobini, E. (2004). Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. *Pharmacological research*, 50(4), 433-440.
- [37] Taylor, P., Radic, Z., Hosea, N. A., Camp, S., Marchot, P., & Berman, H. A. (1995). Structural bases for the specificity of cholinesterase catalysis and inhibition. *Toxicology letters*, 82, 453-458.
- [38] Giacobini, E. (2004). Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. *Pharmacological research*, 50(4), 433-440.
- [39] Quinn, D. M. (1987). Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chemical reviews*, 87(5), 955-979.
- [40] Darvesh, S., Hopkins, D. A., & Geula, C. (2003). Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(2), 131-138.
- [41] Chatonnet, A., & Lockridge, O. (1989). Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochemical Journal*, 260(3), 625.
- [42] Santarpia, L., Grandone, I., Contaldo, F., & Pasanisi, F. (2013). Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 4, 31-39.
- [43] Soreq, H. (2012). *Human cholinesterases and anticholinesterases*. Academic Press.
- [44] Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., & Silman, I. (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 253(5022), 872-879.
- [45] De Boer, D., Nguyen, N., Mao, J., Moore, J., & Sorin, E. J. (2021). A Comprehensive Review of Cholinesterase Modeling and Simulation. *Biomolecules* 2021, 11, 580. *Cholinesterase Research*, 5.
- [46] Schalk, I. (1993). *Etudes des sites de liaison de l'acetylcholinestérase par les techniques de marquage d'affinité et de photoaffinité* (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg) (1971-2008)).
- [47] Demichele, L. (1993). *Utilisation des anticorps anti-idiotypes comme images internes fonctionnelles de sites actifs enzymatiques : production et caractérisation d'un anticorps catalytique à activité cholinestérase* (Doctoral dissertation, Compiègne).

- [48] Pham, V. D. (2021). Structural and functional studies of the acetylcholinesterase ChoE from *Pseudomonas aeruginosa*.
- [49] Ferreri, F., Agbokou, C., & Gauthier, S. (2007). Effets cardio-vasculaires des inhibiteurs de la Cholinestérase dans la maladie d'Alzheimer. *Revue Neurologique*, 163(10), 968-974.
- [50] Sogorb, M. A., & Vilanova, E. (2002). Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicology letters*, 128(1-3), 215-228.
- [51] Boublik, Y., Saint-Aguet, P., Lougarre, A., Arnaud, M., Villatte, F., Estrada-Mondaca, S., & Fournier, D. (2002). Acetylcholinesterase engineering for detection of insecticide residues. *Protein engineering*, 15(1), 43-50.
- [52] Hugon, G. (2022). Impact de l'exposition aux inhibiteurs réversibles (Donépézil) et irréversibles (l'organophosphoré NIMP) des acétylcholinestérases sur les mécanismes cérébraux étudié par imagerie moléculaire (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- [53] Potter, P. E., Rauschkolb, P. K., Pandya, Y., Sue, L. I., Sabbagh, M. N., Walker, D. G., & Beach, T. G. (2011). Pre-and post-synaptic cortical cholinergic deficits are proportional to amyloid plaque presence and density at preclinical stages of Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica*, 122, 49-60.

---

## **Chapitre II :**

### **La modélisation et le Docking Moléculaire**

---

### II.1. Introduction

La modélisation moléculaire et le Docking moléculaire sont des techniques informatiques puissantes utilisées pour étudier les interactions entre les molécules, telles que les protéines et les ligands. La modélisation moléculaire prédit la structure des molécules, tandis que le Docking moléculaire simule comment les ligands se lient aux protéines cibles. Ensemble, ces méthodes accélèrent la découverte de médicaments en prédisant les interactions moléculaires et en concevant de nouveaux composés [1].

### II.2. Modélisation moléculaire

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire. Cette technique permet non seulement de représenter les propriétés et les réactions chimiques, mais aussi de manipuler les modèles des structures en deux ou trois dimensions. En utilisant la modélisation moléculaire, les chercheurs peuvent prédire la réactivité et les interactions des molécules avant de les synthétiser en laboratoire, ce qui permet de gagner du temps et des ressources [1,2].

La modélisation moléculaire implique l'utilisation de diverses méthodes de calcul théoriques telles que la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire, et la mécanique quantique ab-initio ou semi-empirique. Ces méthodes permettent de déterminer la géométrie ou la configuration des atomes d'une molécule et d'évaluer ses propriétés physico-chimiques. Par exemple, la mécanique quantique peut être utilisée pour calculer les états énergétiques des molécules et leurs transitions, tandis que la dynamique moléculaire simule le mouvement des atomes et des molécules au fil du temps [3].

L'association de la modélisation moléculaire avec des représentations graphiques des stéréochimies permet d'interpréter des phénomènes physico-chimiques, de suggérer de nouvelles expériences et d'analyser les résultats d'une manière plus critique que les méthodes expérimentales classiques. Cette approche théorique complète les expérimentations traditionnelles, en offrant une compréhension plus approfondie des mécanismes moléculaires. Par exemple, les modèles graphiques peuvent aider à visualiser les interactions entre un médicament potentiel et sa cible biologique [4-6].

## Chapitre II : La modélisation et le Docking Moléculaire

---

La modélisation moléculaire peut être statique ou dynamique. La modélisation statique, telles que le docking moléculaire, sont souvent utilisées pour prédire comment une molécule se lie à une cible spécifique, tandis que la modélisation dynamique peut reproduire le comportement et la flexibilité des molécules en solution, les mécanismes réactionnels et les interactions mises en jeu dans la catalyse enzymatique, la reconnaissance ou la complexation. Ces modélisations permettent également de prédire les propriétés et les fonctionnalités à partir d'analogies de structure [7].

Les méthodes de modélisation moléculaire sont généralement classées en trois catégories principales : les méthodes quantiques, la mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire. Les méthodes quantiques, telles que la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), sont utilisées pour étudier les propriétés électroniques des molécules. La mécanique moléculaire utilise des champs de force pour calculer les énergies potentielles des systèmes moléculaires, tandis que la dynamique moléculaire simule les mouvements des atomes et des molécules au fil du temps pour explorer leurs conformations et interactions [4].

La modélisation moléculaire comprend différentes techniques de visualisation, de manipulation, d'analyse et de calcul des structures moléculaires. Les techniques de graphisme moléculaire permettent de représenter les structures moléculaires en 2D ou 3D, de les manipuler (rotation, translation, changement de conformation, superposition, etc.) de manière interactive, et d'effectuer des analyses géométriques détaillées (calculs de distances, angles, surfaces accessibles, etc.). Ces structures peuvent être construites à partir d'éléments choisis dans une bibliothèque de programmes, extraites de bases de données telles que Cambridge Structural Database ou Protein Data Bank, ou construites à partir de données expérimentales obtenues par radiocristallographie ou RMN [8,9].

### II.3. Définition du Docking moléculaire

Le Docking moléculaire est un processus de simulation informatique visant à prédire comment une molécule interagit avec une autre pour former un composé stable. Ce type de modélisation permet de prédire l'orientation et la conformation des molécules pour former des liaisons chimiques. Le récepteur, généralement une protéine, est utilisé pour estimer la force de liaison entre les molécules, tandis que le ligand, généralement une petite molécule flexible, est la molécule qui interagit avec le récepteur [10].

### II.3.1. Types de Docking

Il existe trois types de Docking moléculaire :

#### a. Le Docking rigide

Le Docking rigide implique de déterminer la direction et la forme préférées du système en traitant la protéine et le ligand comme une entité solide. Il se concentre principalement sur les mouvements de translation et de rotation du ligand par rapport au récepteur. Cette approche est souvent utilisée pour l'association de deux grandes molécules telles que les protéines ou les acides nucléiques, en explorant efficacement les degrés de liberté tout en réduisant le temps de calcul nécessaire [11,12].

#### b. Le Docking semi-flexible

Ce type de Docking, principalement utilisé pour lier la protéine au ligand, combine un ligand flexible et un récepteur rigide. En plus d'explorer les mouvements et les rotations, des échantillons des degrés de liberté du ligand sont pris. L'efficacité de cette Docking repose sur l'hypothèse que la configuration du récepteur utilisé peut reconnaître le ligand. De nombreuses études ont montré que cette approche semi-flexible conduit à des résultats plus précis [13].

#### c. Le Docking flexible

Cette technique de Docking prend en compte la flexibilité du ligand et du récepteur, en mettant l'accent sur les différents degrés de liberté du récepteur qui peuvent être limités ou inclusifs, comme les arrangements différents des protéines. Cela renforce le réalisme de l'amarrage en examinant les liens potentiels tels que la modification induite et la sélection appropriée. Cependant, explorer tous les degrés de liberté du ligand et du récepteur représente de grands défis en raison du temps de calcul massif requis [14,15].

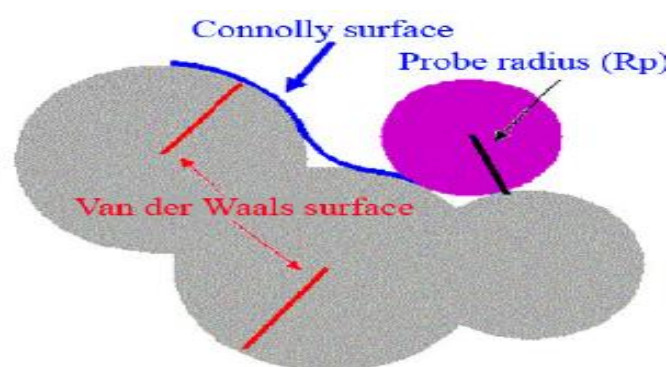
### II.3.2. Principe du Docking moléculaire

La plupart des programmes de Docking actuels se divisent en trois étapes principales : la première consiste à présenter le système moléculaire, la deuxième à exécuter l'algorithme de recherche explorant l'espace correspondant à chaque molécule, et la troisième permet d'évaluer l'énergie de formation de l'ensemble grâce à une fonction de résultat [16].

### a. Représentation du système

Le choix de la représentation du système correspond à la façon d'engendrer un ensemble de poses d'un ligand dans le site actif de la protéine. Il existe trois façons de représenter le système moléculaire par exemple les représentations par atomes, par surface ou par grille [17].

- La représentation atomique, utilisée dans des applications telles que la mécanique moléculaire, repose sur une fonction d'énergie potentielle classique. Ce modèle intervient principalement dans les étapes finales de la recherche pour optimiser le calcul de l'énergie du système, minimisant ainsi les ressources informatiques nécessaires, comme souligné par Burnett (2000). Parmi les logiciels couramment utilisés pour le Docking et la dynamique moléculaire, on trouve DARWIN et CHARMM.
- Dans les logiciels de Docking, une représentation courante des molécules est sous forme de surface prenant en compte diverses caractéristiques géométriques. Cette approche, popularisée par Connolly en 1983, consiste en une surface composée des rayons de van der Waals des atomes exposés, reliés par un réseau de surfaces concaves ou convexes [18,19] (voir Figure II.1). Elle permet de réaliser une recherche conformationnelle par complémentarité de surface pour déterminer les affinités minimales et maximales [20].



