

INTRODUCTION GENERALE

La glycobiologie est la science qui étudie les structures, les propriétés et les fonctions des glucides dans la matière vivante [1]. Ces études ne concernent pas seulement les glucides mais également toutes les autres classes de molécules biologiques (protéines, lipides, nucléotides) qui interagissent avec eux. Le but de la glycobiologie structurale est bien évidemment de déterminer la structure 3D et d'établir des modèles pour les interactions.

Les glycanes sont des enchaînements linéaires ou branchés de monosaccharides. Ils se présentent sous des formes très diverses et sont indispensables à la vie. Liés aux protéines ou aux lipides, ils sont sécrétés dans le milieu externe ou associés à la membrane plasmique des cellules.[2] Ils servent à protéger le squelette peptidique et la surface cellulaire. Ils sont aussi reconnus de manière très spécifique par des récepteurs physiologiques et se trouvent impliqués dans un grand nombre de processus biologiques comme la reconnaissance et la communication intercellulaire. Le développement des méthodes d'analyse des glycoconjugués a permis de dévoiler progressivement l'extraordinaire diversité des glycanes et a révélé le remarquable potentiel d'informations que représentent ces molécules. La connaissance approfondie des structures glycaniques, de leurs fonctions biologiques et de leurs voies de biosynthèse permet aujourd'hui de trouver de nombreuses applications aux glycoconjugués tant dans le domaine thérapeutique que dans l'alimentaire et la cosmétique. Notamment, grâce aux molécules glucidiques, nous sommes capables de déceler certaines maladies graves telles que le cancer en réalisant un diagnostic plus spécifique et plus précoce, et les thérapies basées sur les molécules portant les glycanes sont plus efficaces et moins lourdes que d'autres utilisées actuellement. Néanmoins, nos connaissances sur l'activité biologique des glycoconjugués sont freinées par un manque d'outils appropriés. Les glycopeptides et les oligosaccharides synthétiques représentent de bons modèles pour mener à bien une étude fonctionnelle. Cependant, la complexité des structures glucidiques ne facilite pas la production de tels mimes, et la plupart du temps, les

problèmes de purification et les rendements faibles de synthèse permettent difficilement de réaliser une évaluation biologique du produit synthétisé. [2]

Cette thèse est consacrée à l'étude conformationnelle des glucides et plus particulièrement des oligosaccharides.

Le terme conformation qualifie toute la géométrie tridimensionnelle d'une molécule, ce terme ne doit pas être confondu avec celui de la configuration qui précise une possibilité géométrique pour un ensemble d'atomes pour passer d'une configuration à une autre, il faut nécessairement rompre des liaisons covalentes et les réorganiser ; par contre les conformations d'une molécule peuvent être obtenues sans aucune rupture de la liaison covalente.

La rotation autour des liaisons covalentes simples peut modifier la chaîne glycanique dans l'espace, la définition de la conformation peut être étendue sachant que de petites distorsions dans les angles de valences, et les longueurs de liaison s'accompagnent de changement conformationnel, et ces rotations peuvent se produire dans des systèmes conjugués, ces possibilités créent de nombreuses orientations possibles pour la chaîne polyosidique, orientation désignée par l'expression possibilités conformationnelle.[3]

La recherche conformationnelle est la composante chef de l'analyse conformationnelle, dont l'objectif est d'identifier les conformations préférées d'une molécule, ces derniers vont déterminer le comportement de ces molécules, cela exige l'aptitude que nous localisons les conformations qui sont en points minimaux sur la surface d'énergie potentielle.

Les méthodes de minimisations jouent un rôle crucial dans l'analyse conformationnelle car elles donnent la rapidité et la précision des résultats, donc il faut bien choisir entre ces méthodes. [4]

La minimisation de l'énergie potentielle d'une molécule consiste à résoudre un problème d'optimisation géométrique, presque toutes les méthodes de minimisation ont au moins un point commun: le commencement à un endroit approximatif de l'hyper surface énergie potentielle qui correspond à une géométrie très approximative. [5]

Cette hyper surface de l'énergie potentielle est l'ensemble de points générés par la fonction de l'énergie potentielle, cette dernière qui est une fonction de variables géométriques du système moléculaire étudié, elle sera représentée par une courbe de potentiel, l'ensemble de points générées par la fonction est plan. [6]

Il est important de reconnaître la différence entre une recherche conformationnelle et une dynamique moléculaire ; la recherche conformationnelle concerne seulement le déplacement de structure d'énergie minimale, tandis que la dynamique moléculaire (simulation) produit un ensemble des états qui inclut des structures pas dans les minimums d'énergie, cependant, comme nous savons que les méthodes de dynamique moléculaires peuvent être utilisées comme la partie d'une stratégie de la recherche conformationnelle.[7]

Si c'est possible, il est souhaitable d'identifier toutes les conformations d'énergie minimales sur la surface d'énergie potentielle, cependant, le nombre de minimums, peut être si grand qu'il est peu pratique d'envisager de les trouver tous, dans de telles circonstances il est habituellement envisageable d'essayer de trouver les minimums accessibles.

Les populations relatives des conformations d'une molécule peuvent être calculées en utilisant la statistique via la distribution de Boltzmann, elle nous renseigne sur la population des niveaux occupés à une température donnée.

Les méthodes d'analyse conformationnelle ont été utilisées pour trouver le minimum énergétique des molécules les plus complexes.[8]

Ces méthodes incluent les procédures qui impliquent la variation des angles de torsion [9-10], la variation des distances internucléaires [11-12], et les méthodes de dynamique moléculaire. [13-14]

Les effets de solvant sont aussi importants; actuellement on peut estimer l'énergie du solvant de différentes façons, et on peut l'inclure dans l'expression de l'énergie intramoléculaire. Les résultats de l'analyse conformationnelle montrent que pour les molécules en solution les conformations stables se trouvent généralement dans le jeu de conformation

stable de la molécule isolée. Les interactions avec le solvant ont surtout pour effet de modifier les valeurs relatives des énergies minimales ou de déplacer légèrement les positions des minima dans l'espace conformationnelle, on s'accorde donc pour considérer que les résultats d'un calcul conformationnel sur la molécule isolée donnent une bonne idée des possibilités conformationnelle de cette molécule [15].

Pour quelques molécules il y a tant de minimums sur la surface d'énergie qu'il est peu pratique d'essayer de les trouver tous, dans de telles circonstances il est souvent constaté que la conformation est seule avec la valeur la plus basse de la fonction d'énergie, cette conformation d'énergie est d'habitude mentionnée comme la conformation d'énergie minimale globale.

La conformation d'énergie minimale globale ne peut pas être la structure active. En effet, dans quelques cas, il est possible que la conformation active ne fasse pas de transmission à aucun minimum sur la surface d'énergie de la molécule isolée. Cela peut être nécessaire pour une molécule d'adopter plus qu'une conformation par exemple pourrait lier dans une conformation à l'enzyme et adopter ensuite une conformation différente avant la réaction. Les méthodes de recherche conformationnelle peuvent être convenablement classé dans les catégories suivantes :

- ❖ Algorithmes de recherches systématiques
- ❖ Méthodes approches aléatoires
- ❖ Géométrie
- ❖ Distance et dynamique moléculaire

Le but du présent travail consiste à faire une analyse conformationnelle des oligosaccharides (trois trisaccharides et un pentasaccharides). Les différents outils de la modélisation sont utilisés pour mener à bien le travail de ce mémoire (mécanique moléculaire et dynamique moléculaire). Les paramètres géométriques et énergétiques de ces structures différentes vont nous aider à discuter les différents réarrangements spatiaux pour cibler les conformations activement biologiques.

Références :

- [1] M. Taylor, K. Drickamer, Introduction to Glycobiology. *Oxford University Press*, **2003**
- [2] V. Bourgeaux, Thèse de doctorat, Université d'Orléans. **2006**
- [3] H.G. Reginald, M.G. Charles, Biochimie, De Boeck university, chapitre 4, 81. **2000**
- [4] D. Hermann, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques, Chapitre 3 introductions aux méthodes de minimisation d'énergie, Librairie de l'Université de Montréal. **1996**
- [5] J.S. Lomas, la mécanique moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire, l'actualité chimique, chapitre7. **1986**
- [6] S.D. Bousmaha, Thèse de doctorat, USTHB Alger. **1999**
- [7] A.R. Leach, Molecular Modelling, principles and application, Pearson Education Limited, chapitre 8, 413. **1996**
- [8] I. Kolossvary, W. Guida, *J.Am.Soc*, 118, 5011. **1996**
- [9] R.M. Fine, H. wang, P.S. Shenkin, D.L. Yarmush, C. Levinthal, Proteins: Struct. Funct. Genet, chapitre 1, 342. **1986**
- [10] N. Weinberg, S. Wolfe, *J. Am. Chem. Soc*, 116, 9860. **1994**
- [11] P.K. Weiner, S. Profeta, G. Wipff, T. Havel, I.D. Kuntz., R. Lanngridge, P.A. Kollman. *Tetraheron*, 39, 1113. **1983**
- [12] G.M. Crippen, F.T Havel, Distance Geomerty And Molecular Confotmation, John Wiley. **1988**
- [13] Y. Sun, P. A. Kollman, *J. Comput. Chem*, 13, 33. **1992**
- [14] D. Byrne, J. li, E. Patt, B. Robson, P. Weiner, *J, Comput-Aided Mol. Des*, 8, 67. **1994**
- [15] Y. Fukasawa and all, *Tetrahedron Lett*, 27, 1825. **1986**

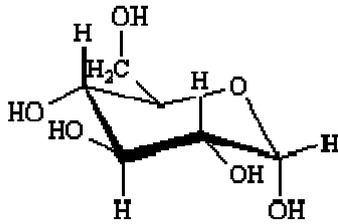
Les Biomolécules –les glucides :

Les êtres vivants sont principalement constitués de quatre classes de biomolécules. Les acides nucléiques, tout d'abord, contiennent l'information génétique des organismes permettant leur reproduction. Les lipides sont également des réserves d'énergie mais forment aussi la majorité des constituants des membranes biologiques. Les protéines, constituées d'acides aminés, jouent des rôles cruciaux dans pratiquement tous les processus biologiques (la catalyse enzymatique, le transport et la mise en réserve des petites molécules et d'ions, la protection immunitaire, le contrôle de la croissance et de la différenciation des cellules et peuvent également être un support mécanique dans la peau et les os. Enfin, les glucides, servent de réservoir d'énergie et d'intermédiaire métaboliques [1].

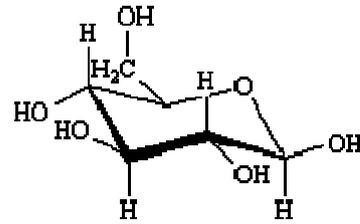
1-**Les glucides** : généralités

Les glucides, encore appelés sucres ou hydrates de carbone représentent la plus importante source de la biomasse sur la planète Terre et leur complexité, surtout en terme de variations structurales, n'a pas d'égale dans les autres classes de polymères biologiques. Du point de vue chimique, les sucres sont des polyhydroxy-cétones ou polyhydroxy-aldéhydes. Les monosaccharides ont une formule générale du type $C_xH_{2x}O_x$ avec un nombre d'atomes de carbone de la chaîne principale qui peut varier de trois à dix unités. Une caractéristique générale des sucres est qu'un des atomes de carbone porte une fonction de type céto- ou aldéhyde et pour les structures à cinq (pentoses) et six atomes de carbone (hexoses), la condensation intramoléculaire est à l'origine de la structure cyclique (furanose ou pyranose) qui est la forme prédominante en solution. La cyclisation donne origine à un nouveau centre chiral dans la molécule, le carbone anomère C1, qui peut avoir deux configurations appelées α ou β . Ce carbone anomère peut condenser avec un des hydroxyles d'un deuxième monosaccharide pour donner un disaccharide. Ainsi, l'addition de monomères résulte en la formation de structures dont la complexité augmente considérablement avec le nombre de résidus. Les structures les plus simples, linéaires ou branchées, sont formées par l'addition de deux à cinq monomères et sont nommées en utilisant les préfixes di-, tri-, tétra- et pentasaccharides. Le terme oligosaccharides, concerne des molécules qui contiennent jusqu'à une

vingtaine de monosaccharides. Quand la taille et la complexité de la structure deviennent très importantes (plus de 20 résidus) on parle d'une manière générale des polysaccharides.



α -D-glucose



β -D-glucose

Les deux configurations α et β

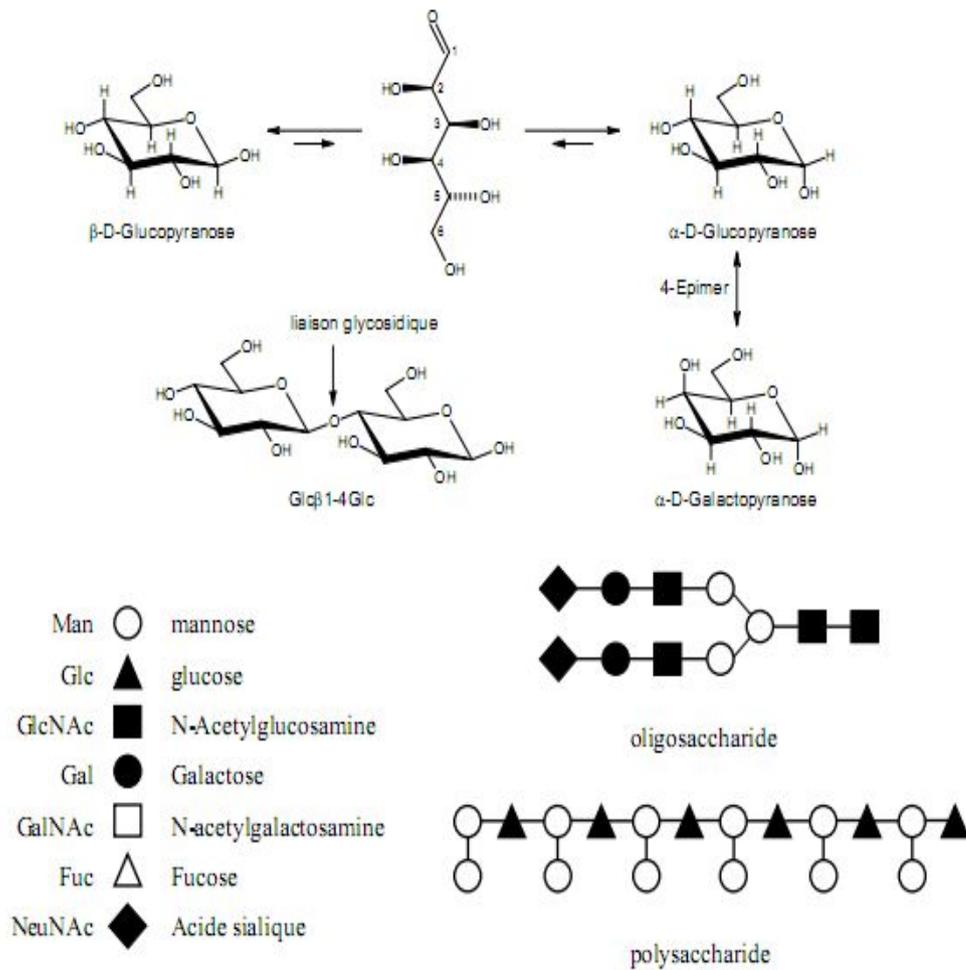


Figure 1.1 Quelques concepts centraux de la structure de glucides

2 - Relations structure-fonction :

L'énorme potentiel biologique codé par les glucides résulte de leurs capacités à créer des structures de grandes complexités, incluant des points de ramification, à partir des simples monomères (exemple : la laine). Cette caractéristique des glucides est unique parmi tous les polymères biologiques. Par exemple, deux acides aminés différents peuvent se lier seulement de deux façons différentes. Par contre, un simple monosaccharide comme le glucose peut se lier par son carbone anomère (de façon α ou β) avec les cinq hydroxyles d'un deuxième glucose, donnant

naissance à onze isomères structuraux différents. On peut donc comprendre que le nombre de variations structurales assurées par un tel type de molécules est énorme. La structure des glycanes (oligosaccharides, glycoconjugués, polysaccharides) dépend donc fortement de leur composition et de plus, la présence des liaisons glycosidiques introduit une flexibilité structurale et conformationnelle considérable. La conséquence directe de cette variabilité structurale est une grande diversité dans le rôle et dans la localisation des glucides dans les organismes vivants, tels que représentés ci-dessous :

- ❖ Renforcement structural (polysaccharides)
- ❖ Accumulation d'énergie (polysaccharides)
- ❖ Reconnaissance moléculaire (oligosaccharides/glycoconjugués)
- ❖ Croissance et développement (oligosaccharides/glycoconjugués)
- ❖ Défense (oligosaccharides/glycoconjugués)
- ❖ Ancrage (ancres GPI)
- ❖ Ciblage (oligosaccharides/glycoconjugués)

3- Glycobiologie : une science récente

C'est seulement à partir de la moitié du vingtième siècle que les glucides ont été reconnus comme des molécules biologiques extrêmement importantes. Il a longtemps été admis que toute l'information biologique était portée par les deux grandes classes de molécules que sont les protéines et les acides nucléiques. Durant les années 1900, on s'intéressait surtout aux polysaccharides des plantes car ils étaient largement utilisés dans de nombreuses applications industrielles. Les connaissances dans la biologie des glucides étaient donc limitées aux rôles structuraux (cellulose, chitine, etc....) et à l'accumulation et au transport d'énergie (amidon, glucose). La prise de conscience que les glycanes, libres ou sous la forme de glycoconjugués, pouvaient jouer des rôles extrêmement divers et de première

importance fut la motivation principale qui a donné naissance à la Glycobiologie moderne. Des découvertes majeures ont marqué l'élucidation du rôle des oligosaccharides :

- ❖ La structure glucidique des déterminantes du système ABH sanguin a été établie.
- ❖ L'interaction entre une hémagglutinine et l'acide sialique a été démontrée lors de l'agglutination des érythrocytes par le virus de la grippe.
- ❖ il a été observé que la défucosilation des lymphocytes empêche leur migration dans les tissus. En 1968, Ashwell et Morell identifièrent la première lectine animale, une protéine impliquée dans la clairance des glycoprotéines circulant dans le sang [2]. Cette découverte fût à l'origine des nombreuses recherches qui ont depuis été consacrées au rôle joué par les glucides dans les processus de communication et de reconnaissance moléculaire. [3]

3.1 -le processus de glycosylation

La glycosylation est le phénomène qui consiste à greffer des groupements glucidiques, ou encore glycanes sur les protéines et les lipides. C'est l'une des modifications les plus importantes dans la synthèse de protéines membranaires et sécrétées. La diversité des monosaccharides constituant les glycanes permet d'envisager une multitude d'assemblages possibles et rend compte de la complexité des structures glycaniques et de leur étude.

3-2- Les différentes structures glycaniques

La quasi-totalité des membranes externes de cellules animales est recouverte d'un manteau cellulaire, le glycocalyx, riche en polysaccharides et dont le rôle est de protéger la cellule des agressions chimiques et mécaniques mais également de régir les interactions intercellulaires.

La figure 2 schématise une membrane représentée avec les différentes structures glycaniques que l'on retrouve communément à la surface cellulaire.

