

République Algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la
recherche scientifique

Université Mouloud MAMMERY

Faculté de médecine

TIZI-OUZOU



ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري

كلية الطب

تيزي وزو

Département de Pharmacie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

N D'ORDRE :

Présenté et soutenu, le : 15 Juillet 2021

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème :

**PLACE DE LA MODELISATION MOLECULAIRE DANS LE
DOMAINE PHARMACEUTIQUE, ETUDE PAR DOCKING
MOLECULAIRE DE DEUX NOUVELLES SERIES ANTIFONGIQUES.**

Réalisé par :

- Kadri Hassina
- Kellai Sara

- Kebir Amel
- Ladjimi Chahinaz

Composition du jury :

Dr Abderrahim W. Maitre assistante Faculté de médecine UMMTO Président du jury

Dr Hadhoum N. Maitre assistante Faculté de médecine UMMTO Rapporteur

Dr Allel L. Maitre assistante Faculté de médecine UMMTO Membre

Dr Lahmak K. Assistante Faculté de médecine UMMTO Membre

Dédicaces

A mes chers parents, que Dieu vous donne une longue vie.

Qui quoi que je dise je ne saurai ni les remercier suffisamment pour leur sacrifices et soutien ni leur dire à quel point je les aime et je suis reconnaissante.

A ma source de fierté : mes frères et mes sœurs.

Sans vous je ne pouvais jamais être là où je suis aujourd'hui.

A mes neveux, nièces et belles sœurs.

A mon cher trinôme : Amel, Chahinaz et Sara.

A Ahmed.

A tous mes amis, y compris Lydia et Nassima.

HASSINA

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

A ma petite famille, commençant par mes chers parents RABAH et MALHA que je ne remercierais jamais assez pour leur amour, soutien et encouragements qu'ils m'ont donnés pendant tous les moments de ma vie, puis au plus chers et plus proches personnes à mon cœur mes deux adorables sœurs TASSADIT et HANANE, et mon super frère AMAR ainsi que sa petite famille, sa femme HASSINA et notre petit soleil ANAELLE.

A ma grande famille, oncles et tantes, cousins et cousines pour leur présence à mes côtés dans les bons comme dans les mauvais moments. Un merci particulier à ma cousine NES et mon cousin SLIMANE pour leur soutien dans les moments difficiles durant mon parcours académique.

A mon fiancé MOHAMMED pour ses encouragements et sa patience durant mes moments de doutes et de découragements.

A mes collègues et amies : HASSINA; CHAHINAZ et AMEL pour leur confiance et leur complicité durant la réalisation de ce travail.

SARA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents pour leur soutien, patience et encouragements durant mes études.

A mes chers frères et mes belles sœurs ainsi que mes neveux adorés.

A ma sœur bien aimée, mon beau-frère et ma chère nièce.

A tous les autres membres de ma famille, mes amis et mes camarades.

A mes enseignants de tout mon parcours scolaire.

A vous mes chères amies HASSINA, SARA, et AMEL avec qui j'ai passé les meilleurs moments de mes années à l'université.

CHAHINAZ

Dédicaces

C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail à mes chers parents pour leur amour et soutien, que Dieu les garde pour moi.

À mon frère Zinou et mes sœurs Dalia, Amira, Lina et Ziri qui ont rendu ma vie pleine de bonheur.

À mes grands-parents qui m'ont soutenu et encouragé.

À tous les membres de ma famille. À tous mes amis particulièrement Hadjira.

À mes chères camarades Chakinaz, Hassina et Sara.

AMEL

Remerciements

Ce mémoire de fin d'étude est le fruit de six longues années de travail. Nous remercions d'abord le **BON DIEU** de nous avoir donné le courage et la patience durant ces années d'études.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre promotrice **Dr Hadhoum. N** pour ses orientations, son soutien moral et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire et pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer pour que ce travail voit le jour.

Nous tenons également à remercier les membres du jury qui nous honorent avec leur assistance pour l'évaluation de ce modeste travail. Nous remercions vivement **Dr Abderrahim. W** d'avoir accepté de présider le jury, ainsi que **Dr Lahmak. K** et **Dr Allel. L** d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous remercions aussi nos enseignants de la Faculté de Médecine pour la qualité de l'enseignement et leur générosité infinie.

Un remerciement spécial à nos parents qui ont tant sacrifié pour qu'on arrive à la fin de ce chemin et pour leur soutien, en espérant de les rendre fiers de nous.

Nous remercions aussi nos amis et camarades et toute personne qui nous a aidé, de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations.....	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	xi
Introduction	1
Objectifs	3

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur la modélisation moléculaire

1	Modélisation moléculaire.....	5
1.1	Définition	5
1.2	Utilité de la modélisation moléculaire	5
1.3	Méthodes de la modélisation moléculaire.....	5
2	Découverte de nouveaux médicaments	10
2.1	Histoire de découverte des médicaments	10
2.2	Processus de recherche et développement (R&D) des nouveaux médicaments	10
2.3	Méthodes pour la conception des nouveaux médicaments	15
3	Docking moléculaire	17
3.1	Définition du docking moléculaire.....	18
3.2	Intérêt du docking.....	18
3.3	Applications du docking moléculaire.....	18
3.4	Différents types de docking moléculaire.....	19
3.5	Etapas de docking moléculaire.....	21

3.6	Fonctions du score.....	22
3.7	Algorithmes de recherche.....	24
4	Interactions moléculaires.....	27
4.1	Intéractions de van der Waals	27
4.2	Liaisons hydrogènes	28
4.3	Interactions hydrophobes	29
4.4	Interactions électrostatique.....	29
4.5	Interactions cation – pi	30
5	Prédiction ADMETox in silico	30
5.1	Absorption.....	30
5.2	Distribution.....	31
5.3	Métabolisme	32
5.4	Excrétion	32
5.5	Toxicité.....	33

CHAPITRE II : Généralités sur l'onychomycose et traitements antifongiques

1	Onychomycose.....	35
1.1	Définitions.....	35
1.2	Epidémiologie	35
1.3	Facteurs de risque.....	36
1.4	Germes responsables	37
2	Traitements antifongiques	37
2.1	Définition des traitements antifongiques.....	37
2.2	Aperçu historique sur les antifongiques	38

2.3	Classifications des antifongiques	39
2.4	Etude des différentes classes d'antifongiques	40
3	Diagnostic et traitement des onychomycoses.....	51
3.1	Diagnostic.....	51
3.2	Traitement	52

PARTIE PRATIQUE

1	Matériel et méthodes	55
1.1	Matériel utilisé.....	55
1.1.1	Cibles (protéines)	55
1.1.2	Ligands	67
1.1.3	Logiciel de docking	69
1.1.4	Serveurs de prédiction ADMETox.....	72
1.2	Méthodes	75
1.2.1	Protocole de docking	75
1.2.2	Validation du protocole de docking	78
2	Résultats	80
2.1	Validation du protocole de docking	80
2.2	Détection des cavités des cibles	83
2.3	Résultats du docking moléculaire.....	85
2.3.1	Résultats de la cible 1	85
2.3.2	Résultats de la cible 2.....	90
2.4	Résultats de la prédiction ADMET	98

2.4.1	Propriétés physico-chimiques	98
2.4.2	Propriétés pharmacocinétiques.....	103
2.4.3	Profil toxicologique.....	104
3	Discussion	105
3.1	Discussion des résultats du docking moléculaire	105
3.1.1	Dérivés de 1-H-benzimidazole-2,5-disubstitués (Série A).....	105
3.1.2	Dérivés de N-méthyl-N-(1-naphtylméthyl)-3-phenyl prop-2en-1-amine substitués sur le phényle (Série B)	106
3.2	Etude in silico ADMET des Top 5(cinq premiers ligands).....	108
3.2.1	Dérivés de 1-H-benzimidazole-2,5-disubstitués (Série A).....	108
3.2.2	Dérivés de la série N-méthyl-N-(1-naphtylméthyl)-3-phenyl prop-2en-1-amine substitués sur le phényle (Série B)	109
	Conclusion	112
	Références bibliographiques.....	114
	Annexes	
	Résumé	
	Abstract	

Liste des abréviations

1D : Uni-Dimensional.

2D : Two-dimentional.

3D : Three-Dimensional.

5-FC : 5-FluoroCytosine.

5-FU : 5-Fluorouracile.

Å : Ångström.

aaRS : Aminoacyl-ARNt synthétases.

ADMETox : Absorption ; Distribution ; Métabolisme ; Elimination ; Toxicité.

AdmetSAR : Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity structure-activity relationship.

ADN : Adénosine désoxyribonucléique.

AE : Algorithmes évolutionnaires.

Ala : Alanine.

AMM : Autorisation de mise sur le marché.

AMP : Adénosine monophosphate.

Arg : Arginine.

ARN : Adénosine ribonucléique.

ARNt : Adenosine ribonucleique de transfere.

AS : Accesibilité de synthèse.

Asp : Acide Aspartique.

ATP : Adénosine triphosphate.

BBB : Blood brain barrier.

BHE : Barriere hematoencephalique.

BOILED-Egg : Brain or Intestinal EstimateD permeation method.

CI50 : Concentration inhibitrice médiane.

Csp3 : Fraction de carbones avec l'hybridation sp³.

CYP : Cytochrome P.

E : Energie.

Elec : Électrostatique.

EMA : European Medicines Agency.

Ep : Énergie potentielle.

FASTA : Fast Adaptive Shrinkage/Thresholding Algorithm.

FDA : Food and Drug Administration.

FURMP : 5-Fluorouridine mono phosphate.

GB: Generalized Born.

g-gp : Glycoprotéine P.

GI : Gastro intestinal.

Gln : Glutamine.

Glu : Acide Glutamique.

Gly : Glycine.

GMQE: Global Model Quality Estimation.

(H) : Hydrogène.

HERG : Human ether-a-go-go related gene.

His : Histidine.

HTS : High Throughput Screening.

IBAC : Interactions-based accuracy classification.

Ile : Isoleucine.

IUPAC: Union internationale de chimie pure et appliquée.

Leu : Leucine.

LeuRS : Leucyl ARNt synthétase.

LD50 : Dose létale médiane.

Lys : Lysine.

Met : Methionine.

MM : Mécanique moléculaire.

MVD : Molegro virtual docker.

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

N-UDP-glucosamine : Uridine di phosphate N-acétylglucosamine.

OA : Orbitales atomiques.

OM : Orbitales moléculaires.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

PDB : Protéine Data Bank.

pIC50 : Logarithme négatif de la valeur de la CI50 lorsqu'elle est convertie en molaire.

PLP: Piece wise Linear Potential.

PM : Poids moléculaire .

Pro : Proline.

QMEAN: Qualitative Model Energy Analysis.

QMEANDisCo: Qualitative Model Energy Analysis Co-Distance.

QSAR : Quantitative Structure-Activity Relationship.

R&D : Recherche et développement.

ri : Vecteur position de l'atome i.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

RMSD : Root-Mean-Square Deviation.

ROE: espèces réactives de l'oxygene.

SAR : Structure–Activity Relationship.

SASA : Solvent Accessible Surface Area.

SMTL : SWISS-MODEL Template Library

TD50 : Dose toxique médiane.

Thr : Thréonine.

TPSA : Topological Surface Area.

UPRT: Uridine phosphoribosyl-transférase

Tyr : Tyrosine.

Val : Valine.

VDW : Van der Waals.

VIH : Virus de l’immuno-déficience humaine.

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux agents infectieux responsables d'onychomycose.....	37
Tableau II : Principales molécules de la classe des azolés et leur spectre d'activité.....	41
Tableau III : Principales molécules de la classe des polyènes et leur spectre d'activité.....	45
Tableau IV : Structure chimique et spectre d'activité de caspofungine et micafungine.....	46
Tableau V : Structure chimique et spectre d'activité des Allylamines.....	48
Tableau VI : Structure chimique et spectre d'activité de 5-FU.....	49
Tableau VII : Structure chimique et spectre d'activité de nikkomycine et polyoxines.....	50
Tableau VIII : Principaux traitements médicamenteux antifongiques.....	52
Tableau IX : Informations structurales données par SWISS-MODEL pour la protéine template.....	60
Tableau X : Cavités de la cible 1 détectées par MVD.....	83
Tableau XI : Cavités de la cible 2 détectées par MVD pour l'espèce <i>Trichophyton rubrum</i>	84
Tableau XII : Cavités de la cible 2 détectées par MVD pour l'espèce <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	84
Tableau XIII : Energies d'interaction MolDock score des meilleures poses prédites par MVD pour la cible 1.....	85

Tableau XIV : Caractéristiques des liaisons formées entre le site d'édition de la cible 1 et les ligands (top cinq) de la série A prédites par MVD.....	89
Tableau XV : Energies d'interaction MolDock score des meilleures poses prédites par MVD pour <i>Trichophyton rubrum</i>	90
Tableau XVI : Energies d'interaction MolDock score des meilleures poses prédites par MVD pour <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	91
Tableau XVII : Caractéristiques des liaisons formées entre le site actif de la cible 2 (<i>Trichophyton rubrum</i>) et les ligands (top cinq) de la série B prédites par MVD.....	96
Tableau XVIII : Caractéristiques des liaisons formées entre le site actif de la cible 2 (<i>Trichophyton mentagrophytes</i>) et les ligands (top cinq) de la série B obtenues par MVD.....	97
Tableau XIX : Propriétés physico-chimiques des tops 5 des ligands de la série A prédites par le serveur SwissADME.....	99
Tableau XX : Propriétés physico-chimiques des tops 5 des ligands de la série B prédites par le serveur SwissADME.....	101
Tableau XXI : Propriétés pharmacocinétiques des ligands (top cinq) de la série A prédites par le serveur SwissADME.....	103
Tableau XXII : Propriétés pharmacocinétiques des ligands (top cinq) de la série B prédites par le serveur SwissADME.....	103
Tableau XXIII : Profil de toxicité des ligands (top cinq) de la série A prédit par le serveur admetSAR.....	104
Tableau XXIV : Profil de toxicité des ligands (top cinq) de la série B prédit par le serveur admetSAR.....	104

Liste des figures

Figure 1 : Détermination des minimas de l'énergie globale d'interaction.....	09
Figure 2 : Etapes de recherche et développement de nouveaux médicaments.....	11
Figure 3 : Intérêt du docking.....	18
Figure 4 : Types de docking.....	20
Figure 5 : Interaction de van der Waal.....	28
Figure 6 : Liaisons hydrogènes.....	29
Figure 7 : Liaisons hydrophobes.....	29
Figure 8 : Interactions électrostatiques.....	29
Figure 9 : Interactions cation-pi.....	30
Figure 10 : Historique de découvertes des antifongiques.....	39
Figure 11 : Cibles des antifongiques.....	40
Figure 12 : Biosynthèse de l'ergostérol chez <i>Candida</i>	44
Figure 13 : Structure chimique du tavaborole.....	51
Figure 14 : Informations relatives à 5AGJ.....	56
Figure 15 : Structure tridimensionnelle de LeuRS.....	57
Figure 16 : Surface de la LeuRS crée par MVD.....	58
Figure 17 : Alignement template et modèle de <i>Trichophyton rubrum</i> obtenu avec SWISS-MODEL.....	61

Figure 18 : Alignement template et modèle de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> obtenu avec SWISS-MODEL	61
Figure 19 : Structure 3D de squalène epoxydase obtenue avec SWISS-MODEL de l'espèce <i>Trichophyton rubrum</i> à gauche et de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> à droite qui sont quasi identiques.....	62
Figure 20 : Paramètres de validation du modèle de <i>Trichophyton rubrum</i> obtenus avec SWISS-MODEL.....	63
Figure 21 : Paramètres de validation du modèle de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> obtenus avec SWISS-MODEL.....	63
Figure 22 : Graphique de l'estimation de la qualité locale donné par SWISS-MODEL pour le modèle de <i>Trichophyton rubrum</i>	65
Figure 23 : Graphique de l'estimation de la qualité locale donnée par SWISS-MODEL pour le modèle de <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	65
Figure 24 : Graphique de comparaison donné par SWISS-MODEL pour le modèle de <i>Trichophyton rubrum</i> obtenu avec SWISS- MODEL.....	66
Figure 25 : Graphique de comparaison donné par SWISS-MODEL pour le modèle de <i>Trichophyton mentagrophytes</i> obtenu avec SWISS-MODEL.....	67
Figure 26 : Schéma explicatif de l'obtention des ligands de la série A.....	68
Figure 27 : Schéma explicatif de l'obtention des ligands de la série B.....	68
Figure 28 : Interface du logiciel ChemDraw Ultra 8.0.3 (avec un espace de dessin au milieu et plusieurs barres d'outils).....	69
Figure 29 : Interface du logiciel Chem3D Ultra 8.0.3 (avec l'espace de travail « work space » au milieu et plusieurs barres d'outils).....	69
Figure 30 : Interface du logiciel MVD.....	70
Figure 31 : Page d'accueil du serveur SwissADME.....	73

Figure 32 : Page d'accueil du serveur admetSAR.....	74
Figure 33 : Source de protéines et ligands étudiés.....	76
Figure 34 : Protocole de docking.....	77
Figure 35 : Illustration de la définition de l'ANZ co-cristallisé comme ligand de référence pour la cible 1.....	79
Figure 36 : Illustration de la définition de l'EKV co-cristallisé comme ligand de référence pour la cible 2.....	79
Figure 37 : Matrice RMSD désignant la valeur RMSD obtenue par MVD pour la cible 1.....	80
Figure 38 : Matrice RMSD désignant la valeur RMSD obtenue par MVD pour la cible 2.....	80
Figure 39 : Superposition de l'ANZ et sa meilleure pose générée (En blanc : ANZ, en rouge : meilleure pose générée) obtenue par MVD.....	81
Figure 40 : Superposition de l'EKV et sa meilleure pose générée (En blanc : EKV, en rouge : meilleure pose générée) obtenue par MVD.....	81
Figure 41 : Visualisations des interactions ANZ-site actif (à gauche) et celles de sa meilleure pose-site actif (à droite) par MVD.....	82
Figure 42 : Visualisations des interactions EKV-site actif (à gauche) et celles de sa meilleure pose-site actif (à droite) par MVD.....	83
Figure 43 : Cavités de la cible 1 détectées par MVD et visualisation de l'espace de recherche.....	84
Figure 44 : Cavités de la cible 2 de l'espèce <i>Trichophyton rubrum</i> (à gauche) et <i>Trichophyton mentagrophytes</i> détectées par MVD et visualisation de l'espace de recherche.....	85

Figure 45 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le tavaborole (ligand de référence).....	86
Figure 46 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le top 5 des meilleures molécules de la série A.....	87
Figure 47 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour les molécules de la série A ayant obtenus une faible affinité pour la cible 1.....	88
Figure 48 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour la naftifine (ligand de référence) avec <i>T. rubrum</i> (à gauche) <i>T. mentagrophytes</i> (à droite).....	91
Figure 49 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le top 5 des meilleures molécules de la série B avec <i>T. rubrum</i>	92
Figure 50 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le top 5 des meilleures molécules de la série B avec <i>T. mentagrophytes</i>	93
Figure 51 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour les molécules de la série A ayant obtenus une faible affinité pour la cible 2 chez <i>T. rubrum</i>	94
Figure 52 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour les molécules de la série A ayant obtenus une faible affinité pour la cible 2 chez <i>T. mentagrophytes</i>	95
Figure 53 : Radars de biodisponibilités des tops 5 des ligands de la série A prédits par le serveur SwissADME.....	100
Figure 54 : Radars de biodisponibilités des tops 5 des ligands de la série B prédits par le serveur SwissADME.....	102

Introduction

De nos jours, les mycoses présentent un réel problème de santé publique, du fait de leur fréquence qui est en forte progression, ainsi que l'apparition de souches résistantes aux traitements usuels [1,2]. Dans notre étude, nous nous sommes intéressées à l'onychomycose, une infection fongique superficielle, parmi les plus difficiles à soigner et responsable de 50 % des onychopathies. Cette infection touche les ongles des mains et des pieds, elle est causée majoritairement par des dermatophytes, des levures ou des moisissures non dermatophytes [3]. Bien qu'elle ne mette pas le pronostic vital en jeu, cette pathologie doit être prise en charge, puisque le caractère récidivant et parfois douloureux associé au risque de dissémination ainsi qu'à son aspect inesthétique ont un impact sur la qualité de vie du patient [4].

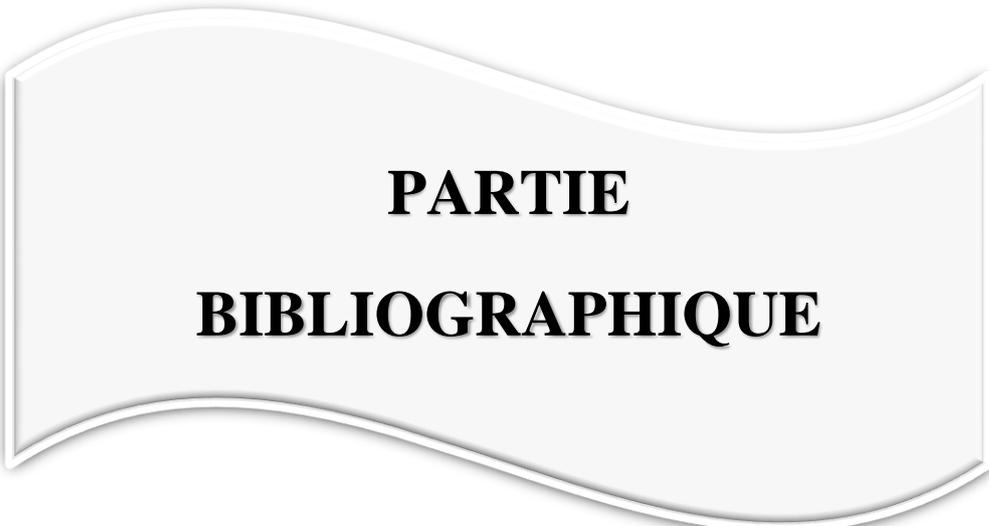
Malgré que l'arsenal thérapeutique antifongique soit développé, les médicaments actuellement disponibles ne répondent pas complètement aux exigences croissantes de la gestion de l'infection. Les effets secondaires des traitements oraux des onychomycoses tels que l'hépatotoxicité, les interactions médicamenteuses, la résistance ainsi que la faible efficacité des agents topiques (due à la faible pénétration unguéale) constituent un besoin urgent pour le développement de nouveaux traitements pour cette catégorie d'infections fongiques [5,6]. Sachant qu'actuellement le développement des outils informatiques a considérablement révolutionné le domaine médico-pharmaceutique. Ceci a permis de mettre en place des programmes performants accessibles à la communauté scientifique constituant un grand support pour le processus de recherche et développement en donnant lieu à des méthodes de conception des médicaments ou « drug-design » dites *in silico*. C'est dans ce but que des techniques de modélisation moléculaires, regroupées sous le nom de "amarrage" ou "docking" moléculaire ont été développées. Le docking moléculaire est une technique de criblage *in silico* de drug-design « structure-based » (basée sur la structure), facile à mettre en œuvre, offre un complément aux méthodes expérimentales et qui fait gagner du temps et de l'argent pour la découverte de nouveaux médicaments. Il vise à prédire la structure d'un complexe formé à partir de petites molécules isolées appelées ligands qui interagissent avec une cible biologique généralement protéique [7]. Dans ce contexte, s'articule notre travail qui consiste à proposer de nouvelles séries de produits qui seront testés *in silico* vis-à-vis des cibles probables retrouvées chez les espèces fongiques responsables des onychomycoses.

Notre travail est organisé en deux parties, initié par une revue de la littérature rapportée dans deux chapitres. Le premier chapitre porte sur l'état de l'art de la modélisation moléculaire, sa place dans le domaine de la recherche et développement de nouveaux médicaments suivi par le docking moléculaire. Enfin, un aperçu sur la prédiction ADMETox in silico. Par ailleurs, dans le deuxième chapitre, nous abordons des généralités sur les onychomycoses, les traitements antifongiques existants notamment ceux de l'infection en question. Dans la deuxième partie (partie pratique), nous précisons le matériel utilisé pour l'obtention des structures des cibles étudiées (Protein Data Bank, SWIS-MODEL) et celles des ligands (ChemDraw) nécessaires au processus du docking moléculaire effectué par le logiciel Molegro Virtuel Docker (MVD) tout en détaillant le protocole de docking ainsi que les résultats obtenus et la discussion.

Objectifs

Vu l'émergence croissante des résistances aux antifongiques et problèmes de toxicité, nous proposons dans notre étude la conception de nouveaux produits et la prédiction de leur activité antifongique in silico, pour atteindre cet objectif, différents objectifs secondaires doivent être atteints :

- Proposer une première série de composés visant une nouvelle cible « Leucyl-ARNt synthétase », en s'inspirant du tavaborole;
- Proposer une deuxième série regroupant des analogues des allylamines visant une cible connue dont la structure pourra être obtenue par modélisation par homologie structurelle ;
- Un docking moléculaire est réalisé pour les deux séries afin de prédire l'activité antifongique in silico ;
- Une étude in silico ADMET dans le but de prévoir les propriétés pharmacocinétiques et la toxicité des composés proposés.



PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

1 Modélisation moléculaire

1.1 Définition

La modélisation moléculaire est un ensemble de techniques bio-informatiques et biophysiques dont le but principal est de prévoir la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules. Elle permet de représenter et de visualiser la structure 3D d'une molécule en s'appuyant sur la connaissance de la position de ses atomes, ce qui permet donc de comprendre son fonctionnement, ses mouvements et comment elle interagit avec d'autres protéines ou d'autres molécules (ligands) [8, 9].

1.2 Utilité de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire a un intérêt particulier dans le domaine médico-pharmaceutique, elle permet la :

- ✓ Prédiction de la structure 3D des protéines en s'appuyant sur celle déjà connue de protéines similaires ;
- ✓ Prédiction de l'effet d'une mutation sur l'activité d'une protéine et/ou sur sa capacité à interagir avec un médicament en partant de l'étude d'un changement d'un ou plusieurs acide(s) aminé(s) sur la structure 3D d'une protéine particulièrement utilisée en absence d'information biologique ou médicale sur une mutation ;
- ✓ Conception de nouveaux médicaments « DRUG DESIGN ». Dès que la structure 3D de la protéine cible est connue, la conception d'un médicament susceptible de se loger dans le site fonctionnel de cette protéine est alors possible [8].

1.3 Méthodes de la modélisation moléculaire

1.3.1 Méthodes quantiques

Ces méthodes sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM), particulièrement adaptées au calcul des charges et des potentiels électrostatiques. L'inconvénient de ces méthodes est les temps de calcul élevé. L'objectif principal de la mécanique quantique est de déterminer l'énergie et la distribution électronique. Les principales variantes sont : la méthode de Huckel, méthode de champ auto-cohérent et les méthodes basées sur la fonctionnelle de la densité [10,11].

1.3.1.1 Méthode de Huckel

Elle permet d'exprimer rapidement la forme des OM d'un système, elle ne prend en compte que les électrons et utilise des approximations très grossières. Malgré cela, elle conduit à des informations importantes sur la réactivité des molécules conjuguées en raisonnant exclusivement sur la forme des OM et sur les poids respectifs des orbitales atomiques (OA) qui les composent ainsi que sur leurs énergies correspondantes [12].

1.3.1.2 Méthodes de champ auto-cohérent (Self Consistent Field, SCF)

Ces méthodes reposent sur des calculs basés sur les électrons σ . On distingue deux variantes, suivant la manière dont les termes d'énergie électroniques sont calculés.

a-Méthodes ab initio

Dans les méthodes ab-initio, toutes les particules (noyau et électrons) sont traitées explicitement. Les calculs ab-initio tiennent en compte seulement des interactions des particules. L'énergie de la structure moléculaire est alors calculée à partir des orbitales moléculaires définies comme la somme des orbitales atomiques [13].

b-Méthodes semi-empiriques

Dans une méthode semi-empirique, nous prenons en considération uniquement les électrons de la couche de valence, les électrons des couches internes sont inclus dans le cœur nucléaire. Les termes énergétiques les plus difficiles à calculer sont estimés à partir de données expérimentales. Cette méthode de calcul est plus rapide que les autres méthodes quantiques. Cependant, elle présente l'inconvénient d'être soumise à de nombreuses approximations et elle est tributaire des composés qui ont servi à l'étalonner. Selon la nature des approximations utilisées, nous pouvons distinguer plusieurs variantes (MNDO, AM1, ...). La plus récente est PM6 (logiciel MOPAC) [14].

1.3.1.3 Méthodes basées sur la fonctionnelle de la densité (Density Functional Theory « DFT »)

Elles calculent l'énergie d'un atome en représentant son énergie cinétique en fonction de la densité électronique. La DFT est capable de déterminer avec précision les propriétés moléculaires géométriques, les énergies de liaisons et les différents types de spectre pour des molécules aussi complexes que des composés de coordination. Ces méthodes utilisent une

expression de l'énergie électronique E en fonction de la densité électronique ρ , elle-même fonction de la position $\sim r$ de l'électron, selon l'équation suivante :

$$E = G [\rho (\sim r)]$$

L'énergie est donc une fonctionnelle de $(\sim r)$ [15, 16].

1.3.2 Mécanique moléculaire

Cette technique calcule l'énergie des atomes (et non plus des électrons) au moyen d'approximations de la mécanique classique où les atomes sont assimilés à des points massiques (éventuellement chargés) et les liaisons chimiques à des ressorts mécaniques. Les atomes sont alors représentés par des sphères ayant des masses et des rayons différents et possédant une charge. Les liaisons sont décrites comme des ressorts de différentes constantes de force. Ces charges et constantes sont contenues dans un champ de force [17].

1.3.2.1 Fonction d'énergie potentielle

C'est la somme des différentes contributions traduisant les interactions physiques inter et intramoléculaires du système étudié (interactions liantes et interactions non liantes). L'ensemble de ces termes et ces paramètres sont utilisés pour décrire chaque type d'atome rencontré qui se traduit par un champ de force qui comporte généralement cinq contributions principales :

$$\text{Energie potentielle (EP)} = E \text{ élongation} + E \text{ AnglesDièdres} + E \text{ DièdresImpropres} + E \text{ Elec} + \\ E \text{ VDW} + E \text{ (H)} \quad [18]$$

Avec :

- Elec : Électrostatique
- VDW : Van der Waals
- (H) : Hydrogène

Elle est simplifiée comme suit :

$$E \text{ potentielle} = E \text{ atomes-liés} + E \text{ atomes-non liés}$$

1.3.2.2 Terme des atomes liés

Ce sont des interactions ne dépendant que des coordonnées internes des molécules. La déformation du squelette est décrite par l'élongation des liaisons et distorsion des angles de valence, voir l'équation ci-dessous :

$$E \text{ atomes liés} = E \text{ élongation Angles} + E \text{ Dièdres} + E \text{ Dièdres Impropres}$$

1.3.2.3 Terme des atomes non liés

Il prend en considération les interactions de van der Waals et électrostatiques entre les atomes. En général, elles s'appliquent seulement aux paires d'atomes qui sont séparées par au moins trois liaisons chimiques, selon l'équation ci-dessous :

$$E \text{ atomes-non liés} = E \text{ VdW} + E \text{ Elec} + E \text{ liaisons-hydrogène}$$

1.3.2.4 Terme du champ de force

C'est un modèle mathématique qui représente l'ensemble des paramètres permettant de calculer l'énergie potentielle du système (variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire) en fonction de coordonnées des atomes :

$$E_p = f(r_1, r_2, \dots, r_n)$$

Où :

- E_p : Énergie potentielle.
- r_i : Représente le vecteur position de l'atome i .

Il est impératif de vérifier l'adaptation du champ au système à étudier pour nous trouver des champs destinés plus spécialement à la modélisation de petites molécules organiques, de macromolécule, de nucléotides ou encore de complexes organométalliques [19].

1.3.2.5 Différents champs de force en mécanique moléculaire (MM)

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de différents paramètres. Les champs de forces en MM peuvent être groupés en trois classes principales :

- ✓ Champ de force contenant uniquement les termes harmoniques ;
- ✓ Champ de force utilisant les termes d'ordre supérieur (cubique, quadratique) ;

- ✓ Champ de force suggéré par Allinger et col : ne considérant pas que les termes de la mécanique moléculaire classique mais aussi les effets chimiques comme l'électronégativité [20].

1.3.2.6 Minimisation d'énergie

Les méthodes de minimisation d'énergie déterminent la conformation stable la plus proche en énergie de la conformation initiale de la molécule. Nous utilisons des méthodes d'analyse numérique pour trouver des minima locaux dont le principe est de minimiser la valeur de la fonction énergétique en ajustant (à partir d'une conformation initiale) les paramètres géométriques de la molécule correspondant à un minimum énergétique global ou simplement local (voir la figure 1) [10].

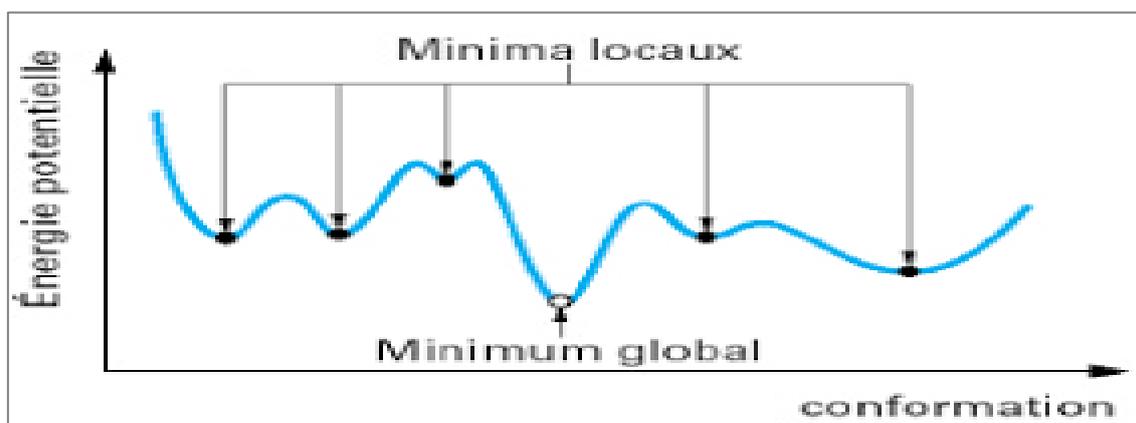


Figure 1 : Détermination des minima de l'énergie globale d'interaction [21].

1.3.3 Dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire consiste à calculer les mouvements des molécules en lui appliquant les lois de la mécanique classique newtonienne, en partant du principe qu'une molécule est un assemblage d'atomes dont la position change avec le temps et chaque atome est assimilé à une masse ponctuelle dont le mouvement est étudié à partir des différentes forces qui s'exercent sur elle. Ce mouvement correspond à des oscillations autour d'un minimum d'énergie ou au passage d'un de ces minima à un autre. La dynamique moléculaire a le pouvoir d'extraire la molécule d'un minimum local.

Pour obtenir la trajectoire des atomes en fonction du temps, nous réalisons une intégration numérique sur un court intervalle de temps des équations de mouvements en partant d'une structure expérimentale ou modèle du système que nous voulons étudier. Nous pouvons réaliser

une simulation de dynamique moléculaire. Cette technique repose sur l'intégration des équations de mouvements de Newton pour chaque atome i , et nous déterminerons les coordonnées et les vitesses initiales [22].

2 Découverte de nouveaux médicaments

2.1 Histoire de découverte des médicaments

La découverte de médicaments à l'époque moderne chevauche trois grandes périodes. La première période notable remonte au XIXe siècle, où la base de la découverte de médicaments reposait sur le hasard des chimistes médicaux. La deuxième période a commencé au début du XXe siècle, lorsque de nouvelles structures de médicaments ont été découvertes, ce qui a contribué à une nouvelle ère de découverte d'antibiotiques. Sur la base de ces structures connues et avec le développement de nouvelles techniques puissantes telles que la modélisation moléculaire, la chimie combinatoire et le criblage automatisé à haut débit, des progrès rapides ont été réalisés dans la découverte de médicaments vers la fin du siècle. Cette période a également été révolutionnée par l'émergence de la technologie de l'ADN recombinant, où il est devenu possible de développer des candidats potentiels de cibles de médicaments. Avec toute l'expansion des nouvelles technologies et le début de la révolution "omique" au XXIe siècle, la troisième période a débuté avec une augmentation des médicaments biopharmaceutiques approuvés par la FDA (Food and Drug Administration)/EMA (European Medicines Agency) pour un usage thérapeutique [23].

2.2 Processus de recherche et développement (R&D) des nouveaux médicaments

Elaborer un médicament est un processus complexe, qui peut s'étaler sur 10 à 15 ans, et coûter des centaines de millions de dollars. Sur 10 000 molécules criblées, seulement 10 candidats médicaments feront l'objet d'un dépôt de brevet et 01 parviendra à passer toutes les phases de tests et d'essais cliniques pour devenir un médicament [24]. Les principales étapes de recherche et développement de nouveaux médicaments sont résumées dans la figure 2.

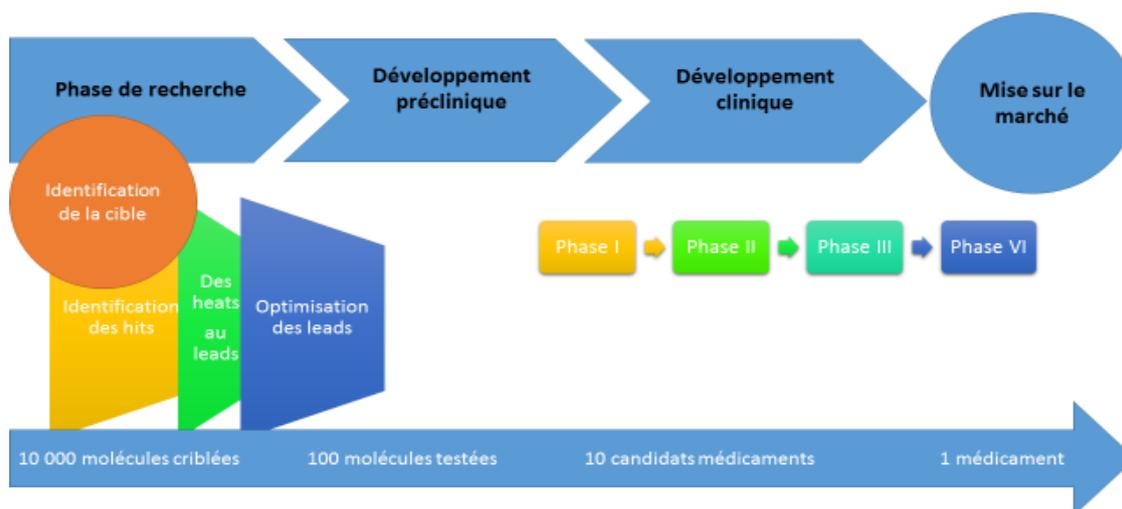


Figure 2: Etapes de recherche et développement de nouveaux médicaments [24].

