

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR
KHENCHÉLA

FACULTÉ DES SCIENCES & DE LA
TECHNOLOGIE

DÉPARTEMENT DE GÉNIE
INDUSTRIEL



جامعة عباس لغرور خنشلة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم: الهندسة الصناعية

No. Réf. :/...../2020

Mémoire

Présenté par : ALLOUCHE NASSIRA ET BOUGOFFA MALIKA

Pour obtenir le diplôme de MASTER (LMD)

OPTION : Génie Des Procédés et L'environnement

Thème

**Synthèses et évaluation in vivo et in silico des dérivés
hétérocycliques : étude de la relation structure –
activité (docking moléculaire)**

Devant le jury :

Mr.		Président	U.A.L.K
Mr.	MAKHLOUFI. A	Rapporteur	U.A.L.K
Mr.		Examineur	U.A.L.K

Année universitaire : 2019 – 2020

Remerciement

Nous remercions avant, après, et à l'infini DIEU de nous entouré

Je remercie en premier lieu toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire. Tout d'abord

Dr .MAKHLOUFI ABDESSLAM

, l'encadreur de ce mémoire, pour laide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer.

J'exprime mes remerciements aussi à mon

Chef d'option Dr lanani

et tous les professeurs et enseignants

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à ma famille surtout Dr allouche Fatima qui m'ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire

Dédicace



Je dédie cette thèse

À la mémoire de mon père.

*À ma mère, à qui je l'avais promis, auquel je témoigne
toute ma reconnaissance pour le sacrifice et les
encouragements consentis à mon égard durant mes
études.*

À mon cher époux et mes enfants

À ma chère sœur soléf et son époux.

À mes chers frères, ces femmes et ses enfants.

À mes sœur zaïma khouloud et mon frère abdalhak

À tous ceux qui me sont chers.

Nassira allouche

Dédicace



Je dédie cette thèse

À mon père

À ma mère, à qui je l'avais promis, auquel je témoigne toute ma

*Reconnaissance pour le sacrifice et les encouragements
consentis à mon égard durant mes études*

À mes sœur

À mes frères

Merci ...

Bougoffa malika

Liste des figures

Figure I-01 :	Etapes du processus de recherche et de développement des médicament...
Figure I-02 :	Gestion du cycle de vie.....
Figure I-03 :	Etapes du développement galénique.....
Figure I-04 :	Schéma d'objectifs visées par la formulation.....
Figure I-05 :	Etapes de conception d'un médicament.....
Figure I-06 :	Représentation schématique d'une usine pharmaceutique.....
Figure II-01 :	Quelques types des hétérocycles.....
Figure II-02 :	Hétérocycle non aromatique.....
Figure II-03 :	Hétérocycle aromatique.....
Figure II-04 :	Schéma Des rétro synthèses du pyrrole et de la pyridine.....
Figure II-05 :	Méthodes classiques de préparation d'hétérocycles aromatiques.....
Figure II-06 :	Des composé hétérocyclique azotés.....
Figure II-07 :	méthode de synthèse prometteuse.....
Figure II-08 :	Structure chimique de la chloroquine à gauche et de l'hydroxychloroquine.....
Figure III-01 :	Etapes du processus de découverte d'un médicament.....
Figure III-02 :	Force de champ.....
Figure III-03 :	Distance r entre deux atomes i et j
Figure III-04 :	Angle θ permettant le calcul de l'énergie de flexion séparant les atomes i, j et k
Figure III-05 :	Angle de torsion (ou dièdre) φ entre quatre atomes de carbone.
Figure III-06 :	Représentation de la courbe d'énergie d'un espace conformation el à une dimension.....
Figure III-07 :	principe général d'un programme de docking.....
Figure III-08 :	Protocol générale de Docking.....
Figure III-09 :	Petite molécule amarrée à une <u>protéine emplacement haut</u>
Figure III-10 :	protocole générale de docking moléculaire.....
Figure III-11 :	classification des méthodes de criblage virtuel « ligand based » et « structure based » les plus utilisés au cours du processus R&D notamment par les chimistes.....
Figure III-12 :	Docking entre protéines et molécules.....

Liste des tableaux

Tableau II-1. *Bis*-nucléophiles et *bis*-électrophiles.....

Tableau II-2. Types de cyclisations

Tableau II-3. Exemples d'infections virales pour lesquelles la chloroquine
ou l'hydroxychloroquine ont été testées *in vitro* et dans des essais cliniques.....

Tableau III-01 : Principaux programmes de docking moléculaire.....

Liste des abreviations

PA	Principe Actif
HTS	High-throughput screening
H2	Anti-Histaminiques
USA	United States of America
GBR	Great Bear Rainforest
CTX	Clinical Trials Exemption
5M	Maitrise des cinq éléments essentiels
AMM	Autorisation de mise sur le marché
RCP	Résumés des caractéristiques du produit
R*	Radiaux libres
Bis- électrophile	Di-électrophile
CNRS	Centre National de la recherche Scientifique
ARN	L'Acide Ribonucléique
ADN	Acide Désoxyribonucléique
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VHC	Virus de l'hépatite C
ALAT	Alanine Aminotransférase
CD4	Cluster de Différenciation 4
CV	Criblage virtuel
MM	Mécanique moléculaire
RX	Rayon X
PDB	Protéin Data Bank
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
3D	Tridimensionnelle
SDF	Structure Data File
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationship
R&D	Recherche et Développement
ABDA	Base de Données des Drugs
AMK	Commission des Médicaments des Pharmaciens Allemandes
DM	Dynamique Moléculaire

Table de matières

Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction générale.....	1

Chapitre I : Drug Discovery

I.2 Définition et composition d'un médicament	4
I.2.1 Définition	4
I.2.2 Composition	4
I.3.Processus de développement	5
I.4.cycle de production des médicaments	6
I.5.Les grandes étapes de la production d'un médicament	7
I.5.1.Phase de recherche de nouvelles molécules.....	7
I.5.1.1.Les 4 stratégies de conception des médicaments.....	7
I.5.2.Phases des essais précliniques	8
I.5.3.Phase d'élaboration (pré-formulation et formulation).....	9
I.5.3.1.La pré formulation	9
I.5.3.2. La formulation.....	9
I.5.3.2.1. Choix du principe actif	10
I.5.3.2.2. Choix de la voie d'administration	10
I.5.3.2.3. Choix de la forme galénique	11
I.5.3.2.4. Choix de l'excipient	11
I.5.3.2.5. Choix du procédé de fabrication.....	11
I.5.3.2.6. Le conditionnement	11
I.5.3.3. Optimisation de la formulation	12
I.5.4. Phases du développement clinique	12
I.5.4.1. Les essais de phase I : Tolérance.....	12
I.5.4.2. Les essais de phase II : efficacité.....	12
I.5.4.3. Les essais de phase III : Rapport (tolérance/efficacité).....	13
I.5.4.4. Les essais de phase IV : production et commercialisation	13
I.5.5. Phase d'enregistrement.....	13

I.5.5.1. Résumé du dossier	13
I.5.5.2. Documentation chimique et pharmaceutique : (qualité).....	14
I.5.5.3. Documentation toxicologique et pharmacologique : (sécurité).....	14
I.5.5.4 Documentation clinique	14
I.5.6. phase de Production industrielle.....	14

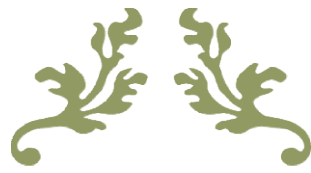
Chapitre II : les hétérocycles

II.2. Classification	18
II.2.1. Hétérocycles non aromatiques.	20
II .2.2. Hétérocycles aromatiques	20
II .3. Généralités sur les méthodes de synthèse d'hétérocycles	20
II.4. Synthèse d'hétérocycles	22
II .4.1. Hétérocycles azotes	23
II. 4.2. Les principaux types d'hétérocycles azotés	23
II.5. Médicaments hétérocycliques	24
II. 6. Chloroquine et hydrox chloroquine	25
II.6.1 Effets indésirables de la chloroquine.....	25
II.6.2. La chloroquine et la malaria	26
II.6.3. la chloroquine pour soigner le Covid-19	26
II.6.4. Chloroquine et hydrox chloroquine : des antiviraux efficaces ?.....	27

Chapitre III :Docking moléculaire

III.1.Vers de nouveaux médicaments.....	30
III.2. Les méthodes de la modélisation moléculaire	31
III.2.1.Mécanique Moléculaire	32
III.2.1.1. Bases et principes	32
III.2.1.2. Champs de forces	32
III.2.1.2.1. Energie de liaison	33
III.2.1.2.2. Energie de flexion	34
III.2.1.2.3. Energie de torsion	34
III.2.1.2.4. Energie d'interaction entre atomes non liés	35

III.2.1.2.4.1 Energie de van der Waals	35
III.2.1.2.4.2. Energie électrostatique	35
III.2.1.3. Minimisation d'énergie	36
III.2.2.Dynamique Moléculaire	37
III.2.3.Docking Moléculaire	38
III.2.3.1. Etapes de Docking Moléculaire.....	39
III.2.3.2. Protocole Générale de Docking	39
III.3. Docking moléculaire	40
III.3.1. Définition	40
III.3.2. Principes	42
III.3.3. Approches de la conception de médicament	42
III.3.3.1. Approche « ligand- based »	43
III.3.3.2. Approche « structure –based »	43
III.3. 4. Types de docking moléculaire	44
III.3.4.1. Docking rigide	44
III.3.4.2. Docking flexible	44
III.3.4.3. Docking semi –flexible	44
III.3.5 Docking entre protéines et molécules	45
III.3.6. Programmes de docking les plus cités	45
III.3.7. Base de données des protéines et drug.....	47
III.3.7.1. Base de données des protéines	47
III.3.7.2. Base de données des drugs	48



Introduction générale

Le processus de recherche et de développement d'un médicament est constitué de différentes étapes, qui permettent de passer de la découverte d'un principe actif susceptible d'avoir un effet pharmacologique à sa commercialisation comme médicament. C'est un processus long (10-20 ans, voire plus), coûteux, et très encadré administrativement, juridiquement et éthiquement.

Par le passé, un grand nombre de médicaments ont été découverts tout simplement grâce à l'identification de principes actifs extraits de substances naturelles historiquement utilisées dans la médecine non-conventionnelle, ou même par hasard. Mais plus le nombre de médicaments connus n'augmente et plus les probabilités de faire une telle découverte sont faibles. Par la suite, les avancées dans le domaine de la synthèse chimique ont conduit à une démarche de recherche systématique permettant l'élaboration de nouveaux médicaments de plus grande efficacité.

Aujourd'hui, l'évolution des outils informatiques ont permis le développement important de nouveaux outils spécialement dédiés à la modélisation moléculaire. Grâce à cette évolution et aux progrès en biologie moléculaire, les chercheurs parviennent à simuler l'action de substances thérapeutiques, d'où la naissance des techniques du «drug design».

Les techniques dites de drug design, ayant pour objectif la conception de molécules actives et utilisant les méthodes de la modélisation moléculaire. Cette dernière, est de plus en plus utilisée aujourd'hui pour étudier les réactions chimiques, la dynamique des protéines et reste moins utilisées pour l'élucidation de mécanismes physiopathologiques à l'origine des pathologies humaines que ce soit en terme diagnostique ou thérapeutique.

L'objet essentiel de ce mémoire est donc de mieux connaître le processus de développement du médicament. Ainsi qu'est d'étudier Le processus de docking moléculaire qui est l'un des premières étapes utilisées dans le drug design.

Nous présenterons ce travail en trois chapitres :

Le premier chapitre : comprend une présentation générale des différentes étapes de production des médicaments.

Le second chapitre : discute les biomolécules hétérocycliques comme les antipaludéens la chloroquine et la hydroxyquinoline.

Le dernier chapitre : est consacré à la description du docking moléculaire et les différents concepts thé.



Chapitre I : Drug Discovery

Sommaires :

- ✓ La découverte des médicaments.
- ✓ Définition et composition d'un médicament.
- ✓ Les grandes étapes de la production d'un médicament.

I.1 Histoire de la découverte des médicaments :

Par le passé, un grand nombre de médicaments ont été découverts tout simplement grâce à l'identification de principes actifs extraits de substances naturelles historiquement utilisées dans la médecine non-conventionnelle, ou même par hasard. Par la suite, les avancées dans le domaine de la synthèse chimique et de la pharmacologie ont conduit à une démarche de recherche systématique permettant l'élaboration de nouveaux médicaments de plus grande efficacité [1]

La découverte d'une molécule médicamenteuse drug discovery le processus de recherche et de développement de nouveaux médicaments est extrêmement long et coûteux. Les différentes étapes sont illustrées schématiquement dans la (Figure I. 1) .Au cours des phases successives, des milliers de molécules doivent être triées et sélectionnées. afin d'obtenir un nombre très limite de candidats.



Figure I-01 : Etapes du processus de recherche et de développement des médicaments

I.2 Définition et composition d'un médicament :

I.2.1 Définition :

Un médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des [maladies](#) humaines ou animales. En vue d'établir un [diagnostic médical](#) ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions [physiologiques](#) en exerçant une action [pharmacologique](#), [immunologique](#) ou [métabolique](#). [2]

I.2.2 Composition :

Le médicament est composé de deux sortes de substances : d'une ou plusieurs substances actives (aussi désigné principe actif — c'est souvent la substance active qui est désignée dans le langage courant par médicament) et d'un ou plusieurs excipients. L'ensemble de la chaîne des médicaments (recherche, production, contrôle qualité, distribution en gros, délivrance aux patients, [pharmacovigilance](#)) est sous la responsabilité de spécialistes diplômés des médicaments, les [pharmaciens](#) [3].

I.3.Processus de développement :

Le développement de médicaments est une procédure longue et coûteuse. De cinquante mille à cinquante millions de composés doivent être généralement filtrés avant de faire un seul médicament. Il faut attendre entre dix et quinze ans, avec un coût voisin de près de 900 millions d'euros [4]. Certaines catastrophes notables ont contribué à la législation serrée qui contrôle l'essai et l'évaluation de médicaments. Les exemples les plus notoires ont été la libération de contaminés sulfamides dans les années 1930, et de la thalidomide à la fin des années 1950 [5]. Ceci a mené à une augmentation considérable du coût de développement de nouveaux produits pharmaceutiques. Sur dix composés actifs, 11 se peut qu'un seul passe les essais cliniques nécessaires (de sécurité) et atteigne le marché [6].

Ce processus est divisé en deux étapes principales : l'étude préclinique et l'étude clinique. Dans l'étude préclinique la nouvelle molécule est isolée puis optimisée afin de devenir un médicament candidat. Dans l'étude clinique, la molécule est évaluée chez l'homme avant d'être mise sur le marché [4].

