

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Dr. Tahar Moulay SAIDA

سعيدة

Faculté des Sciences et Technologie

التكنولوجيا



جامعة د الطاهر مولاي

كلية العلوم و

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Pour l'obtention du diplôme Master

En Génie des procédés

Option : Génie Pharmaceutique

Présenté par :

BAKHTI Younes

**Évaluation in silico du potentiel antifongique de composés triazoliques : étude
par Docking moléculaire et analyse des propriétés pharmacocinétiques**

Soutenu le : 23/09/2026

Devant le jury :

Mme. BELARBI Wassila	Maître de Conférences B	Université de Saida	Président
Mr. BOUDINAR Mohamed	Maître de Conférences A	Université de Saida	Examineur
Mme. TOUHAMI Moufida	Maître de Conférences A	Université de Saida	Rapporteur

Promotion : 2025-2026

Résumé

Les infections fongiques invasives constituent un problème majeur de santé publique, aggravé par la diffusion de souches résistantes aux azolés. La lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51), enzyme clé de la biosynthèse de l'ergostérol, demeure la cible la mieux validée des antifongiques triazolés. Ce travail présente une évaluation entièrement *in silico* de quatre dérivés triazolés ne différant que par la longueur de leur chaîne N-alkyle (C7 à C14) vis-à-vis de la CYP51 de *Candida albicans*. L'amarrage moléculaire (Glide, précision standard) a été réalisé sur deux structures cristallographiques, 5FSA et 5TZ1 ; les propriétés de drug-likeness et ADME/Tox ont été prédites par SwissADME et pkCSM, et les énergies libres de liaison affinées par Prime MM-GBSA. Les scores d'amarrage s'échelonnent de -7,080 à -9,136 kcal/mol sur 5FSA et de -7,155 à -7,872 kcal/mol sur 5TZ1, le composé 1 (C14) étant le mieux classé sur 5FSA et le composé 2 (C12) sur 5TZ1. À l'inverse, seul le composé 4 (C7) satisfait simultanément les filtres de Lipinski, Veber et Ghose. Les prédictions ADME/Tox indiquent une bonne absorption intestinale et l'absence de mutagénicité et d'hépatotoxicité prédites pour toute la série. Les calculs MM-GBSA désignent les composés 3 et 4 comme les complexes les plus favorables (-27,18 et -26,87 kcal/mol). La hiérarchisation de ces dérivés exige donc une approche multiparamétrique, et les composés 3 et 4 apparaissent comme les têtes de série les plus équilibrées en vue d'une validation expérimentale.

Mots-clés : 1,2,4-triazole, CYP51, docking moléculaire, ADME/Tox et MM-GBSA.

ملخص

تُمثل العدوى الفطرية الغازية مشكلة كبرى للصحة العمومية، ويزيد من حدتها انتشار السلالات المقاومة للأزولات. ويظل إنزيم لانوسستيرول 14 α -ديميثيلاز (CYP51)، وهو الإنزيم المفتاح في التخليق الحيوي للإرغوستيرول، الهدف الأكثر تأكيدًا لمضادات الفطريات التريازولية. يعرض هذا العمل تقييمًا حاسوبيًا كاملاً لأربعة مشتقات تريازولية لا تختلف إلا في طول السلسلة الألكيلية (من C7 إلى C14) تجاه إنزيم CYP51 لدى المبيضة البيضاء. أُجرى الالتحام الجزيئي (Glide، الدقة القياسية) على بنيتين بلوريتين هما 5FSA و5TZ1، وجرى التنبؤ بخصائص التشابه الدوائي وADME/Tox بواسطة SwissADME وpkCSM، ومُقلت طاقات الربط الحرة بطريقة Prime MM-GBSA. تراوحت درجات الالتحام بين -7.080 و-9.136 كيلوكالوري/مول على 5FSA، وبين -7.155 و-7.872 كيلوكالوري/مول على 5TZ1، وتصدر المركب 1 (C14) الترتيب على 5FSA والمركب 2 (C12) على 5TZ1. في المقابل، يستوفي المركب 4 (C7) وحده معايير ليبينسكي وفيبر وغوز معًا. وأشارت تنبؤات ADME/Tox إلى امتصاص معوي جيد وغياب السمية الطفرية والكبدية المتوقعة لدى السلسلة كاملة. وحددت حسابات MM-GBSA المركبين 3 و4 بوصفهما أكثر المعقدات ملاءمة من حيث الطاقة (-27.18 و-26.87 كيلوكالوري/مول). ومن ثمّ يستلزم ترتيب هذه المشتقات مقارنة متعدّدة المعايير، ويبرز المركبان 3 و4 بوصفهما أكثر المركبات توازنًا للتحقق التجريبي.

الكلمات المفتاحية : triazole, CYP51, docking moléculaire, ADME/Tox et MM-GBSA-1,2,4

Abstract

Invasive fungal infections are a major public health concern, aggravated by the spread of azole-resistant strains. Lanosterol 14 α -demethylase (CYP51), the key enzyme of ergosterol biosynthesis, remains the most validated target of triazole antifungals. This work reports a fully in silico evaluation of four triazole derivatives differing only by the length of their N-alkyl chain (C7 to C14) against CYP51 of *Candida albicans*. Molecular docking (Glide, standard precision) was performed on two crystal structures, 5FSA and 5TZ1; drug-likeness and ADME/Tox properties were predicted with SwissADME and pkCSM, and binding free energies were refined by Prime MM-GBSA. Docking scores ranged from -7.080 to -9.136 kcal/mol on 5FSA and from -7.155 to -7.872 kcal/mol on 5TZ1, with compound 1 (C14) ranking first on 5FSA and compound 2 (C12) on 5TZ1. Conversely, only compound 4 (C7) simultaneously satisfied the Lipinski, Veber and Ghose filters. ADME/Tox predictions indicated good intestinal absorption and no predicted mutagenicity or hepatotoxicity for the whole series. MM-GBSA calculations identified compounds 3 and 4 as the most favourable complexes (-27.18 and -26.87 kcal/mol). Ranking these derivatives therefore requires a multiparametric approach, and compounds 3 and 4 emerge as the most balanced leads for experimental validation.

Keywords: 1,2,4-triazole, CYP51, molecular docking, ADME/Tox and MM-GBSA.

Remerciements

Avant tout, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Dieu, le Tout-Puissant, qui m'a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour surmonter les épreuves et mener à bien ce travail de recherche.

Je souhaite adresser mes sincères remerciements à ma famille pour son soutien indéfectible, ses encouragements constants et sa foi inébranlable en mes capacités tout au long de mon parcours universitaire. Leurs précieux sacrifices, leur présence rassurante et leur bienveillance au quotidien ont été le plus beau des moteurs pour poursuivre mes efforts.

*Mes remerciements les plus respectueux s'adressent à mon encadrante, **Madame Touhami Moufida**, pour la confiance qu'elle m'a accordée, sa disponibilité constante, ses conseils avisés et la rigueur scientifique qu'elle a su me transmettre tout au long de l'élaboration de ce mémoire. Son accompagnement précieux et sa bienveillance pédagogique ont été essentiels à l'accomplissement de ce travail.*

*J'exprime également ma sincère gratitude à **Madame Belarbi Ouassyla**, chef de département, pour son engagement constant en faveur de notre réussite, ainsi que pour les conditions d'étude et de formation optimales qu'elle a su mettre à notre disposition.*

J'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury pour l'honneur qu'ils me font d'évaluer ce travail, ainsi que pour le temps et l'attention précieuse qu'ils consacreront à l'examen de cette étude.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance envers mes collègues, mes amis et l'ensemble des personnes qui, de près ou de loin, ont contribué par leurs conseils, leur aide technique ou leurs encouragements à la réalisation de ce document.

À vous tous, merci infiniment.

Younes

Dédicace

À mes parents,

Pour la confiance et le soutien de chaque instant.

À ma famille et mes amis,

Merci d'avoir été à mes côtés.

Younes

Liste des abréviations

ADME/Tox	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion – Toxicité
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
CADD	Conception de médicaments assistée par ordinateur
CDR	Résistance aux médicaments chez Candida (pompes à efflux)
CYP2C9 / CYP2D6 / CYP3A4	Isoformes du cytochrome P450 humain
CYP51	Lanostérol 14 α -déméthylase (stérol 14 α -déméthylase)
DL50	Dose létale médiane
ERG11	Gène codant la lanostérol 14 α -déméthylase fongique
FKS1 / FKS2	Gènes codant la sous-unité catalytique de la β -(1,3)-D-glucane synthase
hERG	Gène apparenté à Ether-à-go-go humain (canal potassique cardiaque)
HIA	Absorption intestinale humaine
HTS	Criblage à haut débit
IEC	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
IFI	Infections fongiques invasives
IUPAC	Union internationale de chimie pure et appliquée
LOAEL	Dose minimale entraînant un effet indésirable observé
MM-GBSA	Mécanique moléculaire – Surface de Born généralisée
MW	Masse moléculaire
OMS	Organisation mondiale de la santé
OPLS4	Potentiels optimisés pour simulations de liquides, 4 ^e génération
PDB	Banque de données de protéines
pkCSM	Prédiction des propriétés pharmacocinétiques de petites molécules par signatures basées sur les graphes
RMSD	Écart quadratique moyen
SAR	Relation structure-activité
TPSA	Topological Polar Surface Area
VSGB	Modèle de solvation implicite de Born généralisé à surface variable

ΔG_{bind}

Énergie libre de liaison

Table des matières

Introduction générale.....	1
Chapitre I : De la microbiologie générale à la conception antifongique.....	5
I. Introduction.....	5
II Diversité et classification des micro-organismes.....	5
II.1 Structure générale des cellules procaryote.....	7
II.2 Structure et composition des bactéries.....	8
II.3 Types et classification des bactéries.....	9
II.4 Croissance et reproduction bactérienne.....	10
II.5 Rôle des micro-organismes et nécessité de leur contrôle.....	11
III Les antifongiques : Mécanismes, limites et conception in Silico.....	13
III.1 Historique des approches antifongiques.....	13
III.2 Mode d'action des antifongiques.....	14
III.3 Panorama des antifongiques.....	15
III.4 Approches de lutte contre les agents fongiques.....	16
III.4.1 Approches chimiques.....	16
III.4.2 Approches naturelles.....	16
III.4.3 Approches physiques.....	16
III.4.4 Limites des antifongiques.....	17
IV. Les Triazoles : Structure, Activité et Potentiel Antifongique.....	17
IV.1. Généralités.....	17
IV.2. Structure chimique et nomenclature.....	19
IV.3. Importance du système cyclique 1,2,4-triazole.....	20
IV.4. Relation structure-activité des dérivés benzothiazolés.....	21
V. Conclusion.....	22
Références bibliographiques.....	23
Chapitre II : Les méthodes in silico.....	27
I. Introduction.....	27
II. Principes Généraux de la Modélisation Moléculaire.....	27
II.1 Représentation et topologie moléculaire.....	27
III Les méthodes de découverte des médicaments.....	28
III.1 Découverte par Sérendipité (Hasard).....	28
III.2 Découverte par données empiriques (Criblage de substances naturelles).....	29

III.3 Découverte à partir d'une molécule déjà existante (Repositionnement et analogues).....	30
III.4 Découverte à partir d'un processus physiologique (Approche basée sur la cible).....	31
III.5 Découverte par modélisation moléculaire in silico (Docking).....	32
IV Le docking moléculaire.....	33
IV.1 Historique et évolution de la méthode.....	33
IV.2 Théorie fondamentale du Docking moléculaire.....	33
IV.3 Types de docking moléculaires.....	34
IV.3.1 Le docking rigide (Rigid Body Docking).....	34
IV.3.2 Le docking semi-flexible.....	34
IV 3.3 Le docking flexible (Induced Fit).....	35
IV.4 Outils du docking moléculaire.....	35
IV.4.1 Le Récepteur (La macromolécule cible).....	35
IV.4.2 Le ligand (La petite molécule).....	35
IV.4.3 Le programme de docking (L'Algorithme).....	35
IV.5 Méthodologie du docking moléculaire.....	36
IV.6 Le docking flexible.....	36
IV.7 Fonction de Score.....	37
V Principes de l'ADME/Toxicité.....	37
V.1 Absorption.....	38
V.2 Distribution.....	38
V.3 Métabolisme.....	39
V.4 Élimination.....	39
V.5 Toxicité.....	39
V.6 Règle de Lipinski (Règle des Cinq).....	39
V.7 Règle de Ghose.....	40
V.8 Profil ADME in Silico.....	41
VI Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	42
Chapitre III : Résultats et discussion.....	47
I. Introduction.....	47
II. Matériels et méthodes.....	48
II.1 Base de données.....	48
II.2 Docking moléculaire.....	48
II.2.1 Préparation du récepteur.....	48

II.2.2 Génération de la grille et amarrage des ligands.....	50
II.3 Évaluation du profil ADME/Tox et de la ressemblance médicamenteuse (Drug-likeness)	50
II.3.1 Propriétés pharmacocinétiques et Drug-likeness.....	50
II.3.2 Profil de toxicité moléculaire.....	51
II.4 Calcul des énergies libres de liaison par l'approche MM-GBSA.....	51
III. Résultats et discussions.....	52
III.1 Analyse des scores de docking SP Glide.....	53
III.2 Prédiction du profil ADME/Tox.....	55
III.2.1 Analyse des descripteurs physico-chimiques et pharmacocinétiques.....	55
III.2.2. Paramètres ADME/Tox.....	56
III.3 Calculs d'énergie libre de liaison MM-GBSA.....	58
IV. Conclusion.....	59
Références bibliographiques.....	60
Conclusion générale.....	64

Liste des figures

Chapitre I : De la microbiologie générale à la conception antifongique

Figure 1 : Classification des microorganismes.....	7
Figure 2 : Structure générale des cellules procaryotes.....	8
Figure 3 : Structure et composition des bactéries.....	9
Figure 4 : Types et classification des bactéries.....	10
Figure 5 : Croissance et reproduction bactérienne.....	11
Figure 6 : Rôle des micro-organismes et nécessité de leur contrôle.....	13
Figure 7 : Évolution historique des approches antifongiques.....	14
Figure 8 : Diagramme schématique des principaux modes d'action des antifongiques.....	15
Figure 9 : Applications sectorielles des antifongiques.....	16
Figure 10 : Évolution et spectre d'activité des antifongiques azolés.....	18
Figure 11 : Mécanisme d'action des triazoles : inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol et sélectivité CYP51.....	19
Figure 12 : Structure chimique et nomenclature du noyau 1,2,4-triazole.....	20
Figure 13 : Importance du système cyclique 1,2,4-triazole.....	21
Figure 14 : Relations structure-activité des dérivés benzothiazole-triazole.....	22

Chapitre II : Les méthodes in silico

Figure 1 : Les cinq approches stratégiques de la découverte des médicaments.....	28
Figure 2 : Découverte médicamenteuse par sérendipité.....	29
Figure 3 : Découverte médicamenteuse par données empiriques.....	30
Figure 4 : Découverte médicamenteuse à partir d'une molécule déjà existante.....	31
Figure 5 : Découverte médicamenteuse à partir d'un processus physiologique.....	32
Figure 6 : Découverte médicamenteuse par modélisation moléculaire in silico.....	33
Figure 7 : Étapes de la méthodologie du docking moléculaire avec Maestro Schrödinger.....	36
Figure 8 : Profil ADME/Toxicité.....	38
Figure 9 : La règle des cinq de Lipinski et ses critères de biodisponibilité orale.....	40

Chapitre III : Résultats et discussion

Figure 1 : Structure cristalline du stérol 14- α -déméthylase (CYP51) issue de <i>Candida</i> ; A : 5FSA ; B : 5TZ1.....	49
Figure 2 : Structures chimiques 2D des quatre dérivés triazolés.....	52

Figure 3 : Représentation tridimensionnelle du complexe protéine-ligand illustrant la pose de *docking* du composé dans la cavité catalytique de la CYP51 (PDB ID : 5FSA). 54

Figure 4 : Représentation tridimensionnelle du complexe protéine-ligand illustrant la pose de *docking* du composé dans la cavité catalytique de la CYP51 (PDB ID : 5TZ1).....54

Liste des tableaux

Chapitre III : Résultats et discussion

Tableau 1 : Scores du docking des quatre composés avec les protéines CYP51 (5FSA et 5TZ1).	52
Tableau 2 : Propriétés de drug-likeness et paramètres de chimie médicinale des composés.....	55
Tableau 3 : Prédiction des paramètres ADME/Tox des composés avec seuils de référence.....	57
Tableau 4 : Énergies libres de liaison relatives (kcal/mol) obtenues par Prime MM-GBSA.....	59

Introduction générale

Longtemps reléguées au second plan de la recherche biomédicale au profit des pathologies bactériennes et virales, les infections fongiques se sont affirmées, au cours des deux dernières décennies, comme une menace mondiale de santé publique majeure. Il est désormais établi que plus d'un milliard d'individus souffrent de mycoses superficielles, tandis que les formes invasives engendrent une mortalité annuelle comparable à celle de la tuberculose. Ces atteintes touchent préférentiellement les sujets immun compromis (patients vivant avec le VIH, receveurs de greffes, individus sous chimiothérapie ou hospitalisés en soins intensifs), chez lesquels des agents opportunistes des genres *Candida*, *Aspergillus* et *Cryptococcus* peuvent induire des taux de mortalité atteignant 40 %. L'expression fréquemment citée de « tueurs cachés » illustre avec précision le contraste saisissant entre la sévérité épidémiologique de ces pathologies et la sous-estimation dont elles font encore l'objet dans les programmes de recherche prioritaires.

Cette situation est aggravée par une difficulté biologique majeure : Les champignons sont des organismes eucaryotes : ils partagent avec les cellules humaines une grande partie de leur machinerie moléculaire, ce qui limite drastiquement l'identification de cibles spécifiquement fongiques et non toxiques pour l'Homme. Il en résulte un arsenal antifongique étroit, structuré autour de quatre grandes familles seulement (polyènes, azolés, échinocandines et allylamine) dont aucune classe véritablement nouvelle n'est venue élargir le spectre depuis plusieurs décennies. À cette pauvreté structurelle s'ajoutent des contraintes lourdes : la toxicité rénale des polyènes, les problèmes d'interactions médicamenteuses dus à l'inhibition des cytochromes P450 humains par les dérivés azolés, et enfin le coût élevé des traitements récents, soulevant de véritables enjeux d'équité sanitaire à l'échelle mondiale.

Le troisième facteur d'urgence réside dans la progression rapide de la résistance aux traitements. L'usage massif des antifongiques en médecine et en agriculture a conduit à l'apparition de mécanismes de défense chez les champignons, qui diminuent considérablement l'efficacité des molécules existantes (notamment les azolés et les échinocandines). Face à cette érosion de l'arsenal thérapeutique, la conception de nouveaux agents antifongiques plus spécifiques et moins toxiques est devenue une priorité absolue.

La lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51) constitue la cible de référence des antifongiques azolés. En bloquant cette enzyme clé de la voie de biosynthèse de l'ergostérol, (un composant essentiel de la membrane cellulaire du champignon), on fragilise la membrane cellulaire fongique jusqu'à provoquer la mort du champignon. L'efficacité des triazoles repose sur l'interaction entre l'azote de leur noyau aromatique et l'atome de fer présent dans le site actif de CYP51. La possibilité de modifier facilement les substituants du noyau triazole permet d'ajuster finement l'activité et la stabilité des molécules. Cette flexibilité structurale combinée à un profil de drug-likeness

généralement favorable en fait un motif privilégié pour le développement de nouveaux agents antifongiques hybrides, notamment en combinaison avec le noyau benzothiazole.

Face au coût et à la durée du développement pharmaceutique classique, les approches de conception assistée par ordinateur (Computer-Aided Drug Design, CADD) se sont imposées comme un levier d'accélération majeur. Le Docking moléculaire, en particulier, permet de simuler les modes de liaison d'un ligand au sein du site actif d'une cible, de hiérarchiser des séries de composés selon une fonction de score, et d'identifier les résidus et les interactions responsables de la stabilisation du complexe, et ce avant toute synthèse chimique. Un score favorable ne constitue toutefois jamais, à lui seul, une preuve d'activité biologique : il doit être replacé dans une démarche multiparamétrique associant la validation du protocole, l'analyse des interactions, l'évaluation de la drug-likeness, la prédiction des propriétés ADME/Tox et, lorsque cela est possible, un raffinement énergétique par des méthodes telles que MM-GBSA.

C'est dans ce cadre que s'inscrit le présent travail. Quatre dérivés triazolés, issus d'une chimiothèque antérieure et partageant un même squelette moléculaire, testés face à l'enzyme CYP51 de *Candida albicans*. Ces composés partagent un même squelette de base et se distinguent uniquement par la longueur de leur chaîne *N*-alkyle, variant de 7 à 14 atomes de carbone. : Cette différence progressive permet de comprendre l'effet d'une seule modification chimique sur la fixation à l'enzyme CYP51 de *Candida albicans* et sur les propriétés pharmacologiques. Afin de garantir la fiabilité des résultats, deux structures cristallographiques distinctes de l'enzyme 3D de l'enzyme issues de la *Protein Data Bank* (codes PDB : 5FSA et 5TZ1) ont été sélectionnées pour tenir compte de la flexibilité ou les variations de forme du site actif du site actif.

Les objectifs de ce mémoire sont au nombre de trois :

- Caractériser, à l'échelle atomique, les modes de liaison des quatre dérivés triazolés au sein du site actif de la CYP51 de *Candida albicans*, et évaluer l'influence de la longueur de la chaîne alkyle sur la qualité des interactions ligand-récepteur ;
- Établir le profil physicochimique, de drug-likeness et de pharmacocinétique prédite (ADME/Tox) de la série, en confrontant les composés aux filtres de référence de la chimie médicinale que sont les règles de Lipinski, de Veber et de Ghose ;
- Affiner l'évaluation énergétique des complexes par la méthode MM-GBSA, puis hiérarchiser les candidats selon une approche multicritère recherchant le meilleur compromis entre affinité pour la cible, robustesse du complexe et viabilité pharmacocinétique.

Pour répondre à ces objectifs, le mémoire est organisé en trois chapitres complémentaires.

Le chapitre I pose le cadre biologique et pharmacologique de l'étude. Il part de la microbiologie générale : diversité et classification des micro-organismes, organisation des cellules procaryotes, croissance bactérienne, nécessité d'un contrôle raisonné ; pour resserrer progressivement le propos sur les champignons, puis sur les antifongiques : historique des approches, mécanismes d'action, panorama d'utilisation, stratégies chimiques, naturelles et physiques, et limites actuelles. Il se

referme sur une présentation détaillée du noyau 1,2,4-triazole, de sa structure, de son intérêt pharmacologique et des relations structure-activité des hybrides benzothiazole-triazole.

Le chapitre II est consacré aux méthodes *in silico*. Après un rappel des principes de la modélisation moléculaire et de la représentation des molécules, il replace le docking parmi les cinq grandes stratégies historiques de découverte des médicaments : sérendipité, criblage empirique, dérivation d'une molécule existante, approche fondée sur la cible et modélisation moléculaire. Il détaille ensuite la théorie du docking moléculaire, ses différents types, les outils et les algorithmes employés, la méthodologie complète d'une étude d'amarrage ainsi que les fonctions de score et leurs limites. Le chapitre s'achève sur les principes de l'ADME/Toxicité et sur les règles empiriques de drug-likeness de Lipinski et de Ghose.

Le chapitre III présente le travail personnel : matériels et méthodes, puis résultats et discussion. Il décrit la préparation et la validation des récepteurs 5FSA et 5TZ1, la génération de la grille et l'amarrage des ligands par Glide, l'évaluation du profil ADME/Tox par SwissADME et pkCSM, ainsi que les calculs d'énergie libre de liaison par MM-GBSA. Les résultats sont analysés et discutés successivement sous l'angle des scores de docking, des descripteurs de drug-likeness, des paramètres ADME/Tox et de la décomposition énergétique des complexes, avant d'être intégrés dans une hiérarchisation multicritère des quatre candidats.

Une conclusion générale reprend enfin les principaux enseignements de ce travail, en souligne les limites méthodologiques et dégage les perspectives de validation expérimentale et d'optimisation structurale qui en découlent.

CHAPITRE I

De la microbiologie générale à la conception antifongique

I Introduction

Les micro-organismes constituent une composante fondamentale du monde vivant et jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes naturels. Ils regroupent un ensemble d'organismes de taille microscopique, invisibles à l'œil nu, incluant principalement les bactéries, les virus, les champignons et certains protozoaires. Leur présence est observée dans pratiquement tous les environnements, qu'il s'agisse des sols, des milieux aquatiques, de l'air ou encore des surfaces biologiques et industrielles. Cette ubiquité s'explique par leur grande capacité d'adaptation à des conditions environnementales variées, parfois extrêmes [1].

