



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
Université des sciences et de la technologie d'Oran « Mohamed Boudiaf »

Faculté des Sciences de la nature et vie

Département de Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie

Option : cytochimie, structure modélisation et simulation des macromolécules à intérêt agronomique et médical

MEMOIRE

Présenté par

Mme FADEL Fatima Zohra

Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biotechnologie

Thème

Eude théorique de l'effet des méthylxanthines sur le système nerveux central

Soutenu le

Membres de jury :

Président	A. BOUDJEMAA	Professeur	USTO-MB
Encadreur	N. TCHOUAR	Professeur	USTO-MB
Examinatrice	A. BERREBBAH ALIOUA	Maitre de conférence A	USTO-MB
Examineur	R. DJEBBAR	professeur	université d'Annaba

Année Universitaire 2013/2014

Dédicace

Ce mémoire est dédié :

*A mes chers parents qui m'ont encouragé à être ce que je suis, avec tant
d'encouragements et d'amour*

*A mon mari qui m'a apporté son soutien, par sa compréhension, durant
la réalisation de ce travail*

*A ma sœur, mon frère, mes beaux parents et mes beaux frères pour leurs
encouragements*

A toute la famille

Enfin a tous mes amis et collègues

Remerciements

Adresser ses remerciements est un exercice périlleux, lorsqu'il s'agit d'exprimer la Reconnaissance que l'on porte aux personnes qui ont su vous aider, vous guider de façon désintéressée et vous conseiller à juste titre, au cours d'un long cursus scolaire.

*Je tiens en premier lieu à remercier mon directeur de thèse **Mr Tchouar Noureddine** professeur à l'Université d'USTO qui a bien voulu diriger ce travail. Il m'a fait profiter de ses conseils, de son soutien constant et de son indéfectible bonne humeur.*

*Je remercie l'ensemble des membres du jury ; **Mr Abdallah BOUDJEMA** Professeur à l'Université d'USTO, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury, **Mme Amel BERREBAH - ALIOUA** Maître de Conférence à l'Université d'USTO et **Mr Reda DJEBBAR** Professeur à l'Université d'Annaba qui ont bien voulu être les examinateurs.*

Un grand merci à mes parents pour leur encouragement et leur soutien.

Je remercie mes collègues qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Enfin, je ne peux pas oublier de remercier Dieu, le grand puissant, pour m'avoir aidé à terminer ce travail.

Résumé

Résumé :

Le groupe des méthylxanthines représenté dans la nature par la caféine, la théophylline et la théobromine diffèrent entre eux par la position et le nombre de groupements méthyles fixés sur la molécule. Dont la caféine, l'alcaloïde principal du café $C_8H_{10}N_4O_2$, est la 1-3-7 triméthylxanthine, la théophylline $C_7H_8N_4O_2$, 1-3 diméthylxanthine, dans le thé, et la théobromine $C_7H_8N_4O_2$, 3-7 diméthylxanthine, dans le chocolat.

Différentes études ont permis de conclure que l'antagonisme sur les récepteurs à l'adénosine serait le facteur déterminant de l'activité des méthylxanthines. Comme il a été démontré que les effets biologiques des méthylxanthines sont dépendants de la structure de ces molécules et notamment, de la position des substituants autour du cycle purine.

Afin de mieux comprendre le rôle et la fonction biologique des méthylxanthines, et en particulier les mécanismes de leurs interactions aux récepteurs à l'adénosine, il est nécessaire de résoudre leurs structures tridimensionnelles et d'étudier leur dynamique au niveau atomique.

Les paramètres géométriques calculés par moyen de modélisation moléculaire sur le logiciel Gaussian en utilisant la méthode DFT et la fonctionnelle B3LYP avec la base 6-31G ont été trouvés en bon accord avec les données expérimentales. Ainsi une explication de l'effet de la chiralité de l'acide aminé engagé par le récepteur membranaire du système nerveux dans l'interaction aux méthylxanthines et laquelle parmi ce groupe de molécule la plus active ont été mis en évidence.

Mots clés : méthylxanthines, récepteur de l'adénosine, modélisation moléculaire, Gaussian.

ملخص:

مجموعة الميثيل كسانثين ممثلة في الطبيعة من خلال الكافيين، الثيوفيلين والثيوبرومين تختلف عن بعضها البعض من حيث عدد وموقع مجموعات الميثيل المرتبطة بالجزء.

حيث الكافيين alcaloide الرئيسي للقهوة $C_8H_{10}N_4O_2$ يعرف بـ 1.3.7 triméthylxanthine ، الثيوفيلين $C_7H_8N_4O_2$ تمثل 1.3.7 triméthylxanthine في الشاي و الثيوبرومين $C_7H_8N_4O_2$ في الشوكولاتة.

عدة أبحاث سمحت بإسخلاص أن التضاد لمستقبلات الادنوزين هو العامل الحاسم في تحديد نشاط مجموعة الميثيل كسانثين.

و قد ثبت أن الاثار البيولوجية للميثيل كسانثين تعتمد على هيكل هذه الجزيئات و على وجه الخصوص على موقع البدائل حول حلقة البيورين.

لفهم أفضل للدور و للوظيفة البيولوجية للميثيل الكسانثين و على وجه الخصوص آليات تفاعلاتها مع مستقبلات الادنوزين ، فمن الضروري حل هيكلها ثلاثي الأبعاد و دراسة ديناميكيته على المستوى الذري.

المعلومات الهندسية المحسوبة عن طريق النمذجة الجزيئية على البرنامج Gaussian باستعمال طريقة DFT و الوظيفة B3LYP مع القاعدة 6-31G وجدت على اتفاق جيد مع البيانات التجريبية و كذلك تفسير تأثير La chiralité للحمض الأميني الموكل من طرف المستقبل الغشائي للجهاز العصبي في التفاعل مع الميثيل كسانثين و أي من الجزيئات الأكثر فعالية من بين هذه المجموعة قد أثبتت.

الكلمات المفتاحية: الميثيل كسانثين ، مستقبلات الأدينوزين ، النمذجة الجزيئية، Gaussian.

Abstract :

The group of methylxanthines represented in nature by caffeine, theophylline and theobromine differ from each position and the number of attached methyl groups on the molecule. Including caffeine, the main alkaloid coffee $C_8H_{10}N_4O_2$ is 1-3-7 trimethylxanthine, theophylline $C_7H_8N_4O_2$, 1-3 dimethylxanthine, in tea, and theobromine $C_7H_8N_4O_2$, 3-7 dimethylxanthine in chocolate.

Various studies have concluded that the antagonism of the adenosine receptors would be the determining factor in the activity of methylxanthines. As has been demonstrated that the biological effects of methylxanthines are dependent on the structure of these molecules, and in particular, the position of the substituents around the purine ring.

To better understand the role and the biological function of methylxanthines, and in particular the mechanisms of their interactions with adenosine receptors, It is necessary to solve their three-dimensional structures and to study their dynamics at the atomic level.

The geometric parameters calculated by means of molecular modeling software using the Gaussian DFT and functional B3LYP method with 6-31G basis were found in good agreement with the experimental data. And an explanation of the effect of the chirality of the amino acid retained by the membrane receptor of the nervous system in interaction with methylxanthines and that among this group of the most active molecule were highlighted.

Keywords: methylxanthine, adenosine receptor, molecular modeling, Gaussian.

Sommaire

Sommaire

<i>Introduction générale</i>	01
 <i>Chapitre I : Analyse bibliographique sur les méthylxanthines</i>	
I. Introduction.....	03
II. Propriétés physico-chimiques générales.....	03
II.1. Informations physico-chimiques générales.....	03
II.2. Structure.....	04
II.3. Solubilité.....	05
II.4. Relation structure-activité.....	06
III. Métabolisme et pharmacocinétique.....	06
III.1. Résorption, transport et distribution.....	07
III.2. Métabolisme et élimination.....	07
III.3. Facteurs influençant la pharmacocinétique.....	09
III.4. Bases cellulaires de l'action pharmacologique des méthylxanthines.....	10
III.5. Propriétés pharmacologiques	10
III.5.1. Action sur le système nerveux central.....	10
III.5.2. Action sur le système cardiovasculaire.....	11
III.5.3. Action sur les muscles lisses.....	13
III.5.4. Action sur les muscles squelettiques.....	14
III.5.5. Actions diurétiques.....	14
III.5.6. Actions sur les sécrétions.....	15
III.5.7. Actions sur le métabolisme.....	15
III.6. Usages thérapeutiques.....	16
III.6.1. Théobromine.....	16
III.6.2. Caféine.....	16
III.6.3. Théophylline.....	18
IV. L'adénosine	19
IV.1. Structure et localisation	19
IV.2. Biosynthèse, concentrations physiologique et pathologique.....	19
IV.3. Récepteurs à l'adénosine.....	21
IV.3.1. Structure et voies d'activation.....	21

IV.3.2. Ligands.....	23
V. conclusion.....	23

Chapitre II : Matériels et méthodes

I.1. Introduction.....	24
I. 2. La modélisation moléculaire.....	24
I. 3. Méthodes de la modélisation moléculaire	26
I. 4. Méthodes de la mécanique quantique.....	26
I. 4.1. Principaux avantages de la mécanique quantique.....	26
I.5. L'équation de Schrödinger.....	27
I.5.1. Formulation générale.....	27
I.6. L'approximation de Born-Oppenheimer.....	28
I.7. L'approximation orbitale	28
I.8. L'approximation LCAO	29
I.9. La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT).....	29
I.9.1. Fondements de la théorie.....	29
I.9.2. Présentation de quelques fonctionnelles de la DFT.....	30
I.9.3. Choisir une fonctionnelle.....	31
I.9.4. Types de bases	32
I.9.5. Présentation de quelques jeux de bases utilisés par le code de Gaussian.....	32
I.9.6. Choisir une base.....	33
I.10. Logiciel utilisés.....	34
I.10.1. Gaussian.....	34
I.10.2. La visualisation des molécules.....	34
I.10.3. GaussView.....	35
I.10.4. Gaussian 09	36
I.11. Conclusion	37

Chapitre III : Résultats et discussions

I- Introduction.....	39
II- Première partie : conformation moléculaire des méthylxanthines.....	39
II.1. Détermination des énergies relatives aux méthylxanthines.....	41
II.2. Etude géométrique.....	42

Sommaire

II.2.1. Longueur de liaison intra-moléculaire.....	42
II.2.2. Angles de liaison.....	43
II.2.3. Les angles dièdres	44
II.3. Etude électronique	44
II.3.1. Diagramme énergétique	46
II.3.2. Détermination du GAP énergétique	47
III. Deuxième partie : conformation moléculaire de l'asparagine.....	47
III.1. Etude énergétique de l'asparagine	48
III.2. Etude géométrique du R-asparagine	49
IV. Troisième partie : étude énergétique du complexe caféine/R-asparagine.....	50
IV.1. Etude énergétique du complexe CA/R-asn.....	51
IV.2. Etude géométrique du complexe CA/R-asn.....	52
V. Conclusion	52
<i>Conclusion générale</i>	54

Références Bibliographiques

Annexe

Liste des figures

Figure 1 : Voies de la métabolisation des méthylxanthines chez l'Homme	08
Figure 2 : Formule chimique de l'adénosine	19
Figure 3 : Voies de biosynthèse et de transport de l'adénosine endogène et exogène et principales enzymes impliquées	20
Figure 4 : Voies de signalisation intracellulaires activées par les récepteurs à l'adénosine....	21
Figure 5 : voies de la résolution de l'équation de Schrödinger	28
Figure 6 : Cycle de l'étude d'une molécule par modélisation moléculaire	37
Figure 7: Représentation de la structure de la théophylline, la théobromine et la caféine par le logiciel Gaussian	40
Figure 8: Représentation des HOMO de la molécule de théophylline	45
Figure 9: Représentation des LUMO de la molécule de théophylline	45
Figure 10: Représentation des HOMO de la molécule de théobromine	45
Figure 11: Représentation des LUMO de la molécule de théobromine	45
Figure 12: Représentation des HOMO de la molécule de caféine	45
Figure 13: Représentation des LUMO de la molécule de caféine	45
Figure 14: Représentation des diagrammes énergétiques pour la TH, TB, et CA	46
Figure 15: Représentation de la structure tridimensionnelle du R-asn et S-asn	48
Figure 16 : Géométrie optimisé du R-asn avec label.....	49
Figure 17: Représentation du complexe caféine/Rasn	50
Figure 18: Représentation du complexe caféine/Sasn	51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Récapitulatif des principales caractéristiques physico-chimiques de la théobromine, de la théophylline et de la caféine	03
Tableau 2 : Formules développées de la xanthine, des méthylxanthines et de l'adénosine ...	04
Tableau 3 : Mécanismes de transduction, distribution tissulaire/cellulaire et fonction tissulaire/cellulaire des récepteurs à l'adénosine	22
Tableaux 4 : Organigramme de la structure moléculaire	25
Tableau 5 : Quelques fonctionnelles d'échanges disponibles et utilisées dans la chaîne de programme Gaussian	30
Tableau 6 : Quelques jeux de bases utilisés dans Gaussian	33
Tableau 7 : Energie relative au trois isomères TH, TB, et CA	41
Tableau 8 : Longueurs de liaisons entre les atomes des trois molécules TH, TB ET CA	42
Tableau 9 : Angles de liaison entre les atomes des trois isomères	43
Tableau 10 : Angles dièdres des trois isomères	44
Tableau 11 : Différence entre les niveaux énergétiques des orbitales HOMO et LUMO	47
Tableau 12 : Représentation des énergies relatives de deux stéréoisomère R et S asparagine.	48
Tableau 13 : Principale longueurs de liaison, angles et angle dièdres du R-asn	49
Tableau 14 : Energie relative au complexe CA/R-asn	51
Tableau 15 : Principales longueurs de liaison, angles et angle dièdres du R-asn dans le complexe CA/R-asn	52

Liste des abréviations

Afin d'alléger le texte, les abréviations mentionnées ci-dessus ont été utilisées :

Å : Ångström (10^{-10} mètre)

AA : Acide Aminé

Asn : Asparagine

B3LYP : Trois Paramètres Hydrides de Becke (en anglais Becke's Three Parameter Hybrid)

CA : Caféine

DFT: Density Functional Theory

E : Energie

HOMO: Highest Occupied Molecular Orbital (Orbitale la plus Haute Occupée)

Hz: Hertz

LUMO : Lowest Unoccupied Molecular Orbital (Orbitale la plus Basse Vacante)

Me : Méthyle

OM : Orbital Moléculaire

R : énantiomère dextrogyre

S : énantiomère lévogyre

TB : Théobromine

TH : Théophylline

u.a : unité atomique

ΔE : Gap énergétique

Introduction générale

Le développement des outils théoriques est lié d'une manière étroite aux développements des moyens informatiques qui permettent de regrouper et d'analyser un nombre croissant d'informations. La détermination par le calcul de la structure d'une molécule s'est considérablement développée et a permis de mieux comprendre la théorie de la structure moléculaire. Elle implique l'utilisation de méthodes de calcul théoriques (mécanique quantique). (MICHEL, 2007).

Ces dernières années s'est développé un nouvel outil qu'on appelle la modélisation moléculaire.

La modélisation moléculaire consiste en la construction de modèles tridimensionnels à partir des données. Elle trouve sa raison d'être d'une part dans les limitations expérimentales des méthodes de détermination de structure de molécules et d'autre part dans l'incapacité actuelle de prédire la structure 3D à partir de la seule information des formules.

Dans le présent travail nous nous servons de cet outil pour étudier trois molécules qui possèdent des propriétés similaires et qui appartiennent à une même famille appelé méthylxanthines.

Le choix de ce groupe de molécules revient à leur présence importante dans notre vie quotidienne puisque ce sont les principales substances du thé, du chocolat et du café. Les principes actifs de ces trois substances sont respectivement : la théophylline, la théobromine et la caféine connues par leur effet sur l'éveil par antagonisme aux récepteurs à l'adénosine

Lors de cette étude nous nous intéressons à l'interaction de la théophylline, la théobromine et la caféine au récepteur à l'adénosine. Donc une étude énergétique, géométrique et électronique nous permet de mieux comprendre le mode d'action des méthylxanthines sur les récepteurs biologiques.

Ce travail s'articule autour de trois chapitres. Dans le premier, nous avons entrepris un rappel bibliographique général sur les propriétés des méthylxanthines et leurs effets sur l'organisme humain.

Dans le deuxième chapitre, nous avons fait recours à un rappel de la modélisation moléculaire, les méthodes et les logiciels utilisés dans ce travail.

Au sein du troisième chapitre, nous avons effectué une étude comparative des méthylxanthines en utilisant le programme Gaussian09 basé sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) avec la fonctionnelle de corrélation et d'échange B3LYP et le jeu de base 6-31G**. Ensuite, nous avons étudié du point de vue énergétique l'acide aminé asparagine (site actif du récepteur à l'adénosine). En dernier, nous avons étudié l'interaction entre la méthylxanthine la plus active et le récepteur à l'adénosine.

Chapitre I :
Rappel
bibliographique sur
les méthylxanthines

I. Introduction

Le monde végétal, par un nombre très restreint d'espèces (Caféier, théier, cacaoyer, maté, kola, guarana), procure, à un haut niveau, des alcaloïdes (substances azotées, d'origine végétale, développant des effets biologiques) désignés collectivement méthylxanthines, ayant entre eux de très grandes parentés chimiques.

La caféine, en abondance dans le café, est la triméthyl 1-3-7 xanthine. La théophylline, que l'on trouve dans le thé, est la diméthyl 1-3 xanthine. La théobromine, qui domine dans le chocolat, est la diméthyl 3-7 xanthine. (j.costentin et al, 2010)

La caféine est surtout appréciée et consommée pour ses effets éveillants et stimulants. La théophylline, présente dans le thé où elle accompagne la caféine (nommée parfois « théine » dans le thé), a été longtemps utilisée comme antiasthmatique. La théobromine, du chocolat, développe qualitativement les mêmes effets que la caféine mais sur un mode moins intense et plus durable (j.costentin et al, 2010).

II. Propriétés physico-chimiques générales

II.1. Informations physico-chimiques générales

Le tableau 1 présente les principales caractéristiques des trois méthylxanthines : leurs formules moléculaires, leurs masses molaires, leurs états naturels et enfin leurs origines végétales.