2.2.1 Identification de la cible

Une cible est un terme général qui peut être appliqué à une série d'entités biologiques qui peuvent inclure par exemple des protéines, des gènes et de l'ARN. Une cible médicamenteuse est accessible à la molécule médicamenteuse présumée, qui en se liant, provoque une réponse biologique qui peut être mesurée à la fois *in vitro* et *in vivo* [25].

L'exploration des données biomédicales disponibles a conduit à une augmentation significative de l'identification des cibles. Dans ce contexte, l'extraction de données fait référence à l'utilisation d'une approche bio-informatique pour aider non seulement à identifier mais également à sélectionner et à hiérarchiser les cibles potentielles de la maladie [26].

Les données disponibles proviennent de diverses sources, mais comprennent des publications et des informations sur les brevets, des données sur l'expression des gènes et des données « protéomiques ». Les approches d'identification comprennent également l'examen des niveaux d'ARN messager /protéines pour déterminer leur expression dans la maladie et s'ils sont corrélés à son exacerbation ou sa progression. Il existe aussi d'autres approches telles que la recherche d'associations génétiques et le dépistage phénotypique pour identifier les cibles pertinentes pour la maladie [27, 28].

Quel que soit le mécanisme d'identification de la cible, il doit y avoir un certain niveau de validation afin d'établir la justification biologique de la raison pour laquelle l'atteinte de la cible aura le bénéfice thérapeutique souhaité. De nombreux outils *in vitro* et *in vivo* sont utilisés lors de cette étape de validation, parmi lesquels les animaux transgéniques, les petits ARN interférents, les anticorps monoclonaux ou encore la chémo génomique dont le but est de fournir une petite molécule pour chaque protéine codée par le génome pour explorer les fonctions cellulaires et guider la découverte de nouveaux médicaments [25].

Le choix définitif de la cible moléculaire pour le démarrage d'un programme de recherche dépendra d'un certain nombre de critères, tels que l'état de la connaissance physiopathologique concernant cette cible, les indications cliniques potentielles, l'originalité du mécanisme visé, l'état de la concurrence, le coût et la durée du développement et le potentiel commercial du composé agissant sur cette cible biologique [28].

2.2.2 Identification des touches « hits »

Après le processus de validation de la cible, il reste à répondre à la question : comment trouver les composés chimiques ou moléculaires qui interagissent avec la cible afin d'avoir un effet thérapeutique ? Pour ce faire, les chercheurs doivent faire des essais de criblage ou screening sur un grand nombre de composés appartenant à la librairie chimique, en évaluant leur puissance, sélectivité et propriétés physicochimiques leur permettant d'interagir avec la cible prédéfinie.

Le screening s'effectue par le biais des tests expérimentaux, qui nécessitent le plus souvent une connaissance approfondie des systèmes étudiés. Ce type de screening peut s'avérer très compliqué à mettre en œuvre et parfois irréalisable au vu des coûts financiers et temporels très importants, surtout lors d'un criblage à haut débit HTS (High Throughput Screening) [29]. Pour pallier à ces difficultés, des techniques de criblage virtuel sur ordinateur « *in silico* » ont été développées. Ce criblage, contrairement aux tests expérimentaux, est souvent plus aisé à mettre en œuvre, peu coûteux et relativement rapide. En revanche, ce criblage donne des résultats prédictifs qui doivent être impérativement validés par des tests expérimentaux, ceci représente l'inconvénient majeur de ce genre de screening. Par conséquent, la combinaison des deux approches de criblage est utilisée très fréquemment lors des processus actuels de R&D de nouveaux médicaments [30].

2.2.3 Des hits aux leads

Généralement, le travail consiste maintenant en des investigations SAR (Structure–Activity Relationship) pour établir la relation structure activité, avec des mesures pour établir l'ampleur de l'activité et la sélectivité de chaque composé. Cela doit être effectué de manière systématique et lorsque les informations structurales sur la cible sont connues, des techniques de conception de médicaments basées sur la structure, utilisant la modélisation moléculaire et des méthodologies telles que les rayons X, la cristallographie et la RMN peuvent être appliquées pour développer le SAR plus rapidement et de manière plus ciblée [25]. Ce type d'activité donne aussi souvent lieu à la découverte de nouveaux sites de liaison sur les protéines cibles. Par ailleurs, c'est durant cette phase que des changements spectaculaires sont apportés à la structure chimique et le noyau principal du lead est établi. Il est aussi habituel de resynthétiser les composés pour une validation complète du hit et d'acheter ou de synthétiser des analogues proches des composés.

Dans cette phase, l'attention doit également se tourner vers un profilage plus détaillé des propriétés physicochimiques et in vitro de l'ADMETox (Absorption Distribution Métabolisme Elimination Toxicité) des composés qui se fait en parallèle, pour essayer de produire des composés plus puissants et plus sélectifs qui possèdent des propriétés pharmacocinétiques suffisantes pour examiner leur efficacité dans tous les modèles in vivo disponibles [31].

2.2.4 Optimisation des leads

C'est une activité qui demande un apport intellectuel important de la part de scientifiques de disciplines diverses. Le principal défi consiste à développer un ou plusieurs composés ayant les propriétés médicamenteuses souhaitées. En plus d'avoir une affinité suffisante pour la cible, le composé doit avoir un profil de sélectivité approprié, être capable d'atteindre le site d'action (ce qui pour de nombreuses cibles, signifie la perméabilité cellulaire) et avoir des propriétés « Drug-like » acceptables. Il est aussi important de continuer à vérifier que l'effet observé sur l'activité cellulaire (et plus tard in vivo) provient de l'interaction avec la cible protéique identifiée.

Durant cette phase, il peut y avoir quelques changements modestes dans le noyau central du composé. Cependant, au fur et à mesure que l'optimisation progresse, les principaux changements se situent à la périphérie de la molécule [31].

2.2.5 Développement préclinique

C'est une phase dans laquelle est réalisée la synthèse à grande échelle du produit (jusqu'à quelques kilos alors que quelques grammes seulement sont synthétisés dans la recherche en amont), nécessitant souvent une amélioration des voies de synthèse, la formulation du produit est optimisée et les comprimés ou suspensions qui serviront aux premières études cliniques de phase I sont préparés.

La pharmacocinétique du produit est approfondie : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination de la molécule sont évalués, chez au moins deux espèces animales dans des tests *in vitro* et *in vivo*.

Au plan sécurité du médicament, des études de toxicité aiguë et chronique sont réalisées chez le rat, la souris et le chien (ou le primate) afin d'établir les doses maximales tolérées et les organes cibles du produit. A ce stade, sont également réalisées des études de génotoxicité *in vitro* ou *ex vivo* et de pré-carcinogénèse et les éventuels effets du produit sur la reproduction et le développement sont évalués chez le rongeur. Enfin, des études de pharmacologie de sécurité destinées à évaluer l'effet du produit sur les grandes fonctions physiologiques (systèmes nerveux central, cardiovasculaire, gastro-intestinal, respiratoire, rénal, endocrinien) sont réalisées.

L'ensemble de ces études permet de calculer la marge de sécurité du candidat médicament (dose toxique ou induisant des effets secondaires/dose thérapeutique potentielle dans les modèles expérimentaux de la pathologie) et de décider ou non de l'avancement du produit en phase I [28].

2.2.6 Développement clinique

Le développement clinique comprend quatre phases consécutives.

- Phase I : c'est celle de la première administration chez l'homme (petit nombre de volontaires sains). Nous étudions sous haute surveillance, la tolérance biologique et clinique du produit, son devenir dans l'organisme. Ces études sont destinées à déterminer la dose maximale tolérée chez l'homme et à calculer la marge de sécurité par rapport à la dose thérapeutique potentielle déduite des études précliniques dans les modèles expérimentaux chez l'animal.
- Phase II : réalisée chez quelques centaines de patients, elle poursuit les études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Elle permet de vérifier ou non l'hypothèse d'efficacité pharmacologique du produit, et de préciser la posologie optimale à utiliser lors de la phase III.
- Phase III : également appelée études de confirmation. Ces études sont destinées à confirmer l'efficacité et la sécurité du composé candidat dans une population importante de patients (une centaine à plusieurs milliers de malades). Cela se fait par des essais thérapeutiques multicentriques en comparant le produit à un placebo ou un autre produit de référence. C'est à ce terme qu'est accordée ou non l'AMM par l'autorité compétente.
- Phase IV : généralement après commercialisation du produit, c'est la phase de pharmacovigilance permettant de repérer des effets secondaires inattendus pouvant conduire éventuellement au retrait du marché [28].

2.3 Méthodes pour la conception des nouveaux médicaments

Il existe une variété de méthodes pour la conception des nouveaux médicaments qui peuvent être classées en deux groupes selon qu'il s'agisse d'une analyse comparative des ligands (ligand-based Drug design) ou d'une analyse des interactions entre un ligand et une protéine (structure-based Drug design). Actuellement, nous avons tendance à combiner les deux méthodes pour exploiter le maximum de données pour de meilleurs résultats [32].

2.3.1 Approche basée sur les ligands

Cette approche est basée sur une comparaison structurelle des ligands candidats à des ligands de référence (similarité moléculaire) et sur la comparabilité des groupements fonctionnels de la molécule étudiée et ceux d'une référence (pharmacophore).

- **Similarité moléculaire**

Elle se base sur un raisonnement qui considère que deux molécules présentant des caractéristiques structurales proches doivent posséder des propriétés biologiques proches en interagissant de la même façon avec le récepteur biologique [32]. Cette méthode repose donc sur l'utilisation de descripteurs et de métriques de similarité permettant de comparer des molécules à cribler à un ou plusieurs ligands de référence pour prédire leur profil d'activité [33]. Les descripteurs moléculaires peuvent être obtenus mathématiquement ou expérimentalement et sont classés suivant leur dimension: 1D (général), 2D (topologie) ou 3D (conformation) [34].

- **Pharmacophore**

Selon l'IUPAC un pharmacophore est « un ensemble de motifs stériques et électroniques nécessaires pour assurer des interactions supramoléculaires optimales avec une structure biologique cible spécifique de manière à déclencher ou bloquer sa réponse biologique » [35]. Selon cette définition, les molécules partageant des pharmacophores similaires devraient se lier de manière similaire sur un récepteur donné. Un pharmacophore peut donc être utilisé comme référence pour procéder au criblage de chimiothèque en recherche des molécules qui s'insèrent dans celui-là [32].

Cette approche se base essentiellement sur la définition de points pharmacophoriques complémentaires les uns aux autres, considérés comme des groupements fonctionnels et non comme des groupes d'atomes. Les points pharmacophoriques recherchés sont :

- Groupements accepteurs et donneurs de liaisons hydrogène ;
- Points d'interactions électrostatiques ;
- Groupements aromatiques et hydrophobes [34].

Puis en utilisant des méthodes statistiques, des approches d'apprentissage et des algorithmes de fouille de données, il est possible de conceptualiser les relations de similarité entre composés au sein d'une chimiothèque afin de créer des modèles SAR/QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship). Ceux-ci sont des modèles mathématiques qui permettent de prédire des propriétés qualitatives ou quantitatives de nouveaux composés, sur la base d'observations réalisées sur la chimiothèque. Il s'agit de modèles prédictifs pour des propriétés pharmacodynamiques (activités biologiques) et pharmacocinétiques (ADMETox) [36].

2.3.2 Approche basée sur la structure

Repose sur la connaissance de la structure 3D de la cible. Ainsi, beaucoup de méthodes ont été développées grâce à l'augmentation du nombre de structures 3D des macromolécules résolues ces dernières années, et surtout leur disponibilité au niveau de la Protéine Data Bank (PDB). Nous citons les méthodes suivantes [31] :

- **Criblage virtuel par docking moléculaire** : c'est la méthode la plus connue et la plus développée. Elle se fait en deux étapes. Dans un premier temps, il faut placer correctement le ligand dans le site de fixation de la protéine. Dans un second temps, il faut calculer l'affinité du ligand pour le site de fixation par une fonction de score [37].
- **Conception de novo** : de novo est une expression latine qui signifie "depuis le début". Le site actif des cibles, lorsqu'il est caractérisé d'un point de vue structurel, permet de faire la lumière sur ses caractéristiques de liaison. Ces informations sur la composition du site actif et l'orientation des différents acides aminés au niveau du site de liaison peuvent être utilisées pour concevoir des ligands spécifiques à cette cible particulière. Les outils informatiques qui peuvent analyser le site actif d'une protéine et suggérer des composés potentiels sont largement utilisés pour les méthodes de conception de novo [38].

3 Docking moléculaire

Le docking moléculaire fait partie du criblage virtuel, qui est une méthode de filtrage, plus rapide et moins coûteuse que les méthodes d'expérimentation in vitro, recommandée pour réduire la taille d'une banque de donnée chimique afin de ne garder que les composés d'intérêt thérapeutique [39].

Il existe deux types de criblage virtuel :

- Criblage ligand-based : il repose sur la connaissance préalable de ligands ayant une activité sur la cible thérapeutique. Ensuite ces ligands peuvent être utilisés comme une première base de « hits » pour identifier d'autres composés similaires, présentant des caractéristiques d'activité communes aux ligands connus de la cible ;
- Criblage structure-based, qui dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique, il est réalisé par les méthodes de docking moléculaire.

3.1 Définition du docking moléculaire

Le docking moléculaire est l'étude *in silico* des différents mécanismes et interactions qui interviennent lorsque deux molécules s'assemblent. L'objectif étant de déterminer comment ces molécules s'agencent l'une par rapport à l'autre [40].

C'est une méthode computationnelle du développement de médicament qui se base sur la structure du récepteur [39].

3.2 Intérêt du docking

Le docking permet de prédire l'effet biologique d'un grand nombre de molécules dans un temps raisonnable et proposer par la suite une série de molécules moins large à synthétiser ou à tester sur une cible donnée [39].

Son rôle principal est d'étudier et de prédire les interactions probables entre le ligand et les acides aminés constituant la structure de la cible. Il permet également de prédire la conformation la plus favorable du ligand au sein de son récepteur (figure 3).



Figure 3 : Intérêt du docking [39].

3.3 Applications du docking moléculaire

La plus ancienne des applications est la prédiction du mode d'interaction et la plus récente consiste en l'optimisation des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur.

L'interaction entre une petite molécule et une protéine enzymatique peut entraîner l'activation ou l'inhibition d'une enzyme. Si la protéine est un récepteur, la liaison du ligand peut entraîner un effet agoniste ou antagoniste. L'amarrage est le plus souvent utilisé dans le domaine de la conception de médicaments.

La plupart des médicaments sont des molécules biologiques et l'amarrage peut être demandé pour :

- **Identification des hits** : l'amarrage combiné avec une fonction de score peut être utilisé pour filtrer rapidement des bases de données de médicaments potentiels in silico pour identifier les molécules susceptibles de se lier à la protéine cible ;
- **Optimisation des hits** : l'amarrage peut être utilisé pour prévoir l'orientation relative avec laquelle un ligand se lie à une protéine (c'est-à-dire le mode de liaison ou la pose). Cette information peut à son tour être utilisée pour concevoir des analogues puissants et sélectifs ;
- **Bioremédiation** : la fixation de ligand protéique peut également être utilisée pour prévoir les polluants qui peuvent être dégradés par les enzymes.

Contrairement aux protéines, les acides nucléiques ont reçu moins d'attention en tant que cibles de médicaments. La variabilité dans les structures de l'ADN est relativement petite. Les domaines observés dans les structures de l'ARN telles que les ribozymes et les ribosomes sont de complexité comparable à celles de protéines ce qui rend les ARN attractifs comme des cibles de médicaments. Très peu d'efforts ont été consacrés à la conception rationnelle de ligands pour les cibles ARN. Ces dernières années, un certain nombre de cristaux et de structures RMN des cibles intéressantes des médicaments à ARN ont été décrits [41].

3.4 Différents types de docking moléculaire

Il existe deux types de classification du docking moléculaire. Le docking peut avoir lieu entre : protéine-protéine, ligand-protéine et protéine-nucléotide.

Le docking peut être classé également en docking rigide, flexible et semi-flexible (voir figure 4)

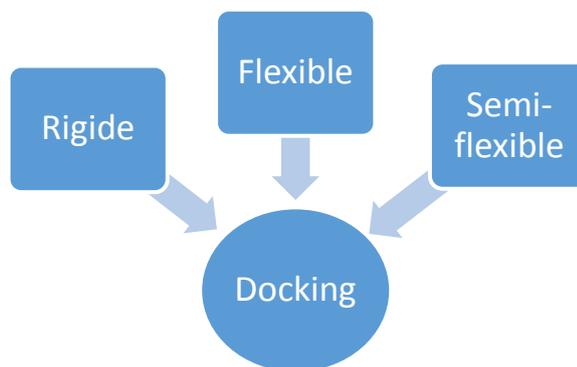


Figure 4: Types de docking [42].

3.4.1 Docking rigide

Le ligand et le récepteur sont des entités rigides, nous cherchons la pose optimale par positionnement en énumérant toutes les rotations et les translations possibles pour le ligand à l'intérieur du site d'interaction. Ensuite nous éliminons les poses incompatibles avec le site actif. Enfin, nous attribuons aux poses sélectionnées un score et nous optimisons les meilleures. Seuls les degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand relativement à la protéine sont explorés. Il est généralement employé pour l'amarrage entre deux macromolécules pour lesquelles les degrés de liberté sont très importants pour réaliser un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calcul raisonnable. C'est le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine [42].

3.4.2 Docking flexible

Dans le docking flexible, le ligand et la protéine sont flexibles (la flexibilité du récepteur concerne les chaînes latérales des résidus du site actif). Les degrés de liberté conformationnels du récepteur peuvent être limités à certaines chaînes latérales ou bien considérer également des mouvements plus larges impliquant par exemple les différents arrangements possibles entre domaines d'une protéine. Ce type de docking représente une approche plus réaliste en considérant des modèles de liaison du ligand au récepteur de type ajustement induit et/ou la sélection conformationnelle.

C'est l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels de docking car elle permet une évaluation rapide de bases de milliers de molécules.

En revanche, elle est approximative et l'exploration de l'ensemble des degrés de liberté du ligand et du récepteur implique des difficultés importantes liées au temps de calculs nécessaires pour exploiter le docking flexible efficacement [42].

3.4.3 Docking semi-flexible

Dans le docking semi-flexible, le ligand est flexible et la protéine est rigide, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoute aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce type de docking repose sur l'hypothèse que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand. Il est "asymétrique" et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand. Les approches de docking semi-flexible ou flexible sont plus généralement appliquées à la modélisation d'interaction entre protéines et ligand [42].

3.5 Etapes de docking moléculaire

Une simulation de docking comprend deux étapes principales : le docking proprement dit et l'étape de scoring.

3.5.1 Docking proprement dit

C'est l'étape de sélection, qui consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine à la recherche des conformations du ligand apte à établir des interactions idéales avec le récepteur.

3.5.2 Scoring

C'est l'étape de classement, elle permet d'évaluer les conformations obtenues lors de la première étape par le calcul de l'énergie libre qui résulte du passage du ligand et de la protéine de la forme libre vers la formation d'un complexe. Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur, c'est uniquement une estimation de l'affinité entre le ligand et la protéine et non pas de l'activité.

Une fonction de score doit être efficace et sélective, elle doit diriger la recherche en fournissant un gradient d'énergie, et identifier le mode d'interaction correct parmi un ensemble de leurres [30].

3.6 Fonctions du score

En théorie, le complexe est favorable si la variation d'énergie libre globale de complexation est inférieure à zéro. En pratique, l'évaluation de l'énergie libre des complexes est une tâche souvent coûteuse d'un point de vue informatique, ce qui limite son utilisation en routine. De ce fait, des méthodes approximatives ont été développées pour distinguer les meilleurs complexes parmi ceux générés par le docking : les fonctions de score. Nous avons cinq fonctions du score : fonctions empiriques, fonctions basées sur la connaissance, fonctions de score basées sur un champ de force, fonctions consensus et fonctions de score centrées sur la complémentarité géométrique surface-surface.

3.6.1 Fonctions empiriques

L'idée fondamentale est que l'énergie d'interaction du complexe récepteur- ligand peut être interprétée comme une somme d'interactions chimiques localisées. Elles approximent l'énergie libre de liaison en additionnant d'une façon pondérée les différents termes d'interactions (interactions ioniques, interactions hydrophobiques, les ponts hydrogènes) qui dérivent des paramètres structuraux. Elles estiment l'énergie d'interaction en réunissant d'une façon intuitive les termes fondamentaux définis par l'expérience.

Elles sont utilisées par la plupart des programmes de docking. Leur principal inconvénient consiste en la forte dépendance aux données utilisées pour les calibrer, ce qui limite leur transférabilité sur des systèmes différents en cas de mauvaise paramétrisation. Parmi les principales fonctions on peut citer : ChemScore, PLP et LigScore [43].

3.6.2 Fonctions basées sur la connaissance (knowledge-based)

Elles dérivent des données statistiques qui ont été obtenues par analyse expérimentale des fréquences d'interactions entre atomes au sein d'un complexe protéine-ligand. Leur principe est que les distances interatomiques les moins représentées statistiquement dans les complexes représentent les interactions les moins stables et celles qui sont les plus représentées constituent des contacts énergétiques favorables. On peut citer comme exemples : PMF, SMOG et DrugScore [43].

3.6.3 Fonctions de score basées sur un champ de force

C'est une fonction mathématique qui exprime l'énergie d'un système par la somme de divers termes issus de la mécanique moléculaire. Le champ de force dans sa forme standard évalue la somme de deux énergies : l'énergie interne du ligand (les termes décrits sont similaires à ceux de l'énergie intermoléculaire) et l'énergie d'interaction entre ligand et protéine (l'énergie intermoléculaire est le résultat d'une addition de plusieurs termes énergétiques : terme de Van der Waals et terme électrostatique) qui correspond au terme principal de l'énergie d'interaction protéine-ligand dans le cas du docking moléculaire.

Elles sont sensibles aux petites variations de coordonnées atomiques, ce qui limite leur champ d'application, mais ça peut être résolu par adoucissement du potentiel de VDW, où la contribution de la composante répulsive sera limitée afin d'autoriser quelques clashes stériques sans trop pénaliser le mode d'interaction correspondant. Les fonctions G-Score est un exemple de ce type de fonctions de score [30].

3.6.4 Fonctions consensus

Ces fonctions hybrides combinent les résultats issus de diverses fonctions de score. Si les termes des différentes fonctions de score sont fortement corrélés, le consensus peut amplifier les erreurs au lieu de les atténuer. Cependant, il est possible de compenser partiellement les faiblesses intrinsèques de chacune des fonctions de score employées en évitant leurs erreurs individuelles et augmentant la probabilité d'identifier des composés actifs [43].

Elles combinent les informations obtenues à partir des différents scores, afin de compenser les erreurs des fonctions de scores individuelles. Plusieurs études ont montré que ces fonctions permettent l'évaluation des énergies d'interactions protéine-ligand mieux que les fonctions individuelles, X-CSCORE est un exemple de ce type de fonctions [30].

Un consensus n'a de sens que lorsqu'il comporte un nombre optimisé de fonctions de scoring (celles dont les défauts sont trop importants seront éliminées du modèle). Il vise à utiliser l'information des fonctions les plus performantes pour un projet donné.

Les méthodes consensus ont comme but de limiter le nombre de molécules étant prédites actives alors qu'elles ne le sont pas. Ces composés indésirables sont appelés « faux positifs ».

3.6.5 Fonctions de score centrées sur la complémentarité géométrique surface-surface

Les méthodes de docking reposant sur des surfaces utilisent des fonctions de score qui sont adaptées et principalement centrées sur la complémentarité géométrique surface-surface et auxquelles il peut être adjoint une estimation d'interactions sur le modèle des fonctions de score plus conventionnelles. Par exemple, LigandFit génère, par la méthode de Monte Carlo, les conformations du ligand dont les formes sont ensuite comparées à celles du site actif.

Afin d'améliorer la pertinence d'un programme du docking il faut d'abord améliorer celle des fonctions de score sans entraîner un surcoût de calculs très important. En général, les erreurs de docking sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à une fonction de score inadéquate [43].

3.7 Algorithmes de recherche

Nous allons détailler dans cette partie les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand et ceux du docking d'une manière générale.

3.7.1 Approches des algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand

Parmi les algorithmes de recherche de flexibilité du ligand, nous distinguons trois approches :

- Approche combinatoire ;
- Approche déterministe ;
- Approche stochastique.

3.7.1.1 Approche combinatoire

Cette approche est basée sur des grilles de valeurs pour chaque degré de liberté. Chaque grille est explorée d'une manière combinatoire au cours de la recherche.

D'abord, le ligand est coupé en fragments rigides et flexibles et après sont définies une ou plusieurs « ancrs » rigides entre les points où les rotations sont possibles. Ensuite, nous faisons réagir la première partie rigide avec le récepteur et les parties flexibles sont ajoutées successivement avec l'exploration des angles de torsion. Il est important de choisir des

fragments de base à placer en premier dans le site car il est très difficile pour les algorithmes de compenser une mauvaise position initiale. FlexX et Dock utilisent cette méthode.

3.7.1.2 Approche déterministe

Dans cette approche, l'état initial détermine les mouvements à effectuer pour générer l'état suivant. Cet état doit être d'énergie égale ou inférieure à celle de l'état initial. C'est l'approche la plus simple et la plus directe, mais très rarement employée dans le docking car elle exige des moyens et des minima locaux.

En fait, les systèmes déterministes peuvent être piégés dans un minimum local car ils ne surmontent que faiblement les barrières énergétiques. L'exemple le plus courant est la simulation de dynamique moléculaire [44].

La dynamique moléculaire est dite déterministe puisque tous les états futurs du système peuvent être prédits à partir de l'état actuel [45].

3.7.1.3 Approche stochastique

Cette approche consiste en des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand (modifier un degré de liberté à chaque fois, par exemple). Il faut multiplier les calculs indépendamment les uns des autres pour éviter l'incertitude de convergence [44].

Parmi les algorithmes stochastiques, il y a la méthode de Monte Carlo et l'algorithme évolutionnaire ou génétique.

Pour la méthode de Monte Carlo, le ligand est considéré dans son ensemble et les changements s'effectuent sur les translations, les rotations et les torsions. A chaque mouvement, la molécule est minimisée et son énergie est calculée. La conformation obtenue par cette transformation est testée avec un critère de sélection basé sur l'énergie. Si ce critère est validé, il sera sauvegardé et le programme générera ensuite la prochaine conformation. Les itérations se poursuivront jusqu'à ce que la quantité prédéfinie de conformations soit collectée. L'avantage de la méthode de Monte Carlo est que le changement peut être assez important pour permettre au ligand de franchir les barrières énergétiques sur la surface d'énergie potentielle [44].

Les méthodes stochastiques ne garantissent pas l'obtention du minimum global de l'énergie, mais elles permettent d'obtenir un ensemble de conformères de faible énergie constituant un échantillonnage supposé être représentatif [30]. L'algorithme génétique, quant à lui, nous le détaillerons dans le chapitre matériel et méthodes.

3.7.2 Algorithme de docking

Les algorithmes de docking sont classés en deux catégories :

- ✓ Ceux qui ne tiennent pas en compte de la flexibilité de la protéine, en la traitant comme un corps rigide (sous-divisés en algorithmes de simulation de mécanique moléculaire et dynamique moléculaire).
- ✓ Ceux qui sont capables de prendre en compte, partiellement la flexibilité du récepteur.

Un algorithme de docking doit être capable de générer les modes de liaison attendus pour des ligands. Pour cela, il est nécessaire que l'algorithme d'une recherche conformationnelle puisse explorer l'espace conformationnel possible, de façon efficace et exhaustive.

Nous déterminons l'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct d'un ligand par rapport à son récepteur par la déviation quadratique moyenne ou RMSD (Root-Mean-Square Deviation) du modèle conçu par le logiciel avec les coordonnées cartésiennes (x pose, y pose, z pose) et ceci vis-à-vis les coordonnées cartésiennes de la structure du cristal (x cristal, y cristal, z cristal). L'écart RMSD est donné par l'équation suivante :

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - Y_i)^2}{n}}$$

Avec : X_i valeur théorique, Y_i valeur observée et n représente l'ensemble de distances

Nous admettons une différence maximale de deux angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non adéquate [46].

4 Interactions moléculaires

Les interactions moléculaires sont de type attractif ou répulsif, de nature non liante (non covalente) ou liante.

Les liaisons intermoléculaires comme leur nom l'indique, se forment afin de maintenir la cohésion entre deux molécules et elles sont différentes des liaisons intra moléculaires, leur formation est due aux propriétés des atomes et à la différence d'électronégativité, il y aura par la suite formation d'un pôle positif et un pôle négatif qui forment des interactions avec des pôles de signe opposé des autres molécules [40].

Dans notre étude nous nous intéressons aux interactions présentes entre un ligand et une cible protéique qui peut donner lieu à de nombreux sites de liaisons, et cela dépend de plusieurs critères comme : la complémentarité de structure, surface de contact (plus elle est grande entre les deux molécules plus l'interaction sera meilleure et il y aura plus de liaisons) et la composition chimique, donc elle dépend des groupements fonctionnels présents qu'ils soient polaires ou apolaires, chargés ou non chargés et en dernier l'aspect électrostatique qui est très important pour la reconnaissance, la formation et la stabilité du complexe ligand-protéine. Un changement de la charge du ligand cause une variation de potentiel électrostatique mais cela n'est pas le critère de sélection et d'évolution des molécules qui interagissent avec leurs cibles car nous pouvons trouver des molécules avec des charges globales différentes mais avec une capacité de liaison avec la protéine identique [40].

Parmi les interactions moléculaires étudiées nous avons :

4.1 Intéractions de van der Waals

Ce sont des interactions de faible intensité entre dipôles électriques et donnent un dipôle instantané qui se forme grâce à la différence des électronégativités, ce qui donne des pôles positifs et négatifs (voir figure 5) [47].

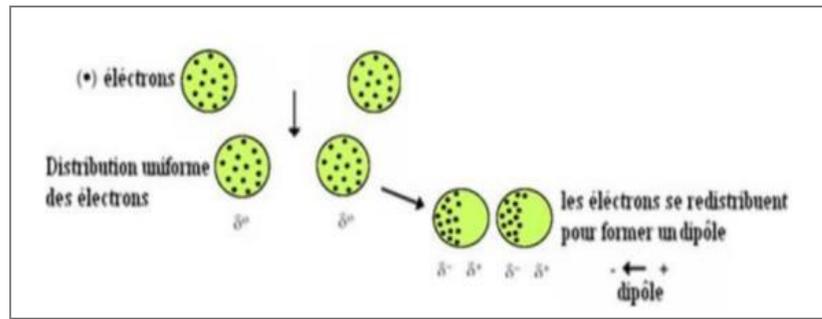


Figure 5: Interaction de van der Waal [39].

Ce type d'interactions existe entre les molécules polaires caractérisées par un moment dipolaire non nul et elles s'appliquent à très courte distance donc ne concernent que les atomes de surface.

Nous avons deux types d'interactions de Van der Waals :

- **Force de Keesom** : c'est une interaction électrique entre dipôles permanents que constituent les molécules polaires. Elles sont les principales interactions moléculaires en cas d'absence de liaisons ioniques et liaisons hydrogène.
- **Force de London** : c'est une interaction électrique entre dipôles instantanés. Une molécule qui a un moment dipolaire nul peut former un dipôle non nul à chaque instant suite à la répartition non symétrique des électrons par rapport au noyau [48].

4.2 Liaisons hydrogènes

La liaison hydrogène est une interaction stabilisante entre deux atomes, elle est de très faible énergie et agit à très faible distance.

Elle se forme entre l'atome d'hydrogène d'une molécule polaire (accepteur) et un atome très électronégatif portant un doublet non liant (donneur) essentiellement l'azote, l'oxygène, le fluor et le chlore (voir figure 6) [49].

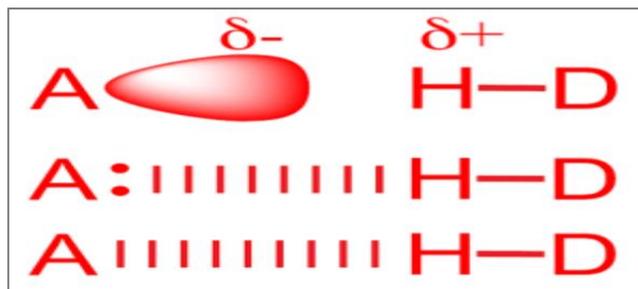


Figure 6 : Liaisons hydrogènes [50].

4.3 Interactions hydrophobes

Une protéine se forme d'un assemblage de nombreux acides aminés. Ces derniers possèdent un radical apolaire et hydrophobe (comme mentionné sur la figure 7), c'est la zone hydrophobe de la protéine (ils ne forment aucune liaison hydrogène avec les molécules d'eau) [40].

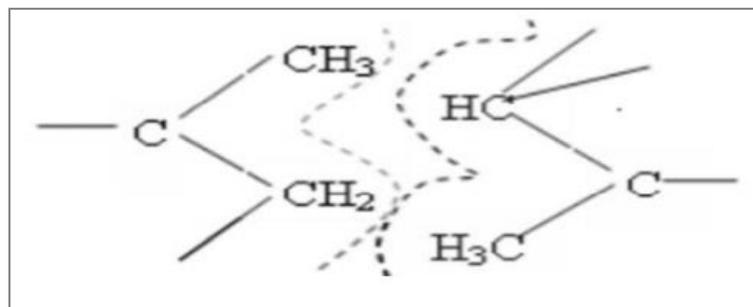


Figure 7 : liaison hydrophobe [39].

4.4 Interactions électrostatique

Les groupements fonctionnels chargés des acides aminés agissent à longue distance pour donner naissance à des interactions électrostatiques (voir figure 8) [50].

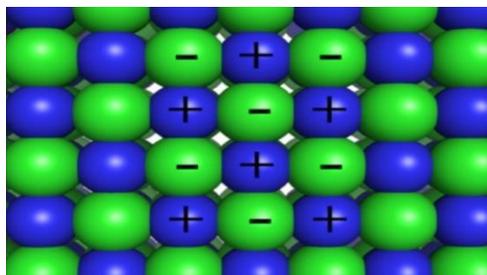


Figure 8 : Interaction électrostatique [50].

4.5 Interactions cation – pi

Un système pi est neutre électriquement (comme le noyau benzène) concentre ses électrons au-dessous de son plan et cela permet aux cations d'engager des interactions électrostatiques stabilisantes avec ces charges [50] (voir figure 9).

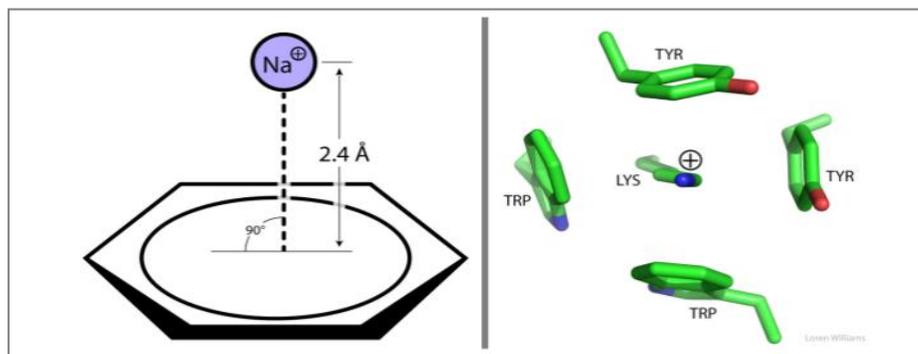


Figure 9 : Interactions cation-pi [50].

5 Prédiction ADMETox in silico

ADME est l'acronyme de quatre lettres d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion, il décrit le mouvement des molécules dans l'organisme dans l'espace et le temps qui est appelé « pharmacocinétique ». C'est un concept important qui décrit l'impact potentiel d'un produit chimique ou d'un médicament sur un système vivant dans le contexte de la biologie cellulaire et de la biochimie. En effet, le mouvement et le métabolisme des molécules sont déterminés par les propriétés physico-chimiques de la molécule ainsi que du système hôte [51,52].

Plusieurs sociétés ont développé des outils pour prédire la toxicité liée à l'ADME, ces outils permettent aux chercheurs (pharmaceutiques et non pharmaceutiques) de prédire la toxicité potentielle au regard de l'ADME et des propriétés physico-chimiques. L'évaluation des propriétés ADME des candidats-médicaments doit être faite à un stade précoce de la découverte d'un médicament permettant un gain de temps et d'argent [51].

5.1 Absorption

L'absorption est l'incorporation d'une substance par l'organisme. Pour être absorbée, une substance doit traverser l'une des couches de cellules qui nous maintient « à l'intérieur » et le

reste du monde « à l'extérieur » : la peau (y compris les muqueuses), les poumons et le tractus gastro-intestinal. La plupart des substances sont absorbées par diffusion passive à travers les membranes ; un petit nombre d'atomes et de molécules biologiquement important est activement absorbé par les cellules. La solubilité dans les membranes étant le principal facteur affectant l'absorption [51].

La règle de Lipinski (règle des cinq) permet de prédire si un candidat médicament sera peu ou pas absorbé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D), et cela en fonction des 5 règles suivantes [53] :

- La masse moléculaire $MW < 500$ Da ;
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène $HBD < 5$;
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène $HBA < 10$;
- La valeur du Coefficient de partage eau/octanol $\log P$ (lié à la pénétration cellulaire) est < 5 : Il est mesuré par la distribution du composé neutre (non ionisé) entre la phase non aqueuse (octanol) et la phase aqueuse (eau). Il sert de descripteur quantitatif de la lipophilicité.

Des compléments ont été apportés, notamment par Veber [54] :

- Le nombre de liaisons de rotation (FRB) est < 10 ;
- La surface polaire de la molécule (PSA) est $< 140 \text{ \AA}^2$.

La surface polaire est représentée par la somme des surfaces des atomes polaires de la molécule (calcul basé sur la topologie de la molécule ou TPSA) et permet de prédire l'absorption intestinale et le passage de la barrière hématoencéphalique.

5.2 Distribution

La distribution d'une substance dans l'organisme est un processus dynamique dépendant des vitesses de captation tissulaire et d'élimination, du flux sanguin vers les différents tissus et de l'affinité de ces derniers pour la substance. Le mouvement se fait par la circulation sanguine, mais d'autres composés peuvent également se déplacer d'une cellule à l'autre [51, 55].

