



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCCEN



THÈSE LMD

Présentée à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT

Spécialité : *Chimie*

Option : *Chimie Théorique et computationnelle*

Par :

M^{me} **BENSELAMA Wafa**

Sur le thème

Étude quanto-chimique, modélisation moléculaire et prédiction des propriétés pharmacocinétiques des médicaments antibiotiques

Soutenue publiquement le 16/11/2024 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr ZIANI CHERIF Chewki	Professeur	Université de Tlemcen	Président
M ^{me} BENCHOUK Wafaa	Professeur	Université de Tlemcen	Directrice de thèse
Mr TCHOUAR Noureddine	Professeur	U. S. T. Oran Mohamed Boudiaf	Examineur
M ^{me} ABDELLI Imene	Professeur	ESSA Tlemcen	Examinatrice
M ^{me} BELLIFA Khadidja	MCA	Université de Tlemcen	Examinatrice

*Laboratoire de Thermodynamique Appliquée et Modélisation Moléculaire (LATA2M), N° 53
BP 119, 13000 Tlemcen - Algérie*

*« Science sans conscience n'est que ruine de
l'âme »*

Francois Rabelais

*«It is the theory that decides what can be
observed»*

Albert Einstein

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents

A mon mari et à ma fille

A mes frères

A mes beaux-parents

A mes belles-sœurs

A mes nièces et neveux

A toute ma famille

A mes enseignants

A mes collègues

A mes chers ami(e)s

A tous ceux qui me sont chers

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse a été effectué au Laboratoire de Thermodynamique Appliquée et Modélisation Moléculaire LATA2M à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Je tiens à remercier la directrice Pr Latifa NEGADI pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire et permis de mener à terme ce travail.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance et toute ma gratitude, envers ma directrice de thèse Madame Wafaa BENCHOUK, Professeur à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour tous les efforts qu'elle a consentis tout au long de l'élaboration de ce travail. Je la remercie énormément pour la confiance et la liberté qu'elle m'a accordée ainsi que pour ses précieux conseils tant que scientifiques que techniques.

Je voudrais exprimer ma profonde et respectueuse gratitude à Monsieur Chewki ZIANI CHERIF, Professeur à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur Nouredine TCHOUAR, Professeur à l'Université UST-Oran Mohamed Boudiaf, pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

J'adresse mes vifs remerciements également à Madame Imène ABDELLI, Professeur à l'école Supérieure en Sciences Appliquées de Tlemcen et à madame Khadidja BELLIFA, Maître de conférences classe A à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant d'examiner notre travail.

Je voudrais aussi faire part de ma reconnaissance envers chacun des membres du laboratoire LATA2M et en particulier la section chimie théorique et computationnelle, chacun par son nom, pour leur sympathie et leur soutien ; qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude. Je voudrais exprimer ma profonde et respectueuse gratitude à Monsieur Sidi Mohamed MEKELLECHE, pour son soutien tout au long de cette expérience, ses connaissances pointues en chimie quantique et sa rigueur scientifique qui ont enrichi ce travail et m'ont permis d'approfondir mes recherches.

Je voudrais aussi remercier les responsables de l'Université de Tlemcen pour avoir mis à notre disposition la station de calculs HPC Altair, qui a été un outil précieux et déterminant dans la réalisation de nos études computationnelles.

Table des matières

Dédicaces.....	i
Remerciements	ii
Table des matières	iv
Liste des sigles et acronymes.....	X
INTRODUCTION GENERALE	01
Références bibliographiques.....	06
 CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES ANTIBIOTIQUES ET BACTERIES	
I. Généralité sur les bactéries	07
I.1. Définition.....	07
II.2. Les caractéristiques métaboliques et morphologiques des bactéries.....	07
II.3. Les différents types de bactéries.....	09
II.3.1. Escherichia coli.....	09
II.3.2. Staphylococcus aureus.....	10
II.3.3. Mycobacterium tuberculose.....	11
II. Généralité sur les antibiotiques	12
II.1. Définition.....	12
II.2. Historique.....	12
II.3. Principales méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques.....	14
II.4. Classification des antibiotiques.....	14
II.4.1. Structure chimique ou familles.....	14
II.4.2. Les mécanismes d'action.....	15
II.5. Les résistances chez les principales familles d'antibiotiques.....	16
II.5.1. Définition	16
II.5.2. Mécanismes de résistance.....	17
II.5.3. Des bactéries Gram + et Gram – résistantes	18
II.6. Les quinolones et Fluoroquinolones.....	19
II.6.1. Quinolones aux fluoroquinolones	19
II.6.2. Mécanisme d'action des fluoroquinolones.....	21

II.6.3. Résistance des fluoroquinolones	21
II.7. Ciprofloxacine.....	23
II.7.1. Paramètres pharmacocinétiques de la ciprofloxacine.....	24
II.7.2. Mécanisme d'action de la ciprofloxacine.....	25
II.7.3. Activité antibactérienne de la ciprofloxacine	26
II.7.4. Résistance à la ciprofloxacine	27
II.7.5. Bibliographie	28
Références bibliographiques	29

CHAPITRE II : METHODES DE CALCULS

INTRODUCTION.....	34
I. Les méthodes de la chimie quantique.....	35
I.1. Théorie de la fonctionnelle de densité (DFT).....	35
I.2. Bases d'orbitales atomiques	37
I.3. Indices de réactivité dérivants des concepts de la DFT (CDFT).....	39
I.3.1. Indices globaux dérivant de la DFT conceptuelle.....	39
a) Potentiel chimique électronique	39
b) Dureté globale.....	40
c) Indice d'électrophilie globale	40
d) Indice de nucléophilie globale	41
I.3.2. Indices locaux dérivant de la DFT conceptuelle.....	41
a) Electrophilie locale de Parr	42
b) Nucléophilie locale de Parr.....	42
I.4. Analyses NBO (Natural Bond Orbital).....	43
I.5. Potentiel électrostatique moléculaire MEP	44
II. Méthodes de modélisation moléculaire.....	46
II.1. Mécanique moléculaire	46
II.2. Dynamique moléculaire DM.....	48
II.2.1. Algorithmes.....	49
II.2.2. Ensemble thermodynamique.....	49
II.2.3. GROMACS	50

II.3. Docking moléculaire	51
II.3.1. Principe de docking moléculaire.....	51
II.3.2. Types du docking moléculaire.....	53
a) Docking rigide.....	53
b) Docking flexible.....	53
c) Docking semi-flexible.....	53
II.3.3. Fonctions Scoring.....	54
II.3.4. Autodock vina	54
II.3.5. Interactions non-covalentes protéine-ligand.....	55
a) Interaction électrostatique.....	55
b) Liaison hydrogène.....	56
c) Interaction de Van der Waals.....	56
d) Interactions hydrophobes.....	57
e) Liaison Halogène.....	58
II.4. Propriétés pharmacocinétique ADMET.....	58
II.4.1. Propriétés ADMET.....	59
1. Absorption.....	59
2. Distribution.....	60
3. Métabolisme.....	60
4. Elimination.....	61
5. Toxicité.....	61
II.4.2. ADMET in silico.....	62
II.4.3. Outil ADMETlab.....	63
Références bibliographiques	67

CHAPITRE III : APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Objectifs.....	74
II. Matériels et méthodes	78
II.1. Matériels	78
II.2. Méthodes	79
1) Calculs quanto-chimique	79
2) Prédiction ADMET.....	80

3) Docking moléculaire	80
4) Simulation dynamique moléculaire.....	81
III. Préparation des structures.....	82
1) Structure expérimentale du médicament ciprofloxacine.....	82
2) Structure expérimentale des trois enzymes.....	82
IV. Conception des analogues du Cip-A et Cip-B.....	84
V. Résultats et discussion.....	90
V.1. Optimisation des géométries.....	90
V.2. Prédiction ADMET.....	92
V.3. Calculs de docking moléculaire.....	94
V.4. Simulation dynamique moléculaire.....	103
V.4.1. Analyse du RMSD.....	103
V.4.2. Analyse du RMSF.....	106
V.4.3. Rayon de giration	108
V.5. L'analyse (NBO).....	108
V.6. Analyse de la réactivité globale et locale	110
V.6.1. Les indice de réactivités globaux	110
V.6.1. Les indice de réactivités locaux	111
V.7. Analyse du potentiel électrostatique moléculaire.....	113
VI. Conclusion.....	115
Références bibliographiques	117
CONCLUSION GENERALE.....	122

Liste des sigles et acronymes

ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité
AMBER	Assisted Model Building and Energy Refinement
ANNs	Artificial Neural Networks
B3LYP	Becke 3-Parameter Lee-Yang-Parr
BBB	The blood–Brain-Barrier
BD	Binding pair
BE	Binding Energy
Caco-2	Human colon adenocarcinoma
CDFT	Conceptual density functional theory
CHARMM	Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics
CLOA	Linear Combination of Atomic Orbitals
CMB	Minimum Bactericidal Concentration
CMI	Minimum Inhibitory Concentration
CR	Core Pair
CYP	Cytochromes P
DRX	X-ray Diffraction
DFT	Density Functional Theory
DM	Molecular Dynamics
E.COLI	Escherichia coli
FF	Force Field
GTO	Gaussian Type Orbital
GROMOS	GRoningen MOlecular Simulation
hERG	Human Ether-a-go-go-related Gene
HIA	Human intestinal absorption
HF	Hartree-Fock
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
k-NN	k-nearest neighbor
LDA	Local Density Approximation
LD50	Median Lethal Dose
LH	Hydrogen Bonding
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
LYP	Lee-Yang-Parr
LP	Lone pair

Liste des sigles et acronymes

MEP	Molecular electrostatic potential
MM	Molecular mechanics
MMFF	Merck Molecular Force Field
NAO	Natural Atomic Orbitals
NBO	Analysis of Natural Bonding Orbitals
NHO	Hybrid Natural Orbitals
NVT	Canonical Ensemble
NPT	Isothermal-Isobaric Ensemble
OA	Atomic Orbital
OM	Molecular Orbital
PDB	Protein Data Bank
PPB	Plasma Protein Binding
PK	Pharmacokinetics
QM	Quantum Chemistry
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship
RF	Random Forest
R_g	Radius of gyration
RMSD	Root mean square deviation
RMSF	Root mean square fluctuation
SVM	Support Vector Machines
S.AUREUS	Staphylococcus aureus
STO	Orbital Type Slater
TCE	Tétracyano-éthylène
TMK	Thymidylate Kinase
VDW	Van Der Waals

INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale

La découverte de médicaments est un processus rigoureux et systématique visant à identifier des composés chimiques présentant des propriétés thérapeutiques pour traiter des maladies. Ce processus comprend plusieurs étapes clés : l'identification des candidats-médicaments, leur synthèse, leur caractérisation, leur criblage, ainsi que des tests pour évaluer leur efficacité thérapeutique. Lorsqu'une molécule obtient des résultats prometteurs, elle entre dans la phase de développement, incluant les essais cliniques. Ces étapes sont essentielles pour garantir la sécurité, l'efficacité et la conformité réglementaire des médicaments avant leur mise sur le marché [1-3].

Le développement de nouveaux médicaments est également marqué par sa durée et son coût. Il faut en moyenne 12 à 15 ans pour qu'un composé soit disponible pour les patients, avec des coûts de recherche et développement estimés entre 900 millions et 2 milliards de dollars par médicament. Ces dépenses incluent les échecs fréquents : sur 5 000 à 10 000 composés étudiés, un seul aboutit à une autorisation de mise sur le marché. Cette complexité illustre l'importance de cibler avec précision les mécanismes biologiques et souligne les défis liés au développement de traitements sûrs et efficaces [2,3].

La complexité et les coûts élevés associés au développement de médicaments ont conduit l'industrie pharmaceutique à adopter des approches plus rapides, économiques et prédictives pour accélérer le processus de recherche et développement. Les méthodes *in silico*, en particulier. L'intégration des techniques *in silico* dans la découverte de médicaments et la recherche pharmaceutique est devenue essentielle et incontournable. Ces approches de modélisation moléculaire, comme la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et la chimie quantique offrent une visualisation précise des configurations tridimensionnelles des molécules, permettant ainsi d'évaluer diverses propriétés physico-chimiques, les interactions intermoléculaires, les caractéristiques physico-chimiques et la réactivité des molécules [1].

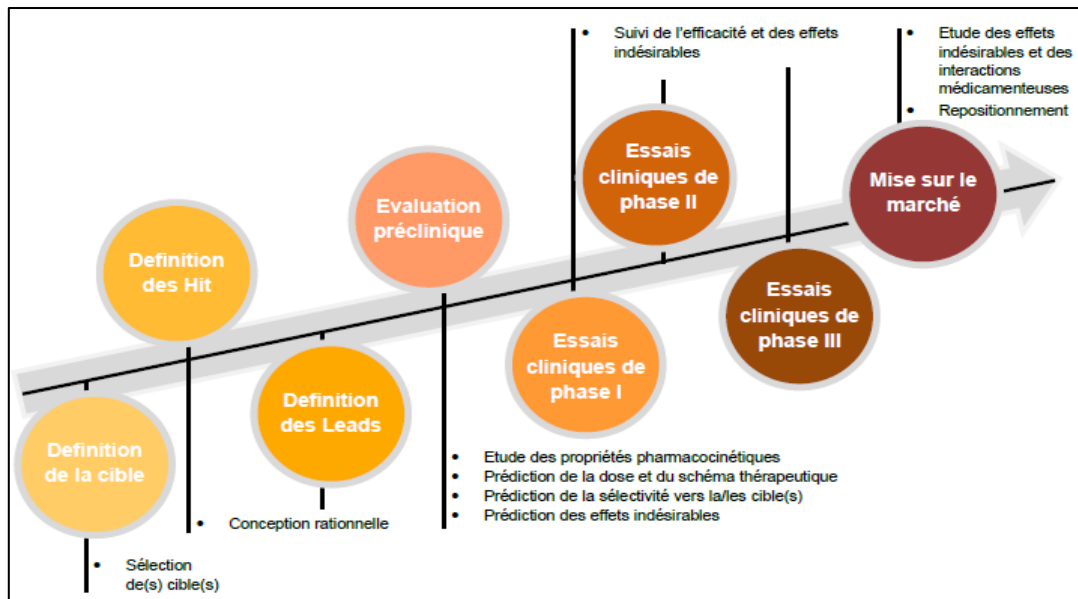


Figure 1 : Application des méthodes *in silico* dans la recherche et développement d'un médicament [1].

L'émergence de ces méthodes dans le secteur pharmaceutique remonte à la seconde moitié du XXe siècle. À cette époque, les scientifiques ont commencé à explorer la corrélation entre la structure chimique des composés et leurs propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques à l'aide d'outils informatiques avancés [4]. Depuis lors, des avancées considérables ont été réalisées dans des disciplines connexes comme la biologie structurale (par exemple, cristallographie aux rayons X et résonance magnétique nucléaire), la biologie moléculaire et la bio-informatique. Grâce à ces progrès, les chercheurs disposent maintenant d'immenses bases de données contenant les structures tridimensionnelles de plus de 100 000 protéines et autres biomolécules. Parallèlement, l'évolution rapide des infrastructures informatiques au cours des deux dernières décennies a ouvert de nouvelles perspectives passionnantes pour l'application des méthodes *in silico*. Ces avancées ont été cruciales pour la recherche et le développement de nouveaux médicaments, et sont devenues des outils essentiels pour l'industrie pharmaceutique ainsi que pour les institutions académiques [1]. En effet, les méthodes *in silico* ont gagné en importance dans la recherche pharmaceutique, devenant presque indispensables lors des premières étapes du processus de développement de médicaments, comme illustré dans la Figure 1 [5].

Introduction Générale

La pandémie mondiale de Covid-19, provoquée par le virus SARS-CoV-2, a intensifié la nécessité d'accélérer le développement de nouveaux médicaments, d'antiviraux et de vaccins pour répondre aux défis sanitaires urgents [6,7]. Cette urgence a amplifié l'adoption des techniques *in silico* dans la recherche médicale, notamment pour le développement rapide d'antiviraux et de traitements de soutien. Des approches telles que le docking moléculaire, la dynamique moléculaire, la modélisation de protéines par homologie (*homologye modeling*) et l'apprentissage automatique ont été rapidement mobilisées pour repositionner efficacement des médicaments déjà commercialisés, ouvrant la voie à de nouvelles solutions thérapeutiques potentielles contre le virus [8].

Par ailleurs, ces techniques ont contribué à l'identification de médicaments qui ont révolutionné le monde médical, tels que le ritonavir, le saquinavir, l'amprenavir et l'indinavir, ont transformé la prise en charge du VIH [9,10]. D'autres médicaments clés, comme le captopril, la norfloxacin, l'isoniazide, le dorzolamide et le flubiprofène, ont également émergé grâce à ces avancées, soulignant l'importance des méthodes *in silico* dans l'innovation thérapeutique et le progrès médical [9].

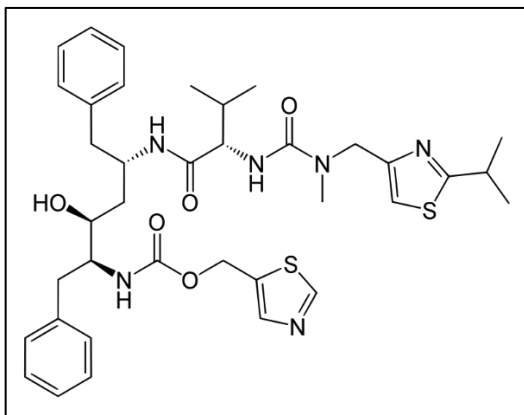


Figure 2 : structure de ritonavir

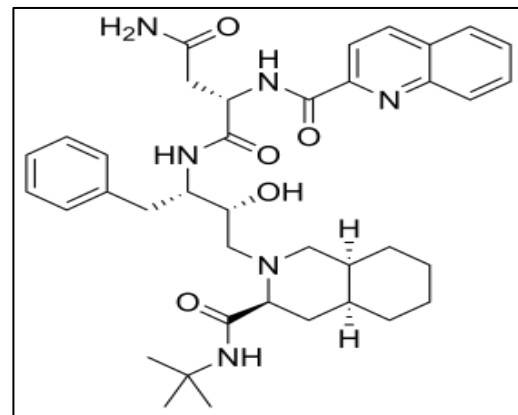


Figure 3 : structure de saquinavir

Une application essentielle de ces méthodes est l'analyse des propriétés pharmacocinétiques des médicaments, couvrant les étapes d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME). Ces méthodes sont employées à la fois lors des phases d'évaluation préclinique et post-commercialisation d'un médicament, afin d'analyser leurs effets indésirables potentiels et leurs interactions médicamenteuses éventuelles. Ainsi, les

méthodes *in silico* se positionnent comme des outils précieux pour optimiser la recherche médicamenteuse et améliorer la sécurité et l'efficacité des traitements [11].

L'axe principal de cette thèse se situe dans le domaine de la découverte de médicaments, plus spécifiquement dans la recherche de nouveaux antibiotiques à partir d'un médicament très connu : la ciprofloxacine. Cette quête est cruciale face aux défis majeurs actuels de la santé publique et de la recherche médicale, notamment en raison de la montée alarmante de bactéries résistantes aux traitements antibiotiques.

Les antibiotiques ont largement contribué à la réduction de la mortalité liée aux maladies infectieuses. Cependant, leur utilisation intensive et récurrente a favorisé l'apparition de souches bactériennes résistantes à plusieurs antibiotiques. Cette résistance croissante constitue aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique, comme le souligne l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [12]. La ciprofloxacine, un antibiotique de la classe des fluoroquinolones, agit en éliminant les bactéries responsables d'infections. Elle se montre efficace contre certaines souches spécifiques, incluant un large éventail de bactéries à Gram positif et Gram négatif, telles que *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, les *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonas aeruginosa* [13].

L'objectif de la recherche exposée dans cette thèse est de conduire une étude computationnelle visant,

- i) En premier, à concevoir de nouveaux pharmacophore dérivés de la molécule ciprofloxacine avec des structures optimisées. De plus, l'évaluation des propriétés électroniques et la compréhension de la réactivité des divers analogues ont été effectuées en utilisant des méthodes fondées sur la chimie quantique.
- ii) Deuxièmement, à estimer les paramètres pharmacocinétiques ADMET pour tous les candidats afin de décrire le comportement des molécules au sein du corps humain.
- iii) Troisièmement, à étudier l'énergie de liaison et de prédire le mode d'interaction entre les divers analogues de ciprofloxacine et les résidus d'acides aminés des protéines réceptrices, en utilisant le docking moléculaire. Par la suite, une étude de simulation de dynamique moléculaire sera réalisée pour examiner la stabilité des principaux complexes formés entre les protéines et les inhibiteurs.

Cette thèse est décomposée en trois chapitres :

Introduction Générale

- Le premier chapitre abordera la description des antibiotiques, en mettant l'accent sur les principales familles d'antibiotiques, leurs mécanismes d'action, leur spectre d'activité et les mécanismes de résistance auxquels ils peuvent faire face. De plus, une introduction générale sur les bactéries sera incluse pour offrir un contexte complet à la compréhension des interactions entre antibiotiques et micro-organismes.
- Le deuxième chapitre se concentrera sur les différentes méthodes de calcul employées dans le cadre de ce travail. Nous explorerons les méthodes basées sur la chimie quantique, les simulations de docking moléculaire, les simulations de dynamique moléculaire, ainsi que les paramètres ADMET qui détaillent la pharmacocinétique d'un médicament. Ce chapitre détaillera comment ces techniques peuvent orienter la conception de molécules ayant potentiellement une meilleure affinité envers une cible spécifique.
- Le dernier chapitre se focalisera sur l'application des divers outils de calcul et sur l'analyse ainsi que l'interprétation des résultats issus des études de modélisation moléculaire. À partir de cette analyse, nous serons en mesure de suggérer des structures potentiellement prometteuses à développer en tant qu'analogues de la ciprofloxacine.

Le manuscrit de cette thèse est finalisé par la présentation des conclusions les plus importantes ainsi que les perspectives que l'on envisage de réaliser.

Références bibliographiques

- [1] Pachoulide, C." In Silico Methods Applied in Pharmaceutical Research : An Example of Use for the Post-Authorization Pharmacokinetics Study of β -Blockers Used for the Treatment of Glaucoma".These de doctorat, Université de Limoges, **2021**.
- [2] Pravinkumar, D.; Jayendrakumar, P; Binit, P.; Viratkumar, K. ; Praneeth I, J, F.; Seshadri, N. Comprehensive Review on Drug Discovery and Development Process. JCHR, **2024**, 14, 2558-2565
- [3] Deore, AB; Dhumane, JR,; Wagh, HV; Sonawane, RB. The Stages of Drug Discovery and Development Process. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. **2019**, 7, 62-67. <http://dx.doi.org/10.22270/ajprd.v7i6.61>
- [4] Ekins, S.; Mestres, J.; Testa, B. In Silico Pharmacology for Drug Discovery: Methods for Virtual Ligand Screening and Profiling. *Br J Pharmacol*, **2007**, 152 (1), 9–20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>.
- [5] Lagarde, N. "Méthodes de Criblage Virtuel in Silico : Importance de l'évaluation et Application à La Recherche de Nouveaux Inhibiteurs de l'interleukine 6". These de doctorat, Paris, CNAM, **2014**.
- [6] Sumon, T. A.; Hussain, M. A.; Hasan, M. T.; Hasan, M.; Jang, W. J.; Bhuiya, E. H.; Chowdhury, A. A. M.; Sharifuzzaman, S. M.; Brown, C. L.; Kwon, H.-J.; et al. A Revisit to the Research Updates of Drugs, Vaccines, and Bioinformatics Approaches in Combating COVID-19 Pandemic. *Front Mol Biosci*, **2020**, 7, 585899. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.585899>.
- [7] Hwang, W.; Lei, W.; Katritsis, N. M.; MacMahon, M.; Chapman, K.; Han, N. Current and Prospective Computational Approaches and Challenges for Developing COVID-19 Vaccines. *Adv Drug Deliv Rev*, **2021**, 172, 249–274. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.02.004>.
- [8] Coronavirus disease (COVID-19): Vaccines and vaccine safety [https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-\(covid-19\)-vaccines](https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-(covid-19)-vaccines).
- [9] Batool, M.; Ahmad, B.; Choi, S. A Structure-Based Drug Discovery Paradigm. *Int J Mol Sci*, **2019**, 20 (11), 2783. <https://doi.org/10.3390/ijms20112783>.
- [10] Śledź, P.; Caflisch, A. Protein Structure-Based Drug Design: From Docking to Molecular Dynamics. *Current Opinion in Structural Biology*, **2018**, 48, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.10.010>.
- [11] BERG, J.; TYMOCZKO, J; STRYER, L; " Biochimie"; 7eme édition, **2013**, ISBN:978-2-257-20427-1.
- [12] Jacry, C. "Découverte de nouvelles molécules antibiotiques et caractérisation de leurs modes d'action"; Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay, **2021**.
- [13] Diane K. Terp; Michael J. Rybak. CIPROFLOXACIN. *Drug Intell Clin Pharm*, **1987**, 21, 568 <https://doi.org/10.1177/1060028087021007-801>

Publication de la thèse

La publication liée à cette thèse est :

Publication

Auteurs: Wafa BENSELAMA and Wafaa BENCHOUK

Intitulé : “*In silico design based on quantum chemical, molecular docking studies and ADMET predictions of ciprofloxacin derivatives as novel potential antibacterial and antimicrobacterium agents*”

Revue: Wafa Benselama & Wafaa Benchouk, Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 42 (15), 7650-7666, **2023**.

Link: <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2240906>

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES BACTERIES ET LES ANTIBIOTIQUES

Partie I : Généralité sur les Bactéries

I.1. Définition

Les bactéries, mises au jour à la fin du 17ème siècle par le scientifique hollandais Anthoni Van Leeuwenhoek grâce à l'invention du premier microscope suffisamment puissant pour les observer sont des micro-organismes unicellulaires de taille minuscule. Constituées d'une unique cellule, elles sont catégorisées parmi les organismes procaryotes, caractérisés par l'absence de noyau. Leur matériel génétique se trouve dans le cytoplasme sous la forme d'un unique chromosome circulaire. Le cytoplasme abrite également d'autres composants, tels que les ribosomes, indispensables à la synthèse des protéines, ainsi que des organites impliqués dans divers processus métaboliques [1].

Historiquement, les bactéries ont souvent été perçues comme des agents pathogènes responsables de diverses maladies. Cependant, il est crucial de souligner que toutes les bactéries ne sont pas synonymes de maladies. En réalité, le corps humain est constamment colonisé par de nombreuses bactéries qui s'installent dans l'organisme, principalement sur la peau ou les muqueuses, sans déclencher de maladies. Cela s'applique également au système digestif, où le microbiote intestinal, composé d'environ mille milliards de bactéries, joue un rôle essentiel dans les processus de digestion et de défense de l'organisme. Certaines de ces bactéries sont utilisées dans l'alimentation ou incorporées dans des médicaments pour rétablir l'équilibre du microbiote, favoriser une fonction digestive normale et maintenir la santé globale de l'organisme. Ainsi, les bactéries ne sont pas uniquement perçues comme des agents pathogènes, mais sont également essentielles au bon fonctionnement du corps humain[2].

I.2. Caractéristiques métaboliques et morphologiques des bactéries

Chaque espèce bactérienne se distingue par des caractéristiques métaboliques et morphologiques, elles sont classées de différentes manières [3,4]:

- ✓ **Noms scientifiques** : Les bactéries, tout comme les autres organismes vivants, sont classées selon leur genre, déterminé par la présence de caractéristiques communes, et à l'intérieur de ce genre, en espèces. Le nom scientifique est une combinaison du genre suivi de l'espèce, par exemple, *Clostridium botulinum*. Au sein d'une espèce, on peut trouver

différentes souches, caractérisées par des variations dans leur matériel génétique et leurs composants chimiques. Certaines souches peuvent réagir de manière spécifique à certains médicaments et vaccins. En ce qui concerne la nomenclature, le premier mot en italique avec une majuscule correspond au genre, tandis que le deuxième en italique et en minuscule correspond à l'espèce. Des exemples incluent *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

- ✓ **Coloration** : La classification des bactéries peut être effectuée en fonction de leur réaction à certains colorants chimiques, un processus connu sous le nom de coloration. La **coloration de Gram**, largement utilisée, distingue les bactéries en les colorants en violet (**Gram positives**) ou en rose (**Gram négatives**) suite à un traitement spécifique. Cette différence de coloration découle de variations au niveau de leurs parois cellulaires, qui influent également sur leurs propriétés pathogènes et leur sensibilité à différents antibiotiques. Une mauvaise coloration peut conduire à des erreurs d'identification bactérienne ou à une mauvaise orientation de diagnostic. Outre la coloration de Gram, de nombreuses autres techniques de coloration existent, permettant une diversité d'approches pour caractériser les bactéries.

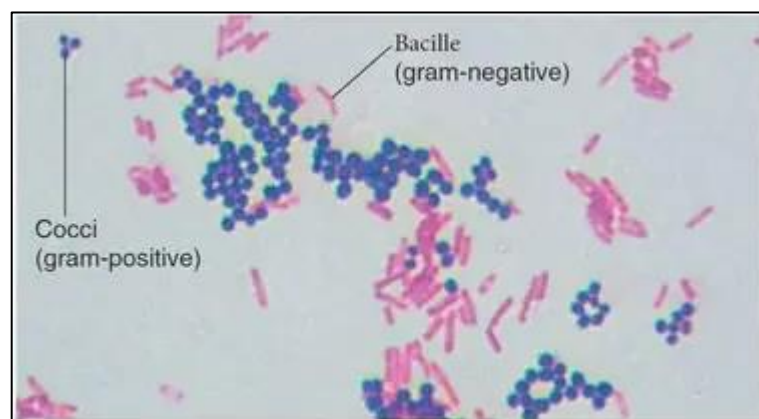


Figure 1 : Des bactéries à Gram – et des bactéries à Gram +

- ✓ **Formes** : Les bactéries peuvent être classées en fonction de leur forme, qui se décline généralement en trois catégories fondamentales : sphérique (coques), en bâtonnets (bacilles) et en spirale ou hélice (spirochètes). Les cocci se caractérisent souvent par leur aspect court et sphérique, tandis que les bacilles adoptent une forme allongée de bâtonnet. Certaines bactéries peuvent également présenter des courbures ou des spirales.

- ✓ **Besoin en oxygène** : En dernier lieu, les bactéries peuvent être catégorisées en fonction de leurs exigences en oxygène pour leur survie, donnant lieu à des classifications telles que les bactéries aérobies, anaérobies, microaérophiles, capnophiles, et aéro-anaérobies.

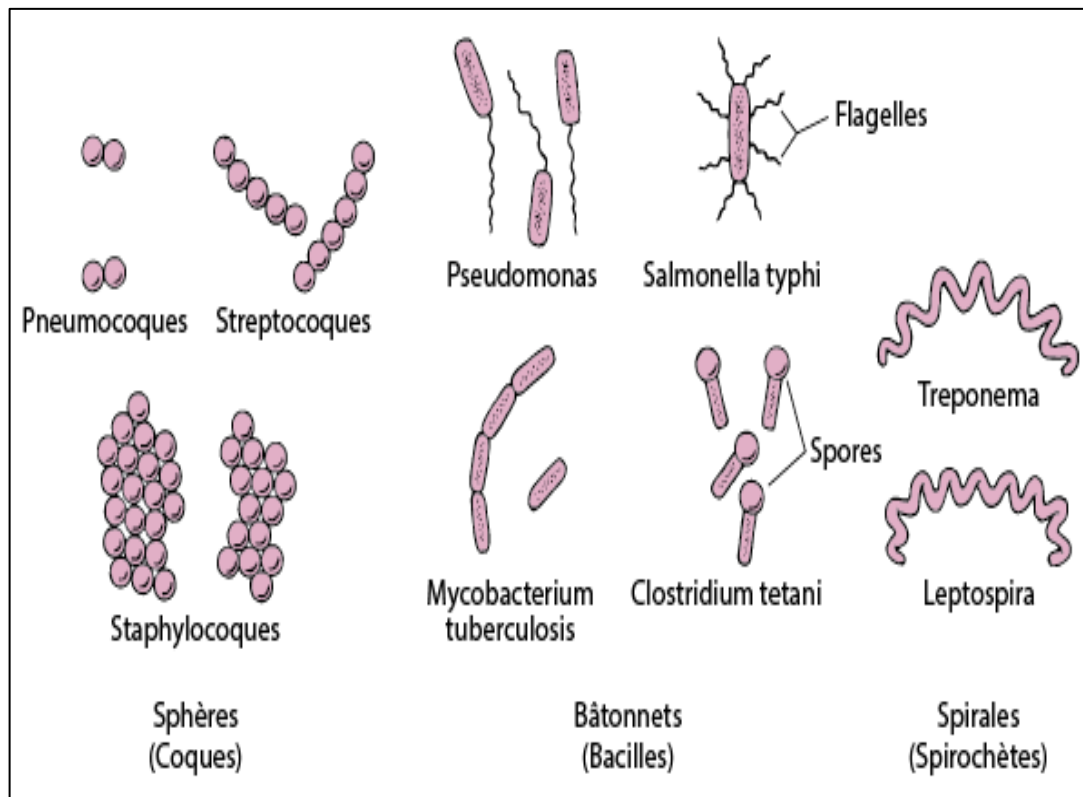


Figure 2 : Représentation des différentes formes bactériennes (Brian J. Werth , PharmD, University of Washington School of Pharmacy) .

I.3. Différents types de bactéries

Les bactéries représentent une vaste gamme d'organismes microscopiques qui se trouvent dans une multitude d'environnements. Leur diversité est immense, avec des milliers d'espèces présentant une grande variété de caractéristiques. Voici quelques exemples illustrant cette diversité bactérienne.

I.3.1. *Escherichia coli* [5]

Escherichia coli, ou *E. coli*, sont des bacilles à Gram négatif de la famille des entérobactéries, représentant environ 80% de la flore aérobie facultative intestinale chez les animaux à sang chaud. La plupart des *Escherichia coli* sont inoffensifs et ont une fonction utile dans le corps en arrêtant la croissance des espèces bactériennes nuisibles et en synthétisant

des vitamines nécessaires (vitamines K), qui aide à la coagulation sanguine. Cependant, elle peut aussi manifester un caractère pathogène et est liée à diverses affections, notamment des diarrhées, gastro-entérites, infections urinaires, méningites et septicémies, tant chez l'homme que chez l'animal. La transmission de cette bactérie s'effectue par contact direct ou via des contaminations fécales.



Figure 3 : Structure d'Escherichia coli

1.3.2. Staphylococcus aureus [6]

Staphylococcus aureus, souvent abrégé en S. aureus ou staphylocoque doré, est une bactérie à Gram positif qui fait partie de la famille des Staphylococcaceae. Il constitue l'espèce la plus pathogène au sein du genre staphylocoque. Entre 15 et 30% des individus sont porteurs sains de S. aureus, ce qui en fait un pathogène opportuniste dans certaines situations. Cependant, provoquer diverses infections, allant des infections cutanées mineures aux infections plus graves, telles que panaris ou furoncles, d'otites, de sinusites, ainsi que d'intoxications alimentaires les infections sanguines (bactériémies) et les pneumonies. Staphylococcus aureus est connu pour sa capacité à produire des toxines et à développer une résistance aux antibiotiques, ce qui en fait parfois un agent pathogène difficile à traiter. La transmission de S. aureus ne s'effectue de personne à personne par contact direct ou à travers une source environnementale.

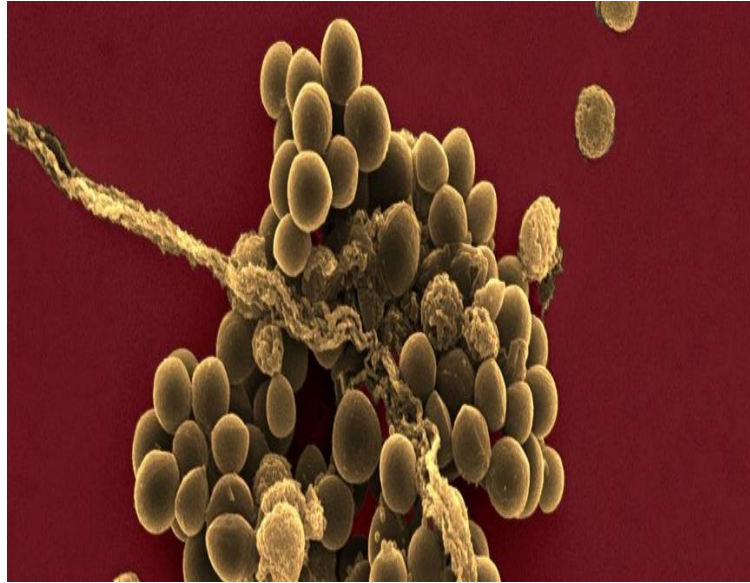


Figure 4: Structure de *Staphylococcus aureus*

I.3.3. *Mycobactérie tuberculose* [7]

Mycobactérie tuberculose, également connu sous le nom de bacille de Koch en hommage à son découvreur Robert Koch, est une espèce de bacille appartenant à la famille des *Mycobacteriaceae*. Bien que sa structure présente des similitudes avec les bactéries à Gram positif, il est difficile d'appliquer la coloration de Gram de manière pratique sur cette bactérie. *M. tuberculose* est l'espèce représentative du genre *Mycobactérie* et l'agent pathogène responsable de la tuberculose chez les humains. La mise en évidence de *Mycobactérie tuberculose* par Robert Koch en 1882 est reconnue comme l'un des accomplissements majeurs de la carrière de ce bactériologiste allemand. Cette découverte lui a valu le prix Nobel de physiologie ou médecine en 1905 et a contribué à son immense renommée internationale.



Figure 5: Structure de *Mycobacterium tuberculose*

II. Généralités sur les antibiotiques

II.1. Définition

Le terme "antibiotique" dérive du grec, où "bios" signifie la vie et "anti" signifie contre. En 1947, S. A. Waksman définit le terme « antibiotique » comme suit : « un antibiotique est une substance chimique produite par des micro-organismes, qui a la capacité d'inhiber la croissance et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes » [8]. Aujourd'hui, « antibiotique » a plusieurs significations : (I) toute substance antimicrobienne; ou, (II) un produit chimique organique d'origine naturelle ou d'origine synthétique qui inhibe ou tue les bactéries pathogènes à des concentrations faibles, tout en présentant une toxicité sélective" [2]. La notion de toxicité sélective indique que cette toxicité est spécifiquement dirigée contre les bactéries et que la molécule antibiotique n'affecte pas l'organisme hôte infecté, du moins aux doses utilisées dans le traitement. De manière plus globale, un antibiotique est une substance ayant des propriétés antibactériennes. Il se distingue de l'antiseptique, dont l'objectif est de détruire divers micro-organismes tels que les bactéries, les virus et les champignons, de manière non spécifique, à des concentrations élevées, et son utilisation est limitée à un usage externe [2].

Il est important de noter que les antibiotiques ne sont pas efficaces contre les virus. Pour agir contre les virus, on utilise des substances appelées antiviraux.

II.2. Historique

Depuis l'antiquité, l'emploi empirique de moisissures pour traiter des infections était observé, comme en Chine où l'on utilisait des peaux de fruits moisies pour soigner les panaris. Cependant, le véritable tournant dans cette histoire a eu lieu avec l'avènement de la théorie des germes, suivie de près par l'influence de la théorie de l'évolution. Ces avancées ont marqué le début officiel de l'ère des agents antibactériens, désormais connus sous le nom d'antibiotiques [9]. Le tout premier antibiotique, la pénicilline, a été découvert en 1928 par le médecin, biologiste et pharmacologue britannique Alexander Fleming. Sa découverte fortuite révéla que des substances produites par le champignon *Penicillium notatum* avaient la capacité d'inhiber la croissance bactérienne. Il fallut attendre jusqu'en 1932 pour voir le

Chapitre I : Généralités sur les bactéries et les antibiotiques

premier antibiotique commercialisé sur le marché, le Prontosil [10], un sulfamide développé par les laboratoires Bayer pour lutter contre certaines infections à streptocoque.

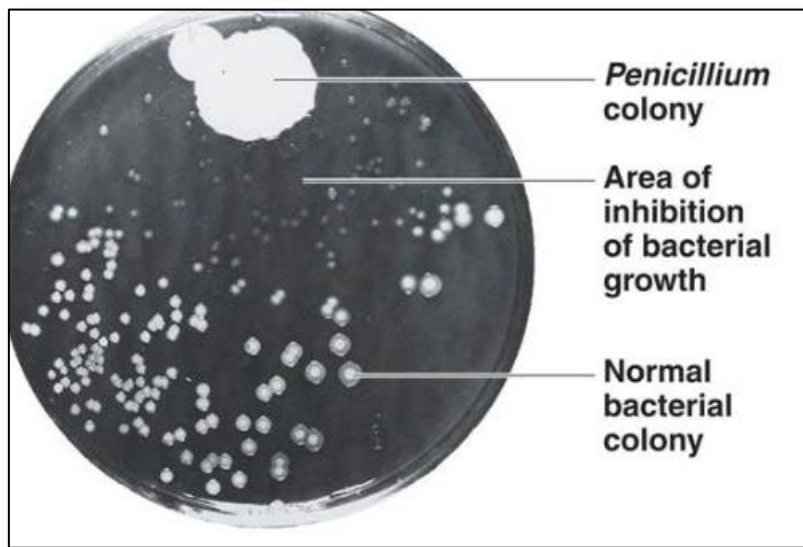


Figure 6 : production de pénicilline

À la fin de la Seconde Guerre mondiale, la pénicilline a commencé à être produite industriellement, marquant le début de son utilisation à grande échelle. Par la suite, de nombreuses molécules issues de micro-organismes, comme les bactéries et les champignons, ont été mises au point. En 1944, Selman A. Waksman, Albert Schatz et E. Bugie découvrent la streptomycine, le premier antibiotique ayant un effet sur le bacille de Koch, rendant ainsi possible le traitement de la tuberculose.

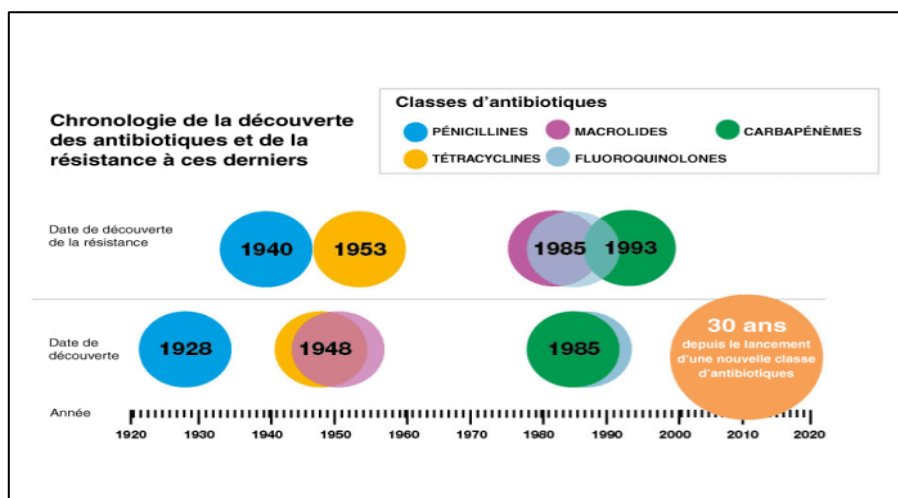


Figure 7: Quelques grandes découvertes d'antibiotique entre 1940 et 2010

II.3. Principales méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques

L'activité des antibiotiques se définit par leur capacité à entraver la croissance ou à éliminer les micro-organismes visés, généralement des bactéries. Les méthodes fondamentales pour évaluer cette activité incluent des mesures telles que la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB), qui permettent d'évaluer l'efficacité des antibiotiques contre les micro-organismes ciblés [2].

- ✚ **Concentration minimale inhibitrice (CMI)** : La CMI est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique. Elle est souvent déterminée en réalisant des tests de dilution en série de l'antibiotique.
- ✚ **Concentration minimale bactéricide (CMB)** : La CMB est la plus basse concentration d'antibiotique laissant 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique.

II.4. Classification des Antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés en fonction de plusieurs critères

II.4.1. Structure chimique ou familles [11]

On distingue cinq classes principales d'antibiotiques pour certaines divisées en sous classes :

- ✚ **Les bêta-lactames** comprenant les pénicillines des groupes G/V, M, A, les carboxypénicillines, les uréidopénicillines et les amidinopénicillines, les carbapénèmes, un monobactam et les céphalosporines
- ✚ **Les aminosides**
- ✚ **Les macrolides et apparentés**
- ✚ **Les quinolones et fluoroquinolones**
- ✚ **Les cyclines**
- ✚ **Les glycopeptides**
- ✚ **Les quinoléines**

En dehors de ces cinq classes, on retrouve aussi [11] :

La fosfomycine, les polymyxines, les phénicols, l'acide fusidique, les oxazolidinones, la mupirocine, les sulfamides et triméthoprine, les produits nitrés et les antituberculeux.

II.4.2. Les mécanismes d'action

Les antibiotiques agissent selon divers mécanismes, notamment l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, la diminution de la perméabilité de la membrane cellulaire, ainsi que la perturbation de la synthèse protéique, du métabolisme des acides nucléiques et d'autres processus métaboliques.

➤ Antibiotiques agissant sur la paroi

Les antibiotiques agissant sur la paroi cellulaire des bactéries sont des médicaments qui ciblent spécifiquement la structure externe des cellules bactériennes. Cette catégorie d'antibiotiques comprend notamment les β -lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine [12,13].

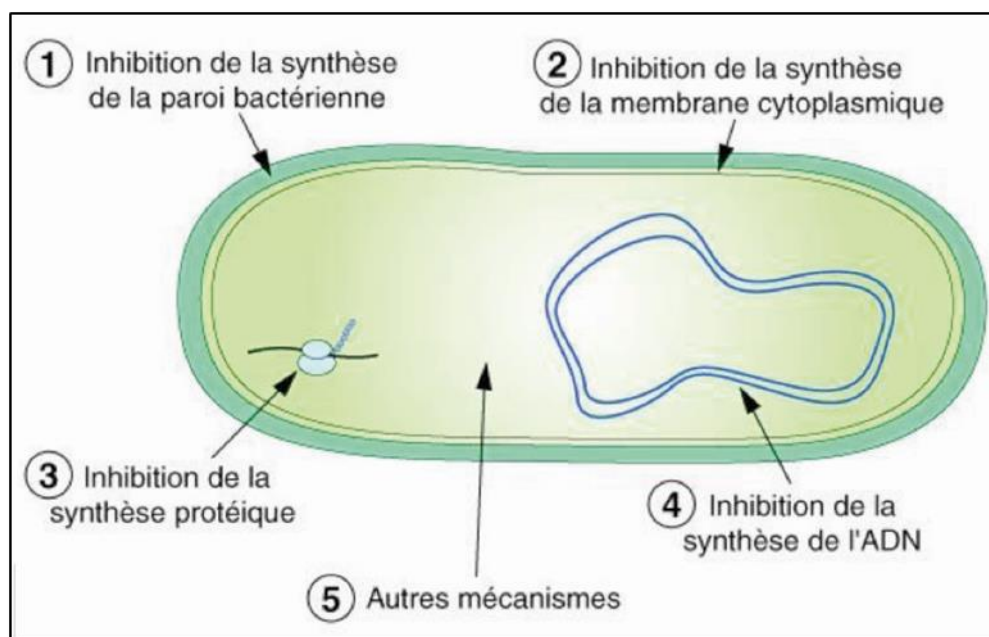


Figure 8 : Différents types de mécanisme d'action des antibiotiques

➤ Antibiotiques actifs sur la membrane

Les antibiotiques actifs sur la membrane cellulaire des bactéries sont des médicaments qui perturbent la structure et la fonction de la membrane externe des cellules bactériennes. Cette classe d'antibiotiques inclut en particulier les polymyxines et la daptomycine [13].

➤ Antibiotiques actifs sur la synthèse des protéines

Les antibiotiques actifs sur la synthèse protéique ciblent principalement le ribosome, un complexe composé de protéines et d'ARN, qui joue un rôle essentiel dans la fabrication des protéines par décodage de l'ARN messager. Tel que les aminosides, la tétracycline les macrolides et apparentés[12,14].

➤ **Antibiotiques actifs sur la synthèse des acides nucléiques**

Dans le processus de synthèse de l'ADN, les complexes enzymatiques, tels que les topoisomérases de type II (ADN gyrase et topoisomérase IV), jouent un rôle crucial. Parmi les familles qui ont ce mécanisme on site : Les quinolones et fluoroquinolones et la rifampicine [12,15].

Le choix de l'antibiotique dépend de plusieurs facteurs, y compris le type d'infection, le microorganisme responsable, la sensibilité de ce microorganisme à différents antibiotiques, ainsi que les caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques qui conditionnent leur mode d'emploi et leur fréquence d'utilisation. Certains antibiotiques sont spécifiquement formulés pour se concentrer dans les urines, ce qui les rend particulièrement efficaces dans le traitement des infections urinaires. Cette propriété influence la voie d'administration choisie. Par exemple, les aminosides ne sont pas absorbés au niveau de l'intestin, rendant leur prise par voie orale inefficace. De plus, des formulations locales telles que les collyres, les solutions auriculaires ou nasales, ainsi que les pommades contenant des antibiotiques, peuvent parfois suffire à traiter certaines infections, en assurant une concentration élevée du médicament directement à l'endroit de l'infection.

II.5. Résistance chez les principales familles d'antibiotiques

II. 5.1. Définition

La résistance aux antibiotiques, un phénomène observé principalement chez les bactéries plutôt que chez les êtres humains ou les animaux, complique considérablement le traitement des infections, un nombre croissant d'infections, comme la pneumonie, la tuberculose ou la gonorrhée, la salmonellose, deviennent plus difficiles à traiter les antibiotiques utilisés pour les soigner perdant leur efficacité [16]. On considère qu'un micro-organisme est "résistant" lorsque sa concentration minimale inhibitrice est plus élevée que celle nécessaire pour inhiber le développement de la plupart des autres souches de la même

espèce. En d'autres termes, une souche est qualifiée de "résistante" lorsque sa capacité à tolérer une concentration d'antibiotique dépasse celle qui peut être atteinte in vivo à la suite d'un traitement [17].

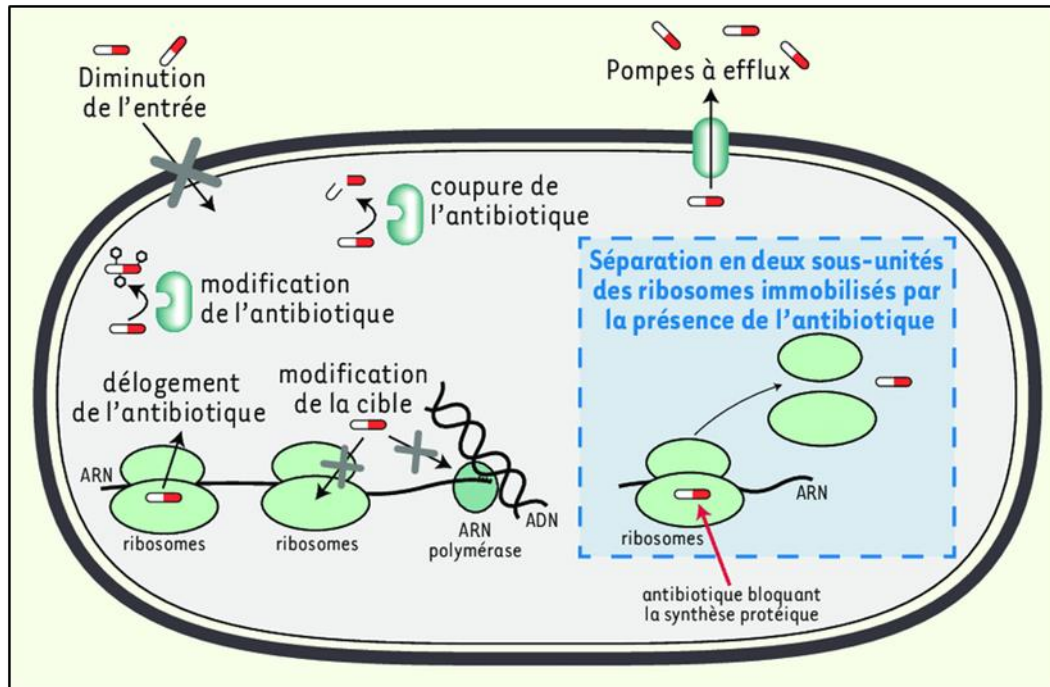


Figure 9 : Différents types de résistance aux antibiotiques

II.5.2. Mécanismes de résistance

Les bactéries déploient divers mécanismes de résistance, dont les principaux incluent la capacité de l'organisme à expulser l'antibiotique ou à bloquer son entrée, à le dégrader ou le modifier pour le rendre inactif, à le déloger ou à altérer la machinerie cible pour l'empêcher d'agir. En somme, il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent leur résistance [18-21].

- **Modification ou mutation de la cible** : La cible de l'antibiotique (paroi, ribosome, etc.) subit une mutation ou une modification chimique (comme une méthylation) qui empêche l'antibiotique de s'y fixer efficacement.
- **Surexpression de la cible** : La bactérie produit une plus grande quantité de la macromolécule cible, ce qui permet de maintenir une activité biologique suffisante malgré la présence de l'antibiotique.

- **Contournement métabolique** : La bactérie utilise une voie métabolique alternative pour remplacer celle bloquée par l'antibiotique, assurant ainsi la continuité des fonctions biologiques.
- **Inactivation de l'antibiotique** : Des enzymes bactériennes modifient ou détruisent la molécule de l'antibiotique, le rendant inactif.
- **Réduction de la perméabilité membranaire** : Les bactéries réduisent le nombre de porines membranaires, limitant ainsi l'entrée des antibiotiques dans la cellule.
- **Défense altruiste** : Certaines bactéries très résistantes produisent des composés, comme l'indole, qui protègent les bactéries sensibles en favorisant des mécanismes tels que l'efflux des antibiotiques et l'inhibition de la synthèse de radicaux libres.
- **Pompes à efflux** : Les pompes à efflux opèrent par un processus de transport actif, expulsant l'antibiotique hors de la cellule et rendant ainsi son site d'action inatteignable.

II.5.3. Bactéries Gram + et Gram – résistantes

La résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram positives et Gram négatives constitue un défi significatif dans le traitement des infections, représentant une préoccupation majeure pour la santé publique. L'organisation mondiale de la santé (OMS) met en évidence sept bactéries d'une importance mondiale cruciale en raison de leur résistance aux traitements. Parmi celles-ci, on retrouve *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella non typhique* (NTS), *Shigella* avec une résistance aux fluoroquinolones et *Neisseria gonorrhoeae* présentant une sensibilité réduite aux céphalosporines de troisième génération. Ces bactéries posent de véritables défis thérapeutiques en raison de leur aptitude à échapper à l'action des antibiotiques. Il est impératif de mettre l'accent sur la surveillance continue de la résistance aux antibiotiques et sur le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques pour répondre à cette problématique persistante [16].

II.6. Quinolones et Fluoroquinolones

L'histoire des quinolones remonte à 1962 avec la découverte de l'acide nalidixique par Leshner. Cet acide était un dérivé de la synthèse de la chloroquine. Quelques années plus tard, l'acide nalidixique, actif par voie orale et éliminé dans les urines à fortes concentrations. Au cours des années 1970, la famille des quinolones s'est élargie avec l'introduction de plusieurs nouveaux composés. Parmi eux, on trouve successivement l'acide piromidique, l'acide oxolinique, l'acide pipémidique et enfin la fluméquine, qui est considérée comme le premier représentant des fluoroquinolones. À cette époque, ces médicaments étaient principalement indiqués pour le traitement des infections urinaires basses non compliquées liées à des entérobactéries [22].

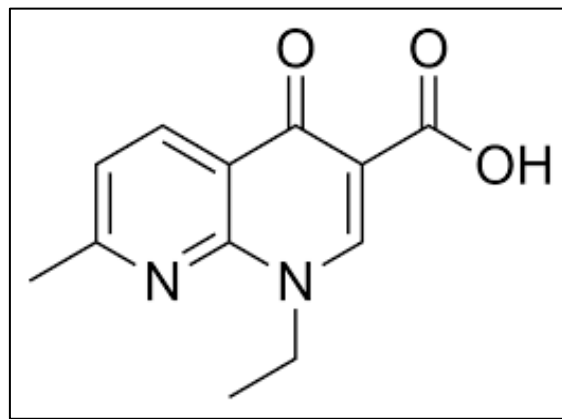


Figure 10 : Structure de l'acide nalidixique.

II.6.1. Quinolones aux fluoroquinolones

Dans les années 1970, des chercheurs de Merck & Co. ont introduit la substitution du fluor dans la structure des quinolones en position C6, donnant ainsi naissance à la première fluoroquinolone, la norfloxacin. Cette modification a conduit à une amélioration significative de l'activité antibactérienne contre les bactéries à Gram négatif et favorise une meilleure pénétration dans les cellules bactériennes. Le fluor en position C6 offre une efficacité supérieure par rapport à d'autres halogènes ou substitutions [23]. Au fil des avancées, de nouvelles fluoroquinolones ont été créées afin d'améliorer des aspects tels que la biodisponibilité, le spectre d'activité et la sécurité d'utilisation. Parmi ces développements, on retrouve des médicaments tels que la ciprofloxacine, la lévofloxacine et la moxifloxacine.

Par ailleurs, différents aspects structuraux des quinolones influent directement sur leur efficacité antibactérienne. Les groupes 3-carboxylate et 4-carbonyle sont essentiels pour l'activité antibactérienne car ils facilitent la liaison à l'ADN gyrase et le passage à travers la membrane bactérienne. Les modifications aux positions 2, 3, 4 et 6 du noyau de la quinolone entraînent une diminution de l'activité antibactérienne. Le substituant en position R2 doit être un petit atome d'hydrogène ou de soufre pour ne pas entraver la liaison. En outre, les modifications en R1 et R5, ainsi qu'en position 7 et 8 du noyau de la quinolone, influent sur la puissance, le spectre d'activité, la pharmacocinétique et le profil de sécurité. Par exemple, l'ajout d'un groupe méthoxy en position 8 renforce l'affinité du médicament pour l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, augmentant ainsi l'activité contre *Streptococcus pneumoniae* tout en réduisant la sélection de résistance. En revanche, l'incorporation d'un halogène en position 8 accroît le potentiel phototoxique des quinolones [25, 26].

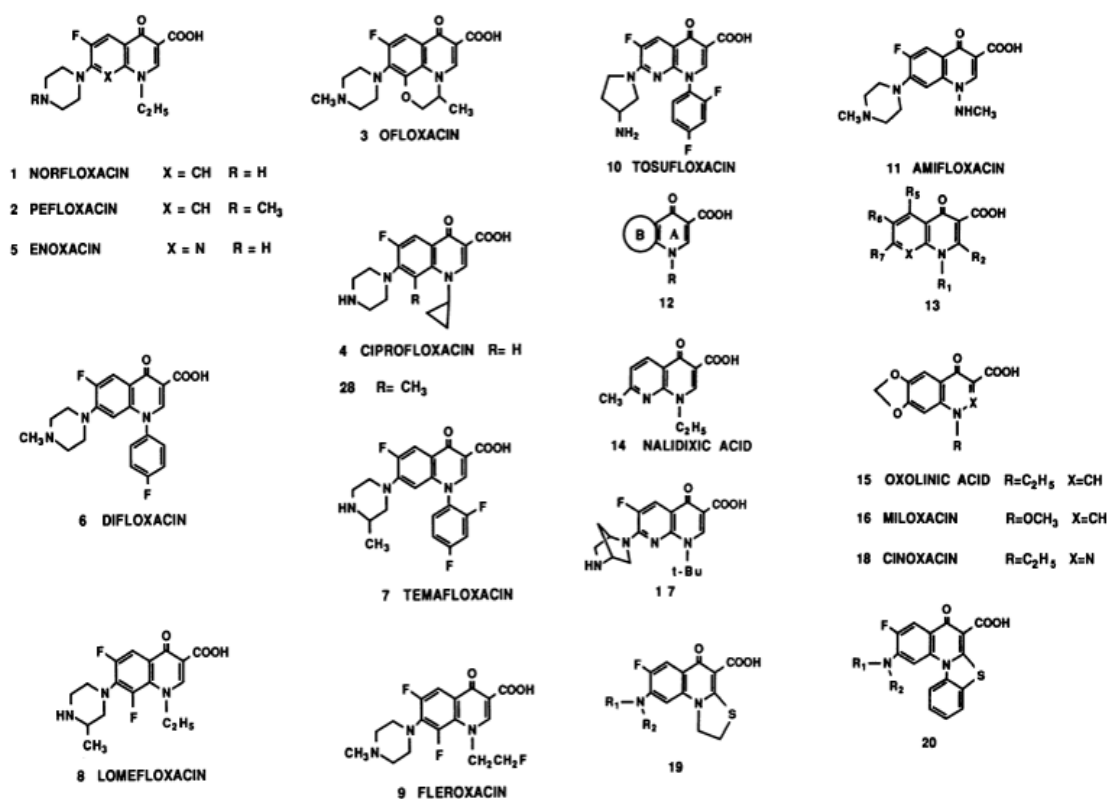


Figure 11 : Structures de diverses quinolones et fluoroquinolones.

II.6.2. Mécanisme d'action des fluoroquinolones

Les quinolones se distinguent des autres agents antimicrobiens par leur mode d'action ciblant les topoisomérases bactériennes. Ces enzymes jouent un rôle essentiel dans le

maintien du surenroulement de l'ADN, tant dans les régions répliquées que non répliquées du chromosome bactérien. Parmi les quatre types de topoisomérases identifiés, les quinolones agissent spécifiquement sur l'ADN gyrase (également appelée "topoisomérase de type II") et la topoisomérase IV, tandis que les types I et III ne sont pas affectés. [27]

L'ADN gyrase intervient pour éliminer le surenroulement positif excessif qui se forme en amont de la fourche de réplication, en raison de l'activité des enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN. Sans cette action de relaxation, la réplication serait bloquée par l'accumulation de tensions. Par ailleurs, après la réplication, la topoisomérase IV facilite la séparation des molécules d'ADN filles, permettant leur distribution correcte dans les cellules filles [28].

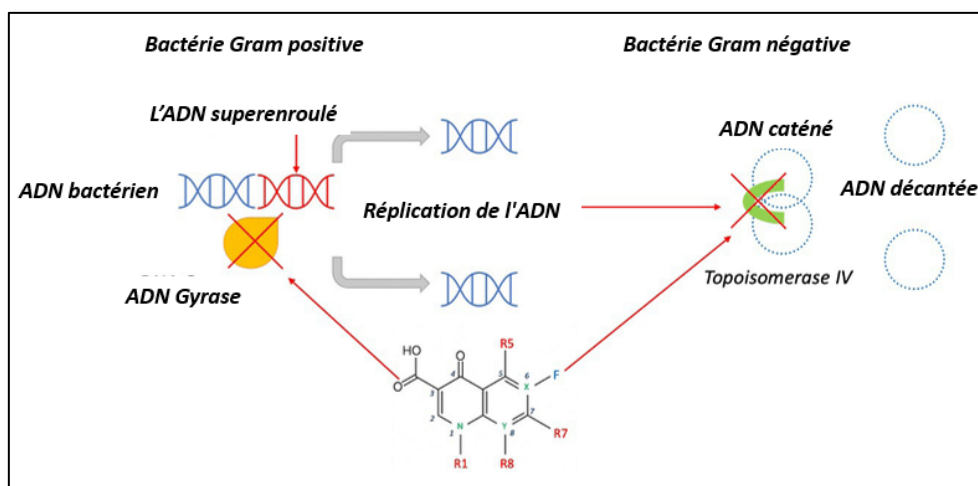


Figure 12 : Mécanisme d'action des fluoroquinolones [29]

II.6.3. Résistance des fluoroquinolones

La résistance aux fluoroquinolones (FQ), favorisée par la pression de sélection liée à leur utilisation intensive, résulte principalement de deux mécanismes : **des mutations chromosomiques** et **des modifications de la perméabilité de la paroi cellulaire bactérienne**. Les mutations concernent principalement les gènes *gyrA* et *gyrB*, codant pour l'ADN gyrase, ainsi que *parC* et *parE*, impliqués dans la topoisomérase IV. [30]

Le développement de la résistance aux fluoroquinolones suit un processus graduel. La présence de deux cibles pour ces antibiotiques (l'ADN gyrase et la topoisomérase IV) engendre des conséquences majeures. D'une part, des mutations successives permettent aux

populations bactériennes de devenir résistantes de manière relativement rapide. D'autre part, des fluoroquinolones qui agissent avec une efficacité équivalente sur ces deux cibles nécessiteraient que les bactéries acquièrent des mutations simultanées au niveau des deux sites pour développer une résistance. Ces mutations doubles étant peu fréquentes, l'utilisation de composés avec une telle activité pourrait réduire le risque d'émergence de résistances. [30]

L'activité des pompes à efflux un autre mécanisme clé de résistance, qui diminuent l'accumulation intracellulaire des fluoroquinolones et d'autres antimicrobiens. Ce mécanisme peut générer une résistance cliniquement significative, nécessitant un ajustement thérapeutique. Ces pompes ont été identifiées dans diverses bactéries, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* et *Bacteroides fragilis*. [30]

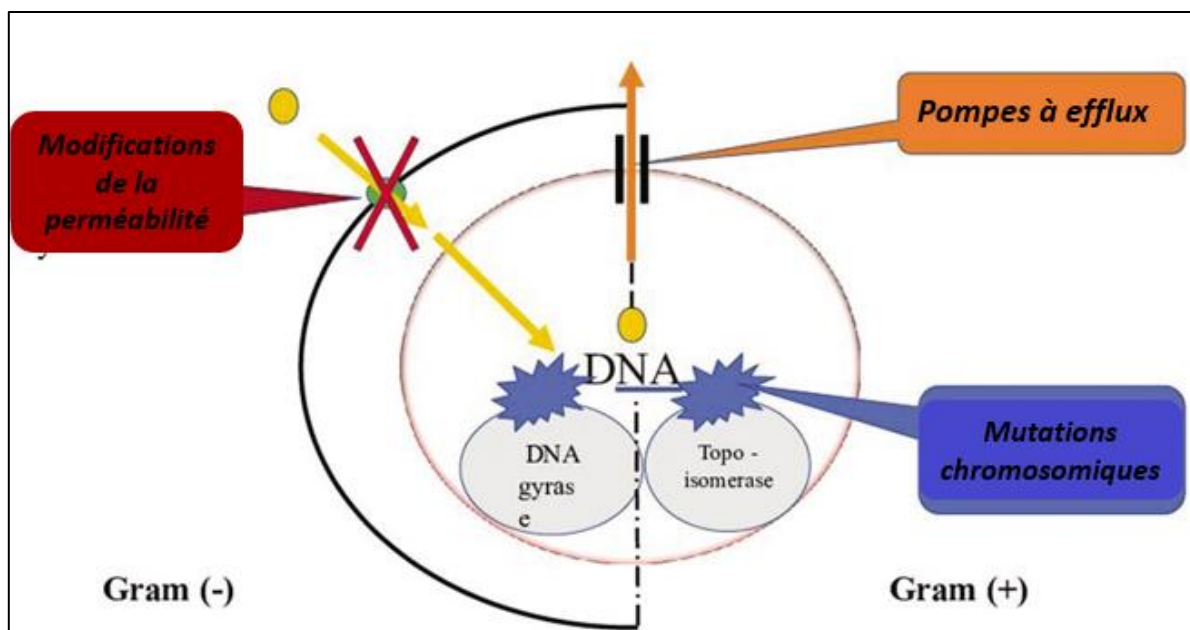


Figure 13 : Mécanisme de résistance des fluoroquinolones [31].

