



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'Ecologie



Mémoire

Présenté par

AICHOUCHE WIAM & BOUKENADIL CHAIMAA

Pour l'obtention du diplôme de
Master en Ecologie Environnementale

Spécialité: Toxicologie industrielle et environnementale

Thème

***EVALUATION DE LA TOXICITÉ DE CERTAINS FONGICIDES
SUR L'ACTIVITÉ THYROÏDIENNE, EFFET IN SILICO.***

La date de soutenance : 13 /06/2023

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente	HADDEM NAHIDA	Pr Université de Tlemcen
Encadreur	Mr. CHERRAK Ahmed sabri	MCA Université de Tlemcen
Examineur	CHAOUCHE TARIK	MCB Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023



Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu Tout-Puissant de m'avoir donné de la patience, du courage et de la volonté avec amour pour mener à bien cet humble travail.

Je tiens à remercier vivement mon encadrant Monsieur cherrak sabri pour m'avoir dirigé et aidé lors de la préparation de cette lettre, et lui exprimer ma grande gratitude pour mon suivi, mes encouragements et mon soutien, surtout du début à la fin.

je tiens à remercier chaleureusement le responsable de notre filière Madame HEDDAM et nombre du jury. et tous ceux qui m'ont soutenu ces cinq dernières années.

Nous remercions nos ami(es) de la promotion «biologie 2018-2023». et le promotion master toxicologie 2021 -2023.

On remercie enfin, tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

*Avec l'expression de ma reconnaissance , je dédie ce modeste travail à ceux qui , quels que soient les termes embrassés , je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère ; Tout respect : mon cher père *afilak* et la femme qui a souffert sans me laisser souffrir ,qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné : aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère *Abia*.*

*A mes chers sœurs *Karima* , *Linda* , *Fatima* , *Asma* , *Faiza* et mon frère amine pour leur encouragements permanents , et leur soutien moral ,A ma sœur *Djamila* et mon frère *Mohamed* dans les pays étrangers. A mon fiancé *Djamel*.*

*A tous les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant .merci pour leurs amours et leurs encouragements . Sans oublier mon binôme *Chaimaa* pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet .A toute personne m'ayant aidé de près ou de loin*

*A mon adorable petite sœur *NOUZA IMANE* qui sait toujours comment procurer la joie et la bonheur pour toute la famille.*

WJAM

DÉDICACES

...Au nom de Dieux le Miséricordieux

O ! Mon Dieu, la nuit n'est agréable sans vous remercier, le jour n'est agréable sans vous obéir, les

moments de la vie ne sont agréables sans vous prier, l'au-delà n'est agréable sans vos pardons et le

paradis n'est agréable sans vous contempler.

A celui qui a remis le message divin et a accompli convenablement sa mission, le prophète delà

miséricorde et lumière des mondes, Mohamed prière et salut de Dieu soient sur lui.

... A mes grands-parents ancêtres, que Dieu ait pitié de vous .

*...A mon très cher père *Boukenadil Larbi**

Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, pour son amour et ses encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le tout puissant pour te préserver et t'accorde santé, bonheur et te protège de tout

*mal , A celui que je vois homme parmi les hommes et héros exemplaire parmi les héros !
Au plus cher*

des hommes, Mon cher père que j'adore beaucoup.

*...A ma très chère mère *Benafelhi Fatima**

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études.
Qu'ALLAH te protéger et te donner la santé, le bonheur et longue vie.*

...À mes frères Zakaria, Mohamed, Yacine et ma sœur Ithem

Un grand respect et amour à vous, vous avez été toujours là pour moi avec vos mots vos encouragements et vos conseils si précieux Qu'Allah te protéger te garde pour nous.

...Spécial dédias a vous monsieur : Cherrak Sabri

*... Salutations à mon vertueux professeur *souâdmouhamedz* et aux élèves de l'école coranique*

*et de la mosquée *omar ibn khâtab**

*... Un grand merci A ma binôme *Éichouche Wiam* dans ce mémoire de recherche, et je te souhaite du succès dans ta vie .*

...Spécial dédias : À Mon Futur Mari

*... A mes meilleurs amis : *Khadidja, Naïma, Fadwa, Amina, Maroua, Yamina,**

Nadjlae, Anel, Sara

... A tous mes collègues master II Toxicologie industrielle et enivrement

A Toute ma famille

Tout ceux qui m'aiment que j'aime

CHAIMAA

Abréviations

L'ACH : Acétylcholine

VME : Valeurs limites d'exposition

LC50 : Concentration létale pour tue cinquante pour cent de la population

T3 : triiodothyronine

T4 : thyroxine

TBG : *Thyrosin Binding Globulin*.

HT : Les hormones thyroïdiennes

NIS : (Natrium Iodine Symporter).

TTR : la transthyréine

TSH : Thyroid-Stimulating Hormone.

HSA : l'albumine sérique humaine

2CEO : la globuline liant la thyroxine

RBP : la protéine de liaison au rétinol

HIFU : ultrasons focalisés de haute intensité

MAIT : Maladies auto-immunes thyroïdiennes

CT : Le cancer de la thyroïde

BFGS : Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno

INSA : National Institutes de la santé

PDB : Protéine Data Bank

RCSB PDB : Research Collaboratory for Structural Bioinformatics

API : interface de programmation d'application

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

ADME : Absorption –distribution –métabolisme-excrétion

BPA : bisphénol A

MBP : métabolite bisphénol A

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de carbamate	06
Figure 2 : Structure chimique de zirame	06
Figure 3 : Structure chimique de dinocap	06
Figure 4 : structure de la glande thyroïde.....	10
Figure 5 : Anatomie thyroïdienne et rapports vasculaires.....	11
Figure 6 : organisation folliculaire du parenchyme thyroïdien	12
Figure 7 : structure des hormones thyroïdienne	13
Figure 8 : structure chimique de la thyroxine	13
Figure 9 : représentation de la structure chimique de protéine 2CEO	15
Figure 10 : structure des deux composé ayant la meilleur affinité pour la protéine 2CEO	29
Figure 11 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 86138 avec la protéine 2CEO. (B) superposition de la FENBUCONAZOLE dans le site actif de 2CEO	34
Figure 12 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 91731 avec la protéine 2CEO, (B) superposition de la FLUZINAM dans le site actif de 2CEO	35
Figure 13 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 86398 avec la protéine 2CEO. (B) superposition de la FLUDIOXONIL dans le site actif de 2CEO.....	36
Figure 14 : (A) la visualisation des interactions de composé 11159021 avec la protéine 2CEO, (B) superposition de la FLUOPICOLIDE dans le site actif de 2CEO... ..	37
Figure 15 ; (A) la visualisation des interactions 2D de composé 11158353 avec la protéine 2CEO. ,(B) superposition de la FLUOPYRAM dans le site actif de 2CEO	55
Figure 16 ; (A) la visualisation des interactions de composé 11048796 avec la protéine 2CEO, (B) superposition de la FLUOXASROBIN dans le site actif de 2CEO.....	56
Figure 17 ; (A) la visualisation des interactions 2D de composé 47898 avec la protéine 2CEO. (B) superposition de la FLUOTOLANIL dans le site actif de 2CEO.	57
Figure 18 : (A) la visualisation des interactions de composé 91727 avec la protéine 2CEO,(B) superposition de la FLUTRIAFOL dans le site actif de 2CEO	58
Figure 19 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 10935908 avec la protéine 2CEO, (B) superposition de MANDESTROBIN dans le site actif de 2CEO.....	59
Figure 20 : (A) la visualisation des interactions de composé 71230671 avec la protéine 2CEO. (B) superposition de mefentrifluoconazol dans le site actif de 2CEO	60
Figure 21 : (A) la visualisation des interactions de composé 3391107 avec la protéine 2CEO. (B) superposition de QUINTEC dans le site actif de 2CEO	61
Figure 22 : la thyroxine ligand native et son interaction avec la protéine 2CEO.....	39
Figure-23 : Les propriétés ADME des 6 principaux ligands portant les codes : 86138-91731-86398-11159021-11158353-11048796-47898-91727-10935908 71230671-3391107.....	44

Liste des tableaux

Tableau 01 : propriétés des principales protéines de transport des hormones thyroïdiennes dans le sérum humain.....	16
Tableau 02: les pathologies thyroïdiennes et leurs traitements.....	17
Tableau 03 : coordonnées et énergies de liaison de 61 fongicide.....	26
Tableau 04: interactions des 11 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine 2CEO.....	30
Tableau 05 : Propriétés pharmacocinétiques des 11 principaux ligands.....	45