Les variations de distributions des molécules sont déterminées en grande partie par leur capacité à traverser les membranes et leur solubilité dans les lipides/eau [56].

Trois mesures permettent de prédire le volume de distribution d'une nouvelle molécule [57] :

- Liaison aux protéines plasmatiques humaines ;

- Log D expérimentale : le coefficient de distribution ;
- Pka : constante d'équilibre.

5.3 Métabolisme

Appelé aussi biotransformation, il s'agit d'un processus qui mène à la transformation métabolique de composés étrangers (xénobiotiques) dans l'organisme. En règle générale, le métabolisme convertit les xénobiotiques liposolubles en métabolites hydrosolubles, de poids moléculaire plus élevé et faciles à éliminer. En effet une famille d'enzymes hépatiques appelés le système des cytochromes P450 peuvent convertir les produits chimiques en espèces réactives de l'oxygène (ROE), intermédiaires réactifs, radicaux libres et autres. L'inhibition des enzymes du cytochrome P450 est indésirable en raison du risque d'effets secondaires graves liés aux interactions médicamenteuses [51].

Un médicament rapidement métabolisé nécessitera plusieurs doses quotidiennes ou une perfusion continue pour maintenir un taux plasmatique thérapeutique adéquat. De même, un médicament très stable, difficilement métabolisé, pourrait avoir une demi-vie prolongée, ce qui pourrait influencer sur sa sécurité [57].

5.4 Excrétion

L'élimination est la phase qui assure la disparition d'une substance de l'organisme soit parce qu'elle est excrétée, soit parce qu'elle est transformée en d'autres produits qui ne sont plus décelables. La vitesse de disparition peut être exprimée par la constante d'élimination, la demi-vie biologique ou la clairance [55].

La plupart des excrétions se font par les reins sous forme d'urine ou de matières fécales, certaines molécules peuvent être excrétées à travers la peau sous forme de sueur et certaines peuvent être excrétées par les poumons par échange de gaz. Si l'excrétion n'est pas un processus complet, la molécule ou le sous-produit métabolique peut se bioaccumuler qui est souvent synonyme de toxicité et avoir un impact négatif sur les systèmes vivants [51].

5.5 Toxicité

Un candidat médicament doit présenter un profil de sécurité acceptable dans toutes les études toxicologiques requises. Plusieurs tests permettent d'étudier le profil de sécurité et les degrés des effets toxiques potentiels d'un composé qui sont :

- **Mutagenicité par test d'Ames**

L'effet mutagène est étroitement lié à la cancérogénicité. De nos jours, le test le plus largement utilisé pour tester la mutagenicité des composés est l'expérience d'Ames, inventée par un professeur nommé Ames.

Le test d'Ames est une méthode simple pour tester la mutagenicité d'un composé. Il utilise plusieurs souches de la bactérie *Salmonella typhimurium* portant des mutations dans des gènes impliqués dans la synthèse de l'histidine, de sorte qu'elles ont besoin d'histidine pour leur croissance. Ce test consiste à évaluer la capacité d'un composé à provoquer une mutation permettant un retour à la croissance sur un milieu sans histidine [58].

- **Cancérogénicité**

La cancérogénicité est l'un des paramètres toxicologiques les plus préoccupants pour la santé humaine. Selon les autorités réglementaires européennes et américaines, des études de cancérogénicité doivent être effectuées avant la demande d'autorisation de mise sur le marché de produits pharmaceutiques et chimiques [47].

- **Inhibition de HERG**

L'activité coordonnée des canaux ioniques contrôle le rythme cardiaque, et le dysfonctionnement des canaux ioniques provoque des arythmies cardiaques et une mort subite [59].

Le gène humain lié à l'éther-a-go-go (HERG) joue un rôle important dans le potentiel d'action cardiaque. Il code pour une protéine de canal potassique appelée Kv11.1, qui est liée au syndrome du QT long et peut provoquer une mort cardiaque subite évitable. Par conséquent, il est important d'évaluer le blocage des canaux HERG des composés principaux dans un processus précoce de découverte de médicaments [60].

1 Onychomycose

1.1 Définitions

- **Infections fongiques**

Les infections fongiques ou mycoses représentent l'invasion des tissus par une ou plusieurs espèces de champignons, nous pouvons les classer en 2 catégories :

1) Les infections tissulaires superficielles et localisées :

- Epiderme : intertrigo, pityriasis versicolore ;

- Phanères : onychomycoses, péri onyxis, teignes et folliculites ;

- Muqueuses : candidoses.

2) Les infections tissulaires plus profondes en passant par les maladies pulmonaires, sanguines (septicémie) ou systémiques graves : infections opportunistes à *Candida* sp, *Aspergillus* sp et *Cryptococcus*.

- **Onychomycose**

L'onychomycose est un type commun d'infections fongiques causée par des dermatophytes (85%), des levures ou des moisissures non dermatophytes. Le champignon infecte les ongles des mains et plus fréquemment, les ongles des pieds ; un ongle infecté peut devenir fragile, épais, dur, décoloré avec une forme irrégulière, il peut également avoir un matériau blanc ou coloré qui s'effrite en dessous. S'il n'est pas traité, le champignon peut se propager au lit de l'ongle provoquant son décollement [61].

1.2 Epidémiologie

Les données mondiales montrent que l'onychomycose constitue la principale cause d'onychodystrophies, elle représente 50% des troubles totaux des ongles et touche environ 10% (échelle de 2 à 26.9%) de la population générale avec des fréquences qui varient selon les régions du monde. La prévalence de l'onychomycose augmente avec l'âge, elle est inférieure à 0,2 % chez les sujets de moins de 18 ans, elle est comprise entre 15 et 20 % chez les personnes

de plus de 40 ans et dépasse les 30 % chez les plus de 70 ans. Les hommes semblent plus souvent touchés que les femmes.

Les principaux agents étiologiques sont : le *trichophyton rubrum* (71–88 %) et *Trichophyton mentagrophytes Var interdigitale* (9 à 22 %) [62].

En Algérie, sur 1233 patients prélevés, dans le cadre d'une étude rétrospective et descriptive réalisée sur une période de 10 ans (2002-2011) à partir de données récoltés au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Sétif, 613 patients (49,71 %) ont présenté une onychomycose (avec une culture positive). Les dermatophytes tiennent le monopole des agents responsables d'onychomycoses avec *Trichophyton rubrum* en tête, suivi de *Trichophyton mentagrophytes Var interdigitale*, les levures viennent en 2^{ème} position avec prédominance de *Candida albicans*, et les moisissures sont rarement incriminés dans ce type d'infection [63].

Dans le cadre d'une étude rétrospective réalisée au laboratoire de mycologie à l'institut Pasteur d'Algérie, sur 97 prélèvements réalisés chez les diabétiques sur une période de 04 ans (2012—2015), les dermatophytes sont la cause principale de l'onychomycose suivie par la cause candidosique en seconde position [64].

Une étude réalisée dans le même cadre, dans la région de Tizi Ouzou, a montré une prédominance candidosique au niveau palmaire et des dermatophytes du genre *Trichophyton* au niveau plantaire [65].

1.3 Facteurs de risque

L'onychomycose peut être favorisée par plusieurs facteurs, parmi lesquelles nous pouvons citer :

- L'âge et le sexe : + prédominance chez les hommes et les personnes âgées (due à la mauvaise circulation sanguine, les micros traumatismes répétés, l'immunosuppression physiologique liée à l'âge, l'inaptitude à assurer des soins adéquats des pieds...) ;
- Les troubles microcirculatoires, notamment dans le cadre d'un diabète, ou d'un tabagisme chronique ;
- Les déficits immunitaires notamment l'infection par le VIH ;
- Les remaniements unguéaux, qu'ils soient induits par affection dermatologique spécifique telle que le psoriasis ou qu'ils soient post traumatiques ;
- Dysmorphie unguéale préexistante cas de psoriasis et pied d'athlète [66].

1.4 Germes responsables

Il peut s'agir de spores, de cellules levurières, de filaments (hyphes) ou de pseudo-filaments (pseudo-hyphes) mycéliens. Le tableau I ci-après résume les principaux germes responsables d'onychomycose et leurs caractéristiques [67].

Tableau I : Principaux agents infectieux responsables d'onychomycose [67].

Germes responsables de l'onychomycose		
Famille	Genre et espèce	Caractéristiques
Dermatophytes	<i>Trichophyton rubrum</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> Variété <i>interdigitale</i> <i>Epidermophyton floccosum</i>	Les mycoses « classiques » des ongles associées à une mycose inter-orteils ainsi que de la plante des pieds, passant souvent inaperçue. Une atteinte des plis inguinaux et axillaires, des paumes, voire des ongles des mains ou d'une autre partie du corps en particulier chez l'homme doit être recherchée.
Levures	<i>Candida albicans</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida guilliermondi</i> <i>Trichosporon Spp</i>	Elles sont peu fréquentes et concernent essentiellement les ongles des mains, associées à un périonyxis et une progression de l'infection par les bords latéraux et proximaux. Elles vont de pair avec certains métiers en contact fréquent avec l'eau (cuisinier, plongeur...).
Moisissures	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> <i>Aspergillus Spp</i> <i>Fusarium Spp</i>	Elles se caractérisent par l'atteinte isolée d'un seul ongle, au pied ou à la main, avec ou sans inflammation du pourtour unguéal, sans autre localisation mycosique cutanée.

2 Traitements antifongiques

2.1 Définition des traitements antifongiques

Les médicaments antifongiques sont des médicaments utilisés pour traiter les infections fongiques, alors que la plupart de ces dernières affectent des zones telles que la peau et les ongles, certaines peuvent entraîner des conditions plus graves et potentiellement mortelles comme la méningite ou la pneumonie. Il existe plusieurs types de médicaments antifongiques disponibles, qui peuvent être administrés par voie orale, sous forme de traitement topique ou

par voie intraveineuse. De manière générale, les médicaments antifongiques peuvent agir de deux manières : soit en tuant directement les cellules fongiques ou en les empêchant de se développer et de prospérer, ciblant pour cela les structures ou les fonctions qui sont nécessaires dans les cellules fongiques, mais pas dans les cellules humaines afin qu'ils puissent combattre une infection fongique sans endommager ces dernières, deux structures couramment ciblées sont la membrane cellulaire fongique et la paroi cellulaire fongique [68].

2.2 Aperçu historique sur les antifongiques

Les champignons microscopiques (micromycètes) sont des espèces eucaryotes biochimiquement similaires aux hôtes humains, ce qui a compliqué le développement d'agents antifongiques efficaces sans nuire à l'hôte humain, contrairement aux bactéries qui sont des espèces procaryotes, cela a conduit au développement extrêmement lent des médicaments antifongiques par rapport à celui des antibiotiques malgré la découverte plus ancienne des champignons (le 1^{er} agent antibactérien « la pénicilline » en 1941, et le 1^{er} agent antifongique « la nystatine » en 1949). L'augmentation du nombre de patients immunodéprimés cancéreux, VIH et transplantés d'organes a conduit à l'augmentation du nombre d'infections opportunistes par des champignons.

Juste après la seconde guerre mondiale, les infections fongiques étaient traitées par des acides faibles et des colorants phénoliques. Au début des années 1960, la griséofulvine, le premier antifongique efficace par voie orale, a été utilisée pour la prise en charge de la dermatophytose, puis des agents à large spectre sont arrivés, le premier étant le trichlorophénol haloprogrine iodé, qui fonctionnait en perturbant la membrane cellulaire fongique. L'an 1969 a annoncé la découverte d'agents antifongiques azolés. Les agents imidazolés tels que le clotrimazole, le miconazole, le sulconazole et le bifonazole agissent en se liant au cytochrome p450. Puis il y'a eu le développement d'agents antifongiques triazoles qui étaient moins susceptibles de provoquer une hépatotoxicité, probablement en raison de leurs effets diminutifs sur les enzymes dépendant du cytochrome p450. Le terconazole a été le premier triazole développé, suivi de l'itraconazole et enfin du fluconazole. Avant le développement du fluconazole, les deux principaux agents antifongiques disponibles étaient l'amphotéricine B et la flucytosine.

Les échinocandines sont une classe récente d'antifongiques systémiques qui interfèrent avec la synthèse de la paroi fongique : la caspofungine, l'anidulafungine et la micafungine

représentent une réelle avancée dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives [69] . La figure 10 ci-après résume l’histoire des antifongiques.

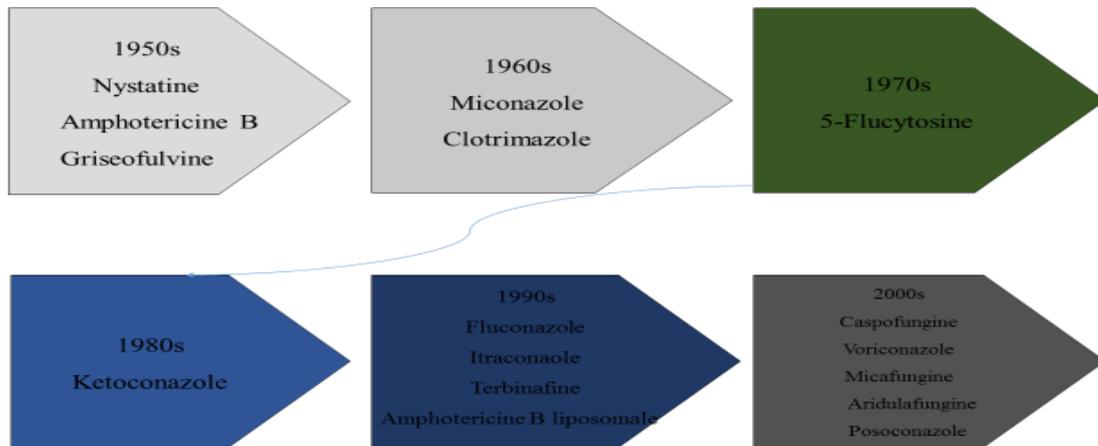


Figure 10 : Historique de découvertes des antifongiques [70].

2.3 Classifications des antifongiques

Les antifongiques peuvent être classés comme suit, selon leur cible (figure 11) :

- Antifongiques agissant sur l’ergostérol et sa synthèse :
 - Azolés ;
 - Allylamines ;
 - Polyènes.
- Antifongiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques :
 - 5-flucytosine.
- Antifongiques agissant sur la paroi cellulaire :
 - Echinocchandines ;
 - Inhibiteurs de la chitine synthase.

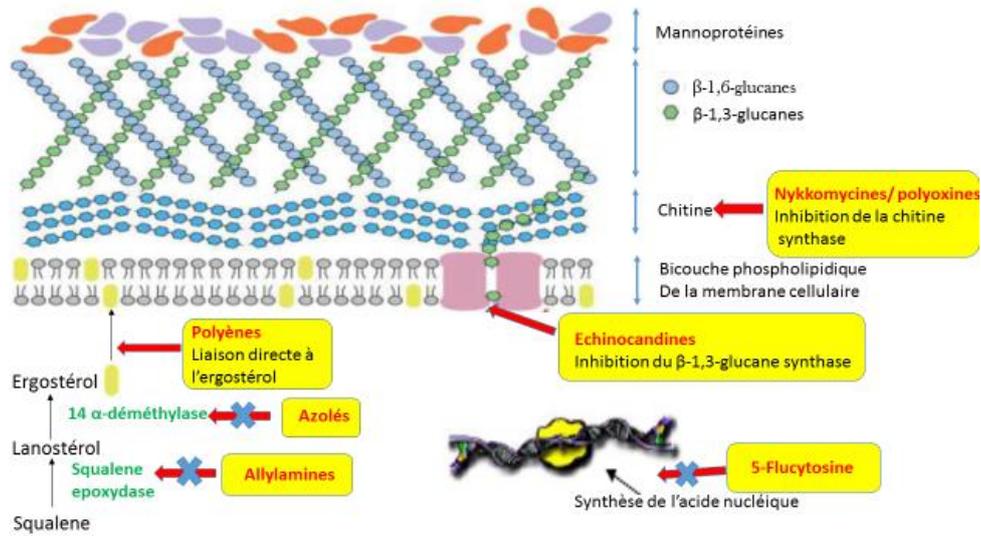


Figure 11 : Cibles des antifongiques [71].

2.4 Etude des différentes classes d'antifongiques

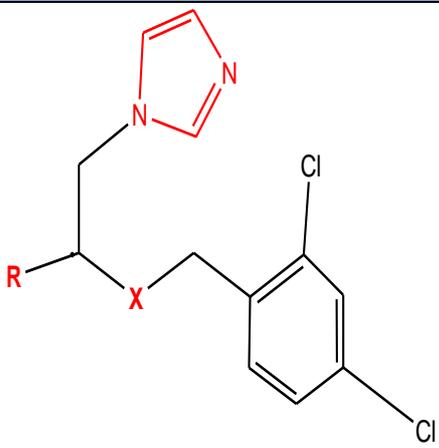
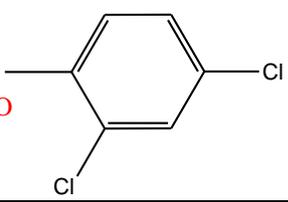
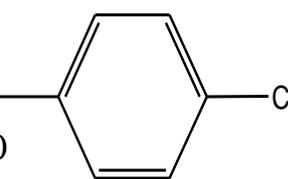
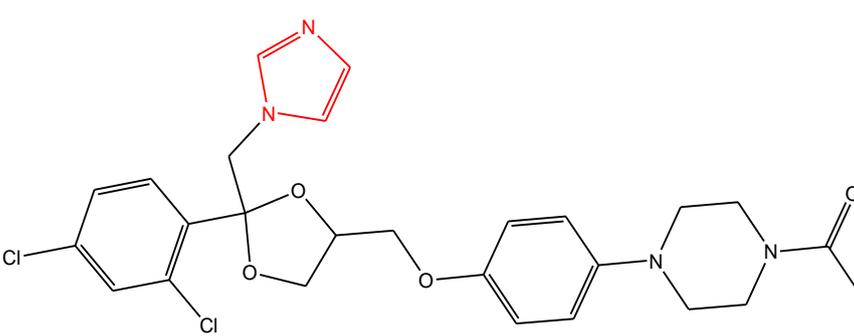
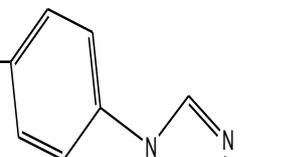
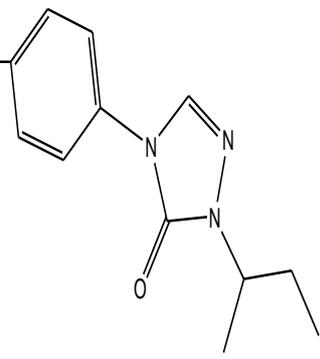
2.4.1 Azolés

Les azolés constituent la classe d'antifongiques la plus utilisée, et qui est constamment étudiée et améliorée depuis plusieurs années [72]. Ce sont des molécules synthétiques, qui comprennent dans leur structure un cycle imidazole, triazole ou un tétrazole (molécules en cours de développement) rattaché à un carbone quaternaire [1].

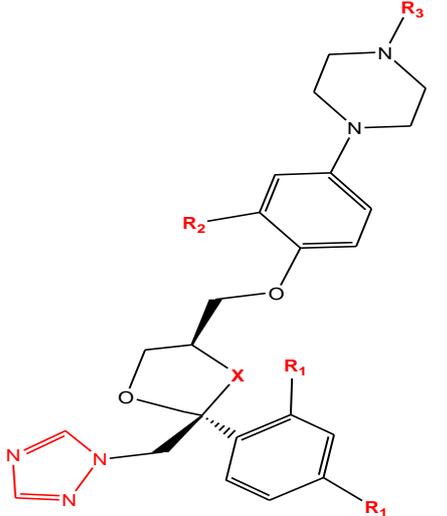
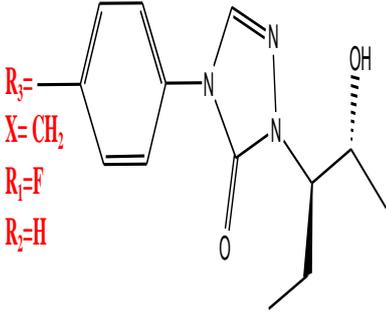
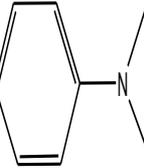
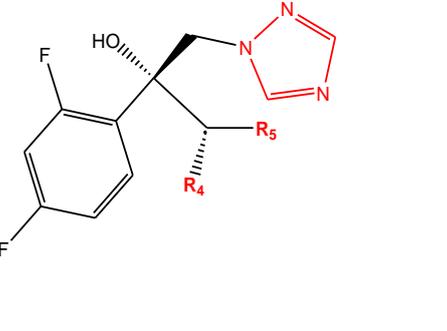
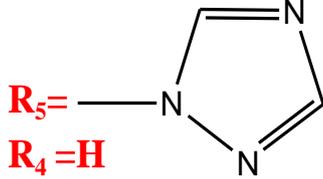
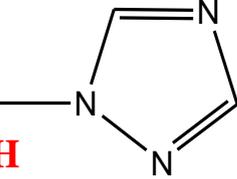
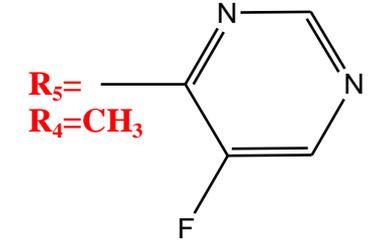
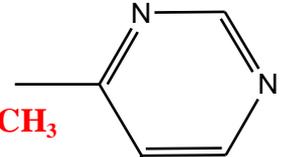
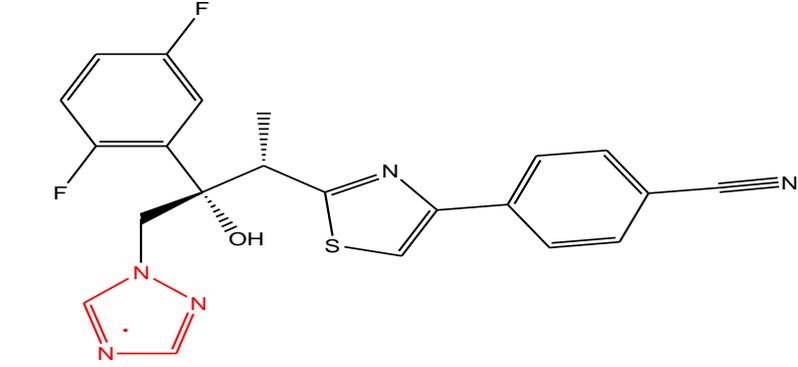
2.4.1.1 Principaux représentants

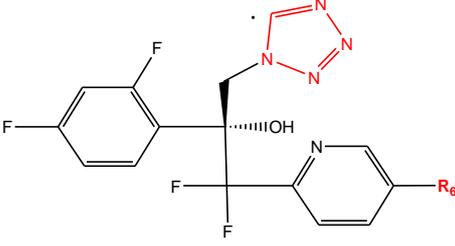
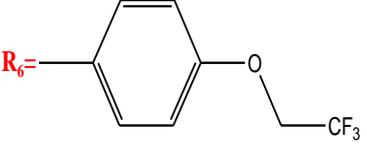
Selon leurs structures chimiques, nous pouvons classer les dérivés azolés en trois groupes représentés dans le tableau II ci-dessous.

Tableau II: Principales molécules de la classe des azolés et leur spectre d'activité [1].

DERIVES AZOLES			
Radical	Substituants	Spectre d'activité	
IMIDAZOLES		<p>Miconazole</p> <p>R= </p> <p>X= O</p>	<i>Candida</i>
	<p>Econazole</p> <p>R= </p> <p>X= O</p>	<p><i>Epidermophyton</i></p> <p><i>Microsporum</i></p> <p><i>Trichophyton</i></p>	
	<p>Kétoconazole</p> 	<p><i>Blastomyces</i></p> <p><i>Candida</i></p> <p><i>Histoplasma</i></p>	
TRIAZOLES	<p>Itraconazole</p> <p>R₃= </p> <p>X= O</p> <p>R₁=Cl</p> <p>R₂=H</p> 	<p><i>Aspergillus</i></p> <p><i>Blastomyces</i></p> <p><i>Histoplasma</i></p> <p><i>Onychomycoses</i></p>	

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE CHAPITRE II : Généralités sur l'onchomycose et traitements antifongiques.

	<p>Posaconazole</p>  <p> $R_3 =$  $X = CH_2$ $R_1 = F$ $R_2 = H$ </p>	<p><i>Aspergillus</i> <i>Candida</i></p>
	<p>Fluconazole</p>  <p> $R_5 =$  $R_4 = H$ </p>	<p><i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i></p>
	<p>Voriconazole</p>  <p> $R_5 =$  $R_4 = CH_3$ </p>	<p><i>Aspergillus</i> <i>Fusarium</i> <i>Scedosporium</i></p>
<p>Isavuconazole</p> 		<p><i>Aspergillus</i> <i>Mucor</i></p>

TETRAZOLES		<p>Oteseconazole (Phase III)</p> 	<p><i>Candida</i> <i>Onychomycoses</i></p>
-------------------	---	---	--

2.4.1.2 Mode d'action

Les azolés sont des fongistatiques, leur activité résulte de l'inhibition du cytochrome P450: lanostérol 14 α déméthylase (CYP51), codé par le gène ERG11 [73], qui intervient dans la longue cascade qui convertit le lanostérol en ergostérol, principal stérol de la membrane fongique [74]. Au niveau moléculaire, un des atomes d'azote (en position 3 chez les imidazolés et en position 4 chez les triazolés) se lie à l'atome de fer de l'hème situé dans le site actif de l'enzyme du cytochrome P450, inhibant ainsi l'activation de ce cytochrome et par conséquent le fonctionnement enzymatique [74, 75].

Cette inhibition entraîne une accumulation de 14- α -méthylstérol associée à une diminution de l'ergostérol dans la membrane cellulaire fongique, ceci conduit à une inhibition de la croissance fongique. De plus, au niveau cellulaire, l'accumulation de lanostérol altère la perméabilité membranaire, la chaîne respiratoire ainsi que la synthèse de chitine provoquant ainsi la mort du champignon [73].

La figure 12 ci-dessous illustre la cascade de synthèse de l'ergostérol chez les champignons [74].

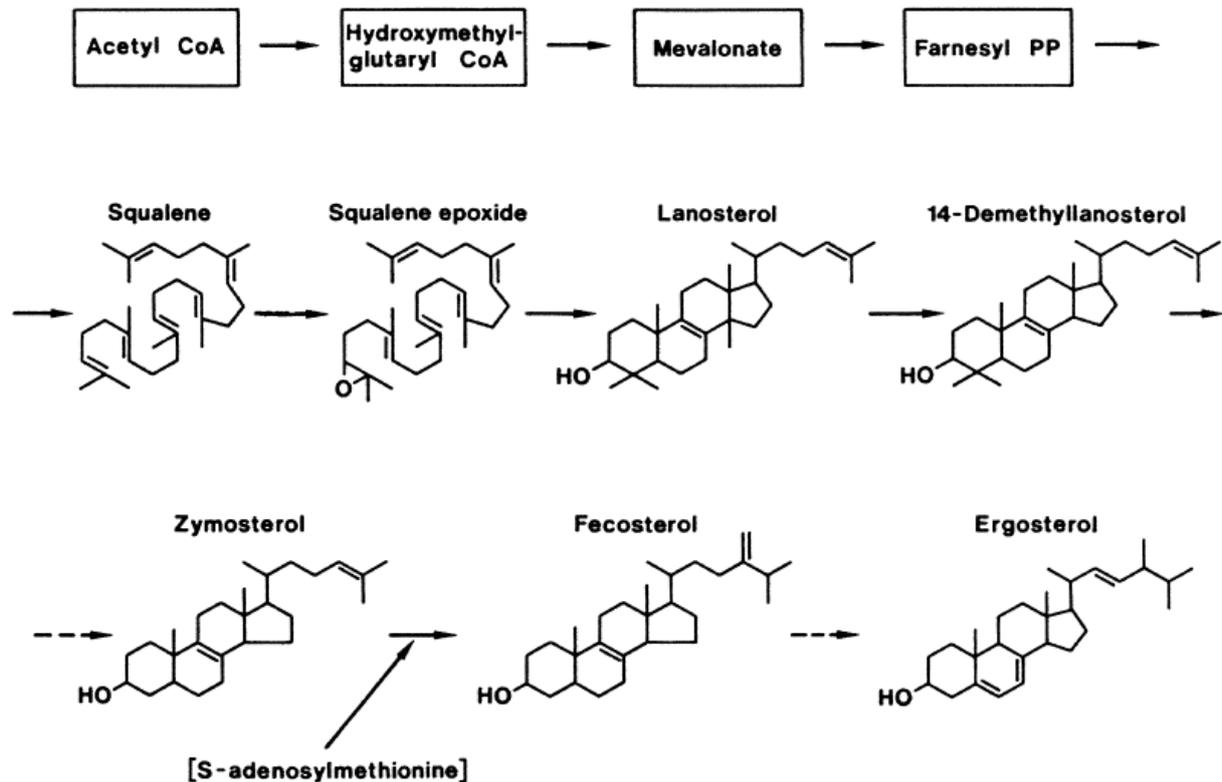


Figure 12 : Biosynthèse de l'ergostérol chez *Candida* [74].

2.4.2 Polyènes

Les polyènes ou les macrolides polyéniques sont des molécules cycliques, leur nom provient du groupe chromophore qui est formé de plusieurs doubles liaisons conjuguées [76].

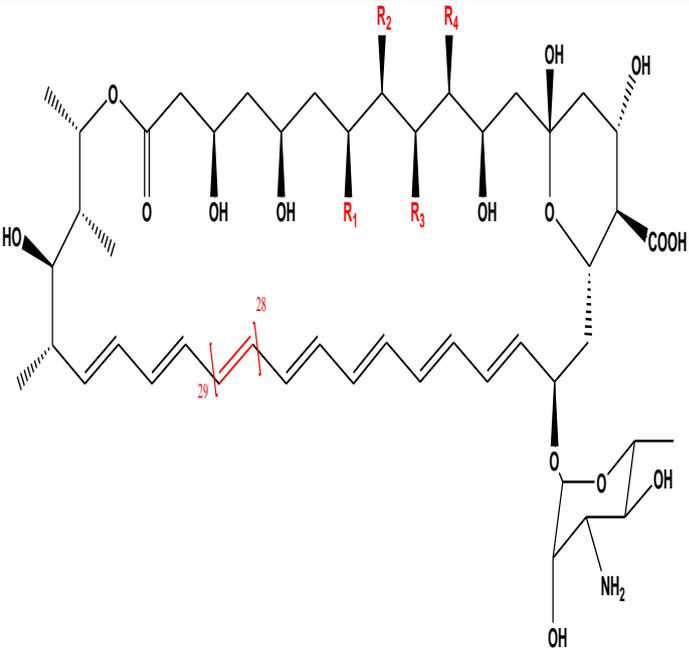
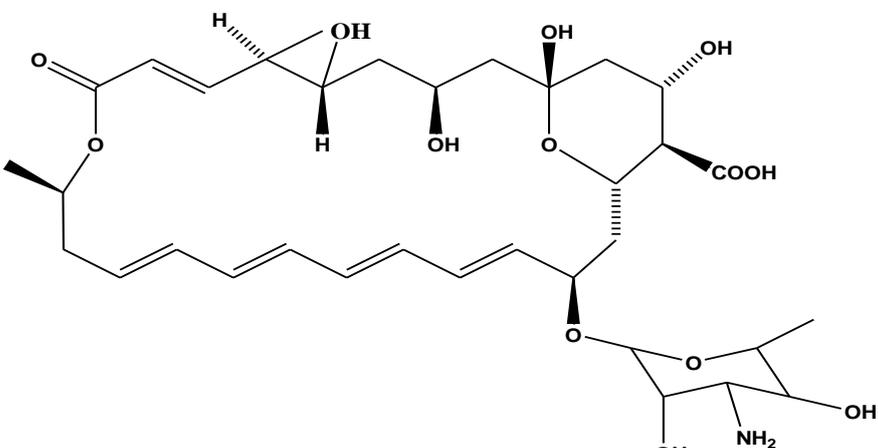
Ce sont des molécules amphiphiles, volumineuses, mal résorbées, produites par une bactérie à Gram positif « *Streptomyces spp* », utilisées dans leur mécanisme de défense.

2.4.2.1 Principaux représentants

Nystatine B, natamycine et amphotéricine B sont isolés des cultures de *Streptomyces noursei*, *S. natalensis* et *S. nodosum* respectivement [77].

Actuellement des essais cliniques en phase III sur une combinaison de l'amphotéricine B et la sertraline (inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine, possédant une activité contre le *Cryptococcus spp*) sont en cours de réalisation [1]. Le tableau III représente la structure chimique et le spectre d'activité de ces trois molécules.

Tableau III: Principales molécules de la classe des polyènes et leur spectre d'activité [1].

POLYENES		
Radical	Substituants	Spectre d'activité
	Amphotericine B $R_1 = R_4 = H$ $R_2 = R_3 = OH$ Avec Δ^{28}	<i>Aspergillus</i> <i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i>
	Nystatine B $R_1 = R_4 = OH$ $R_2 = R_3 = H$ Sans Δ^{28}	<i>Candida</i>
Natamycine		<i>Fusarium</i>
		

2.4.2.2 Mode d'action

Les polyènes, grâce à leur structure amphiphilique, se lient à la bicouche lipidique et forment un complexe avec l'ergostérol en produisant des pores, ils agissent en se glissant dans la membrane fongique, plus précisément en se liant irréversiblement à l'ergostérol (l'un des

principaux constituants de la membrane fongique). La résistance aux polyènes reste un évènement plutôt rare [78].

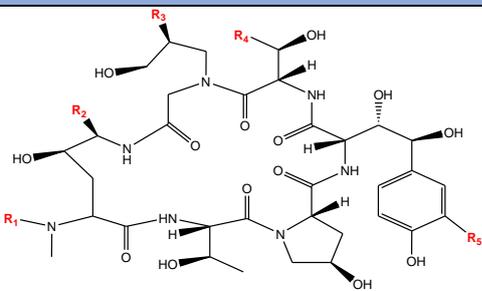
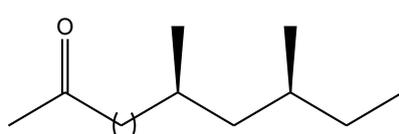
2.4.3 Echinocandines

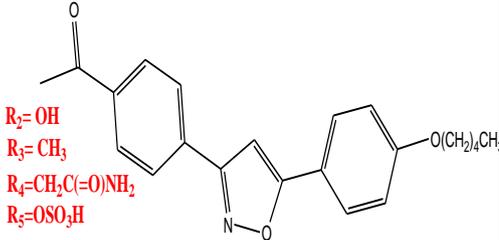
Le glucane est un polysaccharide constitué de monomères de D-glucose liés entre eux par des liaisons de type beta-(1,3) ou beta-(1,6). Beta-(1,3) -D-glucane constitue plus de 50% de la paroi fongique et représente le principal polysaccharide auquel les autres constituants de la paroi (chitine et glycoprotéines) s'attachent [74]. Les echinocandines sont des composés semi-synthétiques qui constituent le traitement de première intention en cas de candidémies [1].

2.4.3.1 Principaux représentants

Parmi les principaux représentants : Caspofungine, micafungine, anidulafungine et rezafungine qui est en phase III des essais cliniques. Le tableau IV ci-après représente la structure et le spectre d'activité de caspofungine et micafungine.

Tableau IV: Structure chimique et spectre d'activité de caspofungine et micafungine [1].

ECHINOCANDINES		
Radical	Substituants	Spectre d'activité
	<p>Caspofungine</p>  <p> R1= R2= NH(CH₂)₂NH₂ R3= H R4=(CH₂)NH₂ R5=H </p>	<p><i>Aspergillus</i></p>

	<p style="text-align: center;">Micafungine</p> 	<p style="text-align: center;"><i>Candida</i></p>
--	---	---

2.4.3.2 Mode d'action

Les echinocandines inhibent, d'une manière non compétitive, la (1,3) - β -D glucane synthase, une enzyme impliquée dans la biosynthèse de (1,3) - β glucane, composant spécifique de la paroi fongique (contrairement à la membrane qui contient des stérols communs aux mammifères et aux champignons).

Cette inhibition confère soit une activité fongistatique en bloquant la synthèse de la paroi et en diminuant la croissance du champignon, soit une activité fongicide en perdant son intégralité, une instabilité osmotique apparaît, la paroi est alors fragile et sensible, il y aura par la suite la lyse de la cellule fongique. Ce sont des molécules bien tolérées et présentent une faible toxicité [78].

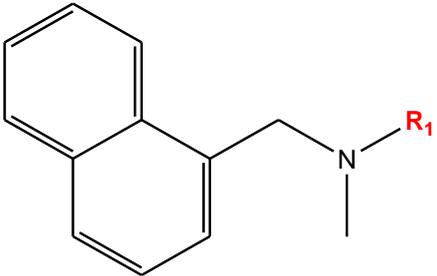
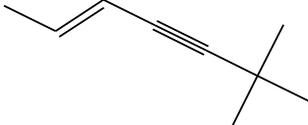
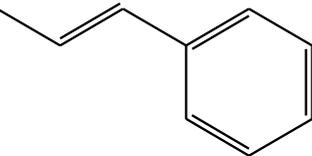
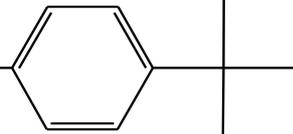
2.4.4 Allylamines

Les Allylamines sont des agents antifongiques synthétiques qui se présentent sous forme de poudres ou crèmes utilisées pour le traitement des teigne [1].

2.4.4.1 Principaux représentants

Le tableau V ci-après illustre les principales molécules appartenant à la classe des allylamines (terbinafine, Naftifine et Butenafine).

Tableau V: Structure chimique et spectre d'activité des Allylamines [1].

ALLYLAMINES		
Radical	Substituants	Spectre d'activité
	Terbinafine $R_1 =$ 	<i>Trichophyton</i> <i>Onychomycoses</i>
	Naftifine $R_1 =$ 	<i>Trichophyton</i>
	Buténafine $R_2 =$ 	<i>Epidermophyton</i> <i>Microsporium</i> <i>Trichophyton</i>

2.4.4.2 Mode d'action

Les allylamines bloquent la synthèse de l'ergostérol en inhibant d'une façon réversible non compétitive la squalène époxydase. Cette enzyme catalyse la réaction de conversion du squalène en 2,3-squalène époxyde. L'inhibition de l'activité enzymatique permet l'accumulation du squalène, ce qui diminue la perméabilité et altère l'organisation cellulaire.

