

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'enseignement supérieur et de la  
recherche scientifique  
Université Mouloud MAMMERY  
Faculté de médecine  
TIZI-OUZOU**



**ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵉⵎⵎⴰⵔⵉⵏ ⵏ ⵉⵏⵉⵙⵓⵏⵉⵔ ⵏ ⵉⵔⵉⵎⵉⵏ ⵏ ⵉⵔⵉⵎⵉⵏ**

**وزارة التعليم العالي و البحث العلمي**

**جامعة مولود معمري**

**كلية الطب**

**تيزي وزو**

**Département de Pharmacie**

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**

**N D'ORDRE :**

**Présenté et soutenu, le : 19 Juillet 2022**

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

**Thème :**

**ETUDE COMPARATIVE DES LOGICIELS DE PREDICTION IN SILICO  
DES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES, PHARMACOCINETIQUES  
ET TOXICITE**

**Réalisé par :**

**Mlle. Chouaïkhi Imane**

**Mlle. Karakache Aïcha**

**Mlle. Hambli Nesrine**

**Composition du jury :**

**Dr Boubrit F. MAHU**

**Faculté de médecine UMMTO Président du jury**

**Dr Hadhoum N. MCB**

**Faculté de médecine UMMTO Rapporteur**

**Dr Allel L. MAHU**

**Faculté de médecine UMMTO Examinatrice**

**Dr Lahmak K. Assistante**

**Faculté de médecine UMMTO Examinatrice**

## *Dédicaces*

*Avant tout je remercie ALLAH, le tout puissant qui m'a donnée la force, la patience, la volonté et la santé durant ces longues années et pour arriver là où je suis aujourd'hui.*

### *Je dédie ce modeste travail :*

*A ma chère mère, merci pour toutes tes prières, merci de m'avoir donnée la force mentale et psychologique pour pouvoir me battre pour mes rêves et mes valeurs, je t'aime maman.*

*A mon cher père, merci d'avoir été mon support et de m'avoir poussée à réaliser mes rêves.*

*A ma chère grande sœur KHEIRA, tu étais toujours à mes côtés, tu étais ma deuxième mère, paix à ton âme et qu'ALLAH t'accorde dans son vaste paradis.*

*A mes frères MOHAMMED, HASSEN, TAYEB, AHCEN, HOCINE et RABAH, et mes sœurs DALILA et SAIDA merci pour toute l'aide que vous m'avez apportée, qu'ALLAH vous garde et vous bénisse.*

*A mes deux chères amies les plus précieuses au monde NESRINE et IMANE pour tous les moments qu'on a vécu ensemble et les souvenirs, je vous aime.*

*A ma chère promotrice Dr Hadhoum N. pour votre encadrement, votre maîtrise et culture médicale, ce fût un honneur de travailler avec vous.*

*A tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin.*

*AICHA*

## *Dédicaces*

*En premier lieu louanges à **Allah** de m'avoir donnée le courage et la force tout au long de mon parcours universitaire.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A toute la famille **Hambli et Mahmoudi**.*

*Particulièrement mes **chers parents** pour leur soutien infailible, leur encouragement, leurs sacrifices et qui ont jamais cessé à formuler les prières à mon égard . Leur amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*A mes **chers frères et sœurs** Hamza, Sarah, Taha, Hanaa, Abdelmalek et Abdellah Islam.*

*J'adresse mes vœux du bonheur et mes salutations les plus distinguées à mes jumelles **Imane et Aïcha** les plus fidèles et les plus proches de mon cœur.*

*A ma chère **promotrice**, qui nous a enrichies avec ses vastes connaissances.*

*A tous mes **amis** et à toute personne qui m'a soutenue de près et de loin.*

*Nesrine*

*Merci Allah de m'avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et dire*

*" الحمد لله "*

*Je dédie ce modeste travail ....*

*A l'homme, mon support dans la vie : mon cher père Ahmed.*

*A la femme qui souffre et ne me laisse jamais souffrir : ma chère mère Razika.*

*A la mémoire de mon cher grand-père mohamed*

*A ma chère sœur Chaimaa et mes chers frères Ayoub et Abdelhak, de m'avoir supportée tout au long de mes études.*

*A toute la famille Chouaikhi, pour leur amour et leur encouragement.*

*A mes amies et ma deuxième famille Aicha et Nesrine, pour leur soutien, leur patience et leur compréhension.*

*A ma promotrice Dr N.Hadhoum, d'avoir constamment partagé ses connaissances et ses expériences, le tout dans la bonne humeur et en nous laissant une grande autonomie.*

*Je présente mes remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin tout au long de mon cursus.*

*Imane*

## Remerciement

*Nous remercions tout d'abord **Allah** tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé, la volonté et le courage durant ces longues années d'études et pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice **Dr Hadhoum.N** qui nous a encadrées ce travail avec une grande rigueur scientifique. Nous la remercions profondément pour ses encouragements et sa disponibilité à tout instant. Le chemin aurait été beaucoup plus ardu sans sa présence. Puissiez-vous trouver notre profonde reconnaissance.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de notre jury **Dr Boubrit.F** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et d'apporter ses regards d'expert sur ce travail et aussi **Dr Allel.L** et **Dr Lahmak.K** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*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.*

*Enfin, nous remercions nos amis et nos camarades et toute personne ayant contribué et aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire*

## TABLE DE MATIÈRES

TABLE DE MATIERES .....	i
LISTE DES ABREVIATIONS .....	v
LISTE DES FIGURES .....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xi
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>Objectifs .....</b>	<b>3</b>

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I : Conception du médicament

1 Définition du médicament.....	4
2 Processus de recherche et du développement.....	4
2.1 Etapes de recherche .....	4
2.1.1 Identification de la cible biologique.....	4
2.1.2 Identification des hits .....	5
2.1.3 Identification et optimisation de lead .....	5
2.2 Etudes précliniques.....	5
2.2.1 Pharmacocinétique .....	5
2.2.2 Pharmacodynamie .....	8
2.2.3 Toxicité.....	8
2.3 Etudes cliniques.....	9
2.3.1 Phase I.....	9
2.3.2 Phase II.....	9
2.3.3 Phase III.....	10
2.3.4 Phase IV .....	10

### CHAPITRE II : Prediction in silico ADMET

1 Approche in silico.....	11
1.1 Généralités .....	11
1.2 Avantages de l'approche in silico.....	11
1.3 Méthodes in silico.....	12
1.3.1 Objectifs des méthodes in silico.....	12
1.3.2 Types des méthodes in silico.....	12

1.4	Modélisation moléculaire .....	15
2	Prédiction in silico ADMET .....	17
2.1	Généralités .....	17
2.2	Prédiction des propriétés pharmacocinétiques .....	17
2.2.1	Prédiction de l'absorption in silico.....	17
2.2.2	Prédiction de la distribution in silico.....	18
2.2.3	Prédiction de métabolisme in silico .....	19
2.2.4	Prédiction de l'excrétion in silico.....	19
2.3	Prédiction des propriétés toxicologiques.....	20
3	Exemples de logiciels de prediction in silico ADMET .....	21
 <b>CHAPITRE III : Docking moléculaire</b>		
1	Définition .....	24
2	Intérêt du docking moléculaire .....	25
3	Objectifs du docking moléculaire .....	25
4	Types d'interactions intermoléculaires (médicament/récepteur).....	26
5	Outils du docking moléculaire .....	27
5.1	Ligand.....	27
5.2	Récepteur .....	27
6	Différents types du docking moléculaire .....	28
6.1	Docking rigide .....	28
6.2	Docking semi-flexible .....	28
6.3	Docking flexible .....	28
7	Paramètres du docking moléculaire .....	29
7.1	RMSD (Root Mean Square Deviation ) .....	29
7.2	Scoring.....	29
8	Etapas du docking moléculaire .....	29
8.1	Docking moléculaire.....	29
8.2	Scoring moléculaire .....	30
9	Procédure du docking .....	30
10	Applications du docking moléculaire .....	31
11	Problèmes théoriques et réponses méthodologiques rencontrés lors du docking moléculaire.....	31
12	Exemple de logiciel du docking moléculaire.....	32
12.1	Autodock Vina.....	32

## PARTIE EXPERIMENTALE

### PARTIE A

#### Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET

1	Matériel et méthode .....	33
1.1	Matériel utilisé .....	33
1.1.1	logiciels de prediction ADMET .....	33
1.1.2	Molécules utilisées .....	38
2	Résultats et discussion .....	43

### PARTIE B

#### Synthèse et caractérisation de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide

1	Matériel et méthode .....	52
1.1	Matériel utilisé .....	52
1.1.1	Appareillages .....	52
1.2	Méthode .....	53
1.2.1	Synthèse des dérivés d'isoniazide .....	53
1.2.2	Identification et caractérisation de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide .....	57
2	Résultats .....	62
3	Discussion .....	68

#### Etude de l'activité antibactérienne et antifongique de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide

1	Matériel et méthode .....	70
1.1	Matériel utilisé pour tester l'activité antibactérienne et antifongique .....	70
1.2	Les souches de micro-organismes testés .....	71
1.3	Méthodes utilisées pour tester l'activité .....	71
1.3.1	Préparation de l'antibiogramme .....	72
1.3.2	Calcul de la CMI (concentration minimale inhibitrice) .....	74
2	Résultats .....	78
3	Discussion .....	80
4	Limites de l'étude de l'activité antifongique, antibactérienne .....	81

# **Docking moléculaire et prediction in silico ADMET de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide**

1	Matériel et méthode .....	82
1.1	Matériel utilisé pour le docking moléculaire .....	82
1.1.1	Cible .....	82
1.1.2	Ligands .....	83
1.1.3	Logiciel Autodock Vina .....	85
1.1.4	Logiciel de visualisation Biovia .....	86
1.1.5	Serveurs de prediction ADMET/Tox .....	86
1.1.5.1	Swiss Drug-Design (SwissADME).....	86
1.1.5.2	ADMETSar .....	87
1.2	Méthode .....	87
1.2.1	Protocole du docking.....	87
1.2.2	Validation du protocole docking .....	90
2	Résultats .....	92
3	Discussion .....	97
	<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>101</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>103</b>
	Annexes	
	Résumé	
	Abstract	

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

$\phi$  : phase.

°C : degré Celsius.

°F : degré fahrenheit.

2D : bidimensionnelle.

3D : tridimensionnelle.

3R : remplacer, réduire, raffiner.

A° : Armstrong.

AA : acide aminé.

Ade : adénine.

ADMETOX : absorption distribution métabolisme élimination toxicité.

Al : aluminium.

AMM : autorisation de mise sur le marché.

Arg : arginine.

Asn : asparagine.

*Asp. Niger* : *Aspergillus niger*

ATCC : américain type culture collection.

BHE : la barrière hémato-encéphalique ou la liaison aux protéines plasmatiques.

*C. albicans* : *Candida albicans*

Caco-2 : cellules d'adénocarcinome du côlon humain.

CADD : computer aided Drug-design.

CAN : ceric ammonium nitrate.

CE : conformité européenne.

CFU : colony forming unit.

Cl : clairance.

CLSI : clinical and laboratory standards institute.

CSV : comma-separated values.  
CYP3A4 : cytochrome P450 3A4.  
DE50 : dose efficace 50.  
DILI : Drug induced liver injury.  
DL50 : dose létale 50.  
DMSE : dimethylsulfoxyde.  
*E. coli* : *Escherichia coli*  
Ex : exemple.  
F : biodisponibilité.  
FDA : Food and Drug administration.  
FU : fraction unbound.  
Gly : glycine.  
Gua : guanine.  
HBA : hydrogen bonding donor.  
HBD : hydrogen bonding acceptor.  
HERG : gène humain lié à l'ether-a-go-go.  
H-HT : hépto-toxicité humaine.  
HIA : humain intestinal absorption.  
HIV : human immunodeficiency virus.  
HTS : high throughput screening.  
IO : infection opportuniste.  
LGA : lamarckien genetic algorithms.  
MD : molecular dynamic.  
MF : macfarland.  
NA : non applicable.  
*P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*  
PA : principe actif.  
PD : pharmacodynamique.  
PgP : glycoprotéine P.

PK : pharmacocinétique.

PPB : plasma proteins binding.

Pro : proline.

PS : peu soluble.

QSAR : quantitative relation structure activité.

R&D : recherche et développement.

RF : rapport frontal.

RMN : résonance magnétique nucléaire.

RMSD : root-mean-square deviation.

S : soluble.

*S. aureus* : *Staphylococcus aureus*

SBDD : structure based Drug-design.

SDF : Structure Data File.

Ser : serine.

SFM : société française en microbiologie.

SMILES : Simplified Molecular Input Line Entry System.

SNC : Système nerveux central.

T<sub>1/2</sub> : temps de demi-vie.

TdP : torsade de pointes.

TEST : Toxicity Estimation Software Tools.

Thr : thréonine.

Val : valine.

V<sub>d</sub> : volume de distribution.

$\delta$  : déplacement chimique.

$\lambda$  : longueur d'onde.

$\mu\text{L}$  : Microlitre.

v : vibration.

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Phases de découverte et du développement d'un médicament.....	4
Figure 2: Propriétés ADME/TOX .....	6
Figure 3 : Déroulement d'un test d'Ames. ....	9
Figure 4: Approche in silico ou Drug design. ....	13
Figure 5: Modèle QSAR. ....	14
Figure 6: Importance du modèle QSAR.....	15
Figure 7 : Docking de deux molécules.....	24
Figure 8 : Docking récepteur-ligand. ....	24
Figure 9 : Programme du docking.....	25
Figure 10 : Types d'interactions médicament-récepteur.....	26
Figure 11 : Docking rigide .....	28
Figure 12 : Schéma de protocole général du docking .....	29
Figure 13 : Etapes générales du docking moléculaire.....	30
Figure 14 : Application du docking moléculaire.....	31
Figure 15 : Accueil d'ADMETlab. ....	33
Figure 16 : Paramètres évalués par admetlab.....	34
Figure 17 : Dessiner la molécule dans ADMETlab .....	34
Figure 18 : Entrer le SMILES dans l'ADMETlab. ....	34
Figure 19 : Résultats sous forme CSV ou PDF dans l'ADMETlab.....	34
Figure 20 : ChEMBL.....	35
Figure 21 : DrugBank.....	35
Figure 22 : Accueil de PkCSM .....	37
Figure 23 : Choix de fichier SMILES au pkcsm.....	38
Figure 24 : Insertion du SMILES au pkcsm.....	38
Figure 25 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle d'isoniazide.....	39
Figure 26 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle de la gentamicine .....	40
Figure 27 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle du voriconazole.....	41
Figure 28 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle de l'imipramine.....	41
Figure 29 : Préparation des réactifs pour la synthèse.....	54
Figure 30 : Produit en ébullition .....	54
Figure 31 : Produit 1 et 2 après séchage.....	55
Figure 32 : Réaction générale.....	55

Figure 33 : Mécanisme réactionnel détaillé. ....	56
Figure 34 : Spectroscopie d'absorption dans l'UV-VISIBLE .....	58
Figure 35 : Spectrophotométrie d'absorption dans l'IR.....	59
Figure 36 : Préparation des pastilles .....	59
Figure 37 : Préparation des spots pour CCM .....	60
Figure 38 : Appareil de mesure du point de fusion .....	61
Figure 39 : Produit 1.....	63
Figure 40 : Produit 2.....	63
Figure 41 : Spectre d'absorption dans l'UV-VISIBLE de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide.....	63
Figure 42 : Spectre d'absorption dans l'UV-visible de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide. ....	64
Figure 43 : Spectre d'absorption dans l'IR de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide. ....	65
Figure 44 : Spectre d'absorption dans l'IR de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide .....	65
Figure 45 : CCM du produit 1 .....	66
Figure 46 : CCM du produit 2 .....	67
Figure 47 : Milieux pour l'antifongigramme .....	72
Figure 48 : Milieux pour l'antibiogramme.....	72
Figure 49 : Prélèvement des colonies.....	73
Figure 50 : Ensemencement sur la gelose Mueller-Hinton pour l'antibiogramme. ....	73
Figure 51 : Application des disques sur la gélose. ....	74
Figure 52 : Disques d'antibiotiques. ....	74
Figure 53 : Préparation des milieux Mueller-Hinton pour la CMI. ....	74
Figure 54 : Préparation des dilutions pour la CMI.....	75
Figure 55 : Spot de la suspension bactérienne. ....	76
Figure 56 : Milieux utilisés pour tester l'activité antifongique .....	78
Figure 57 : Souches bactériennes utilisées pour tester l'activité antibactérienne .....	78
Figure 58 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis de <i>S. aureus</i> .....	80
Figure 59 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis d' <i>E. coli</i> . ....	80
Figure 60 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis de <i>P. aeruginosa</i> .....	80
Figure 61 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis de <i>C. albicans</i> . ....	80
Figure 62 : Informations relatives au 6FQM sur PDB .....	83

Figure 63 : Gyrase bactérienne ou 6FQM .....	83
Figure 64 : Interface du logiciel ChemDraw Ultra 8.0.3 .....	85
Figure 65 : Interface du logiciel Chem3D Ultra 8.0.3. ....	85
Figure 66 : Accueil du logiciel Autodock Vina .....	86
Figure 67 : Accueil du logiciel SwissAdme .....	87
Figure 68 : Protéine 6FQM sous format PDBQT. ....	88
Figure 69 : Ligand 1 préparé et enregistré sous format PDBQT. ....	88
Figure 70 : Ligand 2 préparé et enregistré sous format PDBQT. ....	89
Figure 71 : Choix du Grid Box.....	89
Figure 72 : Exemple d'un fichier config. ....	90
Figure 73 : Docking par autodock vina. ....	90
Figure 74 : Résultat du redocking .....	92
Figure 75 : Interaction "cible-ligand co-cristallisé" .....	92
Figure 76 : Interaction "cible-ligand optimisé" .....	92

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Paramètres évalués par AdmetSAR.....	37
Tableau II : Paramètres évalués par pkcsm.....	38
Tableau III : Caractéristiques de l'isoniazide.....	38
Tableau IV : Caractéristiques de la gentamicine.....	39
Tableau V : Caractéristiques du voriconazole.....	40
Tableau VI : Caractéristiques de l'imipramine. ....	41
Tableau VII : Résultats de la prediction in silico ADMET de l'isoniazide.....	43
Tableau VIII : Résultats de la prediction in silico ADMET de l'imipramine. ....	44
Tableau IX : Résultats de la prediction in silico ADMET de la gentamicine.....	45
Tableau X : Résultats de la prediction in silico ADMET du voriconazole.....	46
Tableau XI : Tableau représentatif des normes d'interprétation des résultats de la prediction in silico ADMET.....	47
Tableau XII : Appareils utilisés pour la synthèse, la caractérisation et l'identification des produits synthétisés. ....	52
Tableau XIII : Verrerie et des outils de synthèse. ....	53
Tableau XIV : Réactifs utilisés pour la synthèse des dérivés d'isoniazide.....	53
Tableau XV : Classification des solubilités des produits selon la pharmacopée européenne.....	57
Tableau XVI : Réactifs utilisés pour tester la solubilité.....	57
Tableau XVII : Résultats du test de solubilité.....	63
Tableau XVIII : Tableau représentatif des transitions électroniques obtenues pour les deux produits synthétisés. ....	64
Tableau XIX : Tableau présentatif des bandes de vibrations dans l'IR. ....	65
Tableau XX : Matériel utilisé pour tester l'activité antibactérienne et antifongique.....	70
Tableau XXI : Souches de micro-organismes testées.....	71
Tableau XXII : Préparation des différentes dilutions pour la CMI.....	75
Tableau XXIII : Conditions d'incubation des différentes espèces.....	77
Tableau XXIV : Résultats du test de sensibilité, in vitro.....	78
Tableau XXV : Résultats de la CMI vis-à-vis du <i>Staphylococcus aureus</i> .....	79
Tableau XXVI : Structures bidimensionnelles et tridimensionnelles des ligands. ....	84
Tableau XXVII : Paramètres évalués par SwissAdme.....	87
Tableau XXVIII : Dimensions du Grid box.....	93

Tableau XXIX : Résultats du docking moléculaire .....	93
Tableau XXX : Tableau représentatif des caractéristiques des liaisons formées entre les ligands et la cible.....	93
Tableau XXXI : Résultats de la prédiction, in silico, des propriétés physico-chimiques par SwissADME.....	95
Tableau XXXII : Résultats de la prediction, in silico, des propriétés pharmacocinétiques avec ADMETsar.....	95
Tableau XXXIII : Résultats de la prédiction, in silico, de la toxicité par ADMETsar. ....	96

## INTRODUCTION

Dans le domaine pharmaceutique, la recherche et le développement de nouvelles molécules thérapeutiques sont basés essentiellement sur des essais appelés « in vitro » au niveau du laboratoire, suivi par des essais sur des êtres vivants « in vivo » (des essais précliniques sur l'animal et des essais cliniques sur l'homme). Ces essais, in vivo, sont onéreux, coûteux et prennent beaucoup de temps, en plus le taux d'échec est très important : moins de 10% des molécules testées sont commercialisées. Sans oublier que ces tests se fassent sur des patients volontaires qui sont exposés aux risques d'effets secondaires qui peuvent être très dangereux et très graves sur leur santé [1].

De nos jours, l'industrie pharmaceutique fait appel à des technologies in silico pour la recherche en amont, afin d'accélérer le développement et la découverte de molécules thérapeutiques candidat-médicament. Grâce à ces méthodes in silico, on peut même prédire la toxicité et l'efficacité de la molécule avant de passer aux essais expérimentaux in vivo, donc elles nous permettent d'éliminer en amont des molécules à toxicité élevée, contribuant ainsi à la diminution du nombre d'animaux utilisés et à l'économie du temps [1,2].

Les méthodes in silico ont connu une application majeure dans l'étude des propriétés pharmacocinétiques d'un médicament (étapes ADME : absorption, distribution, métabolisme, excrétion. et l'étape toxicologique). Elles sont utilisées dans la phase d'évaluation préclinique, et même pour les molécules commercialisées pour l'évaluation d'une éventuelle interaction médicamenteuse ou apparition d'un effet secondaire tardif [3].

Le principe de ces méthodes est d'étudier la relation entre la structure chimique et les propriétés pharmacodynamiques (PD) et pharmacocinétiques (PK) de composés au sein des systèmes biologiques, en se basant sur les lois de la physique et de la chimie qui elles-mêmes reposent sur les lois mathématiques. Donc les approches in silico sont une simulation d'un phénomène biologique à l'aide d'outils informatiques afin de prédire la pharmacocinétique et la toxicité [3,4].

Dans ce contexte nous nous sommes intéressées dans notre travail à présenter les méthodes in silico qui sont des méthodes alternatives de l'expérimentation, in vivo. Pour réaliser ce travail le manuscrit est organisé en deux parties :

Une recherche bibliographique présentée en trois chapitres. Le premier chapitre porte sur le processus du développement et la conception d'un nouveau médicament suivi par le chapitre de prédiction in silico dans lequel, nous avons détaillé les généralités sur les méthodes in silico et leur intérêt dans le domaine pharmaceutique en citant quelques logiciels utilisés pour la prédiction in silico ADMET. Nous avons fini cette partie par des généralités sur le docking moléculaire.

Dans la partie expérimentale, nous avons comparé entre trois logiciels de prediction in silico ADMET, ainsi qu'une synthèse de deux dérivés d'isoniazide, une évaluation de l'activité biologique in vitro et un docking moléculaire ont été aussi réalisés.

## Objectifs

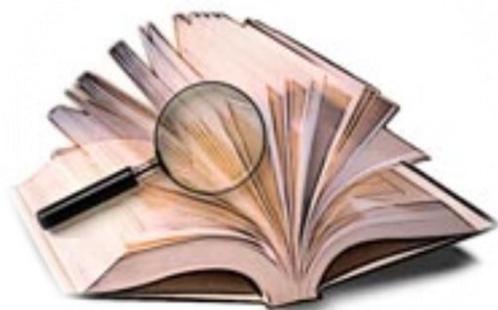
Dans la recherche des molécules actives, la bonne sélection d'un bon candidat-médicament est une étape primordiale dans le processus du développement des médicaments. Un bon candidat-médicament est une molécule qui a un bon profil pharmacocinétique et pharmacodynamique avec moins d'effets secondaires et toxicité.

L'objectif principal de notre travail consiste à étudier les différents logiciels de prédiction in silico ADMET, pour ce faire:

- Nous avons choisi des médicaments connus comme hépatotoxique, néphrotoxique, cardiotoxique, et cancérigène afin de vérifier la fiabilité des résultats de la prédiction in silico ADMET par ces logiciels.

D'autres objectifs ont été fixés :

- Retenir le meilleur logiciel et proposer des nouvelles molécules en apportant des modifications structurelles sur l'une des molécules prédites ;
- Réaliser la synthèse des nouvelles molécules et les caractériser ;
- Etudier leur activité biologique, in vitro ;
- Prédire les propriétés ADMET pour les nouvelles molécules et expliquer leur mécanisme d'action.



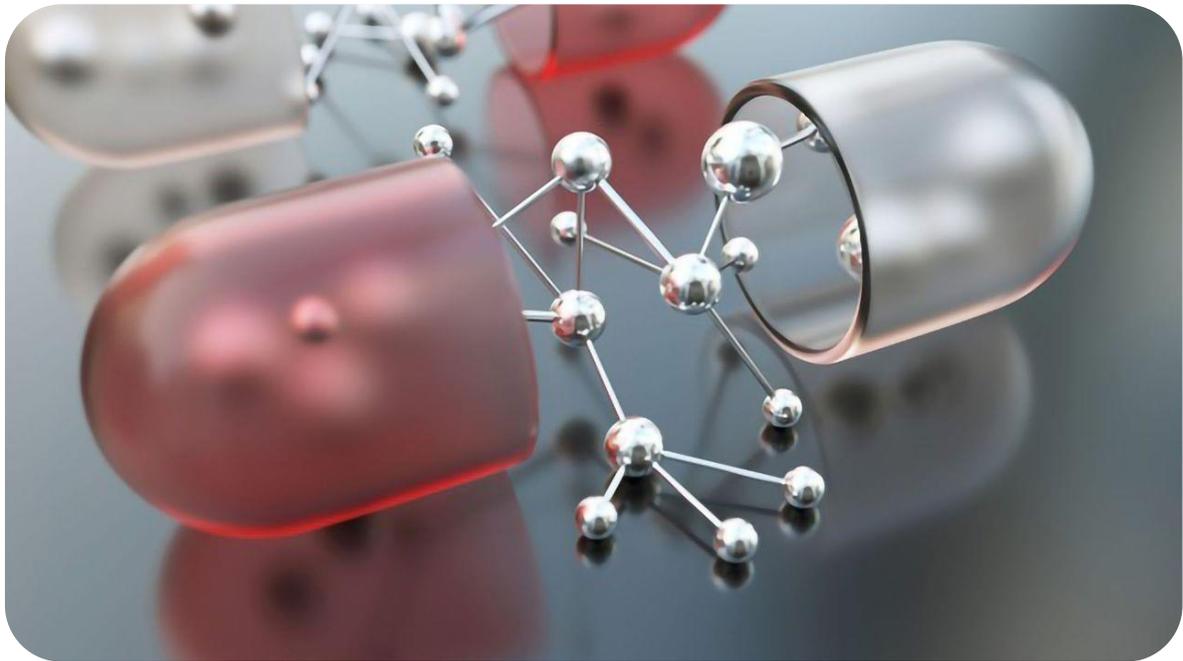
## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

“Le plaisir le plus noble réside en la joie de comprendre.”

Léonard De Vinci

## **CHAPITRE I :**

# **LA CONCEPTION DU MÉDICAMENT**



## 1 Définition du médicament

Selon la loi n°2018-208 du 29 juillet 2018 - art le médicament est défini comme suit : « le médicament, au sens de la présente loi, est toute substance ou composition présentée comme possédante des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, et tous produits pouvant être administrés à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, de corriger et de modifier ses fonctions physiologiques », ou « toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou pouvant lui être administrée en vue soit de restaurer , de corriger ou de modifier ses fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique , immunologique ou métabolique, soit d'établir un diagnostic médical » [5].

## 2 Processus de recherche et du développement

Le processus de recherche et du développement (R&D) d'un médicament est complexe, long et coûteux, il y'a 10 000 molécules criblées parmi lesquelles 100 seulement qui sont testées pour aboutir à la fin 10 médicaments candidats, dont un seul est finalement commercialisé. Ce processus de (R&D) généralement peut durer jusqu'à dix ans .Les étapes clés sont la recherche, l'évaluation préclinique, l'évaluation clinique, l'autorisation de mise sur le marché et la pharmacovigilance tout le long de la vie du médicament, ces étapes sont schématisées dans la figure 1 ci-dessous [3,5].

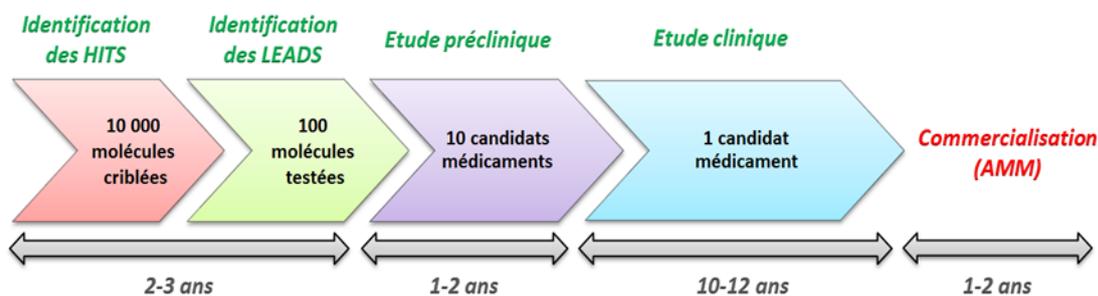


Figure 1: Phases de découverte et du développement d'un médicament [6].

### 2.1 Étapes de recherche

C'est la première étape du processus de conception du médicaments, elle vise à la détermination d'une cible biologique, la recherche de composés chimiques ayant une activité sur celle-ci, et leur protection intellectuelle [7].

#### 2.1.1 Identification de la cible biologique

Il s'agit d'une entité biologique qui peut être une protéine, un gène ou un ARN. La liaison de la cible à la molécule médicamenteuse provoque une réponse biologique qui peut être mesurée à la fois in vitro et in vivo [8].

Une cible peut provenir à partir d'une mutation sur les gènes impliqués spécifiquement pour une maladie, d'une compréhension des processus cellulaires et physiologiques et/ou du mécanisme de la maladie, d'un mécanisme d'action des médicaments déjà connus ou bien d'une façon aléatoire [9].

### 2.1.2 Identification des hits

Identifier des hits c'est le fait de trouver les premières molécules ayant la capacité d'interagir avec la cible prédéfinie et susceptible de moduler ses effets sur la pathologie. La sélection se fait à partir de librairie chimique comportant un grand nombre de composés (chimiothèques), ou à l'aide de technique de criblage à haut débit (HTS pour High Throughput Screening) [9].

### 2.1.3 Identification et optimisation de lead

Un lead est un composé chimique qui a une activité pharmacologique ou biologique susceptible d'être thérapeutiquement utile, il possède une structure chimique optimale qui doit être modifiée pour augmenter l'affinité pour la cible. Cette structure constitue un point de départ (chef de fil) et subit des modifications chimiques afin d'augmenter l'activité, la sélectivité et/ou améliorer les paramètres pharmacocinétiques.

Une fois le lead est identifié, sa structure va passer par une série de tests afin d'évaluer ses propriétés pharmacocinétiques (optimisation des paramètres ADMET) et pharmacodynamiques. Les chimistes en collaboration avec les pharmacologues vont utiliser plusieurs approches pour l'optimisation de lead en générant une quantité énorme d'informations qu'elles lui permettent de prendre la meilleure structure possible, avec la meilleure action souhaitée possible, parmi ces approches : Structure-Based Drug Design (SBDD), quantitative relation structure-activité (QSAR) et Computer Aided Drug Design (CADD qui correspond à la conception du médicament assistée par ordinateur) [9].

## 2.2 Etudes précliniques

Les études précliniques constituent une étape très importante du développement d'un médicament avant de passer aux essais cliniques, elles sont réalisées sur des animaux (in vivo), sur des cultures cellulaires (in vitro) ou par des programmes informatiques (in silico). Ces études sont primordiales, elles permettent d'évaluer l'efficacité, la toxicité ainsi que les effets indésirables et les risques potentiels sur l'homme [5].

Les premiers tests s'intéressent aux propriétés pharmacologiques des chefs de file, notamment leur pharmacocinétique et pharmacodynamie [7].

### 2.2.1 Pharmacocinétique

La pharmacocinétique d'une molécule est représentée par son trajet dès l'administration de la molécule, l'arrivée au niveau de la cible, jusqu'à son élimination de l'organisme, d'une autre manière c'est son absorption, sa distribution, son métabolisme et son excrétion [9,10].

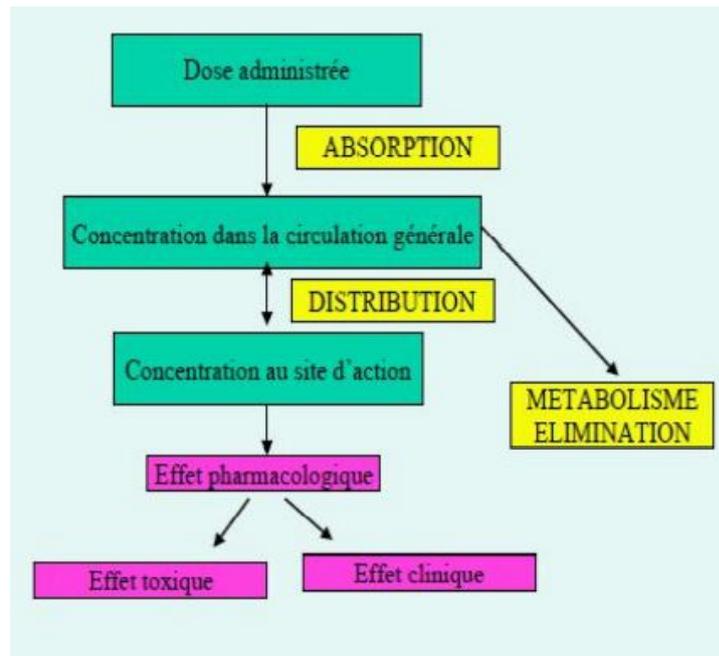


Figure 2: Propriétés ADME/TOX [9].

### 2.2.1.1 Absorption

Elle représente la première étape de l'acheminement du médicament vers sa cible [11]. Elle est définie comme étant le mécanisme par lequel le médicament administré passe de son site d'administration à la circulation sanguine. L'étude de cette étape est très importante car elle peut être à l'origine des réponses et des effets variés des médicaments par le biais de différentes barrières et interactions avec les enzymes et même des interactions avec d'autres molécules thérapeutiques [12].

Parmi les différentes voies d'administration, la voie orale est la plus utilisée en raison de son accessibilité et sa facilité d'utilisation pour les patients (80% des médicaments commercialisés sont administrés par voie orale) [11].

Il existe différents mécanismes d'absorption des médicaments, on distingue les mécanismes qui ne nécessitent pas d'énergie comme la diffusion passive et les mécanismes qui demandent de l'énergie comme le transport actif.

**-Notion de biodisponibilité (F) :** quand on parle de la biodisponibilité, on parle de la fraction qui se retrouve au niveau sanguin après le passage des différentes barrières qui sera après distribuée vers la cible biologique [13].

### 2.2.1.2 Distribution

On parle de la distribution une fois le médicament atteint la circulation générale. Le sang est le véhicule du principe actif (PA) vers son site d'action à l'aide des protéines plasmatiques (responsable de maintien de pH et la pression osmotique ainsi que le transport de certaines molécules endogènes essentiellement lipophiles...) [11].

- Les facteurs qui influencent la distribution sont :

□ **La liaison aux protéines plasmatiques :** Le transport de PA du sang vers son site d'action se fait grâce à des protéines plasmatiques principalement: l'albumine (le

transporteur ubiquitaire), l'alpha 1-glycoprotéine, les lipoprotéines et les globulines (alpha, bêta et gammaglobulines) [12].

La liaison médicament-protéine dépend de plusieurs facteurs comme l'affinité du médicament pour les sites de liaison, le nombre de sites de liaison «disponibles» et la concentration en médicament [12].

- **La diffusion tissulaire** : est le mécanisme par lequel il y aura répartition du médicament dans l'ensemble d'organes et tissus concernés [12].
- **Le volume de distribution** : est un volume théorique, qui représente le volume du liquide nécessaire pour diluer la quantité totale du médicament administrée pour donner une concentration plasmatique. Ce n'est pas un volume réel de l'organisme, mais il nous renseigne sur la capacité du médicament à se distribuer dans l'organisme [14].

### 2.2.1.3 Métabolisme ou biotransformation du médicament

Désigne les diverses modifications chimiques que subissent les médicaments dans l'organisme pour donner lieu à des métabolites actifs ou inactifs sur le plan pharmacologique. Les biotransformations sont des réactions enzymatiques principalement, dont plusieurs organes et tissus peuvent être sièges pour ces dernières (peau, poumon, rein, intestin...), mais le foie représente l'organe principal par le biais des enzymes des microsomes. Les réactions de métabolisme sont classées en deux phases : les réactions de phase I ou réactions de fonctionnalité et les réactions de phase II ou réactions de conjugaison [11,12,13].