[4]

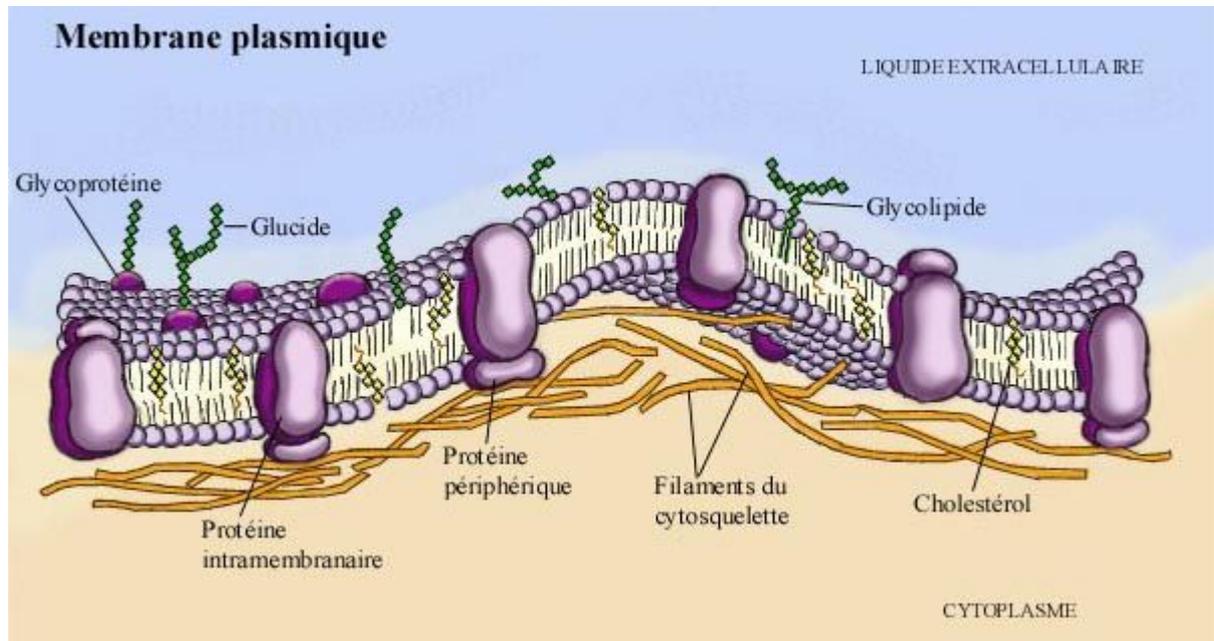


Figure 2. Schéma d'une membrane cellulaire avec les différentes structures glycaniques. [6]

3-2-1. Les glycoconjugués :

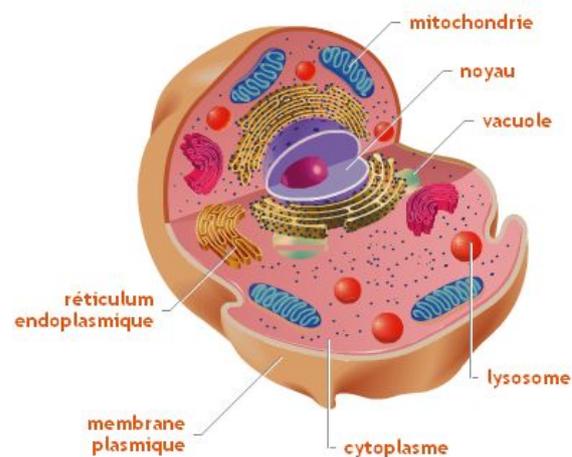
Les glycoconjugués sont des molécules constituées d'une partie glucidique (mono- ou oligosaccharide) liée de manière covalente à une partie non glucidique (aglycone). Ce sont des composants essentiels des membranes cellulaires, de la matrice extracellulaire et des liquides biologiques et ils sont particulièrement importants dans la vie des organismes pluricellulaires. Selon la nature de la partie aglycone on peut mettre en évidence trois classes différentes de glycoconjugués: les glycoprotéines, les glycolipides et les protéoglycannes.

A) Les glycoprotéines :

La glycosylation concerne plus de 50 % des protéines animales. Les glycoprotéines sont réparties dans les différents compartiments cellulaires (cytoplasme, noyau, lysosomes, RE, Golgi ou encore mitochondries) schéma**, la plupart étant sécrétée ou associée à la membrane plasmique.

Parmi les glycoprotéines, on distingue plusieurs grands groupes selon le type d'ancrage ou encore la proportion de glucides. Sur la base de la liaison entre la protéine et le glycanne on distingue deux grands types de glycosylation :

- ❖ La N- glycosylation où une asparagine et un GlcNAc sont invariablement impliqués dans la liaison.
- ❖ La O-glycosylation où le premier monomère de la chaîne glucidique est lié à un résidu hydroxylé, qui est le plus souvent une sérine ou une thréonine.



Schéma** d'une cellule animale

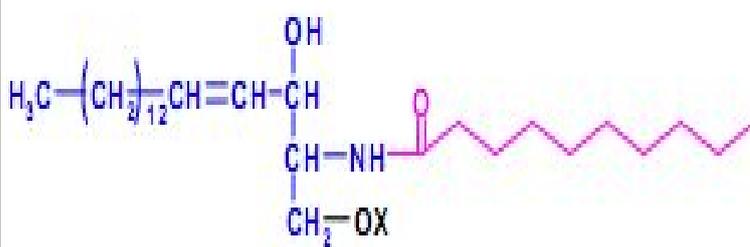
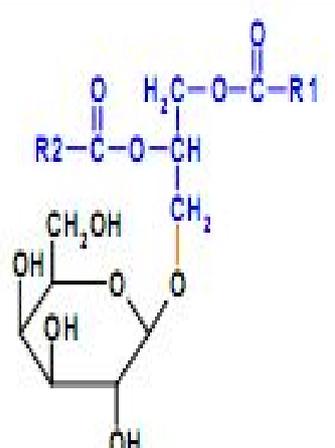
B) Les glycolipides

Les motifs oligosaccharidiques présents sur les protéines peuvent également être retrouvés sur les lipides pour former les glycolipides. Ces derniers se divisent en deux familles distinctes selon la nature de la base lipidique : sphingolipide ou glycérolipide (Tableau I). Les sphingolipides (céramides) résultent de l'association d'une sphingosine et d'un acide gras. Ils peuvent être glycosylés en C3 de la sphingosine pour donner différents types de glycosphingolipides (GSL) : les ganglio, isoganglio, globo, isoglobo, lacto, néo- lactocéramides qui se distinguent par la séquence de leurs chaînes glycaniques X [5]

Les glycolipides sont formés par une ou plusieurs unités monosaccharidiques, liées de façon covalente à une partie hydrophobe. Les glycolipides peuvent

être de type neutre ou acide. De nombreux glycolipides différents ont été identifiés et leur structure montre souvent des caractéristiques intéressantes.

Tableau 1: les différents types des sphingolipides :

Glycolipides	
glycosphingolipides	glycéroglycolipides
 <p>sphingosine</p>	

C) Les protéoglycanes

Ils représentent une classe spéciale de glycoprotéines dont la proportion de glucides peut atteindre 95%, ceux-ci se présentant sous la forme d'une ou plusieurs chaînes de glycosaminoglycanes non ramifiées. Les protéoglycanes sont rangés dans différentes catégories selon la nature de la chaîne glycanique et peuvent soit entrer dans la constitution de la membrane plasmique où ils forment de larges complexes, jouant alors un rôle dans les relations cellule-matrice, soit être transportés à l'extérieur de la cellule par exocytose s'intégrant alors à la matrice extracellulaire de manière non covalente sous forme de chondroïtine-sulfate, kératane-sulfate, héparane-sulfate etc....

3-2-2 Importance biologique des glycoconjugués

Les fonctions biologiques associées à la partie glucidique des glycoconjugués sont aussi nombreuses que leur diversité structurale. Cependant deux grandes familles des fonctions peuvent être mises en évidence : la fonction structurale et celle de reconnaissance moléculaire.

- **La fonction structurale et de modulation des propriétés physiques**

Ces molécules possèdent souvent une charge électrostatique élevée, ainsi qu'une surface importante et une hydratation importante. Ces propriétés physiques leur confèrent un rôle de stabilisation structurale, de solubilisation et de protection des glycoprotéines contre la protéolyse. Les glycoconjugués font aussi partie de la couche de haute densité moléculaire, le glycocalix, qui recouvre la surface des cellules épithéliales chez les eucaryotes. Cette zone participe à la cohésion cellulaire et à la protection de la cellule contre les chocs physiques et contre l'attaque de microorganismes.

a) Rôle des glycoconjugués in vivo

Les glycoconjugués ont une distribution ubiquitaire et sont retrouvés aussi bien en situation extracellulaire qu'en situation intracellulaire. Les réactions de glycosylation modifient les propriétés physico-chimiques d'une protéine ou d'un lipide mais les oligosaccharides représentent surtout des messages qui sont progressivement décodés et qui interviennent dans de multiples fonctions[7]

A l'intérieur de la cellule, les glycoconjugués participent à la modulation fonctionnelle de protéines cytoplasmiques ou nucléaires, au contrôle de la conformation des glycoprotéines sécrétées, ou bien encore ils contribuent à l'adressage de glycoprotéines vers certains compartiments. A la surface de la cellule, les glycoprotéines membranaires, les protéoglycanes et les glycolipides constituent des signaux de reconnaissance permettant des interactions intercellulaires. Ils ont également un rôle majeur dans la fonction, la destinée et la durée de vie des glycoprotéines sécrétées.

b) Les rôles de reconnaissance moléculaire :

Les oligosaccharides participent à de nombreux phénomènes de reconnaissance moléculaire de type récepteur-ligand impliquant des lectines et de nombreuses études confirment leurs rôles dans la vie sociale des cellules [8]. Les lectines reconnaissent généralement les monomères terminaux des oligosaccharides. Au niveau des structures périphériques des glycoconjugués (surtout O- glycanes et glycolipides), on trouve souvent des épitopes antigéniques comme les déterminants des groupes sanguins A,B et O (antigènes A, B, H) et Lewis (Lewis a, b, X et Y) ainsi que leurs dérivés sialylés. Par ailleurs, il a été montré que des anomalies de glycosylation accompagnent fréquemment les états physiologiques anormaux ou pathologiques, comme le cancer. En conséquence, ce sujet reçoit maintenant une grande attention et de nombreuses études ont été effectuées dans le but d'élucider les structures complexes et les rôles de ces glycanes.

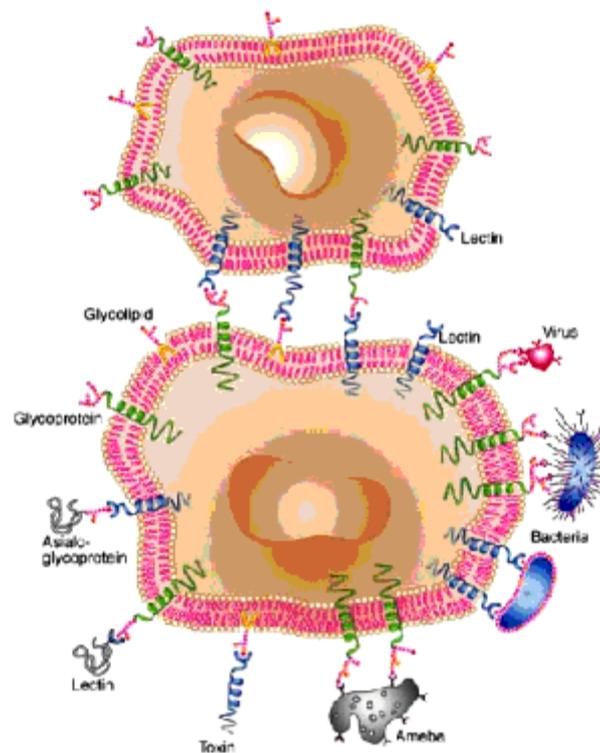


Figure 3. Exemple de rôles de glycoconjugués situés sur la surface cellulaire

c) Rôle de modulateurs chimiques et physico-chimiques

La présence de chaînes glycaniques sur les protéines affecte certaines de leurs propriétés telles que conformation, solubilité et stabilité [9,16,19,20]. Les chaînes glycaniques facilitent l'hydratation des protéines par rétention d'eau et stabilisent la conformation tridimensionnelle de la protéine en réalisant des interactions parfois nécessaires au repliement de la protéine dans sa conformation active. En outre, les sucres présentent une hydrophilie qui permet d'augmenter la solubilité de la protéine dans les milieux aqueux et évite dans certains cas la formation d'agrégats insolubles. Nombre de glycoprotéines, lorsqu'elles sont dépourvues de leur sucres, ne sont plus correctement secrétées. Les saccharides qui sont souvent répartis de manière homogène à la surface des protéines constituent une véritable barrière protectrice qui maintient la stabilité des protéines et leur confère une résistance à la chaleur et à l'attaque protéolytique. On peut aussi citer l'exemple des mucines qui sont naturellement hyper-glycosylées et forment des réseaux enchevêtrés composés de gels visqueux et élastiques qui protègent et lubrifient les membranes muqueuses qui les secrètent.

3.2-3 Processus biologiques

Les glycanes interagissent de manière très spécifique avec les récepteurs physiologiques et jouent de ce fait un rôle prépondérant dans un grand nombre de processus biologiques. [8] Ils se lient notamment avec des protéines spécifiques de la reconnaissance des sucres appelées lectines mais peuvent également interagir avec d'autres structures saccharidiques pour induire par exemple des répulsions inter-cellulaires (figure 3).

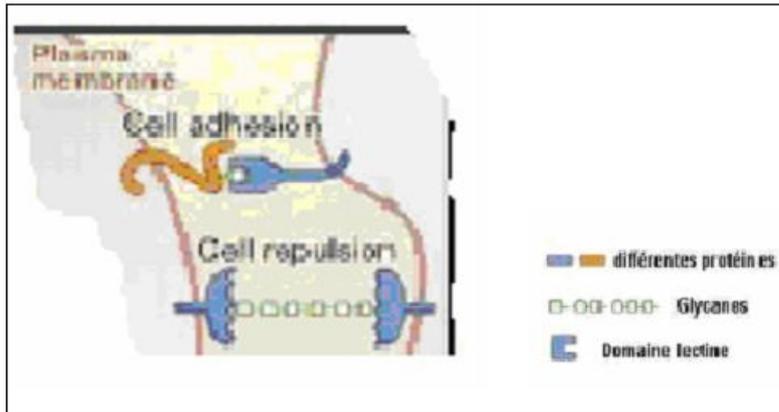


Figure 3. Fonction des glycanes dans les mécanismes cellulaires [7]

Plusieurs études ont montré que les glycanes participaient à l'adhésion cellulaire lors de phénomènes variés tels que la fécondation, l'interaction microbe-hôte ou encore lors d'une infection virale[10,21,18]. Lors d'une inflammation par exemple, les leukocytes sont amenés jusqu'au tissu infecté qui relargue des cytokines. Ces dernières vont stimuler l'expression de deux protéines : les sélectines E et P qui reconnaissent le tétrasaccharide sLe X(**antigènes membranaires**)et ses dérivés sulfatés présents à la surface des leukocytes et vont favoriser l'adhésion de ces derniers sur les cellules endothéliales endommagées[11]

3-Antigènes membranaires

On trouve à la surface des globules rouges (ou érythrocytes) des molécules capables d'être reconnues par le système immunitaire et de déclencher une réponse immunitaire. Ce sont les antigènes membranaires érythrocytaires. Leur nature chimique est variable protéine et glycoprotéine ou glycolipide (figure 1).il s'agit de transporteurs et canaux membranaires (protéines assurant les transports de molécules à travers la membrane), d'enzyme, de protéines structurales de la membrane (charpente du globule), de molécules d'adhésions ou de récepteurs membranaires (protéines capables de lier une molécule signal ou informative). [12] (La découverte du système ABO en 1901 par Landsteiner a permis d'expliquer pourquoi certaines transfusions sanguines étaient couronnées de succès alors que d'autres se terminaient en tragiques accidents (hémolyse des érythrocytes transfusés).[4]

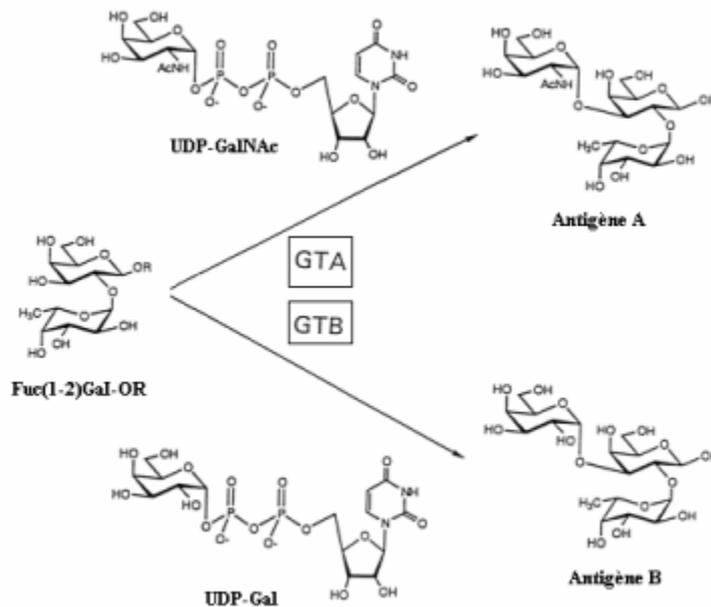


Figure7. Biosynthèse des antigènes du groupe sanguine A et B.

L'enzyme GTA humaine catalyse le transfert de GalNAc sur le processus Fuc a(1-2)GalB(-OR pour former l'antigène A Fuc a(1-2)[GalNAc a(1-3)]Galb-OR. Le GTB catalyse le transfert de Gal pour générer L'antigène B Fuc a (1-2)[Gala(1-3)]Galb-OR. R=residu glucidique attaché à une glycoprotéine ou un glycolipide. [13]

Ce système se définit par la présence ou non d'antigènes A, B ou O à la surface des globules rouges des individus et la présence ou non des anticorps associés dans le sérum. Les antigènes des groupes sanguins A et B représentés figure 7 sont des oligosaccharides, présents sur la membrane des globules rouges, et également sécrétés sous forme soluble dans la salive.

3-1 Les systèmes Lewis :

L'antigène Lewis a été identifié la première fois par un anticorps dans un échantillon de sérum provenant de Mme H.G.D.Lewis. Les antigènes de système Lewis sont d'un grand intérêt dans l'immunohistologie du fait qu'ils sont les seuls antigènes qui ne sont pas produits par les globules rouges .ce sont des glycoprotéines synthésisés par des glandes salivaires[14] et les cellules de tube digestif [15,17], ces glycoprotéines sont des substances hydrosolubles présentes éventuellement dans les sécrétions et le plasma et qui se fixe secondairement sur les chaînes glycosidiques qui portent les antigènes A, B et H en leur ajoutant de nouvelles spécificités Le(a) et Le(b).:

Les antigènes A, B et H sont des oligosaccharides portés par des glycolipides membranaires des hématies, des cellules épithéliales et endothéliales. L'antigène A et l'antigène B sont des trisaccharides, et l'antigène H est un disaccharide qui est l'épine dorsale des trisaccharides A et B.