La terbinafine agit au niveau des premières étapes de la synthèse de l'ergostérol en inhibant la squalène époxydase. Elle inhibe ainsi la biosynthèse de l'ergostérol et conduit à la mort cellulaire.

L'action fongistatique résulte du déficit en ergostérol et celle fongicide de l'accumulation de squalène dans la cellule sous forme de vésicules lipidiques entraînant une rupture des membranes cellulaires [74].

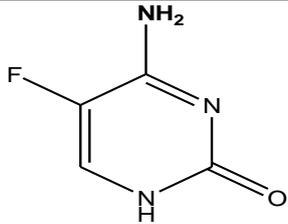
2.4.5 Antimétabolites

Les fluoro-pyrimidines ou les inhibiteurs de la biosynthèse des acides nucléiques appelés aussi analogues de la pyrimidine, sont des analogues structuraux de la cytosine.

2.4.5.1 Représentant principal

Flucytosine ou 5-FC (5-FluoroCytosine) commercialisée sous le nom d'Ancotil®, c'est une molécule synthétique fortement toxique, c'est pourquoi elle est utilisée en cas de candidose sévère et de cryptococcose en association avec amphotericine B [1, 79].

Tableau VI : Structure chimique et spectre d'activité de 5-FU [1].

5-FLUCYTOSINE	
	Spectre d'activité
	<i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i>

2.4.5.2 Mode d'action

La 5-fluorouracile agit en perturbant la synthèse protéique par substitution de l'uracile par le 5-fluorouracile dans l'acide ribonucléique fongique et en altérant la biosynthèse de l'acide désoxyribonucléique fongique par inhibition de la thymidylate synthétase.

La 5-FC exerce son action antifongique après avoir pénétré dans la cellule fongique, en compétition avec la cytosine. Pour cela, elle utilise des transporteurs plus ou moins spécifiques, tels que la cytosine perméase ou des transporteurs des pyrimidines. Elle doit ensuite être transformée en 5-fluorouracile (5-FU) grâce à la cytosine désaminase. Le 5-FU est ensuite converti en 5-fluorouridine mono phosphate (FURMP) par l'uridine phosphoribosyl-transférase ou UPRT [78].

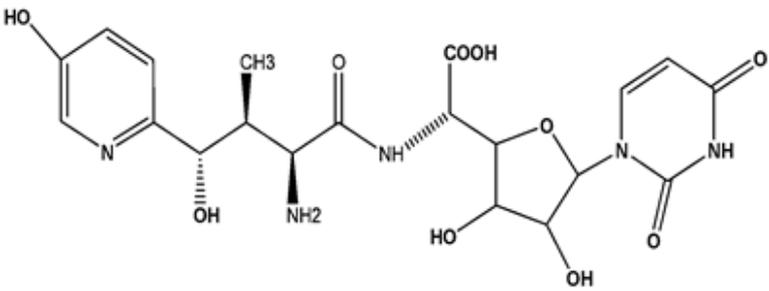
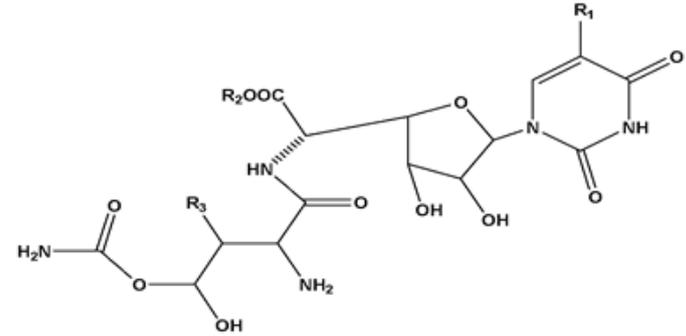
2.4.6 Inhibiteurs de la chitine synthase

La chitine représente 3% des constituants de la paroi fongique, c'est un homopolymère de bêta (1-4) - N-acetyl glucosamine qui se lie aux glucanes avec des liaisons covalentes ce qui assure sa rigidité. Elle est synthétisée par l'enzyme chitine synthase qui appartient à la famille 2 des glycosyltransférases. L'absence de la chitine dans la cellule humaine fait d'elle une excellente cible des antifongiques tout en ciblant l'enzyme responsable de sa synthèse [1, 80].

2.4.6.1 Principaux représentants

Les inhibiteurs de la chitine synthétase sont représentés par les polyoxines et la nikkomycine Z (voir le tableau VII). Plusieurs agents antifongiques ont été soumis à des essais cliniques, mais ont échoué en raison d'un manque d'efficacité chez les patients, c'est l'exemple de la nikkomycine Z (NCT00614666) [1].

Tableau VII : Structure chimique et spectre d'activité de nikkomycine et polyoxines [1].

Inhibiteurs de la chitine synthétase	Spectre d'activité
<p>Nikkomycine</p> 	<p><i>Coccidioides immitis</i></p> <p><i>Blastomyces dermatitidis</i></p> <p><i>Histoplasma capsulatum</i></p>
<p>Polyoxines</p> 	<p>Champignons</p> <p>Phytopathogéniques</p>

2.4.6.2 Mode d'action

Les inhibiteurs de la chitine synthase agissent en inhibant la biosynthèse de la chitine fongique en entrant en compétition avec la N-UDP-glucosamine (uridine di phosphate N-acétylglucosamine, donneuse de sucre) grâce à leur structure de nucléoside-peptides et leur similitude de structure avec cette dernière. L'arrêt de la synthèse de la chitine rend la paroi osmotiquement instable et inhibe la croissance du champignon [80].

2.4.7 Autres médicaments pour une cible récente

Le tavaborole (5-fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-1,2-benzoxaborole) est un composé benzoxaborole, dont la structure est représentée dans la figure 13 ci-dessous, c'est un composé boré qui a été approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) en 2014 pour le traitement de l'onychomycose. C'est un agent antifongique à large spectre et à action topique [81].

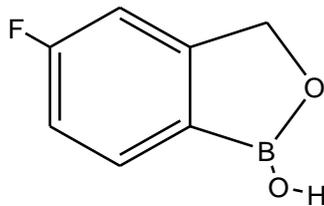


Figure 13 : Structure chimique du tavaborole [81].

Le tavaborole est un fongicide possédant un large spectre d'activité en agissant sur les champignons filamenteux : moisissures, levure, dermatophytes.

Il est efficace contre le *Trichophyton rubrum* et le *Trichophyton mentagrophytes* en ciblant la leucyl ARNt synthétase (LeuRS). LeuRS appartient à la classe des aminoacyl-ARNt synthétases, une classe d'enzymes cruciale pour la synthèse des protéines [76].

Le tavaborole cible sélectivement le site d'édition de LeuRS, se lie lentement et fortement au site de liaison de leucine tout en rendant la protéine inutile. Cela stoppe ensuite la synthèse des protéines ou conduit à la synthèse de protéines avec une séquence d'acides aminés incorrecte [81].

3 Diagnostic et traitement des onychomycoses

3.1 Diagnostic

L'onychomycose est diagnostiquée en effectuant un bilan clinique adéquat, suivi par :

- Examen mycologiques direct : observation des squames d'ongles au microscope par montage humide sous hydroxyde de potassium ou en utilisant des fluorochromes ;
- Mise en culture : isolement de l'agent infectieux par culture sur un milieu nutritif gélosé (le milieu de Sabouraud) ;

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE CHAPITRE II : Généralités sur l'onychomycose et traitements antifongiques.

-Examen histopathologique de rognures d'ongles et de débris sous-unguéaux colorés à l'acide périodique Schiff [83].

-Biologie moleculaire par Polymerase Chain Reaction (PCR) ;

3.2 Traitement

3.2.1 Traitement médicamenteux

Un traitement médical des onychomycoses est nécessaire d'emblée afin d'éviter les complications, qui sont cependant rare avec ce genre d'infections. Par ailleurs, les traitements par voie orale sont plus efficaces mais présentent l'inconvénient d'être hépatotoxiques et peuvent causer des interactions médicamenteuses graves.

Parmi les recommandations pour leur traitement nous citons :

- ✓ Utilisation sélective d'itraconazole ou de terbinafine per os ;
- ✓ Utilisation préconisé de traitements topiques (efinaconazole, tavaborole, ciclopirox à 8%, amorolfine) [67, 83].

Le tableau VIII ci-dessous illustre les principaux traitements médicamenteux anti-onychomycosiques.

Tableau VIII : Principaux traitements médicamenteux anti-onychomycosiques [67].

Type de Traitement	Molécules	Posologies	Efficacité
Traitement orale	Terbinafine	250 mg 1 fois/jour pendant 12 semaines (6 semaines pour les ongles des mains) ou traitement par pic par 250 mg 1 fois/jour pendant 1 semaine par mois jusqu'à ce que l'ongle soit guéri.	Taux de guérison de 75 à 80%.
	Itraconazole	200 mg 2 fois/jour 1 semaine par mois pendant 3 mois.	Un taux de guérison de 40 à 50%, mais le taux

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE CHAPITRE II : Généralités sur l'onychomycose et traitements antifongiques.

			de récurrence globale est estimé à 10 à 50%. L'ongle atteint ne reviendra pas à la normale, mais un ongle qui repousse aura un aspect normal.
Traitement topique	Efinaconazole Tavaborole Ciclopirox à 8% Amorolfine à 5%	Incorporés à un excipient qui favorise le passage des composés antifongiques à travers la lame unguéale.	Rarement efficace.

Des traitements combinés amorolfine et terbinafine, ou amorolfine et itraconazole sont rapportés et permettent l'amélioration de l'efficacité [67].

3.2.2 Traitement non médicamenteux

La chirurgie et le laser constituent les traitements non médicamenteux des onychomycoses. Pour la chirurgie, l'ongle peut être retiré mais il y a de fortes chances que le champignon revienne. Un type spécial de laser dirigé sur l'ongle lui-même peut tuer le champignon [84].



PARTIE PRATIQUE

1 Matériel et méthodes

Dans notre partie pratique, nous avons proposé deux séries de molécules développées en s'inspirant de médicaments antifongiques commercialisés, ayant pour cible probable « leucyl ARNt synthétase » et « squalène époxydase » dont la prédiction de type de liaison pouvant avoir lieu entre les ligands proposés et les enzymes a été faite in silico par un docking moléculaire.

1.1 Matériel utilisé

Les études de modélisation moléculaire nécessitent la disponibilité des coordonnées spatiales des molécules à étudier. Il est donc impératif d'avoir les structures tridimensionnelles des protéines fongiques cibles et celles des ligands avant de procéder au docking moléculaire.

1.1.1 Cibles (protéines)

Dans notre étude, nous nous sommes intéressées à deux cibles : « leucyl ARNt synthétase » et « squalène epoxydase ».

La structure de leucyl ARNt synthétase a été téléchargée à partir de la base de données PDB. C'est une base de données mondiale sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques : protéines, acides nucléiques et assemblages de complexes [85]. Ces structures sont obtenues expérimentalement par cristallographie aux rayons X, par spectroscopie RMN ou par cryomicroscopie [86].

Quant à la squalène époxydase, en l'absence de structures fongiques disponibles sur PDB, un modèle de celle-ci a été obtenu par modélisation par homologie.

1.1.1.1 Leucyl-ARNt synthétase (Cible 1)

Les aminoacyl-ARNt synthétases (aaRS) sont largement répandues dans tous les organismes et jouent un rôle important dans la biosynthèse des protéines. L'inhibition de ces synthétases peut conduire à l'arrêt de la synthèse protéique et par conséquent atteindre des objectifs antibactériens et antiparasitaires. En outre, les structures des aaRS présentent chez les eucaryotes des différences structurelles considérables par rapport à celles des procaryotes, sur la base desquelles il est possible de développer des inhibiteurs hautement sélectifs. La leucyl-ARNt synthétase (leuRS) qui possède des sites de synthèse et d'édition uniques séparés par plus

de 30Å, est l'un des 20 types d'aaRS et considérée comme une cible de nouveaux médicaments anti-infectieux potentiels pour le traitement non seulement des infections bactériennes ou fongiques, mais aussi des infections par les trypanosomes et les parasites du paludisme. LeuRS n'est pas facilement mutée donc résiste moins aux traitements. De nombreux inhibiteurs ciblant la leuRS ont été conçus et synthétisés, dont certains sont entrés en phase clinique. Par exemple, le composé benzoxaborole AN2690 (tavaborole) et l'AN3365 qui est suspendu dans l'essai clinique de phase II en raison du développement rapide d'une résistance mais il peut être utilisé en association avec d'autres antibiotiques [81].

La structure tridimensionnelle de format pdb de domaine d'édition de la Leucyl-ARN transférase synthétisée co-cristallisée avec AN2690-AMP (5-fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-1,2-benzoxaborole) est disponible dans la Protein Data Bank sous le code PDB 5AGJ avec une résolution de 2,0 Å. C'est est une enzyme de traduction monomérique ou ligase avec une séquence d'une longueur de 261 acides aminés (chaîne A), obtenue par la méthode de diffraction par les rayons X à partir du *Candida albicans* SC5314, avec *Escherichia coli* K-12 comme organisme d'expression (voir figure14).

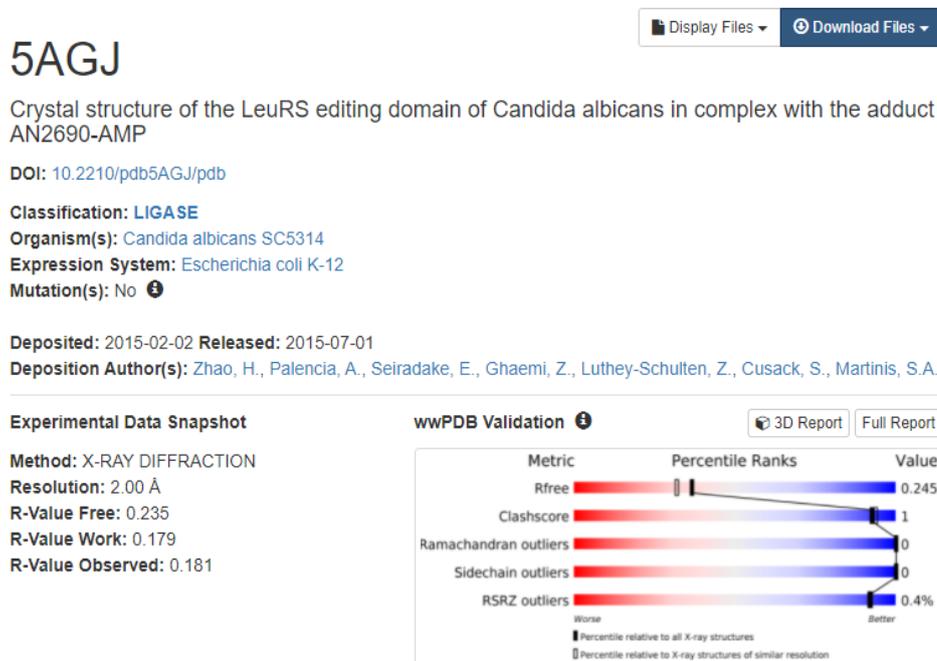


Figure 14 : Informations relatives à 5AGJ [85].

Leucyl-ARNt synthétase ou LeurS appartient à la classe I des enzymes aminoacyl-ARNt synthétases de sous classe (a). Elle attache la leucine au niveau de l'extrémité 2'OH de l'adénosine terminale de l'ARNt^{leu} et se lie à ce dernier par l'intermédiaire du petit sillon. Elle possède la capacité d'hydrolyser les ARNt^{leu} mal aminocylés [87].

Leucyl-ARNt synthétase est une ligase (figure 15) qui catalyse la réaction suivante :

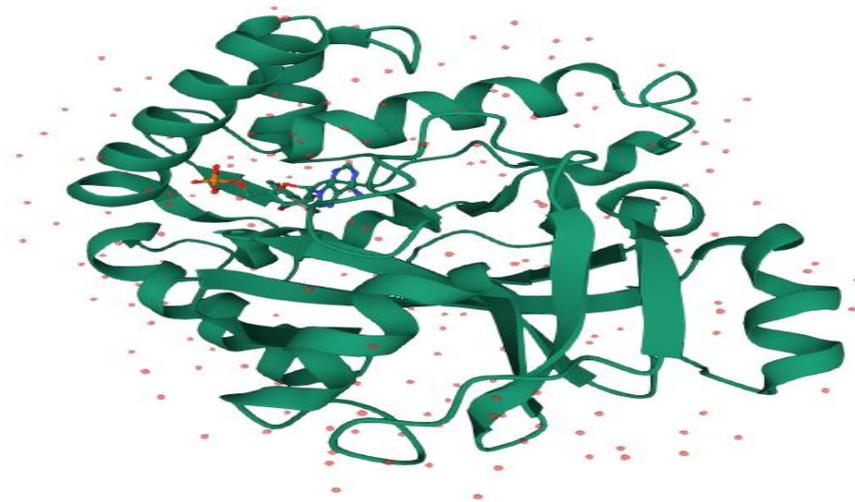
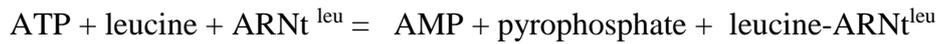


Figure 15 : structure tridimensionnelle de LeuRS [85].

Le rôle principal de leucyl-ARNt synthétase (dont la surface est représentée dans la figure 16) consiste en l'estérification de leucine à l'extrémité de son ARNt^{leu} (aminoacylation) en deux étapes, sachant que l'énergie nécessaire pour la réaction provient de l'hydrolyse de l'ATP. La première étape c'est l'activation de leucine pour former un leucyl-adénylate. La seconde, correspond à son transfert sur ARNt^{leu}. Une fonction d'édition post transfert a été développée dans la leucyl-ARNt synthétase pour corriger les erreurs d'aminoacylation par exemple l'hydrolyse de la liaison entre l'ARNt^{leu} et un éventuel mauvais acide aminé.

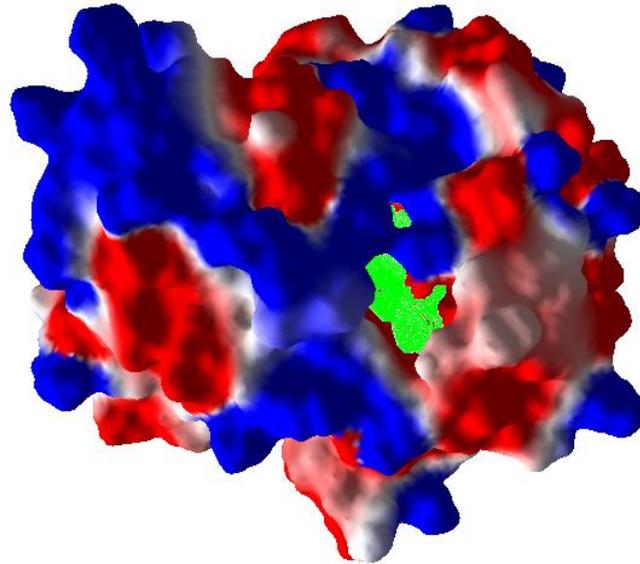


Figure 16 : Surface de la LeuRS crée par MVD.

Pour la classe I des aminoacyl-ARNt synthétases, 300 à 400 résidus correspondant au domaine de site actif, contient deux peptides signatures HIGH (His-Ile-Gly-His) et KMSKS (Lys-Met-Ser-Lys-Ser) ou des séquences analogues localisés dans le site actif interagissent directement avec l'ATP qui adopte une conformation étendue [87].

Parmi les acides aminés constituant le site actif d'édition de la « leucyl-ARNt synthétase » on peut citer les suivants: Leucine404 (Leu404), Thréonine402 (Thr402), Lysine407 (Lys407), Thréonine316 (Thr316), Leucine317 (Leu317), Arginine318 (Arg318), Thréonine321 (Thr321), Aspartate418 (Asp418), Serine419 (Ser419), Aspartate422 (Asp422), Valine412 (Val412), Thréonine413 (Thr413), Aspartate421 (Asp421), Alanine486 (Ala486) et Leucine451 (Leu451) [88].

1.1.1.2 Squalène mono oxygénase ou squalène époxydase (Cible 2)

Dans cette étude, la structure de la squalène époxydase (mono oxygénase) des espèces *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton mentagrophytes* a été obtenue par modélisation par homologie à partir de la structure de la squalène époxydase humaine en utilisant le serveur SWISS-MODEL disponible sur le Web. Cette technique est adoptée lorsque la structure 3D d'une protéine n'est pas résolue expérimentalement, il est donc possible de lui construire un modèle à partir d'une protéine homologue (template) dont la structure 3D a été définie expérimentalement, et qui présente une séquence similaire à celle de la protéine à modéliser

[89]. Deux protéines sont dites homologues, lorsque leurs séquences ont divergé à partir d'un ancêtre commun. Cette méthode repose sur le principe que les structures protéiques 3D sont mieux conservées à travers l'évolution que les séquences d'acides aminés [90].

➤ SWISS-MODEL

C'est un Web-serveur (<https://swissmodel.expasy.org/>) dédié à la modélisation par homologie moléculaire des structures protéiques. Il a été le pionnier dans le domaine de la modélisation automatisée en 1993, et il est aujourd'hui l'outil gratuit de modélisation automatisée basé sur le Web le plus utilisé. Il entièrement automatisé (permet une meilleure reproductibilité) et intègre toutes les étapes de la modélisation par homologie, il suffit uniquement d'introduire la séquence d'acides aminés des protéines à modéliser (cible) qui sont obtenus dans notre étude à partir de la base de données de la NCBI (National Center for Biotechnology Information) disponible sur le site (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) sous format FASTA (Fast Adaptive Shrinkage/Thresholding Algorithm).

Le protocole suivi par SWISS-MODEL est le suivant :

- **Recherche de templates**

La recherche de templates avec BLAST et HHblits (programmes utilisés en bioinformatique) a été effectuée sur la bibliothèque de SWISS-MODEL (SWISS-MODEL Template Library « SMTL », dernière mise à jour : 31-03-2021 ; dernière version PDB incluse : 26-03-2021).

La séquence cible a été recherchée avec BLAST [91] contre la séquence primaire d'acides aminés contenue dans la SMTL. Un total de 4 templates a été trouvé pour *Trichophyton rubrum* et un seul pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Un profil initial de HHblits [92] a été construit, suivi d'une itération de HHblits contre Uniclust30 [93]. Le profil obtenu a ensuite été recherché par rapport à tous les profils de la SMTL. Un total de 5532 templates a été trouvé pour *Trichophyton rubrum*, et 5423 pour *Trichophyton mentagrophytes*.

- **Sélection des templates**

Pour chaque template identifié, sa qualité a été prédite à partir des caractéristiques de l'alignement cible-template. Les templates ayant la meilleure qualité ont ensuite été sélectionnés pour la construction du modèle.

Dans notre cas, la même protéine template a été choisie pour construire les modèles de nos cibles protéiques fongiques. Il s'agit de la squalène époxydase humaine (chaîne A) pour laquelle la structure 3D a été obtenue en 2019, décrite dans la littérature comme étant favorable pour la modélisation par homologie [94], et dont les caractéristiques structurales sont représentées dans le tableau ci-dessous. Les figures 17 et 18 représentent l'alignement cible-template des deux protéines fongiques.

Tableau IX : Informations structurales données par SWISS-MODEL pour la protéine template, données par SWISS-MODEL.

Template	Trouvée par : HHblits	Cibles	QSQE	Identité	Similarité	Etendue	Couverture
Code PDB : 6c6n.1.A Squalene epoxydase humaine	Méthode : Rayons X	<i>T.rubrum</i>	0.46	42.38	0.40	37-489	0.91
	Résolution : 2.30Å	<i>T.mentagr ophytes</i>	0.44	41.93	0.40	37-489	0.91



Figure 17 : Alignement template et modèle de *Trichophyton rubrum* obtenu avec SWISS-MODEL.

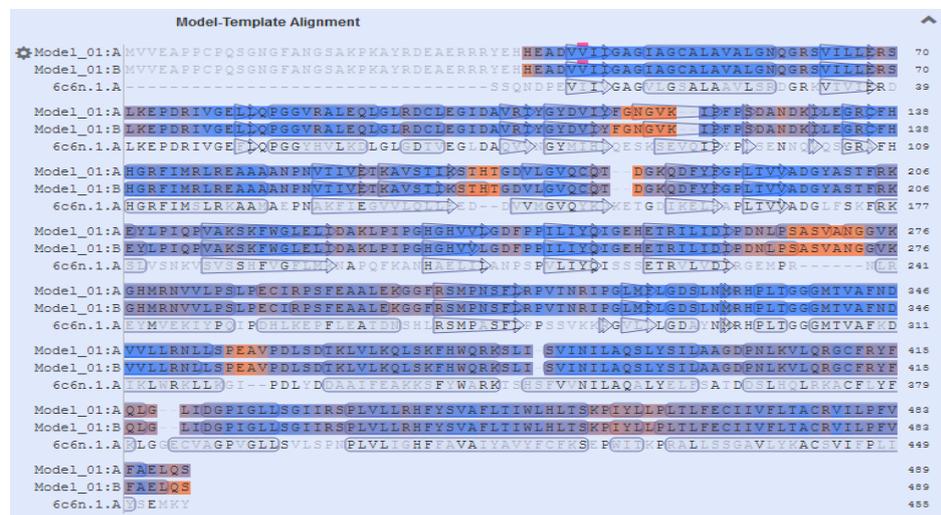


Figure 18 : Alignement template et modèle de *Trichophyton mentagrophytes* obtenu avec SWISS-MODEL.

Il est à noter que la construction d'un modèle par homologie de séquence nécessite au minimum 30% d'identité entre le template et la protéine d'intérêt [95], ce qui est valable dans notre cas.

- **Construction du modèle**

Les modèles sont construits à partir de l'alignement cible-template en utilisant ProMod3 [96]. Les coordonnées qui sont conservées entre la cible et template sont copiées au modèle. Les insertions et les délétions sont remodelées en utilisant une bibliothèque de fragments. Les chaînes latérales sont ensuite reconstruites. Enfin, la géométrie du modèle résultant est

régularisée en utilisant un champ de force. Les structures des modèles obtenues sont représentées dans la figure 19 ci-dessous.

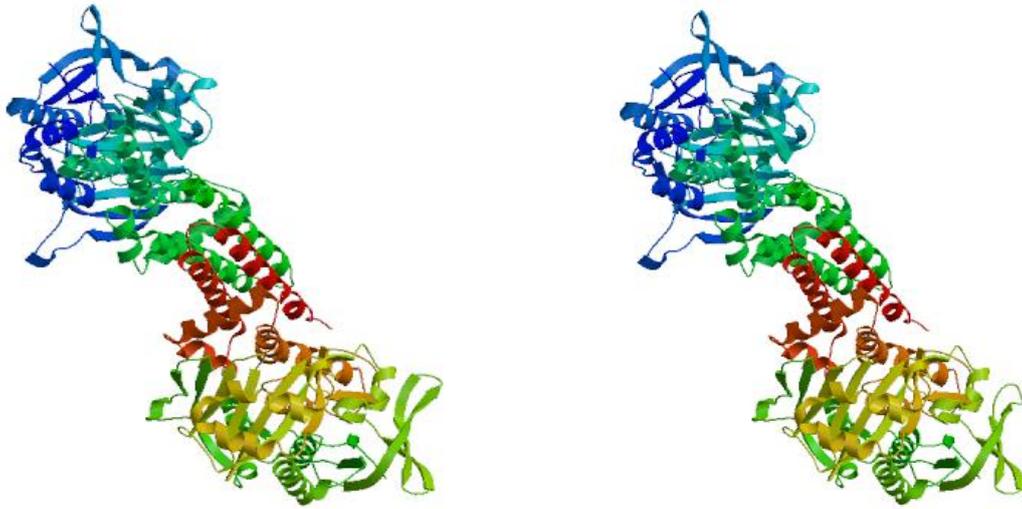


Figure 19 : Structure 3D de squalène epoxydase obtenue avec SWISS-MODEL de l'espèce *Trichophyton rubrum* à gauche et de *Trichophyton mentagrophytes* à droite qui sont quasi identiques.

- **Evaluation de la structure modélisée**

Une fois que le modèle de la structure cible est obtenu, il est crucial d'évaluer sa qualité et sa pertinence afin de le valider pour d'éventuelles applications biomédicales. Le serveur SWISS-MODEL dispose de fonctions d'annotations qui sont listées ci-dessous, et permettant d'estimer et d'évaluer la qualité du modèle obtenu par les estimateurs de GMQE (Global Model Quality Estimation) et QMEAN (Qualitative Model Energy Analysis), et qui s'affichent dans le site Web comme l'indique la figure 20 et 21.

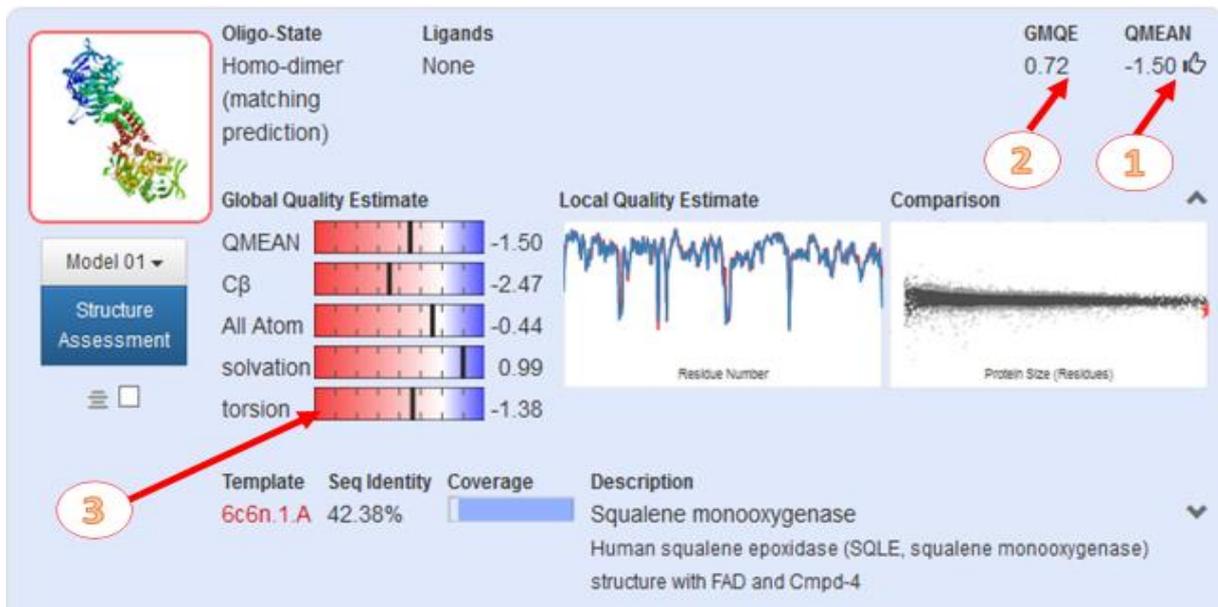


Figure 20 : Paramètres de validation du modèle de *Trichophyton rubrum* obtenus avec SWISS-MODEL.



Figure 21 : Paramètres de validation du modèle de *Trichophyton mentagrophytes* obtenus avec SWISS-MODEL.

A) GMQE (Global Model Quality Estimation)

Indiqué par le chiffre 2 dans les figures 20 et 21, il représente une estimation de la qualité qui combine les propriétés de l'alignement cible-template et de la structure du template. Elles sont combinées à l'aide d'un perceptron multicouche. Le score GMQE résultant est exprimé sous la forme d'un nombre compris entre 0 et 1, reflétant la précision attendue d'un modèle construit avec cet alignement et ce modèle, normalisé par la couverture de la séquence cible. Des chiffres plus élevés indiquent une plus grande fiabilité.

B) QMEAN (Qualitative Model Energy Analysis)

C'est un estimateur composite basé sur différentes propriétés géométriques et fournit des estimations de qualité absolue à la fois globales (c'est-à-dire pour la structure entière) et locales (c'est-à-dire par résidu).

Le Z-score QMEAN (indiqué par le chiffre 1 dans les figures 20 et 21) fournit une estimation du "degré de naturalité" des caractéristiques structurelles observées dans le modèle à une échelle globale. Il indique si le score QMEAN du modèle est comparable à ce que l'on pourrait attendre de structures expérimentales de taille similaire. Les scores Z de QMEAN autour de zéro indiquent un bon accord entre la structure du modèle et les structures expérimentales de taille similaire. Les scores ≤ -4 indiquent des modèles de faible qualité [97].

QMEAN se compose de quatre termes individuels des scores de qualité globale, ils sont répertoriés dans le diagramme en barre N° 3 dans les figures 20 et 21. La zone blanche (valeurs numériques proches de zéro) indique que la propriété est similaire à ce que l'on pourrait attendre de structures expérimentales de taille similaire. Les valeurs positives indiquent que le modèle obtient des résultats supérieurs aux structures expérimentales en moyenne. Les valeurs négatives indiquent que le modèle obtient des résultats inférieurs à ceux des structures expérimentales en moyenne. Le score Z de QMEAN lui-même est présenté en haut. Les Z-scores individuels comparent le potentiel d'interaction entre les atomes C β uniquement, tous les atomes, le potentiel de solvation et le potentiel d'angle de torsion [98].

En plus d'utiliser les mêmes termes que pour le score global, la précision des scores locaux de QMEAN est améliorée par QMEANDisCo (Qualitative Model Energy Analysis Co-Distance)

[99], qui évalue la cohérence des distances interatomiques observées dans le modèle avec les informations d'ensemble extraites des structures protéiques déterminées expérimentalement qui sont des homologues de la séquence cible. Le graphique "Local Quality" (figure 22 et 23) montre, pour chaque résidu du modèle (reporté sur l'axe des x), la similarité attendue avec la structure native (axe des y). Typiquement, les résidus montrant un score inférieur à 0,6 sont censés être de faible qualité. Les différentes chaînes de modèles sont représentées par des couleurs différentes.

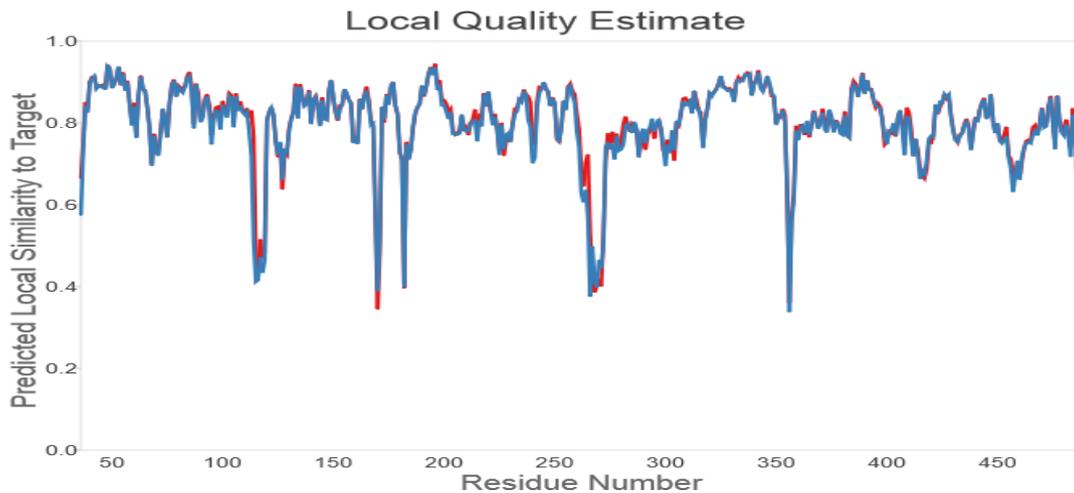


Figure 22 : Graphique de l'estimation de la qualité locale donné par SWISS-MODEL pour le modèle de *Trichophyton rubrum*.

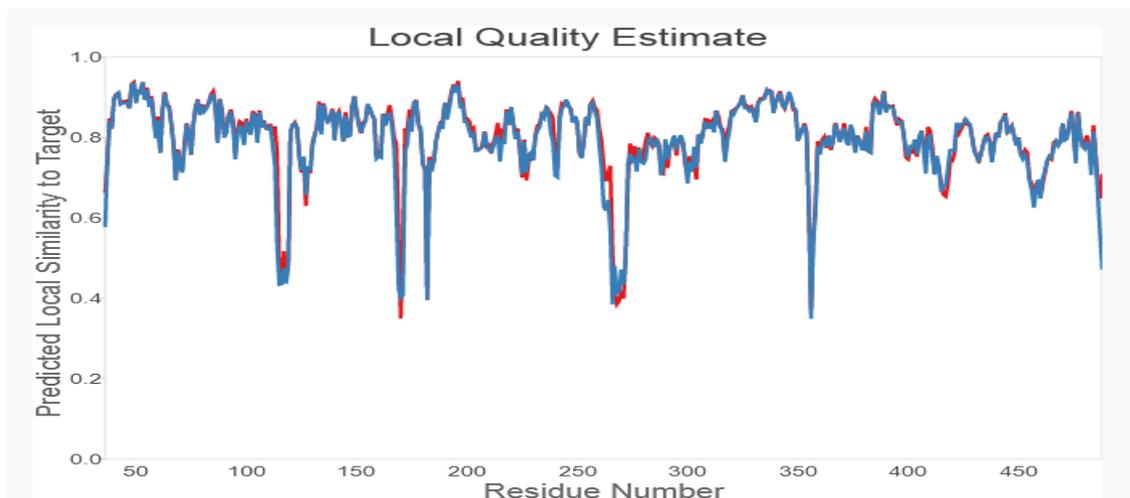


Figure 23 : Graphique de l'estimation de la qualité locale donnée par SWISS-MODEL pour le modèle de *Trichophyton mentagrophytes*.

Dans le graphique "Comparaison" (figure 24 et 25), les scores de qualité des modèles individuels sont mis en relation avec les scores obtenus pour des structures expérimentales de taille similaire. L'axe des x représente la longueur de la protéine (nombre de résidus). L'axe des y est le score QMEAN normalisé. Chaque point représente une structure protéique expérimentale. Les points noirs représentent les structures expérimentales dont le score QMEAN normalisé se situe à moins d'un écart-type de la moyenne ($|Z\text{-score}|$ entre 0 et 1), les structures expérimentales dont le $|Z\text{-score}|$ se situe entre 1 et 2 sont grises. Les structures expérimentales qui sont encore plus éloignées de la moyenne sont en gris clair. Le modèle réel est représenté par une étoile rouge. La moyenne et l'écart-type des structures expérimentales autour de la position x de l'étoile servent de base pour calculer le QMEAN Z-score du modèle, c'est-à-dire le nombre d'écart-types par rapport à la moyenne pour mon modèle.

