



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Nsérie:.....

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar – El Oued

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention de diplôme de Master Académique en Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

**Nouveaux dérivés de l'amoxicilline: Docking in silico,
prédiction ADMET et simulation de dynamique
moléculaire**

Présentées Par :

GADI Mohammed

BEN AMOR Djihad

Présidente: MEDILA Ifriqya

M. C. A Université d' El Oued

Examineur: KIRAM Abderrazak

M.A.A Université d'EL Oued

Promoteur: LANEZ Elhafnaoui

M.C.B Université d'El Oued

Année Universitaire : 2022/ 2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

REMERCIEMENT

شكر وتقدير

الحمد لله وكفى والصلاة على الحبيب المصطفى وأهله ومن وفى أما بعد:
مرت قاطرة البحث بكثير من العوائق، ومع ذلك حاولنا أن نخطاها بثبات بفضل من
الله أولا وأخيرا.

الحمد لله الذي وفقنا لشمين هذه الخطوة المباركة في مسيرتنا الدراسية، بمدركتنا هذه
ثمرة الجهد والنجاح بفضلهم تعالى، الحمد لله الذي وهبنا النوفيق والسداد ومنحنا الثبات
وأعاننا على إتمام هذا العمل.

هي أيضا كلمات شكر وتقدير الى الاسناد الدكتور المشرف العائز الحناوي، على كل
ما قدمه لنا من توجيهات ومعلومات قيمة ساهمت في إثراء موضوع دراستنا في جوانبها
المختلفة.

كما نقدم بخزير الشكر الى أعضاء لجنة المناقشة الموقرة.
الى جميع من ساعدنا من قريب او بعيد. الى كل من كان لهم أثر طيب على حياتنا،
ثقتهم وتشجيعهم الدائم لنا، ومنحهم لنا القوة للمضي قدما، والاسنم ار في النحدي.

شكرا

Résumé

Le présent mémoire porte sur la génération et l'évaluation in silico de 256 composés dérivés de l'amoxicilline, un antibiotique couramment utilisé, ces composés a été réalisée en utilisant le logiciel SmiLib 2.0, et en utilisant une approche de génération vertueuse.

Par la suite, ces composés ont été évalués pour leurs propriétés pharmacologiques, médicales, pharmacocinétiques, ainsi que leur simultanité médicamenteuse et leur toxicité, à l'aide des serveurs en ligne Swiss ADME et Protox. Ces outils ont permis de prédire diverses propriétés telles que la solubilité, la biodisponibilité, la toxicité potentielle et les interactions avec les protéines cibles.

En suite, une étude de docking moléculaire a été réalisée pour évaluer l'interaction entre les composés générés et les protéines cibles des bactéries *E.coli* et *Streptococcus*. Le docking moléculaire est une méthode de simulation qui permet de prédire l'affinité et le mode de liaison des ligands avec leurs cibles protéiques.

Les résultats ont révélé que le composé Amox9 a présenté la meilleure interaction avec *E.coli*, avec une énergie libre de liaison (ΔG) de -9,21 KJ/mol. De même, le composé Amox5 a montré une interaction prometteuse avec *Streptococcus*, avec une énergie libre de liaison (ΔG) de -7,81 KJ/mol. Ces valeurs d'énergie libre de liaison sont supérieures à celles de l'amoxicilline de référence, indiquant un potentiel accru d'activité inhibitrice contre les bactéries cibles.

Ces résultats suggèrent que les composés dérivés de l'amoxicilline, notamment Amox9 et Amox5, pourraient constituer de nouvelles options prometteuses dans le développement d'agents antibactériens.

Les résultats obtenus fournissent des informations précieuses pour la conception rationnelle de nouveaux agents antimicrobiens et ouvrent la voie à de futures recherches expérimentales visant à valider l'activité antibactérienne de ces composés.

L'objectif principal de cette étude était d'identifier de nouveaux composés potentiellement actifs contre deux types de bactéries courantes, à savoir *E.coli* et *Streptococcus*.

Mots- clé: Amoxicilline; In-silico; Autodock; SwissADME; Antibactérien.

Abstract

This thesis focuses on the in-silico generation and evaluation of 256 derivatives of amoxicillin, a commonly used antibiotic, these derivatives of amoxicillin was performed using the SmiLib 2.0 software, employing a virtuous generation approach.

Subsequently, these compounds were evaluated for their pharmacological, medical, pharmacokinetic properties, as well as drug-likeness and toxicity, using the online servers SwissADME and Protox. These tools allowed for the prediction of various properties such as solubility, bioavailability, potential toxicity, and interactions with target proteins.

Furthermore, a molecular docking study was conducted to assess the interaction between the generated compounds and the target proteins of *E.coli* and *Streptococcus* bacteria. Molecular docking is a simulation method that predicts the affinity and binding mode of ligands with their protein targets.

The results revealed that compound Amox9 exhibited the strongest interaction with *E.coli*, with a binding free energy (ΔG) of -9.21 KJ/mol. Similarly, compound Amox5 showed promising interaction with *Streptococcus*, with a binding free energy (ΔG) of -7.81 KJ/mol. These binding free energy values were higher than those of the reference amoxicillin, indicating an increased potential for inhibitory activity against the target bacteria.

These findings suggest that derivatives of amoxicillin, particularly Amox9 and Amox5, could represent promising new options in the development of antibacterial agents. However, it is important to emphasize that these results are based on in silico studies and require further experimental validation to confirm their antibacterial activity.

The obtained results provide valuable information for the rational design of new antimicrobial agents and pave the way for future experimental research aimed at validating the antibacterial activity of these compounds.

The main objective of this study was to identify new compounds with potential activity against two common types of bacteria, namely *E. coli* and *Streptococcus*.

Keywords: Amoxicillin; In silico; Autodock; SwissADME; Antibacterial.

LISTE DES FIGURE

Fig. 1. Schéma explique la structure de base de la pénicilline.....6

Fig. 2. Schéma explique les concentrations sériques d'amoxicilline et d'ampicilline chez des
Sujets à jeun après une dose de 500 mg.....7

Fig. 3. Schéma explique la structure chimique de l'amoxicilline.....8

Fig. 4. Schéma explique le métabolisme de l'amoxicilline.....12

Fig. 5. Principes de l'ADME.....23

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.1. Composés de l'amoxicilline et les groupes fonctionnels	31
Tableau.2. Paramètres de la grille	35
Tableau.3. Propriétés physico-chimiques des composés.....	38
Tableau.4. Propriétés médicamenteuses des composés.....	39
Tableau.5. Propriétés pharmacocinétiques des composés	41
Tableau.6. Chimie médicinale des composés.....	42
Tableau.7. Prédications de toxicité des composés.	43
Tableau.8. Énergies de liaison libre et valeurs de constante de liaison obtenues par approche de docking moléculaire.....	44
Tableau.9. Distances des liaisons formées entre les résidus des ligands et des récepteurs <i>6f86</i> et <i>Is3r</i>	45

LISTE DES ABREVIATIONS

ΔG : Variation d'énergie libre

AA: Acide aminé

6-APA: Acide 6-aminopénicillanique

AD: AutoDock

ADME: Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion

ADMET: Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

AMOX: Amoxicilline

ARN: Acide Ribonucléique

AutoDock: Automating the Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors

BBB: Barrière hémato-encéphalique

BRL: Laboratoires de Recherche en Biotechnologie

CYP: Cytochrome P450 (une famille d'enzymes impliquées dans le métabolisme des médicaments)

DFT: Théorie de la fonctionnelle de la densité

GI: Gastro-intestinal

HB: Hydrogen Bond

HIA: Absorption Intestinale Humaine

LogP: Coefficient de partage lipide-eau (lipophilicité)

LogS: Logarithme de la solubilité

LUDI: Ligand-Utilizing Drug Design

MCSS: Maximum Common Substructure Search (recherche de sous-structure commune maximale)

MD: Dynamique Moléculaire

MM: Mécanique Moléculaire

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PBP: Penicillin-Binding Protein

PBPs: Penicillin-Binding Proteins

Permea: Perméabilité

P-gp: P-glycoprotéine

pH: Potentiel Hydrogène

PK/PD: Pharmacocinétique/Pharmacodynamique

PK: Pharmacocinétique

pKa: Constante de Dissociation Acide

PPB: Plasma Protein Binding (liaison aux protéines plasmatiques)

SMILES: Simplified Molecular Input Line Entry System

SNC: Système Nerveux Central

Sol: Solubilité

SVM: Support Vector Machine (Machine à vecteurs de support)

Tox: Toxicité

VD: Volume de distribution (espace de distribution d'un médicament dans le corps)

REMERCIEMENT	
RESUME	
LISTE DES FIGURE	
LISTE DES TABLAUX	
LISTE DES ABREVIATIONS	
SOMMAIRE	
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PREMIÈRE PARTIE: Étude bibliographique	3
CHAPITRE 01: Généralités sur l'amoxicilline	4
1. Historique découvert et développement de l'amoxicilline	5
1.1. Historique découvert	5
1.2. Développement de l'amoxicilline	6
2. Définition de l'amoxicilline	7
3. Types de l'amoxicilline	8
3.1. Amoxicilline orale.....	8
3.2. Amoxicilline injectable	8
3.3. Amoxicilline/clavulanate de potassium.....	8
3.4. Amoxicilline à libération prolongée.....	8
4. Caractéristiques de l'amoxicilline	9
5. Propriétés physico-chimiques de l'amoxicilline	10
6. Pharmacocinétique et métabolisme de l'amoxicilline	11
6.1. Pharmacocinétique de l'amoxicilline.....	11
6.2. Métabolisme de l'amoxicilline.....	11
7. Mécanisme d'action de l'amoxicilline	12
8. Récepteurs de l'amoxicilline	14
CHAPITRE 02: Approches in silico	16
1. Généralité	17
2. Docking moléculaire	17
3. Différents types de docking moléculaire	18
4. Théorie du docking moléculaire	18
4.1. Glossaire du docking	18
4.2. Théorie de base.....	19

5. Logiciel de docking moléculaire Autodock	20
5.1. Théorie d'Autodock	20
6. Modélisation moléculaire.....	21
6.1 Mécanique moléculaire (MM).....	21
6.2 Méthodes quantiques	22
6.3 Méthodes semi-empiriques.....	22
7. Propriétés d'Absorption, de Distribution, de Métabolisme, d'Excrétion et de Toxicité (ADMET).....	23
7.1. Propriétés physico-chimiques.....	24
7.1. Profil pharmacocinétique	25
7.2 Similarité avec médicaments.....	26
7.3 Profil de toxicité	27
DEUXIÈME PARTIE: Étude expérimentale	28
CHAPITRE 03: Matériaux et méthodes	29
Introduction	30
1. Bibliothèque combinatoire	30
2. Screening ADMET	32
2.1 Screening des propriétés pharmacocinétiques et de la similarité avec les médicaments.....	32
2.2 Screening des propriétés de toxicité	33
3. Optimisation structurale	34
4. Sélection des protéines	34
5. Docking moléculaire.....	34
CHAPITRE 04: Résultats et Discussion	36
1. Screening ADMET	37
1.1. Propriétés physicochimiques des composés	37
1.2. Propriétés médicamenteuses et pharmacocinétique Similitude.....	38
1.3. Chimie médicinale.....	41
1.4. Toxicité.....	42
2. Docking moléculaire.....	43
CONCLUSION	49
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	51
ANNEXES	65

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter les infections bactériennes en ciblant spécifiquement les bactéries responsables de l'infection. Ils ont révolutionné le traitement des maladies infectieuses et ont permis de sauver des millions de vies dans le monde entier. Les antibiotiques sont classés en différentes catégories en fonction de leur mode d'action et de leur spectre d'activité [1].

Les antibiotiques à large spectre sont efficaces contre un large éventail de bactéries, tandis que les antibiotiques à spectre étroit ne ciblent qu'un nombre limité de bactéries spécifiques. Certains antibiotiques sont également spécifiques à certaines parties de la bactérie, tels que les ribosomes ou les enzymes, tandis que d'autres interfèrent avec la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne [2].

Cependant, l'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques a cependant conduit à une résistance croissante des bactéries aux antibiotiques, ce qui a rendu plus difficile le traitement des infections bactériennes. Il est donc important d'utiliser les antibiotiques avec prudence et seulement lorsque cela est nécessaire. Il existe également de nouveaux développements dans la recherche sur les antibiotiques, tels que l'utilisation de combinaisons d'antibiotiques pour améliorer l'efficacité, la découverte de nouveaux antibiotiques à partir de sources naturelles, et l'utilisation de techniques informatiques pour la conception de nouveaux antibiotiques [3].

Cette mémoire vise à explorer les propriétés et les interactions des nouveaux dérivés de l'amoxicilline est un antibiotique de la famille des pénicillines largement utilisé pour traiter diverses infections bactériennes. Elle agit en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne.

Les dérivés de l'amoxicilline sont des composés qui ont subi des modifications structurales pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques. Ces dérivés peuvent présenter une meilleure efficacité antimicrobienne, une biodisponibilité accrue ou une activité contre des souches résistantes. L'étude des nouveaux dérivés d'amoxicilline est justifiée par plusieurs raisons. Tout d'abord, l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques pose un défi majeur pour le traitement des infections. Par conséquent, la recherche de nouveaux composés antimicrobiens est essentielle pour faire face à ce problème. De plus, l'amélioration des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de l'amoxicilline peut permettre une meilleure efficacité thérapeutique et réduire les effets indésirables.

Enoncera les objectifs de cette étude sont :

✓ Utiliser des méthodes d'approches in-silico pour prédire l'interaction des nouveaux dérivés d'amoxicilline avec des cibles bactériennes spécifiques, telles que les enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi cellulaire.

✓ Prédire les propriétés ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion, toxicité) des nouveaux dérivés d'amoxicilline pour évaluer leur pharmacocinétique et leur sécurité.

✓ Effectuer des simulations de dynamique moléculaire pour étudier le comportement des dérivés d'amoxicilline à l'échelle atomique et comprendre leur stabilité et leur flexibilité structurale (**Sp**).

Comment l'approche in silico combinant le docking moléculaire, la prédiction ADMET et la simulation de dynamique moléculaire peut-elle être utilisée pour concevoir de manière efficace et sûre de nouveaux dérivés d'amoxicilline?

Cette mémoire est répartie comme suit :

PREMIÈRE PARTIE: Étude bibliographique

CHAPITRE 01: Généralités sur l'amoxicilline

CHAPITRE 02: Approches in silico

DEUXIÈME PARTIE: Étude expérimentale

CHAPITRE 03: Matériaux et méthodes

CHAPITRE 04: Résultats et Discussion

PREMIÈRE PARTIE :

Étude bibliographique

CHAPITRE 01 :

Généralités sur l'amoxicilline

1. Historique découvert et développement de l'amoxicilline

1.1. Historique découvert

Dans les années 1960, une gamme limitée d'antibactériens non β -lactamines était disponible ; la plupart avaient certaines limites en termes de toxicité, par exemple les sulfamides (éruptions cutanées et toxicité rénale); la streptomycine et la kanamycine (ototoxicité et néphrotoxicité); le chloramphénicol (aplasie de la moelle osseuse); l'érythromycine (effets secondaires gastro-intestinaux) ; les tétracyclines (se concentrent dans les os et les dents en développement) et la colistine (neurotoxicité et néphrotoxicité). Plusieurs β -lactames, tels que les pénicillines : la pénicilline G et V (labiles à l'acide gastrique), l'ampicilline, la méthicilline (néphrotoxicité) et également les céphalosporines:

La céphaloridine et la céphalothine (néphrotoxicité) ont été signalés. Tous ces agents étaient généralement administrés en une dose quatre fois par jour et étaient associés à des éruptions cutanées et, rarement, à une anaphylaxie[4].

À la fin des années 1960, les infections difficiles à traiter en milieu hospitalier comprenaient la méningite, l'endocardite, les infections néonatales, les infections staphylococciques résistantes à la pénicilline et les infections causées par des organismes Gram-négatifs [4].

Dans les années 1970, plusieurs nouveaux agents antimicrobiens importants ont été introduits, dont certains étaient encore associés à des événements indésirables, tels que le co-trimoxazole (éruptions cutanées et toxicité sulfamidique), la tobramycine et l'amikacine (toxicité des aminoglycosides) et le métronidazole (neuropathie). Certains nouveaux antibiotiques bêta-lactamines ont également été introduits, notamment les céphalosporines- cefamandole, cefuroxime ; le céphamycine, cefoxitin ; et les pénicillines- amoxicilline, flucloxacilline, mézloxacilline, azlocilline et ticarcilline. Tous pouvaient être associés à des éruptions cutanées et, rarement, à une anaphylaxie [4].

En 1972, l'amoxicilline a été introduite au Royaume-Uni, conservant l'activité à large spectre de l'ampicilline, mais avec une biodisponibilité accrue[5], [6]. Avec la production de β -lactamases par les pathogènes gram-positifs et gram-négatifs devenant un problème cliniquement pertinent, des efforts ont été déployés pour développer une pénicilline à large spectre, biodisponible par voie orale, efficace contre ces souches, conduisant à la combinaison d'amoxicilline et d'acide clavulanique (amoxicilline/ clavulanate) [5], [7].

En 1981, SmithKline Beecham a breveté les comprimés d'amoxicilline ou d'amoxicilline/ clavulanate de potassium, et a vendu pour la première fois l'antibiotique en 1998 sous les noms commerciaux d'amoxicilline, d'amoxil et de trimox [8].

1.2. Développement de l'amoxicilline

Les pénicillines contiennent un noyau de β -lactame en tant que base, et ce noyau peut être ouvert dans des solutions neutres ou basiques, ce qui peut résulter en un médicament inactif. Ce noyau est également affecté par la β -lactamase, une enzyme produite par certaines bactéries qui peut dégrader les antibiotiques de la pénicilline. Par conséquent, les antibiotiques de la pénicilline doivent avoir des structures chimiques ajoutées pour augmenter leur stabilité acide et leur résistance à la β -lactamase [9].

Ajouter un groupe attracteur d'électrons sur la position 6 (située sur l'anneau β -lactame) du groupe amide peut augmenter sa stabilité acide en rendant l'oxygène amide moins nucléophile comme dans le cas de l'amoxicilline. Cela garantit que l'oxygène amide n'attaquera pas le groupe carbonyle de l'anneau β -lactame pour l'ouvrir [9].

Dans les années 1950, toute la famille des antibiotiques β -lactamines se composait de deux composés ayant un spectre d'activité limité : la pénicilline G et la pénicilline V. Il y avait un intérêt considérable à développer de nouvelles pénicillines en modifiant la chaîne latérale de la molécule (Fig.1). Une méthode consistait à fournir les précurseurs de la chaîne latérale dans le milieu de fermentation. Cependant, la gamme et la diversité des composés qui pouvaient être produits de cette manière étaient limitées [4], [6].

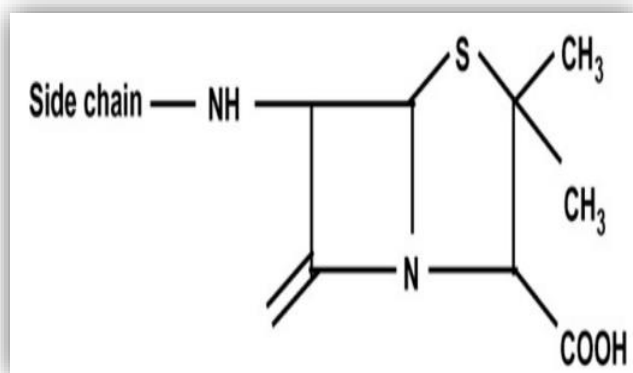


Fig.1. Schéma explique la structure de base de la pénicilline [4]

La prochaine approche, menée par des scientifiques des laboratoires de recherche Beecham (BRL), était de produire de la p-aminobenzyl pénicilline car sa chaîne latérale pouvait être modifiée ultérieurement si nécessaire. La fermentation en milieu liquide a de nouveau été utilisée, mais en l'absence de précurseurs de chaîne latérale suffisants, la molécule résultante, l'acide 6-aminopénicillanique (6-APA), identifiée en 1957, était sans chaîne latérale. Le 6-APA a été utilisé pour produire des β -lactames synthétiques, notamment la méthicilline stable contre la β -lactamase, lancée en 1960 [4], [10], [11].

Un autre objectif à cette époque était d'identifier une pénicilline à large spectre. Cela a été réalisé en 1961 avec la synthèse de l'ampicilline et plus tard en 1970 avec l'amoxicilline. L'amoxicilline est très étroitement liée à l'ampicilline avec le même spectre d'activité et de puissance, mais est beaucoup mieux absorbée lorsqu'elle est administrée par voie orale, atteignant des concentrations sanguines d'environ deux fois supérieures à celles obtenues avec l'ampicilline (**Fig. 2**) [12].

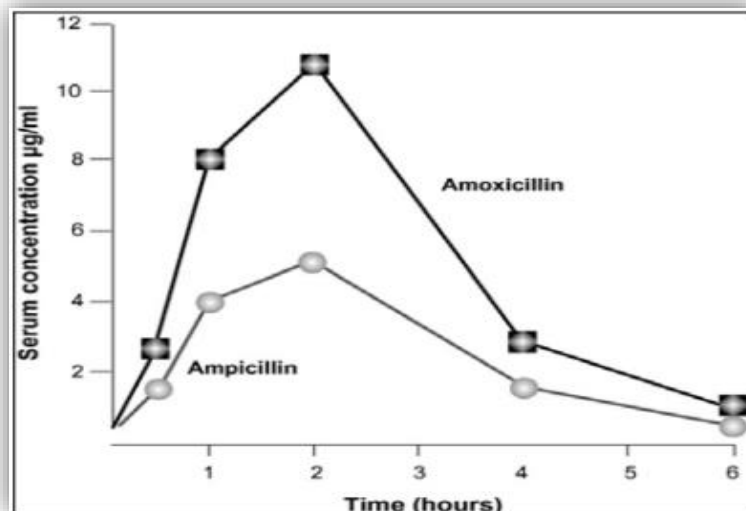


Fig. 2. Schéma explique les concentrations sériques d'amoxicilline et d'ampicilline chez des sujets à jeun après une dose de 500 mg [12]

2. Définition de l'amoxicilline

L'amoxicilline est un antibiotique semi-synthétique stable à l'acide, appartient à une classe d'antibiotiques appelés pénicillines (antibiotiques β -lactamines). Elle est efficace contre un large éventail d'infections causées par une variété de bactéries Gram+ positives et Gram-négatives chez l'homme et les animaux[13], [14]. Chimiquement, l'amoxicilline est l'acide (2S,5R,6R)-6-[[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphényl)acétyl]amino]-3,3-diméthyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylique (**Fig. 3**)[15], [16].

Elle est largement utilisée dans le traitement des infections bactériennes courantes telles que les infections des voies respiratoires, les infections de l'oreille moyenne, les infections de la peau et les infections des voies urinaires[17].

L'amoxicilline agit en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries, ce qui entraîne leur mort[18]. Elle est efficace contre une grande variété de bactéries gram-positives et gram-négatives, y compris les souches résistantes à l'ampicilline.

CHAPITRE 01 : Généralités sur l'amoxicilline

L'amoxicilline est généralement considérée comme un antibiotique sûr et bien toléré, bien qu'elle puisse causer des effets indésirables tels que des réactions allergiques, des nausées, des vomissements et des diarrhées chez certains patients[19].

Elle est disponible sous forme de comprimés, de capsules et de suspensions orales.

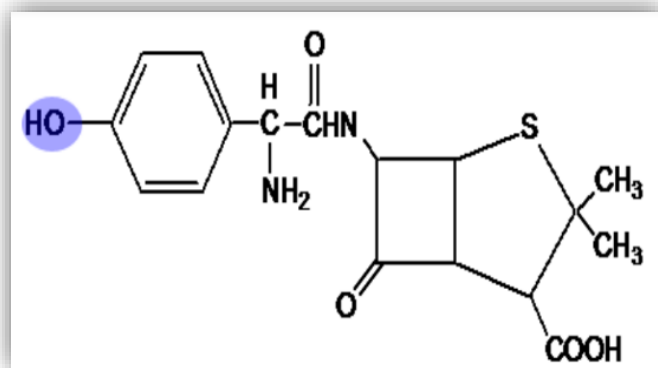


Fig. 3. Schéma explicite la structure chimique de l'amoxicilline[20]

3. Types de l'amoxicilline

Il existe plusieurs formes d'amoxicilline disponibles sur le marché, notamment l'amoxicilline trihydratée, l'amoxicilline sodique et l'amoxicilline-clavulanate.

3.1. Amoxicilline orale

L'amoxicilline orale est la forme la plus courante d'amoxicilline et est utilisée pour traiter diverses infections bactériennes, telles que les infections de l'oreille, de la gorge, des sinus, des voies urinaires et de la peau[21].