Tableau 1 : Récapitulatif des principales caractéristiques physico-chimiques de la théobromine, de la théophylline et de la caféine. (D'après HAZEBROUCQ *et al.*, 1995).

Nom du composé	Théobromine	Théophylline	Caféine
Formule moléculaire	$C_7H_8N_4O_2$	$C_7H_8N_4O_2$	$C_8H_{10}N_4O_2$
Masse molaire (g/mol)	180,2	180, 2	194, 2
Etat naturel	Poudre cristalline incolore, inodore, de saveur amère	Poudre cristalline blanche, inodore, de saveur amère	Poudre cristalline blanche, inodore, de saveur amère
Origine végétale	<ul style="list-style-type: none"> ■ Découverte en 1842 ■ Présente dans le cacao ■ Traces dans la kola et dans la plante fournissant le guarana 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Découverte en 1908 ■ Présente dans le thé ■ Traces dans le cacao 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Découverte en 1819 ■ Présente dans plus de 63 espèces végétales dont le thé, le café, le guarana, le yocco, le cacao, la noix de kola, le maté

II.2. Structure

Diverses appellations sont consacrées à la théobromine, la théophylline et la caféine dans la littérature : dérivés de xanthine, bases xanthiques, méthylxanthines, xanthines, xanthines alcaloïdes. Ce sont en fait plus précisément des xanthines méthylées.

La xanthine est une dioxypurine structurellement liée à l'acide urique, la dihydroxy- 2, 6-purine (RALL, 1992).

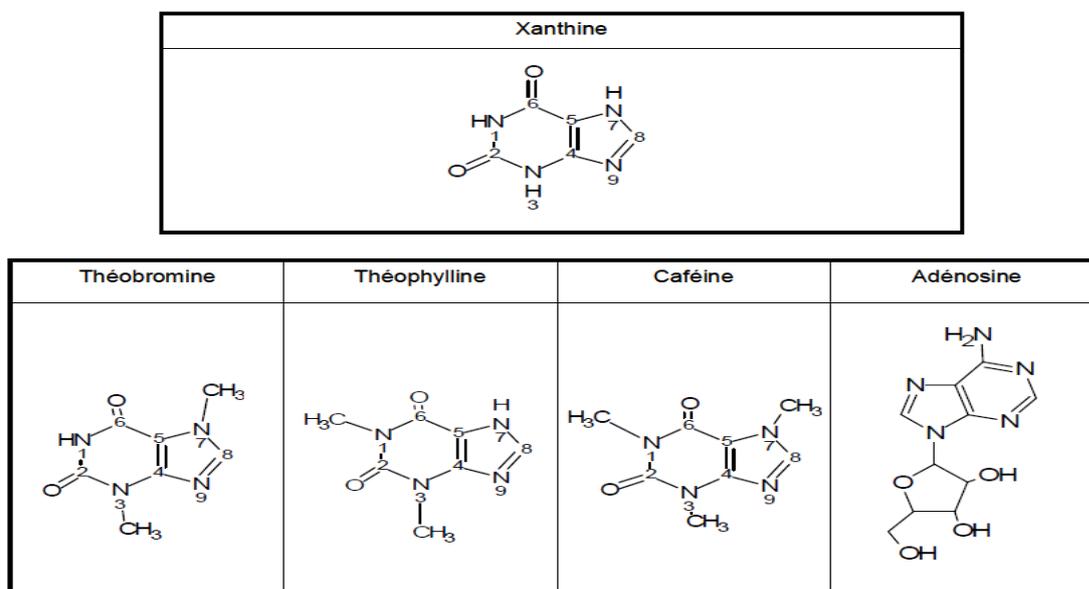
La structure chimique des méthylxanthines inclut un cycle purine, comme dans les nucléotides adénine et guanine. La position du groupement méthyle détermine les propriétés pharmacologiques de chacun des composés (SCHEINDLIN, 2007) :

- La caféine est la 1, 3, 7 -triméthylxanthine.
- La théophylline est la 1, 3 –diméthylxanthine.
- La théobromine est la 3, 7 –diméthylxanthine.

L'adénosine, nucléoside formé lorsque l'adénine est liée à un noyau ribose sous forme de ribofuranose, est également structurellement proche des méthylxanthines.

Notons d'ores et déjà sa structure développée qui apparait dans le tableau 2. Nous retrouvons aussi dans ce tableau les formules développées de la xanthine et des méthylxanthines. Notons les similitudes entre les différentes structures.

Tableau 2 : Formules développées de la xanthine, des méthylxanthines et de l'adénosine.
(D'après SCHEINDLIN, 2007).



II.3. Solubilité

La solubilité des méthylxanthines dans les liquides biologiques est faible. Elle est nettement accrue par la formation de complexes avec de nombreux produits chimiques (SERAFIN, 1996).

- Le complexe entre la théophylline et l'éthylènediamine formant l'aminophylline (environ 80% de théophylline) est le plus représentatif.

L'invention de ce complexe est presque contemporaine de la découverte de la théophylline, en 1908 (SCHEINDLIN, 2007).

L'aminophylline permet une distribution intraveineuse de la théophylline, cette dernière étant très peu soluble dans l'eau (1 g pour 120 ml), (SHANNON, 1998) ; l'utilisation de ce complexe en thérapeutique fut donc un progrès majeur afin de tirer part des propriétés de la théophylline dans différents traitements. Il existe deux sortes d'aminophylline : l'aminophylline anhydre et l'aminophylline hydratée qui contiennent respectivement 86 mg et 79 mg de théophylline pour 100 mg d'aminophylline (CARSON, 2006). Une fois placée en milieu aqueux, l'aminophylline se dissocie pour libérer les deux composants du complexe théophylline-éthylènediamine.

- La formation de sels doubles ou de sels vrais augmente aussi la solubilité aqueuse des méthylxanthines. Après dissolution dans l'eau ou les liquides biologiques, ces sels et ces complexes se dissocient pour donner les méthylxanthines mères et ne doivent pas être confondus avec les dérivés modifiés par covalence tels que la dyphylline (1,3- diméthyl-7- (2,3-dihydroxypropyl)-xanthine).

Exemple : Sels doubles : caféine et benzoate de sodium, Sels vrais : théophyllinate de choline (oxtriphylline).

- Les méthylxanthines possèdent des propriétés d'acides faibles et de bases faibles (SCHEINDLIN, 2006). La théobromine notamment peut se dissoudre facilement dans les solutions d'hydroxydes alcalins et dans les acides minéraux dilués (WINUM, 1997) alors qu'elle présente une solubilité faible dans les liquides biologiques et les solvants de pH neutres.

II.4. Relation structure-activité

Il a été démontré que les effets biologiques des méthylxanthines sont dépendants de la structure de ces molécules et notamment, de la position des substituants autour du cycle purine.

Deux actions cellulaires des méthylxanthines ont été particulièrement étudiées et sont maintenant bien connues : d'une part leur effet inhibiteur sur les phosphodiesterases et d'autre part leur antagonisme vis-à-vis des actions de l'adénosine au moyen d'un récepteur. L'évaluation de ces actions pour un certain nombre de dérivés des méthylxanthines a permis de tirer les conclusions suivantes (SERAFIN, 1996):

- Ces deux actions sont réduites pour les dérivés non substitués en position 1 ou avec des substituants en position 7 ou 9. On établit donc l'ordre de puissance des méthylxanthines naturelles quant aux deux actions sus-citées : théophylline puis caféine puis théobromine.

- Ces effets sont majorés pour les dérivés de la théophylline avec des substituants non polaires volumineux en position 1 et 3.

- L'addition de groupes aromatiques cyclohexyl ou cyclopentyl en position 8 majore l'affinité pour les récepteurs à l'adénosine, mais réduit l'inhibition des phosphodiesterases.

- Certains dérivés de la 1,3- dipropylxanthine substitués en 8 montrent une sélectivité pour un sous-type de récepteur à l'adénosine (A1), alors que des analogues de la caféine montrent une sélectivité marquée pour les récepteurs A2.

- Certains composés tricycliques non xanthiques sont de puissants antagonistes des récepteurs de l'adénosine (MOLAS, 2009).

III. Métabolisme et pharmacocinétique

A travers l'étude du métabolisme et de la pharmacocinétique des méthylxanthines, chez l'Homme, nous comprenons les différences de toxicité entre la caféine, de la théophylline et de la théobromine.

III.1. Résorption, transport et distribution

La résorption des méthylxanthines par l'organisme commence directement après leur administration orale, rectale ou parentérale. Leur résorption est quasi-complète et la biodisponibilité des méthylxanthines est très proche de 100% quelle que soit l'espèce considérée.

Néanmoins, ces données ne permettent pas de prévoir le moment d'apparition des signes cliniques lors d'intoxication aux méthylxanthines en fonction du moment d'ingestion de la denrée alimentaire en cause, en raison du grand nombre de facteurs qui modifient la vitesse de résorption des méthylxanthines (MOLAS, 2009).

Suite à leur absorption digestive, les méthylxanthines diffusent dans le plasma. Certaines de ces méthylxanthines absorbées se lient aux protéines plasmatiques, dans des proportions variables. La fraction libre de la caféine varie par exemple de 70 à 90% ; ce chiffre est assez stable d'une espèce à l'autre mais pas d'une méthylxanthine à l'autre. En effet, le taux de liaison aux protéines des méthylxanthines dépend de leur liposolubilité et de leur capacité de diffusion vers les tissus (RALL, 1992).

Les méthylxanthines sont distribuées vers tous les compartiments de l'organisme, sans tropisme pour un organe particulier mais elles diffusent particulièrement bien vers les tissus riches en lipides et très vascularisés. L'équilibre sang-tissu est rapidement atteint suite à l'administration de méthylxanthines. Elles traversent la barrière hémato-céphalique, le placenta et passent dans le lait (SERAFIN, 1996).

On trouve également des méthylxanthines dans la salive. Pour la théobromine, le rapport suivant a pu être établi : salive/sérum=0,92 +/- 0,17 (WINUM, 1997).

III.2. Métabolisme et élimination

Les méthylxanthines sont principalement dégradés dans le foie. La majeure partie des métabolites formés est retrouvée dans les urines. Moins de 15% et 5%, respectivement, de la théophylline et de la caféine administrée sont retrouvées dans les urines sous forme inchangée (RALL, 1992).

Notons aussi que des traces de méthylxanthines et de leurs métabolites sont retrouvées dans les selles. Des études menées sur la théobromine ont permis de conclure que ces métabolites doivent provenir des sécrétions intestinales et biliaires.

Comme nous l'avons vu précédemment, les différentes méthylxanthines présentent entre elles une grande ressemblance structurale, ce qui explique que leurs voies métaboliques soient étroitement liées et que des réactions très simples permettent de passer de l'une à l'autre.

La métabolisation des méthylxanthines repose sur deux types de réactions quelque soit l'espèce : la deméthylation et l'oxydation. Il s'en suit que les dérivés d'acide urique sont les principaux métabolites urinaires issus de la dégradation des méthylxanthines. Ces métabolites sont très proches d'une espèce à l'autre, mais les voies de la dégradation n'ont pas été explorées dans toutes les espèces ; notamment la littérature nous renseigne peu sur la métabolisation exacte des méthylxanthines. La figure 1 expose la métabolisation des méthylxanthines chez l'Homme.

La caféine est métabolisée par deméthylation et par oxydation en position 8 sous l'action d'enzymes microsomiales. Dans l'espèce humaine, la voie majeure passe par la formation de paraxanthine et mène aux principaux métabolites urinaires. Des voies mineures régissent la formation et le métabolisme de la théophylline et de la théobromine (SERAFIN, 1996).

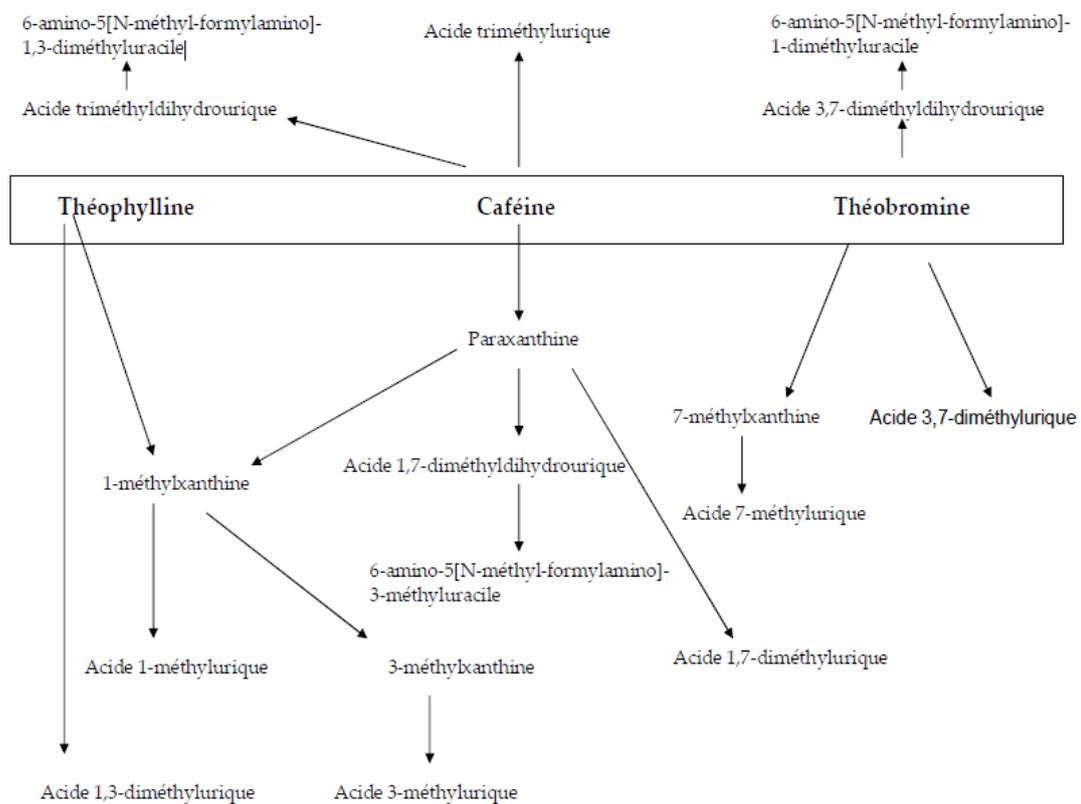


Figure 1 : Les voies de la métabolisation des méthylxanthines chez l'Homme.(D'après WINUM, 1997).

III.3. Facteurs influençant la pharmacocinétique

-Dose : Lorsque la dose ingérée devient très importante, les concentrations plasmatiques obtenues deviennent très supérieures à celles prévues par le modèle classique de métabolisation des méthylxanthines. En effet, au-delà de certaines doses, les paramètres pharmacocinétiques des méthylxanthines ne varient plus linéairement. Ceci témoigne de l'incapacité de l'organisme à métaboliser les méthylxanthines au-delà d'une certaine dose (RALL, 1992).

-Facteurs génétiques et environnementaux : Leurs effets sont surtout connus pour la théophylline ; néanmoins, les variations observées avec la théophylline sont aussi certainement obtenues avec la caféine et la théobromine. Le clinicien doit connaître l'existence de ces facteurs, dans le cas où il serait par exemple confronté à l'intoxication de deux individus dans les mêmes circonstances, vivant ensemble, mais d'âges différents. Ces facteurs sont à l'origine d'une grande variation individuelle de la vitesse d'élimination. Des différences de l'ordre de quatre fois peuvent alors être observées. La demi-vie moyenne de la théophylline est de 3,5 heures chez l'enfant, celle de l'adulte est de 8 à 9 heures (SERAFIN, 1996). En effet, jusqu'à la cinquième à huitième semaine de vie, la maturation des enzymes hépatiques n'est pas achevée (KAWALEK et SAID, 1990).

-Pathologies : Les insuffisances hépatiques et notamment la cirrhose hépatique, les défaillances cardiaques congestives, les infections virales aiguës ou des congestions pulmonaires aiguës sont responsables de l'augmentation de la demi-vie des méthylxanthines (MOLAS, 2009).

-Interactions médicamenteuses : Les barbituriques augmentent la clairance de la théophylline en stimulant l'activité enzymatique dans le foie; les macrolides, la cimétidine, le furosémide la réduisent (SHANNON, 1998).

Le rôle des corticoïdes n'a pas été démontré mais certains auteurs préfèrent éviter leur utilisation en cas d'intoxication car ils pourraient réduire l'élimination des méthylxanthines (MOLAS, 2009).

-Gestation : La gestation augmente le temps de demi-vie de la caféine chez la femme.

- L'heure d'administration.

-Fumée de cigarette.

-Régime alimentaire.

III.4. Bases cellulaires de l'action pharmacologique des méthylxanthines

A travers la littérature, quatre mécanismes sont proposés pour expliquer les effets pharmacologiques des méthylxanthines :

- 1) l'inhibition des phosphodiesterases, donc une augmentation de l'AMPc intracellulaire,
- 2) l'antagonisme sur les récepteurs de l'adénosine,
- 3) la stimulation du système orthosympathique,
- 4) des effets sur la concentration intracellulaire en calcium :
 - _ Des effets directs,
 - _ Des effets indirects par l'intermédiaire de l'hyperpolarisation membranaire,
 - _ Le découplage de l'augmentation du calcium intracellulaire avec les éléments musculaires contractiles (MOLAS, 2009).

Différentes études ont permis de conclure que l'antagonisme sur les récepteurs à l'adénosine des méthylxanthines serait le facteur déterminant de l'activité des méthylxanthines.

III.5. Propriétés pharmacologiques

Leur étude, système par système, est primordiale.

III.5.1. Action sur le système nerveux central

La théophylline et la caféine sont des stimulants puissants du système nerveux central (SNC) ; la théobromine possède cette action à haute dose, comme lors d'intoxication au chocolat. Traditionnellement, on considère que la caféine est la plus active des méthylxanthines.

Les effets sur les différentes structures cérébrales sont résumés ici :

-Cortex : Accroissement de l'activité motrice, stimulation de la perception sensorielle allant jusqu'à l'hyperesthésie, stimulation des fonctions nerveuses supérieures et abaissement de la fatigue.

-**Bulbe** : Stimulation des centres respiratoires d'où accroissement de la ventilation, stimulation des centres vasomoteurs, stimulation des centres cardioaccélérateurs, stimulation des centres vagues.