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction générale01

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralité sur les fongicide

I.1 Définition.....04

I.2 Différent type de fongicide04

I.2.a mode d'action04

- Mode d'action biologique04
- Mode d'action biochimique05

I.2.b le groupe chimique.....05

I.3 classification05

I-3-a-Classification chimique05

I-3-a-1-Les fongicides minéraux05

I-3-a-2- Les fongicides organiques.....05

I-3-b- Classification en fonction du site d'action07

I-3-b-1- Les fongicides de contact ou de surface07

I-3-b-2- Les fongicides systémiques07

I.4 Utilisation mondiale des fongicides07

I.5 Type des toxicités.....07

I.5.a toxicité aiguë08

I.5.b toxicité chronique.....08

Chapitre II : la thyroïde

II.1 La glande thyroïde	10
1.1 Anatomie et vascularisation	10
1.2 Morphologie	11
1.3 Histologie	11
1.4 Physiologie	12
II.2 Les hormones thyroïdiennes	12
➤ Thyroxine	13
➤ Iode	14
II.3 Transport des hormones thyroïdiennes	14
II.4 les protéines de la glande thyroïde	14
➤ la globuline liant la thyroxine	14
➤ la transthyréline	15
➤ albumine	15
II.5 les maladies thyroïdiennes et leur traitement	16
➤ Les différents symptômes des maladies thyroïdiennes	18
➤ Traitements	19

Chapitre III : Modélisation des interactions protéine-ligand par doking moléculaire

1. La modélisation moléculaire	21
2. Doking moléculaire	21
3. Les logiciels et les outils	21
➤ Auto Dock Vina	21
➤ Pubchem	21

PARTIE PRATIQUE

<i>I. Matériel et méthodes</i>	24
1- préparation de la protéine	24
2-téléchargement des ligands « inhibiteurs »	24
3-L'amarage moléculaire	24
4-identification des interactions	24
5-détermination des paramètres pharmacocinétique	25
<i>II. Résultats et discussion</i>	26
<i>III. Discussion générale</i>	46
<i>Conclusion générale</i>	48
<i>Références bibliographiques</i>	50
<i>ANNEXES</i>	55

ملخص

مبيدات الفطريات هي أيضًا منتجات كيميائية للصحة النباتية مصممة للقضاء على الفطريات الطفيلية للنبات أو الحد منها. تعتبر مبيدات الفطريات سامة بشكل عام للإنسان ، وفي هذا السياق ، قمنا بتقييم سمية 61 مبيد فطري على نشاط الجلوبيولين المرتبط بهرمون الغدة الدرقية.

طبقتنا تقنية الالتحام الجزيئي (في دراسة *silico*) من أجل

ترشيد ونمذجة طريقة تفاعل هذه الروابط مع

2CEO بروتين لتقييم طاقة المجمعات التي تم الحصول عليها

(برنامج *autodock vina*) مدمج في برنامج UCSF Chimera. أخيرًا ، تم استخدام خادم SwissADME لتقييم

الخصائص الحركية الدوائية والتنبؤ بمعلمات ADME.

أظهرت النتائج أن عشر جزيئات التالية ، فينيوكونازول ، فلوزينام ، فلوديوكسونيل ، فلوبيكوليد ، فلوبييرام ،

فلوكساسستروبين ، فلوتولانيل ، فلوترياقول ، ماندستروبين ، ميفنتريفلوكونازول أكثر سمية على نشاط الجلوبيولين المرتبط بهرمون الغدة الدرقية.

الكلمات الدالة :

مبيدات الفطريات ، الجلوبيولين المرتبط بهرمون الغدة الدرقية (2CEO) ، الالتحام الجزيئي ، في *silico*.

Résumé

Les fongicides sont des substances chimiques phytosanitaires conçus pour éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux. Les *fongicides* sont généralement *toxiques* pour l'humain, Dans ce contexte, nous avons évalué la toxicité de 61 fongicides sur l'activité de la *thyroxine-binding globulin*.

Nous avons appliqué le technique du docking moléculaire (étude *in silico*) afin de rationaliser et modéliser le mode d'interaction de ces ligands avec la protéine 2CEO pour l'évaluation de l'énergie des complexes obtenus (logiciel autodock vina) intégré dans le logiciel UCSF Chimera . Enfin, le serveur SwissADME été utilisé pour l'évaluation des propriétés pharmacocinétique et la prédiction des paramètres ADME.

Les résultats trouvés ont montré que les dix molécules suivantes *fenbuconazole*, *fluazinam*, *fludioxonil*, *fluopicolide*, *fluopyram*, *fluoxastrobin*, *flutolanil*, *flutriafol*, *mandestrobin*, *mefentrifluconazole* sont parmi les plus *toxiques* sur l'activité de la *thyroxine-binding globulin* et méritent d'être étudiés plus en profondeur.

Mots clés :

Fongicides, *thyroxine-binding globulin* (2CEO), docking moléculaire, *in silico* .

Abstract

Fungicides are phytosanitary chemical products designed to eliminate or limit the development of plant parasitic fungi.

Fungicides are generally toxic to humans. In this context, we evaluated the toxicity of 61 fungicides on the activity of *thyroxine-binding globulin*.

We applied the molecular docking technique (*in silico* study) in order to rationalize and model the mode of interaction of these ligands with the 2CEO protein for the evaluation of the energy of the complexes obtained (autodockvina software) integrated into UCSF Chimera software. Finally, the SwissADME server was used for the evaluation of pharmacokinetic properties and the prediction of ADME parameters.

The results found showed that following ten molecules *fenbuconazole*, *fluzinam*, *fludioxonil*, *fluopicolide*, *fluopyram*, *fluoxastrobin*, *flutolanil*, *flutriafol*, *mandestrobin*, *mefentrifluconazole* are more toxic on the activity of *thyroxine-binding globulin*.

Key words: _____

Fungicides, *thyroxine-binding globulin* (2CEO), molecular docking, *in silico*.



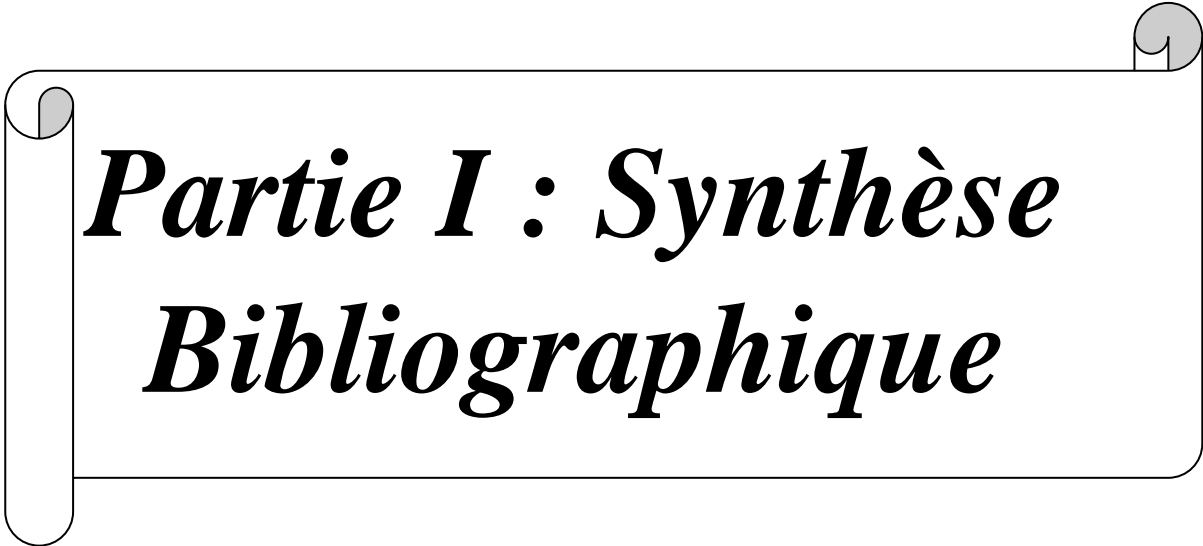
Introduction Générale

La toxicologie se préoccupe des effets nocifs ou indésirables sur les organismes vivants ,en particulier sur l'homme .pour la plupart ,les composés qui en sont responsables soit n'existent pas physiologiquement dans l'organisme (xénobiotique), soit agissent à des concentration élevées non physiologiques , les interactions des composés avec le bruit , les ondes électromagnétiques , les rayonnements ionisantes, peuvent aussi faire l'objet de recherche ,la toxicologie essaye de caractériser les causes des effets toxiques d'en concevoir l'importance et la dangerosité ,élucider les mécanismes et de développer des mesures de protection rationnelles .l'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose .L'exposition extérieure suivie par l'introduction du poison à travers la peau ; l'appareil digestive (ingestion) , ou par voies respiratoires (inhalation) ; l'exposition intérieure qui coïncide avec le temps de résidence du toxique dans l'organisme ;et selon la durée de l'application du toxique on distingue la toxicité aigue et chronique .(1)

Les fongicides et bactéricides occupent une place importante dans le monde des pesticides. les fongicides recouvrent des molécules chimiques qui peuvent avoir des modes d'action très variés et peuvent agir sur : le métabolisme de l'acide nucléique, le cytosquelette et la constitution de protéines, la respiration, la synthèse des acides aminés et des protéines, la transduction des signaux, la synthèse ou le transport des lipides, l'intégrité ou le fonctionnement des membranes, la biosynthèse des stérols des membranes, des parois cellulaires et la synthèse de la mélanine dans les parois cellulaires. Ils peuvent également agir sur des sites différents. Certains fongicides ont des modes d'action inconnus et d'autres agissent sur plusieurs sites (2) l'exposition aux fongicide est connu pour avoir un potentiel de perturbation de la thyroïde et finalement déséquilibres hormones.