L'étude préclinique commence avec l'identification de la cible. Après, on passe à la conception et la construction d'une cible pour le dépistage chimique. Il est maintenant possible de limiter cette phase à un coût de 1-4 millions de dollars, selon les bibliothèques et la taille du criblage. Les grandes bibliothèques chimiques sont une ressource vitale pour les grandes entreprises pharmaceutiques. Un candidat tête de série a dû être sélectionné à l'issue des études relations structure-activité comme devant avoir une activité biologique optimale.

Il doit ensuite passer une série d'études de métabolisme, de sécurité et des études cytogénétiques qui peuvent être sous-traitées. Le coût monte ainsi à 12-15 millions de dollars par molécule. Il s'agit d'un obstacle majeur pour les universités et de nombreuses entreprises de biotechnologie. Après avoir passé les obstacles de sécurité préclinique, une molécule prête pour le développement pourrait valoir plusieurs fois le coût des tests de sécurité, d'où le retour sur l'investissement grâce à cette étape peut être assez élevé pour ceux qui ne peuvent pas prendre le risque [7].

L'étape la plus cruciale est la preuve du concept de l'efficacité ou l'étude clinique, qui est au début de la phase clinique du développement de médicaments, mais peut être considérée comme une fin essentielle à un programme de découverte de médicaments d'une durée de cinq à sept ans.

I.4.cycle de production des médicaments :



Figure I-02 : gestion du cycle de vie

Après la commercialisation d'un médicament, le processus de développement continue à explorer :

- D'autres utilisations (indications) possibles du médicament. Par exemple, si l'indication initiale d'un médicament est l'asthme, une nouvelle indication pourrait être une autre maladie pulmonaire telle que la bronchopneumopathie chronique obstructive.
- de meilleurs modes de fabrication et d'utilisation du médicament (nouvelles formulations). Par exemple, une formulation spécialement conçue pour les enfants.

Toutes ces activités sont regroupées sous le nom de « gestion du cycle de vie »

Autres changements intervenant dans le cycle de vie d'un médicament :

Lorsqu'un médicament est mis sur le marché pour la première fois, il est protégé par un brevet. Ce brevet empêche les autres laboratoires de commercialiser un médicament similaire. À l'expiration du brevet ou de protection des données du médicament, d'autres laboratoires pharmaceutiques fabriqueront et commercialiseront le même produit. Ce produit est alors appelé « générique ».

Un nouveau médicament est habituellement mis sur le marché en tant que « Médicament vendu uniquement sur ordonnance ». Ce qui signifie que les professionnels de santé peuvent superviser l'utilisation du médicament au cours des premières années. Par la suite, si cela est justifié et ne constitue pas un danger, il peut devenir un médicament vendu sans ordonnance. Il faut alors modifier son statut réglementaire et obtenir un nouvel accord de licence. Les patients peuvent acheter le médicament sans ordonnance dans une pharmacie ou un supermarché (selon le pays).[8]

I.5. Les grandes étapes de la production d'un médicament :

La forme galénique ou forme pharmaceutique (forme médicamenteuse):

- Désigne la forme individuelle sous laquelle sont mis en forme les PAs et les excipients pour constituer un médicament.
- Elle correspond à l'aspect physique final du médicament tel qu'il sera utilisé chez un patient : comprimés, gélules, sachets, solutions buvables, suspensions injectables, etc.

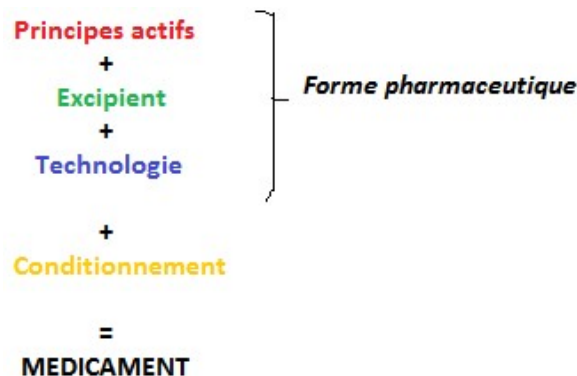
principe actif : (substance active)

Tout composant d'un médicament qui est destiné à exercer une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le diagnostic, le traitement ou la prévention d'une maladie, ou à agir sur la structure ou les fonctions de l'organisme humain ou animal par les moyens pharmacologiques. Un médicament peut contenir plusieurs PAs.

Excipient :

Ce sont des substances qui véhiculent, qui facilitent l'administration et la conservation du PA. Ils peuvent également lui donner un arôme ou une couleur.

- Produire un médicament c'est :



Dans l'industrie pharmaceutique, ces processus peuvent-être subdivisés et répartis en les phases ou étapes suivantes :

I.5.1. Phase de recherche de nouvelles molécules

Environ 40% de tous les médicaments utilisés sont dérivés de la nature, la recherche d'une nouvelle molécule est basée sur :

I.5.1.1. Les 4 stratégies de conception des médicaments

- **Synthèse d'analogues de médicaments connus** : (même famille thérapeutique, isomères...)

Ex :oméprazole, esoméprazole

➤ **Exploitations d'effets observés :**

Ex: hypoglycémies lors de l'utilisation de sulfamides antibactériens: création des sulfamides hypoglycémisants

➤ **Screening à haut débit de molécules naturelles ou de synthèse :**

L'expression de criblage ou criblage à haut débit (high-throughput screening, HTS) désigne dans le domaine de la pharmacologie, de la biochimie, de la génomique et de la protéomique, les techniques visant à étudier et à identifier dans les chimiothèques et ciblothèques, des molécules aux propriétés nouvelles, biologiquement actives.

Elle nécessite l'utilisation de la robotique, de l'informatique et de la bio-informatique pour accélérer la phase de test des molécules.

➤ **Approche rationnelle :** identification d'une cible thérapeutique et création de molécules spécifiques.

Ex: anti H2: identification du rôle des récepteurs dans la sécrétion gastrique en 1972 et mise sur le marché d'inhibiteurs spécifiques en 1978.

I.5.2. Phases des essais précliniques :

Le but de ces essais est de s'assurer de l'effet pharmacologique, la non toxicité du produit ainsi l'étude du devenir du médicament chez l'animal. Et est basé sur :

➤ **Screening pharmacologique :**

Il vise à sélectionner par des études de pharmacologie biochimique in vitro (liaisons aux récepteurs, expériences à réaliser sur des cellules, des tissus ou des organes isolés) les molécules ayant une activité pharmacologique intéressante qui seront ensuite testées chez l'animal.

➤ **Toxicologie :**

Les études de toxicologie permettent d'éliminer les substances trop toxiques ainsi de prévoir les effets secondaires du futur médicament. Ils permettent également d'acquérir des informations sur la cancérogénicité et sur la toxicité d'organes cibles (rein, foie, cœur, ...).

➤ **Pharmacocinétique :**

Le devenir du médicament : son absorption, sa distribution, son métabolisme et son élimination est étudié chez l'animal.

Pendant cette **étude préclinique** seule une faible proportion de molécules pourra être testée chez l'animal. Dans certain nombre de pays (USA, GBR) les études cliniques ne peuvent débuter qu'après soumission d'un dossier (clinical trials exemption CTX) rassemblant l'état des connaissances sur le principe actif et la ou les forme (s) pharmaceutique (s) destinée (s) à être utilisée (s) au cours du programme clinique.

I.5.3.Phase d'élaboration (pré-formulation et formulation):

On peut résumer la phase d'élaboration dans la **Figure I.03** :

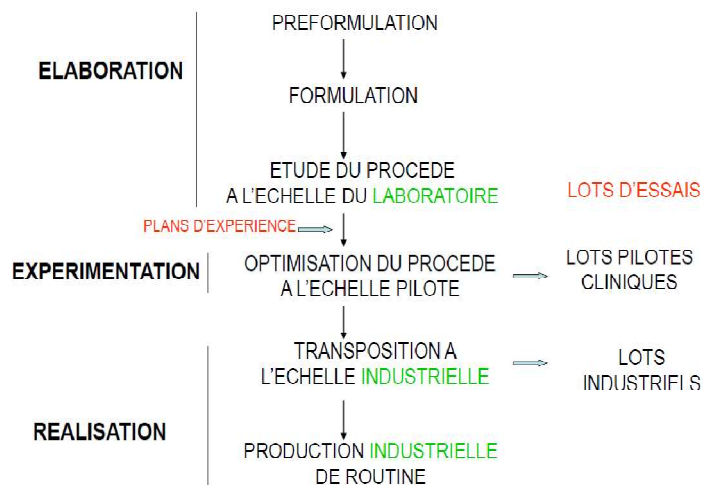


Figure I-03 : Etapes du développement galénique

I.5.3.1.La préformulation :

C'est l'étape de développement qui consiste à optimiser les performances d'une matière première (principe actif ou excipient) à travers la détermination des caractéristiques physico-chimiques, technologiques et biologiques du principe actif nécessaire pour le formuler et développer une forme pharmaceutique stable ayant la biodisponibilité maximale, vue de la formulation d'une forme stable, efficace et sûre ».

- L'objectif des études de préformulation est de réunir les données nécessaires à un développement rationnel de la forme pharmaceutique souhaitée.

I.5.3.2. La formulation : La formulation est « l'art de sélectionner qualitativement et quantitativement les principes actifs et les excipients (nature, état physique, caractères organoleptiques, etc.) en fonction de la forme galénique et des opérations pharmaceutiques y conduisant ».

- **PA + excipients (Matière première) + technologie = formulation**

La formulation, à partir des acquis de la préformulation, va permettre de tester quantitativement la formule ainsi que le procédé de fabrication retenu. Cela demande dans un premier temps de réaliser des essais de faisabilité puis dans un deuxième temps d'optimiser un certain nombre de paramètres organoleptiques et pharmacotechniques.

Les choix effectués lors de la phase de formulation s'appuient sur des critères :

- Pharmacotechniques (faisabilité technique du procédé),
- Analytiques (stabilité du principe actif, teneur en principe actif, uniformité de teneur, profil de dissolution, teneur en produits de dégradation...)

- Microbiologiques dans certains cas (propreté microbienne, efficacité des conservateurs...)
 Les objectifs visés par la formulation au cours du développement galénique sont résumés dans le schéma suivant :

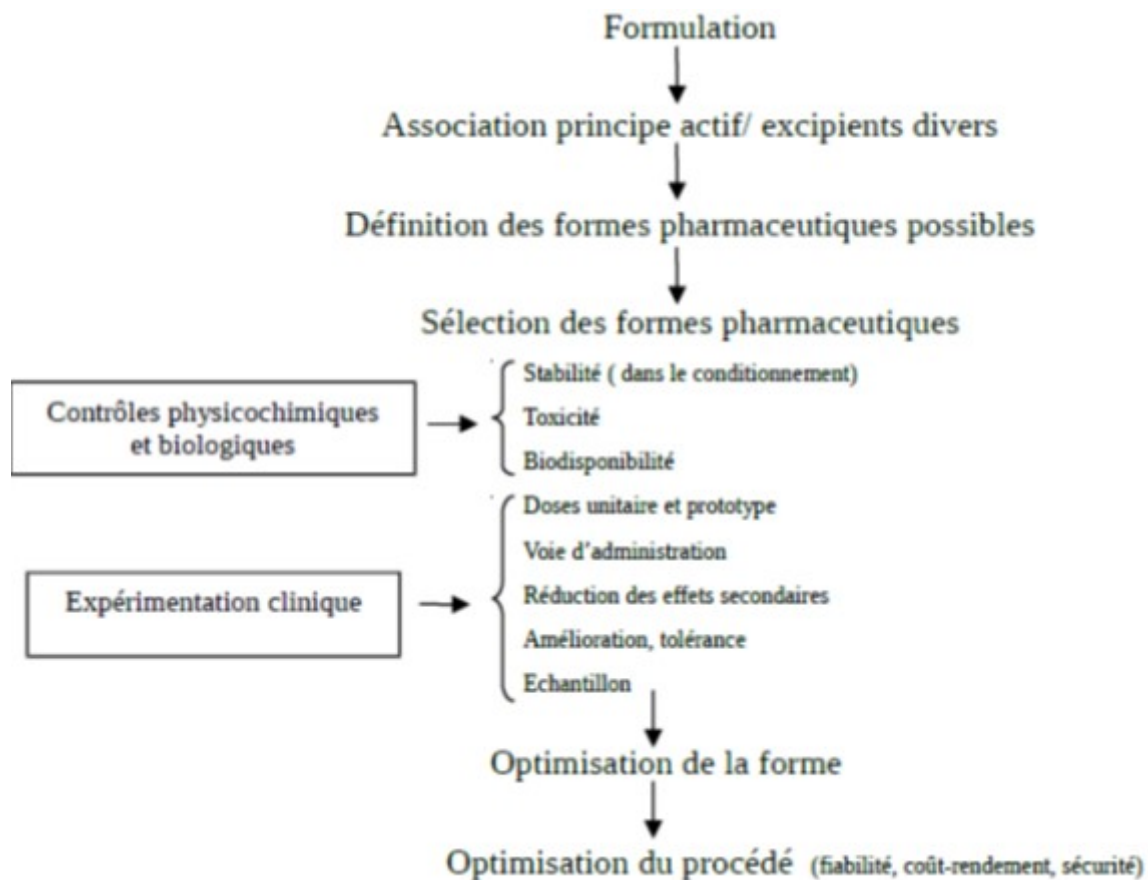


Figure I-04 : schéma d'objectifs visés par la formulation

Les choix effectués suivantes

I.5.3.2.1. Choix du principe actif :

Le PA peut exister sous plusieurs formes cristallines, ou sous forme de dérivés tels que sel, ester...hydrates.

Le choix est fonction du:

- Mode d'administration
- Stabilité : la forme polymorphe est plus stable
- Solubilité : PA doit être le plus soluble possible
- Biodisponibilité du PA

I.5.3.2.2. Choix de la voie d'administration :

Le choix de la voie d'administration dépend de :

- La biodisponibilité du principe actif
- La vitesse d'action désirée, durée de traitement, le nombre de prises par jours,

- Type de malade, c'est-à-dire son âge (nourrisson, enfant, adulte, vieillard), de sa situation debout ou alité, à domicile ou hospitalisé.....

I.5.3.2.3. Choix de la forme galénique :

Le choix de forme galénique découle de celui de la voie d'administration. A priori et même en se limitant à la voie orale, de très nombreuses formes pharmaceutiques peuvent être envisagées pour l'administration d'un principe actif.

Exemple :

Sirop- gélule liquide

I.5.3.2.4. Choix de l'excipient :

L'excipient ou \square substance auxiliaire \square , est un élément important de la formule, et en particulier un élément de qualité du médicament.