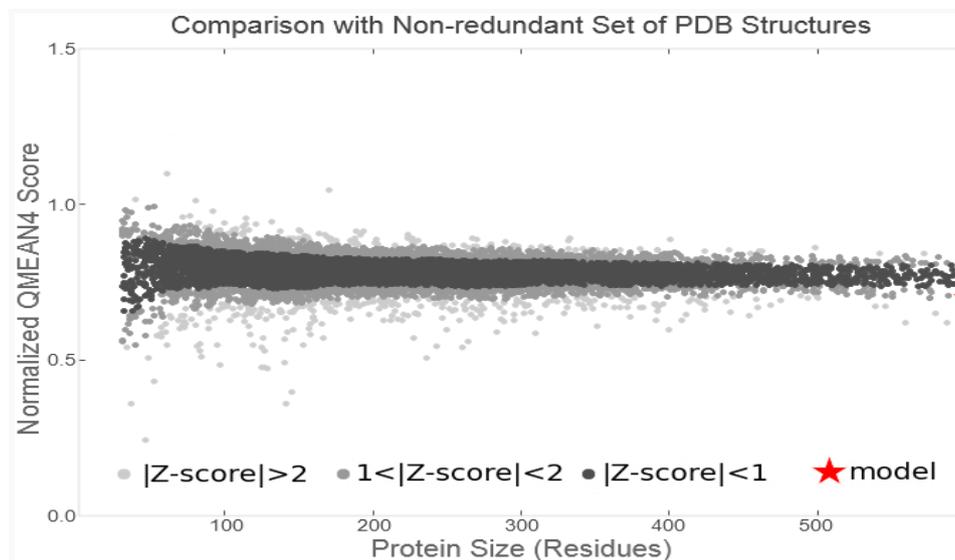


Figure 24 : Graphique de comparaison donné par SWISS-MODEL pour le modèle de *Trichophyton rubrum* obtenu avec SWISS-MODEL.

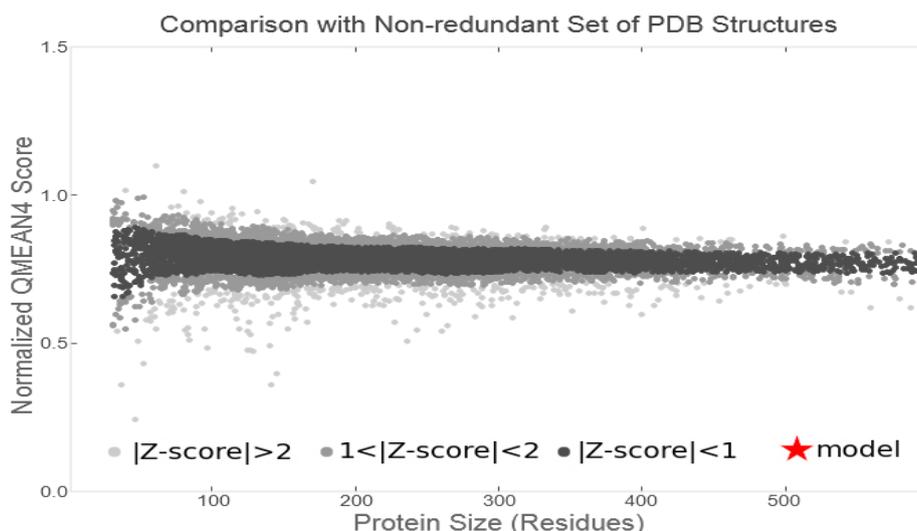


Figure 25 : Graphique de comparaison donné par SWISS-MODEL pour le modèle de *Trichophyton mentagrophytes* obtenu avec SWISS-MODEL.

1.1.2 Ligands

Dans notre étude, nous avons proposés deux séries : la série A ayant pour cible probable la leucyl ARNt synthétase et la série B ayant pour cible probable la squalène époxydase.

Les dérivés de la série A sont des molécules 1-H-benzimidazole-2,5-disubstitués obtenues en s'inspirant du tavorole, qui est une molécule benzoxaborole, en remplaçant la moitié oxaborole par un imidazole substitué en position 2.

Les dérivés de la série B sont de type N-méthyl-N-(1-naphtylméthyl)-3-phenyl prop-2en-1-amine substitués sur le phényle, obtenus après modification structurale apportée sur la naftifine.

Le docking moléculaire qui sera réalisé avec ces deux séries se fera en présence des ligands de référence qui sont le tavorole et la naftifine pour la série A et B respectivement.

1.1.2.1 Série A : 1-H-benzimidazole-2,5-disubstitués

Dans cette série, nous avons proposé onze molécules (voir figure 26 et annexe I). Cette série sera testée contre la cible 1.

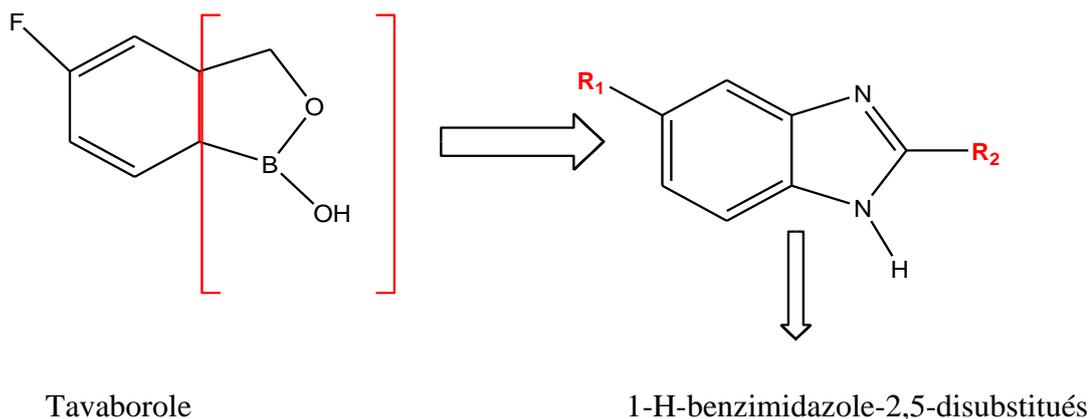


Figure 26 : Schéma explicatif de l'obtention des ligands de la série A.

1.1.2.2 Série B : N-méthyl-N-(1-naphtylméthyl)-3-phenyl prop-2en-1-amine substitués sur le phényle

C'est l'ensemble de dix composés chimiques, représentant des analogues de la naftifine (Voir la figure 27 et annexe II), qui est la première molécule commercialisée de la famille des allylamines. Sur laquelle nous avons inséré des substituants sur le phényle. Tout en prenant en considération les données de la relation structure activité de cette famille chimique indiquant que :

- La présence de l'amine tertiaire est indispensable pour l'activité ;
- Le naphthalène est utile pour un profil de sélectivité.

Cette série a été testée contre la cible fongique squalène époxydase des champignons dermatophytes : *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton mentagrophytes*.

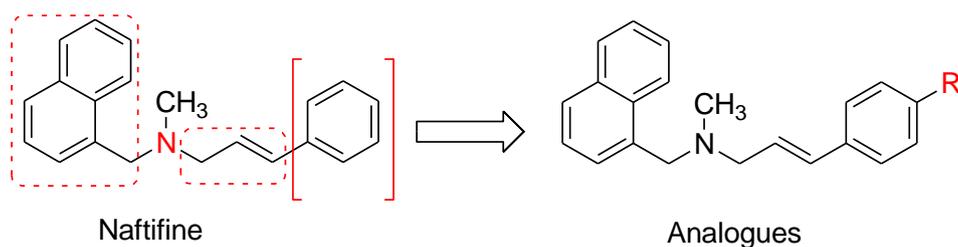


Figure 27 : Schéma explicatif de l'obtention des ligands de la série B.

Les ligands de notre étude sont obtenus et optimisés avec le logiciel ChemDraw (voir figure 28) qui est un logiciel inventé en 1985. Il est utilisé par les chimistes pour dessiner les molécules et avoir leur structure tridimensionnelle.

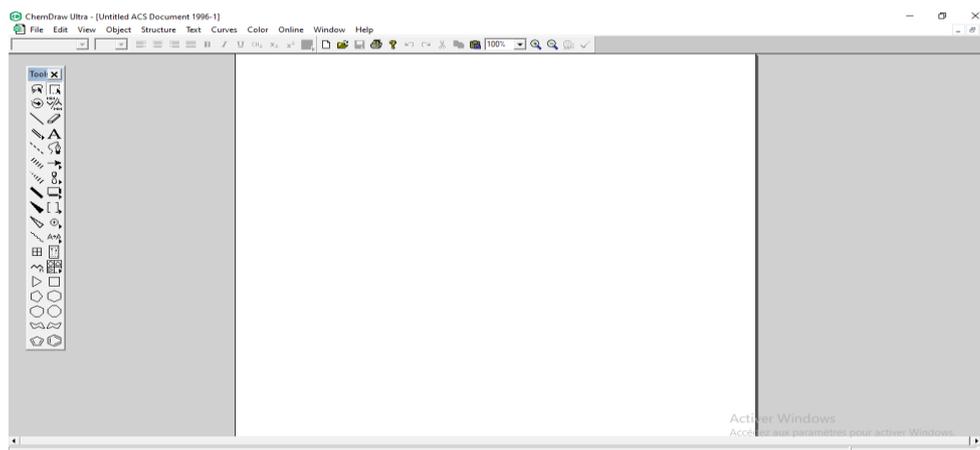


Figure 28 : Interface du logiciel ChemDraw Ultra 8.0.3 (avec un espace de dessin au milieu et plusieurs barres d'outils).

La version utilisée dans notre travail est ChemDraw Ultra 8.0.3. Cette version nous a permis d'avoir la structure 3D avec une certaine flexibilité, ce qui se rapproche des conditions biologiques permettant ainsi de réaliser le docking semi-flexible tout en minimisant l'énergie (avec l'option MM2 par un champ de force empirique) grâce à sa composante Chem3D Ultra 8.0.3 (figure29).

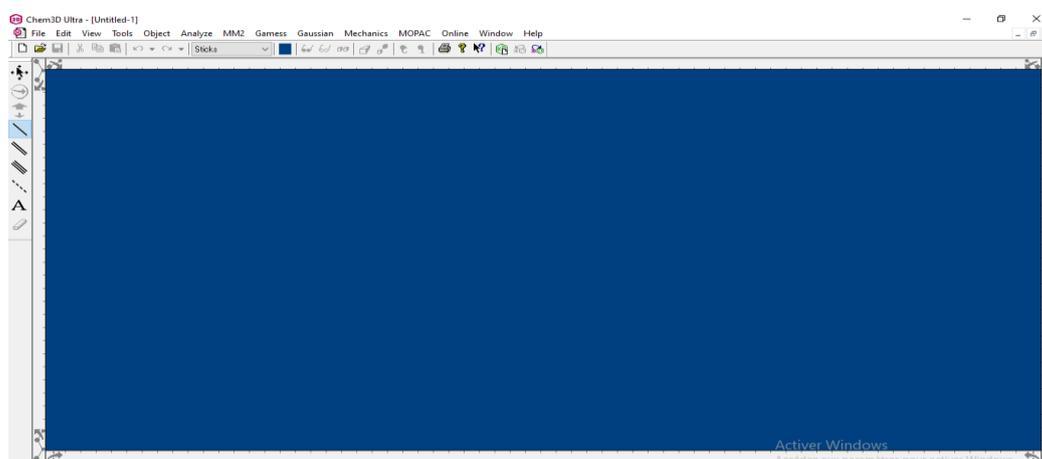


Figure 29 : Interface du logiciel Chem3D Ultra 8.0.3 (avec l'espace de travail « work space » au milieu et plusieurs barres d'outils).

1.1.3 Logiciel de docking

Molegro Virtual Docker (MVD 2013.6.0.0) est un logiciel informatique performant dont l'interface est représentée dans la figure 30 ci-dessous, qui permet la prévision de l'interaction ligand-protéine, l'estimation de son énergie et la détermination de la géométrie optimale du ligand. Il requiert une structure tridimensionnelle du ligand et de la protéine.

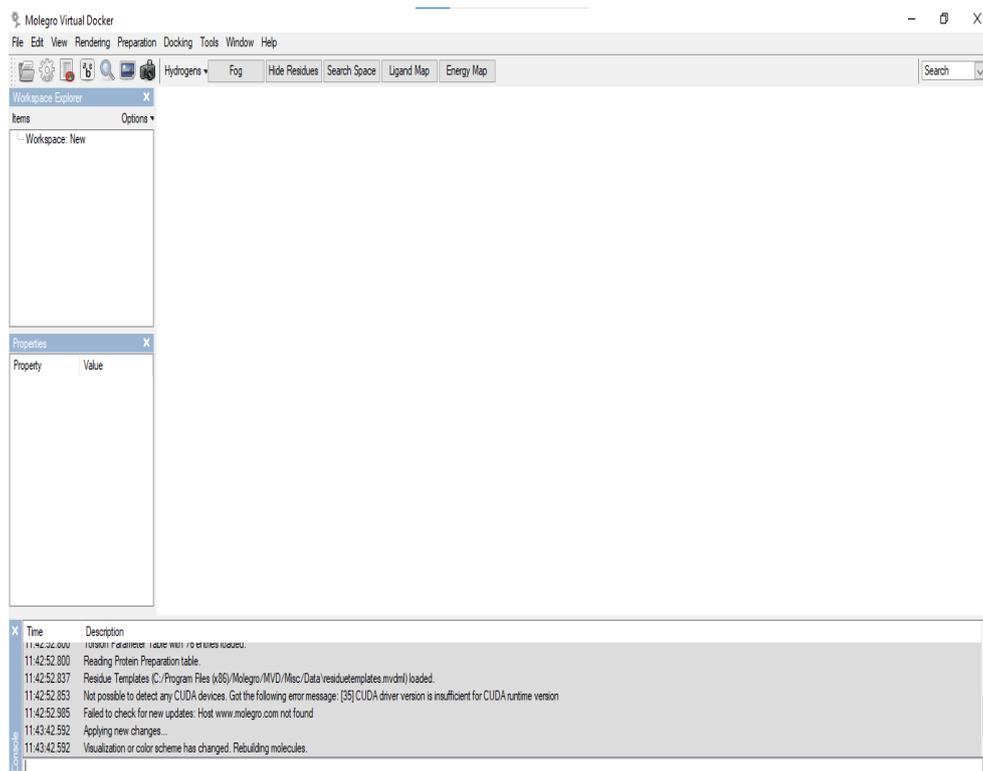


Figure 30 : Interface du logiciel MVD.

MVD possède quatre algorithmes de recherche : MolDock Optimizer (évolution différentielle), MolDock SE (simplex evolution), Iterated Simplex (simplex itéré), optimisation par colonies de fourmis (Ant colony optimization) [100], et quatre fonctions de score : MolDock Score qui prend uniquement en considération les liaisons hydrogènes et les interactions stériques, PLANTS Score qui prend en compte d'autres types de liaison comme les interactions non polaire et de répulsion, et Grid-based versions dont le MolDock Score [Grid] qui est une approximation de la grille utilisant les mêmes termes énergétiques que le MolDock Score, sauf que la directivité des liaisons hydrogène n'est pas prise en compte et PLANTS Score [Grid] qui est une approximation de la grille utilisant les mêmes termes énergétiques que PLANTS Score.

Il est conçu pour réaliser automatiquement toutes les étapes d'un processus. Il offre un amarrage de haute qualité et utilise une technique d'optimisation basée sur la productivité et la rentabilité.

MolDock (MVD) utilise un algorithme génétique ou dit évolutionnaire (approche stochastique ou aléatoire). Les algorithmes évolutionnaires AE sont des méthodes d'optimisation génériques et itératives. Ces méthodes sont capables de gérer plusieurs solutions conformationnelles (poses) simultanément définies par un ensemble de variables assimilées à des gènes en

appliquant des opérateurs génétiques (mutations, recombinaison ou cross over), regroupées dans une population.

Cette population est exposée à une pression de sélection, implémentée dans une fonction de score. La sélection des solutions les plus performantes d'après la fonction de score est appelée « parents » ou « génome parentaux », contre-balancée par la génération de nouvelles solutions « enfants », ceci pour maintenir une diversité de population. Les enfants, sont donc générés par modification du génome parental par des opérateurs classés suivant le nombre de parents sur lesquels ils s'appliquent. Une fois les enfants sont créés, ils prennent la place des plus mauvaises solutions de la population, et donc le processus itératif commence. La nouvelle population est de nouveau exposée à la pression de sélection implémentée par la fonction de score. L'évolution continue par une nouvelle itération (génération). Au cours du processus itératif les solutions les mieux adaptées émergent, jusqu'à convergence de la population ou bien après un nombre déterminé de génération.

Dans le docking moléculaire, l'algorithme évolutionnaire cherche à décrire les interactions entre le ligand et la cible protéique où les degrés de liberté correspondent aux positions, orientations et conformation du ligand et du récepteur [30].

La fonction de score de MolDock est une fonction empirique qui permet de choisir les composés ayant la plus grande probabilité d'interagir avec la cible. Elle ne nécessite pas une grande puissance de calcul, permet de cribler l'enzyme plus rapidement et capable de mieux évaluer les ponts hydrogènes ainsi que les interactions électrostatiques. MolDock Score utilise un nouvel algorithme heuristique de recherche qui combine l'évolution différentielle avec un algorithme de prévision de cavité. La fonction d'amarrage "MolDock Score" employée par MVD est une dérivée de la fonction PLP (Piece wise Linear Potential). Cette fonction contient des termes additifs des énergies des liaisons hydrogène, des interactions électrostatiques, et des interactions hydrophobiques. $E_{score} = E_{inter} + E_{intra}$ où E_{inter} : Energie d'interaction protéine-ligand, et E_{intra} : Energie interne de ligand.

La méthode la plus simple pour évaluer la fiabilité d'un programme de docking est de déterminer si la pose la mieux classée à l'issue du docking est structurellement proche de la conformation du ligand natif indiquée par les données cristallographiques. Ce test de similarité entre ligand natif et testé, selon la littérature, montre la réussite de la prédiction si la valeur de

l'écart quadratique moyen (RMSD : root mean square deviation) est inférieure à 2 Angstrom par rapport aux données expérimentales (une parfaite superposition du ligand natif et celui testé) [44]. Pour savoir de quel type d'erreurs il s'agit, il faut comparer l'énergie la plus basse obtenue par docking avec le score de la structure cristalline. Si le score du complexe de docking est moins favorable que celui de la structure cristalline il s'agit d'un problème de la partie chargée de parcourir l'espace conformationnel [101].

1.1.4 Serveurs de prédiction ADMETox

Dans notre étude, nous avons fait appel à deux serveurs : SwissADME pour prédire les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques et admetSAR pour prédire la toxicité.

1.1.4.1 SwissADME

C'est un outil web qui donne un accès gratuit à un ensemble de modèles prédictifs rapides et robustes des propriétés physicochimiques et la pharmacocinétique. Une saisie et une interprétation faciles et efficaces sont assurées grâce à une interface conviviale via le site web : <http://www.swissadme.ch/>. Les spécialistes, mais aussi les non-experts en chimie computationnelle peuvent prédire rapidement les paramètres clés d'une collection de molécules afin de soutenir leurs efforts de découverte de médicaments [102]. Parmi les méthodes internes au système nous citons les suivantes :

- BOILED-Egg (*Brain Or IntestinaL EstimateD permeation* method) pour prévoir l'absorption gastro-intestinale et la pénétration cérébrale des petites molécules [103];
- iLOGP qui est une approche physique montrant une forte corrélation linéaire entre l'énergie libre de solvation calculée dans les solvants implicites par l'approche GB (Generalized Born)/SASA (Solvent Accessible Surface Area) et le coefficient de partage n-octanol/eau ($\log P_{o/w}$) expérimental sur un ensemble de données de plus de 17 500 molécules [104];
- Radar de biodisponibilité qui comporte six propriétés importantes pour la biodisponibilité orale. Chaque propriété a une plage de valeurs optimales qui est représentée par une zone rose. Pour l'insaturation, la fraction Csp3 (fraction de carbones avec l'hybridation sp3) doit être comprise entre 0.25 et 1. La polarité de la molécule est déterminée par la TPSA (Topological Surface Area) qui doit être

comprise entre 20 et 130Å². Quant à l'insolubilité, logS (calculé avec le modèle ESOL) ne doit pas dépasser 6. La lipophilie (XLOGP3) doit être comprise entre -0,7 et +5,0. Le poids moléculaire est compris entre 150g/mol et 500g/mol. Enfin, pour la flexibilité, il ne doit pas y avoir plus de 9 liaisons rotatives. Nous parlerons de molécule médicamenteuse, lorsque la ligne rouge de cette molécule est entièrement incluse dans la zone rose du tracé. Toute déviation de cette ligne indique une propriété physicochimique sous-optimale pour la biodisponibilité orale [105].

Afin de prédire les propriétés ADME des 5 tops molécules de chaque une de nos deux séries, nous avons employé le serveur SwissADME dont la page d'accueil est représentée dans la figure 31 ci-dessous.

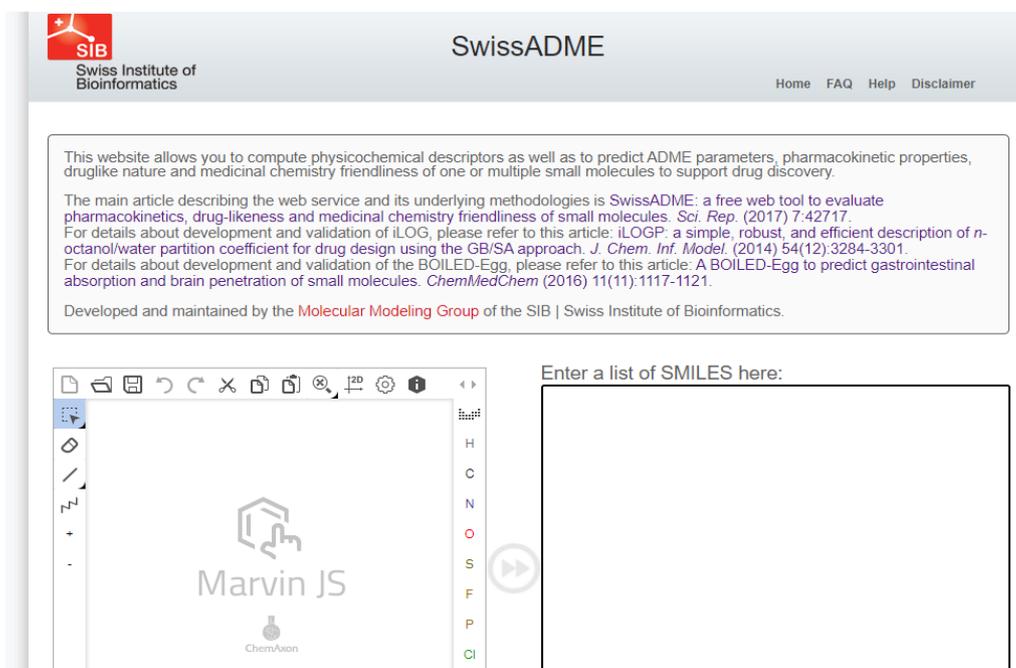


Figure 31 : Page d'accueil du serveur SwissADME [106].

1.1.4.2 AdmetSAR (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity structure-activity relationship)

C'est un serveur web, dont la page d'accueil est illustrée dans la figure ci-dessous, basé sur la chimio-informatique et utilisé pour la prédiction des propriétés ADMETox des candidats médicaments et autres produits chimiques. Dans admetSAR, plus de 210 000 points de données annotées ADMET pour plus de 96 000 composés uniques avec 45 types de propriétés, protéines,

espèces ou organismes associés à ADMET ont été soigneusement sélectionnés à partir d'un grand nombre de documents. La base de données comprend 22 modèles de classification qualitative et 05 modèles de régression quantitative avec une précision prédictive élevée, permettant d'estimer les propriétés ADMETox. Les modèles QSAR à haute prédiction ont été mis en œuvre pour le filtrage in silico de nouvelles propriétés ADMETox chimiques. Ce serveur est accessible gratuitement à l'adresse : <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/> [107].

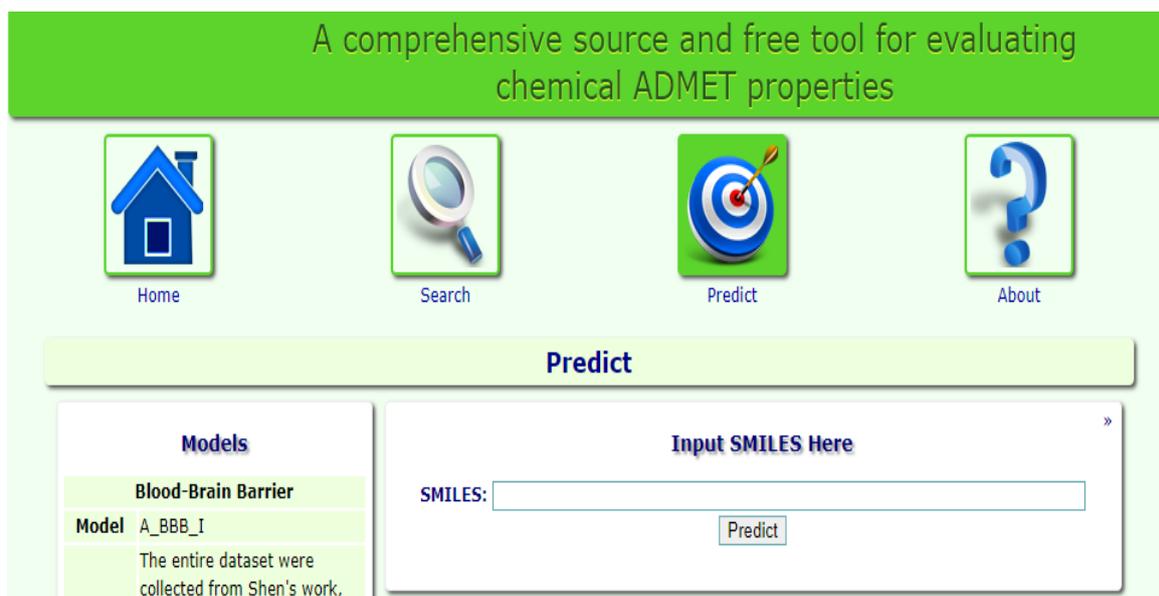


Figure 32 : Page d'accueil du serveur admetSAR [108].

Dans notre étude, nous avons utilisé la première version du serveur admetSAR pour la prédiction de la toxicité des 5-top ligands de la série A et B. Plus précisément, nous nous sommes intéressées aux types de toxicité suivants :

- Inhibition du gène HERG (Human Ether-a-go-go-Ralted Gene) : permet de classer les molécules soit en inhibiteurs puissants de l'HERG si $pIC_{50} > 6.0$ mol/L, ou en inhibiteurs faibles du HERG si $pIC_{50} \leq 6.0$ mol/L, avec pIC_{50} étant le logarithme négatif de la valeur de la CI_{50} (concentration inhibitrice médiane) lorsqu'elle est convertie en molaire [109] ;
- ✓ Toxicité aiguë chez le rat : un model QSAR à base de 10207 molécules avec LD50 contre le rat ont été recueillies et utilisées pour prédire les LD50 (mg/L) [110] ;

- ✓ Mutagenèse d'AMES : 8445 composés, dont 4912 produits chimiques toxiques AMES et 3533 produits chimiques non toxiques AMES ont été collectés à partir de 10 articles publiés [111] ;
- ✓ La carcinogénéicité, qui donne lieu à 3 classes selon la valeur de la TD50 (dose toxique médiane) [108] :
 - les composés dont la $TD50 \leq 10$ mg/kg de poids corporel/jour sont affectés de la mention "Danger" ;
 - ceux dont la $TD50 > 10$ mg/kg de poids corporel/jour sont affectés de la mention "Attention" ;
 - et les produits chimiques non cancérigènes sont affectés de la mention "Non requis".
- ✓ Toxicité orale aiguë qui permet de classer les composés en quatre catégories [108] comme suit :
 - Catégorie I : contient les composés dont $LD50 \leq 50$ mg/kg ;
 - Catégorie II: contient les composés dont $LD50$ est compris entre $50 > LD50 \leq 500$ mg/kg ;
 - Catégorie III: contient les composés dont $LD50$ est compris entre $500 > LD50 \leq 5000$ mg/kg;
 - Catégorie IV: contient les composés dont $LD50 > 5000$ mg/kg.

1.2 Méthodes

1.2.1 Protocole de docking

La figure 33 correspond aux sources de nos protéines et ligands (détaillés dans la partie matériels) utilisés dans notre étude de docking semi-flexible où la protéine est considérée rigide et le ligand comme étant flexible.

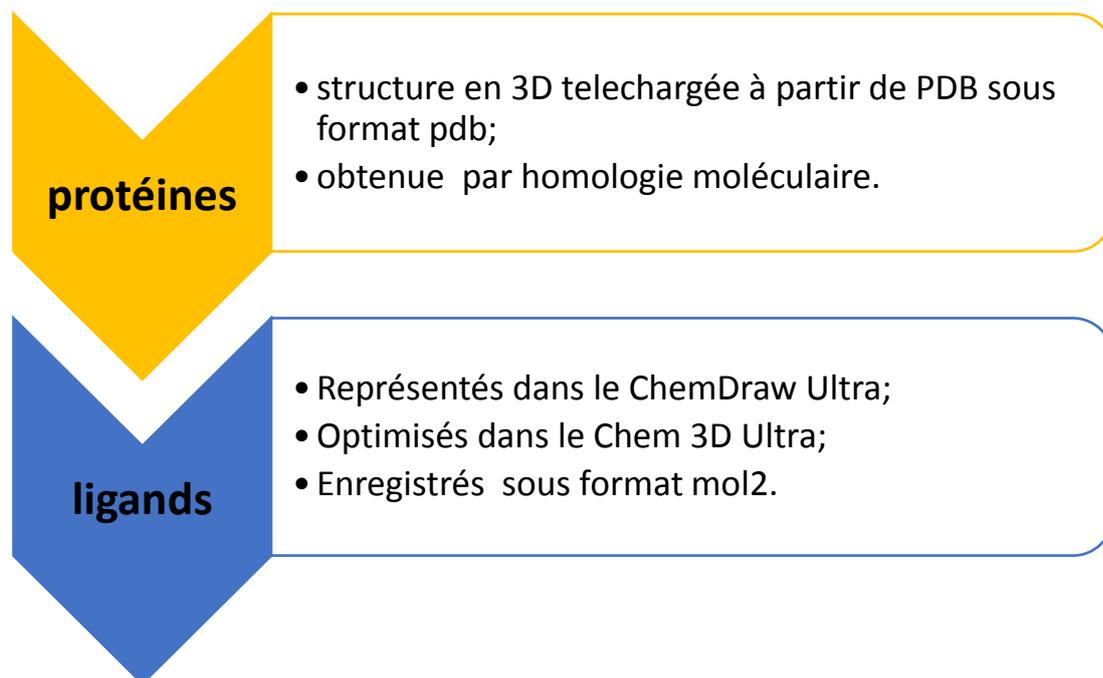


Figure 33 : source de protéines et ligands étudiés.

Nous avons réalisé un docking semi-flexible (protéine rigide et ligand flexible) comme suit (voir le protocole dans la figure 34) :

- ✓ Importation de la protéine sous format pdb dans l'espace de travail (work space) du MVD obtenue soit par homologie moléculaire ou téléchargée à partir de la Data Bank Protein ;
- ✓ Préparation par MVD de la protéine par élimination des molécules d'eau, des cofacteurs et des ligands Co-cristallisés (en utilisant l'option « Always ») ;
- ✓ Optimisation de la protéine par la correction des éventuelles erreurs de protonation ;
- ✓ Création de la surface de la protéine et détection des cavités ;
- ✓ Importation des ligands représentés dans le ChemDraw Ultra et optimisés dans le Chem 3D ultra sous format mol2 ;
- ✓ Lancement du docking (DockingWizard) à la recherche de la meilleure pose correspondant à la plus basse énergie ;
- ✓ Visualisation des énergies et des interactions générées.

La figure 33 résume notre protocole de docking.

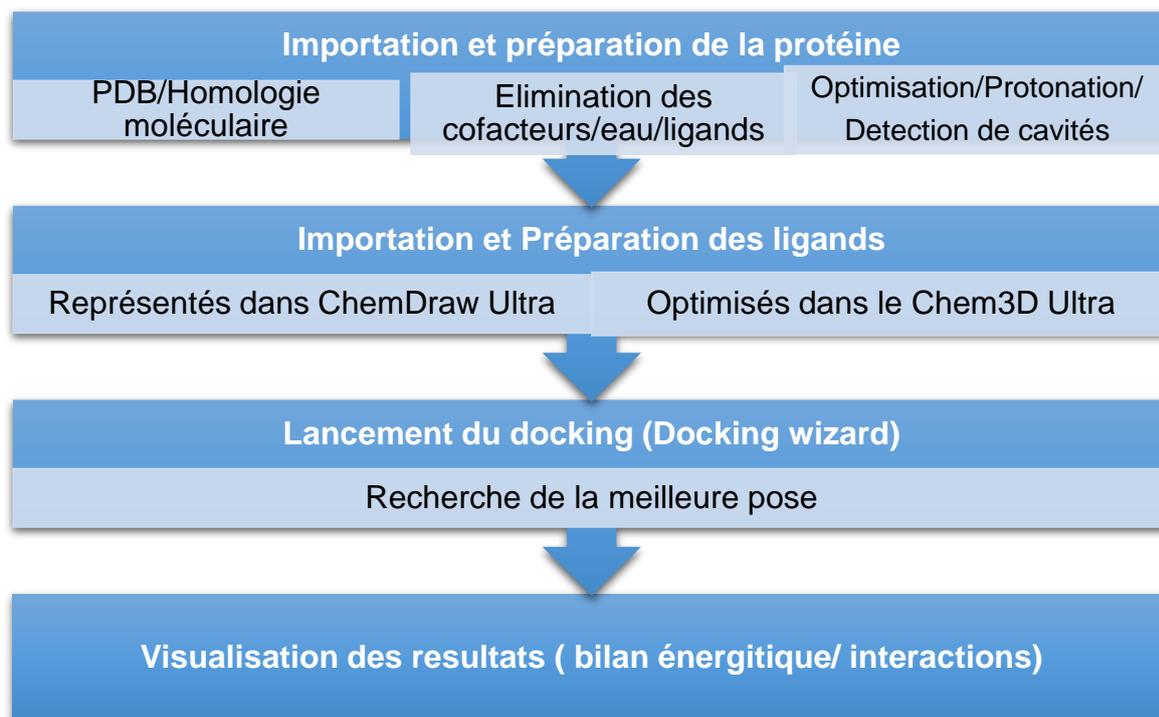


Figure 34: Protocole de docking.

Sachant qu'avec le MVD nous pouvons travailler en combinant l'algorithme de recherche MolDock optimizer et la fonction de score MolDock score Grid en présence ou en absence de molécules d'eau [100]. Nous avons donc opté pour cette combinaison dans notre étude.

➤ **Algorithme de recherche utilisé**

Nous avons utilisé MolDock optimizer (évolution différentielle), basé sur le calcul évolutionnaire ce qui le rend parmi les algorithmes de recherche les plus efficaces [100]. Nous avons procédé avec le réglage algorithmique suivant:

- Nombre de tours : 10 ;
- Taille de population : 50 ;
- Itération maximale de l'algorithme: 2000 ;
- Taux de croisement = 0,9 ;
- Fin de recherche : basée sur la variation «variation-based» ;
- Minimisation d'énergie « Energy minimization » ;
- Activation de seuil d'énergie « Enable Energy threshold ».

➤ Fonction de score utilisée

Dans notre étude, nous avons utilisé MolDock Score [Grid] qui est une fonction de score basée sur une approximation de la grille utilisant les mêmes termes énergétiques que le MolDock Score, sauf que la directivité des liaisons hydrogène n'est pas prise en compte. Elle fournit une accélération de 4 à 5 fois en pré calculant les valeurs énergétiques potentielles sur une grille cubique avant la simulation de docking.

1.2.2 Validation du protocole de docking

Pour une simulation de docking, nous commençons par la sélection de l'ensemble des structures puis nous procédons à la validation du protocole. La validation du protocole de docking passe par deux étapes : le re-docking et la classification de précision du positionnement basée sur les interactions.

1.2.2.1 Re-docking

Il a pour but la détermination de la capacité du protocole de docking à générer une pose avec un positionnement dans le site d'interaction identique ou très proche à celui de la structure cristallographique originale, Cette méthode s'intéresse à l'écart quadratique moyen (RMSD) [30].

Les meilleurs protocoles de docking génèrent des valeurs RMSD inférieure à 2 Å, cette valeur est un seuil au-dessus duquel la précision du positionnement est considérée mauvaise, ce qui entraîne l'invalidation du protocole.

Pour notre étude, le calcul de la valeur RMSD est effectué avec MVD, avec définition de l'ANZ (à 1817Å de formule générale C₁₇H₁₇BFN₅O₈P, et qui est indiqué par ce code sur PDB « AN2690 » et structurellement c'est le tavorole) co-cristallisé comme ligand de référence (voir figure 35) pour la cible « leucyl-ARNt synthétase », et EKV (Cmpd-4) co-cristallisé comme ligand de référence (voir figure35) de la squalène époxydase humaine utilisée comme template et ayant le même site actif avec les cibles fongiques étudiées [112].

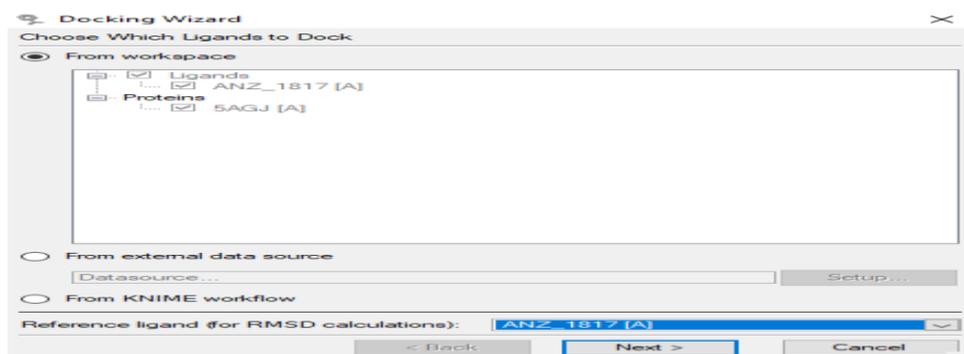


Figure 35 : Illustration de la définition de l'ANZ co-cristallisé comme ligand de référence pour la cible 1.