Notre travail concerne l'étude, *in silico*, des interactions entre certains fongicide et la protéine thyroxine binding globulin, en se basant sur la structure chimique de cette dernière et sur la relation structure activité, afin de mieux comprendre l'effet de ces fongicides sur l'organisme, la modélisation des interactions (protéine- ligand) appelée la méthode de docking moléculaire.

Partie théorique de notre travail a été organisé en chapitres. Nous avons d'abord traité, la définition, ainsi que le mode d'action, la classification ... des fongicide dans le premier chapitre, nous avons ensuite détaillé, dans le 2ème chapitre la thyroïde et les généralités sur le docking moléculaire dans le 3ème chapitre.La partie pratique traite la prédiction, *in silico*, des interactions des composé (fongicide) et la protéine *2CEO*, ainsi qu'ADMET avec une conclusion sur les molécules toxique .



***Partie I : Synthèse
Bibliographique***



***Chapitre I : Généralités sur
les fongicides***

Chapitre I : Généralité sur les fongicides

I-1 Définition

Les fongicides sont des produits phytosanitaires conçus pour éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux.

Les fongicides sont utilisés pour prévenir ou éradiquer les infections fongiques, infections dans les plantes ou les graines. En agriculture, ils sont utilisés pour protéger les tubercules, les fruits et les légumes pendant le stockage et sont appliqués directement sur les plantes ornementales, les arbres, les champs cultures, céréales et graminées à gazon de nombreuses substances avec des constituants chimiques très variés sont utilisés comme fongicides (3).

I-2 différent type des fongicide :

I-2-a- Le mode d'action :

Pour croître, un champignon a besoin de réaliser un certain nombre de fonctions, il doit produire de l'énergie (la fonction de respiration fournit des molécules riches en énergie), avoir des échanges avec l'extérieur (le phénomène de perméabilité contrôle l'entrée et la sortie de l'eau et des substances nutritives membranes cellulaires) et doit également produire certaines molécules indispensables à sa survie (4) (5) .

Les principaux modes d'actions des fongicides vont avoir des conséquences sur ces différents processus, Ils sont liés à la façon dont ils affectent contrôlent les champignons pathogènes (4).

Les fongicides ont pour rôle :

- De perturber la respiration (activer la respiration sans production d'ATP.
- D'empêcher la synthèse des parois et plus particulièrement les stérols qui sont des composés lipidiques essentiels aux membranes cellulaires du champignon.
- D'empêcher la réalisation de la mitose chez certains champignons
- D'agir sur les précurseurs des acides nucléiques prenant la place des bases hétérocycles de l'ADN et de l'ARN. (4).

*Mode d'action biologique :

Les substances actives peuvent être divisées en deux catégories principales qu'il ya plusieurs sites d'action : multi site, ou qu'elles perturbent spécifiquement une seule voie métabolique. (6)

***Mode d'action biochimique :**

Le mode d'action biochimique des fongicides relève de cette catégorie. Comment il affecte les champignons pathogènes (7). cela se traduit le plus souvent par une des manifestations suivantes :

Action cytologique Inhibition de la synthèse des protéines, fongicides biosynthèse de la paroi cellulaire, inhibiteur de la synthèse des lipides, effet bactéricide acides nucléiques qui agissent sur la synthèse de l'hormone de croissance.

-Action physiologique Inhibiteurs de la chaîne respiratoire.

-Action morphologique.

I-2-b- Le groupe chimique :

Le groupe chimique identifie les produits ayant la caractéristique Chimique commune et même mécanisme d'action de pathogènes. On peut distinguer les principaux groupes suivants:

- Les dithiocarbamates (Manebe et Macnozebe, Zinèbe, ...).
- Les composés benzoïques (Pentachloronitrobenzene ou PCNB).
- Les benzimidazoles (les azoles tels que (propiconazole, Cyproconazole et Fluzilazole).
- Les dicarbomixides (Iprodine, vinclozoline)
- Les phénylamides (Métalaxyle).
- Les phtalimides (Captafole, captane).
- Les nitrophénols (Dinocape).
- Les fongicides minéraux (cuivré). (7)

I-3- Classification :**I-3-a-Classification chimique :**

On distingue deux grands groupes de fongicides :

I-3-a-1-Les fongicides minéraux :

Parmi lesquels on trouve :

*Les fongicides à base de cuivre: Ce sont les plus nombreux et les plus fréquents.

*Les fongicides à base de soufre : La qualité des soufres utilisés influence sur l'efficacité du traitement. Il existe 3 types de fongicides soufrés :

Les soufres triturés, les soufres sublimés et les soufres mouillables.

*Les fongicides à base de permanganate de potassium : Ils agissent seulement à titre Curatif sur les oïdiums qu'ils détruisent par contact. (8)

I-2-a-2- Les fongicides organiques :

C'est un groupe important de molécules dont la structure chimique est variée, et parmi lesquelles on trouve :

- Les carbamates les dérivés de l'acide carbamique et benzimidazolé .

- les dérivés de l'acide thiocarbamique (le mancozèbe, le manèbe, le propinèbe, le zinèbe et le zirame) qui ont une action inhibitrice sur la respiration des champignons
- Les dérivés du phénol son principal représentant est le dinocap qui agit sur la respiration. (9).

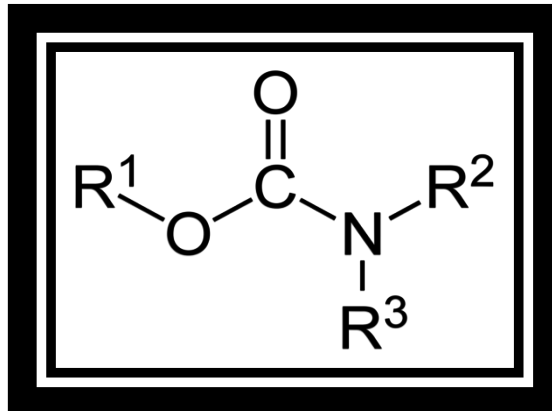


Figure (1) : La structure chimique de carbamate

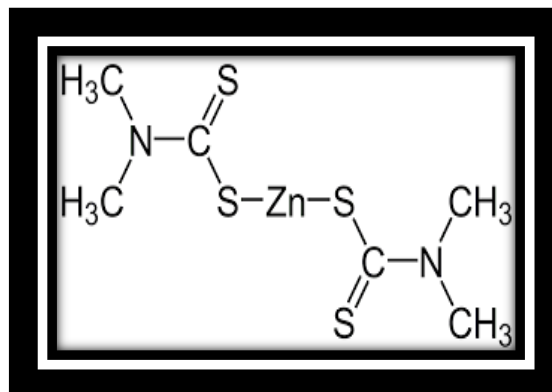


Figure (2) : La structure chimique de Zirame

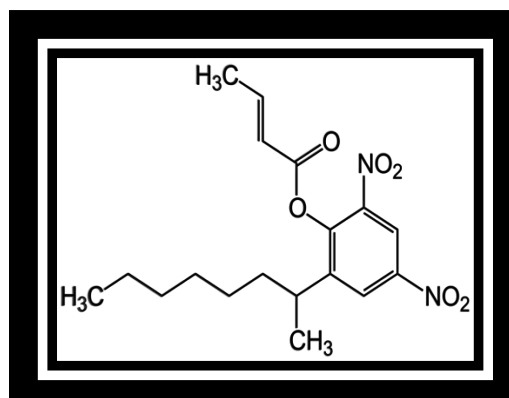


Figure (3) : La structure chimique de Dinocap

I-3-b- Classification en fonction du site d'action :

On peut distinguer deux principaux groupes selon leur comportement vis à vis de la plante: les fongicides systémiques et les fongicides de contact. (10).

I-3-b-1- Les fongicides de contact ou de surface :

Ils restent au niveau du point d'application, formant ainsi une barrière protectrice antifongique de surface. Les composés chimiques ne pénètrent pas dans les tissus de la plante. (11).

I-3-b-2- Les fongicides systémiques :

Les produits sont absorbés par les feuilles, les tiges ou les racines et sont par la suite répandus au niveau de toute la plante ce qui autorise la protection des endroits non traités et celles émergées après l'application du fongicide. (12)

Cette catégorie englobe la plupart des nouveaux fongicides. Trois variantes sont cependant, à signaler :

*Les fongicides systémiques partiels ou locaux : entrent dans la plante, mais ne peuvent pas se déplacer très loin. (10).

*Les fongicides à système ascendant : peuvent pénétrer dans la plante et se déplacer considérablement de façon ascendante dans les vaisseaux du xylème. S'ils sont appliqués au niveau des racines, ils se déplaceront vers le haut à travers toute la plante. (10).

*Les fongicides à système descendant : sont appliqués sur les feuilles et ils descendent vers les racines. (10).