II.7. Ciprofloxacine

La ciprofloxacine, également connue sous le nom de 1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(acide 1-pipérazinyl) 3-quinoléine carboxylique, appartient à la deuxième génération de quinolones fluorées. Elle doit son efficacité à sa structure chimique distinctive. Son noyau bicyclique, appelé le cycle quinolone, est composé d'un cycle pyridine fusionné à un cycle benzène.

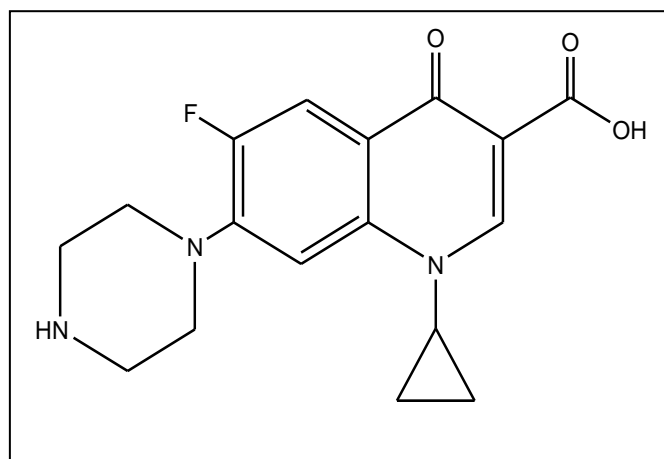


Schéma 1. Structure de ciprofloxacine

En position 1 de ce cycle, elle présente un cycle cyclopropyl, une modification qui renforce sa capacité à lutter contre les infections bactériennes et il est lié à la haute activité antibactérienne de la ciprofloxacine [32, 25].

De plus, la présence d'un carbone fluoré en position 6 est une caractéristique partagée avec d'autres médicaments de cette classe, améliorant considérablement leur activité antibactérienne [32, 25]. Le groupe pipérazine en position 7 avec groupe fluoré en position C-6 et sont responsables de l'élargissement du spectre antimicrobien de la ciprofloxacine. Le groupe pipérazine, augmente l'activité de la ciprofloxacine contre *Pseudomonas*. Ces ajustements structurels sont essentiels pour rendre la ciprofloxacine et d'autres quinolones plus efficaces et mieux tolérées dans le traitement des infections bactériennes [25, 33]

Les premières quinolones avaient des limitations, mais des modifications structurelles au niveau des positions 6, 7 et 8 du cycle quinolone ont permis de les surmonter.

II.7.1. Paramètres pharmacocinétiques de la ciprofloxacine

Pour ce qui est de son absorption, la ciprofloxacine est généralement bien absorbée, même si une absorption totale n'est pas toujours atteinte. Sa biodisponibilité par voie orale se situe généralement entre 70 et 80 %. Les concentrations maximales dans le sang, atteintes environ 1 à 1,5 heure après une administration orale (Tmax) [34].

Dans le cas la distribution, la ciprofloxacine présente un volume de distribution élevé, estimé à environ 2 à 3 litres par kilogramme. Après une administration orale, elle se répartit largement dans tout le corps, et ses concentrations dans les tissus dépassent souvent celles dans le sang. La ciprofloxacine atteint des concentrations thérapeutiques dans diverses parties du corps, y compris la salive, les sécrétions bronchiques, la lymphe, la bile, la prostate et l'urine [35-37]. Bien que les concentrations de ciprofloxacine dans le liquide céphalo-rachidien soient généralement inférieures à celles du sang, elles peuvent augmenter en cas d'inflammation méningée active [38].

En ce qui concerne le métabolisme, la ciprofloxacine agit en tant qu'inhibiteur du cytochrome P450 1A2 humain (CYP1A2). Lorsqu'elle est associée à d'autres médicaments métabolisés par le CYP1A2, elle peut entraîner une augmentation des concentrations plasmatiques de ces médicaments, ce qui pourrait potentiellement provoquer une toxicité [39].

En ce qui concerne l'excrétion, la demi-vie d'élimination de la ciprofloxacine est d'environ 4 heures. Elle est principalement excrétée sous sa forme inchangée dans les urines, représentant environ 40 à 50 % de la dose. La clairance rénale de la ciprofloxacine est d'environ 300 ml par minute, ce qui dépasse le débit de filtration glomérulaire (DFG) normal de 120 ml par minute. Par conséquent, la sécrétion tubulaire est le principal mécanisme impliqué dans l'élimination rénale de la ciprofloxacine. Environ 20 à 35 % d'une dose orale est excrété dans les selles. La clairance biliaire et l'élimination transintestinale jouent un rôle significatif dans son excrétion par voie fécale [40]. La ciprofloxacine présente une DL₅₀ orale chez le rat supérieur à 2000 mg/kg. [41]

II.7.2. Mécanisme d'action de la ciprofloxacine

La ciprofloxacine est un antibiotique à large spectre qui agit principalement en inhibant l'ADN gyrase (également appelée topoisomérase II) et la topoisomérase IV [42]. L'ADN gyrase est constitué de deux sous-unités, A et B. Les quinolones, telles que la ciprofloxacine, bloquent la capacité de la sous-unité A à refermer les brins doubles de l'ADN, ce qui peut conduire à la dégradation de l'ADN simple brin par des exonucléases [43].

Bien que la majorité des études se concentrent sur l'action de la ciprofloxacine sur l'ADN gyrase, certaines recherches suggèrent qu'elle pourrait également affecter les composants de la paroi cellulaire de *Mycobacterium smegmatis*. En effet, il a été observé que la ciprofloxacine, en plus d'inhiber l'ADN gyrase, peut réduire la quantité d'ADN, d'ARN, de protéines, ainsi que de phospholipides, de galactose, d'arabinose, de glucosamine et d'acide mycolique dans la paroi cellulaire de *M. smegmatis*. Toutefois, ces observations nécessitent d'être validées par des études complémentaires [44].

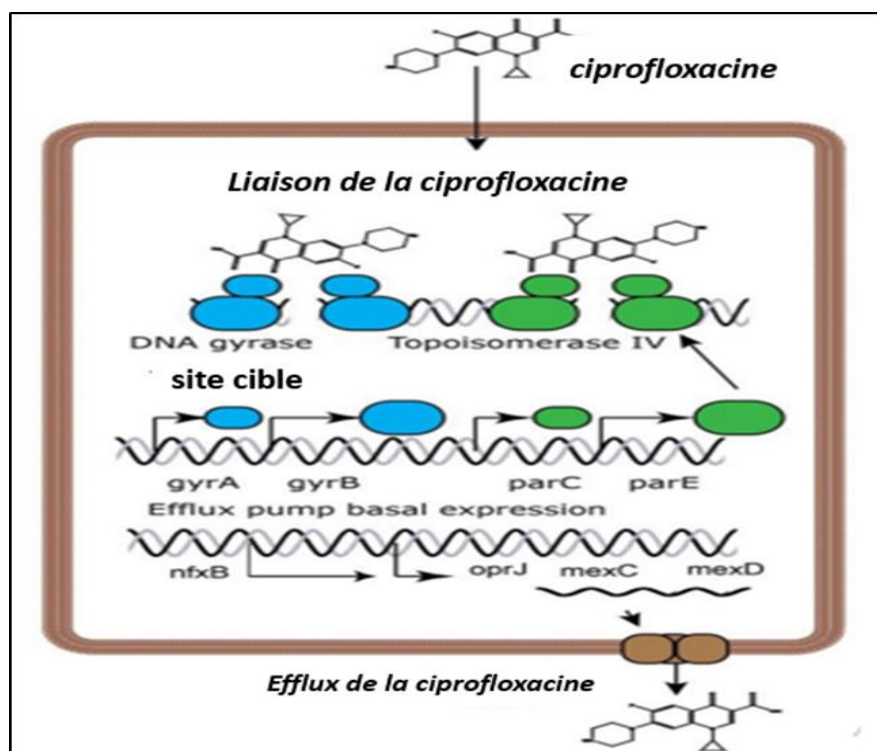


Figure 14 : Mécanisme d'action de la ciprofloxacine [45]

II.7.3. Activité antibactérienne de la ciprofloxacine [32]

La ciprofloxacine, une quinolone fluorée, est considérée comme l'un des agents antibactériens les plus puissants in vitro parmi les quinolones modernes. La ciprofloxacine agit sur plusieurs bactéries.

Concernant les bactéries Gram-positives, la ciprofloxacine est très efficace contre les espèces de *Staphylococcus* (*epidermidis*, *saprophyticus*, *aureus*), y compris celles résistantes à la pénicilline ou à la méthicilline, avec des CMI comprises entre 0,12 et 1 mg/L. Elle est modérément active contre les espèces de *Streptococcus*, y compris les souches résistantes à la pénicilline de *S. pneumoniae* (CMI entre 0,5 et 6,3 mg/L).

Avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) moyenne de 1 mg/L, la ciprofloxacine montre une grande efficacité contre la majorité des *Enterobacteriaceae*, à l'exception de certaines espèces comme *Providencia*. Elle est également très active contre des bactéries telles que *Acinetobacter* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Branhamella catarrhalis*, et les espèces d'*Haemophilus*, qu'elles soient positives ou négatives pour la β -lactamase.

En comparaison avec d'autres quinolones, la ciprofloxacine démontre une activité équivalente ou supérieure à celle de l'ofloxacine contre les bactéries Gram-négatives aérobies et surpasse systématiquement des quinolones telles que la norfloxacine, l'énoxacine ou la péfloxacine.

La ciprofloxacine présente également une activité notable contre des pathogènes tels que *Mycobactérie tuberculosae*, *Mycobactérie fortuitum*, *Mycobactérie intracellulaire* et *Listeria monocytogenes*.

L'efficacité de la ciprofloxacine est peu affectée par des facteurs externes tels que la taille de l'inoculum, le milieu de culture ou la présence de sérum. Cependant, sa capacité bactéricide et bactériostatique diminue en présence d'ions magnésium ou dans des environnements acides, ce qui pourrait expliquer son activité réduite dans l'urine.

II.7.4. Résistance à la ciprofloxacine

Il existe trois principaux mécanismes de résistance à la ciprofloxacine identifiés sont **les mutations des cibles du médicament** (ADN gyrase et topoisomérase IV), **les mutations qui limitent l'accumulation du médicament**, ainsi que **les plasmides qui protègent les cellules des effets de la ciprofloxacine** [46].

➤ Modifications des enzymes cibles

La résistance à la ciprofloxacine dans la gyrase ou la topoisomérase IV peut résulter d'une mutation unique dans les acides aminés de ces enzymes. La résistance se renforce avec des mutations successives dans les deux cibles enzymatiques. Une résistance marquée aux quinolones est fréquemment observée suite à des mutations dans la gyrase et la topoisomérase IV chez diverses espèces bactériennes [47,48].

➤ Altération de la perméabilité du médicament

Dans les bactéries Gram-positives, les transporteurs à efflux actifs sont responsables de la diminution des concentrations intracellulaires du médicament. Bien que la diffusion réduite à travers la membrane cytoplasmique ne soit pas considérée comme un mécanisme de résistance, une réduction de l'expression des canaux de diffusion des porines de la membrane externe, nécessaires à l'entrée de la ciprofloxacine dans le périplasme, pourrait jouer un rôle dans la résistance des bactéries Gram-négatives. Cela se produit souvent en association avec une expression accrue des transporteurs à efflux. La combinaison de mécanismes de résistance comme les pompes à efflux et les enzymes dégradant les antibiotiques entraîne une faible absorption du médicament, ce qui conduit à une résistance de haut niveau [49,50].

➤ Résistance induite par plasmides

Depuis 1998, le transfert horizontal a été identifié comme la principale voie de propagation de la résistance aux quinolones au niveau mondial. Les mécanismes de résistance liés aux gènes de résistance aux quinolones médiés par plasmides (PMQR) incluent la protection de l'ADN-gyrase via le gène *qnr*, la modification enzymatique de la ciprofloxacine par le gène *aac(6')-Ib-cr*, et l'expulsion du médicament de son site d'action par des pompes à efflux codées par les gènes *oqxAB* et *qepA*. [50-52]

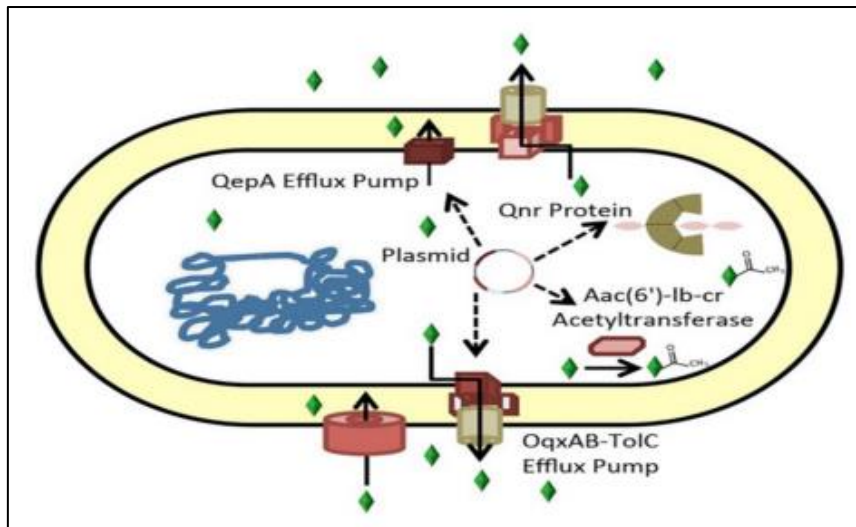


Figure 15 : mécanismes de résistance à la ciprofloxacine [52]

II.7.5. Bibliographie

Plusieurs études *in vitro* et *in silico* ont été menées sur la ciprofloxacine et ses dérivés [53-58], sont documentées dans la littérature scientifique.

Récemment, une équipe de recherche dirigée par K. Marciniec et ses collègues [56] ont utilisé des méthodes de modélisation moléculaires, notamment le docking moléculaire et la dynamique moléculaire, pour évaluer comment la ciprofloxacine et la moxifloxacine interagissent potentiellement avec la protéase principale du COVID-19.

Khalil et son équipe [57] ont également réalisé une étude de docking moléculaire *in silico* en 2020, portant sur six dérivés de la ciprofloxacine et leurs complexes avec le cuivre(II). Leurs résultats ont révélé que ces dérivés présentaient une inhibition efficace au niveau du site actif de la 4QGG, grâce à deux types d'interactions : les liaisons hydrogène et les interactions de Van der Waals, lorsqu'ils interagissaient avec *E. coli* et ses dérivés.

De plus, Mohammed et ses collaborateurs [58] ont préparé et caractérisé de nouveaux dérivés de la ciprofloxacine, notamment des dérivés du N-4-pipérazinyl ciprofloxacine thiadiazole et des dérivés d'oxadiazole. Leurs résultats ont montré que l'ajout du fragment 1, 3, 4-thiadiazole au N-4-pipérazinyle de la ciprofloxacine améliorait l'activité antituberculeuse par rapport à l'hybridation avec le fragment oxadiazole.

Références bibliographiques

- [1] Egan, A. J. F.; Vollmer, W. The Physiology of Bacterial Cell Division. *Ann N Y Acad Sci*, **2013**, *1277*, 8–28. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06818.x>.
- [2] Veyssiere, A. La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, **2019**, 106.
- [3] Sears, C. L. A Dynamic Partnership: Celebrating Our Gut Flora. *Anaerobe*, **2005**, *11* (5), 247–251. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2005.05.001>.
- [4] Cabeen, M. T.; Jacobs-Wagner, C. Bacterial Cell Shape. *Nat Rev Microbiol*, **2005**, *3* (8), 601–610. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1205>.
- [5] Diarrheagenic Escherichia coli | Clinical Microbiology Reviews <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/cmr.11.1.142>.
- [6] Ondusko, D. S.; Nolt, D. Staphylococcus Aureus. *Pediatrics In Review*, **2018**, *39* (6), 287–298. <https://doi.org/10.1542/pir.2017-0224>.
- [7] Gagneux, S. Ecology and Evolution of Mycobacterium Tuberculosis. *Nat Rev Microbiol*, **2018**, *16* (4), 202–213. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.8>
- [8] Waksman, S. A. What Is an Antibiotic or an Antibiotic Substance? *Mycologia*, **1947**, *39* (5), 565–569. <https://doi.org/10.1080/00275514.1947.12017635>.
- [9] Queener, S.; Queener, S. *Beta-Lactam Antibiotics for Clinical Use*; Taylor & Francis, **1986**.
- [10] Éric, R.-J. S., Jacques. *De la chimie fossile à la chimie durable* ; Editions Ellipses, **2017**.
- [11] Alanis, A. J. Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era? *Arch Med Res*, **2005**, *36* (6), 697–705. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.06.009>.
- [12] Mohr, K. I. History of Antibiotics Research. *Curr Top Microbiol Immunol*, **2016**, *398*, 237–272. https://doi.org/10.1007/82_2016_499.
- [13] Dr Hedi Mammeri MCU-PH Service de Bactériologie CHU Amiens Mode d'action Des Antibiotiques.Pdf.
- [14] Becker, B.; Cooper, M. A. Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *ACS Chem. Biol.*, **2013**, *8* (1), 105–115. <https://doi.org/10.1021/cb3005116>.
- [15] Wolfson, J. S.; Hooper, D. C. Fluoroquinolone Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*, **1989**, *2* (4), 378–424. <https://doi.org/10.1128/CMR.2.4.378>.
- [16] Résistance aux antimicrobiens <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- [17] Lohani, S. Antibiotic Resistance: Synthesis of Recommendations by Expert Policy Groups; **2001**; 129–131.

- [18] Carle, S. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! *Pharmactuel*, **2009**, 42.
- [19] Zumla, A. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. *Lancet Infect Dis*, **2010**, 10 (5), 303–304. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70089-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70089-X).
- [20] Thualfakar H.H; Al-Harmoosh R. A. A multifaceted review journal in the field of pharmacy. *Sys Rev Pharm*, **2020**, 11(6), 817- 823. <http://dx.doi.org/10.5530/srp.2019.2.04>
- [21] Ziani Cherif .C. Cours de master « Recherche sur Les Antibiotiques », Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, **2024**.
- [23] Eliopoulos, G. M.; Moellering, A. E.; Reiszner, E.; Moellering, R. C. In Vitro Activities of the Quinolone Antimicrobial Agents A-56619 and A-56620. *Antimicrob Agents Chemother*, **1985**, 28 (4), 514–520.
- [24] Chu, D. T.; Fernandes, P. B. Structure-Activity Relationships of the Fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother*, **1989**, 33 (2), 131–135.
- [25] Domagala, J. M. Structure-Activity and Structure-Side-Effect Relationships for the Quinolone Antibacterials. *J Antimicrob Chemother*, **1994**, 33 (4), 685–706. <https://doi.org/10.1093/jac/33.4.685>.
- [26] Gootz, T. D.; Brighty, K. E. Fluoroquinolone Antibacterials: SAR Mechanism of Action, Resistance, and Clinical Aspects. *Med Res Rev*, **1996**, 16 (5), 433–486.
- [27] Hooper. DC. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases and anti-topoisomerase resistance. *Clin Infect Dis*, 1998, 27. <https://doi.org/10.1086/514923>
- [28] Gootz. TD; Brighty. KE. Chemistry and mechanism of action of the quinolone antibacterial. Academic Press; **1998**. 29-80, ISBN: 978-0-12-059517-4. <https://doi.org/10.1016/B978012059517-4/50003-9>
- [29] Herbert R, Caddick M, Somerville T, et al. Potential new fluoroquinolone treatments for suspected bacterial keratitis. *BMJ Open Ophthalmology*, **2022**, 7, e001002. <https://doi:10.1136/bmjophth-2022-001002>
- [30] Judith A. O'Donnell, Steven P. Gelone. FLUOROQUINOLONES. *Infectious Disease Clinics of North America*, **2000**, 14 (2), 489-513. [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(05\)70260-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(05)70260-9)
- [31] Brar. RK, Jyoti. U, Patil. RK, Patil. HC. Fluoroquinolone antibiotics: An overview. *Adesh Univ J Med Sci Res*, **2020**; 2(1), 26-30. https://doi:10.25259/AUJMSR_12_2020
- [32] D. M. Campoli-Richards, J. P. Monk, A. Price, P. Benfield, P. A. Todd, et A. Ward, Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, **1988**, 35, (4), 373-447. <https://doi:10.2165/00003495-198835040-00003>.
- [33] J. T. Smith, The mode of action of 4-quinolones and possible mechanisms of resistance. *J Antimicrob Chemother*. **1986**, 18. https://doi:10.1093/jac/18.supplement_d.21.

- [34] M. LeBel, Ciprofloxacin: chemistry, mechanism of action, resistance, antimicrobial spectrum, pharmacokinetics, clinical trials, and adverse reactions, *Pharmacotherapy*.**1988**; 8, (1), 3-33. <https://10.1002/j.1875-9114.1988.tb04058.x>.
- [35] M. Radovanovic *et al.*, « Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury Due to Ciprofloxacin: A Report of Two Cases and Review of the Literature *Am J Case Rep*.**2018**, 19, 1152-1161. [https://doi: 10.12659/AJCR.911393](https://doi:10.12659/AJCR.911393).
- [36] J.-F. Schlender *et al.*, A Physiologically-Based Pharmacokinetic Model to Describe Ciprofloxacin Pharmacokinetics Over the Entire Span of Life. *Clin Pharmacokinet*, **2018**, 57 (12), 1613-1634. [https://doi: 10.1007/s40262-018-0661-6](https://doi:10.1007/s40262-018-0661-6).
- [37] R. F. Eyler et K. Shvets, Clinical Pharmacology of Antibiotics , *Clin J Am Soc Nephrol*, **2019**, 14 (7), 1080-1090. [https://doi: 10.2215/CJN.08140718](https://doi:10.2215/CJN.08140718).
- [38] R. Nau, F. Sörgel, et H. Eiffert, Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections , *Clin Microbiol Rev*. **2010**, 23 (4), 858-883. [https://doi: 10.1128/CMR.00007-10](https://doi:10.1128/CMR.00007-10).
- [39] A. Rudolph, H. Dahmke, H. Kupferschmidt, A. Burden, et S. Weiler, Coadministration of tizanidine and ciprofloxacin: a retrospective analysis of the WHO pharmacovigilance database. *Eur J Clin Pharmacol*, **2021**, 77 (6), 895-902. [https://doi: 10.1007/s00228-020-02981-2](https://doi:10.1007/s00228-020-02981-2).
- [40] E. J. Begg *et al.*, The pharmacokinetics of oral fleroxacin and ciprofloxacin in plasma and sputum during acute and chronic dosing , *Br J Clin Pharmacol*, **2000**, 49 (1), 32-38. [https://doi: 10.1046/j.1365-2125.2000.00105.x](https://doi:10.1046/j.1365-2125.2000.00105.x).
- [41] Philip Wexler, Encyclopedia of Toxicology, Reference Work, Fourth Edition, **2023**, ISBN: 978-0-323-85434-4
- [42] Serizawa M, Sekizuka T, Okutani A, Banno S, Sata T, Inoue S, et al. Genomewide screening for novel genetic variations associated with ciprofloxacin resistance in *Bacillus anthracis*. *Antimicrob Agents Chemother*. **2010**, 54, 2787–92. <https://doi:10.1128/AAC.01405-09>.
- [43] Campoli-Richards DM, Monk JP, Price A, Benfield P, Todd PA, Ward A. Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*. **1988**, 35, 373–447. [https://doi: 10.2165/00003495-198835040-00003](https://doi:10.2165/00003495-198835040-00003)
- [44] Knoll. KE, Lindeque .Z, Adeniji. AA, Oosthuizen. CB, Lall. N, Loots. DT. Elucidating the antimycobacterial mechanism of action of ciprofloxacin using metabolomics. *Microorganisms*. **2021** , 9, 1158. [https://doi: 10.20944/preprints202104.0443.v1](https://doi:10.20944/preprints202104.0443.v1)
- [45] Rehman. A, Patrick. WM, Lamont. IL. Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: new approaches to an old problem. *J Med Microbiol*. **2019**, 68, 1–10. [https://doi: 10.1099/jmm.0.000873](https://doi:10.1099/jmm.0.000873)

- [46] Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist.* **2018**, 11, 1645–58. [https:// doi: 10.2147/IDR.S173867](https://doi:10.2147/IDR.S173867)
- [47] Laponogov I, Veselkov DA, Crevel IM-T, Pan X-S, Fisher LM, Sanderson MR. Structure of an ‘open’ clamp type II topoisomerase-DNA complex provides a mechanism for DNA capture and transport. *Nucleic Acids Res.* **2013**, 41, 9911–23. [https:// doi: 10.1093/nar/gkt749](https://doi:10.1093/nar/gkt749)
- [48] Hooper DC, Jacoby GA. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Ann N Y Acad Sci.* **2015**, 1354 :12–31. [https://doi : 10.1111/nyas.12830](https://doi:10.1111/nyas.12830)
- [49] Fernández L, Hancock RE. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin Microbiol Rev.* **2012**, 25,661–81. [https://doi: 10.1128/CMR.00043-12](https://doi:10.1128/CMR.00043-12)
- [50] Ruiz J, Pons MJ, Gomes C. Transferable mechanisms of quinolone resistance. *Int J Antimicrob Agents.* **2012**, 40, 196–203. [https://doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.02.011](https://doi:10.1016/j.ijantimicag.2012.02.011)
- [51] Rodríguez-Martínez JM, Machuca J, Cano ME, Calvo J, Martínez-Martínez L, Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: two decades on. *Drug Resist Updat.* (**2016**) 29:13–29. [https://doi: 10.1016/j.drug.2016.09.001](https://doi:10.1016/j.drug.2016.09.001)
- [52] Shariati A, Arshadi M, Khosrojerdi MA, Abedinzadeh M, Ganjalishahi M, Maleki A, Heidary M and Khoshnood S, The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. *Front. Public Health*, **2022**, 10, 1025633. [https://doi: 10.3389/fpubh.2022.1025633](https://doi:10.3389/fpubh.2022.1025633)
- [53] S. S. R. Alsayed, S. Lun, A. Payne, W. R. Bishai, et H. Gunosewoyo, Facile synthesis and antimycobacterial activity of isoniazid, pyrazinamide and ciprofloxacin derivatives , *Chemical Biology & Drug Design*, **2021**, 97, 1137-1150. [https://doi: 10.1111/cbdd.13836](https://doi:10.1111/cbdd.13836).
- [54] S. I. Farooqi *et al.*, Synthesis, theoretical, spectroscopic and electrochemical DNA binding investigations of 1, 3, 4-thiadiazole derivatives of ibuprofen and ciprofloxacin: Cancer cell line studies, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **2018**, 189, 104-118. [https://doi: 10.1016/j.jphotobiol.2018.10.006](https://doi:10.1016/j.jphotobiol.2018.10.006).
- [55] S. I. Farooqi, N. Arshad, F. Perveen, P. A. Channar, A. Saeed, et A. Javed, Aroylthiourea derivatives of ciprofloxacin drug as DNA binder: Theoretical, spectroscopic and electrochemical studies along with cytotoxicity assessment , *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2019**, 666, 83-98. [https://doi: 10.1016/j.abb.2019.03.021](https://doi:10.1016/j.abb.2019.03.021).
- [56] K. Marciniec, A. Beberok, P. Pęczak, S. Boryczka, ET D. Wrześniok, Ciprofloxacin and moxifloxacin could interact with SARS-CoV-2 protease: preliminary in silico analysis, *Pharmacol Rep*, **2020**, 72, 1553-1561, [https:// doi: 10.1007/s43440-020-00169-0](https://doi:10.1007/s43440-020-00169-0).
- [57] T. E. Khalil, A. El-Dissouky, D. Al-Wahaib, N. M. Abrar, et D. S. El-Sayed, Synthesis, characterization, antimicrobial activity, 3D-QSAR, DFT, and molecular docking of some

ciprofloxacin derivatives and their copper(II) complexes , *Appl Organomet Chem*, **2020**, 34, <https://doi: 10.1002/aoc.5998>.

- [58] H. H. H. Mohammed *et al.*, Synthesis, molecular docking, antimicrobial evaluation, and DNA cleavage assay of new thiadiazole/oxadiazole ciprofloxacin derivatives , *Monatsh Chem*, **2019**, 150, 1809-1824, , <https://doi: 10.1007/s00706-019-02478-4>.

CHAPITRE II :
METHODES DE CALCULS

Introduction

L'utilisation croissante des méthodes *in silico* dans la recherche pharmaceutique et la conception de médicaments est devenue indispensable. Ces approches visent principalement à prédire l'interaction moléculaire et sa force [1]. Des techniques comme la mécanique moléculaire, la chimie quantique et la dynamique moléculaire en modélisation moléculaire permettent d'estimer la force de liaison des petites molécules, prédisant ainsi l'affinité moléculaire et évaluant les propriétés physicochimiques, les interactions intermoléculaires, les caractéristiques optiques, ainsi que la réactivité des molécules ou des systèmes moléculaires avant leur synthèse [2]. Cette approche accélère le processus de développement de médicaments, traditionnellement long. L'industrie pharmaceutique intègre les technologies de l'information pour améliorer l'efficacité de la découverte de nouveaux médicaments [3].

Les méthodes *in silico* peuvent être divisées en deux principales catégories : les méthodes basées sur le ligand et les méthodes basées sur le récepteur [4]. Les approches basées sur le ligand tel que les techniques QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship). D'autre part, les méthodes basées sur le récepteur, s'inspirent du concept du mécanisme clé-serrure. Ces approches se fondent sur la reconnaissance spécifique entre un ligand (la clé) et sa cible protéique (la serrure) pour expliquer l'interaction d'un substrat avec le site actif d'une protéine. L'objectif de cette méthode est d'étudier comment les composés se fixent à la cible protéique et d'estimer l'affinité relative des ligands. Pour ce faire, les techniques de dynamique moléculaire et de docking sont les plus prépondérantes.

La conception assistée par ordinateur est également utilisée pour prédire les propriétés ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination) et la toxicité des nouveaux médicaments. Ces techniques pré-développement contribuent à réduire le nombre d'expérimentations animales, les coûts, le temps nécessaire au développement, tout en améliorant la prévisibilité du processus.

En outre, dans ce chapitre nous abordons succinctement en première partie les méthodes de chimie quantique et les approches dérivées de ce formalisme, en particulier la théorie de la fonctionnelle de densité DFT nous abordons les différentes approches utilisées dans la théorie de la fonctionnelle de densité conceptuelle pour l'étude de la réactivité chimique

théorique. Cela comprend les indices globaux et les indices locaux. Ainsi l'analyse des orbitales naturelles de liaison NBO pour identifier les interactions intermoléculaires et le potentiel électrostatique moléculaire MEP. En poursuivant notre exploration, nous nous penchons ensuite sur les techniques de dynamique et de docking moléculaire, suite à une introduction à la mécanique moléculaire, qui constitue la base des deux approches précédentes. Enfin, nous aborderons les propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité), essentielles dans le processus de conception de médicaments.

Partie I : Méthodes quanta-chimique

La chimie quantique, branche de la chimie théorique, applique les principes de la mécanique quantique aux systèmes moléculaires pour étudier leurs processus et propriétés chimiques. L'arrivée des technologies informatiques et des logiciels de calcul a donné naissance à la chimie computationnelle, permettant l'exploitation des calculs quantiques pour obtenir des résultats pertinents dans la compréhension des phénomènes chimiques. Les fondements de cette discipline, établis dans les années 1980, ont été consacrés par le Prix Nobel de chimie 1998 attribué à Walter Kohn et John A. Pople. La compréhension de la liaison chimique, de la spectroscopie, de la réactivité chimique et d'autres aspects fondamentaux de la chimie reposent largement sur la compréhension du comportement électronique dans les atomes et les molécules. Ainsi, la chimie computationnelle utilise des programmes informatiques et des algorithmes pour résoudre l'équation de Schrödinger, permettant d'analyser la fonction d'onde multiélectronique et de prédire les propriétés physico-chimiques des systèmes moléculaires.

I.1. Théorie de la fonctionnelle de densité (DFT)

La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) s'est beaucoup développée ces dernières années. La DFT est largement utilisée pour le calcul des propriétés électroniques des systèmes moléculaires [5, 6]. L'application du principe variationnel donne les équations appelées équations de Kohn-Sham qui sont similaires aux équations de Hartree-Fock [7]. En principe, il suffit de remplacer la contribution d'échange de l'opérateur de Fock par un potentiel d'échange et de corrélation qui correspond à la dérivation de la fonctionnelle

d'énergie d'échange et de corrélation par rapport à la densité [8]. Le point crucial en DFT est que l'énergie d'échange et de corrélation n'est pas connue de façon exacte. Néanmoins les formules approchées pour cette énergie donnent des résultats qui sont comparables ou meilleurs que ceux donnés par MP2 à un moindre coût de ressource informatique. Les premières approximations de la DFT sont similaires à celles appliquées aux méthodes HF. L'équation de Schrödinger est non-dépendante du temps et non-relativiste. A partir de l'approximation de Born-Oppenheimer le formalisme et les approximations divergent.

La théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) constitue un cadre universel pour évaluer la densité électronique des systèmes. Afin d'obtenir des prédictions précises et fiables concernant les propriétés des systèmes chimiques, la fonctionnelle hybride a été développée, fusionnant des fonctionnelles d'échange issues de la méthode Hartree-Fock avec des fonctionnelles d'échange-corrélation.

Fonctionnelle hybride B3LYP

La fonctionnelle hybride largement adoptée dans la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT) est la B3LYP (Becke 3-parameters Lee-Yang-Parr), formulée par Becke en 1993 [7]. Cette fonctionnelle, caractérisée par trois paramètres empiriques d'ajustement, combine les fonctionnelles locales d'échange de Becke et d'échange HF avec les fonctionnelles de corrélation locale *VWN* et du gradient *LYP*. Bien que considérée parmi les fonctionnelles les plus réussies de la DFT, la B3LYP présente toutefois des limites, notamment la sous-estimation des énergies liées aux interactions de van der Waals et des hauteurs de barrière énergétique [9].

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a_0 - a_x) E_x^{LSDA} + a_0 E_x^{exact} + a_x E_x^{B88} + (1 - a_c) E_c^{VWN} + a_c E_c^{LYP} \quad (1)$$

E^{LDA} , E^{B88} , E^{HF} sont les fonctionnelles d'échange local de Becke et l'énergie d'échange HF respectivement.

E^{VWN} est la fonctionnelle de corrélation locale et corrigée du gradient de Lee, Yang et Parr E^{LYP} .

Les valeurs des 3 paramètres d'ajustement sont:

$$a_0 = 0.20 \quad a_x = 0.72 \quad a_y = 0.81$$

I.2. Bases d'orbitales atomiques

Il existe deux types de fonctions de base qui sont largement utilisés dans les calculs. Les orbitales de type Slater STO (1^{ier} type) ont été proposées par Slater en 1931 [10] et celles de Type Gaussiennes (GTO) qui utilisent les fonctions cartésiennes de Gauss, la base GTO proposée par Boys en 1951 [11, 12].

Les orbitales de type Slater (STOs) sont définies par :

$$\Psi_{nlm} = N_n \cdot r^{n^*-1} \cdot e^{-\zeta r} \cdot Y_{lm}(\theta, \phi) \quad (2)$$

n^* : nombre quantique effectif.

N_n : constante de normalisation.

ζ : exposant de Slater.

$Y_{lm}^{(\theta, \phi)}$: les harmoniques sphériques.

Les STO présentent une structure analytique simple, néanmoins, le lissage qui concerne la partie radiale rend le calcul des intégrales complexe et difficile à réaliser.

La base GTO est donnée par :

$$g(\alpha, \vec{r}) = c X^n Y^l Z^m \exp(-\alpha r^2) \quad (3)$$

α : est une constante déterminant la taille de la fonction.

La somme $(n+l+m)$: définit le type de l'orbitale atomique.

Par la suite, Pople a décidé d'utiliser une combinaison de fonction GTO pour reproduire les STO. L'avantage est de permettre un calcul facile des intégrales et la réduction du temps de calcul.

Les GTO permettent le calcul des intégrales multicentriques. Elles possèdent la propriété mathématique dite le produit de multiplication : « Le produit de deux gaussiennes centrées

en deux points A et B est équivalent à une gaussienne centrée au point C ». Par conséquent une intégrale à deux centres se réduit à une intégrale monocentrique. Plusieurs GTO sont nécessaires pour imiter de façon adéquate une STO.

$$G^{CGTO} = \sum_{\lambda=1}^k d_{\lambda} g_{\lambda}^{PGTO} \quad (4)$$

d_{λ} : est le coefficient de contraction de la gaussienne primitive

g_{λ} et k : est le degré de contraction.

Dans un calcul de chimie quantique, le choix de l'ensemble de bases repose sur une combinaison spécifique de critères. Pour la base minimale STO-3G, par exemple, une contraction de trois gaussiennes primitives est nécessaire afin d'ajuster de manière satisfaisante les parties radiales et d'approcher une fonction d'onde atomique (STO). Les orbitales de valence, qui sont cruciales pour les liaisons chimiques, doivent être représentées avec une précision supérieure par rapport aux orbitales des couches internes. Pople et al [13] ont introduit le concept de niveaux de valence partagée (split) afin d'offrir une flexibilité accrue pour ajuster ces orbitales avec une meilleure précision.

La base Split Valence triple Zeta (SV-TZ) tel que 6-311G (d,p) [14]

- considère six gaussiennes primitives pour les orbitales de cœur
- un ensemble de base de valence à triple division, composées de 3,1 et 1 gaussiennes primitives respectivement.

Les fonctions de polarisation sont incluses dans les ensembles de bases afin de capturer les déformations des nuages électroniques et les distorsions causées par l'environnement. Pour ce faire, un ensemble supplémentaire de fonctions avec un nombre quantique plus élevé est introduit pour tous les atomes dans deux scénarios distincts [15].

- Dans le premier cas, noté avec un astérisque (*) ou (d), les orbitales de polarisation sont ajoutées à tous les atomes à l'exception de l'hydrogène.
- En revanche, la notation double astérisque ou (d, p) indique que les orbitales de polarisation sont ajoutées à tous les atomes, y compris l'hydrogène.

Cette approche est cruciale pour une description précise de grandeurs telles que l'énergie de dissociation, le moment dipolaire ou la localisation des états de transition dans les systèmes chimiques.

I.3. Indices de réactivité dérivants des concepts de la DFT (CDFT)

Un aspect notable du langage fonctionnel de densité est sa capacité à définir et à clarifier des concepts chimiques clés relatifs à la structure moléculaire et à la réactivité. Dans la fin des années 1970 et le début des années 1980, en parallèle avec le développement des modèles de chimie quantique pour approcher l'équation de Hohenberg-Kohn [16], Parr a introduit la "DFT conceptuelle" [17]. Ce domaine de la DFT vise à extraire des principes et des concepts pertinents de la densité électronique pour comprendre et prédire le comportement chimique des molécules. Parr et d'autres chercheurs ont réussi à donner des définitions précises de concepts chimiques bien connus, comme l'électronégativité, offrant ainsi une base quantitative à leurs calculs. Dans ce cadre, les principaux indices définis dans la DFT conceptuelle pour étudier la réactivité organique sont examinés [18]. La DFT conceptuelle part du principe que l'énergie de l'état fondamental d'un système à N électrons, selon le théorème de Hohenberg-Kohn [16]

I.1.1. Indices globaux dérivant de la DFT conceptuelle

Les dérivées de $E [N; v(r)]$ par rapport à N et $v(r)$ fournissent une série initiale d'indicateurs de réactivité, comprenant le potentiel chimique électronique (μ), qui est l'opposé de l'électronégativité, la dureté chimique (η), la fonction de Fukui $f(r)$. Parmi ces indices, nous allons discuter du potentiel chimique électronique, de la dureté chimique, de l'électrophilie et de l'indice de nucléophilie.

a) Potentiel chimique électronique μ

En 1983, Parr a défini le potentiel chimique électronique comme la variation d'énergie du système par rapport au nombre d'électrons N à un potentiel externe fixe qui représente le potentiel créé par les noyaux [19, 20].

Ce potentiel est lié à la capacité d'un système à échanger de la densité électronique avec son environnement à l'état fondamental. En utilisant le théorème de Koopmans [21] et le formalisme de Kohn-Sham [7] dans la DFT, on peut approximer ces énergies par les énergies frontières HOMO et LUMO. Ainsi, le potentiel chimique électronique peut être :

$$\mu \approx \frac{(\varepsilon_{HOMO} + \varepsilon_{LUMO})}{2} \quad (5)$$

b) Dureté globale η

En 1963, Pearson a introduit une classification des acides et bases de Lewis en "durs" et "mous" [22-24], où il a postulé que les interactions les plus favorables dans une réaction acide/base se produisent entre des paires d'acides/bases durs/durs ou mous/molles, principe connu sous le nom de "Hard and Soft Acids and Bases". Dans le cadre de la DFT conceptuelle, Parr a défini en 1983 une mesure quantitative de la dureté chimique, basée sur les variations du potentiel chimique électronique du système par rapport au nombre d'électrons N à un potentiel externe fixe [25]:

Cette dureté chimique peut être interprétée comme la capacité d'une molécule à résister à l'échange de densité électronique avec son environnement, l'expression de la dureté chimique peut s'écrire :

$$\eta \approx (\varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO}) \quad (6)$$

c) Indice d'électrophilie globale ω

En 1999, Parr a introduit l'indice d'électrophilie [26], qui fournit une mesure de la stabilisation énergétique d'une molécule lorsqu'elle acquiert une quantité supplémentaire de densité électronique ΔN provenant de l'environnement. L'électrophilie, ω , est donnée par l'expression suivante :

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (7)$$

L'indice d'électrophilie ω mesure la tendance d'un électrophile à accepter une quantité supplémentaire de densité électronique, représentée par le potentiel chimique électronique μ , ainsi que la capacité d'une molécule à résister à l'échange de densité électronique avec l'environnement, représentée par la dureté η .

En outre, le nombre maximum d'électrons qu'un électrophile peut acquérir est donné par ΔN_{\max} exprimer par la formule suivante :

$$\Delta N_{\max} = -\frac{\mu}{\eta} \quad (8)$$

d) Indice de nucléophilie globale N

En 2008, Domingo et al [27, 28] ont proposé un indice empirique (relatif) de nucléophilie N pour les molécules organiques basé sur les énergies HOMO (ϵ_{HOMO}) obtenues dans le cadre de la méthode de Kohn-Sham comme une approche de la phase gazeuse. Cet indice est défini comme suit :

$$N = \epsilon_{\text{HOMO}}(\text{nucleophile}) - \epsilon_{\text{HOMO}}(\text{TCE}) \quad (9)$$

L'échelle de nucléophilie est souvent calibrée en référence à la molécule de tétracyanoéthylène (TCE), qui est choisie comme point de référence en raison de sa plus basse énergie HOMO parmi une série étendue de molécules déjà examinées dans le cadre des cycloadditions polaires de Diels-Alder. Cette sélection facilite l'établissement d'une échelle nucléophilique avec des valeurs positives.

I.3.2. Indices locaux dérivant de la DFT conceptuelle

Les indices d'électrophilie locale (ω_k) et de nucléophilie locale (N_k) permettent de caractériser les sites atomiques les plus électrophiles et nucléophiles au sein d'une molécule organique. Des recherches théoriques approfondies sur les mécanismes des réactions polaires impliquant des réactifs non symétriques ont démontré que l'interaction bicentrique entre le centre le plus électrophile d'une molécule électrophile et le centre le plus nucléophile de la molécule nucléophile est généralement le canal réactionnel privilégié. Ainsi, les indices ω_k et N_k permettent de prédire la régio- et la chimiosélectivité dans ces réactions polaires. Leur utilisation a été validée par de nombreuses études expérimentales et théoriques, démontrant ainsi leur efficacité dans l'analyse des régio- et chimiosélectivités des réactions.

Les indices de Parr

Lors des réactions polaires et ioniques, la formation des centres pseudo radicaux est favorisée par le transfert de la densité électronique global du nucléophile vers l'électrophile. Cette transition entraîne une distribution asymétrique de la densité électronique dans les molécules non symétriques, où certains atomes perdent moins de densité électronique dans l'espèce nucléophile tandis que d'autres en gagnent davantage dans l'espèce électrophile. Ces atomes pertinents correspondent aux centres les plus nucléophiles et les plus électrophiles des molécules réactives. Lorsqu'une quantité équivalente à un électron est transférée lors d'une réaction polaire, le nucléophile devient un cation radical et l'électrophile devient un anion radical. L'analyse de la densité de spin atomique au niveau du cation radical et de l'anion radical offre une perspective sur la distribution de la densité électronique dans l'électrophile et le nucléophile lorsqu'ils interagissent au cours de la réaction [29].

Sur la base de ces observations, Domingo et al. [30] ont proposé en 2014 les fonctions de Parr $P(r)$ [31,32], qui sont données par les équations suivantes :

$$p_k^- = \rho_k^{rc} \quad (\text{Pour une attaque électrophile}) \quad (10)$$

$$p_k^+ = \rho_k^{ra} \quad (\text{Pour une attaque nucléophile}) \quad (11)$$

$\rho_k^{rc}(r)$: représente la densité de spin atomique du cation radical.

$\rho_k^{ra}(r)$: représente la densité de spin atomique de l'anion radical.

a) Electrophilie locale de Parr ω_k^p

L'indice d'électrophilie locale de Parr ω_k^p [31] est défini comme le produit de l'indice d'électrophilie globale ω et l'indice de Parr électrophilique p_k^+ .

$$\omega_k^p = \omega \cdot p_k^+ \quad (12)$$

b) Nucléophilie locale de Parr N_k^p

L'indice de nucléophile locale de Parr N_k^p [31] est défini comme le produit de l'indice de nucléophilie globale N et l'indice nucléophile de Parr p_k^- .

$$N_k^p = N \cdot p_k^- \quad (13)$$

Une analyse des fonctions de Parr permet d'identifier les centres les plus électrophiles et nucléophiles au sein d'une molécule. Ces centres se distinguent par leur densité électronique la plus élevée le long du transfert global de densité électronique qui intervient dans les processus polaires.

I.4. Analyse NBO (Natural Bond Orbital)

L'analyse NBO [32-34] (analyse des orbitales naturelles de liaison) constitue une approche pour examiner l'hybridation et les interactions covalentes dans les molécules polyatomiques. Elle vise à détailler la répartition des électrons entre les atomes et les liaisons de manière à refléter au mieux la structure de Lewis sous-jacente [35, 36]. Les ensembles d'orbitales NBO ainsi obtenus sont des jeux d'orbitales localisés et orthogonales, caractérisés par une occupation électronique maximale. Tous les paramètres associés à ces orbitales NBO, tels que les coefficients de polarisation et les contributions atomiques hybrides, sont soigneusement ajustés mathématiquement pour décrire la distribution totale des électrons impliquant un nombre donné, de n électrons.

L'analyse NBO est une approche en plusieurs étapes qui implique la transformation d'ensembles d'orbitales atomiques de base (OA) en ensembles d'orbitales naturelles atomiques (NAO), hybrides (NHO), de liaison (NBO). Chaque étape de cette transformation est cruciale pour obtenir une description complète et orthogonale de la fonction d'onde Ψ .

Conformément au modèle de la liaison simple chaque orbitale NBO σ_{AB} (liante) peut être écrite comme une combinaison de deux orbitales de valence hybrides des atomes A et B et chaque NBO est associée à une Orbitale NBO antiliante σ^*_{AB} .

La formation des orbitales hybrides NHOs à partir des orbitales atomiques naturelles (NAOs) des atomes A et B suit un principe similaire à celui de l'hybridation classique. Les orbitales NBO σ_{AB} de type "Lewis" (donneur) sont complétées par les orbitales NBO σ_{AB} de type "non-Lewis" (accepteur), qui sont vides dans le cadre du modèle de la structure de Lewis. Les faibles occupations de ces orbitales NBO anti-liantes entraînent des écarts par rapport au modèle de la structure de Lewis, conduisant ainsi à des effets de délocalisation.

La stabilisation énergétique résultant de cette interaction donneur-accepteur $\sigma \rightarrow \sigma^*$ peut être évaluée à l'aide de la théorie de perturbation du second ordre, offrant une perspective quantitative sur cette interaction [36].

Selon l'équation suivante :

$$E_{i \rightarrow j^*}^{(2)} = -n_i \frac{\langle \sigma_i / \hat{F} / \sigma_{j^*} \rangle^2}{\varepsilon_{j^*} - \varepsilon_i} \quad (14)$$

Avec F est l'opérateur de Fock ou Kohn-Sham, σ_i

$\varepsilon_i = \langle \sigma_i / \hat{F} / \sigma_i \rangle$ et $\varepsilon_{j^*} = \langle \sigma_{j^*}^* / \hat{F} / \sigma_{j^*}^* \rangle$ sont les énergies de l'orbitale NBO liante (donneur) et antiliante (accepteur) respectivement.

Ces calculs nous offrent une compréhension approfondie des transferts de charge entre les orbitales NBO occupées de type Lewis (donneurs) et les orbitales NBO non occupées de type non-Lewis (accepteurs) au sein de la molécule. En d'autres termes, ces évaluations énergétiques nous permettent d'estimer les effets des interactions hyperconjugatives ainsi que les interactions intramoléculaires et intermoléculaires.

On distingue plusieurs types de NBO (avec leur notation en NBO entre parenthèses) :

- Les NBO de type « cœur » (CR), constituées d'une seule NHO de cœur,
- Les NBO de type « paire libre » (LP), constituées d'une seule NHO de valence occupée,
- Les NBO de type « liante » (BD) et « antiliante » (BD*), constituées d'une combinaison linéaire de 2 ou plus NHO de valence respectivement occupées et inoccupées, de sorte que la somme des carrés des coefficients soit égale à 1,
- Les NBO de type « lacune » (LV), constituées d'une seule NHO de valence inoccupée.

I.5. Potentiel électrostatique moléculaire MEP

Le potentiel électrostatique moléculaire MEP joue un rôle crucial dans de nombreux phénomènes chimiques et physiques, tels que les interactions entre molécules, la structure des liaisons chimiques, et les propriétés spectroscopiques des molécules. Il est également utilisé dans de nombreux domaines, notamment la modélisation moléculaire, la conception de médicaments, la catalyse et la chimie des matériaux [37]. Le MEP en un point donné r à

proximité d'une molécule représente la force exercée sur une charge positive (un proton) positionnée en ce point, influencée par le nuage de charges électriques engendré par les électrons et les noyaux de la molécule. Le MEP a été généralement utilisé pour tenir compte des interactions électrostatiques dans une variété de systèmes chimiques [38]. En cartographiant le MEP autour d'une molécule, on peut identifier les régions où les interactions sont plus fortes ou plus faibles, ce qui peut aider à prédire les sites actifs pour les réactions chimiques ou les interactions avec d'autres molécules.

Pour calculer ce potentiel en un point donné (équation (20)), on considère que les positions des noyaux sont fixes, mais pour les électrons, dont la répartition est plus dynamique, on doit effectuer une intégration sur la densité électronique, représentant la charge moyenne par unité de volume dans l'environnement du point considéré [49].

$$V(r) = \sum_A \frac{Z_A}{|R_A - r|} - \int \frac{\rho(r') dr'}{|r' - r|} \quad (15)$$

Le potentiel électrique résultant en un point donné, noté $V(r)$, est exprimé en fonction de la distance entre ce point et chaque noyau, ainsi que de l'intégrale sur la densité électronique. Cette expression prend en compte la position des noyaux, notée R_A , leur charge Z_A , la densité électronique $\rho(r')$, et le nombre total de noyaux M .

Ce potentiel électrique, calculé selon cette méthode, est qualifié de "potentiel électrostatique de la molécule" [40]. Il caractérise la distribution de charges électriques dans la molécule, basée sur des positions de noyaux et une densité électronique déterminées, généralement dans le contexte d'une molécule isolé.

Partie II : Méthodes de modélisations moléculaires

La modélisation moléculaire est une discipline qui vise à étudier et à prédire le comportement des molécules à l'échelle atomique et moléculaire en utilisant des simulations informatiques et des méthodes de calcul. Elle joue un rôle crucial dans de nombreux domaines, y compris la chimie, la biologie, la pharmacologie, la science des matériaux, et bien d'autres[41].

Grâce aux progrès importants des moyens informatiques ces dernières années, la chimie a bénéficié d'outils informatiques dédiés à la représentation des molécules. Ainsi, que ce soit avec des superordinateurs ou de simples ordinateurs de bureau (PC ou Mac), tout chimiste peut désormais mener des études plus ou moins exhaustives et précises des systèmes moléculaires grâce à la modélisation moléculaire [42].

Autrefois, en raison de la faible puissance des ordinateurs, la modélisation moléculaire était limitée à l'étude de petits systèmes moléculaires. Cependant, avec l'amélioration des capacités de calcul, les chercheurs peuvent désormais travailler sur des systèmes contenant un nombre beaucoup plus élevé d'atomes, comme des molécules de solvant explicite comprenant des dizaines de milliers d'atomes, de vastes surfaces moléculaires et des protéines. Cette évolution a conduit à des temps de simulation considérablement allongés, de l'ordre de la nanoseconde, et à l'émergence d'un phénomène de compétition entre la taille des systèmes moléculaires et la puissance des superordinateurs disponibles [43].

Effectivement, la modélisation moléculaire utilise diverses méthodes de calcul théorique pour simuler des systèmes moléculaires. Ces méthodes comprennent notamment : la mécanique quantique (*ab initio* ou semi-empirique), la mécanique moléculaire (MM), la dynamique moléculaire (DM) et le docking moléculaire.

II.1. Mécanique moléculaire

La Mécanique Moléculaire (MM) est une méthode de calcul utilisée pour obtenir des données de géométrie et d'énergie moléculaires en se fondant sur les principes de la mécanique classique. Elle a été introduite en 1930, mais son développement a vraiment pris son essor dans les années 1960 avec l'accessibilité croissante et l'amélioration des performances des ordinateurs [43].

De plus, La mécanique moléculaire est une méthode appelée méthode de champ de force, ce dernier est un modèle mathématique basé sur les principes fondamentaux de la spectroscopie vibrationnelle ; l'énergie potentielle y est qualifiée d'énergie stérique ; pour une molécule donnée, sa valeur dépend du champ de force adopté [44]

Les champs de forces

Le développement de champs de forces est un champ très actif en chimie théorique « qui relève autant de l'art que de la science » [45]. Dans le cadre de la mécanique moléculaire, un champ de force *force field* (FF) est un ensemble de paramètres qui définissent les termes intermoléculaires et intramoléculaires. Les champs de force utilisés en chimie computationnelle sont sélectionnés en fonction des types de systèmes moléculaires et des objectifs spécifiques de l'étude. Selon la résolution et l'approche adoptée, on peut choisir entre des champs de force atomistiques et des champs de force à "gros grains" [46].

a) Champs de force Atomistiques : [46]

Parmi les champs de force atomistiques on trouve :

CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics),

AMBER (Assisted Model Building and Energy Refinement) et

MMFF (Merck Molecular Force Field).

- Ces champs de force prennent en compte tous les atomes du système moléculaire et leurs interactions individuelles, y compris les liaisons covalentes, les angles de liaison, les torsions, les interactions de van der Waals et les interactions électrostatiques.
- Ils fournissent une description détaillée des systèmes moléculaires et sont couramment utilisés pour étudier des systèmes de petite à moyenne taille, tels que les protéines, les enzymes, les polymères et les petites molécules organiques.

b) Champs de Force United-Atoms : [46]

Tel que le champ de force **GROMOS** (GRONingen MOlecular Simulation)

- Dans ces champs de force, certains groupements chimiques, tels que CH, CH₂, CH₃, sont traités comme des entités à part entière plutôt que des atomes individuels.

- Cela permet de réduire le nombre d'atomes dans le système et de simplifier ainsi les calculs, tout en conservant une certaine précision dans la modélisation.

c) Champs de Force à "Gros Grains" : [46]

Tel que le champ de force *MARTINI*

- Les champs de force à "gros grains" représentent les mini-clusters d'atomes comme des super-atomes ou pseudo-atomes.
- Ils traitent les groupes d'atomes comme des particules collectives, ce qui permet de réduire considérablement le nombre de degrés de liberté et de simplifier les calculs.
- Bien qu'ils offrent une résolution plus basse, ces champs de force sont très efficaces pour étudier des systèmes moléculaires de grande taille.

II.2. Dynamique moléculaire DM

La dynamique moléculaire classique repose sur la simulation des trajectoires des atomes et/ou des molécules dans le temps, en utilisant les principes de la mécanique classique [47, 48]. Pour ce faire, deux approximations simplificatrices sont généralement adoptées :

- Premièrement, la vitesse des particules est supposée être bien inférieure à celle de la lumière, ce qui est valide dans la plupart des conditions ordinaires [49].
- Deuxièmement, le mouvement des électrons est considéré comme étant beaucoup plus rapide que celui des noyaux, permettant ainsi de traiter les noyaux atomiques comme des particules classiques [49].

Dans la DM, la résolution des équations du mouvement se fait de manière discrète en utilisant la méthode des différences finies. Si à un instant donné t les positions, vitesses et accélérations d'une particule sont connues, on peut alors calculer les positions, vitesses et accélérations de cette particule à l'instant $t+\delta t$, où δt est le pas d'intégration. [50]

Plusieurs champs de force sont couramment utilisés dans les simulations de dynamique moléculaire, notamment AMBER, CHARMM et GROMOS.

II.2.1. Algorithmes

Il existe différents algorithmes pour réaliser les simulations de dynamique moléculaire. Parmi ces algorithmes on peut citer Verlet, Leap-Frog et Velocity-Verlet.

➤ **Algorithme de Verlet** [50,51]

L'algorithme de Verlet est une méthode numérique couramment employée pour résoudre les équations du mouvement de Newton. Principalement utilisé dans les simulations de dynamique moléculaire pour calculer les trajectoires des particules. La méthode de Verlet est un algorithme simple qui garantit une très faible dérivée de l'énergie tout en permettant le calcul précis des positions et des vitesses des particules à chaque pas de temps.

➤ **Algorithme de Verlet-Velocity** [50]

L'algorithme Verlet-Velocity utilise les positions et les vitesses à un instant donné pour intégrer les équations du mouvement. Contrairement à d'autres méthodes, il ne nécessite pas les vitesses du demi-pas. L'avantage de cet algorithme réside dans le fait que le calcul des positions, forces et vitesses requiert moins de mémoire que l'algorithme de Verlet.

➤ **Algorithme "leap-frog"** [50, 52]

La méthode de "Leap-Frog", également appelée "saut de grenouille", est en effet une méthode d'intégration numérique des équations du mouvement, souvent utilisée en dynamique moléculaire et dans d'autres simulations physiques. Elle est semblable à la méthode de Verlet-Velocity, mais elle en diffère par un calcul de la vitesse et de la position à un décalage d'un demi-pas, d'où son nom de saut de grenouille.

II.2.2. Ensemble thermodynamique

La dynamique moléculaire permet d'explorer d'une manière déterministe l'espace des phases accessible à un système. Divers ensembles thermodynamiques peuvent être simulés et chacun de ces ensembles est caractérisé par des grandeurs thermodynamiques qui peuvent être fixées au cours de la simulation. Il existe différents ensembles thermodynamiques tel que ensemble NVE, l'ensemble NVT et ensemble NPT.

a) Dynamique moléculaire dans l'ensemble canonique (NVT) [49, 50]

L'ensemble statistique échantillonné est alors l'ensemble canonique *NVT* : nombre de particules N , volume V et température T constants. La température dans un système moléculaire est définie à partir de l'énergie cinétique moyenne.

Dans un système non isolé, l'énergie totale peut changer, il faut un mécanisme pour maintenir une température constante. Il y a plusieurs façons de contrôler la température dans une simulation MD :

- Le scaling de vitesse dans la méthode de scaling de vitesse (appelée aussi thermostat Woodcock), l'écart de température T par rapport à la température souhaitée T_0 est corrigé à chaque pas de temps.
- La méthode des systèmes étendus (thermostat de Nosé-Hoover), l'idée de la méthode est d'introduire un degré de liberté supplémentaire agissant comme une force externe sur le système simulé.

b) Dynamique moléculaire dans l'ensemble isotherme-isobare (NPT) [49, 50]

L'ensemble à température constante et à pression constante *NPT* appelé aussi l'ensemble isotherme-isobare permet de contrôler à la fois la température et la pression. Dans un tel ensemble la conservation de la pression P du système est effectuée en couplant un barostat au système qui agit sur ce dernier en faisant varier le volume total du système. Cet ensemble peut également être utilisé pendant l'équilibrage pour atteindre la température et la pression désirées avant de passer à l'ensemble et à volume constant ou à énergie constante lorsque la collecte de données commence.

II.2.3. GROMACS [53]

GROMACS utilise une combinaison de méthodes éprouvées pour garantir des simulations moléculaires fiables et précises.

L'intégration des équations de mouvement est réalisée via l'algorithme optimisé **Leap-Frog Verlet**, permettant de calculer les positions et vitesses des particules en fonction des forces interatomiques appliquées.

Pour modéliser les interactions entre atomes et molécules, le champ de force **AMBER** a été sélectionné, car il offre une représentation précise des interactions liées (liaisons, angles,

torsions) et non-liées (électrostatiques et forces de van der Waals), ce qui est essentiel pour des systèmes biologiques complexes.

Avant de lancer la simulation dynamique moléculaire, une étape de minimisation d'énergie est indispensable pour préparer le système. À cette fin, l'algorithme **Steepest Descent** (descente la plus raide) est employé : il ajuste les positions des atomes en suivant la direction du gradient d'énergie, éliminant les chevauchements ou contraintes excessives. Une fois le système stabilisé et les critères de convergence atteints, la simulation peut être initiée pour explorer les dynamiques moléculaires et les interactions en détail.

II.3. Docking moléculaire

II.3.1. Principe de docking moléculaire

Le docking moléculaire connu aussi sous le nom « amarrage moléculaire », fait partie des méthodes de modélisation. C'est un outil de simulation utilisé pour comprendre et prédire la reconnaissance moléculaire, généralement entre un ligand et un récepteur [54].

Le docking moléculaire utilise les mêmes principes que les autres méthodes de modélisation, se distingue par sa capacité à simuler les interactions entre deux ou plusieurs molécules simultanément, contrairement à d'autres méthodes de modélisation moléculaire [55]. Cette caractéristique en fait l'une des techniques les plus importantes de la modélisation moléculaire. Pour ce faire, diverses méthodes et algorithmes ont été développés pour perfectionner cette technique [56].

Les logiciels de docking moléculaire reposent sur des algorithmes élaborés à partir d'une variété de données biophysiques telles que la résonance magnétique nucléaire (RMN), la fluorescence, ainsi que des données biochimiques incluant des modifications chimiques, des études de mutagénèse et de protéolyse. Ces algorithmes s'appuient également sur des données issues de différents complexes ligand-récepteur de référence, obtenues par RMN ou par diffraction des rayons X (DRX), ainsi que sur les principes de la physico-chimie et des calculs statistique [57].

Grâce à ces données et à ces principes, les logiciels de docking moléculaire sont capables de prédire le mode d'interaction entre un ligand et un récepteur en se basant exclusivement sur les structures tridimensionnelles de ces deux systèmes moléculaires. Le mode d'interaction est caractérisé en prenant en compte des aspects géométriques tels que

la position (coordonnées x, y, z), l'orientation et la conformation (angles de torsion) du récepteur [57].

Une simulation de docking moléculaire comprend essentiellement deux étapes : le docking et le scoring [55, 56].

Étape 1 : Docking (sélection)

Elle consiste à positionner le ligand dans le site actif de la protéine et à explorer différentes conformations, positions et orientations possibles (poses), en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables. Bien que cette étape puisse être effectuée manuellement, elle est le plus souvent réalisée de manière automatisée à l'aide d'algorithmes de docking, ce qui améliore la vitesse et la précision des simulations.

Étape 2 : Scoring (classement)

Elle vise à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente. Cette tâche est réalisée par des outils informatiques appelés fonctions de score. Ces fonctions évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques (et parfois entropiques) à la stabilisation du complexe protéine-ligand, puis classent ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables.