Sur le plan biologique, les micro-organismes présentent une grande diversité structurale et fonctionnelle. Certains possèdent une organisation cellulaire simple, comme les bactéries, tandis que d'autres présentent une structure plus complexe, comme les champignons. Les virus occupent une position particulière dans cette classification, car ils ne possèdent pas de structure cellulaire complète et dépendent d'une cellule hôte pour leur reproduction. Cette organisation hiérarchique reflète l'évolution de la vie sur Terre depuis les formes les plus simples vers les plus complexes [2, 3].

Les micro-organismes jouent un rôle fondamental dans les cycles biogéochimiques. Ils participent activement à la décomposition de la matière organique, au recyclage des nutriments et au maintien de l'équilibre écologique. Leur activité contribue à la fertilité des sols et à la régulation de nombreux processus naturels. À titre d'exemple, les bactéries nitrifiantes transforment l'ammoniaque en nitrates assimilables par les plantes, assurant ainsi la continuité du cycle de l'azote [4].

Dans le domaine industriel, les micro-organismes sont également exploités pour leurs capacités métaboliques. Ils interviennent dans des procédés tels que la fermentation, la production d'enzymes ou encore la synthèse de composés biologiques. Ces applications témoignent de leur importance dans les activités humaines. La biotechnologie moderne utilise notamment des souches bactériennes génétiquement modifiées pour produire de l'insuline, des antibiotiques et des enzymes industrielles à grande échelle [1, 5].

Cependant, certains micro-organismes peuvent également être associés à des effets indésirables. Leur développement peut entraîner des altérations de produits alimentaires, la dégradation de matériaux ou des déséquilibres dans certains systèmes biologiques. Cette dualité entre effets bénéfiques et nuisibles rend leur étude particulièrement importante. Selon l'OMS, les infections d'origine microbienne représentent encore aujourd'hui l'une des principales causes de mortalité dans les pays à faible revenu [2, 6].

II Diversité et classification des micro-organismes

La classification des micro-organismes repose sur des critères structuraux, fonctionnels et génétiques. Elle permet de distinguer les différents groupes et de mieux comprendre leurs caractéristiques biologiques. On distingue principalement les organismes procaryotes et eucaryotes.

Cette classification, initialement basée sur des critères morphologiques, a été profondément remaniée grâce aux avancées de la biologie moléculaire et de la phylogénétique [2,7]. Les procaryotes, représentés principalement par les bactéries, se caractérisent par l'absence de noyau et d'organites membranaires. Leur matériel génétique est directement présent dans le cytoplasme. Cette organisation simple leur confère une grande rapidité de reproduction et une capacité d'adaptation élevée. Le temps de génération de certaines espèces, comme *Escherichia coli*, peut être aussi court que 20 minutes dans des conditions optimales, ce qui explique leur extraordinaire capacité évolutive [3,4].

Les eucaryotes, en revanche, possèdent une organisation cellulaire plus complexe. Leur cellule contient un noyau bien défini ainsi que des organites spécialisés tels que les mitochondries et le réticulum endoplasmique. Les champignons appartiennent à cette catégorie et présentent des caractéristiques spécifiques qui influencent leur fonctionnement, notamment la présence d'une paroi cellulaire riche en chitine, absente chez les cellules animales, selon Deacon [8] les champignons constituent le deuxième règne le plus diversifié du vivant après les insectes, avec plus de 1,5 million d'espèces estimées dont seulement 100 000 ont été décrites à ce jour [3, 8 ,9].

Les virus constituent un groupe à part. Ils ne possèdent pas de structure cellulaire et dépendent d'une cellule hôte pour se reproduire. Leur classification repose sur la nature de leur matériel génétique, leur mode de réplication et la morphologie de leur capsid. Cette particularité les place à la frontière entre le vivant et le non-vivant, ce qui en fait des entités biologiques d'un statut unique [2,5].

La diversité des micro-organismes se manifeste également par leurs formes, leurs tailles et leurs modes de vie. Certains sont libres dans l'environnement, tandis que d'autres vivent en association avec des organismes hôtes sous forme de symbiose, de commensalisme ou de parasitisme. Cette diversité explique la complexité de leur étude et la nécessité de développer des approches adaptées, incluant aujourd'hui des outils de métagénomique permettant d'analyser des communautés microbiennes entières sans culture préalable [2,7].

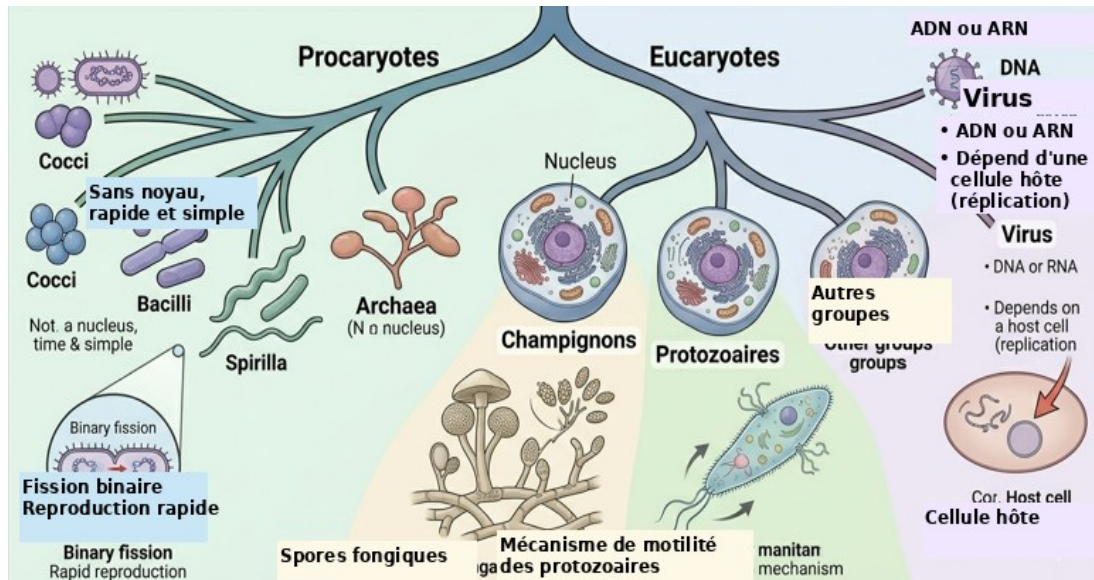


Figure 1 : Classification des microorganismes [2]

II.1 Structure générale des cellules procaryote

Les cellules procaryotes présentent une organisation simple mais efficace, adaptée à leur mode de vie. Elles sont entourées d'une membrane plasmique bicouche lipidique qui assure les échanges avec le milieu extérieur grâce à des protéines de transport spécialisées. Cette membrane joue un rôle essentiel dans la régulation des flux de nutriments et de déchets, et constitue également le site de la phosphorylation oxydative chez les bactéries aérobies [4,5].

La paroi cellulaire constitue un élément fondamental de la structure procaryote. Elle confère rigidité et protection à la cellule, tout en participant à sa forme. Sa composition varie selon les espèces : les bactéries Gram-positives possèdent une épaisse couche de peptidoglycane, tandis que les bactéries Gram-négatives ont une paroi plus fine entourée d'une membrane externe contenant des lipopolysaccharides (LPS), comme le montre la Figure 2. [3,4].

Le cytoplasme contient le matériel génétique sous forme d'ADN circulaire localisé dans une région appelée nucléoïde. Contrairement aux cellules eucaryotes, cet ADN n'est pas enfermé dans un noyau membranaire. Les ribosomes 70S présents dans le cytoplasme assurent la synthèse des protéines nécessaires au fonctionnement cellulaire et constituent d'ailleurs une cible privilégiée de nombreux antibiotiques [3,5].

Certaines cellules procaryotes possèdent des structures supplémentaires, comme les flagelles, qui leur permettent de se déplacer par chimiotactisme, ou les pili, qui facilitent leur adhésion aux surfaces et jouent un rôle crucial dans la conjugaison bactérienne. Ces appendices extracellulaires, visibles dans la Figure 2, jouent un rôle important dans l'interaction avec l'environnement et dans la pathogénicité de nombreuses espèces [3,5].

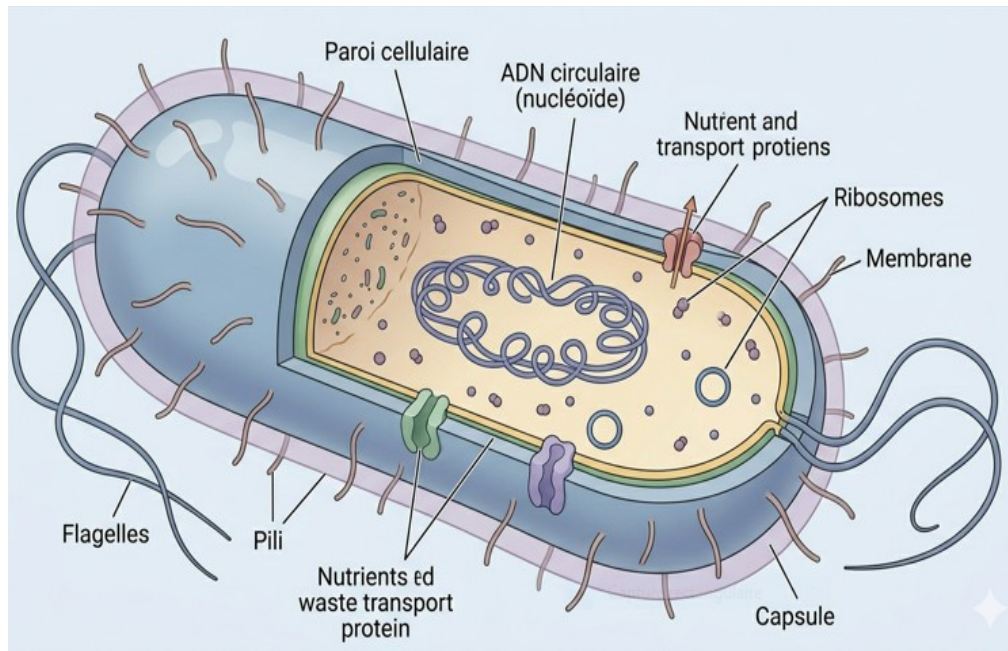


Figure 2 : Structure générale des cellules procaryotes [3].

II.2 Structure et composition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires caractérisés par une structure cellulaire relativement simple mais hautement fonctionnelle. Leur membrane plasmique, composée d'une bicouche phospholipidique, joue un rôle essentiel dans les échanges avec le milieu extérieur grâce à des perméases et des transporteurs actifs. Elle régule l'entrée des nutriments et la sortie des déchets métaboliques, assurant ainsi l'homéostasie cellulaire [3,5].

La paroi cellulaire constitue un élément clé de la structure bactérienne et représente la cible de nombreux agents antibactériens comme la pénicilline. Elle confère rigidité et protection à la cellule. Sa composition, illustrée dans la Figure 3, varie selon les types de bactéries : les bactéries Gram-positives se colorent en violet lors de la coloration de Gram, en raison de leur épaisse paroi de peptidoglycane, tandis que les bactéries Gram-négatives présentent une paroi plus mince associée à une membrane externe [3,5].

Le cytoplasme contient le matériel génétique sous forme d'ADN circulaire double brin, ainsi que les ribosomes nécessaires à la synthèse des protéines. Certaines bactéries possèdent également des structures supplémentaires telles que les flagelles, les pili et des plasmides, qui sont des éléments d'ADN extra chromosomique portant souvent des gènes de résistance aux antibiotiques [5,8]. Cette organisation simple confère aux bactéries une grande capacité d'adaptation et une vitesse de reproduction élevée par fission binaire. Ces caractéristiques, associées à leur plasticité génétique, expliquent leur présence dans pratiquement tous les environnements terrestres, des sources hydrothermales aux milieux polaires, ainsi que leur capacité à développer rapidement des résistances aux agents antimicrobiens [5,7].

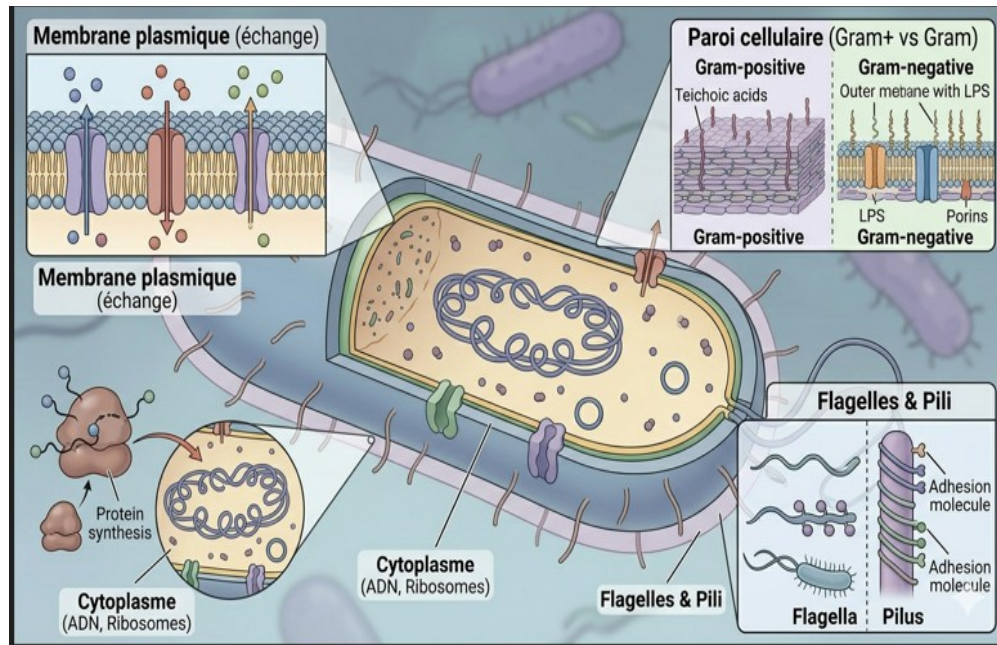


Figure 3 : Structure et composition des bactéries [5]

II.3 Types et classification des bactéries

Les bactéries peuvent être classées selon plusieurs critères, notamment leur forme, leur structure et leur mode de nutrition, comme représenté dans la Figure 4. On distingue les bactéries sphériques (coques), qui peuvent s'organiser en amas (staphylocoques), en chaînes (streptocoques) ou en paires (diplocoques) ; les bactéries en forme de bâtonnets (bacilles) ; et les bactéries en forme spiralée (spirilles et spirochètes) [3,6].

La classification peut également se baser sur la composition de la paroi cellulaire via la technique de coloration de Gram, mise au point par le bactériologiste danois Hans Christian Gram en 1884. Cette distinction entre bactéries Gram-positives et Gram-négatives est fondamentale car elle influence directement les propriétés biologiques des bactéries, leur sensibilité aux agents antimicrobiens et leur capacité à induire des réponses inflammatoires chez l'hôte [3,6].

Les bactéries peuvent également être classées selon leur mode de nutrition, comme illustré dans la Figure 4. Les bactéries autotrophes synthétisent leurs propres molécules organiques à partir de sources inorganiques (photoautotrophes via la photosynthèse, chimiolithotrophes via l'oxydation de composés minéraux), tandis que les bactéries hétérotrophes dépendent de matière organique préexistante. Cette diversité trophique reflète leur remarquable capacité à s'adapter à différents environnements et sources d'énergie [6,7].

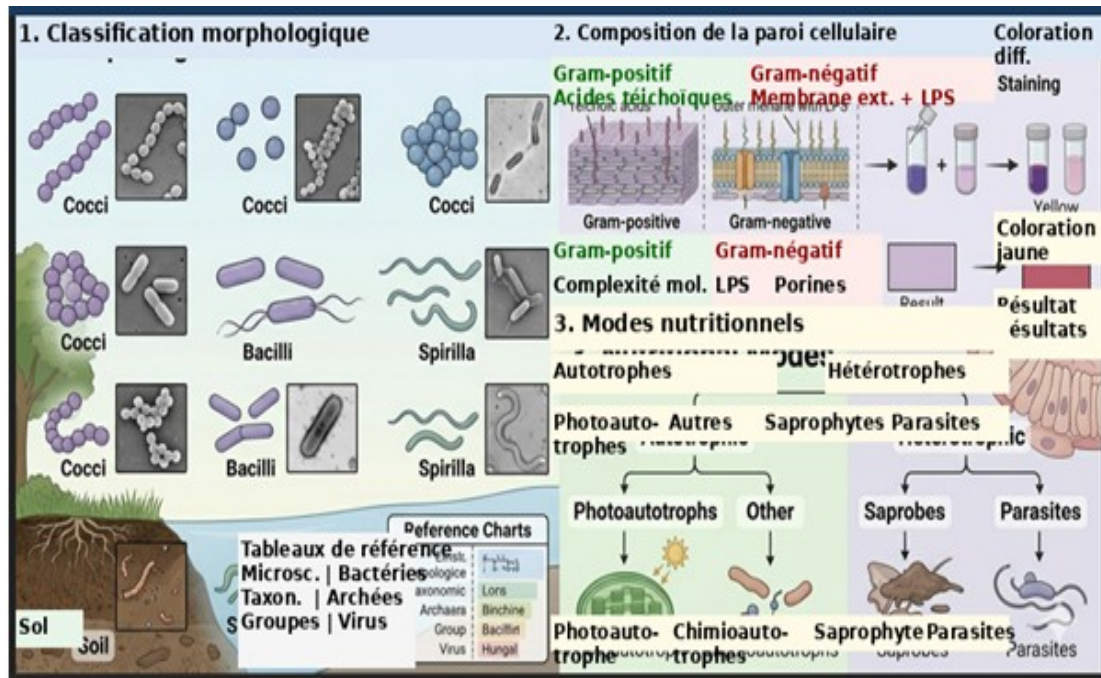


Figure 4 : Types et classification des bactéries [6]

II.4 Croissance et reproduction bactérienne

La croissance bactérienne est un processus dynamique qui dépend de nombreux facteurs environnementaux tels que la température, le pH, la disponibilité en nutriments et la pression osmotique. Les bactéries se reproduisent principalement par fission binaire, un processus asexué représenté dans la Figure 5, qui permet la formation de deux cellules filles génétiquement identiques à partir d'une cellule mère après réplication de l'ADN chromosomique [3,7].

La croissance bactérienne en milieu fermé suit une courbe sigmoïde caractéristique décrite en quatre phases distinctes, illustrées dans la Figure 5 : la phase de latence (adaptation métabolique au milieu), la phase exponentielle ou logarithmique (division rapide et régulière), la phase stationnaire (équilibre entre naissances et morts cellulaires dû à l'épuisement des nutriments), et la phase de déclin (mort cellulaire accélérée par lyse et accumulation de métabolites toxiques). La connaissance précise de ces phases est essentielle pour l'optimisation des procédés fermentaires industriels et pour la conception de protocoles d'antibiothérapie efficaces [3,7]

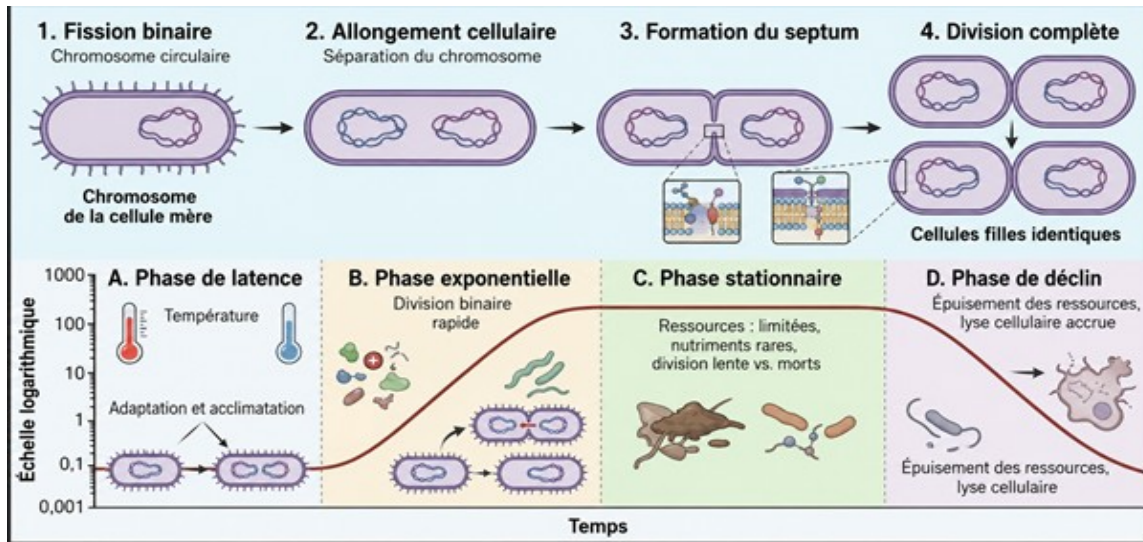


Figure 5 : Croissance et reproduction bactérienne [7]

II.5 Rôle des micro-organismes et nécessité de leur contrôle

Les micro-organismes (bactéries, champignons, virus) ne se limitent pas à leur aspect pathogène ; leur rôle est bien plus nuancé et fondamental dans l'équilibre des écosystèmes naturels et des systèmes biologiques. Leur étude constitue un enjeu majeur pour la santé publique, l'agriculture et l'industrie [7, 8]. Acteurs de l'équilibre écologique : Ils décomposent la matière organique et recyclent les nutriments essentiels (carbone, azote, phosphore). Dans le traitement des eaux usées, ils sont au cœur de l'épuration biologique, permettant la dégradation des polluants organiques par voie aérobie et anaérobie [9].

- Symbiotes au service de la santé humaine : Le microbiote intestinal humain, composé de plus de 10^{13} micro-organismes, forme une barrière protectrice vitale contre les pathogènes. Une dysbiose, ou déséquilibre de cette flore, est associée à de nombreuses pathologies telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, l'obésité et les infections opportunistes à *Candida* [8, 10].
- Agents pathogènes et risques émergents : Certains micro-organismes produisent des facteurs de virulence (toxines, enzymes destructrices, biofilms) qui leur permettent de contourner les défenses immunitaires de l'hôte et de provoquer des maladies graves. L'émergence de pathogènes résistants représente aujourd'hui une menace sanitaire mondiale [8,11].

Cependant, leur développement incontrôlé peut entraîner des effets indésirables considérables, notamment dans les secteurs agroalimentaires et hospitaliers. Il devient donc nécessaire de mettre en place des stratégies de contrôle adaptées. La Figure 6 illustre les principales approches disponibles [8,11].

Prévention des infections nosocomiales et systémiques : En milieu hospitalier, la prolifération de pathogènes comme *Candida albicans* ou *Aspergillus fumigatus* peut causer une mortalité élevée

chez les patients immunodéprimés. Selon Brown [12], les infections fongiques invasives tuent plus d'un million de personnes par an dans le monde. Pfaller [13] a montré que la candidémie représente la quatrième cause d'infections nosocomiales sanguines aux États-Unis, avec une mortalité brute pouvant atteindre 40%. [8, 9,13]

- Protection des ressources alimentaires et hydriques : Les biofilms microbiens, tels que décrits par [11] constituent des communautés organisées de micro-organismes enchâssés dans une matrice polymérique et fixés sur des surfaces. Ils contaminent les réseaux hydriques et les surfaces alimentaires, dégradant la qualité et propageant des maladies d'origine hydrique [8,11].
- Lutte contre la résistance antimicrobienne (AMR) : Un contrôle défaillant (sous-dosage ou surutilisation d'antimicrobiens) sélectionne des souches résistantes aux traitements. L'approche *in silico* s'avère alors décisive : elle permet de concevoir des agents ciblés réduisant la pression de sélection sur les souches non visées, comme l'a démontré Black pour les antifongiques. [8]

L'analyse montre que le contrôle moderne ne cherche plus l'éradication totale, mais le contrôle sélectif basé sur deux principes complémentaires : Sélectivité Moléculaire : Utiliser la modélisation informatique et le criblage virtuel pour créer des molécules qui bloquent spécifiquement un pathogène sans perturber la flore bénéfique de l'hôte. Cette approche *in silico* réduit considérablement le temps et le coût du développement de nouveaux agents antimicrobiens [14].