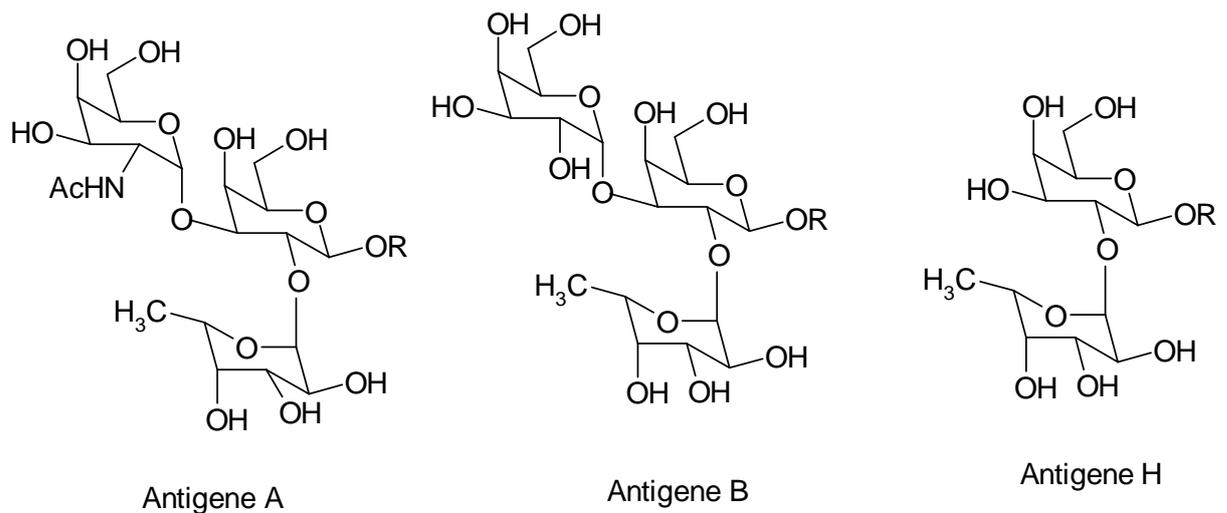
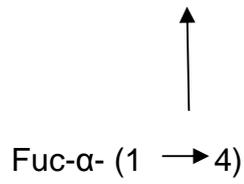
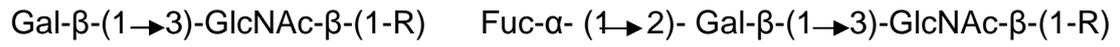
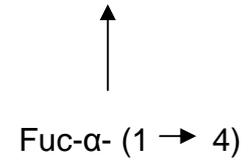


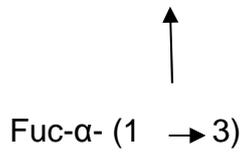
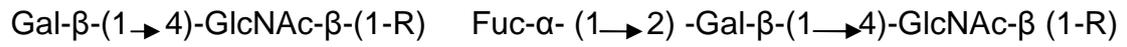
Figure : les structures des déterminants antigéniques A, B et H



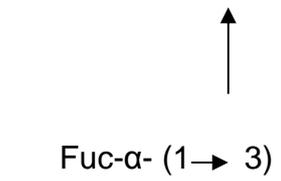
Lewis a



Lewis b



Lewis x



Lewis y

Structures des déterminants antigéniques Le^a, Le^b, Le^x, Le^y

Références:

- [1] G. Moroy, Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne-Ardenne. **2005**
- [2] G. Ashwell, A.G. Morell, the role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins. *Adv. Enzymol.*, 41, 99-128. **1974**
- [3] G. CIOCI, thèse de doctorat. Université de Grenoble I – Joseph Fourier. **2006**
- [4] V. Bourgeaux, thèse de doctorat. Université d'Orléans. **2006**
- [5] G. Tettamanti, J. Glycoconj Ganglioside/glycosphingolipid turnover: new concepts. 20 (5): 301-17. **2004**
- [6] P.H. Seeberger, D.B. Werz, Nat Rev Drug Discov. Automated synthesis of oligosaccharides as a basis for drug discovery. 4(9): 751-63. **2005**
- [7] K. Ohtsubo, J. D. MarthCell. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. 126 (5): 855-67. **2006**
- [8] A. Varki, *Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. Glycobiology*, 3, 97-130. **1993**
- [9] H. Lis, N. Sharon,. Protein glycosylation. Structural and functional aspects. *Eur. J. Biochem.*218 (1): 1-27. **1993**
- [10] D. J., Miller, M. B., Macek, B. D. Shur, Nature. Complementarity between spermsurface beta-1,4-galactosyltransferase and egg-coat ZP3 mediates sperm-egg binding. 357(6379): 589-93. **1992**
- [11] J. B. Lowe, Curr Opin Cell Biol. Glycan-dependent leukocyte adhesion and recruitment in inflammation. 15(5): 531-8. **2003**
- [12] C. Gourmala, thèse de doctorat, Université de Tlemcen, Algérie. **2005**
- [13] N.O. Seto, M.M. Palcic, C.A. Compston, H. Li, D.R. Bundle, S.A. Narang, Sequential interchange of four amino acids from blood group B to blood group A glycosyltransferase boosts catalytic activity and progressively modifies

substrate recognition in human recombinant enzymes. *J.Biol Chem.* 272 (22): 14133-8. **1997**

[14] U. Mandel, et al, Lewis blood group antigens in salivary glands and stratified epithelium: role of regulation of Lewis antigen expression in ductal and buccal mucosal lining epithelia *Vox Sang* 61: 14.205. **1991**

[15] C. Cordon-Cardo, et al. Immunohistologic expression of blood group antigens in normal human gastric tissue and colonic carcinoma *Int.J.cancer*37:667-76. **1986**

[16] O. Seitz, *Chembiochem.* Glycopeptide synthesis and the effects of glycosylation on protein structure and activity. 1(4): 214-46. **2000**

[17] J. Sakamoto, et al. Expression of Lewis a, Lewis b, X and Y blood group antigens in human colonic tumors and normal tissue and in human tumor-derived cell lines *cancer .Res* 46 : 61.1553. **1986**

[18] N.J. Sullivan, M. Peterson, Z.Y. Yang, W.P. Kong, H. Duckers, E. Nabel, G. J. Nabel, *J. Virol.* Ebola virus glycoprotein toxicity is mediated by a dynamin-dependent protein-trafficking pathway. 79 (1): 547-53. **2005**

[19] N. Mitra, S. Sinha, T.N. Ramya, and A. Surolia, *Trends Biochem Sci.* N-linked oligosaccharides as outfitters for glycoprotein folding, form and function. 31(3): 156-63. **2006**

[20] A. Helenius, and M. Aebi, Roles of N-linked glycans in the endoplasmic reticulum. *Annu Rev Biochem* 73: 1019-49. **2004**

[21] L.V. Hooper, and J.I. Gordon, *Glycobiology.* Glycans as legislators of host-microbial interactions: spanning the spectrum from symbiosis to pathogenicity. 11(2): 1R-10R. **2001**

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques et biochimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire. La modélisation moléculaire est un terme général qui englobe différentes techniques graphiques moléculaires et de chimie computationnelle permettant de dessiner, afficher, simuler, analyser, calculer et stocker les propriétés moléculaires. Dans les stations de calcul modernes, les molécules sont visualisées sous différentes formes et manipulées en trois dimensions. Les objets visualisés peuvent être issus de bases de données structurales tels que (Protein Data Bank) et CSD (Cambridge Structural Data) ou construits à partir de fragments élémentaires, ou par homologie de séquences dans le cas des protéines. Restera dans ce cas à calculer, à l'aide des techniques d'analyse conformationnelle, les géométries tridimensionnelles les plus vraisemblables pour la molécule étudiée. Le comportement des molécules peut être simulé de façon statique ou dynamique. Cette dernière inclut notamment le comportement et la flexibilité des molécules en solution, les mécanismes réactionnels et l'interaction mises en jeu dans la catalyse enzymatique, la reconnaissance ou la complexation.

Les techniques expérimentales les plus aptes à résoudre les structures tridimensionnelles sont principalement la diffraction (rayons X, électrons neutrons) pour des solides cristallins ou semi cristallins et la résonance magnétique nucléaire à haute résolution pour des solutions diluées ou des milieux orientés (phage, cristaux liquides). Dans beaucoup de cas, la modélisation moléculaire vient en complément de ces techniques car les données expérimentales ne suffisent pas à résoudre complètement la structure.

La modélisation des glucides n'a pas bénéficié du même essor que celui des protéines par suite de l'intérêt tardif porté aux sucres et de leur relative complexité. On rencontre beaucoup de difficultés lors de la modélisation des oligosaccharides car ils présentent un très grand nombre de conformations généralement trop dynamiques pour une étude par RMN, les données cristallographiques sont peu nombreuses car les monocristaux étant très difficiles à obtenir, elle nécessite la mise en œuvre de paramètres énergétiques particuliers. Des méthodes appropriées ont été développées pour l'analyse conformationnelle d'oligosaccharides dans différents milieux [1]. plus

récemment, la recherche dans ce domaine s'est fortement développée et des champs de forces, plus ou moins adaptés à l'étude des sucres ont été élaborés (CHARMM, MM3, CROMOS, AMBER).

1) Outils de la modélisation moléculaire

Les molécules peuvent adopter plusieurs conformations. La stabilité relative de ces conformations peut être évaluée par le calcul de l'énergie potentielle qui leur est associée. Trois méthodes principales de calcul de l'énergie sont mises en œuvre, elles sont généralement couplées à des méthodes de recherche de conformations (rotation symétrique autour des liaisons, algorithmes de grille, etc...) et des minimisations mathématiques permettant de calculer les minima de la fonction d'énergie. Ces trois méthodes de calcul théoriques sont la mécanique quantique (QM) (*ab initio* ou semi empirique), la mécanique moléculaire (MM) et la dynamique moléculaire (DM)

1-1 Les méthodes quantiques

Ces méthodes sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM). Leur complexité augmente rapidement avec le nombre d'électrons, impliquant des temps de calculs souvent rédhibitoires qui limitent l'usage à des petites molécules où nécessite le recours à de nombreuses approximations.

L'équation centrale dans la mécanique quantique est l'équation de Schrödinger :

$$\hat{H} \psi = E \psi$$

\hat{H} : l'Hamiltonien qui incorpore tous les termes d'énergie, ainsi bien ceux apportés par les noyaux (énergie cinétique et potentielle) que ceux apportés par les électrons.

Ψ : la fonction d'onde du système, fonction des coordonnées des noyaux, des électrons et contient toute l'information du système.

E : l'énergie totale.

Les propriétés moléculaires qui peuvent être calculées sont la géométrie, les spectres de vibrations, les spectres d'adsorptions UV, les moments dipolaires, les spectres électroniques et les fonctions responsables de la réactivité chimique (Orbitales HOMO, LUMO, etc...). Les principales variantes sont la méthode de Huckel et les méthodes de champ auto cohérent (Self Consistent Field, SCF).

La méthode de Huckel est la plus simple parmi toutes les méthodes. Elle ne prend en compte que les électrons π et utilise des approximations assez draconiennes. Malgré cela elle permet d'interpréter une grande part de la réactivité chimique.

Les méthodes de champ auto cohérent (Self Consistent Field, SCF) prennent en compte les électrons σ et π , et reposent sur des calculs plus élaborés que la méthode de Huckel. On distingue deux variantes, suivant la manière dont les termes d'énergie électroniques sont calculés:

- ❖ Les méthodes *ab initio* dont tous les termes énergétiques sont calculés et dont les temps de calcul sont très longs.
- ❖ Les méthodes semi empiriques ou les termes les plus difficiles à calculer sont négligés ou estimés à partir de données expérimentales. Les temps de calcul sont considérablement raccourcis, mais la méthode tributaire des composés qui sont servi à l'étalonner. Selon la nature des approximations utilisées, on distingue plusieurs variantes (MNDO, AM1, ..).

1-2 Les méthodes non quantiques

La limitation la plus sévère des méthodes *ab initio* sont associée à la taille limitée de la molécule qui peut être modélisée même sur les plus grands ordinateurs. Des calculs semi empiriques peuvent être utilisés pour des grandes molécules organiques, mais sont aussi trop coûteuse de temps de calcul de l'ordinateur pour la plupart des systèmes biomoléculaires.

L'avantage des méthodes de la mécanique moléculaire et de la dynamique moléculaire, par rapport aux méthodes quantique, réside du fait que leurs équations sont assez simples.

1-2-1 Mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est basée sur l'approximation de Born Oppenheimer selon laquelle les électrons sont beaucoup plus rapides que les noyaux et ces derniers sont donc implicitement traités. La mécanique moléculaire est une méthode empirique où les atomes (les noyaux) sont représentés par des masses ou des sphères, et les liaisons par des ressorts de différentes forces. Les valeurs de ces forces proviennent de données expérimentales de spectroscopie vibrationnelle (IR, Ram), de données de diffraction de rayons ou de valeurs obtenues par les méthodes *ab initio*. Le calcul de l'ensemble de ces forces, selon les règles établies pour les oscillations harmoniques, permet d'obtenir l'énergie moléculaire et déterminer la structure tridimensionnelle.

L'énergie conformationnelle est la somme de termes d'interactions évalués à partir de tables recalculées (les champs de forces) contenant les constantes d'élongation, de déformation angulaire, de torsion, d'attraction et répulsion électronique. L'énergie stérique s'exprime par l'équation suivante :

$$E = E_{\text{stretching}} + E_{\text{bending}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{elec}} + E_{\text{hydrogene}}$$

Chacun de ces termes est représenté par une fonction analytique dont les constantes ont été déterminées empiriquement. Le terme "stretching" représente l'élongation de la liaison. Le terme "bending" représente la variation des angles. Le terme "torsion" se rapporte à l'énergie de torsion des angles dièdres.

Le terme "vdw" prend en compte des énergies d'interaction non covalente entre atomes non liés. Le terme "elec" prend en compte des énergies d'interaction électrostatiques entre atomes non liés. Le terme "hydrogen" prend en compte des liaisons hydrogènes.

L'énergie stérique peut être divisée en deux groupes :

- ❖ interaction entre atomes liés par deux ou trois liaisons chimiques (énergie de stretching, bending...)

- ❖ interaction entre atomes non liés (ou séparés de plus de trois liaisons chimiques), énergie électrostatique, de liaison hydrogènes, de van der Waals.

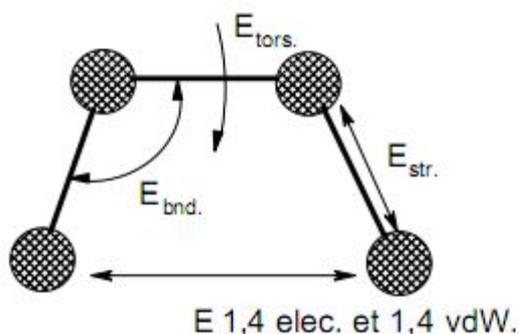


Figure 1 : Les déformations en mécanique moléculaire.

La structure 3D d'une molécule résulte des interactions intermoléculaires et des interactions avec le solvant. La recherche des conformations consiste donc à déterminer les minima de l'énergie globale d'interaction qui en générale est réduite aux interactions intramoléculaires. La minimisation consiste à modifier par incréments la géométrie jusqu'à obtenir un minimum local. Aucun un algorithme de minimisation ne permet de garantir de façon absolue l'obtention de vraie minima (ou minimum global). C'est pourquoi il est fortement conseillé, après une minimisation d'explorer l'espace conformationnelle en utilisant des techniques de recherche conformationnelle qui consiste à effectuer un grand nombre de minimisations à partir de points différentes, puis à choisir le minimum. Différentes méthodes sont disponibles pour trouver le minimum de la fonction d'énergie potentielle par exemple les méthodes de la plus grande pente et celle de gradient conjugué.

La méthode de la plus grande pente, ou steepest descent (SD)[2], consiste à rechercher la direction de la plus grande pente au cours de laquelle la fonction d'énergie décroît le plus rapidement. La direction de minimisation suivie sera celle indiquée par l'opposé du gradient. Cette méthode permet en générale de déterminer rapidement une direction de minimisation, mais converge mal au voisinage d'un minima...

La méthode de gradient conjugué, ou “ conjugated gradient ” (CG) [3], permet de prendre en compte les valeurs de gradient mais aussi la direction de déplacement de l'étape précédente. Cette méthode donne en générale une meilleure convergence que la méthode de la plu grande pente.

L'avantage principal de la mécanique moléculaire par rapport aux autres méthodes est la rapidité des calculs, ceci est dû à une simplification des équations du champ de force. La simplification considérable de calcul en résulte permet de travailler sur des molécules de grande taille telles que les macromolécules biologiques ou les systèmes comportant un grand nombre de molécules. En revanche, cette méthode ne prend pas en compte la structure électronique moléculaire. Il est donc impossible d'étudier des systèmes dans lesquels les effets électroniques sont prédominants. Ainsi, la validité des résultats (résultats des énergies) ne dépend que de la paramétrisation originale des constantes internes au champ de force.

La recherche conformationnelle ne peut pas explorer tout l'espace et il est donc impossible d'être certain d'avoir atteint le minimum absolu. Pour explorer davantage l'espace conformationnelle disponible d'une molécule nous avons recours à d'autres méthodes comme celle de la dynamique moléculaire.

1-2-2 Dynamique moléculaire

La Dynamique Moléculaire simule, à partir des lois de la mécanique classique, les trajectoires des atomes en phase cristalline, en solution ou en phase gazeuse Elle donne l'évolution d'un système dans l'espace conformationnelle au cours du temps. Une résolution numérique des équations classiques du mouvement est utilisée pour calculer l'énergie du système le long de son parcours sur la surface de potentiel du système.

1- Principe :

Les simulations de dynamique moléculaire consistent à calculer les positions et les vitesses d'un système d'atomes. En dynamique moléculaire classique, chaque atome de la molécule est considéré comme une masse

ponctuelle dont le mouvement est déterminé par l'ensemble des forces exercées sur lui par les autres atomes en fonction du temps.

A une température donnée, une vitesse initiale est attribuée à chaque atome. À partir de ces vitesses, considérées constantes, la position des atomes change en $v_i \partial t$, où v_i est la vitesse de l'atome i et ∂t est l'incrément de temps. Avec ces nouvelles coordonnées, on détermine les forces qui agissent sur chaque atome (équation 1) selon le champ de force et le potentiel utilisé, et selon la seconde loi de Newton, on attribue les nouvelles vitesses et positions.

$$\vec{F}_i(t) = m_i \cdot \vec{a}_i(t) \quad (1)$$

m_i : Masse de l'atome i

\vec{a}_i : Accélération de l'atome i

\vec{F}_i : Force s'exerçant sur l'atome i

L'accélération étant dérivée des coordonnées $\vec{r}_i(t)$ d'un atome i à un instant t , on en déduit que :

$$\vec{F}_i(t) = m_i \cdot \frac{d\vec{v}_i(t)}{dt} = m_i \cdot \frac{d^2 \vec{r}_i(t)}{dt^2} \quad (2)$$

Si $\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n$ sont les coordonnées des différents atomes à un instant t , on peut déterminer la force \vec{F}_i qui s'exerce à cet instant sur un atome i par dérivation par rapport à ses coordonnées spatiales de la fonction énergie potentielle $E(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n)$

Pour obtenir la trajectoire des atomes en fonction du temps, on va réaliser une intégration numérique sur un court intervalle de temps des équations de mouvements. Ces équations de mouvements sont résolues. Il faut, pour réaliser une simulation de dynamique moléculaire, à partir d'une structure

raisonnable du système (expérimentale ou modèle) que l'on veut étudier de déterminer les coordonnées et vitesses initiales en procédant ainsi :

- Une minimisation d'énergie du système fournira le jeu de coordonnées de départ de la dynamique. Cette étape de minimisation nécessaire permet d'éviter qu'une énergie mécanique trop forte ne détériore l'assemblage moléculaire dès le début de la production de dynamique moléculaire.
- Les vitesses de départ des atomes sont attribuées aléatoirement à partir d'une distribution gaussienne de Maxwell-Boltzman correspondant à la température T.