**Figure II.1** : Illustration d'une surface de Connolly. La surface de Connolly est représentée en bleu. En violet, la balle d'eau virtuelle. Couleur gris, les différents atomes de la molécule [21].

- L'approche de la représentation du système par une grille, introduite par Goodford en 1985, est couramment employée. Elle repose sur l'utilisation d'une grille tridimensionnelle pour modéliser les interactions électrostatiques, de Van der Waals et hydrophobes, lesquelles sont évaluées uniquement lors de l'étape de score [22].

### b. Processus de score

Les fonctions de score peuvent être regroupées en quatre principales catégories : basées sur un champ de force, empiriques, basées sur la connaissance et de consensus [23].

#### ✓ **Fonctions de score basées sur un champ de force**

Ces fonctions calculent les énergies potentielles entre les atomes des molécules en tenant compte de la masse des atomes, leur charge, leur rayon de Van der Waals, et les longueurs et angles des liaisons. Elles sont utilisées dans des programmes comme DOCK, AutoDock, GOLD et G-Score [24].

#### ✓ **Fonctions de score empiriques**

Ces fonctions estiment la convergence des complexes protéine-ligand en fonction de variables telles que le nombre de liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes et hydrophiles. Elles sont utilisées dans des programmes comme FlexX, Chemscore et LUDI, et montrent une efficacité élevée en termes de vitesse et de précision, malgré une forte dépendance aux données de calibration [25].

#### ✓ **Fonctions de score basées sur la connaissance**

Ces fonctions reposent sur des données statistiques dérivées des analyses expérimentales des interactions atomiques dans les complexes protéine-ligand. PLP (Potentiel Linéaire de Pièces) en est un exemple, prenant en compte les interactions de vide et les liaisons hydrogène [26,27]. Elles améliorent la prédiction des motifs d'interaction et la classification des complexes, suggérant leur supériorité sur les fonctions empiriques et basées sur le champ de force.

#### ✓ **Fonctions de score consensus**

Ces fonctions rassemblent des informations de différentes fonctions de score pour améliorer la prédiction de la liaison et la convergence. Des méthodes comme MultiScore et XCScore ont montré leur efficacité dans l'amélioration des résultats et la prédiction des réactions [28].

### II.4. Les principales classes d'interaction

De multiples formes d'interactions non covalentes ont été observées dans les complexes protéine-ligand. Ces interactions comprennent notamment les liaisons polaires telles que les liaisons hydrogène, ainsi que les interactions hydrophobes qui se produisent lorsqu'il y a un contact entre des groupements hydrophobes.

#### II.4.1. Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques, qu'elles soient ion-ion, ion-dipôle ou dipôle-dipôle, impliquent des charges électriques et peuvent être permanentes ou induites. Les interactions ion-ion, en particulier, ont une portée plus étendue que les autres types d'interactions électrostatiques. Elles résultent de forces attractives entre charges de signe opposé, avec une distance généralement inférieure à 4.5 Å. Ces liaisons, qui demeurent très énergétiques, de l'ordre de 10 K.cal.mol<sup>-1</sup>, jouent un rôle crucial dans la stabilisation des structures tridimensionnelles au sein des protéines [29].

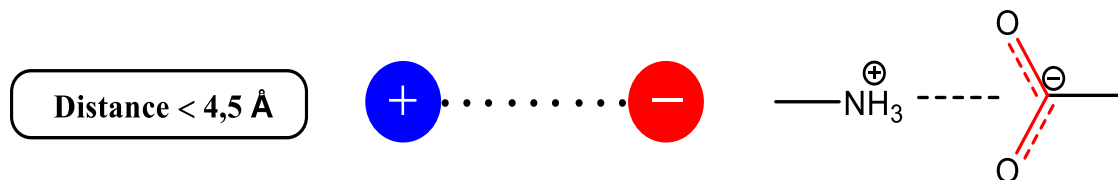


Figure II.2 : Interactions électrostatiques ioniques

#### II.4.2. Liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une force attractive qui se forme entre deux ensembles d'atomes comprenant un atome d'hydrogène. Cette interaction, intermédiaire entre la liaison covalente et l'interaction électrostatique, demeure principalement électrostatique [30]. Cependant, elle implique spécifiquement un donneur et un accepteur :

- Le donneur est l'atome d'hydrogène lié de manière covalente à un atome électronégatif ; généralement un azote, un oxygène, ou un fluor.

- L'accepteur est un autre atome électronégatif ; comme l'azote, l'oxygène ou le fluor.

## Chapitre II : La modélisation et le Docking Moléculaire

Par conséquent la liaison hydrogène est le résultat d'une interaction dipôle-dipôle, comme le montre la figure II.3.

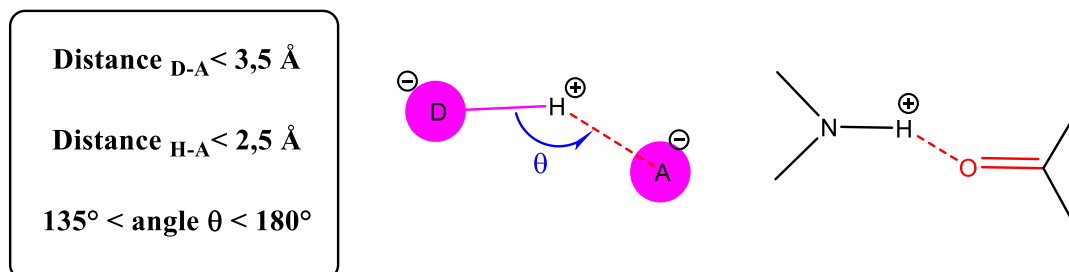


Figure II.3 : Liaison hydrogène

Les liaisons hydrogène sont généralement caractérisées par deux mesures : la longueur et l'angle formé par les trois atomes. Les angles peuvent varier de 90 à 180 degrés, et les distances de liaison peuvent aller de 1,2 à 4,0 Å.

Ces paramètres caractéristiques vont apprécier la force des liaisons hydrogènes. On distingue trois catégories classées dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Les trois catégories de liaison hydrogène.

Longueur(Å)	Angle (°)	Energie (kcal /mol)	Description
2.2 à 4.0	90 à 150	0.24 à 1	Faible intensité, comparable à Van der Waals, liaison de type électrostatique.
1.5 à 3.2	130 à 180	1 à 4	Liaisons modérées, situées entre les deux Extrêmes
1.2 à 2.5	175 à 180	4 à 10	Liaison forte de type covalente

## Chapitre II : La modélisation et le Docking Moléculaire

---

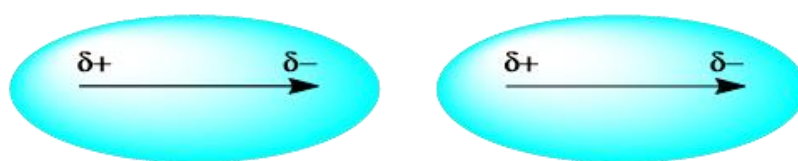
Ces interactions qui s'établissent entre deux groupes d'atomes, peuvent s'effectuer entre deux molécules différentes (intermoléculaires), ou d'une même molécule (intramoléculaires).

Les structures secondaires des protéines revêtent une importance primordiale dans divers processus biologiques, notamment le repliement protéique, les changements conformationnels et la reconnaissance protéine/ligand. En outre, elles exercent une influence significative sur les propriétés physico-chimiques des molécules, telles que la solubilité et la perméabilité membranaire, des facteurs cruciaux dans le développement de médicaments [31].

### II.4.3. Les interactions de Van Der Waals

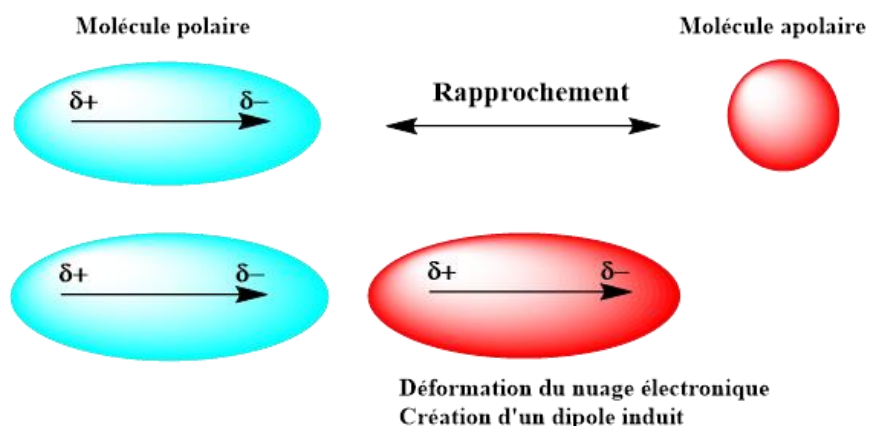
Ces réactions se produisent entre les atomes ou les molécules neutres, résultant de forces d'attraction multipolaires, d'induction, et de dispersion, qui s'équilibrent à de courtes distances par des forces de répulsion. Leur importance réside dans la recherche de la liaison statique entre le ligand et la protéine réceptrice [32,33]. Ces réactions comprennent trois principaux types :

- Interaction dipôle permanent – dipôle permanent ou effet d'orientation de Keesom : Ce type d'interaction se développe entre deux molécules polaires.



**Figure II.4 :** Les forces de Keesom : dipôle permanent/permanent.

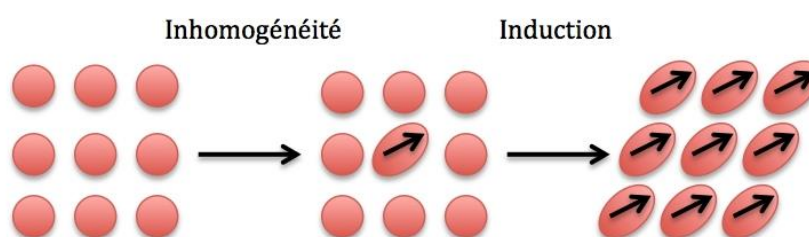
- Interaction dipôle permanent – dipôle instantané ou effet d'induction de Debye : Ce type d'interaction se développe entre une molécule polaire et une molécule quelconque (polaire ou apolaire).



**Figure II.5 :** Les forces de Debye : dipôle permanent/induit

- Interaction dipôle instantané – dipôle instantané ou dispersion de London : Ce type d'interaction se développe entre deux molécules quelconques (polaires ou apolaires).

Ces interactions sont très faibles mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au totale une force importante.