L'excipient est constitué d'une matière ou d'un mélange de matières inactives sur la pathologie dépourvu

donc de propriétés pharmacologiques, utilisé pour donner à une forme galénique une présentation convenable à son utilisation : poids, volume, goût, conservation, consistance.

Il est également un élément fondamental pour la stabilité et la biodisponibilité du principe actif.

I.5.3.2.5. Choix du procédé de fabrication :

Le choix du procédé de fabrication est fonction de :

- L'objectif à atteindre ou forme galénique désirée
- Le matériel industriel disponible, sa capacité et ses limites imposées par le constructeur
- Prix de revient industriel.

Les procédés de fabrication doivent être optimisés en fonction des matières premières, du matériel et des conditions opératoires : détermination des facteurs les plus influents sur la qualité du produit.

La fabrication doit être robuste : résistante aux sensibilités dues aux variations minimales dans le procédé de fabrication.

I.5.3.2.6. Le conditionnement :

Le conditionnement est une opération complémentaire de la mise en forme pharmaceutique, qui assure la conservation du médicament pendant le temps prévu à son utilisation.

Il comporte :

- L'emballage primaire ou récipient en contact direct avec la substance médicamenteuse.
- L'emballage secondaire destiné à apporter une protection supplémentaire au produit.

-Les matériaux autorisés dans la fabrication des récipients sont en matière plastique et verre

I.5.3.3. Optimisation de la formulation :

Avec l'expérience du formulateur dans le cas d'un process déterminé la formule pourra évaluer vers une formulation semi quantitative puis qualitative, en fonction des études de stabilité et également de biodisponibilité.

L'optimisation qualitative est réalisée également en fonction des transpositions d'échelles successives, de l'échelle laboratoire à l'atelier pilote.

L'optimisation de la formule peut en fait intervenir principalement à trois niveaux:

- Au niveau du principe actif: cristallisation, solvataion, granulométrie,.....
- Au niveau du process utilisé: par exemple pour les formes orales, par granulation sèche ou humide, ou par compression directe
- Au niveau des excipients: inerte ou actif, simple ou complexe, connus ou nouveaux,..... Objectif de l'optimisation est la réalisation du lot prototype.
- **Mise au point du prototype**

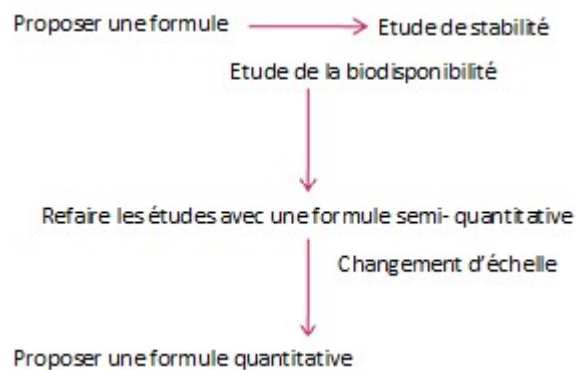


Figure I-05 : étapes de conception d'un médicament

I.5.4. Phases du développement clinique :

On distingue 4 phases dans les essais cliniques :

I.5.4.1. Les essais de phase I : Tolérance

Essais sur volontaires sains pour juger de la sécurité d'emploi du médicament.

- Premières administrations chez l'être humain sain, et comprend les études d'activité pharmacodynamique, des paramètres pharmacocinétiques de tolérance et de la sécurité d'emploi lors des premières administrations chez l'homme (le plus souvent chez les volontaires sains). Le nombre de sujets varie de 20 à 80 selon le médicament.

I.5.4.2. Les essais de phase II : efficacité

Essais sur des petits groupes de malades pour analyser l'activité du futur médicament en termes d'effets dose-réponse.

- Premières essais chez le malade qui ne sont entreprises que lorsque les potentialités thérapeutiques et l'innocuité du produit ont été bien cernées pour justifier ces administrations. Ils comprennent les études permettant d'évaluer l'efficacité du produit, sa posologie optimale dans les essais à court terme, les paramètres pharmacocinétiques en administration chronique, la relation dose/effet, l'interaction avec les différents états pathologiques et autres médicaments majeurs. Le nombre de sujet varie entre 100 et 200.

I.5.4.3. Les essais de phase III : Rapport (tolérance/efficacité)

Essais multicentriques qui permettent de confirmer l'efficacité du médicament comparativement aux traitements existants ou à un placebo.

- Ils portent sur un grand groupe de malades et comprennent le complément indispensable d'étude permettant d'utiliser en toute connaissance le médicament et de le situer par rapport aux autres thérapeutiques et cela dans des conditions proches de l'utilisation future du produit. Ils sont réalisés sous forme comparative entre aux moins 2 groupe de malades. Un groupe reçoit un produit connu est sert de témoin, l'autre groupe reçoit le produit à évaluer. En l'absence de produit de référence le groupe témoin reçoit un placebo.

I.5.4.4. Les essais de phase IV : production et commercialisation

Essais effectués après la délivrance de l'autorisation de mise sur le marché, réalisés dans des conditions proches de la médecine de ville.

- Ils se déroulent après que le produit soit commercialisé, ils apportent les informations liées à l'utilisation à grande échelle et pendant longtemps du médicament et dans des circonstances pouvant modifier le niveau d'efficacité et de sécurité évalué en fin de phase III.
- En outre, ils sont destinés à identifier les rares cas qui n'auraient pas été révélés par les essais cliniques ou qui se produisent chez des groupes précis d'utilisateurs.

I.5.5. Phase d'enregistrement :

Aucun médicament ne peut être mise sur le marché sans enregistrement, la demande d'autorisation de mise sur le marché est adressé à l'autorité compétente et comporte une description détaillée et précise du médicament. Ce dossier est composé de quatre parties :

I.5.5.1. Résumé du dossier :

Qui comporte les données administratives, le RCP et les rapports des experts

I.5.5.2. Documentation chimique et pharmaceutique : (qualité)

- Elle comprend les éléments suivants :
 - - La composition qualitative et quantitative
 - - Forme pharmaceutique, mode et voie d'administration
 - - Description des procédés de fabrication
 - - Contrôles de matières premières et des articles de conditionnements
 - - Contrôles effectués sur les produits semi-finis
 - - Contrôles des produits finis
 - - Stabilité et conditions de conservations
 - - Echantillon du modèle et des notices d'information
- **I.5.5.3. Documentation toxicologique et pharmacologique : (sécurité)**
 - - Etude de toxicologie sur des modèles animaux ou biologiques afin de déterminer la sécurité d'emploi à des doses déterminées ; toxicité aiguë, toxicité chronique, potentiel cancérogène, potentiel mutagène, examen de la fonction de reproduction, toxicité embryofœtale, et périnatale.
 - - Pharmacodynamie : afin de repérer les modifications apportées au processus pathologique dont on recherche à limiter la progression ou les effets et d'en mesurer les bénéfices, interactions médicamenteuses, pharmacocinétiques.
- **I.5.5.4 Documentation clinique :**
 - Toutes les phases des essais cliniques sont présentées : résumés tabulés des essais ; rapports exhaustifs des essais cliniques.⁸

I.5.6. phase de Production industrielle:

Une fois l'AMM obtenue, l'objectif est de reproduire à des milliers, des centaines de milliers ou même des millions d'exemplaires le prototype. Une usine de fabrication pharmaceutique peut être considérée schématiquement comme enceinte dans laquelle il entre des matières premières et d'où il sort des produits de qualité définie et des déchets

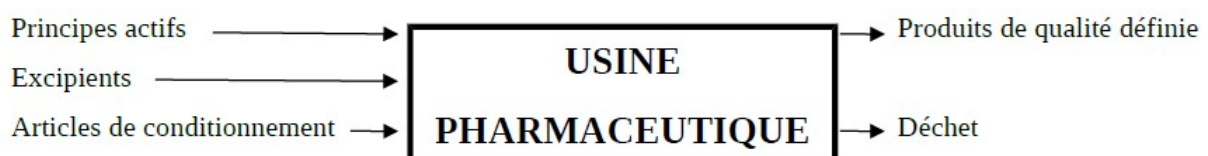


Figure I-06 : représentation schématique d'une usine pharmaceutique

Pour obtenir des produits de qualité, des guides de bonnes pratiques de fabrication des médicaments

donnent les lignes directrices à suivre pour la maîtrise des cinq éléments essentiels, les « 5M » qui interviennent

dans l'assurance de la qualité du produit médicament :

- Main d'oeuvre : ensemble du personnel ; encadrement, direction et exécution
- Matériel : locaux et équipements
- Milieu : environnement intérieur et extérieur
- Méthodes : procédés et procédures
- Matière : matière première, articles de conditionnement et autres fournitures

➤ **Le personnel :**

Le fabricant doit disposer d'un personnel qualifié et en nombre suffisant pour mener à bien toutes les tâches qui lui incombent. Les responsabilités individuelles doivent être clairement comprises par les intéressés. Tous les membres du personnel doivent être conscients des principes de Bonnes Pratiques de Fabrication qui les concernent; il convient d'assurer leur formation initiale et continue et notamment de donner les instructions d'hygiène en rapport avec l'activité exercée. Des programmes détaillés consacrés à l'hygiène doivent être établis et adaptés aux différents besoins de l'entreprise.

➤ **Locaux et équipements :**

Les locaux doivent être situés, conçus, construits, adaptés et entretenus de façon à convenir au mieux aux opérations à effectuer. Leur conception doit tendre à minimiser les risques d'erreurs et à permettre un nettoyage et un entretien efficaces en vue d'éviter les contaminations croisées, le dépôt de saletés et, de façon générale, toute atteinte à la qualité des produits. Le matériel de fabrication et de contrôle doit être conçu et installé en fonction de sa destination, il doit être conçu de façon à permettre un nettoyage facile et minutieux. Il doit être nettoyé selon des procédures écrites détaillées et rangé dans un endroit propre et sec.

➤ **Documents :**

Les fabricants doivent utiliser un système de documentation couvrant les différentes opérations de fabrication effectuées. Ces documents retracent l'histoire de chaque lot produit. Des systèmes de traitement électroniques ou autres peuvent remplacer les documents écrits. Dans ce cas, le fabricant doit prouver que les données seront correctement conservées pendant la période envisagée.

➤ **Production :**

La production doit être effectuée dans le respect des bonnes pratiques de fabrication et être conforme aux instructions et procédures préétablies. Afin d'éviter notamment les contaminations croisées, des mesures à caractère technique ou organisationnel doivent être prises. Une unité de production est constituée par un ensemble de locaux délimités traversés par un flux de matières dont la qualité doit être parfaitement maîtrisée.

➤ **Contrôle de la qualité :**

Les fabricants doivent avoir à leur disposition un département de contrôle de la qualité. Ce département est placé sous l'autorité d'une personne indépendante des autres départements qui possède les qualifications requises. Il doit disposer d'un ou de plusieurs laboratoires de contrôle possédant le personnel et le matériel suffisants afin de procéder aux essais nécessaires sur les matières premières et articles de conditionnement, ainsi qu'aux contrôles sur les produits intermédiaires et finis. Le recours à des laboratoires extérieurs peut être autorisé. Lors de l'évaluation des produits finis avant leur libération pour la vente ou la distribution, le département de contrôle de la qualité doit notamment tenir compte des conditions de production, des résultats des contrôles en cours de fabrication, de l'examen des documents de fabrication et de la conformité des produits aux spécifications.[9]



Chapitre II : les hétérocycles

sommaires

- ✓ Définition des hétérocycles
- ✓ Classification
- ✓ Synthèse d'hétérocycles
- ✓ Médicaments hétérocycliques
- ✓ Chloroquine et hydrox chloroquine

La chimie des hétérocycles a connu au cours de ces dernières années un grand développement qui s'est traduit par un nombre impressionnant de composés contenant dans leur structure au moins un hétérocycle. En effet sur les 65 millions de composés chimiques, plus des deux tiers contiennent un système hétérocyclique (statistiques 2009). Les hétérocycles sont importants, non seulement en raison de leur abondance et de leur extraordinaire diversité, mais sur tout en raison de leur utilité aussi bien dans le domaine biologique, médicinal (vitamines, hormones, antibiotiques, etc.), que dans le secteur industriel et technologique (inhibiteurs de corrosion, colorants, agents stabilisants, pesticides, herbicides, etc) [10] Plusieurs équipes de recherches à travers le monde, dans les pays industrialisés ou en voie de développement, se sont spécialisés dans la chimie des hétérocycles à intérêt pharmaceutique et industriel important.

L'explosion des recherches dans ce domaine à travers des années est justement marqué par le nombre important de série de mise au point : journaux à écho international spécialisés dans la chimie hétérocycle, citons : Hétérocycle (1973), Journal of heterocyclic chemistry(1964). D'autres revu scientifiques régionales ou locale des pays, et des séries de traités sur la chimie des hétérocycles ont été publiées depuis les années cinquante :

- Heterocyclic Compounds (Eledefied 1950) .
- The Chemistry of Heterocyclic Compounds (Weisserbenger 1950).
- Compressive Hétérocyclique Chemistry (publié par pergamon 1984).
- Thiazole in dits dérivatives (Metzger 1979).

Approximativement deux tiers de publications en chimie concernent de près ou de loin les hétérocycles du fait de leur diversité structurale, de leurs propriétés et des vertus innombrables qui les caractérisent. Un très grand nombre des substances et des médicaments naturels ou de synthèse sont en fait des hétérocycles. [11]

II.1. Définition des hétérocycles :

Un hétérocycle est un composé organique cyclique dans lequel on va trouver au moins

l'un des atomes constituant le cycle et qui est un hétéroatome. Quand on parle d'hétéroatome on peut penser à l'azote, l'oxygène, le soufre, on peut également trouver plus généralement le

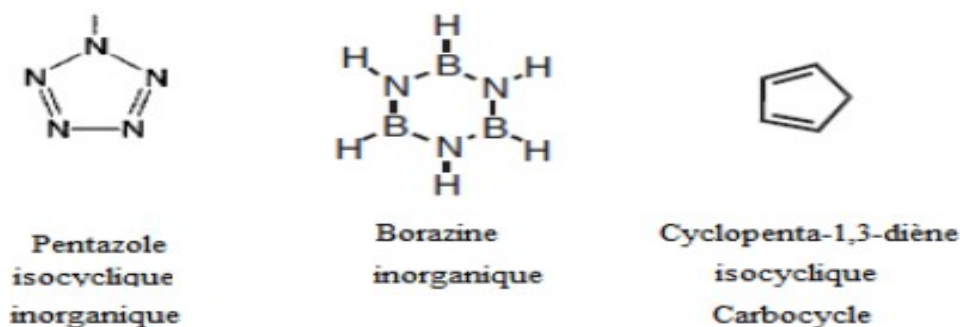
phosphore mais aussi l'arsenic et le silicium. Il peut compter plus d'un hétéroatome (un c'est le minimum) et ces hétérocycles peuvent être de même nature ou différents. [12]

II.2. Classification :

D'après la littérature, les hétérocycles sont classés en aliphatique et aromatique. Les hétérocycles aliphatiques sont les composés cycliques analogues aux amines, éthers, thioéthers, amides, etc... Leurs propriétés sont particulièrement influencées par la présence de

tension de cycle. Généralement, ces composés consistent en les petits cycles à 3- et 4-membres ainsi qu'aux 5- à 7- membres. Par contre, les hétérocycles aromatiques sont ceux ayant un hétéroatome présent dans le cycle et présentant des propriétés similaires à celle du benzène. De plus, ces composés respectent la règle générale de Huckel.