- Éco-conception : Privilégier des agents de contrôle biodégradables (antifongiques d'origine naturelle, phages, bactériocines) pour éviter la rémanence chimique dans l'environnement et la contamination des chaînes alimentaires [8,15].

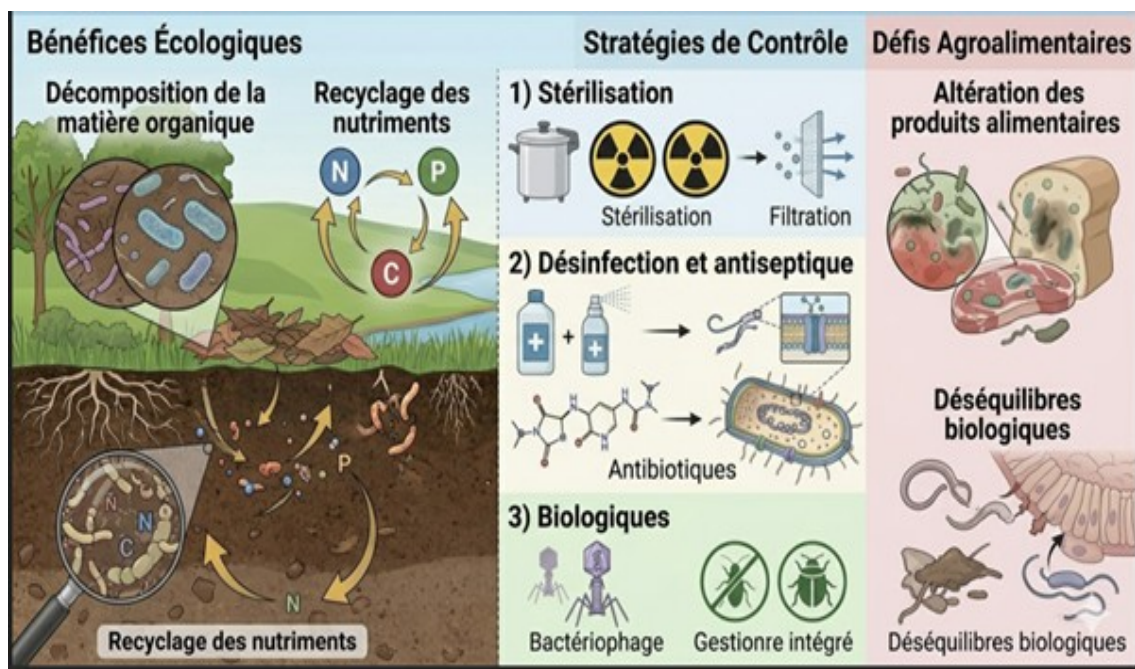


Figure 6 : Rôle des micro-organismes et nécessité de leur contrôle [8]

Si le contrôle des populations bactériennes a longtemps dominé l'agenda de la recherche antimicrobienne, la complexité biologique des champignons (organismes eucaryotes partageant de nombreuses cibles moléculaires avec les cellules humaines) soulève des défis de sélectivité bien plus ardues. Selon Donlan [9] plus d'un milliard de personnes souffrent d'infections fongiques superficielles, et les formes invasives causent une mortalité comparable à celle de la tuberculose. C'est précisément à l'intersection de cette urgence clinique et de la nécessité d'une précision moléculaire accrue que se place notre étude des agents antifongiques [8, 9,16].

III. Les antifongiques : Mécanismes, limites et conception in Silico

III.1 Historique des approches antifongiques

Les premières méthodes de contrôle des champignons reposaient sur des pratiques empiriques utilisant des substances naturelles comme les plantes, les huiles végétales ou certains composés minéraux tels que le soufre et le cuivre. Ces méthodes, représentées sur la figure 7, visaient principalement à limiter la dégradation des aliments et des matériaux sans compréhension scientifique des mécanismes impliqués. La bouillie bordelaise, mélange de sulfate de cuivre et de chaux utilisé en viticulture, constitue un exemple historique emblématique de cette approche empirique. [8,17]

Avec l'avènement de la microbiologie au XIXe siècle, notamment grâce aux travaux fondateurs de Louis Pasteur et Robert Koch, les chercheurs ont commencé à identifier les micro-organismes responsables des altérations. Cette étape a marqué une avancée importante dans la compréhension des champignons et de leur rôle dans les processus de détérioration des aliments et des tissus biologiques. Elle a permis d'ouvrir la voie à des recherches plus structurées sur les moyens de les contrôler scientifiquement [17].

Au XXe siècle, le développement de la chimie organique a permis la synthèse des premières molécules antifongiques spécifiques. La nystatine, découverte en 1950, et l'amphotéricine B, introduite dans les années 1960, ont représenté des avancées majeures. Cette évolution a marqué une transition vers une approche scientifique rationnelle basée sur l'identification de cibles biologiques spécifiques aux champignons [17].

Les recherches modernes, comme celles de Montès [17] et de Dascalu [18] illustrent l'intégration croissante de méthodes numériques et de modélisation moléculaire. Ces approches permettent d'optimiser la découverte de nouvelles molécules antifongiques en prédisant in silico leur affinité pour les cibles fongiques et leurs propriétés pharmacocinétiques avant toute synthèse chimique [17, 18].

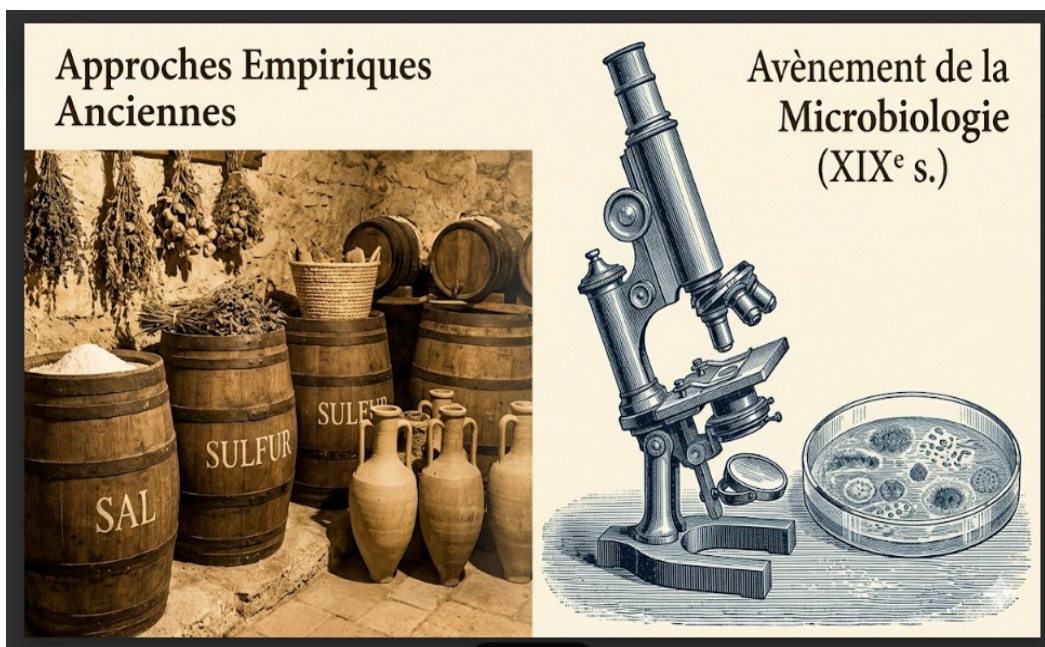


Figure 7 : Évolution historique des approches antifongiques [17]

III.2 Mode d'action des antifongiques

Les antifongiques agissent principalement en ciblant des structures essentielles et spécifiques des cellules fongiques, minimisant ainsi les effets toxiques sur les cellules de l'hôte. Selon les travaux de Dascalu [18] et Revie [19] les mécanismes d'action sont généralement liés à trois grandes cibles biologiques exploitables thérapeutiquement [18, 19].

La première cible est la membrane cellulaire fongique, dont la composition en ergostérol la différencie des membranes des cellules animales qui contiennent du cholestérol. Les azoles (fluconazole, voriconazole) inhibent la biosynthèse de l'ergostérol en bloquant l'enzyme Erg11/CYP51, tandis que les polyènes (amphotéricine B) se lient directement à l'ergostérol pour former des pores transmembranaires, comme illustré sur la figure 8 [17, 18].

La deuxième cible est la paroi cellulaire fongique, structure absente des cellules humaines et donc particulièrement intéressante pour la sélectivité thérapeutique. Les échinocandines (caspofungine, micafungine, anidulafungine) inhibent la bêta-(1,3) -D-glucane synthase, enzyme clé de la biosynthèse du bêta-glucane, principal constituant de la paroi, provoquant ainsi un affaiblissement structural et la lyse cellulaire, comme représenté sur la figure 8 [17]. La troisième cible concerne les processus intracellulaires, notamment la synthèse des acides nucléiques. La 5-fluorocytosine (5-FC) est convertie en 5-fluorouracile à l'intérieur de la cellule fongique, inhibant la thymidylate synthase et bloquant ainsi la synthèse de l'ADN et de l'ARN. Ce mécanisme, bien que puissant, est souvent utilisé en association avec d'autres antifongiques pour prévenir l'émergence rapide de résistances [18, 19].

Les recherches des travaux selon Dascalu [18] montrent également que ces mécanismes d'action sont directement liés à l'apparition de phénomènes de résistance : mutations du gène ERG11 pour les

azoles, mutations des gènes FKS pour les échinocandines, et surexpression de pompes à efflux pour plusieurs classes. Cette compréhension mécanistique est essentielle pour le développement de nouvelles molécules capables de contourner ces résistances [18].

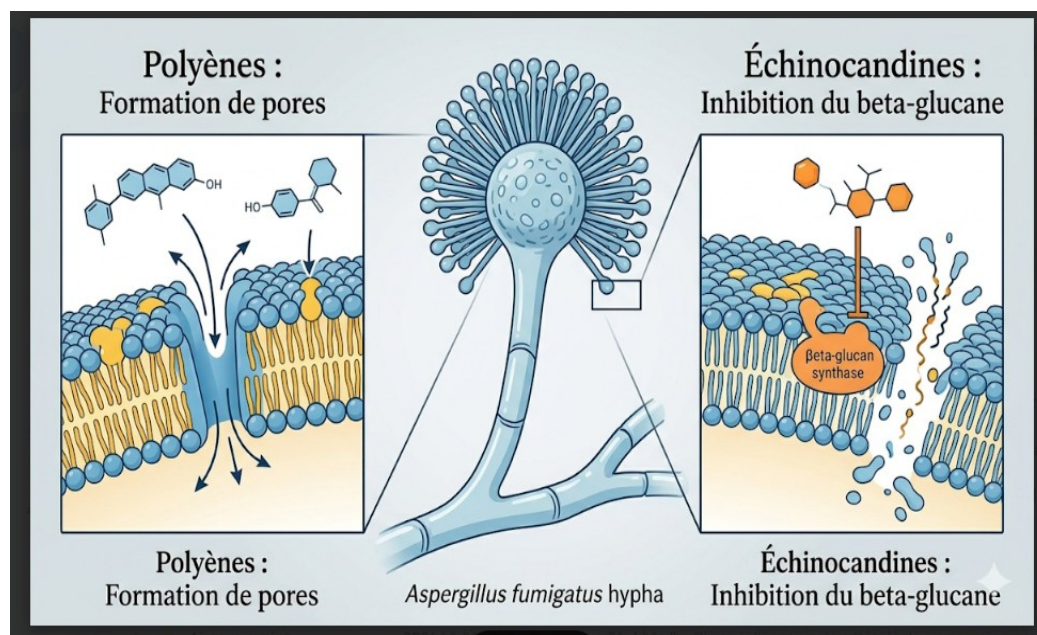


Figure 8 : Diagramme schématisant des principaux modes d'action des antifongiques [18]

III.3 Panorama des antifongiques

Les antifongiques sont utilisés dans de nombreux secteurs d'activité, comme illustré sur la figure 9. Dans le domaine de la santé humaine, ils permettent de traiter des infections allant des candidoses superficielles aux aspergilloses invasives, ces dernières représentant une cause majeure de mortalité chez les patients immunodéprimés selon Leyva Salas [20]. Dans le domaine agroalimentaire, ils prolongent la durée de conservation des denrées et limitent les pertes économiques dues aux contaminations fongiques, estimées à 25% de la production alimentaire mondiale annuelle [9, 20].

Dans l'industrie, les antifongiques sont intégrés dans des matériaux tels que les peintures, les textiles et les revêtements afin d'éviter la dégradation causée par les moisissures. Leur utilisation dans les matériaux de construction contribue à prévenir la formation de biofilms fongiques susceptibles de dégrader les structures et de provoquer des problèmes de qualité de l'air intérieur [20]. Des alternatives naturelles font l'objet d'une attention croissante dans le contexte actuel de résistance et d'impact environnemental. Les huiles essentielles de thym, d'origan et de cannelle présentent des propriétés antifongiques remarquables, notamment grâce à leurs composants actifs (thymol, carvacrol, cinnamaldéhyde) qui perturbent l'intégrité membranaire des champignons. Il a été démontré que ces molécules naturelles agissent sur des cibles multiples, limitant ainsi l'émergence de résistances [15, 20].

Les travaux de Leyva Salas [20] ont démontré l'efficacité de cultures de bioprotection utilisant des bactéries lactiques et des levures sélectionnées comme ferments antifongiques dans les produits

alimentaires fermentés. Ces approches biologiques représentent une voie prometteuse vers des solutions plus naturelles, durables et acceptables par les consommateurs [20].

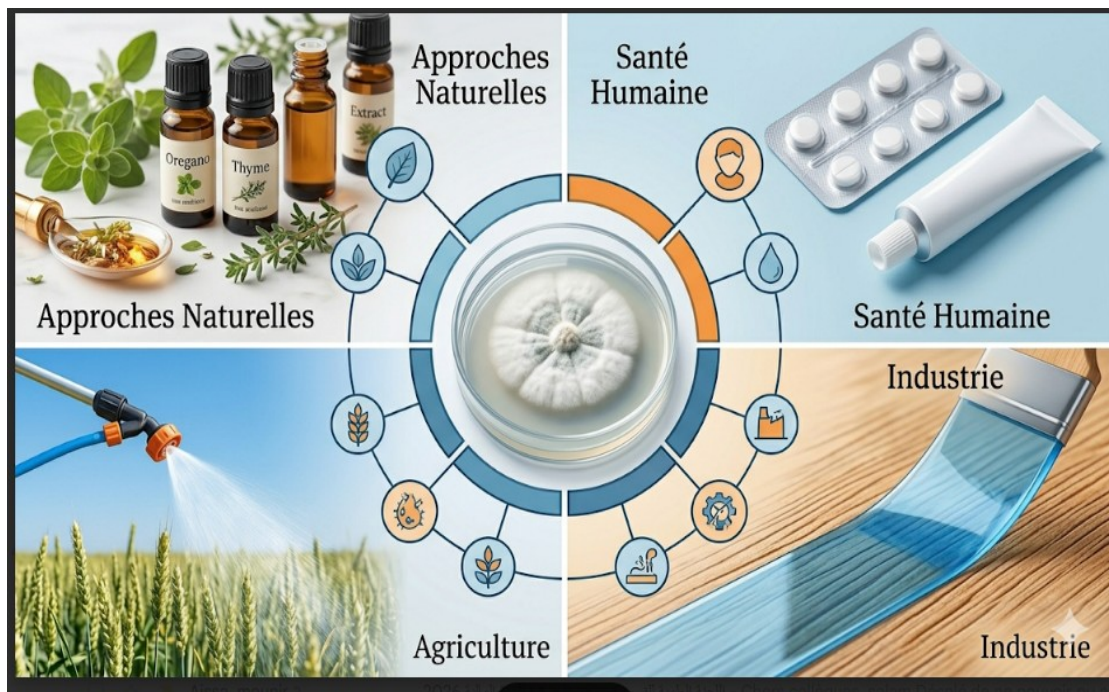


Figure 9 : Applications sectorielles des antifongiques [20]

III.4 Approches de lutte contre les agents fongiques

III.4.1 Approches chimiques

Les approches chimiques reposent sur l'utilisation de molécules synthétiques capables d'inhiber ou de détruire les champignons. Elles sont largement utilisées en raison de leur efficacité et de leur action rapide. Les principales classes incluent les azolés (inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol), les polyènes (formation de pores membranaires), les échinocandines (inhibiteurs de la synthèse de la paroi) et les allylamines (inhibiteurs de la squalène époxydase). Chacune de ces classes cible une étape différente et essentielle du métabolisme fongique [19].

III.4.2 Approches naturelles

Les approches naturelles exploitent les propriétés antifongiques de composés issus de plantes, de bactéries et de champignons antagonistes. Les huiles essentielles, les polyphénols végétaux et certains métabolites secondaires de bactéries lactiques (acides organiques, bactériocines) sont étudiés pour leur potentiel à inhiber la croissance fongique. Ces solutions présentent l'avantage de cibler des mécanismes multiples, réduisant ainsi le risque d'émergence de résistances et limitant l'impact environnemental par leur biodégradabilité [15, 20].

III.4.3 Approches physiques

Les approches physiques consistent à modifier les conditions environnementales afin de limiter le développement des champignons. Cela inclut le contrôle de la température (réfrigération,

pasteurisation, stérilisation thermique), de l'humidité (activité de l'eau), du pH, ainsi que l'utilisation de rayonnements ultraviolets ou ionisants. Les études montrent que la combinaison de ces approches avec des agents chimiques ou biologiques (approche des barrières multiples) permet d'améliorer significativement l'efficacité globale des stratégies antifongiques dans l'industrie alimentaire [7, 8].

III.4.4 Limites des antifongiques

Malgré leur efficacité, les antifongiques présentent plusieurs limites importantes qui freinent leur utilisation à long terme. L'un des problèmes majeurs est l'apparition de résistances chez les champignons pathogènes, qui réduit progressivement l'efficacité des traitements disponibles. Le nombre limité de classes antifongiques approuvées (seulement quatre grandes classes avec des mécanismes d'action distincts) aggrave cette situation, laissant peu d'alternatives thérapeutiques en cas d'échec [19, 21].

Des études récentes, notamment celles de Pristov KE [21] montrent que certaines espèces de *Candida* développent des mécanismes de résistance complexes, incluant des mutations ponctuelles du gène ERG11, la surexpression de pompes à efflux de la famille CDR et MDR, et des modifications de la composition de la paroi cellulaire. De même [21] a documenté l'émergence de résistances aux échinocandines via des mutations des gènes FKS1 et FKS2 chez *Candida glabrata*. De plus, [22] a identifié la surexpression de transporteurs ABC (ATP-binding cassette) comme mécanisme majeur de résistance multi drogues chez plusieurs espèces de *Candida* et *Aspergillus*, représentant un défi thérapeutique croissant [21, 22].

Les dérivés azolés, de par leur mécanisme calqué sur la liaison au fer hémique, exercent une inhibition non sélective des cytochromes P450 humains [23,24]. Cette interférence métabolique systémique est à l'origine d'interactions médicamenteuses croisées majeures et potentiellement fatales chez les patients immunodéprimés recevant des traitements concomitants (immunosuppresseurs, chimiothérapies, anticoagulants) [25,26].

Les coûts élevés de développement et de production des nouvelles formulations (lipidiques notamment), extrêmement élevés en limitent l'accessibilité globale, particulièrement dans les pays en développement [27,28].

L'ensemble de ces contraintes et limites cliniques légitime et rend impérative la recherche continue de nouvelles têtes de série moléculaires, dotées de profils pharmacocinétiques optimisés, de mécanismes d'action novateurs et d'une toxicité systémique minimale [29,30].

IV Les Triazoles : Structure, activité et potentiel antifongique

IV.1 Généralités

Les triazoles constituent une famille de composés hétérocycliques azotés dont l'intérêt pharmacologique n'a cessé de croître depuis leur découverte. Leur noyau de base est un cycle à cinq chaînons contenant trois atomes d'azote, ce qui leur confère des propriétés électroniques et de coordination particulièrement favorable à l'interaction avec des cibles

biologiques. Cette structure leur permet notamment de former des liaisons de coordination stables avec le fer hémique de l'enzyme CYP51 (Erg11), cible clé de la biosynthèse de l'ergostérol fongique [17,18]. Sur le plan clinique, les triazoles représentent aujourd'hui la classe antifongique la plus largement utilisée, notamment dans le traitement des candidoses systémiques, des aspergilloses invasives et des cryptococcoses méningées. Des molécules telles que le fluconazole, le voriconazole, l'itraconazole ou encore le posaconazole illustrent la diversité structurale et le large spectre d'action accessibles au sein de cette famille chimique. Leur développement progressif depuis les premières générations d'imidazoles vers les triazoles de deuxième et troisième génération a permis d'améliorer significativement la sélectivité vis-à-vis des cibles fongiques et de réduire la toxicité pour l'hôte [17, 19].

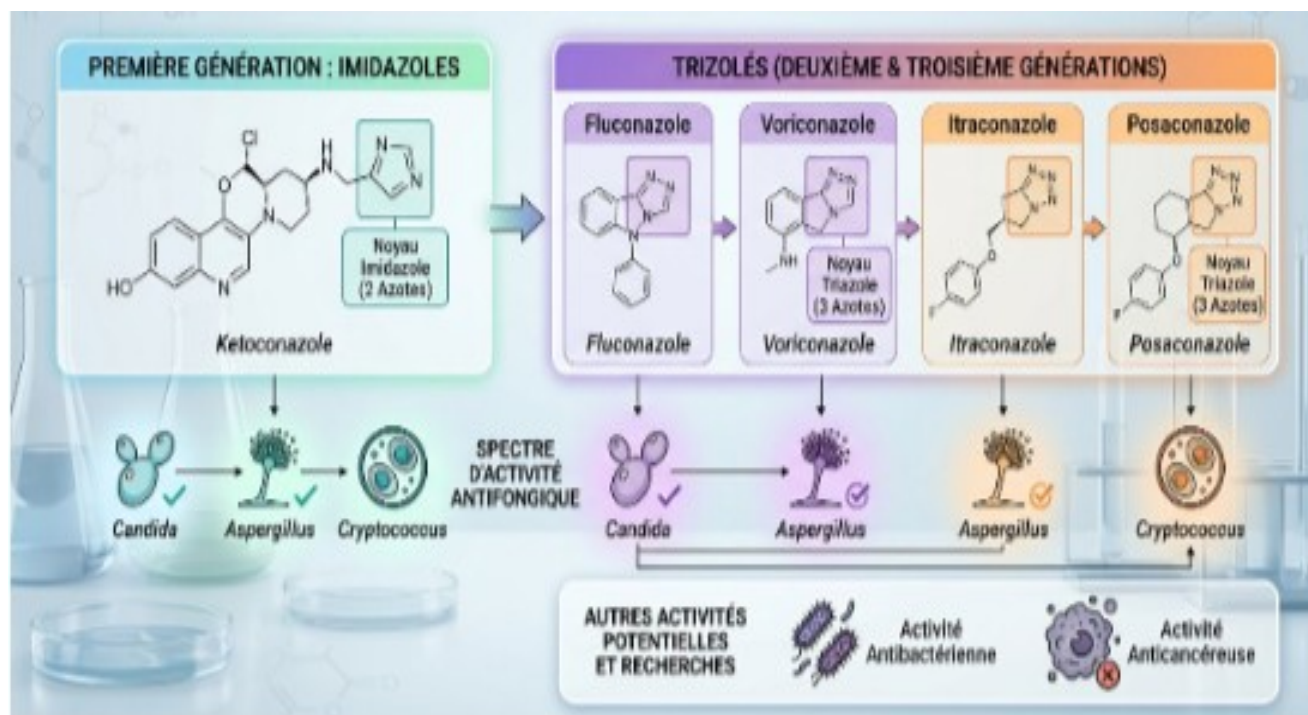


Figure 10 : Évolution et spectre d'activité des antifongiques azolés [17, 19]

Au-delà de leur activité antifongique, les dérivés triazolés présentent également des activités antibactériennes, antivirales, anticancéreuses et anti-inflammatoires démontrées dans la littérature, faisant de ce noyau hétérocyclique un pharmacophore privilégié en chimie médicinale moderne. Cette polyvalence thérapeutique, associée à leur stabilité métabolique relative et à la facilité avec laquelle ils peuvent être fonctionnalisés par synthèse chimique, explique l'intérêt croissant porté à leur égard dans les programmes de découverte de nouveaux médicaments [14, 23].