**Figure II.6 :** Les forces de London : dipôle induit/induit

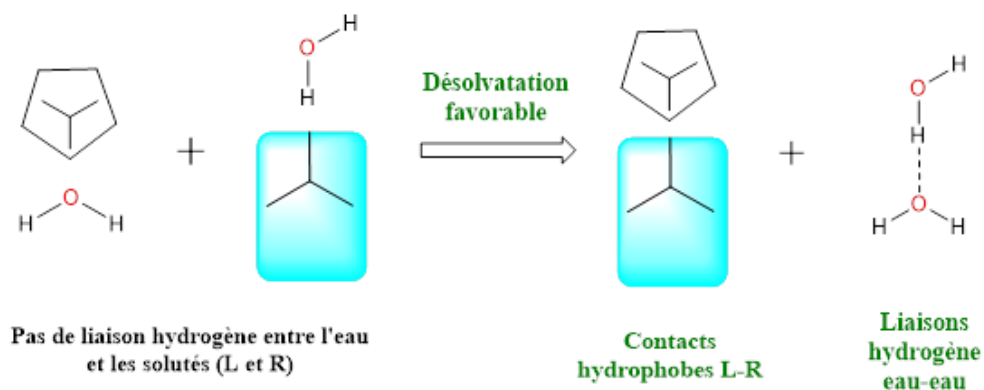
### II.4.4. Interactions hydrophobes :

Les matières hydrophobes sont composées de molécules ou de groupes atomiques non polaires qui ne peuvent pas former de liaisons hydrogène et ne peuvent pas être hydratées. Ces matières ont tendance à se regrouper pour réduire leur interaction avec l'eau, ce qui entraîne la réorganisation des molécules d'eau autour d'elles pour minimiser l'énergie à

## Chapitre II : La modélisation et le Docking Moléculaire

---

environ 7 kcal/mol [34]. Cet effet hydrophobe a des conséquences importantes sur la formation et la stabilité des molécules [35]. Il existe plusieurs types de réactions hydrophobes, notamment celles qui se produisent entre un cycle aromatique et des atomes d'un autre cycle, à partir de groupes amide ou méthyle. Des études ont montré que ce type de réaction est le plus courant dans les interactions entre protéines et ligands.



**Figure II.7 :** Interaction hydrophobe

### II.5. Références bibliographiques

- [1] Gilson, M. K., & Honig, B. (1988). Calculation of the total electrostatic energy of a macromolecular system: solvation energies, binding energies, and conformational analysis. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 4(1), 7-18.
- [2] Leach, A. R. (2001). *Molecular modelling: principles and applications*. Pearson education.
- [3] Jorgensen, W. L. (2004). The many roles of computation in drug discovery. *Science*, 303(5665), 1813-1818.
- [4] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*, 3(11), 935-949.
- [5] Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (2009). Density functional theory for transition metals and transition metal chemistry. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 11(46), 10757-10816.
- [6] Case, D. A., Ben-Shalom, I. Y., Brozell, S. R., Cerutti, D. S., Cheatham III, T. E., Cruzeiro, V. W., ... & Kollman, P. A. (2018). AMBER 2018. University of California, San Francisco.
- [7] Warshel, A., & Levitt, M. (1976). Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme. *Journal of molecular biology*, 103(2), 227-249.
- [8] Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., ... & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242.
- [9] Allen, F. H. (2002). The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*, 58(3), 380-388.
- [10] Lengauer, T., Rarey, M. (1996) "Computational methods for biomolecular docking", *Current Opinion in structural Biology*, pp. 402-406.
- [11] Friesner, R.A., Banks, J.L., Murphy, R.B., Halgren, T.A., Klicic, H.J., Mainz, D.T., Repasky, M.P., Knoll, E.H., Shelly, M., Perry, J.K., Shaw, D.E., Francis, P., Shenkin, P.S. (2004) "Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring.1. Method and assessment of docking accuracy", *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(7), pp. 1739-1749.

- [12] Nicklaus, M.C., Wang, S., Driscoll, J.S., Milne, G.W. (1995) "Conformational changes of small molecules binding to proteins", *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 3(4), pp. 411-428.
- [13] Kuntz, I.D., Blaney, J.M., Oatley, S.J., Langridge, R., Ferrin, T.E. (1982) "A geometric approach to macromolecule ligand Interactions", *J Mol Biol*, 161(2), pp. 269-88
- [14] Ewing, T.J., Makino, S., Skillman, A.G., Kuntz, I.D. (2001) "DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases", *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 15(5), pp. 411-428.
- [15] Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., Klebe, G. (1996) "A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm", *J. Mol. Biol*, 261(3), pp. 470-489.
- [16] Huang, S.Y., Zou, X. (2010) "Advances and challenges in protein-ligand docking", *Int J Mol Sci*, 11(8), pp. 3016-3034.
- [17] Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., Nussinov, R. (2002) "Principles of docking: an overview of search algorithms and a guide to scoring functions", *Proteins*, 47, pp. 409-443.
- [18] Connolly, M.L. (1985) "Computation of Molecular Volume", *JACS*, 107, pp. 1118-1124. Corbeil, C.R., Englebienne, P., Moitessier, N. (2007) "Docking Ligands into Flexible and Solvated Macromolecules-1. Development And Validation of Fitted 1.0", *Journal of Chemical Informatic Modelling*, 47, pp. 435-449.
- [19] Shoichet, B.K., Bodian, D.L., Kuntz, I.D. (1992) "Molecular Docking Using Shape Descriptor", *J. Comp. Chem*, 13, pp. 380-397.
- [20] Norel, R., Lin, S.L., Wolfson, H.J., Nussinov, R. (1994) "Shape complementarity at protein-protein interfaces", *Biopolymers*, 34, pp. 933-94
- [21] Wu, S., Yi, J., Zhang, L., Zhang, L., & Mark, J. E. (2008). The Study on the Gas Permeabilities of the ETHYLENE/1-HEXENE Copolymer by Molecular Dynamics Simulation. *International Journal of Modern Physics B*, 22(31n32), 5859-5864.
- [22] Dréo, J., Pétrowski, A., Siarry, P., Taillard, E. (2003) "Métaheuristiques pour l'optimisation difficile", *Ouvrage Eyrolles coordonné par Patrick Siarry*, p.356

- [23] Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., Bajorath, J. (2004) “Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications”, *Nat Rev Drug Discov*, 3(11), pp. 935-949.
- [24] Weiner, S.J., Kollman, P.A., Nguyen, D.T., Case, D.A. (1986) “An all-atom force field for simulations of proteins and nucleic acids”, *Journal of Computational Chemistry*, 7(2), pp. 230-252.
- [25] Meng, X.Y., Zhang, H.X. (2011) “Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery”, *Current computer-aided drug design*, 7(2), pp.146-157.
- [26] Sousa, S.F., Fernandes, P.A., Ramos, M.J. (2006) “Protein-ligand docking: current status and future challenges”, *Proteins*, 65(1), pp. 15-26.
- [27] Boehm, H.J. (1994) “The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three dimensional structure”, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 8, pp. 243-256.
- [28] Kaserer, T., Temml, V., Kutil, Z., Vanek, T., Landa, P., Schuster, D. (2015) “Prospective performance evaluation of selected common virtual screening tools. Case study: Cyclooxygenase (COX) 1 and 2”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 96, pp. 445–457.
- [29] Bosshard, H., Marti, D., Jelesarov, I. (2004) “Protein stabilization by salt bridges: concepts, experimental approaches and clarification of some misunderstandings”, *Journal of Molecular Recognition*, 17, pp. 1-16.
- [30] Isaacs, E.D., Shukla, A., Platzman, P.M., Hamann, D.R., Barbielleini, B.R., Tulk, C.A. (1999) “Covalency of the Hydrogen Bond in Ice: A direct X-Ray Measurement”, *Phys. Rev. Lett*, 82, pp. 600-603.
- [31] Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., Bourne, P.E. (2000) “The Protein Databank”, *Nucl. Ac. Res*, 28, pp. 235-242.
- [32] Voet, D., Voet, J.G. (2005) "Biochimie", 2ème édition, France : De Boeck, p.1600.
- [33] Karp, G., Isawa, J., Marshall, W. (2018) “Biologie cellulaire et moléculaire”, 4ème édition, France : De Boeck, p.850.

## Chapitre II : La modélisation et le Docking Moléculaire

---

[34] Schulz, G.E., Schirmer, R.H. (1978) “Principles of Protein Structure”, Boston university, Center for advanced biotechnology, Boston,USA.

[35] Lin, M.S., Chen, L.Y., Tsai, H.T., Wang, S.S., Chang, Y., Higuchi, A., Chen, W.Y. (2008) “Investigation of the Mechanism of Beta-Amyloid Fibril Formation by Kinetic and Thermodynamics Analyses”, *Langmuir*, 24, pp. 5802-5808.

---

# **Chapitre III :**

## **Résultats et discussion**

---

### III.1. Introduction

La compréhension des interactions entre la Cholinestérase et les composés organophosphorés est d'une importance capitale dans la régulation des processus biologiques, notamment en ce qui concerne les signaux des cellules nerveuses et musculaires. La Cholinestérase joue un rôle crucial dans la digestion de l'acétylcholine, ce qui a un impact significatif sur les fonctions du système nerveux central et le transport nerveux efficace. Notre étude vise à analyser ces processus par le biais de la modélisation et le docking moléculaire, contribuant ainsi à la compréhension du fonctionnement de cet enzyme et des composés organophosphorés qui interagissent avec lui.

### III.2. Détails des calculs

#### III.2.1. Méthode de calcul

Notre travail a été réalisé à l'aide de plusieurs logiciels de pointe spécialisés dans la modélisation moléculaire, la chimie computationnelle et l'analyse de données scientifiques. Ces outils nous ont permis de visualiser et d'analyser des structures moléculaires complexes, d'optimiser les géométries et les propriétés électroniques, ainsi que de simuler des interactions moléculaires avec une grande précision. Parmi les logiciels utilisés, ChemDraw Ultra [1] nous a aidés à créer des représentations précises de structures chimiques en 2D et 3D, Gaussian [2] pour les calculs de chimie quantique, et Discovery Studio [3] pour la conception et l'analyse bioinformatique. AutoDock Vina [4] et AutoDockTools [5] ont été essentiels pour les études de docking moléculaire, tandis qu'OriginLab [6] a facilité la visualisation et l'analyse de nos données expérimentales. Enfin, ces logiciels ont ensemble constitué une plateforme robuste et intégrée pour mener à bien notre recherche et obtenir des résultats fiables et reproductibles.

#### a. Logiciels de Modélisation et Visualisation Moléculaire

- **ChemDraw Ultra**

ChemDraw Ultra est un logiciel de dessin chimique qui permet de créer des représentations précises de structures chimiques, des réactions chimiques, et des mécanismes réactionnels. Il est largement utilisé pour préparer des publications scientifiques et des

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

supports pédagogiques en chimie grâce à son interface intuitive et ses fonctionnalités avancées.