Un hétérocycle est un cycle contenant au moins un atome hors l'atome de carbone. «Hétéro » veut dire différent : soufre, oxygène, azote sont les atomes les plus rencontrés dans un hétérocycle. Les hétérocycles peuvent être aromatiques ou non aromatiques. Les hétérocycles aromatiques sont le plus souvent appelés hétéroaryles. Dans le cas où l'hétérocycle est composé d'un seul type d'atome, les composés correspondants sont dits



cycle minérale ou *inorganique*. Au contraire si le composé cyclique est formé que des atomes de carbones, il est discarbocycle.

De manière générale si le composé cyclique est entièrement composé du même type d'atomes (carbone ou hétéroatome), il s'agit alors d'un composé iso cyclique.

Les hétérocycles qui contiennent un ou des atomes de carbones liés à un ou plusieurs autres éléments comme l'oxygène, le soufre, l'azote...(hétéro éléments ou hétéroatomes) (**Figure 01**) sont appelés composés organiques

Exemples : [13]

Figure II-01 : Quelques types des hétérocycles.

II.2.1.Hétérocycles non aromatiques :

Les hétérocycles non aromatiques qui ont une réactivité limitée étant donné que les carbones constituant ce cycle sont des carbones sp^3 moins réactifs que les carbones sp^2 . Donc la réactivité de ces hétérocycles va être une réactivité des hétéroatomes du cycle ou des substituants en général donc là c'est le cas des sucres par exemple avec réactivité du carbone anomérique.

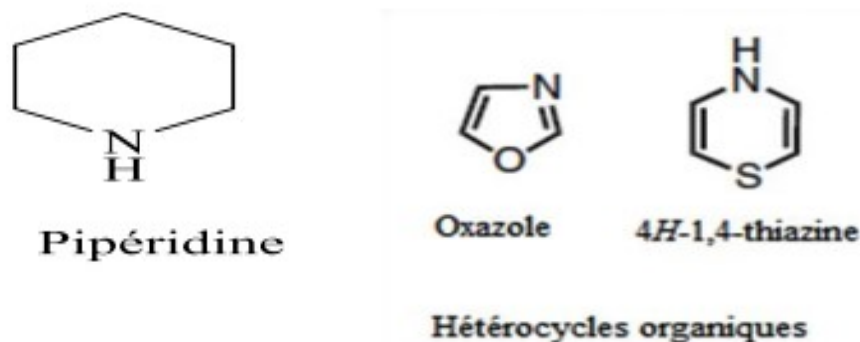


Figure II-02 : Hétérocycle non aromatique

II .2.2. Hétérocycles aromatiques :

Les hétérocycles aromatiques qui vont posséder des propriétés analogues au benzène (analogues car ces propriétés sont différentes en fonction des hétérocycles). [14]

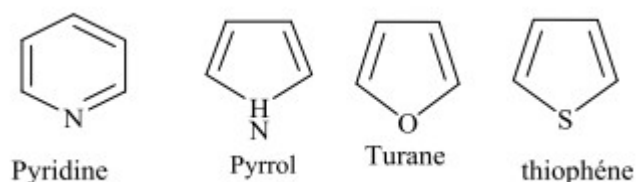


Figure II-03 : Hétérocycle aromatique

II .3. Généralités sur les méthodes de synthèse d'hétérocycles :

Les méthodes générales de synthèse d'hétérocycles aromatiques reposent souvent sur la chimie des carbonyles et de ses dérivés (imine, énamine, éther d'énol). La reconnaissance de ces dérivés de carbonyles dans les hétérocycles mène typiquement à des méthodes efficaces de synthèse. Le schéma 1 démontre des rétro synthèses du pyrrole et de la pyridine.

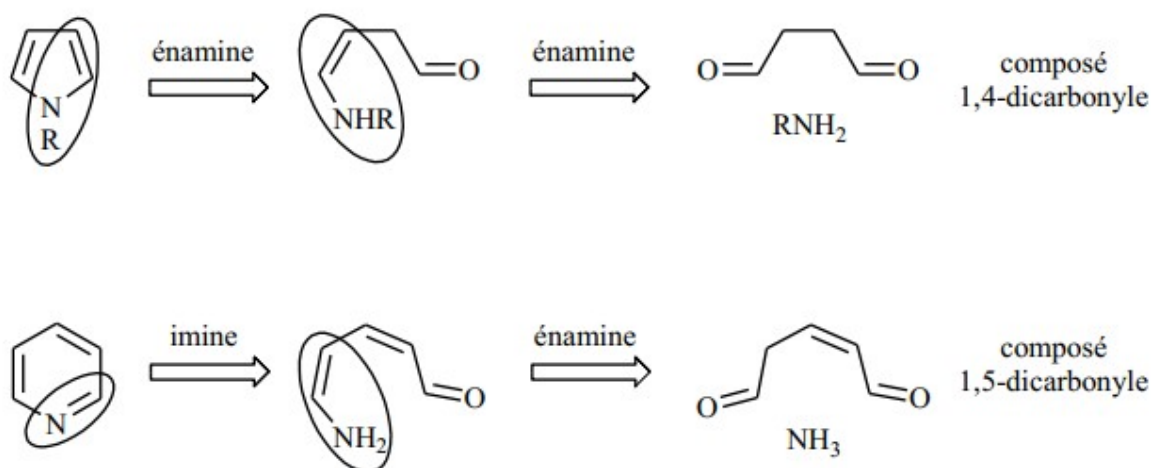


Figure II-04 : Schéma Des rétro synthèses du pyrrole et de la pyridine.

Typiquement, les hétérocycles aromatiques sont formés par condensation d'un *bis*-nucléophile avec un *bis*-électrophile. Le tableau 1 suivant dénote une série de *bis*-nucléophiles et de *bis*-électrophiles utilisés en synthèse.

Tableau II-1. *Bis*-nucléophiles et *bis*-électrophiles.

Position	<i>Bis</i> -électrophiles	<i>Bis</i> -nucléophiles
1,1		H ₂ O, NH ₃ , H ₂ S
1,2		RNH-NH ₂ , RNH-OH
1,3		

Cependant, d'une façon plus générale, on peut aussi concevoir une condensation entre deux fragments, qu'ils soient *bis*-nucléophiles, *bis*-électrophiles, ou qu'ils comportent chacun une portion nucléophile et une portion électrophile comme schématisé à la (Figure 05).

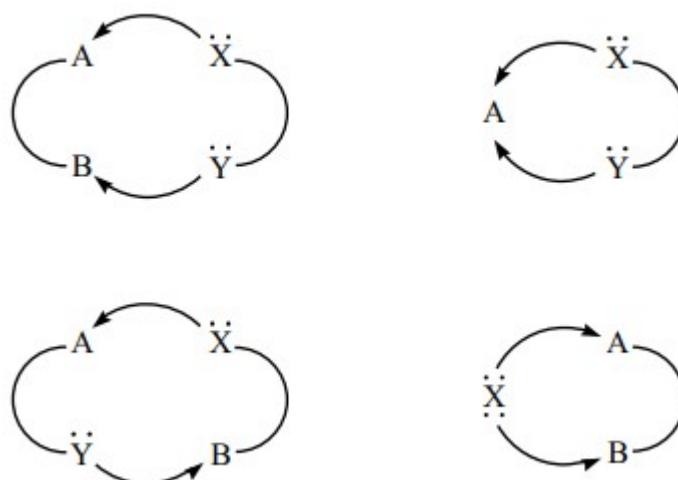


Figure II-05 : Méthodes classiques de préparation d’hétérocycles aromatiques.

Dans chacun de ces cas, la deuxième attaque nucléophile constitue l’étape de cyclisation. Cette cyclisation, dépendamment des substrats, s’inscrit dans l’un ou l’autre des types suivants :

Tableau II-2. Types de cyclisations [15]

Hybridation de Y	sp ³	sp ²	sp	sp ³	sp ²	sp
Type de cyclisation	<i>exo-tet</i>	<i>exo-trig</i>	<i>exo-dig</i>	<i>endo-tet</i>	<i>endo-trig</i>	<i>endo-dig</i>

II.4. Synthèse d’hétérocycles :

La synthèse et la réactivité des principaux hétérocycles oxygénés, azotés ou soufrés Seront détaillées dans ce module. L’implication de ces entités sera révélée à travers la Synthèse de molécules naturelles ou biologiquement actives. En parallèle, sera abordée le Cheminement qui conduit à partir d’une molécule choisie à l’élaboration de composés Médicaments; différentes synthèses de composés hétérocycliques complexes seront également

Décrites. [16]

II .4.1. Hétérocycles azotes :

Un hétérocycle azoté et une chaîne cyclique d’une molécule organique qui comporte au moins un atome d’azote. Il faut savoir que les hétérocycles les plus stables sont, comme les cycles carbonés, ceux qui comportent cinq ou six atomes. [17]

La chimie des hétérocycles est un domaine très vaste, vu le nombre de composés hétérocycliques répertoriés et qui ne cesse de s'étendre. Parmi les différentes classes de composés hétérocycliques, les structures principalement azotées sont présentes dans de nombreux composés naturels d'origine végétale, animale ou produites par voie de synthèse. Ces structures sont parfois associées entre elles mais dans la plupart des cas, elles sont liées à des motifs structuraux très diversifiés. Un certain nombre de composés hybrides comportant principalement des hétérocycles contenant les atomes d'azote, de soufre et/ou d'oxygène, a montré une activité pharmacologique remarquable. [10]

Des hétérocycles azotés pentagonaux du type imidazole, oxadiazoles, thiazoles, thiadiazoles, sont utilisés dans les domaines aussi disparates que celui des colorants, des substances naturelles, des produits cosmétiques ou pharmacologiques et dans l'agriculture. [11]

II. 4.2. Les principaux types d'hétérocycles azotés :

Par type d'hétérocycle, nous entendons, le nombre d'atomes formant la chaîne cyclique qui peut aller de trois à dix atomes. Nous allons citer quelques exemples pour chaque type de composé hétérocyclique azotés. [14]

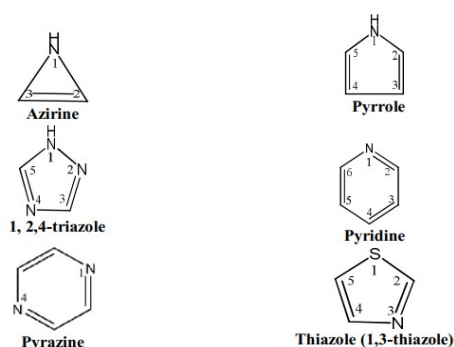


Figure II-06 : Des composé hétérocyclique azotés

II.5. Médicaments hétérocycliques :

Le rôle des composés hétérocycliques est devenu de plus en plus important ces dernières années particulièrement dans la conception de nouvelles classes de composés à activité démontré aussi bien dans le domaine médical et/ou thérapeutique (vitamines, hormones, antibiotiques, anti-tumoraux...). Par exemple le noyau imidazole représente une source efficace et proluxe pour la synthèse d'un grand nombre d'agents actifs dans divers domaines tel que le domaine médical et/ou thérapeutique comme anticancéreux, anti-istaminiques, anti-

inflammatoires, bactéricides, fongicides, anti-hypertensifs, anti-tuberculeux, agents antiparasitaires. [10]

Pour la première fois une équipe de l'institut de chimie des substances naturelles (CNRS) vient de synthétiser simplement et efficacement un type de molécules hétérocycliques utilisées contre les maladies coronariennes. Une nouvelle méthode de synthèse dont pourrait profiter toute l'industrie du médicament.

De nombreuses molécules du vivant (ARN, ADN...) possèdent en leur sein un ou plusieurs composés chimiques circulaires (hétérocycles). Mais également la majorité des médicaments s'est (Lipophile, hydrophile), cette configuration très pratique permet entre autres de faire pénétrer le principe actif à l'intérieur d'une cellule biologique ou de le rendre soluble. Pour la première fois, les chercheurs de l'Institut de chimie des substances naturelles (CNRS) sont parvenus à une méthode simple, propre et efficace de synthèse d'hétérocycles, ouvrant de réelles perspectives industrielles [18]

Outre le cas de ces molécules contre les maladies coronariennes, cette nouvelle méthode de « synthèse asymétrique » représente une avancée majeure. La simplicité de mise en place,

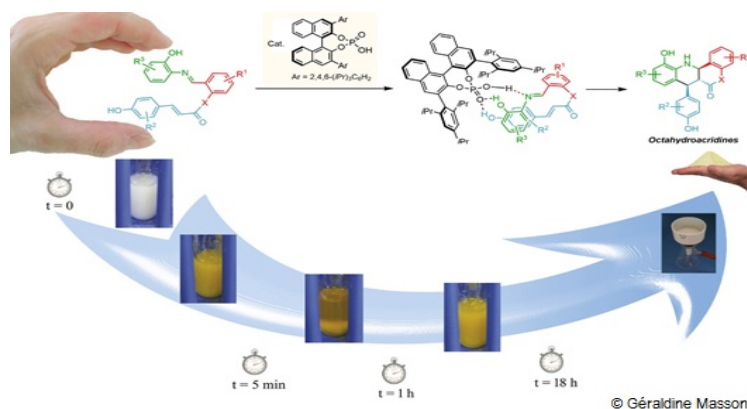


Figure II-07 : méthode de synthèse prometteuse

La facilité de traitement et le bon rendement de l'organocatalyse en fait un outil facilement applicable dans toute l'industrie pharmaceutique.

II. 6. Chloroquine et hydroxychloroquine :

La chloroquine est une molécule de la famille des amino-4-quinoléines utilisée comme médicament pour prévenir et traiter le paludisme. Elle existe aussi sous une forme dérivée, l'hydroxychloroquine, prescrite pour soigner des maladies auto-immunes comme le lupus et la

polyarthrite rhumatoïde. La chloroquine a aussi des propriétés antivirales *in vitro* mais qui n'ont pas pu être prouvées *in vivo*.