### 2.2.1.4 Excrétion

C'est l'étape finale de devenir du médicament dans l'organisme. Elle concerne le médicament sous forme inchangée et ses métabolites, réalisée principalement par deux voies : la voie urinaire et la voie biliaire. Toute atteinte de l'organe responsable d'élimination va se traduire par un ralentissement de l'élimination du médicament ou ses métabolites avec accumulation du médicament dans les tissus qui peut engendrer des effets indésirables [11,13].

- **La voie rénale** : représente le mode d'élimination de la plupart des médicaments où les produits sont excrétés dans l'urine [9].
- **La voie biliaire ou l'excrétion fécale** : ce processus est initié dans le foie et passe à travers de l'intestin jusqu'à ce que les produits soient finalement excrétés avec les matières fécales des produits ou des déchets [9].
- **Autres voies** : salivaires, pulmonaires (principalement pour les produits volatils), sont des voies négligeables par rapport aux voies rénales et hépatiques.

Néanmoins il faut noter l'importance de la voie lactée qui peut être une source d'intoxication pour le nourrisson lors de l'allaitement [13].

Les principaux paramètres physiologiques permettant d'estimer l'élimination du médicament sont :

- **La clairance totale (Cl)** : c'est la capacité de l'organisme à éliminer la molécule après avoir regagné la circulation systémique. C'est le volume de plasma épuré via les différents organes impliqués dans la phase d'élimination par unité du temps (heure) [11].

□ **Le temps de demi-vie d'élimination** : le temps nécessaire pour que la concentration du médicament dans le plasma diminue de moitié. Il dépend du Vd et la Cl [11].

### 2.2.2 Pharmacodynamie

Elle décrit les effets des médicaments sur l'organisme, d'une autre manière, c'est l'étude des interactions entre une molécule et ses différentes cibles. Ces études permettent de distinguer les effets propres à la molécule (pharmacodynamie spécifique) avec la mise en évidence d'une relation dose-effet et effet-temps, la détermination de la Dose Efficace 50 (DE50), toujours exprimée en mg/kg va permettre l'obtention de 50% de l'effet maximal, et la recherche du mécanisme d'action précis de la molécule. Elle permet également l'étude des impacts d'une molécule sur d'autres cibles, notamment avec la détection d'éventuelles interactions pouvant causer des effets secondaires graves [7,15].

### 2.2.3 Toxicité

Actuellement l'étude toxicologique est devenue indispensable pour la mise au point des nouveaux médicaments afin d'assurer l'innocuité du produit avant sa mise sur le marché. La toxicologie est définie comme étant une discipline scientifique qui étudie les effets indésirables d'une molécule chimique sur les organismes vivants, pouvant provoquer des dommages sévères, voire mortels dans les cas les plus graves. Certains effets indésirables ne sont qu'une exagération de l'effet recherché, d'autres sont indirectement liés à l'effet recherché du fait de la présence de sites qui ressemblent au tissu ciblé dans d'autres organes, ceci est dû à un problème de sélectivité de la molécule. D'autres effets indésirables sont liés au médicament mais n'ont rien avoir avec l'effet recherché [13,11].

Le paramètre qui exprime la toxicité est la DL50 : c'est la dose létale capable de tuer 50% d'une population. On distingue trois types de toxicité [16] :

- Toxicité aiguë: c'est l'administration massive et en une fois du médicament, l'expression des effets est alors immédiate [16].
- Toxicité subaiguë : due à une absorption chronique pendant plusieurs mois. Les effets n'affectent en général que certains organes [16].
- Toxicité chronique à long terme, où il y a sommation des doses absorbées jusqu'à atteindre la dose seuil, dans le cas de produits cumulatifs comme le plomb. Il se peut aussi qu'il y ait sommation des effets comme dans le cas des substances irritantes [16].

#### 2.2.3.1 Pouvoir cancérigène et mutagène

Ce test a pour objectif de détecter une éventuelle cancérogénicité et des modifications du matériel génétique induites par le médicament (effet mutagène), en étudiant une population animale pendant plus de 2 ans et en réalisant des tests in vitro sur des cellules et tissus mutés. Généralement, les tests réalisés sont les suivants :

- Test d'aberration chromosomique, in vitro, sur cellules de mammifères ;
- Test d'aberration chromosomique, in vivo, sur cellules hématopoïétiques de rongeur ;
- Test de mutation génique ou test d'Ames (voir figure 3). [7,15]

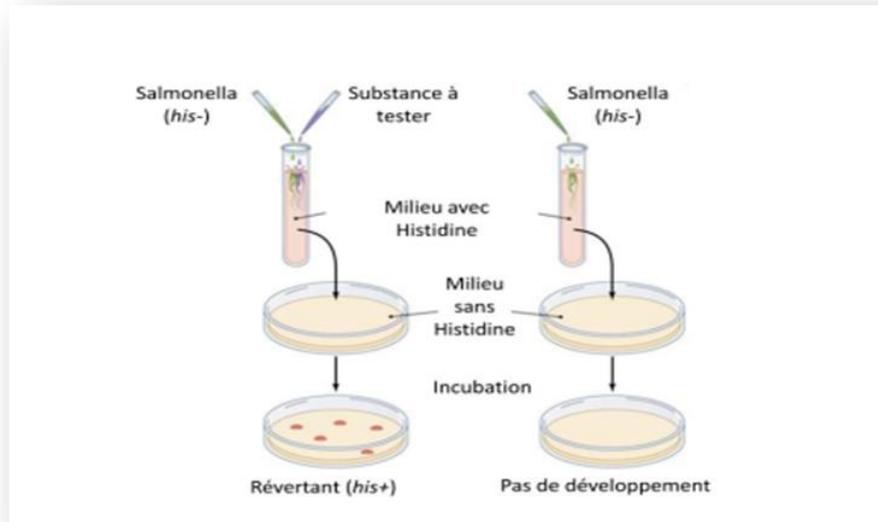


Figure 3 : Déroulement d'un test d'Ames [17].

### 2.2.3.2 Pouvoir tératogène et embryotoxicité

Ces tests permettent de mesurer la toxicité induite par une molécule sur le développement d'un embryon et d'un nouveau-né, sur une ou plusieurs générations [7].

## 2.3 Etudes cliniques

Ces études visent à réaliser des démonstrations pharmaceutiques et cliniques pour les candidats médicaments sélectionnés dans la phase préclinique.

La démonstration pharmaceutique permet le développement de formulations galéniques administrables à l'être humain, en déterminant le mode et la voie d'administration, la forme galénique et la dose en principe actif... etc.

La démonstration clinique quant à elle, permet l'évaluation de la tolérance et l'efficacité des médicaments en passant par quatre phases essentielles (I, II, III, IV)

### 2.3.1 Phase I

L'objectif de cette phase est de déterminer la dose maximale tolérable, c'est-à-dire la dose toxique au-delà de laquelle le produit ne pourrait pas être utilisé en thérapeutique. Il s'agit de la première administration chez l'être humain ; réalisée chez un nombre limité (quelques dizaines) de volontaires sains souvent du sexe masculin et en utilisant une dose unique de départ très faible, qui pourra être augmentée progressivement jusqu'à l'apparition de signes d'intolérance [15,18].

### 2.3.2 Phase II

Elle se concentre sur l'étude de l'efficacité thérapeutique, la détermination de la dose optimale et la recherche d'une relation dose-effet, ainsi que la confirmation de l'activité clinique du médicament à la dose recommandée lors de la phase I. Cette phase est réalisée

par l'administration réitérée de différentes doses thérapeutiques chez un nombre modéré (50 à 500) de patients porteurs de la maladie visée (population homogène) [7,15].

### **2.3.3 Phase III**

L'objectif de cette phase est de tester le candidat médicament en conditions réelles, le comparer au placebo et/ou à un médicament de référence de la pathologie cible (s'il existe) et de déterminer le rapport bénéfice/ risque du traitement afin de confirmer son efficacité et son innocuité à la dose et à la formulation choisie.

Cette phase est réalisée par des administrations réitérées de différentes doses thérapeutiques en longue durée chez un nombre important (des milliers) de patients atteints de l'affection visée (population très hétérogène : âge, pathologies et traitements associés) [7,15].

### **2.3.4 Phase IV**

C'est après l'autorisation de mise sur le marché (AMM) que viendra cette phase, elle s'intéresse à l'étude et à la quantification des effets secondaires attendus, l'identification des effets secondaires inattendus pouvant conduire éventuellement au retrait du marché et/ou des complications tardives, elle précise aussi des nouvelles contre-indications et/ou des interactions médicamenteuses non répertoriées, c'est la phase de pharmacovigilance [8,19].



## 1 Approche in silico

### 1.1 Généralités

Le terme "in silico " est un terme latin qui signifie "dans le silicium" qui est un matériau utilisé dans la fabrication des puces informatiques. Ce terme regroupe l'ensemble des méthodes basées sur les lois de physique et de la chimie qu'elles-mêmes reposent sur les approches mathématiques. C'est une approche moderne connue sous le nom de la chémoinformatique regroupe l'ensemble d'outils de recherche, d'exploitation et de description de la relation entre la structure et les propriétés biopharmaceutiques et pharmacologiques. Cette approche dispose d'outils très puissants aussi bien dans l'exploitation et la construction de l'espace chimique que dans l'optimisation et le suivi des propriétés biologiques et chimiques des molécules. Grâce à cette approche la conception et le développement du médicament ne s'arrêtent pas à des recherches in vivo et in vitro mais aussi les techniques, in silico, par la simulation d'un phénomène biologique à l'aide d'outils informatiques, par l'utilisation des bases de données issues de l'expérimentation in vivo et in vitro. Ces méthodes trouvent leur place comme méthodes de substitution qui donnent des résultats de bonne qualité, et même certaines méthodes couplées peuvent donner des résultats équivalents à l'expérimentation in vivo [20-24].

Les méthodes, in silico, sont des méthodes alternatives de l'expérimentation animale permettant de recueillir des résultats fiables et rapides sur les substances chimiques spécialement sur le pouvoir toxicologique. Elles ont trouvé leur place après l'apparition de la règle de 3R (Remplacer, Réduire, Raffiner), élaborée en 1959 par Russell et Burch, pour assurer les bonnes pratiques en expérimentation animale [24].

### 1.2 Avantages de l'approche in silico

Parmi les avantages de l'approche, in silico, nous citons :

- **Réduction des tests sur les animaux**

Les méthodes, in silico, utilisent les données de l'expérimentation, in vivo et in vitro, déjà faites pour tester les substances chimiques, en évitant la répétition des expériences sur les animaux au niveau du laboratoire, par le recours à la simulation par ordinateur [24].

- **Réduction des coûts et des délais**

Le recours à ces méthodes permet de diminuer les coûts de l'expérimentation et le délai aussi en éliminant en amont les substances dont le pouvoir toxique est prononcé [24].

- **Test d'un grand nombre de substances chimiques**

Grâce à ces méthodes, le développement des nouvelles molécules est devenu facile et rapide, en testant une large gamme des substances pour trouver les molécules candidats médicaments [24].

- **Augmentation de la qualité des informations**

Les méthodes informatisées ont la capacité de combiner entre les données de l'expérimentation, in vivo et in vitro, pour créer une nouvelle approche qui permet de prédire le comportement des molécules sur le corps humain et sur l'environnement.

Ces méthodes ont un grand intérêt dans le domaine industriel, elles permettent de réduire les effets toxiques non anticipés pour les substances testées et elles vont les mieux classer [24].

- **Prédiction du comportement des substances chimiques**

Les méthodes, in silico, permettent la prédiction de propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des substances chimiques à partir de l'expérimentation sur d'autres molécules en se basant sur leurs mécanismes d'action [25].

### 1.3 Méthodes in silico

Les méthodes, in silico, appelées aussi la conception du médicament assistée par ordinateur (CADD) sont des méthodes de recherche ciblées, elles visent non seulement à identifier et à expliquer les raisons moléculaires de l'activité thérapeutique (conception des nouveaux médicaments), mais aussi à prédire les modifications chimiques possibles permettant d'améliorer l'activité thérapeutique (modélisation moléculaire). Aussi évaluer les propriétés physicochimiques, les capacités de liaisons intermoléculaires, les propriétés optiques, ou encore la réactivité des molécules ou des systèmes moléculaires [3, 11].

#### 1.3.1 Objectifs des méthodes in silico

Parmi les objectifs des méthodes, in silico, nous avons :

- Explication et identification de l'effet thérapeutique sur le plan moléculaire [11].
- Prédiction des modifications structurelles qui peuvent améliorer l'activité [11].
- Réduction des coûts et du temps nécessaires pour trouver la molécule prometteuse [11].
- Sélection des molécules candidats médicaments à partir d'une large gamme de chimiothèques afin de les tester expérimentalement [11].
- Optimisation des leads, aussi bien pour augmenter leur activité que pour optimiser leurs propriétés ADME-Tox [11].
- Conception de nouveaux composés en testant virtuellement une plus grande diversité de chémotypes [11].

#### 1.3.2 Types des méthodes in silico

La conception du médicaments, in silico, ou la conception du médicament assistée par ordinateurs (CADD) ou Drug design est divisée en deux catégories [26] :

- ❖ Approche basée sur la structure de la cible.
- ❖ Approche basée sur le ligand.

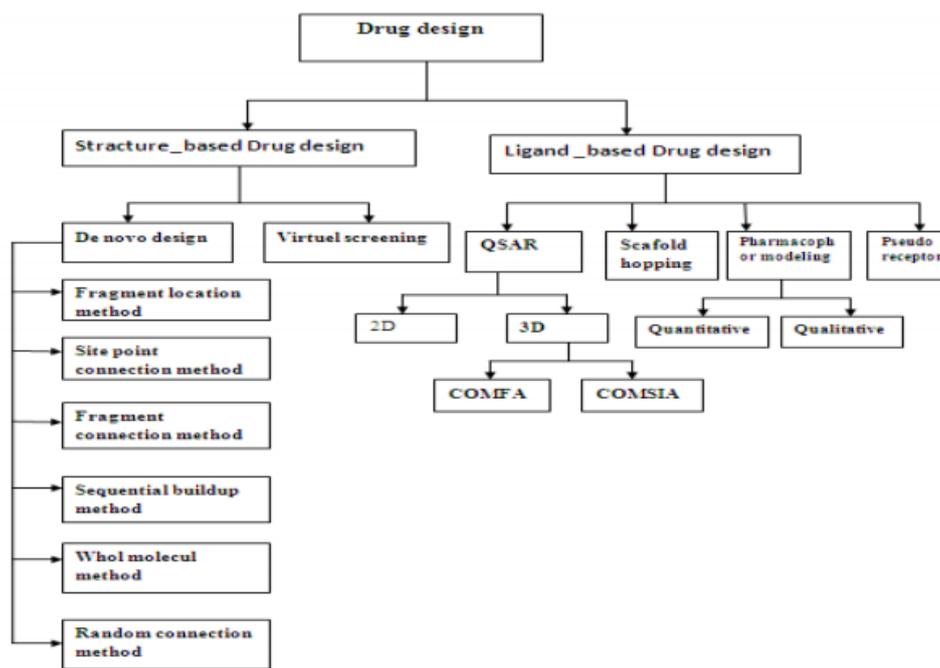


Figure 4: Approche in silico ou Drug design [9].

### 1.3.2.1 Approche basée sur la structure de la cible

Ces méthodes s'appuient sur la connaissance de la structure tridimensionnelle de la cible visée pour calculer les énergies d'interaction entre la protéine cible et les composés à tester, elles nécessitent l'identification de la cible biologique (la structure tridimensionnelle 3D) impliquée dans la pathologie et de disposer des données structurales de la cible. Cette structure tridimensionnelle disposant d'une haute résolution est déterminée à l'aide de la cristallographie aux rayons X ou encore la résonance magnétique nucléaire (RMN). Lorsque la structure tridimensionnelle est non disponible, ils ont recours à créer un modèle structural à base d'une protéine ou d'une molécule similaire de la même famille, généralement quand la structure de la cible est disponible on peut créer des molécules capables de se fixer sélectivement sur cette dernière tout en étudiant les interactions au niveau du site de liaison [11,7].

Cette approche regroupe deux catégories :

- ✓ Le criblage virtuel.
- ✓ La conception de novo de nouveau médicament.

### 1.3.2.2 Approche basée sur le ligand

Ces méthodes reposent sur le principe que les molécules similaires partagent des propriétés similaires, d'une autre manière sont des méthodes fondées sur l'hypothèse que des composés ayant des structures similaires interagissent avec la (les) même(s) cible(s). Cette approche est généralement préférée quand il y'a un manque de données sur la structure tridimensionnelle de la cible [ 3,7,27].

Cette approche a deux modèles très importants qui sont la modélisation de pharmacophore et Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR).

#### A. Modélisation de pharmacophore

Le terme pharmacophore est utilisé pour la première fois dans un article de Lemont kier en 1971. Il est défini comme étant l'ensemble des caractéristiques structurales et électroniques permettant une interaction entre les molécules et la cible biologique, en bloquant ou en déclenchant une réponse biologique. Autrement dit, c'est tous les points fonctionnels (regroupe l'ensemble des donneurs et les accepteurs de liaisons hydrogène) d'une molécule assurant sa conformation spatiale lors de sa fixation au niveau de la cible, lorsque il y'a plusieurs molécules qui sont considérées comme étant actives sur la cible, les points fonctionnels en commun sont retenus pour pouvoir créer un nouveau pharmacophore pour les molécules testées. Donc pour construire un pharmacophore, il faut avoir des informations suffisantes sur la structure du ligand de référence et son activité afin de déterminer les parties impliquées dans cette activité qui serviront pour identifier des nouvelles molécules. [10,9]

### B. Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR)

#### ➤ Historique

Le développement du modèle QSAR a été réalisé en 1868 par l'hypothèse de Crum-Brown et Fraser qui dit que l'action physiologique d'une substance est liée à sa structure, aussi ils ont dit que la modification de la structure chimique d'une substance engendre forcément la modification de l'activité. En 1964, Hansch et al ont élaboré le modèle QSAR pour la première fois par une équation mathématique. Ce modèle est utilisé pour l'optimisation de lead dans la conception du médicament dans le but de découvrir les différentes propriétés de la substance particulièrement sa toxicité [11,28].

#### ➤ Définition du modèle QSAR

Une Relation Quantitative Structure Activité (en anglais : Quantitative Structure Activity Relationship ou QSAR) signifie que la structure chimique est corrélée à un effet qui représente l'activité biologique de la molécule. C'est un modèle qui fait la liaison entre la structure chimique et l'effet biologique en se basant sur des équations mathématiques à l'inverse du modèle pharmacophore, qui s'intéresse aux caractéristiques essentielles d'un ligand actif tandis que QSAR étudie l'effet de certaines propriétés sur l'activité de la molécule [9, 24].

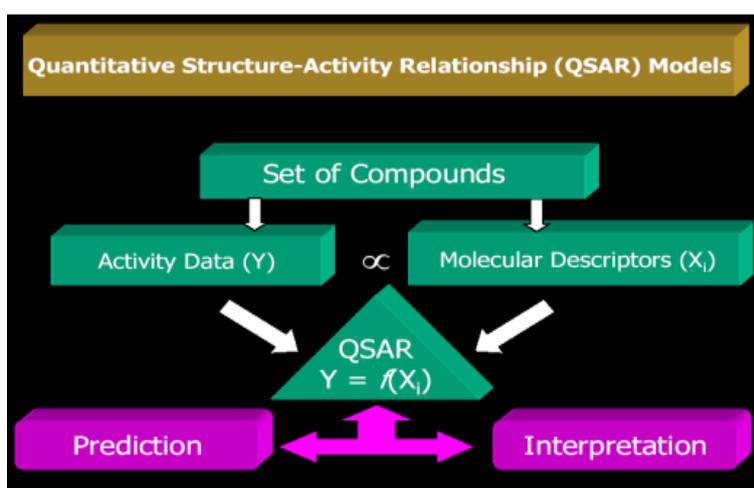


Figure 5: Modèle QSAR [9].

Le modèle QSAR est un modèle statistique qui fait le lien entre la structure chimique ou descripteur moléculaire (X) et l'activité biologique (Y) selon une équation mathématique et l'activité biologique est en fonction de la structure  $Y = f(X)$ , l'objectif est de créer une règle générique qui explique la relation entre la structure et l'activité afin de prédire l'activité des molécules inconnues à partir de la structure moléculaire [11,24].

➤ Utilisation du modèle QSAR

- ✚ Prédiction du comportement de la molécule et ses propriétés biologiques ;
- ✚ Test un grand nombre de substances chimiques et la détermination leur toxicité en courte durée (technique rapide) gagnant du temps et de l'argent ;
- ✚ Réduction des animaux utilisés en expérimentation.

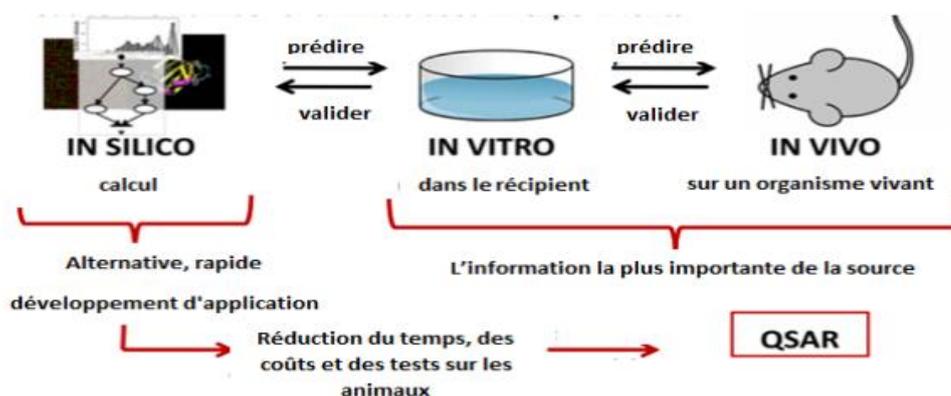


Figure 6: Importance du modèle QSAR [29].

## 1.4 Modélisation moléculaire

### 1.4.1 Définition

La modélisation moléculaire regroupe un ensemble de méthodes et techniques bio-informatiques et biophysiques utilisées dans le but de prévoir la réactivité et d'étudier le comportement des molécules ou des systèmes de molécules. Elle permet de visualiser et de représenter la structure tridimensionnelle d'une molécule et d'obtenir des informations dynamiques avec un niveau de détail qui est difficile, voire impossible d'obtenir par des techniques expérimentales [8,30].

### 1.4.2 Utilité de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire permet :

- Prédiction de la structure 3D des molécules en se basant sur celle déjà connue des molécules similaires [8] ;
- Etude de l'effet d'une mutation sur l'activité des molécules [8] ;
- Synthèse des nouveaux médicaments suite à la connaissance de la structure 3D de la cible [8] ;
- Connaissance du comportement des protéines en présence d'un substrat [30] ;
- Développement de moyens de calcul puissants à coût modéré [31] ;

□ Possibilité de l'interprétation des phénomènes et des expériences à un niveau microscopique [31].

### 1.4.3 Méthodes de la modélisation moléculaire

#### a. Méthodes quantiques

Elles sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM) et permettent de déterminer l'énergie et la distribution électronique. Ces méthodes sont particulièrement bien adaptées pour les petites molécules avec un nombre d'atomes inférieur à 300 [8,4].

#### b. Mécanique moléculaire

C'est une méthode d'analyse conformationnelle basée sur le calcul de l'énergie atomique en utilisant des simplifications pour décrire et comprendre mieux un système modélisé où les atomes sont assimilés à des sphères dures chargées et liées entre eux par des liaisons considérées comme des ressorts possédant une distance d'équilibre [30,32].

#### c. Dynamique moléculaire

C'est une méthode qui calcule les mouvements des molécules par l'application des lois de la mécanique newtonienne classique en considérant une molécule comme un ensemble d'atomes dont la position change avec le temps, chaque atome est assimilé à une masse ponctuelle dont le mouvement est étudié par les forces exercées sur cet atome [8].

## 2 Prédiction in silico ADMET

### 2.1 Généralités

Un bon candidat médicament est une molécule présentant de bonnes propriétés pharmacocinétiques (système ADME), avec moins de toxicité et d'effets secondaires [33]. La conception du médicament ou Drug Design est une procédure d'optimisation multiparamétrique dont le but est de créer une molécule avec une bonne activité biologique et les caractères pharmacocinétiques souhaitables, toutefois, plusieurs molécules ayant une très bonne activité biologique n'ayant pas peut être utilisé en clinique en raison de leur mauvaise absorption, faible biodisponibilité, inefficacité et/ou des propriétés hautement toxiques, ces paramètres sont la clé de la détermination de la dose efficace [33,34,35].

Pour pallier à ces problèmes, des études de profil pharmacocinétique et toxicologique in silico, ont trouvé leur place comme des méthodes alternatives de l'expérimentation sur l'animal avec la performance et la rapidité voulue. Cette prédiction in silico va permettre de réduire significativement les cas échoués de la conception des médicaments causés par les paramètres pharmacocinétiques inappropriés. Ces études sont poussées loin par la capacité de prédire le profil pharmacocinétique, les propriétés physicochimiques et toxicologiques. [33,35]

### 2.2 Prédiction des propriétés pharmacocinétiques

#### 2.2.1 Prédiction de l'absorption in silico

L'absorption par le tractus gastro-intestinal est très compliqué, elle peut-être influencer par trois types de facteurs : facteurs physicochimiques, facteurs physiologiques et des facteurs liés à la formulation. Etant donné que les facteurs liés à la formulation sont optimisés expérimentalement ; alors que les facteurs physiologiques (le passage gastrique, le pH gastro-intestinal, le transit intestinal, le transport actif et efflux, et le métabolisme de la paroi intestinale) sont des paramètres non contrôlables, donc on prédit l'absorption en fonction des propriétés physicochimiques des composés [22].

Les paramètres utilisés pour prédire l'absorption : la perméabilité à travers les cellules Caco-2, solubilité dans l'eau, l'absorption à travers le tractus gastro-intestinal, les inhibiteurs et les substrats de la glycoprotéine P (PgP).

##### 2.2.1.1 Perméabilité Caco-2

La lignée cellulaire d'adénocarcinome humain utilisée en alternative de l'épithélium intestinal humain dans le but d'estimer la perméabilité intestinale des médicaments, in vivo, grâce à leur similitude morphologique et fonctionnelle. C'est une absorption médiée par un transporteur ou processus du transport actif pour qu'une molécule puisse traverser les membranes cellulaires intestinales, par le mécanisme de diffusion passive [36, 37].

### 2.2.1.2 Solubilité dans l'eau

Elle reflète la solubilité d'une molécule dans l'eau à 25°. Les médicaments hydrosolubles sont mieux absorbés que les médicaments liposolubles [36, 37].

### 2.2.1.3 HIA (humain intestinal absorption)

L'intestin représente le principal site d'absorption pour les médicaments administrés par voie orale. Donc la prédiction de ce paramètre reflète la prédiction de la proportion du médicament absorbé par l'intestin grêle. C'est un élément qui conditionne l'efficacité du médicament en influençant la biodisponibilité [36, 37].

### 2.2.1.4 Pgp inhibiteur

La glycoprotéine P, également connue sous le nom de MDR1 ou 2 ABCB1, est une protéine membranaire de la superfamille des transporteurs de la cassette de liaison à ATP (ABC). C'est probablement le transporteur d'efflux le plus promiscue, car il reconnaît un certain nombre de médicaments structurellement différents, notamment beaucoup d'entre eux sont également des substrats du CYP3A4 [36, 37].

### 2.2.1.5 Pgp substrat

La modulation du transport médié par la glycoprotéine P a des implications pharmacocinétiques importantes pour les substrats de la Pgp qui peuvent être exploitées pour des avantages thérapeutiques spécifiques ou entraîner des contre-indications [36, 37].

## 2.2.2 Prédiction de la distribution in silico

Les paramètres utilisés pour prédire la distribution sont :

### 2.2.2.1 Pénétration BBB (blood-brain barrier)

C'est l'une des barrières les plus sélectives qui sépare le sang circulant du système nerveux central. Les médicaments qui agissent dans le SNC doivent traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) pour atteindre leur cible biologique. L'avantage de prédire les médicaments perméables de BBB est d'identifier les substances toxiques pour le cerveau et connaître les drogues ayant une cible au niveau central [36, 39].

### 2.2.2.2 FU (fraction unbound ou fraction non liée)

Dans le plasma, les médicaments existent en équilibre entre une forme liée et non liée aux protéines plasmatiques. L'efficacité d'un médicament peut être affectée par le degré auquel il est lié aux protéines plasmatiques, car plus il est lié moins il traverse les membranes cellulaires et moins il atteint la cible biologique [36,37].

### 2.2.2.3 PPB (plasma proteins binding ou Liaison aux protéines plasmatiques)

L'un des principaux mécanismes d'absorption et de distribution des médicaments est la liaison aux protéines plasmatiques, cette liaison influence fortement le comportement

pharmacodynamique d'un médicament. Elle peut avoir un impact direct sur la biodisponibilité orale du médicament [36,37,38].

#### **2.2.2.4 VD (volume de distribution)**

Le volume de distribution est un concept théorique qui relie la dose administrée à la concentration initiale réellement présente dans la circulation. C'est un paramètre important pour décrire la distribution, in vivo, des médicaments et qui peut décrire les caractères de distribution des molécules inconnues comme les conditions de liaisons aux protéines plasmatiques, la quantité distribuée dans les fluides corporelles, et la quantité absorbée par les tissus [36,37].

### **2.2.3 Prédiction de métabolisme in silico**

Parmi les paramètres de prediction de métabolisme sont : les inhibiteurs et les substrats des cytochromes P450 :

#### **2.2.3.1 Inhibiteurs des cytochromes P450**

Le P450 est une enzyme de détoxification dans le corps, il peut inhiber plusieurs médicaments comme il peut activer d'autres. Le cytochrome P450 joue un rôle dans l'oxydation des médicaments pour faciliter leur excrétion. La connaissance des médicaments inhibés par ces isoenzymes est importante. Ces derniers sont divisés en deux catégories : isoenzymes de la phase I (réactions oxydatives) et de la phase II (réactions de conjugaisons). La famille du cytochrome P450 humain (enzymes de phase I) contient 57 isoenzymes dont les principales : 1A2, 3A4, 2C9, 2C19 et 2D6. Le siège principal des cytochromes responsables des réactions de phase I est le foie [36, 39].

#### **2.2.3.2 Substrats du cytochrome P450**

Il est important d'évaluer si un composé peut être un substrat du cytochrome P450, les deux principaux isomères responsables de métabolisme des médicaments sont 2D6 et 3A4 [36, 37].

### **2.2.4 Prédiction de l'excrétion in silico**

#### **2.2.4.1 Clairance (Cl)**

Est un processus par lequel le corps élimine les médicaments, généralement associée aux médicaments peu ou très hydrophiles, son siège principal est le rein. La clairance peut être utilisée pour estimer la dose qui doit être administrée pour qu'un composé puisse fournir l'effet thérapeutique voulu (si on prend des médicaments dont la clairance est élevée, ils nécessitent des doses plus élevées pour atteindre les seuils) [40,41].

#### **2.2.4.2 Demi-vie (T<sub>1/2</sub>)**

La demi-vie est un concept qui implique le volume de distribution, et la clairance rénale, donc ce paramètre permet de les estimer. C'est un paramètre qui permet l'estimation de la

fréquence dont la dose doit être redéfinie pour permettre de maintenir la concentration thérapeutique [38,41].

## **2.3 Prédiction des propriétés toxicologiques**

### **2.3.1 Bloqueurs hERG**

HERG (Le gène humain lié à l'éther-a-go-go) est un gène qui code pour un canal cardiaque de potassium voltage-dépendant, si ce canal est bloqué il y aura par conséquent un syndrome du QT long, des arythmies et une torsade de pointe (TdP), qui entraînent des palpitations, des évanouissements ou même une mort. Ce paramètre était une des causes principales de retrait des médicaments du marché ou restriction de leur usage [36, 41].

### **2.3.2 H-HT (hépto-toxicité humaine)**

Les DILI sont considérés comme la cause majeure de retrait des médicaments du marché, en plus les effets hépatiques indésirables dans les essais cliniques conduit souvent à un arrêt tardif et coûteux des programmes de développement du médicament. Si une molécule présente au moins un évènement hépatique pathologique ou son administration peut être associée à une perturbation de la fonction hépatique, cette molécule est classée comme étant hépatotoxique [36,37,38 ].

### **2.3.3 DILI (Drug-induced liver injury)**

Qui signifie, les lésions hépatiques induites par les médicaments. Il est important de reconnaître et d'éliminer l'agent incriminé le plus rapidement possible pour prévenir la progression vers une maladie hépatique chronique et/ou une insuffisance hépatique aiguë [42].

### **2.3.4 Toxicité AMES (effet mutagène)**

Test utilisé pour évaluer le potentiel mutagène de la molécule qui peut être responsable d'un effet cancérogène plus tard en utilisant des bactéries [36,37,38].

### **2.3.5 Cancérogénicité**

L'un des effets les plus recherchés lors du développement des médicaments en raison des effets graves sur la santé voir même mortels sur les patients. Le mécanisme cancérigène des produits chimiques peut être dû à leur capacité à endommager le génome ou à perturber les processus métaboliques cellulaires. Une fois la molécule a prouvé son pouvoir cancérigène, elle sera immédiatement retirée du marché [36].

### **2.3.6 Sensibilité cutanée**

La sensibilité est un effet associé aux médicaments appliqués par voie cutanée. On fait l'évaluation pour savoir si un composé, qui peut entrer en contact avec la peau, peut induire une dermatite de contact allergique qui est une préoccupation de sécurité importante [36, 37, 38].

### 2.3.7 Corrosion/Irritation des yeux

Les tissus de la cornée et de la conjonctive comprennent la surface antérieure de l'œil et par conséquent, les tissus de la cornée et de la conjonctive sont directement exposés à l'air et subissent facilement des lésions par des produits chimiques. Il existe plusieurs substances, telles que les produits chimiques utilisés dans la fabrication, l'agriculture et la guerre, les produits pharmaceutiques oculaires, les produits cosmétiques et les produits ménagers, qui peuvent provoquer une irritation oculaire (EI) ou une corrosion oculaire (EC) [36].

### 2.3.8 Toxicité respiratoire

La toxicité respiratoire est devenue la principale cause de sevrage médicamenteux. La toxicité respiratoire induite par les médicaments est généralement sous-diagnostiquée car elle peut ne pas présenter des signes ou des symptômes précoces distincts dans les médicaments courants et peut survenir avec une morbidité et une mortalité importante. Par conséquent, une surveillance et un traitement attentif de la toxicité respiratoire sont d'une grande importance [36].

## 3 Exemples de logiciels de prediction in silico ADMET

### 3.1 Admetlab

Admetlab est une plateforme développée pour le dépistage et l'évaluation du profil ADMET des molécules sur la base des données complète de 288 967 produits chimiques et 31 modèles QSAR optimisés. C'est une plateforme d'accès ouvert et en ligne pour un dépistage rapide des propriétés physicochimiques, médico-chimiques, pharmacocinétiques (A= absorption ; D= distribution ; M= métabolisme ; E= élimination) et toxicologique [43].

Admetlab permet de mesurer 17 propriétés physicochimiques, 13 propriétés de chimie médicinale, 23 paramètres ADME, 27 paramètres de toxicité et 8 règles de toxicophore [44].

### 3.2 AdmetSAR

AdmetSAR est une plateforme à accès libre pour la prédiction des propriétés ADMET. C'est une plateforme de haute qualité pour plus de 96 000 composés enregistrés et évalués soigneusement collectés des revues publiées, avec 27 modèles QSAR dont 22 sont pour une classification qualitative et 5 pour une régression quantitative [45].

### 3.3 PkcsM

PkCSM est une plateforme d'analyse et d'optimisation automatique pour prédire les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des petites molécules, qui s'appuie sur des modèles de distance /pharmacophore, codés sous forme de signatures basées sur des graphes. C'est un outil d'accès libre et en ligne pour aider les chimistes médicaux à prédire les propriétés pharmacocinétiques, physicochimiques et toxicologiques [38].

### 3.4 SwissAdme

SwissAdme est une plateforme d'accès libre qui permet l'estimation des propriétés physicochimiques, ADME, Drug-linkess et chimie médicale.

A la différence des autres plateformes de prédictions, SwissAdme est caractérisé par des points forts exemple : différentes méthodes de saisie, il y aura apparition du nom de la molécule saisie ou son identité avec le résultat d'évaluation, calcul et évaluation pour plusieurs molécules, la possibilité d'enregistrer, partager les résultats par molécule individuelle ou sous forme de graphe, en plus SwissAdme est intégré directement dans la plateforme SwissDrugDesign [46].

### 3.5 FAF-Drugs

FAF-Drugs pour Free ADME/TOX Filtering and Drug-Like, c'est une plateforme d'accès libre, le programme de FAF-Drugs testé 50 080 molécules dont 49 334 ont été filtrées par ce logiciel. En plus il peut filtrer 50 080 molécules dans environ 20 minutes.

Dans la section « FAF-Drugs4 », nous avons trois services supplémentaires, à savoir :

**Bank-Cleaner** : outil de préparation de la bibliographie de composé pour le traiter correctement.

**Bank-Formatter** : un outil dérivé de FAF-Drugs4 uniquement dédié à la curation des données.

**Filter-Editor** : un outil pour concevoir votre propre fichier de paramètres de filtrage. Pour cela, nous pouvons saisir nos paramètres dans plusieurs zones dédiées, et cliquer sur le bouton RUN.[47, 48]

### 3.6 PreADMET

C'est une plateforme accessible par des navigateurs tels que Netscape ou Internet Explorer ; L'application est écrite principalement en PHP (Hypertext Preprocessor), un langage de script couramment utilisé pour les applications Web qui communique avec le navigateur via une interface CGI (Common Gateway Interface). Le code PHP utilise à son tour un ensemble de programmes C qui implémentent une grande partie des fonctionnalités de PreADMET [49].