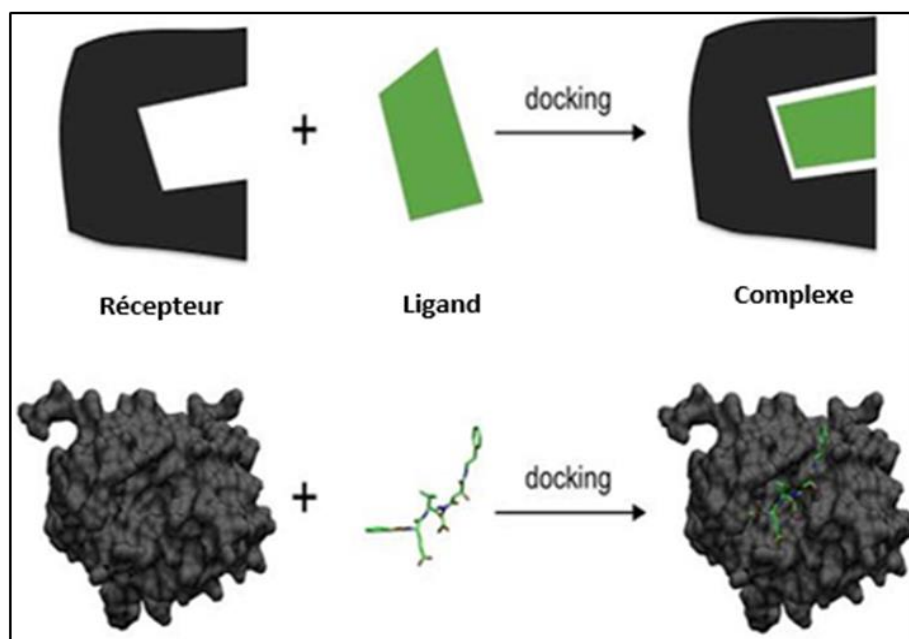


Figure 1 : Représentation schématique du docking moléculaire.

II.3.2. Types du docking moléculaire

La procédure d'amarrage protéine-ligand peut être généralement divisée en trois parties : l'amarrage du corps rigide, l'amarrage flexible et l'amarrage semi-flexible [58].

a) Docking rigide

Cette approximation traite à la fois le ligand et le récepteur comme rigides et n'explore que six degrés de liberté de translation et de rotation, excluant ainsi toute sorte de flexibilité. La plupart des suites d'amarrage utilisent dans un premier temps une procédure d'amarrage à corps rigide [59].

b) Docking flexible

Une approche plus courante consiste à modéliser la flexibilité du ligand en supposant qu'il existe un récepteur protéique rigide, en considérant ainsi uniquement l'espace conformationnel du ligand. Idéalement, la flexibilité des protéines devrait également être prise en compte, et certaines approches ont été développées à cet égard. Il existe trois catégories générales d'algorithmes pour traiter la flexibilité des ligands : les méthodes systématiques, les méthodes aléatoires ou stochastiques et les méthodes de simulation [58]. En raison de la grande taille des protéines et de leurs multiples degrés de liberté, leur flexibilité pourrait constituer le problème le plus difficile en matière d'amarrage moléculaire. Les méthodes permettant d'aborder la flexibilité des protéines peuvent être regroupées en : soft docking, flexibilité des chaînes latérales, relaxation moléculaire et docking d'ensembles protéiques [54].

c) Docking semi-flexible

L'approche courante, qui représente un compromis entre la précision et le temps de calcul, consiste à traiter le ligand comme flexible tandis que le récepteur est maintenu rigide pendant le docking. Ainsi, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoute aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce type de docking repose sur l'hypothèse simplificatrice que la conformation du récepteur utilisée est capable de reconnaître le ligand [58].

II.3.3. Fonctions Scoring

La fiabilité du docking moléculaire dépend de la précision de la fonction de scoring adoptée, qui peut guider et déterminer les poses de ligand lorsque des milliers de poses possibles de ligand sont générées. La fonction de score peut être utilisée pour déterminer le mode et le site de liaison d'un ligand, prédire l'affinité de liaison et identifier les pistes médicamenteuses potentielles pour une cible protéique donnée [60]. Elles permettent de déterminer la conformation qui représentera au mieux le ligand concerné. Cette conformation est appelée «première pose». L'autre utilisation des scores est de pouvoir classer les premières poses de chaque ligand afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses [58].

Dans le domaine des méthodes informatiques, un défi majeur réside dans le développement d'une fonction de scoring énergétique capable de décrire de manière rapide et précise l'interaction entre la protéine et le ligand [61,62]. Il existe quatre types fondamentaux de fonctions de scoring : les fonctions de scoring basées sur la physique (*physics-based*), empiriques (*empirical*), basées sur les connaissances (*knowledge-based*) et basées sur l'apprentissage automatique (*machine learning-based scoring functions*) [59]. Les trois premières fonctions de scoring classiques sont classées selon les types d'éléments caractéristiques et utilisent principalement la méthode de régression linéaire. Le quatrième type de fonction de scoring (*machine learning-based*) utilise la régression non linéaire [59].

II.3.4. Autodock vina

Autodock Vina est une version dérivée et optimisée d'Autodock, conçue pour intégrer la flexibilité des protéines dans le processus de docking grâce à des méthodes avancées de modélisation [63].

L'algorithme principal utilisé par Autodock Vina repose sur la méthode d'optimisation **Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno** (BFGS), qui permet une recherche efficace de l'énergie minimale dans un espace de solutions complexe [63].

Concernant la fonction de scoring, Vina s'inspire de **la fonction empirique** utilisée dans le programme **XScore** [59,63], en additionnant les contributions intramoléculaires et intermoléculaires du système. Cette fonction évalue l'affinité de liaison entre une protéine et un ligand en tenant compte de facteurs clés tels que les liaisons hydrogène, les effets

hydrophobes, les interactions stériques et autres forces énergétiques importantes. Pour estimer ces affinités, une analyse de régression linéaire est utilisée, en s'appuyant sur des données expérimentales d'affinités de liaison connues pour optimiser les énergies. Un exemple de fonction de scoring empirique, tel que X-score, peut être formulé de la manière suivante :

$$E_{bind} = w_0 + w_1\Delta G_{vdw} + w_2\Delta G_{Hbond} + w_3\Delta G_{rot} + w_4\Delta G_{hydro} \quad (16)$$

II.3.5. Interactions non-covalentes protéine-ligand

Les interactions protéine-ligand jouent un rôle important dans la plupart des processus biologiques. L'étude des interactions protéine-ligand continue d'être très importante dans les domaines des sciences de la vie, notamment en ce qui concerne la conception de médicaments et la pharmacologie. En effet, les protéines exécutent leurs fonctions en se liant à diverses molécules [64]. Elles interagissent avec des composés tant endogènes qu'exogènes, tels que les acides gras, les hormones, les co-solvants, les tensioactifs et une vaste gamme de médicaments. Par conséquent, il est essentiel d'explorer les mécanismes d'interaction entre les protéines et les ligands pour mieux comprendre les causes des maladies liées au mauvais repliement protéique, et faciliter la découverte, la conception et le développement de nouveaux médicaments.

L'interaction entre les protéines et les ligands est influencée par plusieurs forces fondamentales, notamment la liaison hydrogène, les forces de van der Waals, les interactions électrostatiques et l'interaction hydrophobe. Outre ces forces principales, d'autres interactions telles que les interactions cation- π et les interactions π - π jouent également un rôle significatif dans la liaison entre la protéine et le ligand.

a) Interaction électrostatique

L'interaction électrostatique est une interaction à longue portée, également désignée sous les termes de paires d'ions ou de ponts de sel (*salt bridge*). Elle est d'une grande importance dans plusieurs contextes, notamment l'interaction protéine-ligand et le repliement des protéines [65]. Cette interaction peut être classifiée en trois types : dipôle-dipôle, charge-dipôle et charge-charge.

L'interaction charge-charge se produit entre deux espèces chargées de manière opposée [66].

a) Liaison hydrogène

La liaison hydrogène (LH) est une liaison chimique de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements d'une molécule. Les liaisons hydrogène sont importantes pour le repliement protéique, les changements conformationnel et la reconnaissance protéine/ligand. La LH joue un rôle essentiel dans la formation des structures secondaires, tertiaires et quaternaires des protéines, entre autres fonctions [64]. Pour le ligand, les liaisons hydrogène affectent les propriétés physico-chimiques des molécules, telles que la solubilité et la perméabilité membranaire qui sont des éléments cruciaux dans le développement d'un médicament [67].

La LH consiste essentiellement dans l'interaction entre un atome d'hydrogène, lié de manière covalente à un atome donneur de liaison hydrogène, que l'on nomme donneur H, et à un atome accepteur de liaison hydrogène, que l'on appelle accepteur H. Le donneur H est un atome plus électronégatif que l'hydrogène, tel qu'un oxygène, un azote ou, dans une moindre mesure, un carbone, tandis que l'accepteur H est un hétéroatome polarisable [68].

Dans le contexte biologique, la LH est généralement plus faible que d'autres interactions. Sa force peut varier de 5 à 30 kJ/mol. En conséquence, elle peut se former ou se rompre facilement et rapidement au cours des processus de liaison, de repliement des protéines, de changements de conformation, etc [64].

b) Interaction de Van der Waals

En 1873, le physicien néerlandais Johannes Diderik van der Waals a formulé l'hypothèse que les forces intermoléculaires étaient essentielles pour décrire le comportement des gaz réels. Ces forces intermoléculaires, également appelées interactions de Van der Waals, jouent un rôle crucial dans divers types d'interactions, comme les interactions protéine-ligand, protéine-protéine et acide nucléique-ligand. Bien que les interactions de Van der Waals soient considérées comme relativement faibles par rapport aux interactions ioniques ou covalentes, elles sont indispensables pour contrôler les phénomènes de liaison [64].

On distingue trois types de ces interactions [68]:

- Interaction dipôle permanent – dipôle permanent ou effet d'orientation de Keesom : ce type d'interaction se développe entre deux molécules polaires.
- Interaction dipôle permanent – dipôle instantané ou effet d'induction de Debye : ce type d'interaction se développe entre une molécule polaire et une molécule polaire ou apolaire.
- Interaction dipôle instantané – dipôle instantané ou dispersion de London : ce type d'interaction se développe entre deux molécules quelconques (polaires ou apolaires).

En présence d'interactions covalentes, les interactions de Van der Waals peuvent induire des changements significatifs dans l'énergie libre [64].

c) Interactions hydrophobes [64, 67]

L'interaction hydrophobe est une interaction induite par l'entropie résultant du réarrangement des liaisons hydrogène entre les molécules de solvant autour d'un soluté apolaire. L'effet hydrophobe est la combinaison de l'effet entropique et de l'interaction de van der Waals. L'interaction hydrophobe fait référence au transfert de solutés non polaires dans une solution aqueuse sous certaines conditions. Les forces hydrophobes sont les principales forces motrices du repliement des protéines.

Plusieurs acides aminés hydrophobes se trouvent en contact à l'interface par complémentarité hydrophobe. Ces derniers entraînent une interaction stabilisante pour beaucoup de complexes. Les acides aminés non polaires tendent à créer entre elles des liaisons de type interactions "patch" hydrophobe.

Il existe différents types d'interactions hydrophobes. Parmi elles, on distingue

- ✓ celles qui se forment entre le centre d'un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'un amide ou de groupements méthyle. La géométrie de ce type d'interaction est légèrement moins contraignante, ce qui la distingue des interactions purement hydrophobes. Des études sur les interactions protéine-ligand ont révélé que ce type d'interaction est le plus courant.
- ✓ Un autre type d'interactions hydrophobes se forme lors de contacts hydrophobes non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatique ou aromatique, elles englobent la majeure partie du ligand. Lors du positionnement du ligand dans le site actif de la protéine,

les interactions hydrogène sont généralement prioritaires, suivies des interactions hydrophobes.

d) Liaison Halogène [67,69]

Les halogènes sont fréquemment utilisés pour ajuster les paramètres pharmacocinétiques des molécules en influençant les réactions métaboliques. Leur forte électronégativité leur permet de participer à diverses interactions. Une liaison halogène est similaire à une liaison hydrogène, à la différence que l'hydrogène est remplacé par un halogène. Toutefois, les charges partielles associées à ces deux types de liaisons sont très différentes : les halogènes ont une charge partielle négative, tandis que l'hydrogène a une charge partielle positive.

- ✓ Les composés contenant du chlore, du brome ou de l'iode peuvent également établir des interactions de type $R-X\cdots Y-R'$, où l'halogène X agit comme un acide de Lewis et Y peut être n'importe quel groupement donneur d'électron. Cette interaction spécifique est appelée « liaison halogène ».
- ✓ Les halogènes polarisés peuvent établir des interactions avec les électrons π du groupement carbonyle, adoptant ainsi une configuration en forme de T.

II.4. Propriétés pharmacocinétique ADMET

La pharmacocinétique PK (*pharmacokinetics*) est une branche de la pharmacologie qui étudie l'évolution des concentrations des médicaments administrés dans un organisme vivant en fonction du temps. La PK décrit l'effet de l'organisme sur la molécule médicamenteuse. Elle dépend de la dose administrée, le site d'administration et l'état physiologique de l'organisme [70]. La PK étudie les processus ADMET, un acronyme qui fait référence à « l'Absorption du médicament dans l'organisme, la Distribution dans les tissus et la circulation sanguine, le Métabolisme par des protéines, l'Élimination par les urines ou la bile, et l'étude de la Toxicité des médicaments » [71].

Les données ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) sont considérées comme un élément essentiel et d'une importance cruciale dans la découverte et du développement des médicaments depuis le stade initial de la conception du

médicament jusqu'au développement clinique ultime des candidats les plus prometteurs (produit commercialement fiable) [70].

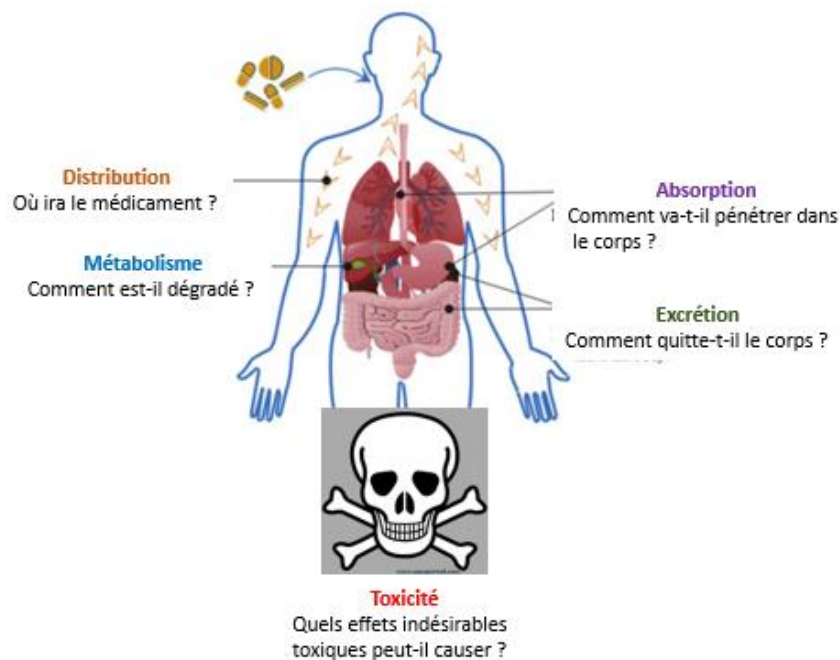


Figure 2 : Principes ADMET

II.4.1. Propriétés ADMET

1. Absorption (A)

L'absorption est un processus de transfert de masse qui implique le mouvement des médicaments du site d'administration vers la circulation sanguine. L'absorption d'un médicament est le premier processus qu'une molécule doit parcourir. Les propriétés du médicament et la voie d'administration influenceront sur la biodisponibilité globale du composé [70]. Les médicaments peuvent être délivrés dans la circulation systémique par différentes voies [72,73] à savoir

- ✓ Par voie orale (voie préférée des patients, la plus pratique, la plus sûre et la moins coûteuse et elle est le principal objectif de l'industrie pharmaceutique).
- ✓ Par voie parentérale (intramusculaire, intrapéritonéale et sous-cutanée).
- ✓ Par voie topique aux yeux (oculaire).
- ✓ Par voie cutanée ou transdermique.
- ✓ ...etc.

La voie d'administration du médicament doit être judicieusement évaluée dans la phase de découverte de celui-ci, en se basant sur la délivrance, l'indication thérapeutique et les propriétés de médicament [72]. Par ailleurs plusieurs facteurs influencent l'absorption orale du médicament tels que la surface d'absorption, la stabilité du pH, le flux sanguin intestinal, l'état physique du médicament (solution / forme posologique solide), la solubilité et la dissolution du médicament [71].

2. Distribution (D)

La distribution de médicaments dans tout le corps est importante. Elle détermine si la molécule provoquera une réponse pharmacologique. La distribution fait référence au mouvement réversible du composé d'un compartiment à un autre dans le corps [70]. Le sang et la lymphe sont les principaux tissus responsables de la distribution des molécules médicamenteuses. La capacité d'un médicament à se distribuer dans les tissus dépend de son affinité, de sa répartition dans les tissus, la force de liaison aux composants sanguins (globules rouges, protéines plasmatiques, plaquettes, etc.) et le volume physiologique du tissu [71].

3. Métabolisme (M)

Le métabolisme des médicaments décrit la biotransformation des substances pharmaceutiques de sorte qu'ils puissent être éliminés plus facilement (la plupart des médicaments ne peuvent pas être éliminés du corps sans biotransformation). Cette biotransformation est affectée par un certain nombre d'enzymes [71].

Le métabolisme se produit dans presque tous les organes du corps et comprend un ensemble diversifié de réactions chimiques dans quatre catégories générales : oxydation, réduction, conjugaison et hydrolyse. Le foie est l'organe du corps qui a la plus grande capacité métabolique, et par conséquent, le métabolisme des médicaments a été largement étudié dans le foie [74].

Les enzymes CYP ont été largement étudiées car elles jouent un rôle central dans le métabolisme des médicaments. Plus de 90% de tous les médicaments commercialisés sont soumis à des réactions métaboliques par au moins une des enzymes CYP. La grande famille d'enzymes impliquée dans le métabolisme des xénobiotiques sont appelés les cytochromes P450 (CYP450) [71].

La famille du cytochrome P450 (CYP) humain comprend 57 isozymes chez l'homme. Ces isozymes métabolisent environ les deux tiers des médicaments connus, dont 80% sont attribuables à cinq isozymes **1A2, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4** [75].

4. Elimination ou Excrétion (E)

L'excrétion est l'élimination irréversible du médicament inchangé et/ou des métabolites de l'organisme par toutes les voies possibles. L'élimination des médicaments se fait généralement par le foie (par clairance hépatique ou métabolisme et par excrétion biliaire), les reins (par excrétion rénale), les poumons, la peau, ... etc. En règle générale, les composés lipophiles ont tendance à être éliminés par le foie, tandis que les molécules hydrophiles subissent une clairance rénale. Il y a eu très peu de modélisation *in silico* ou de prédiction de l'excrétion. L'excrétion passive peut théoriquement être prédite [71].

5. Toxicité (T)

La toxicité est le degré auquel une substance peut endommager un organisme ou une sous-structure de l'organisme, comme les cellules et les organes, et reste l'une des raisons les plus importantes de l'échec du développement de médicaments à un stade avancé [76]. Dans l'industrie pharmaceutique, on craint que près de 20% (et peut-être plus) de l'attrition des médicaments pendant le développement préclinique et clinique soient dus à des problèmes de toxicité. En raison du nombre relativement faible de patients inscrits dans les essais cliniques, il est statistiquement difficile de détecter des effets indésirables rares. Ainsi, tous les problèmes de toxicité ne sont pas remarqués lors des essais cliniques, ce qui pose un problème majeur dans les efforts de découverte de médicaments d'aujourd'hui. Récemment, des méthodes de prédiction de la toxicité à haut débit à un stade précoce ont vu le jour et ont amélioré le taux de rendement des étapes de développement de médicaments [71].

De nombreux types de toxicités existent, y compris hépatique, hématologique, cardiovasculaire, cancérigène, tératogène, cytotoxique et phospholipides [76].

II.4.2. ADMET *in silico*

Pendant de nombreuses années, le processus de découverte de médicaments a impliqué une synthèse chimique et des tests *in vivo* avec optimisation des propriétés pharmacocinétiques reportées à des stades ultérieurs [71]. Les propriétés ADMET peuvent être prédites à partir des structures chimiques, de sorte qu'un grand nombre de composés peuvent être évalués avant d'être synthétisés et dosés.

Les groupes de recherche universitaires et les industries pharmaceutiques sont tous deux intéressés par la réduction du risque d'échec lors du développement de médicaments. Pour cette raison, il y a eu une prise de conscience croissante de l'importance de prédire et d'optimiser les propriétés (ADME/Tox) des composés chimiques. Plusieurs approches *in vitro* et *in silico* ont été conçues pour prédire certaines propriétés clés ADMET [71].

La modélisation *in silico* des propriétés ADMET peut être réalisée en utilisant de nombreuses approches différentes. La modélisation moléculaire et la modélisation des données [77]

- La modélisation moléculaire utilise des méthodes de mécanique quantique pour évaluer le potentiel d'interaction entre les petites molécules considérées et les protéines connues pour être impliquées dans les processus ADME, comme le cytochrome P450.
- La modélisation QSAR comprend plusieurs étapes :
 - ✓ la collecte de données (un ensemble d'apprentissage),
 - ✓ la génération et la sélection de descripteurs,
 - ✓ un modèle statistique (régression linéaire multiple, non linéaire « RF, SVM, RP », ...etc.) pour relier la propriété cible (par exemple, la solubilité) aux descripteurs,
 - ✓ génération du modèle,
 - ✓ validation du modèle sur un ensemble de test.

II.4.3. Outil ADMETlab

La recherche et développement (R&D) pharmaceutique représente un investissement à haut risque, souvent confronté à des échecs imprévus, parfois majeurs, au cours des différentes étapes de la découverte de médicaments [78]. Pour répondre à ces défis, Dong et ses collaborateurs ont développé ADMETlab, une plateforme en ligne conçue pour pallier les insuffisances en termes d'efficacité et de sécurité des candidats-médicaments. Reposant sur une base de données contenant près de 289 000 molécules, cette plateforme permet une évaluation rapide et systématique des propriétés ADME (absorption, distribution, métabolisme, excrétion) ainsi que de la toxicité (T) [78].

Pour prédire les propriétés ADMET *in silico*, la plateforme ADMETlab repose sur des modèles QSAR et utilise six algorithmes de modélisation différents pour développer des modèles de régression ou de classification, à savoir : random forests (RF), support vector machine (SVM), recursive partitioning regression (RP), partial least squares (PLS), naïve Bayes (NB) et decision tree (DT). [78] La plate-forme Web ADMETlab est conçue sur la base de Django en Python et est librement accessible sur <http://admet.scbdd.com>.

Paramètres ADMET calculés

1) Absorption

a) Human colon adenocarcinoma (Caco-2)

Caco-2 sont des cellules malignes (cancéreuses) qui se développent à partir de cellules épithéliales du côlon humain. L'une de ses propriétés les plus avantageuses est sa capacité à se différencier spontanément en une monocouche de cellules avec de nombreuses propriétés typiques des entérocytes absorbants que l'on trouve dans l'intestin grêle [79].

Cependant, les cellules Caco-2 ont été d'une grande utilité dans les études d'absorption intestinale en raison de leur capacité exclusive à modéliser les caractéristiques d'absorption humaine et Caco-2 est le modèle de perméabilité intestinale le plus couramment utilisé [80].

➤ Human intestinal absorption (HIA)

L'absorption intestinale humaine (HIA) est l'une des propriétés ADMET les plus importantes. Elle fait référence au processus dont les médicaments administrés par voie orale sont absorbés du système gastro-intestinal dans la circulation sanguine du corps humain. HIA est également l'une des étapes clés du transport des médicaments vers leurs cibles. Pourrait être un indicateur alternatif de la biodisponibilité orale de la plupart des composés (64%) [81].

2) Distribution

a) Plasma Protein Binding (PPB)

Les protéines plasmatiques constituent une fraction importante du plasma (8%) et les médicaments se lient généralement à ces protéines de manière réversible. Cette liaison réversible du médicament aux protéines dans le plasma est appelé la liaison aux protéines plasmatiques (PPB). L'efficacité d'un médicament peut être affectée par le degré auquel il se lie. Si le médicament a une affinité pour une cible par rapport à la protéine plasmatique, le médicament se répartira dans la cible [71]. La liaison aux protéines plasmatiques (PPB) influence les paramètres pharmacocinétiques, en particulier le volume de distribution et la clairance.

b) The blood–Brain-Barrier (BBB)

La barrière hémato-encéphalique est une propriété essentielle pour les médicaments qui ciblent le système nerveux central (SNC) tels que les anxiolytiques et les antidépresseurs [71]. La BBB agit comme une frontière supplémentaire entre le sang circulant et l'espace extracellulaire du cerveau [81]. La barrière est très sélective, ce qui signifie qu'elle empêche l'entrée dans le cerveau de la plupart des médicaments à partir du sang. La présence du BBB rend difficile le développement de nouveaux traitements des maladies du cerveau, ou de nouveaux radio-pharmaceutiques pour la neuro-imagerie du cerveau [81].

3) Métabolisme

a) CYP450 Substrat

La propriété CYP450 Substrat fait référence à un médicament ou à un produit chimique qui subira une réaction chimique ou métabolique avec l'enzyme CYP450 pour produire des produits ou des métabolites différents du substrat d'origine qui peuvent être toxiques.

b) CYP450 Inhibitor

La propriété CYP450 inhibiteur fait référence à un médicament ou à un produit chimique capable de se lier à l'enzyme CYP450 et agit pour stopper ou diminuer l'activité de l'enzyme.

4) Toxicité

a) Human Ether-a-go-go-related Gene (hERG)

Human Ether-a-go-go-related Gene (hERG) est un gène qui code la protéine qui forme la sous-unité alpha du canal potassique Kv11.1 [82].

Les canaux potassiques hERG sont essentiels à l'activité électrique normale du cœur. Des mutations héréditaires du gène hERG provoquent un syndrome du QT long, un trouble qui prédispose les individus à des arythmies potentiellement mortelles [83]. L'arythmie peut également être induite par un blocage des canaux hERG par un groupe étonnamment diversifié de médicaments [84]. Cet effet secondaire est une raison courante d'échec du médicament dans les essais précliniques. Pour cette raison, il est maintenant courant dans l'industrie pharmaceutique de tester des composés pour l'activité des canaux hERG au début du processus de développement de médicaments [84].

b) Dose létale médiane LD50

L'évaluation de la toxicité aiguë d'une substance est effectivement cruciale lors du développement et de la découverte de nouveaux médicaments. La LD50 est un indicateur utilisé pour estimer la toxicité aiguë d'une substance et est définie comme la dose qui entraîne la mort de 50% des animaux de laboratoire exposés à cette substance lors d'un essai spécifique [85].

Lorsqu'on détermine la LD50, plusieurs facteurs doivent être pris en compte [85]:

1. **Type d'essai** : Les tests de LD50 sont généralement effectués sur des animaux de laboratoire, comme des souris, des rats ou des lapins. Cependant, il est important de noter que l'extrapolation des données à partir d'animaux vers les humains peut parfois être problématique en raison des différences interspécifiques.
2. **Durée de l'exposition** : La durée pendant laquelle les animaux sont exposés à la substance peut également influencer la LD50.
3. **Observations et suivi** : Pendant l'essai, les animaux sont observés attentivement pour détecter tout signe de toxicité, tels que des changements de comportement, des symptômes physiques, ou la mortalité.

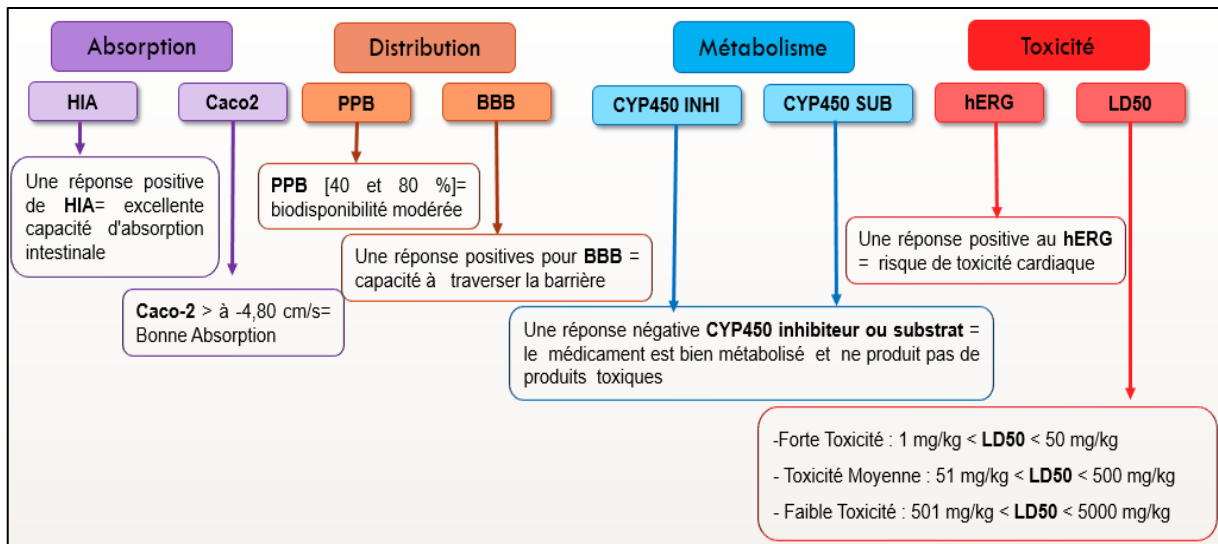


Figure 3 : Suggestion de valeur pour chaque paramètre ADMETLAB calculer

Références Bibliographiques

- [1] Alexander, H. *Quantum Mechanics in Drug Discovery*, ISBN: 978-1-0716-0282-9. <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0282-9>
- [2] Lagarde, N. Méthodes de Criblage Virtuel in Silico : Importance de l'évaluation et Application à La Recherche de Nouveaux Inhibiteurs de l'interleukine 6. These de doctorat, Paris, CNAM, 2014.
- [3] Chang, Y.; Hawkins, B. A.; Du, J. J.; Groundwater, P. W.; Hibbs, D. E.; Lai, F. A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics*, **2022**, 15 (1), 49. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010049>.
- [4] Śledź, P.; Caflisch, A. Protein Structure-Based Drug Design: From Docking to Molecular Dynamics. *Curr Opin Struct Biol*, **2018**, 48, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.10.010>.
- [5] Dreizler, R. M.; Gross, E. K. U. *Density Functional Theory: An Approach to the Quantum Many-Body Problem*; Springer Science & Business Media, **2012**. ISBN : 978-3-642-86105-5
- [6] Parr, R. G.; Yang, W. Density-Functional Theory of the Electronic Structure of Molecules. *Annual Review of Physical Chemistry*, **1995**, 46 (Volume 46,), 701–728. <https://doi.org/10.1146/annurev.pc.46.100195.003413>.
- [7] Kohn, W.; Sham, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.*, **1965**, 140 (4A), A1133–A1138. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>.
- [8] Kohn, W.; Sham, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.*, **1965**, 140 (4A), A1133–A1138. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>.
- [9] Becke, A. D. Density-functional Thermochemistry. I. The Effect of the Exchange-only Gradient Correction. *The Journal of Chemical Physics*, **1992**, 96 (3), 2155–2160. <https://doi.org/10.1063/1.462066>.
- [10] Slater, J. C. Atomic Shielding Constants. *Phys. Rev.*, **1930**, 36 (1), 57–64. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.36.57>.
- [11] Boys, S. F.; Egerton, A. C. Electronic Wave Functions II. A Calculation for the Ground State of the Beryllium Atom. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, **1997**, 201 (1064), 125–137. <https://doi.org/10.1098/rspa.1950.0047>.
- [12] Clementi, E. *Modern Techniques in Computational Chemistry: MOTTECC-91*; Springer Science & Business Media, **1991**. ISBN: 978-90-72199-10-2
- [13] Boys, S. F.; Bernardi, F. The Calculation of Small Molecular Interactions by the Differences of Separate Total Energies. Some Procedures with Reduced Errors. *Molecular Physics*, **1970**, 19 (4), 553–566. <https://doi.org/10.1080/00268977000101561>.

- [14] Hehre, W. J.; Ditchfield, R.; Pople, J. A. Self—Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian—Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. *The Journal of Chemical Physics*, **1972**, *56* (5), 2257–2261. <https://doi.org/10.1063/1.1677527>.
- [15] Gordon, M. S.; Binkley, J. S.; Pople, J. A.; Pietro, W. J.; Hehre, W. J. Self-consistent molecular-orbital methods. 22. Small split-valence basis sets for second-row elements. <https://doi.org/10.1021/ja00374a017>.
- [16] Hohenberg, P.; Kohn, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.*, **1964**, *136* (3B), B864–B871. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>.
- [17] Parr, R. G.; Yang, W. Density-Functional Theory of the Electronic Structure of Molecules. *Annual Review of Physical Chemistry*, **1995**, *46* (Volume 46.), 701–728. <https://doi.org/10.1146/annurev.pc.46.100195.003413>.
- [18] Geerlings, P.; De Proft, F.; Langenaeker, W. Conceptual Density Functional Theory. *Chem. Rev.*, **2003**, *103* (5), 1793–1874. <https://doi.org/10.1021/cr990029p>.
- [19] Parr, R. G.; Pearson, R. G. Absolute Hardness: Companion Parameter to Absolute Electronegativity. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105* (26), 7512–7516. <https://doi.org/10.1021/ja00364a005>.
- [20] Parr, R. G. Density Functional Theory. *Annual Review of Physical Chemistry*, **1983**, *34*, 631–656. <https://doi.org/10.1146/annurev.pc.34.100183.003215>.
- [21] Koopmans, T. Über Die Zuordnung von Wellenfunktionen Und Eigenwerten Zu Den Einzelnen Elektronen Eines Atoms. *Physica*, **1934**, *1* (1), 104–113. [https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(34\)90011-2](https://doi.org/10.1016/S0031-8914(34)90011-2).
- [22] Pearson, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85* (22), 3533–3539. <https://doi.org/10.1021/ja00905a001>.
- [23] Pearson, R. G. Acids and Bases. *Science*, **1966**, *151* (3707), 172–177. <https://doi.org/10.1126/science.151.3707.172>.
- [24] Pearson, R. G.; Songstad, Jon. Application of the Principle of Hard and Soft Acids and Bases to Organic Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89* (8), 1827–1836. <https://doi.org/10.1021/ja00984a014>.
- [25] Parr, R. G.; Pearson, R. G. Absolute Hardness: Companion Parameter to Absolute Electronegativity. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, *105* (26), 7512–7516. <https://doi.org/10.1021/ja00364a005>.
- [26] Parr, R. G.; Szentpály, L. v.; Liu, S. Electrophilicity Index. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121* (9), 1922–1924. <https://doi.org/10.1021/ja983494x>.

- [27] Domingo, L. R.; Chamorro, E.; Pérez, P. Understanding the Reactivity of Captodative Ethylenes in Polar Cycloaddition Reactions. A Theoretical Study. *J. Org. Chem.*, **2008**, *73* (12), 4615–4624. <https://doi.org/10.1021/jo800572a>.
- [28] Jaramillo, P.; Domingo, L. R.; Chamorro, E.; Pérez, P. A Further Exploration of a Nucleophilicity Index Based on the Gas-Phase Ionization Potentials. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, **2008**, *865* (1), 68–72. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2008.06.022>.
- [29] Domingo, L. R.; Ríos-Gutiérrez, M.; Pérez, P. Applications of the Conceptual Density Functional Theory Indices to Organic Chemistry Reactivity. *Molecules*, **2016**, *21* (6), 748. <https://doi.org/10.3390/molecules21060748>.
- [30] Domingo, L. R.; Pérez, P.; Sáez, J. A. Understanding the Local Reactivity in Polar Organic Reactions through Electrophilic and Nucleophilic Parr Functions. *RSC Adv.*, **2013**, *3* (5), 1486–1494. <https://doi.org/10.1039/C2RA22886F>.
- [31] Chamorro, E.; Pérez, P.; Domingo, L. R. On the Nature of Parr Functions to Predict the Most Reactive Sites along Organic Polar Reactions. *Chemical Physics Letters*, **2013**, *582*, 141–143. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2013.07.020>.
- [32] Reed, A. E.; Weinstock, R. B.; Weinhold, F. Natural Population Analysis. *The Journal of Chemical Physics*, **1985**, *83* (2), 735–746. <https://doi.org/10.1063/1.449486>.
- [33] Weinhold, F.; Landis, C. R. *Valency and Bonding: A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective*; Cambridge University Press, **2005**. ISBN: 0521831288, 9780521831284
- [34] Weinhold, F.; Carpenter, J. E. The Natural Bond Orbital Lewis Structure Concept for Molecules, Radicals, and Radical Ions. In *The Structure of Small Molecules and Ions*; Naaman, R., Vager, Z., **1988**; 227–236. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-7424-4_24.
- [35] Lewis, G. N. THE ATOM AND THE MOLECULE. *J. Am. Chem. Soc.*, **1916**, *38* (4), 762–785. <https://doi.org/10.1021/ja02261a002>.
- [36] Barrante, J. R. *Applied Mathematics for Physical Chemistry: Third Edition*; Waveland Press, **2016**. ISBN: 978-1478632474
- [37] Theoretical and Computational Chemistry. In *Theoretical and Computational Chemistry*; Murray, J. S., Sen, K., Eds.; Molecular Electrostatic Potentials; Elsevier, **1996**; 3, [https://doi.org/10.1016/S1380-7323\(13\)60011-4](https://doi.org/10.1016/S1380-7323(13)60011-4).
- [38] Köster, A. M.; Leboeuf, M.; Salahub, D. R. Molecular Electrostatic Potentials from Density Functional Theory. In *Theoretical and Computational Chemistry*; Murray, J. S., Sen, K., Eds.; Molecular Electrostatic Potentials; Elsevier, 1996; 3, 105–142. [https://doi.org/10.1016/S1380-7323\(96\)80042-2](https://doi.org/10.1016/S1380-7323(96)80042-2).

- [39] Politzer, P.; Murray, J. S. The Fundamental Nature and Role of the Electrostatic Potential in Atoms and Molecules. *Theor Chem Acc*, **2002**, *108* (3), 134–142. <https://doi.org/10.1007/s00214-002-0363-9>.
- [40] Politzer, P.; Murray, J. S. Molecular Electrostatic Potentials: Significance and Applications. In *Chemical Reactivity in Confined Systems*; John Wiley & Sons, Ltd, **2021**; 113–134. <https://doi.org/10.1002/9781119683353.ch7>.
- [41] van Gunsteren, W. F.; Berendsen, H. J. C. Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, **1990**, *29* (9), 992–1023. <https://doi.org/10.1002/anie.199009921>.
- [42] Leach, A. *Molecular Modelling: Principles and Applications*, 2nd edition.; Pearson: Harlow, 2001. ISBN: 978-0582382107
- [43] Vanommeslaeghe, K.; Guvench, O.; MacKerell, A. D. Molecular Mechanics. *Curr Pharm Des*, **2014**, *20* (20), 3281–3292. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990600>.
- [44] Allinger, N. L.; Zhou, X.; Bergsma, J. Molecular Mechanics Parameters. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, **1994**, *312* (1), 69–83. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(09\)80008-0](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(09)80008-0).
- [45] Halgren, T. A. Potential Energy Functions. *Current Opinion in Structural Biology*, **1995**, *5* (2), 205–210. [https://doi.org/10.1016/0959-440X\(95\)80077-8](https://doi.org/10.1016/0959-440X(95)80077-8).
- [46] Kmiecik, S.; Gront, D.; Kolinski, M.; Wieteska, L.; Dawid, A. E.; Kolinski, A. Coarse-Grained Protein Models and Their Applications. *Chem. Rev.*, **2016**, *116* (14), 7898–7936. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00163>.
- [47] Brooks, C. L. Computer Simulation of Liquids. *J Solution Chem*, **1989**, *18* (1), 99–99. <https://doi.org/10.1007/BF00646086>.
- [48] Frenkel, D.; Smit, B. *Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications*; Elsevier, **2023**. ISBN: 9780323913188.
- [49] Ganfoud, N. Simulation Moléculaire d'électrolytes Aqueux Dans Les Carbones Nanoporeux : Énergie Bleue et Désalinisation de l'eau. These de doctorat, Sorbonne université, **2019**.
- [50] Janin Joël. *Biologie structurale: principes et méthodes biophysiques / Joël Janin, Muriel Delepierre*; Collection Méthodes; Hermann: Paris, **1994**. ISBN: 2705662324, 9782705662325.
- [51] Verlet, L. Computer "Experiments" on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules. *Phys. Rev.*, **1967**, *159* (1), 98–103. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.159.98>.
- [52] Durrant, J. D.; McCammon, J. A. Molecular Dynamics Simulations and Drug Discovery. *BMC Biol*, **2011**, *9* (1), 71. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-71>.
- [53] Van Der Spoel, D et al, GROMACS: fast, flexible, and free, *J Comput Chem*. **2005**; *26*(16), 1701-18. <https://doi.org/10.1002/jcc.20291>

- [54] Martz, F. Développement d'une Nouvelle Méthode de Docking Basée Sur Les Mécanismes Enzymatiques et Guidée Par Des Groupes Prosthétiques. These de doctorat, Paris 11, **2014**.
- [55] Sousa, S. F.; Fernandes, P. A.; Ramos, M. J. Protein-Ligand Docking: Current Status and Future Challenges. *Proteins*, **2006**, 65 (1), 15–26. <https://doi.org/10.1002/prot.21082>.
- [56] Moitessier, N.; Englebienne, P.; Lee, D.; Lawandi, J.; Corbeil, C. R. Towards the Development of Universal, Fast and Highly Accurate Docking/Scoring Methods: A Long Way to Go. *Br J Pharmacol*, **2008**, 153. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707515>.
- [57] Morris, G. M.; Lim-Wilby, M. Molecular Docking. *Methods Mol Biol*, **2008**, 443, 365–382. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19.
- [58] Hernández-Santoyo, A.; Tenorio-Barajas, A. Y.; Altuzar, V.; Vivanco-Cid, H.; Mendoza-Barrera, C.; Protein-Protein and Protein-Ligand Docking. In *Protein Engineering - Technology and Application*; IntechOpen, 2013. <https://doi.org/10.5772/56376>.
- [59] Kuntz, I. D.; Blaney, J. M.; Oatley, S. J.; Langridge, R.; Ferrin, T. E. A Geometric Approach to Macromolecule-Ligand Interactions. *J Mol Biol*, **1982**, 161 (2), 269–288. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90153-x](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90153-x).
- [60] Li, J.; Fu, A.; Zhang, L. An Overview of Scoring Functions Used for Protein-Ligand Interactions in Molecular Docking. *Interdiscip Sci*, **2019**, 11 (2), 320–328. <https://doi.org/10.1007/s12539-019-00327-w>.
- [61] Jain, A. N. Scoring Functions for Protein-Ligand Docking. *Curr Protein Pept Sci*, **2006**, 7 (5), 407–420. <https://doi.org/10.2174/138920306778559395>.
- [62] Huang, S.-Y.; Grinter, S. Z.; Zou, X. Scoring Functions and Their Evaluation Methods for Protein-Ligand Docking: Recent Advances and Future Directions. *Phys Chem Chem Phys*, **2010**, 12 (40), 12899–12908. <https://doi.org/10.1039/c0cp00151a>.
- [63] Elkaïm, J. ; « Drug Design In Silico Criblage Virtuel De Protéines À Visée Thérapeutique », Thèse de doctorat, université De Bordeaux, **2011**.
- [64] Chandel, T. I.; Zaman, M.; Khan, M. V.; Ali, M.; Rabbani, G.; Ishtikhar, M.; Khan, R. H. A Mechanistic Insight into Protein-Ligand Interaction, Folding, Misfolding, Aggregation and Inhibition of Protein Aggregates: An Overview. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2018**, 106, 1115–1129. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.185>.
- [65] Burley, S. K.; Petsko, G. A. Electrostatic Interactions in Aromatic Oligopeptides Contribute to Protein Stability. *Trends in Biotechnology*, **1989**, 7 (12), 354–359. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(89\)90036-X](https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90036-X).

- [66] Bronowska, A. K. Thermodynamics of Ligand-Protein Interactions: Implications for Molecular Design. In *Thermodynamics - Interaction Studies - Solids, Liquids and Gases*; IntechOpen, 2011. <https://doi.org/10.5772/19447>.
- [67] Desaphy, J. L'analyse structurale de complexes protéine/ligand et ses applications en chémogénomique. thèse de doctorat, Université de Strasbourg, **2013**.
- [68] Samah BOUCHAGRA ; MODELISATION DES INTERACTIONS PROTEINE-PETITES MOLECULES : ETUDE DE LA RELATION STRUCTURE – FONCTION DANS LE CAS DES LIPASES. Thèse de doctorat, UNIVERSITE BADJI MOKHTAR- ANNABA, **2018**.
- [69] Wilcken, R.; Zimmermann, M. O.; Lange, A.; Joerger, A. C.; Boeckler, F. M. Principles and Applications of Halogen Bonding in Medicinal Chemistry and Chemical Biology. *J Med Chem*, **2013**, 56 (4), 1363–1388. <https://doi.org/10.1021/jm3012068>.
- [70] Lagorce, D.; Reynes, C.; Camproux, A.-C.; Miteva, M. A.; Sperandio, O.; Villoutreix, B. O. In Silico ADME/Tox Predictions. In *ADMET for Medicinal Chemists*; John Wiley & Sons, Ltd, 2011; pp 29–124. <https://doi.org/10.1002/9780470915110.ch2>.
- [71] *ADME Processes in Pharmaceutical Sciences*. **2018**, ISBN : 978-3-319-99593-9.
- [72] Hou, T. In Silico Predictions of ADME/T Properties: Progress and Challenge. *Comb Chem High Throughput Screen*, **2011**, 14 (5), 306. <https://doi.org/10.2174/138620711795508386>.
- [73] Hou, T.; Wang, J.; Zhang, W.; Wang, W.; Xu, X. Recent Advances in Computational Prediction of Drug Absorption and Permeability in Drug Discovery. *Curr Med Chem*, **2006**, 13 (22), 2653–2667. <https://doi.org/10.2174/092986706778201558>.
- [74] Metabolism: Principle, Methods, and Applications. In *Translational ADMET for Drug Therapy*; John Wiley & Sons, Ltd, **2015**; 63–110. <https://doi.org/10.1002/9781118838440.ch3>.
- [75] Samer, C. F.; Lorenzini, K. I.; Rollason, V.; Daali, Y.; Desmeules, J. A. Applications of CYP450 Testing in the Clinical Setting. *Mol Diagn Ther*, **2013**, 17 (3), 165–184. <https://doi.org/10.1007/s40291-013-0028-5>.
- [76] van de Waterbeemd, H.; Gifford, E. ADMET in Silico Modelling: Towards Prediction Paradise? *Nat Rev Drug Discov*, **2003**, 2 (3), 192–204. <https://doi.org/10.1038/nrd1032>.
- [77] Dong, J., Wang, NN., Yao, ZJ. et al. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *J Cheminform*, **2018**, 10, 29. <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0283-x>
- [78] Lea, T. Caco-2 Cell Line. In *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models*; Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D., Wichers, H., Eds.; Springer: Cham (CH), **2015**. ISBN-13: 978-3-319-15791-7

- [79] Artursson, P.; Palm, K.; Luthman, K. Caco-2 Monolayers in Experimental and Theoretical Predictions of Drug Transport. *Adv Drug Deliv Rev*, **2001**, *46* (1–3), 27–43. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00128-9](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00128-9).
- [80] Wang, N.-N.; Huang, C.; Dong, J.; Yao, Z.-J.; Zhu, M.-F.; Deng, Z.-K.; Lv, B.; Lu, A.-P.; Chen, A. F.; Cao, D.-S. Predicting Human Intestinal Absorption with Modified Random Forest Approach: A Comprehensive Evaluation of Molecular Representation, Unbalanced Data, and Applicability Domain Issues. *RSC Adv.*, **2017**, *7* (31), 19007–19018. <https://doi.org/10.1039/C6RA28442F>.
- [81] Troupel, T. *Etude bibliographique du rôle de la barrière hémato-encéphalique dans la physiopathologie des affections ischémiques cérébrales*; **2017**.
- [82] Zhang, C.; Zhou, Y.; Gu, S.; Wu, Z.; Wu, W.; Liu, C.; Wang, K.; Liu, G.; Li, W.; Lee, P. W.; et al. In Silico Prediction of hERG Potassium Channel Blockage by Chemical Category Approaches †. *Toxicol Res (Camb)*, **2016**, *5* (2), 570–582. <https://doi.org/10.1039/c5tx00294j>.
- [83] Curran, M. E.; Splawski, I.; Timothy, K. W.; Vincent, G. M.; Green, E. D.; Keating, M. T. A Molecular Basis for Cardiac Arrhythmia: HERG Mutations Cause Long QT Syndrome. *Cell*, **1995**, *80* (5), 795–803. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90358-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90358-5).
- [84] Sanguinetti, M. C.; Tristani-Firouzi, M. hERG Potassium Channels and Cardiac Arrhythmia. *Nature*, **2006**, *440* (7083), 463–469. <https://doi.org/10.1038/nature04710>.
- [85] Walum, E. Acute Oral Toxicity. *Environ Health Perspect*, **1998**, *106* (Suppl 2), 497–503. <https://doi.org/10.2307/3433801>

CHAPITRE III :
APPLICATION, RESULTATS ET DISCUSSIONS

Conception *in silico* basée sur la chimie quantique, docking moléculaire, dynamique moléculaire et prédictions ADMET des dérivés de la ciprofloxacine comme nouveaux agents potentiels antibactériens et antimycobactériens

I. Objectifs

Récemment, l'émergence de résistances multiples aux médicaments chez les agents pathogènes a posé de graves problèmes pour la santé humaine, rendant ainsi la ciprofloxacine de moins en moins efficace. Par conséquent, il est crucial de développer de nouveaux composés présentant des activités pharmacologiques améliorées, une efficacité accrue et un profil de sécurité favorable [1]. Pour résoudre ce grave problème, la modification des médicaments et le développement de dérivés efficaces constituent une alternative prometteuse [2].

Dans la chimie médicinale contemporaine, depuis l'introduction du 5-fluorouracile, le remplacement d'atomes d'hydrogène par des atomes de fluor est une stratégie couramment utilisée pour améliorer la stabilité métabolique, la biodisponibilité et les interactions protéine-ligand [3, 4]. Lorsque le groupe CF₃ est associé à diverses molécules organiques, il a un impact significatif sur les colorants, les pigments, les produits agrochimiques, pharmaceutiques, les polymères et la chimie des matériaux [5]. De même, la modification des médicaments par l'ajout de groupes alkyle, alcoxy et hydroxyle joue un rôle essentiel dans l'amélioration des performances des médicaments [6]. Le groupe carboxyle peut être impliqué dans la formation de ponts salins, ce qui contribue à la stabilité et à la spécificité des interactions médicament-récepteur. Cette interaction est essentielle pour optimiser l'efficacité du médicament, comme cela se manifeste dans divers agents thérapeutiques. En outre, les groupes carboxyles peuvent influencer le métabolisme du médicament, comme dans le cas des pro-médicaments, où le groupe carboxyle peut être activé par conversion enzymatique [7].

Au cours des 30 dernières années, de nombreux dérivés de la ciprofloxacine présentant des profils d'activité antituberculeux, antifongique, anti-VIH, antipaludique, antitumoral, etc., ont été découverts [8-12]. GF Zhang et al. ont résumé les progrès récents dans la découverte de dérivés de la ciprofloxacine en tant qu'agents antibactériens.

Dans cette étude, nous avons utilisé la méthode Computer-Aided Drug Design (CADD) pour développer de nouveaux agents antibactériens et antimycobactérien basés sur la ciprofloxacine. La ciprofloxacine représente une base idéale pour développer des dérivés aux propriétés optimisées. Grâce à sa structure chimique flexible et à ses groupes fonctionnels modulables, elle offre de nombreuses possibilités de modification visant à améliorer son affinité pour des cibles spécifiques. Nous avons examiné deux structures de la ciprofloxacine : la forme zwitterionique (**Cip-A**) et la forme non zwitterionique (**Cip-B**).

La ciprofloxacine constitue un excellent point de départ pour la conception de dérivés aux propriétés optimisées. Sa structure chimique, flexible et dotée de groupes fonctionnels modulables, offre des opportunités de modification pour renforcer son affinité avec la cible. L'objectif d'examiner ces deux formes est de comprendre comment la structure moléculaire de la ciprofloxacine affecte ses propriétés physico-chimiques, telles que, l'affinité de liaison avec les cibles biologiques, comme les enzymes bactériennes.

En utilisant ces structures comme point de départ, on a prédit et conçu 34 nouvelles molécules pour évaluer leurs activités antibactérienne et antimycobactérienne (figure 2 et 3).

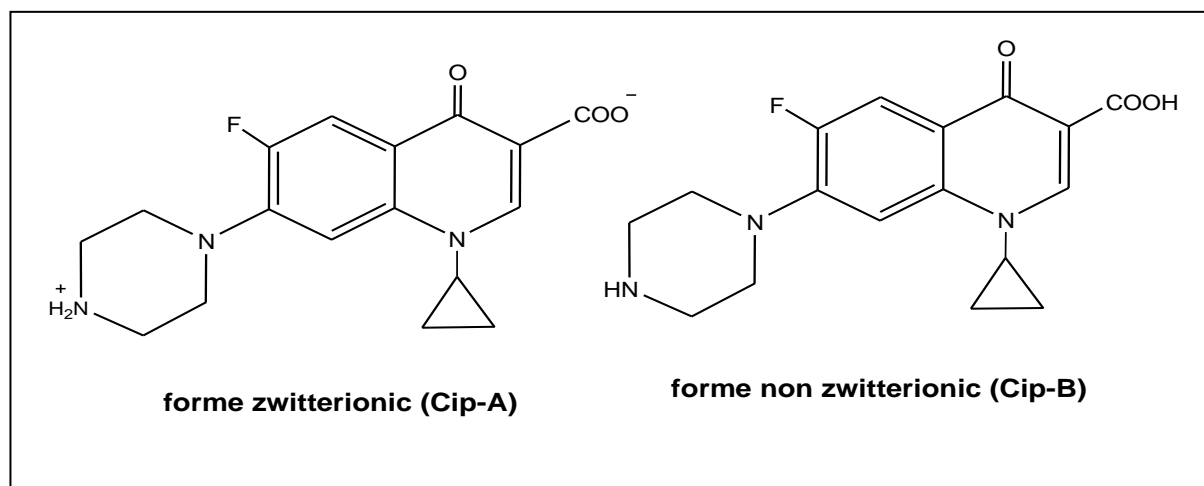


Figure 1. Représentation chimique de la forme zwitterion **Cip-A** et de la forme non zwitterion **Cip-B**.

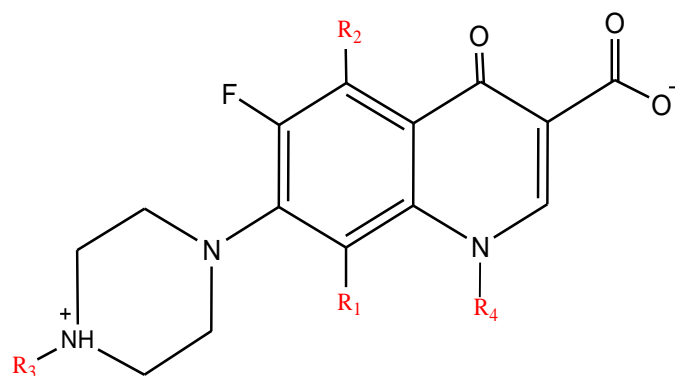
Pour mieux comprendre les interactions médicamenteuses, nous avons effectué des docking moléculaires pour étudier l'énergie de liaison, le mode d'interaction avec les résidus d'acides aminés des protéines réceptrices, à savoir la Thymidylate Kinase, la biotine carboxylase et la BlaC-E166A.

Le choix des cibles alternatives, telles que la thymidylate kinase (*S. aureus*), la biotine carboxylase (*E. coli*) et la β -lactamase C (*M. tuberculosis*), repose sur leur rôle stratégique dans des voies biologiques clés et leur pertinence face aux résistances actuelles. Ces enzymes, impliquées respectivement dans la synthèse de l'ADN, des acides gras et la dégradation des β -lactamines, offrent des opportunités d'inhibition ciblée, moins vulnérables aux résistances connues. En diversifiant les mécanismes d'action, cette approche ne se limite pas à l'inhibition de l'ADN gyrase, mais renforce l'efficacité des dérivés en explorant des voies métaboliques complémentaires, ouvrant ainsi la voie à des traitements antibactériens innovants.

Grâce aux progrès technologiques, les simulations de dynamique moléculaire (MD) se sont imposées comme un outil essentiel dans la découverte de nouveaux médicaments. Les propriétés dynamiques ont été analysées en examinant les déviations quadratiques moyennes (RMSD), les fluctuations quadratiques moyennes (RMSF) et le rayon de giration (R_g).

De plus, nous avons estimé les paramètres pharmacocinétiques ADMET pour tous les candidats.

Nous avons également calculé les énergies (E^2) en utilisant la théorie de la perturbation du second ordre et l'analyse orbitale des liaisons naturelles (NBO) pour examiner toutes les interactions potentielles entre les orbitales NBO "occupées" et "non occupées" pour les meilleurs dérivés. Enfin, nous avons calculé les descripteurs de réactivité, tant globaux que locaux, conformément à la théorie fonctionnelle de la densité conceptuelle (CDFT). Ces calculs ont permis d'obtenir une meilleure compréhension des propriétés réactives des composés étudiés dans le cadre de cette recherche.



Composes	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Cip-A	H	H	H	Cyclopropyl
Cip-A1	F	H	H	Cyclopropyl
Cip-A2	CF ₃	H	H	Cyclopropyl
Cip-A3	Cl	H	H	Cyclopropyl
Cip-A4	OCH ₃	H	H	Cyclopropyl
Cip-A5	NH ₂	H	H	Cyclopropyl
Cip-A6	H	F	H	Cyclopropyl
Cip-A7	H	CF ₃	H	Cyclopropyl
Cip-A8	H	Cl	H	Cyclopropyl
Cip-A9	H	NH ₂	H	Cyclopropyl
Cip-A10	H	OCH ₃	H	Cyclopropyl
Cip-A11	H	H	C ₂ H ₅	Cyclopropyl
Cip-A12	H	H	CH ₃	Cyclopropyl
Cip-A13	H	H	CHO	Cyclopropyl
Cip-A14	H	H	CH ₂ OH	Cyclopropyl
Cip-A15	H	H	COOH	Cyclopropyl
Cip-A16	H	H	H	CH ₂ CH ₂ F
Cip-A17	H	H	H	t-butyl
Cip-A18	H	H	H	CH ₃
Cip-A19	F	F	H	Cyclopropyl
Cip-A20	CF ₃	F	H	Cyclopropyl
Cip-A21	OCH ₃	CF ₃	H	Cyclopropyl
Cip-A22	NH ₂	CH ₃	H	Cyclopropyl
Cip-A23	CH ₃	NH ₂	H	Cyclopropyl
Cip-A24	H	CF ₃	COOH	Cyclopropyl
Cip-A25	H	CF ₃	CH ₂ OH	Cyclopropyl
Cip-A26	F	H	CH ₂ OH	Cyclopropyl
Cip-A27	F	CF ₃	COOH	Cyclopropyl

Figure 2 : 27 Dérivés de Cip-A

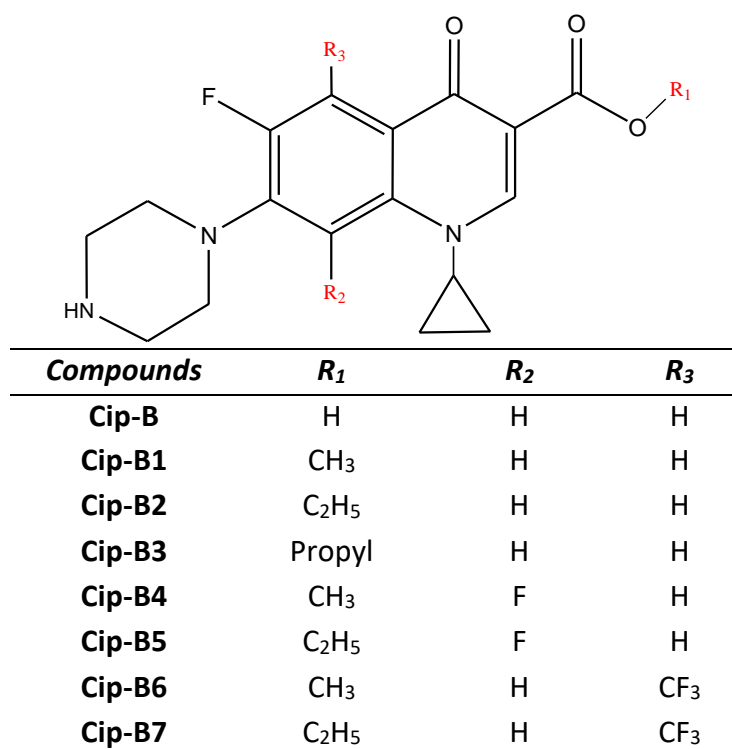


Figure 3. 7 Dérivés de **Cip-B**

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériels

a) Matériel Informatique

Dans notre étude, nous avons utilisé le matériel informatique suivant :

- ❖ Un ordinateur ayant une mémoire de 8.00 GO et un processeur Intel(R) Core(TM) i7-3770 CRU @ 3.40GHz, sous le système d'exploitation 64 bits.
- ❖ Une station de calcul « calcul haute performance » HPC ALTAIR de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen (HPC : High Performance Computing).

b) Bases de données

- ❖ **Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) [13]**: pour obtenir la géométrie initiale **Cip-A** qui correspond à la structure RX obtenue expérimentalement à l'état cristallin.
- ❖ **Protein Data Bank (PDB) [14]** : pour obtenir les coordonnées du domaine de liaisons des trois protéines 4QGG, 3JZF et 3N7W cristallisées.

c) Serveur ADMETlab

- ❖ **ADMETlab [15]** : pour la prédiction des paramètres pharmacocinétiques ADMET.

d) Logiciels

Dans notre étude, nous avons utilisé les différents programmes suivant :

- ❖ **Mercury (version 3.8) [16]** : pour visualiser et analyser les structures cristallines en 3D.
- ❖ **Gaussian G09 & GaussView (version 6.0) [17,18]** : pour l'optimisation et la visualisation des géométries, le calcul des fréquences, l'analyse thermochimie et la visualisation du potentiel électrostatique moléculaire MEP.
- ❖ **NBO (version 3.1) [17]** : pour calculer l'énergie $E^{(2)}$ basée sur la théorie des perturbations du second ordre implanté dans Gaussian G09.
- ❖ **HyperChem (version 8.0.10) [19]**: pour la superposition atome par atome des géométries expérimentales et le calcul des déviations absolues (RMS).
- ❖ **Chimera (version 1.14) [20]**: pour réaliser des calculs de modélisation moléculaire.
- ❖ **Autodock Vina (version 1.1.2) [21]** : pour effectuer des simulations du docking moléculaire.
- ❖ **Discovery Studio 2020 [22]** : pour visualiser les interactions non-covalentes qui existent au sein des complexes ligand-récepteur générés après un calcul docking moléculaire.
- ❖ **SiBioLead LLP utilisant l'algorithme de simulation GROMACS [23]** : pour les simulations de dynamique moléculaire
- ❖ **VMD** : pour visualiser la trajectoire.
- ❖ **Origin** : pour réaliser les différents graphes.
- ❖ **Open Babel (version 3.0.0) [24]** : pour convertir les structures 3D en SMILE.

II.2. Méthodes

1) Calculs quanto-chimique

- Les géométries de Cip-A, Cip-B et de ses dérivés ont été optimisées en utilisant la méthode de calcul B3LYP (une méthode hybride à trois paramètres de Becke) en conjonction avec la fonction de corrélation LYP [25]. La base 6-311G(d,p) a été utilisée, et les optimisations ont été effectuées en utilisant la méthode de Berny dans le logiciel Gaussian 09.
- Pour comparer la structure obtenue expérimentalement avec celle calculée théoriquement, une superposition atomique précise a été réalisée à l'aide du logiciel HyperChem 8.0.10.
- De plus, des calculs de fréquence vibratoire ont été effectués pour s'assurer que les structures optimisées correspondent à des minima sur la surface d'énergie potentielle. Toutes les optimisations ont été réalisées en phase gazeuse.
- En ce qui concerne l'évaluation de la réactivité chimique, des indices basés sur les calculs CDFT ont été utilisés. Ces indices comprennent le potentiel chimique (μ), la dureté chimique (η) [26,27], la nucléophilie globale (N) [28], et l'électrophilie globale (ω), et ΔN_{max} [29]. (Voir chapitre 2 pour les formules)
- L'électrophilie locale [30] et les indices de nucléophilie locale [31, 32], ω_k^p et N_k^p , respectivement, ont été évalués à l'aide de leurs expressions, les paramètres P_k^+ et P_k^- , qui représentent respectivement la réactivité vis-à-vis des attaques électrophiles et nucléophiles, ont été évalués.
- Le potentiel électrostatique moléculaire (MEP) a été calculé théoriquement en utilisant la méthode B3LYP/6-311G (d,p) pour prédire les sites réactifs envers les attaques électrophiles et nucléophiles sur toutes les structures optimisées.
- De plus, les interactions donneur-accepteur importantes ont été calculées en utilisant NBO 3.1 avec la méthode HF/6311-G (d, p) définie avec Gaussian09.

2) Prédiction ADMET

Les paramètres pharmacocinétiques ADMET, les propriétés physico-chimiques, et les règles druglikeness, ont été calculés en insérant le SMILE de chaque pharmacophore.