3.2. Amoxicilline injectable

L'amoxicilline injectable est utilisée pour traiter les infections bactériennes graves et est administrée par voie intraveineuse[22].

3.3. Amoxicilline/clavulanate de potassium

Cette forme d'amoxicilline est combinée avec l'acide clavulanique pour traiter les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques. L'acide clavulanique aide à prévenir la destruction de l'amoxicilline par les enzymes bactériennes[23].

3.4. Amoxicilline à libération prolongée

Cette forme d'amoxicilline est conçue pour libérer lentement le médicament dans le corps sur une période de temps prolongée, permettant une dose unique quotidienne pour

CHAPITRE 01 : Généralités sur l'amoxicilline

le traitement des infections bactériennes[24]. Les différentes formes d'amoxicilline ont des propriétés pharmacologiques similaires, mais peuvent différer légèrement en termes de biodisponibilité, de dose et de posologie. Il est important de consulter un professionnel de la santé pour déterminer la forme appropriée d'amoxicilline à utiliser en fonction de l'infection traitée et des besoins individuels du patient[21], [22].

La comparaison des propriétés pharmacologiques de chaque type d'amoxicilline est importante pour choisir le type approprié pour le traitement des infections bactériennes. Voici quelques comparaisons basées sur des études récentes :

✓ L'amoxicilline trihydratée et l'amoxicilline sodique ont des propriétés pharmacologiques similaires en termes de biodisponibilité et de temps d'action, mais l'amoxicilline sodique a une meilleure solubilité dans l'eau, ce qui facilite son administration par voie intraveineuse[23].

✓ L'amoxicilline-clavulanate est une combinaison d'amoxicilline et de clavulanate, qui est un inhibiteur de bêta-lactamase. Cette combinaison a une meilleure activité contre les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, en particulier les bactéries produisant des bêta-lactamases à spectre étendu. Cependant, l'amoxicilline-clavulanate peut être associée à un risque accru de diarrhée et d'autres effets indésirables[24].

Il est important de noter que la comparaison des propriétés pharmacologiques dépend également des doses, des voies d'administration et des populations de patients spécifiques. Par conséquent, le choix du type d'amoxicilline doit être basé sur une évaluation individuelle de chaque cas clinique.

4. Caractéristiques de l'amoxicilline

L'amoxicilline est un antibiotique de la famille des pénicillines. Il est caractérisé par les propriétés physico-chimiques suivantes :

- **Formule chimique** : C₁₆H₁₉N₃O₅S
- **Masse molaire** : 365,4 g/mol
- **Point de fusion** : 200-210 °C
- **Solubilité** : soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol et l'acétone (3,9)
- **PH de la solution** : 3,5 - 5,5.
- **PKa** : 2,4; 7,4; 9,6[25].

L'amoxicilline est un antibiotique largement utilisé dans le traitement des infections bactériennes. Cependant, comme tout médicament, elle présente certains effets indésirables

et nécessite des précautions d'emploi. Les effets indésirables courants de l'amoxicilline comprennent des réactions allergiques telles que des éruptions cutanées, des démangeaisons, de l'urticaire, des gonflements et des difficultés respiratoires. Des effets secondaires gastro-intestinaux peuvent également survenir, tels que des nausées, des vomissements, de la diarrhée et des douleurs abdominales. Des effets indésirables plus rares comprennent des réactions hépatiques, des convulsions, une anémie hémolytique et une colite pseudo-membraneuse[26], [27].

Il est également important de prendre des précautions lors de l'utilisation de l'amoxicilline, il est peut également interagir avec d'autres médicaments, tels que les contraceptifs oraux, les anticoagulants et les médicaments contre le diabète, ce qui peut nécessiter des ajustements de dose ou des alternatives thérapeutiques.

Les patients qui ont des antécédents de réactions allergiques aux antibiotiques de la famille des pénicillines doivent éviter l'utilisation de l'amoxicilline[28].

5. Propriétés physico-chimiques de l'amoxicilline

L'amoxicilline est une poudre blanche ou presque blanche (trihydrate d'amoxicilline-cristalline blanche, et amoxicilline- sodium- amorphe blanc ou légèrement rose, très hygroscopique), avec une légère odeur sulfureuse, compatible avec les tampons de citrate, phosphate et borate[15], [16], [29].

L'amoxicilline sodique est très soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol anhydre, très légèrement soluble dans l'acétone, tandis que le trihydrate d'amoxicilline est légèrement soluble dans l'eau, très légèrement soluble dans l'éthanol (96 %), pratiquement insoluble dans les huiles grasses. Elle se dissout dans les acides dilués et les solutions diluées d'hydroxydes alcalins[15], [16].

La dégradation du trihydrate d'amoxicilline ainsi que du sodium, dans des récipients fermés et ouverts, a montré une dégradation en deux étapes à différentes températures. Dans des conditions d'humidité contrôlées, le trihydrate d'amoxicilline et le sodium d'amoxicilline ont tous deux montré une dégradation de premier ordre[29]. Les données de la littérature ont indiqué que l'amoxicilline en solution aqueuse diluée suivait une vitesse de dégradation de premier ordre ou de pseudo-premier ordre à pH constant, avec une vitesse minimale d'environ pH6. La dégradation de l'amoxicilline était soumise à la catalyse par des tampons de phosphate et de citrate, avec une augmentation de la vitesse de 10 fois avec le phosphate. Une augmentation de la force ionique a été signalée pour avoir un effet positif sur la vitesse de dégradation en milieu alcalin et un effet négatif en milieu acide[29].

À des concentrations plus élevées, l'amoxicilline donne une cinétique de dégradation non de premier ordre, ce qui est indicatif d'une réaction de dimérisation et la vitesse de dimérisation de l'amoxicilline à pH 9 est supérieure à celle des autres aminopénicillines. La dégradation de l'amoxicilline (sel de sodium) à concentration plus élevée est devenue plus rapide en présence de glucides (dextrose, dextrans et sorbitol) et d'alcools. L'amoxicilline a montré une stabilité dépendante du pH, la stabilité augmentant avec la diminution du pH[30]. La catalyse acido-basique semblait être le mécanisme de dégradation de l'amoxicilline dans des solutions tampons[29].

Amoxicilline a été rapporté avec des valeurs de pKa de 2,67, 7,11 et 9,55 à 37°C[30], [31] et a été trouvé avoir la plus faible solubilité dans une plage de pH de 4 à 6[32].

La solubilité relative (le profil de solubilité pH-apparent) de la pénicilline amphothérique (amoxicilline), a été déterminée dans conditions de température physiologique pour l'amoxicilline et les résultats ont indiqué une courbe de solubilité en forme de U, avec une solubilité minimale près du point isoélectrique[30]. Staniforth et al, ont postulé qu'il y a une augmentation de la solubilité de l'amoxicilline à un pH plus élevé[32].

6. Pharmacocinétique et métabolisme de l'amoxicilline

6.1. Pharmacocinétique de l'amoxicilline

Pharmacocinétique a été étudiée dans de nombreuses études, l'absorption de l'amoxicilline est rapide et complète après une administration orale, avec un pic plasmatique atteint en environ 1 à 2 heures[33].

La biodisponibilité est d'environ 80% et est réduite en présence de nourriture. L'amoxicilline est largement distribuée dans les tissus et les liquides corporels, et sa demi-vie plasmatique est d'environ 1 à 1,5 heure. Elle est principalement excrétée inchangée par les reins[34]. Plusieurs facteurs peuvent affecter la pharmacocinétique de l'amoxicilline, notamment l'âge, le poids corporel, l'état de la fonction rénale et la présence de pathologies concomitantes.

Des ajustements de la dose peuvent être nécessaires chez les patients présentant une altération de la fonction rénale ou hépatique[35].

6.2. Métabolisme de l'amoxicilline

L'amoxicilline subit un métabolisme hépatique important pour produire plusieurs métabolites, notamment l'amoxicilline acide, l'amoxicilline 2-hydroxyéthyle et l'amoxicilline 3-hydroxyéthyle (**Fig.4**).

Elle subit un métabolisme hépatique partiel, principalement par le système enzymatique du cytochrome P450, les enzymes hépatiques responsables de la métabolisation de l'amoxicilline comprennent le CYP3A4 et le CYP2C19[36]. Le métabolisme de l'amoxicilline peut être affecté par divers facteurs, tels que l'âge, le sexe, la présence de maladies hépatiques et rénales, ainsi que l'utilisation concomitante d'autres médicaments[37].

La majeure partie de l'amoxicilline est éliminée sous forme inchangée dans les urines, ce qui en fait un médicament principalement excrété par les reins.

L'amoxicilline est partiellement métabolisée dans le foie en plusieurs métabolites inactifs. La principale voie de métabolisme implique l'hydroxylation de la chaîne latérale de l'amoxicilline, formant un métabolite appelé amoxicilline acide.

Des études ont montré que certains médicaments, tels que la probénécide, peuvent inhiber l'excrétion rénale de l'amoxicilline et augmenter sa demi-vie plasmatique[38].

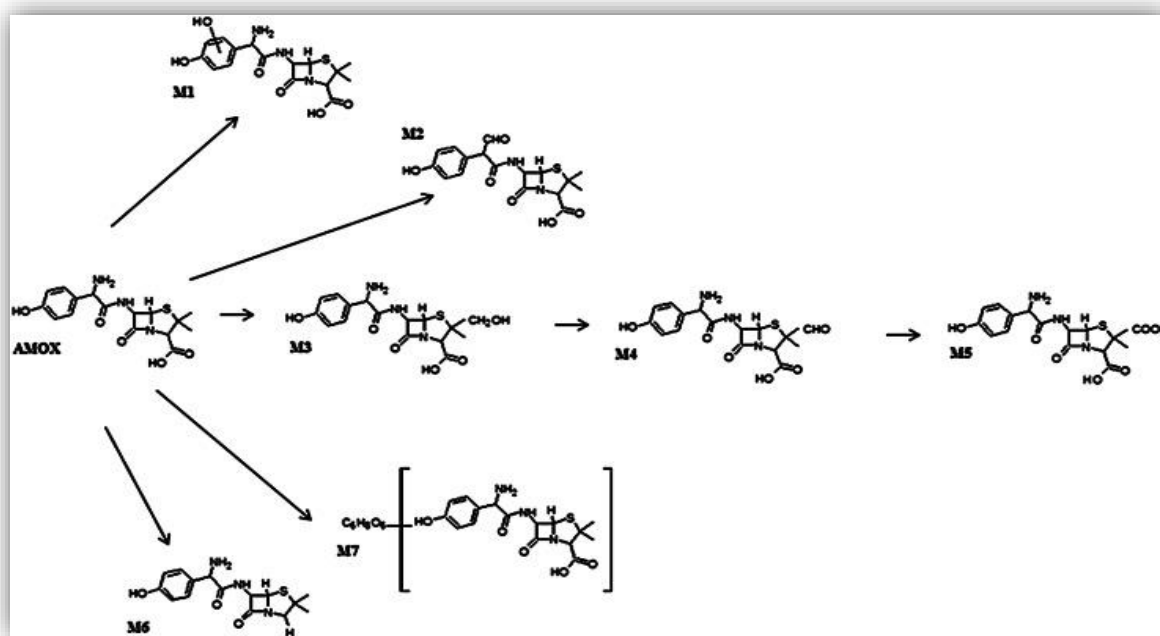


Fig. 4. Schéma explique le métabolisme de l'amoxicilline[39]

7. Mécanisme d'action de l'amoxicilline

L'amoxicilline est un antibiotique de la famille des bêta-lactamines, qui agit en perturbant la paroi cellulaire des bactéries. Plus précisément, l'amoxicilline agit en inhibant la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne en se liant à la protéine de liaison de la pénicilline (PBP) qui est responsable de la synthèse de la paroi cellulaire[40].

Lorsque l'amoxicilline se lie à la PBP, elle empêche la formation de liaisons peptidiques entre les chaînes de peptidoglycanes, qui sont essentielles à la formation de la paroi cellulaire.

Cela entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire bactérienne et l'accumulation de débris cellulaires à l'intérieur de la cellule bactérienne. Finalement, cela conduit à la mort de la bactérie[41].

Il convient de noter que l'effet de l'amoxicilline sur la paroi cellulaire bactérienne est spécifique aux bactéries en phase de croissance active, et qu'elle n'affecte pas les bactéries en phase de latence ou les bactéries qui ont déjà formé une paroi cellulaire mature[42].

- **Mécanismes de la résistance bactérienne aux l'amoxicilline**

Les bactéries peuvent développer plusieurs mécanismes de résistance à l'amoxicilline, ce qui peut rendre ce médicament inefficace dans le traitement des infections bactériennes.

Parmi les mécanismes de résistance les plus courants[43], on trouve :

- **Production d'enzymes bêta-lactamases**

Ces enzymes sont capables de dégrader l'amoxicilline et les autres antibiotiques de la famille des bêta-lactamines en les coupant au niveau de leur cycle bêta-lactame, ce qui empêche leur action sur les bactéries.

Les bactéries qui produisent des bêta-lactamases sont souvent appelées bactéries à Gram négatif, car elles ont une membrane externe qui limite l'accès des antibiotiques aux cellules [44].

- **Modification de la cible de l'antibiotique**

Certaines bactéries peuvent muter leur cible bactérienne, ce qui empêche l'amoxicilline de se fixer efficacement et de bloquer la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne[45].

- **Diminution de la perméabilité membranaire (porines et pompes d'efflux)**

Certains types de bactéries possèdent des pompes membranaires qui leur permettent d'éliminer rapidement l'amoxicilline et d'autres antibiotiques de la cellule bactérienne, réduisant ainsi leur concentration intracellulaire[46].

Il est important de noter que les mécanismes de résistance peuvent varier en fonction de l'espèce bactérienne et de la souche, et que les bactéries peuvent acquérir de nouveaux mécanismes de résistance par mutation ou transfert de gènes entre individus.

La lutte contre la résistance aux antibiotiques est un enjeu majeur de santé publique, et des efforts sont déployés pour développer de nouveaux antibiotiques et des stratégies de prévention de la résistance[47].

8. Récepteurs de l'amoxicilline

L'amoxicilline agit en se liant aux récepteurs des bactéries, les protéines appelées PBPs (Penicillin Binding Proteins) qui sont impliquées dans la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne. Cette liaison perturbe la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne et conduit finalement à la mort de la bactérie. Les PBPs ont une affinité différente pour l'amoxicilline et d'autres antibiotiques, ce qui peut expliquer leur efficacité variable contre différentes espèces bactériennes[48], [49].

9. Régulation chimique de l'amoxicilline

La régulation chimique de l'amoxicilline est un enjeu important pour les industries pharmaceutiques, les gouvernements et les patients. D'une part, la réglementation stricte sur la production et la distribution de l'amoxicilline peut garantir la qualité et l'efficacité du médicament, ainsi que prévenir la contrefaçon et la vente illégale.

Cependant, une réglementation excessive peut entraver l'accès des patients à des médicaments abordables et efficaces, en particulier dans les pays en développement. Il est donc important de trouver un équilibre entre la réglementation et l'accès aux médicaments pour répondre aux besoins de santé publique. La mise en place de politiques de réglementation appropriées peut garantir la sécurité et l'efficacité des médicaments, tout en assurant leur disponibilité à un coût abordable pour les patients. Cela peut être réalisé grâce à une surveillance régulière de la qualité des médicaments, à des réglementations strictes sur la production et la distribution, ainsi qu'à des mécanismes de contrôle des prix[50].

De nombreuses études ont été menées sur les enjeux économiques et sociaux liés à la régulation des médicaments, y compris l'amoxicilline. Par exemple, une étude de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a examiné l'impact des politiques de réglementation sur les prix des médicaments en Afrique subsaharienne et a constaté que des politiques de réglementation appropriées peuvent entraîner des réductions significatives des prix des médicaments essentiels, y compris l'amoxicilline[51].

D'autres études ont également examiné l'impact économique de la résistance aux antibiotiques, qui peut résulter d'une utilisation excessive ou inappropriée d'antibiotiques, y compris l'amoxicilline. La résistance aux antibiotiques peut entraîner des coûts de traitement plus élevés, des hospitalisations prolongées et une augmentation de la mortalité. Par conséquent, il est important de réglementer l'utilisation appropriée des antibiotiques pour prévenir la résistance et garantir leur efficacité à long terme[52].

En ce qui concerne l'utilisation de l'amoxicilline, elle doit être prescrite par un médecin

CHAPITRE 01 : Généralités sur l'amoxicilline

et administrée conformément aux indications et aux doses recommandées. Les effets indésirables et les contre-indications doivent être pris en compte, et les patients doivent être surveillés pour détecter tout signe d'intolérance ou de réaction allergique [53].

CHAPITRE 02 :
Approches in silico

1. Généralité

Depuis le début des années 1980, le docking moléculaire est devenu la méthode la plus importante utilisée pour étudier l'interaction d'une petite molécule (ligand) avec une macromolécule (récepteur) ou plus clairement utilisée pour prédire l'orientation préférée de liaison entre les molécules afin d'obtenir un complexe stable, ce qui a permis de prédire la force des liaisons ou des associations et l'affinité de liaison entre deux molécules[54], [55], [56], [57].

2. Docking moléculaire

Le docking moléculaire est la méthode principale de simulation des interactions moléculaires. Cette méthode permet d'obtenir des informations sur l'interaction au niveau atomique, offrant ainsi la possibilité de caractériser pleinement le site de liaison de chaque molécule. À l'exception de la conformation du complexe et de l'orientation de la petite molécule, le docking moléculaire fournit des informations sur l'affinité de chaque ligand[58].

Le docking est réalisé en deux étapes principales : premièrement, la détermination d'une large zone conformationnelle où le ligand peut occuper la cible avec différentes orientations, et deuxièmement, le calcul de l'énergie associée à chaque état conformationnel[59]. Il permet de comprendre comment un ligand (petite molécule) interagit avec un récepteur (macromolécule) et de calculer l'énergie de liaison entre eux, et déterminer quel ligand candidat interagira le mieux avec un récepteur cible[55]. L'objectif du docking moléculaire est de prédire la conformation et l'énergie de liaison optimales du ligand dans le site actif de la cible, ce qui peut aider à comprendre les interactions moléculaires et à concevoir de nouveaux médicaments[55], [56].

Il se compose de deux sections distinctes. La première section comprend des algorithmes de recherche qui sont capables de générer un grand nombre de structures possibles et de déterminer le mode de liaison. Parmi ces algorithmes: l'algorithme génétique, la méthode de Monte Carlo, et la deuxième section est consacrée à la fonction de scoring, qui sont des méthodes mathématiques utilisées pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison entre deux molécules après avoir été soumises à l'étape de docking.

Le meilleur résultat pour le docking est l'adduit récepteur-ligand qui a l'énergie la plus basse.

3. Différents types de docking moléculaire

Différents types de docking moléculaire, il existe deux types de docking moléculaire: Le premier type est appelé docking rigide, qui consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système récepteur-ligand en considérant que chacune des deux molécules maintient une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité interagissant dans le complexe n'est pas prise en compte.

Cependant, il est tout à fait concevable que les structures du récepteur et du ligand soient modifiées pendant le processus de docking moléculaire afin d'optimiser l'interaction entre les deux entités. Dans ce cas, on parle de docking flexible[60]. Un très grand nombre de logiciels de docking moléculaire sont déjà disponibles. Parmi ceux-ci, on peut citer par exemple Autodock[61], [62] ou Hex [63].

Ils diffèrent les uns des autres dans la manière de représenter le système moléculaire et de déterminer le score de docking (fonction de score).

Deux approches sont principalement utilisées pour modéliser la recherche de ce projet, nous avons utilisé le logiciel AutoDock version 4.2.

4. Théorie du docking moléculaire

4.1. Glossaire du docking

Le docking moléculaire est une méthode utilisée en chimie et en biologie computationnelle pour prédire et étudier les interactions entre une petite molécule (le ligand) et une cible biologique, telle qu'une protéine. Le processus de docking moléculaire permet de prédire la conformation tridimensionnelle la plus favorable du complexe formé par la molécule cible et le ligand, ainsi que d'estimer leur affinité et leur mode d'interaction.

Voici un glossaire des termes couramment utilisés dans le domaine du docking moléculaire:

- **Docking moléculaire:** processus de prédiction et d'étude de l'interaction entre une molécule cible et un ligand[66].
- **Molécule cible:** molécule biologique, généralement une protéine, à laquelle un ligand se lie pour produire une réponse biologique[67].
- **Ligand:** molécule qui se lie à la molécule cible, généralement un médicament potentiel ou une petite molécule[68].
- **Site actif:** région spécifique de la molécule cible à laquelle le ligand se lie et exerce son effet.

- **Conformation:** configuration tridimensionnelle d'une molécule[69].
- **Score:** mesure quantitative de l'affinité ou de l'énergie d'interaction entre la molécule cible et le ligand.
- **Pose:** conformation prédite du complexe formé par la molécule cible et le ligand [70].
- **Flexibilité:** capacité d'une molécule à adopter différentes conformations[71].
- **Méthodes de recherche:** approches algorithmiques utilisées pour explorer l'espace de recherche des poses possibles du ligand dans le site actif.
- **Méthodes d'évaluation:** méthodes utilisées pour évaluer et classer les poses du ligand en fonction de leur score ou de leur affinité[72].

Le processus de docking moléculaire comprend généralement les étapes suivantes:

- **Préparation des structures:** préparation du ligand et de la protéine cible en effectuant des étapes telles que la recherche de conformations, la protonation et la préparation des fichiers.
- **Recherche de conformations:** exploration des différentes conformations possibles du ligand pour tenir compte de la flexibilité moléculaire.
- **Recherche de l'espace de recherche:** exploration de l'espace de recherche pour trouver les poses de liaison possibles du ligand dans le site actif de la protéine cible.
- **Evaluation et classement:** évaluation des poses de liaison à l'aide de fonctions d'énergie ou de scores pour prédire l'affinité de liaison et le classement des poses en fonction de leur énergie de liaison prévue[73].

4.2. La théorie de base

Deux étapes inter dépendantes sont utilisées pour réaliser le sujet du docking moléculaire en utilisant des méthodes informatiques: la première consiste à déterminer les modes de liaison en comptant le nombre d'orientations et de conformations du ligand dans le site actif du récepteur, et la deuxième étape consiste à attribuer un score à chaque conformation pour les classer[74], [75], [76].

Les algorithmes d'échantillonnage sont utilisés pour reproduire les modes de liaison, tandis que la fonction de score est utilisée pour classer les conformations selon l'ordre croissant d'interaction préférée[77], [78]. Il étant donné le grand nombre de conformation du ligand et du récepteur, il est coûteux de générer computationnellement tous les modes de liaison. C'est pourquoi des algorithmes d'échantillonnage ont été développés, tels que les algorithmes de correspondance, LUDI, MCSS, Monte Carlo, les algorithmes génétiques,

la dynamique moléculaire et la construction incrémentielle, pour être utilisés dans les logiciels de docking moléculaire[79], [80], [81], [82], [83].

La fonction de score est une fonction mathématique utilisée pour distinguer les composés actifs des composés inactifs, en classant les conformations après le calcul de l'affinité de liaison et de l'association forte entre le ligand et le récepteur, tout en adoptant des hypothèses et des simplifications[84], [85], [86], [87], [88].

5. Logiciel de docking moléculaire Autodock

Dans ce logiciel, le docking est basé sur la simulation de trajectoire, ce qui le rend plus précis: à partir d'une position initiale aléatoire en dehors du site actif, le ligand explore le site étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur[89].

Les mouvements sont effectués par translation, rotation et changements de conformation. L'énergie d'interaction est calculée par une fonction d'énergie. Les mouvements du cycle suivant sont guidés par les variations d'énergie induites par les mouvements des cycles précédents[90].

L'algorithme s'arrête lorsqu'il trouve la position idéale du ligand dans le récepteur. Ces techniques tiennent mieux compte de la flexibilité du ligand et permettent l'exploration de régions plus larges[91].

5.1. Théorie d'Autodock

La théorie d'AutoDock repose sur un champ de force semi-empirique d'énergie libre utilisé lors du processus de simulation de docking[64]. Le champ de force évalue.

Les conformations en deux étapes: la première étape est l'estimation de l'énergie intramoléculaire de transformation de l'état non lié à l'état lié de la conformation du ligand et du récepteur[65], et la deuxième étape est l'évaluation de l'énergie intramoléculaire de la combinaison du ligand et du récepteur dans l'état lié[66].