2- Limitation de la dynamique moléculaire :

La dynamique représente une évolution temporelle des mouvements moléculaires et permet d'étudier les propriétés dépendantes du temps telles que la diffusion ou le repliement moléculaire. Elle ne permet pas en revanche d'étudier des réactions chimiques telles que les transitions électroniques, les phénomènes de transport de protons ou d'électrons ou les formations ou ruptures de liaisons covalentes.

3- Le RMSD :

Un paramètre permettant de mesurer la distance existant entre deux structures tridimensionnelles S1 et S2 d'une molécule de N atomes est le Root-Mean Square Deviation (déviations quadratique moyenne) ou RMSD. Il est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\text{RMSD} = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \|\vec{r}_{1i} - \vec{r}_{2i}\|^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

Ou : $\vec{r}_{1i} = (x, y, z)$ de l'atome i dans la structure S1

$\vec{r}_{2i} = (x, y, z)$ de l'atome i dans la structure S2.

4-Un calcul de dynamique moléculaire :

Une dynamique moléculaire se compose de trois phases distinctes:

a) Initialisation :

La dynamique moléculaire requiert un jeu de coordonnées et vitesses initiales. La géométrie de départ utilisée provient d'une structure établie expérimentalement lorsque c'est possible, si non elle générée à partir du champ de force utilisé. L'énergie du système est minimisée afin d'éliminer toutes les interactions fortement défavorable, qui, si elles étaient conservées, perturberaient la simulation. Les vitesses initiales sont attribuées selon la statistique de Boltzmann.

b) Thermalisation :

Il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée.

On utilise comme structure initiale la structure minimisée. On tire aléatoirement le jeu de vitesse initiale, soit à Zéro à des vitesses correspondants à quelques dizaines de Kelvin. On intègre ainsi les équations du mouvement en multipliant régulièrement les vitesses afin d'augmenter la température jusqu'à la température de référence (généralement 300K).

Une montée en température demande en général 2 à 10 ps de simulation (200 à 1000 pas d'intégration Δt).

c) Equilibration :

C'est une phase importante au cours de laquelle on stabilise la température du système, il y a alors un échange important entre énergie potentielle et énergie cinétique. C'est une phase où on contrôle régulièrement la température que l'on ramène dans la fenêtre souhaitée. La température de déviation se fait suivant un processus de relaxation où la température est recalculée après chaque étape et ramenée à la température de référence par la formule :

$$d/dtT = \tau^{-1}(T_0 - T)$$

Avec τ : temps de relaxation.

T_0 : Température de référence

T : Température du système.

Durant la phase d'équilibration la valeur de τ doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement $\tau = 10$ fs). Cette phase peut durer de 10 à 20 ps.

La dynamique la plus classique se fait à température constante avec un scaling des vitesses, mais un temps de relaxation plus grand (0.1 à 0.4 Ps) pour permettre d'évaluer l'équilibre propre du système. Il est conseillé d'enlever les contraintes ($\Delta t = 2$ fs) durant cette phase de dynamique. [4]

2-champs de forces utilisés pour les hydrates de carbone

Les champs de forces en mécanique moléculaire ont été développés pour décrire une variété de systèmes tels que les composés organiques les protéines et les acides nucléiques. Cependant les caractéristiques d'un groupe fonctionnel particulier peuvent dépendre de l'environnement chimique il n'est donc pas possible de transférer les paramètres d'énergie potentielle de mécanique moléculaire développés pour un cas spécifique à la description du même groupe dans un environnement différent. Pour cette raison les fonctions d'énergie potentielle et les ensembles de paramètres développés pour des protéines ou pour les molécules organiques générales peuvent ne pas être appropriées pour des systèmes d'hydrate de carbone. Plusieurs fonctions d'énergie potentielle d'hydrate de carbone et ou ensembles de paramètres sont disponibles dans la littérature. Les champs de forces suivants sont largement appliqués ou ont été conçus particulièrement pour l'hydrate de carbone.

Les champs de forces MM2 et MM3 sont des champs de force de mécanique moléculaire au début conçus les hydrocarbures mais maintenant applicable à un éventail de composés [5,14,15]. Tvaroska et Pérez.

(1986)[13] ont édité une version modifiée pour des oligosaccharides appelés MM2CARB.

Le champ de force GROMOS a été développé pour des simulations de dynamique moléculaire des protéines, nucléotides, les simulations d'hydrate de carbone polaires ou apolaires ou dans leur forme cristalline et a été modifié pour inclure l'effet exo-anomérique [6] .

Le champ de force CHARMM est conçu pour modéliser (mécanique et dynamique moléculaire) les systèmes macromolécules[7], plusieurs améliorations ont été proposées pour l'hydrates de carbone[8] .

Le champ de force AMBER a été développé pour des simulations des protéines et d'acides nucléiques[9] .la modification de ce champs de force pour une analyse conformationnelle des oligosaccharides a été faite par (Homans, 1990)[17] et (Glennon, 1994) [18]et plus récemment Momany et Willet[19] , qui ont présenté un champ de force particulièrement modifié pour des liaisons α -(1-4). Woods *et al.* Ont développés les paramètres GLYCAM qui sont intégrables avec AMBER [10] pour la simulation des glycoprotéines et oligosaccharides en dynamique moléculaire.

La version d'AMBER utilisée dans MACROMODEL [20] a été étendue aux paramètres des hydrates de carbones et validée par calcul de l'énergie libre des structures simples et disaccharidiques [11].

Les applications de ces champs de force est l'ensemble des paramètres à un certains nombre de cas ont donné une image cohérente entre la structure et l'énergie des molécules. [12]

References:

- [1] Q. Imberty, et al. Computer simulation of histo-blood group oligosaccharides: energy maps of all constituting disaccharides and potential energy surface of 14 ABH and Lewis carbohydrate antigens. *Glycoconjugate J.* 12: 331-49. **1995**
- [2] K.B. Wiberg, Intermolecular interactions in molecular mechanics calculations. *Computer & chemistry* 1:221-3. **1977**
- [3] J.D. Powell, Restart procedures for the conjugate gradient method. *Mathematical programming* 12: 241-54. **1977**
- [4] I. Abdeli, thèse de magister, Université de Tlemcen, Algérie. **2006**
- [5] N.L. Allinger, Conformational analysis.130.MM2.A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. *J. Am. Chem. Soc.* 99: 8127. **1977**
- [6] K.H. Ott, et al. Parameterization of GROMOS force field for oligosaccharides and assessment of efficiency of molecular dynamics simulations. *J. Comput. Chem.* 17: 1068. **1996**
- [7] Books, et al. CHARM: A program for macromolecules energy, minimization, and dynamics calculations. *J. Comput. Chem.* 4:187-217. **1983**
- [8] S.N. Ha, et al. A revised potential-energy surface for molecular mechanics studies of carbohydrates. *Carbohydr. Res.* 180: 207. **1988**
- [9] S.J. Weiner, et al. A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins. *J. Am. Chem. Soc.* 106: 765. **1984**
- [10] R.J Woods, et al. The application of molecular modelling techniques to the determination of oligosaccharide solution conformations reviews in computational chemistry, lipkowitz and D.B Boyd Eds., VCH publishers: New York 9,129-65, **1984**
- [11] H.M. Senderowitz, et al. A quantum mechanically derived all-atom force field for pyranose oligosaccharide. Amber parameters and free energy simulations: *J. Org. Chem.* 62, 1427. **1997**

- [12] C. Gourmala, thèse de doctorat, Université de Tlemcen, Algérie, **2005**
- [13] Tvaroska, et al. Conformational-energy calculations for oligosaccharides: a comparison of and strategy of calculation. *Carbohydr. Res.* 149:389, **1986**
- [14] N.L. Allinger, molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. *J.Am.Chem.Soc.* 111:8293. **1989**
- [15] N.L. Allinger, Molecular mechanics force field MM3 for alcohols and ethers. *J.Am.Chem.Soc.* 112:8551. **1990**
- [16] S. Reling. et al. Force field parameters for carbohydrates. *J. Comput. Chem.* 17: 450. **1996**
- [17] S.W. Homans, A molecular mechanical force field for the conformational analysis of oligosaccharides: comparison of theoretical and crystal structures of Man alpha 1-3 Man beta 1-4 GlcNAc. *Biochemistry* 29:9110. **1990**
- [18] T. Gelnnon, et al. A force field monosaccharide and (1-3) linked polysaccharides. *J.Comput.Chem.* 15: 1019. **1994**
- [19] F.A. Momany, et al. Computational studies on carbohydrates: in vacuo studies using a revised Amber force field, AMB99c, designed for alpha (1-4) linkages. *Carbohydr.Res.* 326:194. **2000**
- [20] F. Mohamadi, et al. MacroModel-An integrated software system for modeling organic and molecular mechanics. *J.comput.Chem.* 11:440. **1990**
- [21] D. Frenkel, B. Smit, Understanding molecular simulations: From algorithms to applications, *Academic press*: San, Diego. **1996**
- [23] P. Bamborough, F. E. Cohn, Modeling protein-ligand complexes, University of California, San Fransisci. **1995**

Chapitre III : analyse conformationnelle

Les organismes vivants sont constitués essentiellement de macromolécules formées de longues chaînes d'atomes qui adoptent, en se repliant, une structure spatiale bien définie. La fonction biologique de chaque macromolécule est étroitement reliée à sa structure, d'où l'intérêt de déterminer celle-ci. Depuis les années 50, l'importance des relations structure-fonction a largement encouragé le développement de méthodes de détermination de structures moléculaires [14]. Il existe quatre grandes familles de biopolymères :

Les protéines, les acides nucléiques, les lipides et les polysaccharides.

1 - LA MODÉLISATION MOLÉCULAIRE

Aujourd'hui, l'information concernant les séquences en monomères constitutifs et les structures des macromolécules biologiques est en pleine explosion. Cette information est diffusée rapidement et facilement à travers des réseaux informatiques. Le développement de ces réseaux associé à la démocratisation de l'accès aux moyens informatiques et graphiques font que la modélisation a déjà adopté dans la plupart des laboratoires qui étudient les macromolécules biologiques.

Au sein de l'ordinateur, la représentation d'une macromolécule consiste en un ensemble de coordonnées atomiques, une liste des liaisons chimiques et un jeu de fonctions et de paramètres constituant le potentiel d'interaction "champ de force". Le potentiel d'interaction qui détermine l'énergie conformationnelle de la macromolécule est constitué de deux types de termes qui représentent respectivement les interactions entre atomes liés et entre les atomes non liés. Il faut souligner que la précision de la modélisation est directement liée à la qualité du potentiel utilisé [15]. Récemment d'ailleurs, il a été proposé que l'énergie hydrophobe joue un rôle primordial dans la structuration des molécules [16]. Néanmoins, à cause des limitations computationnelles, le choix du potentiel est toujours un compromis entre sa qualité et le coût des calculs qu'il engendre. Au fur et à mesure que la puissance des ordinateurs augmente, il sera possible d'améliorer les

potentiels et d'arriver à un jeu de fonctions et de paramètres optimaux pour chaque type de simulation [17]. Une fois le potentiel défini, chaque simulation nécessite une conformation moléculaire servant de point de départ. En général, celle-ci provient soit d'informations expérimentales, soit par homologie avec une autre molécule de structure connue. Pour trouver les conformations les plus stables, la complexité de l'espace conformationnel des macromolécules rend l'emploi de la minimisation d'énergie délicate. En effet, dans la plupart des cas, c'est un minimum local et non un minimum global qui est déterminé. Pour tenter de s'affranchir de ces problèmes, il existe différentes méthodes dont la dynamique moléculaire.

La modélisation moléculaire est un outil complémentaire à l'expérimentation. De plus, elle permet d'obtenir des grandeurs qui sont au-delà des possibilités expérimentales et ceci dans des conditions parfaitement contrôlées de pureté, de pression, de température, etc. Dans plusieurs domaines biologiques, la modélisation a déjà contribué à comprendre les facteurs énergétiques qui contrôlent les structures et les interactions des molécules. Elle a permis de mettre en évidence le rôle de la dynamique dans les systèmes biologiques. Ainsi, il est possible de suivre en détail l'accès des substrats à des sites enzymatiques, de voir des transitions conformationnelles s'accomplir, d'étudier l'influence de l'eau sur le comportement des structures macromoléculaires et de comprendre les couplages entre différents mouvements [17].

Un domaine où la modélisation joue un rôle indispensable est l'affinement des structures macromoléculaires obtenues par diffraction des RX et par spectroscopie RMN [18]. En ce qui concerne la prédiction *ab initio* de la structure de biopolymères, c'est-à-dire en partant uniquement de la séquence des unités monomériques, la modélisation apporte des informations mais ne permet pas d'élucider actuellement la totalité du problème.

Dans le cas des protéines, la modélisation avance à grands pas [19, 22,30]

La modélisation a également aidé à comprendre les interactions entre l'ADN et les médicaments, études en plein développement dans le secteur pharmaceutique. Une autre grande famille de biopolymères, les

polysaccharides, pose des problèmes majeurs à cause de la taille et de la diversité des structures qu'ils forment. De surcroît, ces molécules sont difficiles à étudier expérimentalement et relativement peu de structures ont été établies par la diffraction des RX ou par spectroscopie RMN. En conséquence, la modélisation a un rôle important à jouer. Des logiciels et des champs de forces spécialement adaptés à l'étude des

Polysaccharides existent déjà et le nombre de tentatives de prédictions structurales est en évolution rapide [20,23]. La modélisation peut également servir à étudier le comportement de bicouches lipidiques pures et tenter de simuler des molécules amphiphiles au sein des bicouches. De nombreux travaux ont été entrepris par le professeur Brasseur et son équipe dans ce domaine [21,31].

La modélisation est encore loin de pouvoir prédire le repliement des protéines ou la géométrie fine des complexes protéine-acide nucléique. Beaucoup de processus biologiques sont trop lents pour être simulés par la dynamique moléculaire telle qu'elle est pratiquée aujourd'hui et la majorité des complexes macromoléculaires sont trop vastes pour être modélisés en détail. Mais les résultats déjà obtenus ainsi que les progrès techniques et algorithmiques grandissants nous encourageons à penser que la modélisation continuera à faire progresser notre compréhension dans ces domaines.

2- Minimisation de l'énergie stérique :

Une fois le champ de force établi (expression de l'énergie choisie, constantes de force et valeurs de références calculées) on peut calculer l'énergie d'une structure moléculaire donnée. Le but de la mécanique moléculaire est alors, en fait, de déterminer la géométrie de la structure de façon à ce qu'elle ait une énergie minimale. Le rôle de la minimisation est essentiellement de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts intra atomiques. Les structures « minimisées » correspondent généralement au minimum local le plus proche de la structure de départ plutôt qu'au minimum global d'énergie.

Cette détermination de la conformation moléculaire de plus basse énergie est effectuée par minimisation de l'énergie. Elle peut se faire selon différentes méthodes mathématiques, leur principe étant d'ajuster (à partir d'une conformation initiale) les paramètres géométriques de la structure moléculaire de façon à minimiser la valeur de la fonction énergétique.

Le principe de base de la minimisation est qu'à partir d'une géométrie très approximative, on recherche le jeu de coordonnées cartésiennes qui réduit à son minimum la somme de toutes les contributions énergétiques dues aux déformations des coordonnées internes et aux interactions entre atomes non liés. En principe, il suffit de prendre la dérivée première de l'énergie stérique par rapport à chacun des degrés de liberté de la molécule et de trouver l'endroit sur l'hypersurface énergétique où, pour chaque coordonnée r_i , $(dE/dr_i) = 0$. Les procédures pour atteindre ce but sont de deux types : les unes utilisent uniquement la pente de la surface (dérivée première), les autres, à la fois cette pente et la courbure de la surface (les dérivées première et seconde). Presque toutes les méthodes de minimisation ont au moins un point en commun : on commence à un endroit donné de l'hypersurface et on descend vers le minimum le plus proche, sans savoir si ce minimum est local ou absolu. On doit donc présenter à l'ordinateur plusieurs conformations de départ, sous forme de coordonnées internes, en s'inspirant de modèles moléculaires [1].

Les méthodes de minimisation ne déterminent ainsi que la conformation stable la plus proche en énergie de la conformation initiale de la structure moléculaire, celle-ci pouvant correspondre à un minimum énergétique global ou simplement local.

Les minima locaux sont inévitables car les longueurs de liaison et les angles de valence sont rapidement optimisés au stade initial de la minimisation ; mais quand ces derniers ont atteint leur valeur d'équilibre, d'autres mouvements torsionnels sont inhibés, pour réduire d'avantage l'énergie totale du système il faut pouvoir un déplacement de plusieurs atomes [2].

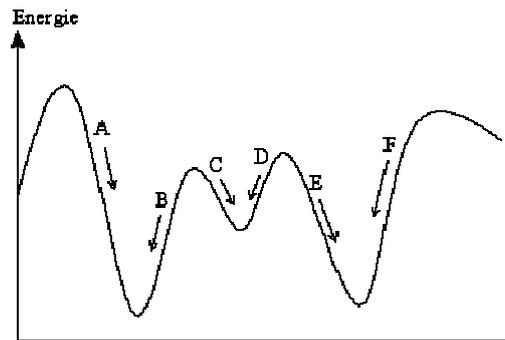


Figure 1: Convergence de la fonction énergie vers un minimum global ou local selon la conformation initiale de la structure moléculaire.

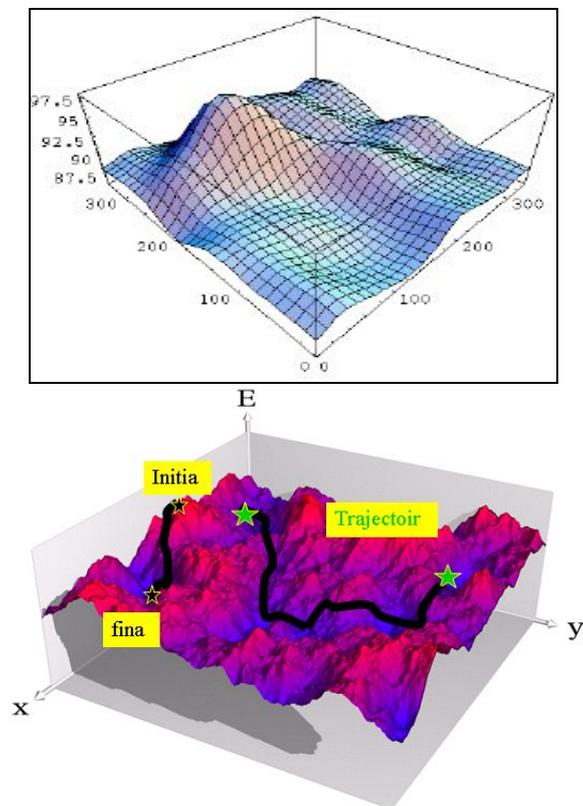


Figure 2 : Notion de surface d'énergie potentielle.