Elle est constituée de 4 parties : Calcul des descripteurs moléculaires, Drug-likeness Prediction, Prédiction ADME et la Prédiction de la toxicité [49].

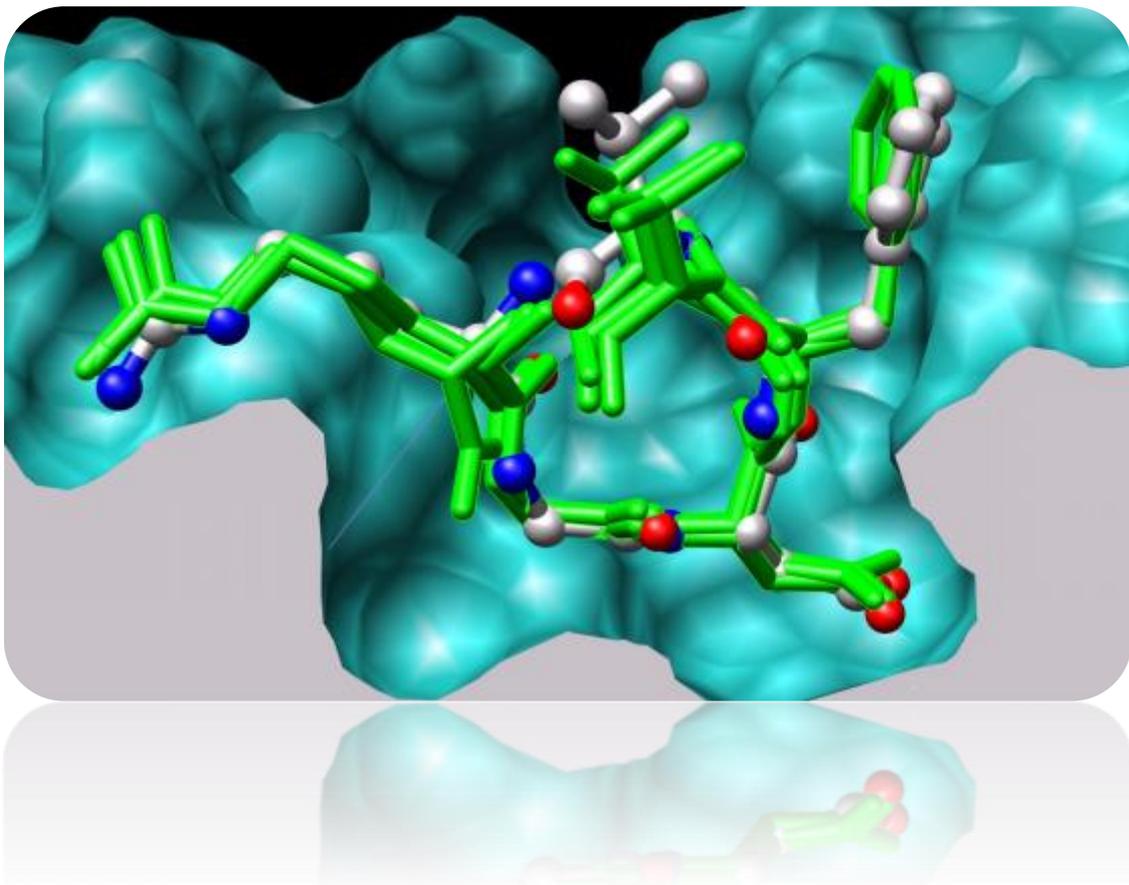
### 3.7 VNN ADMET

C'est une plateforme d'accès libre en ligne pour la prediction des propriétés admet et de créer des nouveaux modèles basés sur la méthode vNN (variable nearest Neighbors), il

existe 15 modèles de prediction admet rapide et avec une très bonne qualité et fiabilité pour certaines propriétés telles que la cytotoxicité, la mutagenecité, la cardiotoxicité... [50,51]

## CHAPITRE III

### Docking moléculaire



## 1 Définition

En 1980, le docking moléculaire est devenu une méthode de recherche très importante dans le domaine de la conception du médicament assistée par ordinateur. Il fait partie de criblage structure-Based. C'est une méthode de filtrage plus rapide et moins couteuse à l'inverse des méthodes expérimentales [22].

Le docking moléculaire ou l'amarrage moléculaire est une approche qui permet de prédire l'aptitude de deux molécules à s'interagir et permet de reproduire les interactions ligand protéine. Ce principe d'interaction est conditionné par l'action d'une molécule envers sa cible. C'est une méthode couramment utilisée en chimie pharmaceutique pour prédire et reproduire les interactions ligand-cible et surtout utilisé dans le Drug Design ou la conception du médicament quand un récepteur particulier est ciblé [3, 27,52].

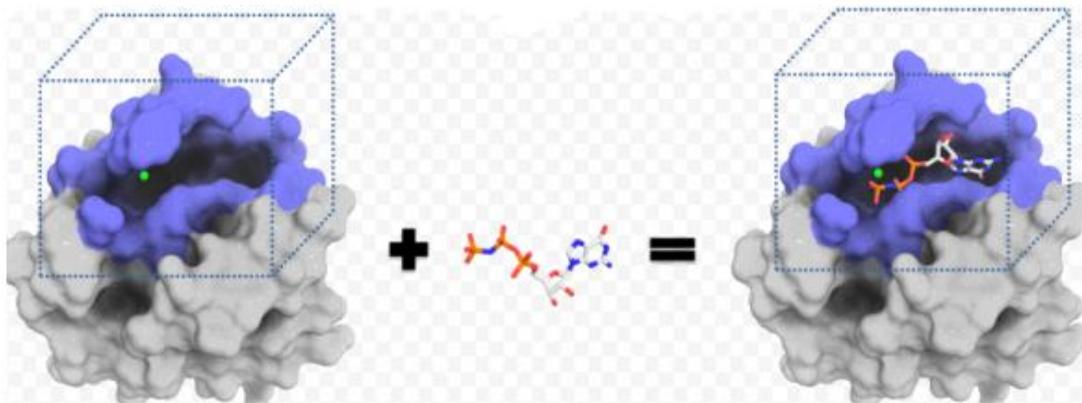


Figure 7 : Docking de deux molécules [53].

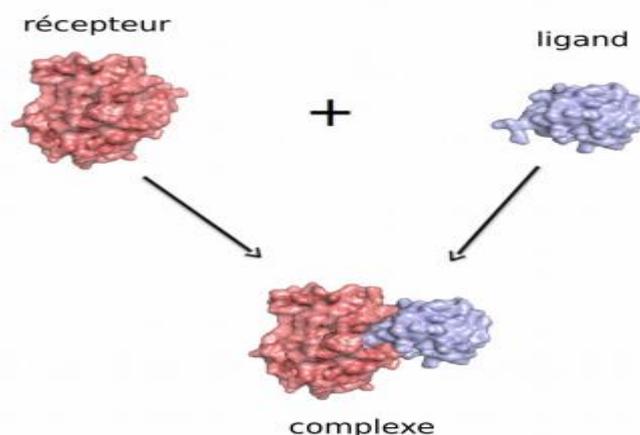


Figure 8 : Docking récepteur-ligand [54].

Le docking est réalisé en deux parties : une partie docking qui représente le docking proprement dit, c'est la recherche et l'identification des conformations appropriées par les algorithmes du docking, et une deuxième partie, c'est le scoring qui mesure l'affinité des différentes conformations [55].

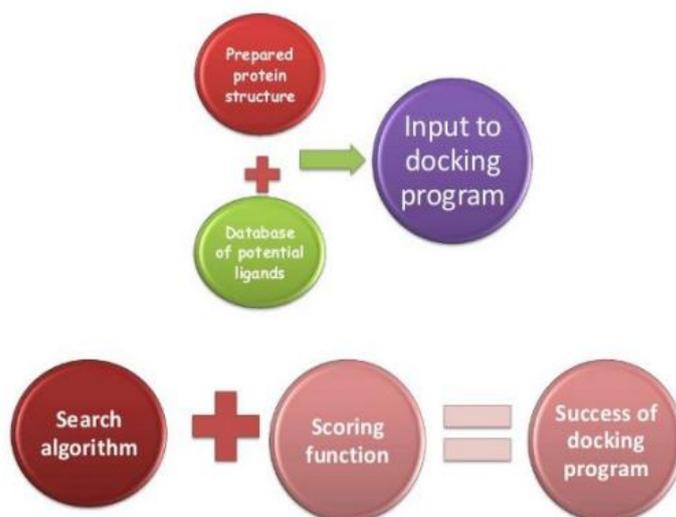


Figure 9 : Programme du docking [56].

## 2 Intérêt du docking moléculaire

Pour l'étude expérimentale de la structure tridimensionnelle des complexes protéines, les scientifiques ont recours aux techniques comme la cristallographie, RMN, cryomicroscopie électronique, etc. mais ces techniques actuelles présentent des limitations (liées à la taille, la nature des protéines...etc.), en plus sont très coûteuses en terme de prix et du temps. C'est pourquoi il y avait le développement du docking moléculaire, qui prédit la structure complexe des protéines à partir des molécules isolées ce qui est plus facile à mettre en œuvre et plus rapide et moins coûteux que les méthodes expérimentales [57].

## 3 Objectifs du docking moléculaire

Le docking a pour objectif de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de 2 ou de plusieurs molécules, en cherchant les orientations dans l'espace et les conformations favorables pour fixer un ligand à son récepteur, également il vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules simples *in silico*, ce qui est facile, moins cher et plus rapide que les méthodes expérimentales [58].

Donc c'est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il en existe 2 approches :

- Basée sur la complémentarité des surfaces.
- Basée sur le calcul de l'énergie du complexe.

Les algorithmes du docking sont donc très utiles en pharmacie, car la plus part des principes actifs sont des petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible biologique (récepteur) généralement d'origine protéique. Ces algorithmes sont capables de générer une conformation 3D (tridimensionnelle) de l'interaction ligand-cible similaire à celle générée expérimentalement par cristallographie aux rayons X [9,58].

#### 4 Types d'interactions intermoléculaires (médicament/récepteur)

La majorité des médicaments interagissent avec leurs cibles par des liaisons intermoléculaires à une faible énergie dans des régions appelées sites de liaison, cependant certains médicaments forment des liaisons covalentes nécessitant une forte énergie [59].

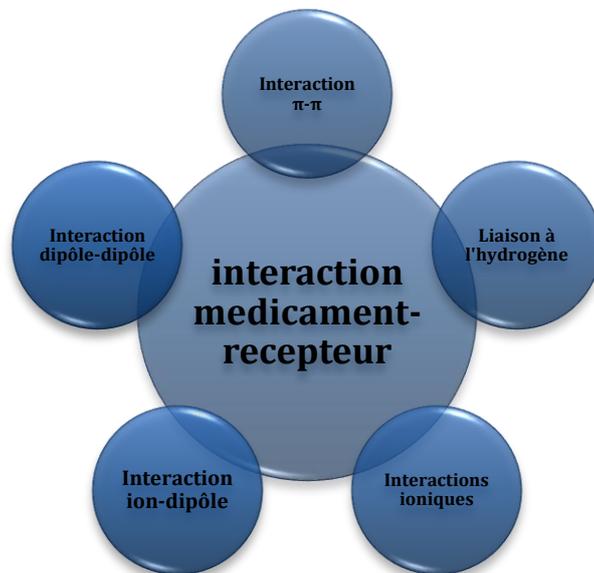


Figure 10 : Types d'interactions médicament-récepteur [59].

##### 4.1 Interaction $\pi$ - $\pi$

Ce sont des interactions non covalentes qui se produisent dans les cycles aromatiques.

##### 4.2 Liaisons hydrogènes

Leurs interactions impliquent deux groupes :

- Donneurs de liaison hydrogène (HBD).
- Accepteurs de liaison hydrogène (HBA).

##### 4.3 Interactions ioniques

Les molécules peuvent avoir des groupes acides et/ou basiques. L'attraction se fait entre les ions de charge opposée. La force d'une liaison diminue en augmentant la distance entre les charges.

##### 4.4 Interactions ion-dipôle

Les interactions ion-dipôle sont électrostatiques entre un ion et un groupe neutre avec un dipôle. Les groupes moléculaires tels que les carbonyles (C=O) ont un moment dipolaire permanent.

#### 4.5 Interactions dipôle-dipôle

Les interactions dipôle-dipôle sont des interactions électrostatiques entre dipôles permanents. Les interactions dipolaires induites par les ions se produisent lorsque le champ électrique d'un ion induit un dipôle dans une molécule non polaire.

### 5 Outils du docking moléculaire

L'utilisation des logiciels du docking dans le domaine médicale et pharmaceutique, est devenue indispensable, car la plupart des principes actifs (ligands) sont de petites molécules qui interagissent avec une cible (protéine) biologique d'intérêt thérapeutique.

#### 5.1 Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. En biologie, un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude des protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions. La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure tridimensionnelle (3D). La structure des ligands est obtenue par deux moyens soit par l'utilisation des collections de molécules (chimiothèques) virtuelles aussi bien commerciales, cette moyenne est constituée de bases de données des structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimique les plus utilisées, nous citons PubChem par exemple, ou par l'utilisation les ligands du pdb ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw... [60,61].

#### 5.2 Récepteur

Le récepteur est une macromoléculaire, le plus souvent une protéine, pour l'obtention on peut utiliser les structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la banque de donnée PDB [62]. Les données structurales sont obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN qui sont accessibles gratuitement sur internet via des sites Web définis de ses organisations membres dont : RCSB PDB, PDBj, PDBe,...etc. Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [60,61].

## 6 Différents types du docking moléculaire

### 6.1 Docking rigide

Le ligand et la cible sont considérés comme deux entités rigide, le docking rigide prend en compte uniquement les rotations et les translations du ligand ce qui limite la spécificité et la précision des résultats. C'est une méthode qui reflète le principe de clé et la serrure, seul le ligand (la clé) qui possède la bonne taille et la bonne forme peut ouvrir la serrure (la protéine ou la cible) [3,27].

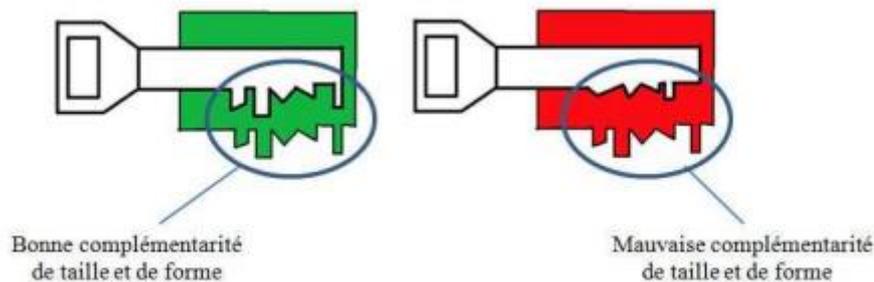


Figure 11 : Docking rigide [63].

### 6.2 Docking semi-flexible

la protéine est maintenue rigide, tandis que toute ou une partie du ligand est flexible pendant tout le docking [3].

### 6.3 Docking flexible

Les acides aminés formant la poche ou le site actif de la protéine ainsi que le ligand sont maintenus flexibles. Ce type du docking est plus lent en terme du temps de calcul mais aussi c'est le plus réaliste [3,64].

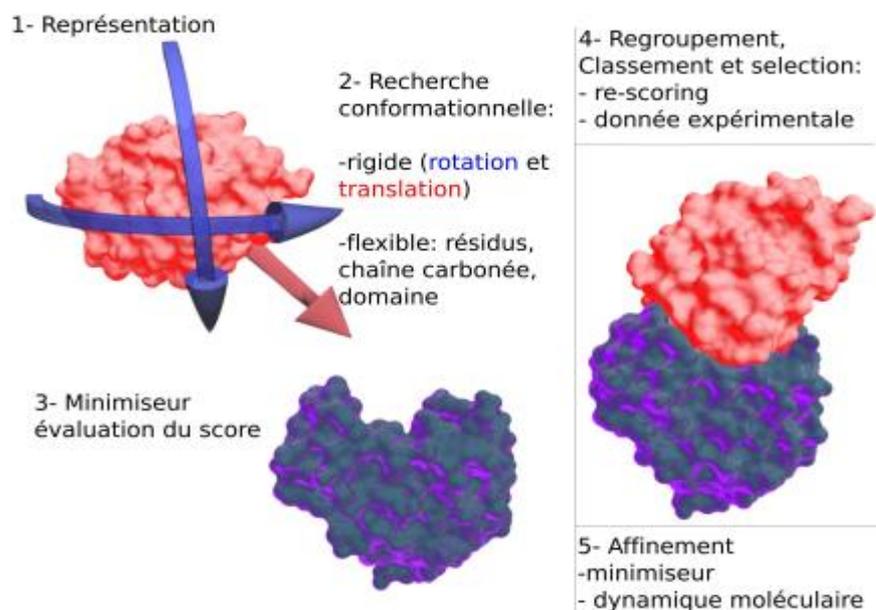


Figure 12 : Schéma de protocole général du docking [57]

## 7 Paramètres du docking moléculaire

### 7.1 RMSD (Root Mean Square Deviation )

La capacité à reproduire le meilleur complexe expérimental est déterminé par la valeur RMSD, qu'elle soit la plus petite possible, entre la pose du ligand prédite par le logiciel et la structure co-cristallisé dans le site actif de la cible. L'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD. Toutes les valeurs du RMSD inférieure à 2 Å sont considérées comme positives [58,59].

### 7.2 Scoring

Le docking moléculaire peut donner comme résultat plusieurs conformations adoptées par le ligand, donc la méthode de «scoring» sert à déterminer l'énergie de liaison du complexe formé et de donner par la suite un score aux poses obtenues de la phase du docking, ce score permet de tirer la meilleure pose parmi celles proposées. D'une autre manière le scoring permet d'étudier l'affinité entre les deux molécules ou les poses générées lors du docking. Ce n'est qu'une estimation quantitative de l'énergie libre de liaison. Alors le score est une donnée numérique très utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur qui va nous donner le vrai et le plus correct mode de liaison entre le ligand et le récepteur [27,30,59].

## 8 Etapes du docking moléculaire

### 8.1 Docking moléculaire

C'est l'étape de la sélection, c'est le placement de ligand dans le site actif de récepteur et test des conformations, en cherchant les conformations les plus favorables [65].

## 8.2 Scoring moléculaire

C'est l'étape qui suit le docking ou l'étape de classement, elle consiste en une évaluation de l'affinité du ligand pour la cible, cette affinité sera donnée sous forme de score attribué aux poses obtenues lors de processus du docking. Ce score permettra de retenir les meilleures poses (65) (60).

## 9 Procédure du docking

La procédure typique à mettre en place pour prédire les interactions entre un ligand et son récepteur, passe par plusieurs étapes [58] :

### ❖ Première étape

C'est l'obtention d'une structure pour le récepteur, par cristallographie aux rayons X, ou par RMN (résonance magnétique nucléaire) ou par la modélisation. D'abord la structure doit être inspectée sur le plan moléculaire donc il est nécessaire de vérifier la présence de contacts cristallins [58].

### ❖ Deuxième étape

Quant à cette étape, les acides aminés situés au niveau du site d'interaction doivent être vérifiés, car le docking ne peut pas être pertinent si des atomes manquent au niveau de cette région et si cette dernière contient des acides aminés flexibles [58].

### ❖ Troisième étape

Une fois les 2 structures préparées, les paramètres sont donnés au logiciel du docking, et ce dernier propose un ou plusieurs modes d'interactions potentiels avec attribution de score pour chaque pose retenue [58].

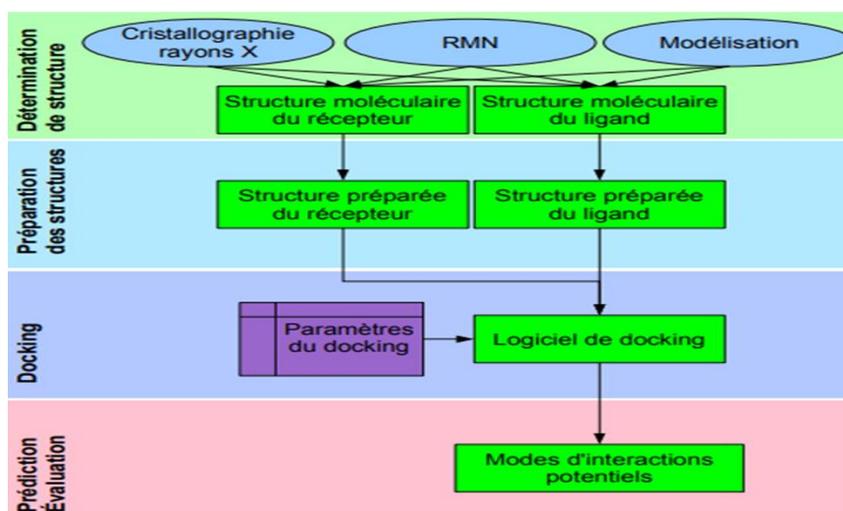


Figure 13 : Etapes générales du docking moléculaire [58].

## 10 Applications du docking moléculaire

La conception de nouvelles molécules actives est une étape primordiale pour le développement d'un nouveau médicament ce qui peut avoir un impact positif sur la santé des patients.

Les améliorations des techniques cristallographiques sont proportionnelles avec le nombre des structures résolues. Alors un tel filtrage semble important, étant donné que des milliers de molécules actives sont nécessaires pour avoir la chance qu'une d'entre elles devienne un principe actif. Les applications du docking moléculaire sont présentées ci-dessous [58] :

- Conception du médicament basée sur le docking des fragments.
- Criblage virtuel.
- Optimisation de lead et hits (analyse rétrospective pour différencier les « bons » et les « mauvais » ligands) [3].

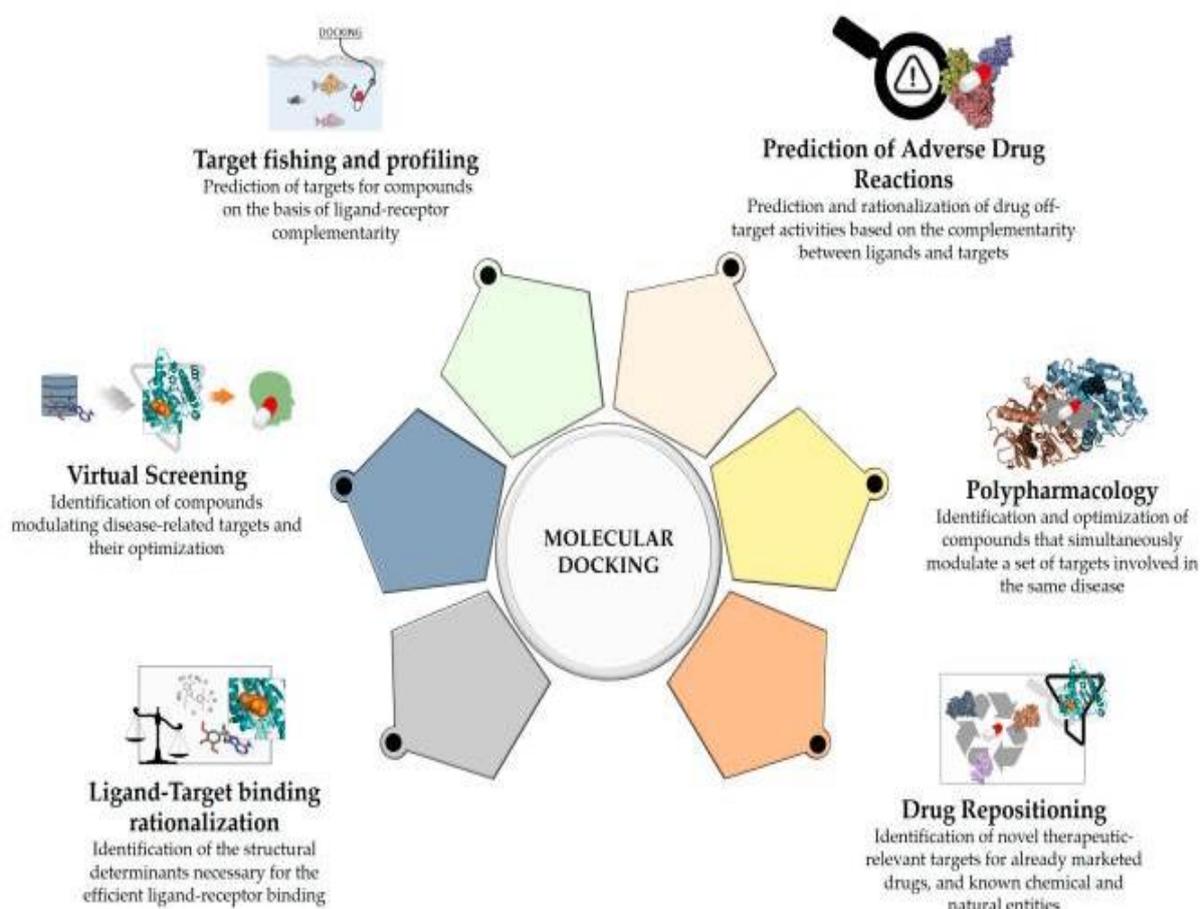


Figure 14 : Application du docking moléculaire [66].

## 11 Problèmes théoriques et réponses méthodologiques rencontrés lors du docking moléculaire

Un programme du docking doit être capable de générer plusieurs modes d'interactions et choisir le meilleur parmi ceux-ci. Donc il est considéré comme une optimisation des critères structuraux et énergétiques. Cette formulation simple permet de mettre en évidence deux

difficultés, la première est le fait que la taille de l'espace de recherche qui s'accroît, une exploration exhaustive de ce dernier n'est pas réalisable, donc tout programme de docking repose sur une heuristique d'échantillonnage générant des modes d'interactions. La deuxième difficulté est de définir une fonction objective capable d'identifier le mode d'interaction correspondant à la vraie interaction [58].

## 12 Exemple de logiciel de docking moléculaire

### 12.1 Autodock Vina

Autodock Vina est l'un des moteurs d'accueil les plus rapides et les plus utilisés pour faire de l'amarrage moléculaire, c'est un programme d'amarrage basé sur une fonction de notation simple et une recherche conformationnelle d'optimisation de gradient rapide [67]. Autodock emploie les méthodes Monte-Carlo, le Recuit Simulé et l'algorithme génétique Lamarckien (LGA) pour créer un ensemble de conformations possibles. LGA est utilisé comme optimiseur global et la minimisation d'énergie comme méthode de recherche locale. Les orientations possibles sont évaluées par le modèle AMBRE du champ de force en conjonction avec les fonctions de score d'énergie libre et un grand ensemble de complexes de protéine-ligand avec des constantes connues. La version 4 devrait contenir la flexibilité de la chaîne latérale. Autodock a des pages Web plus instructives que ses concurrents en raison de sa licence académique gratuite [68].

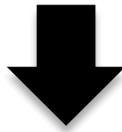
## PARTIE EXPERIMENTALE



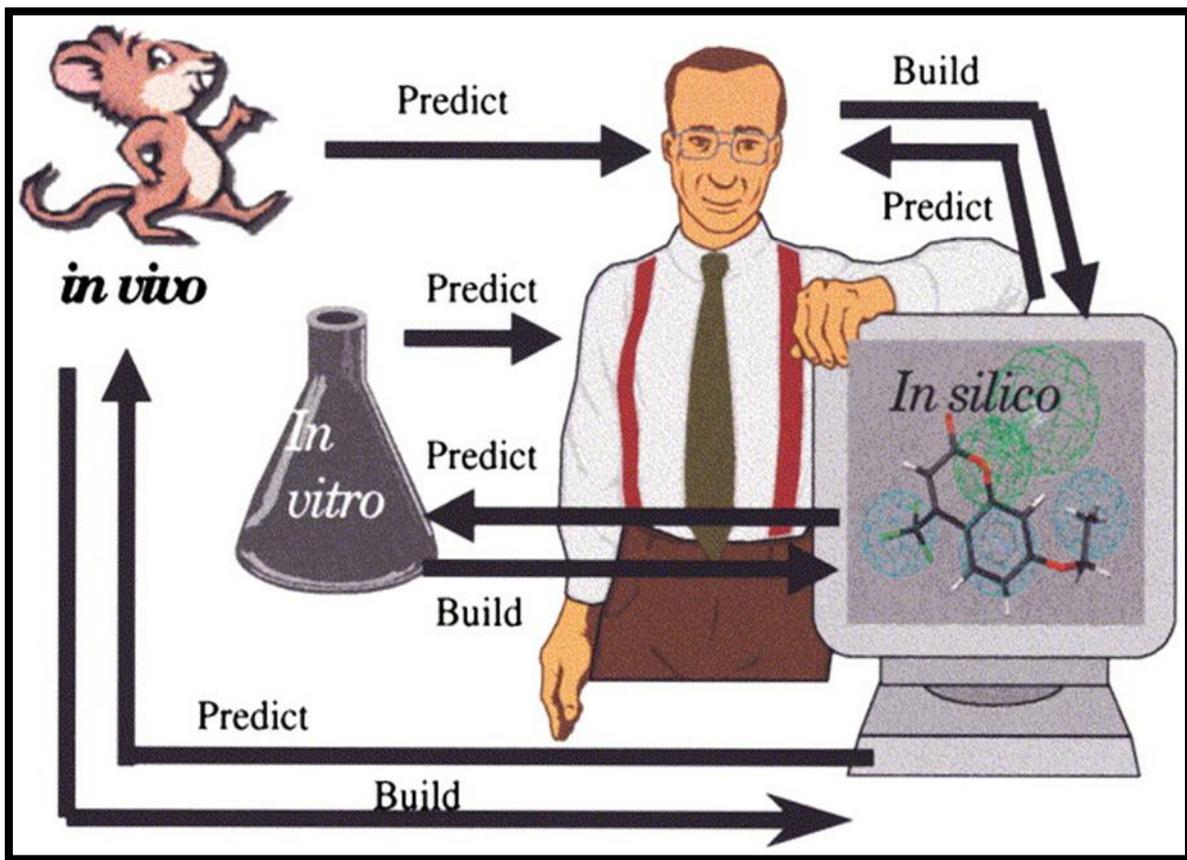
« La connaissance s'acquiert par l'expérience, tout le reste n'est que de l'information. »

Einstein

# Partie A



## ETUDE COMPARATIVE DES LOGICIELS DE PREDICTION IN SILICO ADMET



## 1 Matériel et méthode

### 1.1 Matériel utilisé

#### 1.1.1 Les logiciels de prediction ADMET

##### 1.1.1.1 ADMETlab 2.0

ADMETlab est une plateforme d'accès libre et en ligne. Elle est créée en 2018, permettant aux utilisateurs d'effectuer différentes analyses de similarités de drogues (Drug-likeness) avec une large utilisation pour la prediction de la plupart des propriétés ADMET au cours des trois dernières années (plus de 50 000 utilisateurs à travers le monde ont optés pour cette plateforme) [69].

ADMETlab 2.0 est la version développée de plateforme ADMETlab, elle a une meilleure capacité d'évaluation avec une haute qualité des données, elle aide les chimistes pour accélérer le processus de recherche et du développement des médicaments [67].



Figure 15 : Accueil d'ADMETlab [36].

#### a) Paramètres évalués par admetlab

Les paramètres évalués par admetlab sont représentés dans la figure ci-dessous.

## PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET

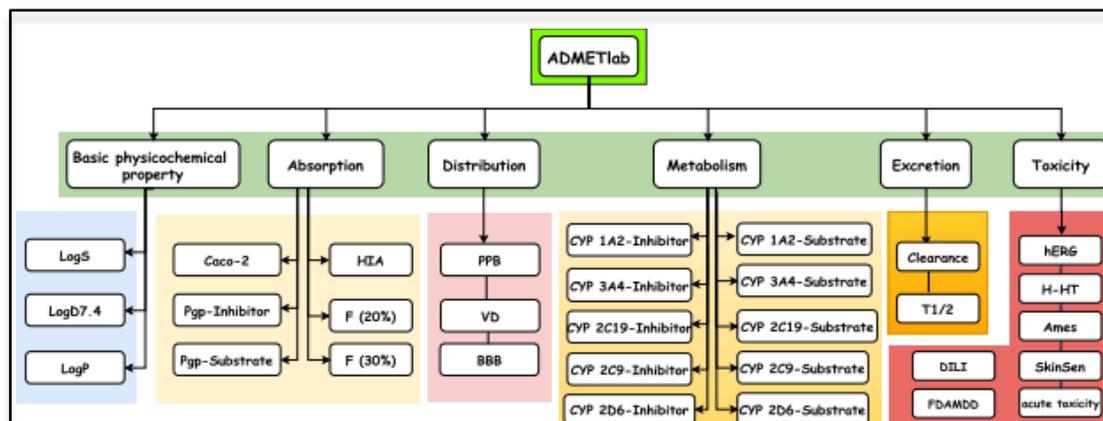


Figure 16 : Paramètres évalués par admetlab [44]

### b) Evaluation ADMET

ADMETlab est un logiciel qui assure une utilisation simple ; rapide et efficace aux utilisateurs avec un accès libre en ligne pour le dépistage et l'évaluation ADMET. Pour l'évaluation des propriétés ADMET d'une molécule, il suffit d'accéder au site <http://admet.scbdd.com/>. Le site fournit trois méthodes de saisie de la molécule : par l'entrée de SMILES pour Simplified Molecular Input Line Entry System (ou sourire en français disponible sur les sites de chimie médicinale exemple : pubchem...) ou en téléchargeant un fichier SDF (Structure Data File) ou en dessinant la molécule. Les résultats sont sous forme de tableau de données et fichier CSV ou PDF téléchargeable [44,69].



Figure 17 : Dessiner la molécule dans ADMETlab [36]

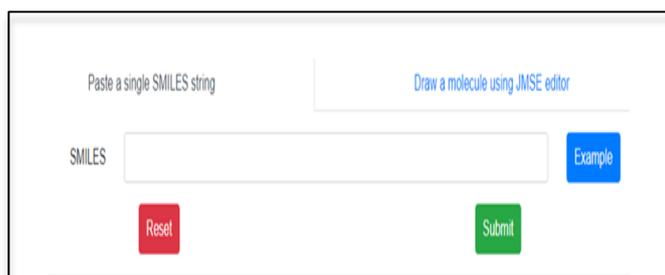


Figure 18 : Entrer le SMILES dans l'ADMETlab [36].

CC(c1ncnc1F)C(O)(Cn1cncn1)c1ccc(F)cc1F

Télécharger au format CSV Télécharger au format PDF

Propriété physicochimique

Poids moléculaire (MW)	349.120	?
Le volume	320.508	?
Densité	1.089	?
nHA	6	?
nHD	1	?
nPourriture	5	?
nAnneau	3	?
MaxRing	6	?
...		

structure bidimensionnelle

Figure 19 : Résultats sous forme CSV ou PDF dans l'ADMETlab [36]

## PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET

Chaque propriété est présentée sous forme d'un tableau avec les paramètres appropriés et une structure moléculaire 2D (bidimensionnelle). Les résultats sont présentés sous forme de valeurs prédictives ou bien des points colorés dont [67] :

**Le rouge** = pour le pauvre.

**Le vert** = pour l'excellent.

**Le jaune** = pour le moyen.

### c) Base de données de l'ADMETlab

Les données de l' ADMETlab comprennent deux parties de sources, soit des données prévenant des publications examinées et traitées manuellement par peer-review (évaluer par les pairs), soit des données prévenant de ChEMBL, DrugBank database, Pubchem, Ochem, et logiciel de TEST (Toxicity Estimation Software Tools ), qu'est un logiciel d'estimation de la toxicité a accès libre développé par l'agence américaine de la protection de l'environnement. En outre, il faut savoir que la prediction ADMET pour ce logiciel ne peut pas se faire pour les molécules ayant plus de 128 atomes [44 , 69].

ChEMBL

Rechercher dans ChEMBL

Exemple: Imatinib erbB2 cerveau MDCK c1ccccc1N

Recherche Avancée

UniChem | ChEMBL-NTD | SureChEMBL | Prédiction des Inhibiteurs du paludisme | Téléchargements | Services Web | Suite

ChEMBL est une base de données organisée manuellement de molécules bioactives aux propriétés médicamenteuses. Il rassemble des données chimiques, de bioactivité et génomiques pour faciliter la traduction des informations génomiques en nouveaux médicaments efficaces.

Explorez ChEMBL

**Description :** Affiche un résumé des entités ChEMBL et des quantités de données pour chacune d'entre elles.

**Instructions :** Cliquez sur une bulle pour explorer plus en détail une entité ChEMBL spécifique.

2.2M Compounds

1.5M Assays

84K Bioassays

14K Hits

2K SAs

43K Substances

6.3K Activities

750 Targets

Figure 20 : ChEMBL [70]

DRUGBANK Online

Browse COVID-19 Search Interaction Checker Downloads Solutions About

Building the foundation for better health outcomes

Access the right information at the right time, with our intelligent clinical drug data API and in-depth knowledge database.

Search over 500,000 drugs & drug products on DrugBank Online

Tylenol

Acetaminophen

Figure 21 : DrugBank [71]

## **PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

### **1.1.1.2 AdmetSAR**

AdmetSAR fournit les données les plus récentes et les plus complètes, organisées manuellement pour divers produits chimiques, associés à des profils connus d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. AdmetSAR a créé une interface conviviale pour rechercher le profilage des propriétés ADMET par nom, CASRN et recherche de similarité. De plus, AdmetSAR peut prédire environ 50 paramètres ADMET grâce à sa boîte à outils basée sur la chimioinformatique récemment développée, intitulée ADMET-Simulator, qui intègre des modèles QSAR prédictifs de haute qualité. AdmetSAR sera utile pour le criblage in silico des profils ADMET de candidats-médicaments et de produits chimiques environnementaux [72].