-**Moelle** : A forte dose seulement, accroissement des réflexes médullaires et convulsions.

En conséquence de cela, les personnes ingérant de la caféine ressentent moins d'assoupissement ou de fatigue, leurs associations d'idées sont plus rapides et plus claires, ils peuvent fournir des efforts intellectuels plus intenses. Lorsque les doses de caféine sont augmentées, des signes plus évidents de stimulation du SNC apparaissent : nervosité, anxiété, agitation, insomnie, tremblements. Dans une étude, des patients recevant des doses de caféine aboutissant à des concentrations d'environ 8 µg/mL ont ressenti des symptômes caractéristiques des attaques de panique (CHARNEY *et al.*, 1985).

En revanche, des efforts demandant une coordination musculaire précise, un temps d'exécution précis peuvent être perturbés par l'absorption de caféine.

Concernant l'action des méthylxanthines sur les centres respiratoires bulbaire, elles agissent en augmentant la sensibilité des centres bulbaire au CO₂. Le volume respiratoire minute est alors augmenté, pour n'importe quelle valeur de PCO₂ alvéolaire. Cette action a un effet particulièrement remarquable dans la respiration de Cheyne-Stokes, lors d'apnée du prématuré ou lors de dépression respiratoire provoquée par l'utilisation d'opioïdes.

Enfin, notons que toutes les méthylxanthines peuvent entraîner des nausées ou des vomissements ; une activité sur le SNC non élucidée est ici suspectée.

III.5.2. Action sur le système cardiovasculaire

Les actions cardiovasculaires des méthylxanthines sont complexes et parfois antagonistes. La caféine, puis la théophylline, sont les méthylxanthines qui provoquent les effets les plus importants sur le système cardiovasculaire. Ses effets sont très dépendants des conditions d'administration, de la dose employée et de l'historique de l'exposition aux méthylxanthines. Les actions cardiovasculaires des méthylxanthines passent par deux mécanismes principaux :

- 1) Effets sur les centres vagues et vasomoteur du tronc cérébral.

2) Effets plus ou moins directs sur les tissus vasculaires et cardiaques, combinés à des effets indirects périphériques au moyen de catécholamines et peut-être du système rénine-angiotensine.

Le cœur :

Les injections de théophylline aboutissant à des concentrations plasmatiques de 10 à 20 µg/mL provoquent une faible augmentation de la fréquence cardiaque et des modifications des paramètres cardiaques compatibles avec une augmentation de la force contractile et un abaissement de la précharge : contraction ventriculaire gauche précoce et contraction isovolumique plus courte.

A des concentrations plus faibles, les méthylxanthines peuvent entraîner une diminution faible de la fréquence cardiaque qui est certainement la conséquence de la stimulation du noyau du nerf vague.

A des concentrations faibles, on observe aussi une modeste augmentation de la pression systolique et de l'activité de la rénine plasmatique. Seule la caféine provoque aussi une faible augmentation de la pression diastolique.

Aux concentrations supérieures, caféine et théophylline entraînent une tachycardie importante. Cette tachycardie est souvent associée à d'autres arythmies telles que des extrasystoles ventriculaires, chez des sujets sensibles.

Enfin, de nombreuses études soulignent l'importance des catécholamines dans l'expression des effets des méthylxanthines sur le cœur.

Les vaisseaux sanguins :

Des doses thérapeutiques de méthylxanthines entraînent une diminution de la résistance vasculaire périphérique, indifféremment de toute modification de la pression artérielle sanguine. Des études oncométriques chez les animaux ont démontré qu'il y avait une augmentation définie du volume des organes suite à l'administration de méthylxanthines. La vasodilatation couplée à une hausse du débit cardiaque provoque une augmentation du flux sanguin.

Expérimentalement, on démontre que les méthylxanthines entraînent une vasodilatation coronaire et une augmentation du flux sanguin dans ces vaisseaux. Il existe cependant une controverse autour de l'utilisation des méthylxanthines dans le traitement des pathologies de l'artère coronaire que ces résultats expérimentaux pourraient favoriser. En effet, il est abondamment prouvé que les méthylxanthines augmentent le travail du cœur (effets

chronotrope et inotrope positifs). Le point de controverse est de savoir si l'approvisionnement en sang du myocarde augmente de façon plus importante que la demande en oxygène provoquée par l'augmentation du travail du cœur.

Bien que d'une part les méthylxanthines provoquent une vasodilatation des vaisseaux périphériques, elles sont responsables d'autre part d'une augmentation de la résistance des vaisseaux de l'encéphale, accompagnée d'une diminution du flux sanguin et de la tension en oxygène dans le cerveau.

Les muscles lisses des vaisseaux sanguins :

In vitro, il a été montré que les méthylxanthines provoquent un relâchement des muscles lisses vasculaires en présence de stimulateurs variés de la contraction (K^+ , norépinephrine, angiotensine). La relaxation observée provient certainement d'une réduction de la concentration du calcium intracellulaire. Néanmoins, il n'a pas été déterminé dans quelle mesure les méthylxanthines altèrent directement les mécanismes de liaison et de transport du calcium ou bien les altèrent indirectement au travers de modifications du métabolisme des nucléotides cycliques.

Ainsi, à des concentrations proches des concentrations thérapeutiques, les effets des méthylxanthines sont-ils variables en fonction de la localisation du lit vasculaire considéré et des conditions expérimentales employées (MOLAS, 2009).

III.5.3. Action sur les muscles lisses

Les méthylxanthines relâchent certains muscles lisses, autres que ceux de la musculature des vaisseaux sanguins. L'action la plus importante est leur capacité à décontracter les fibres lisses bronchiques, après une contraction expérimentale ou clinique lors de l'asthme. La théophylline est la plus performante des méthylxanthines dans ce domaine, ce qui justifie son emploi dans les traitements contre l'asthme.

Les mécanismes intervenant *in vitro* et *in vivo* semblent être différents et ne sont pas élucidés. En effet, les concentrations de méthylxanthines entraînant une bronchodilatation *in vivo* sont en général très inférieures à celles nécessaires pour relâcher des muscles bronchiques *in vitro*. Par exemple, des concentrations de théophylline supérieures à celles obtenues avec la dose supérieure de la gamme thérapeutique sont nécessaires *in vitro* pour relâcher des segments musculaires humains contractés par le carbachol (MOLAS, 2009).

Ainsi, aucun des effets pharmacologiques que nous avons décrits n'explique-t-il à lui seul la bronchodilatation *in vivo* (RALL, 1992). Il n'a pas été établi dans quelle mesure la réponse thérapeutique à la théophylline fait intervenir une interaction synergique de la théophylline avec des agonistes β -adrénergiques ou entraîne une libération de ceux-ci. L'implication du blocage des récepteurs à l'adénosine n'est pas non plus clairement définie dans la bronchodilatation induite par la théophylline

III.5.4. Action sur les muscles squelettiques

On connaît depuis longtemps la capacité de la caféine d'accroître le travail musculaire des êtres humains et leur endurance (GRAHAM *et al.*, 1998).

Par exemple, l'ingestion de caféine (6 mg/kg) améliore les performances en course des skieurs de fond, particulièrement en haute altitude.

Des effets significatifs sont observés sur certains sujets pour des doses de 3,4 mg/kg. C'est à cette dose que l'on observe aussi une augmentation de la tension musculaire dans des quadriceps du chat.

L'administration de caféine à des sujets humains augmente la tension développée au niveau du muscle adducteur de l'épaule suite à une stimulation du nerf ulnaire. Des concentrations comparables de théophylline n'ont pas d'effets significatifs.

Aux concentrations thérapeutiques, la caféine et la théophylline augmentent la contractilité diaphragmatique et réduisent la fatigue diaphragmatique.

On ne connaît pas exactement quels sont les mécanismes mis en jeu et les interactions entre la caféine, entre autres méthylxanthines, et la fibre musculaire squelettique. Selon les cas, plusieurs hypothèses sont évoquées. L'amélioration de la transmission neuromusculaire et l'augmentation de la contractilité musculaire (avec des effets sur le calcium intracellulaire) sont les deux mécanismes principaux envisagés.

Enfin, lors d'intoxications aux méthylxanthines, et particulièrement à la caféine, on observe une rhabdomyolyse qui peut certainement être assimilée à la rhabdomyolyse du sportif (MOLAS, 2009).

III.5.5. Actions diurétiques

Les méthylxanthines ont toutes un effet diurétique. Le type d'excrétion de l'eau et des électrolytes est très proche de celui des diurétiques thiazidiques. Les mécanismes sous-jacents

sont un sujet de controverse notamment en ce qui concerne la contribution relative des actions hémodynamiques et intrarénales.

III.5.6. Actions sur les sécrétions

Les méthylxanthines augmentent les sécrétions exocrines et endocrines de nombreux tissus. Il existe une exception : les méthylxanthines inhibent la libération de médiateurs de l'inflammation par les mastocytes.

L'influence des méthylxanthines sur les processus sécrétoires est responsable de bon nombre d'effets thérapeutiques et toxiques.

Sécrétion gastrique :

L'effet des méthylxanthines sur la sécrétion gastrique est très dépendant de l'espèce et des conditions d'utilisation. Chez l'Homme, une espèce particulièrement sensible, des doses moyennes de caféine ou de théophylline administrées par voie orale ou parentérale entraînent la sécrétion de pepsine et d'acide.

Autres sécrétions :

Comme nous l'avons vu précédemment, les méthylxanthines entraînent l'augmentation de la concentration en catécholamines circulantes, même à faible dose.

On observe également une augmentation de rénine, de gastrine, d'hormone parathyroïdienne, d'insuline et de CCK-PZ lors d'administration de méthylxanthines à un sujet, *in vivo* et *in vitro*. Concernant la sécrétion de rénine, on sait que celle-ci reste inchangée si on apporte des antagonistes des récepteurs β -adrénergiques en plus des méthylxanthines. On peut donc conclure que l'augmentation de la sécrétion de rénine due aux méthylxanthines n'est pas causée au moyen des catécholamines. En revanche, pour les autres sécrétions, leurs augmentations est certainement plus le fait de l'augmentation de la concentration en catécholamines, notamment de l'épinéphrine, que celui d'un effet direct des méthylxanthines.

III.5.7. Actions sur le métabolisme

L'action des méthylxanthines sur le métabolisme est peu documentée. Néanmoins, ASTRUP *et al.* (1990) ont montré que la caféine augmente la thermogénèse chez l'Homme via trois effets (supposés) : la synthèse de lactate et de triglycérides et l'augmentation du tonus des

fibres musculaires lisses des vaisseaux. Les méthylxanthines augmentent la lipolyse, la glycogénolyse et la néoglucogenèse. On observe en parallèle une augmentation de la consommation en oxygène (HORNFELODT, 1987).

III.6. Usages thérapeutiques

III.6.1. Théobromine

Historiquement, la théobromine a été exploitée pour cinq effets en particulier :

- 1) diurétique,
- 2) vasodilatateur des vaisseaux coronaires et périphériques,
- 3) cardiostimulant,
- 4) relaxant des muscles lisses,
- 5) bronchodilatateur.

Afin d'améliorer la solubilité de la théobromine et de réduire l'irritation gastrique associée à son ingestion, les sels doubles sont utilisés dans les présentations pharmaceutiques. La théobromine est associée à l'acétate de sodium, le salicylate de sodium, ou le salicylate de calcium dans des proportions équimolaires afin de préparer ces sels.

De nos jours, la théobromine a été remplacée par d'autres molécules plus efficaces.

Notamment, l'avènement des diurétiques thiazidiques a eu un rôle majeur dans l'arrêt de l'utilisation thérapeutique de la théobromine. On préférera aussi utiliser une autre méthylxanthine, la théophylline, ayant des effets bronchodilatateurs bien plus puissants.

A l'heure actuelle, il n'existe plus de préparation pharmaceutique renfermant de la théobromine, ni dans le dictionnaire Vidal des médicaments ni dans le Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires.

Bien qu'étant moins recherchée pour ses effets thérapeutiques connus la théobromine est encore très étudiée. Une étude a notamment démontré qu'elle possède une action antitussive qu'il serait intéressant d'exploiter en thérapeutique (USMANI *et al.*, 2004).

III.6.2. Caféine

Les intérêts de la caféine en thérapeutique sont proches de ceux de la théobromine. Notons que la caféine a une action stimulante sur le système nerveux plus importante que la théobromine et des effets cardiostimulants et diurétiques plus faibles. C'est souvent pour ses propriétés psychostimulantes qu'elle est incorporée à un grand nombre de spécialités.

En médecine humaine, la caféine a longtemps été utilisée en tant qu'adjuvant de molécules antalgiques. En effet, elle permettait d'en améliorer l'absorption gastrique et d'en potentialiser l'effet. Elle était associée à raison de 32 mg à l'aspirine (227 mg) et la phénacétine (162 mg), dans une préparation pharmaceutique appelée communément APC. Néanmoins au cours des années 1960, l'utilisation de ce médicament sur une longue période a été tenue responsable de l'apparition de pathologies rénales graves chez certains patients. Plus particulièrement, la phénocitine a été mise en cause. Elle a donc été remplacée par l'acétominophène, et l'APC est devenu AAC. Cette association de trois molécules est le principe actif de l'EXCEDRIN Migraine N.D., un médicament sans ordonnance très réputé aux Etats- Unis dans le traitement contre les migraines.

Dans le dictionnaire Vidal des médicaments, on trouve plus de quarante préparations contenant de la caféine :

- Elle est associée à des antalgiques, notamment dans des spécialités utilisées pour le traitement des migraines, et/ou à des antipyrétiques (ACTRON N.D., ASPRO ACCEL N.D., DIERGOSPRAY N.D., EXIDOL N.D....), à des antiépileptiques (ALEPSAL N.D.), à des antiémétiques (MERCALM N.D.).
- Elle entre aussi dans la composition de spécialités à visée anti-asthénique (GURONZAN N.D.).
- Dans le VASOBRAL N.D. elle est utilisée afin d'améliorer l'absorption intestinale de la dihydroergocryptine, principe actif anti-ischémique et vasodilatateur.
- Enfin, elle est aussi utilisée seule dans deux types de spécialités :
 - Sous forme de caféine citrate en tant qu'analeptique respiratoire (CITRATE DE CAFEINE COOPER N.D.). Cette spécialité est particulièrement utilisée chez les nouveau-nés prématurés chez qui des épisodes d'apnée prolongée, accompagnée de bradycardie, peuvent être fréquentes. Cette apnée est d'autant plus grave qu'elle fait craindre une hypoxémie répétée et des lésions neurologiques. La théophylline et la caféine ont des effets comparables pour la régulation de la respiration mais la caféine est plus facile à administrer, elle possède un index thérapeutique plus large, et entraîne moins d'effets secondaires. De plus, l'administration de théophylline provoque une accumulation notable et non recherchée de caféine chez ces nouveaux nés et une distribution dans l'organisme moins prédictible que la caféine. Elle est administrée par voie intraveineuse ou per os. La dose de charge recommandée est de 10 mg/kg et la dose d'entretien 2,5 mg/kg par jour.
 - Et dans des gels à visée lipolytique focale utilisés dans le traitement de l'obésité (LIPOFEINE 5% N.D.) (MOLAS, 2009).

III.6.3. Théophylline

Elle est reconnue pour les mêmes propriétés que la théobromine. Son action diurétique est plus marquée que celle des autres méthylxanthines. Elle facilite également la transmission neuromusculaire, accroît l'amplitude des contractions dans le muscle normal ou myasthénique, et semble avoir un effet anti-fatigue chez la souris (WINUM, 1997). Il faut retenir que c'est bien pour son activité bronchodilatatrice que la théophylline a été exploitée en thérapeutique.

La théophylline, relaxant des muscles lisses de l'appareil respiratoire, fit l'objet d'un traitement de première intention de l'asthme. D'autres molécules lui sont maintenant préférées. En effet, la théophylline apporte un modeste bénéfice, présente un indice thérapeutique faible et nécessite que les concentrations sanguines médicamenteuses soient surveillées au cours du traitement. Aujourd'hui, elle est encore utilisée dans des cas précis bien qu'elle puisse aussi être remplacée par d'autres molécules. Par exemple, certains pédiatres préfèrent la théophylline aux corticoïdes inhalés en raison de la possibilité de l'arrêt de croissance lors de l'utilisation des corticoïdes. On peut citer aussi que des patients asthmatiques chroniques tirent profit des préparations de théophylline à libération prolongée, notamment lors de symptômes nocturnes (RALL, 1992).

Enfin, la théophylline inhibe la synthèse et la sécrétion de médiateurs de l'inflammation. L'hypothèse que cette composante anti-inflammatoire serait la clé de voute de l'efficacité de la théophylline lors d'asthme est à l'étude. Si cette hypothèse était confirmée, ceci pourrait relancer l'intérêt des thérapeutes pour la théophylline dans le traitement de l'asthme.

Nous rappelons pour conclure que la théophylline est utilisée dans le traitement des apnées du prématuré mais que la caféine pourrait lui être préférée, nous avons déjà abordé ce point.

Notons que le choc, le collapsus et les intoxications pourraient être des indications d'utilisation des méthylxanthines, surtout s'il est nécessaire en même temps que l'action cardiaque de stimuler la diurèse et d'améliorer les échanges respiratoires (BRUGERE, 2007). Néanmoins, il n'existe pas actuellement de spécialités pharmaceutiques pour cet usage.

IV. L'adénosine

IV.1. Structure et localisation

L'adénosine est un nucléoside formé d'un ribose et d'une base azotée adénine liés par une liaison N-glycosidique (Figure 9).

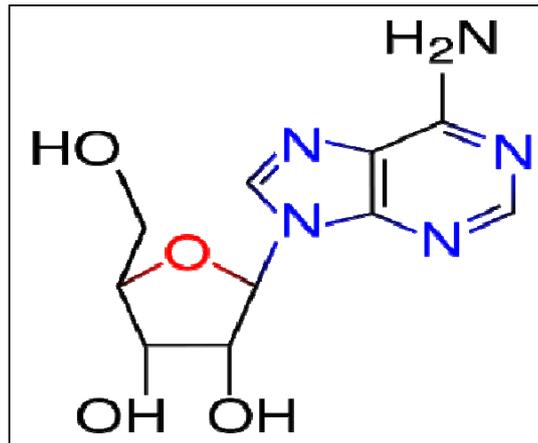


Figure 2 : Formule chimique de l'adénosine

C'est à la fois un précurseur et un métabolite du nucléotide adénine. C'est une molécule ubiquitaire, en effet, toutes les cellules de l'organisme sont consommatrices d'énergie via le catabolisme de l'ATP dont l'adénosine est un produit terminal (Shryock et al, 1997).