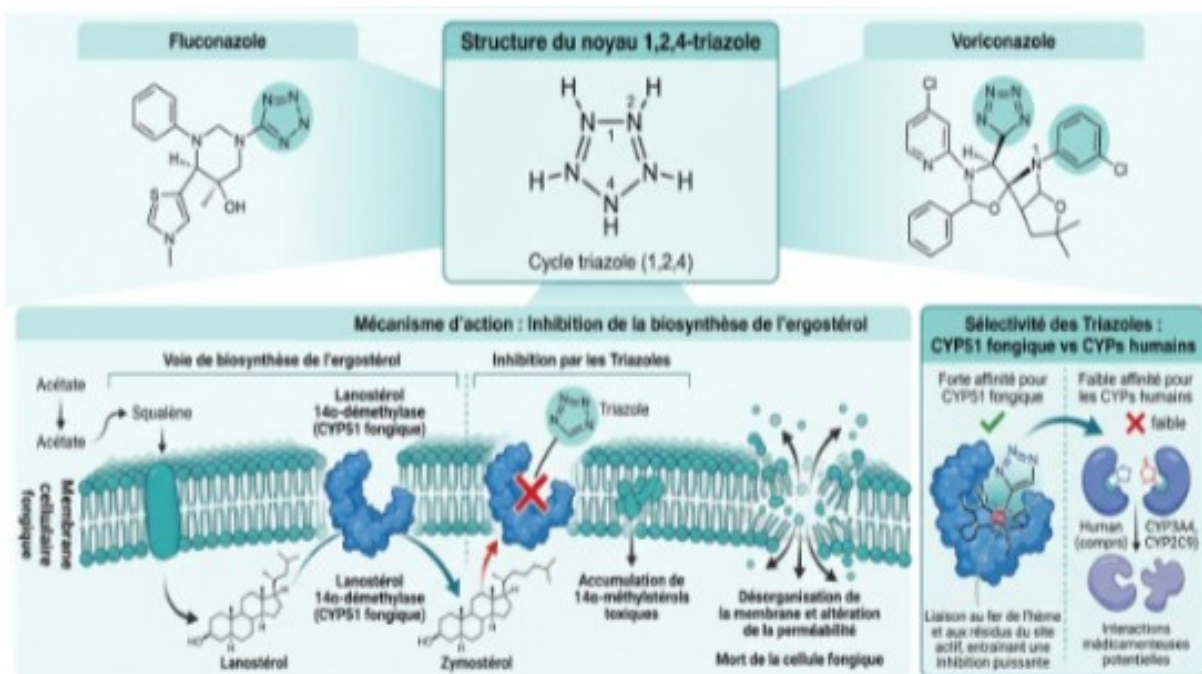


Figure 11 : Mécanisme d'action des triazoles. Inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol et sélectivité CYP51 [18, 19]

IV.2 Structure chimique et nomenclature

Le noyau triazole est un cycle aromatique plané à cinq chaînons composés de deux atomes de carbone et de trois atomes d'azote. Selon la disposition relative de ces atomes d'azote au sein du cycle, on distingue deux isomères principaux : le 1,2,3-triazole, dans lequel les trois azotes sont consécutifs, et le 1,2,4-triazole, dans lequel les azotes occupent les positions 1, 2 et 4 du cycle. Ces deux formes peuvent exister sous deux tautomères distincts selon la position de l'atome d'hydrogène lié à l'un des azotes : les formes 1H- et 2H- pour le 1,2,3-triazole, et les formes 1H-et 4H- pour le 1,2,4-triazole [14, 17].

La numérotation des atomes du cycle suit les règles de l'IUPAC : dans le 1,2,4-triazole, l'azote portant le substituant le plus prioritaire reçoit le numéro 1, et la numérotation se poursuit dans le sens permettant aux hétéroatomes d'obtenir les indices les plus faibles. Cette distinction structurale entre les deux isomères n'est pas anodine sur le plan pharmacologique : si les deux sous-classes possèdent des propriétés biologiques intéressantes, c'est le noyau 1,2,4-triazole qui concentre l'essentiel des antifongiques cliniquement approuvés, notamment les azoles de deuxième génération comme le fluconazole et le voriconazole [17, 18, 19].

Sur le plan physico-chimique, le caractère aromatique du noyau triazole lui confère une planarité et une stabilité thermique élevées. La présence de multiples atomes d'azote à caractère donneur et accepteur de liaisons hydrogène favorise des interactions non-covalentes avec les résidus actifs des cibles enzymatiques. Le log P modéré des dérivés triazolés, combiné à leur poids moléculaire

généralement compris dans les critères de Lipinski, leur confère des propriétés pharmacocinétiques globalement favorables en termes d'absorption et de distribution. [14, 23].

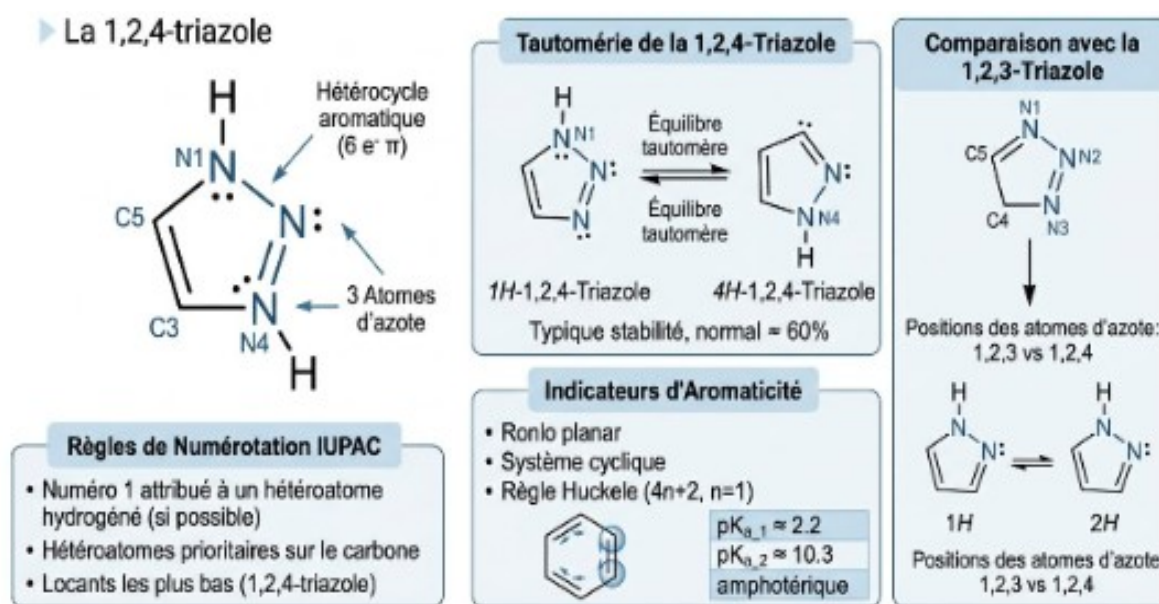


Figure 12 : Structure chimique et nomenclature du noyau 1,2,4-triazole [14, 17]

IV.3 Importance du système cyclique 1,2,4-triazole

Le système cyclique 1,2,4-triazole occupe une place centrale dans la chimie médicinale en raison de ses propriétés bioisostériques et de sa capacité à mimer certains groupes fonctionnels naturels. L'azote en position 4 du cycle, à caractère basique prononcé, est directement impliqué dans la coordination avec le fer hémique du site actif de l'enzyme CYP51, inhibant ainsi la déméthylation en C-14 du lanostérol, étape essentielle de la biosynthèse de l'ergostérol. Cette interaction hautement spécifique est à l'origine de l'efficacité antifongique remarquable des triazoles de deuxième génération [15, 18, 19].

Par rapport au noyau imidazole utilisé dans les antifongiques de première génération (éconazole, ketoconazole), le 1,2,4-triazole présente l'avantage d'une plus grande sélectivité vis-à-vis du CYP51 fongique par rapport aux cytochromes P450 humains (CYP3A4, CYP2C9). Cette sélectivité améliorée se traduit par une réduction significative des interactions médicamenteuses et des effets hépatotoxiques observés avec les imidazoles, comme l'ont documenté Turnbaugh. et Revie et al [11, 20]. Le noyau 1,2,4-triazole constitue également un excellent point d'ancrage pour des stratégies de modulation structurale. En modulant les substituants portés par les carbones C-3 et C-5 du cycle, il est possible d'optimiser simultanément l'affinité pour la cible, la liposolubilité, la stabilité métabolique et le profil de résistance. Cette modularité est particulièrement précieuse dans le contexte des approches de criblage virtuel et de docking moléculaire, où des bibliothèques de dérivés triazolés peuvent être générées et évaluées *in silico* avant toute synthèse, réduisant ainsi considérablement le temps et le coût du développement [14, 23].

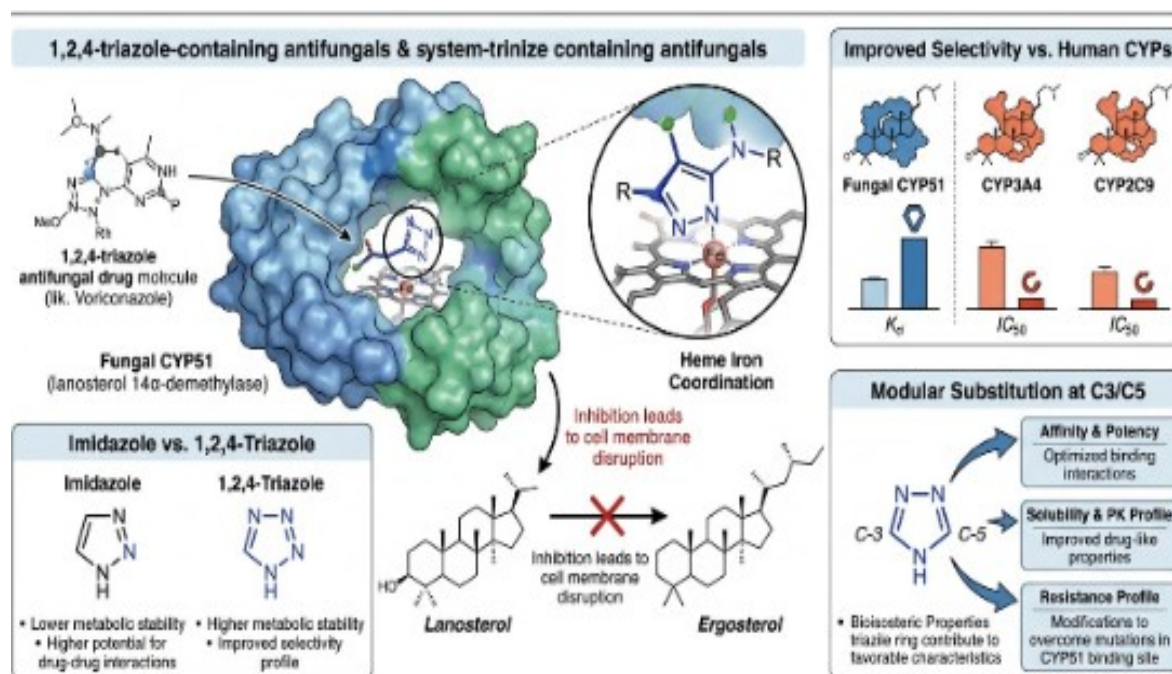


Figure 13 : Importance du système cyclique 1,2,4-triazole [15,18]

IV.4. Relation structure-activité des dérivés benzothiazolés

Les dérivés hybrides associant un noyau benzothiazole à un fragment triazole représentent une stratégie de conception moléculaire particulièrement prometteuse. Le noyau benzothiazole, système bicy-clique formé par la fusion d'un cycle benzénique et d'un cycle thiazole, possède lui-même des propriétés antifongiques, antibactériennes et antitumorales reconnues. L'hybridation pharmacophorique avec le triazole permet de cumuler et de synerger les propriétés biologiques des deux entités structurales, tout en modulant le profil physicochimique global de la molécule résultante [14, 23].

L'étude des relations structure-activité (SAR) de ces dérivés a permis d'identifier plusieurs déterminants structuraux critiques pour l'activité antifongique. La nature et la position des substituants sur le cycle benzénique du fragment benzothiazole exercent une influence déterminante sur l'activité : les groupements électro-attracteurs en position para (halogènes, groupes nitro, trifluorométhyle) tendent à augmenter l'activité antifongique en améliorant l'interaction avec le site hydrophobe de l'enzyme cible. En revanche, les substituants encombrants ou fortement électrodonneurs en position ortho réduisent généralement l'affinité par empêchement stérique au niveau du site actif [14, 23].

La nature du lien entre le fragment benzothiazole et le noyau triazole constitue également un paramètre SAR déterminant. Un espaceur flexible de type méthylène ou éthylène permet une meilleure adaptation conformationnelle au site de liaison de la protéine cible, tandis qu'une liaison directe entre les deux cycles tend à rigidifier la structure et peut soit améliorer soit réduire l'activité selon la géométrie du site actif concerné. Ces données SAR, acquises par des études expérimentales

et confirmées par des calculs de docking moléculaire, constituent le fondement rationnel sur lequel repose la conception des nouvelles molécules évaluées dans notre travail [14, 18, 23]. Au regard des éléments présentés dans cette section, les dérivés triazolés (et plus particulièrement les hybrides benzothiazole-triazole) apparaissent comme des candidats médicamenteux de premier choix dans la recherche de nouveaux agents antifongiques. Leur profil structural, leur mécanisme d'action bien établi, leur modularité synthétique et leur adéquation aux critères de drug-likeness en font des scaffolds idéaux pour des approches de criblage virtuel par docking moléculaire. C'est précisément dans cette perspective que s'inscrit la démarche développée dans les chapitres suivants du présent mémoire [14, 20, 23].

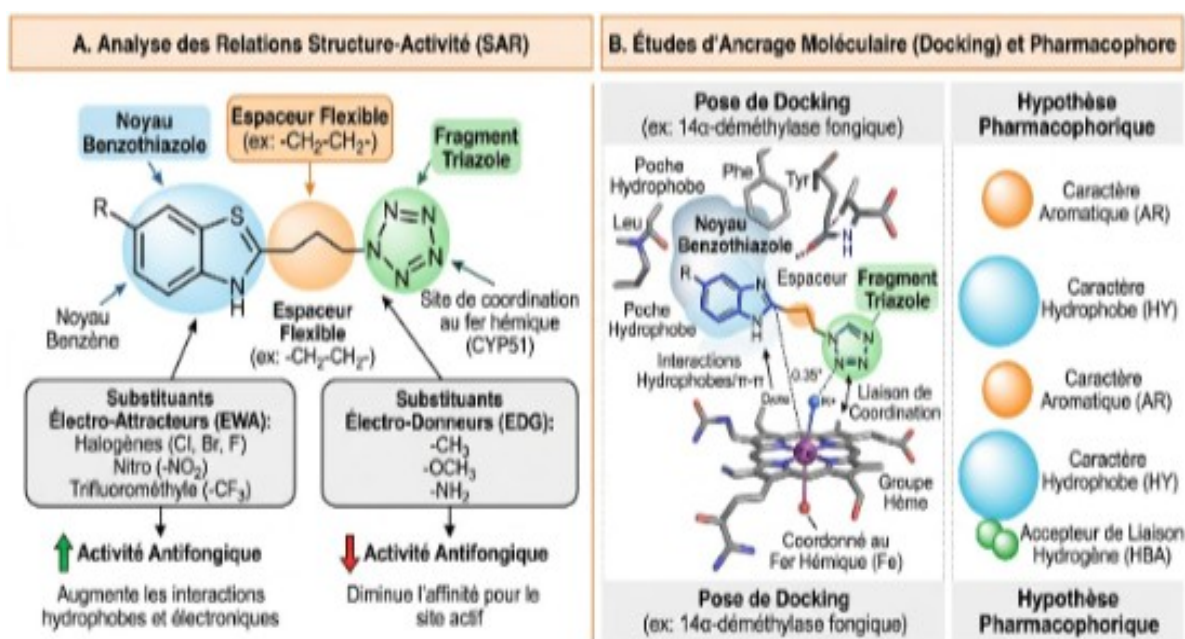


Figure 14 : Relations structure-activité des dérivés benzothiazole-triazole [14, 23]

V Conclusion

Ce premier chapitre a posé les fondements conceptuels et scientifiques indispensables à la compréhension de notre démarche de recherche. À travers une exploration structurée de la microbiologie générale, puis des agents antifongiques, une réalité s'impose avec clarté : la lutte contre les infections fongiques invasives est aujourd'hui à un tournant critique, on parle souvent de « tueurs cachés » pour décrire l'impact sous-estimé des mycoses sur la mortalité mondiale. L'analyse de la biologie microbienne diversité des micro-organismes, organisation cellulaire des procaryotes et

des eucaryotes, dynamique de croissance bactérienne — a permis d'établir le cadre dans lequel s'inscrit toute approche antimicrobienne. La particularité des champignons en tant qu'organismes eucaryotes, partageant de nombreuses cibles moléculaires avec les cellules humaines, rend leur contrôle sélectif particulièrement complexe et constitue le défi central de ce travail de recherche.

L'étude du panorama antifongique a révélé un arsenal thérapeutique certes diversifié polyènes, azoles, échinocandines, allylamine mais dont les limites deviennent de plus en plus préoccupantes. L'émergence de souches multi-résistantes, combinée à la toxicité inhérente de certaines molécules de référence et au manque de nouvelles classes thérapeutiques depuis plusieurs décennies, justifie pleinement le recours aux approches de modélisation moléculaire *in silico* pour accélérer la découverte de nouveaux candidats antifongiques.

Références bibliographiques

- [1] Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1997). *Brock biology of microorganisms* (11th ed.). Prentice Hall.
- [2] Université de Lorraine. (2018). *Classification des microorganismes* [Support de cours]. Session 2018-2019.
- [3] Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2018). *Microbiology: An introduction* (13th ed.). Pearson Education.
- [4] Ross, I. K. (2006). Fungal lives. In *Life as we know it* (pp. 55–73). Springer.
- [5] Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2014). *Prescott's microbiology* (9th ed.). McGraw-Hill Education.
- [6] Denning, D. W. (2024). Global incidence and mortality of severe fungal disease. *The Lancet Infectious Diseases*, 24(7), e428–e438. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)006928](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)006928)
- [7] Atlas, R. M. (2010). *Handbook of microbiological media* (4th ed.). CRC Press.
- [8] Deacon, J. W. (2006). *Fungal biology* (4th ed.). Blackwell Publishing.
- [9] Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881–890. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>
- [10] Pepper, I. L., Gerba, C. P., & Gentry, T. J. (2015). *Environmental microbiology* (3rd ed.). Academic Press.

- [11] Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The human microbiome project. *Nature*, 449(7164), 804–810. <https://doi.org/10.1038/nature06244>
- [12] Brown, G. D., Denning, D. W., Gow, N. A. R., Levitz, S. M., Netea, M. G., & White, T. C. (2012). Hidden killers: Human fungal infections. *Science Translational Medicine*, 4(165), Article 165rv13. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004404>
- [13] Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 133–163. <https://doi.org/10.1128/CMR.00029-06>
- [14] Akter, S., Alhatlani, B. Y., Abdallah, E. M., Saha, S., Ferdous, J., Hossain, M. E., Ali, F., & Kawsar, S. M. A. (2023). Exploring cinnamoyl-substituted mannopyranosides: Synthesis, evaluation of antimicrobial properties, and molecular docking studies targeting H5N1 influenza A virus. *Molecules*, 28(24), Article 8001. <https://doi.org/10.3390/molecules28248001>
- [15] Cowen, L. E., Sanglard, D., Howard, S. J., Rogers, P. D., & Perlin, D. S. (2015). Mechanisms of antifungal drug resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(7), Article a019752. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019752>
- [16] Heitman, J., Filler, S. G., Edwards, J. E., & Mitchell, A. P. (2006). *Molecular principles of fungal pathogenesis*. ASM Press.
- [17] Montès, B. (1991). *Activité antifongique et mode d'action in vitro des triazolés* [Thèse de doctorat en pharmacie, Université Montpellier 1].
- [18] Dascalu, A.-E. (2019). *Bioantibio : molécules antibactériennes et antifongiques biosourcées* [Thèse de doctorat, Université de Lille]. NNT : 2019LILUS052. <https://theses.fr/2019LILUS052>
- [19] Revie, N. M., Iyer, K. R., Robbins, N., & Cowen, L. E. (2018). Antifungal drug resistance: Evolution, mechanisms and impact. *Current Opinion in Microbiology*, 45, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.02.005>
- [20] Leyva Salas, M. (2018). *Cultures antifongiques applicables comme ferments de bioprotection* [Thèse de doctorat, Université de Brest]. <https://theses.fr/2018BRES0042>
- [21] Pristov, K. E., & Ghannoum, M. A. (2019). Resistance of *Candida* to antifungal agents: Molecular mechanisms and clinical implications. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(7), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.016>

- [22] Sanglard, D. (2016). Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. *Frontiers in Medicine*, 3, Article 11. <https://doi.org/10.3389/fmed.2016.00011>
- [23] Al-Karmalawy, A. A., Farid, M. M., Mostafa, A., Al-Khayyal, E. G., & Mahmoud, D. B. (2021). Naturally occurring compounds against SARS-CoV-2: An in-silico study combining molecular docking, DFT calculations, and ADMET prediction. *Journal of Molecular Structure*, 1246, Article 131102. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131102>
- [24] Rex, J. H., Pfaller, M. A., Walsh, T. J., Chaturvedi, V., Espinel-Ingroff, A., Ghannoum, M. A., Gitterman, L. L., Odds, F. C., Rinaldi, M. G., Sheehan, D. J., & Warnock, D. W. (2001). Antifungal susceptibility testing: Practical aspects and current challenges. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 643–658. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.643-658.2001>
- [25] Perlin, D. S. (2007). Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. *Drug Resistance Updates*, 10(3), 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2007.04.002>
- [26] Odds, F. C., Brown, A. J. P., & Gow, N. A. R. (2003). Antifungal agents: Mechanisms of action. *Trends in Microbiology*, 11(6), 272–279. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(03\)00117-3](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(03)00117-3)
- [27] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- [28] Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A., & Coton, E. (2017). Antifungal microbial agents for food biopreservation. *Microorganisms*, 5(3), Article 37. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030037>
- [29] Vandeputte, P., & Coste, A. (2022). Antifungal resistance: State of the art and perspectives. *Journal de Mycologie Médicale*, 32(3), Article 101272. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2022.101272>
- [30] Bhattacharya, S., Sae-Tia, S., & Fries, B. C. (2024). Molecular mechanisms of antifungal resistance in *Candida* species: An updated review. *Journal of Fungi*, 10(2), Article 115. <https://doi.org/10.3390/jof10020115>

CHAPITRE II

Les méthodes in silico

I Introduction

L'évolution des sciences expérimentales s'accompagne aujourd'hui d'un développement important des approches numériques et théoriques. Ces méthodes permettent d'étudier les propriétés des molécules et leurs interactions sans recourir systématiquement à des expérimentations coûteuses ou longues. Dans ce contexte, les approches dites « in silico » occupent une place croissante dans les domaines de la chimie, de la biologie et des sciences des matériaux [1].

L'intérêt principal de ces méthodes réside dans leur capacité à fournir des informations détaillées à l'échelle moléculaire. Elles permettent notamment de prédire le comportement des molécules, d'évaluer leur stabilité et d'anticiper leurs interactions avec des cibles biologiques. Ces outils constituent ainsi un complément essentiel aux approches expérimentales, en facilitant la sélection des composés les plus prometteurs [2].

Dans le domaine des antifongiques, les méthodes théoriques sont particulièrement utiles pour identifier de nouvelles molécules actives et comprendre leurs mécanismes d'action. Elles permettent également d'optimiser les structures chimiques afin d'améliorer leur efficacité et de réduire leurs effets indésirables [2,3].

II Principes généraux de la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire regroupe un ensemble de techniques permettant de représenter et d'étudier les molécules à l'aide d'outils informatiques. Elle repose sur des principes physiques et mathématiques permettant de décrire les interactions entre les atomes et les électrons [3,4].

Elle s'appuie sur deux approches fondamentales : la mécanique moléculaire (ou mécanique classique) et la mécanique quantique. La mécanique quantique analyse la distribution des électrons pour une précision optimale en réactivité chimique, tandis que la mécanique moléculaire emploie des fonctions de « champs de force » pour représenter les atomes comme des sphères interconnectées par des ressorts, facilitant l'étude de macromolécules complexes telles que les enzymes fongiques [4,5].