- **Discovery Studio**

Discovery Studio est une suite logicielle de bioinformatique et de modélisation moléculaire développée par Dassault Systèmes BIOVIA. Elle intègre des outils pour la modélisation moléculaire, le docking, la dynamique moléculaire et l'analyse des interactions moléculaires, facilitant la recherche et le développement en sciences de la vie.

### **b. Logiciels de Chimie Quantique et Calcul**

- **Gaussian**

Gaussian est un logiciel de chimie computationnelle utilisé pour la modélisation et la prédiction des structures et des propriétés des molécules. Basé sur des méthodes de chimie quantique, il permet d'effectuer des calculs sur les états de transition, les fréquences vibratoires, et les propriétés thermodynamiques.

### **c. Logiciels de Visualisation et Analyse de Données Scientifiques**

- **Origine Lab**

Origin Lab est un logiciel de visualisation et d'analyse de données scientifiques utilisé principalement par les chercheurs en sciences physiques et en ingénierie. Il permet de créer des graphiques complexes, de réaliser des analyses statistiques et de manipuler des données expérimentales, se distinguant par sa capacité à traiter de grands volumes de données et à générer des représentations graphiques de haute qualité pour la publication scientifique.

### **d. Logiciels de Docking Moléculaire**

- **Auto Dock Vina**

Auto Dock Vina est un logiciel de docking moléculaire utilisé pour la prédiction de la structure de complexes entre des petites molécules et des récepteurs macromoléculaires. Il offre une meilleure précision et une vitesse accrue par rapport à son prédécesseur, Auto Dock, et est couramment utilisé pour étudier les interactions ligand-récepteur et optimiser les composés biologiquement actifs.

- **Auto Dock Tools**

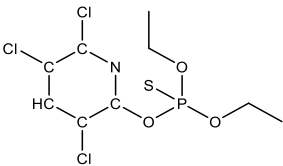
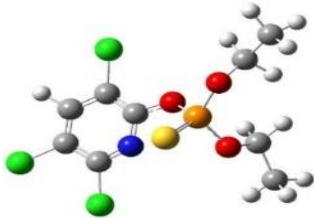
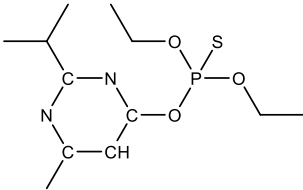
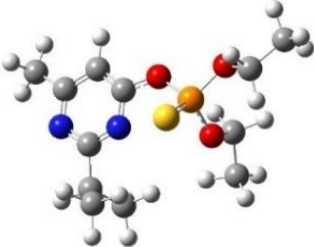
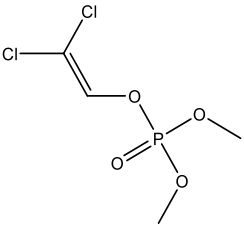
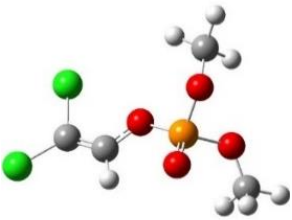
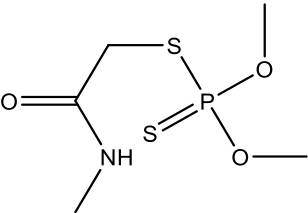
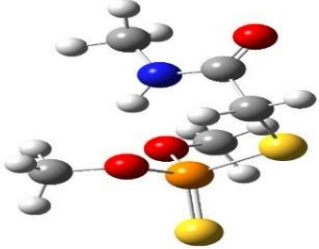
Auto Dock Tools (ADT) est une suite logicielle qui accompagne Auto Dock et Auto Dock Vina. Elle fournit une interface graphique utilisateur pour la préparation et l'analyse des Dockings moléculaires, facilitant la préparation des fichiers de structure, la définition des paramètres de docking, et l'analyse des résultats des simulations de docking.

### III.2.2. Préparation des ligands (composés organophosphorés)

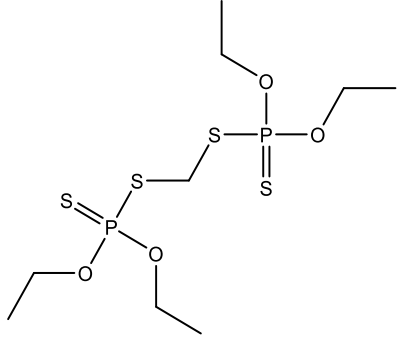
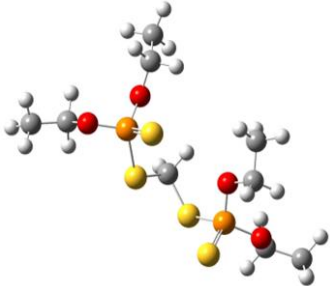
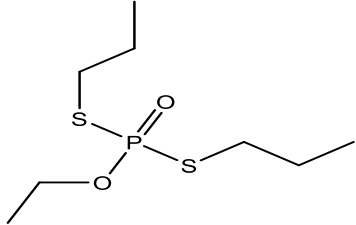
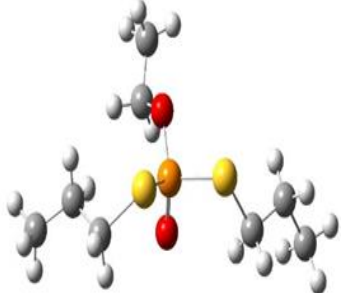
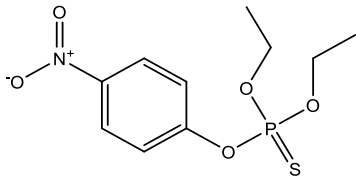
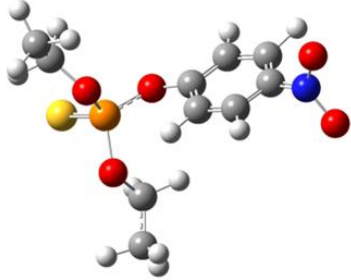
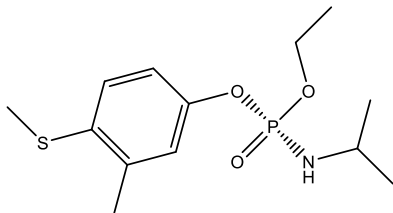
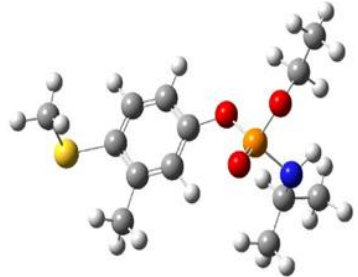
Dans le cadre de nos travaux, nous avons tout d'abord construit les structures initiales des composés organophosphorés en utilisant le logiciel de modélisation moléculaire ChemDraw 3D Ultra (version 14, Cambridge Software) [1]. Ces structures ont été optimisées par la méthode de la mécanique quantique pour obtenir des géométries de départ précises. Par la suite, nous avons réalisé des simulations de dynamique moléculaire pour préparer les structures à l'interaction avec la Cholinestérase, assurant ainsi une conformation réaliste des molécules. Nous avons également utilisé le logiciel Gaussian 09W [2] pour calculer les énergies des orbitales frontières HOMO-LUMO au niveau DFT/BLYP-D3/6-31G (d, p), ce qui nous a permis de mieux comprendre les propriétés électroniques des composés et leur potentiel d'interaction avec les enzymes cibles. De plus, les propriétés chimiques des composés ont été extraites de la base de données SwissADME ( [SwissADME](#)) pour une analyse approfondie de leurs caractéristiques. Le Tableau III.1 répertorie Les composés organophosphorés étudiés, illustrant à la fois leur représentation bidimensionnelle et tridimensionnelle.

## Chapitre III : Résultats et discussion

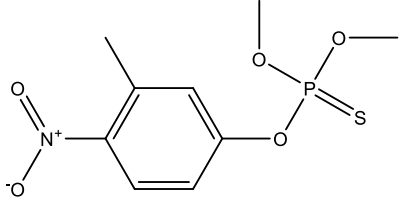
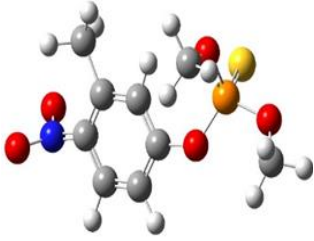
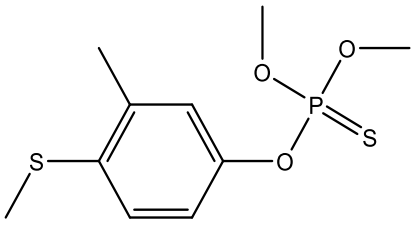
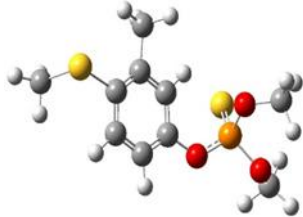
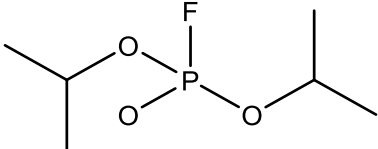
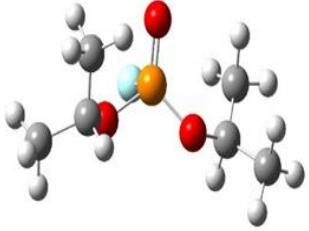
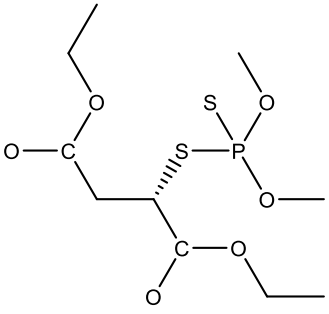
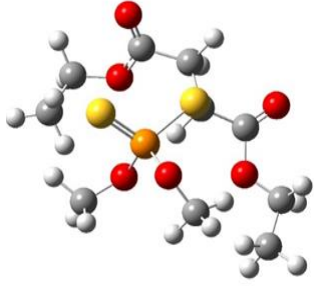
Tableau III.1: Les composés organophosphorés

Les molécules	Structures 2D	Structures 3D
<b>Chlorpyrifos</b>		
<b>Diazinon</b>		
<b>Dichlorvos</b>		
<b>Diméthoate</b>		