I-4 -Utilisation mondiale des fongicides :

La production a considérablement augmenté au cours des dernières années de ce siècle. Les fongicides en général sont l'un des paramètres technologiques indispensables pour augmenter la production agricole.

La Chine est le pays qui épand le plus de pesticides au monde : plus de 1,76 million de tonnes de fongicides ont été déversés sur les cultures en 2016. (13)

Les États-Unis et la Chine consomment à eux seuls deux fois plus que les autres pays, suivis du Brésil avec environ 350 000 tonnes par an. La France se situe dans les premières places mondiales pour le volume de fongicides utilisés. On enregistre cependant une baisse de la consommation de fongicides en France et au Japon par rapport aux autres pays. (14)

Les professions exposées sont très nombreuses et on estime qu'environ 800 000 professionnels sont concernés par les dangers des fongicides. (15)

I-5-Types de toxicité :

Si pour la toxicité aiguë, le rapport de causalité est clairement identifié, il n'en est pas de même pour la toxicité chronique qui est beaucoup plus malaisée à cerner avec précision. (15)

Les fongicides sont toxiques par trois voies, **orale** (bouche, œsophage, appareil digestif), **respiratoire** (nez, trachée, poumons), **cutanée** (y compris les yeux et les muqueuses). (15)

Les types d'intoxications qui en résultent sont de deux sortes :

I-5-a Toxicité aiguë :

Effets nocifs qui se produisent après que le corps humain a été exposé à un désinfectant pendant une courte période de temps, et une ou plusieurs fois dans une courte période de temps. Des études de toxicité aiguë sont menées pour obtenir des informations sur les effets néfastes des fongicides qui peuvent se produire dans le corps dans les 2 semaines suivant l'exposition à la dose fongicide. (16)

L'organisation internationale de lutte antiparasitaire a besoin de six types d'études de toxicité aiguë pour la commercialisation de formulations commerciales contenant l'ingrédient actif : dermique, inhalation, administration orale, irritation des oculaire primaire, Irritation primaire de la peau et sensibilité cutanée, administration cutanée, respiratoire et orale aiguë de toxicité aiguë via LC50, qui est la concentration ou la dose qui tue 50 % du groupe d'animaux traités.(16)

I-5-b Toxicité chroniques :

La toxicité chronique se produit généralement lors que le fongicide est absorbé pendant des jours, des mois ou des années à faibles doses. Elle se développe également par intoxications aiguës répétées, et ses effets s'expriment sur une longue période. L'exposition chronique aux fongicides peut persister pendant des années et peut nuire à la santé humaine : cancer, troubles du développement fœtal, troubles neurologiques, troubles de la reproduction et les hormonaux. (16) il exacerbe également les signes de la maladie d'Alzheimer. (17)



Chapitre II : La thyroïde

II. 1 .La glande thyroïde

La thyroïde est une glande endocrine constituée de follicules, unités fonctionnelles formées d'une membrane basale, d'un épithélium sécrétoire et d'une cavité centrale contenant une substance colloïdale, Le fonctionnement de cette glande jouant un rôle essentiel dans l'organisme nécessite un apport iodé indispensable à la biosynthèse des hormones thyroïdiennes (18)

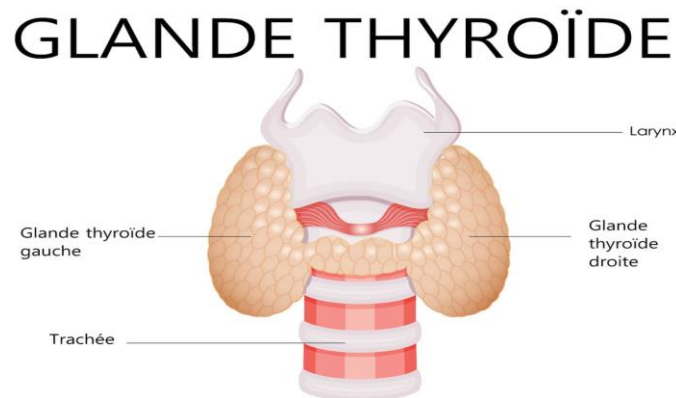


Figure 4 : structure de la glande thyroïde (19)

I.1-Anatomie et vascularisation

La glande thyroïde est une glande endocrine située dans la partie médiane et superficielle de la région cervicale infra-hyoïdienne , au dessous de l'orifice supérieur de thorax ,de volume normal ou hypertrophiée(goitre) .(20)

1.1 Vascularisation :

Vascularisation artérielle : Elle assurée par les artères thyroïdiennes supérieures, moyennes et inférieures. (21)

Vascularisation veineuse : Le drainage veineux thyroïdien est essentiellement assuré par la veine jugulaire interne qui reçoit le tronc thyroïdino-facial dans lequel se déverse la veine thyroïdienne supérieure (21)

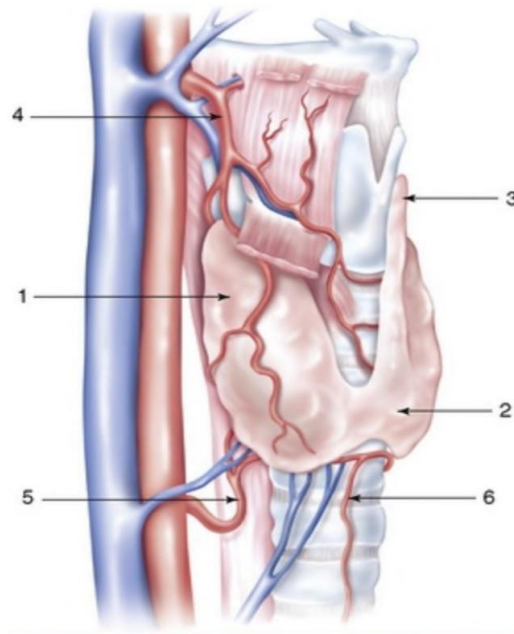


Figure 5: Anatomie thyroïdienne et rapports vasculaires

(1) Lobe thyroïdien droit, (2) isthme, (3) pyramide de l'alouette (lobe médian), (4) Artère thyroïdienne supérieure, (5) Artère thyroïdienne inférieure, (6) Artère thyroïdienne médiane (21)

1.2 Morphologie :

La glande thyroïde a globalement la forme d'un H majuscule ou en forme de papillon ; Elle est formée de deux lobes latéraux verticaux réunis sur la ligne médiane par un segment horizontal : l'isthme thyroïdien, le volume du corps thyroïde sujet à de nombreuses variations individuelles ; S'inscrit dans des dimensions moyennes de 4 à 6 cm en hauteur ; 2 cm transversalement et 2 cm en épaisseur (1 cm au niveau de l'isthme , 3 cm au niveau des lobes) ; son poids normal est de 10 à 20 grammes en moyenne .(20)

1.3 Histologie :

Deux types cellulaires sont présents dans la glande thyroïde .Les cellules folliculaires ou thyrocytes sont des cellules polarisées reposant sur une lame basale et s'assemblant en une assise uni stratifiée réalisant une formation sphérique : le follicule (ou vésicule). Ces cellules représentant 99% du contingent cellulaire thyroïdien, assurent la production des hormones thyroïdiennes et de la thyroglobuline. le pôle apical des thyrocytes projette des microvillosités dans la lumière du follicule qui contient la colloïde, substance amorphe et jaunâtre, lieu de stockage et de synthèse des hormones Thyroïdiennes ; Les cellules para-

folliculaires ou cellules C produisent la calcitonine et représentent moins de 1% du parenchyme thyroïdien, elles sont en contact avec la lame basale du follicule, d'où leur appellation de cellules para- folliculaires. Elles sont reconnaissables en microscopie électronique à leurs grains de sécrétion contenant la calcitonine libérée par exocytose ..(21)

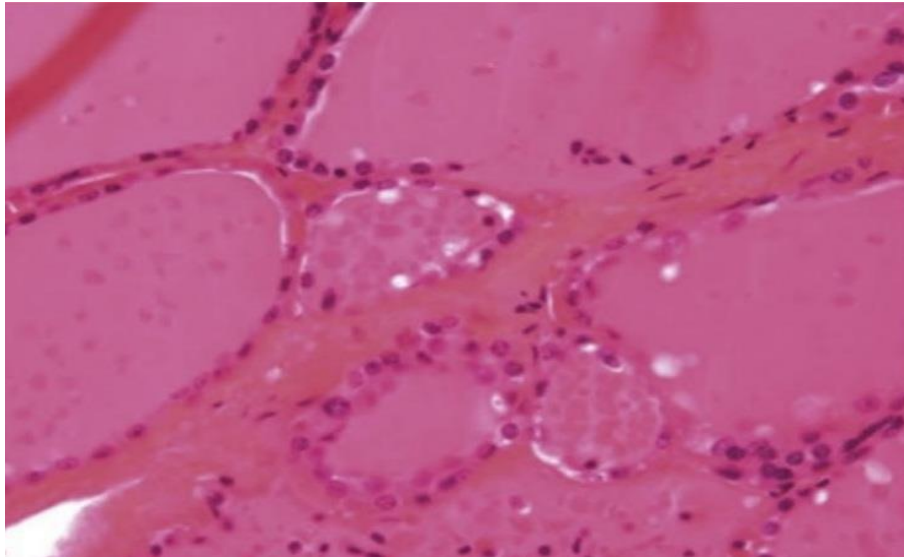


Figure 6: organisation folliculaire du parenchyme thyroïdien.(21)

1.4 Physiologie de la thyroïde :

La glande possède un métabolisme spécifique et diffère par sa dépendance à l'égard de l'apport exogène de l'iode dont le taux est variable dans l'alimentation, d'où les mécanismes de stockage et de synthèse. L'organisation fonctionnelle du parenchyme glandulaire est vésiculaire (folliculaire). Ces vésicules sont composées d'un groupement sphérique de cellules dites principales (synthétisant T3, T4), la cavité du follicule contient un colloïde composé essentiellement de thyroglobuline 'TGB'. Contre les cellules principales, des cellules en para folliculaire dites "les cellules C" synthétisent la calcitonine (22).