3- Méthodes de minimisation :

3-1 Méthode de minimisation "*steepest descent*" :

La méthode de minimisation "*steepest descent*" (de pente la plus importante) se base sur le calcul de la dérivée première de la fonction énergétique par rapport aux coordonnées géométriques afin de déterminer la distance au minimum énergétique le plus proche et dans quelle direction modifier les coordonnées de chaque atome de la structure.

Cette méthode à l'avantage de converger très rapidement lorsque la conformation initiale de la structure est éloignée d'un minimum énergétique, mais la convergence autour de ce minimum est très lente. C'est pourquoi elle est souvent utilisée en première approximation, dans le but de diminuer les calculs. Cette méthode marche bien lorsque le gradient r est grand et possède une faible convergence car ce dernier devient faible rapidement à l'approche du minimum [3].

3-2 La méthode de minimisation "*conjugate gradient*" :

La méthode de minimisation "*conjugate gradient*" (de gradient conjugué) se base sur le calcul du gradient de la fonction énergétique par rapport aux coordonnées géométriques afin de déterminer la distance au minimum énergétique le plus proche et dans quelle direction modifier les coordonnées de chaque atome de la structure.

Le gradient correspondant à une conjugaison des dérivées premières entre elles, cette méthode reprend donc, de manière plus précise, le principe des méthodes de minimisation de type "*steepest descent*".

Cette méthode à l'avantage de donner des résultats plus précis que la méthode "*steepest descent*" mais nécessite des temps de calcul importants lorsque la structure est éloignée d'un minimum énergétique. C'est pourquoi elle est souvent utilisée à la suite de la méthode "*steepest descent*", dans le but d'obtenir des résultats plus précis. On rencontre des problèmes de calcul lorsque la conformation initiale est loin du minimum [4].

3-3- La méthode de minimisation de *Newton-Raphson* :

La méthode de minimisation de Newton-Raphson se base sur le calcul du gradient de la fonction énergétique par rapport aux coordonnées géométriques afin de déterminer dans **quelle direction en modifiant (peut on)** les coordonnées de chaque atome de la structure pour minimiser l'énergie. La distance au minimum énergétique le plus proche, dans cette direction, est alors déterminée à partir des dérivées secondes de la fonction énergétique.

Cette méthode à l'avantage de conduire à des résultats très précis mais nécessite des temps de calcul très importants. C'est pourquoi il est nécessaire de la mettre en œuvre en association avec les méthodes "*steepest descent*" ou "conjugate gradient" dans le but de limiter les calculs les plus importants à des structures proches d'un minimum énergétique. On peut rencontrer des problèmes lorsque la conformation initiale est éloignée du minimum [4].

3-4- Méthode du recuit simulé :

Les méthodes précédentes ont la particularité de faire décroître à chaque pas la fonction d'énergie ; elles ne peuvent donc pas échapper au minimum local proche de la structure de départ, et ont par conséquent un rayon de convergence toujours restreint. La méthode du recuit simulé, développée par Kirkpatrick (1983), autorise la fonction d'énergie à augmenter momentanément afin de franchir des barrières d'énergie pour retomber dans un minimum plus profond. Le franchissement de ces barrières permet d'aller au-delà des minima locaux au voisinage de la structure initiale pour explorer de façon plus extensive l'espace conformationnelle accessible, afin de découvrir des minima plus profonds et plus éloignés de la structure initiale que les minima locaux [2].

3-5- Méthode du simplex :

- Elle se limite à un calcul direct de l'énergie observé si elle augmente ou diminue.
- Elle fonctionne bien si on a 20 variables ou moins.

- Elle consiste en essais successifs représentant une triangulation de l'hypersurface ; c'est à dire qu'on examine le sens et l'amplitude des variations de la fonction dans différentes directions pour suivre celles qui mènent vers un minimum. Néanmoins, il devient nécessaire de disposer d'une procédure qui part d'une structure approchée et déplace les atomes vers leurs coordonnées optimales d'une façon moins aléatoire [2].

3-6- Conjugaison des différentes méthodes de minimisation :

Compte tenu des avantages et limitations de chacune des méthodes de minimisation de l'énergie, celles-ci sont le plus souvent conjuguées afin d'utiliser leur vitesse de convergence et leur précision dans leur domaine d'application.

Ainsi, en mécanique moléculaire, la minimisation d'une structure moléculaire met souvent en œuvre un calcul de type "conjugate gradient", permettant une convergence rapide vers le minimum énergétique le plus proche, suivi d'un calcul de type Newton-Raphson, permettant une convergence précise vers ce minimum.

4- Analyse conformationnelle :

L'analyse conformationnelle est une méthode qui permet de calculer l'énergie relative associée à la conformation d'une molécule [2]. Son but est donc de trouver le plus de minima possible, et de calculer la population de Boltzmann [5].

$$\left. \begin{array}{l} N_i = N_0 \exp(-E_i / KT) \\ N_j = N_0 \exp(-E_j / KT) \end{array} \right\} \Rightarrow N_i / N_j = \exp(-\Delta E_{ij} / KT)$$

E_i : Energie de la molécule.

K : Constante de Boltzmann.

T : Température (Kelvin).

Les molécules flexibles présentent un nombre astronomique de conformations différentes, mais les plus importantes sont celles ayant une

énergie libre suffisamment basse pour qu'elles puissent être peuplées à des températures raisonnables [6].

Un des modèles les plus réussis utilisés en chimie computationnelle est la surface d'énergie potentielle (Potential Energy Surface « PES ») figure 3. C'est une représentation remarquable des molécules individuelles, des complexes moléculaires et des interconversions conformationnelles. Elle permet aussi de faire le lien entre les concepts chimiques clés et les caractéristiques géométriques de base des surfaces. Dans le cas de l'analyse conformationnelle, les minima et les points de selle (saddle points) sur la PES sont les caractéristiques les plus importantes. Les minima correspondent à des conformations d'énergie minimale et les points de selle à des états de transition associés à des interconversions conformationnelles [6].

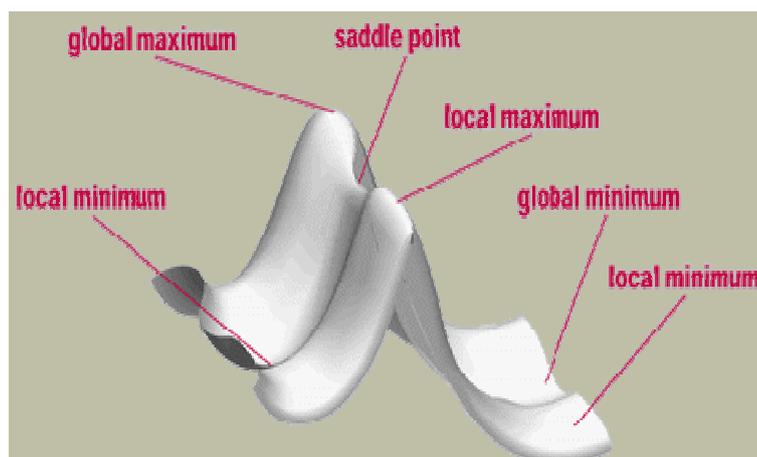


Figure 3 : surface d'énergie potentielle

En analyse conformationnelle, un grand nombre de géométries de départ de haute énergie sont générées, minimisées et stockées. Pour que la recherche soit minutieuse, les géométries de départ brutes doivent couvrir toute la surface d'énergie potentielle. Dans le cas contraire, on n'est pas sûr de trouver tous les minima [5].

Certaines méthodes de recherche conformationnelle sont destinées au traitement des petits cycles, des peptides acycliques et des molécules organiques [7, 8,9], d'autres pour les petites protéines [4], des polymères [10] et les hydrates de carbone [11].

Dans le paragraphe précédent, on suppose une surface d'énergie potentielle parfaite. Toutefois, en pratique, la fonction d'énergie potentielle et la surface d'énergie sont sujettes à beaucoup d'approximations. En effet, il y a de nombreuses fonctions d'énergie potentielle utilisées basées soit sur la mécanique quantique soit sur la mécanique moléculaire. Malgré la précision des potentiels de la mécanique quantique, ceux de la mécanique moléculaire sont exclusivement utilisés en analyse conformationnelle puisqu'elle permet de traiter de grosses molécules. Il est à noter cependant, que des champs de force différents génèrent des surfaces de potentiel différentes, ainsi la localisation des minima locaux dépend du champ de force utilisé. Les différents champs de force donnent en général les mêmes résultats pour de petites molécules, mais présentent des divergences dans les conformations des molécules plus complexes [6]. Par exemple, il apparaît 262 conformations d'énergie minimale pour le cycloheptadecane, la plus basse étant à 3 Kcal/mol avec MM2, et seulement 134 conformations avec MM3 [8].

L'analyse conformationnelle permet de trouver les minima et les points de selle, et d'identifier les interconversions impliquant des petites barrières énergétiques. Pour cela il faut générer un ensemble de structures d'essai, et passer à la minimisation ensuite. Dans un système moléculaire sans contrainte et avec un nombre d'atomes $n > 2$, le nombre de degrés de liberté est égal au nombre de coordonnées internes c'est à dire $3n - 6$. Lors de la minimisation de l'énergie, l'ensemble des structures d'essai est généré en faisant varier les degrés de liberté les plus flexibles à savoir les angles dièdres [6].

De façon générale, pour les liaisons simples, la modification d'un angle dièdre coûte moins cher en Kcal/mol que la déformation d'un angle de valence qui, à son tour, est plus facile que l'élongation d'une liaison. On dit que les angles dièdres sont plus mous que les autres coordonnées internes [1]. Pour pouvoir faire varier tous les angles dièdres d'une molécule, on dresse une grille pour obtenir toutes les possibilités combinatoires. Ainsi, une molécule avec trois angles dièdres va générer 216 conformations si l'incrément d'angle est de 60° . Pour une molécule ayant six angles dièdres on atteindra déjà 46656

conformères, tandis qu'avec neuf angles on arrive à plus de 10 millions de conformations possibles [2].

La recherche et la localisation des structures des états d'équilibre et de transition sur l'hypersurface d'énergie potentielle d'un système moléculaire sont nécessaires pour la détermination des propriétés thermodynamiques et cinétiques, de même que pour l'interprétation de spectres de vibration et de rotation. Des techniques spéciales d'optimisation de géométrie ont été élaborées pour cela [12].

L'optimisation de la géométrie d'un système moléculaire consiste à trouver la géométrie de ce système qui correspond à l'énergie la plus basse du système. C'est pourquoi ces méthodes sont dites de minimisation. Il est important de préciser que ces dernières s'appliquent au voisinage des points stationnaires, donc pour des petites variations de la géométrie. Ceci est dû au fait que ces méthodes partent toutes du développement de l'énergie en série de Taylor qui n'est valable que pour un petit écart de la position d'équilibre recherchée.

Elles peuvent être en défaut et déceler un minimum global englobant ainsi plusieurs minimums locaux, si la géométrie de départ est trop éloignée de celle de l'état d'équilibre [13].

Donc, l'analyse conformationnelle reste un moyen efficace de prédiction des conformations stables d'une structure moléculaire correspondant aux minima de son énergie intramoléculaire. L'énergie calculée mesure la différence entre l'énergie de la structure moléculaire considérée et celle d'une structure hypothétique dont toutes les coordonnées prendraient leurs valeurs de référence. Sa valeur absolue dépend du champ de force considéré, c'est-à-dire des fonctions d'énergie potentielle et des paramètres utilisés. Les valeurs de cette énergie sont toutefois très utiles lorsqu'il s'agit de comparer la stabilité relative des conformations ou des stéréo-isomères d'une même molécule [2].

5- Analyse conformationnelle des glucides : facteurs déterminant la structure tridimensionnelle

Les méthodes de la chimie computationnelle sont devenues extrêmement importantes dans l'analyse conformationnelle des molécules organiques et notamment des glucides complexes. L'augmentation constante de la puissance de calcul des ordinateurs a permis de relever de nouveaux défis, notamment l'exploration des surfaces multidimensionnelles, qui étaient techniquement irréalisables auparavant. Basant sur les facteurs qui déterminent la structure tridimensionnelle de glucides mais aussi sur les difficultés rencontrées dans l'analyse conformationnelle des structures complexes.

1- Monosaccharides

Dans l'analyse conformationnelle des oligosaccharides, la chaîne principale est généralement considérée comme formée de monomères rigides même si les pyranoses sont dotés d'une certaine flexibilité au niveau du cycle. Pour la plupart des monosaccharides, la conformation de plus basse énergie est la forme chaise et plus précisément 4C_1 et 1C_4 pour les glucides de série D ou L respectivement [24]. Le groupement hydroxyméthyle exocyclique peut tourner autour de la liaison C5-C6 mais l'analyse cristallographique a montré qu'il adopte trois conformations de basse énergie, nommées **gt**, **gg** et **tg**, pour limiter les interactions avec le O4 et le O5 (Fig. 4)[25,26]. Par contre, les hydroxyles secondaires sont libres de tourner presque librement même si deux orientations relatives (sens des aiguilles d'une montre ou sens inverse), montrées dans la Fig. 4, favorisent la formation des réseaux de liaisons hydrogène intramoléculaires [27]. L'ensemble de ces paramètres doit être pris en compte dans l'analyse structurale des structures complexes.

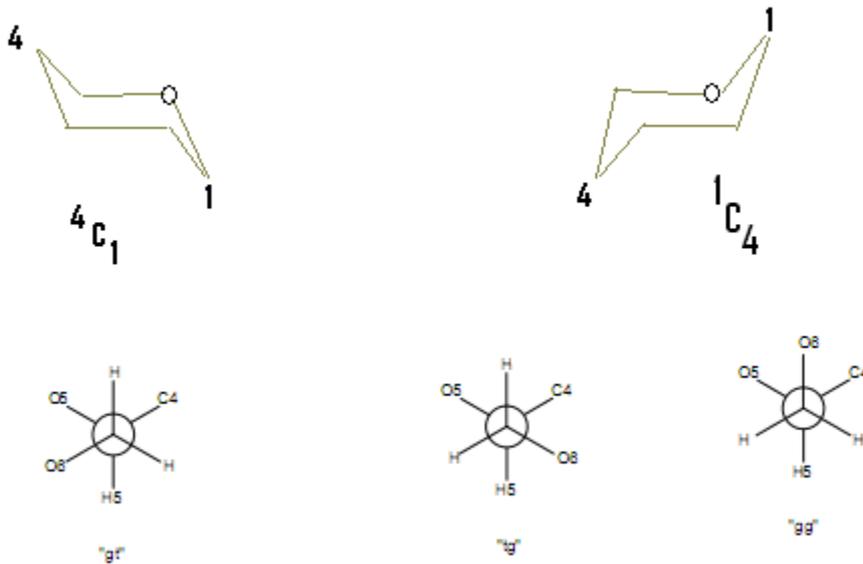


Figure 4. Les deux conformations chaise et les conformations du O6 en projection de Newman

2- Disaccharides

Nous avons indiqué plus haut que deux pyranoses peuvent se combiner pour donner onze disaccharides différents. La nature de la liaison glycosidique (α ou β , 1 \rightarrow 1, 1 \rightarrow 2, 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4 ou 1 \rightarrow 6) est le paramètre clé qui détermine la structure tridimensionnelle d'un disaccharide.

En fait, la molécule présente une certaine flexibilité autour des deux angles de torsion (Φ et Ψ) de la liaison glycosidique, mais il a été montré que toutes les conformations ne peuvent pas être atteintes avec la même probabilité. Les deux angles de torsion glycosidiques qui définissent la géométrie de la liaison sont illustrés dans la Fig 5 .

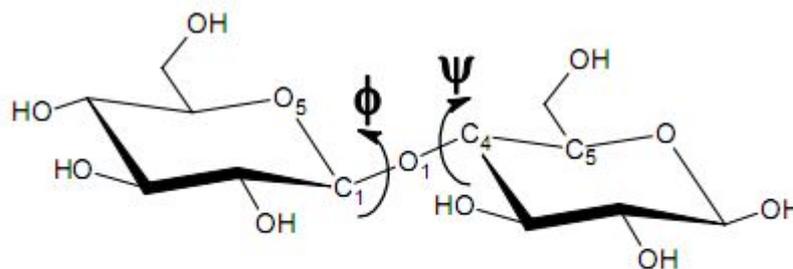


Figure 5 . Les angles de torsion glycosidique pour Glc β 1 \rightarrow 4Glc

L'angle ϕ (O5—C1—O1—Cx) est influencé en premier lieu par l'effet exoanomère, qui est un effet stéréo-électronique résultant des interactions entre les orbitales des atomes O5, C1, O1 et Cx, impliqués dans la liaison glycosidique[28] . L'angle ψ (C1—O1—Cx—C(x+1)) montre une variabilité plus grande et est plutôt influencé par les interactions non-liées (liaisons hydrogène, interactions de van der Waals) entre les deux monosaccharides. La structure globale d'un disaccharide est donc déterminée par la nature de la liaison et par l'ensemble des ces interactions.

La probabilité d'existence pour une conformation donnée d'un disaccharide peut être représentée sur un diagramme bidimensionnel (Fig. 6) qui représente la valeur de l'énergie potentielle de la molécule pour chaque combinaison des valeurs de ϕ et ψ . La méthode de calcul utilisée pour la génération de ces cartes sera décrite dans le troisième chapitre.

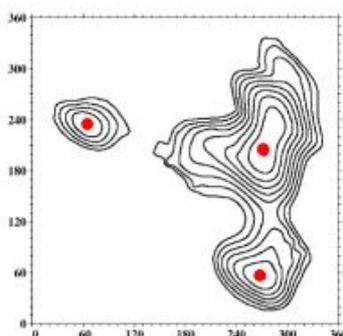


Figure 6. Carte adiabatique d'énergie potentielle pour le disaccharide Glc β 1 \rightarrow 4Glc. Chaque isocontour représente un niveau d'énergie de 1kcal. Les conformations de plus basse énergie sont indiquées par des point rouges.

On peut voir dans la figure que les conformations de plus basse énergie pour la liaison Glc β 1 \rightarrow 4Glc sont confinées dans des régions relativement limitées de l'espace conformationnelle. La comparaison des valeurs ϕ et ψ obtenues par cristallographie et RMN a validé cette méthode [39]. Des centaines de cartes ont déjà été calculées et un grand nombre sont disponibles dans la base de données de disaccharides du CERMAV.

3- Oligosaccharides

Les oligosaccharides sont des structures généralement flexibles qui peuvent adopter différentes conformations (ou plus souvent familles de conformations) de basse énergie. La liberté conformationnelle peut être limitée par la présence d'interactions (liaisons hydrogène, interactions de van der Waals) entre deux monomères qui ne sont pas forcément liés par une liaison glycosidique. Par exemple, dans le cas particulier des oligosaccharides du type Lewis X, la forte interaction hydrophobe de stacking entre le **Gal** et le **Fuc** rigidifie la structure de l'oligosaccharide [26].

Dans l'analyse conformationnelle l'oligosaccharide peut être considéré comme constitué d'un ensemble de disaccharides. Les valeurs de ϕ et de ψ pour chaque disaccharide seront donc, en première approximation, considérées comme indépendantes des résidus voisins. Ceci est une simplification importante mais qui permet de dire que la structure globale d'un oligosaccharide dépend en premier lieu de la nature de chaque liaison entre ses disaccharides constituants. Malgré ça, l'analyse conformationnelle des oligosaccharides reste un travail long et difficile car le nombre des paramètres mis en jeu est généralement très important. Pour un simple trisaccharide, comme celui montré en Fig7, on doit prendre en compte six conformations différentes pour chaque monomère (trois pour le C6 et deux pour les hydroxyles) et 244 combinaisons pour les angles de torsion $\phi, \psi, \phi_1, \psi_1$ pour un totale de 71663616 conformations possibles !