3) Docking moléculaire

Le processus du docking moléculaire a été initié en utilisant les structures cristallographiques 3D de trois enzymes distinctes : Thymidylate kinas TMK (ID PDB : 4QGG),

Biotine carboxylase d'E. Coli (ID PDB 3JZF) et BlaC-E166A liée de manière covalente à MBT (ID PDB : 3W7N)

Préparation des récepteurs

- Les structures des protéines ont été préalablement préparées en éliminant les molécules d'eau et les ligands indésirables.
- Ajout des atomes d'hydrogène polaires aux fichiers des macromolécules
- Séparation des deux chaînes A et B composant des 3 enzymes pour pouvoir traiter chacune indépendamment.
- Une boîte de grille tridimensionnelle a été définie pour englober le site actif et le ligand. Le centre de la boîte de grille a été fixé.

Préparation des ligands

- Les structures optimisées de tous les ligands, notamment **Cip-A**, **Cip-B** et leurs dérivés, ont été obtenues en utilisant le logiciel Gaussian09 et converties en format de fichier PDB.
- Les calculs de docking moléculaire ont été exécutés à l'aide du programme Autodock Vina 1.1.2 implanté dans le logiciel UCSF Chimera 1.15.
- Par la suite, les résultats de docking ont été analysés et visualisés grâce au logiciel Discovery Studio (2020).

4) Simulation dynamique moléculaire

Les simulations de dynamique moléculaire (MD) ont été effectuées sur différents complexes protéine-ligand en utilisant un module de simulation MD développé par SiBioLead LLP utilisant l'algorithme de simulation GROMACS pour les MD.

- Les complexes ont été placés dans une boîte de simulation triclinique contenant des molécules d'eau de type Simple Point Charge (SPC) ainsi que des contre-ions NaCl.
- Pour maintenir des conditions physiologiques, 150 mM de NaCl supplémentaires et 20 mM de MgCl ont été ajoutés au système de simulation.
- Avant de procéder à la simulation MD effective, le système entier a été équilibré pendant 300 ps en utilisant un protocole NVT/NPT.
- La simulation MD a ensuite été effectuée sur une période de 100 ns, et les résultats des complexes protéine-ligand ont été analysés.

III. Préparation des structures

1) Structure expérimentale du médicament ciprofloxacine

La structure cristalline du zwitterion de la ciprofloxacine Cip-A a été déterminée expérimentalement et téléchargée depuis le CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre). La géométrie initiale de Cip-A correspondant à la structure RX obtenues expérimentalement à l'état cristallin [33] est présentée dans la figure 4

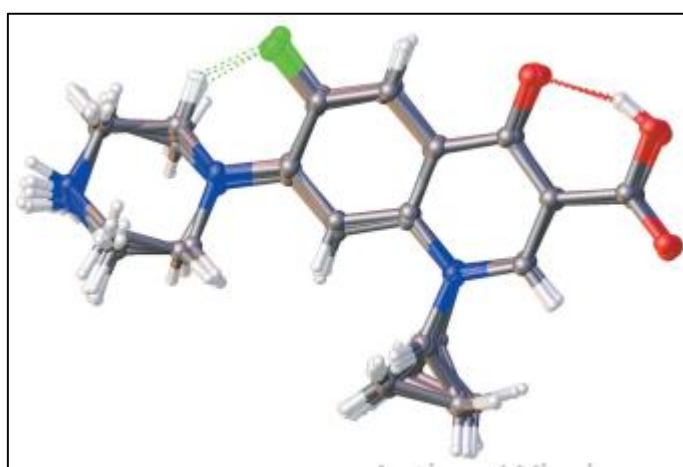


Figure 4. La structure cristalline de Cip-A

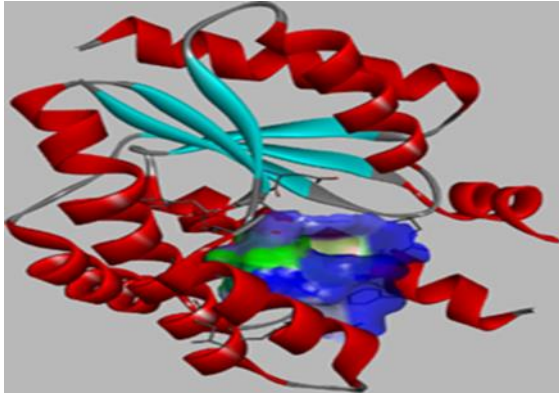
2) Structure expérimentale des trois enzymes

a) Thymidylate kinas TMK de *S. aureus* [12]

- La thymidylate kinase (TMK) est une enzyme qui participe aux étapes intracellulaires de la biosynthèse du peptidoglycane bactérien dans presque toutes les bactéries. Ainsi, en considérant la TMK comme une cible importante pour les médicaments contre les infections bactériennes.
- **Aperçu des données expérimentales :**

ID PDB	Résolution (Å)	Valeur R libre
4QGG	1,62	0,222

➤ Site actif de la 4QGG



Les amino- acides de la chaine B :

ARG 48
ARG 92
ARG 70
SER 69
SER 97
PHE 66
GLN 101
TYR 100
GLU 37

Figure 5 : Visualisation des acides aminés à l'intérieur du site actif de l'enzyme 4QGG

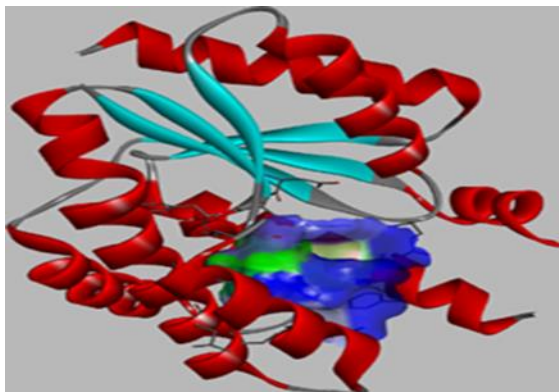
b) Biotine carboxylase d'*E. Coli* [34]

La biotine carboxylase est une enzyme clé impliquée dans la biosynthèse des acides gras, catalysant la carboxylation de l'acétyl-CoA dans le complexe de l'acétyl-CoA carboxylase. Chez les bactéries pathogènes comme *Escherichia coli*, la biotine carboxylase est une cible stratégique car son inhibition entraîne une perturbation irréversible du métabolisme des lipides

➤ Aperçu des données expérimentales :

ID PDB	Résolution (Å)	Valeur R libre
3JZF	2,13	0,236

➤ Site actif de la 3JZF



Les amino- acides de la chaine B :

ARG 48
ARG 92
ARG 70
SER 69
SER 97
PHE 66
GLN 101
TYR 100
GLU 37

Figure 6 : Visualisation des acides aminés à l'intérieur du site actif de l'enzyme 3JZF

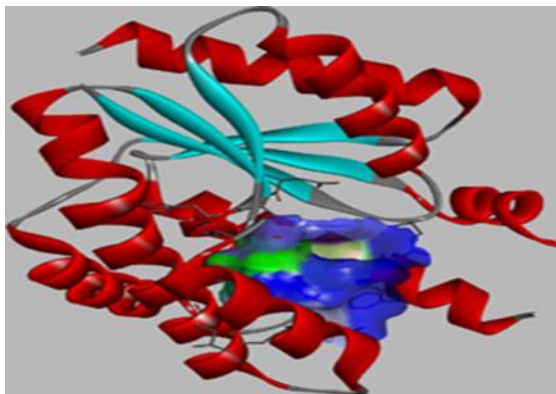
c) BlaC-E166A liée mycobactérie tuberculose [35]

Une enzyme produite par *Mycobacterium tuberculosis*. Cette mutation concerne le résidu d'acide glutamique (E) à la position 166, remplacé par une alanine (A).

➤ Aperçu des données expérimentales :

ID PDB	Résolution (Å)	Valeur R libre
3N7W	1,70	0,186

➤ Site actif de la



Les amino- acides de la chaine B :

ARG 48
ARG 92
ARG 70
SER 69
SER 97
PHE 66
GLN 101
TYR 100
GLU 37

Figure 7 : Visualisation des acides aminés à l'intérieur du site actif de l'enzyme 3N7W

Il est important de souligner que les structures protéiques affichant une résolution entre 1,5 et 2,5 Å sont généralement considérées comme étant de très haute qualité pour des enquêtes ultérieures [36, 37].

IV. Conception des analogues du Cip-A et Cip-B

Pour concevoir des analogues du Cip-A et Cip-B, nous avons envisagé

Plusieurs Stratégies de Modification des Structures (A, B, C, D, E, F, G, H, W, Y, Z). Ces modifications sont illustrées dans les Schémas (1 -13).

▪ La forme zwitterionique

Stratégie A : remplacement de R_1 par les groupements CF_3 , F, OCH_3 , NH_2 et Cl. Cinq analogues ont été conçus (voir schéma 2).

Stratégie B : remplacement de R_2 par les groupements CF_3 , F, OCH_3 , NH_2 et Cl. Cinq analogues ont été conçus. (Voir schéma 3).

Stratégie C : remplacement de R_3 par les groupements C_2H_5 , CH_3 , CHO , CH_2OH et $COOH$. Cinq analogues ont été conçus. (Voir schéma 4).

Stratégie D : remplacement de R_4 par les groupements CH_2CH_2F , t-butyl et CH_3 . Trois analogues ont été conçus (Voir schéma 5)

Stratégie E : remplacement de R_1 et R_2 par les groupements ($R_1=CF_3$, $R_2=F$), ($R_1=OCH_3$, $R_2=CF_3$) ($R_1=NH_2$, $R_2=CF_3$) ($R_1=CH_3$, $R_2=NH_2$). Quatre analogues ont été conçus. (Voir schéma 6)

Stratégie F : remplacement de R_2 et R_3 par les groupements ($R_2=CF_3$, $R_3=COOH$), ($R_2=CF_3$, $R_3=CH_2OH$). Deux analogues ont été conçus. (Voir schéma 7)

Stratégie G : remplacement de R_1 et R_3 par les groupements ($R_1=F$, $R_3=CH_2OH$). Un analogue a été conçu. (Voir schéma 8)

Stratégie H : remplacement de R_1 , R_2 et R_3 par les groupements ($R_1=F$, $R_2=CF_3$, $R_3=COOH$). Un analogue a été conçu. (Voir schéma 9)

Sois 27 analogues ont été conçu (voir schéma 1).

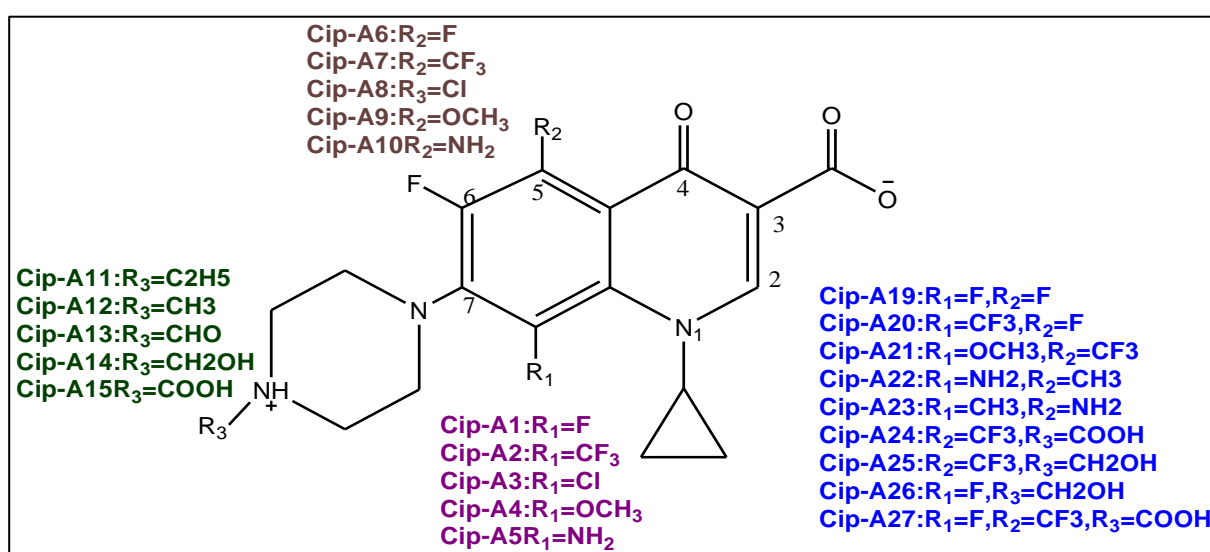


Schéma 1 : Les 27 dérivés de Cip-A

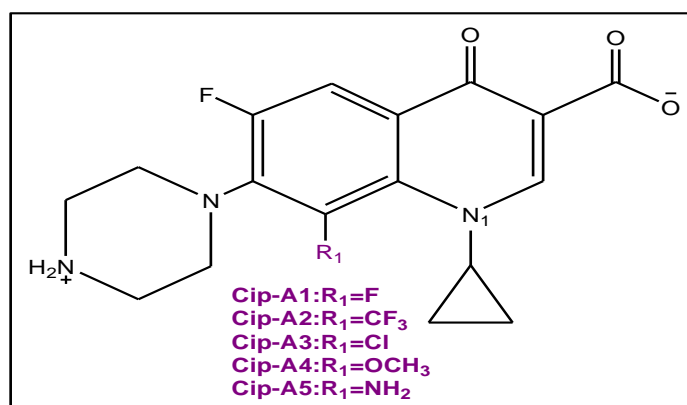


Schéma 2 : Stratégie A

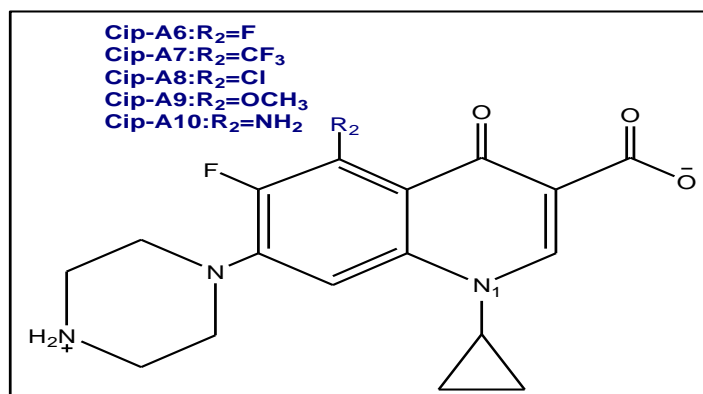


Schéma 3 : Stratégie B

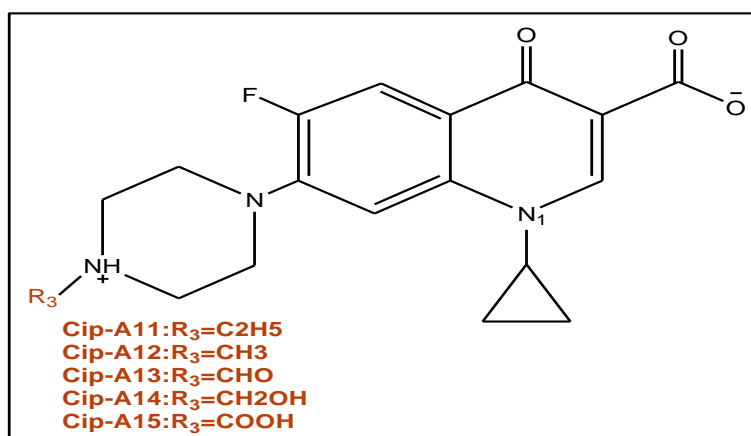


Schéma 4 : Stratégie C

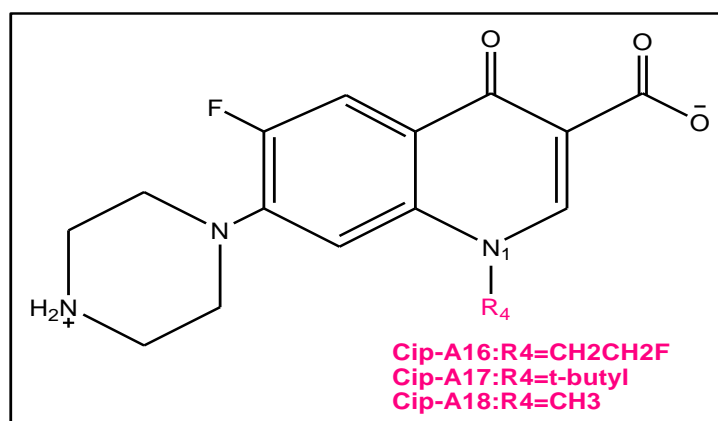


Schéma 5 : Stratégie D

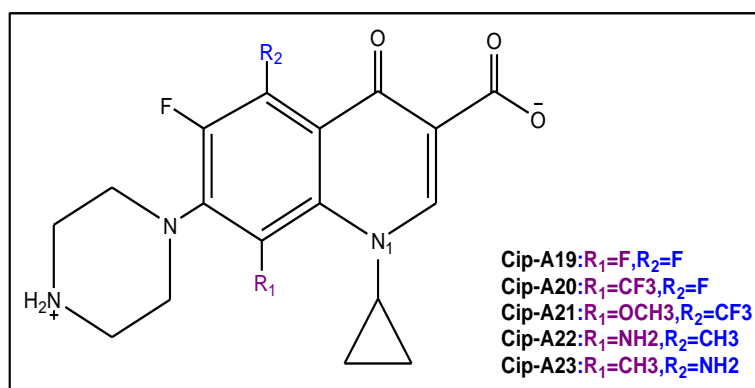


Schéma 6 : Stratégie E

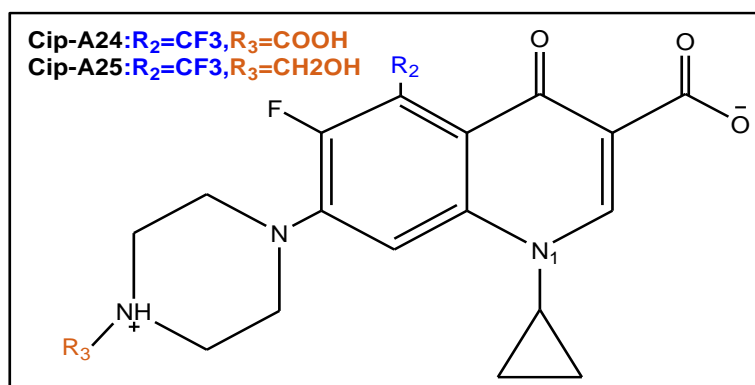


Schéma 7 : Stratégie F

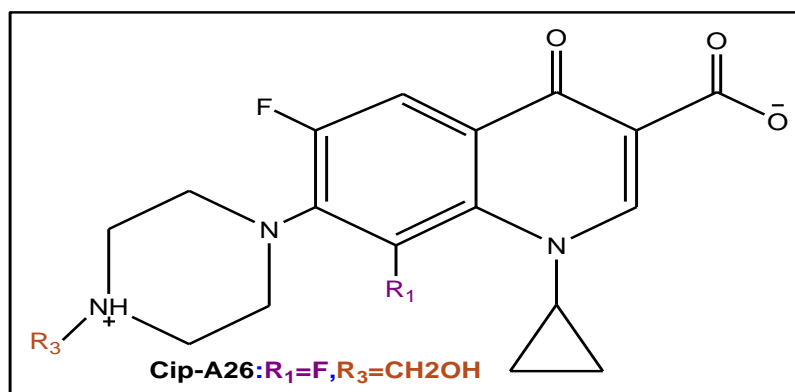


Schéma 8 : Stratégie G

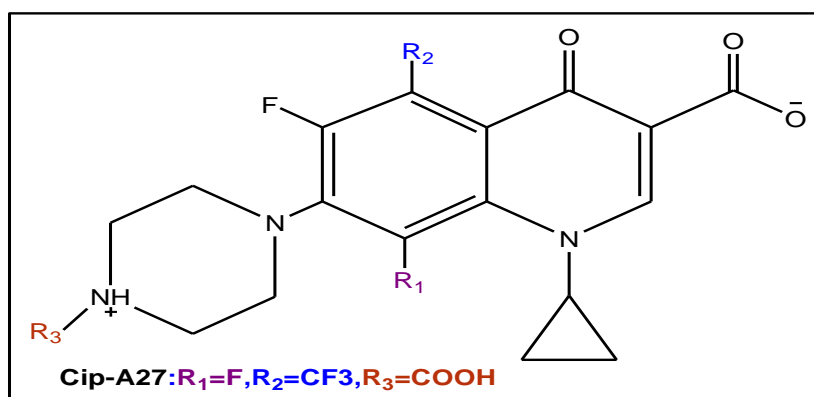


Schéma 9 : Stratégie H

- La forme non-zwitterionique Cip-B

Stratégie W : remplacement de R_1 par les groupements CH_3 , C_2H_5 et Propyl. Trois analogues ont été conçus (voir schéma 11).

Stratégie Y : remplacement de R_1 et R_2 par les groupements ($R_1=C_2H_5$, $R_2=F$) et ($R_1=CH_3$, $R_2=F$). Deux analogues ont été conçus. (Voir schéma 12).

Stratégie Z : remplacement de R_1 et R_3 par les groupements ($R_1=CH_3$, $R_3=CF_3$) et ($R_1=C_2H_5$, $R_3=CF_3$). Deux analogues ont été conçus. (Voir schéma 13)

Sois au total 7 analogues ont été conçu (voir schéma 10)

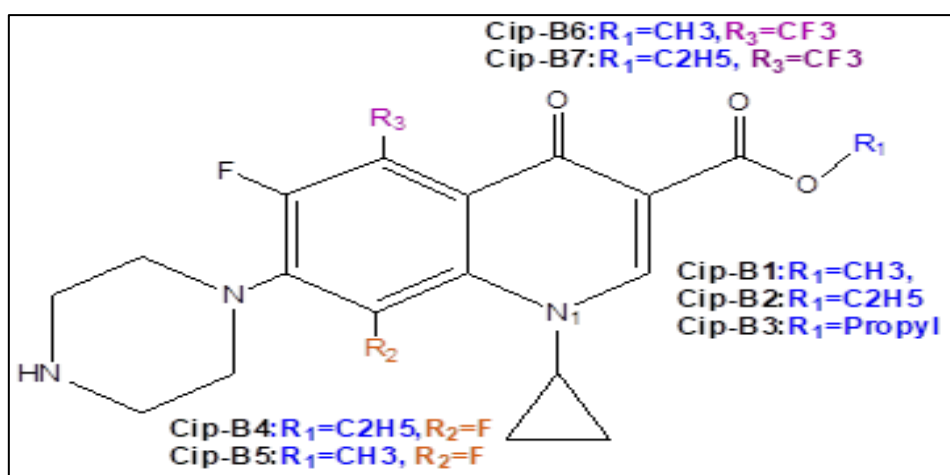


Schéma 10 : 7 dérivés de Cip-B

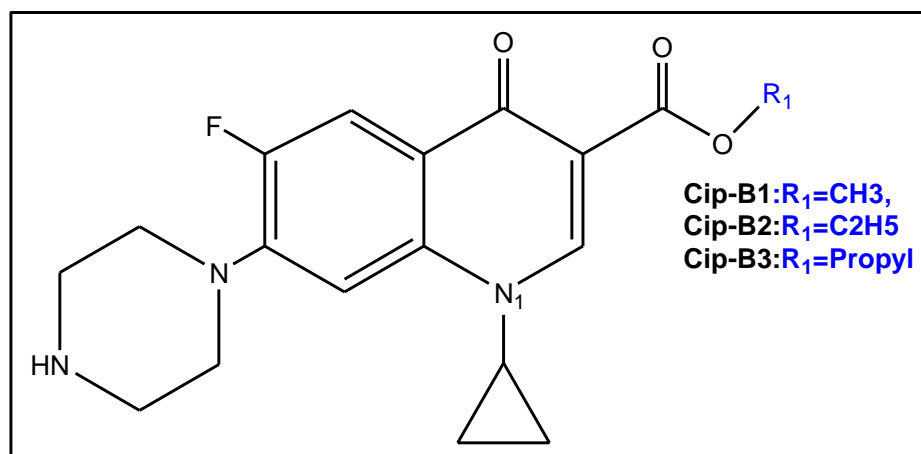


Schéma 11 : Stratégie W

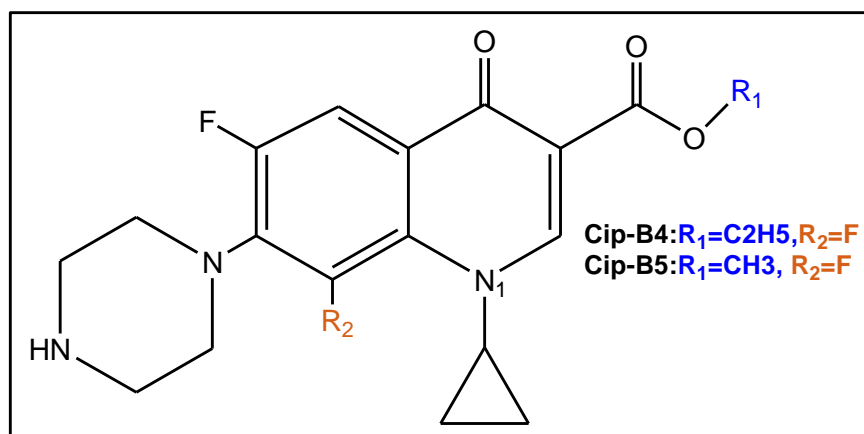


Schéma 12 : Stratégie Y

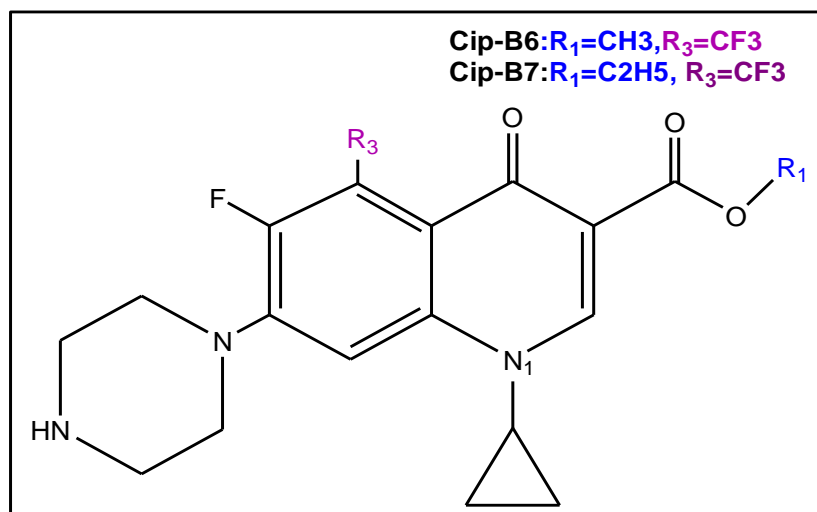


Schéma 13 : Stratégie Z

V. Résultats et discussion

V.1. Optimisation des géométries

En ce qui concerne l'optimisation de la géométrie, une approche de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) a été utilisée avec la base B3LYP/6-311G (d, p) pour optimiser la structure des composés **Cip-A**, **Cip-B** et de leurs 34 dérivés (**Cip-A1** - **Cip-B7**), comme illustré dans les figures 8 et 9.

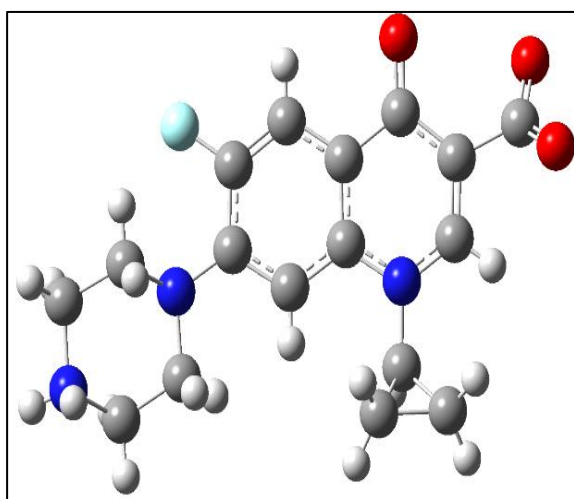


Figure 8 Structure de **Cip-A** optimisé

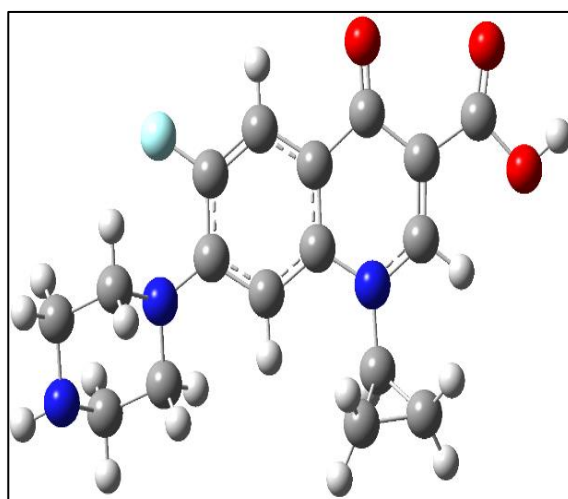


Figure 9. Structure de **Cip-B** optimisé

Toutes les géométries optimisées des composés ont montré des fréquences vibratoires harmoniques positives, ce qui indique qu'ils ont atteint le minimum global sur la surface d'énergie potentielle.

La superposition atome par atome de la structure zwitterion optimisée **Cip-A** (cyan) sur la structure des rayons X (jaune), est illustrée dans la figure 10.

La superposition atome par atome du ciprofloxacine zwitterion, obtenu par diffraction des rayons X [33], avec la structure calculée théoriquement est représentée dans la figure 6. Une faible valeur d'erreur quadratique moyenne, 0,445 Å pour **Cip-A**, a démontré un bon accord entre les données expérimentales de rayons X et les géométries optimisées. Ainsi, la méthode B3LYP/6-311G (d, p) semble être un niveau de calcul approprié pour prédire les géométries moléculaires de tous les composés.

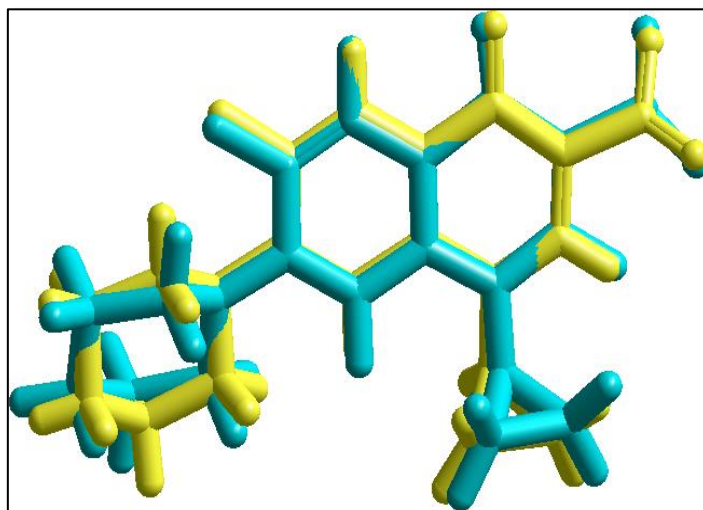


Figure 10 : Superposition atome par atome de la structure zwitterion optimisée Cip-A (cyan) sur la structure des rayons X (jaune) (RMS = 0,445 Å).

V.2. Prédications ADMET

Dans le cadre des prédictions ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité), ces propriétés sont essentielles pour le développement et la synthèse de nouveaux dérivés de médicaments, ainsi que pour évaluer leur profil toxicologique après administration dans le corps humain. Les propriétés ADMET de **Cip-A**, **Cip-B** et leurs dérivés ont été prédites à l'aide du serveur ADMET-Lab et sont présentées dans le tableau 1.

Une réponse positive de HIA, comme démontrée par les composés **Cip-A1** à **Cip-B7**, indique une excellente capacité d'absorption intestinale, ce qui est essentiel pour qu'une molécule soit considérée comme un candidat médicament puissant.

Les cellules Caco-2 sont souvent utilisées pour prédire l'absorption des médicaments [38]. Dans notre cas, les composés **Cip-A1** à **Cip-A27** présentent des valeurs Caco-2 supérieures à -4.8 cm/s, ce qui indique une absorption intestinale favorable. [38].

Le niveau de liaison aux protéines plasmatiques (PPB) est un autre paramètre important à considérer dans le développement de médicaments. Des valeurs de PPB comprises entre 35 et 83 %, comme celles observées pour les composés de la série **Cip-A1** à **Cip-B7**, indiquent une biodisponibilité modérée, ce qui peut être approprié pour cibler un récepteur spécifique [39].

La capacité d'une molécule à traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) est essentielle dans l'industrie pharmaceutique, en particulier pour les médicaments agissant sur le système nerveux central (SNC). Les composés **Cip-A6**, **Cip-A7**, **Cip-A11**, **Cip-A12**, **Cip-A18**, **Cip-A19**, **Cip-A20** et **Cip-B7** montrent des valeurs positives pour la pénétration de la BBB, ce qui indique que ces candidats peuvent être distribués sans qu'ils aient de problèmes vis-à-vis le système nerveux central (SNC) [40].

En raison de leur importance dans le métabolisme des médicaments, les enzymes cytochromes P450 (CYP) ont fait l'objet de recherches approfondies. Une réponse négative (Non) (pas d'effet substrat ou pas d'effet inhibiteur) à ce test indique que le médicament est bien métabolisé et ne produit pas de produits toxiques. Une réponse négative aux tests CYP, comme cela a été observé pour toutes les dérivées, indique que ces composés sont bien métabolisés et ne produisent pas de produits toxiques.

Tableau 1. Paramètres pharmacocinétiques sélectionnés de la ciprofloxacine et de ses dérivés.

<i>Composés</i>	<i>CACO-2 (cm/s)</i>	<i>HIA</i>	<i>PPB (%)</i>	<i>BBB</i>	<i>CYP 3A4 inhibiteur</i>	<i>CYP 2D6 inhibiteur</i>	<i>CYP 2C9 substrat</i>	<i>CYP 2D6 substrat</i>	<i>hERG</i>	<i>LD₅₀ (mg/kg)</i>
Cip-A	-5,12	Oui	41,91	Non	Non	Non	Non	Non	Non	421,90
Cip-B	-5,16	Oui	69,35	Non	Non	Non	Non	Non	Non	1089,64
Cip-A1	-5,10	Oui	40,17	Non	Non	Non	Non	Non	Non	379,52
Cip-A2	-4,93	Oui	65,24	Non	Non	Non	Non	Non	Non	327,60
Cip-A3	-4,96	Oui	55,05	Non	Non	Non	Non	Non	Non	303,55
Cip-A4	-5,16	Oui	36,54	Non	Non	Non	Non	Non	Non	400,82
Cip-A5	-5,33	Oui	35,14	Non	Non	Non	Non	Non	Non	377,16
Cip-A6	-5,10	Oui	41,00	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	394,68
Cip-A7	-4,93	Oui	65,36	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	424,95
Cip-A8	-4,96	Oui	55,32	Non	Non	Non	Non	Non	Non	288,56
Cip-A9	-5,34	Oui	35,73	Non	Non	Non	Non	Non	Non	372,85
Cip-A10	-5,16	Oui	36,77	Non	Non	Non	Non	Non	Non	418,00
Cip-A11	-5,10	Oui	54,67	Oui	Non	Non	Non	Non	Oui	330,05
Cip-A12	-5,07	Oui	46,02	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	349,37
Cip-A13	-5,14	Oui	49,00	Non	Non	Non	Non	Non	Non	378,90
Cip-A14	-5,22	Oui	45,75	Non	Non	Non	Non	Non	Non	372,35
Cip-A15	-5,21	Oui	52,75	Non	Non	Non	Non	Non	Non	361,78
Cip-A16	-5,12	Oui	39,00	Non	Non	Non	Non	Non	Non	444,70
Cip-A17	-5,03	Oui	52,00	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	242,01
Cip-A18	-5,10	Oui	35,64	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	412,80
Cip-A19	-5,01	Oui	41,62	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	345,98
Cip-A20	-4,88	Oui	60,75	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	351,95
Cip-A21	-4,97	Oui	57,00	Non	Non	Non	Non	Non	Non	336,40
Cip-A22	-5,22	Oui	39,12	Non	Non	Non	Non	Non	Non	348,35
Cip-A23	-5,22	Oui	40,44	Non	Non	Non	Non	Non	Non	362,05
Cip-A24	-5,19	Oui	53,88	Non	Non	Non	Non	Non	Non	309,27
Cip-A25	-5,10	Oui	53,65	Non	Non	Non	Non	Non	Non	362,94
Cip-A26	-5,19	Oui	43,95	Non	Non	Non	Non	Non	Non	354,86
Cip-A27	-5,00	Oui	61,28	Non	Non	Non	Non	Non	Non	276,71
Cip-B1	-4,55	Oui	72,03	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	891,84
Cip-B2	-4,55	Oui	78,83	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	864,13
Cip-B3	-4,59	Oui	82,32	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	818,85
Cip-B4	-4,54	Oui	70,92	Non	Non	Non	Non	Non	Non	1047,95
Cip-B5	-4,55	Oui	76,23	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	1025,16
Cip-B6	-4,53	Oui	73,68	Non	Non	Non	Non	Non	Oui	226,12
Cip-B7	-4,54	Oui	79,30	Oui	Non	Non	Non	Non	Oui	203,15

Enfin, il est important de noter que les canaux potassium du gène humain Ether-a-go-go-Related (hERG) sont essentiels pour l'activité électrique normale du cœur. Une réponse positive au test hERG confirme l'inhibition du gène hERG [41, 42]. Pour la plupart des composés dérivés de **Cip-A** et **Cip-B4**, on observe des résultats négatifs au test hERG, ce qui suggère un risque moindre de développer des problèmes cardiaques. Cependant, il convient de noter que les composés **Cip-A11** et **Cip-17**, ainsi que tous les composés dérivés de **Cip-B**, présentent une réponse positive au test hERG, indiquant un risque potentiel de problèmes cardiaques.

L'évaluation de la toxicité aiguë exprimée en dose létale médiane (DL50) revêt une importance capitale dans le processus de découverte de médicaments. Une DL50 plus basse est indicative d'un niveau de toxicité plus élevé [43, 44]. Les valeurs de DL50 pour les molécules testées varient dans la plage de [203–1048 mg/kg] pour tous les dérivés (**Cip-A1—Cip-B7**). Ces résultats indiquent une toxicité allant de moyenne à faible dans les modèles de rats [43, 44]

Conclusion :

24 dérivés peuvent être administrés par voie orale sans risque potentiel de cancérogénicité, grâce à leur absorption intestinale qui permet leur entrée dans le sang. 34 dérivées ont une biodisponibilité modérée, ce qui peut être approprié pour cibler un récepteur spécifique et 8 entre eux ont la capacité de pénétrer dans le cerveau. 34 dérivées peuvent être métabolisées et ne produisent pas de produits toxiques. 25 dérivés présentent un profil de sécurité potentiellement acceptable selon les études toxicologiques réalisées.

V.3. Calculs de docking moléculaire

Nous avons effectué une simulation docking moléculaire sur les analogues du Cip-A et Cip-B conçus selon les stratégies A, B, C, D, E, F, G, H, W, Y et Z. Au total, 34 composés issus de la substitution. Le calcul docking moléculaire a été utilisé pour évaluer l'affinité des composés proposés envers les structures cristallines 4QGG, 3JZF et 3N7W. Cette approche permet d'étudier les différentes conformations de liaison des molécules au site actif de ces cibles. Les énergies de liaison (BE) (*binding energy*) de la ciprofloxacine **Cip-A**, **Cip-B** et 34 dérivés conçus calculées par le docking moléculaire pour trois enzymes : 4QGG, 3JZF et 3N7W sont données dans le tableau 2.

Tableau 2. Énergies de liaison (BE) en kcal/mol de la ciprofloxacine et 34 dérivés conçus calculées par le docking moléculaire pour trois protéines : thymidylate kinase (PDB : 4QGG), biotine carboxylase (PDB : 3JZF) et β -lactamase BlaC (PDB : 3N7W).

Compounds	4QGG	3JZF	3N7W
Cip-A	-7,3	-7,3	-7,5
Cip-B	-7,2	-8,5	-7,4
Cip-A1	-7,6	-9,2	-7,6
Cip-A2	-7,4	-5,0	-7,7
Cip-A3	-6,9	-7,2	-7,1
Cip-A4	-6,8	-5,5	-7,0
Cip-A5	-7,5	-8,5	-7,3
Cip-A6	-7,6	-8,2	-7,7
Cip-A7	-7,8	-8,5	-8,0
Cip-A8	-7,0	-7,5	-7,5
Cip-A9	-7,6	-7,4	-7,4
Cip-A10	-7,1	-7,3	-7,4
Cip-A11	-7,3	-7,3	-7,2
Cip-A12	-7,4	-7,5	-7,1
Cip-A13	-7,5	-7,7	-8,0
Cip-A14	-7,3	-7,6	-7,5
Cip-A15	-8,0	-8,0	-8,0
Cip-A16	-7,0	-8,6	-7,4
Cip-A17	-7,6	-8,5	-7,3
Cip-A18	-7,3	-8,6	-7,4
Cip-A19	-7,6	-8,8	-7,9
Cip-A20	-7,7	-5,3	-7,5
Cip-A21	-7,7	-6,3	-7,5
Cip-A22	-7,4	-7,5	-7,7
Cip-A23	-7,1	-7,4	-6,9
Cip-A24	-8,2	-8,4	-8,7
Cip-A25	-7,1	-8,9	-8,4
Cip-A26	-7,3	-7,4	-7,4
Cip-A27	-8,1	-7,8	-9,4
Cip-B1	-6,6	-8,9	-7,4
Cip-B2	-7,1	-6,9	-7,2
Cip-B3	-6,7	-8,6	-7,1
Cip-B4	-6,8	-9,0	-7,5
Cip-B5	-6,8	-7,2	-7,4
Cip-B6	-7,4	-8,8	-7,8
Cip-B7	-7,5	-8,6	-7,9

V.3.1. Activité antibactérienne de la ciprofloxacine et de ses dérivés sur la bactérie Gram-positif *S. aureus* (4QGG)

L'énergie de liaison entre la protéine 4QGG et **Cip-A** est de -7,3 kcal/mol (voir tableau 2). En revanche, la BE entre la protéine et les composés **Cip-A24**, **Cip-A27** et **Cip-A15** a considérablement diminué, atteignant respectivement -8.2, -8.1 et -8.0 kcal/mol.

L'énergie de liaison entre la protéine 4QGG et **Cip-B** est de -7,2 kcal/mol. Les énergies des sept dérivés de la **Cip-B** avec la protéine 4QGG ont augmenté jusqu'au -6.6 kcal/mol pour le composé **Cip-B1**. Cela peut être expliqué par la perte du caractère zwitterionique de la structure de la ciprofloxacine.

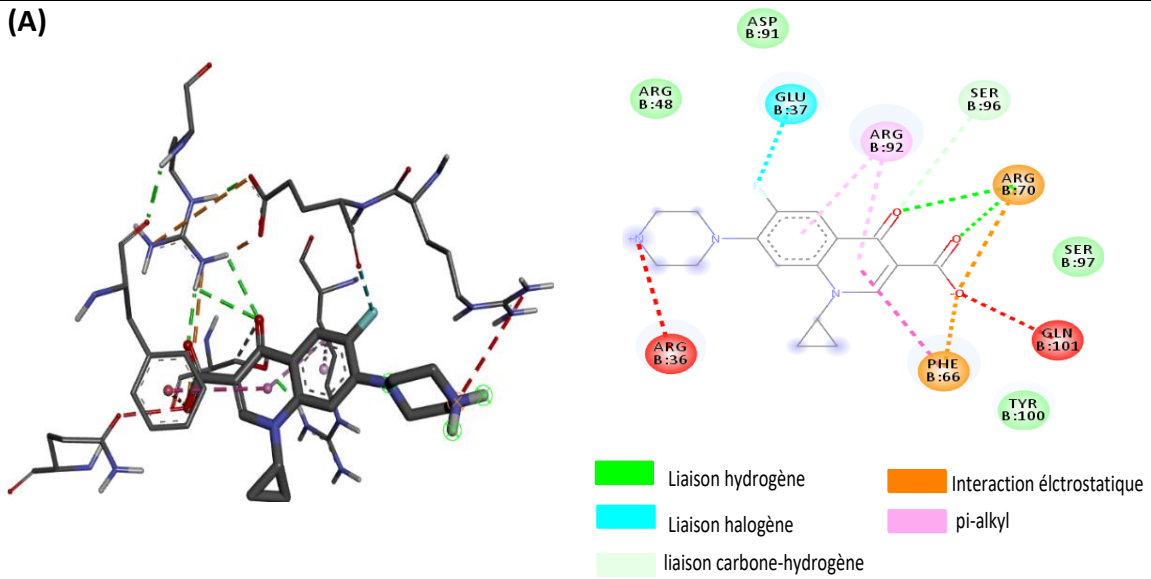
L'illustration tridimensionnelle (3D) et bidimensionnelle (2D) des interactions de **Cip-A** et le composé le mieux ancré (**Cip-A24**) avec 4QGG est présentée dans la figure 11.

On note que les liaisons hydrogène jouent un rôle crucial dans la stabilité du complexe ligand-protéine[45]. Des données théoriques et expérimentales ont montré que la force des liaisons hydrogène entre donneurs et accepteurs a un impact significatif sur l'affinité de la liaison au ligand [46]. En général, lorsque les propriétés des liaisons hydrogène entre le donneur et l'accepteur sont soit significativement plus fortes, soit significativement plus faibles que celles des liaisons hydrogène entre l'hydrogène et les atomes d'oxygène dans l'eau, les liaisons hydrogène renforcent les interactions récepteur-ligand. En revanche, les appariements forts-faibles diminuent l'affinité de liaison du ligand en interférant avec l'eau en vrac. Cela explique pourquoi un renforcement aveugle des liaisons hydrogène récepteur-ligand ne correspond pas toujours à l'affinité de liaison expérimentalement observée [46]. Selon Kensal E. van Holde et al. [47], la distance optimale pour une liaison hydrogène est généralement comprise entre 2,7 et 3,2 Å, mais peut atteindre jusqu'à 3,5 Å dans certaines conditions particulières.

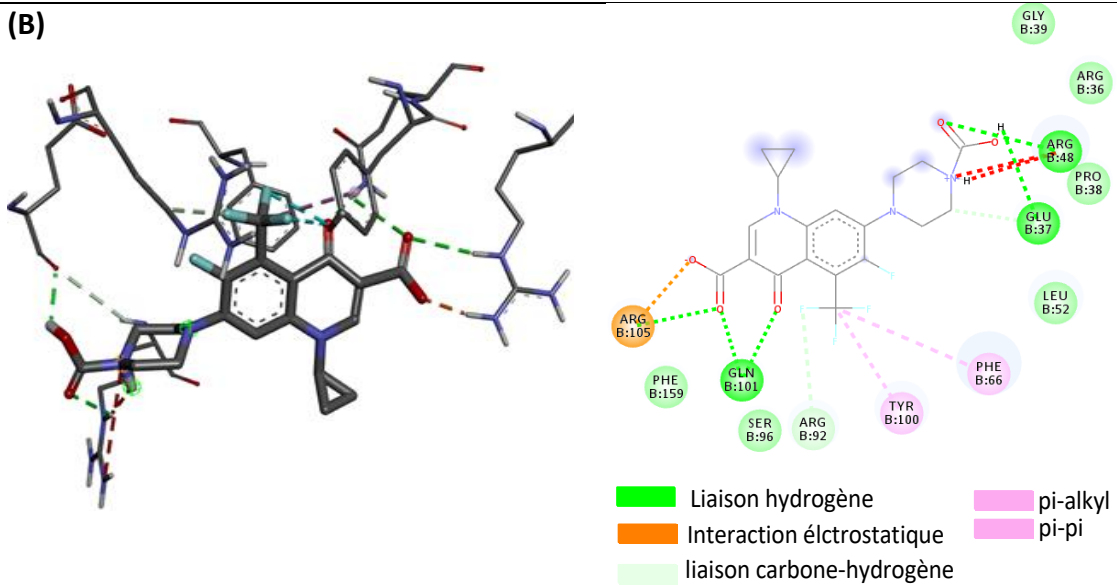
L'analyse de la figure 8 montre que le complexe **4QGG-Cip-A** est caractérisé par :

- Trois liaisons hydrogène fortes avec le résidu ARG70 (par des distances de 2,69 Å, 2,86 Å et 2,69 Å).
- Une liaison hydrogène type carbon-hydrogène avec le résidu SER96.
- Trois interactions hydrophobes : deux interactions hydrophobes de type π -Alkyle.
- Une liaison halogène avec le résidu GLU37.
- Deux interactions électrostatiques de type π -cation avec les résidus ARG70 et PHE66.

(A)



(B)



(C)

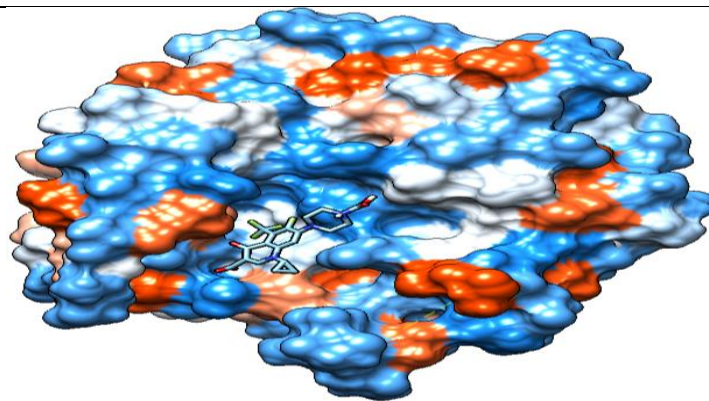


Figure 11. L'illustration 3D et 2D des interactions observées entre les composés et S.aureus (Pdb : 4QGG) (A) **Cip-A** avec 4QGG ; (B) **Cip-A24** avec 4QGG ; (C) Le composé **Cip-A24** au site actif de 4QGG.

Pour le meilleur dérivé de la **Cip-A**, le complexe **4QGG-Cip-A24**, plusieurs interactions non liées ont été observées. Le complexe est stabilisé par :

- En total de cinq liaisons hydrogène fortes avec le site actif de la protéine. Deux liaisons H avec l'acide aminé GLN101 (1,79 Å et 2,84 Å), une liaison H avec le résidu ARG48 (2,30 Å), avec l'ARG105 (2,84 Å) et avec le GLU37 (2,10 Å).
- Deux liaisons hydrogène type carbon-hydrogène avec les résidus GLU37 et ARG92.
- De plus, le complexe **4QGG-Cip-A24** est également stabilisé par la formation de deux interactions de type π -alkyl avec le résidu ARG92 et une interaction de type π - π avec le résidu PHE66.
- Une interaction électrostatique de type π -cation avec le résidu ARG105.

Ce nombre important des interactions non-covalentes fortes et multiples contribuent à renforcer la stabilité du complexe **4QGG-Cip-A24** comparant avec le complexe **4QGG-Cip-A** et par conséquent la diminution de l'énergie BE de 0,9 kcal/mol.

On note que le complexe **4QGG-Cip-A27** qui présente une BE de -8,1 kcal/mol présente des interactions importantes avec le site actif de la protéine 4QGG. En effet, le complexe présente deux liaisons hydrogène avec le résidu GLN101 (1,80 Å et 2,59 Å) et une seule avec le résidu GLU37 (2,47 Å), quatre liaisons hydrogène de type carbone-hydrogène avec les résidus ARG36, PRO38, deux avec ARG92 et deux interactions hydrophobes type π -cation avec les résidus d'acides aminés PHE66 et TYR100.

V.3.2. Activité antibactérienne de la ciprofloxacine et ses dérivés sur l'organisme Gram négatif *E. coli* (3JZF)

Dans le contexte de l'activité antibactérienne de la ciprofloxacine et de ses dérivés sur la bactérie Gram négatif *E. coli*, il a été observé que la protéine 3JZF présente une affinité de liaison plus élevée avec le dérivé **Cip-A1** par rapport au **Cip-A**. Plus précisément, l'énergie de liaison de **Cip-A1** est de -9,2 kcal/mol, tandis que celle de **Cip-A** est de -7,3 kcal/mol.

Les interactions entre **Cip-A** et **Cip-A1** avec la protéine 3JZF sont illustrées dans la figure 12. Le complexe formé entre 3JZF et **Cip-A** présente :

- Deux liaisons hydrogène avec le résidu LYS159 (1,83 Å et 2,92 Å) et une seule avec TYR199 (2,82 Å).

- Une liaison hydrogène type carbon-hydrogène avec le résidu ILE287.
- De plus, trois interactions hydrophobes : deux de type π - π impliquent les résidus HIS209 et HIS236, une de type π -alkyle avec le résidu HIS209 et une de type π -sigma avec le résidu ILE287.
- Une interaction électrostatique de type π -anion avec le résidu GLU288.

En ce qui concerne le composé le plus actif, **Cip-A1**, il présente le nombre maximum d'interactions avec les résidus du site actif de 3JZF.

- Une seule liaison hydrogène avec le résidu HIS236 avec une distance de 1,79 Å et une liaison type carbon-hydrogène avec le résidu HIS209.
- De manière significative, l'atome F (fluor) situé en position R1 de **Cip-A1** interagit avec les acides aminés GLY165 et avec le GLN233, formant ainsi une interaction de liaison halogène forte.
- En outre, les interactions hydrophobes : deux de type π -alkyle avec les résidus LEU278 et ILE287, une de type alkyle avec le résidu ILE287, une de type π -sigma avec le résidu MET169 et deux interactions de type amide- π avec les résidus HIS236 et HIS209.
- Deux interactions électrostatiques de type π -cation avec le résidu LYS159.

III.3.3. Activité antimycobactérienne de la ciprofloxacine et de ses dérivés vis-à-vis de 3N7W en tant qu'inhibiteur de la β -lactamase

Les affinités de liaison de **Cip-A24**, **Cip-A25** et **Cip-A27** avec la protéine 3N7W ont connu une diminution significative des énergies de liaison. En effet, les complexes **3N7W-Cip-A25**, **3N7W-Cip-A24** et **3N7W-Cip-A27** sont stabilisés par 0.9, 1.2 et 1.9 kcal/mol par rapport au complexe **3N7W-Cip-A** (voir tableau 2).

L'analyse des résultats du docking moléculaire des 34 analogues a révélé que les principaux résidus du site actif de 3N7W formaient des interactions avec les ligands, en outre, des liaisons hydrogène conventionnelles, des liaisons halogènes de type fluor, des interactions hydrophobes type π -alkyle et π -sigma ainsi que des interactions électrostatiques.

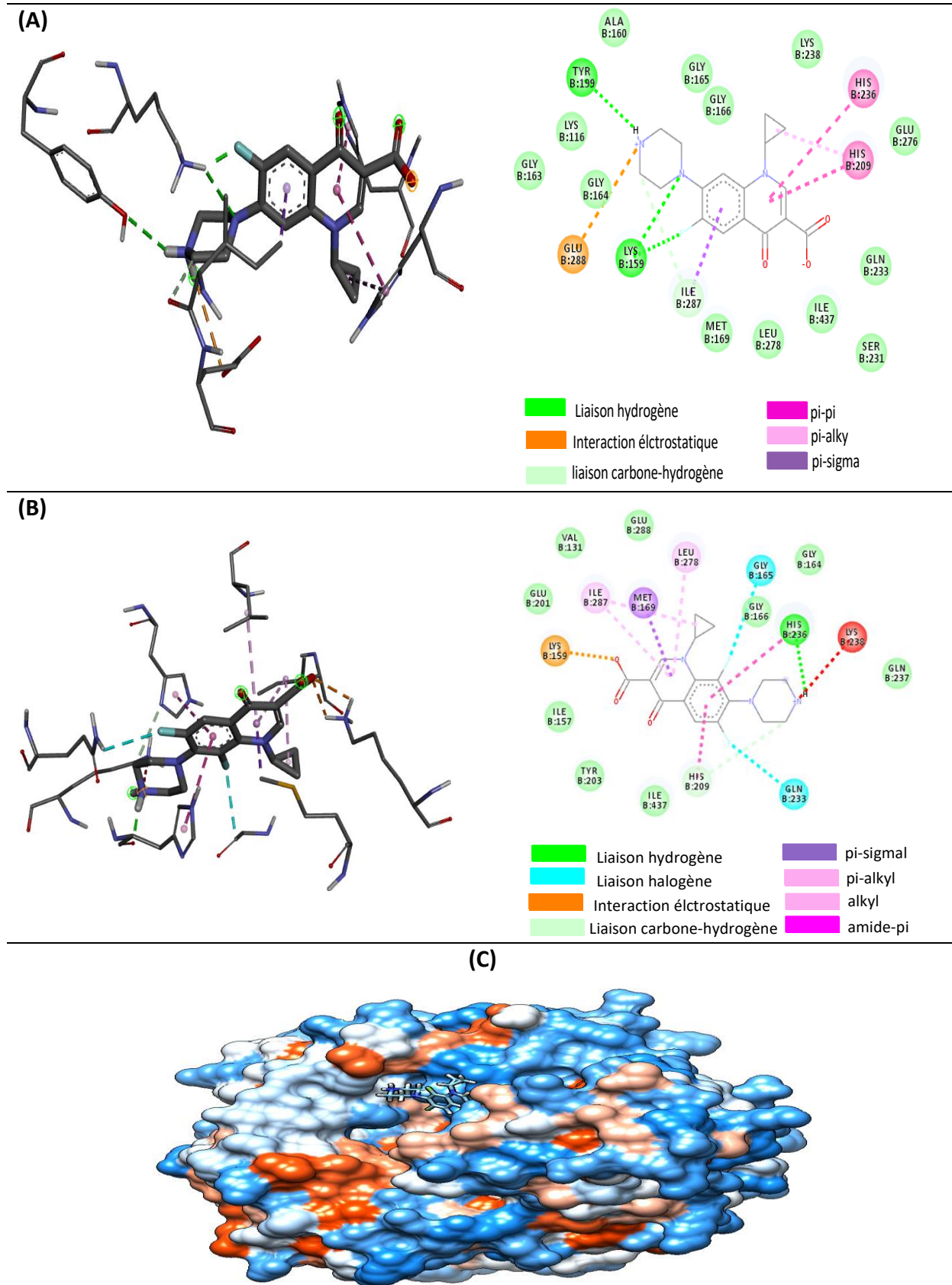


Figure 12. Illustration 3D et 2D des interactions observées entre les composés et E.coli (Pdb : 3JZF) (A) **Cip-A** avec 3JZF ; (B) **Cip-A1** avec 3JZF ; (C) **Cip-A1** sur le site actif de 3JZF.

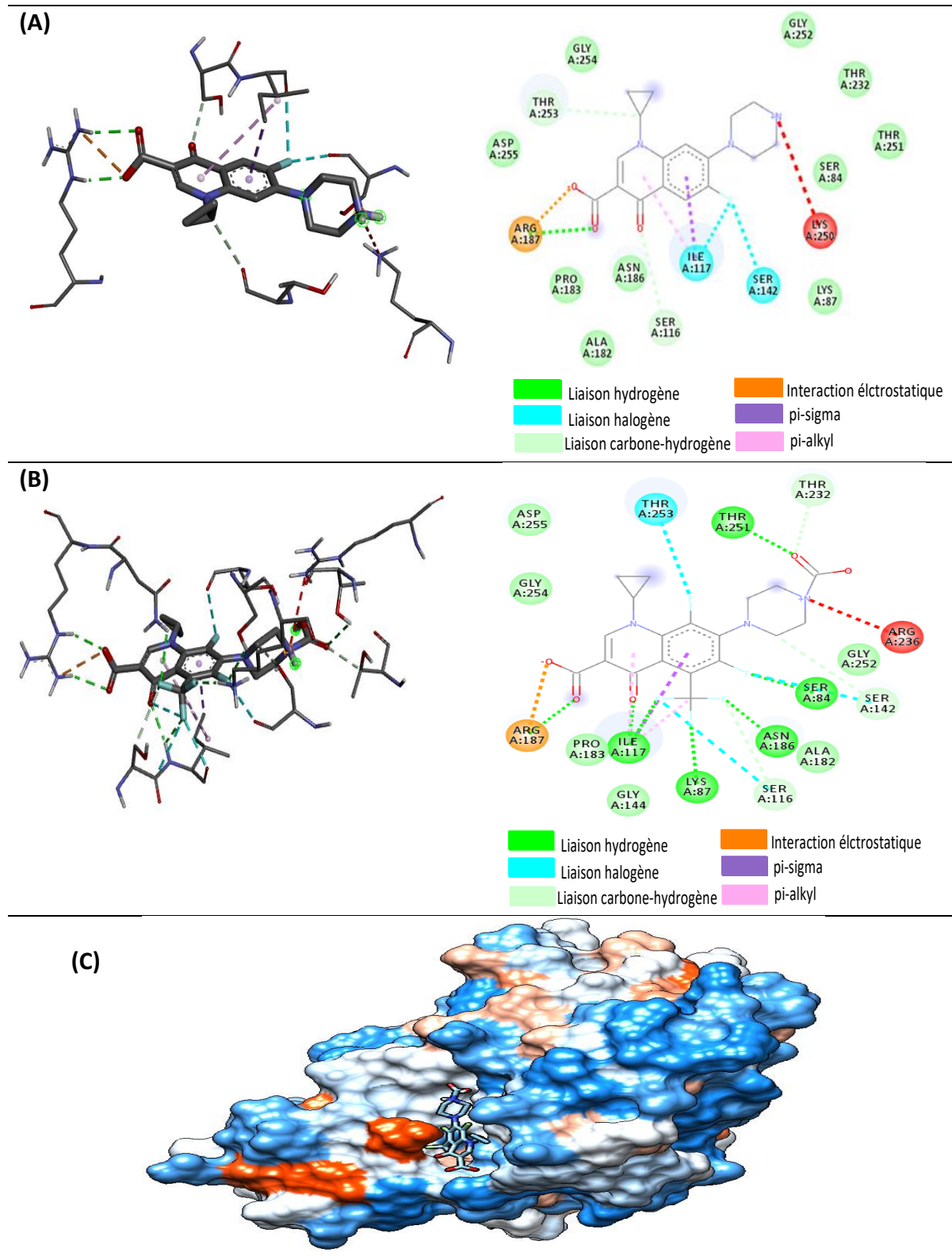


Figure 13. L'illustration 3D et 2D des interactions observées entre les composés et la β -lactamase (Pdb : 3N7W) (A) **Cip-A** avec 3N7W ; (B) **Cip-A27** avec 3N7W ; (C) **Cip-A27** sur le site actif de 3N7W.

Les différents dérivés comportant un groupe trifluorométhyl (-CF₃) sur la position R₂ et du groupe (-CH₂OH ou -COOH) sur la position R₃, tels que **Cip-A24**, **Cip-A25** et **Cip-A27**, ont montré une plus forte affinité de liaison, un nombre maximal d'interactions, ainsi que plusieurs liaisons halogènes. Les interactions non covalentes des complexes **3N7W-Cip-A** et **3N7W-CipA27** (meilleur pharmacophore) sont présentées dans la figure 13.

Des recherches antérieures [48] ont révélé que toutes les classes de β -lactamases hydrolysent les substrats de β -lactamines par une attaque nucléophile initiée par le résidu Ser84 du site actif [48]. Une autre étude [49] a montré que l'acide aminé Ile117 de 3N7W agissait comme un résidu "gardien" régulant l'accessibilité du substrat au site actif de l'enzyme [49].

En ce qui concerne le complexe **3N7W-Cip-A** :

- Deux liaisons hydrogène fortes avec ARG187 (2,03 Å et 2,35 Å).
- Deux liaisons hydrogène type carbon-hydrogène avec les résidus THR252 et SER116.
- Deux liaisons halogènes avec les résidus ILE117 et SER142.
- Deux interactions hydrophobes de type π -sigma et π -alkyle avec le résidu ILE117.
- Une interaction électrostatique de type π -cation avec le résidu ARG187.

Le complexe **3N7W-Cip-A27** a été stabilisé par la formation de :

- Huit liaisons hydrogène fortes avec les résidus SER84 (2,64 Å), ASN186 (2,39 Å), LYS87 (2,86 Å), ILE117 (2,58 Å et 2,28 Å), ARG187 (2,31 Å et 2,48 Å), ASN186 (2,71 Å) et THR251 (2,88 Å), par rapport à **Cip-A** qui n'en formait que deux. Ces liaisons hydrogène supplémentaires peuvent être le principal facteur contribuant à l'augmentation de l'énergie de liaison et ont un impact positif sur la stabilité du complexe protéine-ligand **3N7W-Cip-A27**.
- Trois liaisons hydrogène type carbon-hydrogène avec les résidus THR232, SER116 et SER142.
- De plus, huit liaisons halogènes avec des résidus SER 116, ILE117, SER142, THR253, LYS87 et ASN 186 ont été observées.
- Deux interactions électrostatiques type π -cation avec le résidu ARG187.
- Trois interactions hydrophobes sont également impliquées deux de type π -sigma et une de type π -alkyle avec le résidu ILE117.

Conclusion :

En outre, les interactions non covalentes, telles que les liaisons hydrogène et les liaisons halogène, ainsi que les interactions hydrophobes, ont joué un rôle essentiel dans la liaison des composés examinés aux protéines cibles. Toutes ces molécules ont présenté de multiples interactions non covalentes après leur docking moléculaires avec les protéines. Il convient de souligner que la liaison hydrogène est fondamentale pour la structure de l'ADN en biologie, étant donné qu'elle contribue à la formation de l'hélice régulière de l'ADN en s'associant à des modèles spécifiques de liaisons[50]. De plus, des recherches récentes ont démontré que la liaison halogène, similaire à la liaison hydrogène, joue un rôle crucial dans les systèmes biologiques et chimiques [5].

Pour la suite de notre travail, les trois meilleurs complexes **4QGG-Cip-A24**, **3JZF-Cip-A1** et **3N7W-Cip-A27** ont fait l'objet

V.4. Simulation dynamique moléculaire

La simulation de dynamique moléculaire a été évaluée par des calculs RMSD, RMSF et Rg en fonction du temps pour différents complexes ligand-protéine sélectionnés.

- RMSD (Root mean square deviation), racine de l'écart quadratique moyen.
- RMSF (Root mean square fluctuation), l'écart quadratique moyen des positions atomiques.
- Rg (Radius of gyration), rayon de giration.