Figure 36 : Illustration de la définition de l'EKV co-cristallisé comme ligand de référence pour la cible 2.

1.2.2.2 Classification de précision du positionnement basée sur les interactions «interactions-based accuracy classification (IBAC)»

Elle repose sur une inspection visuelle des structures co-cristallisées et prédites (générées). L'avantage de cette classification par rapport au RMSD est la prise en considération des interactions, elle débute par une inspection visuelle du complexe ligand de référence-site d'interaction pour déterminer précisément l'ensemble des interactions, suivie par celle du complexe pose prédite-site d'interaction. Le positionnement de la pose prédite est correct si la conformation et son orientation ainsi que toutes les interactions clés sont similaires à celles de la structure du ligand de référence [30].

2 Résultats

2.1 Validation du protocole de docking

La validation du protocole de docking est une étape primordiale et indispensable. Dans notre étude, nous avons procédé initialement au calcul de la valeur RMSD par MVD, avec définition de l'ANZ co-cristallisé comme ligand de référence pour la cible 1 « Leucyl-ARNt synthétase » et EKV pour la cible 2 « squalène époxydase ».

La simulation du re-docking a généré un RMSD équivalent à 0.604669Å pour la cible 1 (figure 37) et 0.75548Å pour la cible 2 (figure 38), suffisamment inférieurs au seuil, ce qui confirme la fiabilité de notre protocole de docking.

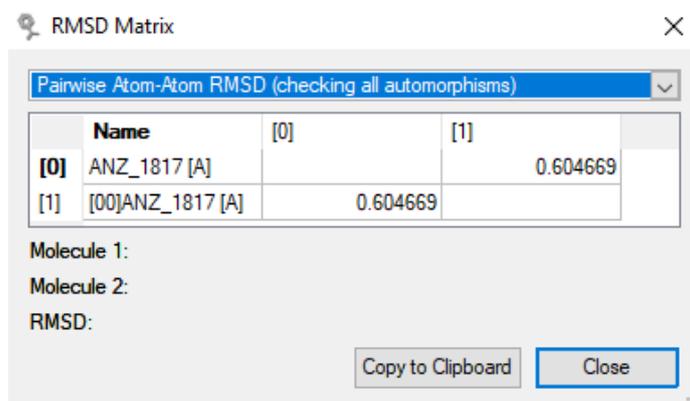


Figure 37 : Matrice RMSD désignant la valeur RMSD obtenue par MVD pour la cible 1.

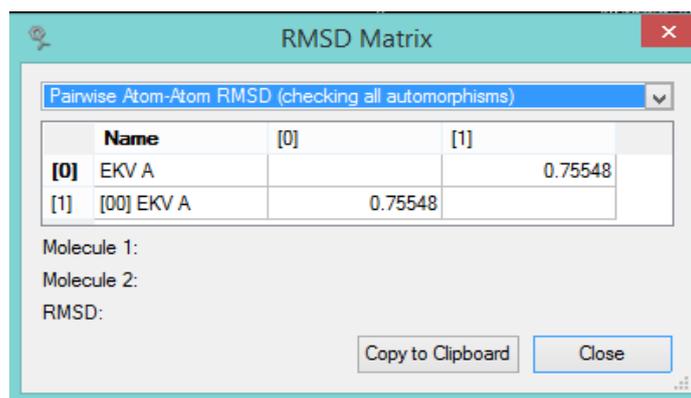


Figure 38: Matrice RMSD désignant la valeur RMSD obtenue par MVD pour la cible 2.

Les figures (39 et 40) représentent la superposition des ligands co-cristallisés ANZ et EKV respectivement avec leurs meilleures poses générées par MVD.

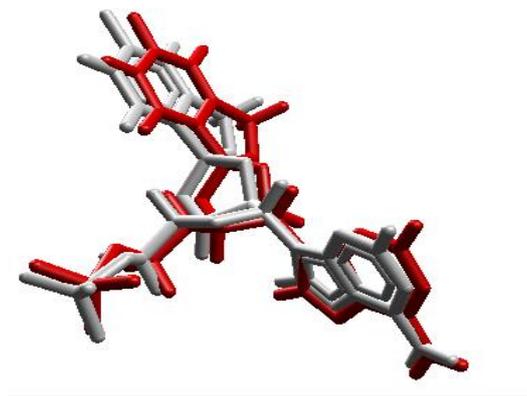


Figure 39: Superposition de l'ANZ et sa meilleure pose générée (En blanc : ANZ, en rouge : meilleure pose générée) obtenue par MVD.

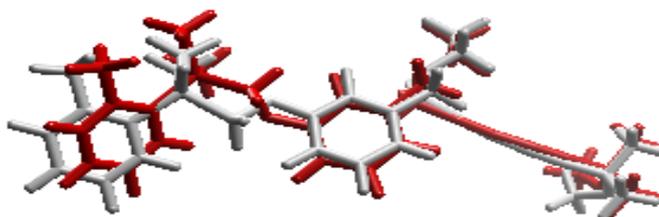


Figure 40: Superposition de l'EKV et sa meilleure pose générée (En blanc : EKV, en rouge : meilleure pose générée) obtenue par MVD.

Ensuite, nous sommes passées à la visualisation des complexes suivants : ligand co-cristallisé-site d'interaction, meilleure pose générée-site d'interaction afin de déterminer l'ensemble des interactions mises au point.

La figure 41, ci-après, représente les interactions de type liaisons hydrogènes (en bleu), électrostatiques (en vert), stériques (en rouge) du ligand co-cristallisé ANZ et sa meilleure pose générée avec le site d'édition de leucyl-ARNt synthétase, visualisées par MVD.

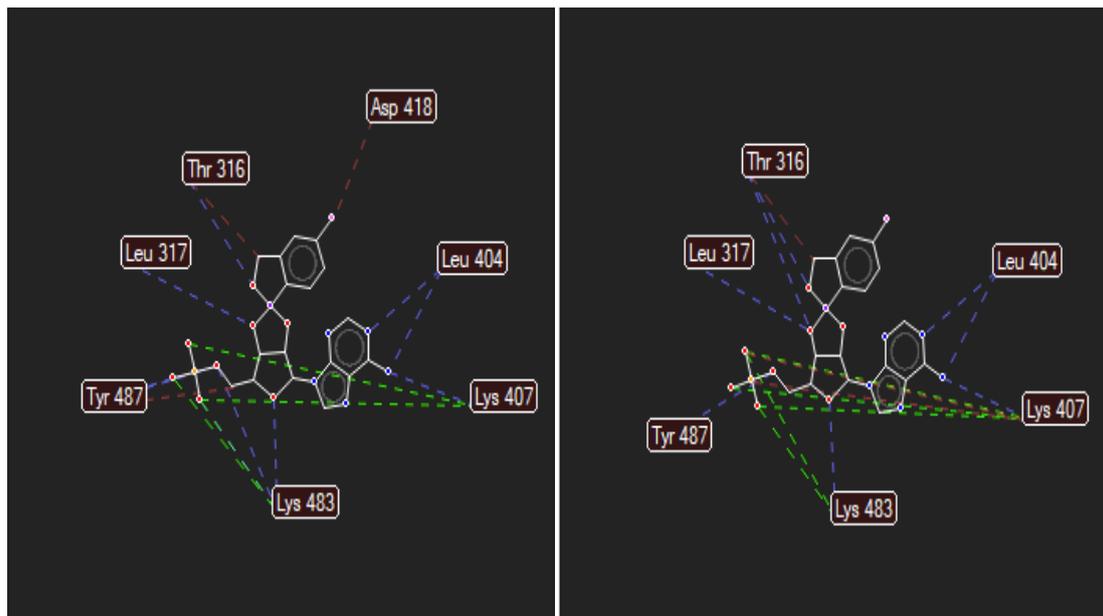


Figure 41 : Visualisations des interactions ANZ-site actif (à gauche) et celles de sa meilleure pose-site actif (à droite) par MVD.

En visualisant le site d'interactions de la leucyl-ARNt synthétase, le ligand co-cristallisé ANZ montre une bonne affinité avec les résidus du site d'édition qui est à l'origine de l'effet inhibiteur et qui se traduit par la formation des liaisons hydrogène avec les résidus Thr316, Leu317, Leu404 et Lys407, deux liaisons stériques avec les résidus Thr316, Asp418 et enfin une seule liaison électrostatique avec le résidu Lys407.

En inspectant également les résidus en interaction avec la meilleure pose générée, nous constatons qu'elle interagit de la même manière que le ligand co-cristallisé avec la formation de ces liaisons hydrogène avec le site d'édition de cible 1 : Thr316, Leu317, Leu404 et Lys407, deux liaisons stériques avec les résidus Thr316, Lys407 et enfin une seule liaison électrostatique avec le résidu Lys407.

Nous pouvons conclure que la conformation de la meilleure pose générée d'ANZ, son orientation ainsi que les interactions clés avec les résidus du site d'édition de la cible 1 sont quasi-similaires à celles du ligand co-cristallisé « ANZ » ce qui confirme la fiabilité de notre protocole de docking.

Quant à la figure 42 ci-après, elle illustre les liaisons formées entre le ligand co-cristallisé EKV- le site d'action et sa meilleure pose générée-site d'action.

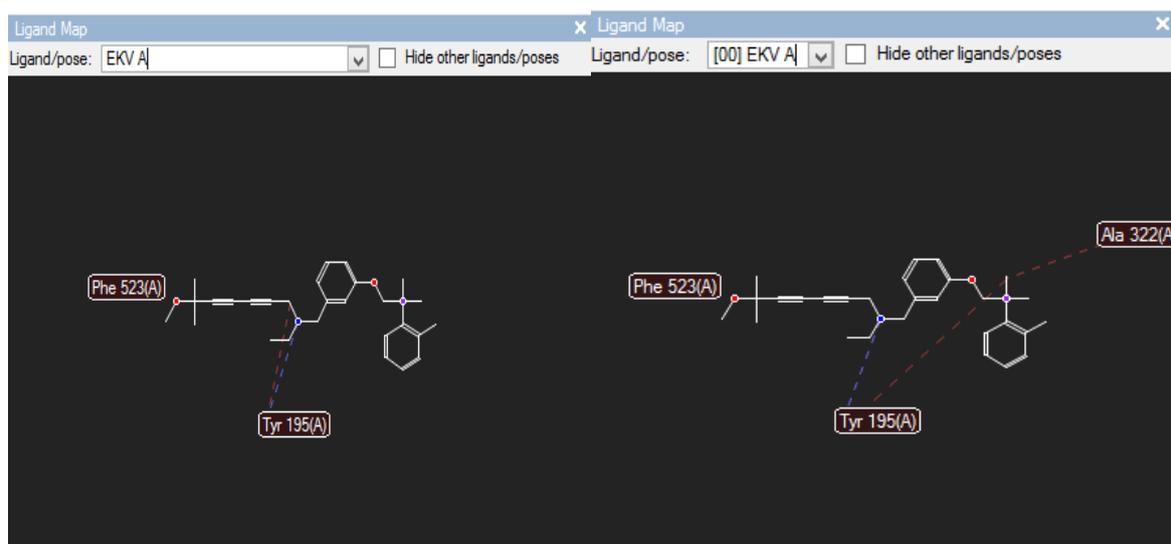


Figure 42 : Visualisations des interactions EKV-site actif (à gauche) et celles de sa meilleure pose-site actif (à droite) par MVD.

Ainsi, nous constatons que les liaisons formées avec les résidus de notre cible sont quasiment identiques. Notamment la liaison hydrogène avec l'acide aminé Tyr195 qui est décrite dans la littérature.

D'après la figure 42 ci-dessus, la conformation et l'orientation ainsi que les interactions clés avec les résidus du site actif de la cible 2 sont quasi-similaires à celles du ligand de référence « EKV » ce qui confirme que notre positionnement est correct.

Les deux valeurs (0.604669 \AA et 0.75548 \AA) de RMSD qui sont inférieures à 2 \AA , la superposition des ligands de référence avec leurs meilleures poses générées, les positionnements corrects, ainsi que la quasi-similarité des interactions générées par les meilleures poses et celles des ligands de référence sont l'ensemble des preuves validant notre protocole (un des paramètres est suffisant pour valider le protocole de docking).

2.2 Détection des cavités des cibles

➤ Cible 1

Tableau X: Cavités de la cible 1 détectées par MVD.

Cavités	Volume (\AA^3)	Surface (\AA^2)
Cavité 1	191.488	558.08
Cavité 2	10.752	51.2

Lors de notre étude, nous avons remarqué que le ligand co-cristallisé (ANZ) se localise dans la cavité (1), c'est pour cela que nous avons décidé de prendre cette dernière comme un centre de recherche pendant notre processus de docking semi-flexible ayant comme cible « Leucyl-ARNt synthétase ». Cette sphère de recherche couvre tous les résidus du site actif avec un rayon de 15 Å (voir figure 43).

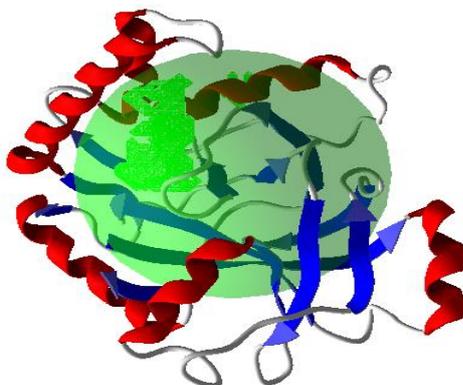


Figure 43: Cavités de la cible 1 détectées par MVD et visualisation de l'espace de recherche.

➤ Cible 2

Tableau XI : Cavités de la cible 2 détectées par MVD pour l'espèce *Trichophyton rubrum*.

Cavités	Volume (Å ³)	Surface (Å ²)
Cavité 1	413.148	1166.08
Cavité 2	401.92	1120
Cavité 3	66.56	212.48
Cavité 4	62.976	202.24
Cavité 5	62.464	221.44

Tableau XII: Cavités de cible 2 détectées par MVD pour l'espèce *Trichophyton mentagrophytes*.

Cavités	Volume (Å ³)	Surface (Å ²)
Cavité 1	411.136	1130.24
Cavité 2	395.776	1104.64
Cavité 3	72.192	236.8
Cavité 4	69.632	234.24
Cavité 5	64.512	235.52

Lors de notre étude, nous avons constaté que l'espace de recherche ne couvre pas toute la protéine cible, car c'est une protéine volumineuse, sous forme d'homo-dimère, constituée de deux chaînes A et B ayant chacune un site de liaison correspondant aux cavités 2 et 1 respectivement. Nous avons donc saisi manuellement les coordonnées du site actif de la chaîne A pour orienter l'espace de recherche vers la zone voulue (voir figure 44), que nous avons obtenu lors de re-docking avec le ligand de référence, et qui sont données comme suit :

X = -20.30, Y = 73.89, Z = 55.23 avec un rayon de 15 Å.

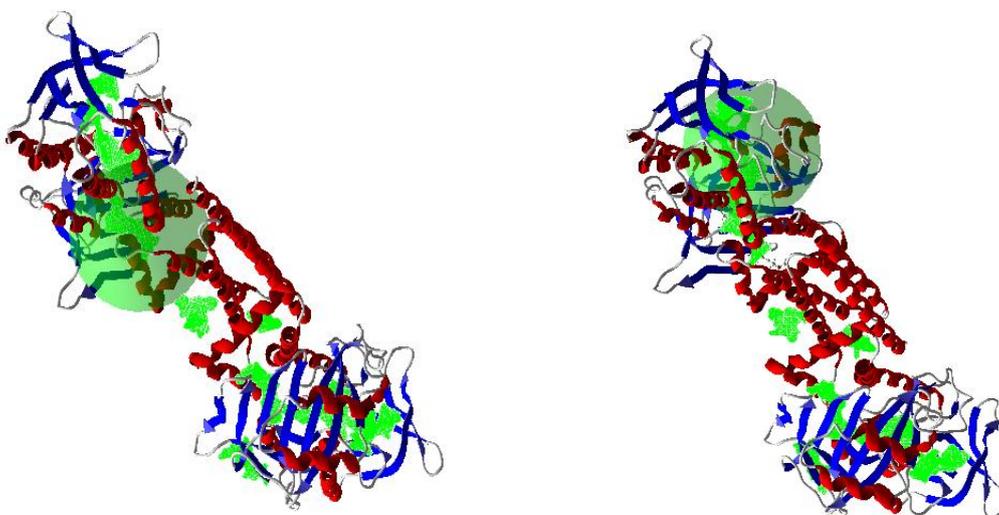


Figure 44: Cavités de la cible 2 de l'espèce *Trichophyton rubrum* (à gauche) et *Trichophyton mentagrophytes* détectées par MVD et visualisation de l'espace de recherche.

2.3 Résultats du docking moléculaire

2.3.1 Résultats de la cible 1

Les résultats du docking concernant la cible 1 avec les ligands de la série A et le Tavaborole obtenus avec MVD sont représentés dans le tableau XIII ci-dessous.

Tableau XIII: Energies d'interaction MolDock score des meilleures poses prédites par MVD pour la cible 1.

Ligand (pose)	MolDock Score (Kcal/mol)
Tavaborole	-79.07
Molécule 1	-85.29
Molécule 2	-106.07
Molécule 3	-102.55

Molécule 4	-103.49
Molécule 5	-85.53
Molécule 6	-80.62
Molécule 7	-106.55
Molécule 8	-108.81
Molécule 9	-106.82
Molécule 10	-98.70
Molécule 11	-133.98

Les figures ci-après représentent les interactions hydrogènes (en bleu), les interactions électrostatiques (en vert) et les interactions stériques (en rouge) des onze molécules de la série A et le tavorole (utilisé comme référence) avec le site d'édition de la cible 1.

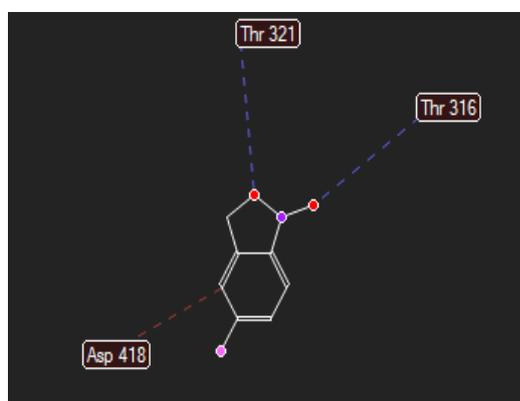
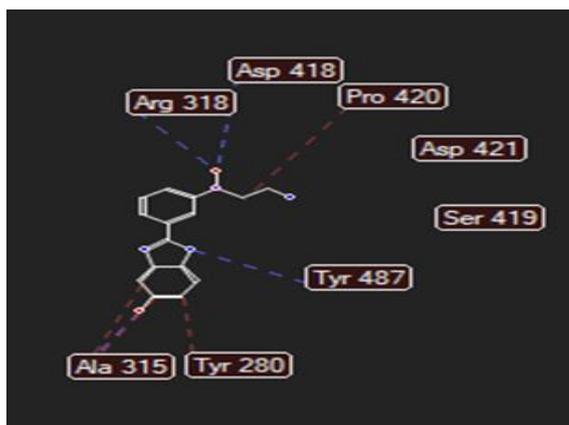
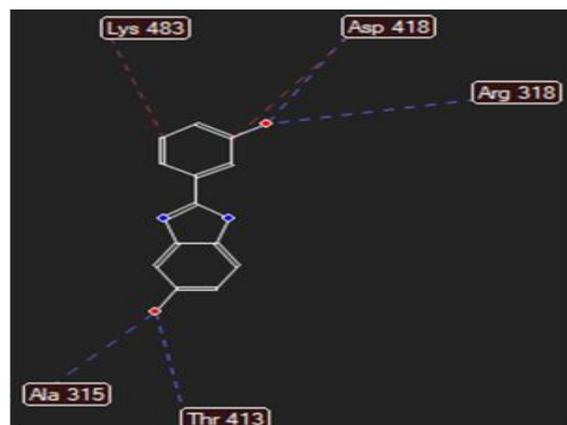


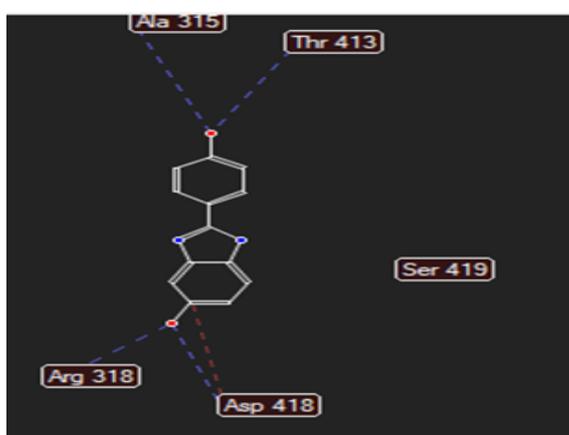
Figure 45 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le tavorole (ligand de référence).



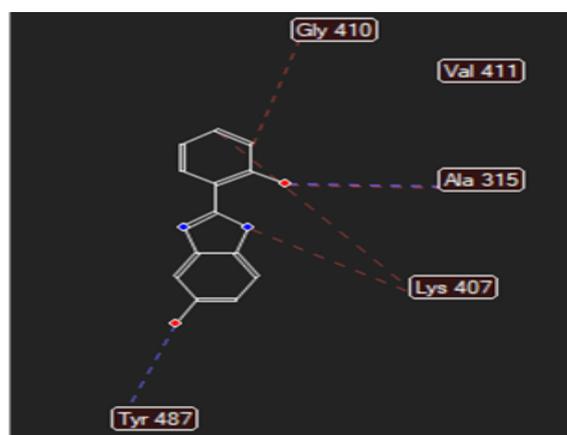
Molécule 11



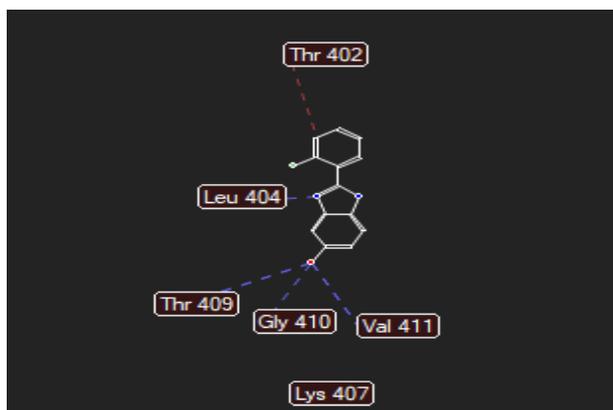
Molécule 8



Molécule 9

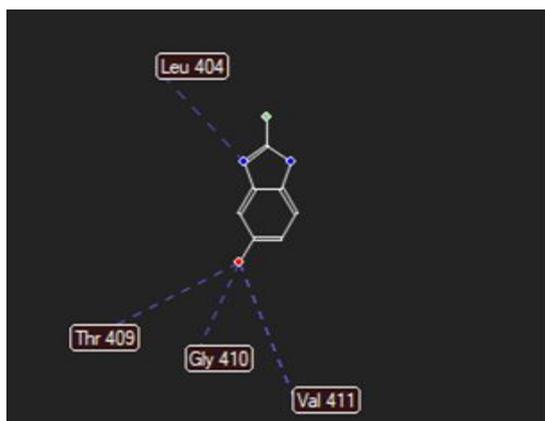


Molécule 7

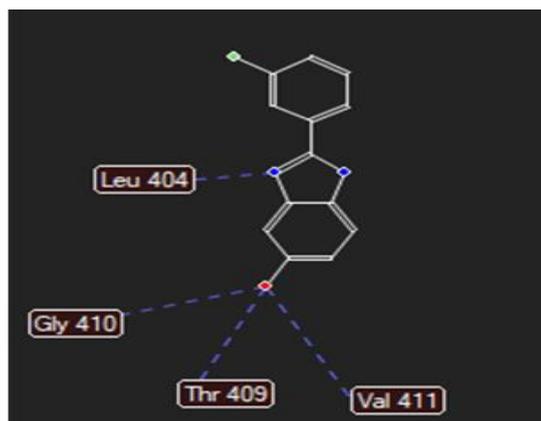


Molécule 2

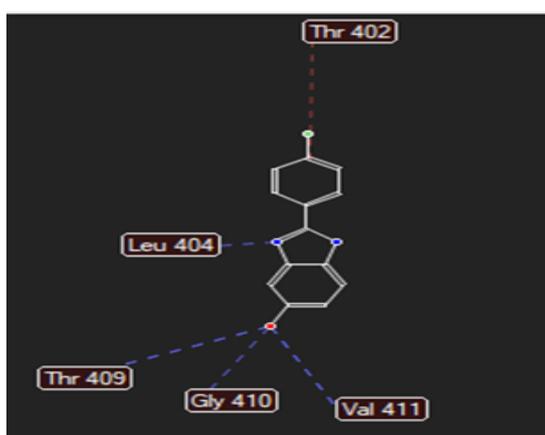
Figure 46 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le top 5 des meilleurs molécules de la série A.



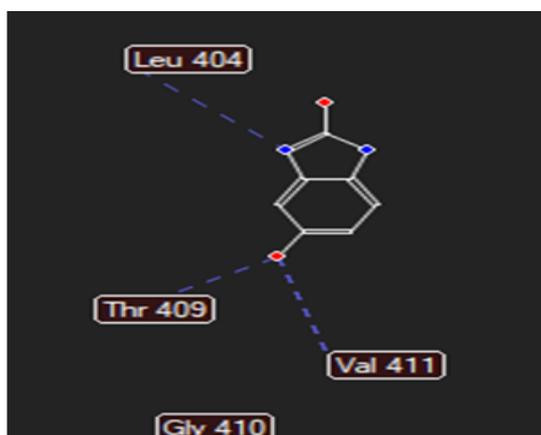
Molécule 1



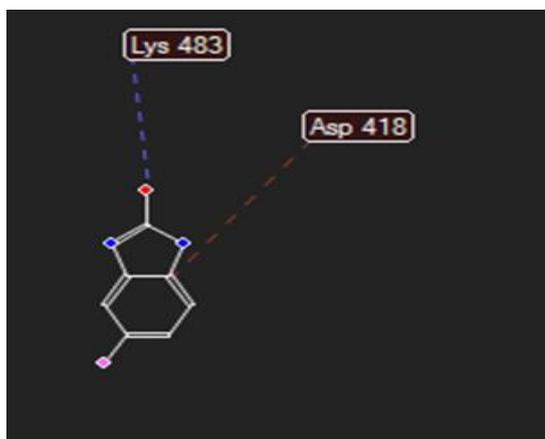
Molécule 3



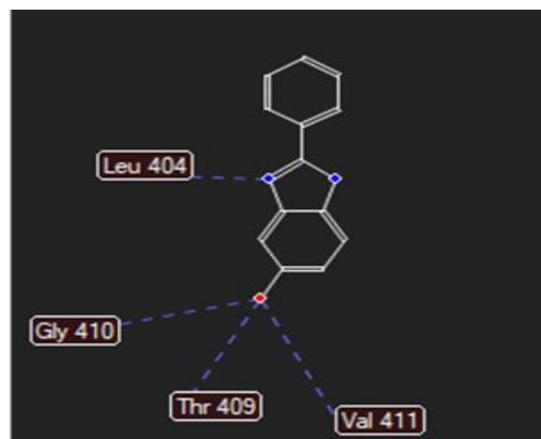
Molécule 4



Molécule 5



Molécule 6



Molécule 10

Figure 47 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour les molécules de la série A ayant obtenus une faible affinité pour la cible 1.

Les caractéristiques des liaisons formées entre le site d'édition de la cible1 et les ligands (top cinq) de la série A sont représentées dans le tableau XIV ci-après.

Tableau XIV : Caractéristiques des liaisons formées entre le site d'édition de la cible 1 et les ligands (top cinq) de la série A prédites par MVD.

Molécule	Liaisons	Les Résidus d'acides aminés	Distance (Å°)	Énergie
Molécule 11	Liaisons hydrogènes	Asp418---O ₁₈	3.03	-2.06
		Arg318---O ₁₈	3.24	-1.58
		Tyr487---N ₆	2.89	-0.83
	Interactions stériques	Ala315---O ₉	3.10	-1.54
		Pro420---C ₁₉	3.07	1.41
		Tyr280---C ₁	3.19	0.67
		Ala315---C ₅	3.13	1.01
		Ala315---O ₉	2.94	2.18
Molécule 8	Liaisons hydrogène	Asp418---O ₁₆	3.10	-1.62
		Arg318---O ₁₆	2.6	-1.79
		Thr413---O ₉	3.10	-2.3
		Ala315---O ₉	3.21	-1.97
		Asp418---C ₁₂	2.98	1.96
	Liaisons stériques	Lys483---C ₁₄	3.01	1.76
Molécule9	Liaisons hydrogène	Thr413---O ₁₆	2.74	-2.50
		Ala315---O ₁₆	2.95	-2.50
		Arg318---O ₉	3.10	-2.50
		Asp418---O ₉	3.03	-1.96
		Asp418---C ₀	3.11	-2.04
	Liaison stérique			1.18

Molécule7	Liaisons hydrogène	Ala315---O ₁₆	3.20	-1.42
		Tyr487---O ₉	2.91	-2.50
	Liaisons stériques	Gly410---C ₁₂	3.06	1.46
		Lys407---N ₆	3.10	1.20
		Lys407---C ₁₃	3.08	1.36
Molécule2	Liaisons hydrogène	Leu404---N ₈	3.31	-1.46
		Val411---O ₉	3.09	-1.37
		Thr409---O ₉	2.60	-1.44
		Gly410---O ₉	2.60	-0.99
	Liaison stériques	Thr402---C ₁₄	3.11	1.12

2.3.2 Résultats de la cible 2

Les résultats du docking concernant la cible 2 avec les ligands de la série B et la Naftifine obtenus avec MVD sont représentés dans le tableau XV suivant.

Tableau XV : Energies d'interaction MolDock score des meilleures poses prédites par MVD pour *Trichophyton rubrum*.

Ligand (pose)	MolDock Score(Kcal/mol)
Naftifine	-123.72
Molécule 1	-135.442
Molécule 2	-140.868
Molécule 3	-153.138
Molécule 4	-135.348
Molécule 5	-128.137
Molécule 6	-127.985
Molécule 7	-154.053
Molécule 8	-141.018
Molécule 9	-142.956
Molécule 10	-134.432

Tableau XVI : Energies d'interaction MolDock score des meilleures poses prédites par MVD pour *Trichophyton mentagrophytes*.

Ligand (pose)	MolDock Score(Kcal/mol)
Naftifine	-124.545
Molécule 1	-127.978
Molécule 2	-138.857
Molécule 3	-142.081
Molécule 4	-136.667
Molécule 5	-135.745
Molécule 6	-136.028
Molécule 7	-144.846
Molécule 8	-153.850
Molécule 9	-142.942
Molécule 10	-132.295

Les figures ci-après représentent les interactions hydrogènes (en bleu) et les interactions stériques (en rouge) de la naftifine et des molécules de la série B avec la cible 2.

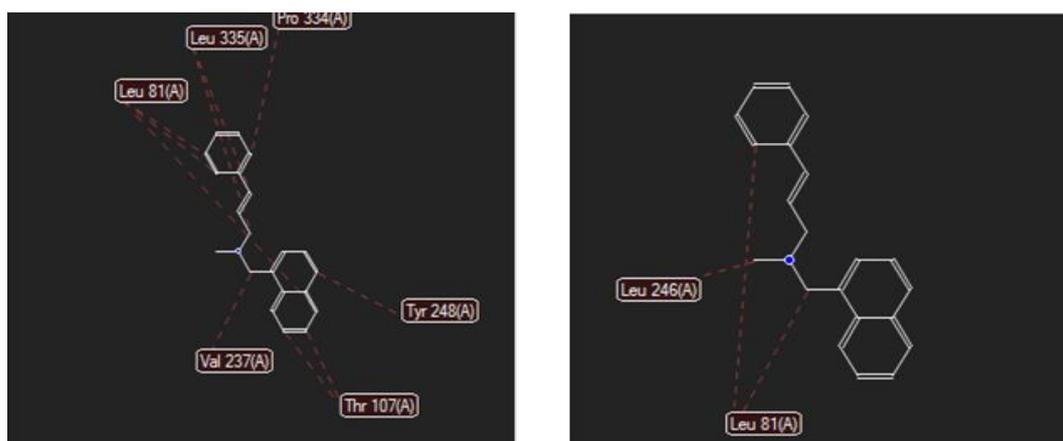
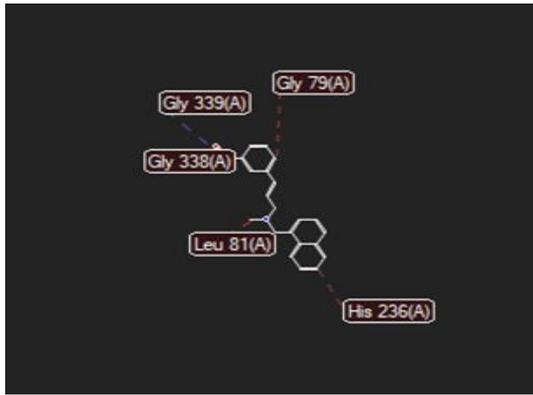


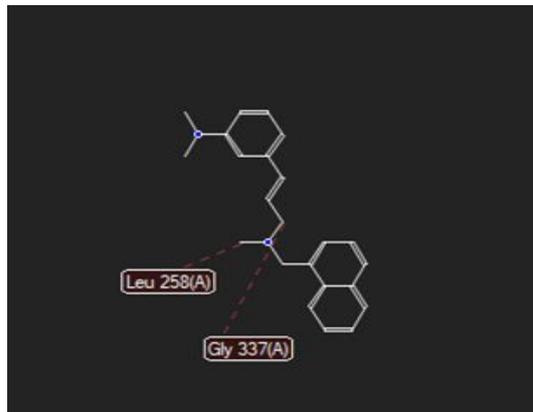
Figure 48 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour la naftifine (ligand de référence) avec *T. rubrum* (à gauche) *T. mentagrophytes* (à droite).



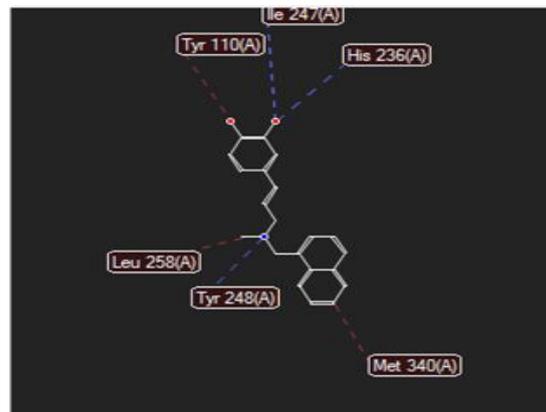
Molécule 7



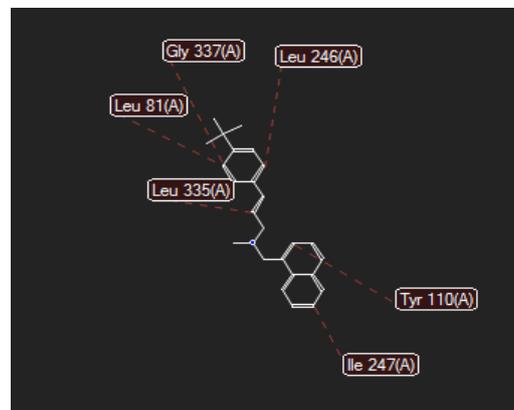
Molécule 8



Molécule 9

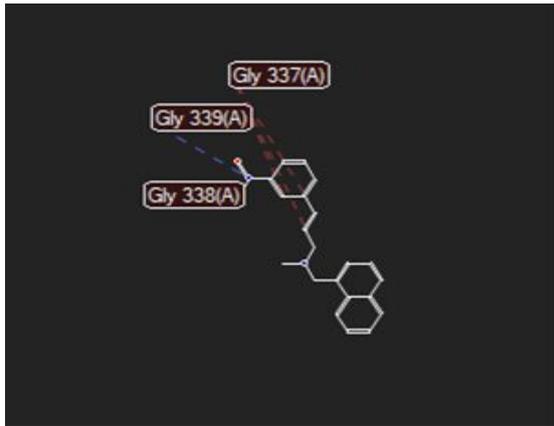


Molécule 2

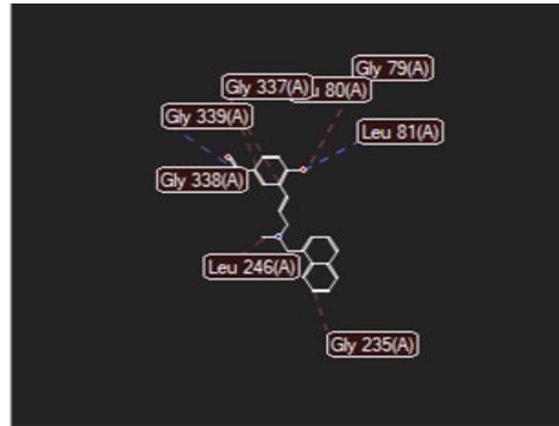


Molécule 3

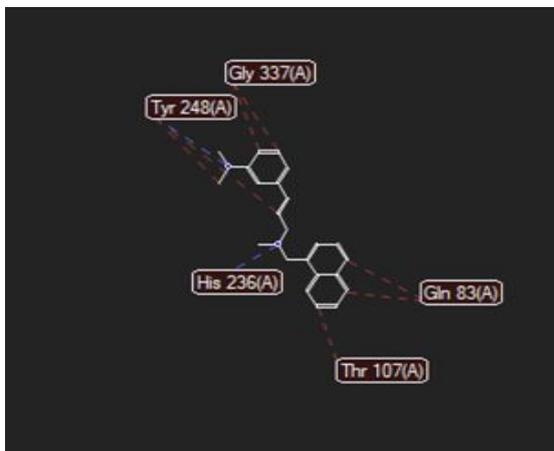
Figure 49 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le top 5 des meilleurs molécules de la série B avec *T. rubrum*.