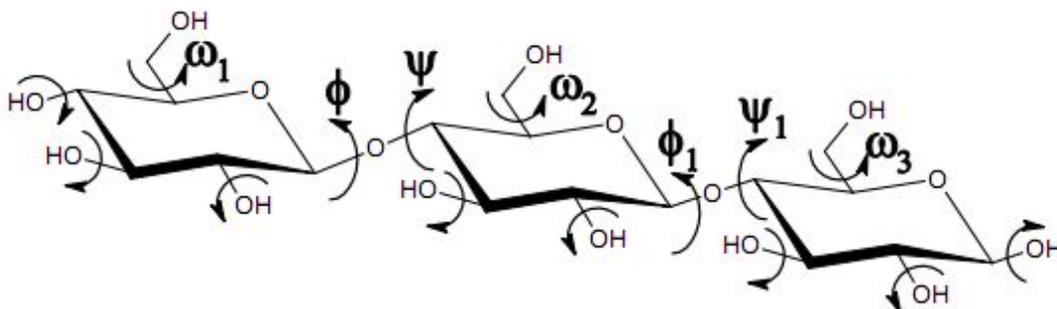


Figure 7 : Espace conformationnel pour un trisaccharide $\text{Glc}\beta 1 \rightarrow 4\text{Glc}\beta 1 \rightarrow 4\text{Glc}$

Bien qu'il s'agisse d'un simple trisaccharide, un tel nombre de minimisations d'énergie nécessite déjà une puissance de calcul non négligeable. On peut donc comprendre que pour l'analyse conformationnelle de glycanes encore plus complexes (plus de 10 monomères) on a forcément besoin d'une stratégie d'exploration de l'espace conformationnel très puissante et intelligente.

Références:

- [1] J. S. Lomas, la mécanique moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire, l'actualité chimique, chapitre7. **1986**
- [2] H. Dugas, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l'Université de Montréal. **1996**
- [3] G. Vergoten, Cours de Modélisation moléculaire, professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille.
- [4] M. J. Dudeck, H. A. Scheraga, *J. Comput.Chem*, , 11, 121. **1990**
- [5] J. Bartol, P. Comba, M. Melter, M. Zimmer, *J. Comput. Chem*, 20,1549. **1999**
- [6] G. Keserü, I. Kolossvary, Molecular Mechanics and Conformational Analysis in Drug Design, Department of Chemical Information Technology, Technical University of Budapest, Blackwell Science Ltd , **1999**.
- [7] J. Thomas Ngo and M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc*, 119, 5657. **1997**
- [8] I. Kolossvary and W. C. Guida, *J. Am. Chem. Soc*, 118, 5011. **1996**
- [9] H. Senderowitz, F. Guarieri, W. C. Still., *J. Am. Chem. Soc.*117, 8211. **1995**
- [10] E. Leontidis, J. J. de Pablo, M. Laso, U. W. Suter, *Adv. Polym. Sci*,116, 283. **1994**
- [11] C. W. Von Der Lieth, T. Kozar, W. E. Hull, *Theochem. J. Mol. Struct*, 395, 225. **1997**
- [12] A. Hinchliffe, Modelling Molecular structures, John Wiley and Sons, New York. **1994**
- [13] S. Djennane – Bousmaha, Thèse de doctorat, USTHB Alger, Algérie. **1999**

- [14] Fourme R., Janin R. La cristallographie biologique. *La Recherche* 226 (21), 1358–1367. **1990**
- [15] WD. Cornell, P. Cieplak, Cl. Bayly, IR. Gould Merz KM., Fergusson DM., Spellmeyer DC., Caldwell J W. , Kollman P.. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids and organic molecules. *J. Am. Chem. Soc.* 117, p. 5179–5197. **1995**
- [16] L. Lins, R. Brasseur The hydrophobic effect in protein folding. *FASEB J.* 9, 535–540. **1995**
- [17] R. Avery, La modélisation moléculaire : un outil pour étudier les macromolécules biologiques et leurs interactions. In *De la matière au vivant : les systèmes moléculaires organisés*. Paris : CNRS-Images de la Recherche, 199–204. **1994**
- [18] M. Ptak, F. Vovelle RMN multidimensionnelle et modélisation de la structure tridimensionnelle de protéines amphiphiles. In *De la matière au vivant : les systèmes moléculaires organisés*. Paris: CNRS-Images de la Recherche, 183–186. **1994**
- [19] R. Brasseur, Simulating the folding of small proteins by use of the local minimum energy and the freesolvation energy yields native-like structures. *J. Mol. Graphics* 13, 312–322. **1995**
- [20] S. Perez. Molecular modelling and electron diffraction of polysaccharides. *Meth Enzymol.* 203, 510–556. **1991**
- [21] R. Brasseur, ed. *Molecular Description of Biological Membranes by Computer Aided Conformational Analysis*. . Boca Raton, FL: CRC Press, I et II, 285. **1990**
- [22] S. Sun, PD. Thomas, KA. Dill. A simple protein folding algorithm using a binary code and secondary constraints. *Protein Eng.* 8 (5), 769–778. **1995**
- [23] RJ. Woods. Three-dimensional structures of oligosaccharides. *Curr, Opin. Struct. Biol.* 5, 591–598. **1995**

- [24] V.S.R. Rao, P.K. Qasba, P.V. Balaji, and R. Chandrasekaran, Conformation of Carbohydrates. *Harwood academic publishers*. **1988**
- [25] R.H. Marchessault, and S. Pérez, Conformations of the hydroxymethyl group in crystalline aldohexopyranoses. *Biopolymers*, 18, 2369-2374. **1979**
- [26] S. Pérez, C. Gautier, and A. Imberty, (Oligosaccharide conformations by diffraction methods. B, H.G., In Ernst, P Sinay (ed), Oligosaccharides in chemistry and Biology. *Wiley*, 969-1001. **2000**
- [27] J.W. Brady, and R.K. Schmidt, The role of hydrogen bonding in carbohydrates: Molecular dynamics simulations of maltose in aqueous solution. *J. Phys. Chem.*, 1993, 958-966. **1993**
- [28] R.U. Lemieux, S. Koto, and D. Voisin, (The exo-anomeric effect. In W.A. Szarek, and D. Horton, (eds), Anomeric effect: origin and consequence, ACS symposium Series No. 87. *Amer. Chem. Soc.*, Washington DC, 17-29. **1979**
- [29] A. Imberty, Oligosaccharide structures: theory versus experiment. *Curr Opin Struct Biol*, 7, 617-623. **1997**
- [30] AV. Finkelstein. Protein structure: what is it possible to predict now, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7, 60–71. **1997**
- [31] P. Ducarme, M. Rahman, L. Lins, R. Brasseur (. The erythrocyte/brain glucose transporter (Glu T1) may adopt a two-channel transmembrane α/β structure. *J Mol. Model.* 2, 27–45. **1996**

Chapitre VI : Résultats et discussion

Introduction

La modélisation moléculaire [1], est un outil complémentaire à l'expérimentation. De plus, elle donne des grandeurs qui sont au-delà des possibilités expérimentales et ceci dans des conditions parfaitement contrôlées de pureté, de pression, de température, etc.

Elle tient compte des techniques de graphisme et de calcul pour étudier les molécules en 3D à l'aide des techniques de l'analyse conformationnelle [2], soit elles sont construites à partir de fragments élémentaires, ou issue de bases de données structurales comme PDB (Protein Data Base) et CSD (Cambridge Structure Data) .

Ce travail consiste à procéder l'analyse conformationnelle [2,5] de quelques oligosaccharide (3 trisaccharides et un penta saccharide).

Nous avons reporté tous les résultats de calcul effectués. La discussion que nous allons engager est basée sur les énergies et les géométries des oligosaccharides[2].

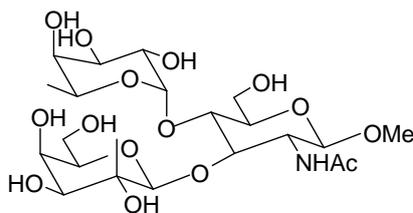
Analyse conformationnelle des oligosaccharides :

On se propose de déterminer les conformations les plus stables des hydrates de carbone. On a utilisé le programme Hyperchem version 7.5 pour la construction et l'optimisation des molécules.

Les résultats sont reportés dans les tableaux en annexe : *l'énergie étant en (kcal/mol)*

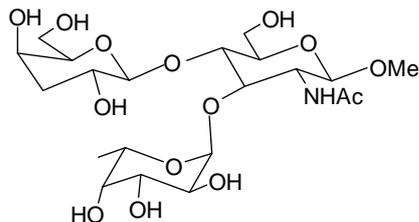
La construction des oligosaccharides et des angles de torsion sont données sur les figures suivantes :

Lewis a



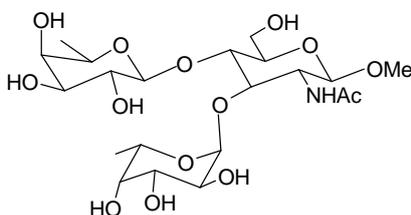
Methyl 2-désoxy-3-O-B-D_galactopyranosyl-4-O -a-Lfucopyranosyl-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

3-lewisx



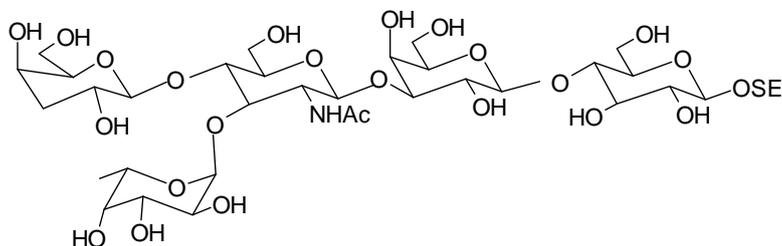
Methyl(3-désoxy-3-O-B-D-xylo-hexopyranosyl)-(1-4) -[a-L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-desoxy-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

6-3Lewis x



Methyl(6-désoxy-B-D-fucopyranosyl)-(1-4) -[a-L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-desoxy-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

Pentalewis x



2-(triméthylsilyl)éthyl(3-désoxy-B-D-galactopyranosyl)-(1-4) -[a-L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-desoxy-2-acétamido-2-dex B-D-glucopyranoside-(1-3)-(B-galactopyranosyl)-(1-4) -2-B-D-glucopyranoside

On retient la structure correspondante à la plus basse énergie (la conformation la plus stable) comme structure de départ. Pour l'étudier par la méthode de dynamique moléculaire.

On fait l'analyse qu'avec les énergies et les angles dièdres.

Analyse des énergies des oligosaccharides par la dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire [2,8] a pour but de calculer les mouvements des molécules, le plus souvent à partir des énergies de la mécanique moléculaire, en appliquant les lois de la mécanique classique.

Ces mouvements correspondent à des vibrations autour d'un minimum ou au passage d'un minimum à un autre minimum d'énergies ainsi la dynamique moléculaire permet de s'extraire d'un minimum local. C'est une technique qui permet de simuler l'évolution des systèmes dans le temps. Elle prend en compte l'effet de la température, de la pression et du temps, calcul les trajectoires des atomes et rend en compte de la flexibilité des molécules, leur comportement en solution [6].

La dynamique commence par une initialisation du système: on a à $t=0$, $r(t)=0$, c'est-à-dire la structure initiale, précédemment minimisée. Puis on a une montée de température jusqu'à 300 K. Ou on a une équilibration: les vitesses sont réajustées pour conserver la température constante. Ensuite il y a une production de la conformation.

Les courbes d'énergie en fonction du temps obtenues sont données dans les figures: 2 ; 3 ; 4 et 5.

Analyse des angles dièdres

La définition des angles dièdres a été respectée selon l'organisation IUPAC [9,12].

Les angles dièdres φ est défini entre les atomes [HCOC] et ψ entre les atomes [COCH] (figure1)

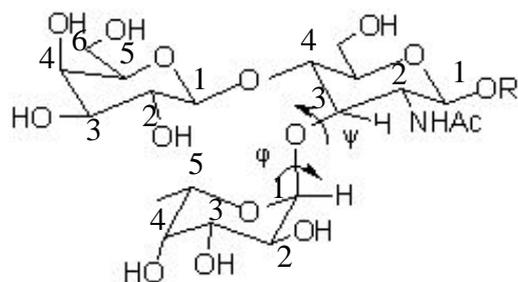


Figure1

La variation des angles dièdres permet d'expliquer la flexibilité et la rotation autour des liaisons glycosidiques.

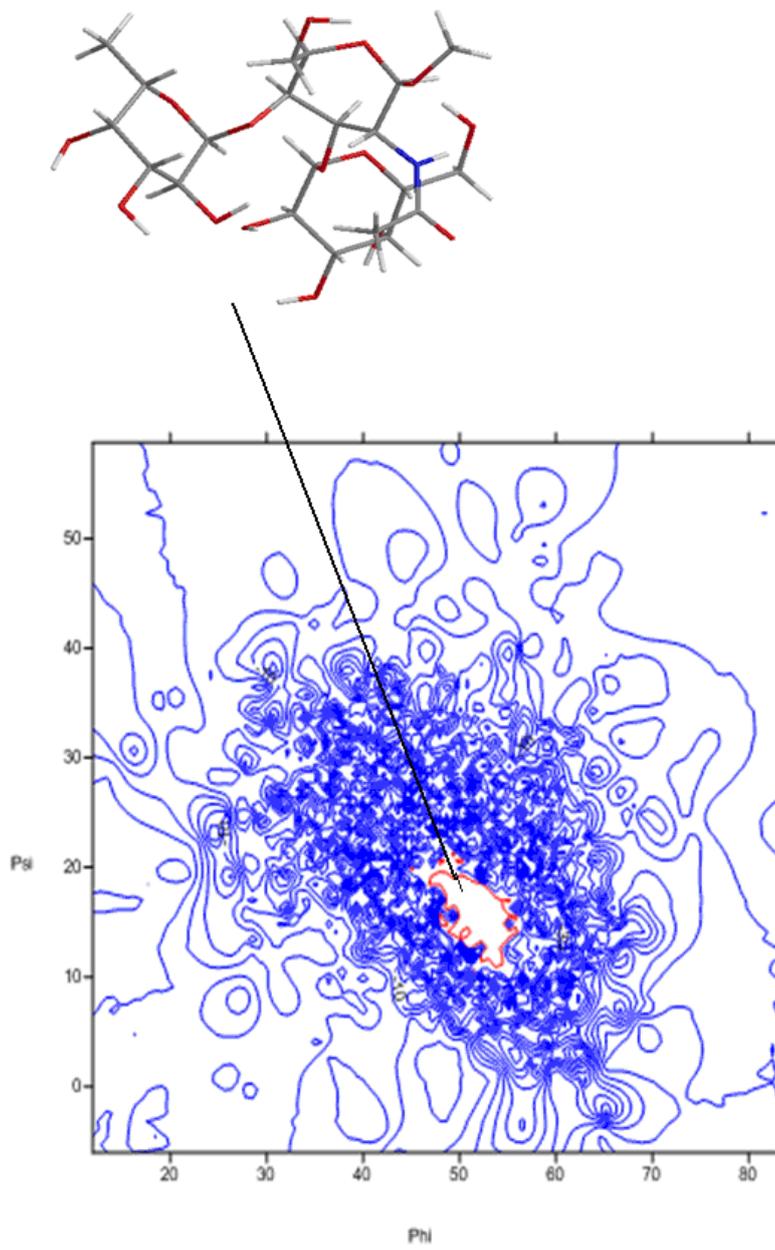
Nous avons optimisé les structures par la mécanique moléculaire à fin d'obtenir des structures de départ présentant une géométrie et conformation probablement les plus stable pour les étudier par la dynamique moléculaire [6,8].

Résultats de dynamique moléculaire par hyperchem : des molécules isolées

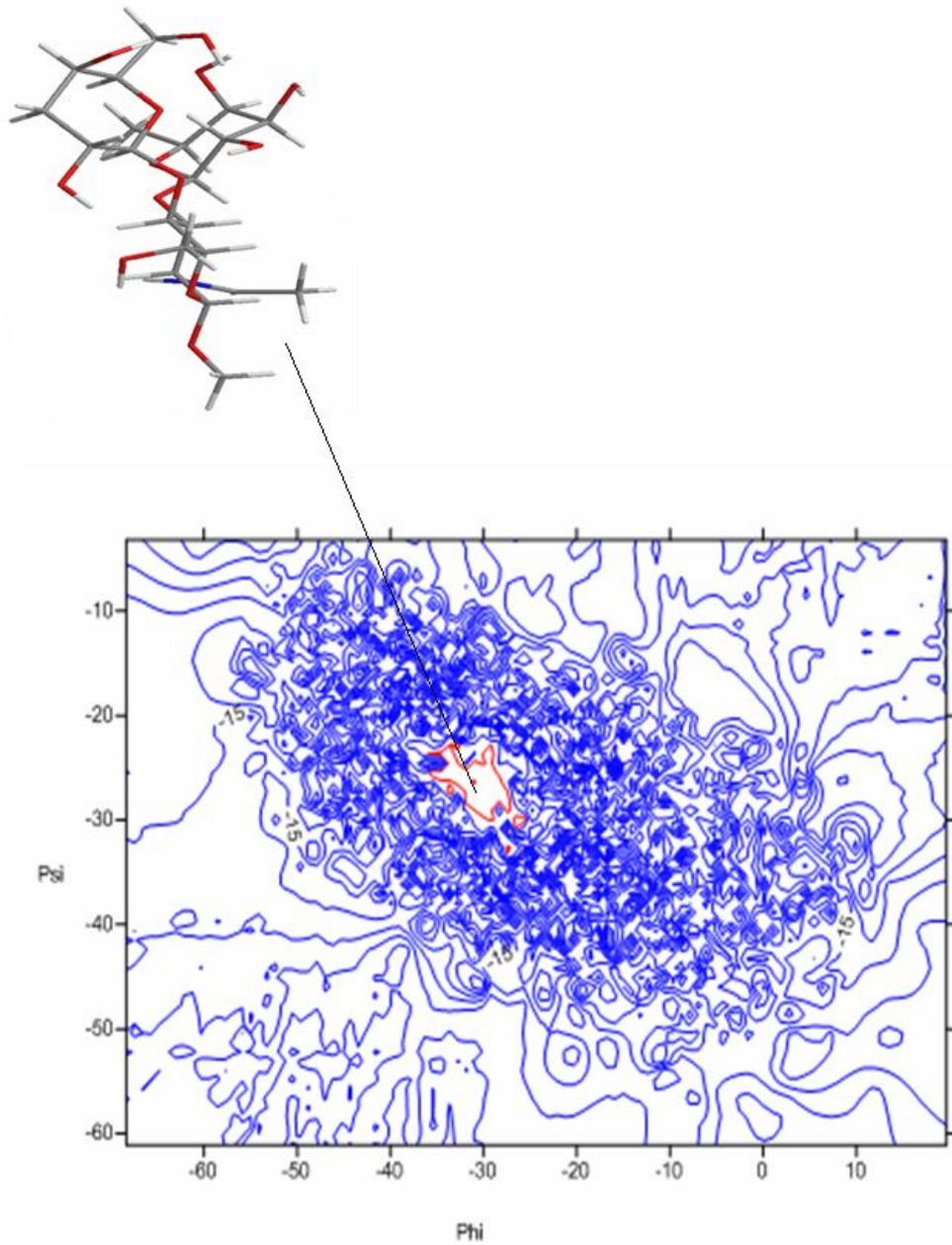
On a utilisé le programme SURFER pour dessiner les cartes d'énergie.