Le principe clé consiste à identifier un état d'énergie minimale, qui correspond à la conformation la plus stable et probable de la molécule. Grâce à des algorithmes d'optimisation géométrique, cette approche permet de visualiser les entités chimiques en trois dimensions, de prédire rigoureusement leurs propriétés physico-chimiques et d'anticiper leurs interactions avec des cibles biologiques spécifiques [4].

II.1 Représentation et topologie moléculaire

Les molécules sont décrites comme des ensembles d'atomes liés entre eux, dont la disposition spatiale influence directement leurs propriétés. La géométrie moléculaire joue un rôle essentiel dans la réactivité chimique et dans la capacité d'une molécule à interagir avec son environnement [6,7].

La description d'une molécule ne se limite pas à sa formule brute ; elle repose sur une hiérarchie de représentations allant du plan local à l'espace global :

- Connectivité (Structure 2D) : Elle montre quels atomes sont liés et comment (liaisons simples, doubles ou aromatiques). En modélisation informatique, cela crée des graphes pour calculer les propriétés physiques et chimiques [7].
- Stéréochimie et Isomérisation : La disposition dans l'espace compte, surtout la chiralité. Pour un antifongique, deux formes miroirs (énantiomères) peuvent agir différemment : l'une bloque bien l'enzyme fongique, l'autre est inactive ou toxique [8,9].

III Les méthodes de découverte des médicaments

La découverte de nouveaux agents thérapeutiques est un processus complexe et pluridisciplinaire qui mobilise des compétences en chimie, biologie, pharmacologie et informatique. Historiquement, plusieurs approches stratégiques ont été développées pour identifier des molécules candidates à visée thérapeutique. On distingue principalement cinq grandes méthodes, chacune reposant sur un paradigme différent et présentant des avantages spécifiques [10,11].

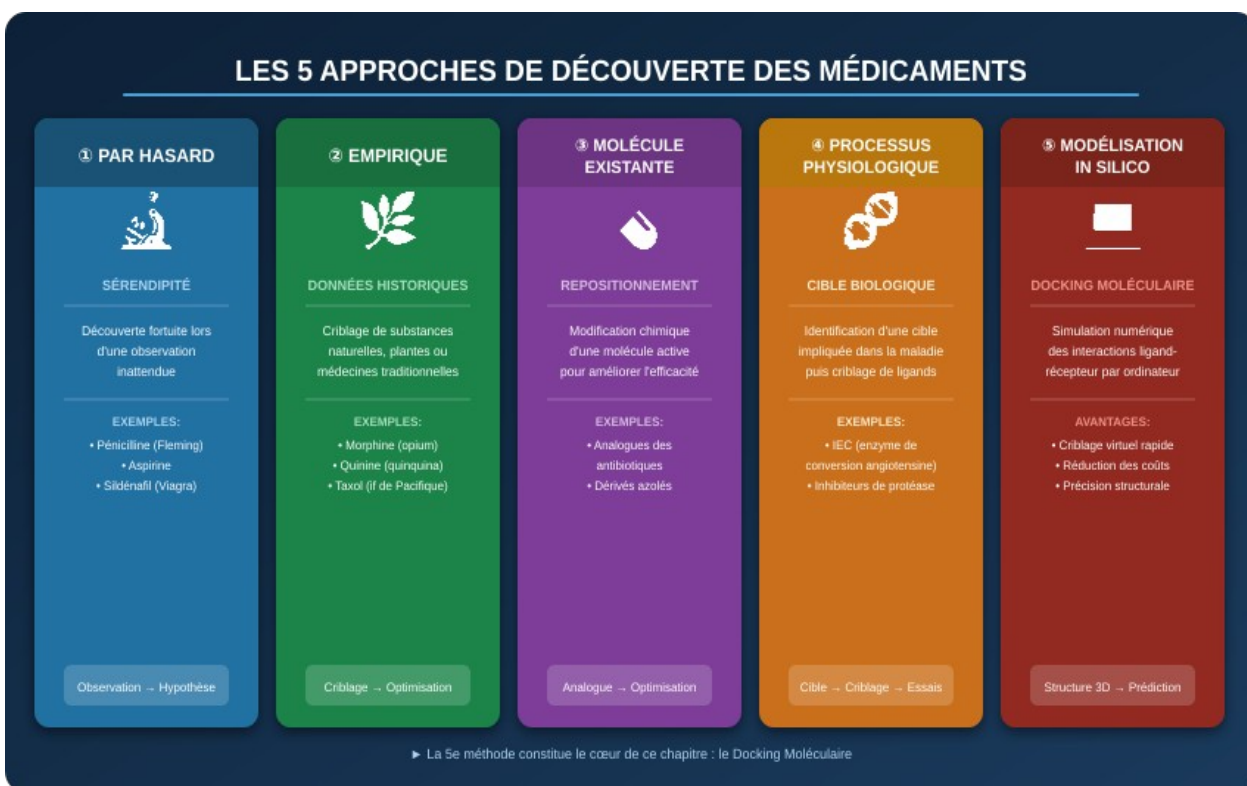


Figure 1 : Les cinq approches stratégiques de la découverte des médicaments [10,11]

III.1 Découverte par Sérendipité (Hasard)

La sérendipité, ou découverte fortuite, constitue historiquement la première forme de découverte médicamenteuse. Elle repose sur l'observation imprévue d'un effet biologique lors d'une

expérimentation initialement orientée vers un autre objectif. Bien que non planifiée, cette approche a permis d'identifier certains des médicaments les plus importants de l'histoire de la pharmacologie [10].

L'exemple le plus emblématique reste la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928. Ayant remarqué qu'une moisissure (*Penicillium notatum*) inhibait la croissance bactérienne sur une boîte de Petri contaminée, Fleming identifia le premier antibiotique naturel, révolutionnant ainsi le traitement des infections bactériennes. De même, l'aspirine (acide acétylsalicylique) et le sildénafil (Viagra, initialement développé pour l'angine de poitrine) ont été découverts grâce à des observations inattendues lors d'essais cliniques [10,11].

Cette approche, bien que limitée dans sa reproductibilité, a démontré l'importance de l'observation rigoureuse en sciences. Elle a servi de point de départ pour de nombreuses classes thérapeutiques majeures, notamment les antibiotiques, les antihistaminiques et les antidépresseurs. Elle illustre parfaitement le lien entre curiosité scientifique et innovation thérapeutique [11].



Figure 2 : Découverte médicamenteuse par sérendipité [10,11]

III.2 Découverte par données empiriques (Criblage de substances naturelles)

L'approche empirique repose sur le criblage systématique de substances naturelles issues de plantes médicinales, de micro-organismes ou de médecines traditionnelles. Cette méthode s'appuie sur des connaissances ethno pharmacologiques accumulées au fil des siècles et cherche à en identifier les principes actifs [12].

De nombreux médicaments modernes trouvent leur origine dans des remèdes traditionnels. La morphine, extraite du pavot (*Papaver somniferum*) et utilisée depuis l'Antiquité comme analgésique,

a été isolée et caractérisée chimiquement au XIXe siècle. La quinine, principe actif de l'écorce de quinquina utilisée dans le traitement du paludisme par les populations andines bien avant sa découverte scientifique, ou encore le Taxol (paclitaxel), extrait de l'if du Pacifique (*Taxus brevifolia*) et utilisé en oncologie, illustrent cette démarche [12,13].

L'avènement de la chimie combinatoire et du criblage à haut débit (HTS, High-Throughput Screening) a permis de moderniser et d'accélérer considérablement cette approche empirique, en testant des milliers de composés simultanément contre des cibles biologiques définies, réduisant ainsi les délais de découverte [13].



Figure 3 : Découverte médicamenteuse par données empiriques [13]

III.3 Découverte à partir d'une molécule déjà existante (Repositionnement et analogues)

Cette stratégie, aussi appelée repositionnement ou optimisation de chef de file (lead optimization), consiste à partir d'une molécule biologiquement active déjà connue et d'en modifier la structure chimique pour améliorer ses propriétés pharmacologiques, réduire sa toxicité, ou cibler une nouvelle pathologie [14].

Dans le domaine des antifongiques, cette approche a permis le développement de toute la famille des dérivés azolés. À partir du miconazole, premier antifongique azolé de référence, les chimistes médicaux ont synthétisé de nombreux analogues structuraux comme le fluconazole, l'itraconazole et le voriconazole, chacun présentant un spectre d'activité et un profil pharmacocinétique améliorés. Le principe repose sur les relations structure-activité (SAR), qui permettent de rationaliser les modifications chimiques à effectuer [14,15].

Le repositionnement de médicaments existants vers de nouvelles indications thérapeutiques représente également une déclinaison économiquement attractive de cette stratégie, car les données

de sécurité et de pharmacocinétique sont déjà partiellement disponibles, réduisant ainsi les risques de développement [15].

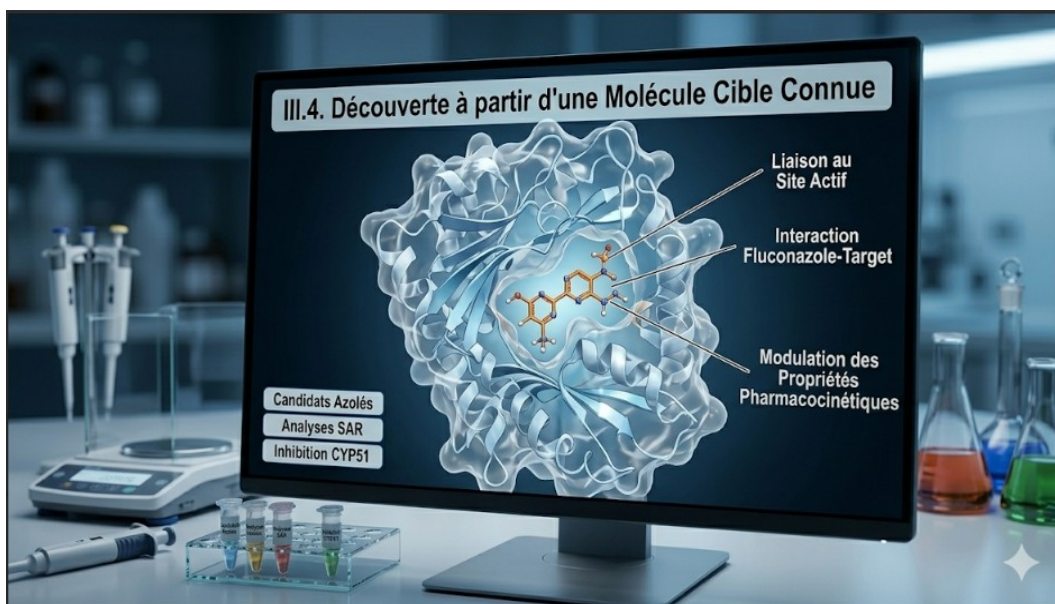


Figure 4 : Découverte médicamenteuse à partir d'une molécule déjà existante [15]

III.4 Découverte à partir d'un processus physiologique (Approche basée sur la cible)

L'approche basée sur la cible (Target-Based Drug Discovery) repose sur l'identification préalable d'une protéine ou d'un processus biologique clé impliqué dans la physiopathologie d'une maladie. Une fois la cible identifiée et validée biologiquement, des molécules sont conçues spécifiquement pour l'inhiber ou la moduler [16,17].

Un exemple paradigmatique est le développement des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) pour le traitement de l'hypertension artérielle. En comprenant le rôle central de cette enzyme dans la régulation de la pression artérielle, les chercheurs ont pu concevoir des inhibiteurs spécifiques comme le captopril et l'énalapril. De même, dans le domaine antifongique, l'identification de la 14 α -déméthylase (CYP51), enzyme essentielle à la biosynthèse de l'ergostérol fongique, a conduit au développement ciblé des antifongiques azolés [16-18].

Cette approche est aujourd'hui fondamentale dans la conception rationnelle de médicaments et constitue la base de la cinquième méthode : la modélisation moléculaire et le docking in silico, qui représente le cœur de ce chapitre [18].

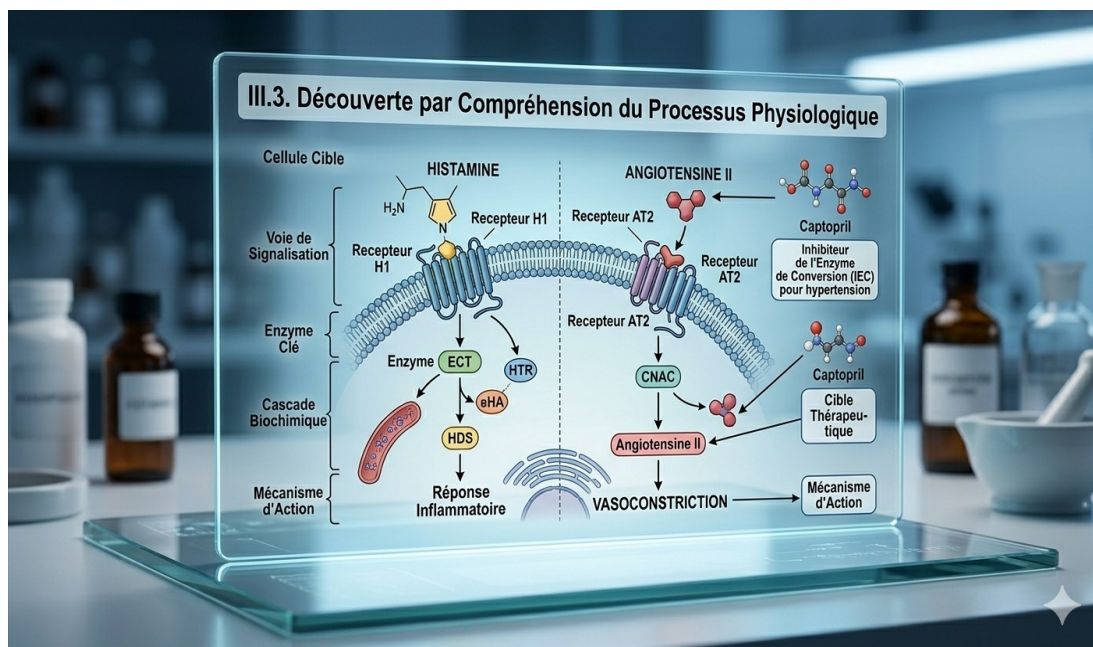


Figure 5 : Découverte médicamenteuse à partir d'un processus physiologique [18]

III.5 Découverte par modélisation moléculaire in silico (Docking)

La modélisation moléculaire in silico représente l'évolution naturelle de l'approche basée sur la cible, amplifiée par la puissance de calcul informatique moderne. Elle permet de simuler virtuellement les interactions entre une molécule candidate (ligand) et sa cible biologique (récepteur) sans nécessiter de synthèse chimique préalable. Cette approche constitue le cœur de ce chapitre et sera développée en détail dans les sections suivantes [18,19].

Grâce au docking moléculaire, il est possible de cribler virtuellement des milliers de composés, d'identifier les interactions clés ligand-récepteur, et de prédire l'affinité de liaison avec une précision croissante. Cette méthode a radicalement transformé le processus de recherche pharmaceutique en permettant un criblage virtuel efficace, réduisant considérablement le nombre d'essais expérimentaux nécessaires et accélérant ainsi le développement de candidats médicaments. [19,20]

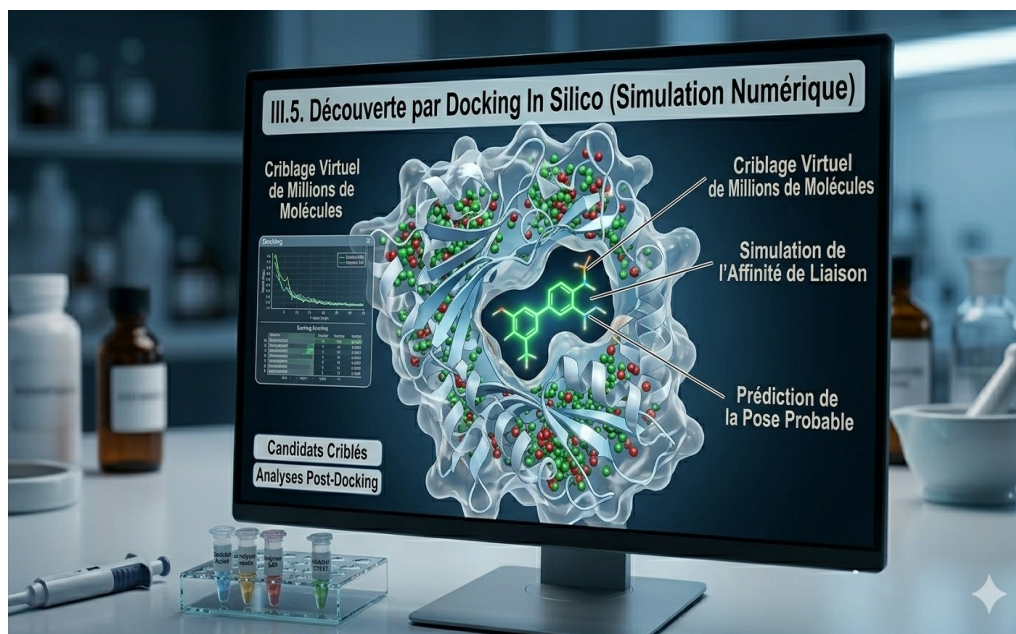


Figure 6 : Découverte médicamenteuse par modélisation moléculaire in silico [19,20]

IV Le docking moléculaire

IV.1 Historique et évolution de la méthode

L'émergence du docking moléculaire remonte aux années 1970, impulsée par le besoin croissant de stratégies rationnelles dans la conception de médicaments. Initialement limités à la modélisation de petites molécules rigides selon les principes de la chimie théorique, les algorithmes ont considérablement évolué. Les méthodes contemporaines intègrent désormais la flexibilité conformationnelle des cibles biologiques et s'appuient sur des simulations de dynamique moléculaire pour affiner la précision des prédictions [19,20].

Cette progression a été catalysée par l'augmentation exponentielle de la puissance de calcul, l'enrichissement des bases de données structurales (PDB) et l'optimisation des algorithmes de recherche. Aujourd'hui, le docking ne se limite plus aux petits ligands ; il permet de traiter des systèmes complexes, incluant des interactions macromoléculaires de type protéine-protéine ou protéine-ADN, offrant ainsi une résolution de plus en plus fidèle aux réalités biologiques [20,21].

IV.2 Théorie fondamentale du Docking moléculaire

Le principe fondamental du docking moléculaire repose sur le concept de complémentarité physico-chimique entre un ligand (petite molécule) et une macromolécule cible, généralement une protéine ou un acide nucléique. Pour qu'une interaction soit thermodynamiquement favorable et biologiquement efficace, le ligand doit présenter une affinité spécifique avec le site de liaison, dictée par deux facteurs clés [21,22] :

- Complémentarité géométrique : La forme du ligand doit s'ajuster avec précision à la topologie de la cavité du site actif, suivant le modèle historique « clé-serrure » ou, plus récemment, celui de « l'ajustement induit » (induced fit) [21].
- Complémentarité électronique : Les propriétés électrostatiques, les zones de donneurs/accepteurs de liaisons hydrogène et les régions hydrophobes des deux entités doivent être alignées pour stabiliser le complexe [22].

Le processus de docking consiste à simuler numériquement la formation de ce complexe en explorant l'espace de configuration du système. Cette simulation s'articule autour de deux axes méthodologiques : l'algorithme de recherche (le docking proprement dit) et la fonction d'évaluation (le scoring) [22,23].

- L'étape de Docking (Échantillonnage conformationnel) : L'algorithme génère une multitude de poses en faisant varier les degrés de liberté du ligand : sa position (translation), son orientation (rotation) et ses angles de torsion internes (flexibilité) au sein du site actif. L'objectif final est de converger vers le minimum thermodynamique global, identifiant ainsi la conformation « bioactive » [22].
- L'étape de Scoring (Fonction d'évaluation) : Le scoring quantifie l'affinité de liaison de chaque pose produite via une fonction mathématique estimant l'énergie libre de liaison : interactions stériques (Van der Waals), électrostatiques (Coulomb), hydrophobes et liaisons hydrogène [23].

IV.3 Types de docking moléculaires

L'évolution des algorithmes de docking a suivi la compréhension croissante de la dynamique des biomolécules. On distingue principalement trois niveaux de complexité selon la gestion de la flexibilité [23,24] :

IV.3.1 Le docking rigide (Rigid Body Docking)

Le docking rigide constitue l'approche la plus simple et la plus rapide sur le plan computationnel. Dans ce modèle, le ligand et la protéine sont traités comme des corps rigides dont la géométrie interne (longueurs de liaison, angles et dièdres) reste fixe. L'algorithme explore uniquement les 6 degrés de liberté rotationnels et translationnels du ligand dans l'espace discrétisé du site actif. Cette méthode est principalement utilisée pour le criblage virtuel à très haut débit de grandes bases de données moléculaires, mais ne prend pas en compte les changements conformationnels nécessaires à l'ajustement optimal du complexe [24,25].

IV.3.2 Le docking semi-flexible

C'est la méthode la plus couramment utilisée dans la recherche actuelle, notamment pour l'étude des dérivés azolés. La protéine est maintenue rigide (pour économiser du temps de calcul), tandis que le ligand est considéré comme flexible. L'algorithme explore les degrés de liberté internes du ligand (rotations autour des liaisons simples), permettant à la petite molécule d'adopter sa conformation bioactive pour épouser la topologie du site actif [25,26].

IV 3.3 Le docking flexible (Induced Fit)

Le docking flexible représente le niveau de simulation le plus avancé et le plus réaliste. Il repose sur le concept de « l'ajustement induit », où les deux partenaires s'adaptent mutuellement lors de l'interaction. Cette approche multi-étape combine une recherche exhaustive des poses du ligand avec une optimisation fine de la géométrie de la protéine. Bien que plus coûteuse en ressources informatiques, cette méthode améliore considérablement la précision des prédictions en tenant compte des contraintes géométriques réelles et de la dynamique moléculaire. [26,27]

IV.4 Outils du docking moléculaire

IV.4.1 Le Récepteur (La macromolécule cible)

Dans le contexte de la modélisation moléculaire, le récepteur est généralement une protéine spécialisée capable de former une liaison spécifique et réversible avec un partenaire moléculaire. Les structures tridimensionnelles (3D) de ces macromolécules sont majoritairement extraites de la Protein Data Bank (PDB), qui constitue la plus importante archive mondiale de données structurales, regroupant les architectures atomiques des protéines et des acides nucléiques résolues par cristallographie aux rayons X, RMN ou cryo-microscopie électronique [27,28].

La préparation de la cible est une étape critique incluant : la suppression des molécules de solvant cristallographiques, l'ajout des atomes d'hydrogène manquants, la définition des charges partielles, et l'affinement de la structure par minimisation d'énergie. Ces étapes sont généralement réalisées à l'aide de logiciels spécialisés tels que Maestro Schrödinger, AutoDockTools ou MOE [28].

IV.4.2 Le ligand (La petite molécule)

Le ligand est une entité chimique destinée à se lier à la cible pour moduler son activité (inhibition, activation ou stabilisation). Dans un protocole de docking, le ligand doit impérativement être représenté sous sa forme 3D optimisée. Le choix et la préparation des ligands s'effectuent généralement selon deux approches [28,29] :

- Criblage de chimiothèques : Utilisation de bases de données chimiques publiques comme PubChem ou ZINC, regroupant les structures, propriétés physico-chimiques et activités biologiques connues des composés [29].
- Conception de novo : Les ligands sont modélisés à l'aide de logiciels de construction moléculaire (ChemDraw) puis optimisés géométriquement par des méthodes de mécanique classique ou quantique (DFT) pour obtenir la conformation de plus basse énergie [29,30].

IV.4.3 Le programme de docking (L'Algorithme)

Le logiciel de docking est l'outil de calcul qui simule l'insertion de la petite molécule au sein de la cible. Il prédit in silico la position, l'orientation et la conformation (les « poses ») les plus probables du ligand, puis évalue chaque pose pour identifier celle qui présente la meilleure complémentarité géométrique et énergétique avec le récepteur. Les programmes les plus utilisés incluent AutoDock/AutoDock Vina, Glide (Schrödinger), GOLD et FlexX [30,31].

IV.5 Méthodologie du docking moléculaire

Le processus de docking moléculaire comprend plusieurs étapes successives et interdépendantes. La sélection de la cible consiste à identifier une structure protéique, généralement obtenue à partir de la Protein Data Bank (PDB). La préparation du ligand implique la génération de conformations 3D pour les petites molécules et la prise en compte de toutes leurs formes tautomères, afin d'obtenir une structure chimiquement précise. La préparation de la protéine nécessite un affinement de la structure cible, notamment par la restauration des atomes manquants et la suppression des éléments non pertinents comme les solvants cristallographiques [31,32].