II.2- Les hormones thyroïdiennes :

Les hormones doivent être transportées de leurs sites de synthèse vers leurs organes cibles. (23) Les hormones thyroïdiennes (HT) sont essentielles au fonctionnement de l'organisme. Elles participent à l'homéostasie du métabolisme énergétique, et participent au bon développement et fonctionnement de nombreux organes(24) Les cellules folliculaires absorbent ; iode qui est dans le sang et utilisent pour produire les hormones thyroïdiennes : thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3)

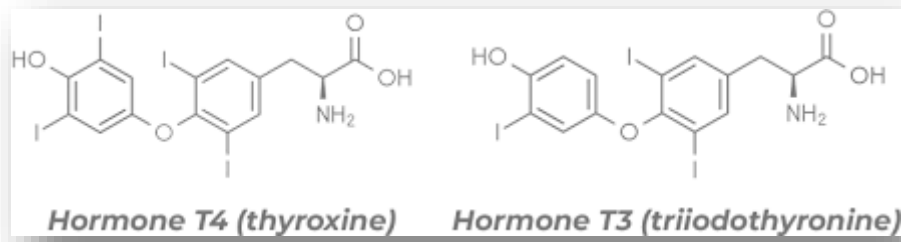


Figure 7 : structure des hormones thyroïdienne

LA THYROXINE :

La thyroxine est absorbée par le tractus gastro-intestinal, bien que son absorption soit variable. Dans le plasma, il est fortement lié à protéines plasmatiques, principalement à la globuline liant la thyroïde, mais aussi à l'albumine et à la pré-albumine. Le foie est un site majeur du métabolisme, bien que la désiodation en T3 se produise probablement dans la plupart des tissus. Dans la présence d'une fonction thyroïdienne normale, la demi-vie plasmatique de la thyroxine est d'environ 6 à 7 jours, celle-ci étant prolongée en cas d'hypothyroïdie et raccourcie dans l'hyperthyroïdie. (25)

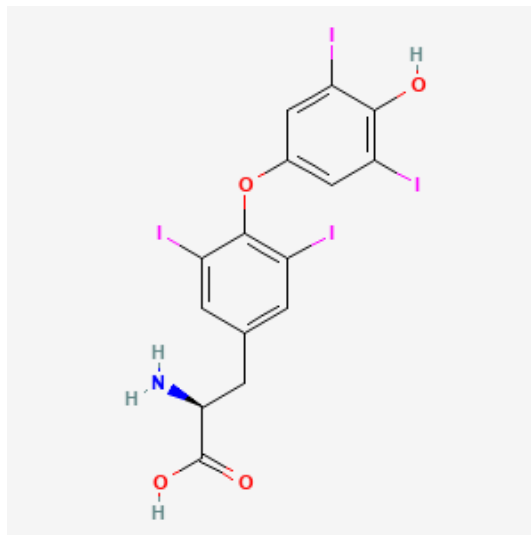


Figure 8 : structure chimique de la thyroxine

Iode :

Pour former des quantités normales de thyroxine, environ 50 milligrammes Iode ingéré sous forme iodures sont nécessaires chaque année, soit Environ 1 mg/semaine. Les iodures ingérés par voie orale sont absorbés par le tractus gastro-intestinal.; iode est extrait du sang circulant par les cellules de la glande thyroïde et Utilisé pour la synthèse des hormones thyroïdiennes. La membrane basale de la cellule thyroïdienne a la capacité spécifique de pomper activement ; iodure à l'intérieur de la cellule, à l'aide d'une pompe Appelée symporteur ; iodure de sodium (NIS) est ce qu'on appelle le Piégeage d'iodure. Dans une glande normale, la pompe à iodure concentre l'iodure à environ 30 fois sa concentration dans le sang. (26)

II. 3 Transport des hormones thyroïdiennes :

Une fois dans le compartiment plasmatique, les hormones thyroïdiennes qui sont de petites molécules hydrophobes ont besoin de protéines de transport. La T4 est liée à plus de 99,9% à des protéines de transport (60 à 75% est liée à la *TBG*, 15 à 30% est liée à la *TTR* et 10% à l'albumine), et la T3 est liée à près de 99,5% (80% avec la *TBG*, 10 à 20% avec l'albumine et moins de 5% avec la *TTR*). Il en résulte que moins de 1 % des HT sont libres dans le plasma et susceptibles d'être captées par les organes, les HT liées Constituant donc une forme de réserve (24)

II.4 les protéines de la glande thyroïde :

Les hormones thyroïdiennes (TH) sont liées à trois protéines sériques, la globuline liant la thyroxine (*TBG*), la transthyrétine (*TTR*) et l'albumine sérique humaine (*HSA*). (27)

La globuline liant la thyroxine :

Le *TBG* est une chaîne polypeptidique unique de 54 kDa synthétisée par le foie. La pré-protéine est une glycoprotéine de 415 acides aminés (aa). La molécule mature (395 aa, moins le peptide signal) a quatre Oligosaccharide N-lié (27).

TBG, la principale protéine de transport pour les hormones thyroïdiennes, a été isolée du plasma humain et partiellement caractérisé dans plusieurs laboratoires ; il existe des écarts majeurs dans certains des produits chimiques et les propriétés physiques du *TBG* déterminées par des enquêtes antérieures. Bien qu'il semble maintenant y avoir accord que son poids moléculaire est compris entre (54 000 et 64 000), (28) *TBG* fait partie de la superfamille des inhibiteurs de la protéase à sérine (Serpine), également connue sous le nom de SERPINA7. *TBG* diffère des autres serpine en ce que la moitié supérieure de sa feuille bêta principale est complètement ouverte, de sorte que son la boucle peptidique centrale réactive peut facilement entrer et sortir de la feuille pour faciliter une liaison équilibrée et libération de TH (27) ; les modifications du *TBG* ou de sa liaison accompagnent de changements dans le plasma total T4 et T3 (29)

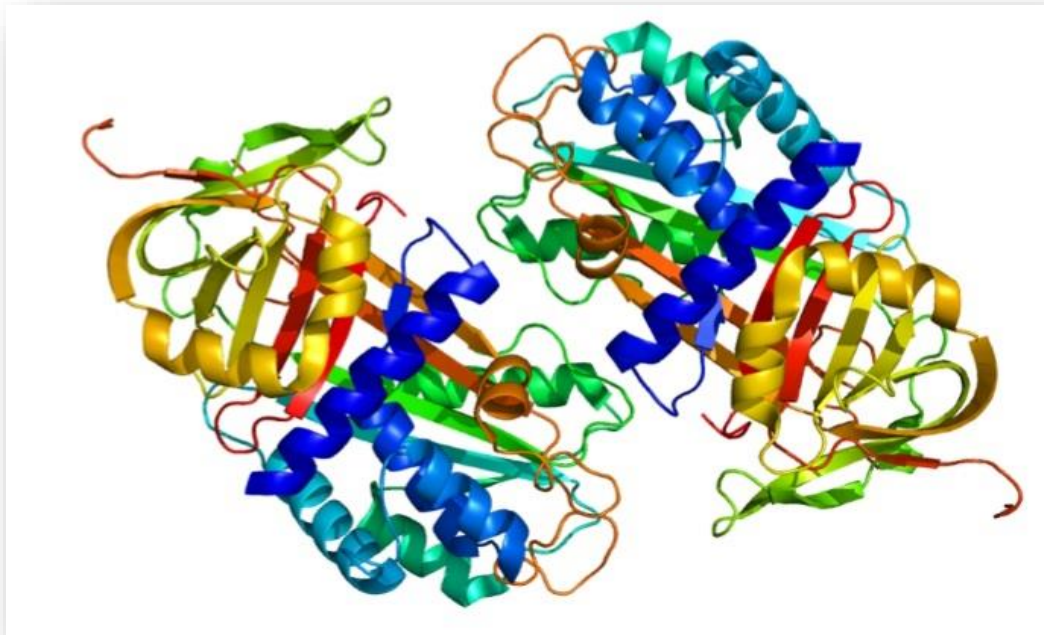


Figure 9 : représentation de la structure chimique de protéine 2CEO

La transthyréline :