La chloroquine est commercialisée sous le nom de Nivaquine et l'hydroxychloroquine sous le nom de Plaque nil. Ces deux médicaments sont disponibles en France uniquement sur prescription médicale (**Liste II**).

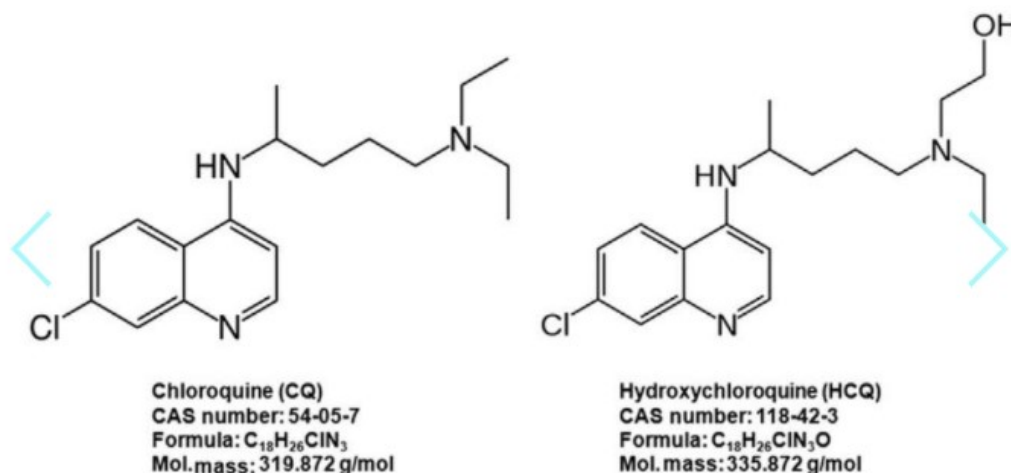


Figure II-08 : Structure chimique de la chloroquine à gauche et de l'hydroxychloroquine à droite.

II.6.1 Effets indésirables de la chloroquine

Les effets indésirables de la chloroquine sont dose-dépendants. La forme hydroxylée est moins toxique. Voici une liste non exhaustive des effets indésirables pouvant survenir :

- Troubles gastro-intestinaux ;
- Eruptions cutanées ;
- Troubles cardiaques : modification de la conduction et du rythme cardiaque ;
- Troubles hématologiques : anémie ;
- Troubles psychologiques : troubles du sommeil, anxiété, confusion... ;
- Troubles du système nerveux : céphalées, étourdissements, convulsions ;
- Troubles de la vision : vue floue, problème d'accommodation ;
- Trouble de l'audition : acouphène ou surdité.

II.6.2. La chloroquine et la malaria :

La chloroquine est le moins cher et le plus répandu des traitements contre la malaria. Cependant, dans de nombreuses régions, surtout en Afrique, les parasites sont devenus résistants aux médicaments les plus courants. Ce qui signifie que les médicaments utilisés ne sont plus efficaces pour guérir la maladie ; Certains médicaments, à base d'artémisinine, sont utilisés par voie intra-veineuse et de façon exceptionnelle dans les cas très graves. [19]

Le parasite de la malaria est principalement transmis à l'homme, lors de la piqûre par une femelle moustique du genre anophèle. Le parasite infecte dans un premier temps les

Cellules hépatiques de la victime (c'est la phase d'incubation hépatique), puis circule dans le Sang en colonisant les hématies et en les détruisant. Le parasite ayant pénétré dans le globule Rouge, va se développer, se multiplier et former un schizonte. Le schizonte érythrocytaire, Arrivé à maturité va libérer une nouvelle génération de parasites plasmodium, capables de Réinfecter d'autres globules rouges.

Ce sont ces éclatements brutaux et synchrones des globules rouges, lors de la libération des nouveaux parasites du schizonte, qui sont à l'origine des accès de fièvre.

Le temps qui s'écoule entre la pénétration d'un parasite dans un globule rouge et L'éclatement de celui-ci est constant chez l'être humain, 48 heures pour les malarias vivax, Ovale et falciparum (on parle alors de fièvre tierce) et 72 heures pour plasmodium malariae (On parle alors de fièvre quarte).

La chloroquine est un antipaludique de synthèse, qui exerce une action essentiellement Schizontocide sur les formes érythrocytaires (globules rouges) des plasmodiums. La Chloroquine est inactive sur les formes intra hépatiques de plasmodium.

Les souches de plasmodium falciparum résistantes à la chloroquine se trouvent en Asie du Sud-est, au nord de l'Amérique du Sud et en Afrique.

La résorption digestive de la chloroquine, est rapide et importante (90%), la diffusion Tissulaire est importante, la métabolisation hépatique est partielle, l'élimination urinaire est Lente (25% en 7 jours) sous forme inchangée (70%) et (30%) métabolisée ; la demi-vie est de

40 à 70 heures ; la chloroquine passe la barrière placentaire, et passe faiblement dans le lait Maternel. [20]

II.6.3. la chloroquine pour soigner le Covid-19 :

Une étude menée par le Professeur Raoult fait état d'un effet de l'hydroxychloroquine (en complément d'un antibiotique, l'azithromycine) sur une vingtaine de patients atteints de Covid-19. Ces travaux n'ont pas suivi le protocole traditionnel des essais cliniques et ne sont donc pas suffisants pour affirmer que l'hydroxychloroquine est un traitement efficace contre le Covid-19. Néanmoins, elle a été intégrée dans une étude clinique européenne, commencée le lundi 23 mars 2020 et comprenant 3.200 patients. [21]

II.6.4. Chloroquine et hydroxychloroquine : des antiviraux efficaces ?

La démonstration d'une activité antivirale *in vitro* n'est évidemment pas travaux ont mis en évidence un effet de la chloroquine et de l'hydroxychloroquine sur la réplication du VIH *in vitro*. Pourtant, un essai comparatif, randomisé, en double-aveugle, comparant l'hydroxychloroquine à 400 mg/j au placebo chez 83 patients VIH+ non traités par

antirétroviraux et ayant des CD4 > 400 / μ L, a montré au bout de 48 semaines de traitement une baisse plus rapide des CD4, et une charge virale augmentée, dans le groupe traité par hydroxychloroquine. Un tel effet paradoxal a également été observé dans un essai comparatif randomisé en double-aveugle comparant l'efficacité de 5 jours de chloroquine vs placebo chez des patients infectés par le chikungunya ; outre l'absence d'effet de la chloroquine sur la virémie, les patients du groupe traité avaient significativement plus d'arthralgies que ceux du groupe placebo, et ce malgré un effet inhibiteur de la chloroquine sur la réplication du virus *in vitro*. Dans le cas du chikungunya, cette discordance clinico-biologique pourrait s'expliquer par les effets immuno modulateurs de ces médicaments, qui modifient la réponse immunitaire cellulaire et humorale à l'infection. Dans d'autres indications comme le traitement de la dengue ou la prévention de la grippe, la chloroquine s'est avérée inefficace malgré une activité *in vitro*. Enfin, une activité contre le virus de l'hépatite C (VHC) a été décrite. Un essai clinique pilote conduit chez une dizaine de patients porteurs du VHC (génotype 1) non répondeurs à l'association interféron alpha pégylé et ribavirine, a montré une diminution de la charge virale et des ALAT, mais cet effet s'est estompé à l'arrêt de la chloroquine

(Tableau 3). Ainsi, à ce jour, malgré de nombreuses pistes prometteuses *in vitro*, la chloroquine ou L'hydroxychloroquine n'ont jamais démontré de réelle efficacité clinique dans le traitement ou la prévention d'infections virales

Infection	Médicament teste	Activité in vitro	Efficacité dans
VIH	Hydroxychloroquine	Inhibe la réplication de VIH	Diminution des CD4 et augmentation de la charge
Dengue	Chloroquine	Inhibe la réplication de virus	Pas d'efficacité clinique démontrée
Chikungunya	Chloroquine	Inhibe la réplication de virus	Pas d'effet sur la charge virale
Grippe	Chloroquine (prophylaxie)	Inhibe la replication des virus H1N1 ET H3N2	PAS de prévention de la grippe Plus d'événements indésirables dans le groupe chloroquine

Hépatite c	Chloroquine	Inhibe la replication du VHC	Baisse de la charge virale, l'effet disparaît à l'arrêt de la chloroquine
------------	-------------	------------------------------	---

Tableau II-3. Exemples d'infections virales pour lesquelles la chloroquine ou l'hydroxychloroquine ont été testées *in vitro* et dans des essais cliniques. [22]



Chapitre III : Docking moléculaire

Sommaires :

- ✓ Les méthodes de la modélisation moléculaire.
- ✓ Docking ou l'amarrage moléculaire
- ✓ Types de docking et moléculaires
- ✓ Docking entre protéines et molécules

Dans ce chapitre III de ce mémoire nous nous intéressons aux méthodes de modélisation moléculaire et comment appliqué à l'étude de techniques de drug design, ayant pour objectif la conception de molécules actives et utilisant les méthodes de la M.M

III.1.Vers de nouveaux médicaments

Le processus de découverte d'un médicament est long et onéreux. Entre 12 et 15 ans et près d'un milliard de dollars sont nécessaires à la mise sur le marché d'un médicament (Figure 01).

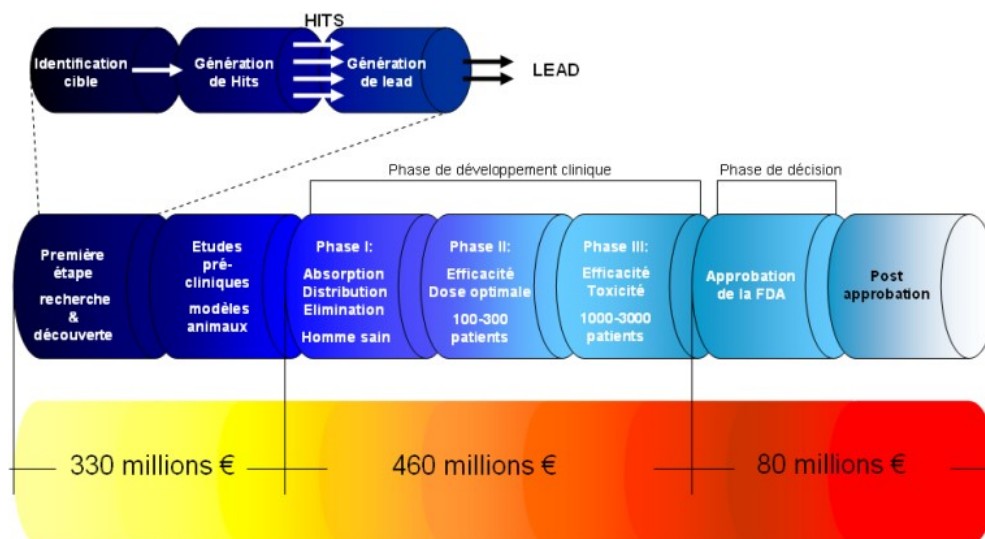


Figure III-01 : Etapes du processus de découverte d'un médicament

En plus d'un total de douze ans d'efforts, ce long processus de développement de nouveaux médicaments est de plus en plus coûteux. De \$359 millions de dollars US en 1993 (Congressional Office of Technology Assessment¹), il est passé à \$897 millions à la fin des années 90 [23]. L'année dernière, une étude du Tufts Center for the Study of Drug Development a même chiffré le développement d'un nouveau produit biotechnologique à \$1.2 milliards de dollars US². Cette étude indique également que le coût est réparti en parts approximativement égales entre le développement pré-clinique et les essais cliniques (respectivement \$625 et \$615 millions de dollars US). Alors que ces coûts augmentent, l'industrie pharmaceutique a rencontré plusieurs difficultés ces deux dernières années [24], qui se sont traduites par de nombreuses fusions/acquisitions guidées principalement par des impératifs à court terme [25]. Ces pratiques ne doivent pas cacher que la solution à long terme la plus vraisemblable est l'amélioration du processus de développement des médicaments [26].

Ces dix dernières années, de telles méthodes ont été utilisées principalement dans deux directions. Elles permettent l'identification de cibles biologiques d'intérêt thérapeutique [27], en particulier grâce au développement des techniques liées au micro puce dans les domaines de la génomique et

de la protéomique. L'explosion des cibles potentielles nécessite la mise au point en aval d'autres méthodes capables de concevoir plus efficacement de nouvelles molécules actives, en impliquant plus en profondeur la pharmaco- et la toxicogénomique, la médecine expérimentale [27] et, bien évidemment, la chimie computationnelle. Quelques-uns des différents rôles que cette dernière peut jouer lors de la conception de médicaments sont présentés dans la référence [28]. On trouve le criblage virtuel (CV), la conception de novo de molécules actives, évaluation de la ressemblance à un principe actif, et la détermination des interactions moléculaires (docking) entre le principe actif et sa cible biologique, le plus souvent une protéine.

III.2. Les méthodes de la modélisation moléculaire :

Les méthodes théoriques utilisées pour l'obtention de modèles permettant de comprendre et de prédire la structure, les propriétés physico-chimiques et les interactions moléculaires sont connues sous le nom de « Modélisation Moléculaire ». Ces méthodes permettent de fournir des informations complémentaires à celles obtenues par des méthodes expérimentales. En effet, le premier domaine d'application de la modélisation moléculaire a été historiquement celui de la chimie. Comme il sera développé plus en détail dans ce chapitre, la modélisation offre également de nombreuses opportunités en biologie expérimentale. Ainsi, la modélisation moléculaire, permet d'obtenir par exemple la structure de l'état de transition d'une réaction chimique donnée, ce qui est difficile, voire impossible, pour la chimie expérimentale. Le expliciter des observations expérimentales, a très fortement augmenté ces dernières années (Van Der Kamp *et al.*, 2008). Une recherche effectuée sur la base de données scientifiques orientée biologie *Pubmed* sur les années 2010-2011 recense plus de 1800 études.

L'augmentation toujours plus rapide de la puissance et de la capacité de calcul mais aussi de la communication (*réseaux*), a favorisé son développement. A chaque système correspond une méthode adéquate. L'utilisation de chaque méthode doit intégrer les hypothèses (validité de la reproduction des valeurs expérimentales), les approximations (champ de force utilisé) et les limitations du modèle lui-même (ex : temps de simulation). Les méthodes utilisées sont très nombreuses : chimie quantique, mécanique moléculaire, dynamique moléculaire (pour une description approfondie voir Leach, 2001).