L'étape suivante consiste à générer la grille du récepteur pour représenter le site de liaison et ses propriétés physicochimiques associées. Différents modèles de docking peuvent être utilisés, faisant principalement appel à des algorithmes de docking rigide ou flexible pour proposer des poses du ligand, évaluées à l'aide de fonctions de score basées sur l'énergie de liaison ou des fonctions empiriques [32,33].

Après le docking, l'analyse des interactions du ligand permet d'identifier les résidus critiques et les types d'interactions (liaisons hydrogène, empilement π - π , contacts hydrophobes, etc.) pour valider les modes de liaison. [33]

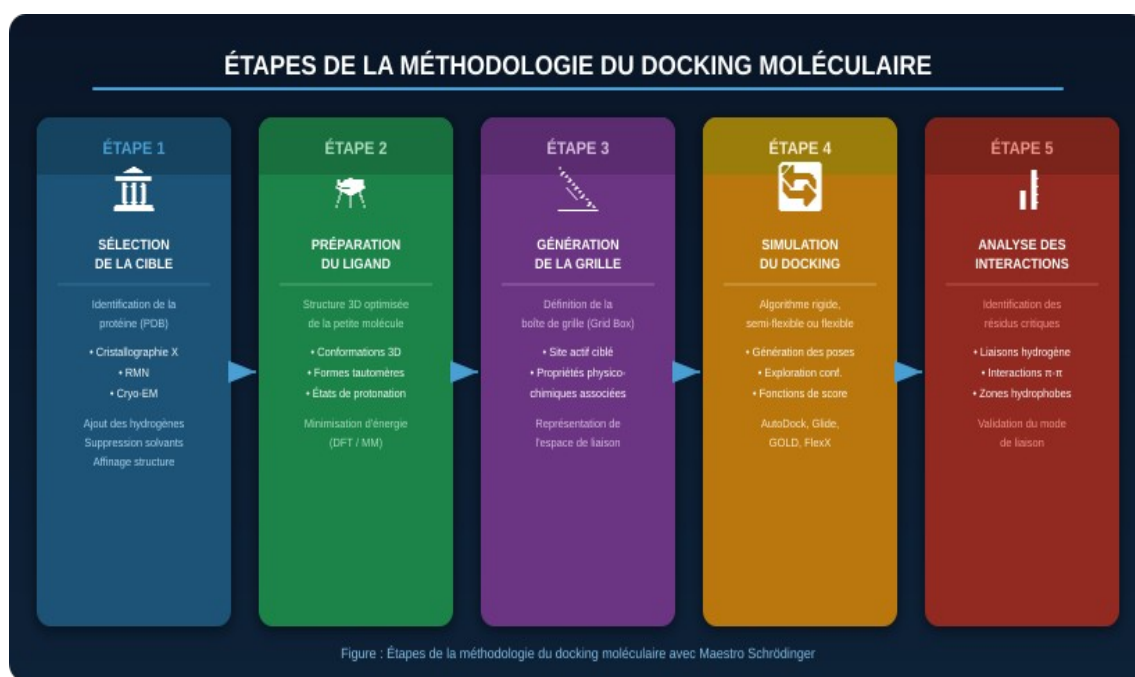


Figure 7 : Étapes de la méthodologie du docking moléculaire.

IV.6 Le docking flexible

Cette approche tient compte indirectement de la flexibilité protéique en minimisant les forces répulsives, permettant ainsi au ligand d'interagir plus profondément avec la surface protéique. Au cours des réactions enzymatiques, la protéine ajuste dynamiquement sa conformation pour mieux

accueillir le ligand, favorisant des interactions précises tout en évitant les conflits stériques. Ces adaptations conformationnelles améliorent la complémentarité structurale entre le ligand et la protéine, optimisant les conditions de formation de liaisons hydrogène et accroissant l'efficacité de liaison [27,34].

Dans les méthodes semi-flexibles, comme celles implémentées dans AutoDock Vina, les simulations de Monte-Carlo et les algorithmes génétiques, classés parmi les méthodes stochastiques, permettent d'équilibrer précision computationnelle et rapidité d'exécution en autorisant une flexibilité partielle du site de liaison tout en maintenant le reste de la protéine dans une conformation fixe [34,35].

IV.7 Fonction de Score

Le score de docking mesure l'intensité de la liaison d'un ligand à une protéine. Il estime la variation d'énergie libre (ΔG) lors de la formation du complexe ligand-protéine à partir des espèces libres, calculée selon l'équation ci-dessous [35,36] :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

Ce score reflète l'affinité du ligand pour sa cible et non son activité biologique intrinsèque. Les scores ne doivent pas être directement comparés aux données d'activité expérimentale, mais doivent être validés par confrontation avec des données de liaison expérimentales. Même en cas de divergence entre les scores et les résultats expérimentaux, cela ne signifie pas nécessairement que la méthode de scoring est défaillante, car les données expérimentales couvrent souvent une plage plus étroite que les prédictions théoriques [36].

Les fonctions de score remplissent deux rôles principaux :

- Identifier la conformation du ligand présentant le meilleur ajustement dans le site de liaison. [36]
- Classer les molécules pour mettre en évidence celles présentant la liaison prédite la plus forte. [36]

Le docking présente cependant des limitations. Les principaux défis concernent la modélisation des liaisons hydrogène, des variations d'énergie et des interactions avec les molécules d'eau lors de la liaison. Les fonctions de score simplifient ces complexités et ne peuvent pas rendre compte de toutes les interactions moléculaires ; les résultats doivent donc être interprétés avec prudence dans le contexte de la découverte de médicaments [36,37].

V Principes de l'ADME/Toxicité

Après son administration, un médicament doit franchir les barrières ADME/Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) pour atteindre efficacement sa cible thérapeutique. Chacun de ces processus physiologiques peut réduire la concentration active du médicament, rendant indispensable le maintien de niveaux suffisants pour exercer un effet biologique significatif. Se concentrer uniquement sur l'amélioration de l'affinité d'une molécule pour sa cible peut conduire

à un échec en situation clinique si ses profils pharmacocinétique et de sécurité sont défavorables. Dès lors, le développement réussi d'un médicament nécessite une optimisation équilibrée à la fois de l'interaction avec la cible et des propriétés ADME/Tox [38,39].

Ces propriétés dépendent non seulement de la structure chimique du médicament, mais aussi de ses interactions avec les protéines de transport, les enzymes métaboliques et les protéines plasmatiques. Étant donné qu'environ 80 % des médicaments commercialisés sont administrés par voie orale, il est particulièrement important de comprendre la nature dynamique et interdépendante des processus ADME/Tox le long du tractus gastro-intestinal. Les outils computationnels, tels que les modèles SAR, jouent un rôle essentiel dans la prédiction du comportement des composés in vivo [38,39,40].

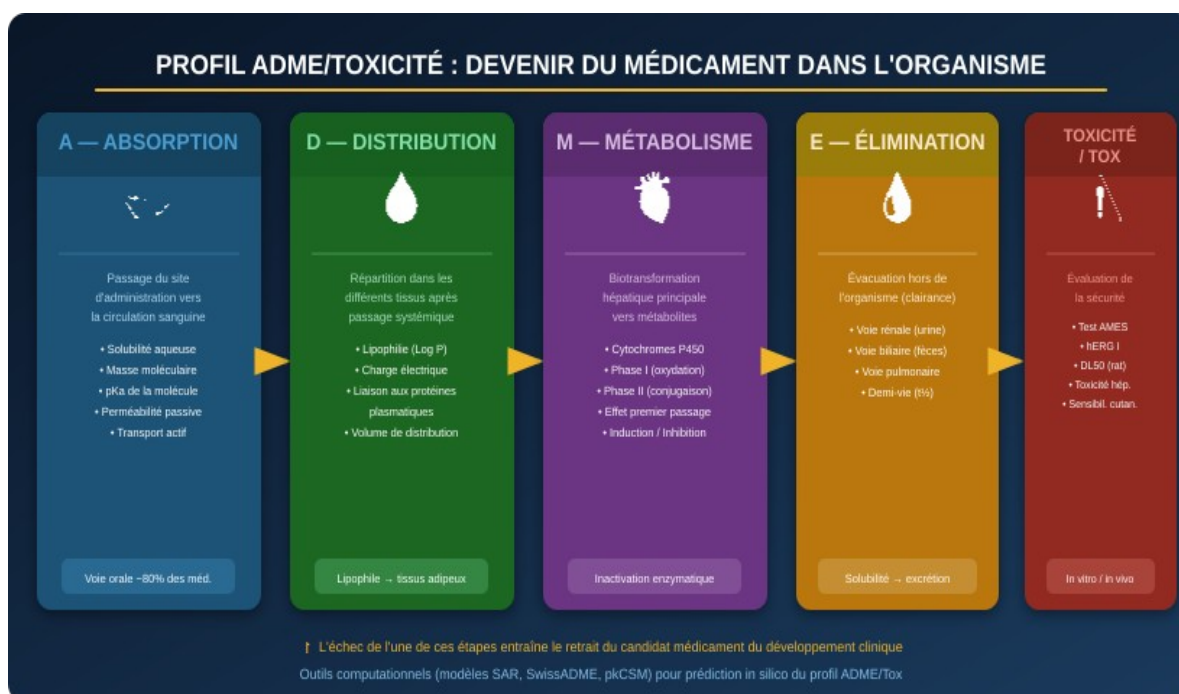


Figure 8 : Profil ADME/Toxicité [38,39].

V.1 Absorption

L'absorption décrit le passage du médicament de son site d'administration vers la circulation systémique. Ce processus est dicté par la solubilité aqueuse de la molécule, sa masse moléculaire, son pKa et sa capacité à traverser les membranes biologiques (perméabilité passive ou transport actif). La biodisponibilité orale d'un composé dépend également de l'effet de premier passage hépatique, qui peut réduire significativement la concentration plasmatique du médicament actif [38,40].

V.2 Distribution

Une fois dans le compartiment sanguin, le composé se répartit dans les différents tissus de l'organisme. Cette diffusion dépend de la lipophilie (exprimée par le coefficient de partage Log P),

de la charge électrique et de l'affinité pour les protéines plasmatiques. Les molécules lipophiles ont tendance à s'accumuler dans les tissus adipeux, tandis que les molécules hydrophiles demeurent préférentiellement dans les fluides extracellulaires. Le volume de distribution (V_d) est le paramètre pharmacocinétique qui rend compte de cette répartition tissulaire. [38,39]

V.3 Métabolisme

Principalement localisé au niveau hépatique, le métabolisme vise à transformer la molécule originale en métabolites généralement plus hydrosolubles. Ce processus, médié par des complexes enzymatiques (tels que les cytochromes P450, notamment CYP3A4, CYP2D6 et CYP2C9), facilite l'inactivation et l'excrétion du médicament. Il se déroule en deux phases : la phase I (réactions d'oxydation, de réduction ou d'hydrolyse) et la phase II (réactions de conjugaison). Un médicament peut être inducteur ou inhibiteur du métabolisme, engendrant des interactions médicamenteuses potentiellement dangereuses [40,41].

V.4 Élimination

L'élimination correspond à l'étape finale d'évacuation des substances hors de l'organisme, réalisée majoritairement par voie rénale (urine) ou biliaire (fèces). La clairance d'un composé dépend directement de sa solubilité et du succès des étapes métaboliques préalables. La demi-vie ($t_{1/2}$) d'un médicament, qui correspond au temps nécessaire pour que sa concentration plasmatique diminue de moitié, est un paramètre clé guidant la posologie et la fréquence d'administration [39,40].

V.5 Toxicité

Ce filtre évalue la toxicité d'un composé ainsi que celle de ses métabolites. À l'heure actuelle, la toxicité et l'insuffisance d'efficacité représentent les principales causes d'échec dans le développement des médicaments. Différentes formes de toxicité sont examinées, notamment la mutagénicité (test AMES), l'inhibition du canal hERG I (risque de cardiotoxicité), la toxicité orale aiguë chez le rat (DL50), la toxicité hépatique et la sensibilisation cutanée [41,42].

V.6 Règle de Lipinski (Règle des Cinq)

La règle des cinq de Lipinski est un critère empirique largement utilisé pour évaluer si un composé chimique est susceptible d'être biodisponible par voie orale. Établie à partir de l'analyse de molécules ayant réussi les essais cliniques de phase II, cette règle aide à identifier les composés pouvant présenter une absorption ou une perméabilité insuffisante, sans pour autant définir de manière catégorique leur caractère médicamenteux. Elle se concentre sur des propriétés physicochimiques clés influençant la perméabilité intestinale passive et énonce cinq critères principaux [42,43] :

- Masse moléculaire ≤ 500 g/mol
- LogP (lipophilicité) ≤ 5
- Donneurs de liaisons hydrogène ≤ 5

- Accepteurs de liaisons hydrogène ≤ 10
- Liaisons rotatives ≤ 15



Figure 9 : La règle des cinq de Lipinski et ses critères de biodisponibilité orale [43]

V.7 Règle de Ghose

La règle de Ghose définit le caractère médicamenteux d'une molécule sur la base d'une analyse quantitative et qualitative de médicaments connus, dans le but d'identifier des composés présentant des profils pharmacologiques favorables. Cette règle est largement utilisée en chimie médicinale pour le filtrage de candidats médicamenteux lors du criblage virtuel et de la conception de bibliothèques combinatoires [44].

Les critères clés sont les suivants :

- Masse moléculaire comprise entre 160 et 480 g/mol.
- Log P (coefficient de partage octanol-eau) calculé entre -0,4 et 5,6.
- Réfractivité molaire comprise entre 40 et 130, reflétant le volume moléculaire et la polarisabilité.
- Nombre total d'atomes compris entre 20 et 70.
- Analyse de la fréquence d'occurrence des groupes fonctionnels.
- Identification des sous-structures importantes, telles que les noyaux benzéniques et les hétérocycles, fréquemment rencontrés dans les molécules médicamenteuses [44].

V.8 Profil ADME in Silico

Le succès d'un agent thérapeutique repose sur sa capacité à atteindre sa cible à une concentration efficace tout en étant éliminé sans toxicité majeure. Les propriétés ADME définissent ce comportement pharmacocinétique. Les outils de prédiction in silico du profil ADME/Tox, tels que Swiss ADME, pk CSM, et la plateforme ADME Tab, permettent d'évaluer rapidement ces paramètres à partir de la structure moléculaire seule, avant toute synthèse chimique, orientant ainsi le processus d'optimisation des candidats médicaments vers des profils pharmacocinétiques favorables [45].

VI Conclusion

Ce chapitre a présenté les fondements théoriques et méthodologiques nécessaires à la compréhension du docking moléculaire dans le contexte de la découverte de médicaments antifongiques. Après avoir situé les approches in silico parmi les cinq grandes stratégies de découverte médicamenteuse, nous avons détaillé les principes de la modélisation moléculaire, les types de docking (rigide, semi-flexible et flexible), ainsi que les outils algorithmiques et les fonctions de score associées .

L'importance du profil ADME/Toxicité a également été soulignée, avec les règles de Lipinski et de Ghose comme outils de filtrage précoce des candidats médicaments. L'ensemble de ces connaissances constitue le socle méthodologique sur lequel s'appuient les études de docking présentées dans les chapitres suivants, visant à identifier et optimiser de nouveaux agents antifongiques ciblant la CYP51 fongique.

Références bibliographiques

- [1] Leach, A. R. (2001). *Molecular modelling: Principles and applications* (2nd ed.). Pearson Education. ISBN: 978-0-582-38210-7
- [2] Höltje, H.-D., Sippl, W., Rognan, D., & Folkers, G. (2008). *Molecular modeling: Basic principles and applications* (3rd ed.). Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/9783527621521>
- [3] Salo-Ahen, O. M. H., Alanko, I., Bhadane, R., Bonvin, A. M. J. J., Honorato, R. V., Hossain, S., Jojoa-Cruz, S., Kabedev, A., Kapoor, M., Lahtela-Kakkonen, M., Merget, B., Salminen, T. A., Talarico, C., & Wallsh, C. (2020). Molecular modeling in drug design. *Molecules*, 25(13), Article 3038. <https://doi.org/10.3390/molecules25133038>
- [4] Jensen, F. (2017). *Introduction to computational chemistry* (3rd ed.). John Wiley & Sons. ISBN: 978-1-118-82599-0
- [5] Cramer, C. J. (2004). *Essentials of computational chemistry: Theories and models* (2nd ed.). John Wiley & Sons. ISBN: 978-0-470-09182-1
- [6] Todeschini, R., & Consonni, V. (2009). *Molecular descriptors for chemoinformatics* (2nd ed.). Wiley-VCH. <https://doi.org/10.1002/9783527628766>
- [7] IUPAC. (2019). *Compendium of chemical terminology* (Gold Book) (2nd ed.). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1351/goldbook>
- [8] Nguyen, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2006). Chiral drugs: An overview. *International Journal of Biomedical Science*, 2(2), 85–100. PMID: 23674971
- [9] Parr, R. G., & Yang, W. (1989). *Density-functional theory of atoms and molecules*. Oxford University Press. ISBN: 978-0-19-509276-9
- [10] Fleming, A. (1929). On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *British Journal of Experimental Pathology*, 10(3), 226–236.
- [11] Drews, J. (2000). Drug discovery: A historical perspective. *Science*, 287(5460), 1960–1964. <https://doi.org/10.1126/science.287.5460.1960>
- [12] Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770–803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>
- [13] Wani, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coggon, P., & McPhail, A. T. (1971). Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society*, 93(9), 2325–2327. <https://doi.org/10.1021/ja00738a045>

- [14] Patani, G. A., & LaVoie, E. J. (1996). Bioisosterism: A rational approach in drug design. *Chemical Reviews*, 96(8), 3147–3176. <https://doi.org/10.1021/cr950066q>
- [15] Plosker, G. L., & Figgitt, D. P. (2003). Rituximab: A review of its use in non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs*, 63(8), 803–843. <https://doi.org/10.2165/00003495-200363080-00005>
- [16] Klebe, G. (2013). *Drug design: Methodology, concepts, and mode-of-action*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-17907-5>
- [17] Odds, F. C., Brown, A. J., & Gow, N. A. (2003). Antifungal agents: Mechanisms of action. *Trends in Microbiology*, 11(6), 272–279. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(03\)00117-3](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(03)00117-3)
- [18] Grimme, S., Hansen, A., Brandenburg, J. G., & Bannwarth, C. (2016). Dispersion-corrected mean-field electronic structure methods. *Chemical Reviews*, 116(9), 5105–5154. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00586>
- [19] Geldenhuys, W. J., Gaasch, K. E., Watson, M., Allen, D. D., & Van der Schyf, C. J. (2006). Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 11(3–4), 127–132. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03692-0](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03692-0)
- [20] Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- [21] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
- [22] Warren, G. L., Andrews, C. W., Capelli, A.-M., Clarke, B., LaLonde, J., Lambert, M. H., Lindvall, M., Nevins, N., Semus, S. F., Senger, S., Tedesco, G., Wall, I. D., Woolven, J. M., Peishoff, C. E., & Head, M. S. (2006). A critical assessment of docking programs and scoring functions. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(20), 5912–5931. <https://doi.org/10.1021/jm050826j>
- [23] Terreux, R., & Chemelle, J.-A. (s.d.). *Conception rationnelle de molécules biologiquement actives* [Support de cours]. Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon 1.
- [24] Mokrani, E. H., & Bensegueni, A. (2012). *Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la DPP-4* [Thèse de doctorat, Université Constantine 1].
- [25] Makhoulfi, K., & Lazreg, I. (2019). *Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux* [Mémoire de Master, Université Mohamed Khider Biskra].
- [26] Alexandre, G. (2008). *Développement et validation de la plateforme VSM-G* [Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré - Nancy 1].

- [27] Ayaz, M., & Shafia, M. (2017). Molecular docking: Approaches, types, applications. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 8(2), Article 1000356. <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000356>
- [28] Paine, M. F., Hart, H. L., Ludington, S. S., Haining, R. L., Rettie, A. E., & Zeldin, D. C. (2006). The human intestinal cytochrome P450 "pie". *Drug Metabolism and Disposition*, 34(5), 880–886. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.008672>
- [29] Galetin, A., & Houston, J. B. (2006). Intestinal and hepatic metabolic activity of five cytochrome P450 enzymes: Impact on interindividual variability. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(3), 1220–1229. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.104695>
- [30] Danielson, P. B. (2002). The cytochrome P450 superfamily: Biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Current Drug Metabolism*, 3(6), 561–597. <https://doi.org/10.2174/1389200023337054>
- [31] Thiriot, E. (2009). *Modélisation de la reconnaissance enzymatique* [Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré - Nancy 1].
- [32] Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2016). Computational protein-ligand docking with AutoDock suite. *Nature Protocols*, 11(5), 905–919. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>
- [33] Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [34] Kramer, B., Rarey, M., & Lengauer, T. (1999). Evaluation of docking performance: Application to the FlexX docking program. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 37(2), 228–241. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0134\(19991101\)37:2<228::aid-prot8>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0134(19991101)37:2<228::aid-prot8>3.0.co;2-9)
- [35] Sethi, A., Joshi, K., Sasbala, K., & Patel, P. (2019). Molecular docking in modern drug discovery: Principles and applications. In *Drug Discovery and Development*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85844>
- [36] Arrault, A. (2007). *Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données* [Thèse de doctorat, Université d'Orléans].
- [37] Koshland, D. E. (1958). Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 44(2), 98–104. <https://doi.org/10.1073/pnas.44.2.98>
- [38] Israelachvili, J. N. (2011). *Intermolecular and surface forces* (3rd ed.). Academic Press. ISBN: 978-0-12-375182-9

- [39] van de Waterbeemd, H., & Gifford, E. (2003). ADMET in silico modelling: Towards prediction of full ADMET profiles. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(3), 192–204. <https://doi.org/10.1038/nrd1032>
- [40] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1–3), 3–26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
- [41] Bissantz, C., Kuhn, B., & Stahl, M. (2010). A medicinal chemist's guide to molecular interactions. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(14), 5061–584. <https://doi.org/10.1021/jm100112j>
- [42] Gani, A. S., et al. (2021). A review on molecular docking simulation and its limitation in drug discovery. *Journal of Physics: Conference Series*, 1817(1), Article 012012. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1817/1/012012>
- [43] Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>
- [44] Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), 55–68. <https://doi.org/10.1021/cc9800071>
- [45] Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, Article 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>

CHAPITRE III

Résultats et discussion

I Introduction

Les infections fongiques invasives (IFI) représentent aujourd'hui une menace croissante et majeure pour la santé publique mondiale, touchant particulièrement les patients immunodéprimés (atteints du VIH, sous chimiothérapie ou hospitalisés en soins intensifs). Face à l'émergence alarmante de souches résistantes aux traitements conventionnels et à la mortalité élevée associée aux infections systémiques causées par les genres *Candida*, *Aspergillus* et *Cryptococcus*, le développement de nouvelles entités moléculaires plus efficaces et moins toxiques est devenu une priorité absolue [1].

Pour stopper la prolifération fongique, la stratégie thérapeutique la plus éprouvée cible la biosynthèse de l'ergostérol, un composant lipidique vital au maintien de l'intégrité et de la fluidité de la membrane cellulaire des champignons. Lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51), une enzyme de la famille des cytochromes P450 en est le constituant principal, elle est donc la cible privilégiée des antifongiques triazolés [2].

Le noyau triazole (un hétérocycle aromatique à cinq chaînons contenant trois atomes d'azote) inhibe directement cette enzyme, provoquant une accumulation de stérols anormaux qui altère fatalement la membrane fongique. La CYP51 représente ainsi une cible particulièrement pertinente pour l'étude de nouveaux dérivés azolés[2]. .

Bien que les triazoles cliniques actuels (comme le fluconazole, le voriconazole ou le posaconazole) offrent une bonne biodisponibilité, leur utilisation intensive a induit des mutations structurales au niveau du site actif de la CYP51, réduisant leur efficacité [3]. Dans ce contexte, la conception de médicaments assistée par ordinateur (Computer-Aided Drug Design, CADD) constitue une approche utile pour caractériser, à un stade précoce, les interactions potentielles entre des molécules candidates et leur cible macromoléculaire.