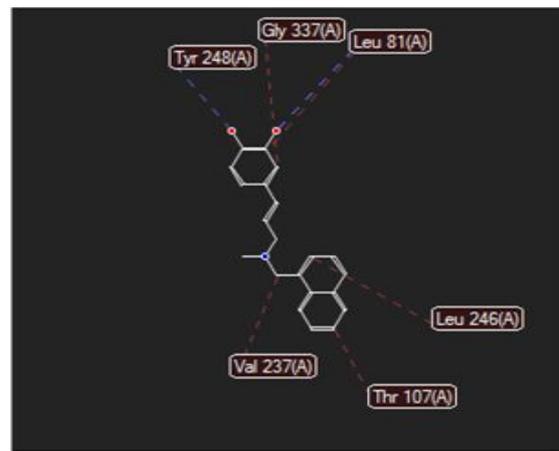
Molécule 7



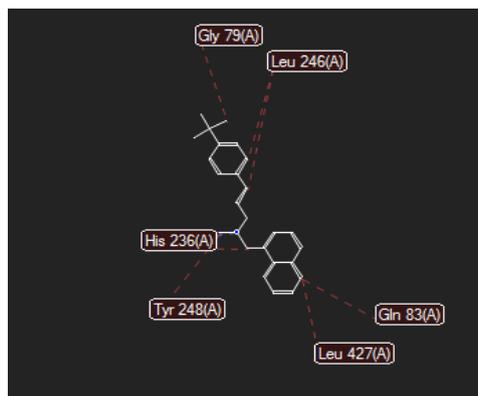
Molécule 8



Molécule 9

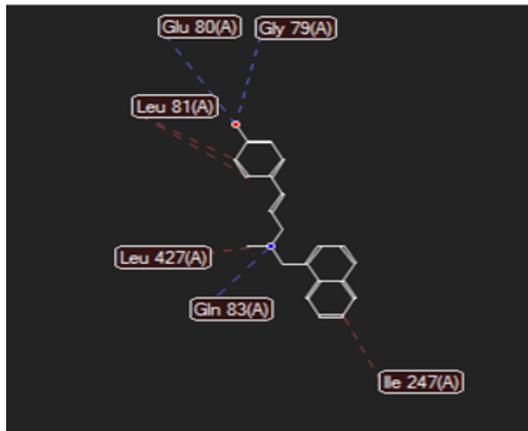


Molécule 2

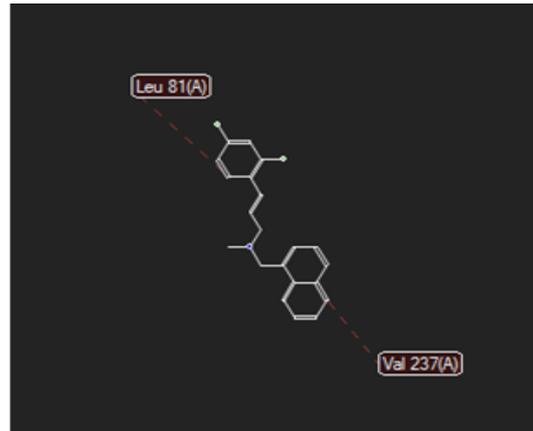


Molécule 3

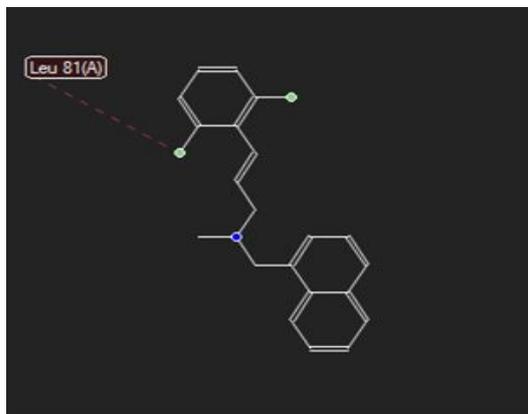
Figure 50 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour le top 5 des meilleurs molécules de la série B avec *T. mentagrophytes*.



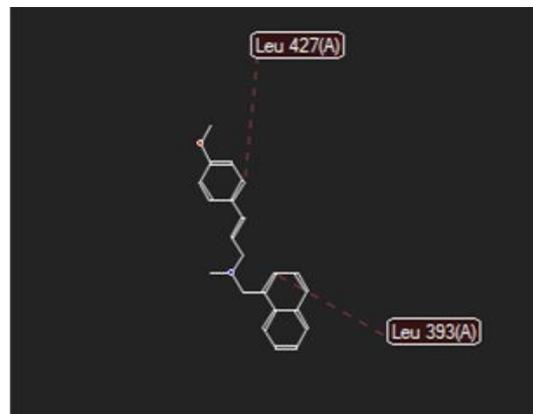
Molécule 1



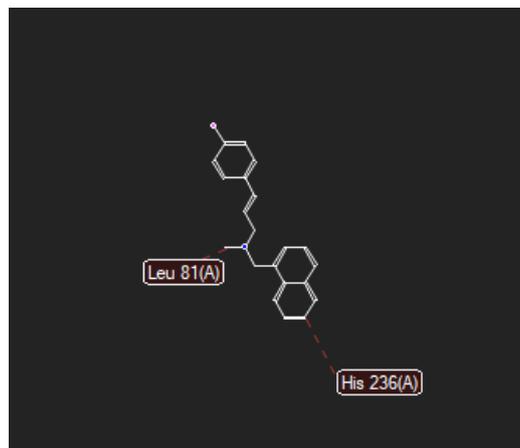
Molécule 4



Molécule 5

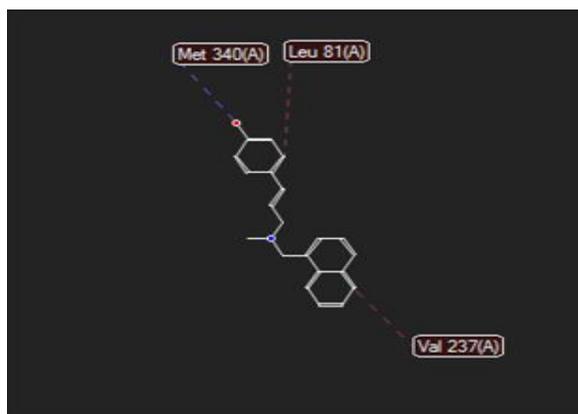


Molécule 6

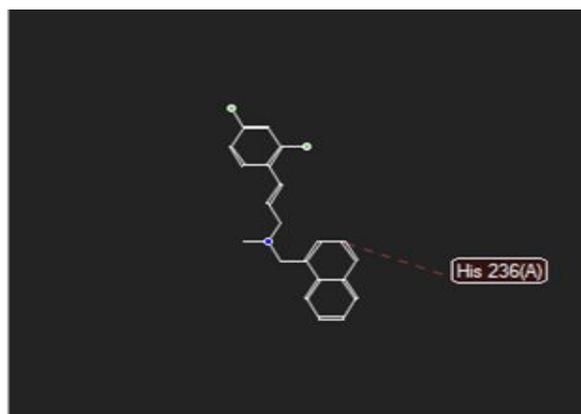


Molécule 10

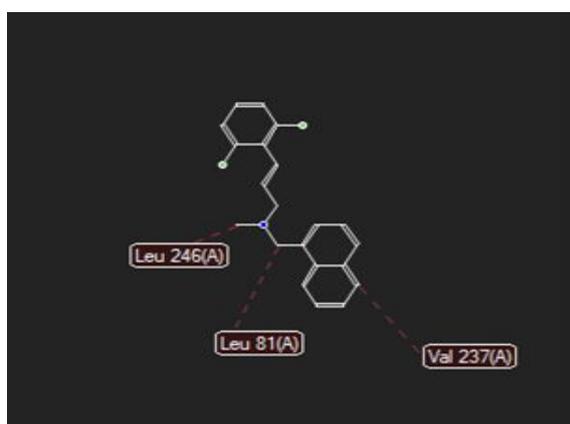
Figure 51 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour les molécules de la série A ayant obtenus une faible affinité pour la cible 2 chez *T. rubrum*.



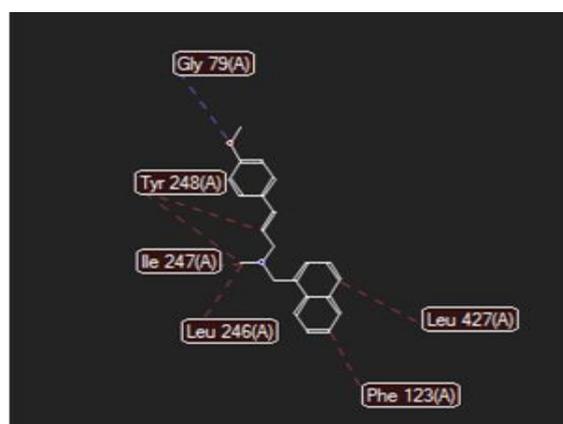
Molécule 1



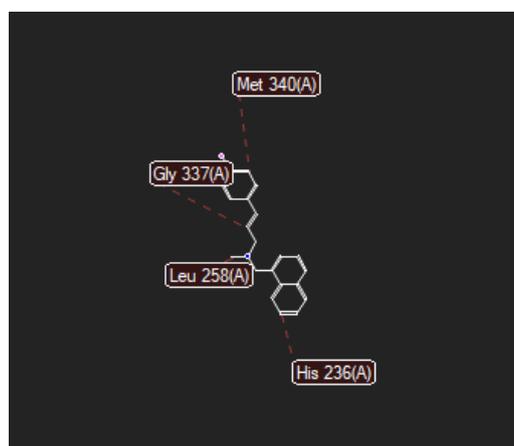
Molécule 4



Molécule 5



Molécule 6



Molécule 10

Figure 52 : Liaisons hydrogènes et interactions stériques prédites par MVD pour les molécules de la série A ayant obtenu une faible affinité pour la cible 2 chez *T. mentagrophytes*.

Les caractéristiques des liaisons formées entre le site actif de la cible 1 et les ligands (top cinq) de la série B sont représentées dans les tableaux XVII et XVIII ci-après.

Tableau XVII : Caractéristiques des liaisons formées entre le site actif de la cible 2 (*Trichophyton rubrum*) et les ligands (top cinq) de la série B prédites par MVD.

Molécule	Liaisons	Résidus d'acides aminés	Distance (Å°)	Énergie
Molécule 7	Liaisons hydrogène	Gly338---N ₂₂	3.31	-1.18
		Gly339---O ₂₄	3.10	-1.27
	Interactions stériques	Gly79---C ₁₆	3.12	1.08
		His236---C ₁	2.85	2.74
		Leu81---O ₂₁	3.07	1.39
Molécule 8	Liaisons hydrogène	Tyr110---N ₂₂	3.02	-1.62
		Tyr110---O ₂₃	2.61	-2.36
	Interactions stériques	Leu335---C ₁₂	2.67	3.79
		Thr336---C ₁₂	3.16	0.82
		Ile247---C ₁	3.07	1.39
		Gly235---C ₂	3.04	1.59
Molécule 9	Interactions stérique	Leu258---C ₂₁	3.02	1.70
		Gly337---N ₁₁	3.00	1.79
Molécule 2	Liaisons hydrogène	His236--- O ₂₂	2.98	-2.19
		Ile247--- O ₂₂	3.23	-1.15
		Tyr248---N ₁₁	3.08	-2.50
	Interactions stériques	Tyr110--- O ₂₃	3.04	1.56
		Met340--- C ₁	3.24	0.95
		Leu258--- C ₂₁	2.60	4.24

Molécule 3	Interactions stérique	Leu247---C ₁	3.18	0.75
		Tyr110---C ₈	3.01	1.79
		Leu335---C ₁₃	2.82	2.92
		Leu81---C ₁₉	3.18	0.73
		Gly337---C ₁₉	3.19	0.68
		Leu246---C ₁₆	3.03	1.66

Tableau XVIII : Caractéristiques des liaisons formées entre le site actif de la cible 2 (*Trichophyton mentagrophytes*) et les ligands (top cinq) de la série B obtenues par MVD.

Molécule	Liaisons	Résidus d'acides aminés	Distance (Å)	Énergie	
Molécule 7	Liaisons hydrogène	Gly338--- N ₂₂	3.10	-1.87	
		Gly339--- O ₂₄	3.09	-1.25	
	Interactions stériques	Gly337--- C ₁₄	3.07	1.41	
		Gly337--- C ₁₃	3.19	0.67	
		Gly337--- C ₁₉	3.10	1.23	
Molécule 8	Liaisons hydrogène	Gly339--- N ₂₂	3.23	-1.73	
		Gly338--- O ₂₄	2.87	-1.15	
		Leu81--- O ₂₅	2.60	-2.50	
	Interactions stérique	Gly337--- C ₁₉	2.89	2.49	
		Gly337--- C ₁₅	3.04	1.59	
		Glu80--- O ₂₅	3.17	0.82	
		Gly235--- C ₀	3.04	1.60	
		Leu246--- C ₂₁	2.60	4.22	
Molécule 9	Liaisons hydrogène	Tyr248---N ₂₂	3.27	-1.64	
		His236---N ₁₁	2.92	-1.28	
	Interaction stérique			3.00	1.81
		Tyr248---C ₁₃	2.55	4.52	
		Tyr248---C ₂₄	3.07	1.37	
		Gly337---C ₁₈	2.78	3.18	
		Gly337---C ₁₇	2.87	2.58	
		Gln83---C ₆	3.09	1.25	
		Gln83---C ₂	2.68	3.77	
		Thr107---C ₀			

Molécule 2	Liaison hydrogène	Tyr248--- O ₂₃	2.6	-2.50
		Leu81--- O ₂₂	3.22	-1.24
	Interaction stérique	Leu81---C ₁₇	3.16	0.84
		Gly337--- C ₁₆	2.76	3.26
		Leu246--- C ₈	3.10	1.22
		Thy107--- C ₁	2.88	2.56
		Val237---C ₁₀	2.98	1.92
Molécule 3	Interaction stérique	Leu47---C ₁	3.08	1.31
		Gln83---C ₂	2.75	3.33
		His236---C ₁₀	3.12	1.11
		Leu246---C ₁₄	3.17	0.77
		Leu246---C ₁₆	2.87	2.63
		Gly79---C ₂₃	3.10	1.23

2.4 Résultats de la prédiction ADMET

2.4.1 Propriétés physico-chimiques

Les résultats des propriétés physico-chimiques des composés appartenant au top 5 de la série A et B, ainsi que leurs radars de biodisponibilité obtenus avec le serveur SwissADME sont rapportés dans les tableaux (XIX et XX) et figures (42 et 43) ci-dessous.

Tableau XIX : Propriétés physico-chimiques des tops 5 des ligands de la série A prédites par le serveur SwissADME.

Molécule		11	8	9	7	2
Propriété						
PM (g/mol)		281.12	226.23	226.23	226.23	244.68
Hbond A		4	3	3	3	2
H bond D		4	3	3	3	2
R bonds		4	1	1	1	1
Log P	iLOGP	0	1.23	1.13	1.60	1.63
	XPLOGP3	1.70	2.53	2.53	2.44	3.42
Log S(ESOL)		-2.92 S	-3.42 S	-3.42 S	-3.37 S	-4.10 MS
TPSA (Å²)		95.16	69.14	69.14	69.14	48.91
Fraction Csp3		0.13	0	0	0	0
Lipinski		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Veber		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
AS		2.57	1.81	1.79	1.85	1.86

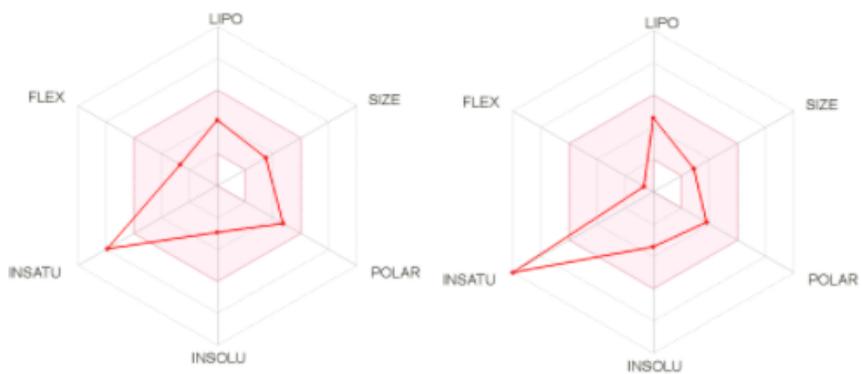
H bond A : Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène.

H bond D : Nombre de donneurs de liaisons hydrogène.

R bonds : Nombre de liaisons rotatives.

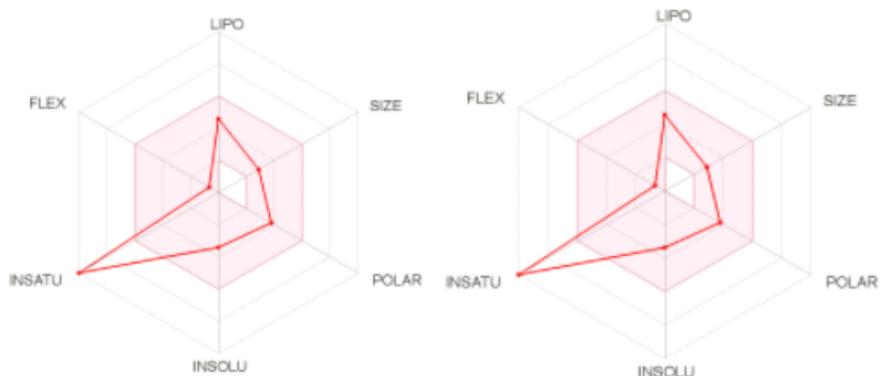
AS : Accessibilité de synthèse : de 1 (très facile) à 10 (très difficile).

MS : Modérément soluble / **S** : Soluble



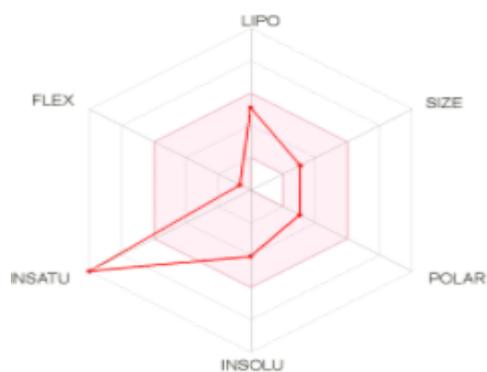
Molécule 11

Molécule 8



Molécule 9

Molécule 7



Molécule 2

Figure 53 : Radars de biodisponibilités des tops 5 des ligands de la série A prédits par le serveur SwissADME.

Tableau XX : Propriétés physico-chimiques des tops 5 des ligands de la série B prédites par le serveur SwissADME.

Molécule		2	3	7	8	9
Propriété						
PM (g/mol)		319.40	345.50	332.40	348.40	330.47
H bond A		3	1	3	4	1
H bond D		2	0	0	1	0
R bonds		5	6	6	6	6
Log P	iLOGP	3.10	4.40	3.33	3.08	3.78
	XPLOGP3	4.43	6.82	4.97	4.62	5.27
Log S(ESOL)		-4.77 MS	-6.33 FS	-5.11 MS	-4.97 MS	-5.29 MS
TPSA (Å²)		43.70	3.24	49.06	69.29	6.48
Fraction Csp3		0.14	0.28	0.14	0.14	0.22
Lipinski		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Veber		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
AS		2.60	2.86	2.91	2.97	2.74

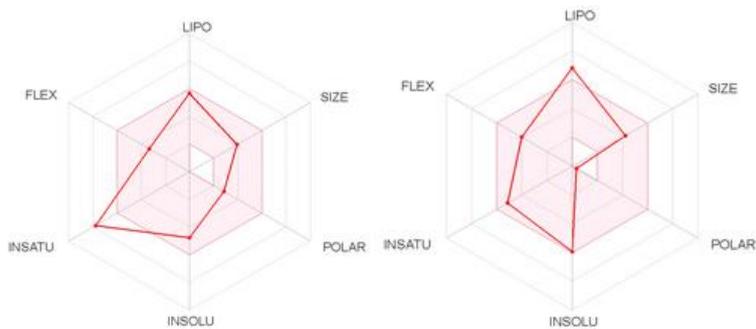
H bond A : Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène.

H bond D: Nombre de donneurs de liaisons hydrogène.

R bonds : Nombre de liaisons rotatives.

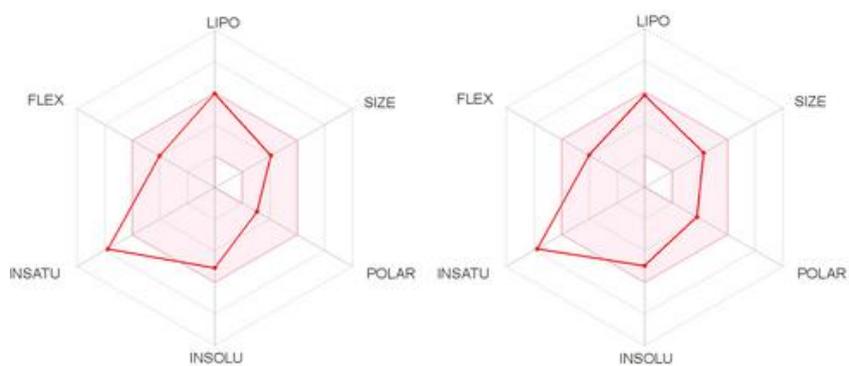
AS : Accessibilité de synthèse : de 1 (très facile) à 10 (très difficile).

MS : Modérément soluble / **S** : Soluble / **FS** : Faiblement soluble.



Molécule 2

Molécule 3



Molécule 7

Molécule 8



Molécule 9

Figure 54 : Radars de biodisponibilités des tops 5 des ligands de la série B prédits par le serveur SwissADME.

2.4.2 Propriétés pharmacocinétiques

Les résultats des propriétés pharmacocinétiques des composés appartenant au top 5 de la série A et B obtenus avec le serveur SwissADME sont rapportés dans les tableaux (XXI et XXII) ci-dessous.

Tableau XXI : Propriétés pharmacocinétiques des ligands (top cinq) de la série A prédites par le serveur SwissADME.

Molécule \ Propriété	11	8	9	7	2
Absorption GI	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée
Perméabilité BBB	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
Substrat de g-gp	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP1A2inhibition	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP2C19inhibition	Non	Non	Non	Non	Oui
CYP 2C9 inhibition	Non	Non	Non	Non	Non
CYP2D6inhibition	Oui	Oui	Oui	Oui	Non
CYP3A4inhibition	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
Log kp (perméabilité cutanée : cm/s)	-6.81	-5.88	-5.88	-5.95	-5.36

Tableau XXII : Propriétés pharmacocinétiques des ligands (top cinq) de la série B prédites par le serveur SwissADME.

Molécule \ Propriété	2	3	7	8	9
Absorption GI	Elevée	Faible	Elevée	Elevée	Elevée
Perméabilité BBB	Oui	Non	Oui	Oui	Oui
Substrat de g-gp	Non	Oui	Non	Non	Non
CYP 1 A2 inhibition	Oui	Non	Oui	Oui	Oui
CYP 2C19 inhibition	Oui	Non	Oui	Oui	Oui
CYP 2C9 inhibition	Oui	Non	Oui	Oui	Oui
CYP2D6 inhibition	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
CYP3A4 inhibition	Oui	Non	Non	Oui	Oui
Log kp (perméabilité cutanée : cm/s)	-5.10	-3.55	-4.80	-5.15	-4.57

2.4.3 Profil toxicologique

Le profil de la toxicité de nos composés prédit par le serveur admetSAR est présenté dans les tableaux XXIII et XXIV ci-après.

Tableau XXIII : Profil de toxicité des ligands (top cinq) de la série A prédit par le serveur admetSAR.

Molécule / Propriété	11	8	9	7	2
Inhibition de HERG1	Inhibiteur faible				
Inhibition de HERG2	Inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
Test d'Ames	Non toxique	Toxique	Toxique	Toxique	Toxique
Toxicité orale aiguë	III	III	III	III	II
Cancérogénicité	Non requis				
Toxicité aiguë chez le rat LD50 (mol/kg)	2.4312	2.1561	2.1561	2.5326	2.5483

Tableau XXIV : Profil de toxicité des ligands (top cinq) de la série B prédit par le serveur admetSAR.

Molécule / Propriété	2	3	7	8	9
Inhibition de HERG1	Inhibiteur Faible	Inhibiteur faible	Inhibiteur fort	Inhibiteur fort	Inhibiteur Faible
Inhibition de HERG2	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur	Non inhibiteur
Test d'AMES	Toxique	Non toxique	Toxique	Toxique	Toxique
Toxicité orale aiguë	III	III	III	III	III
Cancérogénicité	Non requis	Non requis	Danger	Non requis	Non requis
Toxicité aiguë chez le rat LD50 (mol/kg)	2.5915	2.1405	2.4467	2.6084	2.5402

3 Discussion

3.1 Discussion des résultats du docking moléculaire

3.1.1 Dérivés de 1-H-benzimidazole-2,5-disubstitués (Série A)

Dans cette première partie, nous discutons les résultats du docking moléculaire semi flexible, obtenus avec le logiciel MVD, pour les onze ligands inspirés du tavorole.

D'après le tableau XIII, la meilleure pose générée du tavorole a montré une énergie équivalente à -79,07Kcal/mol, une énergie qui a été améliorée avec toutes les molécules de cette série, ce qui montre qu'elles sont susceptibles de former de complexes assez stables avec la cible 1 « leucyl ARNt synthétase » notamment les molécules 11, 8, 9, 7 et 2 (les 5tops) qui présentent les énergies suivantes respectivement :

-133.98, -108.81, -106.82, -106.55 et -106.07 Kcal/mol.

Sachant qu'une faible énergie de liaison reflète la stabilité du complexe formé, ces résultats témoignent la bonne simulation des conditions réelles du processus thérapeutique.

Quant au type de liaisons qui ont eu lieu entre le site d'édition de la cible 1 « leucyl ARNt synthétase » et le tavorole indiquées dans la figure 45, nous constatons la formation de deux liaisons hydrogène avec les résidus Thr321 et Thr316 du site d'édition et une liaison stérique avec Asp418 de la cible.

Puis on inspectant les différentes liaisons des molécules de cette série données dans les figures 44 et 47, nous constatons que MVD a prédit quatre liaisons hydrogène pour les molécules suivantes :

- 1, 2, 3, 4, 10 (dont une seule avec le résidu Leu404 du site d'édition) ;
- 8 et 9 dont trois avec les résidus Thr413, Arg318, Asp418 du site d'édition ;
- 11 dont deux avec les résidus Arg318, Asp418 du site d'édition.

Le MVD a prédit également trois liaisons hydrogène pour la molécule 5 dont une seule avec le résidu Leu404 du site d'édition. Cependant, les molécules 6 et 7 n'ont montré in silico qu'une liaison hydrogène pour la première et deux liaisons hydrogène pour la deuxième.

Une seule liaison stérique a été prédite pour les molécules 2 et 4 avec les résidus Thr402, pour les molécules 6, 8 et 9 avec le résidu Asp418, et enfin pour la molécule 7 avec le résidu Lys407.

Nous constatons que les molécules substituées par un hydroxyle en position 5 et un des groupements fonctionnels suivant en position 2 : 3-((2-aminoéthyl) (hydroxy) borane-yl)-phényle, phénol (OH en méta), phénol (OH en para), phénol (OH en ortho) et chlorobenzène (Cl en ortho) ont donné les meilleurs résultats in silico.

En comparaison avec le tavorole, les molécules 8 et 9 ont une énergie de liaison plus faible et forment plus de liaisons hydrogène avec le site d'édition de la cible. La molécule 11 qui présente l'énergie la plus favorable forme plutôt le même nombre de liaisons hydrogène que le tavorole et aucune liaison stérique avec le site d'édition.

D'après Imberty, les interactions peuvent être classées selon la distance entre les résidus de la cible et le groupement fonctionnel du ligand formant cette liaison. Celles comprises entre 2.5\AA et 3.1\AA sont des interactions fortes, entre 3.1\AA et 3.55\AA sont des interactions moyennes par contre si la distance dépasse 3.55\AA l'interaction est faible [113].

Le tableau XIV montre que les distances obtenues entre les résidus du site d'édition de la cible 1 « leucyl-ARNt synthétase » et les groupements fonctionnels des cinq premières molécules sont comprises entre 2.6\AA et 3.31\AA , donc nous pouvons constater que nous avons deux types de liaisons moyennes et fortes.

3.1.2 Dérivés de N-méthyl-N-(1-naphtylméthyl)-3-phenyl prop-2en-1-amine substitués sur le phényle (Série B)

Le docking moléculaire réalisé par le MVD pour les ligands de la série B avec la cible 2 « squalène époxydase » a prédit une nette amélioration de l'affinité des ligands proposés par rapport au ligand de départ qui est la naftifine. Car d'après les tableaux XV et XVI, les énergies obtenues avec les ligands 7, 3, 9, 8, 2, 1, 4, 10, 5 et 6 sont : -154.053, -153.138, -142.956, -141.018, -140.868, 135.442, -135.348, -134.432, -128.137 et -127.985 Kcal/mol respectivement avec l'espèce *Trichophyton rubrum*, et qui sont inférieures à celle obtenue avec la naftifine : -123.720. Nous avons aussi obtenu des énergies égales à : -153.850, -144.846, -142.942, -142.081, -138.857, -136.667, -136.028, -135.745, -132.295 et -127.978 Kcal/mol avec les composés 8,7,9,3,2,4,6,5,10 et 1 respectivement pour l'espèce *Trichophyton mentagrophytes*, ces valeurs sont nettement inférieures à celle de la naftifine qui est de -124.545 Kcal/mol.

Ces résultats nous amènent à un classement des ligands en prenant en considération les énergies du docking obtenues avec les deux espèces, notamment les cinq premiers ligands qui sont les molécules 2, 3, 7, 8 et 9. Ce Top 5 est obtenu suite à des interactions de la cible 2 « squalène époxydase » avec les groupements fonctionnels suivants : hydroxyle, tertio butyle, nitro et N, N-diméthylamine, par contre les autres composés substitués par le chlore, méthoxy et le fluor ont montré, *in silico*, une faible affinité pour la cible comparées aux cinq premiers composés. Ceci est en concordance avec les études de la relation structure activité (SAR), réalisée par Anton S et al, obtenues par une étude *in vitro* de l'activité anti mycosique qui a montré une activité relativement similaire ou inférieure à celle de la naftifine avec ces groupements [114].

En inspectant les différentes interactions prédites par notre protocole de docking, nous constatons selon la figure 48 que la naftifine forme uniquement des liaisons stériques avec les résidus de la cible des deux espèces (Leu81, Leu335, Pro334, Val237, Thr107, Tyr248 pour *Trichophyton rubrum* et Leu246, Leu81 pour *Trichophyton mentagrophytes*).

Quant aux molécules proposées dans notre étude, en plus des interactions stériques avec les différents résidus de la cible, nous avons obtenu des liaisons hydrogènes (précisées dans les figures 49, 50, 51 et 52). La molécule 2 a montré trois liaisons hydrogènes avec la cible 2 « squalène époxydase » de *Trichophyton rubrum*: deux entre l'hydroxyle des ligands et les résidus Ile247 et His236 de la cible, et une troisième entre l'amine tertiaire du ligand et Tyr248 de l'enzyme pour *Trichophyton mentagrophytes*, les molécules ont donné deux liaisons hydrogènes formées entre l'hydroxyle du ligand et les résidus Tyr248 et Leu81 de la cible. La molécule 3 n'a formé aucune liaison hydrogène mais seulement des liaisons stériques. Le groupement nitro de la molécule 7 a permis de former deux liaisons hydrogènes entre l'azote et l'oxygène de ce groupement avec les résidus Gly338 et Gly339 des deux espèces. Les mêmes liaisons ont été obtenues entre la molécule 8 et « squalène époxydase » pour l'espèce *Trichophyton rubrum* ; et avec *Trichophyton mentagrophytes*, nous avons obtenu une liaison de plus qui se forme entre le groupement hydroxyle du ligand et Leu81 de la cible. Enfin la molécule 9 n'a établi des liaisons hydrogènes qu'avec l'espèce *Trichophyton mentagrophytes* qui se forment entre deux azotes des amines tertiaires (N, N-diméthylamine et celui du squelette de base) avec les résidus Tyr248 et His236 de l'enzyme.

Ainsi d'après l'analyse de toutes ces interactions avec la cible, nous avons remarqué que la plupart des molécules ont établi des interactions avec les résidus Leu246 et Leu81 situés au niveau du site actif.

À partir des tableaux XVII et XVIII, nous pouvons constater que les distances que nous avons obtenues entre les résidus du site actif de la cible 2 et les groupements fonctionnels des molécules étudiées sont comprises entre 2.55Å et 3.27Å, donc nous avons deux types de liaisons moyennes et fortes [113].

3.2 Etude in silico ADMET des Top 5 (cinq premiers ligands)

3.2.1 Dérivés de 1-H-benzimidazole-2,5-disubstitués (Série A)

3.2.1.1 Propriétés physico-chimiques

D'après les données obtenues dans le tableau XIX à partir du serveur SwissADME toutes les molécules sont soumises aux règles de Lipinski et de Veber reflétant une prédiction d'une bonne absorption par voie orale.

En inspectant les radars de biodisponibilité orale représentés dans la figure 53, nous constatons que le poids moléculaire est inférieur au seuil (500g/mol), l'ensemble des fractions Csp3 qui est inférieur à 0.25 illustre la saturation de ces molécules. Toutes ces molécules sont polaires avec des TPSA comprises entre 20 et 130Å² et le nombre de liaisons rotatives est inférieur à neuf indiquant une bonne flexibilité des molécules. Elles sont toutes hydrosolubles à l'exception de la 2^{ème} molécule qui l'est modérément. Les XLOGP3 sont inférieurs à 5 témoignant de la lipophilie de ces molécules. Nous remarquons que dans l'ensemble, la ligne rouge des Top 5 de cette série est incluse dans la zone rose des radars de biodisponibilité de la figure 53, avec une légère déviation due aux fractions csp3 sous optimisées et qui peut être expliquée par l'architecture simple de ces ligands.

Quant à l'accessibilité de synthèse indiquée par le même serveur (valeurs comprises entre 1.79 et 2.57), nous pouvons dire qu'elle est bonne pour toutes ces molécules [106].

3.2.1.2 Propriétés pharmacocinétiques

D'après le tableau XXI l'absorption gastro-intestinale est élevée avec les cinq molécules qui pénètrent également la BHE à l'exception de la molécule 11 pour laquelle le SNC est donc protégé de tout effet néfaste qu'elle pourrait provoquer.

Elles sont prédites comme étant des substrats de la p-glycoprotéine et inhibiteurs des cytochromes CYP1A2, CYP3A4 (à l'exception de la molécule 11) et le CYP2D6 (mais à part la 2^{ème} molécule), la molécule 2 est la seule qui inhibe les isoformes CYP 2C9 et CYP2C19 ; ces résultats prédisent des interactions médicamenteuses probables à ces niveaux (CYP1A2, CYP3A4, CYP2D6, CYP 2C9 et CYP2C19).

Les valeurs négatives élevées de log K_p indiquent une bonne perméabilité cutanée (par exemple le diclofenac qui est un anti-inflammatoire topique possède un log K_p = - 4.96), ce qui est valable pour nos ligands [106].

3.2.1.3 Profil toxicologique

Selon le tableau XXIII, les cinq molécules inhibent faiblement le HERG1. Cependant, le HERG2 n'est inhibé que par la 11^{ème} molécule (cardiotoxique). Elles ne sont pas cancérogènes car elles sont affectées par la mention « non-requis », mais le test d'AMES n'est négatif qu'avec la 11^{ème} molécule, c'est-à-dire elle n'est pas mutagène.

Quant à la toxicité orale aiguë, les molécules 11, 8, 9 et 7 appartiennent à la Catégorie III, avec $500 > LD50 \leq 5000$ mg/kg. Cependant, la molécule 2 fait partie de la catégorie II avec : $50 > LD50 \leq 500$ mg/kg [108].

Enfin, concernant la toxicité aiguë chez le rat, la LD50 de la molécule 2 est supérieure à celle des molécules 7, 11, 9, 8. Les molécules 8 et 9 ont la LD50 la plus faible, elles sont donc les plus toxiques. Nous donnons l'ordre décroissant de toxicité selon la LD50 des 5 tops ligands comme suit $8 > 9 > 11 > 7 > 2$.

3.2.2 Dérivés de la série N-méthyl-N-(1-naphtylméthyl)-3-phenyl prop-2en-1-amine substitués sur le phényle (Série B)

3.2.2.1 Propriétés physico-chimiques

D'après les données du tableau XX obtenues à partir du serveur SwissADME, toutes les molécules sont en accord avec les règles de Lipinski et de Veber reflétant une bonne absorption par voie orale.

En inspectant les radars de biodisponibilité orale représentés dans la figure 54, nous constatons que le poids moléculaire est inférieur au seuil (500g/mol), l'insaturation donnée par les fractions

Csp3 est inférieure à 0.25 sauf pour la molécule 3, et qui peut être expliqué par la structure chimique simple de nos molécules. Toutes ces molécules sont polaires avec des TPSA comprises entre 20 et 130 Å² mise à part les molécules 3 et 9 ayant un TPSA < 20 Å² et le nombre de liaisons rotatives est inférieur à neuf indiquant une bonne flexibilité des molécules. Elles sont toutes modérément hydrosolubles à l'exception de la 3^{ème} molécule qui l'est faiblement. Les XLOGP3 sont inférieurs à 5 témoignant de la lipophilie de nos molécules sauf pour les molécules 3 et 9, ce qui constitue une violation de la règle de Lipinski mais qui est acceptable (pas plus d'une violation) [106]. Ainsi, cela se traduit dans le radar de biodisponibilité par le fait que, dans l'ensemble, la ligne rouge des Top 5 de cette série est incluse dans la zone rose avec une légère déviation due aux propriétés sous-optimales de certaines molécules (Csp3, XLOGP3, TPSA).

Quant à l'accessibilité de synthèse indiquée par le même serveur (valeurs comprises entre 2.60 et 2.91), nous pouvons dire qu'elle est bonne pour toutes ces molécules [106].

3.2.2.2 Propriétés pharmacocinétiques

Selon le tableau XXII, les molécules 2, 7, 8 et 9 ont une absorption gastro-intestinale élevée avec un passage à travers la BHE et ne sont pas des substrats de p-glycoprotéine. A l'opposé de la molécule 3 qui a une faible absorption gastro-intestinale ainsi qu'un non passage à travers la BHE et elle est substrat de la p-glycoprotéine, ceci peut être expliqué par ses propriétés physicochimiques sous-optimales pour le passage à travers les membranes cellulaires (très lipophile).

L'étude in silico ADME a prédit une inhibition des cytochromes CYP1A2, CYP2C19 CYP2C9 par toutes les molécules sauf la molécule 3, et une inhibition du CYP 2D9 par toutes les molécules. Quant au CYP3A4, il est inhibé seulement par les molécules 3 et 7.

D'après les valeurs de log Kp, nous pouvons dire que nos ligands ont une bonne perméabilité cutanée surtout pour la molécule 3 qui présente la valeur de log Kp la plus élevée (-3.55).