V.4.1. Analyse du RMSD

Le RMSD est un indicateur de la différence entre la conformation initiale et finale d'un système moléculaire. Une faible valeur de RMSD indique une stabilité importante du système. Pour évaluer la variation des structures des complexes protéine-ligand, nous avons calculé les valeurs RMSD sur une période de 0 à 100 ns. Les représentations graphiques du RMSD des trois complexes **4QGG-Cip-A24**, **3JZF-Cip-A1** et **3N7W-Cip-A27** et des protéines correspondants 4QGG, 3JZF et 3N7W, respectivement, sont illustrées dans la figure 14.

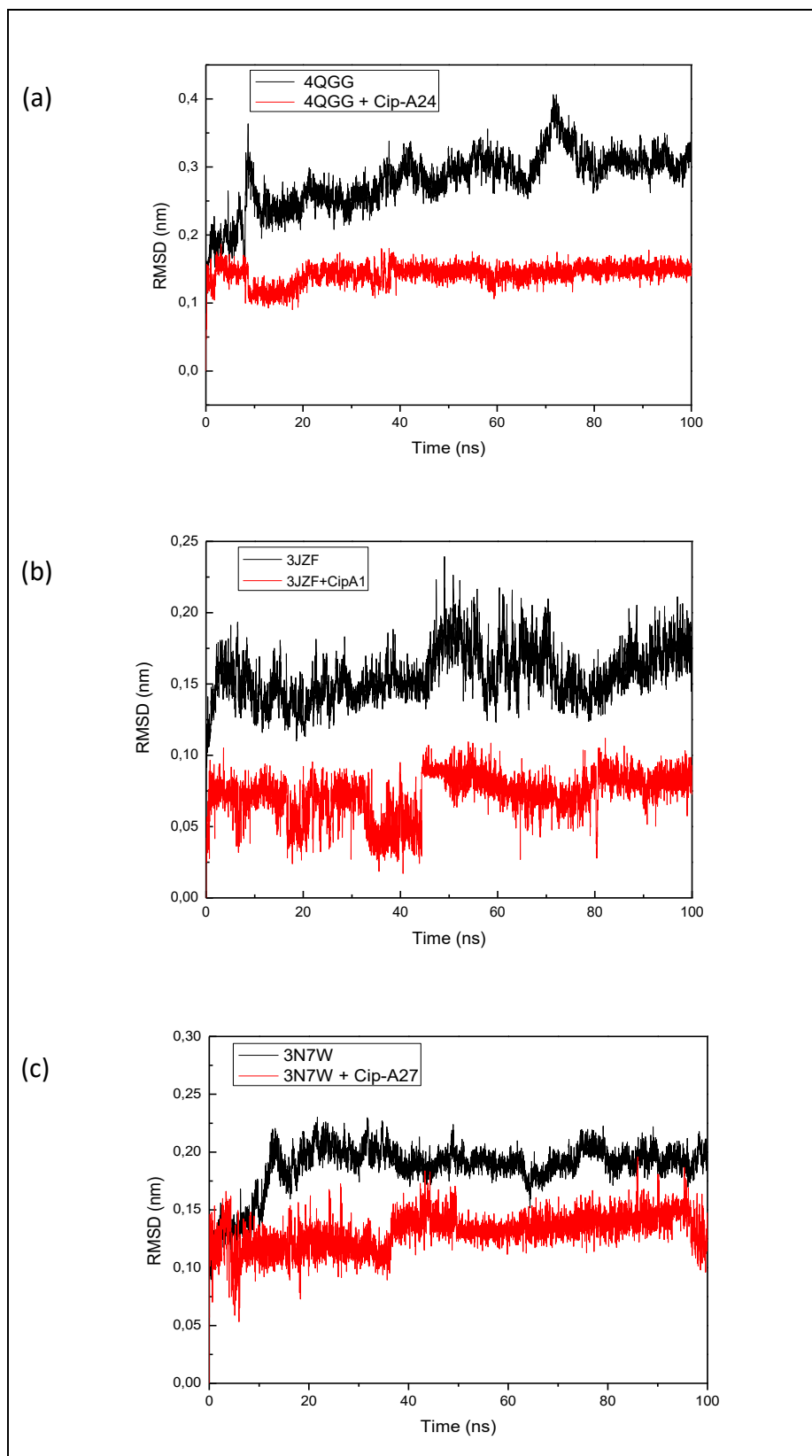


Figure 14. Représentation graphique du RMSD d’une simulation DM de 100 ns, (a) protéine 4QGG et complexe 4QGG-Cip-A24, (b) protéine 3JZF et complexe 3JZF-Cip-A1 et c) protéine 3N7W et complexe 3N7W-Cip-A27.

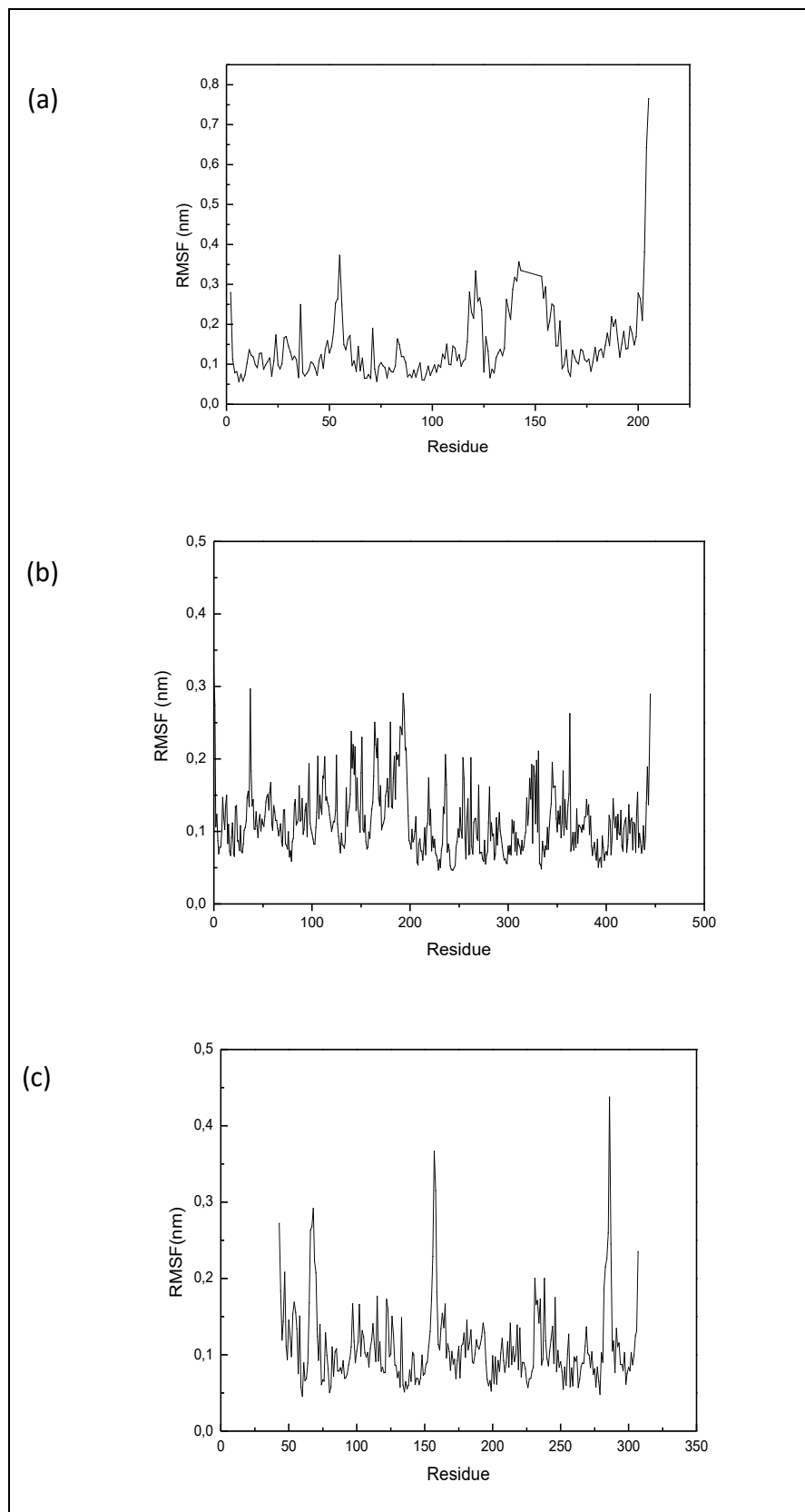


Figure 15 : Représentation graphique du RMSF d'une simulation DM de 100 ns, (a) complexe **4QGG-Cip-A24**, (b) complexe **3JZF-Cip-A1** et c) complexe **3N7W-Cip-A27**.

L'analyse des représentations graphiques RMSD montre une diminution des valeurs pour les complexes **4QGG-Cip-A24**, **3JZF-Cip-A1** et **3N7W-Cip-A27** par rapport à leurs structures initiales (protéines). Effectivement, les ligands **Cip-A24**, **Cip-A1** et **Cip-A27** ont stabilisé en moyenne de 0.14 nm, 0.08 et 0.05 nm les structures des protéines 4QGG, 3JZF et 3N7W par rapport à leurs formes non liées.

V.4.2. Analyse du RMSF

Pour évaluer la flexibilité des régions protéiques, nous avons utilisé le RMSF, qui mesure les fluctuations de chaque résidu au cours de la simulation DM. On note que les résidus avec des valeurs RMSF plus élevées expliquent une plus grande flexibilité, ce qui suggère une probabilité importante d'interaction avec le ligand. Les représentations graphiques du RMSF des trois complexes **4QGG-Cip-A24**, **3JZF-Cip-A1** et **3N7W-Cip-A27** sont illustrées dans la figure 15.

- Pour le complexe **4QGG-Cip-A24** (205 acides aminés), Une valeur RMSF moyenne de 0,27 nm a été observée. Les fluctuations les plus importantes, inférieur à 0,4 nm, ont été observées pour les résidus 55, 121, 153 et 140-143. La molécule a réussi à établir des interactions stables avec la protéine au cours de la simulation.
- Pour le complexe **3JZF-Cip-A1**, Une valeur RMSF moyenne de 0,27 nm a été observée. Les fluctuations les plus importantes, inférieur à 0,3 nm, ont été observées pour les résidus 37, 193 et 363. Le pharmacophore a pu établir des interactions fortes avec la protéine durant la simulation MD.
- Pour le complexe **3N7W-Cip-A27**, Une valeur RMSF moyenne est de 0,27 nm, Les fluctuations les plus importantes, inférieure à 0,5 nm, ont été observées pour les résidus 157-158 et 286. Le composé a pu formuler des interactions solides avec la protéine pendant la simulation DM. (voir Figure 15).

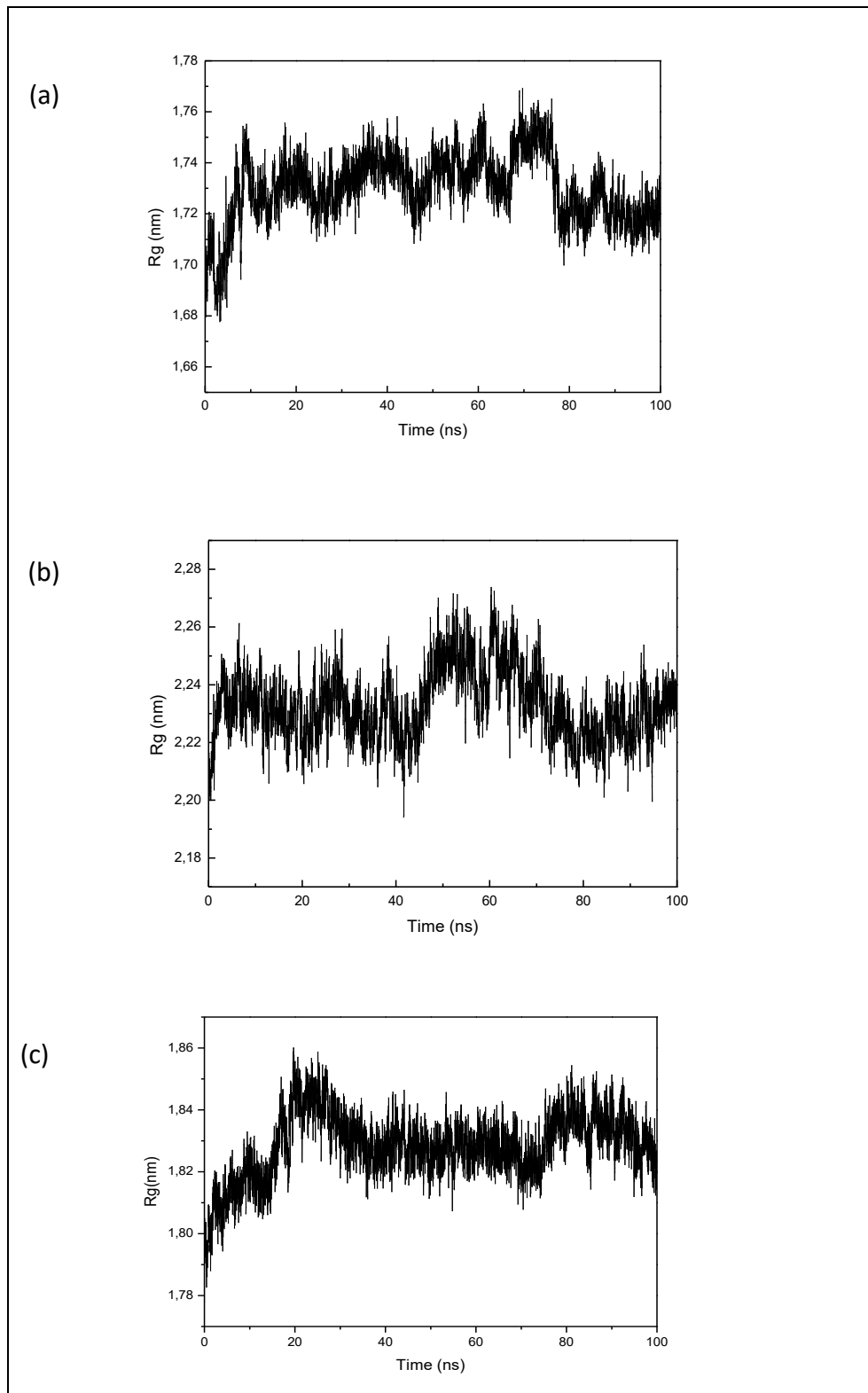


Figure 16. Représentation graphique du Rg d'une simulation DM de 100 ns, (a) complexe **4QGG-Cip-A24**, (b) complexe **3JZF-Cip-A1** et c) complexe **3N7W-Cip-A27**.

V.4.3. Rayon de giration (Rg)

La compacité globale de la structure protéique pendant la simulation a été évaluée à l'aide du rayon de giration (Rg). Ce paramètre correspond à la distance entre le centre de masse de tous les atomes de la protéine et son extrémité à un moment donné.

En général, une structure protéique repliée de manière stable présente moins de variations dans la valeur du Rg, ce qui indique une stabilité dynamique. Les représentations graphiques du Rg des trois complexes **4QGG-Cip-A24**, **3JZF-Cip-A1** et **3N7W-Cip-A27** sont illustrées dans la figure 16.

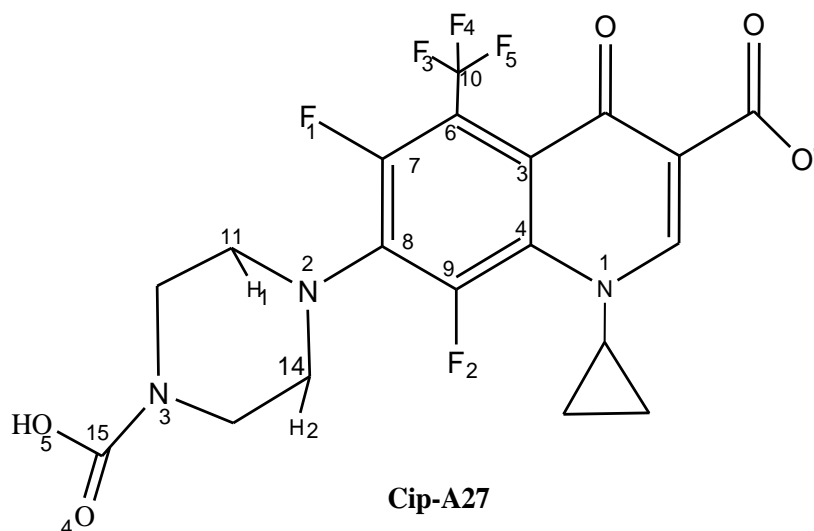
- Pour le complexe **4QGG-Cip-A24**, le Rg était initialement compris entre 1,68 et 1,72 nm, et il s'est stabilisé après 20 ns de simulation. Les valeurs du Rg ont continué de diminuer et se sont stabilisées entre 80 et 100 ns, ce qui indique une stabilité de la liaison Ce qui suggère une structure plus resserrée et une liaison renforcée avec le récepteur. (voir Figure 11a).
- Pour le complexe **3JZF-Cip-A1**, le Rg est compris entre 2.20 et 2.26 nm pour 40 ns de simulation. Les valeurs du Rg ont augmenté entre 40 et 60 ns. Par la suite le Rg diminue et se stabilise entre 80 et 100 ns. Cela indique une structure plus rapprochée et une interaction plus forte avec le récepteur.
- Pour le complexe **3N7W-Cip-A27**, le Rg est compris entre 1.78 et 1.86 nm pour 20 ns de simulation. Par la suite le Rg s'est stabilisé entre 30 et 100 ns. Cela suggère une structure plus compacte et une liaison plus solide avec le récepteur.

III.5. Analyse (NBO)

Les énergies (E^2) calculées en utilisant la théorie des perturbations du second ordre, conformément à la méthode proposée par Weinhold et Landis en 2005 [51]. Les énergies E^2 associées aux interactions dans le composé **Cip-A** et ses dérivés les plus stables, **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27**, ont été calculés et sont résumées dans le tableau 3.

L'analyse du tableau 3 montre que

Tableau 3. Énergies de perturbation de second ordre $E^{(2)}$ (kcal/mol) correspondant aux interactions les plus importantes (donneur-accepteur) dans **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27** en utilisant la méthode HF/6-311G (d,p).



Interactions Types	$E^{(2)}$ (kcal/mol)			
	Cip-A	Cip-A1	Cip-A24	Cip-A27
$\pi_{C4-C3} \rightarrow \pi^*_{C6-C7}$	49,42	41,58	-	-
$\pi_{C4-C3} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$	38,53	51,51	-	-
$\pi_{C6-C7} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$	51,53	47,27	42,73	37,62
$\pi_{C8-C9} \rightarrow \pi^*_{C4-C3}$	34,79	30,04	-	-
$\pi_{C8-C9} \rightarrow \pi^*_{C6-C7}$	26,33	31,40	31,14	34,92
$n_{N3} \rightarrow \pi^*_{C6-C7}$	16,08	19,08	1,36	20,37
$n_{N1} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$	13,91	-	14,13	6,75
$n_{N1} \rightarrow \sigma^*_{C14-H2}$	12,86	1,06	12,77	12,17
$n_{N1} \rightarrow \sigma^*_{C11-H1}$	11,65	11,70	11,41	11,99
$n_{N1} \rightarrow \pi^*_{C6-C7}$	-	-	126,78	113,41
$n_{N3} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$	-	17,53	-	18,99
$n_{N3} \rightarrow \sigma^*_{C10-F4}$	-	-	11,78	11,53
$n_{N3} \rightarrow \sigma^*_{C10-F5}$	-	-	13,82	12,98
$n_{N2} \rightarrow \pi^*_{C15-O4}$	-	-	66,30	66,69

L'analyse du tableau 3 montre que

-La structure de la ciprofloxacine **Cip-A** présente une interaction significative entre les orbitales $\pi_{C6-C7} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$, avec une énergie de stabilisation de 51.53 kcal/mol. On remarque que cette interaction est aussi présente dans les trois autres dérivés **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27**.

- Le dérivé **Cip-A1** présente une interaction importante des orbital $\pi_{C4-C3} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$, avec une énergie de stabilisation de 51,51 kcal/mol, mais cette interaction n'est pas présente dans les composés **Cip-A24** et **Cip-A27**.

- Une forte énergie de stabilisation associée à la délocalisation de l'orbitale $n1_{C3} \rightarrow \pi^*_{C6-C7}$ est observé pour les composés **Cip-A24** et **Cip-A27** avec des valeurs de $E^{(2)}$ de 126,78 et 113,41 kcal/mol, respectivement. De même pour l'interaction entre l'orbitale $n2_{O5} \rightarrow \pi^*_{C15-O4}$ avec des énergies de stabilisation de 66,30 kcal/mol pour **Cip-A24** et 66,69 kcal/mol pour **Cip-A27**.

V.6. Analyse de la réactivité globale et locale

L'analyse de la réactivité globale et locale basée sur les indices théoriques issus de la théorie fonctionnelle de la densité conceptuelle (CDFT) est devenue un outil précieux dans l'étude de la réactivité chimique des composés organiques [52].

V.6.1. Indice de réactivités globales

Dans le Tableau 4, on présente les propriétés globales statiques telles que le potentiel chimique électronique μ , la dureté chimique η , l'électrophilie globale ω et la nucléophilie globale N pour les composés **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27**.

Tableau 4. Les énergies HOMO, LUMO, indices de réactivité globale et ΔN_{max} de **Cip-A** et ces dérivées **Cip-A1**, **Cip-A24** and **Cip-A27** en (eV).

Composés	HOMO	LUMO	μ	η	ω	N	ΔN_{max}
Cip-A	-3,12	-2,85	-2,99	0,27	16,44	6,24	11,00
Cip-A1	-3,16	-2,84	-3,00	0,32	14,07	6,20	9,37
Cip-A24	-3,64	-3,43	-3,53	0,21	29,51	5,73	16,71
Cip-A27	-3,65	-3,44	-3,55	0,21	29,78	5,72	16,80

Les descripteurs de réactivité globale, obtenus par la DFT, offrent une vue d'ensemble de la réactivité chimique de la molécule. Les composés contenant un groupe carboxylique et

le groupe CF₃ (**Cip-A24** et **Cip-A27**) présentent les valeurs les plus élevées de l'indice d'électrophilie ω (29,51 eV et 29,78 eV, respectivement) ainsi qu'une charge électronique additionnelle ΔN_{\max} (16,71 eV et 14,25 eV, respectivement). Ces valeurs élevées suggèrent une forte électrophilie par rapport à **Cip-A**.

V.6.2. Indice de réactivités locales

Les chercheurs [53] ont également développé divers descripteurs de réactivité locaux qui permettent de cartographier la répartition des indices d'électrophilie globale (ω) et de nucléophilie (N) au niveau des sites atomiques (k).

Les indices de Parr font partie de ces descripteurs de réactivité locale tel qu'électrophiles local, P_k^+ et nucléophiles local, P_k^- .

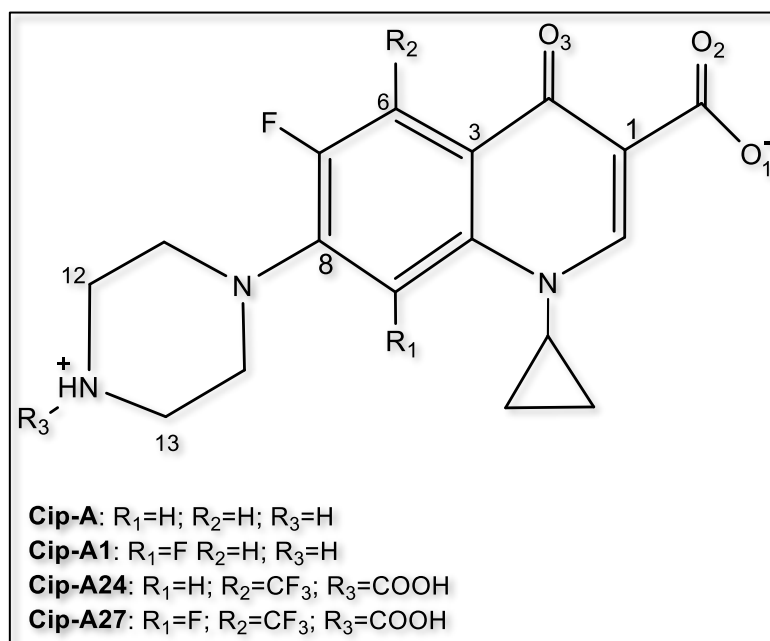


Figure 17 : Numérotation atomique de **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27**.

Les indices de nucléophile de Parr, P_k^- , et la nucléophilie locale N_k^p , pour les atomes sélectionnés O1, O2, O3 et C1 de **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27** sont présentés dans le tableau 5 (voir Figure 15 pour la numérotation des atomes).

Les valeurs de N_k^p les plus élevées nous indiquent que l'atome O2 est le site le plus nucléophile pour **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27**, avec des valeurs respectives de N_k^p de 4,45 eV, 4,38

eV, 4,32 eV et 4,29 eV. Il est intéressant de noter que l'atome O2 forme des liaisons hydrogène robustes avec ARG105 de 4QGG et ARG187 de 3N7W.

Tableau 5. Indices de Parr nucléophiles, P_k^- , et nucléophilie locale, N_k^p , valeurs (en eV) pour les atomes O1, O2, O3, C1 de **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** et **Cip-A27**.

Composés	Cip-A		Cip-A1		Cip-A24		Cip-A27	
	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p
C3	0.003	0.05	0.000	0.00	0.033	0.97	0.061	1.82
C6	0.009	0.15	0.001	0.01	0.035	1.03	0.030	0.89
C8	0.012	0.20	0.009	0.12	0.022	0.64	0.033	0.98
C12	-0.019	-0.33	-0.025	-0.34	0.059	1.74	0.053	1.57
C13	-0.022	-0.33	-0.024	-0.35	0.024	0.70	0.036	1.07

En ce qui concerne les indices de Parr électrophiliques (P_k^+) et d'électrophilie locale (ω_k^p), les valeurs pour les atomes C3, C6, C8, C12 et C13 de **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27** sont présentées dans le Tableau 6. Ces valeurs nous révèlent que l'atome C3 est le site électrophile le plus marqué dans la molécule **Cip-A27**, avec une valeur de ω_k^p de 1,82 eV. Il convient de noter que les atomes C12 et C13 présentent également des valeurs élevées d'électrophilie (1,57 eV et 1,05 eV respectivement). Pour **Cip-A24**, le site électrophile le plus prononcé est C12, avec $\omega_k^p = 1,74$ eV.

Tableau 6. Indices de Parrs électrophiles, P_k^+ , et électrophilie locale, ω_k^p , valeurs (en eV) pour les atomes C3, C6, C8, C12, C13 de **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27**.

V.7. Analyse du potentiel électrostatique moléculaire

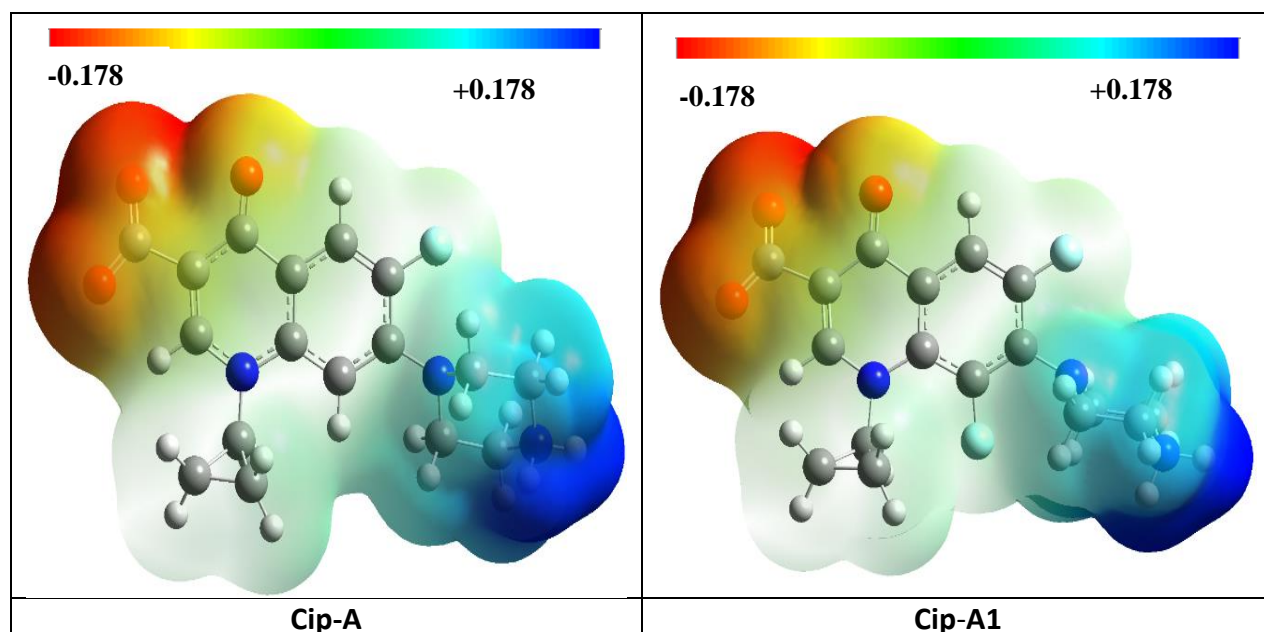
Composes	Cip-A		Cip-A1		Cip-A24		Cip-A27	
	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p
O1	0.056	0.35	0.063	0.39	0.057	0.33	0.055	0.29
O2	0.712	4.45	0.706	4.38	0.753	4.32	0.748	4.29
O3	0.133	0.83	0.112	0.70	0.139	0.61	0.099	0.57
C1	0.148	0.93	0.164	1.02	0.139	0.80	0.151	0.86

Dans cette section, nous avons effectué une analyse MEP de la molécule **Cip-A** ainsi que de ses composés les plus stables, à savoir **Cip-A1**, **Cip-A25** et **Cip-A27**. La Figure 16

présente la carte du MEP, où différentes couleurs sont utilisées pour représenter différentes caractéristiques. La couleur rouge sur la carte indique la zone de potentiel négatif maximal, qui correspond au site favorable pour les attaques par des électrophiles. La couleur bleue désigne la zone de potentiel positif maximal, qui est le site favorable aux attaques nucléophiles. Enfin, la couleur verte représente la zone de potentiel nul.

Nous constatons que la zone rouge, c'est-à-dire la région de potentiel négatif maximal, se trouve principalement autour des atomes d'oxygène, notamment dans le groupe carboxyle, à la fois pour la molécule **Cip-A** et ses trois dérivés (**Cip-A1**, **Cip-A25** et **Cip-A27**). Cette région présente une densité électronique plus élevée que les autres parties de la molécule. Plus précisément, le composé **Cip-A1** présente le potentiel négatif maximal le plus élevé, évalué à 0,178 ua, tandis que son potentiel positif maximal est de -0,178 ua.

En résumé, cette analyse MEP révèle que les régions riches en électrons se trouvent principalement autour des atomes d'oxygène, en particulier dans le groupe carboxyle, ce qui en fait des sites privilégiés pour les réactions électrophiles. Le composé **Cip-A1** se distingue par le potentiel négatif maximal le plus élevé parmi les composés étudiés.



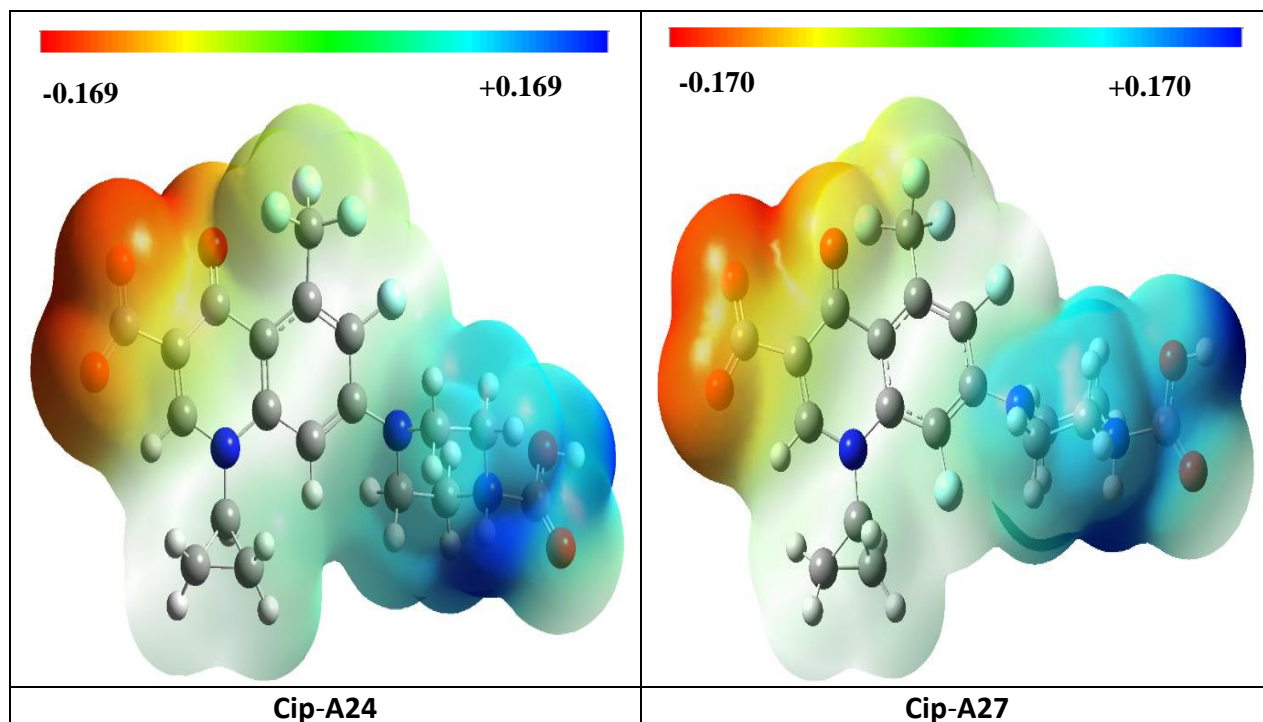


Figure 18. Représentation MEP des composés **Cip-A** et ces dérivés **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27**.

VI. Conclusion

Dans cette recherche, nous avons mené une analyse basée sur la chimie quantique et la modélisation moléculaire sur la ciprofloxacine et ses 34 dérivés modifiés (de **Cip-A1** à **Cip-B7**). Notre objectif était d'évaluer leur stabilité, leurs propriétés antibactériennes, leur activité contre le Mycobactérie tuberculoses et leurs caractéristiques pharmacocinétiques.

Nous avons utilisé la chimie quantique pour optimiser les géométries de tous les composés en phase gazeuse, en utilisant la méthode DFT/B3LYP/6-311G (d, p). Les résultats de nos études de docking ont révélé que les composés modifiés, en particulier ceux contenant des groupes fluor et trifluorométhyl, étaient plus puissants que la ciprofloxacine de référence (**Cip-A**) et présentaient un plus grand nombre d'interactions, y compris plusieurs liaisons halogènes.

En ce qui concerne l'inhibition de la biotine (3JZF) des organismes à Gram négatif, le composé **Cip-A1** s'est avéré être le meilleur candidat. De plus, le composé **Cip-A24** a montré une forte inhibition contre l'organisme à Gram positif TMK (4QGG), tout comme **Cip-A27** s'est révélé être un bon inhibiteur de la β -lactamase (3N7W).

Nos analyses ADMET *in silico* (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) ont montré que les composés **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27** présentaient de bonnes propriétés d'absorption, n'étaient pas potentiellement cancérogènes, avaient une biodisponibilité modérée pour le récepteur cible, un bon métabolisme, un faible risque de problèmes cardiaques et une toxicité modérée chez les modèles de rats. De plus, les énergies de délocalisation élevées ont suggéré que ces composés étaient stables.

En conclusion, nos résultats préliminaires suggèrent que les dérivés **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27** pourraient être de nouveaux candidats prometteurs pour le développement de médicaments antibactériens et antimycobactérien. Cependant, il est important de noter que ces résultats ne sont que le début.

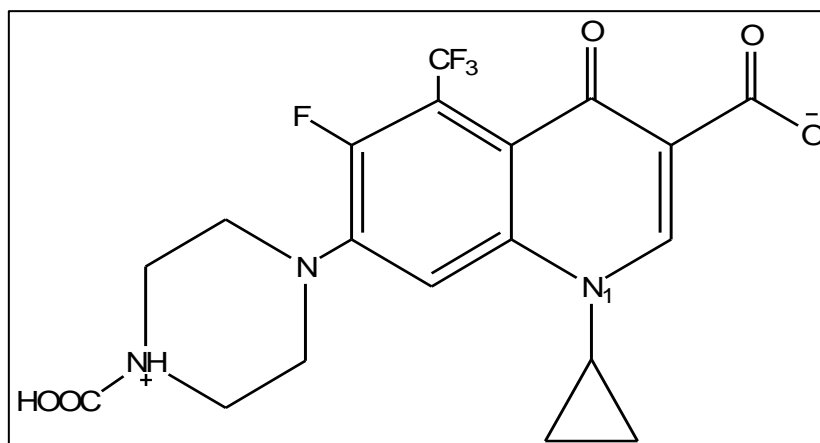


Schéma 14 : structure de dérivé Cip-A24

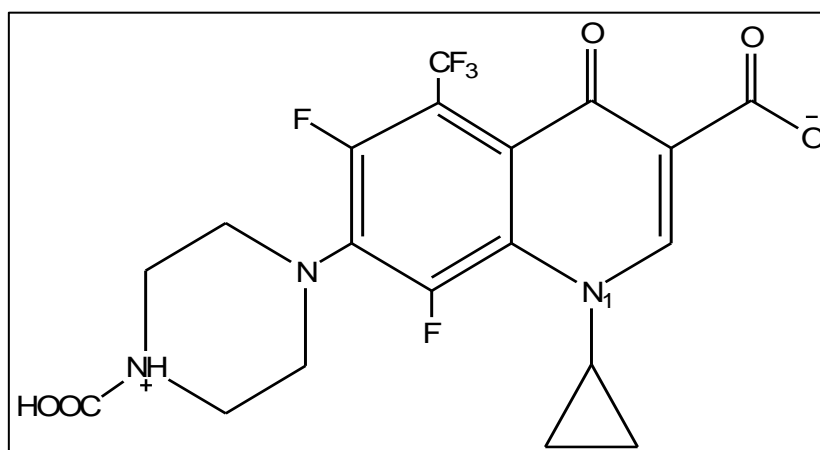


Schéma 15 : structure de dérivé Cip-A1

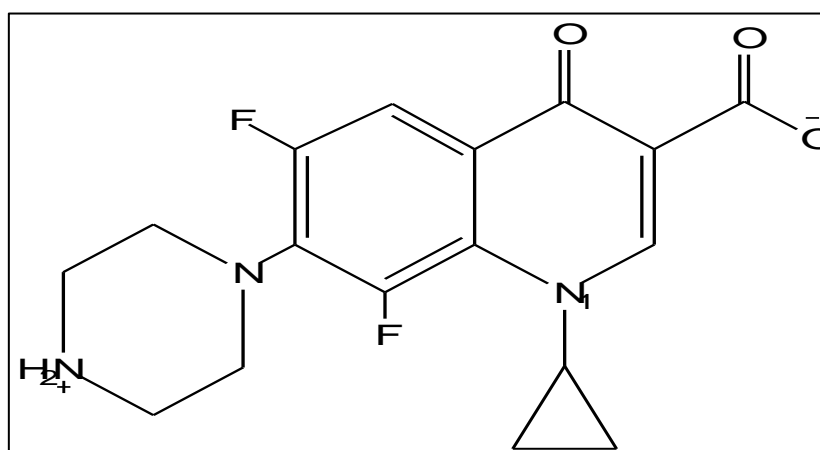


Schéma 16 : structure de dérivé Cip-A27

Références Bibliographiques

- [1] G.-F. Zhang, X. Liu, S. Zhang, B. Pan, et M.-L. Liu, « Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities », *Eur J Med Chem*, **2018**, 146, 599-612, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.078>.
- [2] J. D. Chandler et B. J. Day, « THIOCYANATE: A potentially useful therapeutic agent with host defense and antioxidant properties », *Biochemical Pharmacology*, **2012**, 84, 1381-1387, <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.07.029>.
- [3] S. Purser, P. R. Moore, S. Swallow, et V. Gouverneur, « Fluorine in medicinal chemistry », *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 320-330. <https://doi.org/10.1039/B610213C>.
- [4] M. Petterson, X. Hou, M. Kuhn, T. T. Wager, G. W. Kauffman, et P. R. Verhoest, « Quantitative Assessment of the Impact of Fluorine Substitution on P-Glycoprotein (P-gp) Mediated Efflux, Permeability, Lipophilicity, and Metabolic Stability », *J Med Chem*, **2016**, 59, 5284-5296, <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00027>.
- [5] J. Shawon *et al.*, « Molecular Recognition of Azelaic Acid and Related Molecules with DNA Polymerase I Investigated by Molecular Modeling Calculations », *Interdiscip Sci*, **2018**, 10, 525-537, <https://doi.org/10.1007/s12539-016-0186-3>.
- [6] M. Uzzaman, J. Shawon, et Z. A. Siddique, « Molecular docking, dynamics simulation and ADMET prediction of Acetaminophen and its modified derivatives based on quantum calculations », *SN Appl. Sci.*, **2019**, 1, 1437, <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1442-z>.
- [7] C. Lamberth, J. Dinges, « Bioactive Carboxylic Compound Classes: Pharmaceuticals and Agrochemicals », **2016**, ISBN: 9783527693931.
- [8] H. H. H. Mohammed *et al.*, « Synthesis, molecular docking, antimicrobial evaluation, and DNA cleavage assay of new thiadiazole/oxadiazole ciprofloxacin derivatives », *Monatsh Chem*, **2019**, 150, 1809-1824, <https://doi.org/10.1007/s00706-019-02478-4>.
- [9] L. Zhang, K. V. Kumar, R.-X. Geng, et C.-H. Zhou, « Design and biological evaluation of novel quinolone-based metronidazole derivatives as potent Cu²⁺ mediated DNA-targeting antibacterial agents », *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. **2015**, 25, 3699-3705, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.06.041>.
- [10] Y.-Q. Hu *et al.*, « Quinoline hybrids and their antiplasmodial and antimalarial activities », *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2017**, 139, 22-47, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.061>.
- [11] H. Ahadi *et al.*, « Synthesis and biological assessment of ciprofloxacin-derived 1, 3, 4-thiadiazoles as anticancer agents », *Bioorg Chem*, **2020**, 105, 104383, <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104383>.

- [12] S. P. Kawatkar et al., « Antibacterial inhibitors of Gram-positive thymidylate kinase: structure-activity relationships and chiral preference of a new hydrophobic binding region », *J Med Chem*, **2014**, 57, 4584-4597, <https://doi: 10.1021/jm500463c>.
- [13] C. R. Groom, I. J. Bruno, M. P. Lightfoot, et S. C. Ward, « The Cambridge Structural Database », *Acta Cryst B*, **2016**, 72., <https://doi: 10.1107/S2052520616003954>.
- [14] H.M. Berman, Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E. The Protein Data Bank Nucleic Acids Research, **2000**, 28, 235-242.
- [15] J. Dong *et al.*, « ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database », *J Cheminform*, **2018**, 10, 29, <https://doi: 10.1186/s13321-018-0283-x>.
- [16] Mercury 3.8 (Build RC 2), copyright CCDC 2001-2016. <https://www.ccdc.cam.ac.uk>.
- [17] Gaussian 09, Revision B.01, Frisch, M. J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H. et al. Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**.
- [18] Frisch, M. J.; Nielsm, A. B.; Holder, A. J. Gaussview User Manual Gaussian, Pittsburgh, 2008.
- [19] HyperChem® Release 7 for Windows®, Getting Started, 2002.
- [20] UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen, E.F.; Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Couch, G. S.; Greenblatt, D. M.; Meng, E. C.; Ferrin, T. E.; *J Comput Chem*. **2004**, 25, 1605-12.
- [21] Trott, O.; Olson, A. J.; AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry*, **2010**, 31, 455-461.
- [22] Version ADS (v20.1.0.19295), Accelrys, San Diego, USA.
- [23] Van Der Spoel. D et al, GROMACS: fast, flexible, and free, *J Comput Chem.*; **2005**, 26, 1701-18., <https://doi: 10.1002/jcc.20291>
- [24] O'Boyle, N. M. ; Banck, M. ; James, C. A. et al. Open Babel: An open chemical toolbox. *J Cheminform*, **2011**, 3, 33.
- [25] A. D. Becke, « Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange », *Journal of Chemical Physics*, **1993**, 98, 5648-5652, <https://doi: 10.1063/1.464913>.
- [26] R. G. Parr et R. G. Pearson, « Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity », ACS Publications. Consulté le: 19 février 2023. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja00364a005>
- [27] R. G. Parr, Y. Weitao, R. G. Parr, et Y. Weitao, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. in International Series of Monographs on Chemistry. Oxford, New York: Oxford University Press, **1995**.

- [28] L. R. Domingo, E. Chamorro, et P. Pérez, « Understanding the Reactivity of Captodative Ethylenes in Polar Cycloaddition Reactions. A Theoretical Study », *J. Org. Chem.*, vol. 73, n° 12, p. 4615-4624, **2008**, <https://doi.org/10.1021/jo800572a>.
- [29] R. G. Parr, L. v. Szentpály, et S. Liu, « Electrophilicity Index », *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 1922-1924, <https://doi.org/10.1021/ja983494x>.
- [30] L. R. Domingo, M. J. Aurell, P. Pérez, et R. Contreras, « Quantitative Characterization of the Local Electrophilicity of Organic Molecules. Understanding the Regioselectivity on Diels–Alder Reactions », *J. Phys. Chem. A*, **2002**, 106, 6871-6875, <https://doi.org/10.1021/jp020715j>.
- [31] R. Contreras, J. Andres, V. S. Safont, P. Campodonico, et J. G. Santos, « A Theoretical Study on the Relationship between Nucleophilicity and Ionization Potentials in Solution Phase », *J. Phys. Chem. A*, **2003**, 107, 5588-5593, <https://doi.org/10.1021/jp0302865>.
- [32] P. Pérez, L. R. Domingo, M. Duque-Noreña, et E. Chamorro, « A condensed-to-atom nucleophilicity index. An application to the director effects on the electrophilic aromatic substitutions », *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, **2009**, 895, 86-91, <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2008.10.014>.
- [33] G. Zhang, L. Zhang, D. Yang, N. Zhang, L. He, G. Du and Y. Lu, «Salt screening and characterization of ciprofloxacin», *Acta Cryst.* **2016**. B72, 20-28 <https://doi.org/10.1107/S2052520615018582>
- [34] C. C. Cheng et al., « Discovery and optimization of antibacterial AccC inhibitors », *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2009**, 19, no 23, p. 6507-6514.
- [35] R. P. D. Bank, « RCSB PDB - 3N7W: Crystal Structure of BlaC-E166A covalently bound with Amoxicillin ». Consulté le: 27 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.rcsb.org/structure/3n7w>
- [36] G. Clément et K. Slenzka, Éd., *Fundamentals of Space Biology: Research on Cells, Animals, and Plants in Space*. New York, NY: Springer, **2006**. <https://doi.org/10.1007/0-387-37940-1>.
- [37] C. Didierjean et F. Tête-Favier, « Introduction to Protein Science. Architecture, Function and Genomics. Third Edition. By Arthur M. Lesk. Oxford University Press, 2016. Pp. 466. ISBN: 9780198716846. », *Acta Cryst D*, **2016**, 72, <https://doi.org/10.1107/S2059798316018283>.
- [38] N.-N. Wang et al., « ADME Properties Evaluation in Drug Discovery: Prediction of Caco-2 Cell Permeability Using a Combination of NSGA-II and Boosting », *J. Chem. Inf. Model.*, **2016**, 56, 763-773, <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00642>
- [39] E. H. Kerns et L. Di, Éd., « Preface », in *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods*, San Diego: Academic Press, **2008**, xviii-xix. <https://doi.org/10.1016/B978-012369520-8.50001-2>

- [40] W. M. Pardridge, « CNS Drug Design Based on Principles of Blood-Brain Barrier Transport », *Journal of Neurochemistry*, **1998**, 70,1781-1792, <https://doi:10.1046/j.1471-4159.1998.70051781.x>.
- [41] J. M. Ridley *et al.*, « Inhibition of the HERG K⁺ channel by the antifungal drug ketoconazole depends on channel gating and involves the S6 residue F656 », *FEBS Letters*, **2006**, 580, 1999-2005, <https://doi:10.1016/j.febslet.2006.02.073>.
- [42] M. C. Sanguinetti *et al.*, « Predicting drug-HERG channel interactions that cause acquired long QT syndrome », *Trends Pharmacol Sci*, **2005**, 26, 119-124, <https://doi:10.1016/j.tips.2005.01.003>.
- [43] T. Lei, Y. Li, Y. Song, D. Li, H. Sun, *et al.*, « ADMET evaluation in drug discovery: 15. Accurate prediction of rat oral acute toxicity using relevance vector machine and consensus modeling », *Journal of Cheminformatics*, **2016**, 8, n 6, <https://doi:10.1186/s13321-016-0117-7>.
- [44] H. Zhu, T. M. Martin, L. Ye, A. Sedykh, D. M. Young, *et al.*, « Quantitative Structure–Activity Relationship Modeling of Rat Acute Toxicity by Oral Exposure », *Chem. Res. Toxicol.*, **2009**, 22, 1913-1921, <https://doi:10.1021/tx900189p>.
- [45] R. C. Wade *et al.*, « The role of hydrogen-bonds in drug binding », *Prog Clin Biol Res*, **1989**, 289, 433-444,.
- [46] D. Chen, N. Oezgüen, P. Urvil, C. Ferguson, S. M. Dann, *et al.*, « Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing », *Sci Adv*, **2016**, 2, e1501240, <https://doi:10.1126/sciadv.1501240>.
- [47] Kensal E. van Holde, Curtis Johnson, Pui Shing Ho, « Principles of Physical Biochemistry » ,2nd edition, 2005, **ISBN**: 978-0130464279
- [48] S. O. Meroueh, J. F. Fisher, H. B. Schlegel, *et al.*, « Ab Initio QM/MM Study of Class A β -Lactamase Acylation: Dual Participation of Glu166 and Lys73 in a Concerted Base Promotion of Ser70 », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. **2005**, 127, 15397-15407, <https://doi:10.1021/ja051592u>.
- [49] C. Feiler *et al.*, « Directed Evolution of Mycobacterium tuberculosis β -Lactamase Reveals Gatekeeper Residue That Regulates Antibiotic Resistance and Catalytic Efficiency », *PLOS ONE* **2013**, 8, e73123, <https://doi:10.1371/journal.pone.0073123>.
- [50] J. S. Mitchell, J. Glowacki, A. E. Grandchamp, R. S. Manning, *et al.*, « Sequence-Dependent Persistence Lengths of DNA », *J. Chem. Theory Comput.*, **2017**, 13, 1539-1555, <https://doi:10.1021/acs.jctc.6b00904>.
- [51] F. Weinhold *et al.*, *Valency and Bonding: A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective*, 1st edition. Cambridge, UK ; New York: Cambridge University Press, **2005**. **ISBN**: 9780511614569. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511614569>

- [52] L. R. Domingo, P. Pérez, et J. A. Sáez, « Understanding the local reactivity in polar organic reactions through electrophilic and nucleophilic Parr functions », *RSC Adv.*, **2013**, 3, 1486-1494, <https://doi: 10.1039/C2RA22886F>.
- [53] D. Chakraborty et P. K. Chattaraj, « Conceptual density functional theory based electronic structure principles », *Chem. Sci.*, **2021**, 12, 6264-6279, <https://doi: 10.1039/D0SC07017C>.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion Générale

Dans cette thèse, l'objectif était de concevoir de nouveaux analogues efficaces de la ciprofloxacine, un antibiotique de la famille des fluoroquinolones de deuxième génération. Des approches *in silico* ont été employées afin d'explorer de nouvelles structures originales ayant des propriétés antibactériennes et antimycobactérien. Pour ce faire, nous avons suivi un parcours méthodologique incluant les méthodes mentionnées ci-dessus.

Dans une première partie, nous avons étudié deux structures de la ciprofloxacine la forme zwitterionique (**Cip-A**) et la forme non zwitterionique (**Cip-B**). À partir de ces structures de référence, nous avons conçu 34 nouveau pharmacophore afin d'évaluer leurs activités antibactériennes et antimycobactérien. Les calculs ont été réalisés en employant

- Des méthodes quanto-chimiques à savoir : la DFT par la fonctionnelle B3LYP en utilisant 6-311 G (d,p), les indices dérivant de la CDFT, l'analyse NBO et un calcul MEP.
- Des méthodes de modélisation moléculaire à savoir : le docking moléculaire, la mécanique et dynamique moléculaire et la prédiction des paramètres pharmacocinétiques ADMET.

Les principaux résultats théoriques *in silico* obtenus dans ce modeste travail sont :

- Le profil ADMET montre que les 34 dérivés conçus peuvent être administrés par voie orale sans présenter un potentiel cancérigène grâce à leur mode d'absorption intestinale. Huit dérivés peuvent être ciblés spécifiquement vers leur site d'action thérapeutique. 34 dérivés peuvent être métabolisés sans altérer les fonctions de l'organisme. 25 dérivés ont un profil de sécurité potentiellement acceptable selon les études toxicologiques menées.

- L'énergie de liaison et le mode d'interaction sur les analogues de la ciprofloxacine conçus avec les résidus d'acides aminés des protéines réceptrices, notamment la thymidylate kinase (4QGG), la biotine carboxylase (3JZF) et β -lactamase (3N7W) a été mis en évidence par la simulation de docking moléculaire. L'analyse montre que toutes les molécules testées ont présenté de multiples interactions non covalentes lors de leur docking avec les protéines cibles. Le composé **Cip-A1** s'est distingué comme le meilleur inhibiteur de la cible à Gram négatif 3JZF. Par ailleurs, le composé **Cip-A24** a démontré une forte capacité d'inhibition contre l'organisme à Gram positif 4QGG. Tandis que l'analogue **Cip-A27** s'est avéré être un bon inhibiteur de la 3N7W.

Conclusion Générale

Par la suite, pour le reste de l'étude, nous avons sélectionné uniquement ces trois candidats **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27** qui ont présenté les meilleures énergies d'interaction ligand-récepteur.

Pour équilibrer un système dans un milieu approprié, tel que l'eau, et stabiliser le complexe, la simulation de dynamique moléculaire (DM) a été réalisée. La simulation DM permet de valider le calcul docking moléculaire. Pour ce faire, la simulation DM des trois complexes ligand-protéine sélectionnés **4QGG-Cip-A24**, **3JZF-Cip-A1** et **3N7W-Cip-A27** a été évaluée en fonction du temps par les calculs de

- RMSD pour évaluer la variation des structures des complexes protéine-ligand,
- RMSF pour mesurer les fluctuations de chaque résidu au cours de la simulation DM et
- Rg pour évaluer la compacité globale de la structure protéique pendant la simulation.

Les résultats DM obtenus dans ce travail confirment la stabilité des trois complexes **4QGG-Cip-A24**, **3JZF-Cip-A1** et **3N7W-Cip-A27** suggérant ainsi une stabilité des pharmacophores conçus au sein du site actif de la protéine.

L'étude quato-chimique a été basée principalement sur les indices globaux et locaux dérivant de la DFT conceptuelle, les énergies (E2) en utilisant la théorie de la perturbation du second ordre pour examiner toutes les interactions potentielles entre les orbitales NBO "occupées" et "non occupées" et l'évaluation du potentiel électrostatique moléculaire (MEP). Les indices démontrent que les candidats contenant un groupe carboxylique et le groupe CF₃ possèdent une forte électrophilie. Par ailleurs, MEP révèle que les régions riches en électrons se trouvent principalement autour des atomes d'oxygène, en particulier dans le groupe carboxyle, ce qui en fait des sites privilégiés pour les réactions électrophiles.

En conclusion, nos résultats basés sur les méthodes quato-chimique, la modélisation moléculaire et les paramètres ADMET préliminaires, suggèrent que les dérivés **Cip-A1**, **Cip-A24** et **Cip-A27** pourraient représenter de nouveaux candidats prometteurs pour le développement de médicaments antibactériens et antimicrobiens. Toutefois, il est crucial de souligner que ces conclusions marquent seulement le début et que ces résultats ouvrent la voie à des études expérimentales (in vivo et in vitro) ultérieures pour confirmer l'efficacité de ces trois dérivés et potentiellement développer de nouveaux médicaments capables de surmonter la résistance bactérienne actuelle.

Conclusion Générale

Comme perspectives possibles à ce travail, nous envisageons :

- i) D'étudier l'activité antimicrobienne d'autre famille d'antibiotique.
- ii) D'utiliser les méthodes hybrides QM/MM pour l'étude de l'activité des complexes protéine-ligand au site actif.
- iii) D'appliquer autres approches théoriques et analyses topologiques tel que ELF, AIM et NCI afin de comprendre les différentes interactions ligand-récepteur.

ANNEXE

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/tbsd20>

In silico design based on quantum chemical, molecular docking studies and ADMET predictions of ciprofloxacin derivatives as novel potential antibacterial and antimycrobacterium agents

Wafa Benselama & Wafaa Benchouk

To cite this article: Wafa Benselama & Wafaa Benchouk (08 Aug 2023): In silico design based on quantum chemical, molecular docking studies and ADMET predictions of ciprofloxacin derivatives as novel potential antibacterial and antimycrobacterium agents, Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, DOI: [10.1080/07391102.2023.2240906](https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2240906)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2240906>



Published online: 08 Aug 2023.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 55



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



In silico design based on quantum chemical, molecular docking studies and ADMET predictions of ciprofloxacin derivatives as novel potential antibacterial and antimycrobacterium agents

Wafa Benselama and Wafaa Benchouk

Laboratory of Applied Thermodynamics and Molecular Modeling, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria

Communicated by Ramaswamy H. Sarma

ABSTRACT

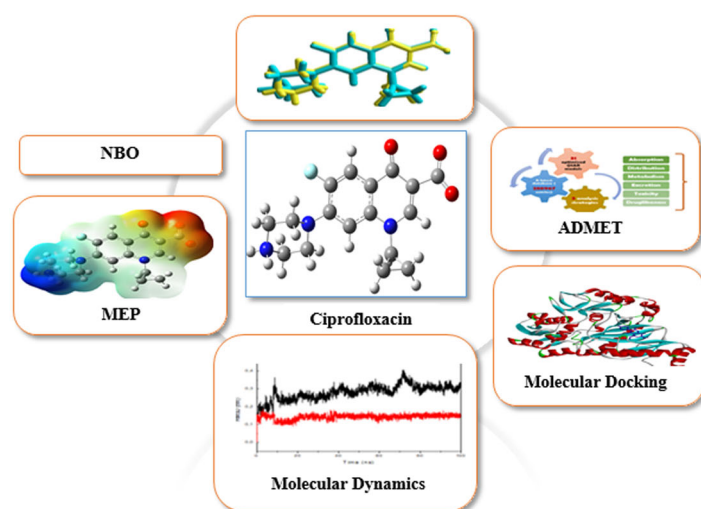
Drug designing and development is an important area of research for pharmaceutical companies and chemical scientists. In this paper, we report the prediction of new ciprofloxacin derivatives by quantum chemical, molecular docking studies and pharmacokinetic properties. Theoretical studies were performed by geometry optimization computation using B3LYP level at 6-311G (d,p) basis set. The absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADMET) parameters were predicted and the result show that all compounds have a great ADMET profile. To study the antibacterial, anti-*Mycobacterium tuberculosis* activities, ciprofloxacin and its derivatives were interacted with the proteins: Thymidylate Kinase (PDB: 4QGG), Biotin carboxylase (PDB: 3JZF) and β -lactamase BlaC (PDB: 3N7W). The results of the docking studies indicate that one pharmacophore designed presents a great inhibition behavior against gram-positive organism (4QGG) and significant interactions observed between the compound and ARG48, GLN101, ARG105 and GLU37 residues of 4QGG. Also, another derivative designed present the best inhibition against gram-negative organism (3JZF) several interactions were noticed between the compound and GLY165, ILE287, LEU278, HIS236, HIS209, MET169 and LYS159 residues of (3JZF). As well as, one designed candidate is good inhibitors for β -lactamase (3N7W) multiple no bonded interactions were observed between the compound and SER84, ILE117, ASN186, LYS87, ARG187, ASN186 and THR251 residues of(3N7W). Molecular dynamics (MD) simulation study was also performed for 100ns to confirm the stability behaviour of the main protein and inhibitor complexes. The MD simulation study validated the stability of three compounds in the protein binding pocket as potent binders. Natural bonding orbital analysis, reactivity indices and molecular electrostatic potential were carried out. The research finding of this study can be helpful to design a new potent antibacterial, antimycrobacterium candidate's drugs that will serve as the basis for future *in vitro* and *in vivo* research.

ARTICLE HISTORY

Received 23 February 2023
Accepted 20 July 2023

KEYWORDS

Drug discovery;
ciprofloxacin; molecular
docking; ADMET; molecular
dynamics; NBO



1. Introduction

The fluorquinolones are a class of antibiotics of synthetic origin derived from quinolones by modifying their structure with fluorine, they are active against both Gram-positive and Gram-negative bacteria (Ahadi et al., 2020). These antibacterial agents target the DNA gyrase and/or topoisomerase IV to prevent bacterial DNA replication and transcription. Quinolones are responsible for the majority of nosocomial infections, leading to extensive mortality and burden on global healthcare systems (G.-F. Zhang et al., 2018).

Ciprofloxacin (1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinoline carboxylic acid) belongs to the second and the new generation of fluorinated quinolones, revealed notable antimicrobial activity and treats diverse kinds of bacterial infections, including gastrointestinal tracts, skin and soft tissues, osteomyelitis, respiratory and urinary infections (Sanders, 1988). Furthermore, for the treatment of tuberculosis as a second-line agent ciprofloxacin has been recommended by the World Health Organization (WHO) mainly in cases of resistance or intolerance to anti-tuberculosis treatment of first intention (Falzon et al., 2017).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is a bacterial human pathogen (Gram-positive) which is the cause of multiple human infections (Lowy, 1998). *S. aureus* Thymidylate Kinase (TMK) are the enzymes who participate in bacterial DNA biosynthesis and for the development of new antibacterial agents, in addition, the TMK are a very interesting therapeutic target (Kawatkar et al., 2014). *Escherichia coli* (*E. coli*) is a Gram-negative bacterium, a predominant non-pathogenic member of the normal intestinal microflora of humans. Some strains of *E. coli* can cause gastrointestinal, urinary, or central nervous system disease in even the most robust human hosts (Nataro & Kaper, 1998). The acetyl coenzyme-A carboxylase (ACC) of *E. coli* is made up of three components: biotin carboxylase, biotin carboxyl carrier protein and carboxyl transferase (Cronan & Waldrop, 2002). The biotin carboxylase is a part of the multi-component bacterial ACC and is essential for pathogen survival (Cheng et al., 2009). The development of new broad-spectrum antibacterial agents is an important strategy. Under this report, Thymidylate Kinase and the enzyme components of bacterial ACC are considered as excellent targets (Cheng et al., 2009; Kawatkar et al., 2014). On another side, *Bacillus Mycobacterium tuberculosis* is the causative agent of tuberculosis. It is one of the top 10 causes of death and represents one of the major challenges facing drug discovery initiatives worldwide (Namouchi et al., 2017). The evolution of bacteria to new virulent forms makes them a drug-resistant pathogens with a different level of resistance compared to existing therapeutic molecules. Such as methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), and β -Lactamases found in many bacterial strains which cause resistance to penicillin and cephalosporin (Tay & Yew, 2013).

In recent days, the emergence of multiple drug-resistant pathogens has caused serious problems to human health, and this makes ciprofloxacin more and more ineffective, so it's imperative to develop novel compounds with profound pharmacological activities such as improved efficacy, broader activity, and favourable safety profile is in much demand (G.-

F. Zhang et al., 2018). In order to overcome this severe issue, the drug modification and the development of effective derivatives constitute another alternative way (Chandler & Day, 2012). In contemporary medicinal chemistry since the advent of 5-fluorouracil the replacement of one or more hydrogen atoms by fluorine atoms is used to improve metabolic stability, bioavailability and protein-ligand interactions (Purser et al., 2008) (Pettersson et al., 2016). When CF_3 is combined with various organic molecules, it has a significant impact on agrochemical colorants and pigments, pharmaceutical products, polymers, and material chemistry (Shawon et al., 2018). In the same context, the modification of drugs by the addition of groups, alkyl, alkoxy and hydroxyl play an important role in improving the performance of drugs (Uzzaman et al., 2019). In the last 30 years, numerous ciprofloxacin derivatives with anti-tuberculosis (Mohammed et al., 2019), antifungal (L. Zhang et al., 2015), anti-HIV (Cheng et al., 2009), anti-malarial (Hu et al., 2017), anti-tumor (Ahadi et al., 2020) profiles have been discovered. G. F. Zhang et al. summarized the recent advances made towards the discovery of ciprofloxacin derivatives as antibacterial agents.

In silico drug design, molecular docking and absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADMET) pharmacokinetic parameters predictions, have become an essential task to evaluate newly designed molecules and reduce the attrition rate at the late stages of the drug development process (Nettleton & Einolf, 2011; Schneider & Fechner, 2005). Several study *in vitro* and *in silico* of ciprofloxacin derivatives (Alsayed et al., 2021; Farooqi et al., 2018; 2019; Khalil et al., 2020; Marciniak et al., 2020; Mohammed et al., 2019) can be found in the literature. Recently, K. Marciniak et al. (Marciniak et al., 2020) applied the molecular docking and molecular dynamics techniques to assess the potential of ciprofloxacin and moxifloxacin interaction with COVID-19 Main Protease. In silico molecular docking was performed by Khalil et al. (2020) on six derivatives of ciprofloxacin compounds and their copper(II) complexes and the results revealed that the presence of two types of interactions between the *E. coli* and the derivatives, H-bonding and Van der Waals interactions had an effective inhibition at the docked site. The New N-4-piperazinyl ciprofloxacin thiadiazole derivatives and oxadiazole derivatives were prepared and characterized by Mohammed et al. (2019). Furthermore, the results showed that the introduction of the 1, 3, 4-thiadiazole moiety into the N-4-piperazinyl of ciprofloxacin enhanced the anti-tubercular activity more than if hybridized with oxadiazole moiety.