$\Delta G_{\text{total}} = \Delta G_{\text{dispersion/repulsion}} + \Delta G_{\text{hydrogen bonding}} + \Delta G_{\text{electrostatic interaction}} + \Delta G_{\text{torsional}} + \Delta G_{\text{desolvation}}$

Où :

- **$\Delta G_{\text{dispersion/repulsion}}$** est l'énergie de dispersion/ répulsion.
- **$\Delta G_{\text{hydrogen bonding}}$** est l'énergie de liaison hydrogène.
- **$\Delta G_{\text{electrostatic interaction}}$** est l'énergie d'interaction électrostatique.
- **$\Delta G_{\text{torsional}}$** est l'énergie de torsion.

- ΔG **desolvation** est l'énergie de désolvation.
- ΔG **torsional** est un terme qui reflète l'augmentation d'énergie du système due à la restriction des rotors libres du ligand et à la restriction de la rotation et de la translation du ligand lors de la complexation au niveau du récepteur.
- ΔG **solvation** est un terme lié à l'entropie qui décrit les variations d'énergie du système lors de la désolvation du ligand au moment de la complexation avec le récepteur.

6. Modélisation moléculaire

Pour réaliser le docking moléculaire, les structures des ligands doivent être optimisées par modélisation moléculaire. Ce qui suit est un aperçu théorique de la modélisation moléculaire. La modélisation moléculaire est une application de méthodes théoriques et de méthodes computationnelles pour résoudre des problèmes liés à la structure moléculaire et à la réactivité chimique[92].

Ces méthodes peuvent être relativement simples et utilisables rapidement, ou au contraire être extrêmement complexes et nécessiter des centaines d'heures de temps de calcul, même sur un superordinateur.

De plus, ces méthodes utilisent souvent des moyens infographiques très sophistiqués qui facilitent grandement la transformation d'énormes quantités de nombres en représentations graphiques facilement interprétables. Différentes approches peuvent être envisagées dans le cadre des outils de modélisation moléculaire[93].

Alors que les méthodes de la mécanique classique, qui sont économiques en termes de temps de calcul, permettent de traiter de grands systèmes moléculaires, les méthodes quantiques (semi-empiriques ou de la théorie de la fonctionnelle de la densité) sont capables de calculer les propriétés électroniques des systèmes. Pour cette raison, ces approches ont été utilisées dans cette étude[94].

6.1. Mécanique moléculaire (MM)

La mécanique moléculaire est apparue en 1930, mais s'est développée à partir des années 1960, avec les avancées de l'accessibilité et des performances des ordinateurs[95]. Elle permet de déterminer l'énergie d'une molécule en fonction de ses coordonnées atomiques et de rechercher les minima d'énergie correspondant aux conformères stables[96], [97].

Les techniques de modélisation basées sur la mécanique quantique présentent un inconvénient majeur : elles sont très coûteuses en termes de temps de calcul et ne sont donc applicables qu'aux systèmes moléculaires de petite taille.

En fin de compte, le temps nécessaire pour traiter un système par des méthodes ab initio

est approximativement proportionnel à la quatrième puissance du nombre d'électrons qu'il contient. L'utilisation de ces techniques peut poser problème pour l'étude d'objets macromoléculaires tels qu'une enzyme en interaction avec un inhibiteur, ou pour la caractérisation de complexes métalloorganiques à grande échelle, tels que ceux qui font l'objet de cette recherche.

L'idée principale de cette méthode est d'établir, par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, le "champ de force", qui représente au mieux les variations de l'énergie potentielle en fonction de la géométrie moléculaire.

Cependant, il n'existe toujours pas de modèle unique pour simuler tous les aspects du comportement moléculaire, mais plutôt un ensemble de modèles[98].

6.2. Méthodes quantiques

- **La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)**

Dans le formalisme de la théorie de la densité fonctionnelle, l'énergie est exprimée en fonction de la densité électronique.

Les premiers à exprimer l'énergie en fonction de la densité ont été L.H. Thomas (1927), E. Fermi (1927, 1928) et P.A. Dirac (1930) sur le modèle d'un gaz d'électrons non interactifs. La DFT a réellement commencé avec les théorèmes fondamentaux de Hohenberg et Kohn en 1964 [99], qui établissent une relation fonctionnelle entre l'énergie de l'état fondamental et sa densité électronique. Les deux théorèmes démontrent l'existence d'une fonctionnelle de densité qui permet de calculer l'énergie de l'état fondamental d'un système.

L'objectif des méthodes DFT est de déterminer les fonctionnelles qui permettent de relier la densité électronique à l'énergie[100].

6.3 Méthodes semi-empiriques

Les méthodes semi-empiriques sont utilisées pour modéliser les grands systèmes moléculaires. Elles reposent sur deux approximations, la première consiste à ne considérer que la couche de valence (les électrons de valence qui interviennent dans les liaisons chimiques et définissent ainsi les propriétés du système).

La deuxième approximation annule les intégrales de répulsion électronique multicentrique. En utilisant des paramètres ajustés aux résultats expérimentaux, elles peuvent parfois conduire à des erreurs importantes dans l'évaluation des énergies totales[101].

AutoDock est basé sur un protocole de docking incrémental pour améliorer le docking de gros ligands.

7. Propriétés ADMET (d'Absorption, de Distribution, de Métabolisme, d'Excrétion et de Toxicité)

La découverte et le développement de médicaments sont une entreprise très complexe et coûteuse, qui comprend la sélection de maladies, l'identification et la validation de cibles, la découverte et l'optimisation de leads, ainsi que les essais précliniques et cliniques.

Les propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME) sont des phénomènes étroitement liés au destin d'un produit chimique dans le corps humain. Chacune de ces propriétés ADMET reflète le devenir d'un composé chimique lors de son interaction avec divers organes du corps. Voir la (Fig. 5).

La prédiction des propriétés ADMET à partir d'un composé est essentielle, notamment pour les composés chimiques étrangers consommés à long terme ou à fortes concentrations. Les informations sur les propriétés ADMET d'un composé sont principalement nécessaires dans le développement d'un nouveau médicament, où elles peuvent être utilisées pour prédire divers phénomènes pharmacocinétiques de ces composés, qui peuvent ensuite être utilisées comme informations nécessaires dans le développement ultérieur de nouveaux médicaments. Les stratégies informatiques jouent un rôle essentiel dans les premières étapes de la découverte de médicaments et sont censées minimiser les risques de toxicité.

L'activité pharmacocinétique et la toxicité peuvent être évaluées à l'aide d'algorithmes informatiques pour organiser, analyser, modéliser, simuler, visualiser ou prédire la toxicité chimique. La prédiction de la toxicité in silico est réalisée avant les tests in vitro et in vivo pour minimiser le temps et les coûts[102].

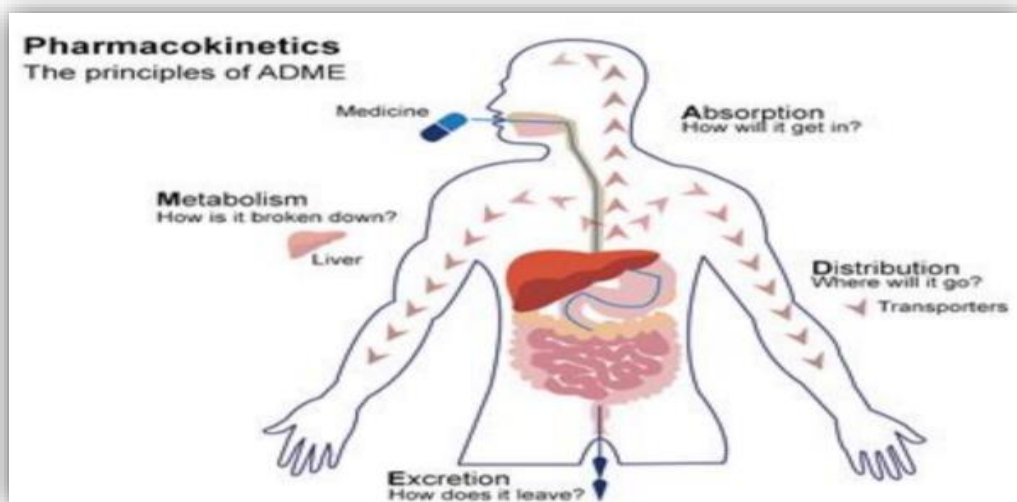


Fig.5. Principes de l'ADME[103]

7.1. Propriétés physico-chimiques

• Lipophilicité

La lipophilicité est un plus souvent représentée par le LogP, représente le rapport à l'équilibre de la concentration d'un composé entre deux phases, une phase huileuse et une phase liquide[104].

La lipophilicité est un paramètre physico-chimique qui doit être largement pris en compte lors du développement de nouveaux médicaments, car elle a été rapportée comme ayant une influence significative sur diverses propriétés pharmacocinétiques telles que l'absorption, la distribution, la perméabilité, ainsi que les voies d'élimination des médicaments [105]. Il est de plus en plus demandé de développer des médicaments ayant une lipophilicité élevée afin de satisfaire la sélectivité et la puissance requises des médicaments.

Ces exigences découlent essentiellement de la nature lipidique des cibles biologiques. D'autre part, les formulations de médicaments appropriées doivent refléter une bonne solubilité dans l'eau ainsi qu'un degré acceptable de lipophilicité afin d'assurer la meilleure absorption orale ainsi que la déposition et l'activité requises.

• Liaison hydrogène

La liaison hydrogène est considérée comme le facteur moteur qui joue un rôle évident dans la partition des composés biologiquement actifs. La liaison hydrogène reflète l'interaction entre l'accepteur de liaison hydrogène (HB) de la cible et le donneur de liaison hydrogène (HB) du composé, ou vice versa[106].

• Solubilité

La solubilité aqueuse est une propriété fondamentale qui est presque impliquée à chaque étape du développement d'un médicament en raison de son rôle dans la détermination de l'absorption, du transfert et de l'élimination du médicament du corps[107]. La solubilité intrinsèque peut être définie comme la solubilité thermodynamique du médicament à une valeur de pH où le médicament se trouve entièrement sous forme non ionisée[108].

L'efficacité des médicaments dépend principalement de leur solubilité aqueuse. Par conséquent, les médicaments ayant une faible solubilité ou des taux de dissolution bas seront éliminés avant d'entrer dans la circulation sanguine, ce qui entraînera une activité pharmacologique insuffisante[107].

La solubilité des composés chimiques est influencée par deux facteurs importants, à savoir la lipophilicité et la compacité de la structure cristalline, et il convient de noter que

ces deux paramètres sont liés à la solubilité dans une relation inverse[104]. Elle est également reconnue comme un facteur clé dans la détermination de l'absorption orale d'un médicament.

- **Perméabilité**

Perméabilité des médicaments leur permet de traverser principalement les barrières biologiques, y compris l'épithélium intestinal et la barrière hémato-encéphalique (BBB), par le mécanisme de diffusion passive, où les substances sont transportées en fonction d'un gradient de concentration.

En gros, il existe deux types de diffusion passive, l'un est le transport paracellulaire tandis que l'autre est le mécanisme de transport transcellulaire ; d'autres médicaments sont transportés soit par le transport médié par le transporteur soit par le transport médié par P-gp [109]. La perméabilité des médicaments est décrite par le paramètre de liaison hydrogène tel que mentionné dans diverses études, et la majorité des résultats ont montré que moins d'importance est associée aux descripteurs d'accepteurs de liaison hydrogène (HB) lors de la prédiction de la perméabilité de l'épithélium intestinal humain[110].

L'excrétion fait référence au processus par lequel le corps se débarrasse des déchets/produits toxiques. Le processus d'excrétion des médicaments peut être réalisé soit par les reins et/ou le foie, où les médicaments sont éliminés sous forme d'urine ou de bile, respectivement.

Le facteur en plus important qui détermine le mécanisme approprié d'élimination des médicaments est le poids moléculaire, où les substances de poids moléculaire relativement faible sont principalement éliminées par l'urine[111].

7.1. Profil pharmacocinétique

Le profil pharmacocinétique d'une substance médicamenteuse est déterminé par divers paramètres, notamment la distribution tissulaire. La prédiction de la distribution d'un médicament dans tout le corps est essentiellement divisée en trois principaux domaines d'examen, à savoir la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB), le volume de distribution (VD) et la liaison aux protéines plasmatiques (PPB).

Tous les trois domaines jouent un rôle observable dans la détermination des schémas posologiques appropriés, de la concentration plasmatique efficace et de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB), ce qui permet à son tour de prédire les cibles du système nerveux central (SNC), les effets secondaires et les thérapies non-SNC également[112].

Plusieurs aspects sont optimisés lors de l'évaluation du profil de métabolisme d'un médicament aux premiers stades de développement, notamment les voies métaboliques,

la stabilité et les interactions, ainsi que la cinétique des enzymes métabolisantes. Ces aspects se sont révélés essentiels pour la sélection des candidats médicamenteux appropriés lors du développement et de la découverte de médicaments pharmaceutiques[113].

La cytochrome P450 (CYP) est considérée comme l'enzyme le plus influent dans le métabolisme des médicaments. Il est également essentiel de connaître les interactions des molécules avec les cytochromes P450 (CYP). Cette superfamille d'isoenzymes joue un rôle clé dans l'élimination des médicaments par biotransformation métabolique[114]. Il a été suggéré que les CYP et les P-gp peuvent traiter de manière synergique les petites molécules pour améliorer la protection des tissus et des organismes[115].

On peut estimer que 50 à 90 % (selon les auteurs) des molécules thérapeutiques sont des substrats des cinq principales isoformes (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) [116], [117].

L'inhibition de ces isoenzymes est certainement l'une des principales causes des interactions médicamenteuses liées à la pharmacocinétique[118], [119], entraînant des effets indésirables toxiques ou autres en raison d'une clairance réduite et de l'accumulation du médicament ou de ses métabolites[120].

7.2. Similarité avec médicaments

Comme défini précédemment, "la ressemblance aux médicaments" évalue qualitativement la probabilité pour une molécule de devenir un médicament oral en termes de biodisponibilité. La biodisponibilité est une propriété importante qui désigne la quantité ou la fraction de la dose ingérée d'un composé chimique qui est absorbée, et fortement influencée par les propriétés physico-chimiques des composés, notamment leur hydrophilicité et leur solubilité[121].

Les règles de Lipinski[122], Ghose[123], Veber[124], Egan[125] et Muegge[126] ont été utilisées pour des études de pré-sélection de la ressemblance aux médicaments.

La règle des cinq de Lipinski est une règle empirique permettant d'évaluer la ressemblance aux médicaments, ou de déterminer si un composé chimique présentant une certaine activité pharmacologique ou biologique possède des propriétés qui en font un candidat potentiellement actif par voie orale chez les humains. Cette règle a été formulée par Christopher A. Lipinski en 1997. Lipinski en 1997, basée sur l'observation que la plupart des médicaments sont des molécules relativement petites et lipophiles[122].

La règle décrit les propriétés moléculaires importantes pour la pharmacocinétique d'un médicament dans le corps humain, notamment leur absorption, leur distribution, leur

CHAPITRE 02 : Approches in silico

métabolisme et leur élimination (ADME). Cependant, cette règle ne permet pas de prédire si un composé est pharmacologiquement actif.

La règle de Lipinski des Cinq stipule qu'en général, un médicament administrable par voie orale doit respecter les critères suivants :

- Pas plus de 5 donneurs de liaisons hydrogène (groupes OH et NH).
- Pas plus de 10 accepteurs de liaisons hydrogène (notamment N et O).
- Un poids moléculaire inférieur à 500 g/mol.
- Un coefficient de partage log P inférieur à 5.

Notez que tous les nombres sont des multiples de cinq, d'où le nom de cette règle.

Le filtre de Ghose définit les contraintes de similarité aux médicaments comme suit: le log P calculé doit être compris entre -0,4 et 5,6, le poids moléculaire doit être compris entre 160 et 480, la réfractivité molaire doit être comprise entre 40 et 130, et le nombre total d'atomes doit être compris entre 20 et 70[123].

La règle de Veber se base sur le fait que la majorité des composés ayant une bonne biodisponibilité ont moins de 10 liaisons rotatives (ROTB) et une surface polaire inférieure à 140 Å[124].

La règle d'Egan considère qu'une bonne biodisponibilité est obtenue pour les composés avec une valeur de logP comprise entre 0 et 5,88[125].

7.3. Profil de toxicité

Les méthodes de prédiction in silico spécialisées dans la prédiction de la toxicité des médicaments peuvent être classées en méthodes qui prédisent la toxicité systémique et d'autres méthodes qui prédisent spécifiquement la toxicité pour un organe particulier.

Cependant, d'autres modèles in silico qui se concentrent sur la prédiction de la cancérogénicité ainsi que de la génotoxicité sont considérés comme plus complexes[127].

DEUXIÈME PARTIE :

Étude expérimentale

CHAPITRE 03 :

Matériaux et Méthodes

Introduction

La découverte de médicaments est le processus par lequel de nouvelles entités thérapeutiques potentielles sont identifiées en utilisant une combinaison de modèles computationnels, expérimentaux, translationnels et cliniques[128], [129].

Malgré les avancées en biotechnologie et la compréhension des systèmes biologiques, la découverte de médicaments reste un processus long, coûteux, difficile et inefficace, avec un taux d'attrition élevé des nouvelles découvertes thérapeutiques. La conception de médicaments est le processus créatif de recherche de nouveaux médicaments basé sur la connaissance d'une cible biologique.

Dans le sens le plus basique, la conception de médicaments implique la création de molécules qui sont complémentaires en termes de forme et de charge à la cible moléculaire avec laquelle elles interagissent et se lient. La conception de médicaments fait souvent, mais pas nécessairement, appel à des techniques de modélisation informatique et d'approches bioinformatiques dans l'ère des méga données.

La découverte moderne de médicaments implique l'identification de candidats potentiels par criblage, la chimie médicinale et l'optimisation de ces candidats pour augmenter leur affinité, leur sélectivité (afin de réduire les effets secondaires potentiels), leur efficacité/puissance, leur stabilité métabolique (pour augmenter leur demi-vie) et leur biodisponibilité orale. Une fois qu'un composé répondant à toutes ces exigences a été identifié, il commencera le processus de développement du médicament avant les essais cliniques.

Dans cette étude, nous visons à évaluer l'activité d'une nouvelle série de dérivés potentiellement nouveaux de l'amoxicilline en utilisant une approche *in silico*. Ce travail a été réalisé au laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes (VTRS) à l'université d'El Oued, en utilisant un PC sous Windows 10 avec un processeur Intel Core i3, 4 Go de mémoire et un système d'exploitation 64 bits.

1. Bibliothèque combinatoire

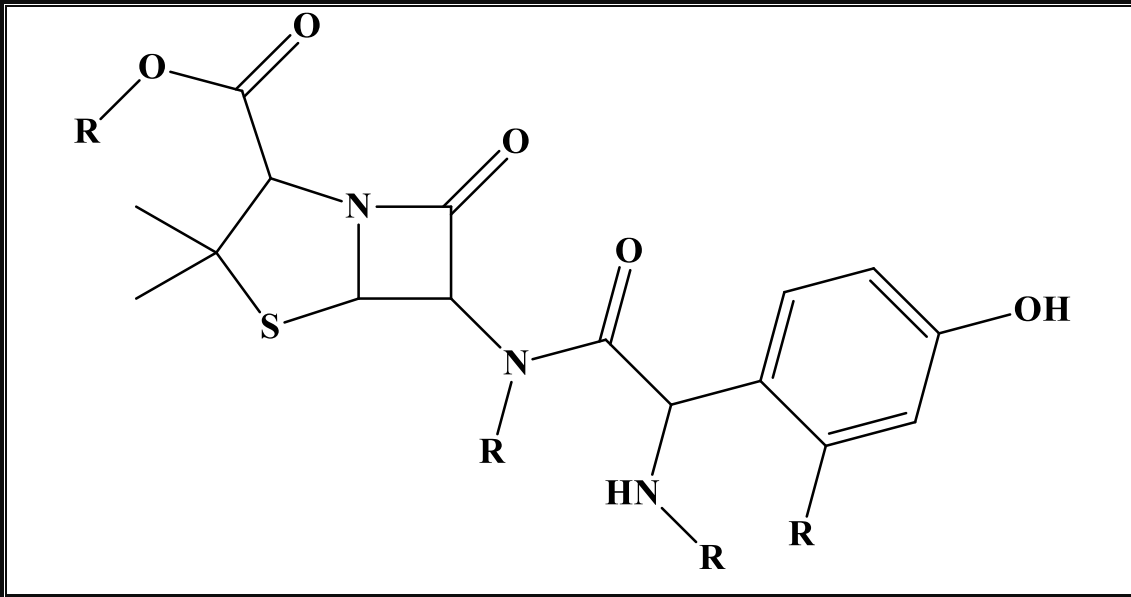
Pour créer une bibliothèque combinatoire de l'amoxicilline, SmiLib v2.0 a été utilisé pour l'énumération rapide des bibliothèques combinatoires.

SmiLib est un outil logiciel gratuit, indépendant de la plateforme, permettant une énumération rapide des bibliothèques combinatoires dans la notation SMILES flexible et portable. SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) est une notation chimique qui permet à un utilisateur de représenter une structure chimique de manière utilisable par un ordinateur. SMILES est une notation facilement apprise et flexible. SmiLib

v2.0 offre la possibilité de construire de très grandes bibliothèques combinatoires en utilisant le format SMILES flexible et portable. Le logiciel nécessite trois fragments: les blocs de construction, les échafaudages et les lieurs. L'amoxicilline a été utilisée comme échafaudage en ajoutant les racines comme indiqué dans le (**Tableau 1**).

Les groupes fonctionnels (NO₂, CN, OH, COCH₃) ont été utilisés comme blocs de construction, ainsi qu'un lieu vide. Les composés et les groupes fonctionnels ont été définis dans le format SMILES. Après l'énumération, 356 composés ont été créés, les outils de criblage SwissADME et Pro tox-II ont été utilisés pour filtrer les composés en fonction de leurs propriétés ADMET.

Tableau .1. Composés de l'amoxicilline et les groupes fonctionnels



	R1	R2	R3	R4
Amox1	CN	COCH ₃	COCH ₃	CN
Amox2	CN	COCH ₃	COCH ₃	OH
Amox3	CN	CN	COCH ₃	COCH ₃
Amox4	CN	CN	COCH ₃	CN
Amox5	CN	CN	COCH ₃	OH
Amox6	COCH ₃	COCH ₃	CN	OH
Amox7	CN	COCH ₃	CN	COCH ₃
Amox8	CN	COCH ₃	CN	CN
Amox9	CN	COCH ₃	CN	OH
Amox10	OH	COCH ₃	CN	OH

Amox11	COCH ₃	CN	CN	OH
Amox12	CN	CN	CN	CN
Amox13	CN	CN	CN	OH
Amox14	CN	OH	CN	CN
Amox15	CN	COCH ₃	OH	OH

2.Screening ADMET

Les composés ont été soumis aux serveurs web SwissADME et Protox pour analyser leur score de médicament global et les risques de toxicité, comparés aux médicaments disponibles utilisés[128]. Les propriétés ADMET, notamment la solubilité aqueuse, la barrière hémato-encéphalique (BBB), la liaison aux CYP, l'absorption intestinale et l'hépatotoxicité, ont été évaluées pour ces molécules chez l'humain.

2.1. Screening des propriétés pharmacocinétiques et de la similarité avec les médicaments

Le site web SwissADME permet de calculer les descripteurs physico-chimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME de convivialité d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments. Cette évaluation a été réalisée à l'aide de l'outil en ligne SwissADME[130], de l'Institut Suisse de Bioinformatique (<http://www.sib.swiss>) pour évaluer les comportements ADME individuels de ces composés[131].

Les modèles structuraux 2D ont été dessinés dans ChemBioDraw Ultra version 15.0 (Cambridge Software) et ont ensuite été copiés sous forme de SMILES pour être analysés dans le serveur web SwissADME. La tâche d'analyse consistait à vérifier si ces composés étaient des inhibiteurs d'iso formes de la famille du cytochrome P450 (CYP), CYP1A2 et CYP2D6. En outre, les prédictions de pharmacocinétique (telles que l'absorption gastro-intestinale, la glycoprotéine P et la barrière hémato-encéphalique) et de similarité médicamenteuse selon les règles de Lipinski, Ghose et Veber, ainsi que le score de biodisponibilité, ont été évaluées[132], [133]. Les règles de Lipinski, Ghose et Veber ont été appliquées pour évaluer la similarité médicamenteuse afin de prédire si un composé est susceptible d'être bioactif en fonction de certains paramètres importants tels que le poids moléculaire, le LogP, le nombre d'accepteurs et de donneurs de liaisons hydrogène.

L'outil SwissADME a utilisé un algorithme de machine à vecteurs de support (SVM) [134] avec de grands ensembles de données soigneusement nettoyées d'inhibiteurs/ non-inhibiteurs connus ainsi que de substrats/non-substrats.