Pour ce travail de thèse, je me contenterai de décrire les méthodes les plus couramment utilisées en biologie pour l'étude des protéines comme la dynamique moléculaire, l'arrimage moléculaire et la modélisation par homologie.

III.2.1. Mécanique Moléculaire :

En mécanique moléculaire (MM), la description des systèmes se base sur un formalisme proche de la physique classique. En effet, les atomes sont considérés comme des sphères dures incompressibles, portant des charges partielles fixes, liées les uns aux autres par des liaisons assimilées à des ressorts. La mécanique moléculaire s'appuie sur le champ de force qui est une somme de termes énergétiques, harmoniques, représentant les interactions liantes et non-liantes qui ont lieu à l'intérieur d'une molécule ou entre plusieurs molécules. Les paramètres du champ de force sont obtenus à partir de données expérimentales telles que l'étude par spectroscopie infrarouge de la vibration des liaisons ou encore la mesure de la longueur des liaisons par cristallographie aux rayons X. Des méthodes *ab initio* telle que la mécanique quantique peuvent également apporter des informations sur les angles de torsions ou sur la fréquence de vibration des liaisons par exemple.

III.2.1.1. Bases et principes :

Contrairement à la mécanique quantique, la mécanique moléculaire compte explicitement des électrons. Elle traite les atomes et les électrons qui leur sont associés comme des masses ponctuelles chargées, obéissant aux lois de la mécanique classique.

L'énergie de la molécule est exprimée sous la forme d'une somme de contributions associées aux écarts de la structure par rapport à des paramètres structuraux de référence :

$$E = E_r + E_\theta + E_\phi + E_\omega + E_{\text{van der Waals}} + E_{\text{électrostatique}} + E_{\text{liaisons hydrogène}} + E_{r\theta} \quad [29]$$

Les variables du calcul sont les coordonnées internes du système : longueur de liaison r , angles de valence θ , angles dièdres ϕ , angles dièdres impropres ω , ainsi que les distances entre atomes non liés dont les interactions sont représentées par un potentiel de van der Waals le plus souvent de type Lennard Jones et un potentiel électrostatique le plus souvent de type coulombien.

III.2.1.2. Champs de forces :

La Mécanique Moléculaire (MM) est une méthode empirique qui consiste à dégager, grâce à des résultats de la mécanique classique, les propriétés des atomes et des molécules et à déduire des modèles mathématiques simples appelés *Champs de forces* [30-31]. Le champ de forces permet de décrire les forces agissant lorsque la géométrie d'équilibre est perturbée. Sous ce terme sont en fait regroupés deux éléments : d'une part l'expression des différentes fonctions contribuant au calcul énergétique et d'autre part les valeurs des différentes constantes paramétrant ces fonctions. De nombreux champs de forces sont disponibles dans différents logiciels de modélisation moléculaire. Chacun d'eux est limité à une classe de molécules ayant suffisamment de ressemblance structurelle et fonctionnelle. On peut ainsi trouver des champs de force destinés à la modélisation de petites molécules organiques [32], de macromolécules [33],

de nucléotides [34] ou encore de complexes organométalliques [34]. Il est donc dans un premier temps important de vérifier si le champ de force choisi est adapté au système à étudier. Dans ce travail, nous avons utilisé la mécanique moléculaire pour minimiser les structures des molécules dessinées et à étudier. Pour cela nous avons choisi le champ de force MM2 qui est bien adapté à la modélisation des petites molécules organiques [32].

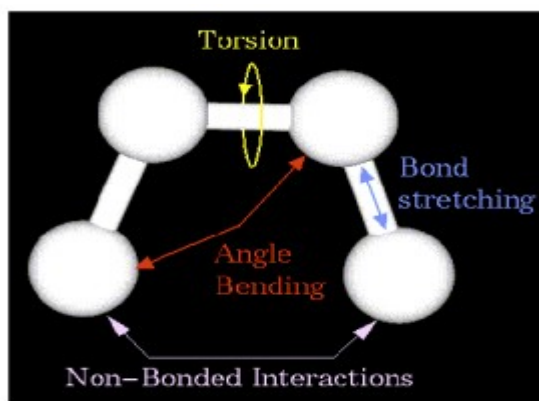


Figure III-02 : force de champ

Les différentes énergies suivantes :

III.2.1.2.1. Energie de liaison :

L'énergie d'une liaison covalente entre deux atomes est calculée par analogie avec un oscillateur harmonique à partir de la distance entre deux atomes:

$$E_{\text{liaison}} = \sum k_b (r - r_0)^2$$

Avec i et j deux atomes séparés par une distance r , r_0 la distance à l'équilibre et k_b la constante de force déterminée en comparant des données expérimentales après une procédure de recherche conformationnelle. Ces deux derniers paramètres dépendent du type des atomes i et j .

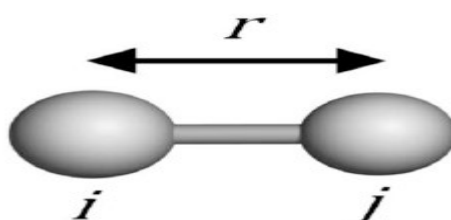


Figure III-03 : Distance r entre deux atomes i et j

III.2.1.2.2. Energie de flexion :

L'énergie de flexion (ou bending) représente l'énergie de déformation des angles de valence. Ce terme est calculé à partir de l'angle θ formé par trois atomes liés par des liaisons covalentes (Figure). Il est calculé à partir d'un oscillateur harmonique comme le montre l'équation suivante :

$$E_{flexion} = \sum k_{\theta} (\theta - \theta_0)^2$$

avec i, j et k trois atomes séparés par un angle θ , θ_0 l'angle à l'équilibre et k_{θ} la constante de force.

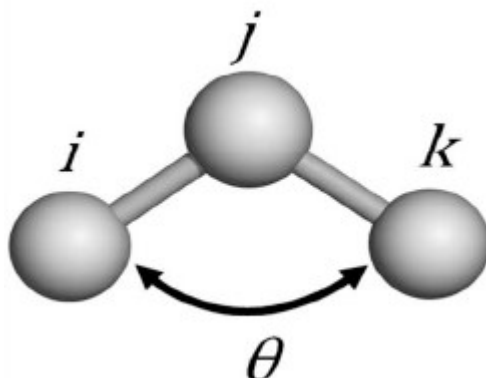


Figure III-04 : Angle θ permettant le calcul de l'énergie de flexion séparant les atomes i, j et k .

III.2.1.2.3. Energie de torsion :

L'énergie de torsion (ou *stretching*) représente le terme de rotation autour des liaisons. Pour quatre atomes, séparés par trois liaisons, les paramètres tels que la barrière énergétique de rotation V_n , le nombre de minimas énergétiques n , la phase à l'origine γ et l'angle dièdre ϕ (Figure) permettent de calculer l'énergie de torsion par l'équation suivante :

$$E_{torsion} = \sum \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)]$$

Enfin, il existe des champs de force où des termes supplémentaires dépendant de coordonnées internes (liaison, angle, angle dièdre) peuvent être ajoutés.

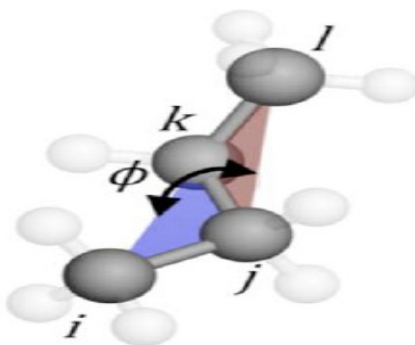


Figure III-05 : Angle de torsion (ou dièdre) \varnothing entre quatre atomes de carbone.

III.2.1.2.4. Energie d'interaction entre atomes non liés :

Pour toutes les paires d'atomes séparées par plus de trois liaisons, l'énergie d'interaction est considérée comme non « liante » dans la mesure où cette énergie est incluse implicitement pour les atomes d'un même angle dièdre dans le terme d'énergie liante. Ce terme peut être décomposé en deux termes en Equation suivante :

$$E_{\text{non-liante}} = E_{\text{elec}} + E_{\text{vdW}}$$

III.2.1.2.4.1 Energie de van der Waals :

L'énergie de van der Waals est calculée à partir des interactions électriques de faible intensité comme les interactions dipole-dipôle, dipôles induits et dipôles instantanés.

L'énergie de van der Waals, correspondant à l'interaction entre atomes non liés situés à une distance donnée, est exprimée sous la forme d'un potentiel de Lennard-Jones. Elle est calculée grâce à l'équation ci-dessous :

$$E_{\text{vdW}} = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right]$$

Avec r_{ij} la distance entre les atomes i et j , ε le paramètre de Lennard-Jones qui représente la profondeur du puits de potentiel et σ la distance à laquelle l'énergie de van de Waals est nulle. Le premier terme en $1/r^{12}$ (positif) traduit une force répulsive entre deux atomes, soit le recouvrement des nuages électroniques à courte distance. Le second terme en $1/r^6$ (négatif) correspond à l'attraction à longue distance. Comme le montre la Figure 5, l'énergie de van de Waals tend vers l'infini quand la distance interatomique (r_{ij}) tend vers zéro. Quand r_{ij} augmente l'énergie va tendre vers zéro.

III.2.1.2.4.2. Energie électrostatique :

Les interactions coulombiennes entre atomes de charges identiques ou opposées sont représentées à travers le terme d'énergie électrostatique par l'équation suivante :

$$E_{\text{elec}} = \sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{\varepsilon r_{ij}}$$

avec q_i et q_j les charges partielles portées par les atomes i et j , ε la constante diélectrique du milieu et r_{ij} la distance entre les atomes i et j .

Les interactions électrostatiques s'appuient sur des distributions électroniques. En mécanique quantique ces charges peuvent être déterminées de manière exacte. Cette détermination de charge n'est envisageable que pour des systèmes simples de l'ordre d'une centaine d'atomes lourds. En

mécanique moléculaire la distribution des électrons est considérée comme implicite et est représentée par des charges atomiques partielles. Le moment dipolaire ou le potentiel électrostatique calculé en mécanique quantique sont couramment utilisés pour ajuster de façon optimale la distribution des charges.

III.2.1.3. Minimisation d'énergie :

Un des intérêts majeurs de la mécanique moléculaire est la recherche de la structure de plus basse énergie afin de déterminer la conformation la plus stable. En effet, les états stables d'une molécule ou d'un complexe moléculaire correspondent aux minima locaux et globaux. Autrement dit, la probabilité d'existence des différents conformères d'une même molécule est directement reliée à son énergie et donc à ses propriétés. L'espace conformationnel d'une molécule va dépendre du nombre de degrés de liberté et permet de définir un espace à $3N-6$ dimensions (en coordonnées internes), avec N le nombre d'atomes, que l'on appelle plus communément surface d'énergie potentielle.

La **Figure 6** représente schématiquement le principe de minimisation d'énergie pour un espace à une dimension. A 2 dimensions, la courbe devient une surface et au delà on parle d'hypersurface d'énergie potentielle. La complexité du processus de minimisation et la forme de ce potentiel dépendent du nombre de dimensions considérées. En effet, la fonction d'énergie totale présente pour une molécule ou un système de nombreux minima et maxima (locaux ou globaux). La découverte d'un minimum absolu n'est pas possible en l'état de développement des différents algorithmes dans des temps de calculs raisonnables. L'objectif de la minimisation est de trouver les minima locaux qui s'approchent le plus possible du minimum global.

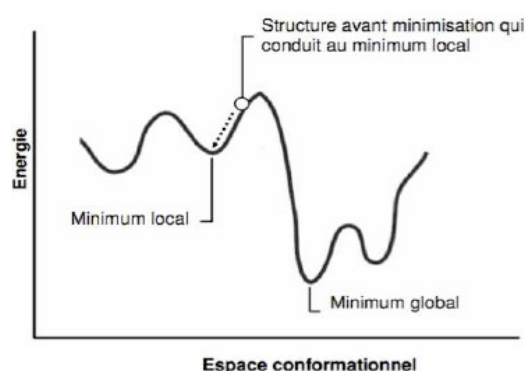


Figure III-06 : Représentation de la courbe d'énergie d'un espace conformationnel à une dimension.

Malgré des avantages et des inconvénients pour chaque méthode de minimisation, la façon de procéder est en général la même. Le départ se fait d'un point de la surface d'énergie pour descendre jusqu'à rencontrer un minimum local où le gradient d'énergie est égal à zéro. On peut

diviser les différentes méthodes selon qu'elles utilisent uniquement la pente de la surface d'énergie potentielle (dérivée première) ou aussi sa courbure (dérivée première et seconde). Nous n'évoquerons ici que les méthodes de la dérivée première utilisées par la suite dans les travaux de modélisation : méthode de la plus grande pente et du gradient conjugué (pour une revue approfondie sur les différentes méthodes d'optimisation voir Jensen, 2006). Ces méthodes sont particulièrement efficaces pour s'approcher rapidement d'un minimum local surtout lorsque la pente est forte, c'est à dire lorsqu'on est éloigné du minimum.

III.2.2. Dynamique Moléculaire :

Cette méthode implique le calcul des solutions aux équations du mouvement de Newton. Il est difficile de trouver l'énergie minimum global du complexe, ce problème est traité en utilisant des algorithmes d'optimisation standard comprenant :

- Des recherches directes, en utilisant seulement la fonction potentielle, cette méthode ne peut être utilisée pour les grandes molécules, car elle est plus appropriée à des optimisations brutes de petites molécules protéiques, par exemple *simplex*.
- Les méthodes de gradient, impliquant la première dérivée de la fonction potentielle, basse convergence près du minimum, recommandé pour l'optimisation initiale, par exemple *steepest descend*.
- Les méthodes de gradient conjugué, les avancées de la recherche ont influencé sa direction, efforts élevés du calcul, une meilleure convergence, par exemple *Fletcher-Reeves*.
- Les méthodes de deuxièmes dérivées, convergence très efficace, par exemple *Newton-Raphson*.
- Les méthodes des moindres carrés, bons convergence mais souvent un calcul trop coûteux, par exemple *Marquardt*.

Généralement une combinaison des méthodes mentionnées ci-dessus est employée, par exemple une combinaison d'une méthode de gradient pour l'optimisation initiale et d'une méthode de gradient conjugué au moment de l'approchement du minimum.

III.2.3. Docking Moléculaire :

Le Docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme Docking seul est couramment

employé pour désigner un « docking protéine-ligand ». Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [35]. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring .

- Le Docking (la première étape) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- Le Scoring (la deuxième) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées.