#### **a) Base de données de l'ADMETSar**

Les données de AdmetSAR sont collectées de publications examinées par pairs (peer-review), Pubmed, Google scholar, computational (in silico) ADME, computational toxicology. Pour assurer des résultats de haute qualité, les publications provient uniquement des journaux officiels ex : the Journal of Chemical Information and Modeling, journal of Medicinal Chemistry, bioorganic Medicinal Chemistry Letters [45].

#### **b) Paramètres évalués par AdmetSAR**

Les paramètres évalués par ADMETSar sont représentés dans le tableau ci-dessous :

## PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET

Tableau I : Paramètres évalués par AdmetSAR.

**Molecule as INPUT** **Predict** **ADMETSAR**

**SMILES: CC(=O)NC1=CC=C(C=C1)O**  
**Acetaminophen** **OUTPUT: ADMET profile**

ADMET Properties	Prediction (Classification)	ADMET Properties	Prediction (Classification)	ADMET Properties	Prediction (Regression)
Ames mutagenesis	-	Eye irritation	+	Acute Oral Toxicity	1.423
Acute Oral Toxicity	III	Estrogen receptor binding	-	Plasma protein binding	0.372
Androgen receptor binding	+	Fish aquatic toxicity	-	Tetrahymena pyriformis	-0.253
Aromatase binding	-	Glucocorticoid receptor binding	-	Water solubility	-1.131
Avian toxicity	-	Honeybee toxicity	-		
Blood Brain Barrier	+	Hepatotoxicity	+		
BRCP inhibitor	-	Human either-a-go-go inhibition	-		
Biodegradation	+	Human Intestinal Absorption	+		
BSEP inhibitor	-	Human oral bioavailability	-		
Caco-2	+	MATE1 inhibitor	-		
Carcinogenicity	-	micronuclear	+		
Carcinogenicity (trinary)	Warning	OATP1B1 inhibitor	+		
Crustacea aquatic toxicity	-	OATP1B3 inhibitor	+		
CYP1A2 inhibition	-	OATP2B1 inhibitor	-		
CYP2C19 inhibition	-	OCT1 inhibitor	-		
CYP2C9 inhibition	-	OCT2 inhibitor	-		
CYP2C9 substrate	+	P-glycoprotein inhibitor	-		
CYP2D6 inhibition	-	P-glycoprotein substrate	-		
CYP2D6 substrate	-	PPAR gamma	-		
CYP3A4 inhibition	-	Subcellular localization	Mitochondria		
CYP3A4 substrate	-	Thyroid receptor binding	+		
CYP inhibitory promiscuity	-	UGT catalyzed	+		
Eye corrosion	-				

### 1.1.1.3 PkCSM

C'est une plate-forme d'analyse et d'optimisation des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques, à accès libre, disponible en ligne sur le web. Elle aide les chimistes à trouver un équilibre entre l'efficacité, la sécurité et les propriétés pharmacocinétique. PkCSM utilise la méthode de graph-Based signature, c'est une représentation mathématique des entités chimiques, elle permet de déduire la structure et la chimie de la molécule [38].

**pkCSM - pharmacokinetics**

**pkCSM: small-molecule pharmacokinetics prediction and optimization with graph-based signatures**

Douglas E. V. Pires, Tom L. Blundell, David B. Aschner

**Abstract**

Modern high throughput drug discovery approaches have increased the numbers of lead compounds being identified, and in shorter time frames than traditional medicinal chemistry, however many of these promising compounds often fail because of unsatisfactory ADMET properties. In silico screening approaches help to reduce these risks. Here we propose a novel approach to the prediction of pharmacokinetic properties, called pkCSM, which relies on graph-based signatures. These encode distance patterns between atoms and are used to represent the small molecule and to train predictive models.

The pkCSM signatures were successfully used across five main different pharmacokinetic properties classes to develop predictive regression and classification models. We show that pkCSM performs as well or better across different pharmacokinetic properties than other freely available methods. Here we present a web server to provide an integrated freely available platform to rapidly screen multiple pharmacokinetic properties.

**Available Resources**

- pkCSM: Small-molecule pharmacokinetics prediction
- Related: Other resources

Figure 22 : Accueil de PkCSM [37]

## PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET

Pour l'évaluation des propriétés ADMET d'une molécule, il suffit d'accéder au site <http://biosig.unim> ou <http://biosig.unim>. Le site fournit 2 méthodes de saisie de la molécule, soit par le téléchargement de la liste des molécules au format SMILES soit par l'entrée du SMILES dans la zone de saisie. Les résultats de prédiction sont affichés sous forme de tableau de données qui peut être téléchargé sous forme de fichier CSV [38].

**Fournissez une chaîne SMILES :**

**Exemple :**  
CC(=O)OC1=CC=CC=C1C(=O)O

**Téléchargez votre fichier SMILES :**

Aucun fichier

Les fichiers doivent avoir des en-têtes identifiant les colonnes

Figure 24 : Insertion du SMILES au pkcsm [37] Figure 23 : Choix de fichier SMILES au pkcsm [37]

### a) Les paramètres évalués par PkCSM

Les paramètres évalués par PkCSM sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau II : Paramètres évalués par pkcsm [38]

data set	previous method			pkCSM		
	method	ref	Q	AUC	Q	AUC
P-glycoprotein substrate	admetSAR	22	0.735	0.768	0.780	0.814
P-glycoprotein inhibitor I	admetSAR	22	0.786	0.853	0.844	0.906 <sup>st</sup>
P-glycoprotein inhibitor II	admetSAR	22	0.866	0.922	0.898	0.948 <sup>st</sup>
CYP450 1A2 inhibitor	admetSAR	22	0.815	0.815	0.802	0.876 <sup>st</sup>
CYP450 C19 inhibitor	admetSAR	22	0.805	0.805	0.808	0.879 <sup>st</sup>
CYP450 2C9 inhibitor	admetSAR	22	0.802	0.802	0.807	0.868 <sup>st</sup>
CYP450 2D6 inhibitor	admetSAR	22	0.855	0.855 <sup>st</sup>	0.853	0.843
CYP450 3A4 inhibitor	admetSAR	22	0.645	0.848	0.780	0.847
CYP450 2D6 substrate	admetSAR	22	0.759	0.759	0.766	0.787
CYP450 3A4 substrate	admetSAR	22	0.638	0.638	0.656	0.676
hERG I inhibitor	admetSAR	22	0.870	0.820	0.853	0.881
hERG II inhibitor	admetSAR	22	0.784	0.849	0.813	0.876
renal organic cation transporter	admetSAR	22	0.795	0.807	0.797	0.810
AMES toxicity	admetSAR	22	0.851	0.908	0.838	0.909
AMES toxicity	ToxTree	49	0.758	NA	0.838	0.909
hepatotoxicity	Fourches et al.	58	0.639 <sup>st</sup>	NA	0.658	0.687
skin sensitization	Alves et al.	59	NA	0.820	0.810	0.850

<sup>st</sup>Denotes a statistically significant performance difference calculated by nonparametric Wilcoxon statistic,<sup>60</sup> using a threshold of  $\leq 0.05$  for significance.

### 1.1.2 Molécules utilisées

Les quatre molécules utilisées sont choisies par rapport à leur toxicité principale, cardiotoxicité, hépatotoxicité, néphrotoxicité, et cancérogénicité.

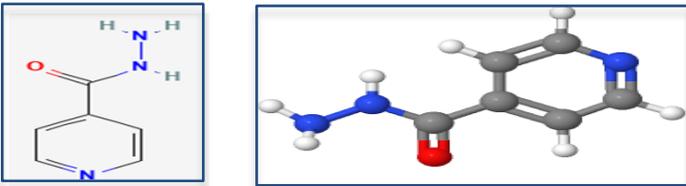
Les données physicochimiques sont tirées de pubchem, tandis que la toxicité est publiée dans DrugBank, ChEMBL et même dans pubchem.

#### 1.1.2.1 Isoniazide

Le tableau ci-dessous présente les principales propriétés physico-chimiques et la toxicité de l'isoniazide [73] :

Tableau III : Caractéristiques de l'isoniazide.

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

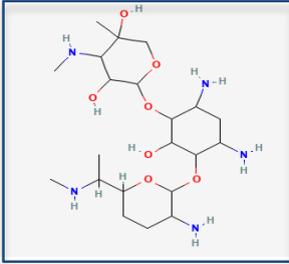
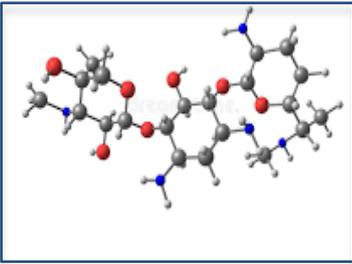
Les propriétés	Isoniazide
La structure	 <p>Figure 25 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle d'isoniazide</p>
La formule moléculaire	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O
Autres noms	pyridine 4-carbohydrazide ; Hydrazide d'acide isonicotinique
La masse moléculaire	137.14 g/mol
La forme	cristaux incolores ou blancs inodores ou bien une poudre cristalline toute blanche.
Le goût	au début légèrement sucré ensuite ça deviendra amer
Ph	5.5-6.5 ( solution aqueuse à 1% ) et 6-8 (solution aqueuse à 5% ).
Le point de fusion	171.4 °C
Le point de rupture	374 ° F
La solubilité	Dans l'alcool à 25°C : environ 2 %. Dans l'alcool bouillant : environ 10%. Dans le chloroforme : environ 0.1%. Pratiquement insoluble dans l'éther et le benzène. Dans l'eau g/100ml à 20°C : 12.5.
La pression de vapeur	négligeable (4.6 × 10 <sup>-5</sup> mmHg à 25°C)
La stabilité et la durée de conservation	stable à température ambiante et pendant plus de 14 jours, et plus de 6 semaines s'il est stocké à 4°C
La décomposition	il dégage des fumées toxiques riches en oxyde d'azote après chauffage
T <sub>1/2</sub> biologique	Les acétyleurs rapides: de 0.5 à 1.6 h. / Les acétyleurs lents: 2 à 5 h.
toxicité	Principalement connu pour son hépatotoxicité par l'augmentation des taux de transaminase et des hepatites. [74 ,75, 76]
Pictogramme	Irritant 

### 1.1.2.2 Gentamicine

Les propriétés physico-chimiques principales avec la toxicité de la gentamicine sont résumées dans le tableau ci-dessous [77] :

Tableau IV : Caractéristiques de la gentamicine.

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

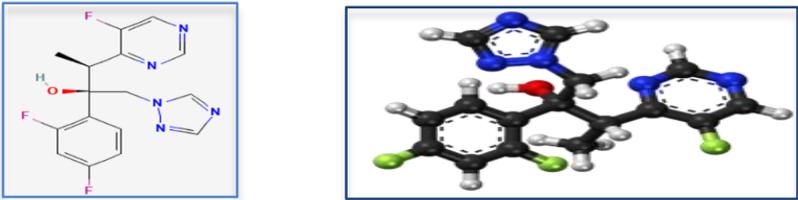
Les propriétés	Gentamicine		
<p><b>La structure</b></p>			
<p>Figure 26 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle de gentamicine</p>			
<p><b>La Formule moléculaire</b></p>	<p>C<sub>12</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub></p>		
<p><b>Autres noms</b></p>	<p>Gentamicine , Gentavet , Sulfate de gentamicine stérile</p>		
<p><b>La masse moléculaire</b></p>	<p>477,6 g/mol</p>		
<p><b>La forme</b></p>	<p>poudre blanche amorphe</p>		
<p><b>Le Point de fusion</b></p>	<p>105°C</p>		
<p><b>La solubilité</b></p>	<p>Soluble dans l'eau, la pyridine et le diméthylformamide. Modérément soluble dans le méthanol, l'éthanol et l'acétone. Insoluble dans le benzène.</p>		
<p><b>La pression de vapeur</b></p>	<p>1.75 × 10<sup>-13</sup> mmHg, à 25 °C.</p>		
<p><b>La stabilité</b></p>	<p>stable à la chaleur, à l'air et à la lumière.</p>		
<p><b>T1/2 biologique</b></p>	<p>75 min après administration IV</p>		
<p><b>Toxicité</b></p>	<p>Gentamicine est un agent néphrotoxique et ototoxiques; elle cause l'augmentation de l'urée et la créatinine plasmatique. dont le risque augmente notamment chez les sujets ayant des problèmes rénaux [78].</p>		
<p><b>La décomposition</b></p>	<p>la température de sa décomposition est entre 220 °C et 240 °C et il dégage par la suite une âcre fumée avec des vapeurs irritantes.</p>		
<p><b>Pictogramme</b></p>	 Dangereux pour la santé	 irritant	 Dangereux pour l'environnement

**1.1.2.3 Voriconazole**

Le tableau ci-dessous présente les principales propriétés physico-chimiques et la toxicité du voriconazole [79] :

Tableau V : Caractéristiques du voriconazole.

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

Les propriétés	Voriconazole
La structure	 <p>Figure 27 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle de voriconazole</p>
La Formule moléculaire	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Autres noms	(2R,3S)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(5-fluoropyrimidin-4-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol ; Vfend
La masse moléculaire	349.31 g/mol
La forme	sous la forme solide
Le Point de fusion	134 °C
La solubilité	une basse solubilité dans l'eau environ 9,78 e-02 g/L
T1/2 biologique	une demi-vie d'élimination terminale qui est dose dépendante.
Toxicité	L'étude cancérigène trouve qu'il provoque l'adénome hépatocellulaire chez les rats, en plus une photophobie ; une faible cardiotoxicité [80].
Pictogramme	 <p>Dangereux pour la santé      Dangereux pour l'environnement      toxicité aigue</p>

#### 1.1.2.4 Imipramine

Le tableau ci-dessous présente les principales propriétés physico-chimiques et la toxicité de l'imipramine [81] :

Tableau VI : Caractéristiques de l'imipramine.

Les propriétés	Imipramine
La structure	 <p>Figure 28 : Structure bidimensionnelle et tridimensionnelle de l'imipramine</p>

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

<b>La Formule moléculaire</b>	C19H24N2
<b>Autres noms</b>	3-(5,6-dihydrobenzo[b][1]benzazépine-11-yl)-N,N-diméthylpropan-1-amine.
<b>La masse moléculaire</b>	280,4 g/mol
<b>La forme</b>	un solide blanc à blanc cassé /hydrochlorure, elle est inodore /hydrochlorure
<b>Le Point de fusion</b>	174.5 °C avec une ébullition à 160 °C à 0.1 mmhg
<b>Solubilité</b>	une solubilité de 18,2 mg/L, elle est librement soluble dans l'eau (18,2 mg/L à 24°C), moins soluble dans l'alcool et peu soluble dans l'acétone /chlorures d'hydrogène.
<b>La stabilité et la durée de conservation</b>	Le chlorhydrate d'imipramine prend une couleur jaunâtre ou rougeâtre à la lumière ; une légère décoloration n'affecte pas l'activité, mais une décoloration marquée est associée à une perte d'activité. Les solutions de chlorhydrate d'imipramine sont stables à pH 4-5. Pendant la conservation, de minuscules cristaux peuvent se former dans l'injection ; l'efficacité de la préparation n'est pas altérée si les cristaux sont redissous en immergeant l'ampoule dans l'eau chaude pendant 1 minute.
<b>La décomposition</b>	le chauffage de L'imipramine jusqu'à décomposition émet des fumées toxiques de nitroxydes.
<b>T1/2 biologique</b>	L'imipramine a une demi-vie moyenne de 12 heures. Son métabolite actif, la désipramine, a une demi-vie moyenne de 22,5 heures.
<b>Toxicité</b>	Effet anticholinergique et des effets sur le tractus gastro-intestinal ; une cardiotoxicité. [82].
<b>Pictogramme</b>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Irritant</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Dangereux pour l'environnement</p> </div> </div>



**« Que la stratégie soit belle est un fait mais n'oubliez pas de regarder le résultat »**

**Winston Churchill**

### 3 Résultats et discussion

Dans cette partie nous nous sommes intéressées à la présentation des résultats de comparaison de la prediction ADMET pour les quatre molécules (isoniazide, voriconazole, imipramine et gentamicine) par différents logiciels (admetlab, AdmetSAR et pkcsm).

#### a) Choix des molécules et logiciels

Le choix des molécules était par rapport à leur toxicité à longterme. L'expérimentation a prouvé l'hépatotoxicité de l'isoniazide lors de l'usage à longterme tandis que les imipramines sont connus par les troubles de rythmes cardiaques qu'ils provoquent, alors que la gentamicine est connue par sa néphrotoxicité. L'antifongique voriconazole a un risque cancérogène à longterme.

ADMETlab, AdmetSAR et PkCSM donnent le maximum de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques qu'on veut évaluer.

#### b) Résultats de la prediction in silico ADMET de l'isoniazide, gentamicine, voriconazole et imipramine :

Les résultats de la prediction in silico ADMET pour l'isoniazide sont résumés dans le tableau ci-dessous, nous avons noté qu'il est principalement non inhibiteur et non substrat de la plupart des cytochromes et son hépatotoxicité a été prédite uniquement par l'ADMETsar.

Tableau VII : Résultats de la prediction in silico ADMET de l'isoniazide

Les paramètres		Résultats de prédiction de l'isoniazide		
		Admetlab	AdmetSAR	PkCSM
toxicité Absorption distribution métabolisme excrétion	<b>Perméabilité Caco-2</b>	-4.218	0.9430	0.52
	<b>HIA</b>	<30%	0.9961	92.601
	<b>PgP substrat</b>	Non	Non	Non
	<b>PgP inhibiteur</b>	Non	Non	Non
	<b>BBB</b>	Non	0.6	0.002
	<b>PPB</b>	8.995%	0.177	NA
	<b>VD</b>	0.917	NA	-0.352=0.44 l/kg
	<b>FU</b>	84.184%	NA	0.728
	<b>Inhibiteur du CYP1A2</b>	Oui ++	Oui	Non
	<b>Substrat du CYP1A2</b>	Non --	NA	NA
	<b>Inhibiteur du CYP2C19</b>	Non --	Non	Non
	<b>Substrat du CYP2C19</b>	Non ---	NA	NA
	<b>Inhibiteur du CYP2C9</b>	Non ---	Non	Non
	<b>Substrat du CYP2C9</b>	Non ---	Non	NA
	<b>Inhibiteur du CYP2D6</b>	Non --	Non	Non
	<b>Substrat du CYP2D6</b>	Non ---	Non	Non
	<b>Inhibiteur du CYP3A4</b>	Non -	Non	Non
	<b>Substrat du CYP3A4</b>	Non -	Non	Non
	<b>T1/2</b>	0.715	NA	NA
<b>Cl</b>	6.395	NA	0.722	
<b>hERG</b>	Non	Non	Non	

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

	<b>H-HT</b>	Non	Oui 0.5250	Non
	<b>Néphrotoxicité</b>	NA	Non 0,7654	NA
	<b>AMES</b>	Non	0.7700	Non
	<b>Cancérogénicité</b>	Non	0.8	NA

Les résultats de la prediction in silico ADMET pour l'imipramine sont résumés dans le tableau ci-dessous, nous avons noté que sa cardiotoxicité a été prédite par les trois logiciels.

Tableau VIII : Résultats de la prediction in silico ADMET de l'imipramine.

Les paramètres		Résultats de prédiction de l'imipramine			
		Admetlab	AdmetSAR	PkCSM	
Absorption	<b>Perméabilité Caco-2</b>	-4.572	0.9528	1.463	
	<b>HIA</b>	<30%	0.9920	96.543	
	<b>PgP substrat</b>	Non	Non	Non	
	<b>PgP inhibiteur</b>	Oui	Oui	Oui	
	distribution	<b>BBB</b>	Oui	Oui 1	0.907
		<b>PPB</b>	86.179%	0.936%	NA
		<b>VD</b>	4.163	NA	1.716
		<b>FU</b>	11.466%	NA	0.085
		<b>Inhibiteur du CYP1A2</b>	Non	Non	Non
		<b>Substrat du CYP1A2</b>	Oui	NA	NA
		<b>Inhibiteur du CYP2C19</b>	Non	Non	Non
	métabolisme	<b>Substrat du CYP2C19</b>	Non	NA	NA
		<b>Inhibiteur du CYP2C9</b>	Oui	Non	Non
		<b>Substrat du CYP2C9</b>	Non	Oui	NA
<b>Inhibiteur du CYP2D6</b>		Oui	Oui	Oui	
<b>Substrat du CYP2D6</b>		Oui	Oui	Oui	
<b>Inhibiteur du CYP3A4</b>		Non	non	Non	
excrétion	<b>Substrat du CYP3A4</b>	Oui	oui	Oui	
	<b>T1/2</b>	0.042	NA	NA	
	<b>Cl</b>	10.607	NA	0.853	
toxicité	<b>hERG</b>	Oui +++	Oui 0.739	Oui	
	<b>H-HT</b>	Oui +	Non	Oui	
	<b>Néphrotoxicité</b>	NA	Non 0.9169	NA	
	<b>AMES</b>	Non	NA	Non	
	<b>Cancérogénicité</b>	Non	Non	NA	

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

Les résultats de la prediction in silico ADMET pour la gentamicine sont résumés dans le tableau ci-dessous, nous avons noté que la néphrotoxicité est un paramètre applicable dans l'ADMETsar uniquement, et il a été prédit pour la gentamicine.

Tableau IX : Résultats de la prediction in silico ADMET de gentamicine

Les paramètres		Résultats de prédiction de gentamicine			
		Admetlab	AdmetSAR	PkCSM	
Absorption	Perméabilité Caco-2	-6.421	Non	0.022	
	HIA	+++	0.9664	6.154	
	PgP substrat	Non	Non	Oui	
	PgP inhibiteur	Non	Non	Non	
	distribution	BBB	Non	0.9930	-1.413
		PPB	14.311%	0.201	NA
		VD	0.317	NA	-0.849
		FU	86.597%	NA	0.919
		Inhibiteur du CYP1A2	Non	Non	Non
		Substrat du CYP1A2	Non	NA	NA
métabolisme	Inhibiteur du CYP2C19	Non	Non	Non	
	Substrat du CYP2C19	Non	NA	NA	
	Inhibiteur du CYP2C9	Non	Non	Non	
	Substrat du CYP2C9	Non	Non	NA	
	Inhibiteur du CYP2D6	Non	Non	Non	
	Substrat du CYP2D6	Non	Non	Non	
excrétion	Inhibiteur du CYP3A4	Non	Non	Non	
	Substrat du CYP3A4	Non	Oui	Non	
	T1/2	0.228	NA	NA	
	Cl	0.896	NA	0.725	
toxicité	hERG	Non	Oui 0.652	Non	
	H-HT	Non	Non 0.9	Non	
	Néphrotoxicité	NA	Oui 0,7839	NA	
	AMES	Non	Non 0.5479	Non	
	Cancérogénicité	Non	Non	NA	

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

Les résultats de la prediction in silico ADMET pour le voriconazole sont résumés dans le tableau ci-dessous, nous avons noté que sa cancérogénicité n'a pas été prédite par les trois logiciels.

Tableau X : Résultats de la prediction in silico ADMET du voriconazole

Les paramètres		Résultats de prédiction de voriconazole			
		Admetlab	AdmetSAR	PkCSM	
Toxicité	Absorption	Perméabilité Caco-2	-4.502	0.6071	1.235
		HIA	<30%	0.9935	97.413
		PgP substrat	non	Non	Non
	Distribution	PgP inhibiteur	non	Non	Oui (PgP 1)
		BBB	oui ++	0.9765	-1.164
		PPB	61.842%	0.616	NA
		VD	1.637	NA	-0.496
		FU	38.741%	NA	0.157
		Inhibiteur du CYP1A2	Oui	Non	Oui
		Substrat du CYP1A2	Oui	NA	NA
Métabolisme	Inhibiteur du CYP2C19	Oui	Oui	Non	
	Substrat du CYP2C19	Non	NA	NA	
	Inhibiteur du CYP2C9	Non	oui	Non	
	Substrat du CYP2C9	Non	non	NA	
	Inhibiteur du CYP2D6	Non	non	Non	
	Substrat du CYP2D6	Non	non	Non	
	Inhibiteur du CYP3A4	Oui	non	Non	
	Substrat du CYP3A4	Oui	Oui	Non	
	T1/2	0.109	NA	NA	
	CI	8.698	NA	0.194	
Excrétion	hERG	Non	Non	Non	
	H-HT	Oui	non	Oui	
	Néphrotoxicité	NA	oui 0,6986	NA	
	AMES	Oui	Non	Non	
	Cancérogénicité	Non	Non	NA	

Afin de pouvoir discuter les résultats obtenus par les différents logiciels de la prediction in silico ADMET, nous détaillons dans le tableau ci-dessous les normes d'interprétations [83].

**PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

Tableau XI : Tableau représentatif des normes d'interprétation des résultats de la prediction in silico ADMET.

Les paramètres	Les normes		
	admetlab	AdmetSAR	pkcsm
<b>Perméabilité Caco-2</b>  <b>HIA</b> <b>PgP substrat</b> <b>PgP inhibiteur</b> <b>BBB</b> <b>PPB</b>	>-5,15 log cm/s.  > 30 % ou HAI - oui ou non oui ou non Log BBB > -1 ou BBB- ≤ 90 % ou vert	0 → +1  >30% Oui ou non Oui ou non Oui ou non Oui ou non	> 8 x 10 cm/s ou >0.9  >30% Oui ou non Oui ou non logBBB>0.3 NA
<b>Inhibiteur du CYP1A2</b> <b>Substrat CYP1A2</b> <b>Inhibiteur du CYP2C19</b> <b>Substrat du CYP2C19</b> <b>Inhibiteur du CYP2C9</b> <b>Substrat du CYP2C9</b> <b>Inhibiteur du CYP2D6</b> <b>Substrat CYP2D6</b> <b>Inhibiteur du CYP3A4</b> <b>Substrat du CYP3A4</b>	Réponse Oui ou Non ou +/-		
<b>hERG</b> <b>H-HT</b> <b>Néphrotoxicité</b> <b>AMES</b> <b>Cancérogénicité</b>	< 10 µM ou > 50 % + ou - NA + ou - Cancérogène ou Non	Inhibiteur ou Non Oui ou non Oui ou non Oui ou non Oui ou non	Inhibiteur ou non Oui ou non NA oui ou non NA

## **Discussion**

### **❖ Absorption**

#### **• Prédiction de la perméabilité intestinale par étude in silico basée sur le modèle Caco-2**

Les valeurs pour l'étude in silico basée sur le modèle Caco-2 se situe entre « 0 » pour une faible absorption et « +1 » pour une bonne absorption [84].

- L'isoniazide a une perméabilité Caco-2 de 0.6959 [74].

Il a été prédit pour une perméabilité Caco-2 de -4.218, 0.94 et 0.52 par admetlab, admetSAR et pkcsm respectivement.

- L'imipramine a une perméabilité Caco-2 de 0.88 [82].

Il a été prédit avec une perméabilité de 4.572, 0.95 et 1.463 par admetlab, admetSAR et pkcsm respectivement.

- Le voriconazole a une perméabilité Caco-2 de 0.72 [80].

Il a été prédit par des valeurs de perméabilité de -4.502, 0.60, 1.235, par admetlab, admetSAR et pkcsm respectivement.

- La gentamicine n'est pas perméable dans les cellules d'adénocarcinomes humain (Caco-2) [78]. Elle a été prédite à -6.421, non et 0.022 par admetlab, admetSAR et pkcsm respectivement.

Donc l'ADMETSar est le logiciel qui a donné des résultats comparables aux données de la littérature concernant la perméabilité Caco-2 pour les quatre molécules.

#### **• Prédiction de l'absorption intestinale : HIA (Human Intestinal Absorption)**

- L'isoniazide a une HAI de 0.98 [74].

Les valeurs HAI <30%, 0.99, 0.92 ont été prédites par admetlab, admetSAR et pkcsm respectivement

- Imipramine a une HAI de 0.98 [82].

Les valeurs <30%, 0.99, 0.96 ont été prédites par admetlab, admetSAR et pkcsm respectivement

- Le voriconazole a une HAI de 0.99 [80].

Les valeurs de prediction de HAI par admetlab, admetSAR et pkcsm sont respectivement <30%, 0.99, 0.97.

- Gentamicine est non absorbable par le tractus gastro-intestinal [78].

Les résultats de prediction de la HAI sont non, non, 6.15 prédits par admetlab, admetSAR et pkcsm respectivement.

Donc l'ADMETSar est le logiciel qui a donné des résultats comparables aux données de la littérature concernant la HAI pour les quatre molécules.

#### **• Le passage à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB)**

- L'isoniazide a une BBB de 0.98 [74].

Les valeurs prédites par admetlab, admetSAR et pkcsm sont respectivement non, 0.6, 0.002.

- Imipramine a BBB de 0.98 [82].

Les résultats prédites par admetlab, admetSAR et pkcsm sont respectivement oui, oui (probabilité : 1), 0.907.

- Le voriconazole a BBB de 0.90 [80].

## **PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

Les résultats prédits par admetlab, admetSAR et pkcsm sont respectivement oui, 0.97, - 1.164.

- Gentamicine n'a pas de pénétration à travers la barrière hématoencéphalique [78].

Les résultats prédits par admetlab, admetSAR et pkcsm sont respectivement : non ; non ; - 1.413.

Donc l'ADMETSar est le logiciel qui a donné des résultats comparables aux données de la littérature concernant Le passage à travers la BHE pour les quatre molécules.

### **• Prédiction des inhibiteurs et des substrats de la glycoprotéine P**

- L'isoniazide est non inhibiteur, non substrat de glycoprotéine P [74].  
Il a été prédit comme non inhibiteur et non substrat de la glycoprotéine P selon admetlab, admetSAR et pkcsm.
- Imipramine est non inhibiteur mais substrat de la glycoprotéine P [82].  
Il a été prédit comme non inhibiteur de glycoprotéine P mais un substrat par les trois logiciels.
- Le voriconazole est un substrat mais non inhibiteur de la glycoprotéine P [80].  
Il a été prédit par admetlab, admetSAR comme non inhibiteur et non substrat de la glycoprotéine P mais un inhibiteur de la PgP 1 par Pkcsm.
- La gentamicine est un substrat mais non inhibitrice de la PgP [78].  
Elle a été prédite comme non inhibitrice, non substrat de la PgP par admetlab, admetSAR mais substrat de la PgP par pkcsm.  
Les trois logiciels ont donnés les mêmes résultats qui sont comparables à la documentation avec l'isoniazide et imipramine uniquement.

### **❖ Métabolisme**

#### **• Inhibition des cytochromes P450**

- Isoniazide

L'isoniazide est non inhibiteur du CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4, CYP2D6 et inhibiteur de la CYP1A2 [74].

L'isoniazide a été prédit comme non inhibiteur du CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4, CYP2D6 et non substrat du CYP2C9, CYP2D6, CYP1A2, par les 3 logiciels mais inhibiteur de la CYP1A2 par admetSAR et admetlab.

- Voriconazole

Selon les revues publiées le voriconazole est un inhibiteur du CYP2C9 et CYP2C19 et substrat de la CYP3A4 [80].

Voriconazole a été prédit comme un inhibiteur du CYP1A2, CYP3A4 et CYP2C19, et non inhibiteur du CYP2C9, CYP2D6 et substrat du CYP1A2, CYP3A4 par admetlab et prédit un inhibiteur du CYP2C9 et CYP2C19 et substrat de la CYP3A4 par admetSAR, et uniquement un inhibiteur du CYP1A2 par pkcsm.

- imipramine

Selon les revues publiées, l'imipramine est un inhibiteur du CYP2D6 et substrat du CYP2D6 et CYP3A4 [82].

Il a été prédit comme non inhibiteur du CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 et CYP3A4 par admetSAR et pkcsm et un inhibiteur du CYP2C9 uniquement par admetlab avec une inhibition du CYP2D6 selon les trois.

## **PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

Aussi il a été prédit comme substrat du CYP2D6 et CYP3A4 selon les trois, en plus un substrat du CYP2C9 selon admetSAR.

- gentamicine

La gentamicine est un substrat de la CYP3A4 [78].

Elle a été prédite comme non inhibitrice du CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4, CYP2D6, CYP1A2 et non substrat du CYP2C9, CYP2D6, CYP1A2, CYP3A4, CYP2C19 selon les 3 logiciels à l'exception de l'admetSAR qui a prédit la gentamicine comme étant un substrat du CYP3A4.

Donc l'ADMETSar a donné les résultats les plus proches à ce qui est publiés dans la littérature pour les quatre molécules.

### **❖ Toxicité**

#### **• La cardiotoxicité**

L'imipramine est une molécule cardiotoxique, toutefois, la gentamicine, l'isoniazide et le voriconazole ne le sont pas [74,78,80,82].

Le voriconazole et l'isoniazide ont été prédits comme non cardiotoxiques par les 3 logiciels. La gentamicine a été considérée comme cardiotoxique uniquement par admetSAR. Tandis que l'imipramine a été prédit comme cardiotoxique par les trois logiciels.

Les trois logiciels ont prédits la cardiotoxicité pour l'imipramine.

#### **• Hépatotoxicité**

L'isoniazide et le voriconazole sont des molécules hépatotoxiques, alors que l'imipramine et la gentamicine sont non hépatotoxiques [74,75,78,80,82].

Voriconazole et l'imipramine ont été prédits comme hépatotoxiques par admetlab et pkcsm. La gentamicine a été prédite comme non hépatotoxique selon les 3 logiciels.

L'isoniazide a été prédit comme hépatotoxique par admetSAR uniquement.

Donc l'ADMETSar est le logiciel qui a donné des résultats comparables aux données de la littérature pour l'isoniazide.

#### **• Néphrotoxicité**

La gentamicine est une molécule néphrotoxique, tandis que l'isoniazide, le voriconazole et l'imipramine sont non néphrotoxiques [74,78,80,82].

L'isoniazide et l'imipramine ont été prédits comme non néphrotoxiques, tandis que le voriconazole et la gentamicine ont été prédits comme néphrotoxique par ADMETSar.

AdmetSAR est le logiciel qui a donné des résultats comparables aux données de la littérature pour les trois molécules (gentamicine, isoniazide et imipramine).

#### **• Cancérogénicité**

Le voriconazole est une molécule cancérigène tandis que la gentamicine, l'imipramine et l'isoniazide ne le sont pas [74,78,80,82].

Le voriconazole, la gentamicine, l'imipramine et l'isoniazide sont prédits comme non cancérigène par admetlab, admetSAR et ce paramètre est non applicable pour pkcsm.

Aucun logiciel n'a pas pu prédire la cancérogénicité du voriconazole.

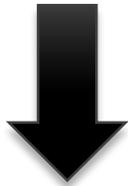
## **PARTIE EXPERIMENTALE A : Etude comparative des logiciels de prediction in silico ADMET**

D'après les résultats de la prediction ADMET obtenus pour les quatre molécules avec les trois logiciels, nous avons constaté que l'ADMETsar est le logiciel qui a donné des résultats qui sont en concordance avec les données de la littérature. C'est le seul logiciel qui a été capable de prédire la toxicité des molécules évaluées. Toutefois les résultats doivent être complétés par un autre logiciel pour les paramètres non applicables (T1/2 ; Cl ; VD ; FU).

En conclusion, l'admetlab, admetSAR et pkcsm sont des serveurs web de prediction in silico ADMET, utilisés fréquemment dans le cadre de la conception des nouveaux médicaments.

Les résultats de la comparaison de la prediction in silico ADMET des différents logiciels font tirer l'ADMETsar comme le meilleur logiciel par sa capacité à donner des résultats similaires ou proches aux travaux publiés et aux données de la littérature.

# PARTIE B



## SYNTHESE ET CARACTERISATION DE N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide



Dans la deuxième partie de notre travail, nous nous sommes intéressées, à la synthèse et la caractérisation de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide.

- La synthèse, le calcul du rendement et l'analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) ont été réalisés au niveau du laboratoire de la chimie thérapeutique du département de pharmacie de la faculté de médecine de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- L'analyse par spectroscopie infrarouge a été réalisée au niveau du service de toxicologie du CHU Tizi-Ouzou.
- L'analyse du produit synthétisé par UV-visible a été faite au niveau du laboratoire de la chimie analytique de la faculté de médecine de l'université Mouloud Mammeri T-O.
- La détermination du point de fusion au niveau du laboratoire de chimie pharmaceutique, faculté des sciences de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

## 1 Matériel et méthode

### 1.1 Matériel utilisé

#### 1.1.1 Appareillages

Les appareils, ainsi que la verrerie utilisés pour la synthèse de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide (produit 1) et N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphényl-1-yl-] isonicotinamide (produit 2) sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau XII : Appareils utilisés pour la synthèse, la caractérisation et l'identification des produits synthétisés.

Appareil	Spécifications
Balance analytique	ABT 220-5DM, KERN
Plaque chauffante + agitateur magnétique	STUART-HEAT-Stir /SB162
Hotte à vapeur	KOTTERMANN.
Appareil de filtration	KNF LABOPORT
Vortex	VELP SCIENTIFICA
Bain-marie	JOANLAB Boro 3.3
CCM	Analytical chromatography
Spectrophotomètre UV-Visible à balayage	UV-VIS SPECTRUM, PERKIN-ELMER
Spectrophotomètre infra-rouge	SPECTRUM-TWO PERKIN-ELMER
Lampe UV-visible	Goodhal VL-6-LC
Mini presses	Specac
Appareil de fusion	Stuart SMP30

Tableau XIII : Verrerie et outils de synthèse.