In this work we have applied the Computer-Aided Drug Design CADD methods to development of new antibacterial and antimicrobacterium agents (derivatives of ciprofloxacin). Two structure of ciprofloxacin have been studied with the zwitterion structure (**Cip-A**) and non-zwitterion structure (**Cip-B**) (Figure 1). Ciprofloxacin derivatives have been predicted in order to design 34 novel molecules to investigate their antibacterial and antimicrobacterium activities. ADMET pharmacokinetic parameters were estimated for all candidates. Additionally, Molecular docking has been performed to investigate the binding energy, mode and interactions of drugs with the amino acid residues of receptor proteins: Thymidylate Kinase, biotin carboxylase and BlaC-E166A. A

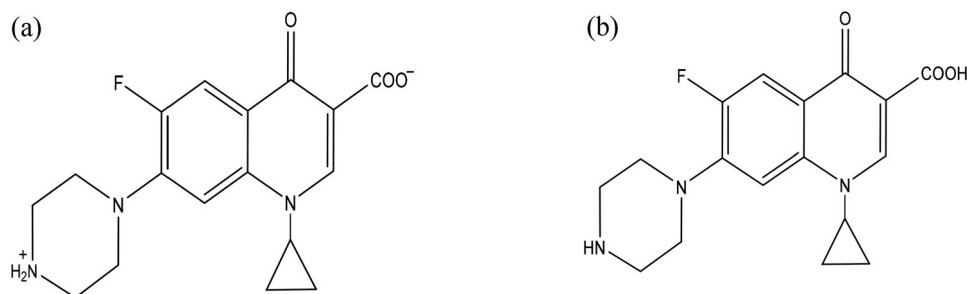


Figure 1. Chemical representation of (a) zwitterion structure **Cip-A** and (b) of non-zwitterion structure **Cip-B**.

molecular dynamics (MD) simulation was performed to provide adequate information on the complex dynamics. Then the energies (E^2) were estimated by second-order perturbation theory using Natural Bond Orbital analysis (NBO) to examining all possible interactions between the 'occupied' and the 'none-occupied' NBO orbitals for the best derivatives. The reactivity descriptors (global and local) as defined within the premise of conceptual density functional theory (CDFT) have been calculated.

2. Materials and methods

2.1. Quantum chemical calculations

The crystal structure of ciprofloxacin zwitterion structure **Cip-A** has been experimentally determined and downloaded from the CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre; <https://ccdc.cam.ac.uk/>) (Groom et al., 2016). The geometries of **Cip-A**, **Cip-B** and its derivatives were optimized using the functional B3LYP (Becke's three parameter hybrid functional using the LYP correlation function) (Becke, 1993) at 6-311 G (d,p) basis set with the help of Berny method in Gaussian 09. The atom by atom superimposing of Ciprofloxacin zwitterion obtained from X-ray diffraction and theoretical calculations was performed using HyperChem 8.0.10. The subsequent vibrational frequency calculations were performed in order to ensure that the stationary points correspond to the minima on the potential energy surface. The optimization of all compounds was performed in the gas phase. The reactivity indices based on the CDFT calculations namely the electronic chemical potential, μ , the chemical hardness, η (Parr & Pearson, 2002; Parr et al., 1995), the global nucleophilicity, N (Domingo et al., 2008), and the global electrophilicity, ω , which measures the stabilization in energy when the system acquires an additional electronic charge, ΔN_{max} (Parr et al., 1999), were performed using the same level of theory using energies of frontier HOMOs and LUMOs. All the descriptors were calculated by using the following equations:

$$\mu = (\varepsilon_{HOMO} + \varepsilon_{LUMO})/2 \quad (1)$$

$$\eta = \varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{HOMO} \quad (2)$$

$$\omega = \mu^2/2\eta \quad (3)$$

$$N = \varepsilon_{HOMO(Nu)} - \varepsilon_{HOMO(TCE)} \quad (4)$$

$$\Delta N_{max} = -\mu/\eta \quad (5)$$

Local electrophilicity (Domingo et al., 2002) and local nucleophilicity indices (Contreras et al., 2003; Pérez et al.,

2009), ω_k^p and N_k^p , respectively, were evaluated using the following expressions:

$$\omega_k^p = \omega P_k^+ \quad (6)$$

$$N_k^p = N P_k^- \quad (7)$$

Where P_k^+ and P_k^- are the parr function of electrophilic and nucleophilic attacks, respectively (Domingo et al., 2013).

The molecular electrostatic potential (MEP) is a classical tool in chemical activity analysis, especially in drug design was calculated at B3LYP/6-311G (d, p) level of theory to predict the reactive sites for electrophilic and nucleophilic attack of all optimized structures. The important donor-acceptor interactions were calculated using energy $E^{(2)}$ based on the second order perturbation theory with NBO 3.1 with HF/6311-G (d,p) basis set with Gaussian09.

2.2. ADMET prediction

In drug discovery process, computational methods are widely used for the prediction of pharmaceutical potential and optimization of new lead candidates. To predict and analyze pharmacokinetic properties ADMET of **Cip-A**, **Cip-B** and its analogues such as HIA (human intestinal model for predicting oral and trans-dermal drug absorption), Caco2-cell (heterogeneous human epithelial colorectal adenocarcinoma cell lines). Prediction of distribution is carried out by using PPB plasma protein binding and BBB (blood brain barrier) assessment. Corresponding to metabolism is predicted by calculating: CYP450 Substrate (P450 CYP Substrate) and CYP450 Inhibitor (P450 CYP Inhibitor). Finally, the toxicity profile based on the prediction of hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) and LD50 value rat acute toxicity expressed as median lethal dose, ADMETlab online database was utilized (<https://admet.scbdd.com/>) (Dong et al., 2018). Structure Data File and simplified molecular-input line-entry system (SMILES) strings were utilized.

2.3. Molecular docking

To perform molecular docking procedure the 3D crystal structure TMK (PDB ID: 4QGG Resolution = 1.62 Å with R-Value Free 0.222) (Kawatkar et al., 2014), biotin carboxylase from *E. coli* (PDB ID: 3JZF Resolution = 2.13 Å with R-Value Free 0.236) (Cheng et al., 2009) and BlaC-E166A covalently from MBT (PDB ID: 3W7N Resolution = 1.70 Å with R-Value Free 0.186) (Bank, n.d.) Were obtained as pdb file from

protein data bank (<http://www.rcsb.org/>). In general, the protein structure with a resolution between 1.5 and 2.5 Å have an excellent quality for further studies (Clément & Slenzka, 2006)(Didierjean & Tête-Favier, 2016). After that, the structures were prepared by deleting water molecules and unwanted ligands. The protein binding site was defined and prepared for docking process. The optimized structures of all ligands, **Cip-A**, **Cip-B** and its derivatives, were obtained from Gaussian09, and converted into pdb file format. The molecular docking studies were performed using the Autodock Vina 1.1.2 program in UCSF Chimera 1.15 software. The Discovery Studio (2020) was utilizing to analyze and visualize the docking result.

2.4. Molecular dynamics simulations

Molecular Dynamics (MD) simulations of 4QGG-**Cip-A24**, 3JZF-**Cip-A1** and 3N7W-**Cip-A27** complexes were performed using MD simulation module developed at SiBioLead LLP which uses GROMACS simulation algorithm for MD simulations (Abraham et al., 2015). The complexes were immersed in a triclinic simulation box containing Simple Point Charge (SPC) water molecules and NaCl as counterions. For maintaining physiological conditions, a further 150 mM NaCl, and 20 mM MgCl was added to the simulation system. Simulation system was energy minimized for 5000 steps using the Steepest Descent method. Before the actual MD run, the whole system was equilibrated for 300 ps using NVT/NPT protocol. MD simulation was conducted for 100 ns. The protein-ligand complexes results were then analyzed.

3. Results and discussion

3.1. Geometry optimization

We have applied the DFT at B3LYP/6-311G (d, p) basis set approach to optimize the structure of **Cip-A**, **Cip-B** and its 34 derivatives (**Cip-A1—Cip-B7**) represented in Figures 2 and 3.

All of the compounds optimized geometries had positive harmonic vibrational frequencies, indicating that they had attained the global minimum on the potential energy surface. The atom by atom superimposing of Ciprofloxacin zwitterion obtained from X-ray diffraction (Fabbiani et al., 2009) and theoretical calculations are represented in Figure 4. The small value of the root mean square error, 0.445 Å for **Cip-A**, showed a good agreement between X-ray and optimized geometries. Consequently, the B3LYP/6-311G (d,p) method seems to be an appropriate computational level for predicting molecular geometries of all compounds.

3.2. ADMET predictions

The ADMET property prediction is useful for developing and synthesizing new derivatives, as well as determining their level of safety after administration in the human body. A compound will quickly reach peak levels in the blood and maintain the desired levels for a longer duration, before

dropping to low levels and eventually being eliminated from the body. If it is rapidly absorbed, well distributed, little metabolically degraded and not rapidly eliminated, while not being toxic (Kumar et al., 2017). The ADMET properties of **Cip-A**, **Cip-B** and compounds (**Cip-A1—Cip-B7**) predicted by ADMET lab server have been provided in the Table 1.

Human intestinal absorption (HIA %) parameter, represents the sum of bioavailability and absorption determination from the ratio of cumulative excretion in bile, urine and feces. Which is a key parameter for a molecule to be identified as a potent drug candidate (Wang et al., 2017; Zhao et al., 2001). Compounds (**Cip-A1—Cip-B7**) manifest positive (Yes) HIA values, showing their excellent absorptive property. The oral bioavailability of drugs is also a crucial factor in the development of bioactive compounds into therapeutic medicines. Caco-2 cell have been used to predict oral drug absorption (Wang et al., 2016). The compounds **Cip-A1** to **Cip-A27** had Caco-2 values in the range of [−5.34, −4.88 cm/s] greater than −4.80 cm/s (> −4.80 cm/s), for compounds **Cip-B1** to **Cip-B7** values of Caco-2 is in the range of [−4.59, −4.53 cm/s] less than −4.80 cm/s (< −4.80 cm/s). This demonstrates that the derivatives **Cip-A1** to **Cip-A27** are not potentially carcinogenic due to their intestinal absorption mechanisms (Wang et al., 2016).

The plasma protein binding (PPB) level of a drug influences its action, disposition, and efficacy (Kumar et al., 2017). As a result, the PPB is an important pharmacokinetic parameter that aids in the resolution of the real dosage regimen, but it is not required for the calculation of daily dose size (Di & Kerns, 2016; Kumar et al., 2017). All compounds belonging to series **Cip-A1** to **Cip-B7** showed PPB % values in the range of 35–83% PPB less than 90% (≤90%) which falls well within the range of average bound drugs representing moderately bioavailability for receptor target (Kerns & Di, 2008). Only CNS-active chemicals can cross through the blood brain barrier (BBB), making it extremely important in the pharmaceutical industry. BBB penetration is represented as concentration ratio of steady-state of radio-labeled substances in brain (Cbrain) and peripheral blood circulation (Cblood) (Ajay et al., 1999). The compounds **Cip-A6**, **Cip-A7**, **Cip-A11**, **Cip-A12**, **Cip-A18**, **Cip-A19** **Cip-A20** and **Cip-B7** found to possess BBB values positive (Yes) in the range of CNS active molecule (Pardridge, 1998).

Because of their importance in drug metabolism, Cytochromes P450 (CYPs) enzymes have been thoroughly researched. At least one of the CYPs enzymes are involved in the metabolism of more than 90% of all marketed medications (Lagorce et al., 2011; Rostkowski et al., 2013; Veith et al., 2009; Zaretski et al., 2013). A negative response (No) (no-substrate effect or no-inhibitory effect) to this test indicates that the drug is well metabolized and does not produce toxic products. All the derivatives present a negative response to the P450 tests CYPs substrate/inhibitor, so the latter exhibit good metabolism.

The human Ether-à-go-go-Related Gene (hERG) potassium channels are essential for the normal electrical activity of the heart. Inherited mutations in the hERG gene cause long QT syndrome, a disorder that predisposes individuals to life-threatening arrhythmias (Curran et al., 1995). A positive response

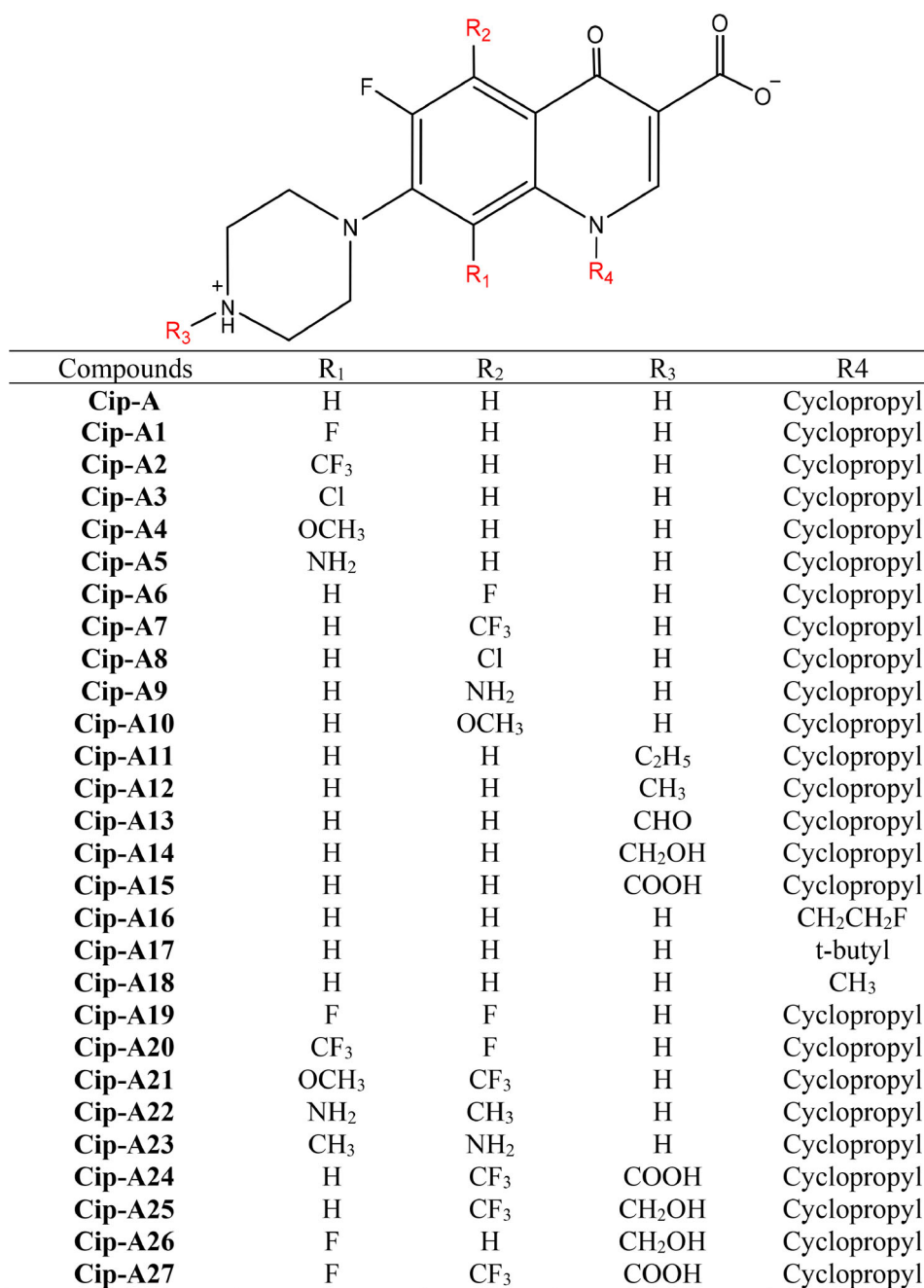


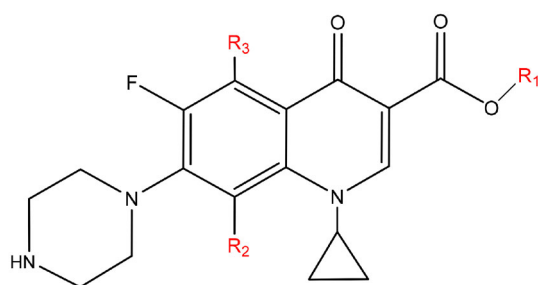
Figure 2. Chemical zwitterion structures of Cip-A and its designed derivatives.

(Yes) to the hERG test confirms the inhibition of the hERG gene (Ridley et al., 2006; Sanguinetti & Mitcheson, 2005). Most of compound for **Cip-A** derivatives and **Cip-B4** show a negative hERG test (No). The candidates have a lower risk of developing heart problems, except compounds **Cip-A11** and **Cip-17** and all compounds for **Cip-B** derivatives. The determination of rat acute toxicity expressed as median lethal dose (LD50) is a major step in drug discovery. LD50 value defined as the statistically derived dose that, when administered in an acute toxicity test, is expected to cause death in 50% of the treated animals in a given period (Walum, 1998). A lower LD50 indicates a higher level of toxicity (Lei et al., 2016; Zhu et al., 2009). The LD50 values for tested molecules were ranges between [203–1048 mg/kg] for all derivatives (**Cip-A1—Cip-B7**). These results manifest medium to low acute toxicity in rat models

(Lei et al., 2016; Zhu et al., 2009). In conclusion 24 derivatives can be administered orally, and are not potentially carcinogenic by their mode of intestinal absorption which makes their access possible to blood. 8 derivatives can be delivered specifically to their site of therapeutic action in the human body. They can be metabolized in a way that does not alter the body's functions. And 25 derivatives have a potentially acceptable safety profile in the toxicological studies with reference to the various tests.

3.3. Molecular docking analysis

The docking simulation by Autodock Vina is used to investigate the binding properties of the proposed compounds and



Compounds	R ₁	R ₂	R ₃
Cip-B	H	H	H
Cip-B1	CH ₃	H	H
Cip-B2	C ₂ H ₅	H	H
Cip-B3	Propyl	H	H
Cip-B4	CH ₃	F	H
Cip-B5	C ₂ H ₅	F	H
Cip-B6	CH ₃	H	CF ₃
Cip-B7	C ₂ H ₅	H	CF ₃

Figure 3. Chemical non-zwitterion structures of **Cip-B** and its designed derivatives.

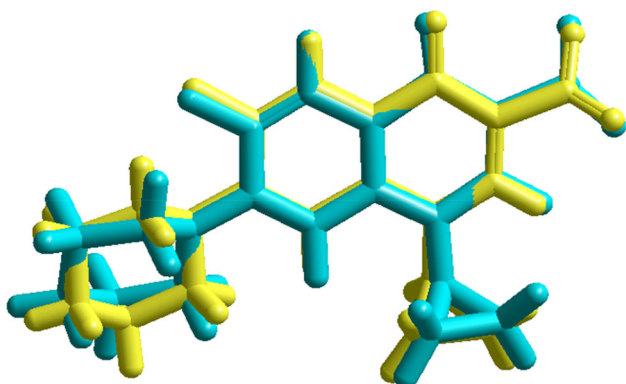


Figure 4. Atom-by-atom superimposition of the zwitterion structure optimized **Cip-A** (cyan) over the X-ray structure (yellow) (RMS= 0.445 Å).

crystal structures of 4QGG, 3JZF and 3N7W. Accordingly, molecular docking is used to study the different binding conformations of molecules at the active binding site. The protein cavity with the residues of the active site for the three targets is shown in Figure 5. The designed compounds binding energy were reported in Table 2.

The high electronegativity and hydrophobic nature of trifluoromethyl groups are two important traits that can be exploited in drug design to produce specific functionalities related to physicochemical, biological and pharmacological aspects (Lishchynskiy et al., 2013). In addition, non-covalent interactions such as hydrogen bond, halogen bond and hydrophobic interaction are involved in the binding of examined drugs. All the molecules showed multiple nonbonding interactions after the docking with all the proteins. The hydrogen bonding is required for the structure of DNA in biology. According to the nucleotide sequence, a regular helical structure of the DNA helix is made up by specific hydrogen bonding patterns (Mitchell et al., 2017). Recent research showed that halogen bonding similar to hydrogen bonding plays a crucial role in both biological and chemical system (Shawon et al., 2018).

3.3.1. Antibacterial activity of ciprofloxacin and the novel derivatives against gram-positive organism *S. aureus* (4QGG)

The binding energy (BE) of the protein 4QGG with **Cip-A** is -7.3 kcal/mol (see Table 2). Whereas, the BE of the protein 4QGG with **Cip-A24**, **Cip-A15** and **Cip-A27** compounds have considerably increased to -8.2 , -8.0 and -8.1 kcal/mol, respectively. The binding energy of **Cip-B1** to **Cip-B7** with 4QGG was found to be the highest for the protein-ligand complex. Presumably due to loss of ciprofloxacin's zwitterion structure.

For drug binding, hydrogen bonds have important function in determining the accuracy of ligand binding (Wade & Goodford, 1989). On the basis of theoretical and experimental correlations between H-bond pairings and their effects on ligand binding affinity, (Chen et al., 2016) demonstrate that H-bonds enhance receptor-ligand interactions when both the donor and acceptor have either significantly stronger or significantly weaker H-bonding capabilities than the hydrogen and oxygen atoms in water. By contrast, mixed strong-weak H-bond pairings decrease ligand binding affinity due to interference with bulk water, offering mechanistic insight into why indiscriminate strengthening of receptor-ligand H-bonds correlates poorly with experimental binding affinity (Chen et al., 2016).

The 3D and 2D illustration of interactions observed of **Cip-A** and the best docked compound (**Cip-A24**) with 4QGG were provided in Figure 6.

The 4QGG-**Cip-A** complex is formed with three strong hydrogen bonds with ARG70 (2.69 Å, 2.86 Å and 2.69 Å) (Figure 6) as well as an increasing number of hydrophobic interactions, one halogen bond and two electrostatic interactions are found in **Cip-A**. In the binding of modified drug **Cip-A27** with 4QGG non-covalent interactions such as hydrogen bond, halogen bond and hydrophobic interaction are involved. This complex is stabilized by three hydrogen bonds with GLN101 (1.80 Å and 2.59 Å) and GLU37 (2.47 Å), four carbon hydrogen bonds with ARG36, PRO38 and two with ARG92 and two hydrophobic interaction with PHE66 and TYR100 amino acid residues. In the docked structure **Cip-A24** with 4QGG, multiple non-bonded interactions were observed. The complex is stabilized by four strong hydrogen bonds with ARG48 (2.30 Å), GLN101 (1.79 Å and 2.84 Å), ARG105 (2.84 Å) and GLU37 (2.10 Å). The strong and multiples number of hydrogen bonds contribute to increasing binding affinity of **Cip-A24**. The complex 4QGG-**Cip-A24** is also stabilized by formation of two hydrophobic interactions (type π -Alkyl) (Figure 6).

3.3.2. Antibacterial activity of ciprofloxacin and the novel derivatives against gram-negative organism *E. coli* (3JZF)

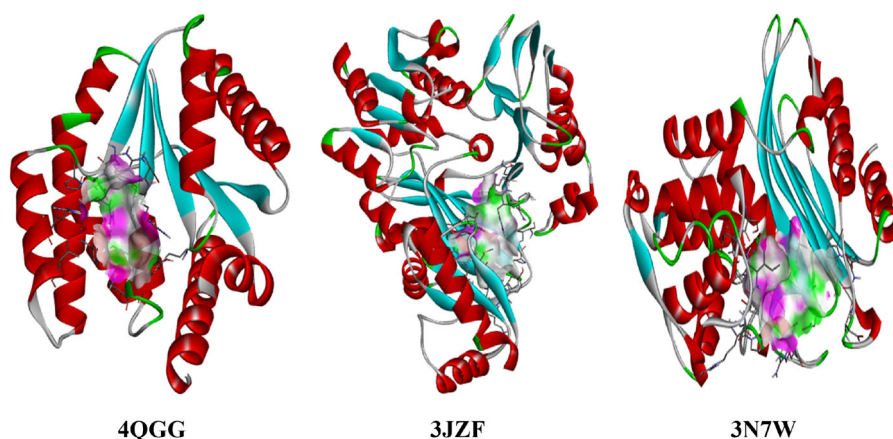
For the protein 3JZF, the highest binding affinity is observed for **Cip-A1** with -9.2 kcal/mol compared to **Cip-A** with -7.3 kcal/mol.

The observed interactions of **Cip-A** and the best docked (**Cip-A1**) compound with 3JZF are provided in Figure 7. The 3JZF-**Cip-A** complex formed by three hydrogen bonds with

Table 1. Selected pharmacokinetic parameters of ciprofloxacin and its derivatives.

Compounds	CACO-2 (cm/s)	HIA	PPB (%)	BBB	CYP 3A4 inhibitor	CYP 2D6 inhibitor	CYP 2C9 substrat	CYP 2D6 substrat	hERG	LD ₅₀ (mg/kg)
Cip-A	-5.12	Y	41.91	N	N	N	N	N	N	421.90
Cip-B	-5.16	Y	69.35	N	N	N	N	N	N	1089.64
Cip-A1	-5.10	Y	40.17	N	N	N	N	N	N	379.52
Cip-A2	-4.93	Y	65.24	N	N	N	N	N	N	327.60
Cip-A3	-4.96	Y	55.05	N	N	N	N	N	N	303.55
Cip-A4	-5.16	Y	36.54	N	N	N	N	N	N	400.82
Cip-A5	-5.33	Y	35.14	N	N	N	N	N	N	377.16
Cip-A6	-5.10	Y	41.00	Y	N	N	N	N	N	394.68
Cip-A7	-4.93	Y	65.36	Y	N	N	N	N	N	424.95
Cip-A8	-4.96	Y	55.32	N	N	N	N	N	N	288.56
Cip-A9	-5.34	Y	35.73	N	N	N	N	N	N	372.85
Cip-A10	-5.16	Y	36.77	N	N	N	N	N	N	418.00
Cip-A11	-5.10	Y	54.67	Y	N	N	N	N	Y	330.05
Cip-A12	-5.07	Y	46.02	Y	N	N	N	N	N	349.37
Cip-A13	-5.14	Y	49.00	N	N	N	N	N	N	378.90
Cip-A14	-5.22	Y	45.75	N	N	N	N	N	N	372.35
Cip-A15	-5.21	Y	52.75	N	N	N	N	N	N	361.78
Cip-A16	-5.12	Y	39.00	N	N	N	N	N	N	444.70
Cip-A17	-5.03	Y	52.00	N	N	N	N	N	Y	242.01
Cip-A18	-5.10	Y	35.64	Y	N	N	N	N	N	412.80
Cip-A19	-5.01	Y	41.62	Y	N	N	N	N	N	345.98
Cip-A20	-4.88	Y	60.75	Y	N	N	N	N	N	351.95
Cip-A21	-4.97	Y	57.00	N	N	N	N	N	N	336.40
Cip-A22	-5.22	Y	39.12	N	N	N	N	N	N	348.35
Cip-A23	-5.22	Y	40.44	N	N	N	N	N	N	362.05
Cip-A24	-5.19	Y	53.88	N	N	N	N	N	N	309.27
Cip-A25	-5.10	Y	53.65	N	N	N	N	N	N	362.94
Cip-A26	-5.19	Y	43.95	N	N	N	N	N	N	354.86
Cip-A27	-5.00	Y	61.28	N	N	N	N	N	N	276.71
Cip-B1	-4.55	Y	72.03	N	N	N	N	N	Y	891.84
Cip-B2	-4.55	Y	78.83	N	N	N	N	N	Y	864.13
Cip-B3	-4.59	Y	82.32	N	N	N	N	N	Y	818.85
Cip-B4	-4.54	Y	70.92	N	N	N	N	N	N	1047.95
Cip-B5	-4.55	Y	76.23	N	N	N	N	N	Y	1025.16
Cip-B6	-4.53	Y	73.68	N	N	N	N	N	Y	226.12
Cip-B7	-4.54	Y	79.30	Y	N	N	N	N	Y	203.15

Caco-2: Caco 2 cell permeability; HIA: Human intestinal absorption; BBB: Blood-brain barrier penetration; PPB: Plasma protein binding; CYP P450: Cytochromes P450; hERG: the human Ether-à-go-go-Related Gene; LD₅₀: Rat acute toxicity; Y: YES; N: NO.

**Figure 5.** Protein cavity with the residues of the active site for the targets: *S.aureus* (pdb: 4QGG), *E.coli* (pdb: 3JZF) and β -lactamase (pdb: 3N7W).

LYS159 (1.83 Å and 2.92 Å) and TYR199 (2.82 Å) residues and three hydrophobic interactions involve residues HIS209, HIS236 and ILE287 (Figure 7). Regarding the most active compound **Cip-A1** and active site residues of 3JZF shows maximum number of interactions, hydrogen interactions (salt bridge, conventional hydrogen bond and carbon hydrogen bond), halogen interactions (fluorine) electrostatic interaction (attractive charge), hydrophobic interactions π -sigma, (π - π stacked, π - π t-shaped, alkyl and π -alkyl) (Figure 7).

Amino acid residue HIS236 formed a hydrogen bond with a bond length of 1.79 Å. The most notable fact here is that the F atom in R₁ position in **Cip-A1** interacted with amino acids GLY165 (3.57 Å) to form strong halogen bond interaction. Hydrophobic interactions involves ILE287, LEU278, HIS236, HIS209 and MET169 residues. Another important residue LYS159, which involved in electrostatic interaction (π -cation) with 3JZF inhibitor, shows two π -cation interactions with **Cip-A1**.

Table 2. Binding energy (BE) (kcal/mol) of ciprofloxacin and its modified derivatives after molecular docking with Thymidylate Kinase (PDB: 4QGG), biotin carboxylase (PDB: 3JZF) and β -lactamase BlaC (PDB: 3N7W).

Compounds	4QGG	3JZF	3N7W
Cip-A	-7.3	-7.3	-7.5
Cip-B	-7.2	-8.5	-7.4
Cip-A1	-7.6	-9.2	-7.6
Cip-A2	-7.4	-5.0	-7.7
Cip-A3	-6.9	-7.2	-7.1
Cip-A4	-6.8	-5.5	-7.0
Cip-A5	-7.5	-8.5	-7.3
Cip-A6	-7.6	-8.2	-7.7
Cip-A7	-7.8	-8.5	-8.0
Cip-A8	-7.0	-7.5	-7.5
Cip-A9	-7.6	-7.4	-7.4
Cip-A10	-7.1	-7.3	-7.4
Cip-A11	-7.3	-7.3	-7.2
Cip-A12	-7.4	-7.5	-7.1
Cip-A13	-7.5	-7.7	-8.0
Cip-A14	-7.3	-7.6	-7.5
Cip-A15	-8.0	-8.0	-8.0
Cip-A16	-7.0	-8.6	-7.4
Cip-A17	-7.6	-8.5	-7.3
Cip-A18	-7.3	-8.6	-7.4
Cip-A19	-7.6	-8.8	-7.9
Cip-A20	-7.7	-5.3	-7.5
Cip-A21	-7.7	-6.3	-7.5
Cip-A22	-7.4	-7.5	-7.7
Cip-A23	-7.1	-7.4	-6.9
Cip-A24	-8.2	-8.4	-8.7
Cip-A25	-7.1	-8.9	-8.4
Cip-A26	-7.3	-7.4	-7.4
Cip-A27	-8.1	-7.8	-9.4
Cip-B1	-6.6	-8.9	-7.4
Cip-B2	-7.1	-6.9	-7.2
Cip-B3	-6.7	-8.6	-7.1
Cip-B4	-6.8	-9.0	-7.5
Cip-B5	-6.8	-7.2	-7.4
Cip-B6	-7.4	-8.8	-7.8
Cip-B7	-7.5	-8.6	-7.9

3.3.3. Antimicrobial activity of ciprofloxacin and the novel derivatives against 3N7W as β -lactamase inhibitor

The binding affinities of **Cip-A24**, **Cip-A25** and **Cip-A27** with protein 3N7W have considerably increased to -8.7 , -8.4 and -9.4 kcal/mol, respectively, from -7.5 kcal/mol of **Cip-A**. As given in the Table 2. The binding energy of **Cip-B1** to **Cip-B7** with 3N7W was found to be the lowest for the protein-ligand complex. Presumably due to loss of ciprofloxacin's zwitterion structure.

The previous research revealed that all class of β -lactamases hydrolyzed β -lactam substrates *via* nucleophilic attack initiated by the active site residue Ser84 (Meroueh et al., 2005). In another research, Ile117 of BlaC was found to operate as a 'gatekeeper' residue, regulating substrate accessibility to the enzyme active site (Feiler et al., 2013). Furthermore, a molecular docking study of the designed compounds (**Cip-A1**—**Cip-B7**) shows that major residues of BlaC active site form hydrogen interactions (conventional hydrogen bond or carbon hydrogen Bond), halogen interactions type fluorine, hydrophobic interactions by means of π -alkyl and π -sigma bonding and electrostatic interactions with the ligands. Modified compounds where the trifluoromethyl group ($-CF_3$) at the R_2 position was added and the R_3 position was modified with ($-CH_2OH$ or $-COOH$) groups **Cip-A24**, **Cip-A25** and **Cip-A27** showed the highest binding affinity and maximum number of interactions and several

halogen bonds. The observed interactions of **Cip-A** and the best docked compound (**Cip-A27**) with 3N7W were provided in Figure 8.

In the **Cip-A27** docked structure, multiple no bonded interactions were observed and the more important compared to the other (Figure 8). The complex was stabilized by the formation of eight strong hydrogen bonds with SER84 (2.64 Å), ASN186 (2.39 Å), LYS87 (2.86 Å), ILE117 (2.58 Å and 2.28 Å), ARG187 (2.31 Å and 2.48 Å), ASN186 (2.71 Å) and THR251 (2.88 Å) comparing to **Cip-A** with two hydrogen bonds ARG187 (2.03 Å) and ARG187 (2.35 Å). These hydrogen bonds may be the most contributing factor to increase the binding energy and may have a positive effect on protein-ligand stability of **Cip-A27** with 3N7W. We observed also eight halogen bond with amino acid residues. Furthermore, two electrostatic and two hydrophobic interactions are involved in the binding of modified drug **Cip-A27**. For the complex 3N7W-**Cip-A** two strong hydrogen bonds with ARG187 (2.03 Å and 2.35 Å), two halogens bonds, two hydrophobic and one electrostatic interactions were observed in Figure 8, which explain the difference binding energy between the two compounds.

3.4. Molecular dynamics simulation

The molecular dynamics simulations were examined on the basis of Root mean square deviation (RMSD), Root mean square fluctuation (RMSF), and Radius of gyration values as a function of time. The structure variation was calculated by RMSD values of protein-ligand complexes from 0 to 100 ns.

RMSD is used for measuring the difference between the backbones of a protein from its initial structural conformation to its final position. The stability of the protein relative to its conformation can be determined by the deviations produced during the course of its simulation. The smaller deviations, to the more stable the protein structure. A decreased RMSD of the 4QGG-**Cip-A24**, 3JZF-**Cip-A1** and 3N7W-**Cip-A27** complexes with respect to the initial structure was observed. The RMSD plot revealed that binding of ligands **Cip-A24**, **Cip-A1** and **Cip-A27**, respectively, stabilized the 4QGG, 3JZF and 3N7W protein structure compared to unbound protein (Figures 9a, 10a and 11a). Protein regions displaying higher levels of flexibility were calculated. The residues of the protein play a vital role in achieving a stable conformation for a protein-ligand complex, can be evaluated by utilizing the RMSF as a parameter. Each residue's fluctuations represent the reception levels that each residue has attained. As a result, residues or a group of residues with greater RMSF values have acquired flexibility, which in turn signals an increased chance of interacting with the ligand molecule. RMSF for 4QGG with 205 amino acids (Figure 9b), 3JZF with 445 amino acids (Figure 10b) and 3N7W with 307 amino acids were plotted to visualize the average fluctuation of all the amino acid residues during the simulation process. The RMSF plot indicates that amino acid residue fluctuations are present in the protein during ligand-bound state at several times (Figures 9b, 10b and 11b). RMSF Analysis of 4QGG-Cip-A24 Binding Sites, an average RMSF value of

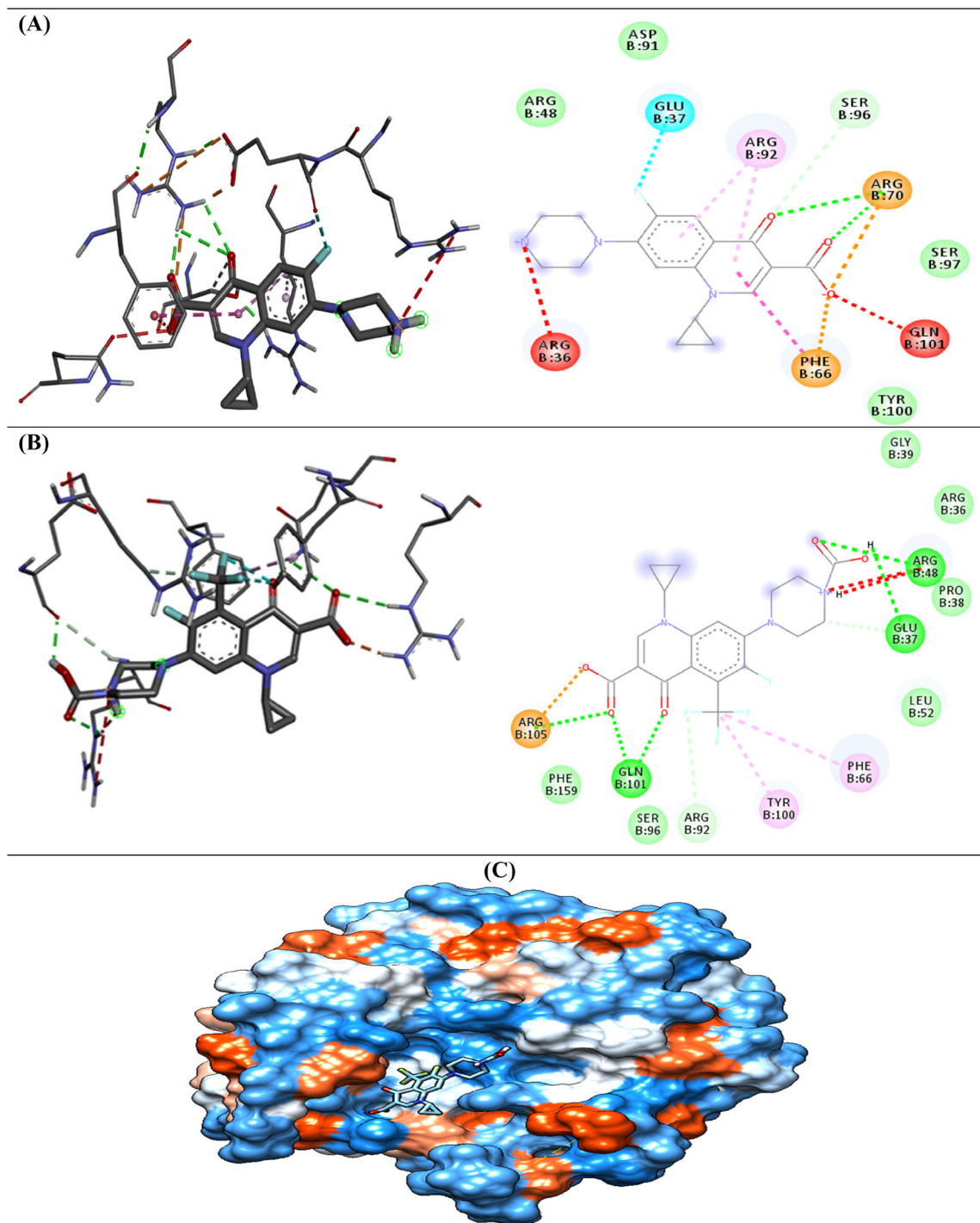


Figure 6. The 3D and 2D illustration of interactions observed between the docked compounds and *S.aureus* (pdb: 4QGG) (A) **Cip-A** with 4QGG; (B) **Cip-A24** with 4QGG; (C) The compound **Cip-A24** at the active site of 4QGG.

0.27 nm was observed for the complex (Figure 9). The fluctuations in the constituent residues were observed for the complex during the 100 ns. The most massive fluctuations which were greater than 0.30 nm were observed for residues 55, 121, 153 and 140–143. Other than this, the fluctuation during all 4QGG-**Cip-A24** interaction was highest than 0.1 nm which is perfectly acceptable (Figure 9b). In case of 3JZF-**Cip-A1** Binding Sites RMSF Analysis. Figure 10b shows that the complex had an average RMSF value of 0.27 nm.

The fluctuations in the constituent residues were observed for the complex during the 100 ns. Residues 37, 193, and 363 showed the largest changes, which were greater than 0.25 nm. Other than this, all 3JZF-**Cip-A1** interactions had fluctuation levels higher than 0.1 nm, which is fully acceptable (Figure 10b). RMSF Analysis for the complex 3N7W-**Cip-A27** shows that the complex had an average RMSF value of 0.27 nm (Figure 11b). The residues 157–158 and 286 showed the largest changes, which were greater than 0.3 nm. Other

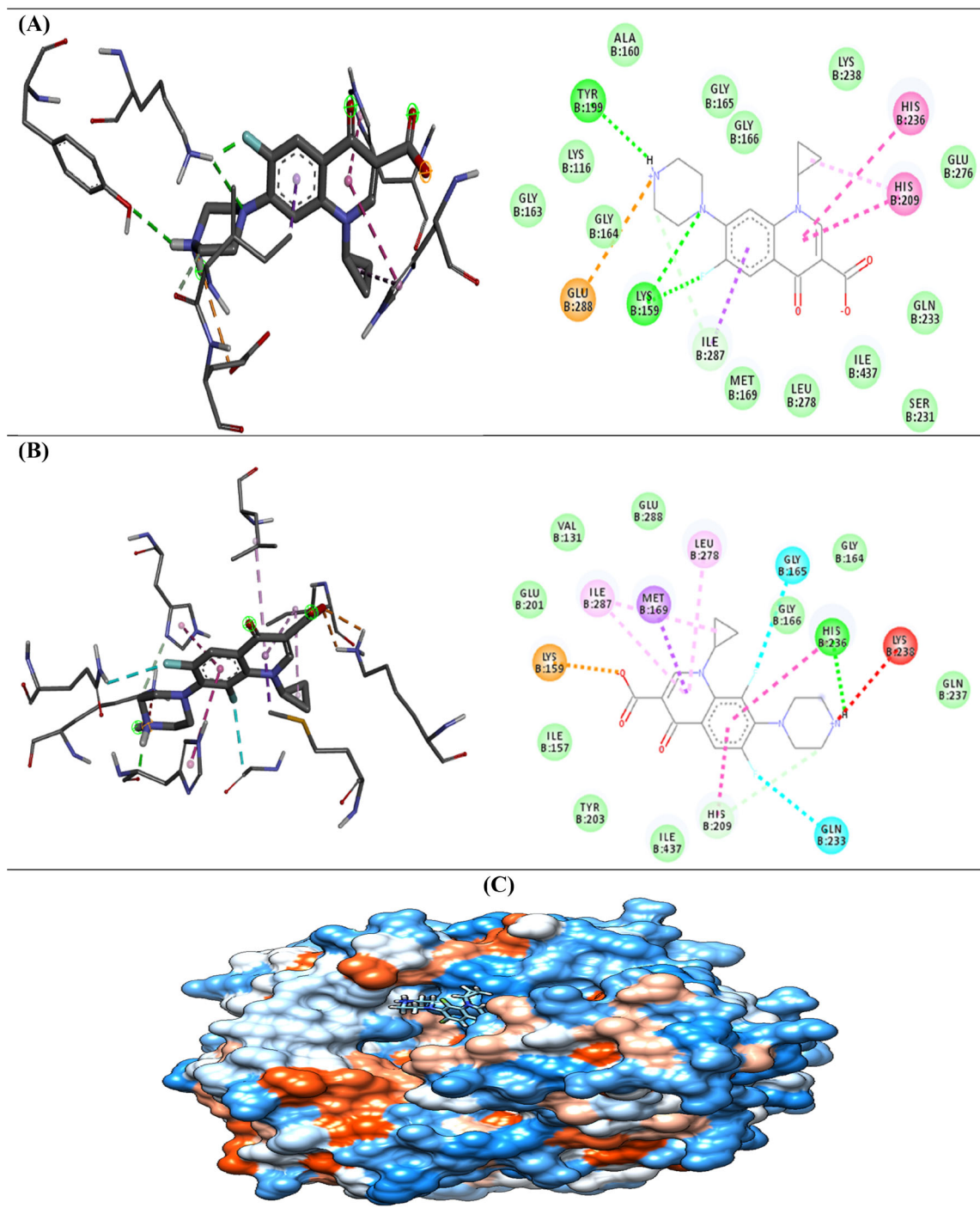


Figure 7. The 3D and 2D illustration of interactions observed between the docked compounds and *E.coli* (pdb: 3JZF) (A) **Cip-A** with 3JZF; (B) **Cip-A1** with 3JZF; (C) The compound **Cip-A1** at the active site of 3JZF.

than this, all 3JZF-**Cip-A1** interactions had fluctuation levels higher than 0.1 nm, which is fully acceptable (Figure 11b). The overall compactness of the protein structure during the simulation was demonstrated by Radius of gyration (Rg). It is the distance between the center of mass of all atoms of protein and its terminal in a particular time interval. Generally, a stable folded protein structure maintains relatively less variation in the Rg value which calculates its dynamics stability. For the protein and ligand complex 4QGG-**Cip-A24**, the Rg was found to be between 1.68 and 1.72 nm initially and was stabilized after 20 ns. The Rg values were decreased and

stabilized from 80 to 100 ns which was an indicator for a stable binding pose (Figure 9c). The obtained Rg confirm the preferential stability of the 3JZF-**Cip-A1** complexes and 3N7W-Cip-A27 suggesting and stability of the ligand within the protein active site (Figure 10c).

3.4. Natural bond orbital analysis

The NBO is an effective approach for studying intra and intermolecular non-bonded interactions in chemical and bio

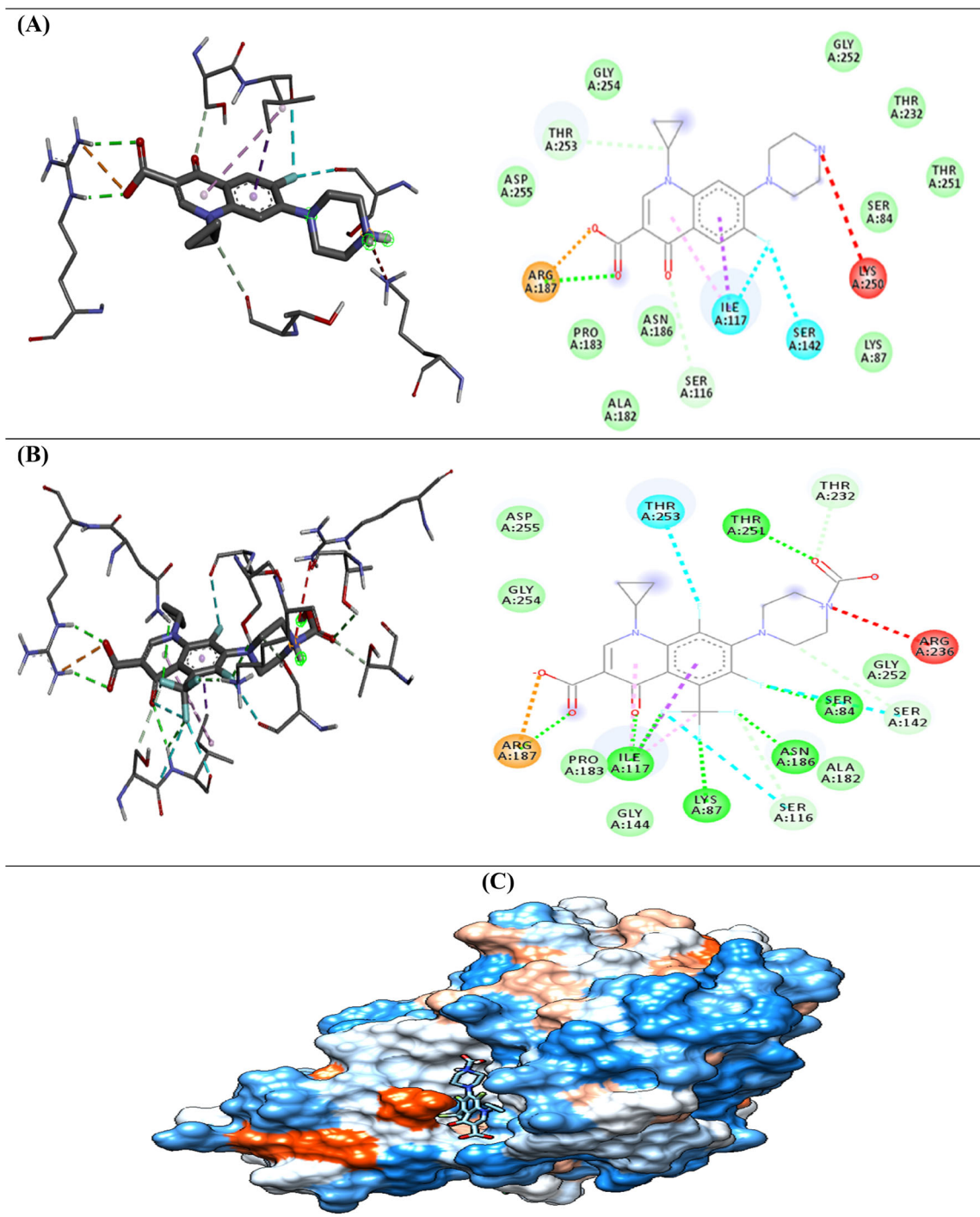


Figure 8. The 3D and 2D illustration of interactions observed between the docked compounds and β -lactamase (pdb: 3N7W) (A) **Cip-A** with 3N7W; (B) **Cip-A27** with 3N7W; (C) The compound **Cip-A27** at the active site of 3N7W.

molecular molecules (Mary et al., 2019). In the NBO analysis, the donor-acceptor (bond-anti-bond) interactions are considered by examining the possible interactions between the 'occupied' and the 'none-occupied' NBO orbitals. The energies (E^2) were estimated by second-order perturbation theory (Weinhold & Landis, 2005). The energies (E^2) of **Cip-A** and the most stable compounds according to molecular docking of the compounds (**Cip-A1**, **Cip-A25**, and **Cip-A27**) were calculated and examined in detail in Table 3. The stronger interaction in **Cip-A** is $\pi_{C6-C7} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$ with stabilization energy

51.53 kcal/mol and it is present in the other three derivatives. For compound **Cip-A1**, the stronger interaction is $\pi_{C4-C3} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$ with stabilization energy 51.51 kcal/mol which is present in **Cip-A** but does not exist in the compounds **Cip-A25** and **Cip-A27**. As shown in Table 3, there is two significant stabilization energy one is for $n_1_{C3} \rightarrow \pi^*_{C6-C7}$ delocalization in the compounds **Cip-A25** and **Cip-A27** ($E^{(2)} = 126.78$ and 113.41 kcal/mol, respectively) and the second is for $n_2_{O5} \rightarrow \pi^*_{C15-O4}$ with $E^{(2)} = 66.30$ kcal/mol for **Cip-A25** and $E^{(2)} = 66.69$ kcal/mol for **Cip-A27**, this two important interactions

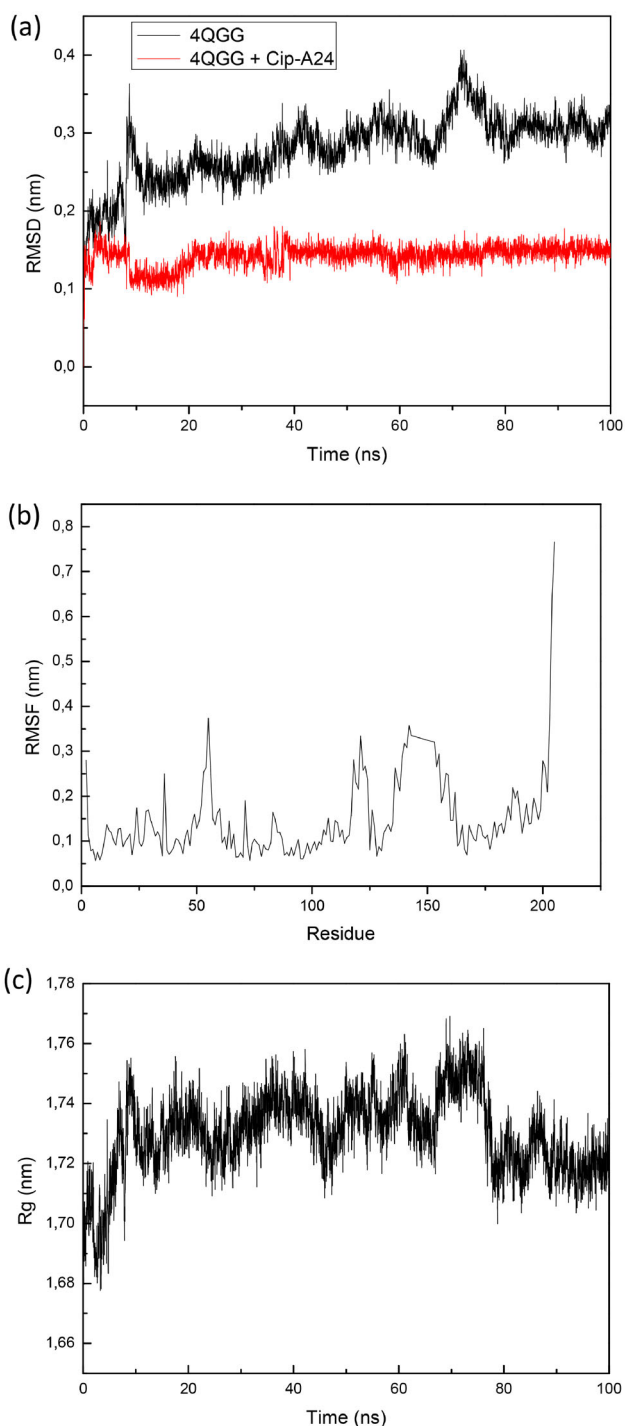


Figure 9. (a) Plot of root mean square deviation (RMSD), (b) root mean square fluctuation (RMSF) values, (c) radius of gyration (Rg) during 100 ns MD simulation of 4QGG in complex with **Cip-A24**.

does not exist in **Cip-A**. The NBO results, showed that the delocalization energies are very high which could be the reason for the bioactivity of **Cip-A** and of its derivatives.

3.5. Analysis based on the global and local reactivity indexes

Theoretical reactivity indices based on the conceptual density functional theory (CDFT) have become a powerful tool for the study of organic reactivity (Domingo et al., 2013). In

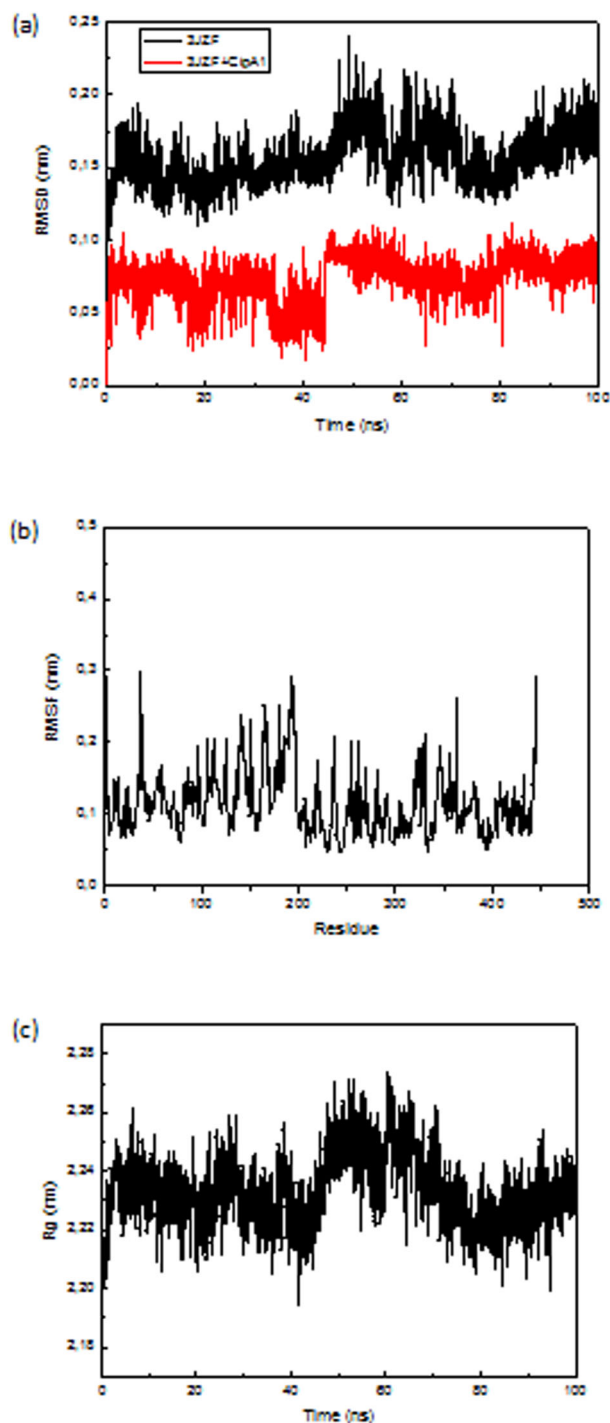


Figure 10. (a) Plot of root mean square deviation (RMSD), (b) root mean square fluctuation (RMSF) values, (c) radius of gyration (Rg) during 100 ns MD simulation of 3JZF in complex with **Cip-A1**.

Table 4, the static global properties (electronic chemical potential, μ , chemical hardness, η , global electrophilicity, ω , and global nucleophilicity, N) of **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** are presented.

These global reactivity descriptors obtained from CDFT are an indication of the chemical reactivity of each molecule as a whole. We note that the compounds with the carboxylic and CF_3 group (**Cip-A25** and **Cip-A27**) have the very highest values of electrophilicity index ω (29.51 eV and 29.78 eV, respectively) and additional electronic charge ΔN_{max}

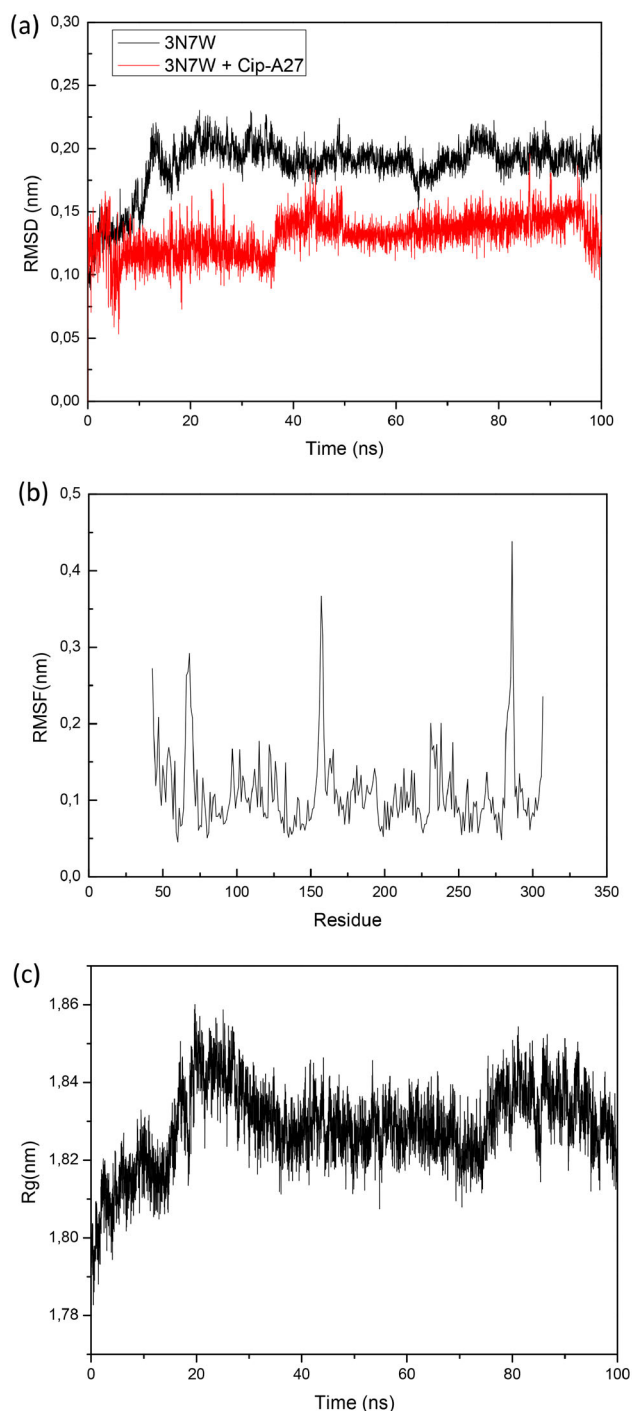


Figure 11. (a) Plot of root mean square deviation (RMSD), (b) root mean square fluctuation (RMSF) values, (c) radius of gyration (Rg) during 100 ns MD simulation of 3N7W in complex with **Cip-A27**.

(16.71 eV and 14.25 eV, respectively) which may contribute to their very strong electrophile compared to **Cip-A**.

The researchers developed a variety of local reactivity descriptors which permit the distribution of the global electrophilicity ω and nucleophilicity N indices at the atomic sites k . (Chakraborty & Chattaraj, 2021). The electrophilic P_k^+ and nucleophilic, P_k^- , Parr functions are some of these local reactivity descriptors. Nucleophilic Parr indices, P_k^- , and local nucleophilicity, N_k^p , values for selected atoms O1, O2, O3 and C1 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** are

presented in Table 5 (see Figure 12 for atom numbering). The highest values of N_k^p values allow us to characterize that the atom O2 is the most nucleophilic site for **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** with N_k^p (4.45 eV, 4.38 eV, 4.32 eV and 4.29 eV, respectively). We note that the O2 atom has made a strong hydrogen bonds with ARG105 of 4QGG and ARG187 of 3N7W.

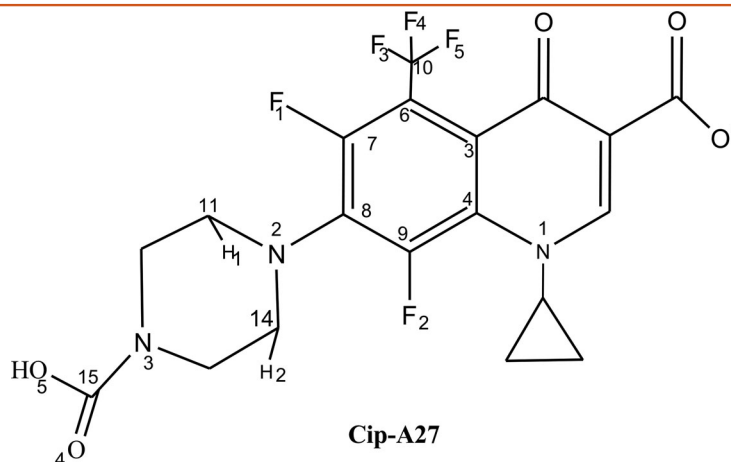
Electrophilic Parr indices, P_k^+ , and electrophilicity, ω_k^p , values for the atoms C3, C6, C8, C12 and C13 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** are presented in Table 6. The values of ω_k^p values indicates that the atom C3 is the more electrophilic site of the molecule **Cip-A27**, $\omega_k^p = 1.82$ eV. Note that the atoms C12 and C13 have also a large electrophilic values (1.57 eV and 1.05 eV, respectively). For **Cip-A25**, the more electrophilic site is C12, $\omega_k^p = 1.74$ eV.

3.6. Molecular electrostatic potential analysis

Molecular electrostatic potential (MEP) of **Cip-A** and the most stable compounds (**Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**) were calculated and discussed in detail in this section. The map of MEP of **Cip-A** and the title compounds are shown in Figure 13. We note that the red color represents the maximum negative area which is the favorable site for electrophilic attack, the blue color indicates the maximum positive area which is the favorable site for nucleophilic attack and the green color represents the area of zero potential. According to Figure 13, the red area is observed in the environment of oxygen atoms, especially in carboxyl group for **Cip-A** and its three derivatives (**Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**). The electron density in this region is higher than the others. The maximum negative potentiality and the highest positive potentiality are found for the compound **Cip-A1** with -0.178 au and $+0.178$ au, respectively.

4. Conclusion

In this investigation, ciprofloxacin and its modified 34 derivatives (**Cip-A1**—**Cip-B7**) were studied by computational chemistry to explore their stability as well their antibacterial and anti-*Mycobacterium tuberculosis* also their pharmacokinetic properties. The geometries of all compounds have been fully optimized in gas phases at DFT/B3LYP/6-311G (d, p) basis set. The results of docking studies of designed compounds with fluorine and trifluoromethyl groups were more potent than **Cip-A** and showed a maximum number of interactions and several halogen bonds. On the other hand, these investigations revealed that the compounds **Cip-A1** is the best inhibitors candidates for gram-negative organism biotin carboxylase (3JZF), respectively. Furthermore, we note that the designed candidate **Cip-A24** pointed out its great inhibition behavior with gram-positive organism TMK (4QGG), as well as the designed candidate **Cip-A24** is the good inhibitors for β -lactamase (3N7W). ADMET results of compounds **Cip-A1**, **Cip-A24** and **Cip-A27** show an excellent absorptive property and demonstrates that they are not potentially carcinogenic. According to values of PPB % they have a moderate bioavailability for receptor target. We note that the

Table 3. The second-order perturbation energies $E^{(2)}$ (kcal/mol) corresponding to the most important interactions (donor–acceptor) in **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** using HF/6-311G (d,p) method.