2.2. Screening des propriétés de toxicité

Le serveur web ProTox-II a été utilisé pour la prédiction des propriétés de toxicité des produits chimiques. Ce serveur utilise des modèles de similarité moléculaire, de pharmacophores, de propensions de fragments et d'apprentissage automatique pour la prédiction de divers critères de toxicité, tels que la toxicité aiguë, la toxicité hépatique, la cytotoxicité, la carcinogénicité, la mutagénicité, l'immunotoxicité, les voies de résultats indésirables et les cibles de toxicité.

Les modèles prédictifs sont basés sur des données provenant à la fois d'essais in vitro (par exemple, des essais Tox21, des essais de mutation bactérienne Ames, des essais de cytotoxicité hépatique hepG2, des essais d'immunotoxicité) et de cas in vivo (par exemple, carcinogénicité, toxicité hépatique). Les résultats de prédiction pour la toxicité aiguë et les cibles de toxicité sont générés instantanément. La page de résultats affichera la dose létale médiane prédite (DL50) en mg/kg de poids, la classe de toxicité, la précision de la prédiction ainsi que la similarité moyenne avec trois composés toxiques les plus similaires du jeu de données avec la valeur connue de toxicité orale chez les rongeurs. Les informations sur les cibles de toxicité prédites, si disponibles, seront affichées avec le nom de la cible ainsi que l'ajustement moyen et la similarité de l'entrée du composé avec le pharmacophore et les ligands connus des cibles respectives.

Nous avons choisi les propriétés suivantes très importantes pour sélectionner les meilleures molécules de la bibliothèque combinatoire car elles montrent à quel point ces composés peuvent être dangereux pour la santé humaine et leurs effets secondaires:

- **Hépatotoxicité**

L'hépatotoxicité induite par les médicaments est une cause importante d'insuffisance hépatique aiguë et l'une des principales raisons du retrait de médicaments du marché[135]. Les lésions hépatiques induites par les médicaments (DILI) peuvent être un processus chronique ou un événement rare. Cependant, la prédiction de la DILI est importante et l'une des préoccupations en matière de sécurité pour les développeurs de médicaments, les régulateurs et les cliniciens[136].

- **Carcinogénicité**

Les produits chimiques qui peuvent induire des tumeurs ou augmenter l'incidence de tumeurs sont appelés des carcinogènes[137].

- **Mutagenicité**

Les produits chimiques qui provoquent des mutations génétiques anormales, telles que des changements dans l'ADN d'une cellule, sont appelés des mutagènes [138]. Ces changements peuvent causer des dommages aux cellules et entraîner certaines maladies, comme le cancer.

- **Cytotoxicité**

La prédiction de la cytotoxicité est importante pour cribler les composés qui peuvent causer des dommages cellulaires indésirables et souhaitables, comme dans le cas des cellules tumorales[139].

- **Immunotoxicité**

L'effet indésirable des xénobiotiques sur le système immunitaire est appelé immunotoxicité[140].

3. Optimisation structurale

Les géométries des ligands étudiés, les amoxicillines, ont d'abord été optimisées par mécanique moléculaire (MM), puis entièrement reoptimisées par la méthode DFT/B3LYP avec le jeu de base 6-311G++(d,p) en utilisant le package de programmes Gaussian 09W [141] sous Windows 10 avec un microprocesseur Intel Core i7, 8 Go de mémoire et un système d'exploitation 64 bits.

4. Sélection des protéines

Le téléchargement de deux protéines (Amox-6f86)[142] et (Amox-Is3r)[143] a été effectué à partir de la base de données Brookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb). La structure cristalline de la protéase principale du *E.coli* (Amox-6f86) en complexe avec un inhibiteur N3 est obtenue par diffraction des rayons X, et l'ARN polymérase dépendante du *Streptococcus* (Amox-Is3r) en complexe avec des cofacteurs en condition réduite est obtenue par microscopie électronique.

5. Docking moléculaire

Les structures cristallines tridimensionnelles des deux protéines (Amox-6f86) et (Amox-Is3r) ont été sélectionnées à partir de la banque de données des protéines[144].

Les récepteurs cibles ont d'abord été préparés en supprimant toutes les molécules d'eau, les ligands et les cofacteurs, et en définissant le site actif à l'aide de Discovery Studio Visualize[145]. Le fichier Amox de 6f86 contient 2 chaînes pour la protéase, donc une chaîne

CHAPITRE 03 : Matériaux et Méthodes

C a été supprimée et seule la chaîne A a été conservée pour accélérer et simplifier les calculs. De plus, les fichiers Amox de *Is3r* contiennent 4 chaînes (A, B, C, D) pour l'ARN polymérase ; les chaînes B, C et D ont été éliminées, de sorte qu'une seule chaîne A a été conservée pour accélérer les calculs et supprimer deux molécules de zinc. Les fichiers Amox des ligands ont été enregistrés sous forme de fichiers Amox après l'ajout des atomes d'hydrogène polarisés.

Les boîtes de grille ont été générées à l'aide de l'outil AutoGrid, les paramètres de grille sont résumés dans le (**Tableau.2**). Pour les calculs d'amarrage, des algorithmes génétiques Lamarckian ont été utilisés. Toutes les expériences d'amarrage ont consisté en 15 exécutions d'amarrage avec 150 individus et 2 500 000 évaluations d'énergie.

Les autres paramètres ont été laissés avec leurs valeurs par défaut. La meilleure conformation a été sélectionnée en fonction de l'énergie d'amarrage la plus basse[146], [147] et a été utilisée dans l'analyse d'amarrage en utilisant le profil d'interaction protéine-ligand (PLIP).

Tableau.2. Paramètres de grille

Paramètre	<i>6f86</i>	<i>Is3r</i>
X	62.48	29.7
Y	30.39	48.0
Z	62.65	52.64
Spacing (Å)	0.5	0.5
Size (Å)	50.50.50	60.60.60

CHAPITRE 04 :
Résultats et Discussion

1. Screening ADMET

1.1. Propriétés physicochimiques des composés

Les propriétés physicochimiques telles que la solubilité et la lipophilicité jouent un rôle crucial dans le développement des médicaments en tant que candidats potentiels.

✓ La solubilité d'un médicament est la capacité de celui-ci à se dissoudre dans un solvant donné. Une bonne solubilité est essentielle pour assurer une absorption adéquate du médicament dans le corps. Elle permet également de faciliter la formulation et l'administration du médicament[148].

✓ La lipophilicité, ou affinité pour les lipides, est une mesure de la capacité d'une substance à se dissoudre dans les graisses ou les lipides. Elle est importante car de nombreux tissus biologiques, y compris les membranes cellulaires, sont composés de lipides. Une certaine lipophilicité est souvent nécessaire pour permettre à un médicament d'entrer dans les cellules et d'interagir avec ses cibles biologiques. La propriété de lipophilicité des composés joue un rôle important dans les activités de découverte moléculaire dans divers domaines[149].

Les paramètres pris en compte pour mesurer le score sont la lipophilicité ($1 < X \text{ Log P} < -0.01$), le poids moléculaire (PM) ($150 < \text{PM} < 500 \text{ g/mol}$), et la solubilité ($0 < \log S < -6$). Les propriétés physicochimiques de nos composés sont présentées dans le **(Tableau.3)**.

Les résultats des valeurs de log P (coefficient de partage octanol/eau) et log S (solubilité) de tous les composés conçus indiquent qu'ils ont une absorbance raisonnable, montrant une faible lipophilicité, notamment chez les composés Amox9 et Amox13 très faible, et une solubilité modérée dans l'eau, à l'exception des composés Amox11 et Amox13 qui sont peu solubles.

Les causes possibles de cette faible lipophilicité peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment la structure chimique des composés, la présence de groupes fonctionnels polaires et hydrophiles, ainsi que des interactions moléculaires spécifiques avec l'eau[150].

Il convient de noter que la lipophilicité est un paramètre complexe qui peut varier en fonction de nombreux facteurs, et son impact sur les propriétés des médicaments peut être étudié en utilisant diverses approches et modèles[151].

De plus, tous les composés présentent une complexité limitée, La plupart des composés sont définis comme ayant au maximum 8 ou 9 liaisons rotatives, à l'exception de Amox13. Une autre caractéristique physicochimique d'une grande importance est obtenue en ce qui concerne

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

le caractère acide-base de la molécule, déterminé par sa capacité à accepter et à donner des protons H⁺ [152].

La raison pour laquelle les composés présentent un nombre élevé d'accepteurs de liaisons hydrogène et un nombre bas de donneurs de liaisons hydrogène, ce qui leur confère un profil ADMET favorable, peut être attribuée à plusieurs facteurs.

L'une des explications possibles est basée sur les travaux de Lipinski et al., qui ont déduit que les molécules avec un nombre réduit d'atomes donneurs de liaisons hydrogène (O-H et N-H) et un nombre élevé d'atomes accepteurs de liaisons hydrogène (O et N) ont un profil ADME/Tox le plus favorable[153]. Ces propriétés influencent la capacité de la molécule à former des interactions spécifiques avec d'autres molécules ou protéines dans le corps, ce qui peut affecter positivement son absorption, sa distribution, son métabolisme, son élimination et sa toxicité.

Dans cette étude, tous les composés ont un nombre élevé d'accepteurs de liaisons hydrogène et un nombre bas de donneurs de liaisons hydrogène, ce qui leur confère un profil ADMET des plus favorables.

Tableau.3. Propriétés physico-chimiques des composés

Molécule	Solubilité dans l'eau (Log S)	Lipophilicité (log P o/w consensuel)	Réfractivité molaire	Accepteur de liaison hydrogène	Donneur de liaison hydrogène	Liaisons rotatives	Poids moléculaire
Amox5	-4.75	0.11	114.95	9	3	8	473.46
Amox7	-4.36	0.05	123.19	9	2	9	499.50
Amox9	-4.14	-0.19	114.95	9	3	8	473.46
Amox11	-5.00	0.04	115.17	9	3	8	473.46
Amox13	-5.17	-0.06	109.69	9	3	7	456.43

1.2. Propriétés médicamenteuses et pharmacocinétique Similitude

Selon la règle des cinq de Lipinski[122], 5 composés (Amox5, Amox7, Amox9, Amox11, Amox13) avaient une bonne similitude avec les médicaments, satisfaisant ainsi aux cinq critères de cette règle.

Cela prouve que ces ligands peuvent servir de candidats médicamenteux qualifiés. Selon le filtre de Ghose[123], 5 composés (Amox5, Amox7, Amox9, Amox11, Amox13) ont une bonne similitude avec les médicaments en appliquant les quatre critères de cette règle.

De plus, tous les composés ont une bonne similitude avec les médicaments en fonction de la règle de Veber[124], caractérisée par une forte polarité ($tPSA \leq 140$) et une bonne

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

flexibilité (nombre de liaisons rotatives ≤ 10). Tout comme le filtre d'Egan, tous les ligands ont une similitude très élevée avec les médicaments[125].

Les règles les plus importantes de la similitude avec les médicaments, telles que Lipinski, Ghose, Veber, Egan et Muegge, ont montré un score de 55 %, indiquant une bonne biodisponibilité pour tous les composés, ce qui signifie une bonne similitude avec les médicaments. (Tableau.4).

Tableau.4. Propriétés médicamenteuses des composés

Molécule	Lipinski ≠violation	Ghose ≠violation	Veber ≠violation	Egan ≠violation	Muegge ≠violation	Score de Biodisponibilité
Amox5	1	1	1	1	1	0.55
Amox7	1	2	1	1	1	0.55
Amox9	1	1	1	1	1	0.55
Amox11	1	1	1	1	1	0.55
Amox13	1	1	1	1	1	0.55

• Pharmacocinétique

Le processus de développement d'un médicament comprend une évaluation ADMET, lorsque le médicament est absorbé par le système, il rencontre plusieurs barrières membranaires telles que les cellules épithéliales gastro-intestinales, la membrane hépatocytaire, la paroi capillaire sanguine, les barrières organiques restrictives (par exemple, la barrière hémato-encéphalique), le glomérule et la cellule cible[154].

La valeur de log Kp est négative d'une molécule est considérée comme ayant une faible perméabilité cutanée[155]. D'après les résultats ADMET du (Tableau.5), tous les composés sont considérés comme ayant la plus faible perméabilité cutanée (Kp). L'absorption de la molécule dans l'intestin est expliquée par le paramètre gastro-intestinal (GI), qui est signalé comme étant faible, ce qui signifie que tous les composés sont faiblement absorbés dans l'intestin (HIA). Il s'agit d'une barrière physiologique qui restreint le passage de la plupart des composés du sang au cerveau, conférant ainsi une propriété de protection du cerveau[156].

- La barrière hémato-encéphalique (BBB) de ces facteurs montrent une réponse négative, ce qui signifie que ces composés ne sont pas adaptés pour le traitement du système nerveux central, L'apparition de ces résultats négatifs indique que ces composés ne sont pas capables de pénétrer efficacement la barrière hémato-encéphalique(BBB).La barrière hémato-encéphalique (BBB) est un système de filtration naturel qui protège le cerveau en empêchant

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

le passage de composés étrangers et potentiellement nocifs du sang vers les tissus nerveux. Lorsqu'une réponse négative est observée à la barrière hémato-encéphalique, cela signifie que ces composés ne parviennent pas à traverser la barrière en quantités suffisantes pour atteindre les tissus nerveux et avoir des effets potentiels.

Par conséquent, l'utilisation de ces composés dans le traitement de maladies ou de troubles qui nécessitent une action sur le système nerveux central peut ne pas être appropriée. Il peut y avoir différentes raisons à l'apparition d'une réponse négative, telles qu'une taille moléculaire importante, une distribution inégale dans les tissus ou une capacité limitée à traverser les membranes cellulaires. La détermination de la cause de cette réponse négative contribue à mieux comprendre les capacités de ces composés et leurs applications potentielles dans le domaine thérapeutique[157], [158].

- La glycoprotéine P (P-gp) est un transporteur de médicaments à effet d'efflux qui sert de barrière biologique protégeant les cellules des effets néfastes des médicaments en transportant les toxines et les xénobiotiques hors des cellules [159]. De plus, tous les composés sont des substrats de la P-gp, à l'exception de Amox7.

- Dans la famille des enzymes CYP, l'enzyme CYP3A4 est la plus importante en raison de sa capacité à métaboliser à elle seule 50% de tous les médicaments, tandis que l'enzyme CYP2C9 métabolise principalement plusieurs médicaments couramment utilisés tels que le célécoxib et le diclofénac[160].

L'enzyme CYP1A2 est principalement exprimée dans le foie, mais elle peut également être présente dans d'autres tissus tels que les intestins et les poumons, cette enzyme est responsable de la conversion de nombreux composés ces substances en métabolites plus solubles dans l'eau, ce qui facilite leur élimination du corps[161], [162].

L'enzyme CYP2C19 est responsable de l'activation ou de l'inactivation de certains médicaments, ce qui peut avoir un impact sur leur efficacité et leur sécurité. De plus, certaines variantes génétiques de l'enzyme CYP2C19 peuvent influencer son activité métabolique, par exemple, certaines personnes peuvent être des métaboliseurs lents ou rapides des médicaments métabolisés par cette enzyme en raison de leur génétique[163], [164].

L'enzyme CYP2D6 est connue pour jouer un rôle majeur dans le métabolisme de nombreux médicaments, cette enzyme est responsable de la conversion certains médicaments en métabolites actifs ou inactifs, ce qui peut influencer leur efficacité et leur sécurité[165], [166].

Toutes les molécules ont été identifiées comme inhibiteurs des iso formes des enzymes CYP, L'apparition de ces résultats indique que toutes les molécules ont été identifiées comme inhibiteurs des ison formes des enzymes CYP. Cela peut être dû à plusieurs raisons. Par

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

exemple, ces molécules peuvent se lier aux enzymes CYP et interférer avec leur activité normale, ce qui peut entraîner une diminution de la capacité du corps à métaboliser certains médicaments ou substances. De plus, les propriétés chimiques et structurales de ces molécules peuvent les rendre capables d'interagir spécifiquement avec les enzymes CYP et de perturber leur fonctionnement.

Il est important de prendre en compte ces résultats lors de la conception et du développement de médicaments, car l'inhibition des enzymes CYP peut avoir un impact sur l'efficacité et la sécurité des traitements médicamenteux.

Tableau.5. Propriétés pharmacocinétiques des composés

Molécule	Parameter gastro-intestinal (GI)	Barrier hémato-encéphalique (BBB)	Substrats de Glycoprotéine P (P-gp)	Inhibiter de CYP1A2	Inhibiter de CYP2C19	Inhibiter de CYP2C9	Inhibiter de CYP2D6	Inhibiter de CYP3A4	Log Kp (skin permeation) Cm/s
Amox5	Faible	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	-8.64
Amox7	Faible	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	-9.02
Amox9	Faible	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	-9.05
Amox11	Faible	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	-8.47
Amox13	Faible	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	-8.35

1.3. Chimie médicinale

De même, ces composés ne présentent pas de PAINS (composés interférents d'essai panoramique ou composés fréquents ou composés promiscuits), ce qui signifie que les molécules montrent une réponse puissante dans les essais indépendamment des cibles protéiques. En particulier, de tels composés sont signalés comme actifs dans de nombreux essais différents, ce qui peut être considéré comme des points de départ potentiels pour des explorations ultérieures.

D'autre part, tous les composés présentent de 3 à 4 Brenkalert, ce qui les considère comme moins petits et plus hydrophobes et non conformes à la "règle de 5 de Lipinski" afin d'élargir les possibilités d'optimisation du plomb. Cela a été fait après l'exclusion des composés comportant des groupes potentiellement mutagènes, réactifs et défavorables tels que les groupes nitro, sulfates, phosphates, 2-halopyridines et thiols[167].

Le concept de similarité au plomb est conçu pour fournir des candidats possédant une affinité considérable dans le criblage à haut débit (HTS) afin de permettre l'exploitation d'interactions supplémentaires lors de la phase d'optimisation du plomb. Les candidats sont soumis à des modifications chimiques qui sont susceptibles de réduire leur taille et d'augmenter leur lipophilie, mais qui sont moins hydrophobes que les molécules similaires à des médicaments.

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

L'optimisation du plomb a été réalisée selon une méthode basée sur des règles, comprenant des molécules dont le poids moléculaire se situe entre 250 et 350 Da, avec un ClogP $\leq 3,5$, considérées comme supérieures aux composés similaires à des médicaments et donc comme des candidats prometteurs[168], [169].

Toutes les molécules ne respectent pas les règles de Brenk, et aucune ne répond aux critères de similarité au plomb en termes de poids moléculaire. Toutes les nouvelles molécules conçues présentent un score d'accessibilité synthétique compris entre 4.65 et 4.82, ce qui suggère que ces composés sont très facilement synthétisables. (Tableau.6)

Tableau.6. Chimie médicinale des composés

Molécule	PAINS	Brenk	Lead likeness	Accessibilité synthétique (From 1 to 10)
Amox5	0	3	2	4.77
Amox7	0	4	2	4.82
Amox9	0	3	2	4.77
Amox11	0	3	2	4.78
Amox13	0	3	1	4.65

1.4. Toxicité

Le serveur en ligne Protox prédit également cinq critères toxicologiques tels que la cytotoxicité, la mutagénicité, la carcinogénicité, l'hépatotoxicité et l'immunotoxicité.

Les classes de toxicité sont définies selon le système mondial harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH), la norme de communication des dangers.

Les valeurs de DL50 sont données en [mg/kg] :

- **Classe 1**, mortel en cas d'ingestion ($DL50 \leq 5$)
- **Classe 2**, mortel en cas d'ingestion ($5 < DL50 \leq 50$)
- **Classe 3**, toxique en cas d'ingestion ($50 < DL50 \leq 300$)
- **Classe 4**, nocif en cas d'ingestion ($300 < DL50 \leq 2000$)
- **Classe 5**, peut être nocif en cas d'ingestion ($2000 < DL50 \leq 5000$)
- **Classe 6**, non toxique ($DL50 \geq 5000$)

Tous les composés ont une DL50 comprise entre 300 et 2000, ce qui les classe tous dans la classe 6 donc les composés non toxiques. Normalement, la probabilité de prédiction du modèle de toxicité utilisé, le serveur web ProTox-II, est inférieure à 0,7.

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

Ainsi, tous les composés sont classés comme immunotoxiques actifs (en rouge) car la probabilité de prédiction est de 0,81 à 0,98. De plus, tous les composés sont conformes aux limites en ce qui concerne la mutagénicité, avec le composé de Amox7 étant le plus conforme. Les autres résultats ont montré que tous les composés étaient prédits comme non hépatotoxiques, non carcinogènes et non cytotoxiques (**Tableau.7**).

En se base sur les prédictions in silico des propriétés physico-chimiques, de la pharmacocinétique, la similarité aux médicaments et de la chimie médicinale, ainsi que des prédictions de toxicité, les meilleurs ligands sélectionnés pour l'étude de docking moléculaire sont Amox5, Amox7, Amox9, Amox11, Amox13.

Tableau.7. Prédications de toxicité des composés

Molécule	Classe	Cytotoxicité	Mutagénicité	Immunotoxicité	Carcinogénicité	Hepatotoxicité
Amox5	6	0.56	0.74	0.94	0.75	0.76
Amox7	6	0.60	0.85	0.95	0.80	0.82
Amox9	6	0.55	0.74	0.98	0.75	0.75
Amox11	6	0.55	0.74	0.81	0.75	0.75
Amox13	6	0.56	0.74	0.96	0.74	0.74

2. Docking moléculaire

À la fin des simulations de docking, diverses énergies de liaison du ligand ont été obtenues avec leurs conformations respectives; la conformation stable, correspondant à l'énergie de liaison la plus basse, a été choisie comme la meilleure pose.

L'énergie de liaison et la constante de liaison K des structures dockées de tous les ligands avec les deux protéines sont résumées dans le (**Tableau.8**). L'ampleur de l'énergie de liaison calculée indique une forte affinité de liaison entre les protéines et les ligands étudiés.

La constante de liaison K a été calculée à l'aide de l'équation :

$$\Delta G = -RT \ln K$$

Tableau.8. Énergies de liaison libre et valeurs de constante de liaison obtenues par approche de docking moléculaire

Protéines Ligands	<i>6f86</i>		<i>Is3r</i>	
	ΔG (Kcal.mol ⁻¹)	IC 50 (μM)	ΔG (Kcal.mol ⁻¹)	IC 50 (μM)
Amox5	-8.47	617.4	-8.62	479.83
Amox7	-7.16	5.68	-7.28	4.63
Amox9	-9.31	150.08	-7.49	3.24

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

Amox11	-8.92	291.47	-6.52	16.51
Amox13	-8.95	275.94	-7.10	6.21

Pour la protéine *6f86*, on peut observer que tous les ligands (Amox5, Amox7, Amox9, Amox11 et Amox13) montrent une affinité favorable avec des valeurs négatives de ΔG , indiquant une liaison énergétiquement favorable. Cependant, on remarque une variation dans les affinités des différents ligands. Par exemple, Amox9 présente la plus grande affinité avec $\Delta G = -9,31$ Kcal/mol, tandis qu'Amox7 montre la plus faible affinité avec $\Delta G = -7,16$ Kcal/mol. En ce qui concerne l'activité inhibitrice (IC50), Amox5 présente la plus grande concentration inhibitrice (617,4 μM), tandis qu'Amox7 a la plus faible concentration inhibitrice (5,68 μM).

En ce qui concerne la protéine *Is3r*, on constate également une affinité favorable pour tous les ligands, bien que les valeurs de ΔG soient légèrement plus faibles par rapport à la protéine *6f86*. Encore une fois, il y a des variations dans les affinités des ligands, avec Amox9 ayant la valeur de ΔG la plus basse (-7,49 Kcal/mol) et Amox11 ayant la valeur plus élevée (-6,52 Kcal/mol). En ce qui concerne l'activité inhibitrice, on observe que les ligands Amox7, Amox9 et Amox13 ont des concentrations inhibitrices relativement faibles, ce qui suggère une plus grande efficacité inhibitrice par rapport à Amox5 et Amox11.

L'adduit Amox9-*6f86* présente des interactions hydrophobes avec les résidus GLU (distance de 3,75 Å) et ILE (distance de 3,84 Å). De plus, il forme plusieurs liaisons hydrogène avec les résidus GLU (distance de 3,64 Å), ASP (distance de 1,80 Å), et plusieurs résidus ARG (distances allant de 1,73 Å à 3,49 Å). Il y a également des interactions avec les résidus GLY (distance de 2,06 Å) et THR (distance de 2,78 Å).