Elle est présente dans tous les organes (cœur (Hove-Madsen et al, 2006), foie, reins (Okusa, 2002), systèmes nerveux (Dunwiddie et al, 2001) et respiratoire (Spicuzza et al, 2006), organes reproducteurs (Schuh et al, 2007)).

IV.2. Biosynthèse, concentrations physiologique et pathologique

L'adénosine est formée suite au catabolisme des nucléotides adénine, au niveau intra- et extracellulaire dans le cœur. Il existe 2 voies de synthèse : une première voie par hydrolyse de la S-adenosylhomocysteine en homocysteine et adénosine (Lloyd et al, 1988), majoritaire en conditions physiologiques normales (Antonioli et al, 2008); une seconde voie par déphosphorylation de l'adénosine monophosphate, majoritaire en conditions

ischémiques/inflammatoires par rapport à la première voie (Kroll et al, 1993), (Kumar et al, 2009).

Les 2 voies de biosynthèse de l'adénosine sont présentées figure 3.

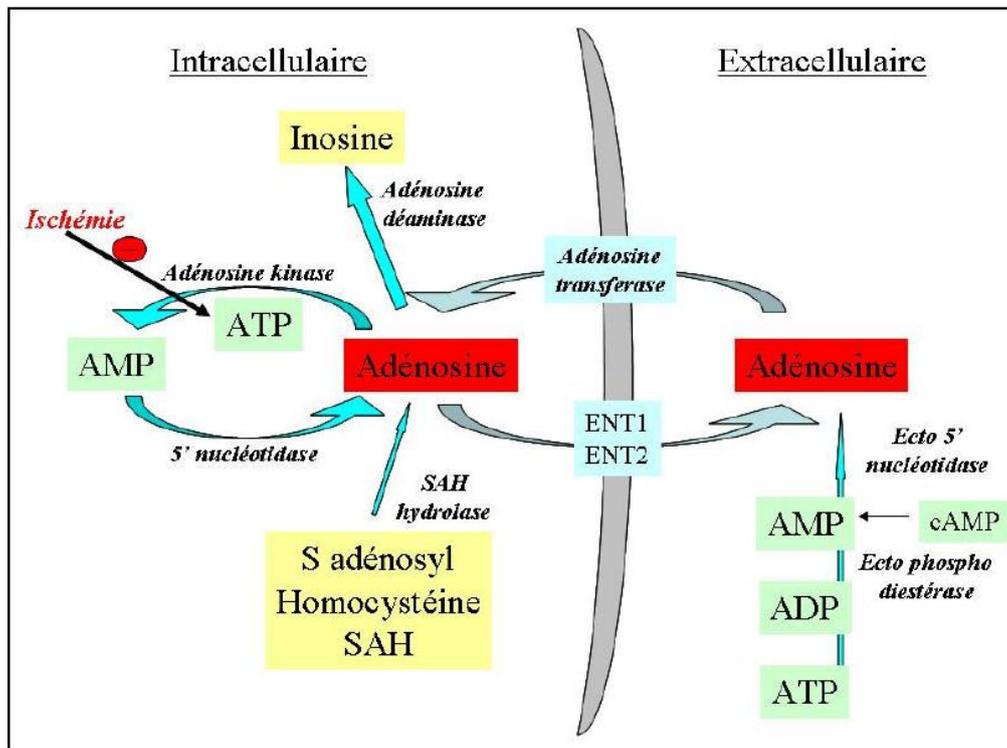


Figure 3 : Voies de biosynthèse et de transport de l'adénosine endogène et exogène et principales enzymes impliquées

L'adénosine est synthétisée à partir de l'hydrolyse de la S-adenosylhomocysteine ou à partir de l'hydrolyse de l'ATP. **AMP** : Adénosine MonoPhosphate. **ADP** : Adénosine Diphosphate. **ATP** : Adénosine TriPhosphate. **cAMP** : Adénosine MonoPhosphate cyclique. **ENT** : Equilibrative Nucléoside Transporter. **SAH** : S-AdenosylHomocysteine.

La concentration extracellulaire d'adénosine est de l'ordre de 30 à 300 nM dans les fluides biologiques en conditions physiologiques (Schulte et al, 2003). En revanche, lors d'un stress tel qu'un événement ischémique, une inflammation, elle peut atteindre une concentration supérieure ou égale à 10 μ M (Fredholm, 2010). Cette augmentation de la concentration

extracellulaire est due à l'augmentation de la consommation d'ATP, à l'inhibition de l'adénosine kinase, à l'hydrolyse des nucléotides adénine par les 5'ectonucleotidases extracellulaires ou au transport exogène massif de l'adénosine endogène par les transporteurs ENT (Equilibrative Nucleoside Transporter) en réponse à des dommages cellulaires (Benjamin, 2011).

IV.3. Récepteurs à l'adénosine

IV.3.1. Structure et voies d'activation

L'adénosine peut se fixer sur quatre types de récepteurs transmembranaires :

A₁, A_{2A}, A_{2B} et A₃. Ces récepteurs sont couplés à des protéines G (G-protein coupled receptors). Ce sont des récepteurs à 7 hélices transmembranaires et chaque récepteur à sa spécificité cellulaire et tissulaire et active des cascades de signalisation différentes (Jacobson et al, 2006) (Figure 04) mais il est admis que les voies finales sont classiques (MAPK, NFκB, CREB) et que les conséquences intracellulaires varient avec les types de cellules, leur degré d'activation et l'environnement.

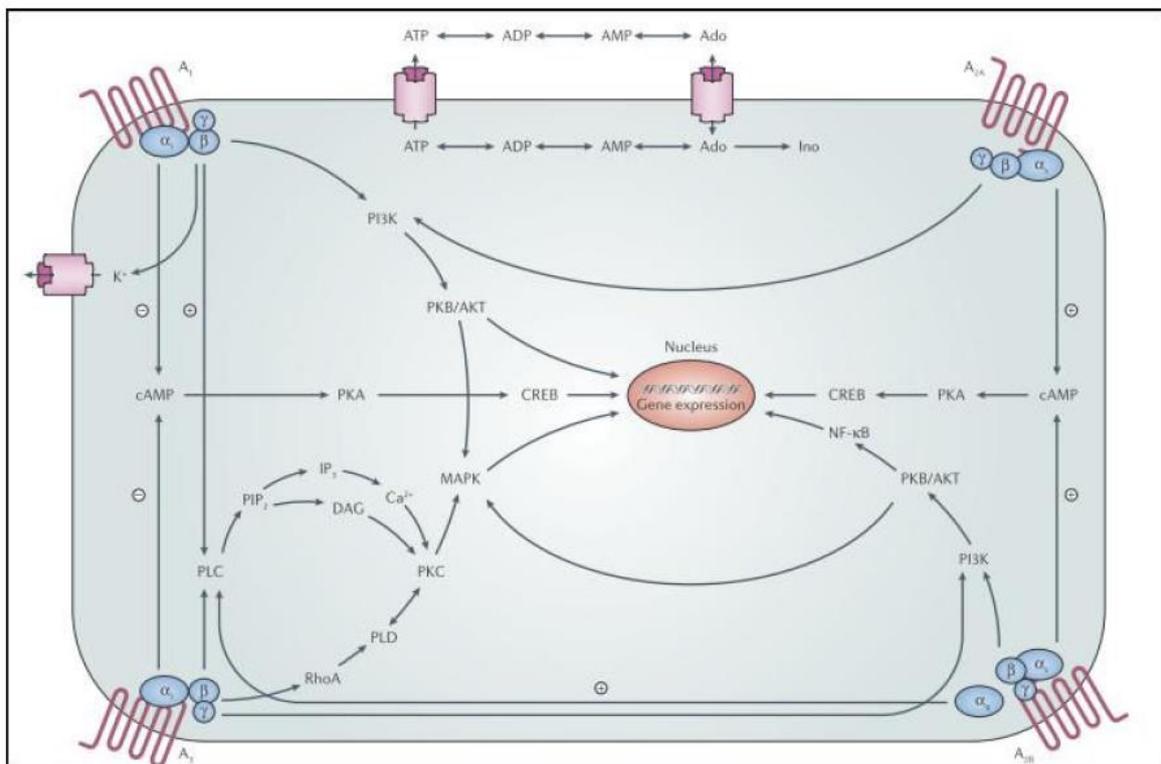


Figure 4 : Voies de signalisation intracellulaires activées par les récepteurs à l'adénosine (d'après Jacobson, 2006)

CREB cAMP : response element binding protein. **DAG** : diacylglycerol IP3 inositol 1,4,5-triphosphate. **PI3K** : phosphatidylinositol 3-kinase PIP2 phosphatidylinositol-4,5-Biphosphate. **PK** : protein kinase. **PLC** : phospholipase C. **PLD** : phospholipase D. **NFκB** : nuclear factor-Kb.

Les types A1 et A3 présentent 49% d'homologie de séquence, les types A2A et A2B présentent 59% d'homologie de séquence (Jacobson et al, 2006). La classification initiale des récepteurs à l'adénosine a été faite selon leur mode d'action sur l'adénylate cyclase (synthèse de cAMP). A1 et A3 sont des inhibiteurs de l'adénylate cyclase (récepteurs à protéine Gi), tandis que A2A et A2B sont des activateurs de l'adénylate cyclase (recepteurs à protéine Gs). La nomenclature actuelle est basée sur leur séquence en acides aminées (Shryock et al, 1997). Les récepteurs à l'adénosine sont aujourd'hui très bien caractérisés tant au niveau structural que pharmacologique (Fredholm et al, 2011). Les récepteurs à l'adénosine sont relativement ubiquitaires, néanmoins leur distribution primaire est présentée dans le tableau 3, ainsi que le mécanisme de transduction employé et quelques exemples de fonction tissulaire.

Tableau 3 : Mécanismes de transduction, distribution tissulaire/cellulaire et fonction tissulaire/cellulaire des récepteurs à l'adénosine.

Récepteur	A1	A2A	A2B	A3
Mécanisme de transduction	↓ adénylate cyclase (↓ cAMP)	↑ adénylate cyclase (↑ cAMP)	↑ adénylate cyclase (↑ cAMP)	↓ adénylate cyclase (↓ cAMP)
Protéine G associée	Gi/o	Gs	Gs	Gi/o
Distribution tissulaire/cellulaire	Cerveau, œil, estomac, cœur, rate, vessie, reins, foie, tissu adipeux	Rate, thymus, leucocytes, thrombocytes, neurones, bulbe olfactif, cœur	Ubiquitaire	Mastocytes, testicules, cœur, poumons
Fonction tissulaire/cellulaire	Sédation, inhibition de la lipolyse, hypothermie, cardioprotection, neuroprotection, analgésie, sommeil	Tachycardie, vasodilatation, antiagrégation plaquettaire, protection contre l'ischémie	Relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires et intestinales, production de cytokines, inhibition de la prolifération cellulaire	Dégranulation mastocytaire, vasodilatation coronaire, protection contre la reperfusion

IV.3.2. Ligands

Tous les récepteurs sont évidemment capables de lier l'adénosine, cependant leurs affinités sont très différentes. Il est admis que les récepteurs de type A1 et A2A sont de haute affinité, tandis que les types A2B et A3 sont de moindre affinité pour l'adénosine. D'autres ligands sont capables de se lier à ces récepteurs et nous disposons à l'heure actuelle d'un vaste choix d'agonistes et d'antagonistes de ces récepteurs (Jacobson et al, 2006), (Fredholm et al, 2011). Cependant, les constantes d'affinité respectives des récepteurs pour des ligands réduisent les possibilités de caractérisation des effets des récepteurs de moindre affinité A2B et A3 (Kumar et al, 2009).

Nous pouvons également mentionner l'antagoniste non spécifique des récepteurs à l'adénosine le plus connu car il représente la drogue la plus consommée mondialement de nos jours : **la caféine**, appartenant à la famille des xanthines. (Benjamin, 2011)

V. Conclusion

En raison de la grande consommation de la théophylline, la théobromine et la caféine des recherches ont mis l'accent sur les effets physiologiques de ces molécules, en particulier sur le système nerveux par l'antagonisme de ces molécules aux récepteurs à l'adénosine.

Les effets éveillant et stimulant des méthylxanthines sont très recherchés donc une étude de ces molécules et de leurs effets semble être intéressante.

Chapitre II :
Matériels et
méthodes

I.1. Introduction

“Nous avons trois moyens principaux: l’observation de la nature, la réflexion et l’expérience. L’observation recueille les faits, la réflexion les combine, l’expérience vérifie le résultat de la combinaison. Il faut que l’observation de la nature soit assidue, que la réflexion soit profonde, et que l’expérience soit exacte.” C’est en ces termes que Diderot, il y a 260 ans, décrivait l’interprétation de la nature (Denis Diderot, 1753). Celui-ci ne pouvait cependant pas prévoir qu’un nouveau moyen allait contribuer à une évolution (voire une révolution) des démarches scientifiques : **le calcul numérique**. La réflexion propose des théories et des modèles qui permettent de reproduire efficacement la réalité microscopique, les modèles qui sont ensuite mis en équations. Le calcul numérique permet ensuite de résoudre celles-ci.

Dans un contexte de réductions constantes des budgets et d’une sensibilisation grandissante et omniprésente à l’écologie, pouvoir s’affranchir des expériences en disposant d’une théorie prédictive efficace devient un enjeu majeur. Et “si le modèle a été proprement validé selon certains critères, il peut être appliqué à des problèmes pour lesquels la réponse n’est pas connue ou est encore débattue. Si les données expérimentales sont suffisamment complètes, il y a une forte chance que les résultats soient suffisamment précis pour être proches de la cible recherchée. Cette étape, bien sur, est celle qui a le plus d’intérêt pour la communauté chimique” (John Pople, discours Nobel, 1998). Les prédictions se doivent cependant d’être vérifiées *in fine* par les expérimentateurs. Or le formalisme de la chimie théorique et numérique peut parfois repousser et effrayer ceux-ci ; une théorie prédictive, en plus d’être efficace, se doit donc d’être utilisable “clés en main” avec des grandeurs simples et connues (le pK_a par exemple).

Dans ce chapitre, il a été choisi de décrire dans le détail la théorie dite de densité fonctionnelle parce qu’elle est à la base des méthodes qui ont été utilisées dans les études qui vont être présentées ici.

I.2. La modélisation moléculaire

Grace au développement informatique de ces dernières années et à l’essor du calcul parallèle intensif en particulier, la modélisation moléculaire est devenue un véritable enjeu.

En effet les systèmes moléculaires qui sont amenés à être étudiés tendent à devenir de plus en plus complexes.

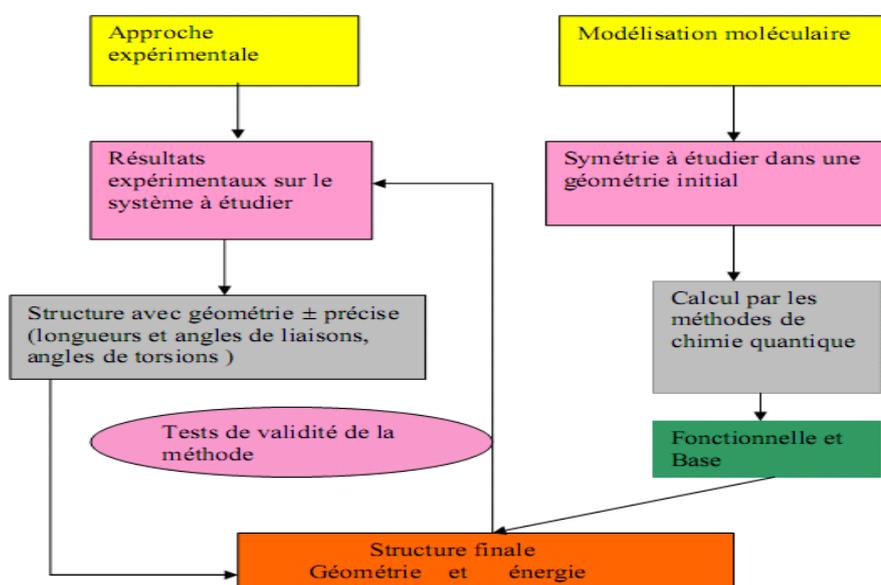
Cette complexité est bien sur liée à la taille des molécules envisagées (plusieurs centaines de milliers d'atomes pour les molécules biologiques par exemple) ainsi qu'à la structure intrinsèque des atomes eux-mêmes, mais aussi au degré de précision exigé pour le calcul de certaines grandeurs physiques (Audouze, 2003).

La modélisation moléculaire consiste en la construction de modèles tridimensionnels à partir des données. Elle trouve sa raison d'être d'une part dans les limitations expérimentales des méthodes de détermination de structure de protéines et d'autre part dans l'incapacité actuelle de prédire la structure 3D à partir de la seule information de séquence. En outre, elle permet d'investiguer les changements de conformations liées à des mutations à partir de structures 3D expérimentales.

La modélisation moléculaire est une application des méthodes théoriques et des méthodes de calcul pour résoudre des problèmes impliquant la structure moléculaire et la réactivité chimique (D. Liotta, 1988).

Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement ou au contraire elles peuvent être extrêmement complexes et demander des centaines d'heures de temps d'ordinateur, même sur un super-ordinateur. En plus, ces méthodes utilisent souvent des moyens infographiques très sophistiqués qui facilitent grandement la transformation de quantités impressionnantes de nombres en quelques représentations graphiques facilement interprétables (Debord, 2004).

Tableaux 4 : Organigramme de la structure moléculaire.



I. 3. Méthodes de la modélisation moléculaire

Les trois méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être rangées en trois catégories (Liotta, 1988):

- Les méthodes quantiques.
- La mécanique moléculaire.
- La dynamique moléculaire.

I. 4. Méthodes de la mécanique quantiques

Les travaux effectués au début du vingtième siècle par Planck, Einstein, Bohr, De Broglie, Schrödinger et Heisenberg ont abouti à l'élaboration de la mécanique des microsystemes.