VERRERIE	AUTRES
Eprouvettes Verre de montre Cristallisoirs Béchers Fioles Entonnoir de Büchner Tubes à essai Pipettes Micropipettes Flacons en verre	Pissette Barreau magnétique Spatules Papier filtre Poire Portoirs Statifs Pince en bois, pince à ballon et pince à burette. Porte-ballon Mortier

## 1.2 Méthode

### 1.2.1 Synthèse des dérivés d'isoniazide

#### 1.2.1.1 Réactifs utilisés

Les réactifs utilisés pour la synthèse sont réunis dans le tableau ci-dessous.

Tableau XIV : Réactifs utilisés pour la synthèse des dérivés d'isoniazide.

Réactifs	Provenance	Données physico-chimiques	Précaution
Benzyle	Obtenu par synthèse chimique		
Isoniazide	Fluka Analytical	Formule brute : $C_6H_7N_3O$ N° CAS : 54-35-3 Mr : 137.14g/mol	
Glyoxale	Obtenu par synthèse chimique		
Ethanol 96%	BIOCHEM Chemopharma	Formule brute : $C_2H_6OH$ N° CAS : 64-17-5 Mr : 46.07 g/mol	
Eau distillée		Formule brute : $H_2O$ N° CAS : Mr : 18 g/mol PF : 0 °C à 1 bar PE : 100 °C $\rho$ : 1 g / cm-3	

2-hydroxy-5-nitrobenzaldehyde	MERCK Schuchardi	Formule brute : $C_7H_5NO_4$ Art : 820904 Mr : 167.12 g/mol	
nitrate de cérium et d'ammonium (CAN)	ALDRICH		
Acétate d'ammonium	RIEDEL-DE HAEN	Formule brute : $C_2H_7NO_2$ N° CAS : 25006 Mr : 77.08 g/mol	

### 1.2.1.2 Protocole de synthèse

□ Dans une fiole de 100 ml équipée d'un barreau magnétique, introduire 0.67g d'isoniazide 1.05g dérivé alpha-dicarbonylé (Benzile ou Glyoxale) et 0.84g de 2-hydroxy-5-nitrobenzaldehyde et 0.39g de l'Acétate d'ammonium et 0.6g de CAN (Ceric ammonium nitrate) catalyseur de la réaction avec 12 ml d'éthanol. Le mélange est placé sur une plaque chauffante avec un agitateur magnétique et sous hotte.

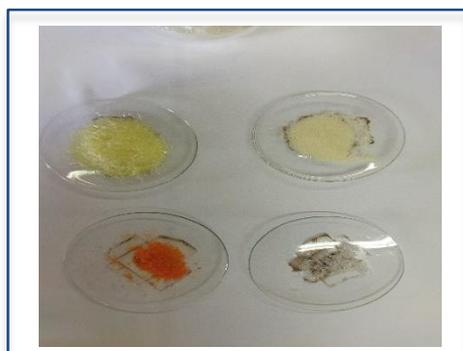


Figure 29 : Préparation des réactifs pour la synthèse. Figure 30 : Produit en ébullition

- Le mélange porté à ébullition sous agitation permanente pendant 3h à 4h.
  - Le solide formé est refroidi à température ambiante.
  - Filtrer sous vide, récupérer le filtrat et le laisser sécher à l'air libre.
  - Le produit a été récupéré et pesé.
- **Purification par recristallisation dans l'éthanol :**
    - Dans un bécher, mettre le produit formé avec l'éthanol.
    - Le mélange est placé sur une plaque chauffante sous légère agitation jusqu'à dissolution complète.
    - Laisser refroidir à l'air libre.
    - Filtre sous vide.
    - Le produit purifié a été récupéré.

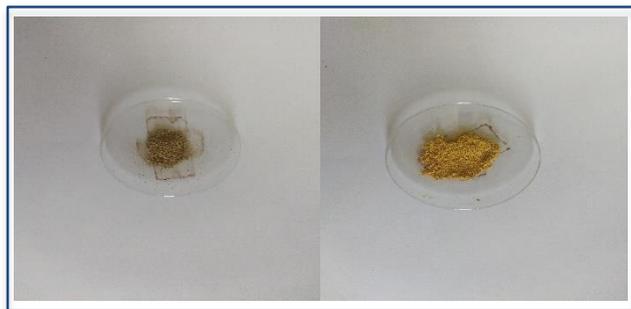


Figure 31 : Produit 1 et 2 après séchage.

### 1.2.1.3 Mécanisme réactionnel

Les deux produits dérivés de l'isoniazide sont obtenus selon la réaction de Debus-Redziszewski modifiée pour l'obtention des dérivés imidazolés faisant intervenir un dérivé dicarboxylé, groupements aminés et un aldéhyde en présence d'un catalyseur, qui est dans notre cas le nitrate de cérium et d'ammonium (CAN) comme illustre la réaction générale ci-dessous.

#### ❖ La réaction générale

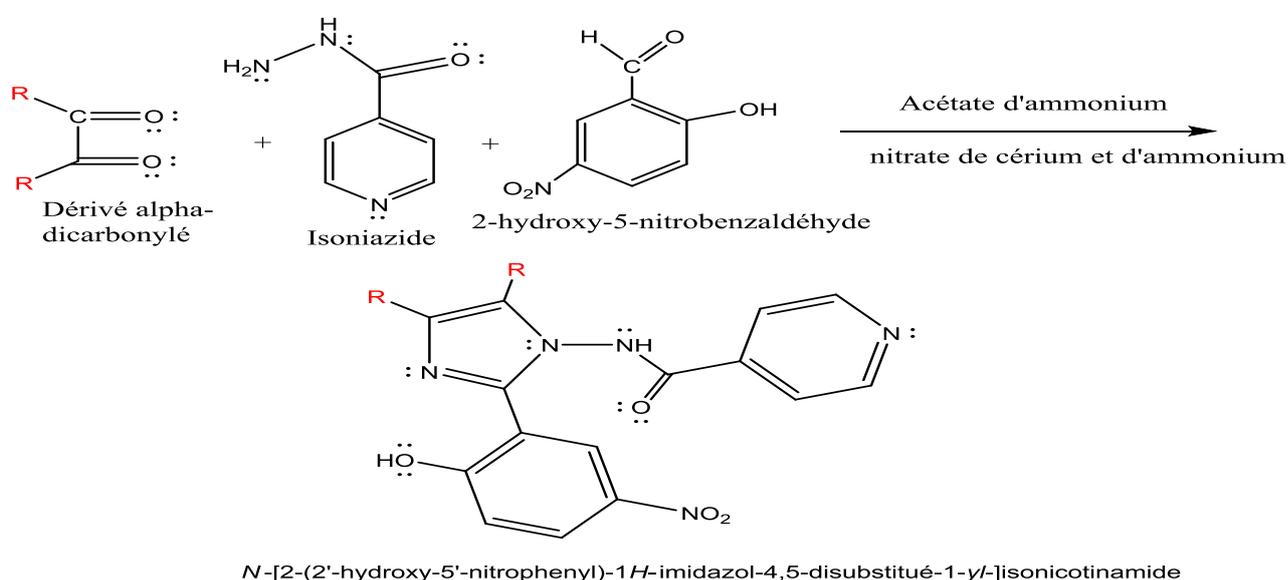
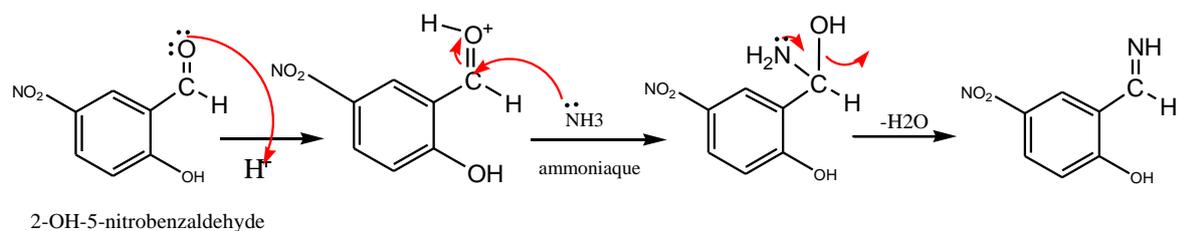


Figure 32 : Réaction générale.

#### ❖ Le mécanisme détaillé

- Protonation de l'aldéhyde par le CAN et action de l'ammoniaque



- Condensation avec le benzyle et l'isoniazide

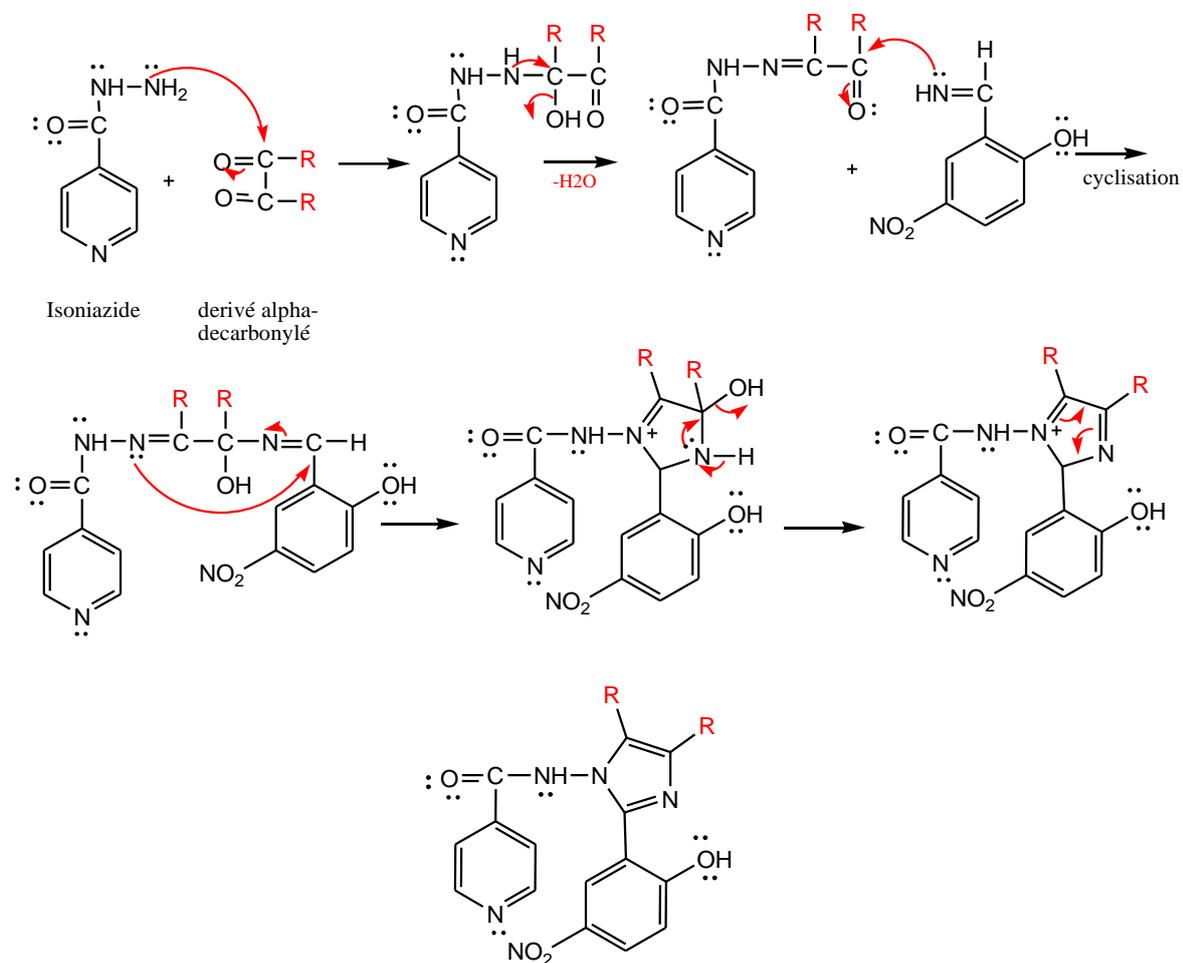


Figure 33 : Mécanisme réactionnel détaillé.

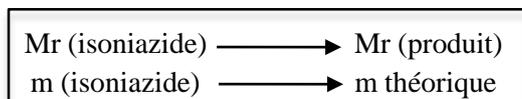
### 1.2.1.4 Calcul du rendement

Le rendement d'une réaction est le rapport de la masse expérimentale sur la masse théorique. Il est exprimé en pourcentage (%):

$$R\% = \frac{\text{Masse expérimentale}}{\text{Masse théorique}} \times 100$$

Calcul de la masse théorique pour les deux produits formés :

Selon la réaction générale illustrée dans la figure 32, une mole de l'isoniazide réagit avec une mole de dérivé carbonylé, et une mole de l'aldéhyde substitué pour donner une mole de produit.



## 1.2.2 Identification et caractérisation de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide

### 1.2.2.1 Caractères organoleptiques et solubilité

#### i. Aspect et odeur

Nous avons vérifié l'aspect par simple observation visuelle du produit final, et nous avons aussi vérifié l'odeur de ce dernier.

#### ii. Test de solubilité

La solubilité d'un composé dans un solvant est la quantité maximale pouvant passer en solution dans un volume donné. Au-delà, la solution est saturée et le composé ne se dissout plus. Elle est exprimée en g/l ou en mol/l. Comme l'illustre le tableau ci-dessous

Tableau XV : Classification des solubilités des produits selon la pharmacopée européenne

Les termes descriptifs	Volumes approximatifs de solvant en ml /g de substance à 25 °C
Très soluble	Inférieur à 1
Facilement Soluble	De 1 à 10
Soluble	De 10 à 30
Assez soluble	De 30 à 100
Peu soluble	De 100 à 1000
Très peu soluble	1000 à 10000
Pratiquement insoluble	Plus de 10000

❖ Les réactifs utilisés pour tester la solubilité des produits synthétisés sont résumés dans le tableau XVI

Tableau XVI : Réactifs utilisés pour tester la solubilité.

Réactifs	Données physico-chimiques
<b>Ethanol</b>	Formule brute : C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O N° CAS : 64-17-5 Mr : 46.07g/mol
<b>DMSO (dimethylsulfoxyde)</b>	Formule brute : C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS N° CAS : 67-68-5 Mr : 78.13

### 1.2.2.2 Identification de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide

#### A. Spectroscopie d'absorption dans l'UV-VISIBLE

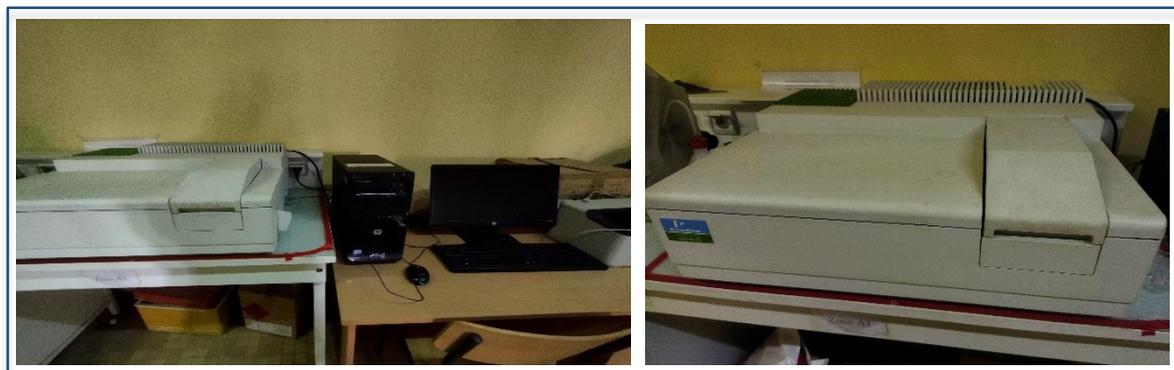


Figure 34 : Spectroscopie d'absorption dans UV-VISIBLE

#### Méthode

- Préparation de la solution échantillon de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol 4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide :
  - Solubiliser 0.1 g du produit synthétisé dans une fiole de 100 ml contenant environ 50 ml de DMSO. Agiter pendant quelques minutes pour solubiliser le produit, puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le même solvant ;
  - Faire passer un blanc de DMSO et éliminer son absorbance;
  - Réaliser un balayage entre 200 et 800 nm, et noter l'absorbance du produit synthétisé (figure 34).

#### B. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge

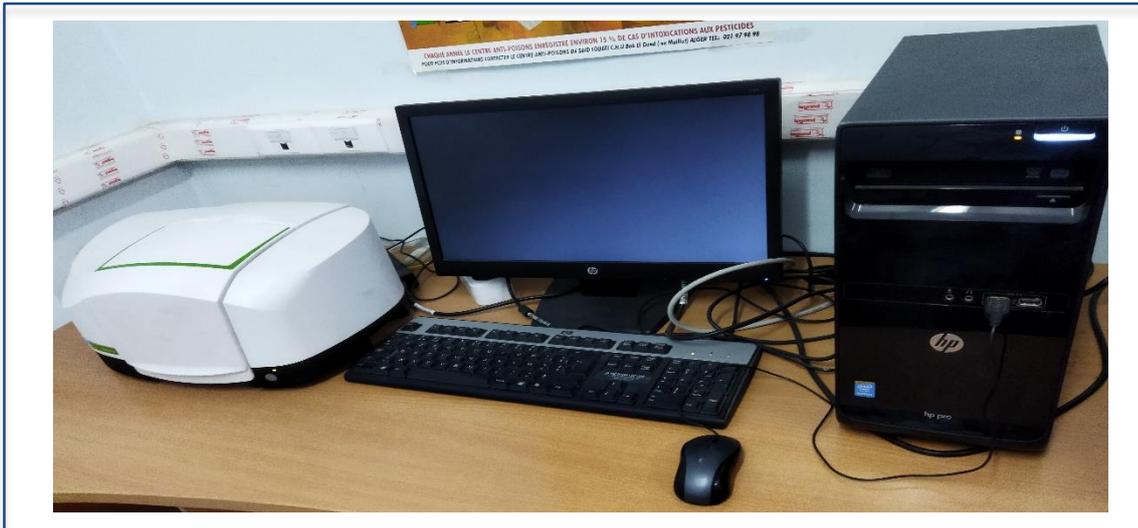


Figure 35 : Spectrophotométrie d'absorption dans l'IR

Nous avons utilisé le bromure de potassium pur et sec (KBr) pour préparer les pastilles

- **Méthode**

Dans un mortier, broyer quelques milligrammes de cristaux du produit synthétisé avec une quantité suffisante de bromure de potassium;

Placer ensuite le mélange dans le moule adapté, l'introduire dans la pastilleuse et appliquer une pression de 10 tonnes pour former une pastille fine et compacte (figure 36);

La pastille formée est ensuite introduite dans l'automate, pour effectuer la lecture (figure 35).

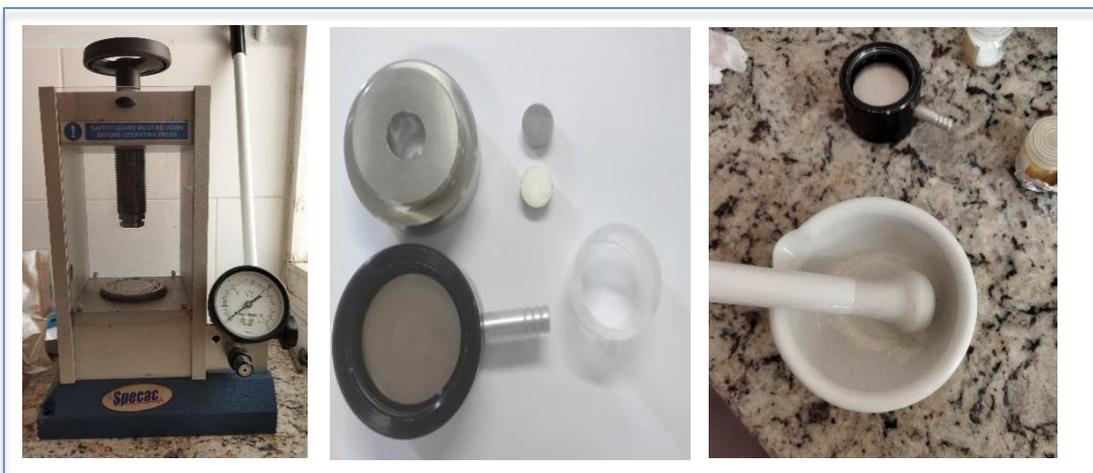


Figure 36 : Préparation des pastilles

### C. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation et d'analyse, effectuée sur une couche mince à base de silice généralement (phase stationnaire). Elle consiste à déposer un spot de produit à analyser, la plaque sera ensuite placée dans une cuve contenant

l'éluant (phase mobile), ce dernier migrer le long de la plaque par capillarité entraînant avec lui les différents composés du produit spoté selon la charge et le poids moléculaire et la révélation se fait par la lampe UV [85,86].

Dans notre travail, nous avons utilisé deux phases mobiles :

$\phi_1$  : (diéthyléther/éthanol) (25%/75%)

$\phi_2$  : (méthanol/l'hydroxyde d'ammoniaque) (60 ml/900  $\mu$ l)

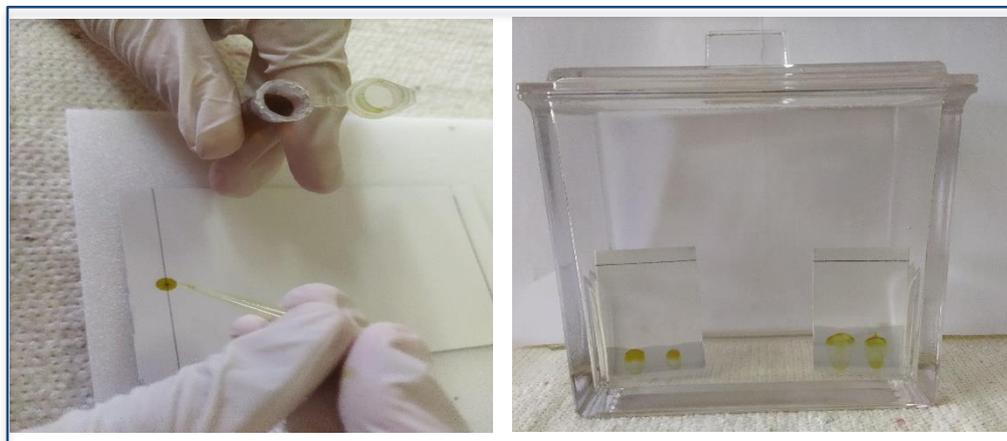


Figure 37 : Préparation des spots pour CCM

#### D. Mesure du point de fusion :

La température de fusion d'une espèce chimique correspond à la température à laquelle la dernière particule solide de la substance passe à l'état liquide. C'est une constante sûre, dont la détermination pourra permettre à la fois l'identification et la vérification de l'absence de substances étrangères. Lors du processus de fusion, toute l'énergie ajoutée à la substance est consommée sous forme de chaleur de fusion.

#### Méthode

- Régler la température de l'appareil à  $T^\circ$  ambiante ;
- Remplir le tube capillaire avec le produit synthétisé à environ 3 mm puis le renverser tout en tapotant faire chuter le produit au fond ;

- Une fois l'appareil préchauffé, au bip sonore, introduire le tube dans l'appareil et chauffer. Au deuxième bip sonore, noter la température de début et de fin de fusion.



Figure 38 : Appareil de mesure du point de fusion

## 2 Résultats

Dans cette section nous allons présenter les résultats de notre synthèse et les tests que nous avons effectués pour identifier les deux produits.

Pour la synthèse on a peu synthétisé 2 produits :

- Le premier produit dont le dérivé alpha-dicarbonylé étant le Glyoxale, nous avons obtenu le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide.
- Le deuxième produit dont le dérivé alpha-dicarbonylé étant le Benzile, nous avons obtenu le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide.

### 2.1 Calcul de rendement pour les deux produits :

#### ❖ Pour le produit 1 :

$$\begin{array}{l} \text{Mr (isoniazide)} \longrightarrow \text{Mr (produit 1)} \quad 137.14 \text{ g/mol} \longrightarrow 327.1 \text{ g/mol.} \\ \text{m (isoniazide)} \longrightarrow \text{m théorique (1)} \quad 0.52\text{g d'iso} \longrightarrow \text{m théorique (1)} \end{array}$$

$$\text{m théorique (1)} = 0.60 * \frac{327.1}{137.14} = 1.43\text{g donc } \boxed{\text{R\% (1)} = \frac{1.32}{1.43} * 100 = 92\%}$$

#### ❖ Pour le produit 2 :

$$\begin{array}{l} \text{Mr (isoniazide)} \longrightarrow \text{Mr (produit 2)} \quad 137.14 \text{ g/mol} \longrightarrow 479.49\text{g/mol.} \\ \text{m (isoniazide)} \longrightarrow \text{m théorique (2)} \quad 0.67\text{g d'iso} \longrightarrow \text{m théorique (2)} \end{array}$$

$$\text{m théorique (2)} = 0.67 * \frac{479.49}{137.14} = 2.34\text{g donc } \boxed{\text{R\% (2)} = \frac{1.74}{2.34} * 100 = 74\%}$$

Rq :

La masse expérimentale = la masse après séchage – la masse du papier filtre.

### 2.2 Identification et caractérisation de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-disubstitué-1-yl-] isonicotinamide

#### 2.2.1 Aspect et odeur

- N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide à l'aspect d'une poudre fine, de couleur verdâtre, inodore (figure 39).
- N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide est une poudre fine, de couleur jaunâtre, inodore (figure 40).



Figure 39 : Produit 1



Figure 40 : Produit 2

### 2.2.2 Tests de solubilité

Les résultats du test de solubilité sont résumés dans le tableau ci-dessous, nous avons noté que les deux produits sont fortement solubles dans le DMSO.

Tableau XVII : Résultats du test de solubilité.

Réactifs	Solubilité
<b>Ethanol</b>	Les deux produits ont une faible solubilité dans l'éthanol
<b>DMSO (dimethylsulfoxyde)</b>	Les deux produits sont solubles dans DMSO
<b>Eau distillée</b>	Les deux produits ont une faible solubilité dans l'eau

### 2.2.3 Spectroscopie d'absorption dans UV-VISIBLE

Les spectres d'absorbance dans UV-VISIBLE obtenu pour les deux produits synthétisés sont représentés dans les figures ci-dessous.

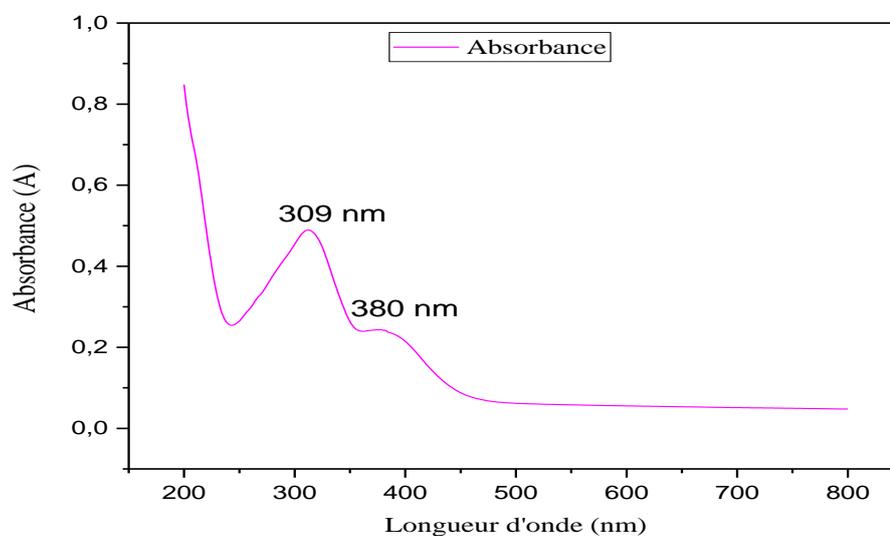


Figure 41 : Spectre d'absorption dans l'UV-VISIBLE de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1H-imidazol-1-yl]-isonicotinamide.

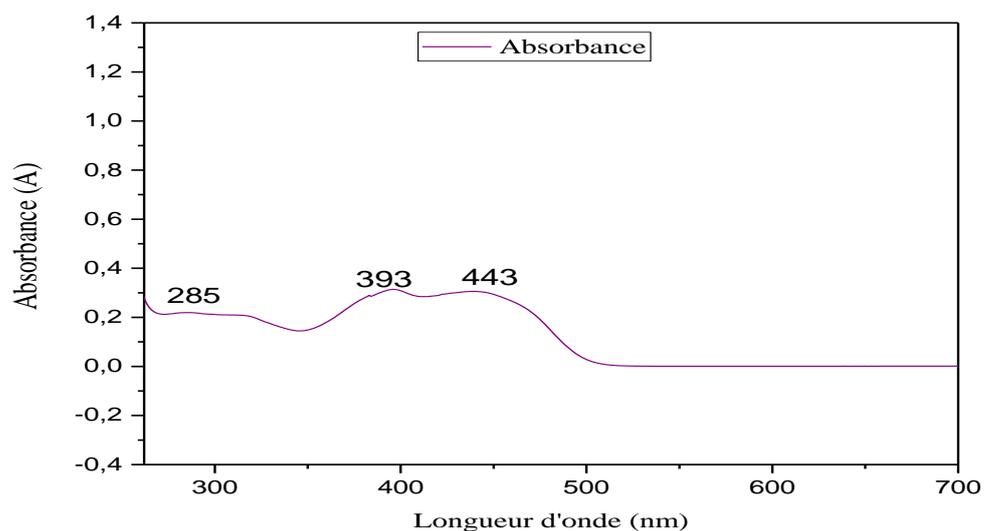


Figure 42 : Spectre d'absorption dans l'UV-visible de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl]-isonicotinamide.

Les transitions électroniques obtenues pour les deux produits synthétisés sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau XVIII : Tableau représentatif des transitions électroniques obtenues pour les deux produits synthétisés.

Les ligands	$\lambda$ max	Transition électronique
Produit 1	380	$\pi$ - $\pi^*$ (C=N aromatique ou C=C)
	309	$\pi$ - $\pi^*$ (C=N aromatique ou C=C)
produit 2	443	$n$ - $\pi^*$ NO <sub>2</sub>
	393	$\pi$ - $\pi^*$ (C=N aromatique ou C=C)
	285	$\pi$ - $\pi^*$ (C=N aromatique ou C=C)

#### 2.2.4 Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge

Le spectre d'absorption dans l'IR obtenu avec le produit 1 est représenté dans la figure ci-dessous.

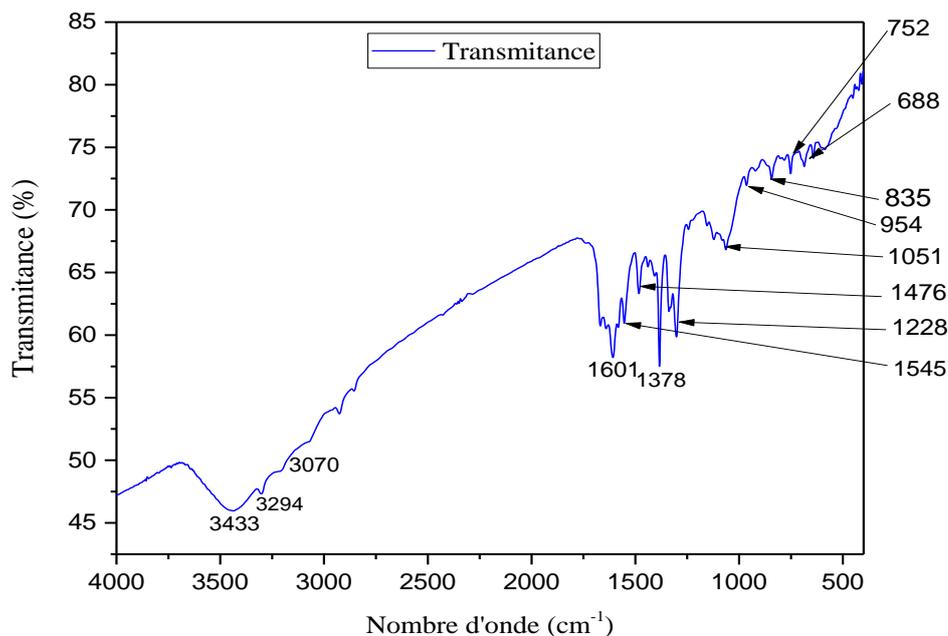


Figure 43 : Spectre d'absorption dans l'IR de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl] isonicotinamide.

Le spectre d'absorption dans l'IR obtenu avec le produit 2 est représenté dans la figure ci-dessous :

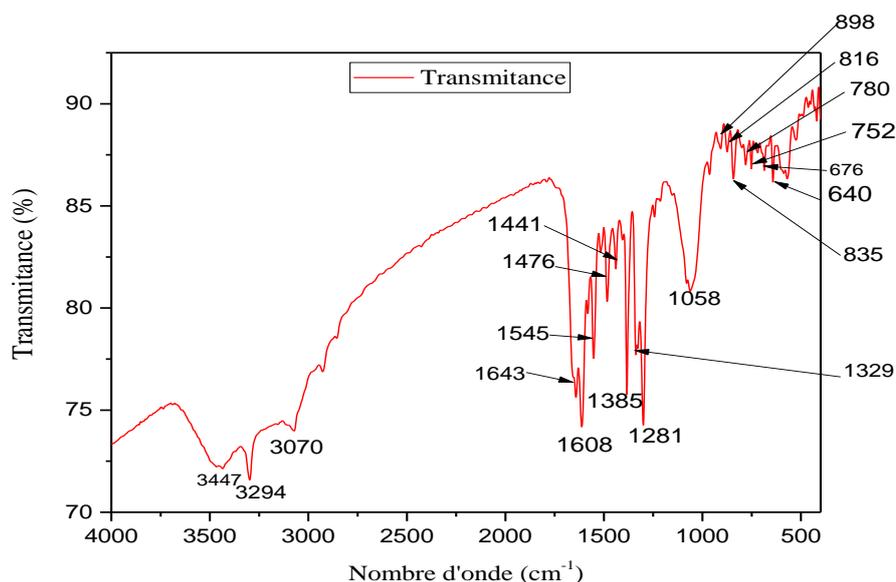


Figure 44 : Spectre d'absorption dans l'IR de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl] isonicotinamide

Le tableau ci-après montre les bandes de vibrations dans IR pour N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl] isonicotinamide et N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl] isonicotinamide, produit 1 et 2 respectivement.

Tableau XIX : Tableau présentatif des bandes de vibrations dans l'IR.

Vibrations	Nombre d'ondes (cm-1)			Type de bandes
	Valeurs théoriques	Produit 1	Produit 2	
$\nu(\text{C}=\text{N})$ ou $(\text{C}=\text{C})$ Aromatiques	1500-2000	1601-1664	1643-1608	Vibration élongation
$\nu(\text{N}-\text{H})$	3200-3500	3433	3447	Vibration élongation
$\nu(\text{C}=\text{CH})$	3030-3080	3070	3070	Vibration élongation
$\nu(\text{OH})$	>3000	3294	3294	Vibration élongation
$\nu(\text{CO})$	1250-1350	/	1281	Vibration élongation
$\nu(\text{NO}_2)$	1350-1550	1476	1476	Vibration élongation
$\delta(\text{C}-\text{N})$	1200-1350	1228	1329	Vibration déformation
$\delta(\text{N}-\text{H})$	1490-1600	1545	1545	Vibration déformation
$\delta(\text{OH})$	1360 phénols	1378	1385	Vibration déformation
$\delta(=\text{C}-\text{H})$	650-1000	835-954-1051- 688-752	835-898-1058- 816-780-752-640- 676	Vibration déformation

### 2.2.5 Chromatographie sur couche mince

Après migration, la révélation des taches des produits a été faite par la lampe UV, une seule tache de migration a été visualisée pour les deux produits comme c'est illustré dans la figure 45 et 46.

La révélation de la tache du produit 1 par la lampe UV-Visible est représenté dans la figure ci-dessous avec le calcul de son rapport frontal :

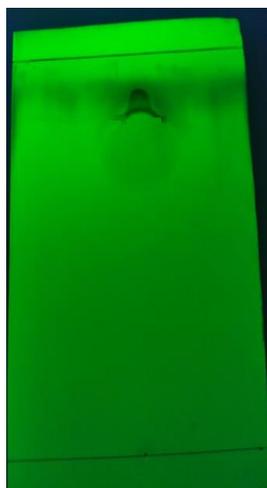


Figure 45 : CCM du produit 1

Calcul de rapport frontal :

$$R_f = \frac{\text{la distance parcourue par le produit}}{\text{la distance parcourue par l'éluant}}$$

Donc

$$R_f = \frac{8.7}{10} = 0.87 \text{ cm}$$

La révélation de la plaque CCM sous la lampe UV a montré une seule tache de migration pour le produit 2 comme l'illustre la figure ci-dessous.



Figure 46 : CCM du produit 2

Calcul de rapport frontal :

$$R_f = \frac{\text{la distance parcourue par le produit}}{\text{la distance parcourue par l'éluant}}$$

Donc

$$R_f = \frac{10.2}{11.6} = 0.88 \text{ cm}$$

### 2.2.6 Détermination du point de fusion

La mesure du point de fusion nous a donné le résultat suivant :

- Produit 1 : 257°C
- Produit 2 : 292 °C

### 3 Discussion

Le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide et le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide ont été obtenus sous forme d'une poudre fine, verdâtre pour N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide et jaunâtre pour N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide avec un bon rendement pour les deux (92% pour la N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide et 74% pour le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide). Ces deux produits ont montré une faible solubilité dans l'eau à l'origine du caractère apolaire de leur structure avec une forte solubilité dans le DMSO.