3.2.2.3 Profil toxicologique

En analysant les données du tableau XXIV, nous constatons que le HEGR 1 est faiblement inhibé par les molécules 2, 3 et 9, mais fortement inhibé par les molécules 7 et 8. Par contre

HEGR 2 n'est inhibé par aucune molécule, ce qui témoigne d'une faible cardiotoxicité de nos molécules.

Le test d'AMES a donné un résultat positif de mutagénicité avec toutes les molécules sauf la 3^{ème}. En outre nos molécules ne sont pas cancérigènes car elles sont affectées par la mention « non requis » sauf la molécule 7 qui est potentiellement cancérigène dite « danger ».

Les données de la toxicité orale aiguë a permis de classer les composés dans la catégorie III dont le LD50 est compris entre $500 > LD50 \leq 5000$ mg/kg. Par ailleurs, la toxicité aiguë chez le rat, in silico, a donné des résultats de LD50 qui permet de classer les molécules selon leur toxicité croissante comme suit : $8 < 2 < 9 < 7 < 3$.

Enfin, d'après les résultats du docking moléculaire et de l'ADMET in silico, nous proposons les molécules suivantes : 8 de la série A et les molécule 3 la série B, afin de proposer un procédé d'obtention pour les synthétiser au niveau du laboratoire de chimie thérapeutique, ensuite passer à l'étude de l'activité antifongique in vitro afin de confirmer nos résultats obtenus in silico.

Conclusion

Dans le cadre de notre étude, l'objectif principal était de proposer de nouvelles molécules pouvant être testées *in vitro* vis-à-vis des souches incriminées dans les onychomycoses. Pour cela, nous avons opté pour les deux séries A et B dont les ligands sont inspirés du tavaborole et de la naftifine respectivement. Les cibles probables sont la leucyl-ARNt synthétase pour la série A et la squalène époxydase pour la série B.

Initialement, nous avons effectué pour les ligands des deux séries une simulation de docking moléculaire par MVD afin de visualiser la position et l'orientation la plus favorable pour les ligands venant en interaction avec nos deux protéines cibles et ainsi prédire l'énergie et l'affinité des complexes formés. De ce fait, l'énergie de liaison avec la valeur la plus faible correspond au complexe le plus stable. Dans ce contexte, parmi le top5 (molécules : 11, 8, 9, 7 et 2) des meilleurs ligands ayant montré, *in silico*, une meilleure affinité de la série A, la molécule 11 présente la valeur d'énergie la plus faible, cela veut dire qu'elle se lie spontanément au niveau du site d'édition de la leucyl-ARNt synthétase et c'est lié à la présence du groupement 3-((2-aminoéthyl)(hydroxy)borane-yl)-phényle en position 2 de l'imidazole. Les ligands de la série B ont montré, *in silico*, une meilleure affinité pour la cible comparée à celle du ligand de référence (naftifine) notamment avec ceux du top 5 (molécules 2, 3, 7, 8 et 9) correspondant aux composés substitués par un hydroxyle, tertio butyle, nitro et N,N-diméthylamine.

Quant aux propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques prédites grâce au serveur SwissADME, pour les 5 meilleurs ligands de chaque série, ont révélé une bonne absorption par voie orale, en accord avec la règle de Veber et de Lipinski, une bonne perméabilité cutanée et une bonne accessibilité de synthèse à l'exception de la molécule 3 de la série B de part sa lipophilie élevée qui est donc plus favorable pour application topique. La plupart de nos molécules sont prédites comme étant des inhibitrices de la majorité des isoformes du cytochrome P450, mais les molécules 11 (série A) et 3 (série B) inhibent uniquement le CYP2D6 et sont donc moins sujettes aux interactions médicamenteuses.

Enfin, la toxicité a été prédite par le serveur admetSAR, pour les 5 meilleurs ligands de chaque série, dans le but de savoir s'ils pourraient être des médicaments-candidats. Malgré la prédiction d'un bon profil toxicologique pour les meilleurs molécules de la série A, malheureusement nous avons noté, *in silico*, une cardiotoxicité (inhibition du HERG2) pour la molécule 11 et une

mutagénicité pour la molécule 8 (doit être administrée avec précaution), d'où la sélection de cette dernière à partir de la série étudiée pour éviter une potentielle cardiotoxicité. Quant à la série B, nous avons obtenu les meilleures propriétés toxicologiques avec la molécule 3.

Les résultats de la présente étude ne sont que préliminaires, il serait donc intéressant de synthétiser les molécules 8 et 3 et de compléter ce travail par des études expérimentales *in vitro* en testant ces deux molécules vis-à-vis des souches incriminées dans les onychomycoses.

Références bibliographiques

- [1] Howard KC, Dennis EK, Watt DS, Garneau-Tsodikova S. A comprehensive overview of the medicinal chemistry of antifungal drugs: perspectives and promise. *Chem Soc Rev.* 27 avr 2020;49(8):2426-80.
- [2] Chekiri-Talbi M, Denning DW. Estimation des infections fongiques en Algérie. *Journal de Mycologie Médicale.* juin 2017;27(2):139-45.
- [3] Weedon D. *Weedon's Skin Pathology E-Book: Expert Consult - Online and Print.* 3e éd. Vol. 1052 pages. Elsevier Health Sciences; 2009
- [4] Daoudi N, Iken M, Boumhil L, Naoui H, Lmimouni B. Impact des onychomycoses sur la qualité de vie des patients à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat (Maroc). *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology.* 1 mars 2013; 23:82.
- [5] Shirwaikar AA, Thomas T, Shirwaikar A, Lobo R, Prabhu KS. Treatment of Onychomycosis: An Update. *Indian J Pharm Sci.* 2008; 70(6):710-4.
- [6] Sharma N, Sharma D. An upcoming drug for onychomycosis: Tavaborole. *J Pharmacol Pharmacother.* 2015;6(4):236.
- [7] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives [Thèse]. Grenoble: UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE; 2007.
- [8] SIB. C'est quoi la modélisation moléculaire ? Precision Medicine. [Consulté le mai 26, 2021]. Disponible sur : <https://www.precisionmed.ch/cest-quoi-la-modelisation-moleculaire>.
- [9] Warshel A. *Computer Modeling of Chemical Reactions in Enzymes and Solutions.* Edition Wiley 1991 Nov 29.
- [10] La modélisation moléculaire. Blog bioinformatique communautaire scientifique. 31 mai 2012 [consulté le 26 mai 2021]. Disponible sur : <https://bioinfo-fr.net/la-modelisation-moleculaire>.
- [11] BOYD, Donald B et LIPKOWITZ, Kenny B. Molecular mechanics: The method and its underlying philosophy. *Journal of Chemical Education*, 1982. 59(4): p. 269.
- [12] Thomas LH. The calculation of atomic fields. *Math. Proc. Camb. Philos.* jan 1927. 23(5) : p. 542-548,
- [13] Chryso J, Hladik MPE, Ancarani LU. *Mécanique quantique.* Masson. 1997.

- [14] Dewar MJS. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *Journal of the American Chemical Society*. 1985 [consulté le 26 mai 2021]. disponible sur: <https://pubs.acs.org/>.
- [15] Pople, John A, Santry, D Po, Segal et Gerald A. Approximate self-consistent molecular orbital theory. I. Invariant procedures. *The Journal of Chemical Physics*.1965. 43(10): p. S129-S135. 1965.
- [16] Dirac PAM. *Proc. Roy. Soc. London A*117 610-624. (b) Dirac. PAM, *Proc. Roy. Soc.London A*118.351-361. 1928.
- [17] Bouchareb et Lebbad. F. Etude par modélisation moléculaire des mécanismes de complexation. [Thèse de doctorat]. 09 jan 2016.
- [18] Allinger NL, Zhou X, Bergsma JJ. *Mol. Structre. Theochem*. 312- 69. 1994.
- [19] Lomas JS. L'actualité chimique, La Mécanique Moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire. 1986.
- [20] Dinur U et Hagler A. *Reviews in computational Chemistry*, K. B. Lipkowitz, D.B.boyd, Eds. VCH, Weinheim. 99-2. 1991.
- [21] Introduction à la Modelisation Moleculaire [En ligne]. [Mémoire]. ULP Strasbourg?LC Chimie. (Consulté le 26 mai 2021). Disponible sur : <https://masterchemoinfo.u-strasbg.fr/>
- [22] Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E, Chipot C et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*. 2005. 26 1781-1802.
- [23] Pina AS, Hussain A et Roque ACA. An Historical Overview of Drug Discovery, in *Ligand-Macromolecular Interactions in Drug Discovery*. A. C. A. Roque, Éd. Totowa, NJ: Humana Press, 2010, Vol 572 p. 3-12.
- [24] Recherche et développement. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.leem.org/recherche-et-developpement> [consulté le févr. 28, 2021].
- [25] Hughes J, Rees S, Kalindjian S et Philpott. K. Principles of early drug discovery: Principles of early drug discovery. *Br. J. Pharmacol*. Mar 2011. 162 (6): p. 1239-1249.
- [26] Yang Y, Adelstein SJ, et Kassis AI. Target discovery from data mining approaches. *Drug Discov. Today*. mars 2011.vol. 17, p. S16-S23.
- [27] Hibert M et Haiech J. Des gènes aux médicaments : nouveaux défis, nouvelles stratégies. *Médecine/sciences*. 16 (12) : p. 1332, 2000.

- [28] Scatton B. Le processus de découverte du médicament dans l'industrie pharmaceutique. *J. Société Biol.* 2009.203 (3) : p. 249-269.
- [29] Zentilli P. Méthodes et logiciel pour le traitement efficace des données de criblage à haut débit. 7 déc. 2006. p. 189.
- [30] Saoussene ML. Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone : voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l' α -glucosidase. [Thèse de doctorat]; 2016.
- [31] Armstrong JD, Hubbard RE, Farrell T et Maignashca B. Royal Society of Chemistry. 2006.
- [32] Modélisation moléculaire et conception de nouveaux ligands d'intérêts biologiques : Dossier complet [En ligne]. Techniques de l'Ingénieur ; 10 jui 2014. [Consulté le 28 fev 2021]. Disponible sur : <https://www.techniques-ingenieur.fr/>.
- [33] Lagarde N. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. 2014; p. 317.
- [34] Empereur-Mot C. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer. 2001; p. 211.
- [35] Wermuth CG, Ganellin CR, Lindberg P et Mitscher. LA. Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998). *Pure Appl. Chem.* jan. 1998. 70(5): p. 1129-1143.
- [36] GDR Chémoinformatique - Thèmes de recherche [En ligne]. Disponible sur : <http://infochim.u-strasbg.fr/gdrchemoinfo/spip.php?rubrique8> [consulté le 2 mars 2021].
- [37] Ghentio L. Simulation numérique et approche orientée connaissance pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques. 2010.
- [38] Aparoy. Kumar Reddy K et Reddanna P. Structure and Ligand Based Drug Design Strategies in the Development of Novel 5-LOX Inhibitors. *Curr. Med. Chem.* août 2012; 19 (22): p. 3763-3778.
- [39] Khadidja M et Ikram L. Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux. *Chimie*. Jui 2019. [Consulté le 1 mars 2021]. [En ligne]. Disponible sur : <http://archives.univ-biskra.dz:80/handle/123456789/13761>.
- [40] Teniou S et Bensegueni A. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Constantine [Thèse de magistère]. Université Mentouri Constantine. 2012.
- [41] Gaba M, Punam G et Sarbjot S. An overview on Molecular Docking. *Int. J. Drug Dev. Res.* Fév 2010.vol. 2, p. 219-231, févr. 2010.

- [42] Chevrollier N. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Phdthesis, Université Paris-Saclay [En ligne]; 2019. [Consulté le 1 mars 2021]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02436914>.
- [43] Asses Y. Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Met. phdthesis [En ligne]. Nancy 1: Université Henri Poincaré. 2011. [Consulté le 28 fev 2021]. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01746221>.
- [44] Bouchagra S. MODELISATION DES INTERACTIONS PROTEINE-PETITES MOLECULES : ETUDE DE LA RELATION STRUCTURE – FONCTION DANS LE CAS DES LIPASES. [Thèse de doctorat]. Annaba : Université Badji Mokhtar. 2018.
- [45] Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Phdthesis, Université Henri Poincaré [En ligne]. 2008. [Consulté le 28 fev 2021]. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00610626>
- [46] Collet G. Comparaison de structures : le RMSD. *Blog bioinformatique communautaire scientifique* [En ligne]. 17 sep 2014 [consulté le 1 mars 2021]. Disponible sur : <https://bioinfo-fr.net/comparaison-de-structures-le-rmsd>.
- [47] Salahi D. Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands. [Thèse]. Tizi ousou : Université Mouloud Mammeri, Faculté des sciences Département chimie; 2014.
- [48] Gerber IC. Description des forces de van der Waals dans le cadre de la théorie de la fonctionnelle de la densité par un traitement explicite des interactions de longueportée. 2005. p. 198.
- [49] Martin T et Derewenda Z. The name is bond — H bond. *Nat. Struct. Biol.* Jui 1999. vol. 6, p. 403-6.
- [50] Les interactions électrostatiques [Drug Design]. Disponible sur : https://ressources.unisciel.fr/_reste_a_valider/drug_design/co/paragraphe2.html [consulté le mai 26, 2021].
- [51] ADME and Toxicology. MoDRN [En ligne]. 2016 Jun 13. Disponible sur : <https://modrn.yale.edu/education/undergraduate-curriculum/modrn-u-modules/adme-and-toxicology>. [Consulté le 25 mai 2021].
- [52] Doogue MP et Polasek TM. The ABCD of clinical pharmacokinetics. *Ther. Adv. Drug Saf. Fev 2013.* 4 (1): p. 5-7.
- [53] Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. PubMed. [En ligne]. Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11259830/>. [Consulté le 1 juin 2021].

- [54] Raghani A. Drug Design. [En ligne].2018. [Consulté le : 1 juin 2021]. Disponible sur : <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/16419>.
- [55] La toxicologie. *Chapitre 33* [En ligne]. [Consulté le : 30 mai 2021]. Disponible sur : <http://www.ilocis.org/fr/documents/ilo033.htm>.
- [56] Mallo V. Sous-traitance et développement pharmaceutique d'un médicament : application à la conception d'un comprimé à croquer. Sept. 2015. p. 130.
- [57] Loubna A. CONCEPTION ET EVALUATION DES MOLECULES ANTICANCEREUSES PAR APPROCHES IN SILICO : Inhibiteurs des Kinases AKT1 et LMTK3. [Thèse de doctorat]. 2020. Rabat: Université Mohammed V, Faculté de Médecine et de Pharmacie [En ligne]. [Consulté le : 1 juin 2021]. Disponible sur : <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/18170>
- [58] Ames BN. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test [Journal Article]. ETDEWEB [En ligne].1975. Disponible sur : <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/6500670>. [consulté le juin 02, 2021].
- [59] Huang FD. Long-QT Syndrome-Associated Missense Mutations in the Pore Helix of the HERG Potassium Channel. *Circulation*. 2001. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/hc3501.093815>. [consulté le juin 02, 2021].
- [60] Keller DI *et al.* Characterization of novel KCNH2 mutations in type 2 long QT syndrome manifesting as seizures. *Can. J. Cardiol*. 2009 Aug. 25 (8): p. 455-462.
- [61] Chris G, Adigun MD, Dermatology & Laser Center of Chapel Hill. Onychomycose - Troubles dermatologiques. Édition professionnelle du Manuel MSD [En ligne]. 2019 Aug . [Consulté le : 24 mai 2021]. Disponible sur : <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/troubles-dermatologiques/pathologie-ungu%C3%A9ale/onychomycose>. [consulté le mai 24, 2021].
- [62] Scrivener J-N (Yannis). Onychomycoses : épidémiologie et clinique. *Revue Francophone des Laboratoires*. 1 mai 2011;2011(432):35-41.
- [63] Ilham A, Touabti A. Les onychomycoses au laboratoire de parasitologie CHU Sétif : étude sur dix ans. *EM-Consulte* [En ligne].05 Mars 2013. [Consulté le :12 avr 2021]. Disponible sur : <https://www.em-consulte.com/article/791790/les-onychomycoses-au-laboratoire-de-parasitologie>.
- [64] Mazouz A, Hamroune Z, Benelmouffok A, Kellou D. Étude rétrospective des onychomycoses retrouvées chez les diabétiques sur une période de 04ans (2012–2015) au laboratoire de Mycologie à l'institut Pasteur d'Algérie. *Journal de Mycologie Médicale*. 1 juin 2016;26(2):e19-20.

- [65] Benhamza D, Chenait K, et Merzouki FZ. Les onychomycoses diagnostiquées au laboratoire de parasitologie-mycologie du chu de Tizi –Ouzou de décembre 2018 à mai 2019 [Mémoire]. Université Mouloud Mammeri Faculté de médecine Tizi-Ouzou : Département de pharmacie; 2019.
- [66] Rousseau L. Onychomycose (infection des ongles) - Symptômes, personnes et facteurs de risque. Passeport Santé [En ligne]. Jan 2013. [Consulté le 26 mai 2021]. Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=onychomycose-pm-symptomes-de-l-onychomycose>.
- [67] Asz-Sigall D, Tosti A et Arenas AR. Tinea Unguium: Diagnosis and Treatment in Practice. SpringerLink [En ligne] .2016 27 Oct. [Consulté le : 29 Avr 2021].Disponible sur : <https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-016-0078-4>.
- [68] Seladi-Schulman J. Antifungal Medications: Types, How They Work, and More. *Healthline* [En ligne]. 2019 06 Déc. [Consulté le 26 mai 2021]. Disponible sur : <https://www.healthline.com/health/fungal-infection/antifungal>.
- [69] Smith EB. History of antifungals. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1990 Oct. 23(4): Pt 2, p. 776-778.
- [70] Black D. hystory of antifungals, THERAPY USING ANTIFUNGALS AND ANTIVIRALS. School of pharmacy, University of Washington [En ligne]. 2015.[consulté le: 26 mai 2021].Disponible sur : http://courses.washington.edu/medch401/pdf_text/401_07_DBlack_tx_antifung.pdf
- [71] Nguyen S, Truong JQ, et Bruning JB. Targeting Unconventional Pathways in Pursuit of Novel Antifungals. *Front. Mol. Biosci.* vol. 7. 2021.
- [72] Su H, Han L et Huang X. Potential targets for the development of new antifungal drugs. *J. Antibiot. (Tokyo)*. Déc. 2018. 71(12): p. 978-991. déc. 2018.
- [73] Antifongiques azolés : Pharmacologie. *Elsevier Connect*. <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/medecine/antifongiques-azoles-pharmacologie> (consulté le mars 16, 2021).
- [74] Kuhn PJ, Trinci APJ, Jung MJ, Goosey MW et Copping. LG. Éd., *Biochemistry of Cell Walls and Membranes in Fungi*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 1990.
- [75] Yu S *et al.* Synthesis and antifungal evaluation of novel triazole derivatives as inhibitors of cytochrome P450 14alpha-demethylase. Oct 2010. *Eur. J. Med. Chem.*45(10) : p. 4435-4445.
- [76] Camille SP. Les antifongiques azolés : utiles et efficaces mais non dénués de danger. p. 109.
- [77] Campoy S et Adrio JL. Antifungals. *Biochem. Pharmacol.* Juin 2017. vol. 133, p. 86-96.

- [78] Sibrac-Pelayo C. Les antifongiques azolés : utiles et efficaces mais non dénués de danger : adaptation de la thérapie antifongique chez une patiente atteinte d'histoplasmosse. (Exercice en thèses). Université Toulouse III - Paul Sabatier [En ligne]. 2013. [Consulté le : mars 19, 2021]. Disponible sur: <http://thesesante.ups-tlse.fr/272/>
- [79] Giraud F. Conception rationnelle, synthèse et évaluation de dérivés hétérocycliques azotés à activités antifongique et/ou antileishmanienne [En ligne]. [These de doctorat]. Nantes. 2007. [Consulté le : 06 Mar 2021]. Disponible sur : <http://www.theses.fr/2007NANT18VS>.
- [80] Badreddine I. Etude des surfaces cellulaires d'Aphanomyces euteiches, parasite majeur de légumineuses [En ligne]. [These de doctorat]. Toulouse III. 2008. [Consulté le : 25 mai 2021]. Disponible sur : <http://www.theses.fr/2008TOU30273>.
- [81] Zhang P et Ma S. Recent development of leucyl-tRNA synthetase inhibitors as antimicrobial agents. *MedChemComm*. Aout 2019.10 (8): p. 1329-1341.
- [82] Machireddy B. Computational study targeting anti-fungal Tavaborole analogs and anti-cancer BRACO19. *Theses Diss.* nov 2017, [En ligne]. Disponible sur : <https://rdw.rowan.edu/etd/2479>.
- [83] Baudraz-Rosselet F, Monod FM et Panizzon RG. Diagnostic et traitement des onychomycoses. *Rev Med Suisse* [En ligne]. 2005. [consulté le 26 mai 2021]. 9 (16) : 1069 - 1073. Disponible sur : <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2005/revue-medicale-suisse-16/diagnostic-et-traitement-des-onychomycoses>.
- [84] Roux G, Baudraz-Rosselet F. Algorithme de la prise en charge des onychomycoses. *Rev Med Suisse* [En ligne]. 2017.[Consulte le : 28 mai 2021]. 3 (556) :698 - 702. Disponible sur : <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2017/revue-medicale-suisse-556/algorithme-de-la-prise-en-charge-des-onychomycoses>.
- [85] R. P. D. Bank. RCSB PDB : Homepage. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.rcsb.org/>. [consulté le avr. 11, 2021].
- [86] Sussman JL *et al.* Protein Data Bank (PDB): Database of Three-Dimensional Structural Information of Biological Macromolecules. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* Nov 1998. Vol 54 n°6, Art. n° ARRAY(0x9c49e20).
- [87] Lopes A. Evolution dirigée de deux aminoacyl-ARNt synthétases : Mise en place et applications d'une méthode de "protein design". Theses, Ecole Polytechnique X [En ligne], 2008. [Consulté le : 12 avr 2021]. Disponible sur : <https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00003713>.
- [88] Seiradake E *et al.* Crystal Structures of the Human and Fungal Cytosolic Leucyl-tRNA Synthetase Editing Domains: A Structural Basis for the Rational Design of Antifungal Benzoxaboroles. *J. Mol. Biol.* juil 2009. 390 (2) : p. 196-207.

- [89] Traore MDM. Synthèse et études de modélisation moléculaire dans l'optimisation de la sélectivité de nouveaux agents antiparasitaires inspirés de produits naturels. [Thèse]. Département de pharmacochimie moléculaire, Université Grenoble Alpes. 2016.(En ligne). Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01528690>.
- [90] Pellequer JL. Modélisation moléculaire par homologie des protéines : ses applications en Biologie et en Bioinformatique. [These]. Faculté des sciences de Luminy [En ligne], 1999. [Consulté le: 12 avr 2021]. Disponible sur: <https://hal.univ-grenoble-alpes.fr/tel-01301813>.
- [91] Camacho C *et al.* BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*. Dec 2009. 10(1): p. 421.
- [92] Steinegger M, Meier M, Mirdita M, Vöhringer H, Haunsberger. SJ et Söding. J. HH-suite3 for fast remote homology detection and deep protein annotation. *BMC Bioinformatics*. Sep 2019. 20 (1): p. 473.
- [93] Mirdita M, Von den Driesch L, Galiez C, Martin MJ, Söding J et Steinegger M. Uniclust databases of clustered and deeply annotated protein sequences and alignments. *Nucleic Acids Res*. Jan 2017.45(D1): p. D170-D176.
- [94] Aa S. Strategies to Better Target Fungal Squalene Monooxygenase. *J. Fungi Basel Switz*. Jan 2021. 7(1). doi: 10.3390/jof7010049.
- [95] Cavasotto CN et Phatak SS. Homology modeling in drug discovery: current trends and applications. *Drug Discov. Today*. Juil 2009. 14(13-14) : p 676-683, doi: 10.1016/j.drudis.2009.04.006.
- [96] Studer G, Tauriello G, Bienert S, Biasini M, Johner N et Schwede T. ProMod3—A versatile homology modelling toolbox. *PLOS Comput. Biol*. Jan 2021. 17(1) : p. e1008667, doi: 10.1371/journal.pcbi.1008667.
- [97] Benkert P, Biasini M, et Schwede T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics*. Fév 2011. 27(3) : p. 343-350, doi: 10.1093/bioinformatics/btq662.
- [98] Benkert P, Tosatto SCE et Schomburg D. QMEAN: A comprehensive scoring function for model quality assessment. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma*. 2008. 71(1): p. 261-277, 2008, doi: <https://doi.org/10.1002/prot.21715>.
- [99] Studer G, Rempfer. Waterhouse. CAM, Gumienny. R, Haas. J, et Schwede. T. QMEANDisCo-distance constraints applied on model quality estimation. *Bioinforma. Oxf. Engl*. Mars 2020.36(6) : p. 1765-1771, doi: 10.1093/bioinformatics/btz828.
- [100] W. F. de A. Jr, 1st ed. 2019. Springer New York;Humana, 2019. Consulté le: mars 01, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=17afa4450f55bf4756c70ee355659abc>

- [101] Laouar I. Etude des interactions Enzyme-Ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase [En ligne]. Juin 2015. [Consulté le : mars 01, 2021]. Disponible sur: <http://dspace.univ-eloued.dz:80/xmlui/handle/123456789/2106>
- [102] Daina A, Michielin O et Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* Mars 2017. 7 (1), Art. n° 1, doi: 10.1038/srep42717.
- [103] Daina A et Zoete V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *Chemmedchem.* Jui 2016. 11(11) : p. 1117, doi: 10.1002/cmdc.201600182.
- [104] Daina A, Michielin O, et Zoete V. iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of n-Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach. *J. Chem. Inf. Model.* Déc 2014. 54(12) : p. 3284-3301, doi: 10.1021/ci500467k.
- [105] Allam L. CONCEPTION ET EVALUATION DES MOLECULES ANTICANCEREUSES PAR APPROCHES IN SILICO : Inhibiteurs des Kinases AKT1 et LMTK3. (These de doctorat). Université Mohammed V Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat, Royaume du Maroc, 2020.
- [106] SwissADME . <http://www.swissadme.ch/> (consulté le juin 19, 2021).
- [107] Cheng F *et al.* admetSAR : A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties. *J. Chem. Inf. Model.* Nov 2012. 52(11): p. 3099-3105, doi: 10.1021/ci300367a.
- [108] admetSAR @ LMMD. <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar1/> (consulté le juin 19, 2021).
- [109] Marchese Robinson RL, Glen RC et Mitchell. JBO. Development and Comparison of hERG Blocker Classifiers: Assessment on Different Datasets Yields Markedly Different Results. *Mol. Inform.* 2011. 30(5) : p. 443-458, doi: <https://doi.org/10.1002/minf.201000159>.
- [110] Zhu H, Martin TM, Ye L, Sedykh A, Young DM et Tropsha A. Quantitative Structure–Activity Relationship Modeling of Rat Acute Toxicity by Oral Exposure. *Chem. Res. Toxicol.* Déc 2009. 22(12): p. 1913-1921, doi: 10.1021/tx900189p.
- [111] Hansen K *et al.* Benchmark Data Set for in Silico Prediction of Ames Mutagenicity. *J. Chem. Inf. Model.* Sep 2009. 49(9): p. 2077-2081, doi: 10.1021/ci900161g.
- [112] Padyana AK *et al.* Structure and inhibition mechanism of the catalytic domain of human squalene epoxidase. *Nat. Commun.* Jan 2019. 10(1), Art. n° 1, doi: 10.1038/s41467-018-07928-x.
- [113] Imberty A, Hardman KD, Carver JP et Perez S. Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. *Glycobiology.* 1 déc 1991; 1(6):631-42.

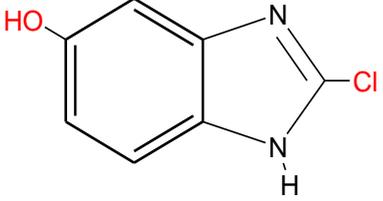
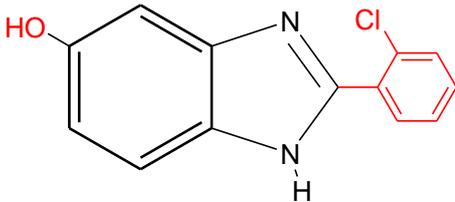
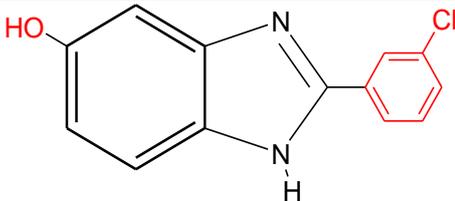
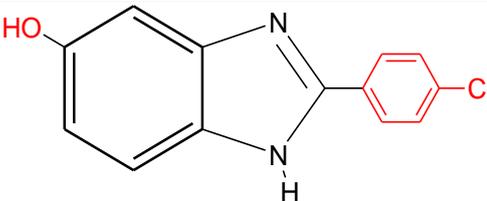
[114] Stuetz A, Georgopoulos A, Granitzer W, Petranyi G et Berney D. Synthesis and structure-activity relationships of naftifine-related allylamine antimycotics. *J Med Chem.* jan 1986; 29(1):112 -25.

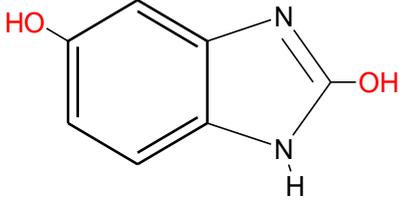
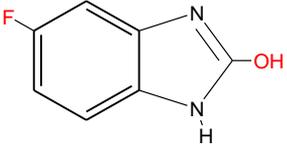
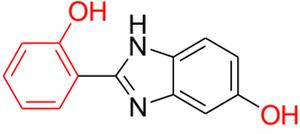
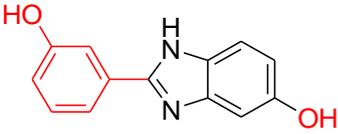
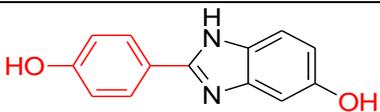
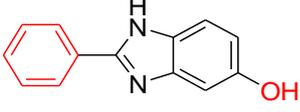


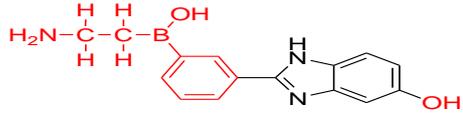
ANNEXES

Annexes

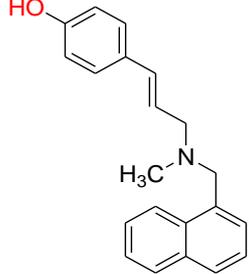
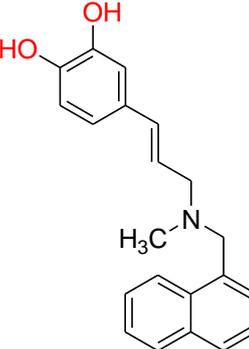
Annexe I : Ligands de la série A.

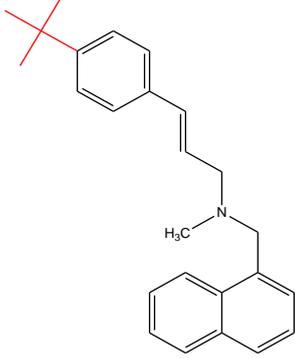
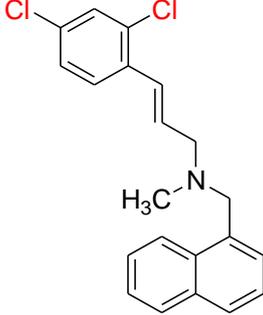
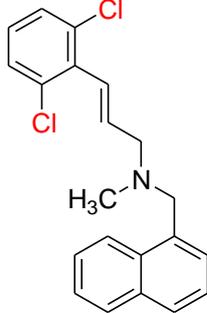
Molécule	Nomenclature	Structure
Molécule 1	2-chloro-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{Cl}$</p>
Molécule 2	2-(2-chlorophenyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{chlorobenzène (Cl en ortho)}$</p>
Molécule 3	2-(3-chlorophenyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{chlorobenzène (Cl en méta)}$</p>
Molécule 4	2-(4-chlorophenyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{chlorobenzène (Cl en para)}$</p>

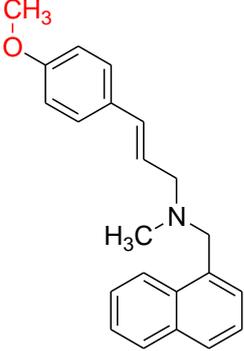
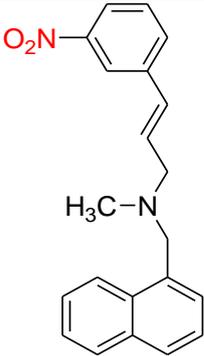
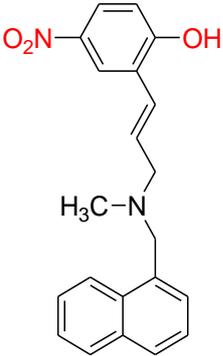
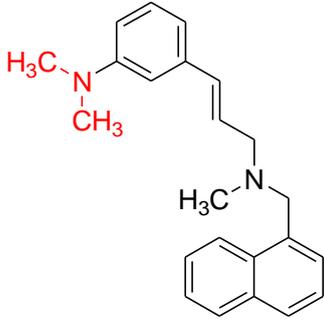
Molécule 5	1H-benzo[d]imidazole-2,5-diol	 <p>$R_1 = \text{OH}$</p> <p>$R_2 = \text{OH}$</p>
Molécule 6	5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ol	 <p>$R_1 = \text{F}$</p> <p>$R_2 = \text{OH}$</p>
Molécule 7	2-(2-hydroxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$</p> <p>$R_2 = \text{phénol (OH en ortho)}$</p>
Molécule 8	2-(3-hydroxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$</p> <p>$R_2 = \text{phénol (OH en méta)}$</p>
Molécule 9	2-(4-hydroxyphenyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$</p> <p>$R_2 = \text{phénol (OH en para)}$</p>
Molécule 10	2-phenyl-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p>$R_1 = \text{OH}$</p> <p>$R_2 = \text{phényle non substitué}$</p>

Molécule 11	2-(3-((2-aminoethyl)(hydroxy)boranyl)-1H-benzo[d]imidazol-5-ol	 <p style="text-align: center;">$R_1 = \text{OH}$</p> <p style="text-align: center;">$R_2 = 3-((2\text{-aminoethyl})(\text{hydroxy})\text{boranyl})\text{-phenyl}$</p>
-------------	--	--

Annexe II : Ligands de la série B.

Molécule	Nomenclature	Structure
Molécule 1	4-(3-(methyl(naphthalen-1-ylmethyl)amino)prop-1-enyl)phenol	 <p style="text-align: center;">$R = \text{OH}(\text{en para})$</p>
Molécule 2	4-(3-(methyl(naphthalen-1-ylmethyl)amino)prop-1-enyl)benzene-1,2-diol	 <p style="text-align: center;">$R_1 = \text{OH}(\text{en méta})$</p> <p style="text-align: center;">$R_2 = \text{OH}(\text{en para})$</p>

<p>Molécule 3</p>	<p>3-(4-tert-butylphenyl)-N-methyl-N-(naphthalen-1-ylmethyl)prop-2-en-1-amine</p>	 <p>R= tertibutyle (en meta)</p>
<p>Molécule 4</p>	<p>3-(2,4-dichlorophenyl)-N-methyl-N-(naphthalen-1-ylmethyl)prop-2-en-1-amine</p>	 <p>R₁=Cl (en ortho) R₂=Cl (en para)</p>
<p>Molécule 5</p>	<p>3-(2,6-dichlorophenyl)-N-methyl-N-(naphthalen-1-ylmethyl)prop-2-en-1-amine</p>	 <p>R₁=Cl (en ortho) R₂=Cl (en ortho)</p>

Molécule 6	3-(4-methoxyphenyl)-N-methyl-N-(naphthalen-1-ylmethyl)prop-2-en-1-amine	 <p>R₁= methoxy (en para)</p>
Molécule 7	N-methyl-N-(naphthalen-1-ylmethyl)-3-(3-nitrophenyl)prop-2-en-1-amine	 <p>R₂= nitro (en méta)</p>
Molécule 8	2-(3-(methyl(naphthalen-1-ylmethyl)amino)prop-1-enyl)-4-nitrophenol	 <p>R₁=nitro (en ortho) R₂=OH (en méta)</p>
Molécule 9	N,N-dimethyl-3-(3-(methyl(naphthalen-1-ylmethyl)amino)prop-1-enyl)benzenamine	

		R=N,N-dimethyl (en méta)
Molécule 10	3-(4-fluorophenyl)-N-methyl-N-(naphthalen-1-ylmethyl) prop-2-en-1-amine	<p>R=fluoro (en para)</p>

Résumé

Les médicaments antifongiques actuellement disponibles ne répondent pas complètement aux exigences croissantes des onychopathies notamment les onychomycoses de part leurs effets secondaires, les interactions médicamenteuses, la résistance ainsi que la faible efficacité des agents topiques. Dans notre travail, nous nous sommes intéressées à la conception de deux séries, la série A obtenue en s'inspirant du tavaborole et ayant pour cible probable la leucyl ARNt synthétase et la série B, ayant pour cible probable la squalène époxydase, obtenue en s'inspirant de la naftifine. Un docking moléculaire a été réalisé pour les molécules des deux séries grâce au logiciel Molegro Virtual Docker (MVD). Une étude, *in silico*, des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques par l'intermédiaire du serveur SwissADME et la toxicité grâce au serveur admetSAR ont été effectuées pour les cinq meilleurs ligands. Les résultats ont prédit un bon profil pharmacocinétique pour l'ensemble des molécules et le meilleur profil toxicologique a été obtenu avec la molécule 3 de la série B.

Mots clés: Tavaborole, naftifine, docking, *in silico*, MVD, SwissADME.

Abstract

The currently available antifungal drugs do not completely meet the increasing demands of onychopathies, especially onychomycosis, due to their side effects, drug interactions, resistance and the low efficacy of topical agents. In our work, we were interested in the design of two series, series A obtained from tavaborole and having as probable target the leucyl RNA synthetase and series B, having as probable target the squalene epoxydase, obtained from naftifine. Molecular docking was performed for the molecules of both series using the Molegro Virtual Docker (MVD) software. An *in silico* study of the physicochemical and pharmacokinetic properties using the SwissADME server and the toxicity with the admetSAR server was performed for the five best ligands. The results predicted a good pharmacokinetic profile for all the molecules and the best toxicological profile was obtained with molecule 3 of the B series.

Key words: Tavaborole, naftifine, docking, *in silico*, MVD, SwissADME.