En 1925, grâce aux efforts de W. Heisenberg et E. Schrödinger et de P. Dirac, J. Von Neumann, N. Bohr, M. Born et d'autres, une nouvelle Mécanique a été créé : **la mécanique quantique** ((Dirac, 1964), (Heisenberg, 1949)), qui a permis d'expliquer de nombreuses propriétés physiques, telles que les propriétés chimiques des éléments et la formation des liaisons chimiques (Marle, 2003).

I. 4.1. Principaux avantages de la mécanique quantique

Par rapport aux autres techniques de modélisation moléculaire, la mécanique quantique ne fait appel qu'à un nombre minimal d'approximations et considère de manière explicite les électrons de la molécule étudiée. Ceci permet le calcul de propriétés importantes telles que les charges atomiques, le potentiel électrostatique moléculaire ou la topologie et l'énergie des orbitales frontières (HOMO, LUMO...). Son principal inconvénient est d'être particulièrement coûteuse du point de vue du temps de calcul. Malgré ce problème, le traitement d'un système par mécanique quantique reste la méthode de référence pour le calcul des propriétés moléculaires, comme le rappelle cette citation de Burkert et Allinger: "For calculating molecular properties, quantum chemistry seems to be the obvious tool to use. Calculations that do not use the Schrödinger equation are acceptable only to the extent that they reproduce the results of high level quantum mechanical calculations." (Burkert et al. 1982).

La chimie quantique tient compte de la structure électronique d'un système et repose sur l'équation de Schrödinger.

Les méthodes de modélisation basées sur la mécanique quantique (Leach, 1996) visent à décrire le système étudié par une fonction d'onde qui peut théoriquement être déterminée par résolution de l'équation de Schrödinger (Schrodinger, 1926).

I.5. L'équation de Schrödinger

I.5.1. Formulation générale

Toute l'information que l'on peut obtenir sur un système constitué d'un ensemble de particules est contenue dans la fonction d'onde Ψ du système. La fonction d'onde d'un système composé de N atomes et 2n électrons est obtenue en résolvant l'équation suivante de Schrödinger qui est indépendante du temps (Schrödinger, 1926):

$$\mathbf{H}\Psi = \mathbf{E}\Psi \quad \dots\dots\dots(1)$$

Où \mathbf{E} est l'énergie du système et \mathbf{H} est l'opérateur correspondant : l'hamiltonien du système. Ψ est la fonction d'onde du système, fonction des coordonnées des noyaux, des électrons et contient toute l'information du système, \mathbf{E} est l'énergie totale. Les valeurs propres de \mathbf{H} sont les valeurs observables de cette énergie et les fonctions d'onde correspondantes sont les fonctions propres associées.

Les propriétés moléculaires qui peuvent être calculées par la résolution de l'équation de Schrödinger sont la géométrie moléculaire, et donc les stabilités relatives, les spectres de vibrations, les moments dipolaires et quadripolaires, les spectres électroniques et aussi des fonctions descriptives de la réactivité, telles que les charges atomiques et les fonctions de Fukui. Toutefois, la précision avec laquelle on peut espérer calculer ces quantités est très variable en fonction de la nature de ces propriétés. Cette équation ne peut en effet pas être résolue de manière exacte pour les systèmes moléculaires, et l'on doit donc effectuer un certain nombre d'approximations.

Trois approximations sont couramment employées : l'approximation de Born-Oppenheimer, l'approximation d'orbitales moléculaires et l'approximation C.L.A.O. (Combinaison Linéaire d'Orbitales Atomiques, LCAO en anglais).

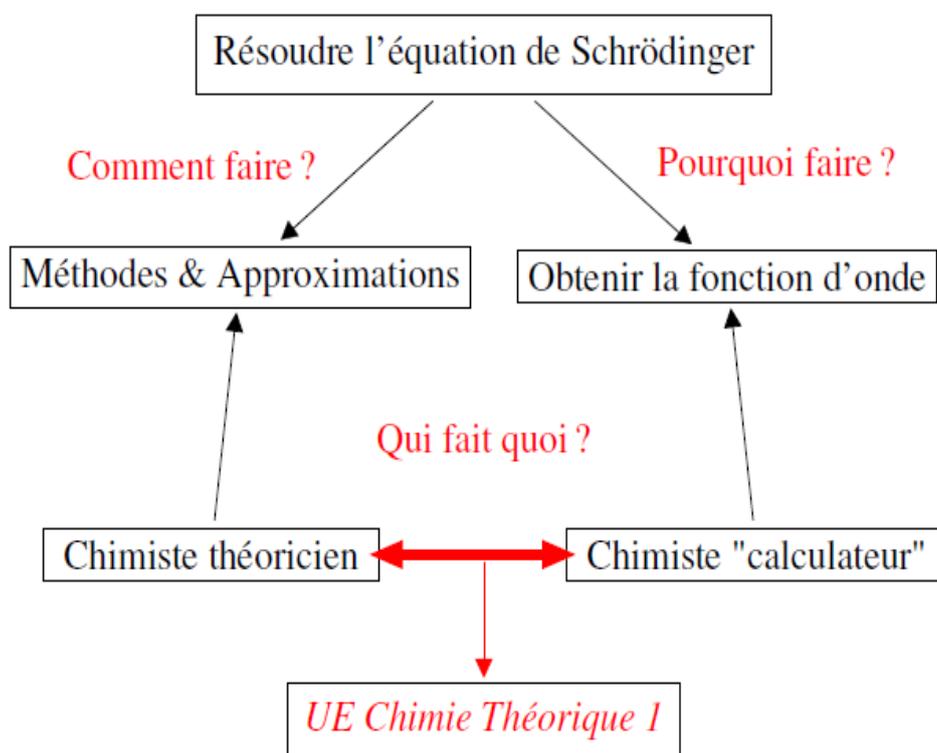


Figure 5 : Voies de la résolution de l'équation de Schrödinger

I.6. L'approximation de Born-Oppenheimer

En 1927, Born et Oppenheimer ont proposé de simplifier la résolution de l'équation (1) en séparant la partie électronique de la partie nucléaire dans la fonction d'onde Ψ . Cette approximation est basée sur le fait que les électrons se déplacent beaucoup plus rapidement que les noyaux, ceci étant dû à la masse beaucoup plus faible des électrons (environ 1836 fois moindre de celle du proton). Par conséquent, les électrons réagissent quasi instantanément à une modification de la position des noyaux (Hartree, 1928).

I.7. L'approximation orbitale

L'approximation orbitale, introduite par Hartree en 1928 (Pauli, 1940), qui correspond physiquement à un modèle de particules indépendantes dans lequel chaque électron se déplace dans un champ moyen créé par les noyaux et la densité électronique moyenne des autres

électrons. Cela signifie que chaque électron ressent les autres en moyenne, ce qui constitue naturellement une approximation.

I.8. L'approximation LCAO

L'approximation LCAO proposée par Mulliken en 1941 (Mulliken, 1928) consiste à construire un jeu limité d'orbitales atomiques (OA) qui constituera une base sur laquelle seront développées les orbitales moléculaires i . En essayant de résoudre les équations de Hartree-Fock pour des molécules, Hall, et indépendamment Roothaan, ont démontré qu'en introduisant un jeu de fonctions spatiales connues, les équations intégrales peuvent alors être transformées en un système d'équations algébriques et ainsi être résolues en utilisant la méthode habituelle des matrices (Roothaan, 1951).

I.9. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

I.9.1. Fondements de la théorie

La théorie de la fonctionnelle de la densité est basée sur le postulat proposé par Thomas et Fermi qui dit que les propriétés électroniques peuvent être décrites en terme de fonctionnelles de la densité électronique, en appliquant localement des relations appropriées à un système électronique homogène (Thomas, 1927). Thomas et Fermi ont utilisé leur théorie pour la description d'atomes, mais le manque de précision, ainsi que l'impossibilité de traiter des systèmes moléculaires en ont fait un modèle trop simpliste lorsqu'il a été proposé.

Hohenberg et Kohn, en 1964 (Hohenberg et al. 1964), ont repris la théorie de Thomas-Fermi et ont montré qu'il existe une fonctionnelle de l'énergie E associée à un principe variationnel, ce qui a permis de jeter les bases de la théorie de la fonctionnelle de la densité. Des applications pratiques ont ensuite été possibles grâce aux travaux de Kohn et Sham (KS) (Sham, 1965) qui ont proposé, en 1965, un set d'équations monoélectroniques analogues aux équations de Hartree-Fock à partir desquelles il est en principe possible d'obtenir la densité électronique d'un système et donc son énergie totale.

Fonctionnelle et dérivée fonctionnelle sont des entités mathématiques de première importance dans la théorie DFT. Mathématiquement, on désigne par « fonctionnelle » une entité qui fait correspondre un nombre à chaque fonction provenant d'une classe définie.

I.9.2. Présentation de quelques fonctionnelles de la DFT

Les notations pour diverses modèles DFT sont données en combinant les noms pour la fonctionnelle d'échange - corrélation. Dans le **tableau 5** sont données quelques fonctionnelles disponibles dans la chaîne de programme Gaussian (Boukaoud, 2005).

Tableau 5 : Quelques fonctionnelles d'échanges disponibles et utilisées dans la chaîne de programme Gaussian.

<u>Nom</u>	<u>Description</u>	<u>Mots clés</u>
VWN	La fonctionnelle de corrélation Vosko, Wilk, et Nusaire 1980 est bien appropriée pour traiter des gaz d'électron uniforme souvent connu sous le nom de densité de spin local (LSD) .	VWN5
LYP	La fonctionnelle de corrélation Lee Yang et Parr associe à la fois des termes locaux et non-locaux.	LYP
Becke 1988 Les trois paramètres hybrides de la fonctionnelles Becke utilisant la fonctionnelle de corrélation LYP.	<p>La fonctionnelle Becke 1988 associe le terme d'échange avec des corrections portant sur le gradient de densité.</p> <p>L'expression de la fonctionnelle Becke a la forme :</p> $A * E_x^{\text{slater}} + (1-A) * E_x^{\text{HF}} + B * \Delta E_x^{\text{Becke}} + E_c^{\text{VWN}} + C * \Delta E_c^{\text{non-local}}$ <p>ou le terme de corrélation non locale est fourni par l'expression de LYP, et VWN est une autre fonctionnelle. Les constantes A, B et C sont déterminées par Becke.</p> <p>LYP associe à la fois les termes local et non local. La fonctionnelle de corrélation utilisée est:</p> $C * E_c^{\text{LYP}} + (1-C) * E_c^{\text{VWN}}$ <p>En d'autres termes, VWN est utilisé pour fournir le</p>	HFb

	terme de corrélation local excessif, de corrélation, alors que LYP contient un terme local essentiellement équivalent	
Un paramètre de fonctionnelle hybride avec une fonctionnelle modifié Echange - corrélation de Perdew Wang modifié	Fonctionnelles basées sur des gaz uniformes utilisant les fonctionnelles d'échanges - corrélations de Perdew-Wang91 modifiées	MPW1PW91

De nombreuses fonctionnelles ont été développées depuis, tant pour l'échange que pour la corrélation. Parmi les plus connues et les plus utilisées on peut citer les fonctionnelles d'échange de Becke (B88) (Becke, 1988) et de Perdew et Wang (PW91) (Perdew, 1991). Pour la corrélation, on dispose, entre autres, des fonctionnelles de Perdew (P86) (Perdew, 1986), de Lee, Yang et Parr (LYP) (Lee et al. 1988) et de Perdew et Wang (PW91) (Perdew, 1991). Toutes ces fonctionnelles permettent une amélioration de l'estimation des énergies de liaison dans les molécules, ainsi que des barrières d'énergie par rapport à l'approximation locale LDA.

La fonctionnelle actuellement la plus utilisée est celle connue sous l'acronyme B3LYP (Becke, 1993). Celle-ci est une fonctionnelle à trois paramètres combinant les fonctionnelles d'échange local, d'échange de Becke et d'échange HF, avec les fonctionnelles de corrélation locale (VWN) et corrigée du gradient de Lee, Yang et Parr.

I.9.3. Choisir une fonctionnelle

Le choix d'une fonctionnelle dépend de sa performance en précision pour le système et des propriétés étudiées ainsi que du temps de calcul (MICHEL, 2007).

I.9.4. Types de bases

Il existe bon nombre de bases de gaussiennes possibles. Les plus communément utilisées sont celles qui ont été développées par Pople et collaborateurs (Hehre et al. 1980). La plus simple est la base STO-3G, aussi appelée « base minimale ». Le sigle « 3G » signifie que les orbitales de type Slater (STO) sont représentées par trois fonctions gaussiennes. Le niveau suivant développé par Pople comprend les bases split-valence telles que 3-21G, 4-31G et 6-31G, où le premier chiffre représente le nombre de gaussiennes utilisées pour représenter les orbitales de cœur. Les orbitales de valence y sont représentées par deux fonctions qui sont composées du nombre de gaussiennes indiqué dans la seconde partie de la dénomination de la base. Ainsi la base 6-31G du carbone, par exemple, utilisera six gaussiennes pour représenter l'orbitale 1s, trois gaussiennes pour l'orbitale 2s et 1 gaussienne pour représenter les orbitales 2p.

Pour une plus grande flexibilité on peut encore rajouter des fonctions de polarisation. La dénomination la plus ancienne est l'ajout d'un astérisque sur la base en question (par exemple 6-31G*), et dans une désignation plus récente, le caractère de la fonction ajoutée est explicitement donné : 6-31G(d). La base 6-31G* ou 6-31G(d) signifie ainsi qu'un jeu de fonctions **d** a été ajouté à tous les atomes (sauf H) dans la molécule, alors que 6-31G** ou 6-31G (p,d) signifie qu'un jeu de fonctions **p** a été ajouté aux hydrogènes et que des fonctions **d** ont été ajoutées aux autres atomes (David Antonio, 2003).

I.9.5. Présentation de quelques jeux de bases utilisés par le code de Gaussian98

La plupart des méthodes requièrent un choix de base bien spécifié ; si aucune base n'est donnée dans le programme alors la base STO-3G est automatiquement prise en compte.

Nous citons quelques jeux de bases utilisés dans la chaîne de programme Gaussian. (Kellou, 2009)

Tableau 6 : Quelques jeux de bases utilisés dans Gaussian.

Basis set	Appliqué sur	Fonctions de Polarisation	Fonctions de Diffusion
STO-3G	H-Xe	*	+
3-21G	H-Xe	* or * *	
6-21G	H-Cl	(d)	
4-31G	H-Ne	(d) or (d ,p)	
6-31G	H-Kr	(3df , 3pd)	++
6-311G	H-Kr	(3df , 3pd)	++
D95	H-Cl	(3df , 3pd)	++
D95V	□	(d) or (d,p)	++
SHC	H-Ne	*	
CEP -4G	H-Cl	*	
CEP-31G	H-Rn	*	
CEP-121G	H-Rn	*	
LanL2MB	H-Rn		
LanL2DZ	H-Ba,La-Bi		
SDD	H ,Li-Ba,La-Bi All but Fr and Ra		

I.9.6. Choisir une base

Une fonction inconnue peut être écrite comme la combinaison linéaire de fonctions connues si et seulement si le jeu de fonctions connues utilisées constitue une base complète de l'espace dans lequel est définie cette fonction. Dans les cas des fonctions d'onde, une base complète comporte une infinité d'éléments. Une telle base est inutilisable pour calculer une fonction d'onde actuellement. Il faut nous restreindre à une base finie. Dans ce cadre, l'information contenue dans les dimensions manquantes est inaccessible. Seules les composantes de la fonction d'onde selon les fonctions de base sont accessibles. Plus la base choisie est petite, plus la représentation de la fonction d'onde est pauvre. Les fonctions de base choisies influencent également la qualité de la représentation. Plus une seule de ces fonctions est capable de décrire la fonction d'onde, plus la base est précise. Autrement dit, un choix

judicieux permet de réduire le nombre de fonctions nécessaires pour atteindre une précision donnée (MICHEL, 2007).

I.10. Logiciels utilisés

I.10.1. Gaussian

D'actualité dans le monde scientifique, le programme GAUSSIAN a permis de faire entrer la chimie quantique dans les laboratoires de chimie, de biochimie, de biotechnologie, de physique et de pharmacologie (Boukaoud, 2005). De son histoire, ce logiciel est basé sur le travail de John Pople qui consistait à développer des simplifications dans l'équation de Schrödinger dans le but de la rendre aisément applicable à l'étude des molécules aussi bien simples que complexes.

De part ces simplifications, John Pople a développé en 1970 un programme informatique nommé GAUSSIAN permettant de calculer la conformation moléculaire des molécules avec les longueurs des liaisons chimiques ainsi que les angles de liaison entre les atomes. Ce programme a été ensuite amélioré progressivement.

En 1992, la théorie de Walter Kohn a été intégrée. Différentes approches de la chimie quantique ont été rajoutées depuis, 1992 à ce programme, notamment celle des fonctions de densité électronique de Walter Kohn (Kohn, 1965).

Ce programme GAUSSIAN09 a révolutionné les méthodes de travail : il a permis aux chercheurs de prévoir et de visualiser par le calcul et avec des images virtuelles l'évolution d'une réaction chimique sans passer par l'expérience. (Kellou, 2009)

Un logiciel de modélisation moléculaire comprend de manière générale les modules suivants :

- 1 - Construction, visualisation et manipulation des molécules.
- 2 - Calculs
- 3 - Sauvegarde des structures et gestion des fichiers
- 4 - Etude des propriétés moléculaires (kellou, 2009).

I.10.2. La visualisation des molécules

La visualisation tridimensionnelle des molécules sur un écran d'ordinateur ou infographie moléculaire permet de représenter l'image dans l'espace d'un modèle moléculaire. Pour cela, chaque atome constituant la molécule est identifié par ses coordonnées spatiales. Ces

dernières sont obtenues par cristallographie, RMN, modélisation moléculaire. La modélisation moléculaire constitue aujourd'hui un outil pédagogique utilisé dès l'enseignement secondaire. Elle permet d'obtenir différents modes de représentation des molécules et d'identifier certaines de leurs caractéristiques. Il est possible d'élaborer des images fixes, des animations vidéo, des scripts avec menus intégrés, etc.