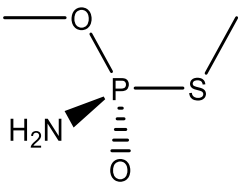
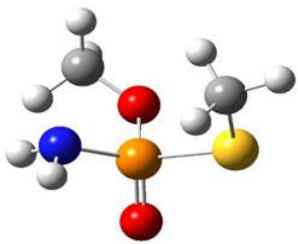
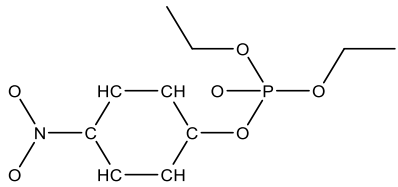
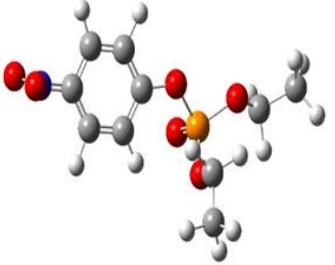
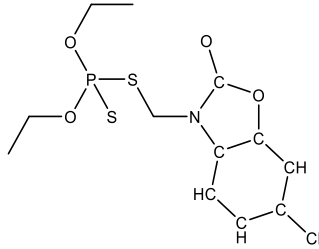
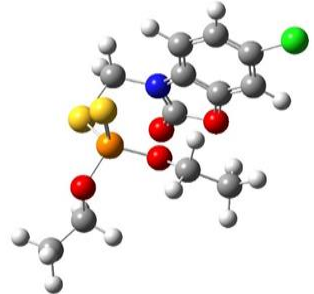
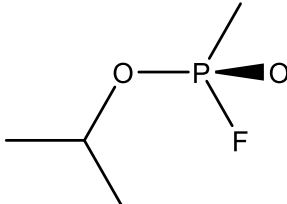
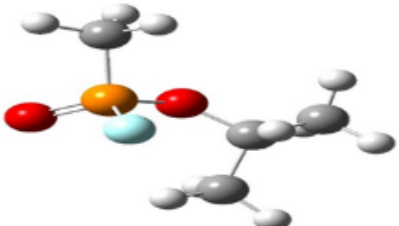
## Chapitre III : Résultats et discussion

<b>Ethion</b>		
<b>Éthoprophos</b>		
<b>Ethyle parathion</b>		
<b>Fenamiphos</b>		

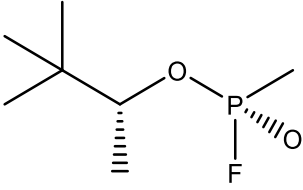
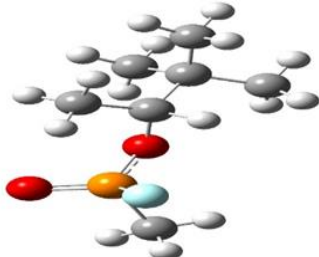
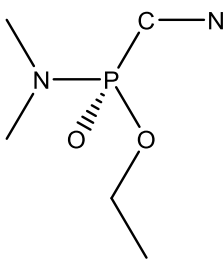
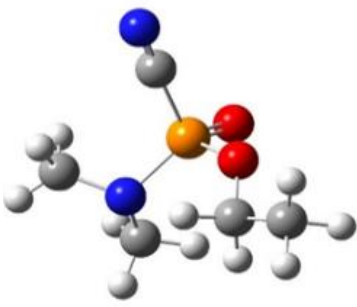
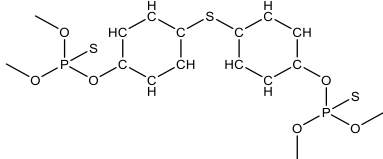
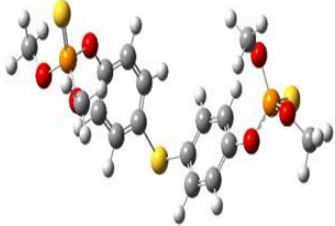
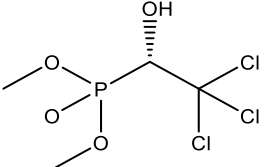
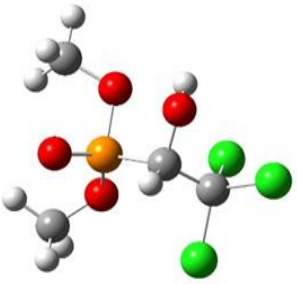
### Chapitre III : Résultats et discussion

<b>Fénitrothion</b>		
<b>Fenthion</b>		
<b>Isofluorophate</b>		
<b>Malathion</b>		

### Chapitre III : Résultats et discussion

<b>Méthamidophos</b>	 <p>Chemical structure of Methamidophos: A central phosphorus atom (P) is bonded to a methyl group (CH<sub>3</sub>), a sulfur atom (S), a carbonyl group (C=O), and an amino group (NH<sub>2</sub>). The amino group is shown with a wedge bond, indicating its stereochemistry.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Methamidophos, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon is grey, oxygen is red, nitrogen is blue, phosphorus is orange, and sulfur is yellow.</p>
<b>Paraoxon</b>	 <p>Chemical structure of Paraoxon: A central phosphorus atom (P) is bonded to two ethoxy groups (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O-), a carbonyl group (C=O), and a cyclic diethylcarbamate group. The cyclic group consists of a six-membered ring with two carbonyl groups and two ethyl groups.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Paraoxon, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon is grey, oxygen is red, nitrogen is blue, phosphorus is orange, and sulfur is yellow.</p>
<b>Phosalone</b>	 <p>Chemical structure of Phosalone: A central phosphorus atom (P) is bonded to two ethoxy groups (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O-), a sulfur atom (S), and a cyclic diethylcarbamate group. The cyclic group consists of a six-membered ring with two carbonyl groups, two ethyl groups, and a chlorine atom.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Phosalone, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon is grey, oxygen is red, nitrogen is blue, phosphorus is orange, sulfur is yellow, and chlorine is green.</p>
<b>Sarin</b>	 <p>Chemical structure of Sarin: A central phosphorus atom (P) is bonded to a methyl group (CH<sub>3</sub>), a fluorine atom (F), a carbonyl group (C=O), and an isopropyl group (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Sarin, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon is grey, oxygen is red, nitrogen is blue, phosphorus is orange, sulfur is yellow, and fluorine is cyan.</p>

## Chapitre III : Résultats et discussion

<b>Soman</b>		
<b>Tabun</b>		
<b>Téméphos</b>		
<b>Trichlorfon</b>		

### III.2.3. Préparation des enzymes

Les structures 1b41 et 1p0i ont été téléchargées, sujet de notre étude, à partir de la base de données des protéines PDB ([www.resb.org/pdb](http://www.resb.org/pdb)). La base de données PDB contient des milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie aux rayons X soit par imagerie par résonance magnétique nucléaire.

Les enzymes de la Cholinestérase contiennent plusieurs chaînes, et la sélection de la chaîne appropriée est nécessaire pour les manipuler. Un modèle simplifié de l'enzyme peut être obtenu en éliminant les molécules d'eau et les inhibiteurs de la cristallisation communs, ce qui facilite la simplification et l'accélération des opérations calculatoires, étape essentielle dans l'étude. Ensuite, les chaînes spécifiques, les liaisons de cristallisation communes et les molécules d'eau sont éliminées à l'aide du logiciel Discovery Studio.

Avant le docking, chaque enzyme est séparée de son ligand pour obtenir une cible avec un site actif libre. Les atomes d'hydrogène sont rajoutés et, les structures sont enregistrées en format PDBQT.

Puis, une boîte GRID (GRD BOX) est créée pour définir l'espace de recherche conformationnel du site actif (Tableau III.2).

**Tableau III.2** : La boîte GRID BOX des enzymes

Récepteur	Centre X	Centres Y	Centre Z	Délimitations
<b>1b41</b>	118.723	106.034	-134.794	60×60×60
<b>1p0i</b>	136.686	116.409	39.037	60×60×60

Nous avons utilisé AutoDock vina [4], un logiciel Docking moléculaire très répandu et connu par sa fiabilité et son pouvoir de reproduire les ligands déjà complexés et utilisé dans le Docking moléculaire.

AutoDock Vina utilise un algorithme de recherche d'optimisation globale stochastique de type Itérates Local. La fonction de scoring utilisée par AutoDock Vina permet de faire la somme des contributions intramoléculaires et intermoléculaires.

### III.3. Discussion des résultats

Après avoir mené à bien toutes les étapes et réalisé les calculs précédents, nous avons obtenu les résultats présentés dans le Tableau III.3.

Ce Tableau présente les propriétés chimiques de différentes molécules organophosphorées, ainsi que leur interaction potentielle avec les enzymes AChE (acétylcholinestérase) et BChE (butyrylcholinestérase). Où

**MW(Da)** : C'est la Poids Moléculaire en Dalton, indiquant la taille de la molécule.

**nHA (nombres d'atomes lourds)** : Il s'agit du nombre d'atomes autres que l'hydrogène, ce qui peut donner une indication de la complexité moléculaire.

**nRB (nombres de liaisons rotatives)** : Nombre de liaisons dans la molécule qui peuvent pivoter.

**nHBA (nombres d'accepteurs de liaisons hydrogène)** : Nombre d'atomes capables de former des liaisons hydrogène.

**nHBD (nombres de donateurs de liaisons hydrogène)** : Nombre d'atomes pouvant donner un hydrogène.

**MR (m<sup>3</sup>/mol)** : C'est le volume moléculaire.

**TPSA(Å<sup>2</sup>)** : Surface totale de l'aire polaire de la molécule.

**iLogP** : Indice logarithmique de la partition, une mesure de l'hydrophobicité.

**HOMO (ua)** : Orbite de plus haute énergie, indiquant la tendance de la molécule à donner un électron.

**LUMO (ua)** : Orbite de plus basse énergie, indiquant la tendance de la molécule à accepter un électron.

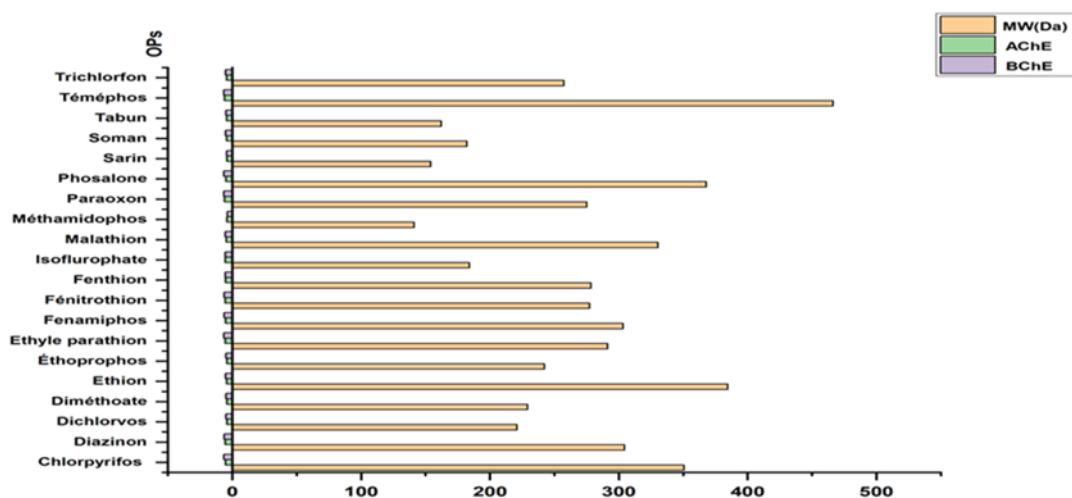
**$\Delta E$  (eV)** : Différence d'énergie entre les orbitales HOMO et LUMO, offrant des informations sur la réactivité électronique.