La *TTR*, anciennement connue sous le nom de pré albumine liant la thyroxine, est un tétramère hautement acide de 55 kda dépourvu de glucides. Il forme un complexe avec la protéine de liaison au rétinol (RBP) et joue ainsi un rôle dans le transport de la vitamine A. Le *TTR* est présent dans le sang sous la forme d'un tétramère stable de sous-unités identiques, chacune contenant 127 acides aminés. Ensemble, ils forment une structure symétrique avec un canal hydrophobe à double canon formant les deux sites de liaison à iodothyronine.(30)

Albumine :

La *HSA* est une protéine de 66,5 kda fabriquée par le foie. Composée de 585 acides aminés, elle contient un pourcentage élevé de cystéine et un pourcentage élevé d'acides aminés chargés négativement mais pas de glucides.(21) l'affinité de l'albumine pour la liaison T4 et T3 est beaucoup plus faible que celle du *TBG* ou du *TTR*, mais la concentration élevée de cette protéine entraîne la liaison de 10% du plasma hormones thyroïdiennes, (29)

	Masse moléculaire (KDA)	Les glucides %	Demi-vie (jour)	Concentration	Constante d'association (M^{-1})	
					T ₄	T ₃
TBG	56	20	5	1.5	1×10^{10}	4.6×10^8
TTR	54	0	2	25	7×10^7	1.4×10^7
HSA	68	0	13	4200	7×10^5	1×10^5

Tableau 1: propriétés des principales protéines de transport des hormones thyroïdiennes dans le sérum humain.

II.5 Les maladie thyroïdienne et leur traitement :

On distingue plusieurs pathologies thyroïdiennes et leurs traitements peuvent être résumés dans le tableau ci-dessous (31)

Tableau 2: les pathologies thyroïdiennes et leur traitement (31)

Type de pathologie	Maladie	Description	Traitement
Hormonales	<u>Hyperthyroïdie</u>	La thyroïde fonctionne en surrégime (T3/T4 hautes et TSH basses). Cela peut être dû à la présence de nodules hyper-sécrétants.	<ul style="list-style-type: none"> - Antithyroïdiens de synthèse - Iode radioactif (principalement pour nodule hypersecrétant) - La chirurgie n'est envisagée qu'en cas de récurrence ou de désir de grossesse.
	<u>Hypothyroïdie</u>	La thyroïde fonctionne au ralenti (T3/T4 basses et TSH augmentée).	Hormones de synthèse
Morphologiques	<u>Nodules</u>	Les nodules sont très fréquents : 50 % de la population présente un nodule de la thyroïde supérieur à 1 cm. On distingue cependant plusieurs types de nodules en fonction de leur taille, de leur activité et de leur caractère malin ou non.	<ul style="list-style-type: none"> - Surveillance ou chirurgie en cas de suspicion de cancer (nodule de plus de 3-4 cm, trop grand nombre de nodules...) - Échothérapie avec ultrasons focalisés de haute intensité (<u>HIFU</u>)
	<u>Goitre</u>	On distingue les goitres simples (souvent d'origine familiale) et les goitres nodulaires (avec un nombre important de nodules)	<ul style="list-style-type: none"> - Surveillance ou chirurgie si le nombre de nodules est trop important ou le risque de cancer est élevé - Iode radioactif pour les goitres très sécrétants
	<u>Cancer de la thyroïde</u>	5 % des tumeurs de la thyroïde sont des cancers. En augmentation, ces cancers touchent trois fois plus les femmes (4000 à 6000 cas par an). Détectés tôt, leurs chances de guérison sont proches de 100 %. Environ 4 000 cancers de la thyroïde sont découverts chaque année en France. Ce nombre est en constante augmentation, d'environ 6 % par an.	<ul style="list-style-type: none"> - Chirurgie avec thyroïdectomie totale (ablation totale de la glande) suivi de la prise de thyroxine (T4) pour compenser l'absence de thyroïde et utilisation d'iode 131 pour éliminer de possibles résidus thyroïdiens ; - Certains cancers localisés peuvent être traités par radiochirurgie(<u>CyberKnife</u>)

- Maladies auto-immunes thyroïdiennes (MAIT). Les MAIT s'accompagnent de la présence d'auto anticorps circulants dirigés contre les antigènes spécifiques thyroïdiens. Des anticorps anti-NIS ont été retrouvés dans le sérum de patients atteints de maladie de Basedow ou de thyroïdite d'Hashimoto (18)
- La maladie de Basedow est une pathologie auto-immune à l'origine d'une hyperthyroïdie, sa manifestation la plus caractéristique étant un goitre homogène. Elle touche préférentiellement les femmes relativement jeunes, mais peut survenir à tout âge La maladie de Basedow se manifeste par : une transpiration, un amaigrissement rapide et important, une peau chaude et lisse, des tremblements, une faiblesse musculaire, des myxœdèmes localisés (myxœdème tibial caractéristique), un pouls rapide, une dyspnée, une atrophie musculaire, de la nervosité, une excitabilité, des insomnies, une agitation, des diarrhées occasionnelles, un appétit augmenté (32)

Les différents symptômes des maladies thyroïdiennes (31)

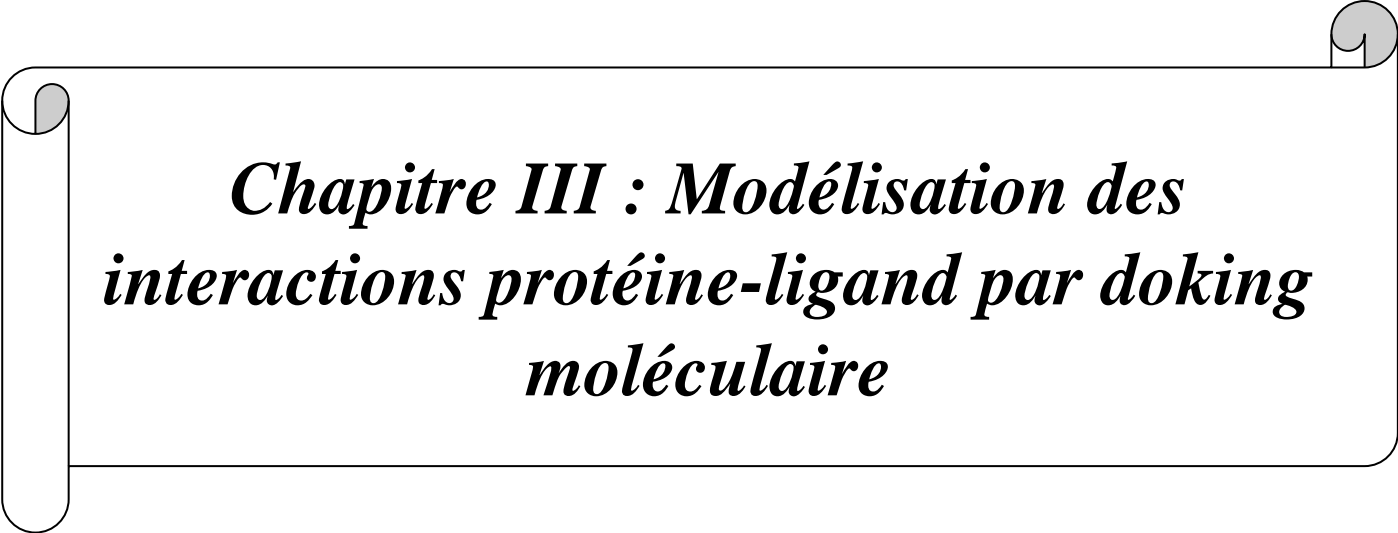
- **L'hyperthyroïdie** (hypersécrétion d'hormones thyroïdiennes) provoque un **hyperfonctionnement de tous les métabolismes**. Tout fonctionne trop, et trop vite : amaigrissement rapide, accélération du pouls, tremblement des mains, bouffées de chaleur, diarrhée, des nausées ou vomissements, cheveux cassants, irritabilité, émotivité ;
- **L'hypothyroïdie** (baisse de la production des hormones thyroïdiennes) entraîne des symptômes très variés : fatigue, frilosité, prise de poids inexplicée avec baisse de l'appétit, ralentissement du rythme cardiaque, augmentation du taux de cholestérol, douleurs articulaires et musculaires, troubles du cycle menstruel, constipation, goitre, visage bouffi, sautes d'humeur, troubles de la mémoire, peau pâle, ongles et cheveux fragiles cassants, voix enrouée... ;
- **Le nodule thyroïdien** est une grosseur qui se forme dans la thyroïde. Dans la majorité des cas, le nodule ne donne lieu à aucun symptôme et cette affection est bénigne. Parfois, le nodule connu devient douloureux et son volume augmente ;
- **Le goitre** est une augmentation du volume de la thyroïde. Il existe plusieurs sortes de goitres : tumoraux (la tumeur peut être bénigne ou maligne), inflammatoires (thyroïdite de Hashimoto), vasculaires (hyperthyroïdie, maladie de Basedow), goitres avec hypothyroïdie qui sont dus à un trouble de la synthèse des hormones thyroïdiennes, goitres simples qui correspondent à une augmentation isolée de volume de la glande, sans tumeur, sans inflammation, sans trouble de la sécrétion thyroïdienne ;
- **Les cancers de la thyroïde** : Le cancer de la thyroïde (CT) est le cancer endocrinien le plus fréquent. Son incidence augmente depuis une trentaine d'années telles que le reflète le taux d'incidence internationale ajusté sur l'âge qui a été multiplié par cinq chez l'homme et par dix chez la femme (39) il faut distinguer les cancers différenciés sensibles à la TSH et les cancers indifférenciés indépendants de la TSH. Pour les premiers, les signes cliniques se limitent souvent à un nodule de la thyroïde isolé ou associé à des ganglions, pouvant provoquer des signes de compression locale (difficultés pour respirer, avaler, anomalies de la voix). Des métastases osseuses (douleurs osseuses, fractures spontanées) ou pulmonaires (toux, gêne respiratoire) peuvent être constatés. Pour les cancers différenciés, la thyroïde est dure et les signes de compression locale sont également présents. L'état général est altéré.(29)