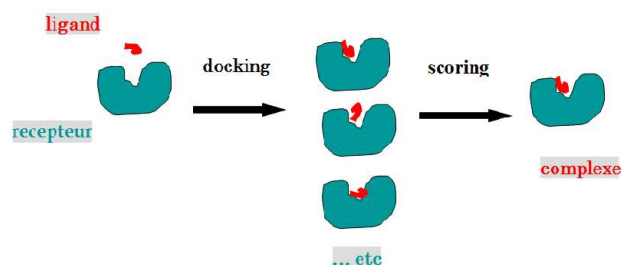


Figure III-07: principe général d'un programme de docking

III.2.3.1. Etapes de Docking Moléculaire :

Deux approches sont principalement employées pour la modélisation du système protéine-ligand.

La première étape consiste au téléchargement des structures chimiques des cibles à traiter (Enzyme dans notre cas), pour cela il est nécessaire d'aller directement à la Bank PDB (<http://www.pdb.org>) et déterminer où sont déposées les structures de ces cibles.

En suite, la PDB contient plusieurs milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie (rayons X), soit par RMN. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la Bank, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée.

Après le téléchargement de la cible (PDB), nous utilisons un logiciel de visualisation pour voir avec quels ligands l'enzyme est Co-cristallisé (eau, ligands, ion,...).

La deuxième étape, concerne les structures du (ou des) ligand(s) utilisé(s) lors du docking moléculaire. Il y a deux grandes bases de données de structures chimiques des ligands. La première représente ces structures par les programmes d'informatique de modélisation moléculaire, où les différentes structures sont générées par optimisation de géométrie. Ces structures sont gouvernées par les lois de la chimie quantique. Dans le deuxième cas, elles sont

obtenues à partir des bases de données comme Pub Chem Project ou autres bases de données des structures. Ces dernières ont différentes extensions comme PDB (Protein Data Bank), SDF, ...ect.

III.2.3.2. Protocole Générale de Docking [36]

- Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives:
- Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.),
- Exploration conformationnelle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou flexible position/orientation/forme du ligand),
- Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de score) des conformations issues de l'exploration,
- Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque le score ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.
- Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire.
- Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison.

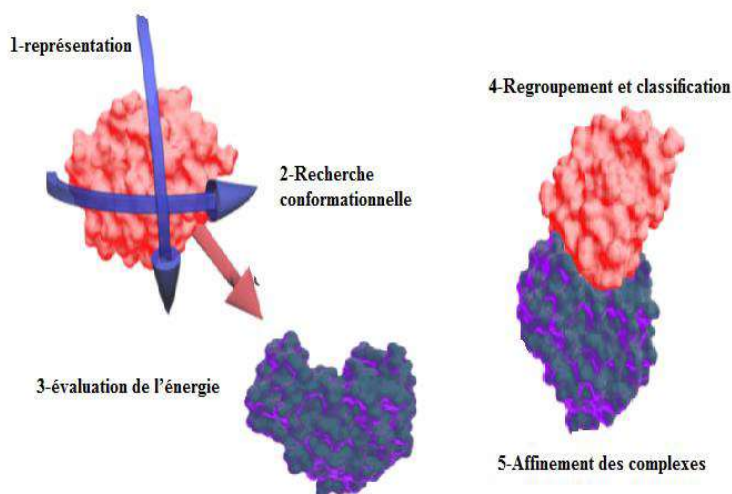


Figure III-08 : Protocol générale de Docking

III.3. Docking moléculaire :

III.3.1. Définition :

L'arrimage moléculaire est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées dans [la conception de médicaments basés](#) sur la [structure](#), en raison de sa capacité à prédire la conformation de liaison de ligands de [petites molécules](#) au [site de liaison](#) cible approprié. La caractérisation du comportement de liaison joue un rôle important dans [la conception rationnelle des médicaments](#) ainsi que pour élucider les processus biochimiques fondamentaux.

- Dans le domaine de la [modélisation moléculaire](#), (en anglais, *docking* [\[33\]](#)) est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable². Savoir l'orientation préférée sert à prévoir la solidité de l'union entre deux molécules. Les associations entre des molécules d'importance biologique, telles que les protéines, les [acides nucléiques](#), les [glucides](#) et matières grasses jouent un rôle essentiel dans la [transduction de signal](#).
- Dans la mise au point de nouveaux médicaments, l'amarrage sert souvent à déterminer l'orientation de petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité. Ainsi, l'amarrage joue un rôle important dans la conception pensée de nouveaux médicaments. En raison de sa valeur biologique et pharmaceutique, on s'est efforcé d'améliorer les méthodes qui calculent l'amarrage moléculaire.

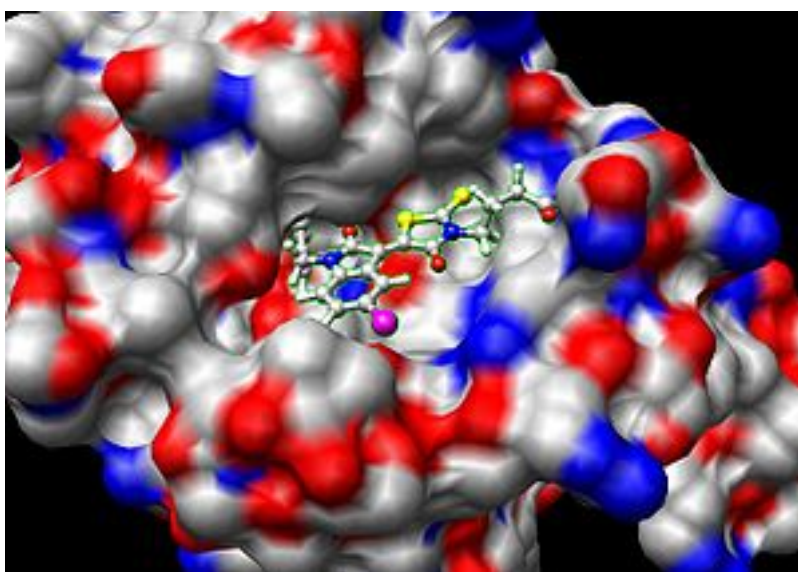


Figure III-09 : Petite molécule amarrée à une [protéine emplacement haut](#)

Enfin le docking moléculaire se fait généralement en trois étapes

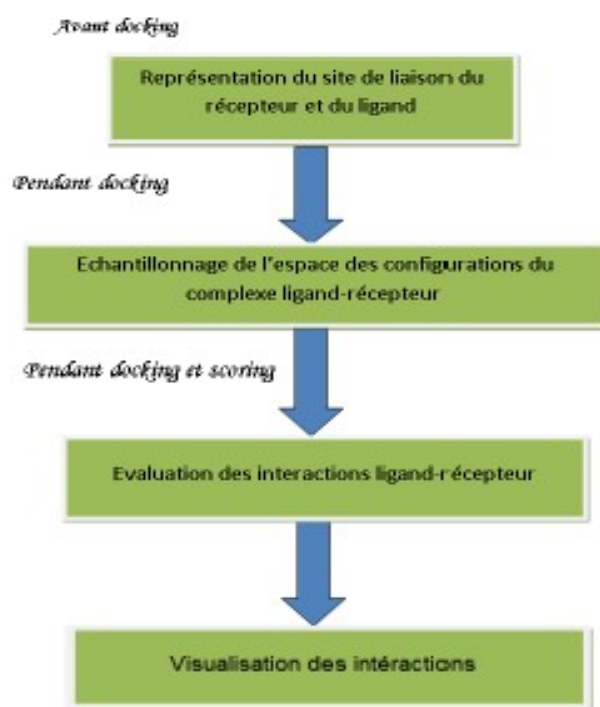


Figure III-10 : protocole générale de docking moléculaire

III.3.2. Principes :

Le plus important problème pour l'étape de docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand.

Afin d'éviter des calculs, que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique, et déterministe.

III.3.3. Approches de la conception de médicament :

Le terme criblage virtuel regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration de bases de composés à la recherche de molécules d'intérêt. Une analogie souvent utilisée compare ces techniques à des filtres qui permettraient de constituer des ensembles de molécules partageant certaines propriétés, de sélectionner les plus susceptibles d'interagir avec une cible donnée et d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables.

Ces différentes méthodes de criblage virtuel peuvent ainsi être utilisées dans les premières phases de R&D de nouveaux médicaments par les chimistes en particulier lors de l'identification de hits. [1] a alors pour but de sélectionner au sein de chimiothèques variées des ensembles réduits de molécules dont le potentiel d'activité envers la cible thérapeutique visée est supérieur à celui des autres molécules. [1] peut également être utilisé lors de l'optimisation des leads. Dans ce cas, le criblage a pour l'objectif de l'identification des motifs structuraux essentiels dans la liaison ligand.

La discrimination des meilleurs composés au sein de chimiothèques orientées des molécules appartenant à une même série

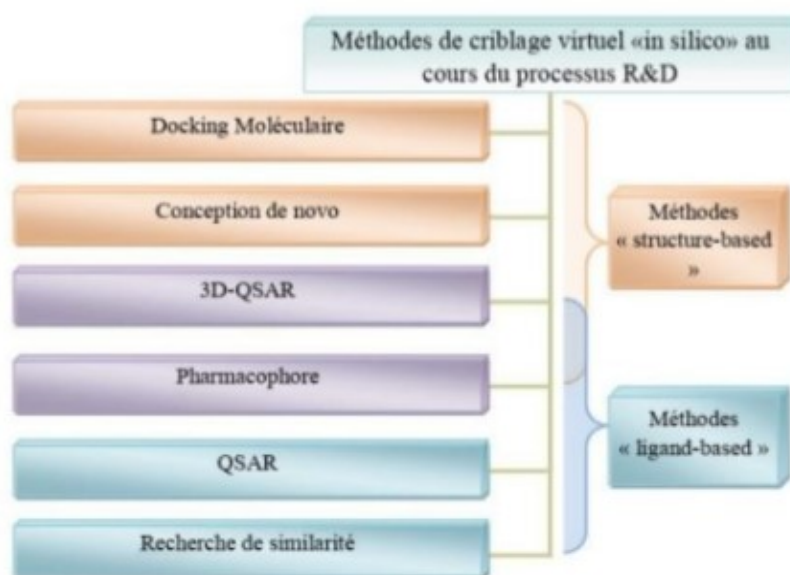


Figure III-11 : classification des méthodes de criblage virtuel « ligand based » et « structure based » les plus utilisés au cours du processus R&D notamment par les chimistes

On regroupe les méthodes in silico en deux grandes familles, le criblage virtuel «structure-based » et le criblage virtuel «ligand-based ». Comme son nom l'indique, le criblage virtuel « structure-based » est basé sur la structure de la cible en évaluant la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié et ainsi sélectionner les molécules capables de se lier à cette cible.

III.3.3.1. Approche « ligand- based » :

Les méthodes de criblage « ligand-based » reposent sur la connaissance préalable de ligands ayant une activité sur la cible thérapeutique. Il est ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « hits » afin d'identifier d'autres composés présentant des caractéristiques d'activité communes aux ligands connus. Différents types de descripteurs moléculaires pourront être

calculés pour ressemblance entre composés. Suivant le nombre de ligands connus de la cible thérapeutique plusieurs méthodes peuvent être employées : la recherche de similarité, le criblage de pharmacophores, ou les approches QSAR.

III.3.3.2. Approche « structure –based » :

Le criblage virtuel « structure-based » est considéré comme un équivalent *in silico* d'un test expérimental étudiant la liaison ligand-cible biomoléculaires⁷. Cependant, ce criblage dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique qui est obtenue, soit par méthodes expérimentales (RX et RMN) dans des bases de données (comme PDB: Protein Database), soit par des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence [37]. Différentes approches peuvent être employées pour réaliser ce criblage: la construction de modèles pharmacophoriques 3D, l'établissement de modèles 3D-QSAR).

La conception de novo « de novo design » et les méthodes de docking moléculaire qui sont les plus populaires. Au cours de ce travail, nous sommes intéressés uniquement aux techniques de criblage virtuel « structure-based » [38]

III.3.4. Types de docking moléculaire :

III.3.4.1. Docking rigide :

Dans le cas des méthodes de docking rigide, la recherche de la pose optimale se limite au positionnement. Cette opération consiste en la recherche exhaustive dans l'espace discrétisé des 6 degrés de liberté. Certains programmes, s'ils n'appartiennent pas à la famille des techniques de docking rigide, utilisent plusieurs étapes successives d'optimisation dont les premières peuvent s'apparenter à du docking rigide. Par exemple, le programme Glide, utilise initialement, dans son approche multi-étapes, une recherche systématique pour positionner le ligand de façon approchée au sein du site actif de la protéine.

III.3.4.2. Docking flexible :

Lorsque les méthodes de docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du docking. La première étape correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver, parmi les conformations proposées, la conformation bioactive. Pendant la deuxième étape une fonction de score évalue ces conformations. [Il existe plusieurs types d'algorithmes pour le traitement de la flexibilité du ligand : les méthodes systématiques (fragmentation/reconstruction), les méthodes aléatoires, et les méthodes de simulation (dynamique moléculaire)]

III.3.4.3. Docking semi –flexible :

Lorsque l'espace conformationnel des ligands est exploré, le nombre de degrés de liberté de l'espace de recherche peut être conséquent dans le cas de molécules très flexibles. Dans un tel contexte, l'emploi de méthodes de recherche exhaustives apparaît souvent inapproprié car nécessitant des simplifications importantes au niveau d'échantillonnage. D'autres algorithmes, dits de fragmentation, sont employés pour construire de façon incrémentielle le ligand au sein du site actif de la protéine. L'espace des conformations du ligand est alors restreint au voisinage d'un ensemble initial d'états simplifiés. Cette stratégie de recherche par construction, qui se présente sous diverses variantes, est notamment adoptée par les programmes DOCK, FLEXX, et Hammerhead.[39]

III.3.5 Docking entre protéines et molécules :

Le concept du Docking:

Input: une paire de molécules représentée en 3D (pdb)

Ce qui est recherché:

- Décider si les molécules forment un complexe (interaction/liaison)
- Prédire la structure 3D du complexe
- En déduire la fonction

Signification / Application / Motivation

- La conception des médicaments assistée par ordinateur

Les forces régissant la reconnaissance biomoléculaire

- Van der Waals, Électrostatique, contacts hydrophobes, liaisons hydrogène, pont de sels
- La forme et la surface de contact

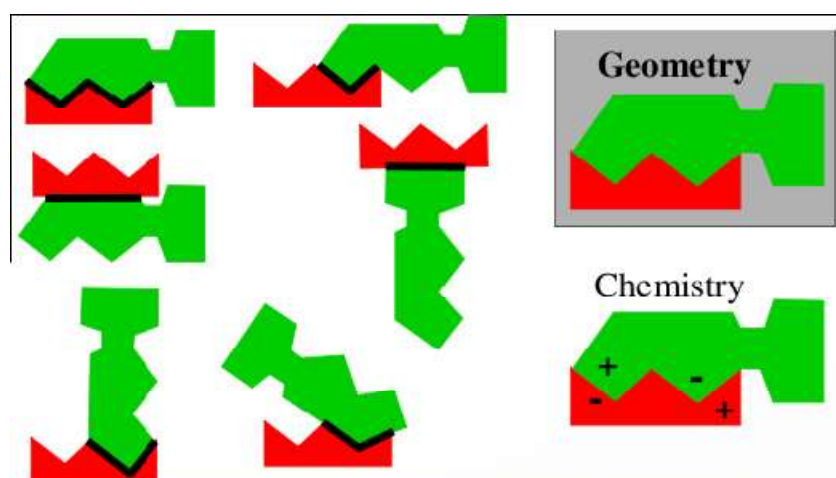


Figure III-12 : Docking entre protéines et molécules

III.3. 6. Programmes de docking les plus cités :

Plus de 30 logiciels de docking sont actuellement disponibles. Parmi ces programmes d'amarrage moléculaire on peut trouver : comme GOLD, FlexX, DOCK, AutoDock, MOE ou bien UCSF Chimera et Molegro Virtual Docker (MVD). L'utilisation des programmes de docking a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [40].