La représentation graphique ainsi les structures correspondants relatives aux conformations probablement les plus stables et correspondants aux énergies plus basse sont représentés sur les figures : carte 1 ; carte 2 ; carte3 ; carte 4.

Lewis a

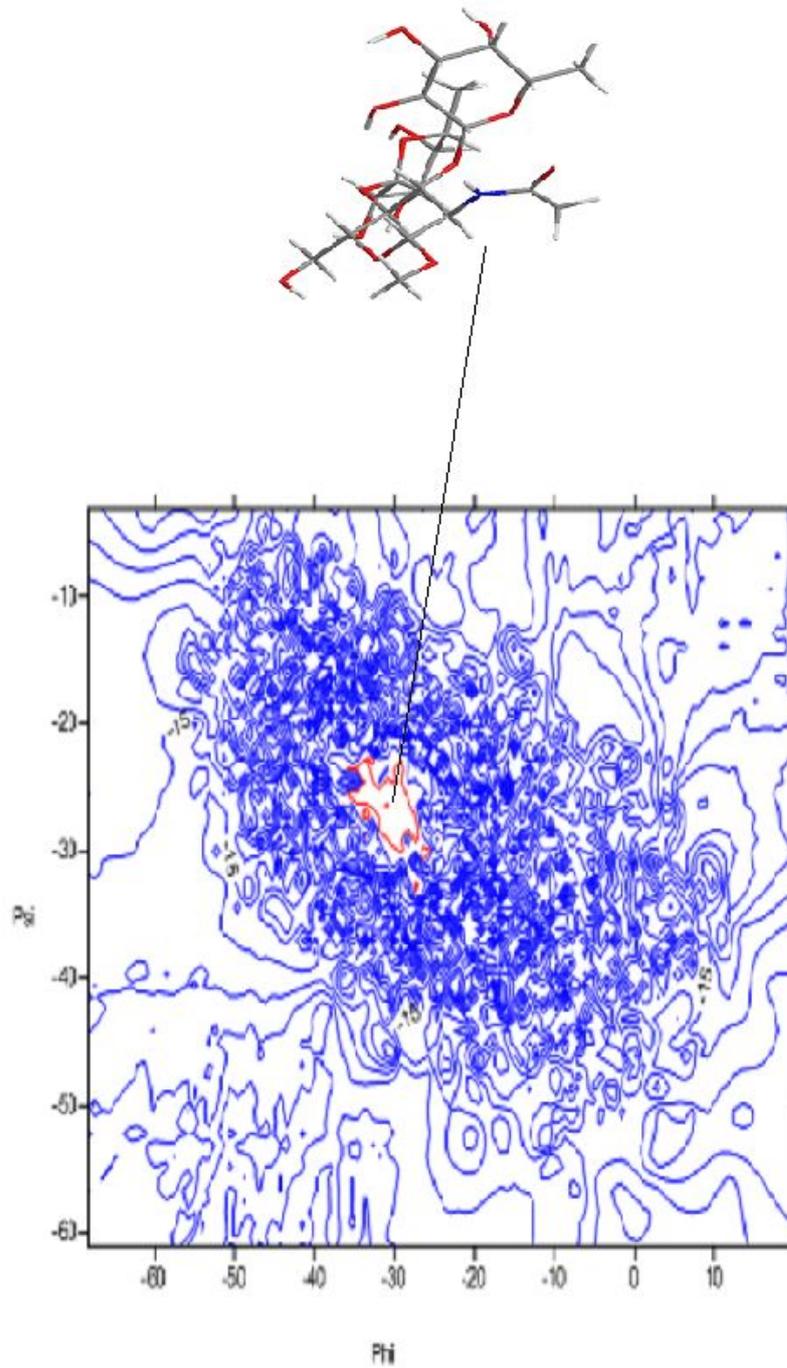


Carte 1 : Energie pour Lewis a (+conformation plus stable)

3-lewis x

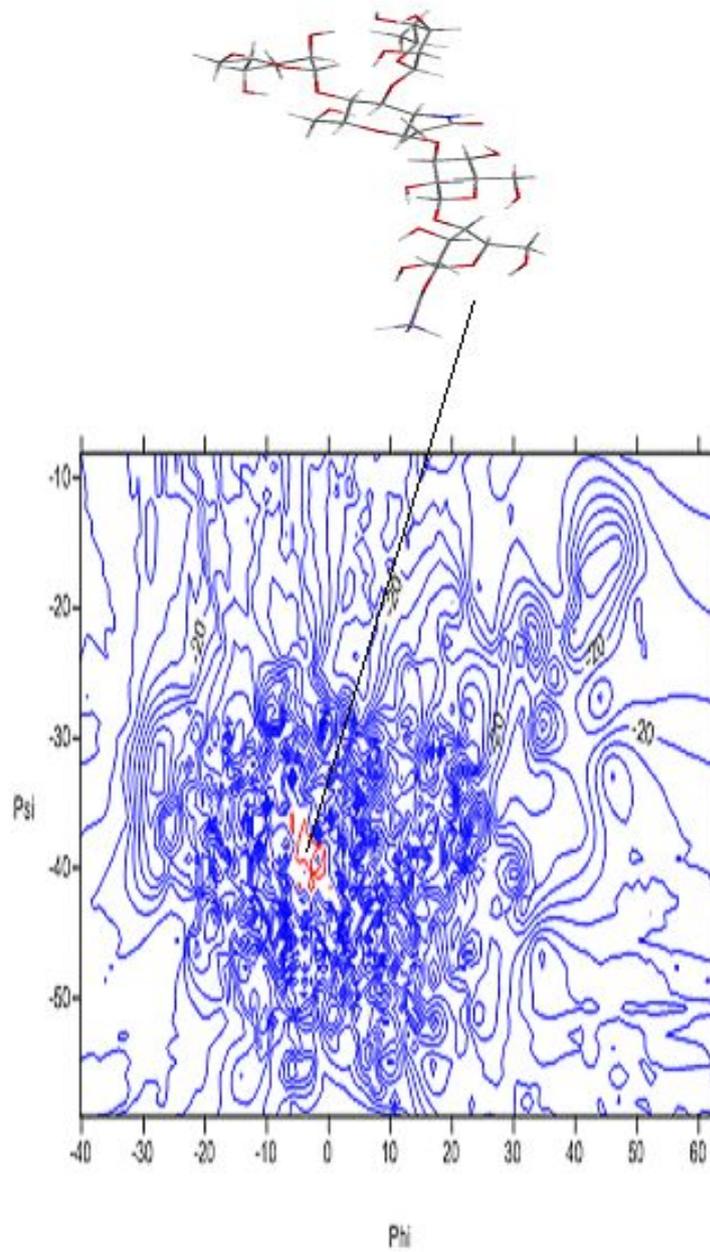
Carte 2 : Energie pour 3Lewis (1^{er} dérivé de Lewis x)

(+conformation plus stable)

6-3Lewis x

Carte 3 : Energie pour 6-3Lewis x (2^{ème} dérivé de Lewis).

(+conformation plus stable)

Penta Lewis x

Carte 4 : Energie pour le penta Lewis x
(+ Conformation plus stable)

Tableau 1 : Résultats de la dynamique des molécules isolées

	Le ^a	3-Le ^x	6-3Le ^x	Penta Le ^x
E _p (Kcal/mol)	-55	-60	-65	-70
Phi(°)	[45,60]	[-36,-26]	[-45,-20]	[-10, 10]
Psi(°)	[10,25]	[-33,-23]	[-35, -28]	[-42,-35]

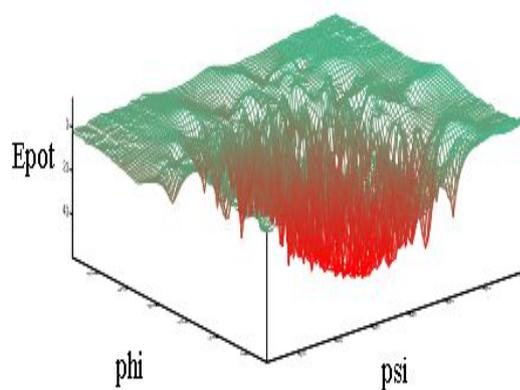
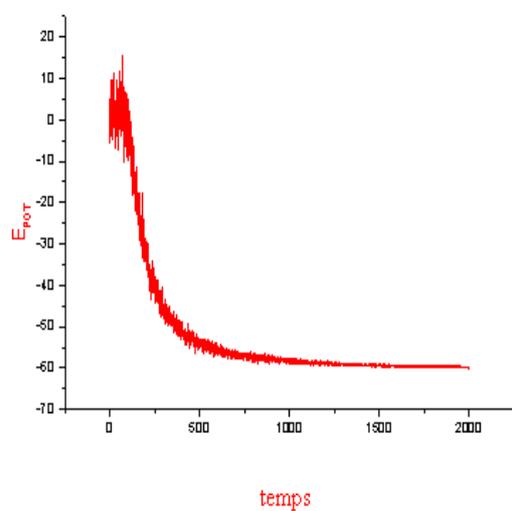
Lewis a

Figure2

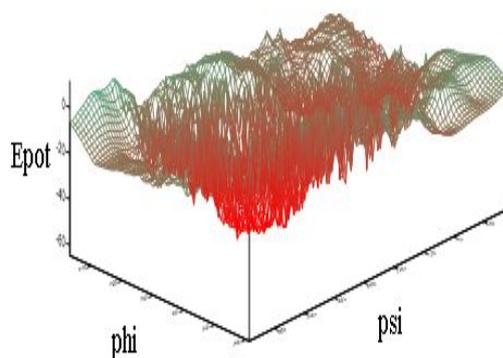
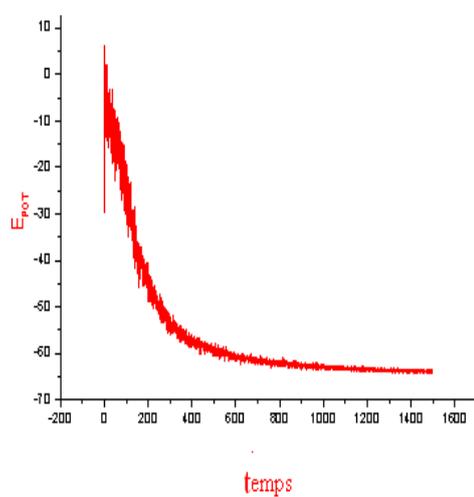
3-Lewis x

Figure3

6-3Lewis x

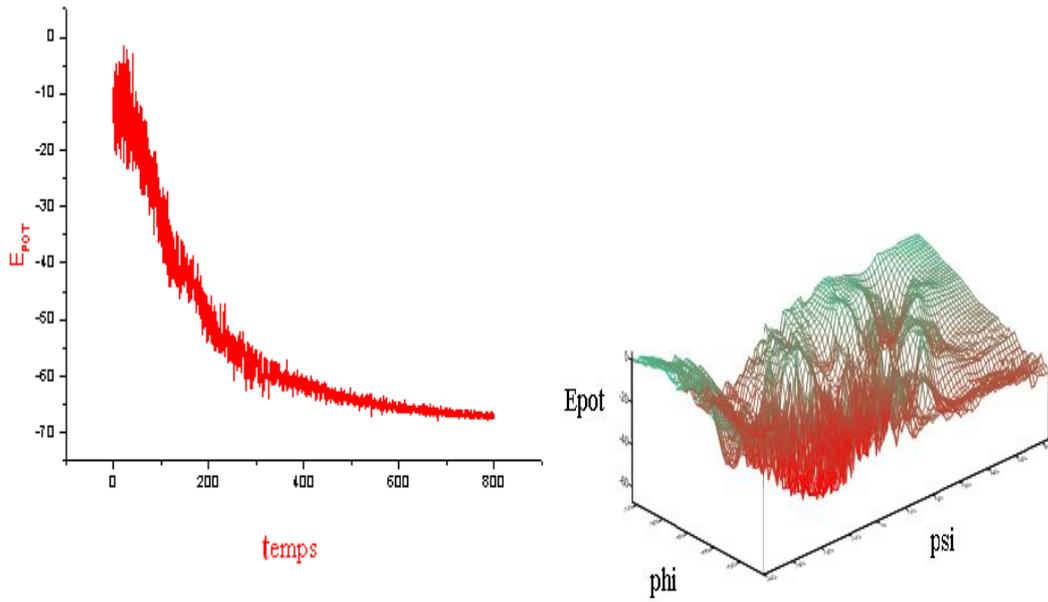


Figure4

Penta Lewis x

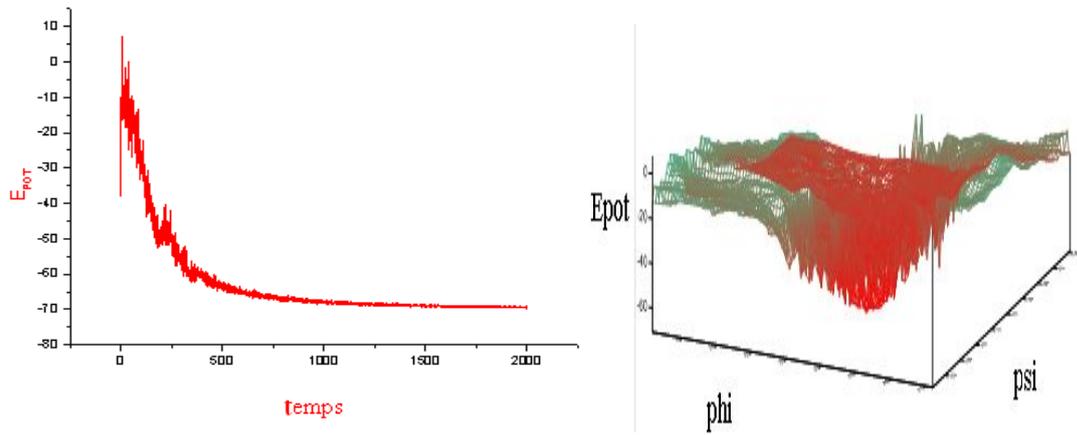


Figure5

Durant la simulation les oligosaccharides montrent plus ou moins une flexibilité. Un large intervalle d'angle de torsion a été exploré.

Dans le cas du 1^{er} oligosaccharide qui est le trisaccharide Lewis a, on a trouvé la région de la conformation probablement la plus stable comme il est montré sur la carte 1 en rouge. L'angle de torsion phi varie entre [45,60] et l'angle psi varie entre [10,25] (Carte 1) avec une énergie d'environ de -55 kcal/mol.

Dans le cas de trisaccharide 3-Lewis x .l'angle phi varie entre [-36,-26] et psi entre [-33,-23] (Carte 2) avec une énergie d'environ de -60 kcal/mol

Pour le trisaccharide 6-3-Lewis x l'étude montre une variété de -45 à -20 pour les angles phi et -28 à -35 pour les angles psi (carte 3) avec une énergie d'environ de -65 kcal/mol.

Le pentasaccharide Lewis x montre une variation d'angle de torsion de -10 à 10 et d'angle psi de -42 à -35 (carte 4) avec une énergie de -70 kcal/mol.

En 1980 la modélisation indique que les oligosaccharides de Lewis sont des molécules rigides [13-14], dans chaque molécule il existe une forte interaction non lies entre le Gal et le Fuc les deux sont lies par le GlcNAc [15] et puisque la seule différence entre Lewis a et Lewis x est la position de résidu GlcNAc donc les deux molécules possèdent le même minimum global.

Récemment une exploration avec une approche appelle CICADA, conclu que Lewis a et Lewis b sont légèrement moins rigides que Lewis x [16].

Notre résultats sont en accord avec ces résultats pour Lewis a et Lewis x (Lewis a moins rigide que Lewis x)

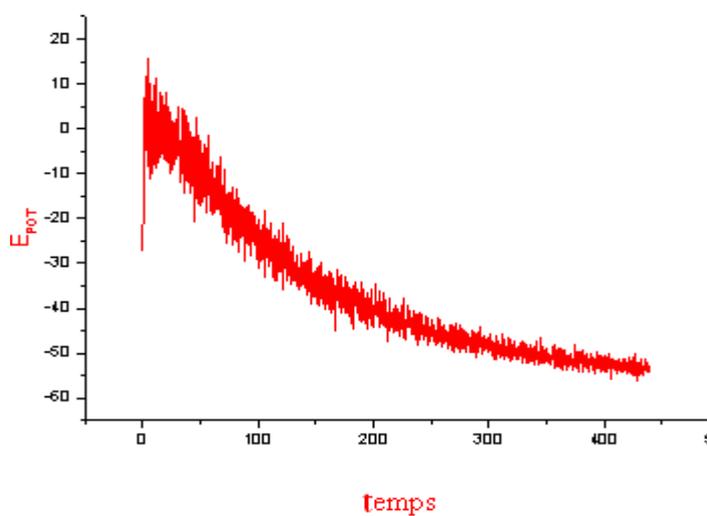
Finalement la forte interaction entre Gal et Fuc résidus des oligosaccharides rigidifie leur structure et donne une particularité même pour le tetra et le penta.