L'analyse des produits synthétisés par chromatographique sur couche mince en utilisant les phases mobiles, (méthanol/l'hydroxyde d'ammoniaque) pour produit 1 et (diéthyléther/éthanol) pour le produit 2, a révélé la présence d'une tache pour chaque produit ce qui signifie la présence d'une seule molécule qui est le principe actif synthétisé, et la distance parcourue est de 8.7 cm pour produit 1 et 10.2 cm pour le produit 2.

Les taches des produits sont retrouvées en haut de la plaque, proche du front de l'éluant, lors de la révélation, ceci est dû au poids moléculaire élevé des produits.

Pour confirmer la structure des produits synthétisés, des différentes analyses spectroscopiques ont été faites.

L'absorption dans l'UV-Visible à montrer deux maximum d'absorption pour la N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide (380nm et 309nm) qui correspond aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  qui sont des transitions des groupements éthyléniques (C = C) des cycles aromatiques caractérisent les composés insaturés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée. Tandis que le spectre d'absorption l'UV-Visible à montrer trois maximum d'absorption pour N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide, deux (285nm et 393nm) correspond aux transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  qui sont des transitions des groupements éthyléniques (C = C) des cycles aromatiques et une absorption à 443nm correspond à la transition  $n \rightarrow \pi^*$  correspond au groupement (NO<sub>2</sub>) qu'est une transition des groupements carbonyle résulte du passage d'un électron d'une orbitale moléculaire (OM) non-liante  $n$  à une orbitale moléculaire anti-liante  $\pi^*$ . Cette transition électronique est rencontrée souvent dans le cas des molécules comportent un hétéroatome porteur de doublet électronique appartenant à un système insaturé.

Après analyse de spectre IR, on a pu deviner le spectre en deux régions principales :

- La région des groupements fonctionnels de 4000  $\text{cm}^{-1}$  à 1500  $\text{cm}^{-1}$  :

Dans cette région nous trouvons les principaux groupements fonctionnels à savoir :

- Le groupement alcool (OH) qui est caractérisé par une bande à 3294  $\text{cm}^{-1}$  pour le spectre des deux produits due à l'élongation de la liaison O-H libre, et le groupement CO caractérisé par la bande à 1228  $\text{cm}^{-1}$  pour le produit 1 et 1281  $\text{cm}^{-1}$  pour le produit 2. le groupement NO<sub>2</sub> tertiaire caractérisé par la bande 1476 pour les deux produits.

- La bande 1601  $\text{cm}^{-1}$  pour le produit 1 et 1643  $\text{cm}^{-1}$  pour le produit 2 due à l'élongation (C=N) ou (C=C) aromatiques du cycle pyridine ou imidazole.
- La bande 3433  $\text{cm}^{-1}$  pour le produit 1 et 3447  $\text{cm}^{-1}$  pour le produit 2 correspondent à l'élongation (NH) (voir le tableau XIX)
- La région de l'empreinte digitale de 1500  $\text{cm}^{-1}$  à 400  $\text{cm}^{-1}$  :
  - Dans cette région nous retrouvons toutes les bandes des liaisons caractéristiques :
  - Les bandes (752, 688, 835, 954)  $\text{cm}^{-1}$  dues aux différentes vibrations du squelette phényle ou pyridine.
  - La bande 1378  $\text{cm}^{-1}$  du produit 1 et 1385  $\text{cm}^{-1}$  du produit 2 correspondent à la déformation OH.

En conclusion, l'analyse du spectre d'absorption infrarouge des deux produits synthétisés a montré la présence de toutes les bandes caractéristiques (3294  $\text{cm}^{-1}$  de groupement OH pour les deux produits et le NO<sub>2</sub> tertiaires à 1476  $\text{cm}^{-1}$  pour les deux produits), et la comparaison aux valeurs théoriques a montré une grande similitude.

En conclusion, après analyse du spectre d'absorption infrarouge, nos produits ont montré la présence de toutes les bandes caractéristiques liées à leurs structures (3294  $\text{cm}^{-1}$  de groupement OH pour les deux produits et le NO<sub>2</sub> tertiaires à 1476  $\text{cm}^{-1}$  pour les deux produits), et la comparaison aux normes de référence a montré une grande similitude.

- Le calcul du point de fusion nous a donné :  
Pour le composé 1 : un point de fusion à 257°C  
Pour le composé 2 : un point de fusion à 294 °C

## Etude de l'activité antibactérienne et antifongique



Les nouveaux dérivés de l'isoniazide, synthétisés au niveau du laboratoire de la chimie thérapeutique de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou, ont été soumis aux tests bactériologiques et antifongiques au niveau du service de parasitologie mycologie, CHU Tizi-Ouzou. Pour cela, nous avons utilisé des Souches bactériennes isolées et identifiées au niveau du laboratoire microbiologie de CHU Tizi-Ouzou (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*), et des levures et des moisissures (*Candida albicans* ; *Aspergillus niger*) fournies par le service de parasitologie CHU Tizi-Ouzou.

## **1 Matériel et méthode**

### **1.1 Matériel utilisé pour tester l'activité antibactérienne et antifongique**

Le matériel utilisé pour tester l'activité antifongique et antibactérienne est illustré dans le tableau ci-dessous.

Tableau XX : Matériel utilisé pour tester l'activité antibactérienne et antifongique

<b>Matériel</b>	<b>Appareillages</b>	<b>Milieux de cultures</b>
Spatule	Balance analytique	Eau physiologique stérile
Verre à montre	METTLER PJ400	Gélose Mueller-Hinton
Tubes en verre stériles	Agitateur vortex	Gélose sabouraud chloramphénicol
Pipettes pasteurs	Bec benzène	Gélose sabouraud chloramphénicol
Anse de platine	Etuve BINDER	actidione
Embouts propres	Micropipette Accumax PRO	Milieu Chapman
Portoirs		Milieu Hektoen
Boîtes pétries		
Bain-marie		
Ecouvillons		
Disques d'antibiotiques		
Pince		

### 1.2 Souches de micro-organismes testées

Nous avons testé l'activité microbiologique des composés 1 et 2, vis-à-vis des souches microbiennes et fongiques représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau XXI : Souches de micro-organismes testées.

Micro-organisme	Souches testées	Espèces testées	Origine
<b>Bactéries</b>	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	Souches bactériennes isolées et identifiées au niveau du laboratoire microbiologie de CHU Tizi-Ouzou
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	
<b>Champignons</b>	Levure	<i>Candida albicans</i>	Souches fongiques fournies par le service de parasitologie-mycologie CHU Tizi-Ouzou.
	Moisissure	<i>Aspergillus niger</i>	

### 1.3 Méthodes utilisées pour tester l'activité

Pour la partie étude de l'activité antibactérienne et antifongique, nous avons évalué l'activité antimicrobienne en se référant à la standardisation de l'antibiogramme et de l'antifongogramme pour les deux molécules synthétisées, nous avons procédé comme suit par :

- Tester la sensibilité, in vitro, par la méthode de diffusion des disques et mesurer les diamètres d'inhibitions.
- Déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

#### a. Activation des souches bactériennes

Effectuer des isollements en stries (méthode des quatre quadrants) directement à partir des souches bactériennes sur les milieux sélectifs pour chaque bactérie :

- Milieu Chapman pour le *Staphylococcus aureus*.
- Milieu Hektoen pour le *P. aeruginosa* et *E. coli*.

## **b. Souches fongiques**

Les souches fongiques testées sont des cultures jeunes de 15 jours, 24-48h pour *C.albicans* et 5-7 jours pour *Aspergillus niger* fournies par le laboratoire de parasitologie, CHU Tizi-Ouzou sur milieu gélosé en tube :

- Milieu sabouraud-chloramphénicol-actidione pour *Candida albicans*.
- Milieu sabouraud-chloramphénicol pour *Aspergillus niger*.

### **1.3.1 Préparation de l'antibiogramme**

#### **1.3.1.1 Milieu pour antibiogramme**

- Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

##### **a) Pour les souches bactériennes**

Le milieu utilisé est le milieu Mueller-Hinton, milieu spécifique pour l'antibiogramme.

##### **b) Pour les souches fongiques**

Le milieu utilisé est le milieu spécifique pour chaque souche.

- Milieu sabouraud-chloramphénicol-actidione pour *Candida albicans*.
- Milieu sabouraud-chloramphénicol pour *Aspergillus niger*.



Figure 47 : Milieux pour l'antifongogramme

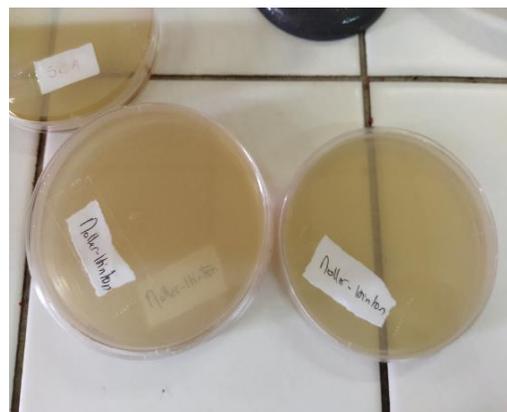


Figure 48 : Milieux pour l'antibiogramme.

#### **1.3.1.2 Préparation de l'inoculum microbien**

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié pour les souches bactériennes, des cultures de 24-48h pour *C.albicans*, ou 5-7 jours pour *Asp. Niger*, racler à l'aide d'une anse de platine ou pipette pasteur 1 à 2 colonies bien isolées et parfaitement identiques ( équivalents 0.5 MF).
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension.

### **1.3.1.3 Préparation des solutions à tester**

Préparation des solutions pour les deux produits synthétisés à une concentration de 5.12 mg/ml dans le DMSO.

La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10ème dans le cas où l'on teste des molécules à charge SFM (c'est-à-dire des antibiotiques pour lesquels il n'existe pas encore de critères d'interprétation dans la technique CLSI).

### **1.3.1.4 Ensemencement**

- Tremper une anse de platine stérile dans l'inoculum ;
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum ;
- Frotter l'anse sur la totalité de la surface gélosée, sèche, du haut en bas, en stries serrées ;
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'anse sur la périphérie de la gélose ;
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'anse de platine à chaque fois.

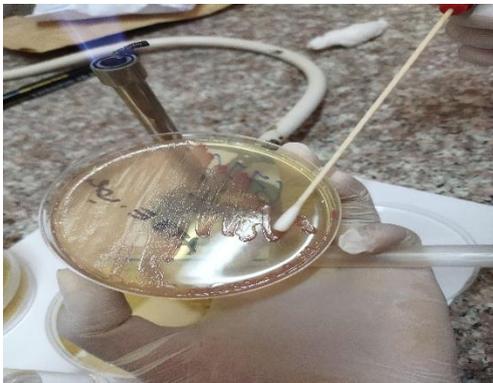


Figure 50 : Prélèvement des colonies.



Figure 49 : Ensemencement sur la gélose Mueller-Hinton pour l'antibiogramme.

### **1.3.1.5 Application des disques**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques sur une boîte de 90 mm ;
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application.

- Imbiber les disques avec 10  $\mu$ l de chaque solution.



Figure 51 : Disques d'antibiotiques.



Figure 52 : Application des disques sur la gélose.

### 1.3.1.6 Conditions d'incubation

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

18-24h bactéries à 35°C

24-48h *C. albicans* à 35

48-5 jours *A. niger*.

### 1.3.1.7 Lecture

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

## 1.3.2 Calcul de la CMI (concentration minimale inhibitrice)

### 1.3.2.1 Milieu utilisé

- Milieu Mueller-Hinton en gélose.

- Il est liquéfié par ébullition puis maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi.



Figure 53 : Préparation des milieux Mueller-Hinton pour CMI.

**1.3.2.2 Préparation des boîtes de dilutions du produit à tester**

- Peser 51,20 mg de poudre titrée de produit.
- Diluer dans le volume du solvant (dans notre cas c'est le DMSO) pour obtenir une concentration initiale de 5120 µg/ml (solution-mère).
- Procéder aux dilutions semi-logarithmiques (de demi en demi), dans le DMSO, jusqu'à la concentration finale de 1,25 µg/ml.
- Répartir 2 ml de chaque dilution d'antibiotique, dans la boîte correspondante en procédant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée.
- Compléter chaque boîte avec 18 ml de gélose Mueller-Hinton liquéfiée et homogénéisée délicatement, sans faire de bulles, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires. La dilution obtenue (1/10ème) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml.
- La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées.
- Préparer une boîte témoin sans antibiotique en remplaçant le volume d'antibiotique par le même volume de DMSO.
- Après solidification, sécher les boîtes, couvercle en place, pendant 30 mn.



Figure 54 : Préparation des dilutions pour la CMI.

Les dilutions effectuées pour la détermination de la CMI sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXII : Préparation des différentes dilutions pour la CMI

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	DMSO (ml)	Concentration intermédiaire	Concentration finale
Solution mère	5120			5120	512
1	5120	2	2	2560	256
2	5120	1	3	1280	128
3	5120	1	7	640	64

4	640	2	2	320	32
5	640	1	3	160	16
6	640	1	7	80	8
7	80	2	2	40	4
8	80	1	3	20	2
9	80	1	7	10	1
10	10	2	2	5	0.5
11	10	1	3	2.5	0.25
12	10	1	7	1.25	0.125

### 1.3.2.3 Préparation de l'inoculum bactérien

- Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF.
- Utiliser l'eau physiologique pour la préparation de l'inoculum à partir d'une culture jeune de la bactérie à tester (18 à 24h).
- Déposer sous forme de spot à la surface de la gélose (2 µl par boîte de dilution avec de l'inoculum préparé).

### 1.3.2.4 Dépôt des spots bactériens

- Déposer les spots dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.
- Marquer la boîte de dilution d'antibiotique pour localiser et identifier chaque spot.
- Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant une anse calibrée ou une pipette automatique à cône stérile.



Figure 55 : Spot de la suspension bactérienne.

- Commencer par la boîte témoin, puis déposer les spots sur les différentes boîtes en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée.

### **1.3.2.5 Incubation**

Laisser les boîtes à température ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots, pas plus de 30 mn). Renverser les boîtes et incuber à 35°C±2 pendant 16-20 heures [87].

Le tableau ci-dessous représente les conditions d'incubation des différentes espèces.

Tableau XXIII : Conditions d'incubation des différentes espèces.

Micro-organisme	Température d'incubation	Durée d'incubation
<i>Escherichia coli</i>	37 °C	24 heures
<i>Staphylococcus aureus</i>	37°C	24 heures
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37°C	24 heures
<i>Candida albicans</i>	37°C	48 heures
<i>Aspergillus niger</i>	25°C	48 heures

### **1.3.2.6 Lecture des CMI**

- Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive, noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible).
- Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film.

**2 Résultats**

Les figures ci-dessous représentent les milieux utilisés pour tester l'activité antifongique.



Figure 56 : Milieux utilisés pour tester l'activité antifongique

Les souches bactériennes utilisées pour tester l'activité antibactérienne des deux composés synthétisés sont représentées dans la figure ci-dessous :

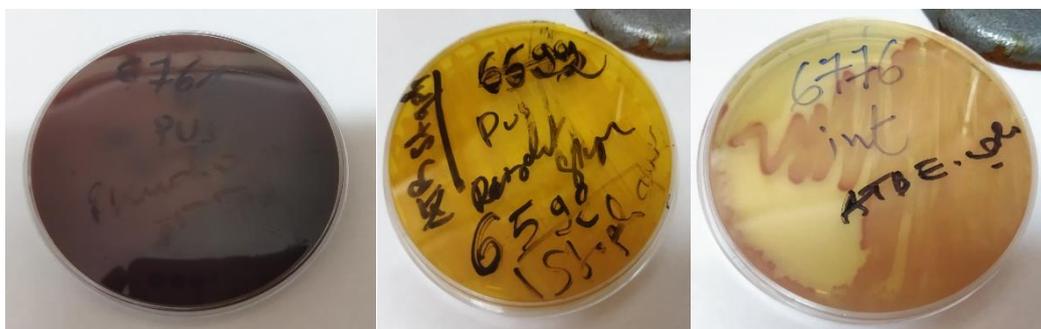


Figure 57 : Souches bactériennes utilisées pour tester l'activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne testée sur *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* et l'activité antifongiques testée sur *Aspergillus niger* et *Candida albicans* pour les deux produits synthétisés sont représentés dans le tableau ci-dessous. Nous avons noté un diamètre d'inhibition pour les deux produits (17 mm pour produit 1 et 15 mm produit 2) contre *S.aureus*, et un diamètre d'inhibition égale à 10 mm pour produit 2 contre *C.albicans*.

Tableau XXIV : Résultats du test de sensibilité in vitro.

Souche fongique	référence	Témoins Négative	Résultats d'activité pour les produits	Diamètre d'inhibition (DI)		
				Produit 1	Produit 2	référence
<i>Aspergillus niger</i>	Econazole	DMSO	NEGATIVE	DI = 0 mm	DI = 0 mm	DI = 0 mm
<i>Candida albicans</i>		L'eau	POSITIVE	DI = 0 mm	DI = 10 mm	DI = 33mm

<i>Staphylococcus aureus</i>	Gentamicine	DMSO	POSITIVE	DI = 17mm	DI = 15mm	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			NEGATIVE	DI = 0 mm	DI = 0mm	
<i>Escherichia coli</i>			NEGATIVE	DI = 0mm	DI = 0mm	

DI: diamètre d'inhibition. / DMSO : dimethylsulfoxyde.

### 2.1 Détermination de la CMI pour le produit 1 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus*

Le tableau ci-dessous présente les résultats de la détermination de la CMI du N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol -1-yl-] isonicotinamide vis à vis du *Staphylococcus aureus*.

Nous avons noté une culture bactérienne pour toutes les dilutions allant du 0.125 µg/ml - 8µg/ml tandis qu'aucune poussée bactérienne n'a été observée dans les boîtes de dilution allant de 32 µg/ml jusqu'à 512 µg/ml. Donc nous pouvons conclure que la CMI est égale à 16 µg/ml.

Tableau XXV : Résultats de la CMI vis-à-vis du *Staphylococcus aureus*

Concentration (ug/ml)	512	256	128	64	32	<b>16</b>	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125
Résultats	-	-	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+	+	+

CMI = 16 ug/l

**NB :** la CMI a été déterminée uniquement pour le produit 1, vue que la quantité de la gélose disponible n'était pas suffisante pour les deux produits (non disponibilité des petites boîtes de pétri).

### **3 Discussion**

Les souches fongiques testées sont des souches sensibles à l'econazole (antifongique de référence utilisé comme contrôle), nous avons obtenu des diamètres des zones d'inhibition de 32 mm avec *Candida albicans* (solution d'econazole préparée dans les mêmes conditions que les produits à tester).

Les résultats de l'étude de l'activité antifongique in vitro des composés 1 et 2 n'a montré aucun diamètre d'inhibition vis-à-vis d'*Aspergillus niger* et pour le *Candida albicans*, seul le composé 2 a montré une très faible activité antifongique et a donné un diamètre de 10 mm. Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne in vitro des composées 1 et 2 n'a montré aucun diamètre d'inhibition vis-à-vis de *P. aeruginosa* et *E. coli*. Pour le *S. aureus*, les deux composés se sont révélés actifs avec un diamètre d'inhibition de 17 mm pour le composé 1 et de 15 mm pour le composé 2 comme la montre les figures ci-dessous.



Figure 60 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis de *P. aeruginosa*.



Figure 59 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis d'*E. coli*.

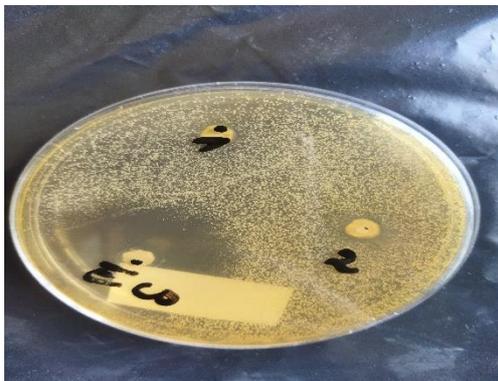


Figure 61 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis de *C. albicans*.



Figure 58 : Test de sensibilité, in vitro, vis-à-vis du *S. aureus*

#### **❖ Détermination de la CMI pour le produit 1 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus***

Pour le *Staphylococcus aureus*, nous avons observé une pousse bactérienne dans la boîte témoin, les dilutions 0.125µg/ml, 0.25µg/ml, 0.5µg/ml, 1µg/ml, 2µg/ml, 4µg/ml, et 8µg/ml. Cependant, aucune pousse bactérienne n'a été observée dans les boîtes de dilution

16 µg/ml, 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml, 256 µg/ml et 512 µg/ml, donc la valeur de la CMI de composé 1 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus* testé est de : 16 µg/ml.

D'après les résultats de l'étude de l'activité biologique, in vitro, nous avons constaté que :

- l'introduction du cycle imidazole a donné lieu à une activité antibactérienne, anti *staphylococcus aureus* et une activité antifongique anti *candida albicans* très faible (un très petit diamètre d'inhibition).
- L'ajout de phényle dans le produit 2, n'a eu aucune influence sur l'activité biologique observée.

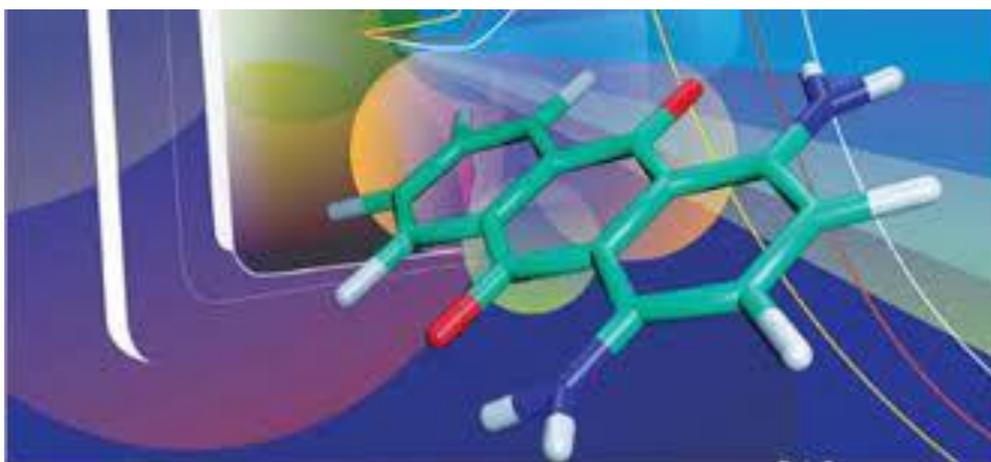
Nous pouvons conclure, que nous avons obtenu une bonne activité antibactérienne contre la souche *staphylococcus aureus*, ce sont des dérivés imidazolés rassemblant dans une même structure un cycle imidazole lié à un phényle substitué par les groupements nitro en méta et hydroxyle en position ortho.

#### **4 Limites de l'étude de l'activité antifongique et antibactérienne**

Les principales causes qui peuvent limiter nos résultats sont :

- L'indisponibilité des souches ATCC référence pour les espèces fongiques ;
- L'imprécision de la densité de l'inoculum microbien préparé par la méthode visuelle.

## Docking moléculaire et prediction in silico ADMET



## **1 Matériel et méthode**

### **1.1 Matériel utilisé pour le docking moléculaire**

#### **1.1.1 Cible**

Dans notre étude, nous nous sommes intéressées à "**La gyrase bactérienne**" comme cible probable pour les deux produits synthétisés.

En se basant sur les différentes cibles concernant les antibiotiques ; et en analysant les structures des composés, nous avons remarqué qu'il y avait une similitude sur le plan structural entre la ciprofloxacine et nos composés ; nous retrouvons des hétérocycles azotés avec un noyau benzénique, ce qui fait que nous avons proposé cette protéine comme cible et en faisant une bonne analyse bibliographique, nous avons noté que c'est une cible qui a été proposée et retenue pour expliquer l'activité antibactérienne des imidazolés.

La structure de la ADN gyrase synthétase a été téléchargée à partir de la base de données PDB sous le code 6FQM.

La structure tridimensionnelle de format pdb du domaine d'édition de la gyrase bactérienne co-cristallisée avec E32 (7-[(3S)-3-azanylpiperidin-1-yl]-5-cyclopropyl-8-fluoranyl-imidazo[1,2-a]quinoxalin-4-one) est disponible dans la Protein Data Bank sous le code PDB 6FQM avec une résolution de 3.06 Å. C'est une enzyme organisée en un hétérotétramère A2B2. La partie centrale comprend trois interfaces protéiques majeures ou « portes », constituées d'un domaine de fixation de l'ATP et d'un domaine de liaison/coupeure de l'ADN, à travers lesquelles l'ADN est transporté. Cette interface dimérique est flanquée de deux domaines carboxy-terminaux adoptant un repliement tridimensionnel sous forme de disque, indispensables à l'introduction de coupures dans l'ADN. Cette enzyme est obtenue par la méthode de diffraction des rayons X à partir du *Staphylococcus aureus subsp. Aureus N315* avec *Escherichia coli* comme organisme d'expression [88, 89,90].

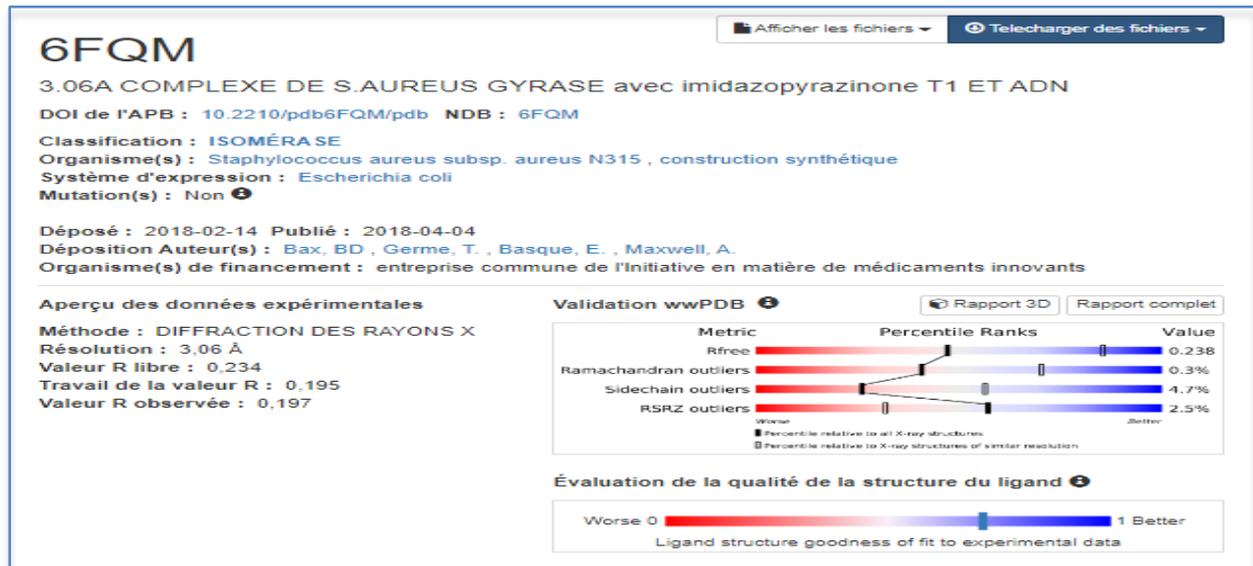


Figure 62 : Informations relatives au 6FQM sur PDB [88]

PDB est une base de données mondiale sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques : protéines, acides nucléiques et assemblages de complexes. Ces structures sont obtenues expérimentalement par diffraction des rayons X, par spectroscopie RMN ou par cryomicroscopie [62].

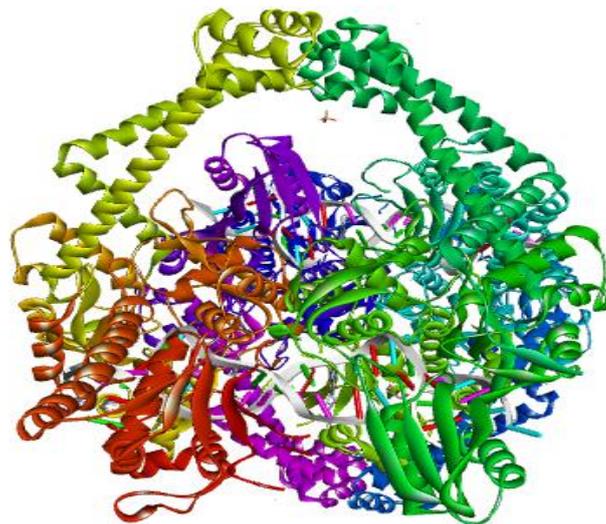


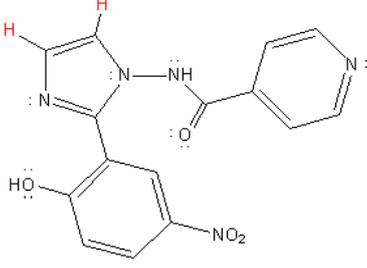
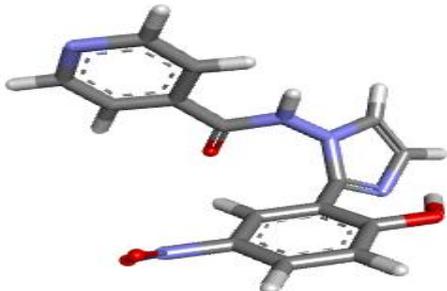
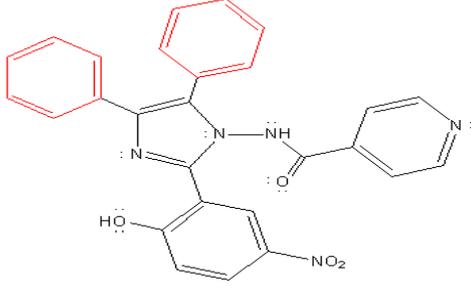
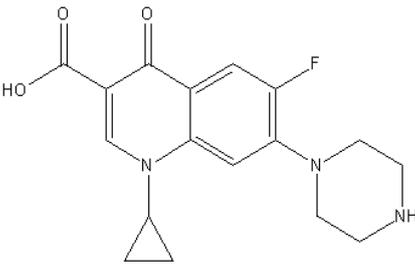
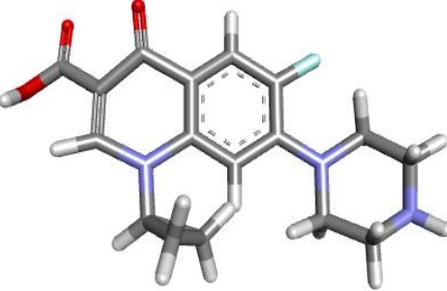
Figure 63 : Gyrase bactérienne ou 6FQM

### 1.1.2 Ligands

Dans notre étude, nous avons étudié l'affinité pour la cible choisie, de trois ligands : la ciprofloxacine (ligand de référence), le ligand 1 et le ligand 2 obtenus par synthèse chimique.

Les structures chimiques des ligands étudiés sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXVI : Structures bidimensionnelles et tridimensionnelles des ligands.

Ligand	Structure bidimensionnelle	Structure tridimensionnelle
<p><b>Ligand 1</b> ou N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1H-imidazol-1-yl]-isonicotinamide</p>		
<p><b>Ligand 2</b> ou N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl]-isonicotinamide</p>		
<p><b>ciprofloxacine</b></p>		

La structure des ligands étudiés sous forme PDB a été obtenue et optimisée avec le logiciel ChemDraw qui est un logiciel inventé en 1985. Il est utilisé par les chimistes pour dessiner les molécules et avoir leur structure tridimensionnelle.

La version utilisée dans notre travail est ChemDraw Ultra 8.0.3. Cette version nous a permis d'avoir la structure 3D.

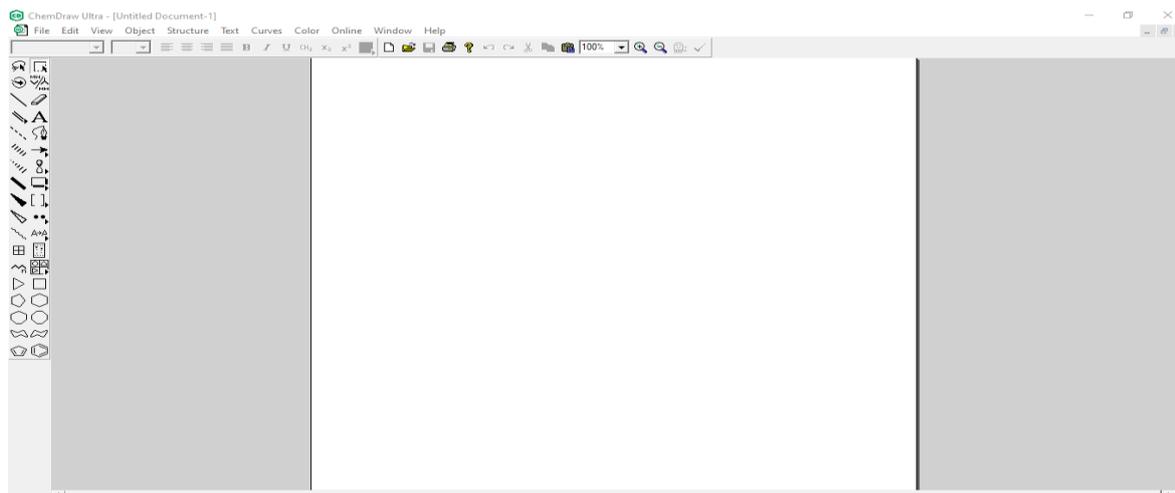


Figure 64 : Interface du logiciel ChemDraw Ultra 8.0.3 (avec un espace de dessin au milieu et plusieurs barres d'outils).

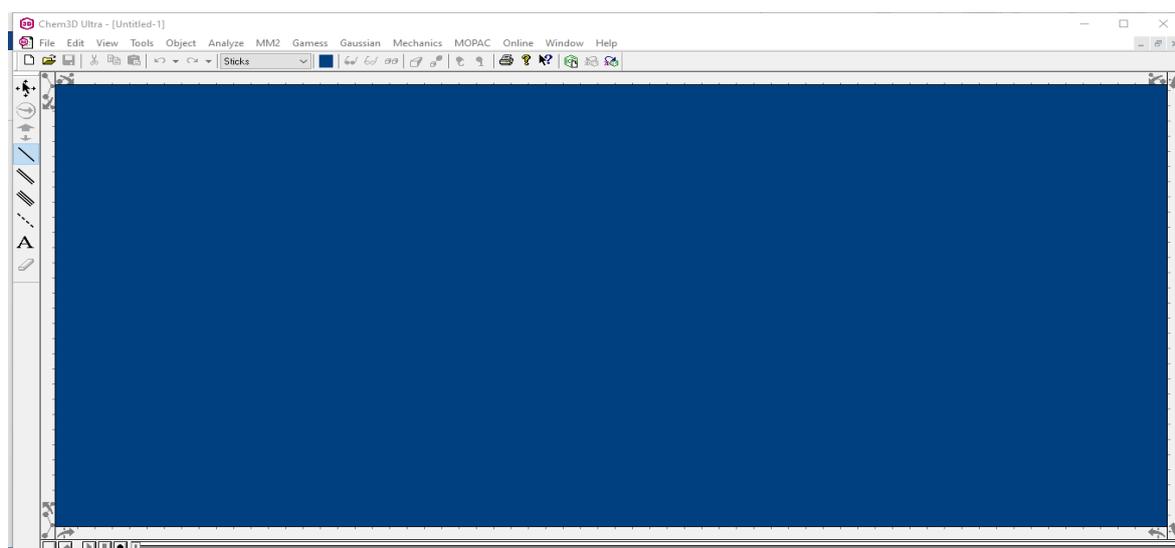


Figure 65 : Interface du logiciel Chem3D Ultra 8.0.3 (avec l'espace de travail « work space » au milieu et plusieurs barres d'outils).

### 1.1.3 Logiciel Autodock Vina

Autodock Vina est l'un des moteurs d'accueil les plus rapides et les plus utilisés pour faire de l'amarrage moléculaire, c'est un programme d'amarrage basé sur une fonction de notation simple et une recherche conformationnelle d'optimisation de gradient rapide.

Il a été conçu et mis en œuvre à l'origine par le **Dr Oleg Trott** dans le Molecular Graphics Lab et il est maintenant maintenu et développé par le Forli Lab du Scripps Research Institute [67].

Autodock emploie les méthodes Monte-Carlo, le Recuit Simulé et l'algorithme génétique Lamarckien (LGA) pour créer un ensemble de conformations possibles. LGA est utilisé comme optimiseur global et la minimisation d'énergie comme méthode de recherche locale. Les orientations possibles sont évaluées par le modèle AMBRE de champ de force en conjonction avec les fonctions de score d'énergie libre et un grand ensemble de complexes de protéine-ligand avec des constantes connues. La version 4 devrait contenir la flexibilité

de chaîne latérale. Autodock a des pages Web plus instructives que ses concurrents en raison de sa licence académique gratuite [68].

C'est un logiciel qui est en libre accès sur le lien <http://vina.scripps.edu/>.