Pour l'adduit Amox11-*6f86*, on observe des interactions hydrophobes avec les résidus GLU (distance de 3,83 Å), ARG (distances allant de 3,89 Å à 3,94 Å) et ILE (distance de 3,94 Å). Les liaisons hydrogène sont formées avec les résidus GLU (distance de 3,43 Å), ASP (distance de 1,87 Å), GLY (distance de 3,09 Å) et plusieurs résidus ARG (distances allant de 2,33 Å à 3,45 Å). On observe également des interactions avec les résidus THR (distance de 2,96 Å).

Pour l'adduit Amox13-*6f86*, les interactions hydrophobes se produisent avec les résidus GLU (distance de 3,81 Å) et ILE (distance de 3,80 Å). Les liaisons hydrogène sont formées avec les résidus GLU (distance de 3,69 Å), ASP (distance de 2,61 Å), GLY (distance de 2,99 Å) et plusieurs résidus ARG (distances allant de 1,98 Å à 3,54 Å). Les résidus GLY (distance de 2,08 Å) et THR (distance de 2,73 Å) sont également impliqués dans les interactions.

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

En ce qui concerne l'adduit *Amox5-Is3r*, les interactions hydrophobes se produisent avec les résidus TYR (distance de 3,38 Å) et ARG (distance de 3,07 Å). Les liaisons hydrogène sont formées avec les résidus TYR (distances de 2,16 Å et 2,08 Å), ASN (distance de 2,38 Å), SER (distances de 2,94 Å et 2,14 Å) et PRO (distance de 2,80 Å).

Pour l'adduit *Amox7-Is3r*, l'interaction hydrophobe se produit avec le résidu PHE (distance de 3,95 Å). Les liaisons hydrogène sont formées avec les résidus ASN (distance de 3,55 Å), SER (distances de 2,65 Å, 2,08 Å et 2,24 Å), et ALA (distance de 3,21 Å).

Pour l'adduit *Amox9-Is3r*, les interactions hydrophobes se produisent avec les résidus PHE (distance de 3,81 Å) et GLN (distance de 3,29 Å). Les liaisons hydrogène sont formées avec les résidus GLY (distance de 3,65 Å), ASN (distance de 1,92 Å), ALA (distance de 2,60 Å), GLN (distance de 2,32 Å), et plusieurs résidus SER (distances allant de 2,03 Å à 2,94 Å).

Les résultats de l'interaction des ligands avec les deux protéines sont illustrés dans la (Fig.6) et le (Tableau.9)

Tableau.9. Distances des liaisons formées entre les résidus des ligands et des récepteurs *6f86* et *Is3r*

Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox9-6f86	Hydrophobic interactions	GLU	3.75
		ILE	3.84
	Hydrogen-bonds	GLU	3.64
		ASP	1.80
		ARG	3.49
		ARG	1.73
		ARG	3.47
		ARG	2.54
		GLY	2.06
		THR	2.78
Amox11-6f86	Hydrophobic interactions	GLU	3.83
		ARG	3.89
		ILE	3.94
	Hydrogen-bonds	GLU	3.43
		ASP	1.87
		GLY	3.09
		ARG	3.31

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

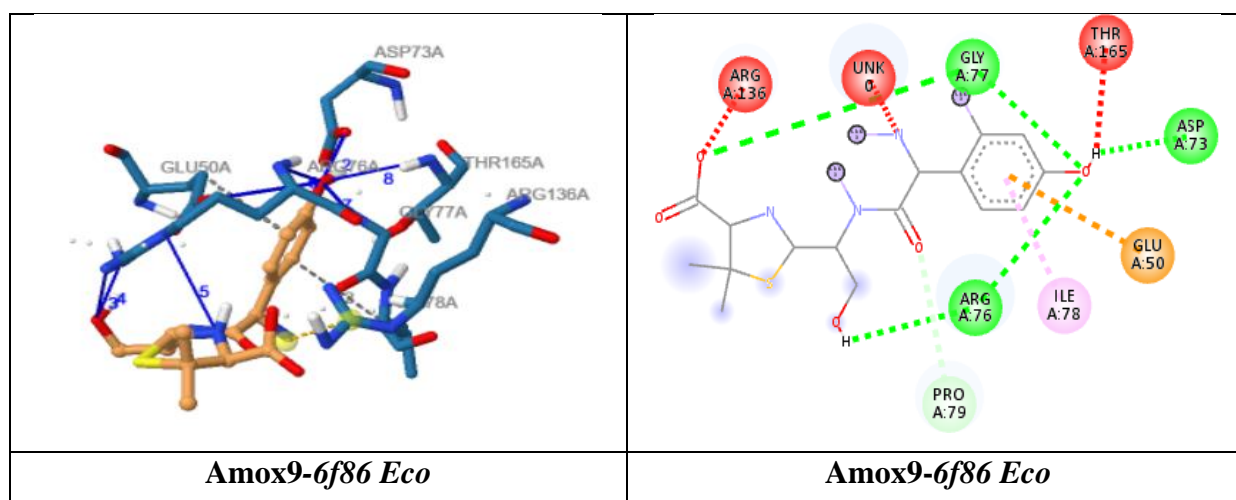
		ARG	3.06
		ARG	3.18
		ARG	2.97
		ARG	3.45
		ARG	2.33
		GLY	1.93
		THR	2.96
Amox13-6f86	Hydrophobic interactions	GLU	3.81
		ILE	3.80
	Hydrogen-bonds	GLU	3.69
		ASP	2.61
		GLY	2.99
		ARG	1.98
		ARG	2.93
		ARG	3.54
		ARG	2.59
		GLY	2.08
THR	2.73		
Amox5-1s3r	Hydrophobic interactions	TYR	3.38
		ARG	3.07
	Hydrogen-bonds	TYR	2.16
		TYR	2.08
		ASN	2.38
		SER	2.94
		SER	2.14
		PRO	2.80
Amox7-1s3r	Hydrophobic interactions	PHE	3.95
	Hydrogen-bonds	ASN	3.55
		ASN	2.65
		ASN	2.08
		ASN	2.24
		SER	2.36

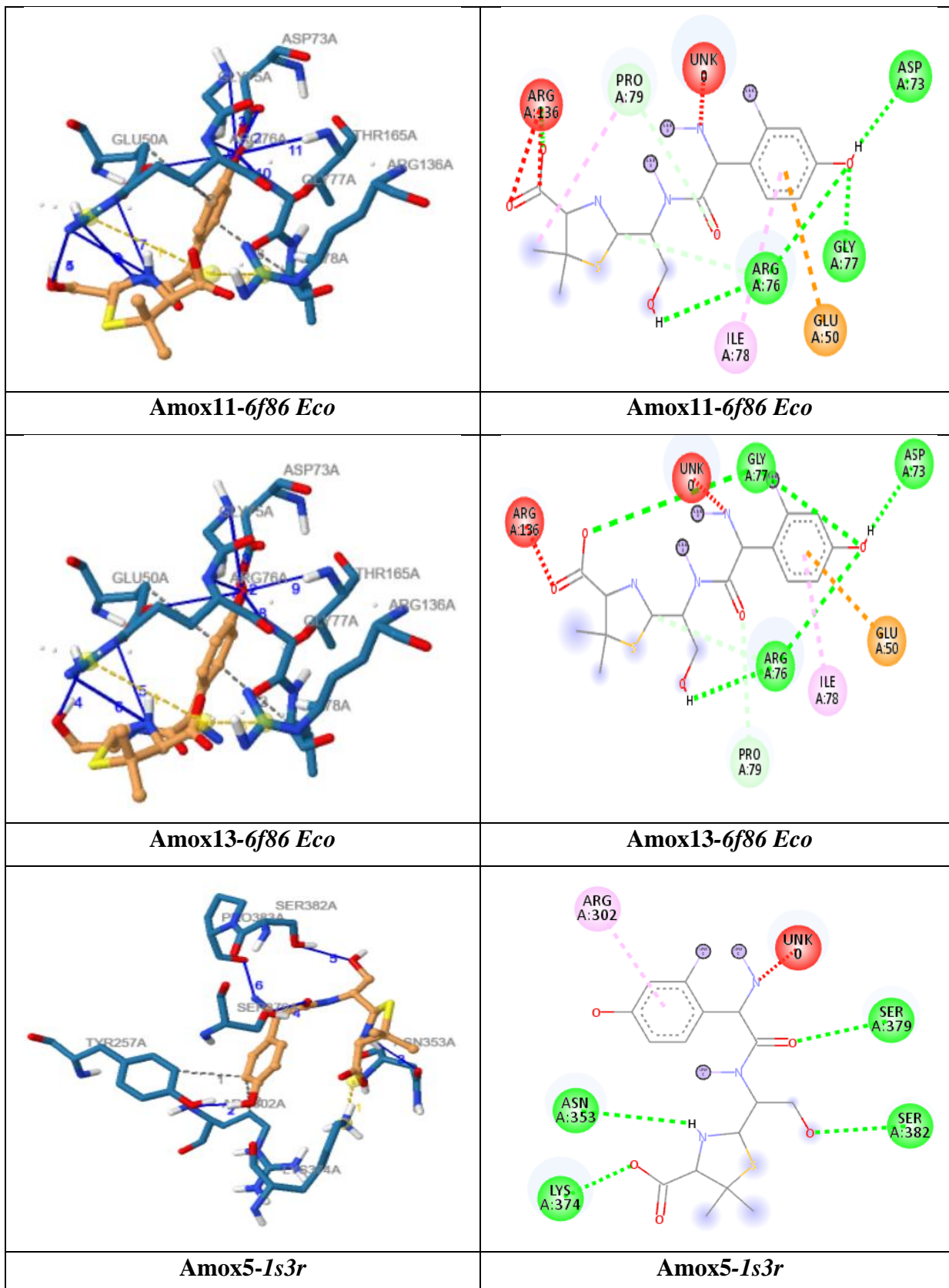
CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

Amox9-<i>Is3r</i>	Hydrophobic interactions	SER	1.96
		ALA	3.21
		SER	2.42
		SER	2.12
	Hydrogen-bonds	PHE	3.81
		GLN	3.29
		GLY	3.65
		ASN	1.92
		ALA	2.60
		GLN	2.32
		SER	2.20
		SER	2.03
SER	2.94		
SER	2.84		

En examinant ces résultats d'adduits, on observe une variété d'interactions entre les ligands et les résidus spécifiques des protéines *6f86* et *Is3r*. Les interactions hydrophobes se produisent généralement avec des résidus apolaires, ce qui indique une interaction favorable entre les parties hydrophobes du ligand et les résidus non polaires de la protéine.

Les liaisons hydrogène, quant à elles, impliquent des interactions électrostatiques entre les groupes donneurs et accepteurs d'hydrogène du ligand et les résidus de la protéine. Ces liaisons peuvent contribuer à la stabilité de la liaison ligand-protéine en formant des interactions spécifiques.





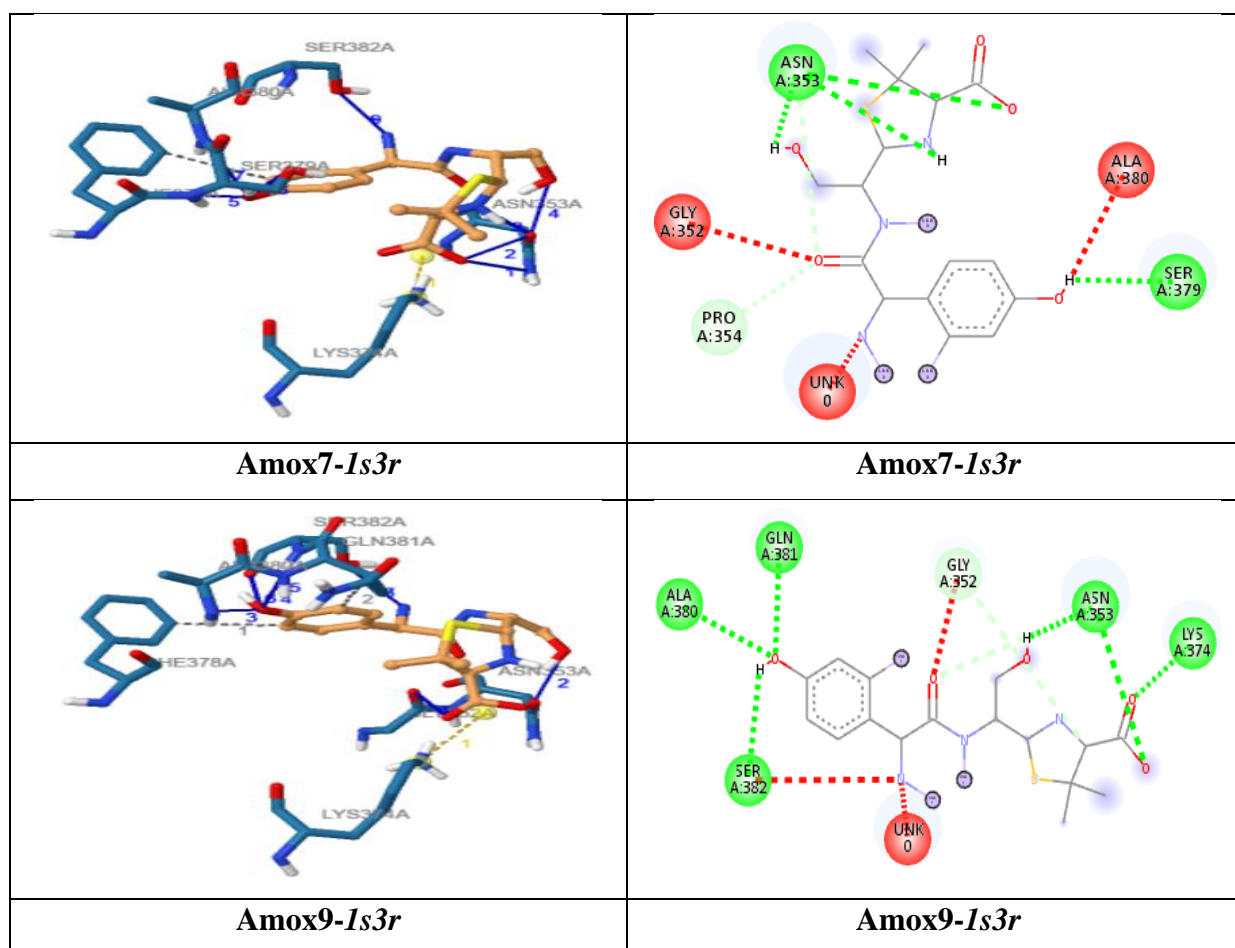


Fig.6. Interaction en 3D entre les ligands étudiés et les cibles *6f86 Eco* et *Is3r*, où les lignes grises représentent les liaisons hydrophobes et les lignes bleues représentent les liaisons H

Les résultats des deux tableaux révèlent l'implication de différents types d'acides aminés dans les interactions entre les ligands et les protéines. Des résidus d'acides aminés tels que GLU, ILE, ASP, ARG, GLY, THR, TYR, ASN, SER, PRO, ALA et GLN sont identifiés comme étant impliqués dans ces interactions. Ces acides aminés représentent une combinaison de résidus chargés, polaires et non polaires. Les interactions hydrophobes avec les résidus non polaires mettent en évidence l'importance des forces hydrophobes dans la liaison ligand-protéine, tandis que les liaisons hydrogène avec les résidus polaires soulignent l'importance des interactions électrostatiques.

Les résultats des tables fournissent des informations sur les propriétés d'inhibition des ligands vis-à-vis des bactéries, bien que les souches bactériennes spécifiques n'aient pas été précisées. Les valeurs d'IC50 fournies dans le premier tableau permettent d'évaluer l'efficacité inhibitrice des ligands. Des valeurs d'IC50 plus faibles indiquent une activité inhibitrice plus prononcée. Par exemple, le ligand Amox7 présente des valeurs d'IC50 relativement faibles par rapport aux autres ligands, ce qui suggère une efficacité inhibitrice accrue contre les bactéries

CHAPITRE 04 : Résultats et Discussion

cibles. Toutefois, il est important de noter que l'efficacité des ligands peut varier en fonction des souches bactériennes spécifiques et de leur sensibilité à chaque ligand.

En conclusion, les résultats des deux tableaux fournissent des informations précieuses sur les interactions ligand-protéine et les propriétés d'inhibition des ligands vis-à-vis des bactéries. Les résidus d'acides aminés identifiés dans les interactions mettent en évidence la diversité des interactions chimiques impliquées dans la liaison ligand-protéine.

Les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogène jouent un rôle crucial dans ces interactions. De plus, les valeurs d'IC50 fournissent une indication de l'efficacité inhibitrice des ligands, bien que leur efficacité puisse varier en fonction des souches bactériennes spécifiques.

CONCLUSION

Dans la présente étude, des approches *in silico* ont été appliquées aux molécules de l'amoxicilline, pour étudier leurs effets sur la principale protéase et l'ARN polymérase de *E.coli* et *Streptococcus*. Après la création d'une bibliothèque combinatoire sur Smilib v2.0 en substituant les racines NO₂, CN, OH et COCH₃ sur la base de l'amoxicilline, 256 composés ont été obtenus.

Un criblage virtuel a été effectué à l'aide des serveurs web SwissADME et ProTox, et 15 composés ont été sélectionnés en fonction de leurs propriétés ADMET indiquant une bonne similitude avec les médicaments, une bonne pharmacocinétique et des propriétés physicochimiques favorables. La prédiction de la toxicité a montré que tous les composés sont immunotoxiques, et la plupart étaient en dessous des seuils de la mutagénicité.

Cependant, tous les composés étaient prédits comme non-hépatotoxiques, non-cancérogènes et non-cytotoxiques.

Après le criblage virtuel ADMET, 5 composés présentant de meilleures propriétés ADMET ont été sélectionnés pour l'étude de docking moléculaire. Ces composés ont été ancrés dans la protéase principale et l'ARN polymérase du *E.coli* et *Streptococcus*. Les cinq composés Amox5, Amox7, Amox9, Amox11 et Amox 13 ont montré les meilleures énergies de liaison libres avec des valeurs respectives entre -9,31 et -8,62 Kcal/mol en interaction avec la protéase principale. Pour le récepteur de l'ARN polymérase, le ligand Amox9 a montré la meilleure interaction avec une énergie de liaison de -9,31 Kcal/mol avec *E.coli* et aussi Amox5 d'énergie égale -8,6231 Kcal/mol.

Enfin, les composés étudiés pourraient être de bons candidats médicamenteux pour l'amoxicilline.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

-
- [1] Spellberg B., 2014., The future of antibiotics. *Crit Care.*;18(3):228.
- [2] Prescott LM, Harley JP, Klein DA.,2002Microbiology. 5th edition. McGraw Hill Education;.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic/Antimicrobial Resistance. Updated 2020. Accessed April 23, 2023. <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>.
- [4] Geddes AM, Klugman AP, Rolinson GN., 2007., Introduction: historical perspective and development of amoxicillin/clavulanate. *Inter J Antimicrob Agents*; 30Suppl: 109–112.
- [5] Garau J., 2005., Role of β -lactam agents in the treatment of communityacquired pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Diseases*; 24: 83–99.
- [6] Reeves DS, Bullock DW.,1979., The amino penicillins: development and comparative properties. *Infection*; 7 Suppl 5: 425433.
- [7] White AR, Kaye C, Poupard J, Pypstra R, Woodnutt G, Wynne B., 2004., Augmentin (amoxicillin/clavulanate) in the treatment of community-acquired respiratory tract infection: a review of the continuing development of an innovative antimicrobial agent. *J Antimicrob Chemother.*; 53 Suppl 1: 3–20.
- [8] Bellis M. History of antibiotics: antibiotic timeline., 1997. Available from: http://inventors.about.com/od/pstartinventions/a/Penicillin_2.htm
- [9] Saker L, Lee K, Cannito B, Gilmore A, Lendrum DC. Globalization and infectious diseases: a review of the linkage. UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases 2004. Special topic no. 3. TDR/STR/SEB/ST/04.2. 2004; Available from: http://apps.who.int/tdr/publications/tdr-researchpublication/globalization-infectiousdiseases/pdf/seb_topic3.pdf
- [10] Rolinson GN. Forty years of β -lactam research. *J Antimicrob Chemotherapy* 1998; 41: 589–603.
- [11] Rolinson GN, Geddes AM. The 50th anniversary of the discovery of 6-aminopenicillanic acid (6-APA). *Inter J Antimicrob Agents* 2007; 29: 3–8.
- [12] Sutherland R, Croydon EAP, Rolinson GN. Amoxicillin: a new semi-synthetic penicillin. *British Med J* 1972; 3: 13-16.
- [13] Brogden RN, Heel RC, Speight TM, Avery GS. Amoxicillin injectable: review of its antibacterial spectrum, pharmacokinetics and therapeutic use. *Drugs* 1979; 18(3): 169184.
- [14] Gordon RC, Regamey C, Kirby WMM. Comparative clinical pharmacology of amoxicillin and ampicillin administered orally. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 1972; 1(6): 504-507.

- [15] United States Pharmacopoeia-30 and National Formulary-25: The Official Compendia of Standards. Rockvile (US): United States Pharmacopoeial Convention; 2007. p. 1402-1407.
- [16] Indian Pharmacopoeia. 5th ed. Vol 2. Ghaziabad (INDIA): Indian Pharmacopoeia Commission; 2007. p. 100-107.
- [17] Linder JA, Huang ES, Steinman MA, Gonzales R, Stafford RS. Fluoroquinolone prescribing in the United States: 1995 to 2002. *Am J Med.* 2005 Mar;118(3):259-68.
- [18] Chang CC, Liu CY, Su TH, Yang YS, Hsieh CH. Amoxicillin kills bacteria by inhibiting the production of bacterial cell wall. *Biomedicine (Taipei).* 2014 Sep;4(3):17.
- [19] Rosenfeld RM, Schwartz SR, Pynnonen MA, Tunkel DE, Hussey HM, Fichera JS, Grimes AM, Hackell JM, Harrison MF, Haskell H, Haynes DS, Kim TW, Lafreniere DC, LeBlanc K, Mackey WL, Netterville JL, Pipan ME, Raol NP, Schellhase KG. Clinical Practice Guideline (Update): Adult Sinusitis Executive Summary. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015 Nov;153(2):204-14.
- [20] Bodey GP, Nance J. Amoxicillin: in-vitro and pharmacological studies. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 1972; 1(4): 358362.
- [21] "Amoxicillin." StatPearls . Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531462/>
- [22] "Amoxicillin." Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012., Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548290/>
- [23] Gouda A, El-Gendy S, Youssef AM, El-Gedamy A. Comparative pharmacokinetic and pharmacodynamic study of amoxicillin formulations in healthy Egyptian volunteers. *Eur J Pharm Sci.* 2019;132:152-158.
- [24] Wargo KA, Edwards JD. A review of clinical uses of clavulanate for established and novel indications. *Clin Ther.* 2016;38(5):906-925.
- [25] Francesco C et Giovanni M., 2019."Amoxicillin: Chemistry, Mechanism of Action, Resistance and Clinical Applications" ., *Journal of Chemotherapy.*
- [26] Gubbins et Thomas D., 2020., "Amoxicillin: an update on its pharmacology and therapeutic use" de Paul O., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.*
- [27] Maria C. Miravittles et al.,2021 "Amoxicillin-clavulanic acid: an update on the use of extended-release formulations in the management of community-acquired respiratory tract infections in adults" ., *Therapeutic Advances in Respiratory Disease.*

- [29] Miriam Colizza et al "Amoxicillin in pregnancy: safety and efficacy in maternal and neonatal infections" de. (Expert Opinion on Drug Safety, 2021).
- [30] Brittain HG, Florey K, editors. Analytical profiles of drug substances and excipients. Vol 23. London (UK): Academic press limited; 1994.
- [31] Tsuji A, Nakashima EMI, Hamano S, Yamana T. Physicochemical properties of amphoteric & lactam antibiotics I: stability, solubility, and dissolution behavior of amino penicillins as a function of pH. *J Pharm Sci* 1978; 67(8): 10591066.
- [32] Prankerd RJ. Critical compilation of pKa values for pharmaceutical substances. In: Harry G. Brittain, editor. Profiles of drug substances, excipients and related methodology: critical. 1st ed. Vol 33. London (UK): Academic press, an imprint of Elsevier; 2007.
- [33] Deppermann KM, Lode H, Hoffken G, Tschink G, Kalz C, Koeppel P. Influence of ranitidine, pirenzepine, and aluminum magnesium hydroxide on the bioavailability of various antibiotics, including amoxicillin, cephalexin, doxycycline, and amoxicillin-clavulanic acid. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 1989; 33(11): 1901-1907.
- [34] Chourasia, H. R., & Jain, S. K. (2010). Amoxicillin: a broad-spectrum antibiotic. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 2(4), 284-290.
- [35] Tiwari, R., & Gupta, A. (2016). Physicochemical properties and stability of amoxicillin: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(4), 214-221.
- [36] Katzung, B. G., & Trevor, A. J. (2015). *Basic & clinical pharmacology*. McGraw-Hill Education.
- [37] Katzung BG, Trevor AJ. *Basic & clinical pharmacology*. 14th edition. New York: McGraw-Hill Education; 2018. Chapter 47, Beta-Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and Other β -Lactam Antibiotics; p. 802-803.
- [38] Tiwari R, Singh R, Goyal S. Physicochemical properties and stability of amoxicillin: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016 Aug;6(4):214-221.
- [39] Tängdén T, Ramos Martín V, Felton TW, Nielsen EI, Marchand S, Brüggemann RJ, Bulitta JB, Bassetti M., 2020., The role of infection models and PK/PD modelling for optimising care of critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med.* ;46(6):1247-1259.
- [40] Morris GM, Huey R, Lindstrom W, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*. 2009;30(16):2785-2791.
- [41] Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010;31(2):455-461.