Depuis maintenant près de deux siècles, les chimistes à la suite des cristallographes (dans ce domaine R.J. Haüy fut un précurseur) ont rivalisé d'imagination afin de représenter molécules et cristaux pour les besoins de l'enseignement et de la recherche. Pour juger de l'importance que les chimistes ont toujours accordé à la modélisation rappelons que c'est en partie grâce à des modèles construits avec du fil de fer, que J. Watson et F. Crick ont eu l'intuition de la structure en double hélice de l'ADN.

Les progrès accomplis en informatique depuis une vingtaine d'années permettent à tout chimiste de visualiser des molécules en s'aidant d'un micro-ordinateur grâce à des programmes dont certains appartiennent au domaine public ou sont libres d'utilisation. Loin de se limiter à une simple représentation statique, ces programmes permettent de déplacer la molécule en trois dimensions et d'afficher les principaux paramètres moléculaires : distances interatomiques, angles entre les liaisons, rayons de Van der Waals etc.

De nombreuses banques de données réparties à travers le monde, proposent des fichiers décrivant les caractéristiques de molécules inorganiques et organiques. Qu'ils représentent des molécules très simples ou comportant plusieurs centaines d'atomes, ces fichiers sont facilement accessibles via le réseau Internet.

<http://www.faidherbe.org/site/cours/dupuis/udpd.htm>

I.10.3. GaussView

GaussView est l'interface graphique la plus avancée et puissante disponible pour gaussian. Avec GaussView, vous pouvez importer ou construire les structures moléculaires qui vous intéressent, mettre en place, lancer, surveiller et contrôler les calculs de Gauss, et récupérer et afficher les résultats, le tout sans jamais quitter l'application. GaussView 5 comprend de nombreuses nouvelles fonctionnalités conçues pour rendre le travail avec les grands systèmes d'intérêt chimique pratiques et simples. Il fournit également un soutien complet pour toutes les nouvelles méthodes et fonctions de modélisation de Gaussian 09.

<http://www.chemcad.com/pages/7/Gaussian-Gaussview-visualisation>

I.10.4. Gaussian 09

De nombreux chimistes, ingénieurs chimistes, biochimistes ou physiciens, et bien d'autres ont opté pour **GAUSSIAN 09** la dernière version disponible de ce programme mondialement reconnu pour ses capacités de premier plan pour la modélisation électronique de structure chimique. Disponible pour la majorité des systèmes d'exploitation du marché (Windows, Macintosh, Linux...), **GAUSSIAN 09** vous permet de repousser les limites... sans autres frontières que vos ressources informatiques. Basé sur les lois premières de la mécanique quantique, **GAUSSIAN**, généralement considéré comme le meilleur logiciel de chimie numérique, permet de pronostiquer des énergies, structures moléculaires et fréquences de vibration de systèmes moléculaires complexes, et d'anticiper leurs autres propriétés chimiques.

Molécules et réactions sont étudiées dans une gamme étendue de conditions non seulement pour des espèces stables, ou des composés complexes mais également pour des composés impossibles à observer expérimentalement, comme des intermédiaires éphémères ou des états de transition.

Par ailleurs, **GAUSSIAN** vous permet de modéliser :

- la réactivité et des spectres de grosses molécules (plus particulièrement avec la méthode ONIOM)
- les propriétés magnétiques (déplacement chimiques, constantes de couplage RMN, ...)
- des rotations optiques de molécules chirales,

les énergies grâce aux méthodes simples Hartree-Fock et Coupled Cluster. D'autre part **GAUSSIAN** vous ouvre aussi la possibilité d'affiner vos analyses grâce à des méthodes de haute-précision telles que G3 et CBS-QB3

- les spectres de vibrations (Raman pré et non résonantes), les couplages vibration/rotation.

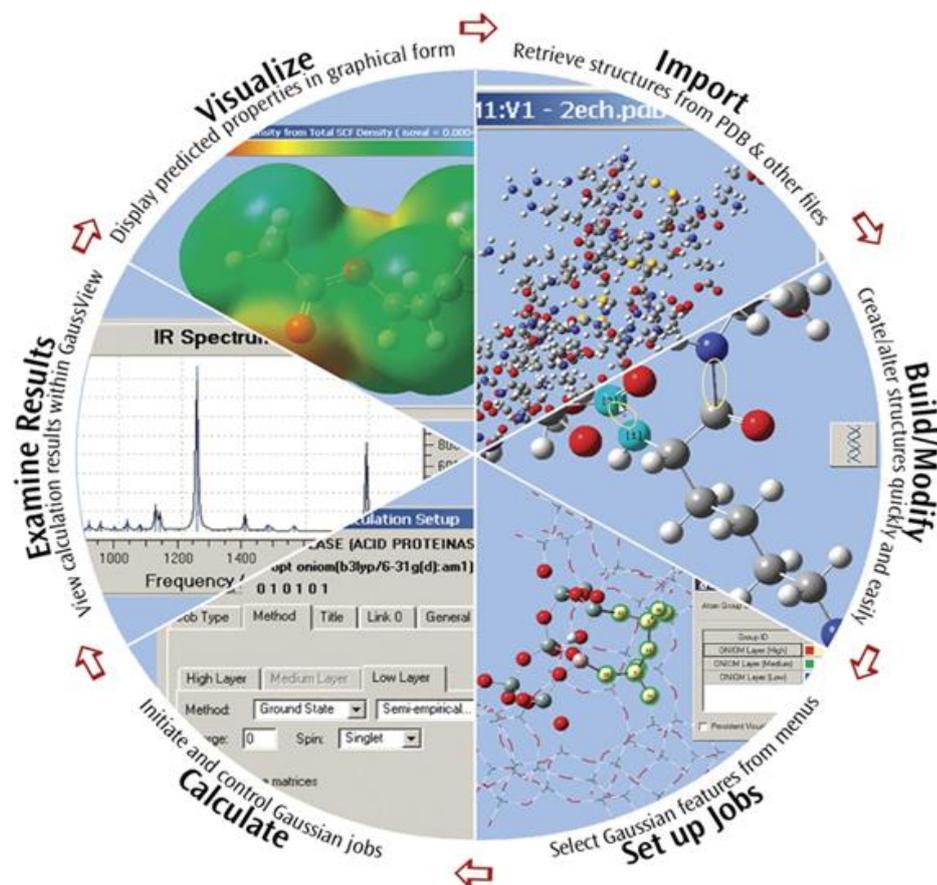


Figure 6: Cycle de l'étude d'une molécule par modélisation moléculaire.

I.11. Conclusion

Les développements théoriques ont permis de faire de la physique quantique appliquée à la chimie un outil indispensable associé à la chimie expérimentale.

Dans ce chapitre, nous avons pu ainsi constater qu'au cours des années de développement de la chimie quantique deux voies se sont dégagées ; l'une aborde les problèmes en décrivant les systèmes par une fonction d'onde, l'autre le fait par le biais de sa densité électronique.

Les méthodes DFT souffrent cependant d'un manque de procédures systématiques qui permettent d'améliorer les fonctionnelles et les propriétés moléculaires calculées, ce qui n'est pas le cas avec les calculs *ab initio* pour lesquels il est à priori possible d'augmenter la qualité des résultats en augmentant le niveau de calculs ou la qualité de la base de fonctions. La seule limitation dans le cas *ab initio* étant naturellement liée au temps requis pour effectuer de tels calculs.

Il a été vu que ces deux méthodes peuvent parfois être utilisées conjointement, et il ne serait pas si surprenant que dans un futur proche, ces deux théories donnent naissance à une nouvelle théorie mixte dans laquelle la fonctionnelle d'énergie serait orbitalairement dépendante et non plus densité-dépendante.

Chapitre III :
Résultats et
discussions

I- Introduction

Les méthylxanthines sont des substances à large consommation ; elles sont couramment utilisées sous forme de boissons, tablettes, desserts et autres préparations de mets gourmands. Leur effet sur notre organisme en particulier est la stimulation de l'éveil, l'attention, la rapidité d'action. La prévention du sommeil est très discuté d'où on cherche par notre travail d'apporter plus d'explication et d'élucider leur mécanisme d'action du point de vu moléculaire.

Afin de comprendre l'effet de la chiralité de l'acide aminé asparagine qui représente le site actif du récepteur à l'adénosine sur son interaction avec les méthylxanthines et contribuer à la détermination de ses différentes propriétés à l'échelle moléculaire nous nous sommes orientés alors vers les approches de chimie quantique en utilisant le logiciel Gaussian 09.

Notre travail comporte trois parties :

- Une étude moléculaire des trois méthylxanthines (TH, TB, CA) est primordiale afin de mieux comprendre leur structure, donc une comparaison entre ces trois molécules sur le plan structural énergétique et électronique nous a permis de discerner la molécule la plus active et qui sera l'intérêt de ce travail.
- Des études antérieures ont mis en évidence la structure du récepteur à l'adénosine qui est de nature protéique ainsi le site actif de ce dernier avec lequel la liaison entre les méthylxanthines et le récepteur s'établit, donc une détermination des propriétés moléculaires du site actif nous sera utile dans l'interprétation.
- En dernier nous avons modélisé et établi les liaisons entre les deux molécules grâce au logiciel accelerys et le complexe récepteur-méthylxanthine a été étudié afin d'interpréter la stabilisation du récepteur par la méthylxanthine.

II- Première partie : conformation moléculaire des méthylxanthines

Nous regroupons les trois molécules théophylline, théobromine et caféine sous la terminologie des méthylxanthine dont la xanthine est un composé dérivé de la purine, elle

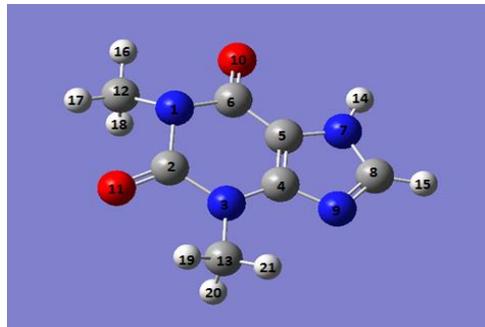
comporte deux cycles accolés, l'un étant un cycle hexagonal, l'autre un cycle pentagonal; Elle renferme en plus deux atomes d'oxygène : c'est une (dioxy-2, 6 purine)

La caféine, la théophylline, et la théobromine sont des dérivés méthylés de la xanthine ; ils diffèrent entre eux par la position et le nombre de groupements méthyles fixés sur la molécule.

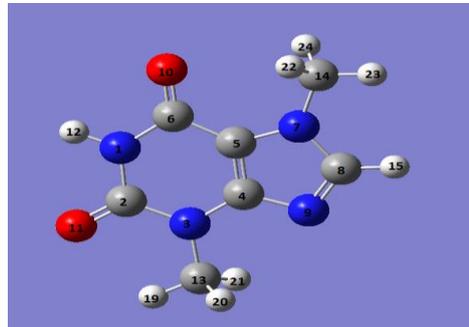
- La théophylline est la 1, 3 –diméthylxanthine.
- La théobromine est la 3, 7 –diméthylxanthine.
- La caféine est la 1, 3, 7 -triméthylxanthine.

Ces trois molécules sont dites des isomères de position. En [chimie organique](#), on parle d'isomérisie lorsque deux [molécules](#) possèdent la même [formule brute](#) mais ont des [formules développées](#) ou [stéréochimiques](#) différentes. Ces molécules, appelées isomères, peuvent avoir des propriétés physiques, chimiques et biologiques différentes.

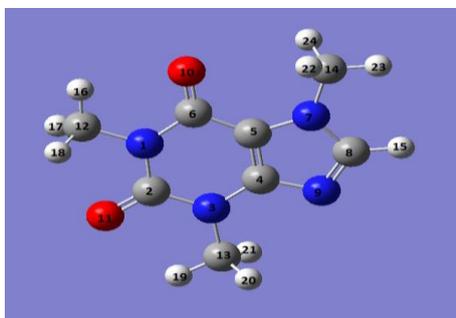
Par moyen de modélisation nous avons dessiné ces trois molécules sur l'interface graphique GaussView5 du logiciel Gaussian.



TH



TB



CA

Figure 7: Représentation de la structure de la théophylline, la théobromine et la caféine par le logiciel Gaussian 09.

Cette partie du travail préliminaire consiste à faire un calcul théorique basé sur la théorie de la fonctionnelle de densité DFT pour déterminer les conformations moléculaires des molécules méthylxanthines.

II.1. Détermination des énergies relatives aux méthylxanthines

Pouvoir optimiser la géométrie moléculaire d'une molécule par un modèle théorique de chimie quantique, c'est approcher sa conformation moléculaire observée.

Cette approche va dans le sens de vouloir calculer les propriétés moléculaires avec précision en se servant de la chimie quantique.

Les géométries des trois molécules ont été optimisées en état fondamental en utilisant le logiciel Gaussian 09 et la méthode DFT avec la fonctionnelle d'échange de corrélation B3LYP et la base gaussienne 6-31G** ou 6-31G (p, d). Cette dernière a la même dénomination, où le jeu de fonctions **p** ajouté aux hydrogènes et le jeu de fonctions **d** ajoutées aux autres atomes lourds est bien défini.

La première étape de calcul est de trouver la structure de la molécule la plus stable. Le rôle de la minimisation est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts interatomiques.

Les résultats de l'énergie de stabilité obtenus pour les trois molécules (TH, TB, CA) sont comme suit :

Tableau 7: énergie relative au trois isomères TH, TB, et CA

molécules	théophylline	théobromine	caféine
Energie (u.a)	-641.10087592	-641.10440992	-680.41462469

La géométrie la plus stable pour ces trois isomères de position correspond à la molécule de la caféine d'une énergie minimale $E = -680.41462469$ (u.a).

II.2. Etude géométrique

La comparaison entre grandeurs calculées et valeurs expérimentales nous permet de conclure que la base 6-31G* donne pour ce type de molécules, le meilleur accord avec les données expérimentales.

Ceci nous amène à utiliser dans le reste du travail de ce mémoire, au moyen du logiciel Gaussian 09, la méthode DFT avec la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G*

II.2.1. Longueur de liaison intra-moléculaire

L'exploitation des résultats obtenus par le calcul théorique (DFT) des molécules TH, TB et CA montre un bon accord avec les valeurs expérimentales (retrouvées dans annexes) en ce qui concerne les longueurs de liaison entre les atomes.

Tableau 8 : Longueurs de liaisons entre les atomes des trois molécules TH, TB ET CA.

Atome en A°	théophylline	théobromine	caféine
N1-C2	1.40909	1.40049	1.40793
C2-N3	1.39208	1.39227	1.39019
N3-C4	1.37574	1.37984	1.37643
C4-C5	1.38006	1.38657	1.38358
C5-C6	1.43168	1.43529	1.43309
C6-N1	1.41567	1.40730	1.41718
C5-N7	1.38240	1.38642	1.38861
N7-C8	1.35821	1.35658	1.35632
C8-N9	1.32904	1.33235	1.33188
N9-C4	1.36424	1.35865	1.35947
C6-O10	1.23028	1.22853	1.23147
C2-O11	1.22555	1.22398	1.22611

D'une manière générale, nous constatons que les longueurs de liaison pour les différents isomères de position sont affectées par le changement du nombre et de la position des groupements méthyles autour du noyau, alors ces derniers ont causé des différences au niveau des distances entre les atomes du noyau purine et ceci est remarqué pour les trois molécules : TH, TB, CA.

II.2.2 Angles de liaison

Les valeurs des angles obtenues par ces calculs de la mécanique quantique sont très proches des valeurs expérimentales et qui sont comme suit :

Tableau 9: Angles de liaison entre les atomes des trois isomères.

Angle (°)	Théophylline	Théobromine	caféine
C6-N1-C2	126.497	130.029	126.612
C2-N3-C4	119.554	119.354	119.648
C4-C5-C6	124.134	122.760	123.575
C5-N7-C8	106.549	105.742	105.692
C8-N9-C4	104.093	103.828	103.749

Les valeurs des angles obtenues sont très proches entre ces trois molécules sauf au niveau des substitutions ; nous pouvons remarquer des différences comme par exemple l'angle entre les trois atomes C5-N7-C8 qui est de 105.742° pour la molécule TB et de 105.692° pour la CA des valeurs très proches car ces deux dernières possèdent un groupement méthyle au niveau de l'atome N7 alors que ce même angle mesure 106.549° pour la TH qui compte un atome d'hydrogène au niveau de l'atome N7. Nous concluons alors que la substitution par un groupement méthyle au niveau de l'atome N7 provoque des changements dans la conformation entre les isomères TB, CA et TH.

II.2.3 Les angles dièdres

Les angles dièdres calculés par la DFT montrent une similarité avec les mêmes paramètres déjà mesurés par diffraction des rayons X (retrouvés dans annexes) et qui confirment la planéité des molécules TH, TB, et CA.

Tableau 10: Angles dièdres des trois isomères.

Angle dièdre (°)	Théophylline	Théobromine	Caféine
C5-C6-N1-C2	-0.067	0.005	0.002
C2-N3-C4-C5	0.025	0.000	-0.003
C4-C5-N7-C8	-0.036	-0.001	-0.000
C8-N9-C4-C5	-0.011	0.000	-0.001

II.3. Etude électronique

Orbitales frontières HOMO -LUMO

Les orbitales frontières sont deux types d'orbitales moléculaires (OM) particulières: l'orbitale HOMO (acronyme de highest occupied molecular orbital), en français HO (pour Haute Occupée) qui est l'orbitale moléculaire la plus haute en énergie occupée par au moins un électron, et l'orbitale LUMO (acronyme de lowest unoccupied molecular orbital), en français BV (pour Basse Vacante) qui est l'orbitale la plus basse en énergie non occupée par un électron.

Nous avons effectué une étude qualitative des orbitales frontières de la géométrie des méthylxanthines (TH, TB, CA) par la méthode DFT au niveau B3LYP/ 6-31G.