Traitements :

Le traitement des pathologies de la thyroïde est sélectionné en fonction de la pathologie et de l'état de santé général du patient. Il peut s'agir d'un traitement médicamenteux ou chirurgical si nécessaire.(31)

Les traitements médicamenteux

- **L'hyperthyroïdie** peut être traitée avec des médicaments qui ralentissent la production d'hormones thyroïdiennes, comme **l'iode radioactif** et **les antithyroïdiens de synthèse**.
- **L'hypothyroïdie** est traitée en remplaçant l'hormone (hormone substitutive) qui n'est pas produite en quantité suffisante : **la lévothyroxine ou LT4** (L-Thyroxyn hennin®, L-thyroxine serb®, Lévothyrox®, Tcaps®, Thyrofix®, Tsoludose®, Euthyrox®) est la forme médicamenteuse de l'hormone T4; **la liothyronine** ou LT3 (Cynomel ®, Euthyral®) est la forme médicamenteuse de la T3.(31)

A decorative border resembling a scroll, with a grey shadow on the left and right sides, framing the chapter title.

***Chapitre III : Modélisation des
interactions protéine-ligand par docking
moléculaire***

1 .La modélisation moléculaire :

Est l'art scientifique de simuler ou limiter des systèmes chimiques ou biologique, afin que des méthodes informatiques (*in silico*) puissent être appliquées pour comprendre le processus concerné .la compréhension de tels processus conduit à les accélérer ou à les ralentir. Concrètement, selon la nécessité. Par exemple, si le processus moléculaire impliqué dans l'information d'une partie du système humain peut être compris au niveau biologique, une méthodologie peut être développée pour modérer ce processus. Une autre hypothèse est que ces différences peuvent être exprimées en termes quantitatifs. Une étude de modélisation peut alors viser à trouver une équation empirique qui relierait les structures des composés à leurs propriétés biologiques, par exemple la force d'une interaction moléculaire. (33)

2. Docking moléculaire :

l'amarrage moléculaire est la structure de calcul la plus courante - Méthode de conception de médicaments basée sur la conception (SBDD) et a été largement utilisée depuis le début des années 1980 C'est l'outil de choix lorsque le tridimensionnel La structure (3D) de la protéine cible est disponible. Amarrage moléculaire populaire- a été facilité par la croissance spectaculaire de la disponibilité et de la puissance des ordinateurs, et le nombre croissant et la facilité d'accès aux petites structures moléculaires et protéiques. (34)

3. Les logiciels et les outils :

Auto Dock Vina :

Auto Dock Vina est un programme de docking dérivé d'Auto Dock comme son nom l'indique, qui a également a été développé par le groupe de Arthur J. Olson au "ScrippsResearch Institute" (<http://autodock.scripps.edu/>) . Auto Dock Vina utilise une méthode de gradient d'optimisation sophistiquée dans sa procédure d'optimisation locale. Le gradient donne en fait l'algorithme d'optimisation d'un « sens de l'orientation » à partir d'une seule évaluation et un programme de simulation d'amarrage de ligand flexible sur un récepteur rigide. L'algorithme de positionnement des ligands Auto Dock de Vina est une application globale d'une recherche de type itérative locale ("Iterated Local Search global optimizer"). Ce type d'algorithme est utilisé pour sortir des minima locaux qui ne permettent plus d'améliorer la conformation. Pour ce faire, l'algorithme est relancé à partir d'une structure géométrique légèrement différente. Ces différents points de départ sont conservés en mémoire pour ne pas effectuer le même chemin plusieurs fois, et ainsi gagner du temps. Vina utilise l'algorithme d'optimisation locale de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (BFGS).(35)

Pubchem :

Pubchem est une base de données de chimie ouverte gérée par les National Institutes de la santé (INSA). Il contient principalement de petites molécules, mais aussi des molécules plus grosses. s tels que les lipides, les glucides, les nucléotides, les peptides et autres macromolécules modifiées. Les données dans PubChem sont organisées en trois bases de

données interconnectées : Substance (au moment de la rédaction, plus de 286 millions descriptions de substances), composé (plus de 111 millions de structures) et BioAssay (1,2 million d'essais biologiques couvrant plus de 10 000 séquences de protéines cibles).(34)



PARTIE PRATIQUE

I. Matériel et méthodes

Notre travail vise à étudier l'effet de certains fongicides sur l'organisme humain grâce à l'amarrage moléculaire (*étude in silico*) en se basant sur les interactions entre la protéine : *Thyroxine-binding globulin* et ces fongicides.

1-Préparation de la protéine :

Le modèle tridimensionnel de la *Thyroxine-binding globulin* dont le code d'identification *2CEO* obtenu à partir de la base des données « RCSB PDB (protéin DATA BANK) » <https://www.rcsb.org/> a été utilisé comme protéine cible pour l'étude de docking moléculaire. Cette structure a été résolue par RMN avec une résolution de 2.80 Å.

Le modèle extrait a subi des étapes successives de préparation prises en charge par le logiciel « chimera UCSF » ; l'objectif de ce programme est la visualisation et l'analyse interactives des structures moléculaires et des données associées, notamment l'élimination des molécules d'eau et du ligand co-cristallisé et l'ajout d'atomes d'hydrogènes.

Enfin, les coordonnées atomiques de la structure finale de la protéine ont été enregistrées dans un fichier au format PDB.

2-Téléchargement des ligands « inhibiteurs » :

La structure tridimensionnelles des fongicides ont été téléchargées à partir de la base des données PubChem sous format de fichier SDF « <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> » au format 3d et enregistrées sous le format mol2.

3-L'amarrage moléculaire : (docking)

Avant les simulations d'amarrage, la structure de la protéine *2CEO* doit être préparée par le programme « chimera UCSF ». ensuite, 61 molécules ont été ajoutées pour la préparation de l'amarrage moléculaire, à savoir la prédiction de l'affinité du complexe (ligand-protéine) et la prédiction de la position correcte du ligand dans le site actif de la protéine.

Le but de docking vise à prédire la structure du complexe formé par un ligand et son récepteur, pour l'étude des interactions entre la protéine *2CEO* et ses inhibiteurs à l'aide du logiciel « Auto Dock vina » permettant de rechercher les meilleures conformations du ligand dans le site actif du récepteur et représentés la plus faible énergie de liaison (Kcal /mol).

4-identification des interactions :

Les résultats du docking consistent le plus souvent en différentes poses du ligand dans le site d'interaction, correspondant à plusieurs conformations énergétiques minimale favorable que le ligand peut adopter.

Les 61 ligands sont chargés directement l'un après l'autre dans logiciel « **DISCOVERYSTUDIO VISUALIZER** » ; c'est un logiciel qui permet de modifier des structures moléculaires et d'étudier les acides amines impliqués dans le site de liaison ligand, les liaisons hydrogène et les liaisons hydrophobes par une visualisation en 2D, **DSV** est développé et distribuée par « **Dassault systèmes BIOVIA** ».

5-détermination des paramètres pharmacocinétique :

L'outil en ligne SWISSADME (<http://www.swissadme.ch/>) a été utilisé pour l'évaluation des propriétés pharmacocinétique et la prédiction des paramètres ADME

II. Résultats et discussion :

L'objectif principal de notre travail est d'étudier et d'évaluer la toxicité des fongicides sur l'activité de la *thyroxine-binding globulin*.

Nous avons appliqué la technique du docking moléculaire afin de rationaliser et modéliser le mode d'interaction de ces ligands avec la protéine cible pour l'évaluation de l'énergie de liaison des complexes obtenus (logiciel autodock vina).

Les résultats obtenus pour les 61 molécules choisies sont listés dans le tableau (1) :

Titre 3 : coordonnées et énergies de liaison de 61 fongicide.