- [42] Osterberg F, Morris GM, Sanner MF, Olson AJ, Goodsell DS. Automated docking to multiple target structures: Incorporation of protein mobility and structural water heterogeneity in AutoDock. *Proteins*. 2002;46(1):34-40.
- [43] Gordon RC, Regamey C, Kirby WMM. Comparative clinical pharmacology of amoxicillin and ampicillin administered orally. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 1972; 1(6): 504-507.
- [44] United States Pharmacopoeia-30 and National Formulary-25: The Official Compendia of Standards. Rockville (US): United States Pharmacopoeial Convention; 2007. p. 1402-1407.
- [45] Toutain PL, Bousquet-Mélou A. Bioavailability and its assessment. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2004 Aug;27(4):203-216.
- [46] Nelson, M. L., & Levy, S. B. (2011). The history of the tetracyclines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1241(1), 17-32.
- [47] Bush, K., Bradford, P. A., & Interagency Task Force on Mechanisms of Antimicrobial Resistance. (2018). β -lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 8(8), a025247.
- [48] Amaral, L., & Molnar, J. (2022). Antibiotics: The Present and the Future. In *Handbook of Infection and Control in Healthcare Settings* (pp. 3-30). Springer, Cham.
- [49] Bush K. et al. "Tackling antibiotic resistance", *Nature Reviews Microbiology*, vol. 9, issue 12, 2011, pages 894-896.
- [50] Jacoby GA et al. "Mechanisms of resistance to quinolones", *Clinical Infectious Diseases*, vol. 41 Suppl 2, 2005, pages S120-S126.
- [51] Livermore DM. " β -Lactamases in laboratory and clinical resistance", *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 8, issue 4, 1995, pages 557-584.
- [52] Nikaido H. "Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux", *Science*, vol. 264, issue 5157, 1994, pages 382-388.
- [53] Tenover FC. "Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria", *American Journal of Medicine*, vol. 119, issue 6 Suppl 1, 2006, pages S3-S10.
- [54] Kuntz ID, B. J. (1982). "A geometric approach to macromolecule-ligand interactions". *J Mol Biol*.
- [55] Leonardo G. Ferreira, R. N. (2015). "Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*" .
- [56] Filipe S., 2006., "Protein–Ligand Docking: Current Status and Future Challenges". *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics* , 15–26 .

- [57] Kitchen D., 2004., "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications". *Nat Rev Drug Discov*.
- [58] Huang and Zou, 2010.; Kapetanovic, 2008
- [59] Mulliken RS. "Molecular Compounds and their Spectra. III. The Interaction of Electron Donors and Acceptors" *J. Phys. Chem.* 1952, 56 (7) : 801-822.
- [60] Globisch C, Pajeva IK, and Wiese M., 2006., "Structure-activity relationships of a series of tariquidar analogs as multidrug resistance modulators". *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(5): 1588-1598.
- [61] Oprea TI., 2005., "Chemoinformatics in Drug Discovery".: J. Wiley.
- [62] Ritchie DW, and Kemp GJ., 2000., "Protein docking using spherical polar fourier correlations. *Proteins*"., 39 : 178–194.
- [63] Zhiqiang Tan, I. E., 2012., "Theory of binless multi-state free energy estimation with applications to protein-ligand binding". *The Journal of Chemical Physics* .
- [64] Joost Schymkowitz, J. B., 2005., "The FoldX web server: an online force field. *Nucleic Acids Res*"
- [65] Gregory L. Warren, C. E., 2008., "Docking Algorithms and Scoring Functions; State-of-the-Art and Current Limitations. Dans R. M. Finer-Moore, *Computational and Structural Approaches to Drug Discovery Ligand-Protein Interactions*" (pp. 137-152). uk: The Royal Society of Chemistry .
- [66] Brooijmans N., 2003., "Molecular recognition and docking algorithms". *Annu Rev Biophys Biomol Struct*.
- [67] Brink T., 2009., "Influence of protonation, tautomeric, and stereoisomeric states on protein-ligand docking results". *J Chem Inf Model*.
- [68] Gao, H., 2018., "Flavonoids inhibit cell proliferation and induce apoptosis and autophagy through downregulation of PI3K γ mediated.
- [69] Aumentado-Armstrong, T., 2018., "Latent Molecular Optimization for Targeted Therapeutic Design". *arXiv* , 9-18.
- [70] Zongxi Y, Sun, W., 2018., "Effects of Panax Notoginseng Saponins on Esterases Responsible for Aspirin Hydrolysis In Vitro". *Int. J. Mol. Sci*.
- [71] Silva F Celestino G., 2018., "Ranking docking poses by graph matching of protein-ligand interactions: lessons learned from the D3R Grand Challenge" 2. *J Comput Aided Mol Des*.
- [72] Lengauer T, R. M., 1996., "Computational methods for biomolecular docking". *Curr Opin Struct Biol*.

- [73] Lindert, S. P., 2016., "Computational methods in drug discovery". Beilstein J. Org. Chem .
- [74] Ramírez, D., 2016., "Computational Methods Applied to Rational Drug Design" . the open medicinal chemistry journal , 7-20.
- [75] Yves Tille, Y. T., 2006., "Sampling Algorithms. Springer Science & Business Media".
- [76] Morris GM, Huey R, Lindstrom W, et al., 2009., AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. J Comput Chem.;30(16):2785-2791.
- [77] Sheng-You Huang, a. X., 2010., "Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking". Int. J. Mol. Sci , 3016-3034
- [78] Tillé, Y., 2010., "XXIII Seminario Internacional de Estadística. Algorithms of sampling with equal or unequal probabilities" (pp. 1-81). University of Neuchâtel: University of Neuchâtel.
- [79] Ullrich, Y.-M. B., 2017., "Assessment of long-range-corrected exchange-correlation kernels for solids:PACS" .
- [80] Kathryn Dempsey, K. D., 2012., "The Development of Parallel Adaptive Sampling Algorithms for Analyzing Biological Networks". IEEE 26th International Parallel and Distributed Processing Symposium Workshops & PhD Forum .
- [81] Akhter, M., 2016., "Challenges in Docking": Mini Review. JSM Chemistry .
- [82] F.H.AllenG.M.BattleS.Robertson., 2007., "The Cambridge Crystallographic Database". Dans j. B. Triggler, Comprehensive Medicinal Chemistry II (pp. 389-410). Elsevier Science.
- [83] Jie Liu, a. R., 2015., "Classification of Current Scoring Functions". J. Chem. Inf. Model. , 475-482
- [84] Huang SY, G. S., 2010. "Scoring functions and their evaluation methods for proteinligand docking: recent advances and future directions". Phys Chem ChemPhys. , 899-908.
- [85] Shamsara, J. 2014. "Evaluation of 11 Scoring Functions Performance on Matrix Metalloproteinases". International Journal of Medicinal Chemistry .
- [86] Böhm, H.-J., 1994. "The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure". Journal of Computer-Aided Molecular Design , 243–256
- [88] AN., J., 2006. "Scoring functions for protein-ligand docking". Curr Protein PeptSci. , 20-407.

- [89] Morris GM, Huey R, Olson AJ., 2008., Using AutoDock for ligand-receptor docking. *Curr Protoc Bioinformatics*.;Chapter 8:Unit 8.14.
- [90] Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010;31(2):455-461.
- [91] Morris GM, Huey R, Lindstrom W, et al., 2009., AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*.;30(16):2785-2791.
- [92] Leach AR., 2001.,Molecular Modelling: Principles and Applications. 2nd ed. Pearson Education;.
- [93] Cramer RD, Truhlar DG., 2004., Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models. 2nd ed.
- [94] Jensen F. Introduction to Computational Chemistry. 2nd ed. Wiley; 2007.
- [95] Andrews DH. The Relation Between the Raman Spectra and the Structure of Organic Molecules. *Physical Review*. 1930, 36: 544
- [96] Hetényi C, Maran U. Karelson M., 2003., "A Comprehensive Docking Study on the Selectivity of Binding of Aromatic Compounds to Proteins". *Journal of chemical information and computer sciences*., 43 (5): 1576-1583.
- [97] Keseru GM. Menyhárd DK., 1999., "Role of Proximal His93 in Nitric Oxide Binding to Metmyoglobin. Application of Continuum Solvation in Monte Carlo Protein Simulations. *Biochemistry*"., 38 (20): 6614-6622.
- [98] Magali T., 2004., thèse de doctorat, Université de Montpellier I. U.F.R.DE Medecine, France.
- [99] Hohenberg P. and Kohn W., 1964., "Density Functional Theory (DFT)". *Phys. Rev.*,136, B846.
- [100] Parr RG. and Yang W., 1989., "Density Functional Theory ", Oxford University Press..
- [101] Tsiliou S, Kefala LA, Perdih F, Turel I, Kessissoglou DP, Psomas G., (2012)., "Cobalt(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drug tolfenamic acid: Structure and biological evaluation". *Eur. J. Med. Chem.*, 48: 132-142.
- [102] Rizki M, Pratama F, Poerwono H, Siswodiharjo S., 2019., "ADMET properties of novel 5-O-benzoylpinostrobin derivatives". *Automatically Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*..
- [103] Smith DA, Di L, Kerns EH., 2010., The role of ADMET properties in drug discovery. *Drug Discov Today*.;15(23-24):1055-1064.

- [104] Bohnert, T., Prakash, C., 2012. "ADME profiling in drug discovery and development": an overview. *Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions* 135.
- [105] Waterbeemd, H., Gifford, E., 2000. "ADMET in silico modelling: towards prediction paradise?" *Nat. RevDrug Discov.* 2 (3), 192204
- [106] Schwobel, J., Ebert, R., Kühne, R., Schürmann, G., 2011. "Prediction models for the Abraham hydrogen bond donor strength: comparison of semi-empirical, ab initio, and DFT methods". *J. Phys. Org. Chem.* 24
- [107] Balakin, K., Savchuk, N., Tetko, I., 2006. "In silico approaches to prediction of aqueous and DMSO solubility of drug-like compounds: trends, problems and solutions". *Curr. Med. Chem.* 13 (2), 223241
- [108] Bergström, C., Charman, W. and Porter, C. 2016. "Computational prediction of formulation strategies for beyond-rule-of-5 compounds". *Adv. Drug Deliv. Rev.* 101, 621.
- [109] Hou, T., Wang, J., Zhang, W., Wang, W., Xu, X., 2006. "Recent advances in computational prediction of drug absorption and permeability in drug discovery". *Curr. Med. Chem.* 13 (22), 26532667
- [110] Refsgaard, H., Jensen, B., Brockhoff, P., Padkjær, S., Guldbrandt, M., Christensen, M., 2005. "In silico prediction of membrane permeability from calculated molecular parameters". *J. Med. Chem.* 48 (3), 805811
- [111] Lamberti, G., Cascone, S., Marra, F., Titomanlio, G., d'Amore, M., Barba, A., 2016. "Gastrointestinal behavior and ADME phenomena: II. In silico simulation". *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 35, 165171
- [112] Lombardo, F., Gifford, E., Shalaeva, M., 2003. "In Silico ADME prediction: data, models, facts and myths". *Mini-Rev. Med. Chem.* 3 (8), 861875
- [113] Pelkonen, O., Turpeinen, M., Uusitalo, J., Rautio, A., Raunio, H., 2005. "Prediction of drug metabolism and interactions on the basis of in vitro investigations". *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 96 (3), 167175
- [114] Testa B. & Kraemer S. D. "The Biochemistry of Drug Metabolism – An Introduction - Testa - 2007 - Chemistry & Biodiversity - Wiley Online Library". *Chem. Biodivers* (2007)
- [115] Waterschoot RA, Schinkel , "A critical analysis of the interplay between cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: recent insights from knockout and transgenic mice". *AHParmacol Rev.* 2011 Jun; 63(2):390-410.

- [116] Wolf C. R., Smith G. & Smith R. L. "Pharmacogenetics". *British Medical Journal* (2000)
- [117] "The role of drug metabolizing enzymes in clearance". *Di L Expert Opin Drug MetabToxicol.* 2014 Mar; 10(3):379-93.
- [118] "Characteristics and common properties of inhibitors, inducers, and activators of CYP enzymes".
- [119] Huang SM, Strong JM, Zhang L, Reynolds KS, Nallani S, Temple R, Abraham S, Habet SA, Baweja RK, Burckart GJ, Chung S, Colangelo P, Frucht D, Green MD, Hepp P, Karnaukhova E, Ko HS, Lee JI, Marroum PJ, Norden JM, Qiu W, Rahman A, Sobel S, Stifano T, Thummel K, Wei XX, Yasuda S, Zheng JH, Zhao H, Lesko LJJ *Clin "New era in drug interaction evaluation: US Food and Drug Administration update on CYP enzymes, transporters, and the guidance process"* *Pharmacol.* 2008 Jun; 48(6):662-70.
- [120] Kirchmair J, Göller AH, Lang D, Kunze J, Testa B, Wilson ID, Glen RC, Schneider G, "Predicting drug metabolism: experiment and/or computation?". *Nat Rev Drug Discov.* 2015 Jun; 14(6):387-404.
- [121] R. P. Heaney, *J. Nutr.* 131 (4Supl.), 1344S–1348S (2001)
- [122] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W. & Feeney, P. J. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings". *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 46, 3–26 (2001).
- [123] Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1999). "A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases". *Journal of Combinatorial Chemistry.*, 1(1), 55–68.
- [124] Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates". *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 2615–2623.
- [125] Egan, W. J., Merz, K. M., & Baldwin, J. J. (2000). "Prediction of drug absorption using multivariate statistics". *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(21), 3867–3877.
- [126] Muegge, I., Heald, S. L., & Brittelli, D. (2001). "Simple selection criteria for drug-like chemical matter". *Journal of Medicinal Chemistry.*, 44(12), 1841–1846.
- [127] Roncaglioni, A., Toropov, A., Toropova, A., Benfenati, E., 2013. "In silico methods to predict drug toxicity". *Curr. Opin. Pharmacol.* 13 (5), 802806.
- [128] Zhong, Wei-Zhu, and Shu-Feng Zhou. "Molecular science for drug development and biomedicine." (2014): 20072-20078..

- [129] Xiao, Xuan, Jian-Liang Min, Wei-Zhong Lin, Zi Liu, Xiang Cheng, and Kuo-Chen Chou. "iDrug-Target: predicting the interactions between drug compounds and target proteins in cellular networking via benchmark dataset optimization approach." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 33, no. 10 (2015): 2221-2233..
- [130] Studio, Discovery. "2.1 is a product of Accelrys Inc." San Diego, CA, USA (2008).
- [131] Zoete, Vincent, Antoine Daina, Christophe Bovigny, and Olivier Michielin. "SwissSimilarity: a web tool for low to ultra high throughput ligand-based virtual screening." (2016): 1399-1404.
- [132] Daina, Antoine, Olivier Michielin, and Vincent Zoete. "SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules." *Scientific reports* 7, no. 1 (2017): 1-13.
- [133] Lipinski, Christopher A., Franco Lombardo, Beryl W. Dominy, and Paul J. Feeney. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 23, no. 1-3 (1997): 325.
- [134] Ghose, Arup K., Vellarkad N. Viswanadhan, and John J. Wendoloski. "A knowledgebased approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases." *Journal of combinatorial chemistry* 1, no. 1 (1999): 55-68..
- [135] Veber, Daniel F., Stephen R. Johnson, Hung-Yuan Cheng, Brian R. Smith, Keith W. Ward, and Kenneth D. Kopple. "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates." *Journal of medicinal chemistry* 45, no. 12 (2002): 2615-2623..
- [136] Siramshetty, Vishal B., Janette Nickel, Christian Omieczynski, Bjoern-Oliver Gohlke, Malgorzata N. Drwal, and Robert Preissner. "WITHDRAWN—a resource for withdrawn and discontinued drugs." *Nucleic acids research* 44, no. D1 (2016): D1080-D1086.
- [137] Liu, Jie, Kamel Mansouri, Richard S. Judson, Matthew T. Martin, Huixiao Hong, Minjun Chen, Xiaowei Xu, Russell S. Thomas, and Imran Shah. "Predicting hepatotoxicity using ToxCast in vitro bioactivity and chemical structure." *Chemical research in toxicology* 28, no. 4 (2015): 738-751.
- [138] Kroes, Robert, A. G. Renwick, M. Cheeseman, J. Kleiner, I. Mangelsdorf, A. Piersma, B. Schilter et al. "Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance

for application to substances present at low levels in the diet." *Food and chemical toxicology* 42, no. 1 (2004): 65-83..

- [139] Ames, Bruce N., William E. Durston, Edith Yamasaki, and Frank D. Lee. "Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 70, no. 8 (1973): 2281-2285.
- [140] Zhang, Luoping, Cliona M. McHale, Nigel Greene, Ronald D. Snyder, Ivan N. Rich, Marilyn J. Aardema, Shambhu Roy, Stefan Pfuhler, and Sundaresan Venkatactahalam. "Emerging approaches in predictive toxicology." *Environmental and molecular mutagenesis* 55, no. 9 (2014): 679-688..
- [141] Schrey, Anna K., Janette Nickel-Seeber, Malgorzata N. Drwal, Paula Zwicker, Nadin Schultze, Beate Haertel, and Robert Preissner. "Computational prediction of immune cell cytotoxicity." *Food and Chemical Toxicology* 107 (2017): 150-166..
- [142] Frisch, M. J. E. A., G. W. Trucks, H. Bernhard Schlegel, Gustavo E. Scuseria, Michael A. Robb, James R. Cheeseman, Giovanni Scalmani et al. "gaussian 09, Revision d. 01, Gaussian." Inc., Wallingford CT 201 (2009).
- [143] Berman, Helen M., Tammy Battistuz, Talapady N. Bhat, Wolfgang F. Bluhm, Philip E. Bourne, Kyle Burkhardt, Zukang Feng et al. "The protein data bank." *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography* 58, no. 6 (2002): 899-907.
- [144] Amalia, Intan Fitri, Assyifa Sayyidah, Kirana Aisyah Larasati, and Sarah Fadilah Budiarti. "Molecular Docking Analysis of α -Tomatine and Tomatidine to Inhibit Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Activation in Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC)." *JSMARTech: Journal of Smart Bioprospecting and Technology* 2, no. 1 (2020): 001-006.
- [145] Darwin, K. Heran. "Is Required for Mycobacterium tuberculosis The Proteasome of." *Hum. Genet* 70 (2002): 1490.
- [146] Bandyopadhyay, Nirmalya, Ankur Bikash Pradhan, Suman Das, Liping Lu, Miaoli Zhu, Shubhamoy Chowdhury, and Jnan Prakash Naskar. "Synthesis, structure, DFT calculations, electrochemistry, fluorescence, DNA binding and molecular docking aspects of a novel oxime-based ligand and its palladium (II) complex." *Biology* 160 (2016): 336346.
- [147] Guhathakurta, Bhargab, Pritha Basu, Chandra Shekhar Purohit, Nirmalya Bandyopadhyay, Gopinatha Suresh Kumar, Shubhamoy Chowdhury, and Jnan Prakash Naskar. "Synthesis, characterization, structure, DNA binding aspects and molecular

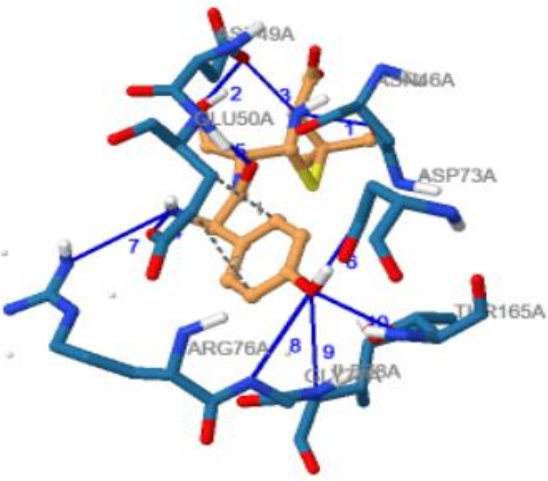
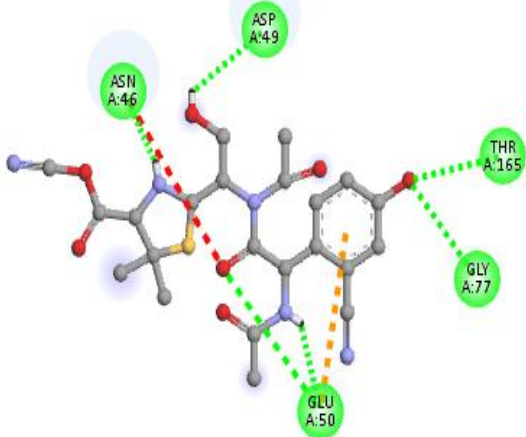
- docking study of a novel Schiff base ligand and its bis (μ chloro) bridged Cu (II) dimer." *Polyhedron* 126 (2017): 195204.
- [148] Kwong, Elizabeth, ed. *Oral formulation roadmap from early drug discovery to development*. John Wiley & Sons, 2017.
- [149] Pliška, V., Bernard Testa, and Han van de Waterbeemd. "Lipophilicity: The empirical tool and the fundamental objective. An introduction." *Lipophilicity in drug action and toxicology* (1996): 1-6.
- [150] Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.* 2002;45(12):2615-2623.
- [151] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(1-3):3-26.
- [152] Avdeef, Alex. *Absorption and drug development: solubility, permeability, and charge state*. John Wiley & Sons, 2012
- [153] Lipinski, Christopher A., Franco Lombardo, Beryl W. Dominy, and Paul J. Feeney. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 23 no. 13 (1997): 3-25
- [154] Alam, Sarfaraz, Sadaf Nasreen, Ateeque Ahmad, Mahendra Pandurang Darokar, and Feroz Khan. "Detection of natural inhibitors against human liver cancer cell lines through QSAR, Molecular Docking, and ADMET studies." *Current Topics in Medicinal Chemistry* (2021).
- [155] Potts, Russell O., and Richard H. Guy. "Predicting skin permeability." *Pharmaceutical research* 9, no. 5 (1992): 663-669.
- [156] Nisha, Chaluveelaveedu Murleedharan, Ashwini Kumar, Archana Vimal, Bhukya Mounika Bai, Dharm Pal, and Awanish Kumar. "Docking and ADMET prediction of few GSK-3 inhibitors divulges 6-bromoindirubin-3-oxime as a potential inhibitor." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 65 (2016): 100-107.
- [157] Löscher W, Potschka H. Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family. *NeuroRx.* 2005;2(1):86-98.
- [158] Pardridge WM. Drug transport across the blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012;32(11):1959-1972.
- [159] Schinkel AH. P-Glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev.* 1999;36(2-3):179-194.