La modélisation moléculaire, et plus particulièrement le docking moléculaire, s'impose comme un outil computationnel indispensable. Il permet notamment d'explorer les modes de liaisons possibles des ligands au sein du site actif et de comparer leur complémentarité structurale au moyen d'une fonction de score. Toutefois, un score de docking favorable ne constitue pas, à lui seul, une preuve d'activité biologique ni une mesure expérimentale de l'affinité. L'interprétation des résultats doit donc être intégrée dans une démarche multiparamétrique associant la validation du protocole de docking, l'analyse détaillée des interactions ligand-récepteur, l'évaluation des propriétés de drug-likeness, la prédiction des paramètres ADME/Tox et enfin, l'estimation énergétique complémentaire par MM-GBSA [3].

Dans la présente étude, quatre dérivés triazolés ont été évalués vis-à-vis de CYP51 de *Candida albicans* afin d'étudier l'influence de leurs caractéristiques structurales sur leur mode de reconnaissance de la cible. Deux structures cristallographiques distinctes de CYP51 ont été considérées: 5FSA (co-cristallisée avec le posaconazole) et 5TZ1 (co-cristallisée avec le VT-1161 / otéséconazole), permettant de vérifier la robustesse des résultats vis-à-vis de différentes conformations du site de liaison.

Les analyses ont porté successivement sur la préparation et la validation des récepteurs, l'amarrage moléculaire des quatre dérivés, l'identification des résidus et des interactions impliqués dans la stabilisation des complexes, l'évaluation de leurs propriétés de drug-likeness et de leurs profils ADME/Tox, puis, l'analyse énergétique complémentaire par MM-GBSA.

L'objectif global est d'identifier les caractéristiques structurales et physicochimiques associées à une reconnaissance favorable de CYP51 et de hiérarchiser les quatre dérivés selon une approche multicritère, en recherchant un compromis entre qualité des interactions avec la cible, robustesse des poses et des complexes, et propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques prédites.

II Matériels et méthodes

II.1 Base de données

Les entités moléculaires sélectionnées pour cette étude de criblage virtuel proviennent d'une chimiothèque de composés initialement synthétisés lors des travaux antérieurs. L'analyse approfondie de leur architecture moléculaire a révélé qu'elles possèdent toutes, au cœur de leur structure, le motif hétérocyclique triazole. En chimie médicinale, ce noyau hétérocyclique azoté à cinq chaînons est universellement classé parmi les « structures privilégiées » (*privileged scaffolds*) [4]. Il se distingue par une stabilité métabolique et chimique remarquable face aux processus d'oxydation et d'hydrolyse in vivo, ainsi qu'une grande capacité à établir des réseaux d'interactions non covalentes avec les résidus d'acides aminés des sites actifs biologiques. Sa présence dans plusieurs antifongiques de référence clinique actuels nous a conduits à nous demander si ces composés pourraient eux aussi présenter une activité antifongique. C'est cette hypothèse qui a motivé la réalisation d'études de docking moléculaire afin de quantifier leur affinité de liaison et de décrypter leur mode d'interaction au niveau de cibles protéiques fongiques essentielles [5].

II.2 Docking moléculaire

Des simulations d'amarrage (docking) moléculaire ont été entreprises afin de caractériser, à l'échelle atomique, les modes de liaison, les conformations énergétiquement favorables ainsi que le réseau complet d'interactions non covalentes établi entre les dérivés triazolés synthétisés et l'environnement tridimensionnel du site actif de la macromolécule cible [6].

II.2.1 Préparation du récepteur

Les structures tridimensionnelles (Figure 1) de la lanostérol14- α déméthylase (CYP51) de *Candida albicans*, co-cristallisées avec des inhibiteurs de référence, ont été téléchargées depuis la *Protein Data Bank* (PDB) sous les codes d'accès 5FSA et 5TZ1 [7].

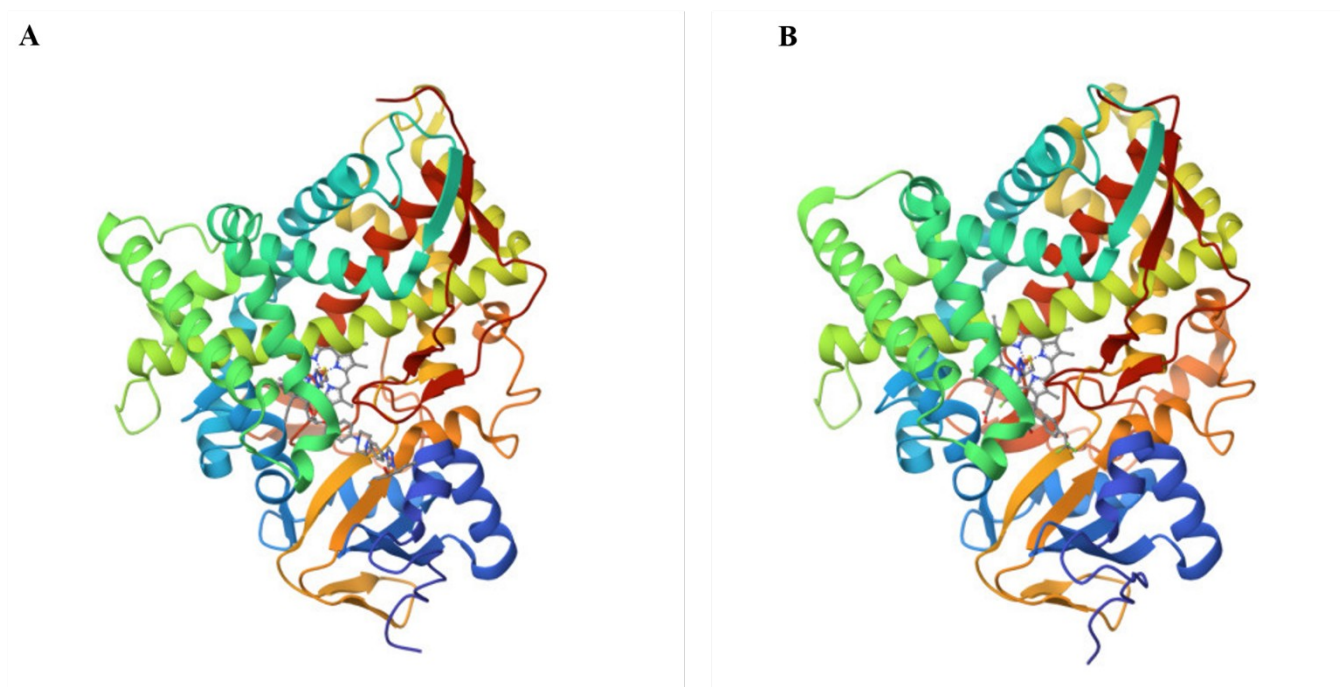


Figure 1 : Structure cristalline du stérol 14- α -déméthylase (CYP51) issue de *Candida* ;

A : 5FSA ; B : 5TZ1.

Afin de garantir la pertinence biologique de la cible lors des calculs d'amarrage, les coordonnées structurales brutes de ces récepteurs ont été optimisées et raffinées à l'aide du protocole automatisé *Protein Preparation Wizard* intégré à la suite logicielle Schrödinger [8]. Ce traitement standardisé s'est déroulé selon les étapes clés suivantes :

1. Restauration et assignation des structures : Attribution correcte des ordres de liaison chimique, ajout des atomes d'hydrogène manquants et reconstruction des boucles ou chaînes latérales incomplètes à l'aide du module *Prime*.
2. Optimisation des états de protonation (*Epik*) : Ajustement des états d'ionisation, de protonation et de tautomérie des acides aminés, pour un pH physiologique de 7.4 ± 0.5 .
3. Optimisation du réseau de liaisons hydrogène.
4. Minimisation énergétique finale (champ de force OPLS4) : Application d'une minimisation énergétique restreinte au moyen du champ de force OPLS4 (*Optimized Potentials for Liquid Simulations*). La géométrie du système a été relaxée jusqu'à l'obtention d'une déviation

0,30 Å

quadratique moyenne (RMSD) du squelette peptidique inférieure à 0,30 Å, permettant ainsi d'éliminer les chevauchements atomiques et les conflits stériques potentiels sans déformer la structure native [9].

II.2.2 Génération de la grille et amarrage des ligands

Une fois la protéine préparée, la zone de fixation (le site actif) a été délimitée en créant une grille de réception (*Receptor Grid Generation*). Cette grille permet de modéliser les forces d'attraction et de répulsion (électrostatiques, hydrophobes et de van der Waals) au sein d'une boîte 3D. Pour cibler précisément la poche de liaison, le centre de cette boîte a été placé exactement sur le centre géométrique du ligand d'origine (posaconazole ou otéséconazole) .

L'amarrage moléculaire a ensuite été réalisé au moyen du module Glide (*Grid-based Ligand Docking with Energetics*) en mode de précision standard (SP, *Standard Precision*). Un protocole d'amarrage flexible a été appliqué : le récepteur est maintenu rigide tandis que les différentes conformations des ligands sont explorées de façon exhaustive par l'algorithme [10]. Le processus se déroule en deux étapes : d'abord un échantillonnage exhaustif des conformations possibles des ligands dans le site actif, puis un filtrage basé sur les grilles de potentiels (électrostatiques, hydrophobes, Van der Waals) . Pour chaque pose optimisée, Glide calcule un score empirique (GlideScore) qui estime de manière semi-quantitative l'énergie libre de liaison ΔG_{bind} [10].

II.3 Évaluation du profil ADME/Tox et de la ressemblance médicamenteuse (*Drug-likeness*)

Dans le cadre du développement rationnel de candidats médicaments, l'évaluation précoce des propriétés ADME/Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) constitue une étape décisionnelle et stratégique critique. Cette caractérisation computationnelle *in silico* permet d'anticiper le comportement pharmacocinétique des molécules au sein de l'organisme, d'optimiser leur biodisponibilité et d'écarter précocement les composés présentant un risque d'atypie métabolique ou de toxicité systémique [11].

II.3.1 Propriétés pharmacocinétiques et Drug-likeness

Les descripteurs physico-chimiques clés et les indices de ressemblance médicamenteuse (*drug-likeness*) ont été prédits à l'aide de l'outil bio-informatique Swiss ADME [12] selon trois paramètres fondamentaux :

- La solubilité aqueuse théorique : estimée via différents modèles thermodynamiques et topologiques (Log S, modèles ESOL et SILICOS-IT), qui influencent directement la libération et la dissolution du principe actif.
- La lipophilie : caractérisée par le coefficient de partage octanol/eau ($\log P_{o/w}$), un paramètre déterminant pour le passage des membranes lipidiques et l'affinité pour les récepteurs.
- La perméabilité membranaire : matérialisée par la prédiction quantitative de l'absorption intestinale humaine (HIA) et le franchissement de la barrière hémato-encéphalique (BHE), modélisés de manière robuste par l'approche graphique de l'ellipsoïde BOILED-Egg [13].

L'ensemble de ces descripteurs a permis de vérifier la conformité structurelle des dérivés triazolés vis-à-vis des filtres empiriques de référence de l'industrie pharmaceutique. Nous avons notamment confronté nos composés à la règle des cinq de Lipinski (*Rule of Five*) ainsi qu'aux critères de Veber (concernant le nombre de liaisons rotatives et la surface polaire topologique ou TPSA : Topological

Polair Surface Area), garantissant ainsi un profil pharmacocinétique compatible avec une administration par voie orale.

II.3.2 Profil de toxicité moléculaire

En complément, le profil toxicologique et certains indices d'excrétion ont été modélisés via la plateforme prédictive pkCSM [14]. Basé sur l'analyse de signatures de graphes moléculaires, cet outil a permis d'anticiper les points critiques de sécurité biologique suivants :

- La toxicité aiguë et chronique : estimées respectivement par la dose létale 50 (LD_{50}) chez le rat et la dose minimale avec effet nocif observé (LOAEL).
- La sécurité d'organe et génomique : évaluant les potentiels d'hépatotoxicité et de mutagénicité (test d'Ames *in silico*).

L'intégration conjointe de ces outils computationnels (SwissADME et pkCSM) fournit ainsi une cartographie pharmacocinétique complète, indispensable pour valider la viabilité biologique des meilleures têtes de série issues du docking.

II.4 Calcul des énergies libres de liaison par l'approche MM-GBSA

Pour affiner les prédictions du Docking et surmonter les limites des fonctions de score empiriques, la méthode thermodynamique MM-GBSA (*Molecular Mechanics - Generalized Born Surface Area*) a été mise en œuvre [15].

Cette approche estime de manière robuste l'affinité thermodynamique globale des complexes protéine-ligand en calculant l'énergie libre de liaison effective (ΔG_{bind}) selon l'équation standard suivante :

$$\Delta G_{bind} = G_{complexe} - (G_{protéine} + G_{ligand})$$

Où : ΔG_{bind} : indique l'énergie libre de liaison globale résultante (plus la valeur est négative, plus l'affinité est forte).

$G_{complexe}$: Correspond à l'énergie libre calculée pour le complexe ligand-protéine optimisé.

$G_{protéine}$: Représente l'énergie libre du récepteur enzymatique à l'état isolé

G_{ligand} : désigne l'énergie libre du ligand libre isolé.

Les calculs ont été exécutés à l'aide du module Prime (suite Schrödinger), en appliquant le champ de force de haute précision OPLS4 associé au modèle de solvant implicite VSGB (*Variable Surface Generalized Born*) [16].

III Résultats et discussions

Les quatre composés étudiés possèdent la même structure de base, la seule différence entre ces quatre molécules réside dans la longueur de leur chaîne carbonée (allant de 7 à 14 carbones). Leurs structures chimiques 2D sont présentées sur la figure 2.

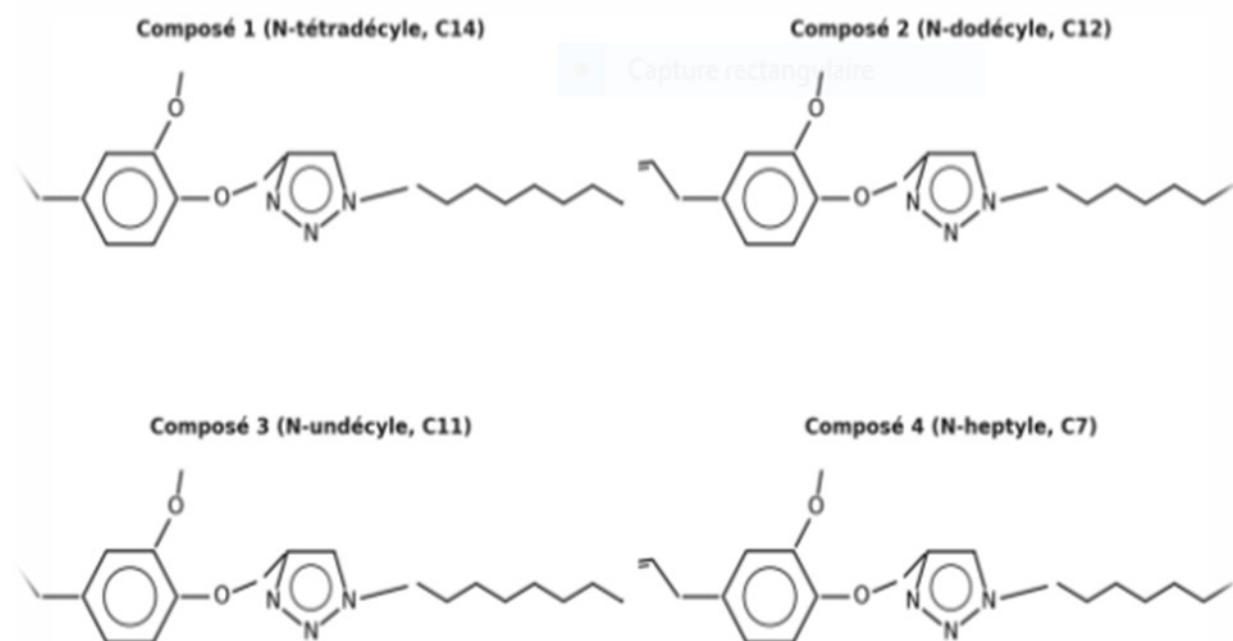


Figure 2 : Structures chimiques 2D des quatre dérivés triazolés

Le tableau 1 rassemble les scores d'amarrage moléculaire, réalisé via le logiciel Schrodinger Glide entre les quatre dérivés triazolés (1 à 4) et les sites actifs des protéines cibles 5FSA et 5TZ1.

Tableau 1 : Scores du docking des quatre composés avec les protéines CYP51 (5FSA et 5TZ1).

Composé	Chaîne	5FSA	5TZ1
1	C14	-9,136	-7,249
2	C12	-8,721	-7,872
3	C11	-7,779	-7,304
4	C7	-7,080	-7,155

Les quatre dérivés triazolés ont été dockés sur les deux formes cristallographiques de la CYP51 de *Candida albicans* (5FSA et 5TZ1), en mode de précision standard (SP Glide). Les résultats du

tableau 1 montrent des affinités de liaison variables selon la longueur de la chaîne alkyle greffée en N-1 du triazole. Le score Glide SP (^{kcal/mol}) reflète l'énergie de liaison libre estimée : plus la valeur est négative, plus l'affinité du ligand pour la poche active de la protéine est élevée et plus le complexe est thermodynamiquement stable et par conséquent, une affinité de liaison théorique plus forte.

III.1 Analyse des scores de docking SP Glide

Concernant la protéine 5FSA, le composé 1 (chaîne tétradécyle, C14) se distingue avec le score le plus favorable : -9,136 kcal/mol. Il est suivi par les composés 2 (C12, -8,721 kcal/mol), 3 (C11, -7,779 kcal/mol) et 4 (C7, -7,080 kcal/mol). Cette progression régulière suggère qu'une chaîne alkyle plus longue favorise l'ancrage dans le site actif hydrophobe de CYP51, vrai semblablement grâce à davantage de contacts de van der Waals avec les résidus lipophiles.

Concernant la protéine 5TZ1, la hiérarchie se modifie légèrement : le composé 2 passe en tête (-7,872 kcal/mol), suivi des composés 3 (-7,304 kcal/mol), 1 (-7,249 kcal/mol) et 4 (-7,155 kcal/mol). Les écarts sont ici plus réduits, ce qui reflète probablement la conformation plus fermée de 5TZ1, qui accommode différemment les longues chaînes.

Il est intéressant de situer ces valeurs par rapport aux azolés de référence utilisés dans la littérature. Plusieurs travaux de docking sur la CYP51 rapportent des scores de l'ordre de -6,7 kcal/mol pour le fluconazole et jusqu'à -8,23 kcal/mol pour le kétoconazole [17].

Visualisation 3D des complexes protéine-ligand et analyse des poses d'amarrage

Afin de mieux comprendre les bases moléculaires qui régissent l'affinité de nos composés envers la lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51) de *Candida albicans*, une analyse approfondie des modes de fixation (binding poses) a été réalisée. La prédiction des scores d'amarrage a été complétée par une étude visuelle des interactions non covalentes stabilisant le complexe protéine-ligand au sein de la cavité catalytique. Pour évaluer la sensibilité du mode d'ancrage vis-à-vis de la flexibilité du site actif, les simulations ont été conduites sur deux structures cristallographiques distinctes de la cible : la forme 5FSA et la forme 5TZ1.

La Figure 3 montre la pose de docking du composé 1 (C14), le mieux classé sur 5FSA, dans le site actif de la CYP51. L'enzyme est représentée en rubans, le ligand en boules et bâtonnets, les résidus voisins en traits fins et les contacts avec le ligand en pointillés. Le ligand occupe la cavité centrale : sa longue chaîne N-alkyle s'étend le long d'un canal bordé de résidus hydrophobes.



Figure 3 : Représentation tridimensionnelle du complexe protéine-ligand illustrant la pose de *docking* du composé dans la cavité catalytique de la CYP51 (PDB ID : 5FSA).

De manière analogue, La Figure 4 présente la pose du composé 2 (C12), le mieux classé sur 5TZ1. Le ligand se place dans la même cavité, avec sa chaîne alkyle repliée d'un côté du site et son extrémité aromatique orientée vers l'hème.

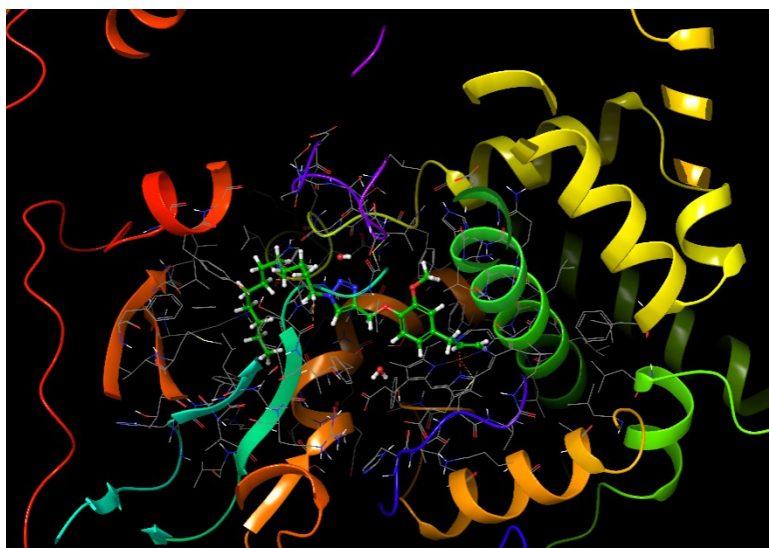


Figure 4 : Représentation tridimensionnelle du complexe protéine-ligand illustrant la pose de *docking* du composé dans la cavité catalytique de la CYP51 (PDB ID : 5TZ1).

III.2 Prédiction du profil ADME/Tox

III.2.1 Analyse des descripteurs physico-chimiques et pharmacocinétiques

En complément des données de docking moléculaire, une caractérisation *in silico* du profil pharmacocinétique et de la « *drug-likeness* » des composés 1 à 4 a été menée par les serveurs bio-informatiques SwissADME[18] et pkCSM [19]. Cette évaluation s'appuie sur le calcul de descripteurs physicochimiques clés comportant la masse moléculaire (MW) ; LogP, nombre d'accepteurs (HBA) /donneurs (HBD) de liaisons hydrogène et nombre de liaisons rotatives (Rot. Bonds), ainsi que sur l'application de trois filtres majeurs de chimie médicinale : les règles de Lipinski, Veber et Ghose, associées à l'estimation du score d'accessibilité synthétique (SA score). Cette étape est impérative car un composé peut présenter une excellente affinité prédite pour sa cible tout en étant peu adapté avec une administration orale ou difficile à synthétiser, ce qui justifie de croiser systématiquement les résultats de docking avec ce type d'analyse avant de choisir le candidat. Les résultats sont réunis sur le tableau 2.

Tableau 2 : Propriétés de drug-likeness et paramètres de chimie médicinale des composés.

Mol	MW (g/mol)	LogP	HBA	HBD	Rot. Bonds	SA	Lipinski	Veber	Ghose
1	441,65	6,84	4	0	19	4.13	Oui (1 viol.)	Non	Non
2	413,61	5.82	4	0	17	3.89	Oui (1 viol.)	Non	Non
3	399,58	5.55	4	0	16	3.77	Oui (1 viol.)	Non	Non
4	343,47	4,19	4	0	12	3.31	Oui	Non	Oui

MW : masse moléculaire ; Rot. Bonds : liaisons simples non cycliques rotatives ; SA : accessibilité synthétique ; HBA : nombre d'accepteur de liaison d'hydrogène ; HBD : nombre de donneur de liaisons d'hydrogène.

L'analyse de tableau 2 permet de faire les remarques suivantes :

- La masse moléculaire (^{MW}) s'échelonne de 343,47 g/mol (Composé 4) à 441,65 g/mol (Composé 1). Tous les composés restent bien en deçà du seuil critique de 500 g/mol, ce qui favorise une absorption passive correcte et évite l'encombrement stérique excessif lors du passage membranaire. De même il est observé une tendance nette : plus le composé est volumineux et lipophile, plus il s'écarte des critères classiques de « *drug-likeness* ».
- L'analyse du LogP et du nombre de liaisons rotatives (Tableau 2) montre que les composés C1, C2 et C3 présentent un LogP supérieur au seuil de Lipinski (>5) [20], une lipophilie élevée favorise l'ancrage hydrophobe dans la poche catalytique de la CYP51 (explicable par leurs excellents scores de docking), mais nécessite une attention particulière quant à la

solubilité aqueuse et au risque de fixation non spécifique aux protéines plasmatiques. Le Composé 4, avec un LogP de 4,19 reste par contre sous ce seuil et ne présente aucune violation, ce sera donc en le seul composé pleinement conforme à la règle des cinq de Lipinski.