**Score (Kcal/mol)** : Énergie de liaison prédite avec les enzymes AChE et BChE.

Les valeurs sous AChE et BChE indiquent la force de liaison des molécules aux enzymes correspondantes, un score plus négatif signifiant une liaison plu

Tableau III.3 : Propriétés Chimiques des Molécules et Leur Interaction avec les Enzymes AChE et BChE

Molécules	MW(Da)	nHA	nRB	nHBA	nHBD	MR (m <sup>3</sup> /mol)	TPSA(Å)	iLogP	HOMO (ua)	LUMO (ua)	ΔE (eV)	Score (Kcal/mol)	
												AChE	BChE
Chlorpyrifos	350.59	18	6	4	0	77.92	82.48	3.18	-6.229	-2.957	11,20	-5.2	-6.5
Diazinon	304.35	19	7	5	0	80.23	95.37	3.22	-5.567	-2.563	10,28	-5.4	-6.4
Dichlorvos	220.98	11	4	4	0	42.38	54.75	2.53	-6.000	-2.849	10,78	-4.0	-5.0
Diméthoate	229.26	12	6	3	1	54.48	114.76	1.47	-5.840	-3.131	9,28	-4.0	-4.9
Ethion	384.48	19	12	4	0	96.03	171.32	3.52	-6.046	-3.221	9,67	-4.4	-5.2
Éthoprophos	242.34	13	8	2	0	65.50	68.71	3.06	-5.885	-3.193	9,22	-4.1	-4.9
Ethyle parathion	291.26	18	7	5	0	73.92	115.41	2.42	-6.341	-3.556	9,53	-5.4	-6.5
Fenamiphos	303.36	19	7	4	1	81.40	82.67	3.26	-5.226	-1.577	12,49	-5.1	-6.4
Fénitrothion	277.23	17	5	5	0	69.27	115.41	2.08	-6.286	-3.505	9,52	-5.6	-6.4
Fenthion	278.33	16	5	3	0	72.17	94.89	2.99	-5.035	-2.564	8,46	-5.2	-5.6
Isofluorophate	184.15	11	4	4	0	41.84	45.34	2.31	-6.961	-2.387	15,66	-5.4	-5.4
Malathion	330.36	19	11	6	0	78.08	138.26	2.61	-5.759	-2.941	9,65	-4.7	-5.4
Méthamidophos	141.13	7	2	3	1	31.77	87.43	1.23	-6.081	-2.440	12,47	-4.0	-3.9
Paraoxon	275.20	18	7	6	0	67.01	100.39	2.46	-6.420	-3.559	9,79	-6.1	-6.5
Phosalone	367.81	21	7	4	0	91.30	120.80	2.99	-5.997	-3.283	9,29	-5.0	-6.6
Sarin	154.12	9	3	3	0	35.95	36.11	2.01	-6.693	-1.533	17,63	-4.1	-4.5
Soman	182.17	11	3	3	0	45.30	36.11	2.25	-6.666	-1.544	17,55	-4.5	-5.3
Tabun	162.13	10	3	4	0	38.54	63.14	1.89	-6.000	-2.177	13,09	-4.3	-4.9
Téméphos	466.47	27	10	6	0	115.08	164.48	4.02	-5.116	-2.701	8,27	-5.9	-6.7
Trichlorfon	257.44	12	4	4	1	47.76	65.57	1.72	-7.088	-3.043	13,85	-4.4	-5.3



**Figure III.1 :** Corrélations entre les MW (Da) et le score d'inhibition

Tendances à observer :

**Composés à faible poids moléculaire (MW < 250 Da) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés à poids moléculaire moyen (250 Da < MW < 350 Da) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -5.6 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés à poids moléculaire élevé (MW > 350 Da) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.2 et -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

Les composés ont des poids moléculaires variant de 141,13 Da (Méthamidophos) à 466,47 Da (Téméphos). Généralement, un poids moléculaire plus élevé peut indiquer une molécule plus complexe, potentiellement capable d'une interaction plus forte avec les enzymes, comme c'est le cas avec Téméphos, qui montre des scores de liaison significatifs pour les deux enzymes.

En général, les molécules de plus grand poids moléculaire ont une surface de contact plus importante avec les cholinestérases. Cette surface de contact plus grande peut favoriser une meilleure affinité de liaison de l'inhibiteur dans le site actif, augmentant ainsi son potentiel d'inhibition.

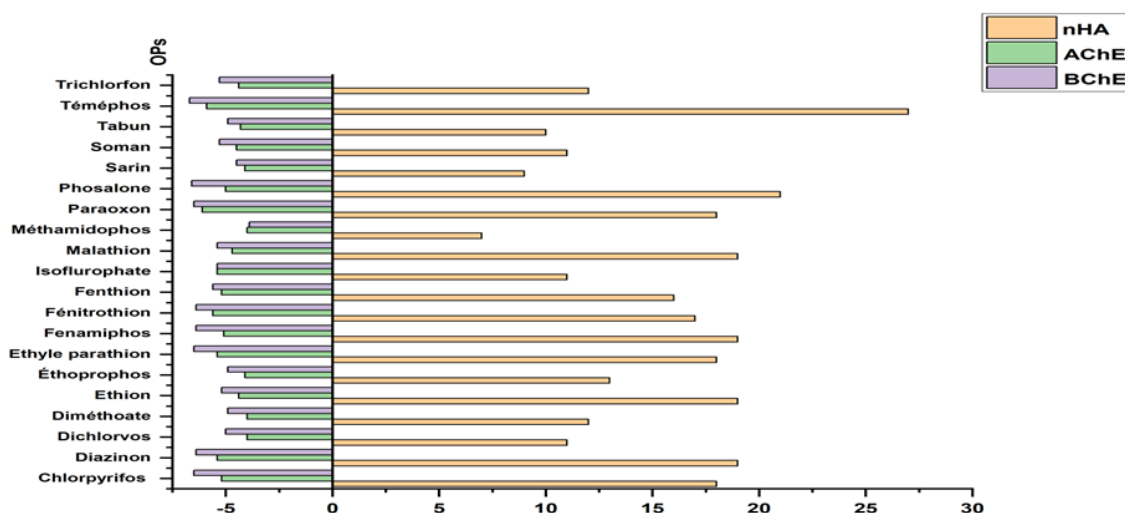


Figure III.2 : Corrélations entre les (nHA) et le score d'inhibition

**Composés avec un nHA faible ( $nHA < 15$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec un nHA moyen ( $15 < nHA < 25$ ) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec un nHA élevé ( $nHA > 25$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.9 et -6.7 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

Le nombre d'atomes lourds (de 7 à 27) semble être proportionnel à l'efficacité de l'inhibition enzymatique. Les composés comme Téméphos avec un grand nombre d'atomes lourds montrent des scores de liaison élevés, suggérant une interaction robuste avec les sites actifs des enzymes.

Ces résultats indiquent que les composés avec un plus grand nombre de sites accepteurs de liaison hydrogène tendent à présenter de meilleures activités inhibitrices envers AChE et BChE. La capacité à former des liaisons hydrogène supplémentaires peut favoriser des interactions plus fortes avec les résidus des sites actifs des enzymes.

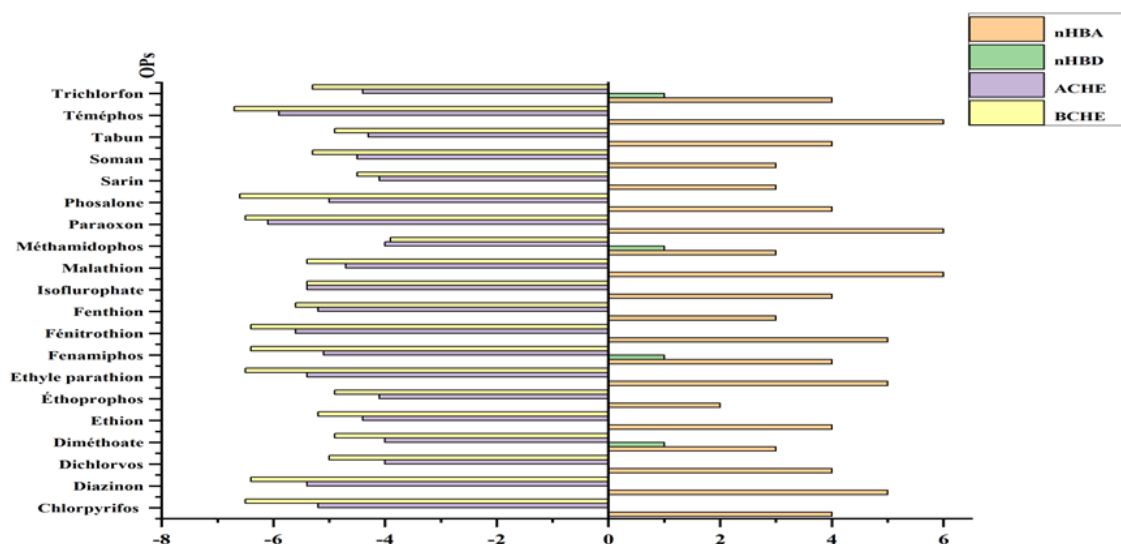


Figure III.3 : Corrélations entre les (nHBA, nHBD) et le score d'inhibition

Quelques tendances à observer :

**Composés avec un nHBA faible ( $nHBA < 4$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec un nHBA moyen ( $4 < nHBA < 6$ ) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec un nHBA élevé ( $nHBA > 6$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.9 et -6.7 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

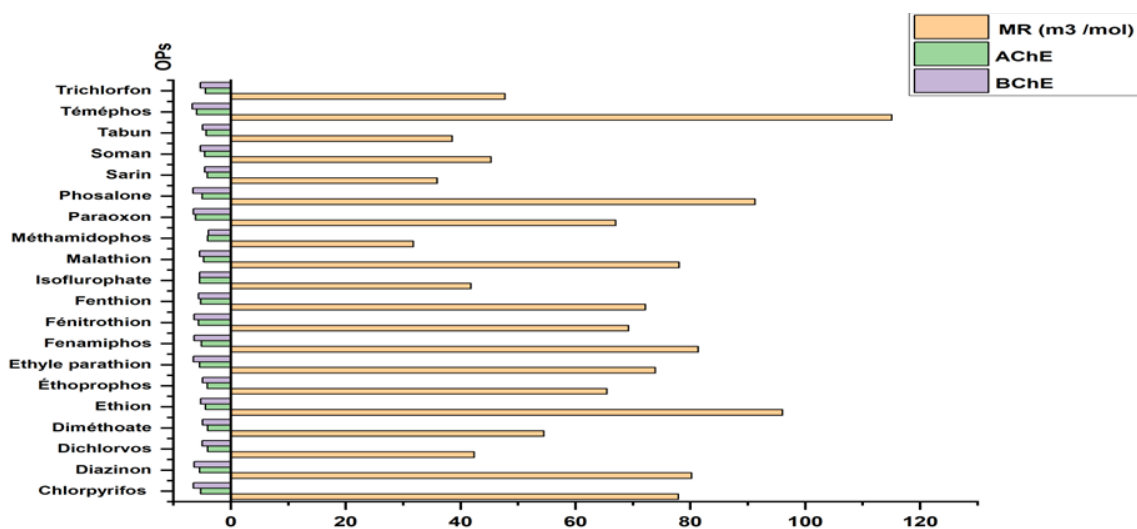
**Tendance générale :** Les composés avec 0 donneur de liaison H ( $nHBD = 0$ ) tendent à avoir des scores d'inhibition plus élevés pour les enzymes AChE et BChE, allant de -4.0 à -6.7 Kcal/mol.