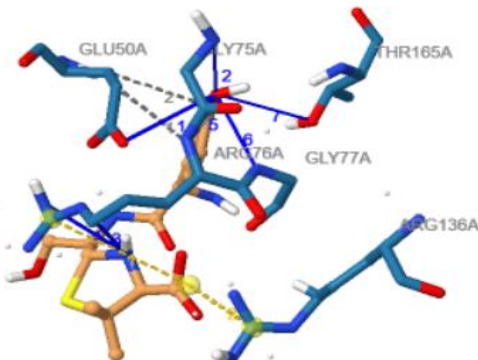
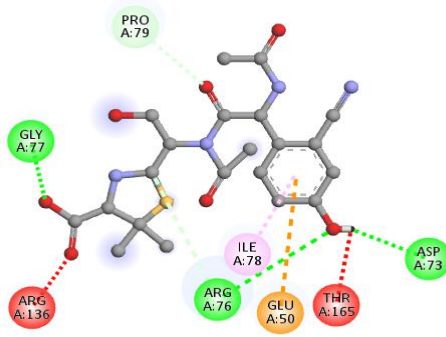
- [160] Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther.* 2013;138(1):103-141.
- [161] Pelkonen O, Rautio A, Raunio H, Pasanen M. CYP2A6: a human coumarin 7-hydroxylase. *Toxicology.* 2000;144(1-3):139-147.
- [162] Guengerich FP. Cytochrome P450 and chemical toxicology. *Chem Res Toxicol.* 2008;21(1):70-83.
- [163] Sim SC, Ingelman-Sundberg M. The human cytochrome P450 (CYP) allele nomenclature website: a peer-reviewed database of CYP variants and their associated effects. *Hum Genomics.* 2010;4(4):278-281.
- [164] Desta Z, Soukhova NV, Flockhart DA. Inhibition of cytochrome P450 (CYP450) isoforms by isoniazid: potent inhibition of CYP2C19 and CYP3A. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(2):382-392.
- [165] Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2004;369(1):23-37.
- [166] Lin JH, Lu AY. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* 1998;35(5):361-390.
- [167] Baell JB, Holloway GA. New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *J Med Chem.* 2010;53(7):2719-2740.
- [168] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(1-3):3-26.
- [169] Brenk, Ruth, Alessandro Schipani, Daniel James, Agata Krasowski, Ian Hugh Gilbert, Julie Frearson, and Paul Graham Wyatt. "Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases." *ChemMedChem* 3, no. 3 (2008): 435.

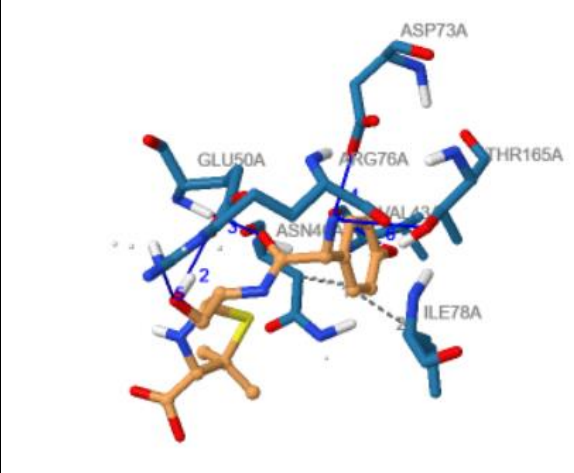
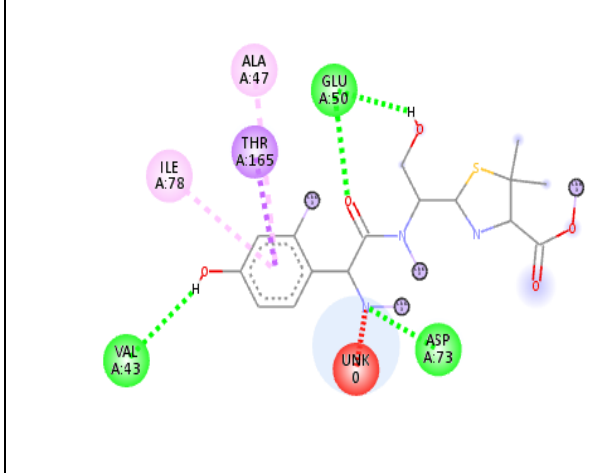
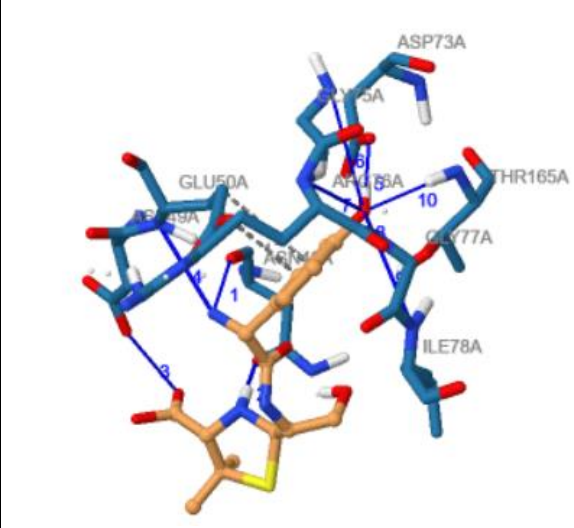
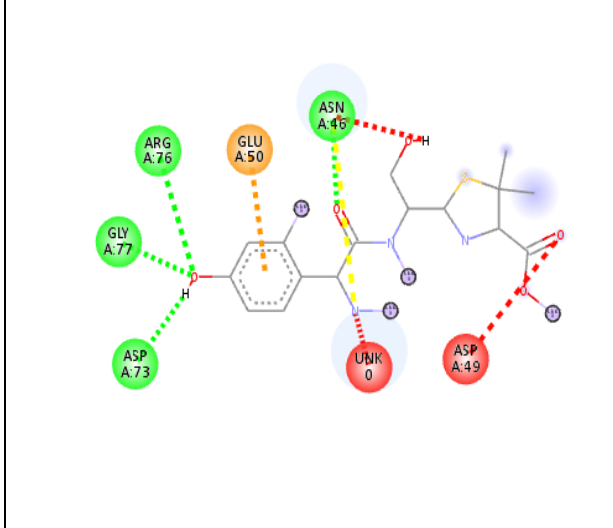
ANNEXES

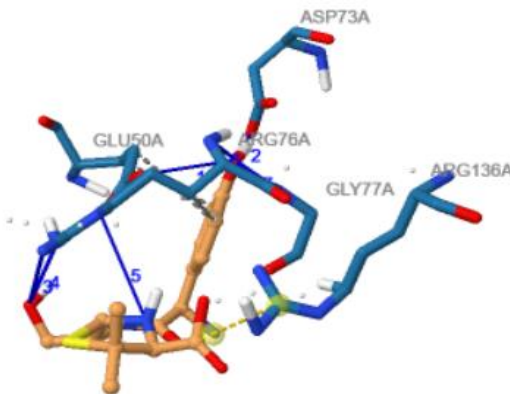
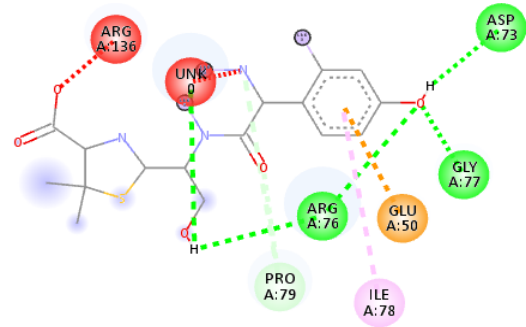
Protéines Ligands	<i>6f86 Eco</i>		<i>Is3r</i>	
	ΔG (Kcal.mol ⁻¹)	IC 50 (μ M)	ΔG (Kcal.mol ⁻¹)	IC 50 (μ M)
Amox1	-7.69	2.31	-6.07	35.53
Amox2	-7.89	1.65	-6.75	11.26
Amox3	-6.65	8.01	-6.13	32.18
Amox4	-6.91	8.56	-6.89	8.84
Amox5	-8.47	617.4	-8.62	479.83
Amox6	-6.86	9.33	-6.92	8.43
Amox7	-7.16	5.68	-7.28	4.63
Amox8	-6.74	11.48	-6.29	24.38
Amox9	-9.31	150.08	-7.49	3.24
Amox10	-8.37	726.51	-6.90	8.82
Amox11	-8.92	291.47	-6.52	16.51
Amox12	-8.08	1.20	-7.09	6.37
Amox13	-8.95	275.94	-7.10	6.21
Amox14	-7.58	2.80	-6.81	10.12
Amox15	-6.91	8.65	-6.96	7.87

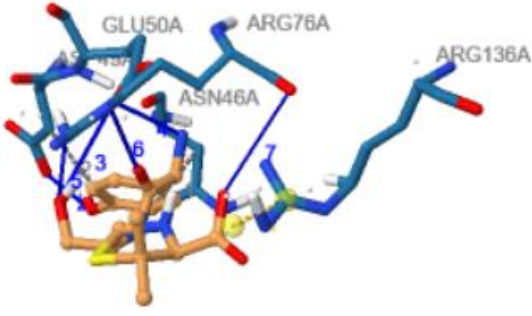
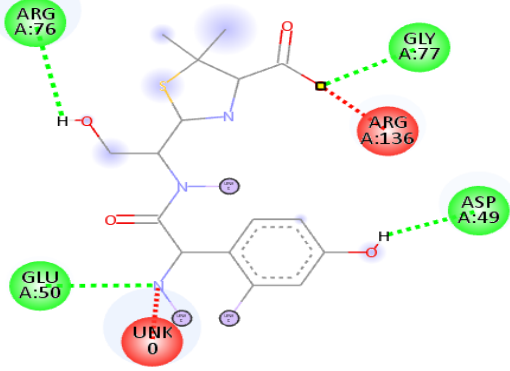
E. coli

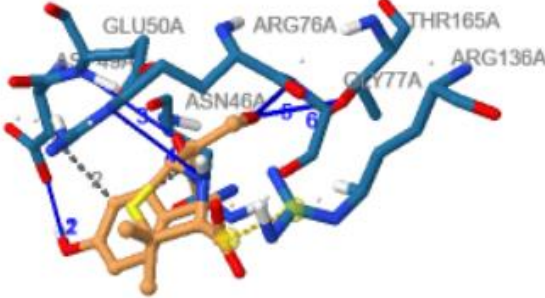
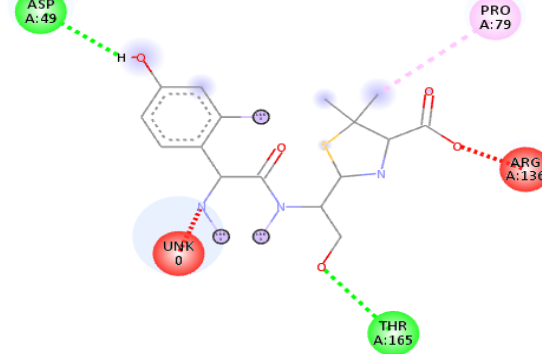
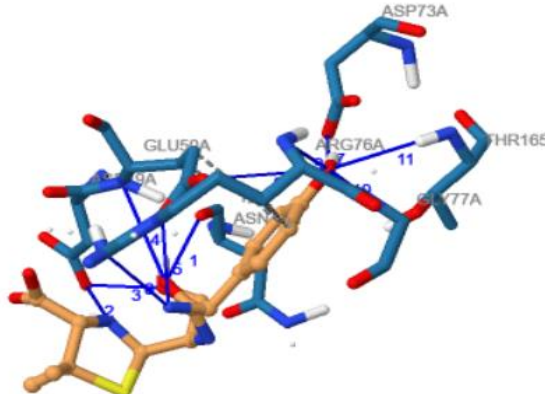
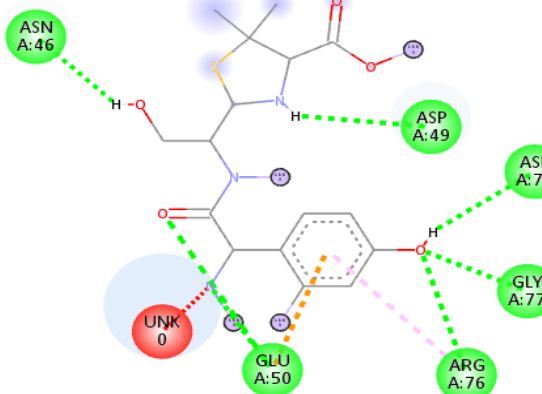
			
Amox1-6f86 Eco		Amox1-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox1-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.30
		GLU	3.83

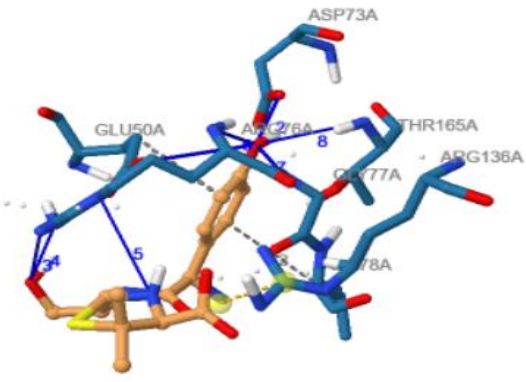
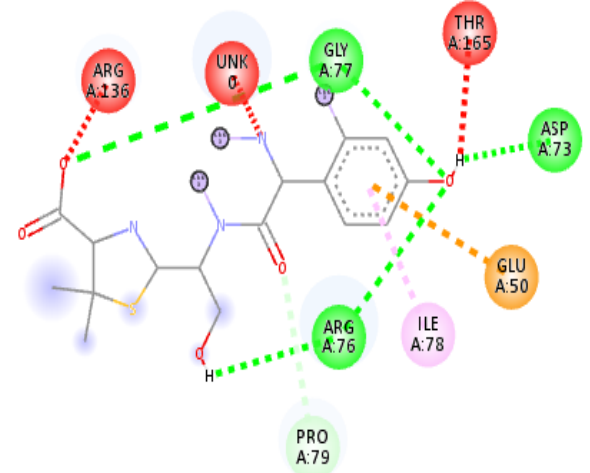
	Hydrogen-bonds	ASN	2.00
		ASP	1.90
		ASP	2.20
		GLU	1.88
		GLU	2.71
		ASP	2.14
		ARG	3.33
		GLY	2.71
		ILE	3.46
		THR	2.79
			
Amox2-6f86 Eco		Amox2-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox2-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.73
		GLU	3.55
	Hydrogen-bonds	GLU	3.25
		GLY	2.47
		ARG	3.00
		ARG	3.11
		ARG	2.44
		GLY	2.41
		THR	3.11

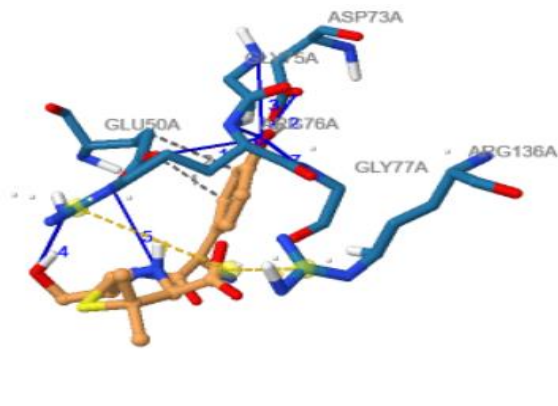
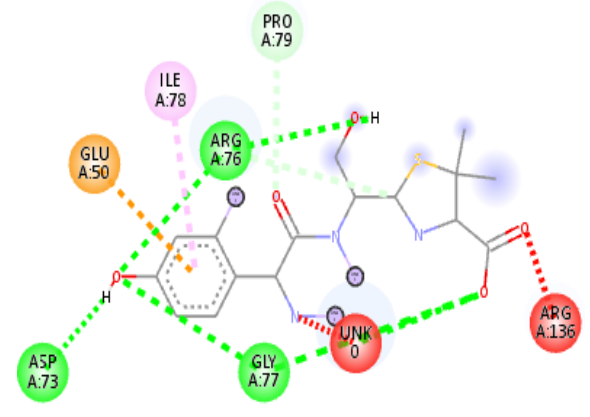
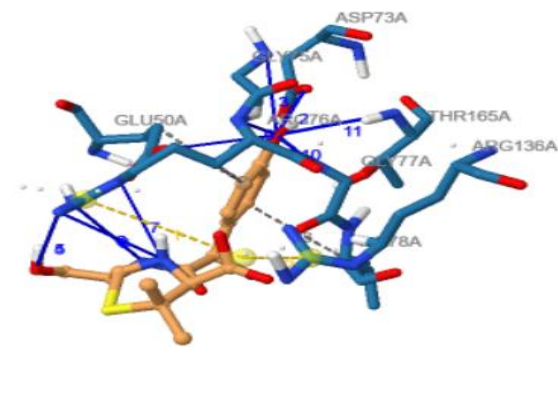
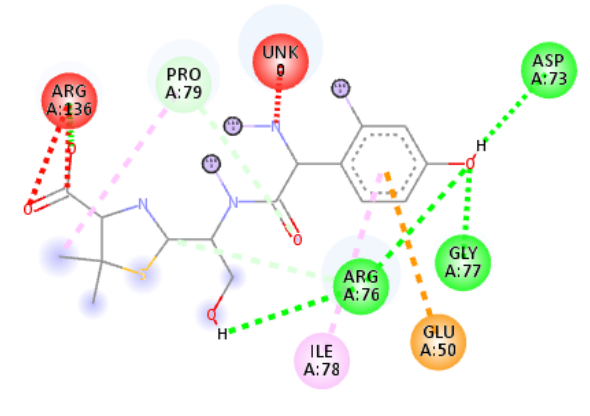
			
Amox3-6f86 Eco		Amox3-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox3-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	ASN	3.13
		ILE	3.40
	Hydrogen-bonds	VAL	2.30
		GLU	1.76
		GLU	2.11
		ASP	2.00
		ARG	2.03
		THR	2.59
			
Amox4-6f86 Eco		Amox4-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox4-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.74
		GLU	3.86
	Hydrogen-bonds	ASN	2.21

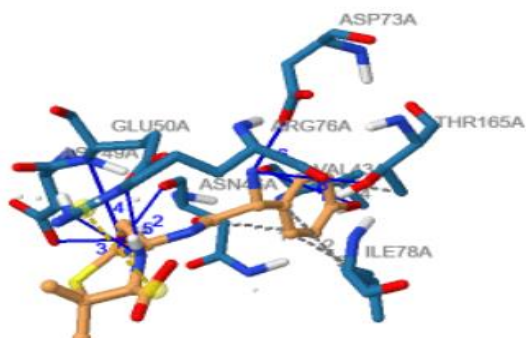
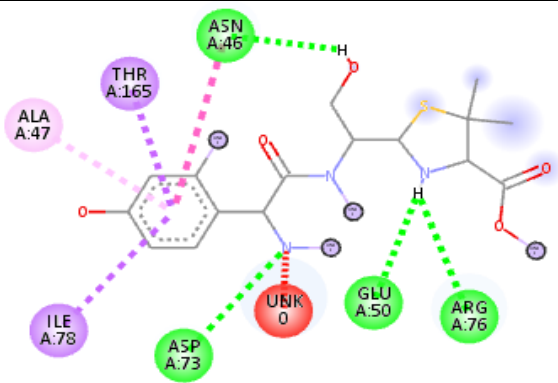
		ASN	2.13
		ASP	2.22
		GLU	2.59
		ASP	1.75
		GLY	3.44
		ARG	3.02
		GLY	2.10
		ILE	3.55
		THR	2.33
			
Amox5-6f86 Eco		Amox5-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox5-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.57
		GLU	3.93
		ARG	3.95
	Hydrogen-bonds	GLU	3.23
		ASP	2.59
		ARG	3.39
		ARG	1.76
		ARG	3.50
ARG	2.31		
GLY	2.16		

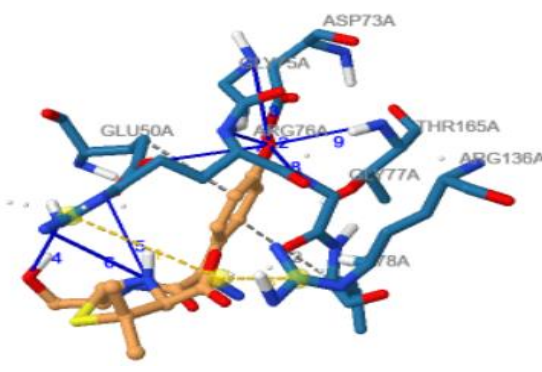
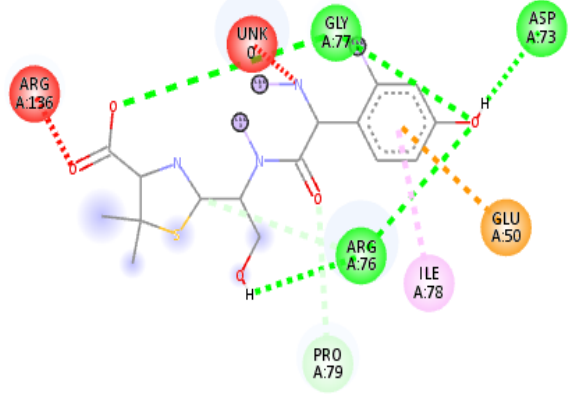
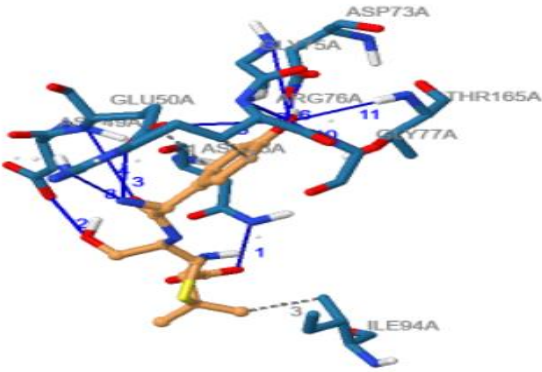
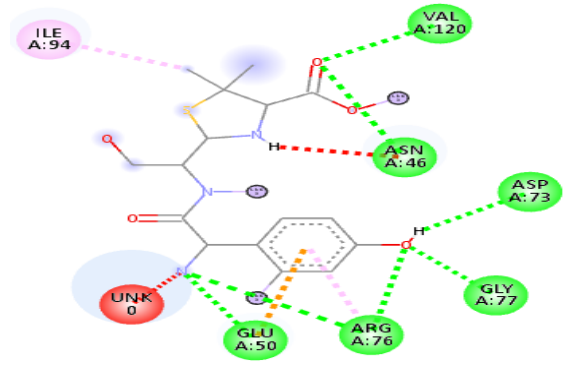
			
Amox6-6f86 Eco		Amox6-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox6-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	ASN	3.76
		ASP	3.23
	Hydrogen-bonds	ASP	1.60
		ASP	1.71
		GLU	3.12
		GLU	1.97
		ARG	2.11
		ARG	2.45
		ARG	3.36

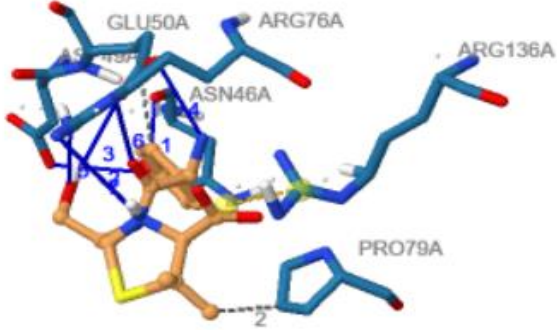
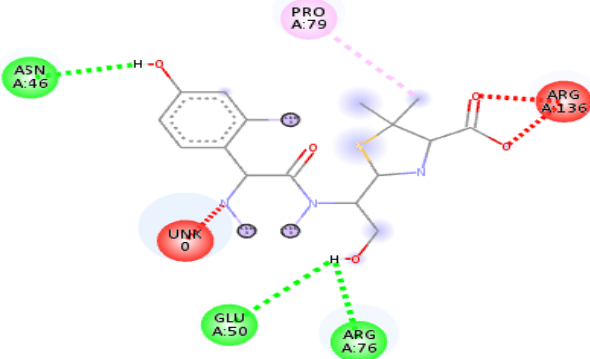
			
Amox7-6f86 Eco		Amox7-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox7-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	ASN	3.45
		ASP	3.29
	Hydrogen-bonds	ASP	2.12
		ASP	1.90
		GLU	2.88
		ARG	3.01
		GLY	3.25
		THR	2.17
			
Amox8-6f86 Eco		Amox8-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox8-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.45
		GLU	3.97
		ARG	3.79
	Hydrogen-bonds	ASN	2.06
		ASP	2.26
		ASP	2.03

		GLU	2.98
		GLU	2.16
		GLU	3.72
		ASP	2.47
		ARG	2.61
		ARG	2.64
		GLY	2.07
		THR	2.86
			
Amox9-6f86 Eco		Amox9-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox9-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.75
		ILE	3.84
	Hydrogen-bonds	GLU	3.64
		ASP	1.80
		ARG	3.49
		ARG	1.73
		ARG	3.47
		ARG	2.54
		GLY	2.06
THR	2.78		