Résultats de dynamique moléculaire par hyperchem : en présence des molécules d'eau

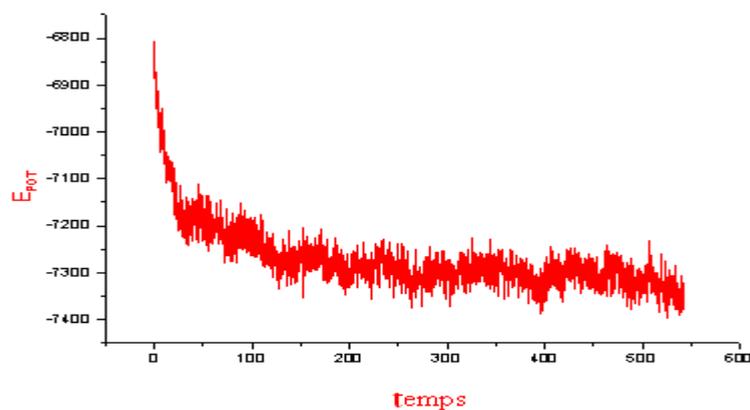
Tableau 2 : Résultats de la dynamique des molécules en solution

	Le ^a	3-Le ^x	6-3Le ^x	Penta Le ^x
E (Kcal/mol)	-56	-7360	-5280	-10600
Phi(°)	[42,58]	[-54,-19]	[-23,-10]	[-55,-27]
Psi(°)	[9,24]	[-24,12]	[-43,-22]	[-36,-5]

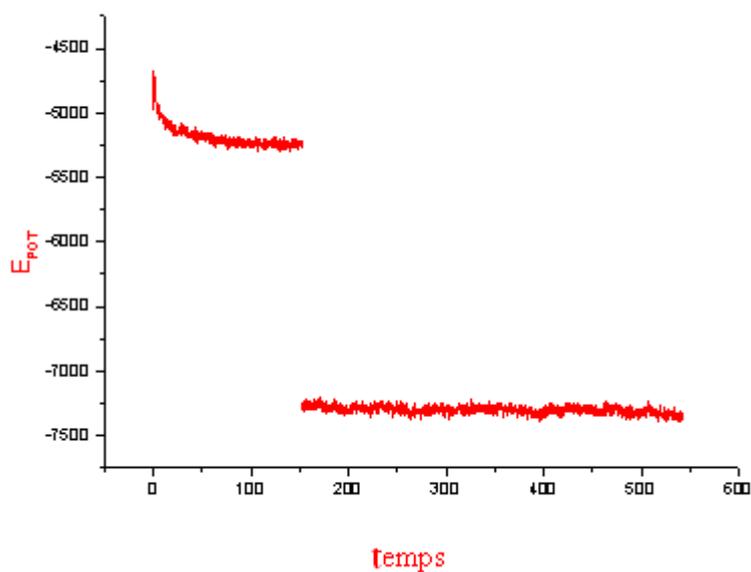
Lewis a



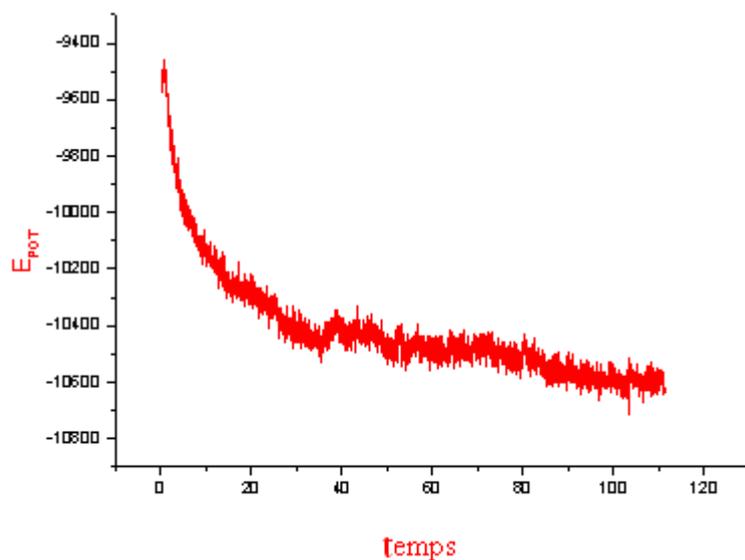
3 Lewisx



6 lewisx



Penta lewisx



Les effets de solvant sont aussi importants; actuellement on peut estimer l'énergie du solvant de différentes façons, et on peut l'inclure dans l'expression de l'énergie intramoléculaire. Les résultats de l'analyse conformationnelle montrent que pour les molécules en solution [11]. Les conformations stables se trouvent généralement dans le jeu de conformation stable de la molécule isolée et ça ce qu'on a trouvé dans notre étude. Les

interactions avec le solvant ont surtout pour effet de modifier les valeurs relatives des énergies minimales ou de déplacer légèrement les positions des minimas dans l'espace conformationnelle, on s'accorde donc pour considérer que les résultats d'un calcul conformationnel sur la molécule isolée estime les conformations probables de cette molécule [11].

Pour d'autre étude de modélisation tient compte d'effet de solvant conclu que les familles de conformation dépendent forcément du solvant [16].

Le comportement conformationnelle des différents oligosaccharides montre l'existence des conformations privilégiées et des rotations chimiques entre les différents résidus [10].

References:

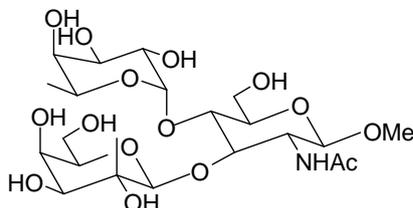
- [1] H. Dugas, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratique, Librairie de l'Université de Montréal, Chapitre 3. **1996**
- [2] Y. Luo , F. Barbault , C. Gourmala . Cellular interaction through LewisX cluster: theoretical studies, *J Mol Model* 14, 901–910. **(2008)**
- [3] P. Konidala, Molecular dynamics simulations of pea (*Pisum sativum*) lectin structure with octyl glucoside detergents: The ligand interactions and dynamics, *Biophysical Chemistry* 128, 215–230. **2007**
- [4] G.A. Victor, The conformation of the C-glycosyl analogue of N-acetyl-lactosamine in the Free State and bound to a toxic plant agglutinin and human adhesion/growth-regulatory galectin-1, *Carbohydrate Research* 342, 1918–1928. **2007**
- [5] P. Matthew DeMatteo, Conformational analysis of methyl 5-O-methyl septanosides: effect of glycosylation on conformer populations, *Carbohydrate Research* 341, 2927–2945. **2006**
- [6] A. Imberty and S. Perez, Structure, Conformation, and Dynamics of Bioactive Oligosaccharides: Theoretical Approaches and Experimental Validations, *Chem. Rev.* 100, 4567–4588. **2000**
- [7] M. Deleu, B. Wathelet, Aperçu des techniques d'analyse conformationnelle des macromolécules biologiques, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2 (4), 234–247. **1998**
- [8] P.A. Michael, Introduction to Molecular Dynamics Simulation, published in *Computational Soft Matter: From Synthetic Polymers to Proteins*, Lecture Notes, Norbert Attig, Kurt Binder, Helmut Grubmuller, Kurt Kremer (Eds.), John von Neumann Institute for Computing, Julich, NIC Series, Vol. 23, ISBN 3-00-012641-4, 1-28. **2004**
- [9] IUPAC tentative rules for the nomenclature of organic chemistry, *EUR.I.Biochemistry*, 18, 151. **1971**

- [10] T. Kozar, Efficient modelling protocols for oligosaccharides: from vacuum to solvent, *Glycoconjugate Journal* 14, 925-933. **1997**
- [11] N. Weinberg. S. Wolfe., *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 9860. **1994**
- [12] B. Korea, *Chem.Soc* .24, 3. **2003**
- [13] Lemieux, R. U.;Bock, K. *Can.J.Chem*,58,631. 1980.
- [14] Biswas,M. ;Rao, V.S.R. *Biopolymers* ,19 ,1555. 1980
- [15] Imberty ,A.; Mikros, E, Koca, J, *glycoconjugate J*,12, 331, 1995
- [16] Imberty ,A.; Perez , S,*Chem .Rev*,100, 4567-4588. 2000

Conclusion generale

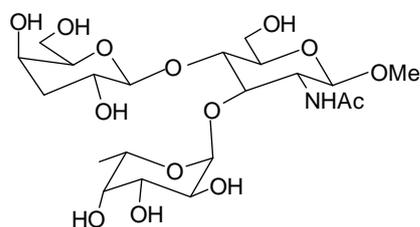
Ce travail a été consacré à l'étude par analyse conformationnelle de quelques oligosaccharides 3 trisaccharides et un pentasaccharides.

1-Lewis a



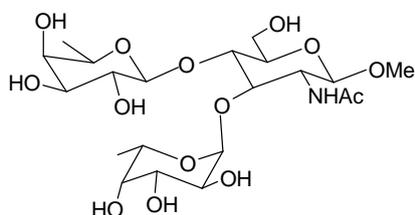
Methyl 2-désoxy-3-O-B-D_galactopyranosyl-4-O - α -L-fucopyranosyl-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

3-Lewis x 1



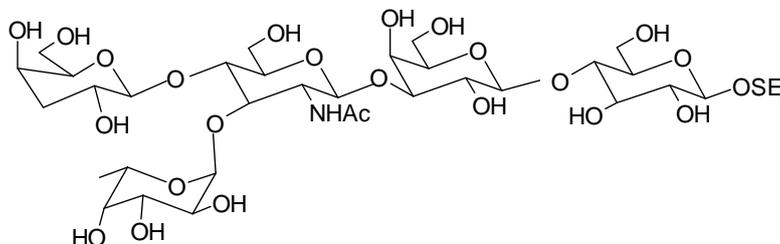
Methyl (3-désoxy-3-O-B-D-xylo-hexopyranosyl)-(1-4) -[α -L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-désoxy-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

63-Lewis x 2



Methyl (6-désoxy-B-D-fucopyranosyl)-(1-4) -[α -L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-désoxy-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

4-penta Lewis x



2-(triméthylsilyl)éthyl (3-désoxy-B-D-galactopyranosyl)-(1-4) -[α -L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-désoxy-2-acétamido-2-désoxy-B-D-glucopyranoside-(1-3)-(B-galactopyranosyl)-(1-4)-2-B-D-glucopyranoside

Cette étude comprend quatre chapitres:

Au niveau de 1^{er} chapitre des notions sur les biomolécules et plus précisément les glucides ou hydrate de carbone[1] qui forment une classe de molécule entraînant variées [7].

Les aspects de la modélisation moléculaire [2] sont abordés dans Le 2^{eme} chapitre afin de situer la mécanique moléculaire [3] parmi les méthodes de modélisation utilisé pour la description des comportements atomiques au sein de la structure moléculaire.la notion de champ de force [4] l'ensemble des termes de l'énergie stérique est défini précisément dans l'expression mathématique en mécanique moléculaire. L'importance de paramétrisation justifie le choix du champ de force.

Dans le 3^{eme} chapitre nous avons tenu à mettre l'accent sur le conflit existant entre la structure moléculaire et l'analyse conformationnelle [5] qui nous permet de calculer l'énergie relative associée à la conformation d'une molécule, dont le but est de trouver le plus de minima possible et de calculer la population de Boltzmann [6], qui font l'objet de notre travail de recherche. Des informations structurales relatives à la géométrie des glucides et particulièrement les oligosaccharides président le traitement géométrique par l'analyse conformationnelle.

Le dernier chapitre est consacré aux résultats obtenus ainsi à la discussion et à l'interprétation de ces derniers.

Durant la simulation les oligosaccharides montrent plus ou moins une flexibilité. Un large intervalle d'angle de torsion a été exploré.

Les effets de solvant sont aussi importants; actuellement on peut estimer l'énergie du solvant de différentes façons, et on peut l'inclure dans l'expression de l'énergie intramoléculaire.

Le comportement conformationnelle des différents oligosaccharides montre l'existence des conformations privilégiées et des rotations chimiques entre les différents résidus [9].

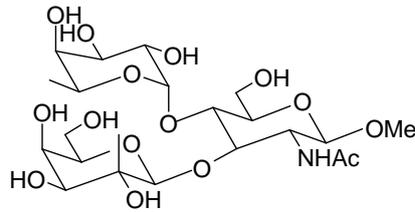
Les perspectives que nous envisageons de réaliser dans un futur dans le cadre d'un doctorat s'articuleront autour des applications dans le domaine de l'activité biologique ainsi que les effets de solvant.

References

- [1] C.Gourmala, Y. Luo. S. Ghalem, Elucidation of the LewisX–LewisX carbohydrate interaction with molecular dynamics simulations:A glycosynapse model,*J .Theochem*, 821, 22–29. **2007**
- [2] H. Dugas, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques, quatrième édition, Librairie de l'Université de Montréal, **1996**
- [3] A.R. leach, molecular modling ,principales and applications,Addition Wesley Longman essex5UK-m1193mchqpitre 3. B-A.K. Rappe, C.L. Casewit, molecular mechanics across chemistry, university science Books, Sausalito, CA, **1997**
- [4] J. S. Lomas, la mécanique moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire, l'actualité chimique, chapitre7. **1986**
- [5] G. Kesru, I. Kolossvary, molecular mechanics and conformational analysis in drug Designm department of chemical information technology, technical university of Budapest, Blackwell Science Ltdm, **1999**
- [6] I. Kolossvary; w. Guida, *J.Am.Soc*, 118, 5011, **1996**
- [7] R. Garrett, C. Gricham, *Biochimie, de Boeck university*, chapitre 8, 81. **2000**
- [8] Y. Luo, F. Barbault ,C. Gourmala, Cellular interaction through LewisX cluster: theoretical studies, *J Mol Model* 14, 901–910. **2008**
- [9] T. Kozar , Efficient modelling protocols for oligosaccharides: from vacuum to solvent , *Glycoconjugate Journal* 14, 925-933 ,**1997**

ANNEXES

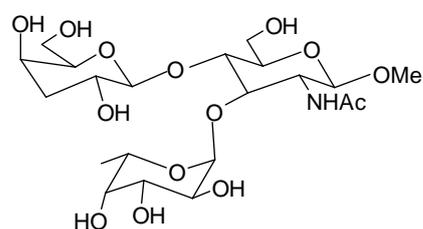
Lewis a



Methyl 2-désoxy-3-O-B-D_galactopyranosyl-4-O- α -L-fucopyranosyl-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

Epot	PHI1	PHI2	PSI1	PSI2
-64.04	45.87	-55.07	24.20	-29.71
-60.33	45.93	-56.89	36.13	-12.09
-60.02	51.00	-57.64	38.50	-22.61
-58.78	54.61	-61.28	-9.78	-46.19
-58.32	67.02	-46.09	52.78	178.36
-58.18	40.69	4.41	23.40	35.09
-57.67	-43.16	-44.04	15.09	24.45
-57.11	-32.38	-50.55	-50.83	-48.39
-56.20	-52.77	-54.15	-30.04	-34.06
-56.09	-156.8	-61.98	-13.20	-30.20
-55.99	38.35	14.02	23.18	24.75
-55.62	62.29	11.63	47.43	32.98
-55.60	21.32	-60.17	39.10	-49.61
-55.35	34.33	-44.45	41.63	-31.42
-55.28	-52.23	-50.61	-20.45	-28.02
-55.24	-45.05	-51.46	168.9	-37.69
-55.15	34.35	-43.84	42.61	-30.10
-55.11	-55.08	16.45	-24.34	32.30
-55.03	40.06	59.62	31.39	62.10
-54.93	-43.76	-53.54	37.67	158.35

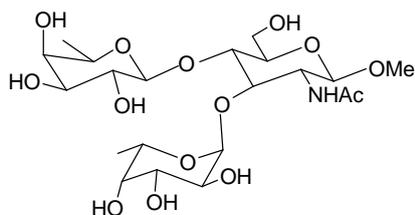
3-lewisx



Methyl(3-désoxy-3-O-B-D-xylo-hexopyrannosyl)-(1-4) -[α-L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-desoxy-2-acétamido-B-D-glucopyrannoside

Epot	phi1	phi2	psi1	psi2
-69.29	-29.36	39.36	-28.69	19.07
-68.76	175.32	34.28	5.35	23.98
-67.96	170.69	-68.52	7.27	154.49
-67.56	169.44	-39.97	6.22	71.741
-67.41	54.00	-61.14	9.62	-41.98
-67.40	-22.03	-29.32	-31.69	57.13
-67.35	-33.40	-72.89	-35.21	164.93
-67.24	52.56	-61.45	9.99	-39.13
-66.93	46.04	-30.51	-1.12	50.57
-66.49	34.32	-61.82	-75.09	170.29
-66.03	170.79	-69.18	7.34	154.48
-65.69	-22.27	-30.31	-32.26	52.95
-65.54	-33.60	-73.33	-35.07	165.27
-65.37	48.42	-58.41	10.69	-11.46
-65.05	-33.13	-57.73	-25.91	-18.49
-64.94	35.67	-57.00	-75.39	173.11
-64.65	160.65	9.95	11.92	34.27
-64.27	169.83	-33.46	5.76	62.81
-64.25	34.59	-56.78	-70.46	173.00
-64.17	66.06	43.61	-13.91	13.42
-63.60	-35.63	-54.33	-23.68	-25.74

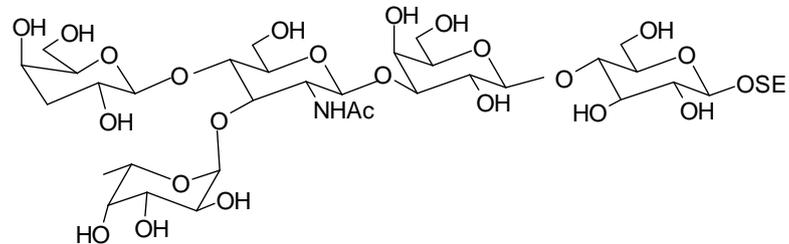
6-3Lewis x



Methyl(6-désoxy-B-D-fucopyranosyl)-(1-4) -[α-L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-desoxy-2-acétamido-B-D-glucopyranoside

Epot	phi1	phi2	psi1	psi2
-76.52901	2.625848	41.1461	-42.20495	26.92762
-73.5851	165.0013	-71.25247	2.78144	155.117
-72.71246	165.4134	-71.2359	2.12224	152.9807
-70.62588	52.17018	-61.57194	4.186112	-42.17373
-70.59653	-34.70146	-67.30945	-39.67101	159.8928

Pentalewis x



2-(trimethylsilyl)ethyl(3-désoxy-B-D-galactopyranosyl)-(1-4) -[α -L-fucopyranosyl-(1-3)]-2-desoxy-2-acétamido-2-dex
B-D-glucopyranoside-(1-3)-(B-galactopyranosyl)-(1-4)-2-B-D-glucopyranoside

Energy	phi1	phi2	phi3	phi4	psi1	psi2	psi3	psi4
-97.04	-50.69	-178.77	170.84	-65.10	-43.09	83.60	18.93	166.03
-95.36	-45.80	-67.84	171.88	-64.46	-47.58	22.45	-23.62	165.06
-94.21	-67.16	72.71	73.59	-20.98	-67.60	68.60	-160.59	54.11
-94.02	-43.35	74.76	73.32	-65.64	-45.53	69.55	-160.47	167.18
-93.90	-43.29	75.15	68.80	-65.63	-45.55	69.68	-162.54	167.31
-93.82	-43.09	74.67	73.53	-65.79	-45.39	69.63	-160.49	167.17
-93.61	-42.80	49.36	168.87	-64.89	-45.91	43.01	16.72	166.27
-93.52	-43.42	74.99	69.41	-65.51	-45.68	69.89	-162.09	167.35
-93.37	-44.96	-59.03	74.10	-64.31	-46.98	11.43	-160.40	166.74
-93.34	-43.23	28.52	173.87	-64.49	-46.25	42.65	-24.18	165.67
-93.24	-45.89	-169.56	35.63	-64.36	-46.40	69.51	163.85	168.10
-93.19	-67.14	20.85	157.01	-29.26	-67.55	46.42	-50.18	65.27
-93.16	-43.17	74.30	153.83	-65.63	-45.42	70.94	-49.68	167.18
-92.98	-44.86	-58.77	74.09	-64.34	-46.95	11.22	-160.44	166.76
-92.93	-42.97	40.61	51.46	-64.66	-46.18	37.98	172.20	166.39
-92.93	-42.94	48.52	73.96	-64.68	-46.21	42.21	-160.64	166.70
-92.85	-43.06	74.49	164.64	-65.71	-45.39	69.81	-33.64	167.35
-92.69	-75.29	-175.57	172.75	-24.18	-62.00	74.19	-23.08	52.96
-92.28	-75.38	-175.52	172.51	-24.17	-61.94	74.22	-23.46	52.91
-92.25	-66.55	27.55	173.07	-28.28	-67.63	43.01	-24.55	65.01
-92.12	-43.30	76.44	51.77	-65.65	-45.52	69.80	14.96	167.32
-91.89	-66.80	32.73	49.16	-28.42	-67.42	38.02	170.43	64.63
-91.82	-43.27	76.45	51.70	-65.69	-45.41	69.83	15.10	167.31
-91.74	-67.03	36.65	74.24	-28.82	-67.20	39.55	-160.65	65.08