La représentation des orbitales frontières HOMO et LUMO pour les différentes isomères est représentée dans les figures suivantes :

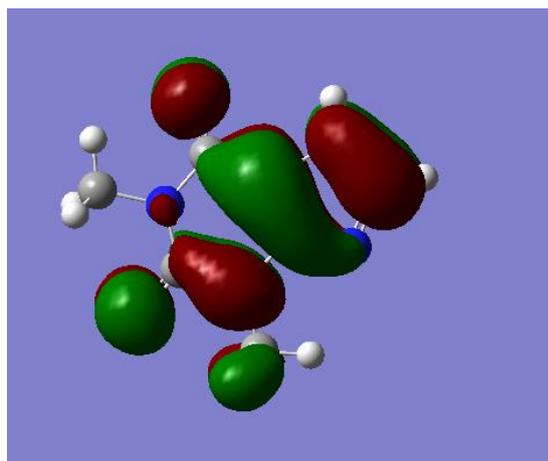


Figure 8: Représentation des HOMO de la molécule de théophylline.

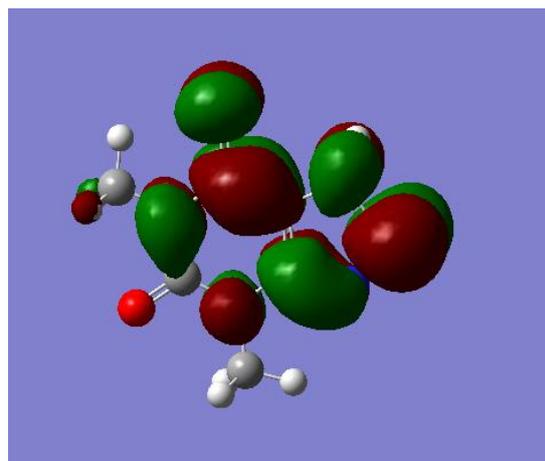


Figure 9: Représentation des LUMO de la molécule de théophylline.

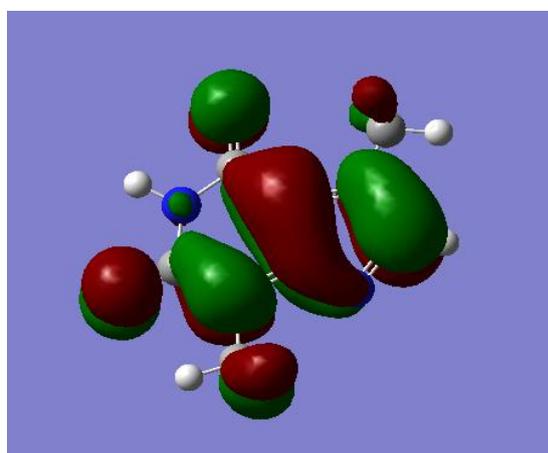


Figure 10: Représentation des HOMO de la molécule de théobromine.

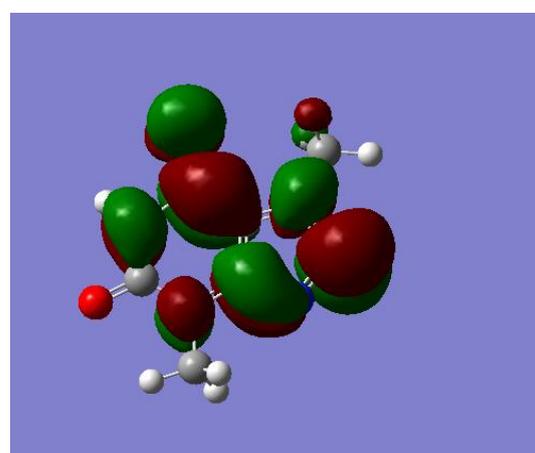


Figure 11: Représentation des LUMO de la molécule de théobromine.

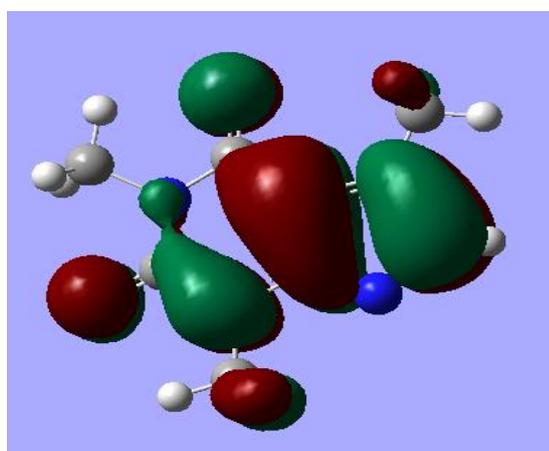


Figure 12: Représentation des HOMO de la molécule de caféine.

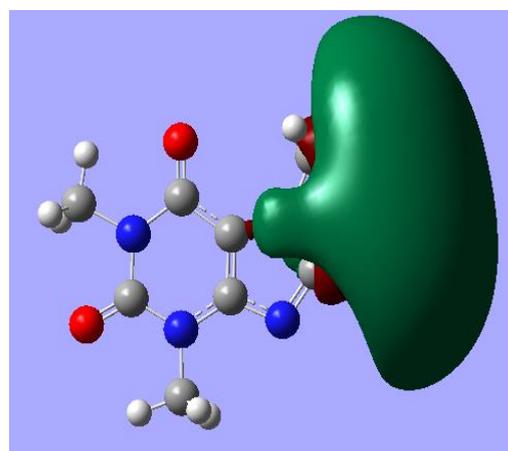


Figure 13: Représentation des LUMO de la molécule de caféine.

Une comparaison des représentations des OM frontières des trois molécules révèle l'influence de la présence du groupement méthyle au niveau de l'atome N7 pour les LUMO de la caféine.

II.3.1. Diagramme énergétique

Les diagrammes orbitaux moléculaires obtenus en méthode DFT pour les différents composés optimisés: TH, TB, et CA sont comparés sur la figure 14.

A première vue, nous remarquons un large écart énergétique séparant les orbitales occupées HOMO des orbitales vacantes LUMO pour la caféine.

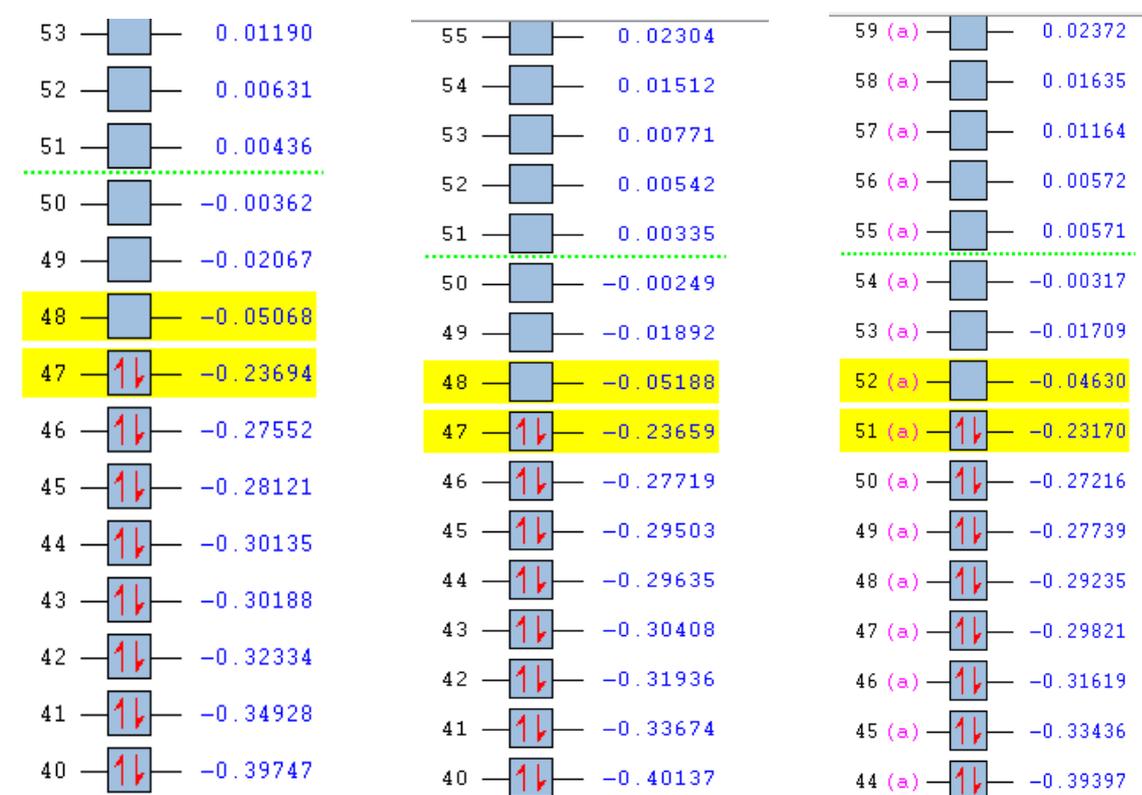


Figure 14: Représentation des diagrammes énergétiques pour la TH, TB, et CA.

II.3.2. Détermination du GAP énergétique

ΔE : Ecart énergétique entre l'orbitale la plus haute occupée HOMO et la plus basse vacante LUMO.

Tableau 11: Différence entre les niveaux énergétiques des orbitales HOMO et LUMO

molécules	E HOMO (e.V)	E LUMO (e.V)	GAP HOMO/LUMO
Théophylline	-0.23694	-0.05068	0.18626
Théobromine	-0.23659	-0.05188	0.18471
caféine	-0.23170	-0.04630	0.18540

Bien que les structures électroniques des composés soient comparables, nous pouvons néanmoins noter l'écart HOMO-LUMO calculé qui est plus important pour la caféine, principalement à cause d'une plus basse énergie de l'orbitale basse vacante dans ce dernier - **0.04630 e.V.**

Les orbitales frontières de la CA sont plus basses en énergie, donc la molécule présente une meilleure stabilité.

Une comparaison des données représentées ci-dessus nous conduit à définir la molécule la plus active donc elle sera l'intérêt des études qui suivent.

III. Deuxième partie : conformation moléculaire de l'asparagine

Des études antérieures ont mis en évidence la structure tridimensionnelle du récepteur à l'adénosine qui est de nature protéique et le site actif de ce dernier qui se résume dans l'acide aminé asparagine (Farag, 2009).

Une étude énergétique de ce dernier nous a semblé nécessaire avant de le combiner à notre molécule d'intérêt qui est la caféine afin de comprendre sa stabilisation par cette dernière.

La molécule d'asparagine possède un atome de carbone asymétrique, elle est alors dite chirale, elle existe sous la forme de deux configurations différentes, celle-ci ont été modélisées grâce au logiciel Gaussian 09.

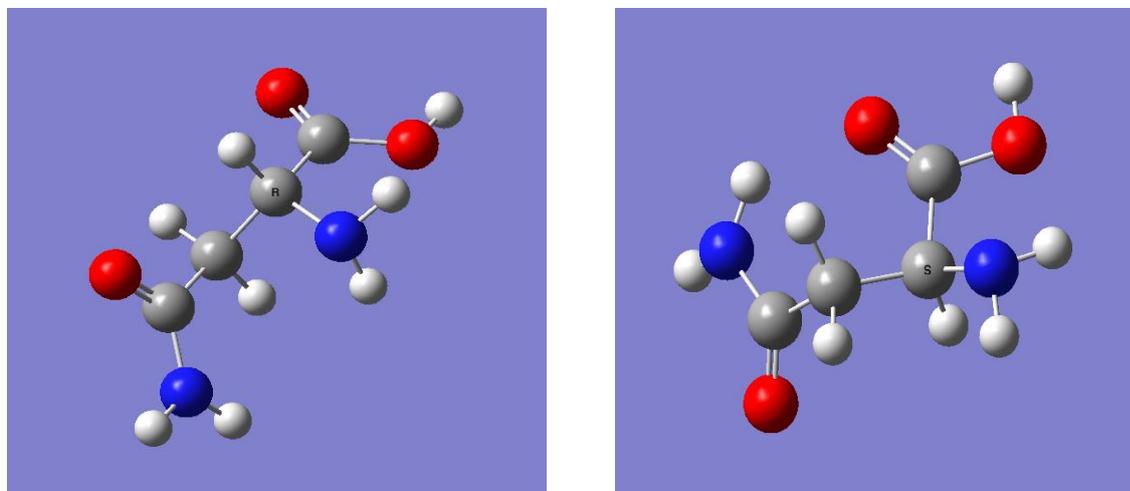


Figure 15: Représentation de la structure tridimensionnelle du R-asn et S-asn

III.1. Etude énergétique de l'asparagine

Tableau 12: Représentation des énergies relatives aux deux stéréoisomères R et S asparagine.

Molécule	R Asn	S Asn
Energie (u.a)	-492.48654224	-492.41850107

Il est à noter les différences entre l'énergie du stéréoisomère R-asn par rapport à celle du stéréoisomère S-asn.

Puisque nous savons que la molécule qui possède l'énergie la plus basse est la plus active, nous concluons que la R-asn la plus faible en énergie est la molécule la plus active et ce qui est en accord avec la littérature : Les propriétés pharmacologiques de deux énantiomères peuvent être très différentes.

III.2. étude géométrique du R-asparagine

Après avoir déterminé le stéréoisomère R de la molécule d'Asn comme étant le plus actif, une étude de ses propriétés structurales est nécessaire pour la suite du travail.

Ce qui nous intéresse pour cet acide aminé c'est le radical car les deux fonctions acide et amine contribuent aux liaisons peptidiques dans la chaîne protéique du récepteur à l'adénosine.

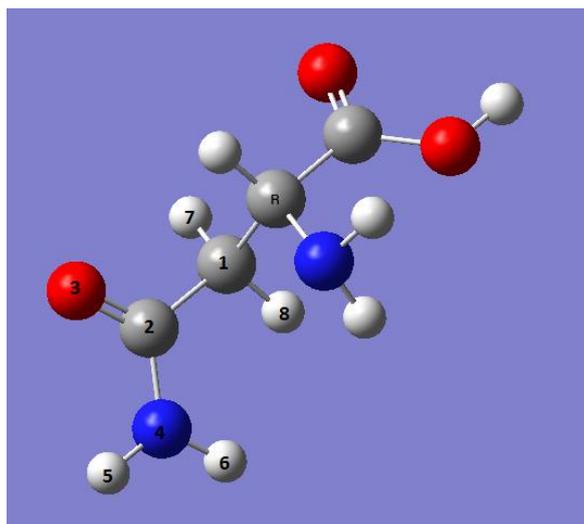


Figure 16 : Géométrie optimisée du R-asn avec label.

Les valeurs des longueurs de liaison en Å°, angles en (°) et angles dièdres en (°) qui semblent importants à évoquer sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Principales longueurs de liaison, angles et angles dièdres du R-asn

Paramètre calculé		R asparagine
Longueurs de liaison (Å°)	N4-H5	1.00859
	N4-H6	1.00425
	N4-C2	1.35426
	C2-O3	1.22151
	C2-C1	1.52408
Angles (°)	H5-N4-H6	118.376
	N4-C2-O3	122.508
	N4-C2-C1	115.219

Angles dièdres (°)	O3-C2-C1	122.195
	H5-N4-C2-O3	-6.411
	H6-N4-C2-C1	15.364
	O3-C2-C1-H7	-72.235

Ces résultats seront exploités lors de l'interprétation de la troisième partie du présent travail.

IV. Troisième partie : étude énergétique du complexe caféine/R-asparagine

La liaison entre deux molécules se fait grâce à différents types de liaison inter-atomique.

Dans le cas de notre complexe la liaison entre la molécule de caféine et l'AA asparagine est une liaison hydrogène.

Cette liaison est mise en évidence au moyen du logiciel accelerys comme il est montré ci-dessous dans la figure 17 qui représente la molécule de CA avec la R asn et la figure 18 qui représente la molécule de CA avec la S-asn.

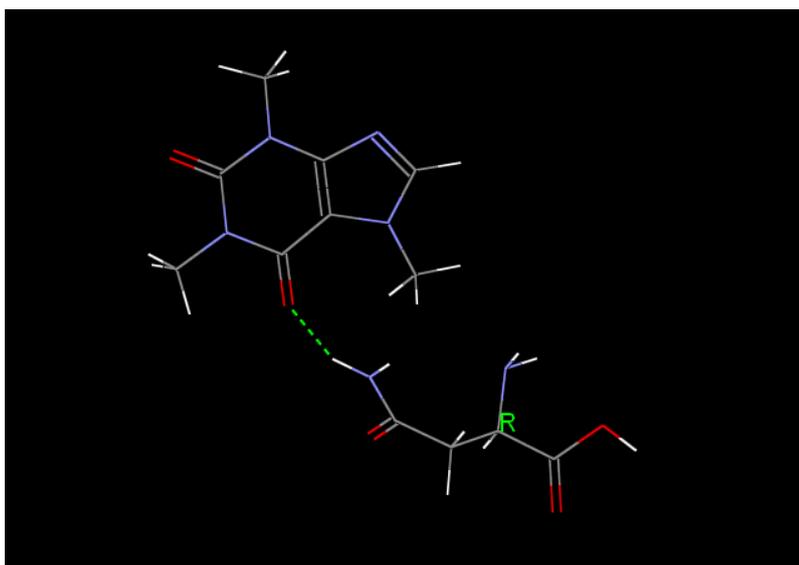


Figure 17: Représentation du complexe caféine/Rasn

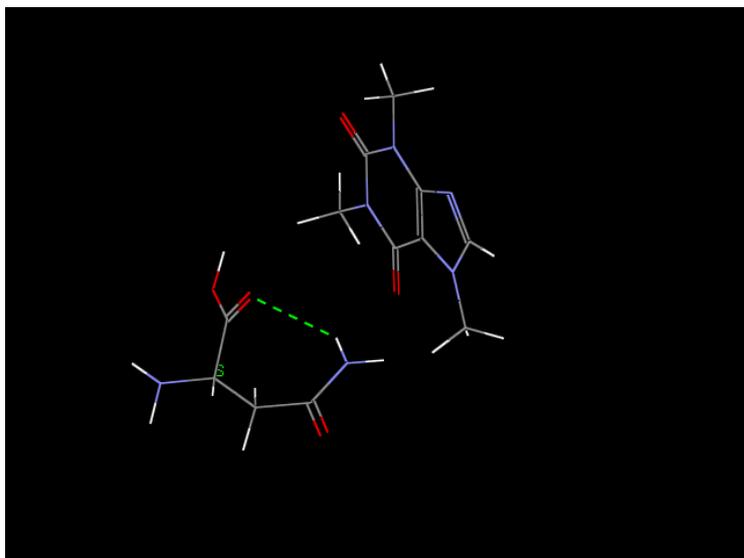


Figure 18: Représentation du complexe caféine/S-asn

Nous remarquons l'établissement d'une liaison hydrogène entre la CA et le R-asn dont la caféine participe avec l'atome **O10** et l'AA avec son atome **H5** et aucune liaison entre la CA et le R-asn. Nous concluons que le stéréoisomère qui interagit avec la CA c'est le R-asn du récepteur à l'adénosine. Ce qui confirme encore une fois que seulement un des stéréoisomères pour les AA est actif.