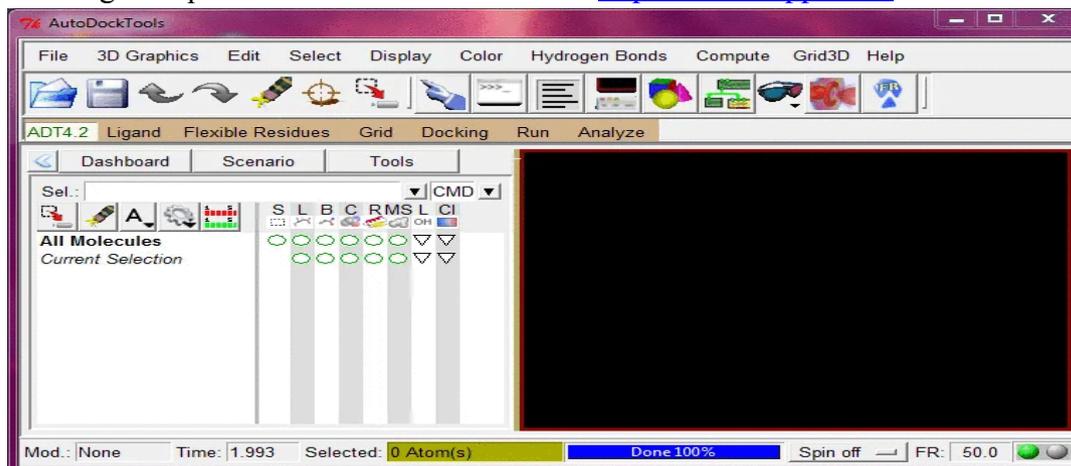


Figure 66 : Accueil du logiciel Autodock Vina

#### 1.1.4 Logiciel de visualisation des résultats Biovia

BIOVIA Discovery Studio rassemble plus de 30 ans de recherche évaluée par des pairs et des techniques in silico de classe mondiale telle que la mécanique moléculaire, les calculs d'énergie libre. Il fournit aux chercheurs un ensemble d'outils complet pour explorer les nuances de la chimie des protéines et catalyser la découverte de petites et grandes molécules thérapeutiques, de l'identification de la cible à l'optimisation des pistes [91].

C'est un logiciel qui est en libre accès sur le lien <https://www.3ds.com/>

#### 1.1.5 Serveur de prediction ADMET/Tox

Dans notre travail, nous avons fait appel aux logiciels de prediction du profil ADMET/Tox pour les molécules synthétisées, SwissAdme pour évaluer les propriétés physicochimiques et ADMETsar pour les propriétés pharmacocinétiques et toxicité (voir partie pratique A).

##### 1.1.5.1 Swiss Drug-Design (SwissADME)

C'est un outil web d'accès gratuit pour la prediction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques. L'accès est facile via le site <http://www.sib.swiss/>. Cette plateforme aide les spécialistes à prédire les propriétés physicochimiques, in silico, pour plusieurs molécules au même temps.

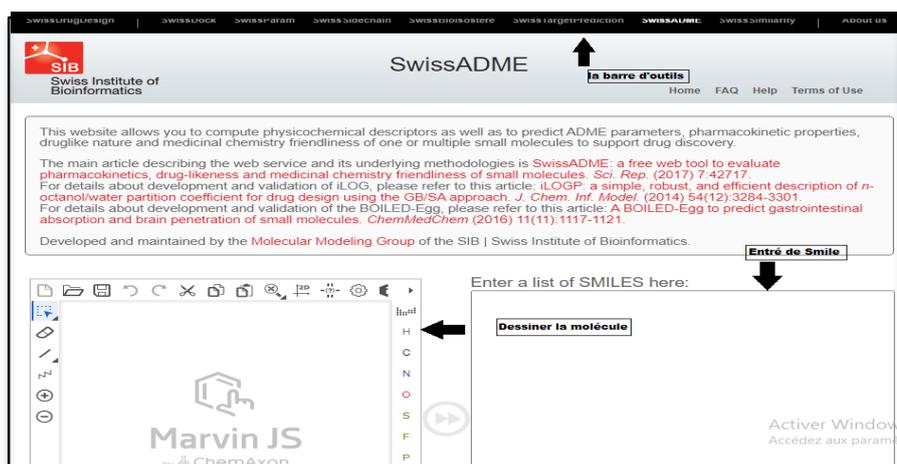


Figure 67 : Accueil du logiciel SwissAdme [92]

❖ **paramètres évalués par SwissADME**

Les paramètres évalués par SwissADME sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXVII : Paramètres évalués par SwissAdme.

Physicochemical Properties	
Formula	C22H27FN4O2
Molecular weight	398.47 g/mol
Num. heavy atoms	29
Num. arom. heavy atoms	11
Fraction Csp3	0.36
Num. rotatable bonds	8
Num. H-bond acceptors	4
Num. H-bond donors	3
Molar Refractivity	116.31
TPSA	77.23 Å²
Lipophilicity	
Log P <sub>ow</sub> (ILOGP)	3.50
Log P <sub>ow</sub> (XLOGP3)	2.63
Log P <sub>ow</sub> (WLOGP)	3.07
Log P <sub>ow</sub> (MLOGP)	2.06
Log P <sub>ow</sub> (SILICOS-IT)	4.77
Consensus Log P <sub>ow</sub>	3.21

Water Solubility	
Log S (ESOL)	-3.72
Solubility	7.59e-02 mg/ml ; 1.90e-04 mol/l
Class	Soluble
Log S (Alii)	-3.90
Solubility	4.99e-02 mg/ml ; 1.25e-04 mol/l
Class	Soluble
Log S (SILICOS-IT)	-7.35
Solubility	1.76e-05 mg/ml ; 4.43e-08 mol/l
Class	Poorly soluble

Pharmacokinetics	
GI absorption	High
BBB permeant	Yes
P-gp substrate	Yes
CYP1A2 inhibitor	No
CYP2C19 inhibitor	Yes
CYP2C9 inhibitor	No
CYP2D6 inhibitor	Yes
CYP3A4 inhibitor	Yes
Log K <sub>p</sub> (skin permeation)	-6.86 cm/s

Druglikeness	
Lipinski	Yes; 0 violation
Ghose	Yes
Veber	Yes
Egan	Yes
Muegge	Yes
Bioavailability Score	0.55

Medicinal Chemistry	
PAINS	0 alert
Brenk	1 alert: michael_acceptor_1
Leadlikeness	No: 2 violations: MW>350, Rotors>7
Synthetic accessibility	3.58

**1.1.5.2 ADMETSar**

Voir la partie comparaison des logiciels de prediction in silico ADMET.

**1.2 Méthode**

**1.2.1 Protocole du docking**

**1.2.1.1 Préparation de la protéine 6FQM (le récepteur)**

- Ouvrir le programme Autodock Tools et faire glisser la protéine (format PDB) ;
- Sélectionner l'inhibiteur co-cristallisé (E32) et l'éliminer ;

- Eliminer les molécules d'eau ;
- Ajouter des atomes d'hydrogènes polaires et des charges de kollman (charges partiels) ;
- Enregistrer la protéine sous format PDBQT.

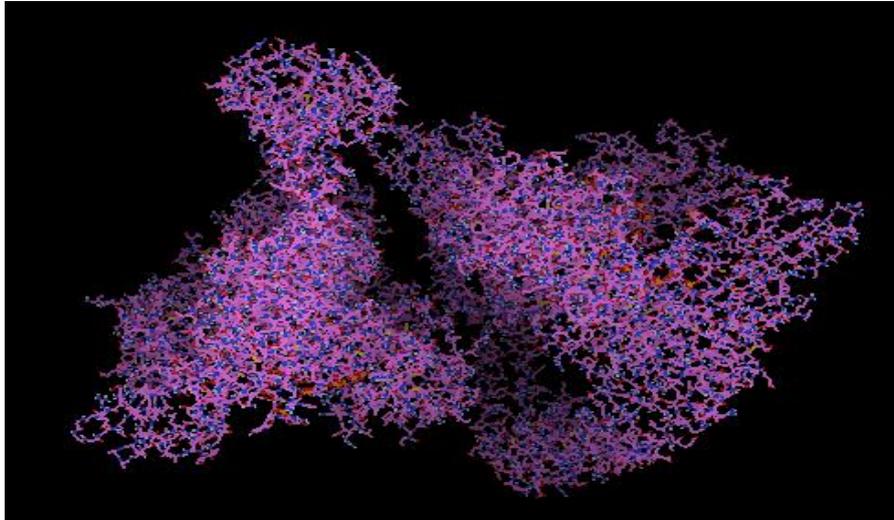


Figure 68 : Protéine 6FQM sous format PDBQT.

#### 1.2.1.2 Préparation des ligands

- Importer le ligand dans Autodock Tools à l'aide du ChemDraw et Chem3D ;
- Définir la molécule comme ligand ;
- La structure du ligand sera analysée puis enregistrée sous format PDBQT.

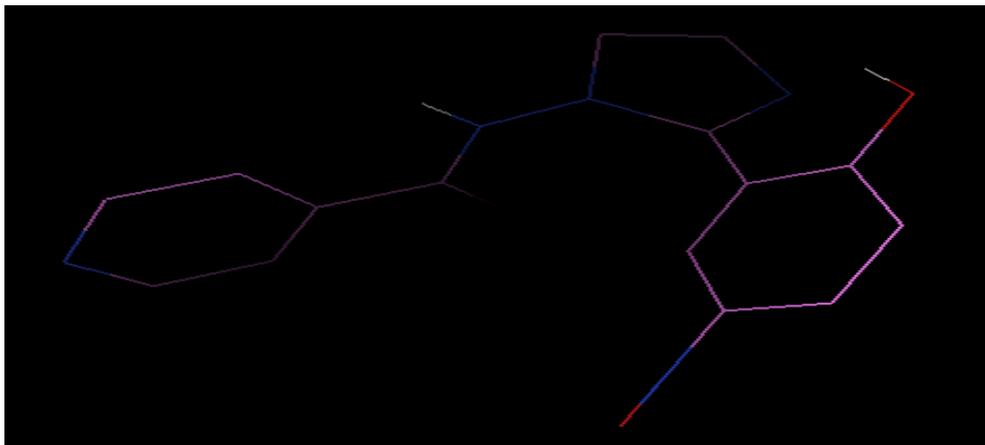


Figure 69 : Ligand 1 préparé et enregistré sous format PDBQT.

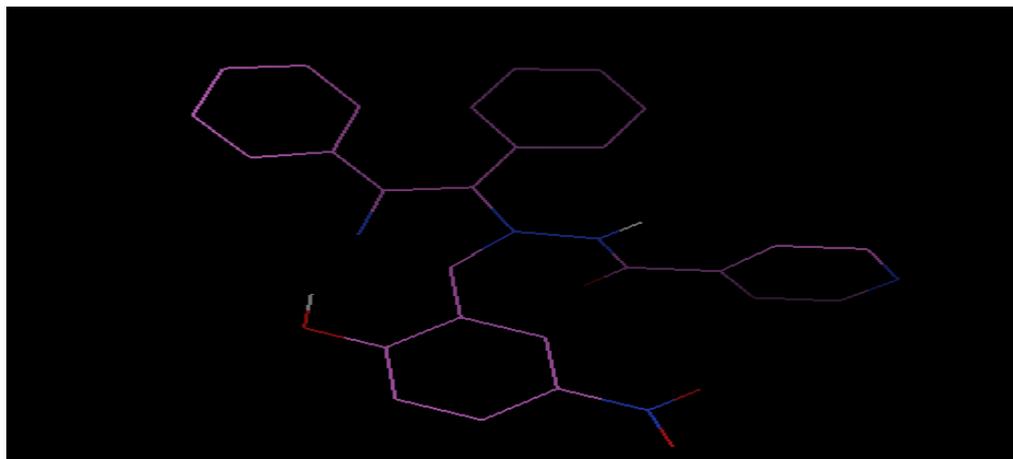


Figure 70 : Ligand 2 préparé et enregistré sous format PDBQT.

### 1.2.1.3 Définir le site actif ou Grid Box

- Ouvrir le ligand et la protéine format PDBQT dans Autodock Tools ;
- Définir la macromolécule (récepteur) pour le Grid Box ;
- Choisir la 6FQM comme macromolécule ;
- Ouvrir la fenêtre Grid Box ;
- Définir les différents paramètres (dimensions du Grid Box) ;
- Enregistre les paramètres dans un fichier nommé « Grid » (format Txt) ;
- Créer un fichier texte nommé « config.txt ».

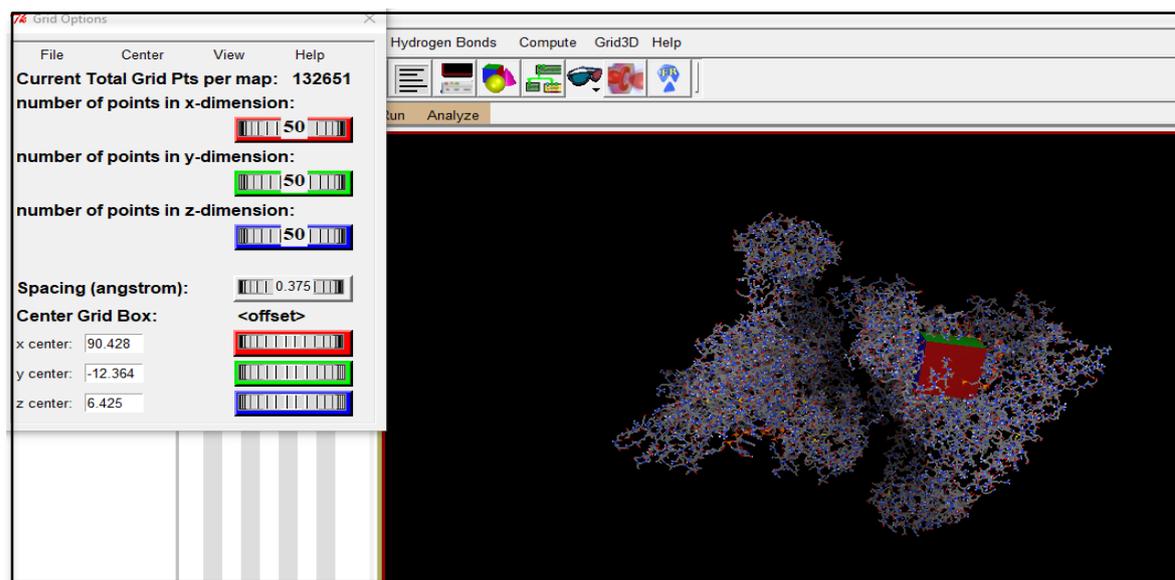
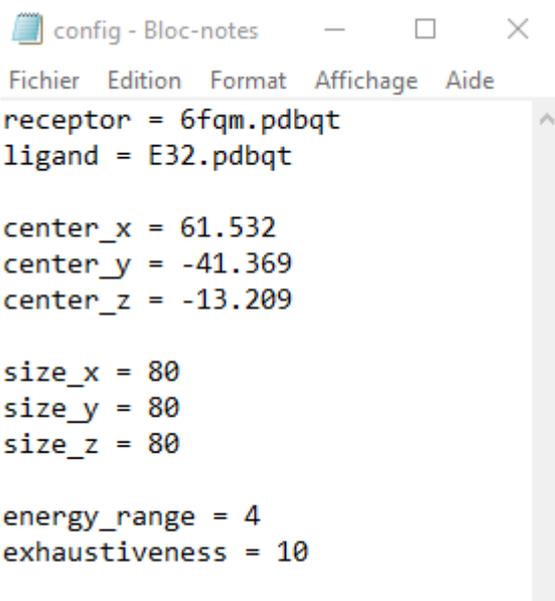


Figure 71 : Choix du Grid Box.

Le fichier config contient les informations nécessaires pour lancer le docking, les dimensions de la zone de recherche ainsi que les coordonnées x, y, z, obtenues après positionnement du Grid Box au niveau du site de liaison, un exemple du fichier config est présenté ci-dessous.



```
receptor = 6fqm.pdbqt
ligand = E32.pdbqt

center_x = 61.532
center_y = -41.369
center_z = -13.209

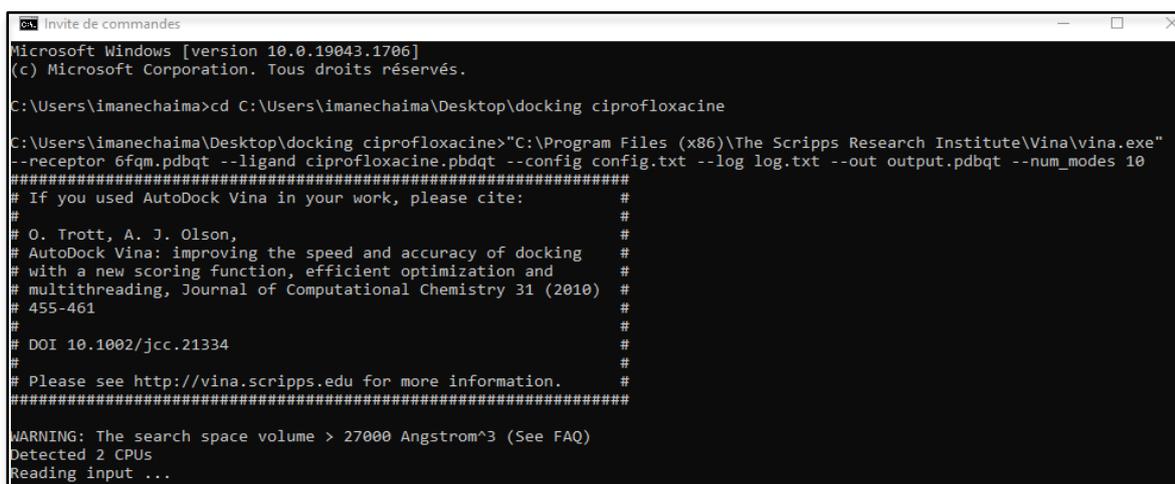
size_x = 80
size_y = 80
size_z = 80

energy_range = 4
exhaustiveness = 10
```

Figure 72 : Exemple d'un fichier config.

#### 1.2.1.4 Docking avec autodock vina

- Inviter une commande (faire entrer CMD dans la barre de recherche) ;
- Entrer dans la commande, les adresses des dossiers nécessaires au docking ;
- Spécifier les fichiers nécessaires au docking (récepteurs, ligands, config) ;
- Lancer le docking ;
- Résultats du docking sont représentés sous forme d'un tableau de 10 poses ;
- Visualisations des poses par Discovery.



```
Microsoft Windows [version 10.0.19043.1706]
(c) Microsoft Corporation. Tous droits réservés.

C:\Users\imanechaima>cd C:\Users\imanechaima\Desktop\docking ciprofloxacin

C:\Users\imanechaima\Desktop\docking ciprofloxacin>"C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute\Vina\vina.exe"
--receptor 6fqm.pdbqt --ligand ciprofloxacin.pdbqt --config config.txt --log log.txt --out output.pdbqt --num_modes 10
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Detected 2 CPUs
Reading input ...
```

Figure 73 : Docking par autodock vina.

### 1.2.2 Validation du protocole de docking

Pour la validation du protocole de docking, nous avons précédé à une sélection du ligand co-cristallisé de référence, suivi par une validation du protocole par un redocking.

- **Redocking**

Le redocking est une méthode de validation d'un algorithme du docking, il consiste à repositionner un ligand dans son site d'interaction à partir du complexe récepteur-ligand correspondant dans lequel le ligand a été préalablement extrait. En d'autre terme, c'est la capacité d'un protocole du docking à générer une pose d'interaction avec un positionnement proche ou similaire à celui du ligand co-cristallisé.

Le redocking reste une étape fondamentale pour la validation d'un nouveau protocole du docking.

## 2 Résultats

### 1) Validation du protocole de docking

Dans notre travail, nous avons téléchargé du PDB la gyrase synthase du *S.aureus* sous le code 6FQM qui est co-cristallisée avec E32 (dérivé imidazolé).

- Initialement, nous avons téléchargé le SMILES de E32 qui code pour 7-[(3 {S})-3 azanylpyrrolidin-1-yl]-5-cyclopropyl-8-fluoranyl-imidazo [1,2- a]quinoxalin-4-one du Pubchem, puis la structure a été obtenue et optimisée sous format PDB avec ChemDraw ;
- E23 a été défini comme ligand et a été enregistré sous format PDBQT avec Tools ;
- Le choix du Grid box a été fait par rapport à la position du ligand co-cristallisé existant dans la cible (dont la structure a été obtenue par diffraction des rayons X) avec Tools ;
- Lancement du docking par l'invitation de commande avec Autodock vina et obtention de l'output correspondant ;
- Ouverture de la cible sous format PDBQT et l'output obtenu dans Discovery ;
- Confirmation de la superposition du ligand optimisé par ChemDraw et le ligand co-cristallisé ainsi que la visualisation des différentes liaisons établies au niveau du site actif par Discovery. (figure 74)

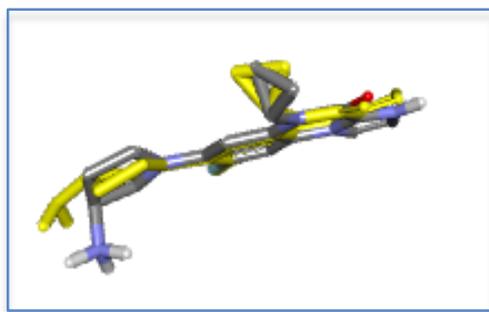


Figure 74 : Résultat du redocking

La visualisation des interactions "site de liaison-ligand co-cristallisé" et "site de liaison-ligand optimisé" par Discovery est représenté dans les figures (75), (76) ci-dessous.

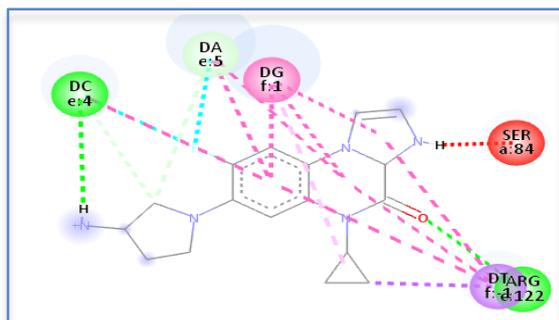


Figure 75 : Interaction "cible-ligand co-cristallisé"

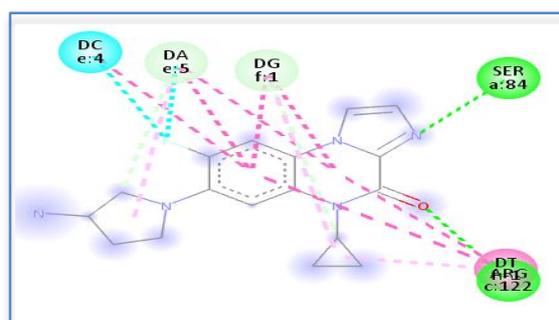


Figure 76 : Interaction "cible-ligand optimisé"

Les interactions en verts sont des liaisons hydrogènes, en rose des liaisons pi-pi, en violet pi-sigma, en bleu c'est des interactions halogène Fluor et en rouge c'est des liaisons unfavorables.

## 2) Dimensions du site actif

Après avoir validé notre protocole du docking, le Grid box qui correspond aux dimensions du site actif est représenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXVIII : Dimensions du Grid box.

Centre	dimensions	Size	Dimensions
Centre x	61.532	Size x	80
Centre y	-41.369	Size y	80
Centre z	-13.209	Size z	80

## 3) Résultats du docking moléculaire

Pour notre docking, nous disposons de la structure de la cible 6FQM co-cristallisée avec un ligand « E32 », ce ligand sert de référence sur laquelle on va superposer la structure du modèle expérimental afin de confirmer la fiabilité du modèle utilisé.

Les deux composées synthétisés interagissent avec la cible par des liaisons hydrogènes et des liaisons de Van der Waals. L'énergie totale de l'interaction des molécules avec la cible et les distances des différents types de liaisons et interactions sont représentés dans les tableaux ci-dessous.

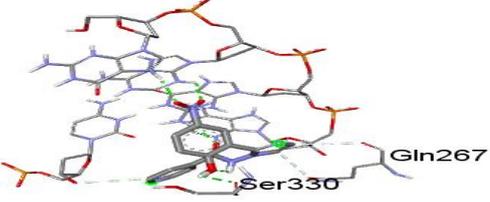
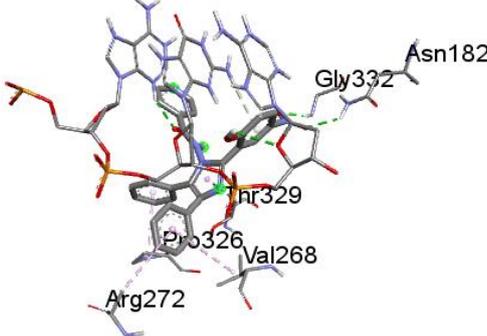
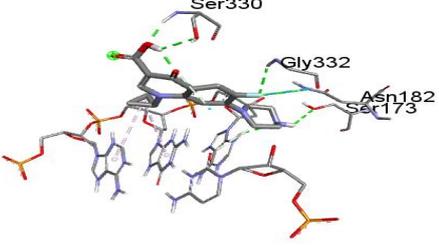
Les résultats du docking de N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1H-imidazol-1-yl]-isonicotinamide et N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-], ligand 1 et 2 respectivement, avec la 6FQM obtenus avec autodock vina sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXIX : Résultats du docking moléculaire

Les ligands	Energie d'interaction ou affinité (kcal/mol)
Ciprofloxacin	-10
Ligand 1	-9.6
Ligand 2	-9.7

Les caractéristiques des liaisons formées entre le site actif et les ligands de notre étude avec des figures d'interaction sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau XXX : Tableau représentatif des caractéristiques des liaisons formées entre les ligands et la cible.

Ligands	Liaisons	résidus d'AA et bases puriques	Distance des liaisons (Å°)	Interaction récepteur-ligand
Ligand 1	Liaisons hydrogènes	Ser330 ----- OH <sub>1 2</sub>	2.29	
		Ade(e :-5) --- O <sub>1 9</sub>	2.53	
		Gua(e :-6) --- O <sub>1 9</sub>	2.15	
		Gua(e :-8) --- O <sub>1 6</sub>	2.22	
		Ade(e :-7) --- O <sub>1 5</sub>	2.70	
Ligand 2	Liaisons hydrogènes	Asn182 --- O <sub>3 8</sub>	2.38	
		Gly332 --- O <sub>3 7</sub>	2.12	
		Ade (f :-5) --- OH <sub>3 4</sub>	2.95	
		Ade (f :-7) --- O <sub>2 0</sub>	2.45	
	Liaisons π-σ (pi-sigma)	Thr329 --- cycle imidazole de ligand	3.97	
	Liaisons π-alkyl	Pro326 --- 4-phenyl	4.57	
Pro326 --- 5-phenyl		4.17		
Val268 --- 5-phenyl		4.89		
Arg272 --- 5-phenyl		5.09		
Ciprofloxacine	Liaisons hydrogènes	Ser330 --- OH <sub>1 8</sub>	2.41	
		Asn182 --- F <sub>1 0</sub>	2.46	
		Gly332 --- F <sub>1 0</sub>	2.49	
		Ser173 --- NH <sub>2 3</sub>	3.05	
		Ade(e :-5) --- NH <sub>2 3</sub>	2.51	
		Liaisons π-alkyl	Gua(e :-6) --- (1-cyclopropyl)	
	Ade(e :-7) --- (1-cyclopropyl)		5.25	

**Ade** : adénine / **Gua** : guanine / **AA** : acide aminé / **Å°** : Armstrong / **Asn** : asparagine  
**Pro** : proline / **Ser** : serine / **Arg** : arginine / **Val** : valine / **Gly** : glycine / **Thr** : thréonine  
**F** et **e** sont des chaînes d'acide nucléiques.

#### 4) Prediction ADMET/Tox

##### a) Les propriétés physicochimiques

Dans la présente étude, les propriétés in silico ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) et les propriétés physicochimiques, des composés N-[2-

(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol -1-yl-] isonicotinamide et N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide synthétisés ont été évalués à l'aide du simulateur ADMET « SwissADME web server » « admetSAR web server » et sont résumés dans les tableaux ci-dessous .

Les propriétés physico-chimiques des composés synthétisés ont été évaluées par SwissADME et résumées dans le tableau ci-dessous. Nous avons noté que les deux composés ont la même biodisponibilité,

Tableau XXXI : Résultats de la prédiction, in silico, des propriétés physico-chimiques par SwissADME.

Molécule		Ligand 1	Ligand 2
résultats			
PM (g/mol)		327.29	479.49
Log P	iLOGP	1.48	2.69
	xLOGP3	0.66	3.93
Log S (ESOL)		-2.66 S	-7.56 PS
Fraction Csp3		0.00	0.00
TPSA (Å <sup>2</sup> )		123.74	123.74
Lipinski		Oui	Oui
Veber		Oui	Oui
Biodisponibilité		0.55	0.55

PS : Peu soluble / S : Soluble.

Å<sup>2</sup> : Armstrong

#### b) Propriétés pharmacocinétiques

Les résultats de la prediction, in silico, ADMET des propriétés pharmacocinétiques obtenus avec ADMETsar sont représentés dans le tableau ci-dessous. Nous avons noté que les deux composés ont une très bonne absorption au niveau intestinal, avec une localisation mitochondriale principalement, et sont des inhibiteurs de CYP 3A4, CYP 2C19, CYP 2C9.

Tableau XXXII : Résultats de la prediction, in silico, des propriétés pharmacocinétiques avec ADMETsar.

Propriétés	Ligand 1	Ligand 2
Absorption GI	Elevée	Elevée
Perméabilité CaCO <sub>2</sub>	Oui (0.55)	Oui (0.69)
Perméabilité BBB	Oui (0.97)	Oui (0.97)
PPB	0.771	0.913
Substrat de g-gp	Non	Non
Inhibiteur de g-gp	Non	Non
Localisation	Mitochondriale	Mitochondriale
CYP1A2inhibition	Non	Non

<b>CYP2C19inhibition</b>	Oui	Oui
<b>CYP 2C9 inhibition</b>	Oui	Oui
<b>CYP2D6inhibition</b>	Non	Non
<b>CYP3A4inhibition</b>	Oui	Oui

**c) La toxicologie**

Les résultats de la prédiction, in silico, de la toxicité obtenus avec ADMETsar sont représentés dans le tableau ci-dessous. Nous avons noté que les deux composés ont un profil toxicologique acceptable, toutefois les deux restent hépatotoxiques.

Tableau XXXIII : Résultats de la prédiction, in silico, de la toxicité par ADMETsar.

<b>Propriétés</b>	<b>Ligand 1</b>	<b>Ligand 2</b>
<b>Toxicité d'AMES</b>	Non	Non
<b>Hépatotoxicité</b>	Oui (0.82)	Oui (0.75)
<b>Inhibition des gènes liés à l'éther humain (hERG)</b>	Non	Non
<b>Cancérogénicité</b>	Non	Non
<b>Néphrotoxicité</b>	Non	Non
<b>Toxicité orale aigue</b>	III	III
<b>Biodégradation</b>	Non	Non
<b>Sensibilité cutanée</b>	Non	Non

### **3 Discussion**

#### **a. Docking moléculaire**

Pour confirmer la fiabilité du modèle expérimental utilisé, la conformation optimisée du ligand E32 a été superposée au ligand co-cristallisé de la cible 6FQM. La conformation insérée était parfaitement superposable au ligand co-cristallisé, comme le montre la figure 73, Par conséquent, le modèle développé peut être utilisé pour prédire correctement le mode de liaison, l'énergie et l'interaction avec la cible.

Le meilleur score dans le docking moléculaire correspond à l'énergie la plus faible donc l'affinité la plus forte qui correspond à la ciprofloxacine avec une énergie de -10 kcal/mol comme il montre le tableau XXIX. Les deux composés synthétisés avaient des scores proches à celui de la ciprofloxacine, donc pratiquement des affinités comparables pour la cible.

Dans la figure 75, le ligand co-cristallisé a établi deux liaisons hydrogènes ; une entre l'acide nucléique cytosine N°4 de la chaîne nucléaire (e) et le groupement NH du cycle imidazole du ligand co-cristallisé et la deuxième liaison hydrogène entre l'acide aminé arginine N°122 de la chaîne nucléaire (e) et le O (16) du cycle pipérazine du ligand co-cristallisé. D'autres types d'interactions ont été visualisées pour le complexe cible/ligand formé comme, des interactions pi-pi établies entre le centre du nuage électronique du cycle aromatique du ligand co-cristallisé et l'acide nucléique adénine N°5 de la chaîne nucléaire (e) et la guanine N°1 de la chaîne nucléaire (f). Des liaisons halogènes entre le fluor (F) du ligand co-cristallisé avec l'acide nucléique cytosine N°4 de la chaîne nucléaire (e) et adénine N°5 de la chaîne nucléaire (e) ; et une liaison défavorable entre la serine N°84 de la chaîne nucléaire (a) et le groupement NH (18) de l'imidazole.

Dans la figure 76, le ligand optimisé a établi deux liaisons hydrogènes ; une entre la serine 84 de la chaîne nucléaire (a) et le groupement N(18) de l'imidazole et l'autre entre l'acide aminé arginine N°122 de la chaîne nucléaire (e) et le O (16) du cycle pipérazine du ligand optimisé, ainsi que des interactions pi-pi établies entre le centre du nuage électronique du cycle aromatique du ligand optimisé et l'acide nucléique adénine N°5 de la chaîne nucléaire (e) et la guanine N°1 de la chaîne nucléaire (f). Des liaisons halogènes entre le fluor (F) du ligand optimisé avec l'acide nucléique cytosine N°4 de la chaîne nucléaire (e) et adénine N°5 de la chaîne nucléaire (e).

La visualisation et l'analyse de l'interaction du ligand co-cristallisé avec la cible a révélé une hydrogénation au niveau du carbone N°17 et l'azote N°18, mais les deux structures étaient superposables (meilleure pose générée par le logiciel pour le E32 co-cristallisé et E32 optimisé étaient superposables), ainsi que les interactions avec la cible qui étaient du même type, donc notre protocole du docking est validé et peut-être utilisé pour prédire des interactions pouvant avoir lieu entre les produits synthétisés et la 6FQM.

Dans le tableau XXX, le ligand 1 a établi cinq liaisons hydrogènes :

- Le O(19) du ligand 1 a établi deux liaisons hydrogènes, une avec l'adénine N°-5 de la chaîne (e) (distance de la liaison 2.53 Å) et l'autre avec la guanine N°-6 de la même chaîne (distance de la liaison 2.15 Å).
- Une liaison hydrogène entre la serine N°330 de la chaîne nucléaire (c) avec le OH (12) du ligand 1 (distance de la liaison 2.29 Å).
- Une autre liaison hydrogène entre l'adénine N°-7 de la chaîne nucléaire (e) et le O(15) du ligand 1 (distance de la liaison 2.70 Å) et la guanine N°-8 de la même chaîne avec le O (16) du ligand 1 (distance de la liaison 2.22 Å).

Par contre, le ligand 2 a établi 4 liaisons hydrogènes et 4 liaisons de type  $\pi$ -alkyl et une liaison de type  $\pi$ - $\sigma$  avec le site actif :

- Une liaison hydrogène entre la glycine N°332 de la chaîne nucléaire (a) avec le O (37) du ligand 2 (distance de la liaison 2.12 Å)
- Une liaison hydrogène entre l'asparagine N°182 de la chaîne nucléaire (a) avec le O (38) du ligand 2 (distance de la liaison 2.28 Å)
- Une autre liaison hydrogène entre l'adénine N°-7 de la chaîne nucléaire (f) et le O(20) du ligand 2 (distance de la liaison 2.45 Å) et l'adénine N°-5 de la même chaîne avec le OH (34) du ligand 2 (distance de la liaison 2.95 Å).
- La thréonine N°329 de la chaîne nucléaire (a) a établi avec le cycle imidazole du ligand 2 une liaison de type  $\pi$ - $\sigma$  (distance de la liaison 3.97 Å)
- La proline N° 326 et valine N°268 et l'arginine N°272 de la chaîne (a) ont établi une liaison avec le centre du nuage électronique du cycle phényle en position 5 de type  $\pi$ -alkyl avec des distances de liaison égale à 4.17 Å, 4.89 Å et 5.09 Å respectivement.
- La proline N° 326 de la chaîne (a) a établi une liaison avec le centre du nuage électronique du cycle phényle en position 4 de type  $\pi$ -alkyl avec une distance de liaison égale à 4.57 Å.

La ciprofloxacine utilisée comme ligand de référence a établi :

- Une liaison hydrogène entre la serine N°330 de la chaîne nucléaire (c) avec le OH (15) du ciprofloxacine (distance de la liaison 2.41 Å) et la serine N°173 de la même chaîne nucléaire avec le NH(25) du ciprofloxacine avec une distance de liaison égale à 3.05 Å.
- Le fluor N°10 a établi deux liaisons hydrogènes, une avec l'asparagine N°182 de la chaîne nucléaire (c) avec une distance de la liaison 2.46 Å et l'autre avec la glycine N°332 de la même chaîne nucléaire (distance de la liaison 2.49 Å).
- Une autre liaison hydrogène entre l'adénine N°-5 de la chaîne nucléaire (e) et le NH(25) du ciprofloxacine (distance de la liaison 2.51 Å).
- Le centre du nuage électronique du cyclopropyl en position 1 a établi deux liaisons de type  $\pi$ -alkyl, une avec l'adénine N°-7 (distance de la liaison 5.25 Å) de la chaîne nucléaire (e) et l'autre avec la guanine N°-6 de la même chaîne nucléaire ayant la même distance.