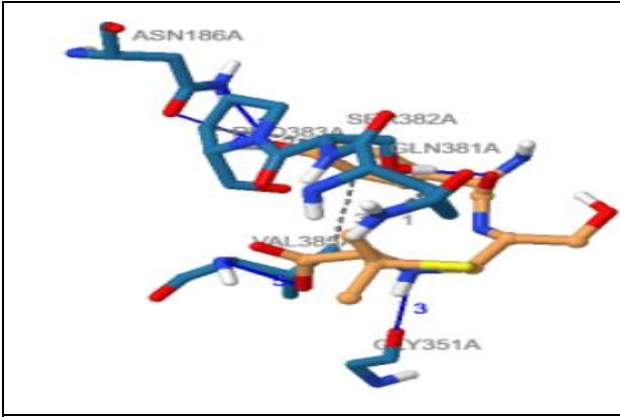
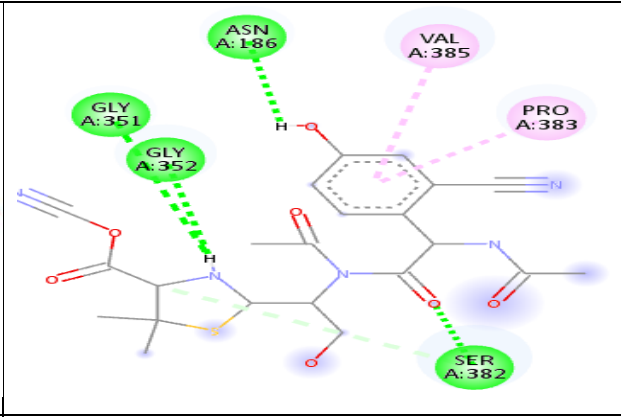
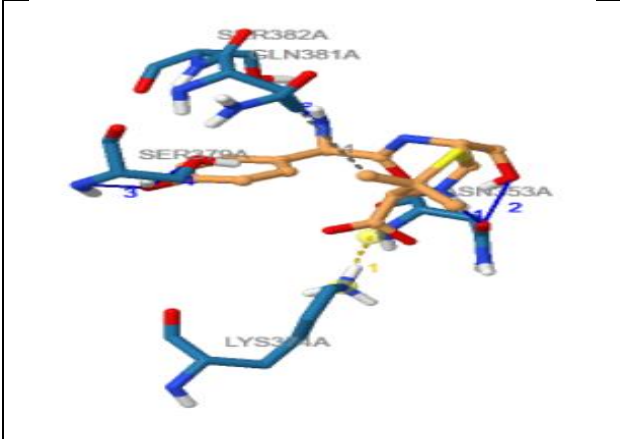
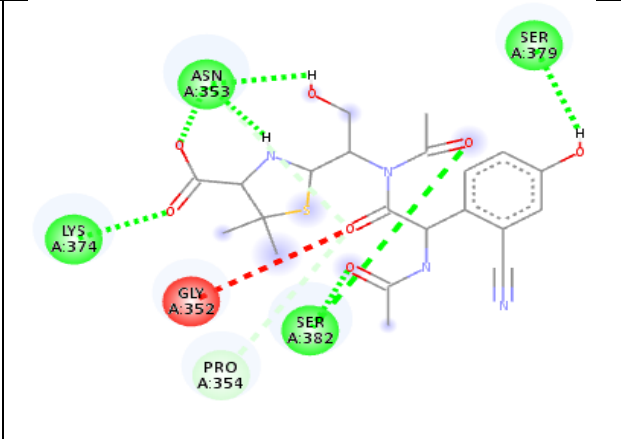
			
Amox10-6f86 Eco		Amox10-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox10-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.73
		GLU	3.47
		GLU	3.26
	Hydrogen-bonds	ASP	1.85
		GLY	3.00
		ARG	2.26
		ARG	2.95
		ARG	2.22
GLY	1.98		
			
Amox11-6f86 Eco		Amox11-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox11-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.83
		ARG	3.89
		ILE	3.94
	Hydrogen-bonds	GLU	3.43

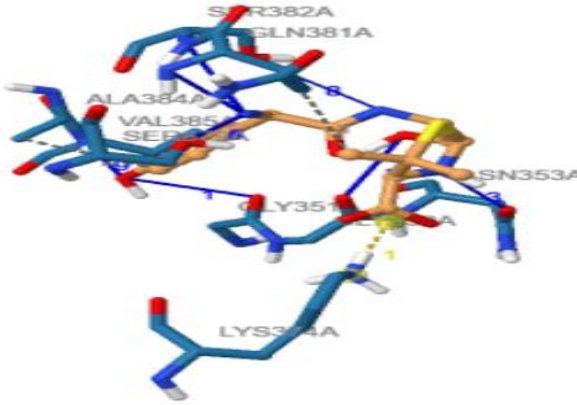
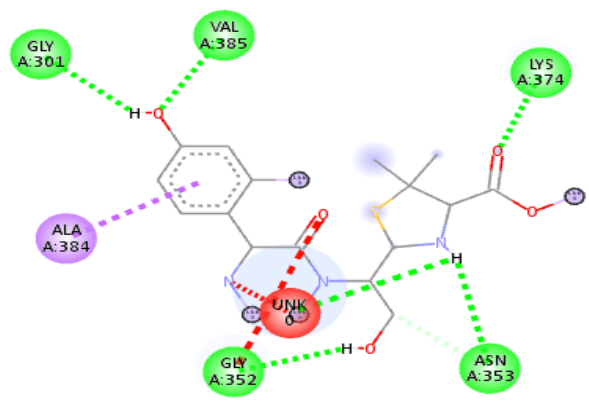
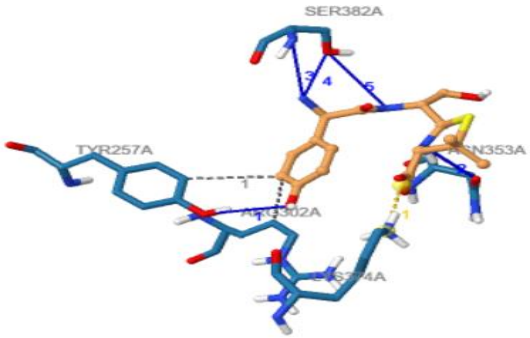
		ASP	1.87
		GLY	3.09
		ARG	3.31
		ARG	3.06
		ARG	3.18
		ARG	2.97
		ARG	3.45
		ARG	2.33
		GLY	1.93
		THR	2.96
			
Amox12-6f86 Eco		Amox12-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox12-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	ASN	3.41
		ILE	3.93
		ILE	3.35
		THR	3.45
	Hydrogen-bonds	VAL	3.38
		ASN	2.10
		ASP	3.17
		GLU	3.13
		GLU	2.42
		ASP	2.30
		ARG	2.45
THR	3.03		

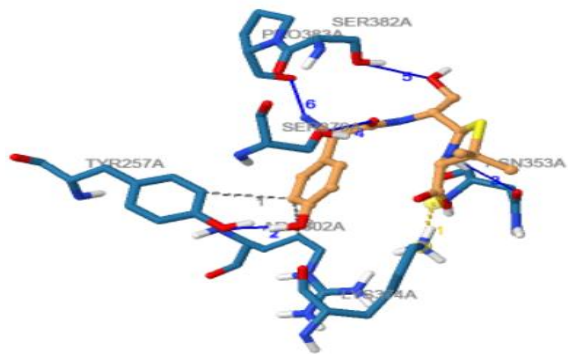
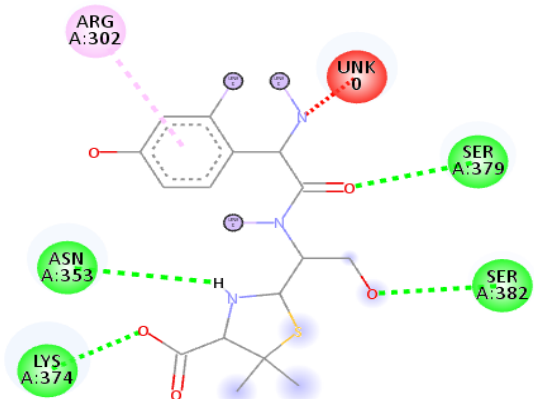
			
Amox13-6f86 Eco		Amox13-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox13-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.81
		ILE	3.80
	Hydrogen-bonds	GLU	3.69
		ASP	2.61
		GLY	2.99
		ARG	1.98
		ARG	2.93
		ARG	3.54
		ARG	2.59
		GLY	2.08
THR	2.73		
			
Amox14-6f86 Eco		Amox14-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox14-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.45
		ARG	3.77
		ILE	3.19

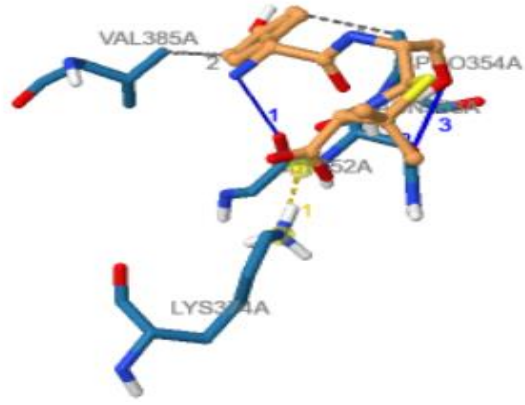
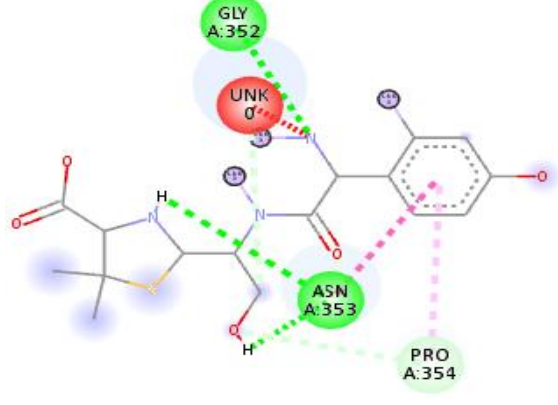
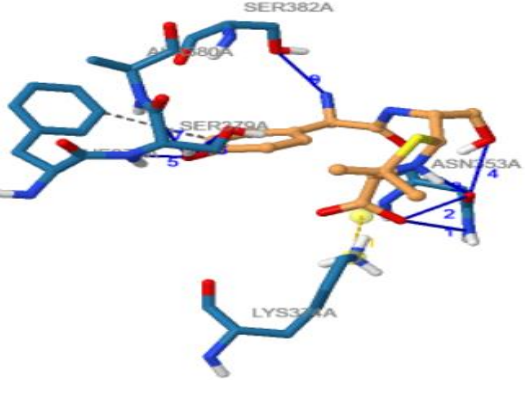
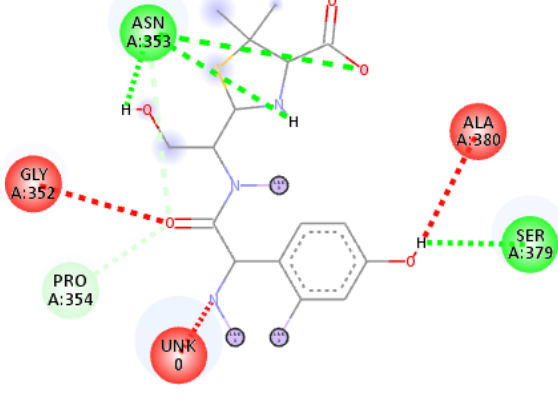
	Hydrogen-bonds	ASN	2.01
		ASP	2.89
		GLU	1.65
		GLU	3.29
		GLU	3.79
		ASP	2.48
		GLY	3.05
		ARG	2.39
		ARG	2.70
		GLY	2.06
		THR	2.83
			
Amox15-6f86 Eco		Amox15-6f86 Eco	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox15-6f86 Eco	Hydrophobic interactions	GLU	3.72
		PRO	3.08
	Hydrogen-bonds	ASN	1.98
		ASP	3.16
		GLU	2.90
		GLU	2.51
		ARG	2.08
		ARG	1.97
		ARG	3.26

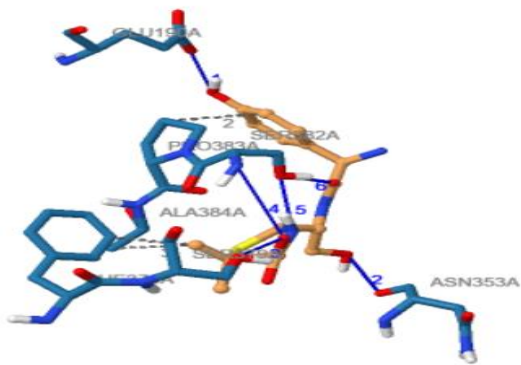
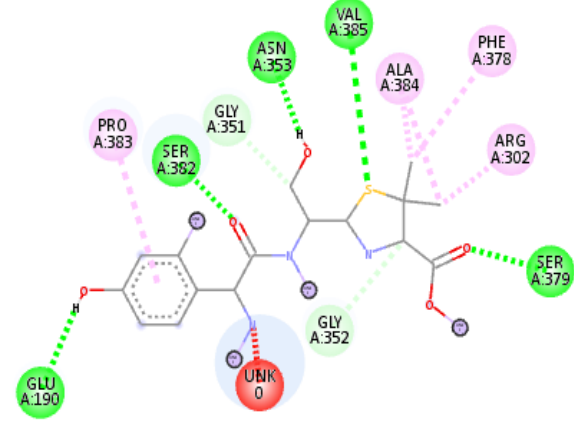
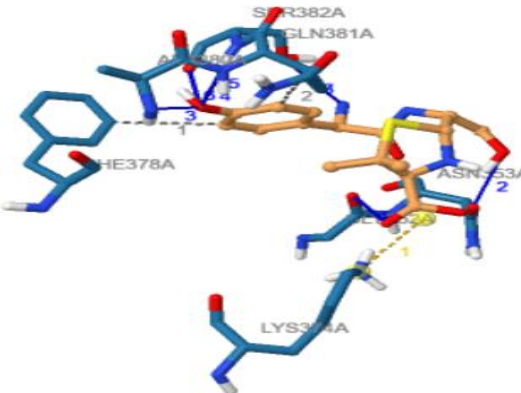
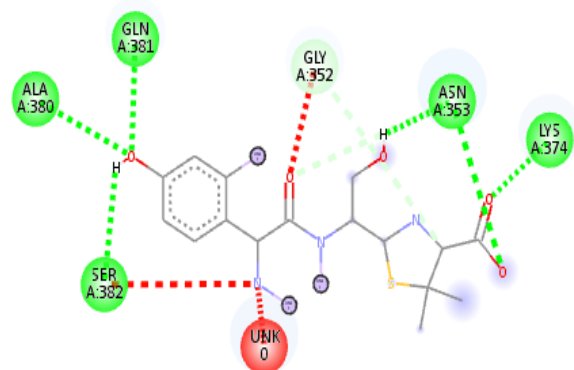
Streptococcus

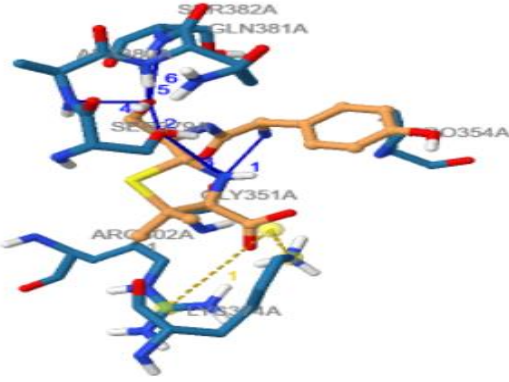
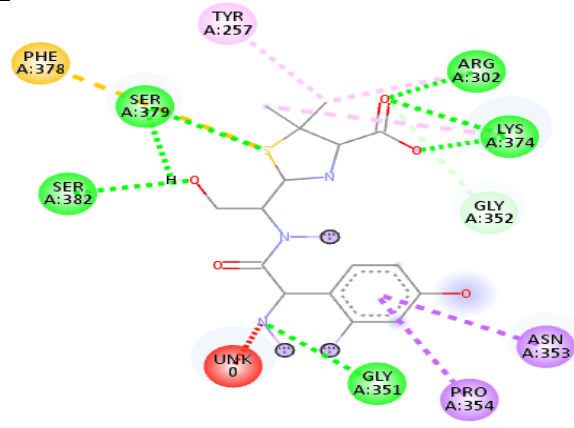
			
Amox1-<i>Is3r</i>		Amox1-<i>Is3r</i>	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox1- <i>Is3r</i>	Hydrophobic interactions	GLN	3.27
		PRO	3.61
		VAL	3.45
	Hydrogen-bonds	ASN	2.51
		ASN	2.17
		GLY	2.65
		SER	1.78
		VAL	3.31
			
Amox2-<i>Is3r</i>		Amox2-<i>Is3r</i>	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox2- <i>Is3r</i>	Hydrophobic interactions	GLN	3.63
	Hydrogen-bonds	ASN	2.22
		ASN	2.07
		SER	2.57

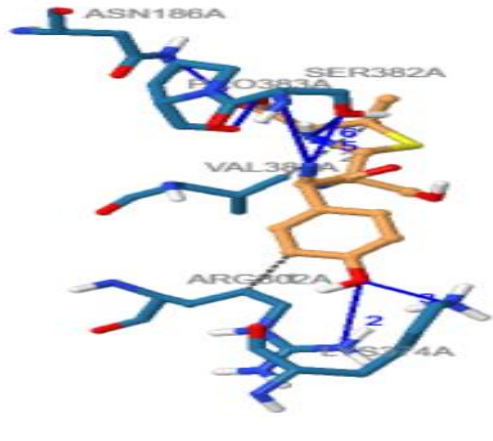
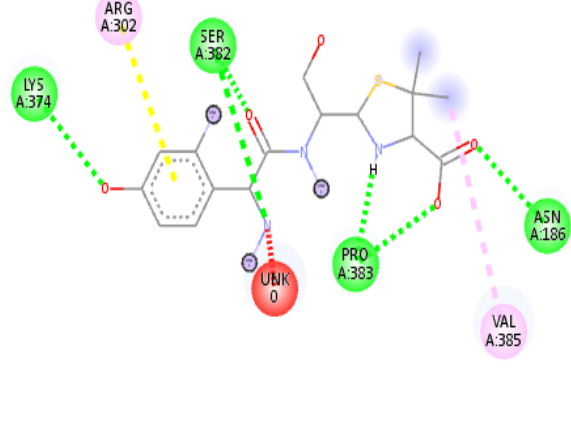
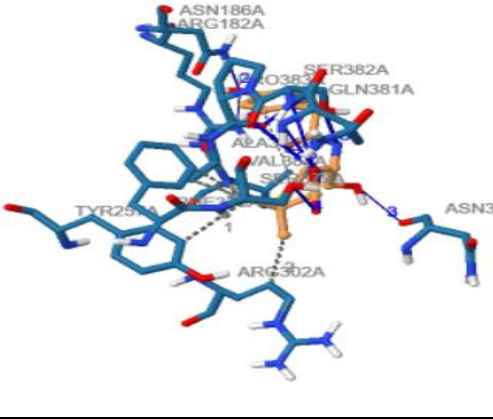
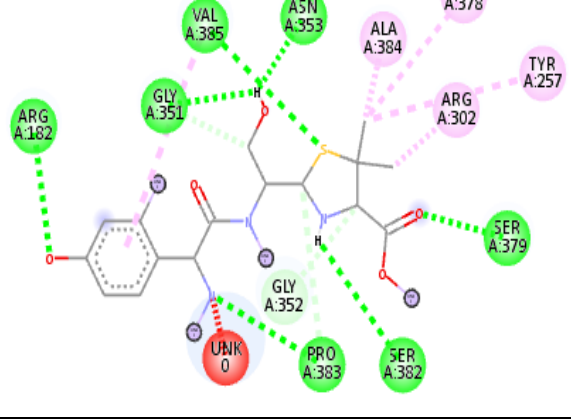
		SER	2.26
		SER	2.42
		SER	2.23
			
Amox3-Is3r		Amox3-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
<i>Amox3-Is3r</i>	Hydrophobic interactions	GLN	3.27
		ALA	3.90
	Hydrogen-bonds	GLY	2.74
		GLY	2.66
		ASN	2.42
		SER	3.00
		SER	3.08
		GLN	3.22
		SER	3.02
		SER	3.56
		VAL	1.92
			
Amox4-Is3r		Amox4-Is3r	

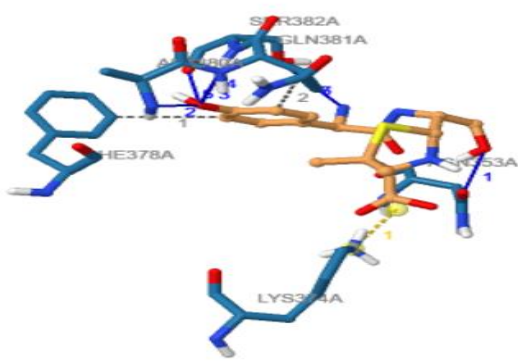
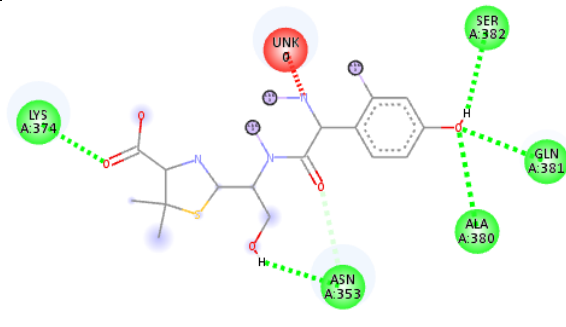
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox4-Is3r	Hydrophobic interactions	TYR	3.92
		ARG	3.30
	Hydrogen-bonds	TYR	2.53
		ASN	2.02
		SER	3.19
		SER	2.04
		SER	3.59
			
Amox5-Is3r		Amox5-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox5-Is3r	Hydrophobic interactions	TYR	3.38
		ARG	3.07
	Hydrogen-bonds	TYR	2.16
		TYR	2.08
		ASN	2.38
		SER	2.94
		SER	2.14
		PRO	2.80

			
Amox6-Is3r		Amox6-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox6-Is3r	Hydrophobic interactions	PRO	3.20
	Hydrogen-bonds	VAL	3.67
		GLY	1.86
		ASN	1.99
		ASN	2.01
			
Amox7-Is3r		Amox7-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox7-Is3r	Hydrophobic interactions	PHE	3.95
	Hydrogen-bonds	ASN	3.55
		ASN	2.65
		ASN	2.08
		ASN	2.24
		SER	2.36
		SER	1.96

		ALA	3.21
		SER	2.42
		SER	2.12
			
Amox8-<i>Is3r</i>		Amox8-<i>Is3r</i>	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox8-<i>Is3r</i>	Hydrophobic interactions	PHE	3.27
		PRO	3.51
		ALA	3.32
	Hydrogen-bonds	GLU	1.92
		ASN	1.92
		SER	2.73
		SER	3.44
		SER	2.14
		SER	1.82
			
Amox9-<i>Is3r</i>		Amox9-<i>Is3r</i>	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox9-<i>Is3r</i>	Hydrophobic	PHE	3.81

	interactions	GLN	3.29
	Hydrogen-bonds	GLY	3.65
		ASN	1.92
		ALA	2.60
		GLN	2.32
		SER	2.20
		SER	2.03
		SER	2.94
		SER	2.84
			
Amox10-Is3r		Amox10-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox10-Is3r	Hydrophobic interactions	ARG	3.90
		PRO	3.89
	Hydrogen-bonds	GLY	2.32
		SER	1.81
		SER	3.32
		ALA	2.92
		GLN	2.00
		SER	2.18

			
Amox11-Is3r		Amox11-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox11-Is3r	Hydrophobic interactions	ARG	3.56
		VAL	3.94
	Hydrogen-bonds	ASN	2.90
		ARG	3.05
		LYS	2.25
		SER	3.04
		SER	2.42
		SER	3.24
PRO	2.34		
			
Amox12-Is3r		Amox12-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox12-Is3r	Hydrophobic interactions	TYR	3.64
		ARG	3.22
		PHE	3.23
		ALA	3.49

	Hydrogen-bonds	ARG	2.75
		ASN	2.21
		ASN	2.09
		SER	2.42
		GLN	3.15
		SER	3.23
		SER	3.05
		SER	3.43
		PRO	2.06
			
Amox13-Is3r		Amox13-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox13-Is3r	Hydrophobic interactions	PHE	3.91
		GLN	3.35
Amox13-Is3r	Hydrogen-bonds	ASN	1.90
		ALA	2.61
		GLN	2.35
		SER	2.23
		SER	2.06
		SER	3.18
		SER	3.27

Amox14-Is3r		Amox14-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox14-Is3r	Hydrophobic interactions	TYR	3.65
		ARG	3.25
		VAL	2.92
	Hydrogen-bonds	TYR	1.86
		GLY	1.86
		SER	2.69
		SER	1.96
		SER	2.19

Amox15-Is3r		Amox15-Is3r	
Adduct	Bond type	AA	Distance
Amox15-Is3r	Hydrophobic interactions	TYR	3.17
		GLN	3.69
	Hydrogen-bonds	TYR	2.87
		TYR	2.43
		SER	1.97

		SER	2.74
		SER	3.01