IV.1. Etude énergétique du complexe CA/R-asn

La géométrie du complexe **CA/R-asn** a été optimisée en état fondamental grâce au logiciel Gaussian 09 par la méthode de théorie fonctionnelle de la densité DFT, utilisant la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G (d).

Tableau 14: Energie relative au complexe CA/R-asn

molécule	Complexe caféine-R asparagine
Energie (u.a)	-1172.91464298

Une comparaison entre l'énergie de la molécule R-asn d'une valeur de **-492.48654224 u.a** et l'énergie de la même molécule liée à la CA qui est de **-1172.91464298 u.a**, montre que l'AA asn qui représente le site actif du récepteur à l'adénosine et précisément le stéréoisomère R est stabilisé par la molécule de caféine.

IV.2. Etude géométrique du complexe CA/R-asn :

Les longueurs de liaison, angles et angles dièdres du R-asn lié à la molécule de caféine sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Principales longueurs de liaison, angles et angles dièdres du R-asn dans le complexe CA/R-asn.

Paramètre calculé		R asparagine dans le complexe CA/R-asn
Longueurs de liaison (Å)	N4-H5	1.01935
	N4-H6	1.00735
	N4-C2	1.35340
	C2-O3	1.23401
	C2-C1	1.52785
Angles (°)	H5-N4-H6	118.488
	N4-C2-O3	122.769
	N4-C2-C1	116.313
	O3-C2-C1	120.863
Angles dièdres (°)	H5-N4-C2-O3	6.271
	H6-N4-C2-C1	15.364
	O3-C2-C1-H7	-73.392

L'interaction du R-asn avec la molécule CA provoque des changements au niveau des longueurs de liaison, angles et angles dièdres de l'atome **H5** impliqué dans cette liaison avec les atomes voisins ce qui explique le changement de l'énergie suscitée ci-dessus et la stabilisation du site actif du récepteur à l'adénosine.

V. Conclusion

Grace à la modélisation moléculaire, nous avons pu représenter les différentes structures des isomères des méthylxanthines à l'aide du logiciel Gaussian 09 et déterminer leurs propriétés structurales et électroniques. Ainsi une étude de l'acide aminé asparagine impliqué dans l'interaction entre le récepteur à l'adénosine et la molécule la plus active des méthylxanthines

(qui s'est révélée la caféine) nous a permis de définir la forme chirale qui peut engager un atome pour établir une liaison hydrogène avec la caféine et conduit à la stabilisation du complexe.

*Conclusion
générale et
perspectives*

Conclusion générale

Le premier objectif de ce travail était d'optimiser la conformation moléculaire la plus stable d'un groupe de molécules d'une même famille appelé les méthylxanthines, en utilisant les méthodes de calcul de la chimie quantique et spécialement la DFT.

Nous avons étudié la contribution du nombre et du changement de la position des méthyles sur l'activité de ces molécules.

Bien que l'effet de ces molécules semble être le même sur le plan pharmacologique, l'étude théorique révèle que chacune de ces molécule possède une énergie différente et des propriétés électroniques bien distinctes. Enfin nous avons définie la caféine comme la molécule la plus active.

En seconde partie ; la modélisation du site actif du récepteur neuronal à l'adénosine a été réalisé par le logiciel Gaussian 09, suivi d'une étude énergétique qui nous a permis de cibler le stéréoisomère le plus actif. Ce qui a été conforme avec la littérature, qui explique que pour les acides aminés la forme R est plus active que la forme S. Le présent travail montre par moyen de chimie quantique que l'Asn de forme R possède une énergie plus basse que celle de la forme S, d'où nous avons réalisé le complexe caféine- récepteur à l'adénosine en choisissant particulièrement la forme R de l'acide aminé asparagine.

En dernier; l'étude du complexe a révélé une stabilisation du site actif du récepteur neuronal, montré par la diminution de l'énergie de formation, lors de l'interaction de la molécule de caféine au récepteur, et qui a influencer également les paramètres structuraux.

Perspectives

Cette étude est une première étape pour une étude plus approfondie de ce groupe de molécule qui pourra être réalisée avec des méthodes de calcul plus performant.

Pour rapprocher beaucoup plus la réalité, nous comptons réaliser l'étude de ces molécules dans un solvant de propriétés proche de celle des milieux biologiques et à des températures semblables à celle du corps humain.

Ainsi l'étude de ces molécules et leurs interactions aux récepteurs biologique non seulement du système nerveux central mais aussi du système cardiovasculaire.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Antonioli, L. et al. 2008. Pharmacological modulation of adenosine system: novel options for treatment of inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 14, 566-574.
- A.R. Leach, 1996. Quantum Mechanical Models, in *Molecular modelling: Principles and applications*. Addison Wesley Longman Ltd.: Harlow. 25-130.
- Becke, A.D. 1988. *Phys. Rev. A*, 38, 3098.
- Becke, A.D. 1993. *Phys. Rev. A*, 98, 5648.
- Benjamin Haas, 2011 ; biomarqueurs pronostiques et cibles thérapeutiques du remodelage ventriculaire post infarctus du myocarde. Thèse doctorat. Université Henri Poincaré. 65p.
- Born, D; Oppenheimer, 1927. *J.R. Ann. Phys. Rev.* 84, 457.
- Boukaoud Abdelali, 2005 ; Structure, conformation moléculaire et spectroscopie de la théophylline monohydratée (C₇H₈N₄O₂.H₂O) ; université Mentouri – Constantine. 52, 63-65, 98p
- BRUGERE H. 2007. Pharmacologie spéciale, fascicule 1. Polycopie. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie-Thérapeutique. 152 p.
- CARSON TL. 2006. Methylxanthines. In: PETERSON ME, TALCOTT PA. *Small animal toxicology*. 2nd. Saint-Louis: Elsevier Saunders, 845-852.
- Céline Molas, 2009 ; intoxications des carnivores domestiques dues aux denrées alimentaires consommées par l'homme. Thèse de doctorat, université de Paris.
- CHARNEY DS, HENINGER GR, JATLOW PI. 1985. Increased anxiogenic effects of caffeine in panic disorders. *Arch. Gen. Psychiatry*, 42, 233-243.

Références bibliographiques

- Costentin J, Mansuy L, Sokoloff P 2008. La paraxanthine en tant que psychoanaleptique non anxiogène pour le traitement d'affections neuropsychiatriques. Brevet français déposé le 12 décembre 2008 ; no 2009-514766, Extension Canada

- C. Audouze, 2003. Vers une parallélisation par bandes en chimie quantique, Laboratoire de Mathématique, UMR CNRS 8628, Université Paris-Sud, 1-8p.

- C. M. Marle, 2003. De la mécanique classique à la mécanique quantique : pourquoi et comment quantifier?, Université Pierre et Marie Curie Paris, France, 1-18p.

- David Antonio DE VITO, 2003. Thèse de l'université de Genève.

- Denis Diderot, 1753 : *Pensées sur l'Interprétation de la Nature*.

- Dunwiddie, T.V. & Masino, S.A, 2001. The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 24, 31-55.

- D. Liotta, 1988. *Advances in Molecular Modeling*, 1, Ed. JAI Press.

- E. Schrodinger, 1926. *Ann. phys. Leipzig*, 76, 361.

- Fredholm, B.B. 2010. Adenosine receptors as drug targets. *Exp Cell Res* 316, 1284-1288.

- Fredholm, B.B., Ijzerman, A.P., Jacobson, K.A., Linden, J. & Muller, C.E, 2011. *International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors--An Update. Pharmacol Rev.*

- GRAHAM TE, HIBBERT E, SATHASIVAM P, 1998. Metabolic and exercise endurance effects of coffee and caffeine ingestion. *J. Appl. Physiol.*, 85, 883–889.

- Hartree, D.R. 1928. *Proc. Cambridge Philos*, 24, 89. (b) Hartree, D.R. 1928. *Proc. Cambridge Philos*, 24, 426.

- HAZEBROUCQ G, FAURE P, GIRRE L *et al.* 1995. *Dorvault, l'officine*. 23ieme ed. Paris : Editions Vigot, 2089p.

- Hehre, W.J.; Stewart, R.F.; Pople, J.A. 1969. *J. Chem. Phys.* 2657. (b) Binkley, J.S.; Pople, J.A.; Hehre, W.J. 1980. *J. Am. Chem. Soc.* 102, 939.

- Hohenberg, P; Kohn, 1964. *W. Phys. Rev. A*, 136, 864.

- HORNFEELDT CS, 1987. Chocolate toxicity in dogs. *Mod. Vet. Pract.*, 68, 552-554.

- Hove-Madsen, L. et al. 2006. Adenosine A2A receptors are expressed in human atrial myocytes and modulate spontaneous sarcoplasmic reticulum calcium release. *Cardiovascular research* 72, 292-302.

- Jacobson, K.A. & Gao, Z.G. 2006. Adenosine receptors as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 5, 247-264.

- J. Costentin, 2010; Principaux effets neurotropes et psychotropes des méthylxanthines (caféine, théophylline, théobromine, paraxanthine) *Psychiatr. Sci. Hum. Neurosci.* 8:182-186.

- J. Debord, 2004. Introduction à la modélisation moléculaire, 37-41.

- KAWALEK JC, EL SAID KR. 1990. Maturational development of drugmetabolizing enzymes in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 51, 1742-1745.

- Kellou Sabah, 2009; conformation moléculaire et calcul du potentiel intermoléculaire de la cafeine (c8h10n4o2), université de constentine. 65, 70, 99-104p

- Sham, L.; Kohn, W. 1965. *Phys. Rev. A*, 140, 1133.

- Kroll, K., Decking, U.K., Dreikorn, K. & Schrader, J. 1993. Rapid turnover of the AMP-adenosine metabolic cycle in the guinea pig heart. *Circ Res* 73, 846-856.

- Kumar, V. & Sharma, A. 2009. Adenosine: an endogenous modulator of innate immune system with therapeutic potential. *Eur J Pharmacol* 616, 7-15.

- Lee, C.; Yang, W.; Parr, R.G. 1988. *Phys. Rev. B*, 37, 785.

- Lloyd, H.G., Deussen, A., Wuppermann, H. & Schrader, J. 1988. The transmethylation pathway as a source for adenosine in the isolated guinea-pig heart. *Biochem J* 252, 489-494.

- L. Kaboub, J. P. Legros, B. Donnadiou, A.K. Gouasmia, L. Boudiba and J.M. Fabre, 2004. *J. Mater.Chem.* 14, 351.

- L. Landau et E. Lifchitz, 1967. *Mécanique quantique*, Editions Mir, Moscou.

- MICHEL. C, 2007, Etudes théoriques de la réactivité chimique. Thèse doctorat. Université Joseph Fourier. 86-88, 111, 124p

- Mulliken, R.S. 1928. *Phys. Rev*, 32, 186. (b) Mulliken, R.S. 1928. *Phys. Rev.* 32, 761. (c) Mulliken, R.S. 1929. *Phys. Rev*, 33, 730.

- Okusa, M.D. 2002 A (2A) adenosine receptor: a novel therapeutic target in renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 282, F10-18.

- Pauli, W. 1940. *Phys. Rev.* 58, 719.

- Perdew, J.P. 1991. *Electronic Structure of Solids '91*, P. Ziesche and H. Eschrig, Akademie Verlag, Berlin.

- Perdew, J.P. 1986. *Phys. Rev. B*, 33, 8822

- P. A. M. Dirac, 1964. *Lectures on Quantum Mechanics*, Belfer graduate School of Science, Yeshiva University, New York.

- RALL TW. 1992. *Central nervous system stimulants: The Xanthines*.

- Roothaan, C.C. 1951. *J. Rev. Mod. Phys.* 23, 69.

- SCHEINDLIN S, 2007. A new look at the xanthines alkaloids. *Mol. Interv.*, 7, 236-242.

- Schrödinger, E. 1926. *Ann. Phys.* 79, 361. (b) Schrödinger, E. 1926. *Ann. Phys.* 79, 489

- Schuh, S.M., Hille, B. & Babcock, D.F. 2007. Adenosine and catecholamine agonists speed the flagellar beat of mammalian sperm by a non-receptor-mediated mechanism. *Biol Reprod* 77, 960-969.

- Schulte, G. & Fredholm, B.B. 2003. Signalling from adenosine receptors to mitogen-activated protein kinases. *Cell Signal* 15, 813-827.

- SERAFIN WE. 1996. Methylxanthines. *In: GOODMAN GILMAN A, HARDMAN JG, LIMBIRD LE. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments. 9ieme ed. New York : McGraw-Hill International Editions, 677-687.*

- SHANNON MW. 1998. Theophylline and caffeine. *In: HADDAD LM, WINCHESTER JF. Clinical management of poisoning and drug overdose. Philadelphia: WB Saunders, 1093-1104.*

- Shryock, J.C. & Belardinelli, L. 1997. Adenosine and adenosine receptors in the cardiovascular system: biochemistry, physiology, and pharmacology. *Am J Cardiol* 79, 2-10.

- Spicuzza, L., Di Maria, G. & Polosa, R. 2006. Adenosine in the airways: implications and applications. *Eur J Pharmacol* 533, 77-88.

- Thomas, L.H. 1927. *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, 23, 452. (b) Fermi, E. 1927. *Rend. Accad.* 6, 602. (c) Fermi, E. Z. 1928. *Phys.* 48, 73. (d) Fermi, E. 1928. *Rend. Accad.* 7, 342

- USMANI OS, BLEVISI MG, PATEL HJ, CRISPINE N, BIRRELL MA, KORBONITS M et al. 2004. Theobromine inhibits sensory nerve activation and cough. *FASEB J.*, 19, 231-233.

Références bibliographiques

- U. Burkert, N .L. 1982. Allinger, Editors, ACS Monograph, No.177: Molecular Mechanics. 339.
- WINUM S. 1997. Toxicologie du chocolat chez les animaux domestiques. These Med. Vet., Toulouse ; n°72, 139p.
- W. Heisenberg, 1949 . The Physical Principles of the Quantum Theory, Dover, New York (first published by the University of Chicago Press, 1930).
- W. Kohn, 1965. Phys. Rev. A, 140,1133.

Annexe

-Longueurs de liaison obtenues à partir de la DFT (B3LYP 6-31G(d)), pour la molécule de la théophylline (Boukaoud, 2005).

N1	C2	1.40935 Å
N1	C6	1.41800 Å
N1	C10	1.46591 Å
C2	N3	1.39393 Å
C2	O11	1.22219 Å
N3	C4	1.3755 Å
N3	C12	1.46221 Å
C4	C5	1.37898 Å
C4	N9	1.36378 Å
C5	C6	1.4325 Å
C5	N7	1.3824 Å
C6	O13	1.2264 Å
N7	C8	1.35732 Å
N7	H14	1.01094 Å
C8	N9	1.32781 Å
C8	H15	1.08132 Å
C10	H19	1.08132 Å
C10	H20	1.09289 Å
C10	H21	1.09289 Å
C12	H16	1.08981 Å
C12	H17	1.09322 Å
C12	H18	1.09322 Å

- Angles de liaison calculés à partir de la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G(d), pour la molécule de la théophylline (Boukaoud, 2005).

C4	C5	C6	124.4434°
N3	C4	C5	121.0978°
C2	N3	C4	119.6322°
N1	C2	N3	117.3042°
N7	C5	C4	104.7443°
C8	N7	C5	106.5262°
N9	C8	N7	112.9933°
O11	C2	N3	121.3280°
O13	C6	C5	126.0971°
C12	N3	C4	122.2618°
C10	N1	C6	118.0582°
H14	N7	C5	125.1822°
H15	C8	N7	122.3923°
H16	C12	N3	107.7189°
H17	C12	N3	110.0506°
H18	C12	N3	110.0506°
H19	C10	N1	107.2405°
H20	C10	N1	109.9932°
H21	C10	N1	109.9932°

- Angles dièdres calculés à partir de la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G(d), pour la molécule de la théophylline (Boukaoud, 2005).

H14-N7-C5-C6	0.0
H16-C12-N4-C3	0.0
H19-C10-N6-C1	0.0

- Longueurs de liaison obtenues à partir de la DFT (B3LYP 6-31G(d)), pour la molécule de la caféine (kellou, 2009).

N1	C2	1.41 Å
C2	N3	1.39 Å
N3	C4	1.37 Å
C4	C5	1.38 Å
C5	C6	1.42 Å
C6	N1	1.41 Å
C5	N7	1.39 Å
N7	C8	1.36 Å
C8	N9	1.34 Å
N9	C4	1.37 Å
N1	C10	1.47 Å
N3	C12	1.47 Å
N7	C14	1.47 Å
C6	O13	1.25 Å

C2	O11	1.25 Å
C8	H15	1.07 Å
C14	H16	1.09 Å
C14	H17	1.09 Å
C12	H19	1.08 Å
C12	H20	1.09 Å
C10	H23	1.09 Å
C10	H24	1.09 Å

- Angles de liaison calculés à partir de la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G(d), pour la molécule de la caféine (kellou, 2009).

C6	N1	C2	126.49°
N1	C2	N3	117.10°
C2	N3	C4	119.51°
N3	C4	C5	122.02°
C4	C5	C6	122.85°
C5	C6	N1	112.00°
C5	N7	C8	106.22°
N7	C8	N9	112.81°
C8	N9	C4	104.10°
N7	C5	C4	105.33°
C5	C4	N9	111.51°

Annexe

C6	C5	N7	131.80°
O13	C6	N1	121.86°
C6	N1	C10	118.03°
C10	N1	C2	115.47°
N1	C2	O11	120.69°
C4	N3	C12	120.44°

- Angles dièdres calculés à partir de la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G(d), pour la molécule de la caféine (kellou, 2009).

H14-N7-C5-C6	0.0
H16-C12-N4-C3	0.0
H19-C10-N6-C1	0.0