Nom	Editeur	Site internet
Auto Dock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	Openeyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide Dock	Schrodinger	http://www.schrodinger.com/products/glide.html
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/e2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://biopharmics.com/products.html

Tableau III-01 : principaux programmes de docking moléculaire.

Les logiciels les plus fréquemment cités dans la littérature sont : AutoDock vina, Gold, FlexX, Dock [40].

Un logiciel de docking moléculaire est bon si et seulement si sa fonction de score est bonne [41].

➤ **AutoDock Vina**

AutoDock Vina est un programme de docking dérivé d'AutoDock4 comme son nom l'indique, qui a également été développé par le groupe de Arthur J. Olson au 'Scripps Research Institute' (<http://autodock.scripps.edu/>) [42]. Son principal objectif est l'augmentation de la vitesse d'exécution tout en conservant des résultats à la hauteur voire meilleurs qu'AutoDock4. Ce gain de vitesse provient de l'implémentation du parallélisme dans l'algorithme, par multi-tâches (multithreading) sur plusieurs processeurs de calcul en même temps (multi-core).

➤ **DOCK**

Le DOCK est l'un des logiciels de docking ligand-protéine les plus anciens et les plus connus. La version initiale utilise des ligands rigides, la flexibilité a été incorporée plus tard par l'intermédiaire de la construction par incrémentation du ligand dans la poche de liaison. Le DOCK est une méthode basée sur des fragments qui utilise les méthodes de complémentarité chimique et de forme pour créer des orientations possibles pour le ligand. Ces orientations peuvent être scorées en

utilisant trois fonctions de score différentes, cependant aucune d'elles ne contient des termes explicites de liaison d'hydrogène, des termes de solvation/des olvation, ou des termes d'hydrophobicité.

➤ **FlexX**

FlexX est une autre méthode basée sur des fragments en utilisant des ligands flexibles et des protéines rigides. Il utilise la base de données d'angle de torsion de MIMUMBA pour la création des conformations. Le MIMUMBA est une base de données géométrique d'interaction employée pour décrire exactement les formes d'interaction intermoléculaires. Pour le score, la fonction de Boehm (avec des adaptations mineures nécessaires pour le docking), est appliquée. FlexX est présenté ici pour montrer l'importance des fonctions de score. Bien que FlexX et DOCK tous les deux sont des méthodes basées sur les fragments, elles produisent des résultats très différents.

➤ **GOLD :**

Le logiciel GOLD (Genetic Optimisation for Ligand Docking) est l'un des programmes de docking les plus réussis et largement utilisé, provient d'une collaboration entre l'Université de Sheffield, GlaxoSmithKline plc et CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre) [43].

III.3.7. Base de données des protéines et drug:

III.3. 7.1. Base de données des protéines :

La banque de données des protéines ou la *Protein Data Bank* (PDB) est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de l'ensemble des règnes biologiques. Les structures tridimensionnelles sont issues principalement d'analyses par diffraction des rayons X, les autres par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou de modélisations moléculaires.

Les progrès réalisés dans le domaine de la cristallographie aux rayons X et de la RMN ont permis la résolution tridimensionnelle de nombreuses structures de protéines.

La PDB est gratuitement accessible par Internet et contient un grand nombre d'informations complémentaires comme la séquence ou la phylogénie des macromolécules. Les séquences d'acides aminés sont codées selon une procédure qui fait correspondre une lettre de l'alphabet à chaque acide aminé (*Alanine: Ala/A, Arginine : Arg/R, ...*) [44].

La banque contient des fichiers pour chaque modèle moléculaire. Ces fichiers décrivent la localisation exacte de chaque atome de la macromolécule étudiée, c'est-à-dire les coordonnées cartésiennes de l'atome dans un repère à trois dimensions.

Un fichier PDB comprend autant de lignes que d'atomes, ce nombre variant de 100 à 10000 atomes par molécule.

```

ATOM 2 CA MET A 1 -5.725 -8.816 21.543 1.00 C
  |   |   |   |   |   |   |
  ID  Acide  Coordonnées 3D
      Aminé
  
```

Exemple de ligne d'un fichier PDB

Cette ligne modélise un atome de carbone appartenant à la méthionine (un des 20 acides aminés composant nos protéines), elle contient ses coordonnées 3D, son numéro d'identification dans la molécule, le numéro d'identification de l'acide aminé auquel il appartient, etc.

III.3. 7.2. Base de données des drugs :

La banque de données ABDA contient des données et des faits complets concernant les médicaments. En partant par exemple du nom ou de la substance active d'un médicament, on peut rechercher des informations sur l'application et la composition, les risques et les interactions, de même que des messages d'actualité. Les données sont mises à jour tous les 14 jours.

- Médicaments (produits finis) allemands et étrangers.
 - Liste des substances pharmaceutiques avec formules sommatoires et paramètres physico-chimiques. Indications concernant les dérivés, l'application, la stabilité, etc.
 - Dossiers sur les substances actives avec des informations spécialisées sur les substances synthétiques, biotechniques et végétales, de même que sur l'application allopathique, homéopathique et anthroposophique.
 - Module d'interaction avec environ mille monographies d'interaction pour interactions cliniquement importantes.
 - Informations d'actualité sur les nouveautés, modifications, rappels, communications de l'AMK (Commission des Médicaments des Pharmaciens Allemands) et autres administrations : actualisées deux fois par jour !



Conclusion générale

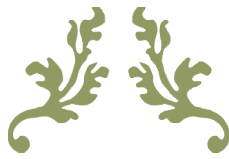
L'objectif des industriels de la pharmacie est de mettre au point et de développer des nouveaux médicaments aussi rapidement que possible et au moindre coût : des médicaments efficaces et sûres répondant à l'attente du thérapeute et du patient.

Nous avons fait un tour sur toutes les phases de mises au point d'un nouveau médicament. Cependant, l'industrie des génériques prend de plus en plus d'importance sur le marché mondial. Elle fait d'énormes bénéfices en limitant ses coûts de R&D puisqu'elle s'inspire de médicaments déjà existants dont le brevet a expiré.

Dans le deuxième chapitre Cet ouvrage aborde de façon concise et systématique tous les aspects de la chimie des hétérocycles, de la nomenclature aux applications pharmaceutiques et dans la vie quotidienne.

La chimie des hétérocycles est un élément central de la chimie organique et de la biochimie, qui repose sur un ensemble de structures spécifiques : des composés organiques de structure cyclique contenant au moins un hétéroatome (le plus souvent l'azote, l'oxygène ou le soufre).

Dans le troisième chapitre nous exposons les méthodes de modélisation moléculaire Pour prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules aux moyens des programmes informatiques, nous avons montré l'intérêt du docking. Nous avons également introduit la notion de mécanique moléculaire qui est un outil puissant utilisé pour mieux comprendre les grands systèmes moléculaires et pour répondre à certaines questions concernant la structure d'électronique de molécules. La définition du champ de force est aussi apportée, le champ de force représente l'une des approximations en modélisation moléculaire et qui a pour objectif de décrire des classes entières de molécules avec une précision relativement probable, la notion de dynamique moléculaire en amont du docking moléculaire ainsi que l'étude de criblage virtuel dans les processus de recherche des nouvelles molécules bioactives basé sur le docking moléculaire.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] J.G. Lombardino, J.A III Lowe, the role of the medicinal chemist in drug discovery, then and now, *Nat Rev Drug Discov.* 3 (2004) 853-862.
- [2] D'après l'Article L.5111-1 du Code de la Santé Publique, en France.
- [3] Mathieu Guerriaud, [«*Droit pharmaceutique - Elsevier Masson - 2016*»](#) [[archive](#)], sur [*www.elsevier-masson.fr*](http://www.elsevier-masson.fr) ([ISBN](#) 9782294747564, consulté en 2016).
- [4] B.Werth. The billion dollar molecule, one company's quest for the perfect drug. 1(1995).
- [5] W.N.Hunter. Rational drug design: a multidisciplinary approach. *Mol. Med. Today: Reviews biotech.,1*, 31-34 (1995).
- [6] A.D. Roses. New applications of disease genetics and pharmacogenetics to drug development. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 7, 807-817 (2008).
- [7] S. Mandal, M. Moudgil, S.K. Mandal. Rational drug design. *Eur.J.Pharmacol.*, 625, 90–100 (2009).
- [8] Edwards, L., Fox, A., & Stonier, P. (Eds.). (2010). *Principles and practice of pharmaceutical medicine* (3rd ed.). Oxford: Wiley-Blackwell.
- [9] <https://studylibfr.com/doc/2938510/introduction---elaboration-exp%C3%A9rimentation-r%C3%A9alisation>
- [10] H.Boulebd ; Thèse de doctorat ; Université » de Constantine ; 2016
- [11] H.Tahri ; S.Louibed ; Mémoire de licence ; Université ***Dr Moulay Tahar de Saida.2015***
- [12] A.Nekad ; Master « Synthèse organique des composés hétérocycles azotés saturés » ; Université Labri Ben M'hidi Oum El Bouaghui ; 2017.
- [13] M.Zaoui ; cours « Nomenclature des composés hétérocycliques et leurs différentes méthodes de synthèse » ; Université KasdiMerbah ; Ouargla ; 2018
- [14] G. Dupuis-lycée Faidherbe de Lille, cours de chimie organique, www.Faidherbe.org.

- [15] G. Belanger ; Chimie organique Hétérocyclique COR 706 ;Département de chimie université de Sherbrooke ;2018.
- [16] [Offre-de-formation.univ-lyon1.fr/ue-9261-111%2Fchimie-heterocyclique-de-molecules-bioactives.html](http://offre-de-formation.univ-lyon1.fr/ue-9261-111%2Fchimie-heterocyclique-de-molecules-bioactives.html)
- [17] T. Eicher; S. Hauptmann & al., *Wiley-VCH*, 2003.
- [18] Lucie Jarrige, Florent Blanchard & Géraldine Masson Aza-Diels–Alder Reaction *Angew. Chem.* 24 juillet 2017
- [19] <https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=paludisme-pm-traitements-medicaux>
- [20] <https://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/antipaludeens-chloroquine/mecanisme-daction>
- [21] <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medicaments-chloroquine-18617/>
- [22] <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/medecine/chloroquine-et-hydroxychloroquine-dans-la-prise-en-charge-du-covid-19>
- [23] MORAN M., Cost of Bringing New Drugs To Market Rising Rapidly, *Psychiatr News*, 2003, **38** : 25
- [24] FRANTZ S., Pharma faces major challenges after a year of failures and heated battles, *Nat Rev Drug Discov*, 2007, **6** : 5-7
- [25] DANZON P. M., EPSTEIN A., NICHOLSON S., Mergers and Acquisitions in the Pharmaceutical and Biotech Industries, NBER Working Paper, 2004, **10536**
- [26] FRANTZ S., Pipeline problems are increasing the urge to merge., *Nat Rev Drug Discov*, 2006, **5** : 977-979
- [27] LARSON R. S., *Bioinformatics And Drug Discovery*, 2005
- [28] JORGENSEN W. L., The many roles of computation in drug discovery., *Science*, 2004, **303** : 1813-1818
- [29] Del Bene J, Jaffe HH, *J. Chem. Phys.* 1968, 48: 1807.

- [30] Brooks CL, Karplus M, Pettitt BM, Proteins: a Theoretical Perspective of Dynamics, Structure and Thermodynamics. Wiley, New York.1988.
- [31] Biosym/MSI, Discover, user guide, ed. Biosym/MSI. San Diego., 1995.
- [32] Weiner SJ, Kollman PA, Nguyen DT, Case DA, An all-atom force field for simulations of proteins and nucleic acids. *J. Comp. Chem.* 1986,7:230.
- [33] Allinger NLJ, *Am. Chem. Soc.* 1977, 99: 8127.
- [34] Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart WE, Belew RK and Olson AJ, *Journal of Computational Chemistry.* 1998, 19: 1639-1662.
- [35] C.R. Corbeil, P. Englebienne, N. Moitessier. Docking Ligands Into Flexible And Solvated Macromolecules-1. Development And Validation Of Fitted 1.0. *Journal Of Chemical Informatic Modelling*, 2007, 47, 435-449.
- [36] Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, Nelson J, Burkhart J-M, Autin L. Docking De Protéines En Réalité Virtuelle : Une Approche Hybride Et Multimodale. 2e Soumission A Rsti, 2008,P 10.
- [37] B. S. Cummings, *Biochem. Pharmacol*, 2007, 74, 949-959
- [38] D. J. Diller and R. Li, *J Med Chem*, 2003, 46, 4638-4647
- [39] Alexandre Beautrait, thèse doctorat en Chimie Informatique , et Théorique développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine fat de la kinase d'adhérence focale FAK .Université Henri Poincaré, (2008).
- [40] Mahdjoub Youcef, thèse de magister. Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire » université d'Oran, (2011).
- [41] Samah BOUCHAGRA, thèse de doctorat , modélisation des interactions proteinepetites molécules: étude de la relation structure – fonction dans le cas des lipases. Université Badji Mokhtar- Annaba , (2018).

[42] Trott O and Olson A. J., 'AutoDockVina : improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading.; J. Comput. Chem. (2010); 31 .p455.

[43] Verdonk M. L., Cole C., Hartshorn M. J., Murray C. W., Taylor R. D. Improved Protein–Ligand Docking Using GOLD. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*. (2003); 52 .p609.

[44] Antoine. F, *Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance*. Thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier - Grenoble I, 2006.