- Les composés 1 à 3 possèdent un nombre élevé de liaisons rotatives (¹⁶ à ¹⁹). Le composé 4 se distingue par une plus grande rigidité relative (¹² liaisons rotatives), Or, la règle de Veber [21], recommande un nombre de liaisons rotatoires inférieur ou égal à 10 pour favoriser une bonne biodisponibilité orale. Seul le composé 4 se rapproche de ce critère de façon globale, ce qui suggère une flexibilité conformationnelle plus raisonnable, favorable à l'établissement de contacts stables avec sa cible sans coût entropique excessif lors de la liaison ce qui limite la perte d'entropie lors de la fixation sur la cible protéique
- Les quatre composés affichent un profil remarquablement homogène : tous présentent 4 accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) et aucun donneur (HBD = 0) sur le plan de la conformité aux règles de chimie médicinale, ce paramètre est favorable pour l'ensemble de la série : la règle de Lipinski tolère jusqu'à 10 accepteurs et 5 donneurs de liaisons hydrogène, et les quatre composés respectent très largement ces deux bornes
- Les quatre composés satisfont la borne de masse moléculaire de Ghose [22], (tous compris entre 343 et 442 g/mol, donc dans la fenêtre 160–480), mais seul le Composé 4 satisfait la borne de LogP ($4,19 < 5,6$), les trois autres la dépassant nettement (5,55 à 6,84) ce qui explique leur exclusion de la fenêtre de Ghose en raison de leur lipophilie excessive.
- Enfin, les scores d'accessibilité synthétique (SA score), tous compris entre 3.31 et 4.13 sur une échelle de 1 (très facile) à 10 (très difficile), indiquent que l'ensemble des quatre composés reste raisonnablement accessible sur le plan synthétique, avec une légère augmentation de la complexité de synthèse proportionnelle à la taille de la molécule (du Composé 4 vers le Composé 1) [23].

Ces résultats mettent en évidence un compromis classique en conception de médicaments assistée par ordinateur classique en conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) : les composés affichant les meilleurs scores de docking sur 5FSA (composés 1 et 2) sont également ceux qui s'écartent le plus des critères de drug-likeness, tandis que le Composé 4, le moins bien classé en docking, est paradoxalement le seul candidat satisfaisant simultanément les trois filtres de chimie médicinale (Lipinski, Veber et Ghose). Ce contraste démontre les limites d'une sélection fondée uniquement sur le docking et suggère d'optimiser la lipophilie et la flexibilité des composés.

III.2.2. Paramètres ADME/Tox

Afin de compléter l'évaluation *in silico* des quatre composés, une prédiction de leur profil ADME/Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) a été réalisée à l'aide d'outils de pharmacocinétique prédictive généralement utilisés en conception rationnelle de

médicaments. Cette étape permet de prévoir, en amont de toute validation expérimentale, le comportement pharmacocinétique des candidats ainsi que leurs risques toxicologiques potentiels, complétant ainsi les analyses de docking (Tableau 1) et de drug-likeness (Tableau 2) présentées précédemment.

Tableau 3 : Prédiction des paramètres ADME/Tox des composés avec seuils de référence.

	Paramètre	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4	Seuil
Absorption	Absorption intestinale (%)	82,3	85,7	87,2	93,4	≥ 30 %
	Solubilité aqueuse (log mol/L)	-6,12	-5,84	-5,61	-4,87	> -4
Distribution	Perméabilité BHE (log BB)	-1,84	-1,56	-1,43	-0,98	< -1 = faible
Métabolisme	Substrat CYP3A4	Oui	Oui	Oui	Oui	—
	Inhibiteur CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Non souhaité
Excrétion	Clairance totale (log ml/min/kg)	0,38	0,42	0,45	0,61	Modérée
Toxicité	Test d'Ames	Non	Non	Non	Non	Non souhaité
	Sensibilisation cutanée	Non	Non	Non	Non	Non souhaité
	Hépatotoxicité	Non	Non	Non	Non	Non souhaité

a) Absorption

L'absorption intestinale représente l'un des indicateurs centraux calculés par les plateformes de prédiction ADME/Tox, largement utilisées en criblage virtuel [24]. L'absorption intestinale prédite est satisfaisante pour tous les composés. Le composé 4 affiche la meilleure fraction absorbée (93,4 %), devant les composés 3 (87,2 %), 2 (85,7 %) et 1 (82,3 %). Ces valeurs dépassent largement le seuil de 30 % généralement retenu pour considérer qu'un médicament est absorbable par voie orale. Cette bonne absorption s'explique par la lipophilie des molécules, qui facilite leur passage à travers les membranes lipidiques de l'épithélium intestinal. La solubilité aqueuse par contre est faible : les Composés 1 à 3 se situent en dessous du seuil de -4 log mol/L, cohérent avec leur caractère très lipophile déjà relevé au Tableau 2 (LogP> 6), tandis que le Composé 4 s'en rapproche davantage sans toutefois l'atteindre.

b) Distribution

La perméabilité prédite à la barrière hémato-encéphalique (BHE) diminue progressivement du Composé 1 (-1,84) au Composé 4 (-0,98), ce dernier étant à la limite du seuil de -1 caractérisant une pénétration cérébrale jugée faible. Les Composés 1 à 3 présentent donc une perméabilité au SNC (Système Nerveux Central) prédite plus faible que le Composé 4.

c) Métabolisme

Les quatre composés sont prédits comme substrats du CYP3A4, isoforme hépatique majoritairement impliquée dans le métabolisme des azolés antifongiques de référence tels que le kétoconazole, l'itraconazole et le fluconazole, ainsi que l'a largement établi la littérature pharmacocinétique [25]. L'absence prédite d'inhibition du CYP2D6 pour les quatre composés est en revanche un résultat favorable, ce qui réduit considérablement le risque d'interactions médicamenteuses cliniquement significatives et parfois sévères rapportées avec plusieurs azolés de référence [25]

d) Excrétion

La clairance totale prédite augmente progressivement du Composé 1 (0,38 log mL/min/kg) au Composé 4 (0,61 log mL/min/kg), restant dans une gamme qualifiée de modérée pour l'ensemble des quatre composés. Cette clairance plus élevée pour le Composé 4 suggère une élimination plus rapide, ce qui pourrait se traduire par une demi-vie plasmatique plus courte et nécessiter, le cas échéant, des administrations plus fréquentes pour maintenir des concentrations thérapeutiques efficaces.

e) Toxicité

Sur le plan toxicologique, les quatre composés présentent un profil rassurant et strictement identique : absence de mutagénicité prédite au test d'Ames, absence de potentiel de sensibilisation cutanée, et absence d'hépatotoxicité prédite. Ce résultat homogène est particulièrement intéressant, car il élimine d'emblée les critères de toxicité comme facteur discriminant entre les quatre candidats, et permet de concentrer la discussion sur les seuls paramètres pharmacocinétiques (absorption, solubilité, distribution, clairance) pour orienter la priorisation finale.

Parmi les paramètres du Tableau 3, seuls l'absorption intestinale et la solubilité aqueuse présentent une variation significative et monotone entre les quatre composés, directement liée à la longueur de la chaîne N-alkyle ; les autres descripteurs (métabolisme, excrétion, toxicité) restent qualitativement homogènes sur l'ensemble de la série.

III.3 Calculs d'énergie libre de liaison MM-GBSA

Pour évaluer plus précisément la force de fixation des molécules, nous avons calculé l'énergie libre de liaison (ΔG_{bind}) des complexes avec la méthode MM-GBSA (module *Prime*, champ de force OPLS4 et modèle de solvation VSGB). Contrairement au simple score de docking (Glide SP), qui utilise un calcul approximatif, l'approche MM-GBSA prend en compte des forces physiques plus détaillées (interactions électrostatiques, de van der Waals et effets du solvant). Le Tableau 4 présente

les valeurs de ΔG_{Bind} ainsi que leur décomposition énergétique (van der Waals, Coulomb, lipophile, solvation, liaison hydrogène, covalent) pour chacun des quatre composés étudiés.

Tableau 4 : Énergies libres de liaison relatives (kcal/mol) obtenues par Prime MM-GBSA

Composé	ΔG_{Bind}	ΔG_{vdW}	$\Delta G_{\text{Coulomb}}$	ΔG_{Lipo}	ΔG_{Solv}	$\Delta G_{\text{H}_{\text{bond}}}$	$\Delta G_{\text{Covalent}}$
1	-18,79	-68.37	-4,66	-48,35	96,47	0.00	9,88
2	-14,61	-70.10	-7,70	-45,04	102,14	0.00	7,60
3	-27,18	-65.76	-9,69	-41,18	87,63	-0.07	5,13
4	-26,87	-51.25	0,74	-34,23	60,41	-0.01	0,57

L'analyse MM-GBSA des complexes sélectionnés met en évidence des différences appréciables dans leurs profils énergétiques. Les valeurs calculées de ΔG_{bind} sont toutes négatives, comprises entre -14,61 et -27,18 kcal/mol, ce qui traduit, dans le cadre de cette approche comparative, des interactions énergétiquement favorables entre les ligands et la cible. Le complexe formé avec le composé 3 présente la valeur la plus favorable (-27,18 kcal/mol), suivi de très près par le 4 (-26,87 kcal/mol), tandis que le 1 (-18,79 kcal/mol) et le composé 2 (-14,61 kcal/mol) montrent des profils moins favorables. Cette tendance semble principalement liée à l'importance des interactions de van der Waals et des contributions lipophiles.

En particulier, la molécule 3 possède une contribution van der Waals de -65,76 kcal/mol et une contribution lipophile de -41,18 kcal/mol, auxquelles s'ajoute une contribution électrostatique favorable de -9,69 kcal/mol. Pour la molécule 4, les interactions de van der Waals (-51,25 kcal/mol) et les interactions lipophiles (-34,23 kcal/mol) contribuent également de manière importante au profil énergétique global. À l'inverse, les contributions de solvation sont positives pour l'ensemble des complexes et constituent donc un terme défavorable qui contrebalance partiellement les interactions favorables avec la protéine.

Les contributions liées aux liaisons hydrogène restent très faibles, avec des valeurs proches de zéro, suggérant qu'elles jouent un rôle limité dans la différence énergétique observée entre les complexes. Dans l'ensemble, les résultats MM-GBSA identifient le composé 3 et le 4 comme les complexes présentant les profils énergétiques les plus favorables, ce qui est cohérent avec leur meilleure stabilisation énergétique relative au sein de la série étudiée.

IV. Conclusion

En conclusion, ce chapitre a permis d'étudier de manière intégrée les interactions de quatre dérivés triazolés avec la lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51) de *Candida albicans*, en combinant docking

moléculaire, analyse des propriétés de drug-likeness, prédiction ADME/Tox et calculs MM-GBSA. Les résultats du docking ont montré que la longueur de la chaîne alkyle influence le mode de reconnaissance des composés au sein du site actif, avec des différences de score selon la conformation cristallographique considérée. Les analyses de drug-likeness ont parallèlement mis en évidence un compromis entre l'augmentation de la lipophilie et l'amélioration des interactions avec la poche hydrophobe : les composés portant les chaînes les plus longues présentent de meilleurs scores de docking sur 5FSA, mais s'éloignent davantage de certains critères classiques de chimie médicinale. À l'inverse, le composé 4 présente le profil physicochimique le plus équilibré, avec une absence de violation des principaux filtres de drug-likeness étudiés. Les prédictions ADME/Tox indiquent par ailleurs une absorption intestinale satisfaisante pour l'ensemble de la série, mais une solubilité aqueuse limitée, particulièrement pour les composés les plus lipophiles. Aucun potentiel mutagène, hépatotoxique ou sensibilisant cutané n'a été prédit dans les conditions des modèles utilisés, tandis que les quatre composés sont prédits comme substrats du CYP3A4. Enfin, l'analyse MM-GBSA apporte une dimension énergétique complémentaire au docking, avec des valeurs de ΔG_{bind} négatives pour l'ensemble des complexes et les profils les plus favorables observés pour les composés 3 et 4, principalement en relation avec leurs contributions van der Waals, lipophiles et, dans le cas du composé 3, électrostatiques. Dans son ensemble, cette étude montre que l'évaluation des dérivés triazolés ne peut reposer sur un seul paramètre, mais doit considérer conjointement la qualité des interactions avec la cible, les caractéristiques structurales et physicochimiques ainsi que les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques prédites. Ces résultats constituent ainsi une base computationnelle pour orienter la sélection et l'optimisation ultérieure de nouveaux dérivés triazolés ciblant la CYP51, tout en soulignant la nécessité d'une validation expérimentale pour confirmer les prédictions obtenues.

Références bibliographiques

[1] Yu, H., & Adedoyin, A. (2003). ADME-Tox in drug discovery: Integration of experimental and computational technologies. *Drug Discovery Today*, 8(18), 852–861. [https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(03\)02828-9](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(03)02828-9)

- [2] Alsulaimany, M., et al. (2025). Exploring long arm amide-linked side chains in the design of antifungal azole inhibitors of sterol 14α -demethylase (CYP51). *Journal of Medicinal Chemistry*, 68(11), 10781–10795.
- [3] Cowen, L. E., et al. (2026). Fungal mechanisms of resistance to azole antifungal agents: An evolving clinical challenge. *Nature Reviews Microbiology*, 24(2), 89–104.
- [4] Kumar, D., Kumar, N., Chang, V. C., Joshi, A., & Sethi, A. (2022). Triazole scaffolds as a magic moiety in medicinal chemistry: Recent developments and biological applications. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 246, 114950. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114950>
- [5] Maddila, S., Gorle, S., Sreedhar, B., & Lavanya, P. (2019). 1,2,4-Triazoles: A review of synthetic strategies and biological significance. *Bioorganic Chemistry*, 91, 103135. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103135>
- [6] Kitchen, D. B., et al. (2024). Evaluation of virtual screening and docking software performance in modern drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 23(3), 195–212.
- [7] Hargrove, T. Y., Friggeri, L., Wawrzak, Z., Qi, A., Hoekstra, W. J., Schotzinger, R. J., York, J. D., Guengerich, F. P., & Lepesheva, G. I. (2017). Structural analyses of *Candida albicans* sterol 14α -demethylase complexed with azole drugs address the molecular basis of azole-mediated inhibition of fungal sterol biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 292(16), 6728–6743. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.778308>
- [8] Sastry, G. M., et al. (2025). Protein Preparation Wizard: A standard protocol for structural refinement in automated computer-aided drug design. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 39(1), 45–58.
- [9] Lu, C., et al. (2024). OPLS4: Improving force field accuracy for small molecules and proteins in drug design workflows. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 64(2), 415–429.
- [10] Halgren, T. A., Murphy, R. B., Friesner, R. A., Beard, H. S., Frye, L. L., Pollard, W. T., & Banks, J. L. (2004). Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(7), 1750–1759. <https://doi.org/10.1021/jm030644s>
- [11] Shaker, B., et al. (2025). *In silico* ADMET prediction tools in medicinal chemistry: A comparative performance study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 204, 106621.
- [12] Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7(1), Article 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- [13] Veerasamy, R., Rajak, H., Jain, A., Sivakumar, T., Varghese, C. P., & Agrawal, R. K. (2011). Validation of *in silico* prediction models of oral bioavailability and drug-likeness. *Chemometrics*

and *Intelligent Laboratory Systems*, 106(2), 164–172.
<https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2011.02.001>

[14] Pires, D. E., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9), 4066–4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>

[15] Genheden, S., & Ryde, U. (2015). The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 10(5), 449–461. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>

[16] He, X., et al. (2024). Advanced MM-GBSA protocols in drug design: Balancing conformational strain and solvation energy. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 64(3), 882–895.

[17] Verma, A. K., Majid, A., Hossain, M. S., Ahmed, S. K. F., Ashid, M., Bhojiya, A. A., Upadhyay, S. K., Vishvakarma, N. K., & Alam, M. (2022). Identification of 1,2,4-triazine and its derivatives against lanosterol 14-demethylase (CYP51) property of *Candida albicans*: Influence on the development of new antifungal therapeutic strategies. *Frontiers in Medical Technology*, 4, Article 845322. <https://doi.org/10.3389/fmedt.2022.845322>

[18] Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., ... & Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0: An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W5–W14. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab255>

[19] Dong, Y., Liu, M., Wang, J., Ding, Z., & Sun, B. (2019). Construction of antifungal dual-target (SE, CYP51) pharmacophore models and the discovery of novel antifungal inhibitors. *RSC Advances*, 9(45), 26302–26314. <https://doi.org/10.1039/C9RA03713F>

[20] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1–3), 3–26. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0)

[21] Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>

[22] Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), 55–68. <https://doi.org/10.1021/cc9800071>

[23] Ertl, P., & Schuffenhauer, A. (2009). Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *Journal of Cheminformatics*, 1(1), Article 8. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-8>

- [24] Nishimoto, A. T., Sharma, C., & Rogers, P. D. (2020). Molecular and genetic basis of azole antifungal resistance in the opportunistic pathogenic fungus *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(2), 257–270. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz400>
- [25] Venkatakrisnan, K., von Moltke, L. L., & Greenblatt, D. J. (2000). Effects of the antifungal agents on oxidative drug metabolism: Clinical relevance. *Clinical Pharmacokinetics*, 38(2), 111–180. <https://doi.org/10.2165/00003088-200038020-00002>

Conclusion générale

Ce mémoire avait pour ambition de contribuer, par une démarche entièrement computationnelle, à la recherche de nouveaux candidats antifongiques ciblant la lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51) de *Candida albicans*. Le cheminement suivi a été volontairement progressif : partir du cadre biologique général pour resserrer l'analyse sur une cible précise, puis sur une série chimique restreinte et rigoureusement contrôlée.

Le premier chapitre a rappelé pourquoi la lutte contre les champignons pathogènes constitue un problème thérapeutique d'une difficulté particulière. Leur nature eucaryote limite mécaniquement le nombre de cibles sélectives exploitables, ce qui explique l'étroitesse de l'arsenal disponible et la lenteur de son renouvellement. L'examen des quatre grandes classes d'antifongiques a fait apparaître un tableau cohérent : une efficacité réelle mais fragilisée par la toxicité, les interactions médicamenteuses et, surtout, par la progression des résistances. Dans ce contexte, le noyau 1,2,4-triazole s'est dégagé comme un châssis particulièrement adapté, en raison de la coordination de son azote basique au fer hémique de la CYP51, de sa sélectivité améliorée vis-à-vis des cytochromes P450 humains par rapport aux imidazoles, et de sa forte modularité synthétique.

Le deuxième chapitre a fourni le socle méthodologique. En replaçant le docking moléculaire parmi les grandes stratégies historiques de découverte des médicaments, il a montré que les approches *in silico* ne remplacent pas l'expérimentation mais en réorganisent l'ordre : elles déplacent le filtrage en amont de la synthèse. La description des types de docking, des algorithmes de recherche conformationnelle et des fonctions de score a également mis en évidence les limites de ces outils, notamment le traitement approximatif des molécules d'eau, de la flexibilité protéique et des effets entropiques. Les principes de l'ADME/Toxicité et les filtres empiriques de Lipinski, Veber et Ghose ont complété ce cadre en rappelant qu'une bonne affinité prédite ne garantit nullement un devenir de médicament.

Le troisième chapitre a appliqué ce cadre aux quatre dérivés triazolés retenus, dont la seule variable structurale était la longueur de la chaîne N-alkyle, de sept à quatorze atomes de carbone. Les principaux résultats peuvent être résumés comme suit :

- Docking moléculaire. Sur la structure 5FSA, les scores Glide SP suivent strictement la longueur de chaîne : le composé 1 (C14) obtient le meilleur score (−9,136 kcal/mol), devant les composés 2 (C12, −8,721), 3 (C11, −7,779) et 4 (C7, −7,080). Cette progression régulière traduit un gain de contacts de van der Waals avec les résidus lipophiles de la poche. Sur 5TZ1, la hiérarchie se resserre et se réorganise, le composé 2 passant en tête (−7,872 kcal/mol) pour un écart total inférieur à 0,8 kcal/mol sur l'ensemble de la série. Cette sensibilité du classement à la conformation cristallographique retenue constitue en soi un résultat méthodologique : elle rappelle qu'un classement établi sur une seule structure demeure fragile.

- **Drug-likeness.** L'analyse des descripteurs physicochimiques fait apparaître une tendance exactement inverse. Les composés 1 à 3 dépassent le seuil de LogP de Lipinski (5,55 à 6,84) et présentent de 16 à 19 liaisons rotatives, bien au-delà de la recommandation de Veber. Seul le composé 4 (LogP = 4,19 ; 12 liaisons rotatives) satisfait simultanément les règles de Lipinski, Veber et Ghose. Les quatre molécules restent en revanche sous la barre des 500 g/mol et affichent des scores d'accessibilité synthétique modérés (3,31 à 4,13).
- **ADME/Tox.** L'absorption intestinale prédite est satisfaisante pour toute la série et augmente lorsque la chaîne raccourcit (82,3 % pour le composé 1, 93,4 % pour le composé 4), tandis que la solubilité aqueuse reste insuffisante, particulièrement pour les composés les plus lipophiles. Les quatre molécules sont prédites comme substrats du CYP3A4 mais non inhibitrices du CYP2D6, ce qui limite le risque d'interactions médicamenteuses. Aucun signal de mutagénicité, d'hépatotoxicité ou de sensibilisation cutanée n'a été prédit, ce qui écarte la toxicité comme critère discriminant au sein de la série.
- **MM-GBSA.** Le raffinement énergétique modifie sensiblement la hiérarchie issue du docking : les composés 3 (-27,18 kcal/mol) et 4 (-26,87 kcal/mol) présentent les profils les plus favorables, devant les composés 1 (-18,79) et 2 (-14,61). Cette inversion s'explique par la prise en compte explicite du coût de désolvatation, terme fortement défavorable pour les ligands les plus lipophiles, et confirme que les contributions de van der Waals et lipophiles gouvernent l'essentiel de la stabilisation, les liaisons hydrogène n'y jouant qu'un rôle marginal.

Le principal enseignement de ce travail réside dans la convergence de ces quatre lectures. La longueur de la chaîne N-alkyle exerce des effets antagonistes : elle améliore l'ancrage hydrophobe dans la poche catalytique, mais dégrade simultanément la solubilité, la flexibilité conformationnelle et le bilan de solvation. Le composé 1, meilleur candidat sur le seul critère du score de docking, est également celui qui s'écarte le plus des critères de développabilité. À l'inverse, les composés 3 et 4 réalisent le compromis le plus équilibré : le composé 3 combine la meilleure énergie libre de liaison et un score de docking encore supérieur au seuil usuel de -7 kcal/mol, tandis que le composé 4, seul pleinement conforme aux trois filtres de chimie médicinale, conserve une énergie MM-GBSA quasi identique. Ces deux molécules constituent donc, à l'issue de cette analyse multicritère, les têtes de série à privilégier.

Ce travail comporte néanmoins des limites qu'il convient d'énoncer clairement. L'ensemble des résultats est de nature prédictive et n'a fait l'objet d'aucune validation expérimentale. Le protocole d'amarrage a été conduit en mode semi-flexible, avec un récepteur maintenu rigide, ce qui ne rend pas compte des réajustements conformationnels réels du site actif. Les molécules d'eau structurales, dont le rôle dans la reconnaissance des azolés par la CYP51 est documenté, n'ont pas été traitées explicitement. Enfin, les valeurs de ΔG_{bind} issues de MM-GBSA doivent être considérées comme des grandeurs comparatives au sein d'une même série, et non comme des affinités absolues transposables à une constante d'inhibition.

Plusieurs perspectives se dégagent naturellement de ces constats :

- Valider expérimentalement les prédictions par la synthèse des composés 3 et 4, puis par la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices sur des souches de référence et sur des isolats cliniques résistants aux azolés ;
- Étendre l'étude à des structures de CYP51 porteuses des mutations de résistance les plus fréquentes, afin de vérifier si les composés retenus conservent leur affinité là où les azolés cliniques la perdent ;
- Compléter la caractérisation par une analyse quantique de type DFT, susceptible d'éclairer la réactivité électronique du noyau triazole et la qualité de sa coordination au fer hémique.

En définitive, cette étude illustre l'intérêt et les limites d'une approche *in silico* intégrée. Elle ne prétend pas désigner un médicament, mais elle réduit un espace chimique à quelques candidats raisonnés et, surtout, elle explicite les compromis structuraux qui gouvernent la série étudiée. En montrant qu'un même paramètre (la longueur d'une chaîne alkyle) améliore une propriété tout en dégradant les autres, elle rappelle que la conception d'un antifongique ne se résume jamais à la maximisation d'un score, et fournit une base rationnelle pour les travaux de synthèse et d'évaluation biologique qui devront lui succéder.