Les accepteurs et donneurs de liaisons hydrogène influencent la stabilité des complexes enzyme-ligand. Les composés avec plusieurs accepteurs, tels que Paraoxon (6 accepteurs), ont des scores de liaison très négatifs, indiquant une inhibition forte, ce qui est crucial pour leur toxicité.

Le nombre de groupes donneurs de liaison hydrogène est également positivement corrélé avec les scores d'inhibition. Cela indique que la capacité à former des liaisons hydrogène supplémentaires avec les résidus des enzymes peut contribuer à une meilleure reconnaissance et liaison des inhibiteurs.

Une tendance similaire est observée pour le nombre de donneurs de liaison hydrogène, avec une corrélation positive modérée avec les scores d'inhibition d'AChE et de BChE.

Ces résultats soulignent l'importance des propriétés polaires et de la capacité à former des liaisons hydrogène dans la modulation de l'activité inhibitrice des composés organophosphorés vis-à-vis des cholinestérases. L'optimisation de ces caractéristiques moléculaires peut être une stratégie prometteuse pour développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces.



**Figure III.4 :** Corrélations entre MR (m<sup>3</sup>/mol) et le score d'inhibition

observations à partir du tableau III.3 et la figure III.4

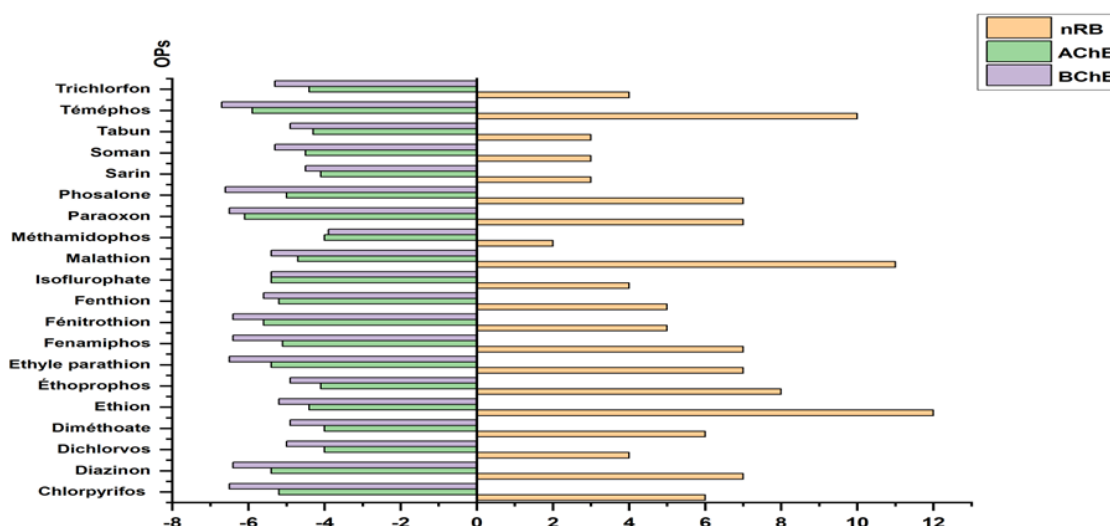
**Composés avec une MR faible (MR < 50 m<sup>3</sup>/mol) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec une MR moyenne (50 m<sup>3</sup>/mol < MR < 80 m<sup>3</sup>/mol) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec une MR élevée (MR > 80 m<sup>3</sup>/mol) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.9 et -6.7 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

Une réfractivité molaire élevée, comme celle de Téméphos, peut augmenter la polarisabilité de la molécule et ainsi renforcer les interactions avec les enzymes.

la réfractivité molaire, qui reflète à la fois la taille et la polarisabilité des molécules organophosphorées, semble être un paramètre structural important pour prédire leur potentiel d'inhibition des cholinestérases. Une analyse plus approfondie de la relation structure-activité pourrait permettre de mieux quantifier ces effets.



**Figure III.5 :** Corrélations entre les nRB et le score d'inhibition

D'après la figure III.5 et le tableau III.3, on peut observer

**Composés avec un nRB faible ( $nRB < 5$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec un nRB moyen ( $5 < nRB < 10$ ) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec un nRB élevé ( $nRB > 10$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.9 et -6.7 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

Les molécules plus flexibles (avec un nombre élevé de liaisons rotatives) peuvent adopter plusieurs conformations, facilitant ainsi leur adaptation et leur interaction avec les enzymes. Par exemple Ethan et Malathion, ayant de nombreuses liaisons rotatives, montrent une inhibition notable des enzymes.

On observe une corrélation négative entre le nombre de liaisons rotatives et les scores d'inhibition. Cela suggère que les composés plus rigides, avec moins de flexibilité conformationnelle, sont plus susceptibles d'avoir une meilleure activité inhibitrice. Une

## Chapitre III : Résultats et discussion

structure plus rigide peut faciliter une orientation et un positionnement plus favorable dans le site actif des enzymes.

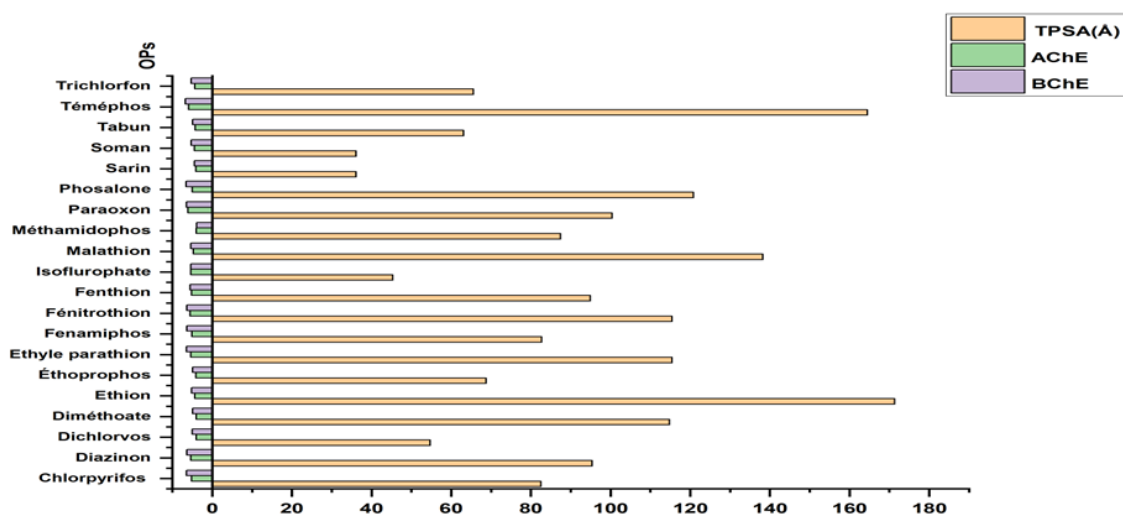


Figure III.6 : Corrélations entre les TPSA et le score d'inhibition

observations à partir du tableau III.3 et la figure III.6

**Composés avec une TPSA faible ( $TPSA < 70 \text{ \AA}^2$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec une TPSA moyenne ( $70 \text{ \AA}^2 < TPSA < 120 \text{ \AA}^2$ ) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec une TPSA élevée ( $TPSA > 120 \text{ \AA}^2$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.9 et -6.7 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

Une TPSA élevée peut affecter la solubilité et la capacité de la molécule à pénétrer dans les membranes cellulaires. Ethion, avec une TPSA de  $171,32 \text{ \AA}^2$ , montre une interaction forte avec BChE, indiquant que des surfaces polaires étendues peuvent favoriser une interaction enzyme-ligand plus stable.

## Chapitre III : Résultats et discussion

La TPSA reflète la surface des groupements polaires (comme les groupes hydroxyle,

amine, carbonyle, etc.) présents dans la molécule ; Ces groupements polaires peuvent établir des interactions polaires (liaisons hydrogène, interactions électrostatiques) avec les acides aminés polaires du site actif des cholinestérases.

Une TPSA plus élevée indique une plus grande capacité à former ces interactions polaires stabilisantes.

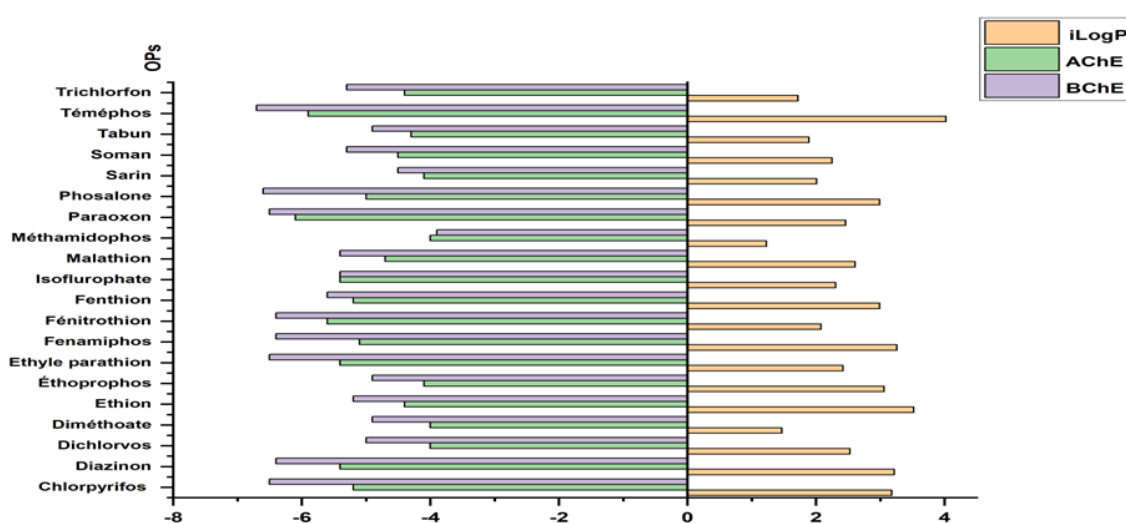


Figure III.7 : Corrélations entre les iLogP et le score d'inhibition

D'après la figure III.7 et le tableau III.3, on peut observer :