Interactions Types	$E^{(2)}$ (kcal/mol)			
	Cip-A	Cip-A1	Cip-A25	Cip-A27
π C4–C3 \rightarrow π^* C6–C7	49.42	41.58	–	–
π C4–C3 \rightarrow π^* C8–C9	38.53	51.51	–	–
π C6–C7 \rightarrow π^* C8–C9	51.53	47.27	42.73	37.62
π C8–C9 \rightarrow π^* C4–C3	34.79	30.04	–	–
π C8–C9 \rightarrow π^* C6–C7	26.33	31.40	31.14	34.92
n_3 F1 \rightarrow π^* C6–C7	16.08	19.08	1.36	20.37
n_1 N2 \rightarrow π^* C8–C9	13.91	–	14.13	6.75
n_1 N2 \rightarrow σ^* C14–H2	12.86	1.06	12.77	12.17
n_1 N2 \rightarrow σ^* C11–H1	11.65	11.70	11.41	11.99
n_1 C3 \rightarrow π^* C6–C7	–	–	126.78	113.41
n_3 F2 \rightarrow π^* C8–C9	–	17.53	–	18.99
n_3 F3 \rightarrow σ^* C10–F4	–	–	11.78	11.53
n_3 F5 \rightarrow σ^* C10–F4	–	–	13.82	12.98
n_2 O5 \rightarrow π^* C15–O4	–	–	66.30	66.69

Table 4. HOMO, LUMO energies, global reactivity descriptors and ΔN_{max} of **Cip-A** and its three derivatives **Cip-A1**, **Cip-A24** and **Cip-A27** in (eV).

Compounds	HOMO	LUMO	μ	η	ω	N	ΔN_{max}
Cip-A	–3.12	–2.85	–2.99	0.27	16.44	6.24	11.00
Cip-A1	–3.16	–2.84	–3.00	0.32	14.07	6.20	9.37
Cip-A24	–3.64	–3.43	–3.53	0.21	29.51	5.73	16.71
Cip-A27	–3.65	–3.44	–3.55	0.21	29.78	5.72	16.80

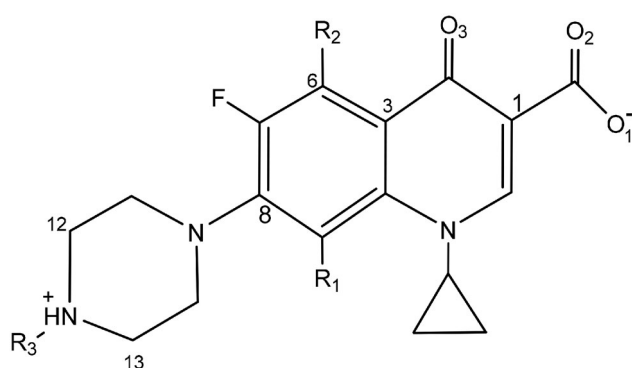
μ : the electronic chemical potential; η : the chemical hardness; ω : the electrophilicity; N: the nucleophilicity.

Table 5. Nucleophilic parr indices, P_k^- , and local nucleophilicity, N_k^p , values (in eV) for atoms O1, O2, O3, C1 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**.

Compounds Atoms	Cip-A		Cip-A1		Cip-A24		Cip-A27	
	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p
O1	0.056	0.35	0.063	0.39	0.057	0.33	0.055	0.29
O2	0.712	4.45	0.706	4.38	0.753	4.32	0.748	4.29
O3	0.133	0.83	0.112	0.70	0.139	0.61	0.099	0.57
C1	0.148	0.93	0.164	1.02	0.139	0.80	0.151	0.86

Table 6. Electrophilic parr indices, P_k^+ , and local electrophilicity, ω_k^p , values (in eV) for atoms C3, C6, C8, C12, C13 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**.

Compounds Atoms	Cip-A		Cip-A1		Cip-A24		Cip-A27	
	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p
C3	0.003	0.05	0.000	0.00	0.033	0.97	0.061	1.82
C6	0.009	0.15	0.001	0.01	0.035	1.03	0.030	0.89
C8	0.012	0.20	0.009	0.12	0.022	0.64	0.033	0.98
C12	–0.019	–0.33	–0.025	–0.34	0.059	1.74	0.053	1.57
C13	–0.022	–0.33	–0.024	–0.35	0.024	0.70	0.036	1.07



Cip-A: $R_1=H$; $R_2=H$; $R_3=H$

Cip-A1: $R_1=F$; $R_2=H$; $R_3=H$

Cip-A24: $R_1=H$; $R_2=CF_3$; $R_3=COOH$

Cip-A27: $R_1=F$; $R_2=CF_3$; $R_3=COOH$

Figure 12. Atom numbering of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**.

derivatives (**Cip-A1**, **Cip-A24**, **Cip-A27**) exhibit good metabolism, have a lower risk of developing heart problems and manifest medium to low acute toxicity in rat models. NBO analyses showed that the delocalization energies were very high and therefore the molecules **Cip-A1**, **Cip-A24**, and **Cip-A27** are stable enough to show desired medicinal properties also that could be the reason for their activity. Finally, our in silico study showed that the predicted analogues; **Cip-A1**,

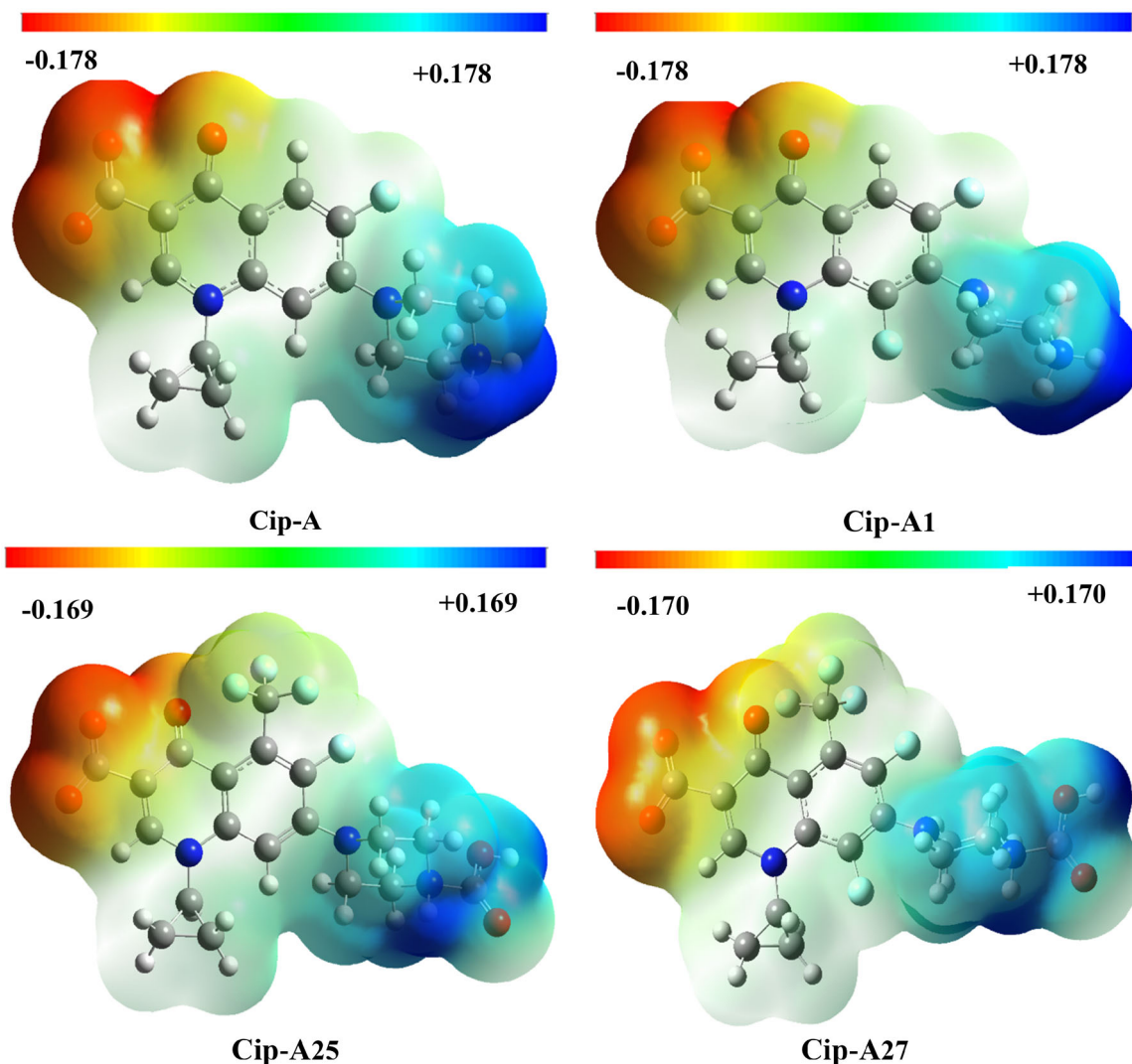


Figure 13. Molecular electrostatic potential maps of Cip-A, Cip-A1, Cip-A25 and Cip-A27.

Cip-A24 and **Cip-A27** can be proposed as new potential antibacterial and antimycobacterium agents drugs. The results obtained in this work are only preliminary. In order to map existing antibiotics as repurposed drugs it is essential to understand the molecular basis of antibiotic resistance. However, other strategies of computer-aided drug design can be applied in general and are being employed to develop drugs like de novo-design and fragment-based screening.

Acknowledgments

We are thankful for Abou Bekr Belkaïd University of Tlemcen for HPC ALTAIR (high performance computing). Funding from the PRFU B00L01UN130120220006 helped support this work and is gratefully acknowledged.

Disclosure statement

The authors report that there are no competing interests to declare.

Funding

This work was supported by the Ministry of Higher Education and Scientific Research under the PRFU project [approval No. B00L01UN130120220006].

References

- Abraham, M. J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J. C., Hess, B., & Lindahl, E. (2015). GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1–2, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
- Ahadi, H., Shokrzadeh, M., Hosseini-Khah, Z., Ghassemi Barghi, N., Ghasemian, M., Emadi, E., Zargari, M., Razzaghi-Asl, N., & Emami, S. (2020). Synthesis and biological assessment of ciprofloxacin-derived 1,3,4-thiadiazoles as anticancer agents. *Bioorganic Chemistry*, 105, 104383. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104383>
- Ajay, Bemis, G. W., Murcko, M. A. (1999). Designing libraries with CNS activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(24), 4942–4951. <https://doi.org/10.1021/jm990017w>
- Alsayed, S. S. R., Lun, S., Payne, A., Bishai, W. R., & Gunosewoyo, H. (2021). Facile synthesis and antimycobacterial activity of isoniazid, pyrazinamide and ciprofloxacin derivatives. *Chemical Biology & Drug Design*, 97(6), 1137–1150. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13836>

- Bank, R. P. D. (n.d.). *RCSB PDB - 3N7W: Crystal structure of BlaC-E166A covalently bound with Amoxicillin*. Retrieved April 13, 2023, from <https://www.rcsb.org/structure/3n7w>
- Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
- Chakraborty, D., & Chattaraj, P. K. (2021). Conceptual density functional theory based electronic structure principles. *Chemical Science*, 12(18), 6264–6279. <https://doi.org/10.1039/D0SC07017C>
- Chandler, J. D., & Day, B. J. (2012). THIOCYANATE: A potentially useful therapeutic agent with host defense and antioxidant properties. *Biochemical Pharmacology*, 84(11), 1381–1387. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.07.029>
- Chen, D., Oezguen, N., Urvil, P., Ferguson, C., Dann, S. M., & Savidge, T. C. (2016). Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. *Science Advances*, 2(3), e1501240. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501240>
- Cheng, C. C., Shipps, G. W., Yang, Z., Sun, B., Kawahata, N., Soucy, K. A., Soriano, A., Orth, P., Xiao, L., Mann, P., & Black, T. (2009). Discovery and optimization of antibacterial AccC inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(23), 6507–6514. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.10.057>
- Clément, G., & Slenzka, K. (Eds.). (2006). *Fundamentals of space biology: Research on cells, animals, and plants in space*. Springer. <https://doi.org/10.1007/0-387-37940-1>
- Contreras, R., Andres, J., Safont, V. S., Campodonico, P., & Santos, J. G. (2003). A theoretical study on the relationship between nucleophilicity and ionization potentials in solution phase. *The Journal of Physical Chemistry A*, 107(29), 5588–5593. <https://doi.org/10.1021/jp0302865>
- Cronan, J. E., & Waldrop, G. L. (2002). Multi-subunit acetyl-CoA carboxylases. *Progress in Lipid Research*, 41(5), 407–435. [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(02\)00007-3](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(02)00007-3)
- Curran, M. E., Splawski, I., Timothy, K. W., Vincen, G. M., Green, E. D., & Keating, M. T. (1995). A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell*, 80(5), 795–803. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90358-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90358-5)
- Di, L., & Kerns, E. H. (2016). Benefits of property assessment and good drug-like properties. In *Drug-like properties* (pp. 5–13). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801076-1.00002-2>
- Didierjean, C., & Tête-Favier, F. (2016). Introduction to protein science. Architecture, function and genomics. Third Edition. By Arthur M. Lesk. Oxford University Press, 2016. Pp. 466. Paperback. Price GBP 39.99. ISBN 9780198716846. *Acta Crystallographica Section D Structural Biology*, 72(12), 1308–1309. <https://doi.org/10.1107/S2059798316018283>
- Domingo, L. R., Aurell, M. J., Pérez, P., & Contreras, R. (2002). Quantitative characterization of the local electrophilicity of organic molecules. Understanding the regioselectivity on Diels–Alder reactions. *The Journal of Physical Chemistry A*, 106(29), 6871–6875. <https://doi.org/10.1021/jp020715j>
- Domingo, L. R., Chamorro, E., & Pérez, P. (2008). Understanding the reactivity of captodative ethylenes in polar cycloaddition reactions. A theoretical study. *The Journal of Organic Chemistry*, 73(12), 4615–4624. <https://doi.org/10.1021/jo800572a>
- Domingo, L. R., Pérez, P., & Sáez, J. A. (2013). Understanding the local reactivity in polar organic reactions through electrophilic and nucleophilic Parr functions. *RSC Advance*, 3(5), 1486–1494. <https://doi.org/10.1039/C2RA22886F>
- Dong, J., Wang, N.-N., Yao, Z.-J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., Lu, A.-P., & Cao, D.-S. (2018). ADMETlab: A platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*, 10(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0283-x>
- Fabbiani, F. P. A., Dittrich, B., Florence, A. J., Gelbrich, T., Hursthouse, M. B., Kuhs, W. F., Shankland, N., & Sowa, H. (2009). Crystal structures with a challenge: High-pressure crystallisation of ciprofloxacin sodium salts and their recovery to ambient pressure. *CrystEngComm*, 11(7), 1396–1406. <https://doi.org/10.1039/b822987b>
- Falzon, D., Schünemann, H. J., Harausz, E., González-Angulo, L., Lienhardt, C., Jaramillo, E., & Weyer, K. (2017). World Health Organization treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update. *European Respiratory Journal*, 49(3), 1602308. <https://doi.org/10.1183/13993003.02308-2016>
- Farooqi, S. I., Arshad, N., Channar, P. A., Perveen, F., Saeed, A., Larik, F. A., & Javed, A. (2018). Synthesis, theoretical, spectroscopic and electrochemical DNA binding investigations of 1, 3, 4-thiadiazole derivatives of ibuprofen and ciprofloxacin: Cancer cell line studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 189, 104–118. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.10.006>
- Farooqi, S. I., Arshad, N., Perveen, F., Channar, P. A., Saeed, A., & Javed, A. (2019). Aroylthiourea derivatives of ciprofloxacin drug as DNA binder: Theoretical, spectroscopic and electrochemical studies along with cytotoxicity assessment. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 666, 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.03.021>
- Feiler, C., Fisher, A. C., Boock, J. T., Marrichi, M. J., Wright, L., Schmidpeter, P. A. M., Blankenfeldt, W., Pavelka, M., & DeLisa, M. P. (2013). Directed evolution of *Mycobacterium tuberculosis* β -lactamase reveals gatekeeper residue that regulates antibiotic resistance and catalytic efficiency. *PLoS One*, 8(9), e73123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073123>
- Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P., & Ward, S. C. (2016). The Cambridge structural database. *Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering and Materials*, 72(2), 171–179. Article 2. <https://doi.org/10.1107/S2052520616003954>
- Hu, Y.-Q., Gao, C., Zhang, S., Xu, L., Xu, Z., Feng, L.-S., Wu, X., & Zhao, F. (2017). Quinoline hybrids and their antiplasmodial and antimalarial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 139, 22–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.061>
- Kawatkar, S. P., Keating, T. A., Olivier, N. B., Breen, J. N., Green, O. M., Guler, S. Y., Hentemann, M. F., Loch, J. T., McKenzie, A. R., Newman, J. V., Otterson, L. G., & Martínez-Botella, G. (2014). Antibacterial inhibitors of Gram-positive thymidylate kinase: Structure-activity relationships and chiral preference of a new hydrophobic binding region. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(11), 4584–4597. <https://doi.org/10.1021/jm500463c>
- Kerns, E. H., & Di, L. (Eds.). (2008). Preface. In *Drug-like properties: Concepts, structure design and methods* (pp. xviii–xxix). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12369520-8.50001-2>
- Khalil, T. E., El-Dissouky, A., Al-Wahaib, D., Abrar, N. M., & El-Sayed, D. S. (2020). Synthesis, characterization, antimicrobial activity, 3D-QSAR, DFT, and molecular docking of some ciprofloxacin derivatives and their copper(II) complexes. *Applied Organometallic Chemistry*, 34(12), e5998. <https://doi.org/10.1002/aoc.5998>
- Kumar, N., Goel, N., Chand Yadav, T., & Pruthi, V. (2017). Quantum chemical, ADMET and molecular docking studies of ferulic acid amide derivatives with a novel anticancer drug target. *Medicinal Chemistry Research*, 26(8), 1822–1834. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-1893-y>
- Lagorce, D., Reynes, C., Camproux, A.-C., Miteva, M. A., Sperandio, O., & Villoutreix, B. O. (2011). In silico ADME/Tox predictions. In *ADMET for medicinal chemists* (pp. 29–124). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470915110.ch2>
- Lei, T., Li, Y., Song, Y., Li, D., Sun, H., & Hou, T. (2016). ADMET evaluation in drug discovery: 15. Accurate prediction of rat oral acute toxicity using relevance vector machine and consensus modeling. *Journal of Cheminformatics*, 8(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s13321-016-0117-7>
- Lishchynskiy, A., Novikov, M. A., Martin, E., Escudero-Adán, E. C., Novák, P., & Grushin, V. V. (2013). Trifluoromethylation of aryl and heteroaryl halides with fluoroform-derived CuCF₃: Scope, limitations, and mechanistic features. *The Journal of Organic Chemistry*, 78(22), 11126–11146. <https://doi.org/10.1021/jo401423h>
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *The New England Journal of Medicine*, 339(8), 520–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>
- Marciniak, K., Beberok, A., Pęczak, P., Boryczka, S., & Wrześniak, D. (2020). Ciprofloxacin and moxifloxacin could interact with SARS-CoV-2 protease: Preliminary in silico analysis. *Pharmacological Reports: PR*, 72(6), 1553–1561. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00169-0>
- Mary, Y. S., Mary, Y. S., Resmi, K. S., & Thomas, R. (2019). DFT and molecular docking investigations of oxamic derivatives. *Heliyon*, 5(7), e02175. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02175>

- Meroueh, S. O., Fisher, J. F., Schlegel, H. B., & Mobashery, S. (2005). Ab initio QM/MM study of class A β -lactamase acylation: Dual participation of Glu166 and Lys73 in a concerted base promotion of Ser70. *Journal of the American Chemical Society*, 127(44), 15397–15407. <https://doi.org/10.1021/ja051592u>
- Mitchell, J. S., Glowacki, J., Grandchamp, A. E., Manning, R. S., & Maddocks, J. H. (2017). Sequence-dependent persistence lengths of DNA. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 13(4), 1539–1555. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00904>
- Mohammed, H. H. H., Abbas, S. H., Abdelhafez, E.-S. M. N., Berger, J. M., Mitarai, S., Arai, M., & Abu-Rahma, G. E.-D. A. A. (2019). Synthesis, molecular docking, antimicrobial evaluation, and DNA cleavage assay of new thiazole/oxadiazole ciprofloxacin derivatives. *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 150(10), 1809–1824. <https://doi.org/10.1007/s00706-019-02478-4>
- Namouchi, A., Cimino, M., Favre-Rochex, S., Charles, P., & Gicquel, B. (2017). Phenotypic and genomic comparison of *Mycobacterium aurum* and surrogate model species to *Mycobacterium tuberculosis*: Implications for drug discovery. *BMC Genomics*, 18(1), 530. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3924-y>
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142–201. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>
- Nettleton, D. O., & Einolf, H. J. (2011). Assessment of cytochrome p450 enzyme inhibition and inactivation in drug discovery and development. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(4), 382–403. <https://doi.org/10.2174/156802611794480882>
- Pardridge, W. M. (1998). CNS drug design based on principles of blood-brain barrier transport. *Journal of Neurochemistry*, 70(5), 1781–1792. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.70051781.x>
- Parr, R. G., & Pearson, R. G. (2002). *Absolute hardness: Companion parameter to absolute electronegativity (world)*. ACS Publications; American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/ja00364a005>
- Parr, R. G., Szentpály, L. v., & Liu, S. (1999). Electrophilicity Index. *Journal of the American Chemical Society*, 121(9), 1922–1924. <https://doi.org/10.1021/ja983494x>
- Parr, R. G., Weitao, Y., Parr, R. G., & Weitao, Y. (1995). *Density-functional theory of atoms and molecules*. Oxford University Press.
- Pérez, P., Domingo, L. R., Duque-Noreña, M., & Chamorro, E. (2009). A condensed-to-atom nucleophilicity index. An application to the director effects on the electrophilic aromatic substitutions. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 895(1–3), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2008.10.014>
- Pettersson, M., Hou, X., Kuhn, M., Wager, T. T., Kauffman, G. W., & Verhoest, P. R. (2016). Quantitative assessment of the impact of fluorine substitution on P-glycoprotein (P-gp) mediated efflux, permeability, lipophilicity, and metabolic stability. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(11), 5284–5296. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00027>
- Purser, S., Moore, P. R., Swallow, S., & Gouverneur, V. (2008). Fluorine in medicinal chemistry. *Chemical Society Reviews*, 37(2), 320–330. <https://doi.org/10.1039/B610213C>
- Ridley, J. M., Milnes, J. T., Duncan, R. S., McPate, M. J., James, A. F., Witchel, H. J., & Hancox, J. C. (2006). Inhibition of the HERG K⁺ channel by the antifungal drug ketoconazole depends on channel gating and involves the S6 residue F656. *FEBS Letters*, 580(8), 1999–2005. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.02.073>
- Rostkowski, M., Spjuth, O., & Rydberg, P. (2013). WhichCyp: Prediction of cytochromes P450 inhibition. *Bioinformatics*, 29(16), 2051–2052. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt325>
- Sanders, W. E. Jr. (1988). Efficacy, safety, and potential economic benefits of oral ciprofloxacin in the treatment of infections. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(3), 528–543. <https://doi.org/10.1093/clinids/10.3.528>
- Sanguinetti, M. C., & Mitcheson, J. S. (2005). Predicting drug-HERG channel interactions that cause acquired long QT syndrome. *Trends in Pharmacological Sciences*, 26(3), 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.01.003>
- Schneider, G., & Fechner, U. (2005). Computer-based de novo design of drug-like molecules. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(8), 649–663. <https://doi.org/10.1038/nrd1799>
- Shawon, J., Khan, A. M., Rahman, A., Hoque, M. M., Khan, M. A. K., Sarwar, M. G., & Halim, M. A. (2018). Molecular recognition of azelaic acid and related molecules with DNA polymerase I investigated by molecular modeling calculations. *Interdisciplinary Sciences, Computational Life Sciences*, 10(3), 525–537. <https://doi.org/10.1007/s12539-016-0186-3>
- Tay, S. B., & Yew, W. S. (2013). Development of quorum-based anti-virulence therapeutics targeting Gram-negative bacterial pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(8), 16570–16599. <https://doi.org/10.3390/ijms140816570>
- Uzzaman, M., Shawon, J., & Siddique, Z. A. (2019). Molecular docking, dynamics simulation and ADMET prediction of Acetaminophen and its modified derivatives based on quantum calculations. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1437. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1442-z>
- Veith, H., Southall, N., Huang, R., James, T., Fayne, D., Artemenko, N., Shen, M., Inglese, J., Austin, C. P., Lloyd, D. G., & Auld, D. S. (2009). Comprehensive characterization of cytochrome P450 isozyme selectivity across chemical libraries. *Nature Biotechnology*, 27(11), 1050–1055. <https://doi.org/10.1038/nbt.1581>
- Wade, R. C., & Goodford, P. J. (1989). The role of hydrogen-bonds in drug binding. *Progress in Clinical and Biological Research*, 289, 433–444.
- Walum, E. (1998). Acute oral toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 106(Suppl 2), 497–503. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106497>
- Wang, N.-N., Dong, J., Deng, Y.-H., Zhu, M.-F., Wen, M., Yao, Z.-J., Lu, A.-P., Wang, J.-B., & Cao, D.-S. (2016). ADME properties evaluation in drug discovery: Prediction of Caco-2 Cell permeability using a combination of NSGA-II and boosting. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(4), 763–773. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00642>
- Wang, N.-N., Huang, C., Dong, J., Yao, Z.-J., Zhu, M.-F., Deng, Z.-K., Lv, B., Lu, A.-P., F. Chen A., & Cao D.-S. (2017). Predicting human intestinal absorption with modified random forest approach: A comprehensive evaluation of molecular representation, unbalanced data, and applicability domain issues. *RSC Advances*, 7(31), 19007–19018. <https://doi.org/10.1039/C6RA28442F>
- Weinhold, F., & Landis, C. R. (2005). *Valency and bonding: A natural bond orbital donor-acceptor perspective* (1st ed.). Cambridge University Press.
- Zaretski, J., Matlock, M., & Swamidass, S. J. (2013). XenoSite: Accurately predicting CYP-mediated sites of metabolism with neural networks. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(12), 3373–3383. <https://doi.org/10.1021/ci400518g>
- Zhang, L., Kumar, K. V., Geng, R.-X., & Zhou, C.-H. (2015). Design and biological evaluation of novel quinolone-based metronidazole derivatives as potent Cu²⁺ mediated DNA-targeting antibacterial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(17), 3699–3705. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.06.041>
- Zhang, G.-F., Liu, X., Zhang, S., Pan, B., & Liu, M.-L. (2018). Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 146, 599–612. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.078>
- Zhao, Y. H., Le, J., Abraham, M. H., Hersey, A., Eddershaw, P. J., Luscombe, C. N., Butina, D., Beck, G., Sherborne, B., Cooper, I., Platts, J. A., & Boutina, D. (2001). Evaluation of human intestinal absorption data and subsequent derivation of a quantitative structure-activity relationship (QSAR) with the Abraham descriptors. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(6), 749–784. <https://doi.org/10.1002/jps.1031>
- Zhu, H., Martin, T. M., Ye, L., Sedykh, A., Young, D. M., & Tropsha, A. (2009). Quantitative structure-activity relationship modeling of rat acute toxicity by oral exposure. *Chemical Research in Toxicology*, 22(12), 1913–1921. <https://doi.org/10.1021/tx900189p>

المخلص

الهدف من العمل المقدم في هذه المذكرة هو دراسة السيليكو لنظائر سيبروفلوكسازين (عقار مضاد حيوي) واقتراح جزيئات مستقبلية مثيرة للاهتمام يتم تطويرها كمثبطات انتقائية ل E. Coli، S.aureus و β -lactames. استخدمنا الأساليب النظرية التالية:

- ✓ الالتحام الجزيئي
- ✓ الديناميت الجزيئية
- ✓ ADMET توقع حركية الدواء
- ✓ دراسة كمية كيميائية

تشير نتائجنا، التي تعتمد على الأساليب الكمية الكيميائية والنمذجة الجزيئية ومعايير ADMET الأولية، إلى أن ثلاثة مشتقات قد تمثل مرشحين واعدن لتطوير أدوية مضادة للبكتيريا ومضادة للميكوبكتيريا.

المفتاحية الكلمات: سيبروفلوكسازين، الجزيئي الالتحام، الديناميت الجزيئية، تصميم الأدوية، ADMET، DFT.

Résumé

L'objectif du travail présenté dans cette thèse est l'étude *in silico* des analogues du ciprofloxacin (antibiotique) et de proposer de futures structures intéressantes à développer en tant qu'inhibiteurs sélectifs de *e.coli*, *S.aureus* et β -lactamase. Nous avons utilisé les approches théoriques suivantes :

- ✓ Simulation docking moléculaire.
- ✓ Simulation dynamique moléculaire
- ✓ Prédiction des paramètres pharmacocinétique ADMET.
- ✓ Etude quato-chimique.

Nos résultats basé sur les méthodes quato-chimique, la modélisation moléculaire et les paramètres ADMET préliminaires, suggèrent que trois dérivés pourraient représenter de nouveaux candidats prometteurs pour le développement de médicaments antibactériens et antimycobactérien

Mots clés: Ciprofloxacin, antibactérienne, antimycobactérien, Conception des médicaments, Docking moléculaire, Dynamique moléculaire, ADMET, DFT.

Abstract

The aim of the work presented in this thesis is the *in silico* study of analogues of ciprofloxacin (Antibiotics drug) and to propose interesting future structures to be developed as selective inhibitors of *E.coli*, *S.aureus* and β -lactamas. We used the following theoretical approaches:

- ✓ Molecular docking simulation.
- ✓ Molecular dynamics simulation
- ✓ Prediction of ADMET pharmacokinetic parameters.
- ✓ Quantum-chemical study.

Our results, based on quantum-chemical methods, molecular modeling, and preliminary ADMET parameters, suggest that three derivatives could represent promising new candidates for the development of antibacterial and antimycobacterial drugs.

Keywords: Ciprofloxacin, antibacterial, anti-mycobacterium, Drug design, Molecular docking, Molecular dynamics, ADMET, DFT.

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/tbsd20>

In silico design based on quantum chemical, molecular docking studies and ADMET predictions of ciprofloxacin derivatives as novel potential antibacterial and antimycrobacterium agents

Wafa Benselama & Wafaa Benchouk

To cite this article: Wafa Benselama & Wafaa Benchouk (08 Aug 2023): In silico design based on quantum chemical, molecular docking studies and ADMET predictions of ciprofloxacin derivatives as novel potential antibacterial and antimycrobacterium agents, Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, DOI: [10.1080/07391102.2023.2240906](https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2240906)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2240906>



Published online: 08 Aug 2023.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 55



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



In silico design based on quantum chemical, molecular docking studies and ADMET predictions of ciprofloxacin derivatives as novel potential antibacterial and antimycrobacterium agents

Wafa Benselama and Wafaa Benchouk

Laboratory of Applied Thermodynamics and Molecular Modeling, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria

Communicated by Ramaswamy H. Sarma

ABSTRACT

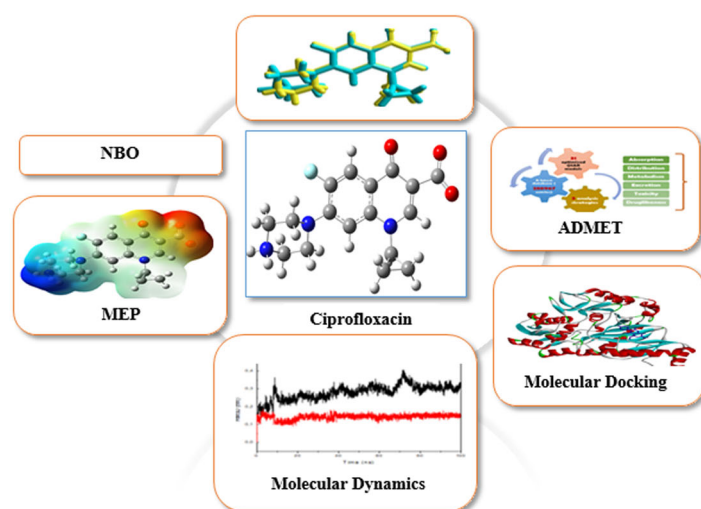
Drug designing and development is an important area of research for pharmaceutical companies and chemical scientists. In this paper, we report the prediction of new ciprofloxacin derivatives by quantum chemical, molecular docking studies and pharmacokinetic properties. Theoretical studies were performed by geometry optimization computation using B3LYP level at 6-311G (d,p) basis set. The absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADMET) parameters were predicted and the result show that all compounds have a great ADMET profile. To study the antibacterial, anti-*Mycobacterium tuberculosis* activities, ciprofloxacin and its derivatives were interacted with the proteins: Thymidylate Kinase (PDB: 4QGG), Biotin carboxylase (PDB: 3JZF) and β -lactamase BlaC (PDB: 3N7W). The results of the docking studies indicate that one pharmacophore designed presents a great inhibition behavior against gram-positive organism (4QGG) and significant interactions observed between the compound and ARG48, GLN101, ARG105 and GLU37 residues of 4QGG. Also, another derivative designed present the best inhibition against gram-negative organism (3JZF) several interactions were noticed between the compound and GLY165, ILE287, LEU278, HIS236, HIS209, MET169 and LYS159 residues of (3JZF). As well as, one designed candidate is good inhibitors for β -lactamase (3N7W) multiple no bonded interactions were observed between the compound and SER84, ILE117, ASN186, LYS87, ARG187, ASN186 and THR251 residues of(3N7W). Molecular dynamics (MD) simulation study was also performed for 100ns to confirm the stability behaviour of the main protein and inhibitor complexes. The MD simulation study validated the stability of three compounds in the protein binding pocket as potent binders. Natural bonding orbital analysis, reactivity indices and molecular electrostatic potential were carried out. The research finding of this study can be helpful to design a new potent antibacterial, antimycrobacterium candidate's drugs that will serve as the basis for future *in vitro* and *in vivo* research.

ARTICLE HISTORY

Received 23 February 2023
Accepted 20 July 2023

KEYWORDS

Drug discovery;
ciprofloxacin; molecular
docking; ADMET; molecular
dynamics; NBO



1. Introduction

The fluorquinolones are a class of antibiotics of synthetic origin derived from quinolones by modifying their structure with fluorine, they are active against both Gram-positive and Gram-negative bacteria (Ahadi et al., 2020). These antibacterial agents target the DNA gyrase and/or topoisomerase IV to prevent bacterial DNA replication and transcription. Quinolones are responsible for the majority of nosocomial infections, leading to extensive mortality and burden on global healthcare systems (G.-F. Zhang et al., 2018).

Ciprofloxacin (1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinoline carboxylic acid) belongs to the second and the new generation of fluorinated quinolones, revealed notable antimicrobial activity and treats diverse kinds of bacterial infections, including gastrointestinal tracts, skin and soft tissues, osteomyelitis, respiratory and urinary infections (Sanders, 1988). Furthermore, for the treatment of tuberculosis as a second-line agent ciprofloxacin has been recommended by the World Health Organization (WHO) mainly in cases of resistance or intolerance to anti-tuberculosis treatment of first intention (Falzon et al., 2017).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is a bacterial human pathogen (Gram-positive) which is the cause of multiple human infections (Lowy, 1998). *S. aureus* Thymidylate Kinase (TMK) are the enzymes who participate in bacterial DNA biosynthesis and for the development of new antibacterial agents, in addition, the TMK are a very interesting therapeutic target (Kawatkar et al., 2014). *Escherichia coli* (*E. coli*) is a Gram-negative bacterium, a predominant non-pathogenic member of the normal intestinal microflora of humans. Some strains of *E. coli* can cause gastrointestinal, urinary, or central nervous system disease in even the most robust human hosts (Nataro & Kaper, 1998). The acetyl coenzyme-A carboxylase (ACC) of *E. coli* is made up of three components: biotin carboxylase, biotin carboxyl carrier protein and carboxyl transferase (Cronan & Waldrop, 2002). The biotin carboxylase is a part of the multi-component bacterial ACC and is essential for pathogen survival (Cheng et al., 2009). The development of new broad-spectrum antibacterial agents is an important strategy. Under this report, Thymidylate Kinase and the enzyme components of bacterial ACC are considered as excellent targets (Cheng et al., 2009; Kawatkar et al., 2014). On another side, *Bacillus Mycobacterium tuberculosis* is the causative agent of tuberculosis. It is one of the top 10 causes of death and represents one of the major challenges facing drug discovery initiatives worldwide (Namouchi et al., 2017). The evolution of bacteria to new virulent forms makes them a drug-resistant pathogens with a different level of resistance compared to existing therapeutic molecules. Such as methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), and β -Lactamases found in many bacterial strains which cause resistance to penicillin and cephalosporin (Tay & Yew, 2013).

In recent days, the emergence of multiple drug-resistant pathogens has caused serious problems to human health, and this makes ciprofloxacin more and more ineffective, so it's imperative to develop novel compounds with profound pharmacological activities such as improved efficacy, broader activity, and favourable safety profile is in much demand (G.-

F. Zhang et al., 2018). In order to overcome this severe issue, the drug modification and the development of effective derivatives constitute another alternative way (Chandler & Day, 2012). In contemporary medicinal chemistry since the advent of 5-fluorouracil the replacement of one or more hydrogen atoms by fluorine atoms is used to improve metabolic stability, bioavailability and protein-ligand interactions (Purser et al., 2008) (Pettersson et al., 2016). When CF_3 is combined with various organic molecules, it has a significant impact on agrochemical colorants and pigments, pharmaceutical products, polymers, and material chemistry (Shawon et al., 2018). In the same context, the modification of drugs by the addition of groups, alkyl, alkoxy and hydroxyl play an important role in improving the performance of drugs (Uzzaman et al., 2019). In the last 30 years, numerous ciprofloxacin derivatives with anti-tuberculosis (Mohammed et al., 2019), antifungal (L. Zhang et al., 2015), anti-HIV (Cheng et al., 2009), anti-malarial (Hu et al., 2017), anti-tumor (Ahadi et al., 2020) profiles have been discovered. G. F. Zhang et al. summarized the recent advances made towards the discovery of ciprofloxacin derivatives as antibacterial agents.

In silico drug design, molecular docking and absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADMET) pharmacokinetic parameters predictions, have become an essential task to evaluate newly designed molecules and reduce the attrition rate at the late stages of the drug development process (Nettleton & Einolf, 2011; Schneider & Fechner, 2005). Several study *in vitro* and *in silico* of ciprofloxacin derivatives (Alsayed et al., 2021; Farooqi et al., 2018; 2019; Khalil et al., 2020; Marciniak et al., 2020; Mohammed et al., 2019) can be found in the literature. Recently, K. Marciniak et al. (Marciniak et al., 2020) applied the molecular docking and molecular dynamics techniques to assess the potential of ciprofloxacin and moxifloxacin interaction with COVID-19 Main Protease. In silico molecular docking was performed by Khalil et al. (2020) on six derivatives of ciprofloxacin compounds and their copper(II) complexes and the results revealed that the presence of two types of interactions between the *E. coli* and the derivatives, H-bonding and Van der Waals interactions had an effective inhibition at the docked site. The New N-4-piperazinyl ciprofloxacin thiadiazole derivatives and oxadiazole derivatives were prepared and characterized by Mohammed et al. (2019). Furthermore, the results showed that the introduction of the 1, 3, 4-thiadiazole moiety into the N-4-piperazinyl of ciprofloxacin enhanced the anti-tubercular activity more than if hybridized with oxadiazole moiety.

In this work we have applied the Computer-Aided Drug Design CADD methods to development of new antibacterial and antimicrobacterium agents (derivatives of ciprofloxacin). Two structure of ciprofloxacin have been studied with the zwitterion structure (**Cip-A**) and non-zwitterion structure (**Cip-B**) (Figure 1). Ciprofloxacin derivatives have been predicted in order to design 34 novel molecules to investigate their antibacterial and antimicrobacterium activities. ADMET pharmacokinetic parameters were estimated for all candidates. Additionally, Molecular docking has been performed to investigate the binding energy, mode and interactions of drugs with the amino acid residues of receptor proteins: Thymidylate Kinase, biotin carboxylase and BlaC-E166A. A

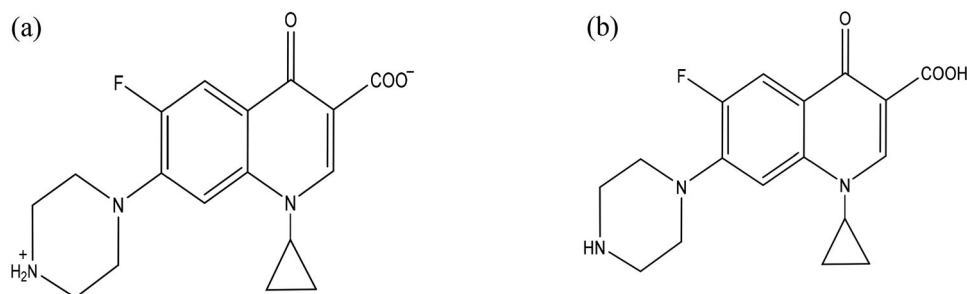


Figure 1. Chemical representation of (a) zwitterion structure **Cip-A** and (b) of non-zwitterion structure **Cip-B**.

molecular dynamics (MD) simulation was performed to provide adequate information on the complex dynamics. Then the energies (E^2) were estimated by second-order perturbation theory using Natural Bond Orbital analysis (NBO) to examining all possible interactions between the 'occupied' and the 'none-occupied' NBO orbitals for the best derivatives. The reactivity descriptors (global and local) as defined within the premise of conceptual density functional theory (CDFT) have been calculated.

2. Materials and methods

2.1. Quantum chemical calculations

The crystal structure of ciprofloxacin zwitterion structure **Cip-A** has been experimentally determined and downloaded from the CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre; <https://ccdc.cam.ac.uk/>) (Groom et al., 2016). The geometries of **Cip-A**, **Cip-B** and its derivatives were optimized using the functional B3LYP (Becke's three parameter hybrid functional using the LYP correlation function) (Becke, 1993) at 6-311 G (d,p) basis set with the help of Berny method in Gaussian 09. The atom by atom superimposing of Ciprofloxacin zwitterion obtained from X-ray diffraction and theoretical calculations was performed using HyperChem 8.0.10. The subsequent vibrational frequency calculations were performed in order to ensure that the stationary points correspond to the minima on the potential energy surface. The optimization of all compounds was performed in the gas phase. The reactivity indices based on the CDFT calculations namely the electronic chemical potential, μ , the chemical hardness, η (Parr & Pearson, 2002; Parr et al., 1995), the global nucleophilicity, N (Domingo et al., 2008), and the global electrophilicity, ω , which measures the stabilization in energy when the system acquires an additional electronic charge, ΔN_{max} (Parr et al., 1999), were performed using the same level of theory using energies of frontier HOMOs and LUMOs. All the descriptors were calculated by using the following equations:

$$\mu = (\epsilon_{HOMO} + \epsilon_{LUMO})/2 \quad (1)$$

$$\eta = \epsilon_{LUMO} - \epsilon_{HOMO} \quad (2)$$

$$\omega = \mu^2/2\eta \quad (3)$$

$$N = \epsilon_{HOMO(Nu)} - \epsilon_{HOMO(TCE)} \quad (4)$$

$$\Delta N_{max} = -\mu/\eta \quad (5)$$

Local electrophilicity (Domingo et al., 2002) and local nucleophilicity indices (Contreras et al., 2003; Pérez et al.,

2009), ω_k^p and N_k^p , respectively, were evaluated using the following expressions:

$$\omega_k^p = \omega P_k^+ \quad (6)$$

$$N_k^p = N P_k^- \quad (7)$$

Where P_k^+ and P_k^- are the parr function of electrophilic and nucleophilic attacks, respectively (Domingo et al., 2013).

The molecular electrostatic potential (MEP) is a classical tool in chemical activity analysis, especially in drug design was calculated at B3LYP/6-311G (d, p) level of theory to predict the reactive sites for electrophilic and nucleophilic attack of all optimized structures. The important donor-acceptor interactions were calculated using energy $E^{(2)}$ based on the second order perturbation theory with NBO 3.1 with HF/6311-G (d,p) basis set with Gaussian09.

2.2. ADMET prediction

In drug discovery process, computational methods are widely used for the prediction of pharmaceutical potential and optimization of new lead candidates. To predict and analyze pharmacokinetic properties ADMET of **Cip-A**, **Cip-B** and its analogues such as HIA (human intestinal model for predicting oral and trans-dermal drug absorption), Caco2-cell (heterogeneous human epithelial colorectal adenocarcinoma cell lines). Prediction of distribution is carried out by using PPB plasma protein binding and BBB (blood brain barrier) assessment. Corresponding to metabolism is predicted by calculating: CYP450 Substrate (P450 CYP Substrate) and CYP450 Inhibitor (P450 CYP Inhibitor). Finally, the toxicity profile based on the prediction of hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) and LD50 value rat acute toxicity expressed as median lethal dose, ADMETlab online database was utilized (<https://admet.scbdd.com/>) (Dong et al., 2018). Structure Data File and simplified molecular-input line-entry system (SMILES) strings were utilized.

2.3. Molecular docking

To perform molecular docking procedure the 3D crystal structure TMK (PDB ID: 4QGG Resolution = 1.62 Å with R-Value Free 0.222) (Kawatkar et al., 2014), biotin carboxylase from *E. coli* (PDB ID: 3JZF Resolution = 2.13 Å with R-Value Free 0.236) (Cheng et al., 2009) and BlaC-E166A covalently from MBT (PDB ID: 3W7N Resolution = 1.70 Å with R-Value Free 0.186) (Bank, n.d.) Were obtained as pdb file from

protein data bank (<http://www.rcsb.org/>). In general, the protein structure with a resolution between 1.5 and 2.5 Å have an excellent quality for further studies (Clément & Slenzka, 2006)(Didierjean & Tête-Favier, 2016). After that, the structures were prepared by deleting water molecules and unwanted ligands. The protein binding site was defined and prepared for docking process. The optimized structures of all ligands, **Cip-A**, **Cip-B** and its derivatives, were obtained from Gaussian09, and converted into pdb file format. The molecular docking studies were performed using the Autodock Vina 1.1.2 program in UCSF Chimera 1.15 software. The Discovery Studio (2020) was utilizing to analyze and visualize the docking result.

2.4. Molecular dynamics simulations

Molecular Dynamics (MD) simulations of 4QGG-**Cip-A24**, 3JZF-**Cip-A1** and 3N7W-**Cip-A27** complexes were performed using MD simulation module developed at SiBioLead LLP which uses GROMACS simulation algorithm for MD simulations (Abraham et al., 2015). The complexes were immersed in a triclinic simulation box containing Simple Point Charge (SPC) water molecules and NaCl as counterions. For maintaining physiological conditions, a further 150 mM NaCl, and 20 mM MgCl was added to the simulation system. Simulation system was energy minimized for 5000 steps using the Steepest Descent method. Before the actual MD run, the whole system was equilibrated for 300 ps using NVT/NPT protocol. MD simulation was conducted for 100 ns. The protein-ligand complexes results were then analyzed.

3. Results and discussion

3.1. Geometry optimization

We have applied the DFT at B3LYP/6-311G (d, p) basis set approach to optimize the structure of **Cip-A**, **Cip-B** and its 34 derivatives (**Cip-A1—Cip-B7**) represented in Figures 2 and 3.

All of the compounds optimized geometries had positive harmonic vibrational frequencies, indicating that they had attained the global minimum on the potential energy surface. The atom by atom superimposing of Ciprofloxacin zwitterion obtained from X-ray diffraction (Fabbiani et al., 2009) and theoretical calculations are represented in Figure 4. The small value of the root mean square error, 0.445 Å for **Cip-A**, showed a good agreement between X-ray and optimized geometries. Consequently, the B3LYP/6-311G (d,p) method seems to be an appropriate computational level for predicting molecular geometries of all compounds.

3.2. ADMET predictions

The ADMET property prediction is useful for developing and synthesizing new derivatives, as well as determining their level of safety after administration in the human body. A compound will quickly reach peak levels in the blood and maintain the desired levels for a longer duration, before

dropping to low levels and eventually being eliminated from the body. If it is rapidly absorbed, well distributed, little metabolically degraded and not rapidly eliminated, while not being toxic (Kumar et al., 2017). The ADMET properties of **Cip-A**, **Cip-B** and compounds (**Cip-A1—Cip-B7**) predicted by ADMET lab server have been provided in the Table 1.

Human intestinal absorption (HIA %) parameter, represents the sum of bioavailability and absorption determination from the ratio of cumulative excretion in bile, urine and feces. Which is a key parameter for a molecule to be identified as a potent drug candidate (Wang et al., 2017; Zhao et al., 2001). Compounds (**Cip-A1—Cip-B7**) manifest positive (Yes) HIA values, showing their excellent absorptive property. The oral bioavailability of drugs is also a crucial factor in the development of bioactive compounds into therapeutic medicines. Caco-2 cell have been used to predict oral drug absorption (Wang et al., 2016). The compounds **Cip-A1** to **Cip-A27** had Caco-2 values in the range of [−5.34, −4.88 cm/s] greater than −4.80 cm/s (> −4.80 cm/s), for compounds **Cip-B1** to **Cip-B7** values of Caco-2 is in the range of [−4.59, −4.53 cm/s] less than −4.80 cm/s (< −4.80 cm/s). This demonstrates that the derivatives **Cip-A1** to **Cip-A27** are not potentially carcinogenic due to their intestinal absorption mechanisms (Wang et al., 2016).

The plasma protein binding (PPB) level of a drug influences its action, disposition, and efficacy (Kumar et al., 2017). As a result, the PPB is an important pharmacokinetic parameter that aids in the resolution of the real dosage regimen, but it is not required for the calculation of daily dose size (Di & Kerns, 2016; Kumar et al., 2017). All compounds belonging to series **Cip-A1** to **Cip-B7** showed PPB % values in the range of 35–83% PPB less than 90% ($\leq 90\%$) which falls well within the range of average bound drugs representing moderately bioavailability for receptor target (Kerns & Di, 2008). Only CNS-active chemicals can cross through the blood brain barrier (BBB), making it extremely important in the pharmaceutical industry. BBB penetration is represented as concentration ratio of steady-state of radio-labeled substances in brain (Cbrain) and peripheral blood circulation (Cblood) (Ajay et al., 1999). The compounds **Cip-A6**, **Cip-A7**, **Cip-A11**, **Cip-A12**, **Cip-A18**, **Cip-A19** **Cip-A20** and **Cip-B7** found to possess BBB values positive (Yes) in the range of CNS active molecule (Pardridge, 1998).

Because of their importance in drug metabolism, Cytochromes P450 (CYPs) enzymes have been thoroughly researched. At least one of the CYPs enzymes are involved in the metabolism of more than 90% of all marketed medications (Lagorce et al., 2011; Rostkowski et al., 2013; Veith et al., 2009; Zaretski et al., 2013). A negative response (No) (no-substrate effect or no-inhibitory effect) to this test indicates that the drug is well metabolized and does not produce toxic products. All the derivatives present a negative response to the P450 tests CYPs substrate/inhibitor, so the latter exhibit good metabolism.

The human Ether-à-go-go-Related Gene (hERG) potassium channels are essential for the normal electrical activity of the heart. Inherited mutations in the hERG gene cause long QT syndrome, a disorder that predisposes individuals to life-threatening arrhythmias (Curran et al., 1995). A positive response

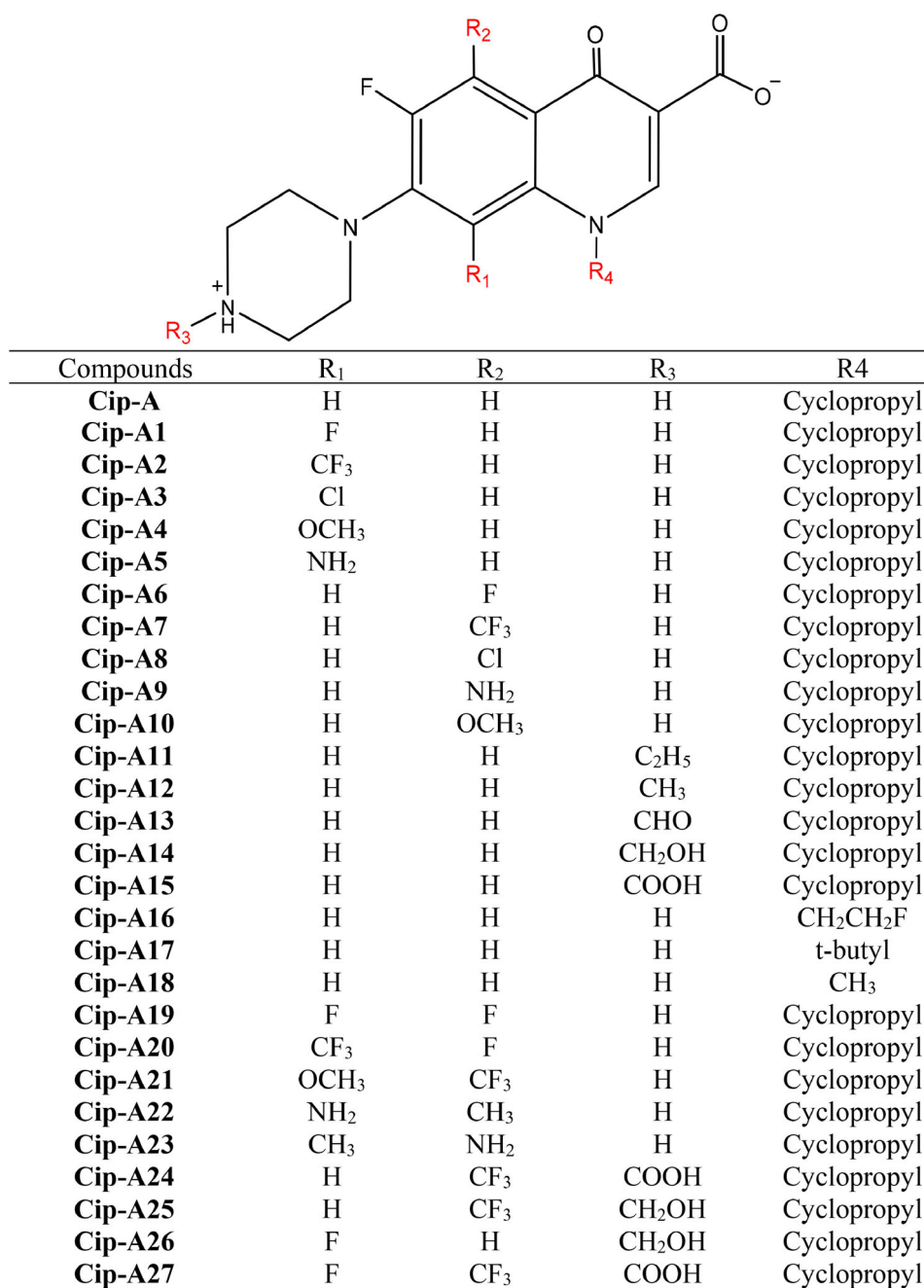


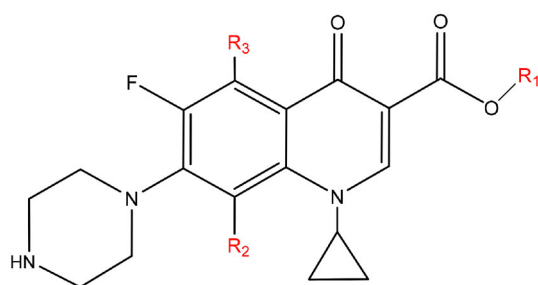
Figure 2. Chemical zwitterion structures of Cip-A and its designed derivatives.

(Yes) to the hERG test confirms the inhibition of the hERG gene (Ridley et al., 2006; Sanguinetti & Mitcheson, 2005). Most of compound for **Cip-A** derivatives and **Cip-B4** show a negative hERG test (No). The candidates have a lower risk of developing heart problems, except compounds **Cip-A11** and **Cip-17** and all compounds for **Cip-B** derivatives. The determination of rat acute toxicity expressed as median lethal dose (LD50) is a major step in drug discovery. LD50 value defined as the statistically derived dose that, when administered in an acute toxicity test, is expected to cause death in 50% of the treated animals in a given period (Walum, 1998). A lower LD50 indicates a higher level of toxicity (Lei et al., 2016; Zhu et al., 2009). The LD50 values for tested molecules were ranges between [203–1048 mg/kg] for all derivatives (**Cip-A1**—**Cip-B7**). These results manifest medium to low acute toxicity in rat models

(Lei et al., 2016; Zhu et al., 2009). In conclusion 24 derivatives can be administered orally, and are not potentially carcinogenic by their mode of intestinal absorption which makes their access possible to blood. 8 derivatives can be delivered specifically to their site of therapeutic action in the human body. They can be metabolized in a way that does not alter the body's functions. And 25 derivatives have a potentially acceptable safety profile in the toxicological studies with reference to the various tests.

3.3. Molecular docking analysis

The docking simulation by Autodock Vina is used to investigate the binding properties of the proposed compounds and



Compounds	R ₁	R ₂	R ₃
Cip-B	H	H	H
Cip-B1	CH ₃	H	H
Cip-B2	C ₂ H ₅	H	H
Cip-B3	Propyl	H	H
Cip-B4	CH ₃	F	H
Cip-B5	C ₂ H ₅	F	H
Cip-B6	CH ₃	H	CF ₃
Cip-B7	C ₂ H ₅	H	CF ₃

Figure 3. Chemical non-zwitterion structures of **Cip-B** and its designed derivatives.

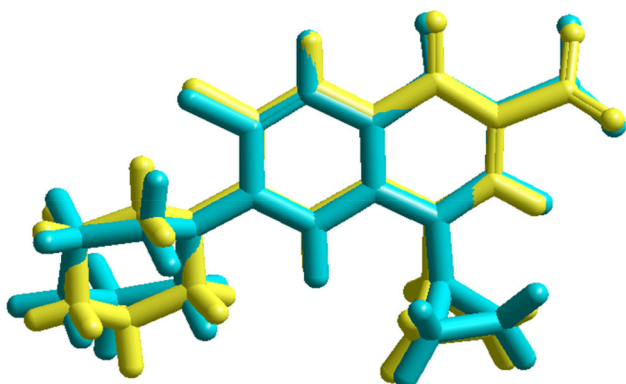


Figure 4. Atom-by-atom superimposition of the zwitterion structure optimized **Cip-A** (cyan) over the X-ray structure (yellow) (RMS= 0.445 Å).

crystal structures of 4QGG, 3JZF and 3N7W. Accordingly, molecular docking is used to study the different binding conformations of molecules at the active binding site. The protein cavity with the residues of the active site for the three targets is shown in Figure 5. The designed compounds binding energy were reported in Table 2.

The high electronegativity and hydrophobic nature of trifluoromethyl groups are two important traits that can be exploited in drug design to produce specific functionalities related to physicochemical, biological and pharmacological aspects (Lishchynskiy et al., 2013). In addition, non-covalent interactions such as hydrogen bond, halogen bond and hydrophobic interaction are involved in the binding of examined drugs. All the molecules showed multiple nonbonding interactions after the docking with all the proteins. The hydrogen bonding is required for the structure of DNA in biology. According to the nucleotide sequence, a regular helical structure of the DNA helix is made up by specific hydrogen bonding patterns (Mitchell et al., 2017). Recent research showed that halogen bonding similar to hydrogen bonding plays a crucial role in both biological and chemical system (Shawon et al., 2018).

3.3.1. Antibacterial activity of ciprofloxacin and the novel derivatives against gram-positive organism *S. aureus* (4QGG)

The binding energy (BE) of the protein 4QGG with **Cip-A** is -7.3 kcal/mol (see Table 2). Whereas, the BE of the protein 4QGG with **Cip-A24**, **Cip-A15** and **Cip-A27** compounds have considerably increased to -8.2 , -8.0 and -8.1 kcal/mol, respectively. The binding energy of **Cip-B1** to **Cip-B7** with 4QGG was found to be the highest for the protein-ligand complex. Presumably due to loss of ciprofloxacin's zwitterion structure.

For drug binding, hydrogen bonds have important function in determining the accuracy of ligand binding (Wade & Goodford, 1989). On the basis of theoretical and experimental correlations between H-bond pairings and their effects on ligand binding affinity, (Chen et al., 2016) demonstrate that H-bonds enhance receptor-ligand interactions when both the donor and acceptor have either significantly stronger or significantly weaker H-bonding capabilities than the hydrogen and oxygen atoms in water. By contrast, mixed strong-weak H-bond pairings decrease ligand binding affinity due to interference with bulk water, offering mechanistic insight into why indiscriminate strengthening of receptor-ligand H-bonds correlates poorly with experimental binding affinity (Chen et al., 2016).

The 3D and 2D illustration of interactions observed of **Cip-A** and the best docked compound (**Cip-A24**) with 4QGG were provided in Figure 6.

The 4QGG-**Cip-A** complex is formed with three strong hydrogen bonds with ARG70 (2.69 Å, 2.86 Å and 2.69 Å) (Figure 6) as well as an increasing number of hydrophobic interactions, one halogen bond and two electrostatic interactions are found in **Cip-A**. In the binding of modified drug **Cip-A27** with 4QGG non-covalent interactions such as hydrogen bond, halogen bond and hydrophobic interaction are involved. This complex is stabilized by three hydrogen bonds with GLN101 (1.80 Å and 2.59 Å) and GLU37 (2.47 Å), four carbon hydrogen bonds with ARG36, PRO38 and two with ARG92 and two hydrophobic interaction with PHE66 and TYR100 amino acid residues. In the docked structure **Cip-A24** with 4QGG, multiple non-bonded interactions were observed. The complex is stabilized by four strong hydrogen bonds with ARG48 (2.30 Å), GLN101 (1.79 Å and 2.84 Å), ARG105 (2.84 Å) and GLU37 (2.10 Å). The strong and multiples number of hydrogen bonds contribute to increasing binding affinity of **Cip-A24**. The complex 4QGG-**Cip-A24** is also stabilized by formation of two hydrophobic interactions (type π -Alkyl) (Figure 6).

3.3.2. Antibacterial activity of ciprofloxacin and the novel derivatives against gram-negative organism *E. coli* (3JZF)

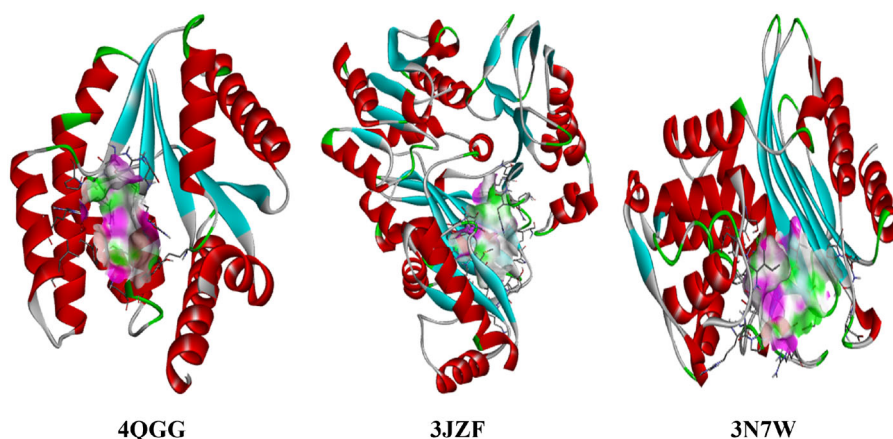
For the protein 3JZF, the highest binding affinity is observed for **Cip-A1** with -9.2 kcal/mol compared to **Cip-A** with -7.3 kcal/mol.

The observed interactions of **Cip-A** and the best docked (**Cip-A1**) compound with 3JZF are provided in Figure 7. The 3JZF-**Cip-A** complex formed by three hydrogen bonds with

Table 1. Selected pharmacokinetic parameters of ciprofloxacin and its derivatives.

Compounds	CACO-2 (cm/s)	HIA	PPB (%)	BBB	CYP 3A4 inhibitor	CYP 2D6 inhibitor	CYP 2C9 substrat	CYP 2D6 substrat	hERG	LD ₅₀ (mg/kg)
Cip-A	-5.12	Y	41.91	N	N	N	N	N	N	421.90
Cip-B	-5.16	Y	69.35	N	N	N	N	N	N	1089.64
Cip-A1	-5.10	Y	40.17	N	N	N	N	N	N	379.52
Cip-A2	-4.93	Y	65.24	N	N	N	N	N	N	327.60
Cip-A3	-4.96	Y	55.05	N	N	N	N	N	N	303.55
Cip-A4	-5.16	Y	36.54	N	N	N	N	N	N	400.82
Cip-A5	-5.33	Y	35.14	N	N	N	N	N	N	377.16
Cip-A6	-5.10	Y	41.00	Y	N	N	N	N	N	394.68
Cip-A7	-4.93	Y	65.36	Y	N	N	N	N	N	424.95
Cip-A8	-4.96	Y	55.32	N	N	N	N	N	N	288.56
Cip-A9	-5.34	Y	35.73	N	N	N	N	N	N	372.85
Cip-A10	-5.16	Y	36.77	N	N	N	N	N	N	418.00
Cip-A11	-5.10	Y	54.67	Y	N	N	N	N	Y	330.05
Cip-A12	-5.07	Y	46.02	Y	N	N	N	N	N	349.37
Cip-A13	-5.14	Y	49.00	N	N	N	N	N	N	378.90
Cip-A14	-5.22	Y	45.75	N	N	N	N	N	N	372.35
Cip-A15	-5.21	Y	52.75	N	N	N	N	N	N	361.78
Cip-A16	-5.12	Y	39.00	N	N	N	N	N	N	444.70
Cip-A17	-5.03	Y	52.00	N	N	N	N	N	Y	242.01
Cip-A18	-5.10	Y	35.64	Y	N	N	N	N	N	412.80
Cip-A19	-5.01	Y	41.62	Y	N	N	N	N	N	345.98
Cip-A20	-4.88	Y	60.75	Y	N	N	N	N	N	351.95
Cip-A21	-4.97	Y	57.00	N	N	N	N	N	N	336.40
Cip-A22	-5.22	Y	39.12	N	N	N	N	N	N	348.35
Cip-A23	-5.22	Y	40.44	N	N	N	N	N	N	362.05
Cip-A24	-5.19	Y	53.88	N	N	N	N	N	N	309.27
Cip-A25	-5.10	Y	53.65	N	N	N	N	N	N	362.94
Cip-A26	-5.19	Y	43.95	N	N	N	N	N	N	354.86
Cip-A27	-5.00	Y	61.28	N	N	N	N	N	N	276.71
Cip-B1	-4.55	Y	72.03	N	N	N	N	N	Y	891.84
Cip-B2	-4.55	Y	78.83	N	N	N	N	N	Y	864.13
Cip-B3	-4.59	Y	82.32	N	N	N	N	N	Y	818.85
Cip-B4	-4.54	Y	70.92	N	N	N	N	N	N	1047.95
Cip-B5	-4.55	Y	76.23	N	N	N	N	N	Y	1025.16
Cip-B6	-4.53	Y	73.68	N	N	N	N	N	Y	226.12
Cip-B7	-4.54	Y	79.30	Y	N	N	N	N	Y	203.15

Caco-2: Caco 2 cell permeability; HIA: Human intestinal absorption; BBB: Blood-brain barrier penetration; PPB: Plasma protein binding; CYP P450: Cytochromes P450; hERG: the human Ether-à-go-go-Related Gene; LD₅₀: Rat acute toxicity; Y: YES; N: NO.