D'après le résultat du docking moléculaire, nous avons noté, pour les deux molécules synthétisées que le ligand 2 a montré le score le plus élevé avec l'énergie la plus faible, ceci reflète une meilleure affinité du ligand 2 pour la 6FQM (la cible) par rapport au ligand 1. Il faut savoir que les valeurs négatives de l'énergie signifient que le ligand peut se lier à la cible spontanément.

Mais l'étude et le développement des nouvelles molécules ne se basent pas uniquement sur l'évaluation de l'affinité pour la cible, cette dernière doit être complétée par une prédiction des propriétés ADMET afin de sélectionner la molécule avec le meilleur profil pharmacocinétique et toxicologique.

### **b. Etude des propriétés ADMET**

Dans notre travail, nous avons évalué le profil pharmacocinétique et la toxicité des molécules synthétisées à l'aide du logiciel admet SAR et nous avons comparé leur résultat avec les données publiées sur l'isoniazide (téléchargé de DrugBank afin de l'utiliser comme référence).

Les propriétés ADMET sont des propriétés physiologiques gouvernées par des principes complexes liés à la structure chimique du principe actif et à l'environnement biologique.

#### **❖ Absorption**

##### **• Prédiction de la perméabilité intestinale par étude, in silico, basée sur le modèle Caco-2**

Les valeurs pour l'étude in silico basée sur le modèle Caco-2 se situent entre « 0 » pour une faible absorption et « +1 » pour une bonne absorption [84].

Dans notre travail, le composé 1 a été prédit avec une perméabilité de 0.55 et le composé 2 avec une perméabilité de 0.69, par conséquent, ils ont été prédits comme étant moyennement perméables dans les cellules d'adénocarcinome humain (Caco-2), c'est le cas aussi pour l'isoniazide qui a une perméabilité dans les cellules d'adénocarcinome humain à 0.69 [74].

##### **• Prédiction de l'absorption intestinale : HIA (Human Intestinal Absorption)**

Dans notre travail, les deux composés étudiés ont été prédits avec une absorption intestinale de 99%, de ce fait ils ont un bon profil d'absorption intestinale. Par ailleurs, l'isoniazide a aussi une bonne absorption intestinale : 99% [74].

##### **• Le passage à travers la barrière hémato-encéphalique : BBB**

Dans les études, in silico, la fourchette acceptable de BBB pour un candidat médicament idéal est de 0,73 à 0,91 [93]. Dans notre travail, les deux composés ont été prédits avec une perméabilité à travers BHE égale à 0,97 ce qui fait qu'ils ont un bon profil de perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE). L'isoniazide possède une très bonne perméabilité à travers la BHE [74].

##### **• Prédiction des inhibiteurs et des substrats de la glycoprotéine P**

Les composés synthétisés ont été prédits comme non inhibiteurs, non substrats de la glycoprotéine P. L'isoniazide est aussi non inhibiteur non substrat de la glycoprotéine P [74].

#### **❖ Distribution**

ADMETSar a prédit que la localisation principale des deux composés synthétisés est la mitochondrie après leur administration dans l'organisme. L'isoniazide est distribué principalement dans la mitochondrie [74].

❖ **Métabolisme**

• **Inhibition des cytochromes P450**

Les composés synthétisés sont des inhibiteurs du CYP2C19, CYP2C9 et CYP3A4 qui sont des isoenzymes impliquées dans les réactions de phase I, ceci peut être à l'origine d'interactions médicamenteuses à ce niveau. L'isoniazide est un inhibiteur de la CYP1A2 uniquement [94] (voir l'annexe 1).

❖ **Toxicité**

• **La cardiotoxicité**

Les composés synthétisés ont été prédits comme étant non inhibiteur du hERG (gène humain apparenté à l'éther- a-go-go) donc ils n'ont aucun effet au niveau cardiaque. L'isoniazide est aussi non inhibiteur du hERG [74].

• **Hépatotoxicité**

Les deux composés ont été prédits comme étant hépatotoxiques, et l'isoniazide aussi est connu pour son hépatotoxicité, il provoque une augmentation du taux des transaminases, et des phosphatases alcalines [74].

Ces deux composés ont été prédits comme hépatotoxiques avec des probabilités 0.82 pour le composé 1 et de 0.75 pour le composé 2. Donc l'hépatotoxicité est moindre avec ce dernier.

• **Néphrotoxicité**

Les deux composés étudiés ont été prédits comme étant non néphrotoxiques. L'isoniazide est une molécule non néphrotoxique [74].

• **Cancérogénicité**

Les deux composés étudiés ont été prédits comme étant non cancérigènes. L'isoniazide est une molécule non cancérigène [74].

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans le cadre de notre étude, nous avons procédé à la sélection du meilleur logiciel de prédiction *in silico* ADMET parmi les trois proposés : ADMETlab, AdmetSAR et PkCSM, pour cela, nous avons fait une étude comparative des résultats de prédiction, *in silico*, obtenus pour les quatre molécules retenues dans notre travail à savoir l'isoniazide, le voriconazole, la gentamicine et l'imipramine, avec les données de la littérature sur les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques pour chaque molécule.

A partir des résultats de la prédiction, *in silico*, pour les quatre molécules, nous avons retenu ADMETsar comme étant le meilleur logiciel du fait de sa précision pour la détection de la toxicité et notamment de la fiabilité de ses résultats, ceci est en parfaite concordance avec les résultats des documentations préexistantes.

D'autre part, une synthèse de deux nouvelles molécules antibactériennes a été réalisée à partir de l'isoniazide, selon la réaction de Debus-Radziszewski qui aboutit à l'introduction dans la structure de l'isoniazide d'un hétérocycle imidazole connu pour ses propriétés antifongiques et antibactériennes, le composé obtenu en utilisant le glyoxal comme un dérivé alpha-dicarbonylé est le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol -1-yl-] isonicotinamide, et le deuxième produit obtenu en utilisant le benzile comme un dérivé alpha-dicarbonylé est le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide. Ces deux produits ont été testés vis-à-vis des souches bactériennes à savoir *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* et des souches fongiques à savoir *Candida albicans* et *Aspergillus niger*. Les deux nouveaux produits ont montré une très bonne activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, avec une très faible activité antifongique pour le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide contre *Candida albicans*, et aucune activité n'a été constatée contre le reste des souches.

Par ailleurs, un docking moléculaire a été effectué par AutoDock-Vina pour ces deux produits où nous avons proposé la 6FQM comme cible. Cette dernière a été prouvée comme étant une cible générale pour tous les ligands imidazolés [95]. D'après les résultats du docking, nous avons noté qu'entre les deux molécules, le N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-

1 H-imidazol-4,5-diphenyl-1-yl-] isonicotinamide a montré une affinité plus élevée pour la 6FQM comparé au N-[2-(2'-hydroxy-5'-nitrophenyl)-1 H-imidazol-1-yl-] isonicotinamide. Les deux composés ont été prédits comme ayant une affinité presque identique au ciprofloxacine utilisée comme référence dans notre travail, mais le meilleur score a été attribué pour cette dernière. En revanche, notre étude a été complétée par la prédiction in silico ADMET, et nos deux composés ont montré un profil pharmacocinétique et toxicologique acceptable.

A l'issu de notre travail, nous proposons d'apporter des modifications structurales sur les deux composés, en introduisant des halogènes et d'autres groupements fonctionnels afin d'élargir le spectre d'activité vers les souches fongiques, et avoir des valeurs de CMI encore plus basses contre les souches sensibles (*S. aureus*).

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Bardy T. La révolution des essais cliniques « in silico ». Hemisphere droit institut /Club Open Prospective. 2017 [cité 25 avr 2022]. Disponible sur: <https://hemispheredroit-institut.blogspot.com/2017/07/la-revolution-des-essais-cliniques-in.html>
2. Nancy C, Françoise G, André G. La place des méthodes in silico, in vitro, in omic dans l'évaluation de la sécurité des médicaments. MEDECINE/SCIENCES. 2009 ; 25 : 105-10.
3. Chrysanthi P. | Thèse d'exercice | Les méthodes in silico dans la recherche pharmaceutique. Exemple d'application pour l'étude pharmacocinétique post-autorisation de mise sur le marché des  $\beta$ -bloquants utilisés pour le traitement du glaucome. 11 juin 2021
4. Bouard C. Étude in silico et caractérisation fonctionnelle des complexes de TWIST1 [Theses]; 2016 [cité 25 avr 2022]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01535047>
5. Goethals C, Crisp M. |LE SECTEUR PHARMACEUTIQUE EN BELGIQUE « Courrier hebdomadaire du CRISP » 2018 | p. 5 à 90 DOI 10.3917/cris.2366.0005 - Rechercher [Internet]. [cité 25 avr 2022].
6. Journot G, Copin C, Couillard S. Le Développement Chimique (1/3): de la découverte d'un principe actif à la commercialisation d'un médicament. 2 mai 2017.
7. Par M. BEDART Corentin. CONTRIBUTION DES METHODES IN SILICO DANS LE PROCESSUS DE CONCEPTION DE MEDICAMENTS [THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE] ; 2020.
8. Kadri H, Kebir A, Kellai S, Ladjimi C. PLACE DE LA MODELISATION MOLECULAIRE DANS LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE, ETUDE PAR DOCKING MOLECULAIRE DE DEUX NOUVELLES SERIES ANTIFONGIQUES. [Mémoire pour obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie]. Université Mouloud MAMMERI Faculté de médecine TIZI-OUZOU Département de Pharmacie; 2021.
9. Bouanane H, Benloucif A. Approche pour la conception de médicaments assistée par ordinateur. [Mémoire] .[Institut des sciences et de la technologie Département de Mathématiques et Informatiques]. Centre Universitaire Abd elhafid Boussouf Mila; 2015.

10. Guillemain H. Evaluation et application de méthodes de criblage in silico. [Laboratoire génomique, bioinformatique et applications]; 2012.
11. Baptiste C. Développement d'une plateforme de prédiction in silico des propriétés ADME-Tox [Thèse]. [Institut de Chimie Organique et Analytique]: UNIVERSITÉ D'ORLÉANS ÉCOLE DOCTORALE; SANTE, SCIENCES; BIOLOGIQUES; ET CHIMIE DU VIVANT; 2018.
12. Pharmacomedicale.org [Internet]. [cité 26 avr 2022]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/>
13. Pr. P. Lechat. Pharmacologie [Niveau DCEM1]. Université Pierre et Marie Curie; 2006.
14. Édition professionnelle du Manuel MSD [Internet]. [cité 26 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.msmanuals.com/fr/professional>
15. Melle Abdelli T & Melle Attouche C. Contribution à l'évaluation de la pharmacovigilance en Algérie [l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie]. 09 Juillet 2017.
16. Futura. Définition | Toxicité | Futura Santé [Internet]. Futura. [cité 26 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-toxicite-6517/>
17. Goujon E. Etude de la toxicité de la sulcotrione et de ses produits de photo dégradation [Sciences agricoles]. Université Blaise Pascal; 2015.
18. Mouly S, Delcey V, Diemer M, Bergmann JF. Évaluation de l'efficacité d'un médicament : de la découverte à la mise sur le marché. [Lariboisière, Paris]: Service de Médecine Interne A, Centre Hospitalo-Universitaire; Vol 31 - N° 1 P. 75-79 - janvier 2008
19. Les différentes strates du développement d'un médicament | Medicine Key [Internet]. [cité 27 avr 2022]. Disponible sur: <https://clemedicine.com/2-les-differentes-strates-du-developpement-dun-medicament/>
20. Dictionary by Merriam-Webster: America's most-trusted online dictionary [Internet]. [cité 27 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.merriam-webster.com/>
21. Recherche in silico et conception d'amorce des gènes de résistance au stress abiotique chez le blé [l'obtention du Diplôme de Master Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Sciences biologiques. Spécialité : Biologie et Génomique Végétales]. Université des Frères Mentouri Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

22. Mme ALLA L. CONCEPTION ET EVALUATION DES MOLECULES ANTICANCEREUSES PAR APPROCHES IN SILICO Inhibiteurs des Kinases AKT1 et LMTK3 [Centre d'Etudes Doctorales des Sciences de la Vie et de la Santé Formation Doctorale: Biologie Médicale, Pathologie Humaine et Expérimentale et Environnement Option: Biotechnologie/Biologie Moléculaire]. [Royaume du Maroc]: Université Mohammed V Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat; 2020.
23. Gallezot G. La recherche in silico. 2002.
24. BOUABID A, CHIBANI W, YAHY A. L'évaluation du potentiel génotoxique des nanoparticules (cas SiO<sub>2</sub>) par une approche prédictive (Relation Quantitative Structure-Activité-QSAR). [Mémoire] [Sciences de la Nature et de la Vie Filière: Biologie Spécialité/Option: Qualité des produits et Sécurité Alimentaire]. UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS DEPARTEMENT DE BIOLOGIE; Juin 2014
25. HUBERT P, TOULHOAT P. Les méthodes alternatives en matière d'expérimentation animale. 1013 [Internet]. [cité 27 avr 2022]. Disponible sur: <https://www.annales.org/re/2013/re71/RE-71-article-HUBERT-TOULHOAT.pdf>
26. Bio108\_recherche.pdf [Internet]. [cité 27 avr 2022]. Disponible sur: [https://www.edp-biologie.fr/files/Bio108\\_recherche.pdf](https://www.edp-biologie.fr/files/Bio108_recherche.pdf)
27. RAYAR A. développement de nouvelles molécules coumariniques, sélectives de la cyclooxygénase-2 [obtenir le grade de: Docteur du Conservatoire National des Arts et Métiers In silico drug design et chimie médicinale]. [Laboratoire Génomique, Bioinformatique et Applications]; 2017.
28. In silico approaches and tools for the prediction of drug metabolism and fate: A review - PubMed [Internet]. [Consulté 27 avr 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30682640/>  
doi : <https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2019.01.008>
29. BADAOUIM M. Génération in-silico des molécules a visées thérapeutiques basée sur les méthodes d'intelligence computationnelle [Mémoire]. Université Frère Mentouri – Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire; 2019.
30. Bidouil C. Modélisation moléculaire de l'acétylation de la quercétine par des lipases: étude des interactions enzyme-substrat. Alimentation et Nutrition. [Thèse]: Université de Lorraine; 13 Nov 2012.
31. Frédéric B, Céline C, Benoît C, Antoine F, Nicolas F, Patrice M, et al. La modélisation moléculaires 'invite dans l'industrie exemples de recherches pour le

développement de matériaux, procédés et produits chimiques dans le domaine de l'énergie et de l'environnement.

32. Claude H. Contribution de la modélisation moléculaire à l'étude de pathologies humaines : Application au transporteur ATP7B et au récepteur 5HT2B [THÈSE Pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paris V Discipline ou Spécialité : Biologie Cellulaire- Biochimie Ecole Doctorale]. 2012.

33. Tong JB, Zhang X, Luo D, Bian S. Molecular design, molecular docking and ADMET study of cyclic sulfonamide derivatives as SARS-CoV-2 inhibitors. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 1 déc 2021;49(12):63- 73.  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.cjac.2021.09.006>

34. Susanne W, Ernst A, Edmund W, Ioana O1, Mickael, Mogemark1, et al. In silico ADME in drug design – enhancing the impact [Internet]. Open Access : ISSN : 1848-7718; 2017. Disponible sur: <http://www.pub.iapchem.org/ojs/index.php/admet/index> doi: <http://dx.doi.org/10.5599/admet.6.1.470>

35. Computer-aided drug design and in silico pharmacokinetics predictions of some potential antipsychotic agents. *Scientific African*. 1 juill 2021;12:e00734.

36. ADMETlab 2.0 [Internet]. [cité 29 avr 2022]. Disponible sur: <https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/cal>

37. pkCSM [Internet]. [cité 29 avr 2022]. Disponible sur: <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/>

38. Douglas E, Pires V, Tom L. Blundell and Ascher DB. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures [Internet]. *pubs.acs.org/jmc*. 2022 [cité 27 avr 2022].

39. *Frontiers in Pharmacology* [Internet]. [cité 3 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology>

40. Di L, Kerns EH, Carter GT. Drug-like property concepts in pharmaceutical design. *Curr Pharm Des*. 2009;15(19):2184- 94.

41. Edward H. Kerns and Li Di. Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods from ADME to Toxicity Optimization. Academic Press is an imprint of Elsevier. AMSTERDAM • BOSTON • HEIDELBERG • LONDON NEW YORK • OXFORD • PARIS • SAN DIEGO SAN FRANCISCO • SINGAPORE • SYDNEY • TOKYO.

42. National Library of Medicine - National Institutes of Health [Internet]. U.S. National Library of Medicine; [cité 3 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.nlm.nih.gov/>

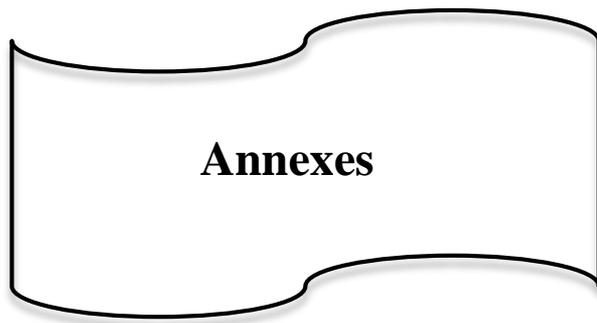
43. Open access in silico tools to predict the ADMET profiling of drug candidates - PubMed [Internet]. [cité 29 avr 2022]. doi: <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1798926>
44. Dong J, Wang N, Yao Z, Zhang L, Cheng Y, Ouyang D, et al. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Dong et al J Cheminform* (2018) 10:29 [Internet]. 2018; doi: <https://jcheminf.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13321-018-0283-x>
45. Feixiong C, Weihua L, Zhou Y, Shen Y, Zengrui W, Guixia L, et al. admetSAR: A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties. 23 oct 2012; doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>
46. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules | Scientific Reports [Internet]. [cité 4 mai 2022]. doi: <https://doi.org/10.1038/srep42717>
47. Lagorce D, Sperandio O, Galons H, Miteva MA, Villoutreix BO. FAF-Drugs2: Free ADME/tox filtering tool to assist drug discovery and chemical biology projects. *BMC Bioinformatics*. 2008;9. doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr333>
48. FAFDrugs4 on Mobylye [Internet]. [cité 4 mai 2022]. Disponible sur: <https://fafdrugs4.rpbs.univ-paris-diderot.fr/mobylye.html>
49. PreADMET | Prediction of ADME/Tox – Just another BMDRC Sites site [Internet]. [cité 2 juin 2022]. Disponible sur: <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>
50. vNN-ADMET [Internet]. [cité 2 juin 2022]. Disponible sur: <https://vnnadmet.bhsai.org/vnnadmet/login.xhtml>
51. vNN Web Server for ADMET Predictions - PMC [Internet]. [cité 2 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5722789/>
52. Conception in silico de nouveaux antipneumocoques par l'inhibition de la peptide déformylase | Merzoug | Les technologies de laboratoire [Internet]. [cité 6 mai 2022]. Disponible sur: <https://revues.imist.ma/index.php/technolab/article/view/580>
53. Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Université d'Orléans; 2007.
54. Hugo S. Développement d'une méthode in silico pour caractériser le potentiel d'interaction des surfaces protéiques dans un environnement encombré [Biochimie, Biologie Moléculaire]. Paris Saclay; 2018.

55. V. Srinivasa Rao and K. Srinivas. Modern drug discovery process: An in silico approach. s Vol 2(5), pp 89-94 [Internet]. 3 juin 2011; Disponible sur: <http://www.academicjournals.org/JBSA>
56. Rahul B S. Molecular docking [Internet]. 06:40:01 UTC [cité 6 mai 2022]. Disponible sur: <https://fr.slideshare.net/rahulbs89/molecular-docking-28000661>
57. Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, et al. Docking de protéines en réalité virtuelle. Une approche hybride et multimodale. *Revue des Sciences et Technologies de l'Information - Série TSI: Technique et Science Informatiques*. oct 2009;28(8):983- 1015.
58. Aurélien G. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE; 2007.
59. Asli F. Étude de docking moléculaire: application au récepteur du facteur de croissances épidermique [MÉMOIRE DE MASTER]. Université Mohamed Khider de Biskra Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences de la Matière; 2020.
60. Dekkiche Z, Benaiche S. Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur : Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang [Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master]. Université Frères Mentouri Constantine1; 2018.
61. Tifourak .D. Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse. Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière Département des Sciences de la Matière; 2019.
62. Bank RPD. RCSB PDB: Homepage [Internet]. [cité 26 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.rcsb.org/>
63. Vuorinen A, Schuster D. Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods*. janv 2015;71:113- 34.
64. Judith E. DRUG DESIGN IN SILICO CRIBLAGE VIRTUEL DE PROTÉINES À VISÉE THÉRAPEUTIQUE. L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX 1 ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES; 2011.
65. Daissa F. Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions : Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivés. [MÉMOIRE DE MASTER]. 2019.

66. Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci.* 4 sept 2019;20(18):E4331.
67. AutoDock Vina [Internet]. [cité 7 mai 2022]. Disponible sur: <https://vina.scripps.edu/>
68. Mahdjoub Y. Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire » [°obtention du Diplôme de magister]. Université des Science et des Technologies d'Oran Mohamed Boudiaf;
69. Xiong1 G , Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Changyu, et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties [Internet]. Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University; 2021. Disponible sur: <https://admetmesh.scbdd.com/>
70. ChEMBL Database [Internet]. [cité 3 mai 2022]. Disponible sur: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/>
71. DrugBank Online | Database for Drug and Drug Target Info [Internet]. [cité 3 mai 2022]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/>
72. admetSAR @ LMMD [Internet]. [cité 7 mai 2022]. Disponible sur: <http://lmmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/>
73. PubChem. Isoniazid [Internet]. [cité 5 juill 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3767>
74. Isoniazid: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online [Internet]. [cité 4 juill 2022]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00951>
75. Compound Report Card [Internet]. [cité 4 juill 2022]. Disponible sur: [https://www.ebi.ac.uk/chembl/compound\\_report\\_card/CHEMBL64/](https://www.ebi.ac.uk/chembl/compound_report_card/CHEMBL64/)
76. GlaxoSmithKline. Rechallenge Analysis: Detection of Potential Drug-Induced Liver Injury Using Kaiser California Database [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2014 juill [cité 30 juin 2022]. Report No.: NCT01584765. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01584765>
77. PubChem. Gentamicin [Internet]. [cité 5 juill 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3467>
78. Gentamicin: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online [Internet]. [cité 4 juill 2022]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00798>

79. PubChem. Voriconazole [Internet]. [cité 5 juill 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71616>
80. Voriconazole [Internet]. [cité 4 juill 2022]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00582>
81. PubChem. Imipramine [Internet]. [cité 5 juill 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3696>
82. Imipramine [Internet]. [cité 4 juill 2022]. Disponible sur: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00458>
83. ADMETlab 2.0 [Internet]. [cité 3 mai 2022]. Disponible sur: <https://admetmesh.scbdd.com/explanation/index>
84. Castillo-Garit JA, Marrero-Ponce Y, Torrens F, et García-Domenech R. Estimation of ADME properties in drug discovery : predicting Caco-2 cell permeability using atom-based stochastic and non-stochastic linear indices.
85. Chromatographie sur couche mince (CCM) [Internet]. [cité 13 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.lachimie.fr/analytique/chromatographie/CCM/ccm.php>
86. La chromatographie sur couche mince [Internet]. MAXICOURS. [cité 13 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.maxicours.com/se/cours/la-chromatographie-sur-couche-mince/>
87. Bibliothèque Pasteur - Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale - Bibliothèque Pasteur [Internet]. [cité 6 juill 2022]. Disponible sur: <https://bibliotheque.pasteur.dz/fr/expression-des-besoins/recherche-de-livres/2-bibliotheque-pasteur/640-standardisation-de-l-antibiogramme-a-l-echelle-nationale>
88. RCSB PDB - 6FQM: 3.06A COMPLEX OF S.AUREUS GYRASE with imidazopyrazinone T1 AND DNA [Internet]. [cité 28 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.rcsb.org/structure/6FQM>
89. Bank RPD. RCSB PDB - E32 Ligand Summary Page [Internet]. [cité 28 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.rcsb.org/ligand/E32>
90. L'architecture moléculaire complète de l'ADN gyrase révélée par cryo-microscopie électronique - Nouvelles informations sur le mécanisme de surenroulement négatif de l'ADN gyrase | médecine/sciences [Internet]. [cité 28 juin 2022]. Disponible sur: [https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full\\_html/2014/12/medsci20143012p1081/medsci20143012p1081.html](https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2014/12/medsci20143012p1081/medsci20143012p1081.html)

91. BIOVIA Discovery Studio - BIOVIA - Dassault Systèmes® [Internet]. [cité 7 juill 2022]. Disponible sur: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/molecular-modeling-simulation/biovia-discovery-studio/>
92. SwissADME [Internet]. [cité 4 mai 2022]. Disponible sur: <http://www.swissadme.ch/help.php>
93. Klopman G, Stefan LR, et Saiakhov RD. ADME evaluation: 2. A computer model for the prediction of intestinal absorption in humans.
94. a5\_cytochromes\_6\_2.pdf [Internet]. [cité 5 juill 2022]. Disponible sur: [https://www.hug.ch/sites/interhug/files/structures/pharmacologie\\_et\\_toxicologie\\_cliniques/a5\\_cytochromes\\_6\\_2.pdf](https://www.hug.ch/sites/interhug/files/structures/pharmacologie_et_toxicologie_cliniques/a5_cytochromes_6_2.pdf)
95. Germe T, Vörös J, Jeannot F, Taillier T, Stavenger RA, Bacqué E, et al. A new class of antibacterials, the imidazopyrazinones, reveal structural transitions involved in DNA gyrase poisoning and mechanisms of resistance. *Nucleic Acids Res.* 4 mai 2018;46(8):4114- 28.



**Annexes**

# Annexe I : Interactions médicamenteuses, cytochromes P450 et P-glycoprotéines.

**INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES, CYTOCHROMES P450 ET P-GLYCOPROTEINE (Pgp)**

	1A2	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4/5	Pgp		1A2	2B6	2C8	2C9	2D6	2E1	3A4/5	Pgp		1A2	2B6	2C8	2C9	2D6	2E1	3A4/5	Pgp	
acénocoumarol										étoposide										paclitaxel								
acide méfénamique										étravirine										panoprazole								
acide valproïque										felbamate										paracétamol								
agomelatine										féloédipine										paroxétine								
alfentanil										fentanyl										phénobarbital								
alprazolam										féxofénadine										phenprocoumone								
amiodarone										finastéride										phénytoïne								
amitriptyline										flécaïnide										pioglitazone								
amlodipine										fluoxétine										piroxicam								
apixaban										flurbiprofène										prasugrel								
aripiprazole										fluvastatine										prednisolone								
artéméther										fluoxamine										proguanil								
atazanavir										fosamprénavir										prométhazine								
atomoxétine										galantamine										propafénone								
atorvastatine										géfítinib										propofol								
bisoprolol										gestodène										propranolol								
bortézomib										glibenclamide										quétiapine								
bosentan										gliazide										quinidine								
bromocriptine										glimépiride										quinine								
buprénorphine										granisétron										ranitidine								
bupropion										halopéridol										rabéprazole								
caféine										hydrocodone										réboxétine								
cannabidiol										ibuprofène										répaglinide								
carbamazépine										ifosfamide										rifabutine								
carvédilol										imatinib										ripivirine								
célécoxib										imipramine										rispéridone								
celiprolol										indinavir										ritonavir								
chlorphéniramine										irbésartan										rivaroxaban								
ciclosporine										isradipine										saquinavir								
citalopram										itraconazole										saxagliptine								
clarithromycine										kétoconazole										sertraline								
clobazam										lansoprazole										sildénafil								
clomipramine										letrozole										simvastatine								
clonazépam										lévomépromazine										sirolimus								
clopidogrel										lidocaïne										sorafénib								
clozapine										lopéramide										sulfaméthoxazole								
cobisistat										lopinavir										sunitinib								
codéine										loratadine										tacrolimus								
colchicine										losartan										tadalafil								
cortisol										luméfántrine										tamoxifène								
cyclophosphamide										maprotiline										tamsulosine								
dabigatran										maraviroc										ténoxicam								
darunavir										médorxyprogestérone										terbinafine								
dasatinib										méfloquine										terfenadine								
délavirdine										méthadone										testostérone								
désogestrel										méthylprednisolone										THC								
dexaméthasone										metoclopramide										théophylline								
dextrométhorphane										métoprolol										ticagrelor								
diazépam										miansérine										timolol								
diclofénac										midazolam										tizanidine								
dienogest										mifépristone (RU486)										tolbutamide								
digoxine										mirtazapine										toltérodine								
dihydrocodéine										moclobémide										torasémide								
dihydroergotamine										modafinil										tramadol								
diltiazem										montéloukast										trazodone								
diphényhydramine										naproxène										triazolam								
docétaxel										natéglidine										trimipramine								
dolutegravir										nébivolol										tiranavir (avec ritonavir)								
donépézil										nelfinavir										tropisétron								
dronédarone										névirapine										vardénafil								
duloxétine										nifédipine										venlafaxine								
dutastéride										nilotinib										vérapamil								
ecstasy (MDMA)										nimodipine										vinblastine								
efavirenz										nitrendipine										vincristine								
elvitravir										noréthistérone										voriconazole								
ergotamine										nortriptyline										warfarine								
erlotinib										olanzapine										zafirlukast								
érythromycine										oméprazole										zolmitriptan								
ésoméprazole										ondansétron										zoldipem								
éthanol										oxybutyline										zopiclone								
éthinyloestradiol										oxycodone										zuclopenthixol								
éthosuximide																												

! voie conduisant à un métabolite actif    
 ! voie métabolique majeure    
 ■ voie métabolique mineure    
 ■

**Tableau 1 : Substrats des cytochromes P450 et de la Pgp**

	1A2	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4/5	Pgp		1A2	2B6	2C8	2C9	2D6	2E1	3A4/5	Pgp		1A2	2B6	2C8	2C9	2D6	2E1	3A4/5	Pgp	
acide valproïque										erythromycine										néfazodone								
amiodarone										ésoméprazole										nelfinavir								
ananas										éthinyloestradiol										nifédipine								
atazanavir										étravirine										nilotinib								
bortézomib										felbamate										nitrendipine								
bupropion										flécaïnide										norfloxacine								
cannabidiol										fluconazole										oméprazole								
célécoxib										fluoxétine										paroxétine								
chardon marie (silibinine)										fluvastatine										prasugrel								
chloroquine										fluvoxamine										prométhazine								
chlorpromazine										fosamprenavir										propafénone								
ciclosporine										géfítinib										quétiapine								
cimétidine										gemfibrozil										quinidine								
ciprofloxacine										gestodène										réboxétine								
citalopram										grapefruit, orange de Séville										régliasse								
clarithromycine										halopéridol										ripivirine								
clomipramine										imatinib										rispéridone								
clopidogrel										indinavir										ritonavir								
cobisistat										irbésartan										saquinavir								
curcuma										isoniazide										sertraline								
darunavir										itraconazole										simvastatine								
dasatinib										kétoconazole										sorafénib								
délavirdine										lansoprazole										sulphaméthoxazole								
désogestrel										lévomépromazine										terbinafine								
dihydralazine										lopinavir										tipranavir (avec ritonavir)								
diltiazem										losartan										topiramate								
diphénhydramine										luméfantine										triméthoprim								
dipyridamole										méthadone										venlafaxine								
disulfirame										métoclopramide										vérapamil								
doxycycline										métronidazole										vinblastine								
dronédarone										miconazole										voriconazole								
duloxétine										moclobémide										zafirlucast								
efavirenz										modafinil																		
erlotinib										natéglidine																		

inhibiteur puissant (bleu foncé)      inhibiteur modéré (bleu clair)

	1A2	2B6	2C8	2C9	2C19	2D6	2E1	3A4/5	Pgp		1A2	2B6	2C8	2C9	2D6	2E1	3A4/5	Pgp		1A2	2B6	2C8	2C9	2D6	2E1	3A4/5	Pgp	
bosentan										isoniazide										phénobarbital								
carbamazépine										lansoprazole										phénytoïne								
cyclophosphamide										légumes (chou, brocoli)										primidone								
dexaméthasone										méprobamate										rifabutine								
efavirenz										métamizole										rifampicine								
elvitravir										millepertuis										ritonavir								
éthanol										modafinil										tabac (goudrons)								
étravirine										névirapine										topiramate								
felbamate										oméprazole																		
ifosfamide										oxcarbazépine																		

inducteur puissant (bleu foncé)      inducteur modéré (bleu clair)

**Inhibition**

**Cytochromes** : L'impact dépend de : a) l'importance relative de la voie d'élimination inhibée par rapport à la clairance totale; b) présence ou non de métabolites actifs et c) concentrations d'inhibiteur. A l'arrêt du traitement inhibiteur, l'activité du CYP retourne progressivement à la normale (4 demi-vies). Exemples : l'amiodarone inhibe fortement l'activité du CYP2C9; associée à l'acénocoumarol, substrat du CYP2C9, elle en ralentira l'élimination, d'où un risque d'hémorragie justifiant une adaptation posologique et un suivi INR rapproché. La fluoxétine inhibe fortement l'activité du CYP2D6; associée à la codéine, elle peut en abolir l'efficacité (! signifie que la codéine génère un métabolite actif, la morphine).

**P-glycoprotéine** : L'impact dépend de l'affinité du substrat pour ce transporteur, de la concentration et de la puissance de l'inhibiteur. Comme pour les CYP, l'activité de la Pgp retourne progressivement à la normale à l'arrêt du traitement inhibiteur (4 demi-vies). Exemple : la ciclosporine inhibe fortement l'activité de la Pgp. Associée à l'indinavir, substrat de la Pgp, elle entraînera une augmentation de sa biodisponibilité.

**Induction**

**Cytochromes** : L'impact dépend de : a) importance relative de la voie d'élimination induite par rapport à la clairance totale; b) présence ou non de métabolites actifs et c) concentrations d'inducteur. A l'arrêt du traitement inducteur, l'activité du CYP retourne progressivement à la normale (>2 semaines après disparition de l'inducteur dans le sang). Exemple : Le millepertuis induit progressivement et puissamment l'activité du CYP3A4. Il accélérera fortement l'élimination de l'éthinyloestradiol, substrat majeur du CYP3A4, et l'effet contraceptif ne sera plus assuré; il faudra donc prévoir un autre mode de contraception.

**P-glycoprotéine** : L'impact dépend de l'affinité du substrat pour ce transporteur, de la concentration et la puissance de l'inducteur. Comme pour les CYP, l'activité de la Pgp retourne progressivement à la normale à l'arrêt du traitement inducteur (>2 semaines après disparition de l'inducteur dans le sang). Exemple : la rifampicine induit fortement l'activité de la Pgp. Associée au rivaroxaban, substrat de la Pgp, elle entraînera une diminution de sa biodisponibilité.

Des tableaux dynamiques régulièrement mis à jour et comprenant davantage de molécules sont accessibles sur le site [www.pharmacoclin.ch](http://www.pharmacoclin.ch), rubrique Centre d'Informations thérapeutiques et de pharmacovigilance > outils > carte dynamique des interactions médicamenteuses et CYP

## Résumé

La conception d'un nouveau médicament semble actuellement plus intéressante voir plus aisée et rapidement réalisable grâce à l'intelligence artificielle qui est l'alternative de la méthode traditionnelle communément appelée « l'expérimentation ». Cette stratégie innovée a été développée pour pallier aux inconvénients des méthodes expérimentales ce qui encourage la recherche pharmaceutique. Elle s'appuie sur la mise en jeu de différents logiciels de prédiction, in silico, qui font l'objet de notre mémoire où nous avons discuté les résultats de la prédiction, in silico, ADMET obtenus avec trois logiciels ADMETlab, AdmetSAR et PkCSM, pour quatre molécules à savoir l'isoniazide, le voriconazole, la gentamicine et l'imipramine, afin de conclure par rapport à la fiabilité de leurs résultats. Ensuite, nous avons procédé à la synthèse de deux nouveaux produits en apportant des modifications sur l'isoniazide. Notre étude a été complétée par l'évaluation de l'activité biologique, un docking moléculaire afin de déterminer l'affinité pour la cible 6FQM et une prédiction ADMET en utilisant le logiciel retenu dans la première partie. Les deux produits synthétisés ont montré une bonne activité anti *S. aureus*, une très bonne affinité pour la cible ainsi qu'un profil ADMET acceptable.

**Mots clés :** ADMET, 6FQM, prediction, in silico

## Abstract

The design of a new drug is currently more interesting, easier and quickly realized thanks to artificial intelligence which is the alternative to the traditional method called «experimentation». This new strategy has been developed to overcome the disadvantages of experimental approaches, which encourages pharmaceutical researches. It is supported by the use of several prediction programmes, in silico, which are the main object of our study. We have analyzed the results of the prediction, in silico, ADMET obtained with three programmes ADMETlab, AdmetSAR and PkCSM, for four molecules, isoniazid, voriconazole, gentamicin and imipramine, in order to make a conclusion about the validity of their prediction results Then, we have proceeded to the synthesis of two new compounds by introducing some modifications on isoniazid. Our study has been completed by the evaluation of the biological activity, a molecular docking in order to establish the affinity for the 6FQM target and an ADMET prediction using the program adopted in the first section. The two synthetic compounds showed good anti *S. aureus* activity, very high affinity for the target and an adequate ADMET profile.

**Key words:** ADMET, 6FQM, prediction, in silico