**Composés avec un iLogP faible ( $i\text{LogP} < 2$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec un iLogP moyen ( $2 < i\text{LogP} < 3$ ) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

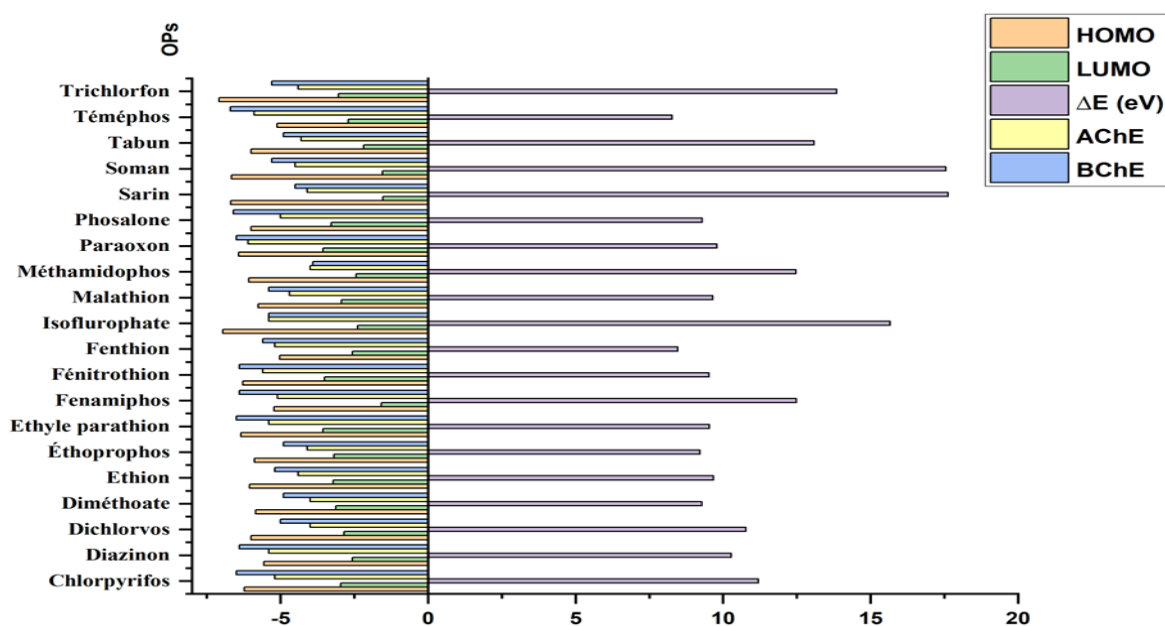
**Composés avec un iLogP élevé ( $i\text{LogP} > 3$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.9 et -6.7 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

## Chapitre III : Résultats et discussion

La lipophilie, représentée par  $i\text{LogP}$ , influence la perméabilité des membranes. Des valeurs élevées, comme celle de Téméphos ( $i\text{LogP} = 4,02$ ), indiquent une meilleure traversée des membranes cellulaires, ce qui peut augmenter la toxicité

Ces résultats indiquent que les composés plus lipophiles, avec des valeurs d' $i\text{LogP}$  plus élevées, ont tendance à présenter de meilleures activités inhibitrices envers les deux enzymes cholinestérases, AChE et BChE.

La lipophilie, reflétée par  $i\text{LogP}$ , joue un rôle important dans la capacité des composés à pénétrer dans le site actif des enzymes et à se lier de manière favorable. Une plus grande affinité lipophile peut faciliter l'accès et l'interaction des inhibiteurs avec les résidus hydrophobes présents dans les poches de liaison des cholinestérases.



**Figure III.8 :** Corrélations entre les propriétés électroniques et le score d'inhibition

Observations à partir du tableau III.3 et la figure III.8

**Composés avec une valeur de  $\Delta E$  faible ( $\Delta E < 10$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition modérés, entre -4.0 et -5.4 Kcal/mol pour l'AChE et entre -3.9 et -5.4 Kcal/mol pour la BChE.

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

**Composés avec une valeur de  $\Delta E$  moyenne ( $10 < \Delta E < 15$ ) :** Ces composés ont des scores d'inhibition variables, allant de -4.0 à -6.1 Kcal/mol pour l'AChE et de -4.9 à -6.6 Kcal/mol pour la BChE.

**Composés avec une valeur de  $\Delta E$  élevée ( $\Delta E > 15$ ) :** Ces composés ont généralement des scores d'inhibition élevés, entre -5.9 et -6.7 Kcal/mol pour l'AChE et entre -6.5 et -6.7 Kcal/mol pour la BChE.

Les niveaux d'énergie HOMO et LUMO, ainsi que le gap énergétique ( $\Delta E$ ), influencent la réactivité chimique. Des gaps énergétiques plus faibles, comme ceux de certains composés, suggèrent une réactivité plus élevée, augmentant la probabilité d'interaction avec les enzymes.

Les acides aminés du site actif des cholinestérases peuvent avoir des propriétés électroniques spécifiques (charges partielles, polarisabilité, etc.).

Les niveaux HOMO et LUMO des molécules organophosphorées peuvent moduler leurs interactions électroniques avec ces résidus du site actif, influençant ainsi l'inhibition.

---

# **Conclusion générale**

---

## Conclusion générale

---

### Conclusion générale

Cette étude a examiné de manière approfondie le potentiel toxique des composés organophosphorés (OPs) par le biais de leur capacité à inhiber l'enzyme cholinestérase (ChE), en utilisant des techniques avancées de modélisation moléculaire et de docking moléculaire. Les OPs, largement utilisés pour leurs propriétés insecticides, herbicides et neurotoxiques, présentent un risque potentiel pour la santé humaine et l'environnement, ce qui nécessite une évaluation rigoureuse et prédictive. L'approche méthodologique adoptée a permis d'identifier des corrélations significatives entre les propriétés physico-chimiques des OPs et leur efficacité inhibitrice contre la ChE. Notamment, les composés avec un poids moléculaire élevé et une grande surface de contact ont montré une inhibition plus forte, suggérant une meilleure affinité et interaction avec le site actif de l'enzyme.

De plus, la taille moléculaire, indiquée par le poids moléculaire (MW), joue un rôle significatif. Les composés à faible poids moléculaire ( $MW < 250$  Da) montrent des scores d'inhibition modérés, tandis que ceux avec un poids moléculaire plus élevé ( $> 350$  Da) présentent des scores d'inhibition plus élevés, suggérant une interaction plus forte avec les enzymes. Par exemple, des molécules comme le Téméphos, qui possède un poids moléculaire élevé, montrent des scores de liaison significatifs.

Ensuite, le nombre d'atomes lourds (nHA) est également proportionnel à l'efficacité de l'inhibition. Les composés avec un nHA élevé ( $nHA > 25$ ) tendent à avoir des scores d'inhibition plus élevés. Par exemple, le Téméphos, avec un grand nombre d'atomes lourds, montre une interaction robuste avec les sites actifs des enzymes. De plus, les composés avec plusieurs accepteurs de liaison hydrogène (nHBA) et donneurs de liaison hydrogène (nHBD) tendent à présenter de meilleures activités inhibitrices, favorisant des interactions plus fortes avec les résidus des sites actifs des enzymes.

La réfractivité molaire (MR) influence également sur les scores d'inhibition. Les composés avec une MR élevée ( $MR > 80$  m<sup>3</sup>/mol) présentent généralement des scores d'inhibition plus élevés. Une réfractivité molaire élevée peut augmenter la polarisabilité de la molécule, renforçant ainsi les interactions avec les enzymes. De même, les molécules avec plus de liaisons rotatives (nRB) peuvent adopter plusieurs conformations, facilitant leur interaction avec les enzymes. Cependant, une flexibilité excessive peut réduire

## Conclusion générale

---

l'efficacité de l'inhibition, car une structure plus rigide peut se lier plus efficacement aux sites actifs des enzymes.

La surface totale de l'aire polaire (TPSA) est un autre facteur crucial. Les composés avec une TPSA élevée ( $> 120 \text{ \AA}$ ) tendent à avoir des scores d'inhibition élevés, suggérant que des surfaces polaires étendues peuvent favoriser une interaction enzyme-ligand plus stable. Par ailleurs, la lipophilie, représentée par l'indice logarithmique de la partition (iLogP), joue un rôle déterminant. Les composés plus lipophiles (iLogP  $> 3$ ) montrent généralement des scores d'inhibition élevés, indiquant une meilleure perméabilité membranaire et, par conséquent, une interaction accrue avec les enzymes.

Enfin, les propriétés électroniques des molécules, telles que les niveaux HOMO et LUMO, ainsi que le gap énergétique ( $\Delta E$ ), influencent également leur réactivité et leur capacité à inhiber les enzymes. Les composés avec des gaps énergétiques plus faibles montrent une réactivité plus élevée, augmentant ainsi la probabilité d'interaction avec les enzymes. Ces observations soulignent l'importance des propriétés chimiques et structurales dans la modulation de l'activité inhibitrice des composés organophosphorés vis-à-vis des cholinestérases. L'optimisation de ces caractéristiques moléculaires pourrait être une stratégie prometteuse pour développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces.

Cette recherche a souligné l'importance croissante de la modélisation moléculaire et du docking moléculaire comme outils précieux pour prédire les propriétés pharmacologiques et toxicologiques des OPs. Ces méthodes permettent non seulement d'économiser du temps et des ressources dans le processus de développement de nouveaux OPs, mais aussi de guider la conception de composés plus sûrs et efficaces dans des secteurs variés tels que l'agriculture et la médecine. Cette étude souligne également l'importance de continuer à innover dans l'évaluation des risques chimiques, en particulier pour les OPs, qui présentent des défis uniques en termes de sécurité et de durabilité. L'intégration des avancées en modélisation moléculaire avec les données expérimentales contribue à une meilleure compréhension des interactions moléculaires complexes, essentielle pour protéger la santé publique et l'environnement contre les effets nocifs des OPs.

En conclusion, cette thèse apporte une contribution significative à la toxicologie prédictive en fournissant des perspectives nouvelles et importantes pour l'évaluation et la

## Conclusion générale

---

conception rationnelle de nouveaux composés chimiques, visant à minimiser leur impact négatif tout en maximisant leur efficacité dans divers contextes industriels.

### III.4. Références bibliographiques

- [1] PerkinElmer Informatics. (2023). ChemDraw Ultra 2023 User Guide.
- [2] Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., et al. (2016). Gaussian 16 User's Reference.
- [3] Dassault Systèmes BIOVIA. (2023). Discovery Studio 2023 Documentation.
- [4] Trott, O., & Olson, A. J. (2010). "AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading." *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461.
- [5] Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility." *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791.
- [6] OriginLab Corporation. (2023). Origin 2023 Documentation.