**Figure 5.** Protein cavity with the residues of the active site for the targets: *S.aureus* (pdb: 4QGG), *E.coli* (pdb: 3JZF) and β -lactamase (pdb: 3N7W).

LYS159 (1.83 Å and 2.92 Å) and TYR199 (2.82 Å) residues and three hydrophobic interactions involve residues HIS209, HIS236 and ILE287 (Figure 7). Regarding the most active compound **Cip-A1** and active site residues of 3JZF shows maximum number of interactions, hydrogen interactions (salt bridge, conventional hydrogen bond and carbon hydrogen bond), halogen interactions (fluorine) electrostatic interaction (attractive charge), hydrophobic interactions π -sigma, (π - π stacked, π - π t-shaped, alkyl and π -alkyl) (Figure 7).

Amino acid residue HIS236 formed a hydrogen bond with a bond length of 1.79 Å. The most notable fact here is that the F atom in R₁ position in **Cip-A1** interacted with amino acids GLY165 (3.57 Å) to form strong halogen bond interaction. Hydrophobic interactions involves ILE287, LEU278, HIS236, HIS209 and MET169 residues. Another important residue LYS159, which involved in electrostatic interaction (π -cation) with 3JZF inhibitor, shows two π -cation interactions with **Cip-A1**.

Table 2. Binding energy (BE) (kcal/mol) of ciprofloxacin and its modified derivatives after molecular docking with Thymidylate Kinase (PDB: 4QGG), biotin carboxylase (PDB: 3JZF) and β -lactamase BlaC (PDB: 3N7W).

Compounds	4QGG	3JZF	3N7W
Cip-A	-7.3	-7.3	-7.5
Cip-B	-7.2	-8.5	-7.4
Cip-A1	-7.6	-9.2	-7.6
Cip-A2	-7.4	-5.0	-7.7
Cip-A3	-6.9	-7.2	-7.1
Cip-A4	-6.8	-5.5	-7.0
Cip-A5	-7.5	-8.5	-7.3
Cip-A6	-7.6	-8.2	-7.7
Cip-A7	-7.8	-8.5	-8.0
Cip-A8	-7.0	-7.5	-7.5
Cip-A9	-7.6	-7.4	-7.4
Cip-A10	-7.1	-7.3	-7.4
Cip-A11	-7.3	-7.3	-7.2
Cip-A12	-7.4	-7.5	-7.1
Cip-A13	-7.5	-7.7	-8.0
Cip-A14	-7.3	-7.6	-7.5
Cip-A15	-8.0	-8.0	-8.0
Cip-A16	-7.0	-8.6	-7.4
Cip-A17	-7.6	-8.5	-7.3
Cip-A18	-7.3	-8.6	-7.4
Cip-A19	-7.6	-8.8	-7.9
Cip-A20	-7.7	-5.3	-7.5
Cip-A21	-7.7	-6.3	-7.5
Cip-A22	-7.4	-7.5	-7.7
Cip-A23	-7.1	-7.4	-6.9
Cip-A24	-8.2	-8.4	-8.7
Cip-A25	-7.1	-8.9	-8.4
Cip-A26	-7.3	-7.4	-7.4
Cip-A27	-8.1	-7.8	-9.4
Cip-B1	-6.6	-8.9	-7.4
Cip-B2	-7.1	-6.9	-7.2
Cip-B3	-6.7	-8.6	-7.1
Cip-B4	-6.8	-9.0	-7.5
Cip-B5	-6.8	-7.2	-7.4
Cip-B6	-7.4	-8.8	-7.8
Cip-B7	-7.5	-8.6	-7.9

3.3.3. Antimicrobial activity of ciprofloxacin and the novel derivatives against 3N7W as β -lactamase inhibitor

The binding affinities of **Cip-A24**, **Cip-A25** and **Cip-A27** with protein 3N7W have considerably increased to -8.7 , -8.4 and -9.4 kcal/mol, respectively, from -7.5 kcal/mol of **Cip-A**. As given in the Table 2. The binding energy of **Cip-B1** to **Cip-B7** with 3N7W was found to be the lowest for the protein-ligand complex. Presumably due to loss of ciprofloxacin's zwitterion structure.

The previous research revealed that all class of β -lactamases hydrolyzed β -lactam substrates *via* nucleophilic attack initiated by the active site residue Ser84 (Meroueh et al., 2005). In another research, Ile117 of BlaC was found to operate as a 'gatekeeper' residue, regulating substrate accessibility to the enzyme active site (Feiler et al., 2013). Furthermore, a molecular docking study of the designed compounds (**Cip-A1**—**Cip-B7**) shows that major residues of BlaC active site form hydrogen interactions (conventional hydrogen bond or carbon hydrogen Bond), halogen interactions type fluorine, hydrophobic interactions by means of π -alkyl and π -sigma bonding and electrostatic interactions with the ligands. Modified compounds where the trifluoromethyl group ($-CF_3$) at the R_2 position was added and the R_3 position was modified with ($-CH_2OH$ or $-COOH$) groups **Cip-A24**, **Cip-A25** and **Cip-A27** showed the highest binding affinity and maximum number of interactions and several

halogen bonds. The observed interactions of **Cip-A** and the best docked compound (**Cip-A27**) with 3N7W were provided in Figure 8.

In the **Cip-A27** docked structure, multiple no bonded interactions were observed and the more important compared to the other (Figure 8). The complex was stabilized by the formation of eight strong hydrogen bonds with SER84 (2.64 Å), ASN186 (2.39 Å), LYS87 (2.86 Å), ILE117 (2.58 Å and 2.28 Å), ARG187 (2.31 Å and 2.48 Å), ASN186 (2.71 Å) and THR251 (2.88 Å) comparing to **Cip-A** with two hydrogen bonds ARG187 (2.03 Å) and ARG187 (2.35 Å). These hydrogen bonds may be the most contributing factor to increase the binding energy and may have a positive effect on protein-ligand stability of **Cip-A27** with 3N7W. We observed also eight halogen bond with amino acid residues. Furthermore, two electrostatic and two hydrophobic interactions are involved in the binding of modified drug **Cip-A27**. For the complex 3N7W-**Cip-A** two strong hydrogen bonds with ARG187 (2.03 Å and 2.35 Å), two halogens bonds, two hydrophobic and one electrostatic interactions were observed in Figure 8, which explain the difference binding energy between the two compounds.

3.4. Molecular dynamics simulation

The molecular dynamics simulations were examined on the basis of Root mean square deviation (RMSD), Root mean square fluctuation (RMSF), and Radius of gyration values as a function of time. The structure variation was calculated by RMSD values of protein-ligand complexes from 0 to 100 ns.

RMSD is used for measuring the difference between the backbones of a protein from its initial structural conformation to its final position. The stability of the protein relative to its conformation can be determined by the deviations produced during the course of its simulation. The smaller deviations, to the more stable the protein structure. A decreased RMSD of the 4QGG-**Cip-A24**, 3JZF-**Cip-A1** and 3N7W-**Cip-A27** complexes with respect to the initial structure was observed. The RMSD plot revealed that binding of ligands **Cip-A24**, **Cip-A1** and **Cip-A27**, respectively, stabilized the 4QGG, 3JZF and 3N7W protein structure compared to unbound protein (Figures 9a, 10a and 11a). Protein regions displaying higher levels of flexibility were calculated. The residues of the protein play a vital role in achieving a stable conformation for a protein-ligand complex, can be evaluated by utilizing the RMSF as a parameter. Each residue's fluctuations represent the reception levels that each residue has attained. As a result, residues or a group of residues with greater RMSF values have acquired flexibility, which in turn signals an increased chance of interacting with the ligand molecule. RMSF for 4QGG with 205 amino acids (Figure 9b), 3JZF with 445 amino acids (Figure 10b) and 3N7W with 307 amino acids were plotted to visualize the average fluctuation of all the amino acid residues during the simulation process. The RMSF plot indicates that amino acid residue fluctuations are present in the protein during ligand-bound state at several times (Figures 9b, 10b and 11b). RMSF Analysis of 4QGG-Cip-A24 Binding Sites, an average RMSF value of

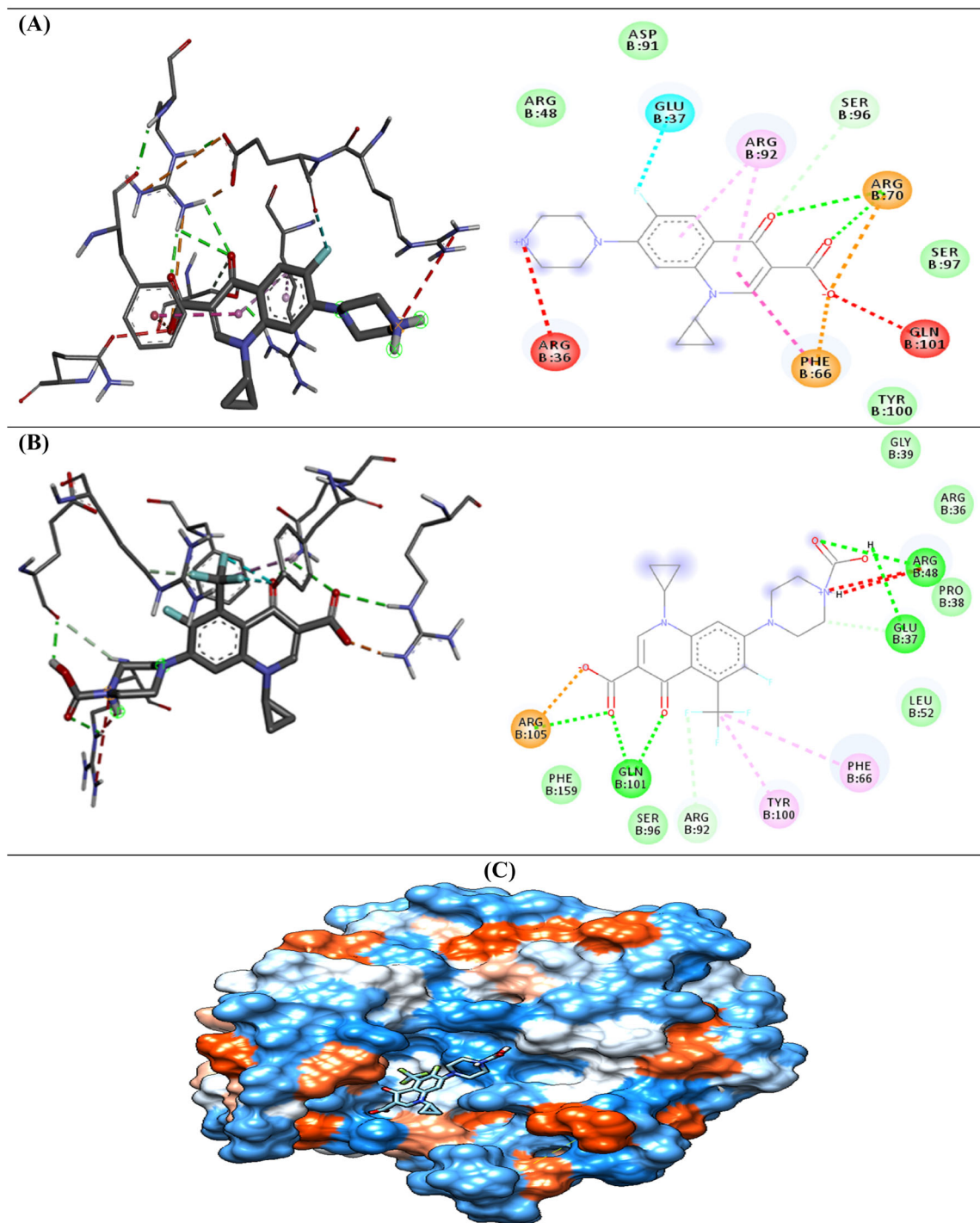


Figure 6. The 3D and 2D illustration of interactions observed between the docked compounds and *S.aureus* (pdb: 4QGG) (A) **Cip-A** with 4QGG; (B) **Cip-A24** with 4QGG; (C) The compound **Cip-A24** at the active site of 4QGG.

0.27 nm was observed for the complex (Figure 9). The fluctuations in the constituent residues were observed for the complex during the 100 ns. The most massive fluctuations which were greater than 0.30 nm were observed for residues 55, 121, 153 and 140–143. Other than this, the fluctuation during all 4QGG-**Cip-A24** interaction was highest than 0.1 nm which is perfectly acceptable (Figure 9b). In case of 3JZF-**Cip-A1** Binding Sites RMSF Analysis. Figure 10b shows that the complex had an average RMSF value of 0.27 nm.

The fluctuations in the constituent residues were observed for the complex during the 100 ns. Residues 37, 193, and 363 showed the largest changes, which were greater than 0.25 nm. Other than this, all 3JZF-**Cip-A1** interactions had fluctuation levels higher than 0.1 nm, which is fully acceptable (Figure 10b). RMSF Analysis for the complex 3N7W-**Cip-A27** shows that the complex had an average RMSF value of 0.27 nm (Figure 11b). The residues 157–158 and 286 showed the largest changes, which were greater than 0.3 nm. Other

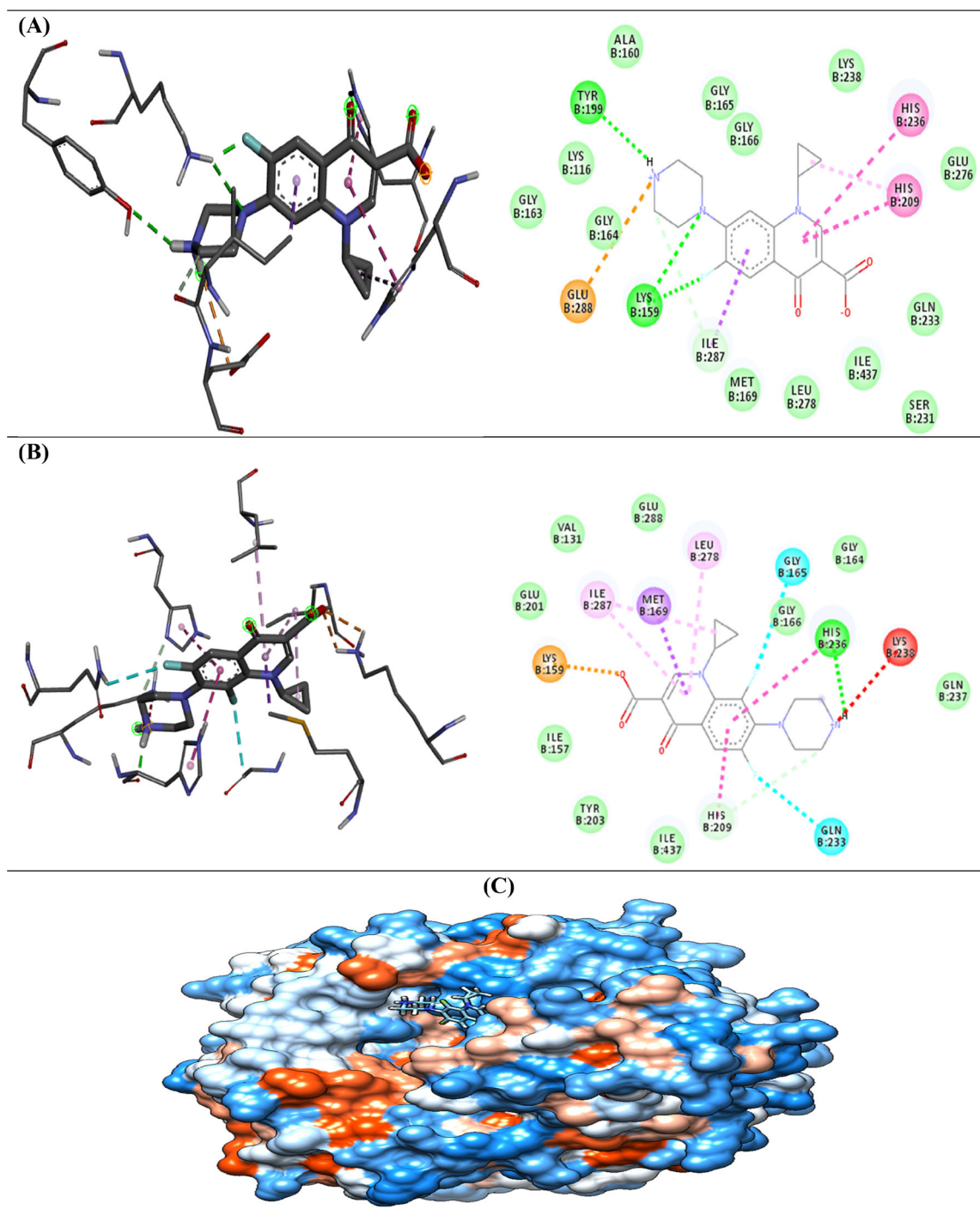


Figure 7. The 3D and 2D illustration of interactions observed between the docked compounds and *E.coli* (pdb: 3JZF) (A) **Cip-A** with 3JZF; (B) **Cip-A1** with 3JZF; (C) The compound **Cip-A1** at the active site of 3JZF.

than this, all 3JZF-**Cip-A1** interactions had fluctuation levels higher than 0.1 nm, which is fully acceptable (Figure 11b). The overall compactness of the protein structure during the simulation was demonstrated by Radius of gyration (Rg). It is the distance between the center of mass of all atoms of protein and its terminal in a particular time interval. Generally, a stable folded protein structure maintains relatively less variation in the Rg value which calculates its dynamics stability. For the protein and ligand complex 4QGG-**Cip-A24**, the Rg was found to be between 1.68 and 1.72 nm initially and was stabilized after 20 ns. The Rg values were decreased and

stabilized from 80 to 100 ns which was an indicator for a stable binding pose (Figure 9c). The obtained Rg confirm the preferential stability of the 3JZF-**Cip-A1** complexes and 3N7W-Cip-A27 suggesting and stability of the ligand within the protein active site (Figure 10c).

3.4. Natural bond orbital analysis

The NBO is an effective approach for studying intra and intermolecular non-bonded interactions in chemical and bio

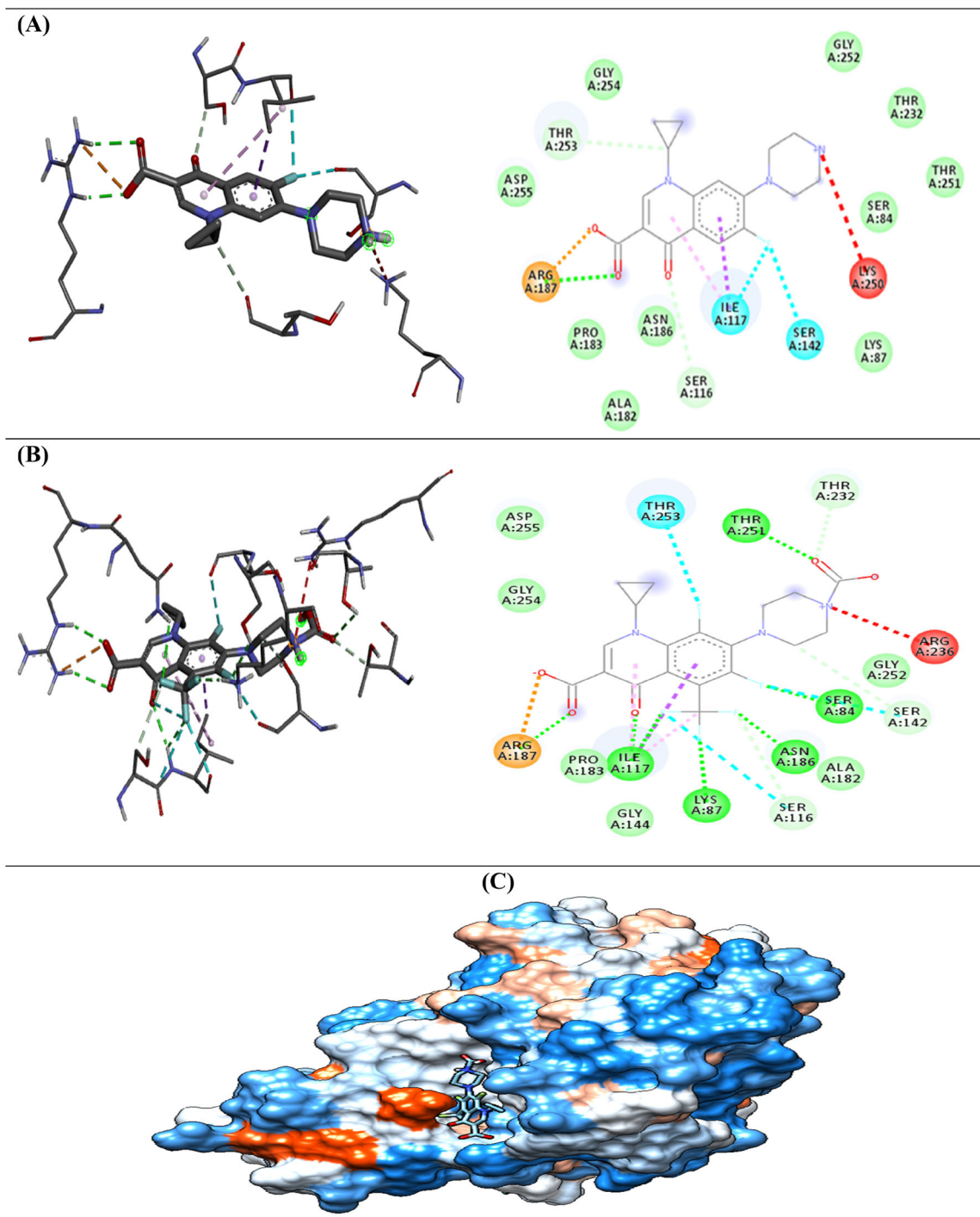


Figure 8. The 3D and 2D illustration of interactions observed between the docked compounds and β -lactamase (pdb: 3N7W) (A) **Cip-A** with 3N7W; (B) **Cip-A27** with 3N7W; (C) The compound **Cip-A27** at the active site of 3N7W.

molecular molecules (Mary et al., 2019). In the NBO analysis, the donor-acceptor (bond-anti-bond) interactions are considered by examining the possible interactions between the 'occupied' and the 'none-occupied' NBO orbitals. The energies (E^2) were estimated by second-order perturbation theory (Weinhold & Landis, 2005). The energies (E^2) of **Cip-A** and the most stable compounds according to molecular docking of the compounds (**Cip-A1**, **Cip-A25**, and **Cip-A27**) were calculated and examined in detail in Table 3. The stronger interaction in **Cip-A** is $\pi_{C6-C7} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$ with stabilization energy

51.53 kcal/mol and it is present in the other three derivatives. For compound **Cip-A1**, the stronger interaction is $\pi_{C4-C3} \rightarrow \pi^*_{C8-C9}$ with stabilization energy 51.51 kcal/mol which is present in **Cip-A** but does not exist in the compounds **Cip-A25** and **Cip-A27**. As shown in Table 3, there is two significant stabilization energy one is for $n_1_{C3} \rightarrow \pi^*_{C6-C7}$ delocalization in the compounds **Cip-A25** and **Cip-A27** ($E^{(2)} = 126.78$ and 113.41 kcal/mol, respectively) and the second is for $n_2_{O5} \rightarrow \pi^*_{C15-O4}$ with $E^{(2)} = 66.30$ kcal/mol for **Cip-A25** and $E^{(2)} = 66.69$ kcal/mol for **Cip-A27**, this two important interactions

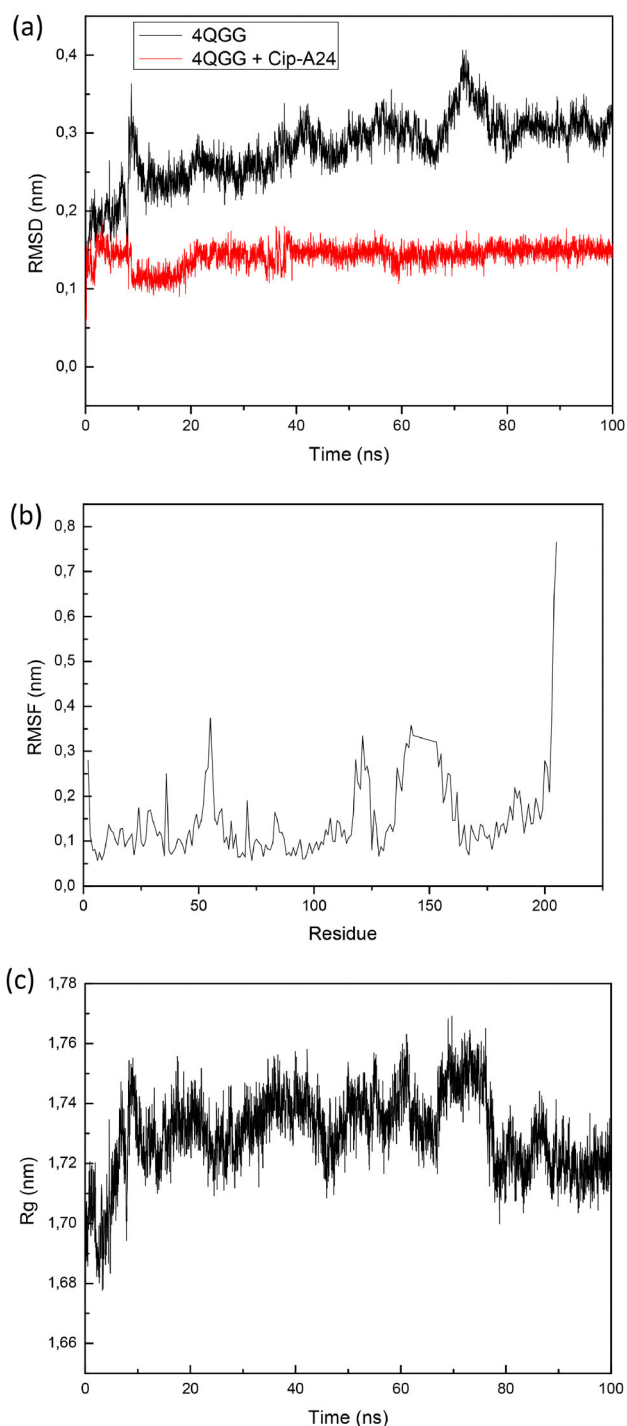


Figure 9. (a) Plot of root mean square deviation (RMSD), (b) root mean square fluctuation (RMSF) values, (c) radius of gyration (Rg) during 100 ns MD simulation of 4QGG in complex with **Cip-A24**.

does not exist in **Cip-A**. The NBO results, showed that the delocalization energies are very high which could be the reason for the bioactivity of **Cip-A** and of its derivatives.

3.5. Analysis based on the global and local reactivity indexes

Theoretical reactivity indices based on the conceptual density functional theory (CDFT) have become a powerful tool for the study of organic reactivity (Domingo et al., 2013). In

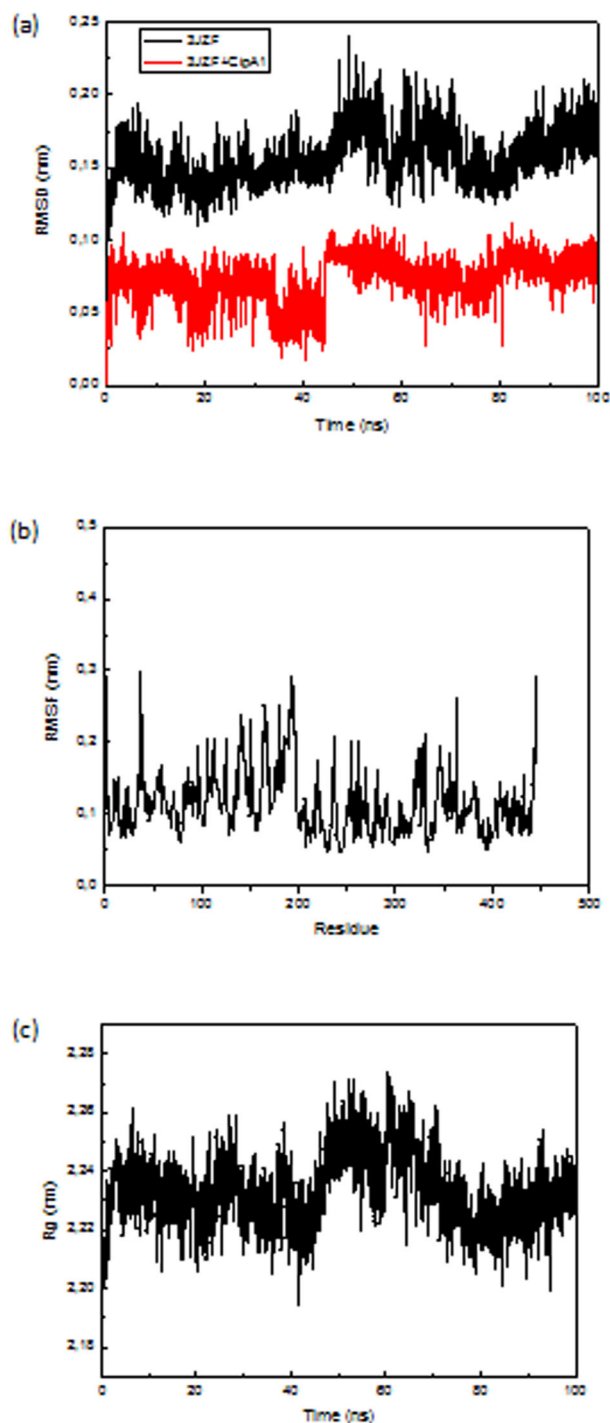


Figure 10. (a) Plot of root mean square deviation (RMSD), (b) root mean square fluctuation (RMSF) values, (c) radius of gyration (Rg) during 100 ns MD simulation of 3JZF in complex with **Cip-A1**.

Table 4, the static global properties (electronic chemical potential, μ , chemical hardness, η , global electrophilicity, ω , and global nucleophilicity, N) of **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** are presented.

These global reactivity descriptors obtained from CDFT are an indication of the chemical reactivity of each molecule as a whole. We note that the compounds with the carboxylic and CF_3 group (**Cip-A25** and **Cip-A27**) have the very highest values of electrophilicity index ω (29.51 eV and 29.78 eV, respectively) and additional electronic charge ΔN_{max}

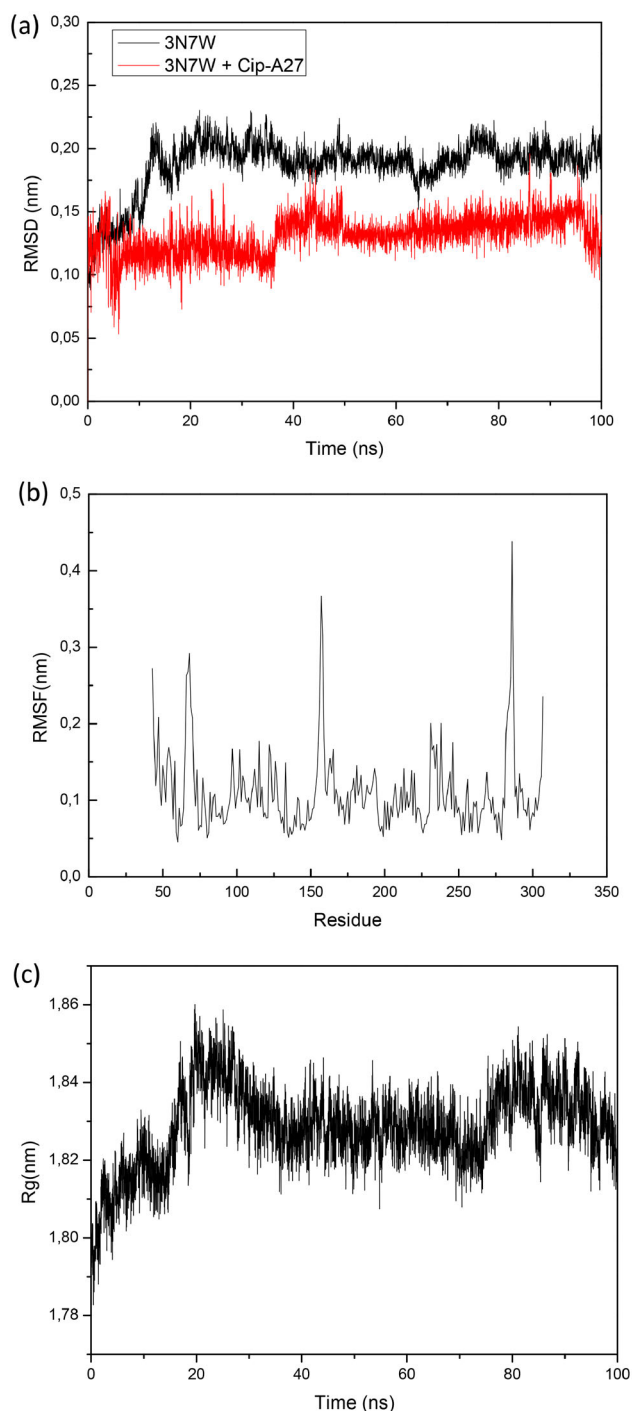


Figure 11. (a) Plot of root mean square deviation (RMSD), (b) root mean square fluctuation (RMSF) values, (c) radius of gyration (Rg) during 100 ns MD simulation of 3N7W in complex with **Cip-A27**.

(16.71 eV and 14.25 eV, respectively) which may contribute to their very strong electrophile compared to **Cip-A**.

The researchers developed a variety of local reactivity descriptors which permit the distribution of the global electrophilicity ω and nucleophilicity N indices at the atomic sites k . (Chakraborty & Chattaraj, 2021). The electrophilic P_k^+ and nucleophilic, P_k^- , Parr functions are some of these local reactivity descriptors. Nucleophilic Parr indices, P_k^- , and local nucleophilicity, N_k^p , values for selected atoms O1, O2, O3 and C1 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** are

presented in Table 5 (see Figure 12 for atom numbering). The highest values of N_k^p values allow us to characterize that the atom O2 is the most nucleophilic site for **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** with N_k^p (4.45 eV, 4.38 eV, 4.32 eV and 4.29 eV, respectively). We note that the O2 atom has made a strong hydrogen bonds with ARG105 of 4QGG and ARG187 of 3N7W.

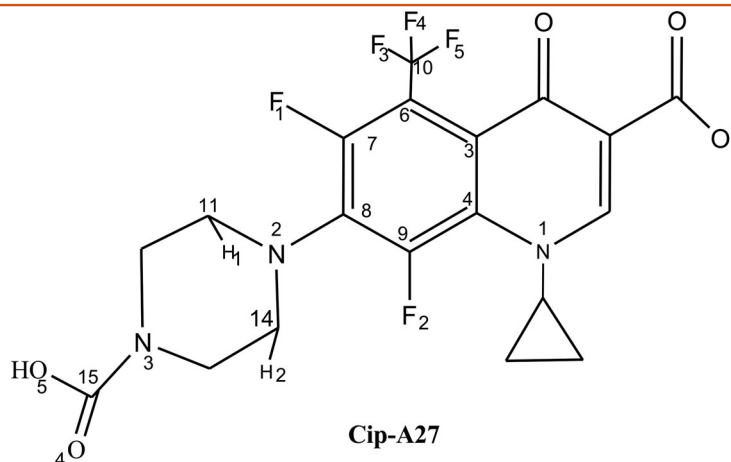
Electrophilic Parr indices, P_k^+ , and electrophilicity, ω_k^p , values for the atoms C3, C6, C8, C12 and C13 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** are presented in Table 6. The values of ω_k^p values indicates that the atom C3 is the more electrophilic site of the molecule **Cip-A27**, $\omega_k^p = 1.82$ eV. Note that the atoms C12 and C13 have also a large electrophilic values (1.57 eV and 1.05 eV, respectively). For **Cip-A25**, the more electrophilic site is C12, $\omega_k^p = 1.74$ eV.

3.6. Molecular electrostatic potential analysis

Molecular electrostatic potential (MEP) of **Cip-A** and the most stable compounds (**Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**) were calculated and discussed in detail in this section. The map of MEP of **Cip-A** and the title compounds are shown in Figure 13. We note that the red color represents the maximum negative area which is the favorable site for electrophilic attack, the blue color indicates the maximum positive area which is the favorable site for nucleophilic attack and the green color represents the area of zero potential. According to Figure 13, the red area is observed in the environment of oxygen atoms, especially in carboxyl group for **Cip-A** and its three derivatives (**Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**). The electron density in this region is higher than the others. The maximum negative potentiality and the highest positive potentiality are found for the compound **Cip-A1** with -0.178 au and $+0.178$ au, respectively.

4. Conclusion

In this investigation, ciprofloxacin and its modified 34 derivatives (**Cip-A1**—**Cip-B7**) were studied by computational chemistry to explore their stability as well their antibacterial and anti-*Mycobacterium tuberculosis* also their pharmacokinetic properties. The geometries of all compounds have been fully optimized in gas phases at DFT/B3LYP/6-311G (d, p) basis set. The results of docking studies of designed compounds with fluorine and trifluoromethyl groups were more potent than **Cip-A** and showed a maximum number of interactions and several halogen bonds. On the other hand, these investigations revealed that the compounds **Cip-A1** is the best inhibitors candidates for gram-negative organism biotin carboxylase (3JZF), respectively. Furthermore, we note that the designed candidate **Cip-A24** pointed out its great inhibition behavior with gram-positive organism TMK (4QGG), as well as the designed candidate **Cip-A24** is the good inhibitors for β -lactamase (3N7W). ADMET results of compounds **Cip-A1**, **Cip-A24** and **Cip-A27** show an excellent absorptive property and demonstrates that they are not potentially carcinogenic. According to values of PPB % they have a moderate bioavailability for receptor target. We note that the

Table 3. The second-order perturbation energies $E^{(2)}$ (kcal/mol) corresponding to the most important interactions (donor–acceptor) in **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27** using HF/6-311G (d,p) method.

Interactions Types	$E^{(2)}$ (kcal/mol)			
	Cip-A	Cip-A1	Cip-A25	Cip-A27
π C4–C3 \rightarrow π^* C6–C7	49.42	41.58	–	–
π C4–C3 \rightarrow π^* C8–C9	38.53	51.51	–	–
π C6–C7 \rightarrow π^* C8–C9	51.53	47.27	42.73	37.62
π C8–C9 \rightarrow π^* C4–C3	34.79	30.04	–	–
π C8–C9 \rightarrow π^* C6–C7	26.33	31.40	31.14	34.92
n_3 F1 \rightarrow π^* C6–C7	16.08	19.08	1.36	20.37
n_1 N2 \rightarrow π^* C8–C9	13.91	–	14.13	6.75
n_1 N2 \rightarrow σ^* C14–H2	12.86	1.06	12.77	12.17
n_1 N2 \rightarrow σ^* C11–H1	11.65	11.70	11.41	11.99
n_1 C3 \rightarrow π^* C6–C7	–	–	126.78	113.41
n_3 F2 \rightarrow π^* C8–C9	–	17.53	–	18.99
n_3 F3 \rightarrow σ^* C10–F4	–	–	11.78	11.53
n_3 F5 \rightarrow σ^* C10–F4	–	–	13.82	12.98
n_2 O5 \rightarrow π^* C15–O4	–	–	66.30	66.69

Table 4. HOMO, LUMO energies, global reactivity descriptors and ΔN_{max} of **Cip-A** and its three derivatives **Cip-A1**, **Cip-A24** and **Cip-A27** in (eV).

Compounds	HOMO	LUMO	μ	η	ω	N	ΔN_{max}
Cip-A	–3.12	–2.85	–2.99	0.27	16.44	6.24	11.00
Cip-A1	–3.16	–2.84	–3.00	0.32	14.07	6.20	9.37
Cip-A24	–3.64	–3.43	–3.53	0.21	29.51	5.73	16.71
Cip-A27	–3.65	–3.44	–3.55	0.21	29.78	5.72	16.80

μ : the electronic chemical potential; η : the chemical hardness; ω : the electrophilicity; N: the nucleophilicity.

Table 5. Nucleophilic parr indices, P_k^- , and local nucleophilicity, N_k^p , values (in eV) for atoms O1, O2, O3, C1 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**.

Compounds Atoms	Cip-A		Cip-A1		Cip-A24		Cip-A27	
	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p	P_k^-	N_k^p
O1	0.056	0.35	0.063	0.39	0.057	0.33	0.055	0.29
O2	0.712	4.45	0.706	4.38	0.753	4.32	0.748	4.29
O3	0.133	0.83	0.112	0.70	0.139	0.61	0.099	0.57
C1	0.148	0.93	0.164	1.02	0.139	0.80	0.151	0.86

Table 6. Electrophilic parr indices, P_k^+ , and local electrophilicity, ω_k^p , values (in eV) for atoms C3, C6, C8, C12, C13 of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**.

Compounds Atoms	Cip-A		Cip-A1		Cip-A24		Cip-A27	
	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p	P_k^+	ω_k^p
C3	0.003	0.05	0.000	0.00	0.033	0.97	0.061	1.82
C6	0.009	0.15	0.001	0.01	0.035	1.03	0.030	0.89
C8	0.012	0.20	0.009	0.12	0.022	0.64	0.033	0.98
C12	–0.019	–0.33	–0.025	–0.34	0.059	1.74	0.053	1.57
C13	–0.022	–0.33	–0.024	–0.35	0.024	0.70	0.036	1.07



Cip-A: $R_1=H$; $R_2=H$; $R_3=H$

Cip-A1: $R_1=F$; $R_2=H$; $R_3=H$

Cip-A24: $R_1=H$; $R_2=CF_3$; $R_3=COOH$

Cip-A27: $R_1=F$; $R_2=CF_3$; $R_3=COOH$

Figure 12. Atom numbering of **Cip-A**, **Cip-A1**, **Cip-A25** and **Cip-A27**.

derivatives (**Cip-A1**, **Cip-A24**, **Cip-A27**) exhibit good metabolism, have a lower risk of developing heart problems and manifest medium to low acute toxicity in rat models. NBO analyses showed that the delocalization energies were very high and therefore the molecules **Cip-A1**, **Cip-A24**, and **Cip-A27** are stable enough to show desired medicinal properties also that could be the reason for their activity. Finally, our in silico study showed that the predicted analogues; **Cip-A1**,

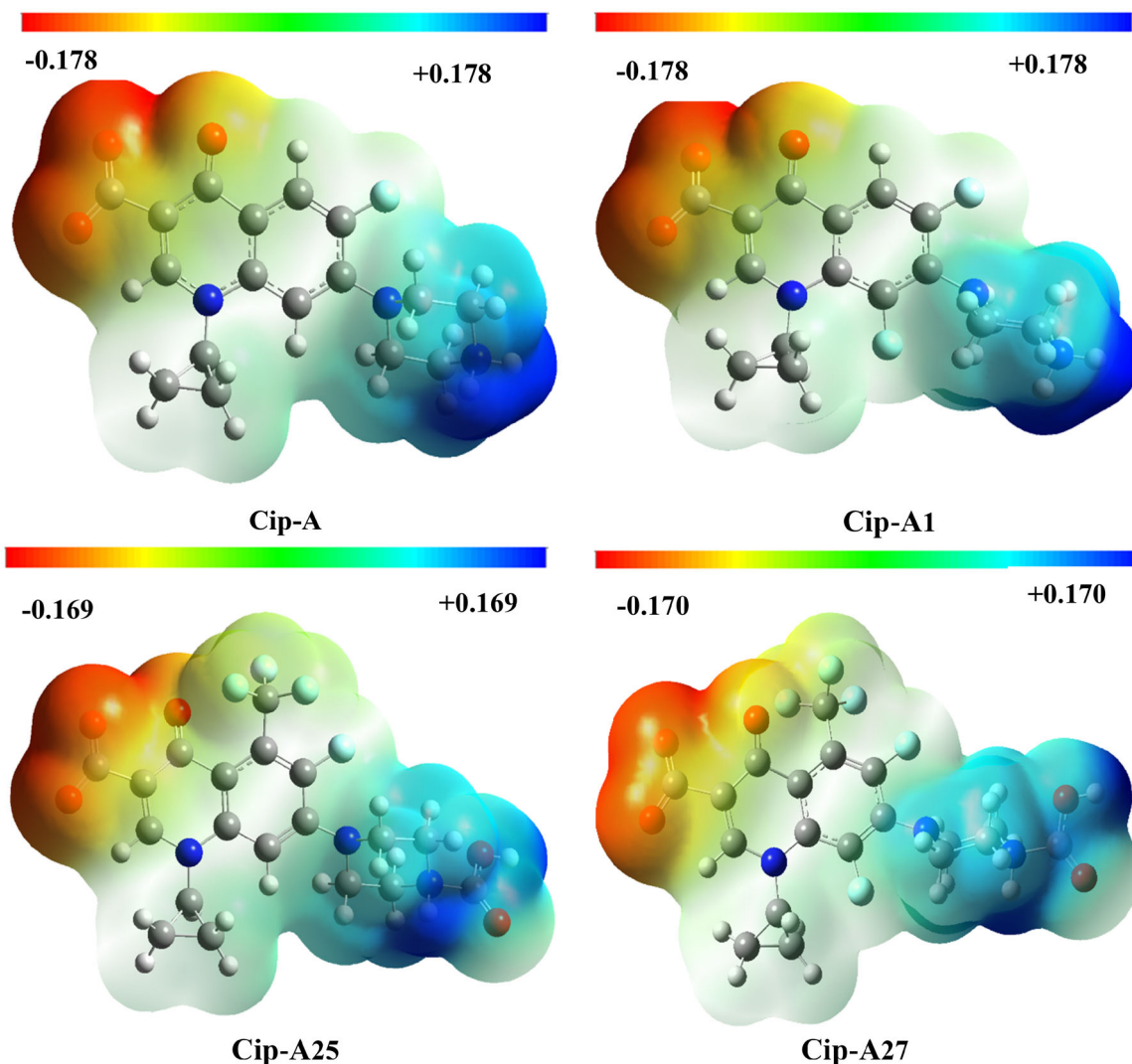


Figure 13. Molecular electrostatic potential maps of Cip-A, Cip-A1, Cip-A25 and Cip-A27.

Cip-A24 and **Cip-A27** can be proposed as new potential antibacterial and antimycobacterium agents drugs. The results obtained in this work are only preliminary. In order to map existing antibiotics as repurposed drugs it is essential to understand the molecular basis of antibiotic resistance. However, other strategies of computer-aided drug design can be applied in general and are being employed to develop drugs like de novo-design and fragment-based screening.

Acknowledgments

We are thankful for Abou Bekr Belkaïd University of Tlemcen for HPC ALTAIR (high performance computing). Funding from the PRFU B00L01UN130120220006 helped support this work and is gratefully acknowledged.

Disclosure statement

The authors report that there are no competing interests to declare.

Funding

This work was supported by the Ministry of Higher Education and Scientific Research under the PRFU project [approval No. B00L01UN130120220006].

References

- Abraham, M. J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J. C., Hess, B., & Lindahl, E. (2015). GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1–2, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
- Ahadi, H., Shokrzadeh, M., Hosseini-Khah, Z., Ghassemi Barghi, N., Ghasemian, M., Emadi, E., Zargari, M., Razzaghi-Asl, N., & Emami, S. (2020). Synthesis and biological assessment of ciprofloxacin-derived 1,3,4-thiadiazoles as anticancer agents. *Bioorganic Chemistry*, 105, 104383. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104383>
- Ajay, Bemis, G. W., Murcko, M. A. (1999). Designing libraries with CNS activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(24), 4942–4951. <https://doi.org/10.1021/jm990017w>
- Alsayed, S. S. R., Lun, S., Payne, A., Bishai, W. R., & Gunosewoyo, H. (2021). Facile synthesis and antimycobacterial activity of isoniazid, pyrazinamide and ciprofloxacin derivatives. *Chemical Biology & Drug Design*, 97(6), 1137–1150. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13836>

- Bank, R. P. D. (n.d.). *RCSB PDB - 3N7W: Crystal structure of BlaC-E166A covalently bound with Amoxicillin*. Retrieved April 13, 2023, from <https://www.rcsb.org/structure/3n7w>
- Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
- Chakraborty, D., & Chattaraj, P. K. (2021). Conceptual density functional theory based electronic structure principles. *Chemical Science*, 12(18), 6264–6279. <https://doi.org/10.1039/D0SC07017C>
- Chandler, J. D., & Day, B. J. (2012). THIOCYANATE: A potentially useful therapeutic agent with host defense and antioxidant properties. *Biochemical Pharmacology*, 84(11), 1381–1387. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.07.029>
- Chen, D., Oezguen, N., Urvil, P., Ferguson, C., Dann, S. M., & Savidge, T. C. (2016). Regulation of protein-ligand binding affinity by hydrogen bond pairing. *Science Advances*, 2(3), e1501240. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1501240>
- Cheng, C. C., Shipps, G. W., Yang, Z., Sun, B., Kawahata, N., Soucy, K. A., Soriano, A., Orth, P., Xiao, L., Mann, P., & Black, T. (2009). Discovery and optimization of antibacterial AccC inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(23), 6507–6514. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.10.057>
- Clément, G., & Slenzka, K. (Eds.). (2006). *Fundamentals of space biology: Research on cells, animals, and plants in space*. Springer. <https://doi.org/10.1007/0-387-37940-1>
- Contreras, R., Andres, J., Safont, V. S., Campodonico, P., & Santos, J. G. (2003). A theoretical study on the relationship between nucleophilicity and ionization potentials in solution phase. *The Journal of Physical Chemistry A*, 107(29), 5588–5593. <https://doi.org/10.1021/jp0302865>
- Cronan, J. E., & Waldrop, G. L. (2002). Multi-subunit acetyl-CoA carboxylases. *Progress in Lipid Research*, 41(5), 407–435. [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(02\)00007-3](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(02)00007-3)
- Curran, M. E., Splawski, I., Timothy, K. W., Vincen, G. M., Green, E. D., & Keating, M. T. (1995). A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. *Cell*, 80(5), 795–803. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90358-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90358-5)
- Di, L., & Kerns, E. H. (2016). Benefits of property assessment and good drug-like properties. In *Drug-like properties* (pp. 5–13). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801076-1.00002-2>
- Didierjean, C., & Tête-Favier, F. (2016). Introduction to protein science. Architecture, function and genomics. Third Edition. By Arthur M. Lesk. Oxford University Press, 2016. Pp. 466. Paperback. Price GBP 39.99. ISBN 9780198716846. *Acta Crystallographica Section D Structural Biology*, 72(12), 1308–1309. <https://doi.org/10.1107/S2059798316018283>
- Domingo, L. R., Aurell, M. J., Pérez, P., & Contreras, R. (2002). Quantitative characterization of the local electrophilicity of organic molecules. Understanding the regioselectivity on Diels–Alder reactions. *The Journal of Physical Chemistry A*, 106(29), 6871–6875. <https://doi.org/10.1021/jp020715j>
- Domingo, L. R., Chamorro, E., & Pérez, P. (2008). Understanding the reactivity of captodative ethylenes in polar cycloaddition reactions. A theoretical study. *The Journal of Organic Chemistry*, 73(12), 4615–4624. <https://doi.org/10.1021/jo800572a>
- Domingo, L. R., Pérez, P., & Sáez, J. A. (2013). Understanding the local reactivity in polar organic reactions through electrophilic and nucleophilic Parr functions. *RSC Advance*, 3(5), 1486–1494. <https://doi.org/10.1039/C2RA22886F>
- Dong, J., Wang, N.-N., Yao, Z.-J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., Lu, A.-P., & Cao, D.-S. (2018). ADMETlab: A platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*, 10(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0283-x>
- Fabbiani, F. P. A., Dittrich, B., Florence, A. J., Gelbrich, T., Hursthouse, M. B., Kuhs, W. F., Shankland, N., & Sowa, H. (2009). Crystal structures with a challenge: High-pressure crystallisation of ciprofloxacin sodium salts and their recovery to ambient pressure. *CrystEngComm*, 11(7), 1396–1406. <https://doi.org/10.1039/b822987b>
- Falzon, D., Schünemann, H. J., Haraus, E., González-Angulo, L., Lienhardt, C., Jaramillo, E., & Weyer, K. (2017). World Health Organization treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update. *European Respiratory Journal*, 49(3), 1602308. <https://doi.org/10.1183/13993003.02308-2016>
- Farooqi, S. I., Arshad, N., Channar, P. A., Perveen, F., Saeed, A., Larik, F. A., & Javed, A. (2018). Synthesis, theoretical, spectroscopic and electrochemical DNA binding investigations of 1, 3, 4-thiadiazole derivatives of ibuprofen and ciprofloxacin: Cancer cell line studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 189, 104–118. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.10.006>
- Farooqi, S. I., Arshad, N., Perveen, F., Channar, P. A., Saeed, A., & Javed, A. (2019). Aroylthiourea derivatives of ciprofloxacin drug as DNA binder: Theoretical, spectroscopic and electrochemical studies along with cytotoxicity assessment. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 666, 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.03.021>
- Feiler, C., Fisher, A. C., Boock, J. T., Marrichi, M. J., Wright, L., Schmidpeter, P. A. M., Blankenfeldt, W., Pavelka, M., & DeLisa, M. P. (2013). Directed evolution of *Mycobacterium tuberculosis* β -lactamase reveals gatekeeper residue that regulates antibiotic resistance and catalytic efficiency. *PLoS One*, 8(9), e73123. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073123>
- Groom, C. R., Bruno, I. J., Lightfoot, M. P., & Ward, S. C. (2016). The Cambridge structural database. *Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering and Materials*, 72(2), 171–179. Article 2. <https://doi.org/10.1107/S2052520616003954>
- Hu, Y.-Q., Gao, C., Zhang, S., Xu, L., Xu, Z., Feng, L.-S., Wu, X., & Zhao, F. (2017). Quinoline hybrids and their antiplasmodial and antimalarial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 139, 22–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.061>
- Kawatkar, S. P., Keating, T. A., Olivier, N. B., Breen, J. N., Green, O. M., Guler, S. Y., Hentemann, M. F., Loch, J. T., McKenzie, A. R., Newman, J. V., Otterson, L. G., & Martínez-Botella, G. (2014). Antibacterial inhibitors of Gram-positive thymidylate kinase: Structure-activity relationships and chiral preference of a new hydrophobic binding region. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(11), 4584–4597. <https://doi.org/10.1021/jm500463c>
- Kerns, E. H., & Di, L. (Eds.). (2008). Preface. In *Drug-like properties: Concepts, structure design and methods* (pp. xviii–xxix). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12369520-8.50001-2>
- Khalil, T. E., El-Dissouky, A., Al-Wahaib, D., Abrar, N. M., & El-Sayed, D. S. (2020). Synthesis, characterization, antimicrobial activity, 3D-QSAR, DFT, and molecular docking of some ciprofloxacin derivatives and their copper(II) complexes. *Applied Organometallic Chemistry*, 34(12), e5998. <https://doi.org/10.1002/aoc.5998>
- Kumar, N., Goel, N., Chand Yadav, T., & Pruthi, V. (2017). Quantum chemical, ADMET and molecular docking studies of ferulic acid amide derivatives with a novel anticancer drug target. *Medicinal Chemistry Research*, 26(8), 1822–1834. <https://doi.org/10.1007/s00044-017-1893-y>
- Lagorce, D., Reynes, C., Camproux, A.-C., Miteva, M. A., Sperandio, O., & Villoutreix, B. O. (2011). In silico ADME/Tox predictions. In *ADMET for medicinal chemists* (pp. 29–124). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470915110.ch2>
- Lei, T., Li, Y., Song, Y., Li, D., Sun, H., & Hou, T. (2016). ADMET evaluation in drug discovery: 15. Accurate prediction of rat oral acute toxicity using relevance vector machine and consensus modeling. *Journal of Cheminformatics*, 8(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s13321-016-0117-7>
- Lishchynskiy, A., Novikov, M. A., Martin, E., Escudero-Adán, E. C., Novák, P., & Grushin, V. V. (2013). Trifluoromethylation of aryl and heteroaryl halides with fluoroform-derived CuCF₃: Scope, limitations, and mechanistic features. *The Journal of Organic Chemistry*, 78(22), 11126–11146. <https://doi.org/10.1021/jo401423h>
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *The New England Journal of Medicine*, 339(8), 520–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>
- Marciniak, K., Beberok, A., Pęczak, P., Boryczka, S., & Wrześniak, D. (2020). Ciprofloxacin and moxifloxacin could interact with SARS-CoV-2 protease: Preliminary in silico analysis. *Pharmacological Reports: PR*, 72(6), 1553–1561. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00169-0>
- Mary, Y. S., Mary, Y. S., Resmi, K. S., & Thomas, R. (2019). DFT and molecular docking investigations of oxamic derivatives. *Heliyon*, 5(7), e02175. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02175>

- Meroueh, S. O., Fisher, J. F., Schlegel, H. B., & Mobashery, S. (2005). Ab initio QM/MM study of class A β -lactamase acylation: Dual participation of Glu166 and Lys73 in a concerted base promotion of Ser70. *Journal of the American Chemical Society*, 127(44), 15397–15407. <https://doi.org/10.1021/ja051592u>
- Mitchell, J. S., Glowacki, J., Grandchamp, A. E., Manning, R. S., & Maddocks, J. H. (2017). Sequence-dependent persistence lengths of DNA. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 13(4), 1539–1555. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.6b00904>
- Mohammed, H. H. H., Abbas, S. H., Abdelhafez, E.-S. M. N., Berger, J. M., Mitarai, S., Arai, M., & Abu-Rahma, G. E.-D. A. A. (2019). Synthesis, molecular docking, antimicrobial evaluation, and DNA cleavage assay of new thiazole/oxadiazole ciprofloxacin derivatives. *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 150(10), 1809–1824. <https://doi.org/10.1007/s00706-019-02478-4>
- Namouchi, A., Cimino, M., Favre-Rochex, S., Charles, P., & Gicquel, B. (2017). Phenotypic and genomic comparison of *Mycobacterium aurum* and surrogate model species to *Mycobacterium tuberculosis*: Implications for drug discovery. *BMC Genomics*, 18(1), 530. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3924-y>
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142–201. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>
- Nettleton, D. O., & Einolf, H. J. (2011). Assessment of cytochrome p450 enzyme inhibition and inactivation in drug discovery and development. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(4), 382–403. <https://doi.org/10.2174/156802611794480882>
- Pardridge, W. M. (1998). CNS drug design based on principles of blood-brain barrier transport. *Journal of Neurochemistry*, 70(5), 1781–1792. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.70051781.x>
- Parr, R. G., & Pearson, R. G. (2002). *Absolute hardness: Companion parameter to absolute electronegativity (world)*. ACS Publications; American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/ja00364a005>
- Parr, R. G., Szentpály, L. v., & Liu, S. (1999). Electrophilicity Index. *Journal of the American Chemical Society*, 121(9), 1922–1924. <https://doi.org/10.1021/ja983494x>
- Parr, R. G., Weitao, Y., Parr, R. G., & Weitao, Y. (1995). *Density-functional theory of atoms and molecules*. Oxford University Press.
- Pérez, P., Domingo, L. R., Duque-Noreña, M., & Chamorro, E. (2009). A condensed-to-atom nucleophilicity index. An application to the director effects on the electrophilic aromatic substitutions. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 895(1–3), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2008.10.014>
- Pettersson, M., Hou, X., Kuhn, M., Wager, T. T., Kauffman, G. W., & Verhoest, P. R. (2016). Quantitative assessment of the impact of fluorine substitution on P-glycoprotein (P-gp) mediated efflux, permeability, lipophilicity, and metabolic stability. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(11), 5284–5296. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00027>
- Purser, S., Moore, P. R., Swallow, S., & Gouverneur, V. (2008). Fluorine in medicinal chemistry. *Chemical Society Reviews*, 37(2), 320–330. <https://doi.org/10.1039/B610213C>
- Ridley, J. M., Milnes, J. T., Duncan, R. S., McPate, M. J., James, A. F., Witchel, H. J., & Hancox, J. C. (2006). Inhibition of the HERG K⁺ channel by the antifungal drug ketoconazole depends on channel gating and involves the S6 residue F656. *FEBS Letters*, 580(8), 1999–2005. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.02.073>
- Rostkowski, M., Spjuth, O., & Rydberg, P. (2013). WhichCyp: Prediction of cytochromes P450 inhibition. *Bioinformatics*, 29(16), 2051–2052. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt325>
- Sanders, W. E. Jr. (1988). Efficacy, safety, and potential economic benefits of oral ciprofloxacin in the treatment of infections. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(3), 528–543. <https://doi.org/10.1093/clinids/10.3.528>
- Sanguinetti, M. C., & Mitcheson, J. S. (2005). Predicting drug-HERG channel interactions that cause acquired long QT syndrome. *Trends in Pharmacological Sciences*, 26(3), 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.01.003>
- Schneider, G., & Fechner, U. (2005). Computer-based de novo design of drug-like molecules. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(8), 649–663. <https://doi.org/10.1038/nrd1799>
- Shawon, J., Khan, A. M., Rahman, A., Hoque, M. M., Khan, M. A. K., Sarwar, M. G., & Halim, M. A. (2018). Molecular recognition of azelaic acid and related molecules with DNA polymerase I investigated by molecular modeling calculations. *Interdisciplinary Sciences, Computational Life Sciences*, 10(3), 525–537. <https://doi.org/10.1007/s12539-016-0186-3>
- Tay, S. B., & Yew, W. S. (2013). Development of quorum-based anti-virulence therapeutics targeting Gram-negative bacterial pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(8), 16570–16599. <https://doi.org/10.3390/ijms140816570>
- Uzzaman, M., Shawon, J., & Siddique, Z. A. (2019). Molecular docking, dynamics simulation and ADMET prediction of Acetaminophen and its modified derivatives based on quantum calculations. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1437. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1442-z>
- Veith, H., Southall, N., Huang, R., James, T., Fayne, D., Artemenko, N., Shen, M., Ingles, J., Austin, C. P., Lloyd, D. G., & Auld, D. S. (2009). Comprehensive characterization of cytochrome P450 isozyme selectivity across chemical libraries. *Nature Biotechnology*, 27(11), 1050–1055. <https://doi.org/10.1038/nbt.1581>
- Wade, R. C., & Goodford, P. J. (1989). The role of hydrogen-bonds in drug binding. *Progress in Clinical and Biological Research*, 289, 433–444.
- Walum, E. (1998). Acute oral toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 106(Suppl 2), 497–503. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106497>
- Wang, N.-N., Dong, J., Deng, Y.-H., Zhu, M.-F., Wen, M., Yao, Z.-J., Lu, A.-P., Wang, J.-B., & Cao, D.-S. (2016). ADME properties evaluation in drug discovery: Prediction of Caco-2 Cell permeability using a combination of NSGA-II and boosting. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 56(4), 763–773. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00642>
- Wang, N.-N., Huang, C., Dong, J., Yao, Z.-J., Zhu, M.-F., Deng, Z.-K., Lv, B., Lu, A.-P., F. Chen A., & Cao D.-S. (2017). Predicting human intestinal absorption with modified random forest approach: A comprehensive evaluation of molecular representation, unbalanced data, and applicability domain issues. *RSC Advances*, 7(31), 19007–19018. <https://doi.org/10.1039/C6RA28442F>
- Weinhold, F., & Landis, C. R. (2005). *Valency and bonding: A natural bond orbital donor-acceptor perspective* (1st ed.). Cambridge University Press.
- Zaretski, J., Matlock, M., & Swamidass, S. J. (2013). XenoSite: Accurately predicting CYP-mediated sites of metabolism with neural networks. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(12), 3373–3383. <https://doi.org/10.1021/ci400518g>
- Zhang, L., Kumar, K. V., Geng, R.-X., & Zhou, C.-H. (2015). Design and biological evaluation of novel quinolone-based metronidazole derivatives as potent Cu²⁺ mediated DNA-targeting antibacterial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(17), 3699–3705. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.06.041>
- Zhang, G.-F., Liu, X., Zhang, S., Pan, B., & Liu, M.-L. (2018). Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 146, 599–612. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.078>
- Zhao, Y. H., Le, J., Abraham, M. H., Hersey, A., Eddershaw, P. J., Luscombe, C. N., Butina, D., Beck, G., Sherborne, B., Cooper, I., Platts, J. A., & Boutina, D. (2001). Evaluation of human intestinal absorption data and subsequent derivation of a quantitative structure-activity relationship (QSAR) with the Abraham descriptors. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(6), 749–784. <https://doi.org/10.1002/jps.1031>
- Zhu, H., Martin, T. M., Ye, L., Sedykh, A., Young, D. M., & Tropsha, A. (2009). Quantitative structure-activity relationship modeling of rat acute toxicity by oral exposure. *Chemical Research in Toxicology*, 22(12), 1913–1921. <https://doi.org/10.1021/tx900189p>