NOM	PUBCHEM ID	MASSE MOLEAIRE EN G/MOL	FORMULE MOLECULAIRE	ΔG (Kcal/mol)
Azoxystrobin	3034285	403,4	$C_{22}H_{17}N_3O_5$	-7,6
Fluopicolide	11159021	383,6	$C_{14}H_8Cl_3F_3N_2O$	-8,5
Propiconazole	43234	342,2	$C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$	-7,3
Formaldehyde	712	30,026	CH_2O	-1,5
Cyproconazole	86132	291,77	$C_{15}H_{18}ClN_3O$	-7,1
Picoxystrobin	11285653	367,3	$C_{18}H_{16}F_3NO_4$	-7,6
Thiabendazole	5430	201,25	$C_{10}H_7N_3S$	-6
Isofetamid	71657865	359,5	$C_{20}H_{25}NO_3S$	-7,8
Propamocarb	32490	188,27	$C_9H_{20}N_2O_2$	-4,5
Triadimefon	39385	293,75	$C_{14}H_{16}ClN_3O_2$	-6,8
Pentachloronitrobenzene(PCNB)	6720	295,3	$C_6Cl_5NO_2$	-5,9
(DCNA) dichloran	7430	207,01	$C_6H_4Cl_2N_2O_2$	-5,3
Chlorothalonil	15910	265,9	$C_8Cl_4N_2$	-6,6
Pyraclostrobin	6422843	387,8	$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$	-7,2
Fludioxonil	86398	248,18	$C_{12}H_6F_2N_2O_2$	-8,1
Vitavax	21307	235,3	$C_{12}H_{13}NO_2S$	-6,5
copperhydroxide	164826	97,56	CuH_2O_2	-3,4

Triticonazole	6537961	317,8	C₁₇H₂₀ClN₃O	-7,2
Iprodione	37517	330,16	C₁₃H₁₃Cl₂N₃O₃	-7,5
HMO	5283468	356,5	C₂₁H₄₀O₄	-6,7
Trifloxystrobin	11664966	408,4	C₂₀H₁₉F₃N₂O₄	-7,9
Sulfur	5362487	32,07	S	-2,2
copper sulfate	24462	159,61	CuSO₄	-3,5
Alto	86132	291,77	C₁₅H₁₈ClN₃O	-7
Fenhexamid	213031	302,2	C₁₄H₁₇Cl₂NO₂	-7,6
Fluoxastrobin	11048796	458,8	C₂₁H₁₆ClFN₄O₅	-8,5
allyl isothiocyanate	5971	99,16	C₄H₅NS	-3,2
Folpet	8607	296,6	C₉H₄Cl₃NO₂S	-6,9
Gatten	44151818	426,5	C₁₉H₁₄F₄N₂OS₂	-7,9
Folpan	8607	296,6	C₉H₄Cl₃NO₂S	-6,9
Penthiopyrad	11388558	359,4	C₁₆H₂₀F₃N₃OS	-7,5
Flutianil	44151818	426,5	C₁₉H₁₄F₄N₂OS₂	-7,9
Fenbuconazole	86138	336,8	C₁₉H₁₇ClN₄	-8
Fluopyram	11158353	396,71	C₁₆H₁₁ClF₆N₂O	-8,4
Mandestrobin	10935908	313,4	C₁₉H₂₃NO₃	-8
Manex	5075889	265,3	C₄H₆MnN₂S₄	-1,3
Mefentrifluconazole	71230671	397,8	C₁₈H₁₅ClF₃N₃O₂	-8,2
Vivando	6451057	409,3	C₁₉H₂₁BrO₅	-7,3
Tetraconazole	80277	372,14	C₁₃H₁₁Cl₂F₄N₃O	-7,6
Mandipropamid	11292824	411,9	C₂₃H₂₂ClNO₄	-7,6
Pydiflumetofen	56933411	426,7	C₁₆H₁₆Cl₃F₂N₃O₂	-6,9
Flutolanil	47898	323,31	C₁₇H₁₆F₃NO₂	-8,4

potassium dihydrogen phosphate	516951	136,086	KH_2PO_4	-4,3
thiophanate-methyl	3032791	342,4	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$	-6,6
Fluazinam	91731	465,09	$\text{C}_{13}\text{H}_4\text{Cl}_2\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_4$	-8,3
Pipron	18996	330,2	$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{NO}_2$	-6,8
Oxycarboxin	21330	267,3	$\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_4\text{S}$	-7,1
Pyriofenone	23082663	365,8	$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClNO}_5$	-7,2
Fenpyrazamine	11493665	331,4	$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$	-7,1
Metconazole	86210	319,8	$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}$	-7,3
Quintec	3391107	308,1	$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{FNO}$	-8
Myclobutanil	6336	288,77	$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{ClN}_4$	-7
Iponazole	86211	333,9	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}$	-7,7
Cyazofamid	9862076	324,79	$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$	-7,2
Flutriafol	91727	301,29	$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}$	-8,1
Dimethomorph	5889665	387,9	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClNO}_4$	-7,5
Dodine	17110	287,44	$\text{C}_{15}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_2$	-5,8
Busan 30 A	30692	238,4	$\text{C}_9\text{H}_6\text{N}_2\text{S}_3$	-5,7
Baytan	41368	295,76	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2$	-7,3
Carboxin	21307	235,3	$\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}$	-6,6
Metrafenone	6451057	409, 3	$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{BrO}_5$	-7,3

La fluopicolide (**11159021**) et la fluoxastrobin (**11048796**) représentent les meilleur ligands (bonne affinité) complexés à la *2CEO* avec une énergie d'interaction de $\Delta G^\circ = -8,5$ kcal /mol. Le ligand est maintenue dans le site actif par l'énergie de liaison, plus celle-ci est réduite plus un meilleur effet d'inhibition vis avis de la cible protéique est obtenu. La molécule 11159021 de formule $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{Cl}_3\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$ avec une masse molaire de 383,6 g/mol est caractérisée par 2cycles, par contre la molécule 11048796 de formule $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClFN}_4\text{O}_5$ a une masse molaire de 458,8 g/mol et est caractérisée par 4 cycles.

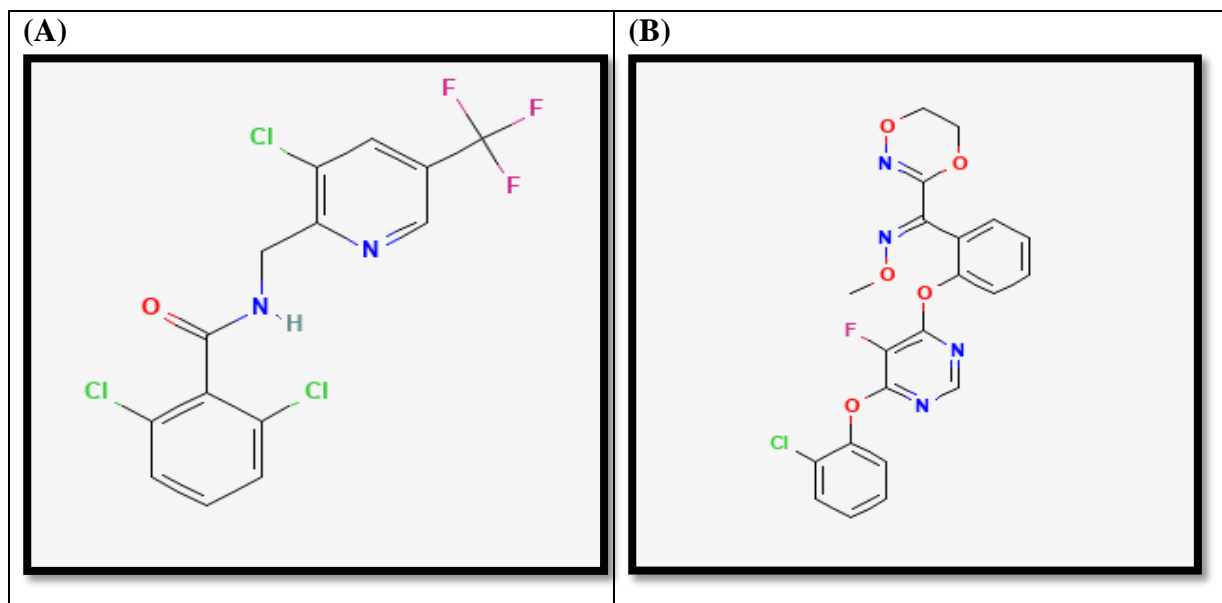


Figure 10 : structure des deux composé ayant la meilleur affinité pour la protéine 2CEO ; (A) structure chimique du CID 11159021 ; (B) structure chimique du CID 11048796

Le logiciel Discovery Studio visualizer a été utilisé pour identifier les résidus d'acides aminés impliqués dans les interactions entre le site actif de la protéine cible 2CEO et les fongicides. Les protéines sont des macromolécules biologiques et leur structure primaire est une séquence simple de résidus d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques. Les protéines ont la capacité de se lier de manière réversible à un grand nombre de molécules organiques ou ioniques par des liaisons et d'interactions non covalentes dont les principales étant les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes.

Nous avons choisi d'étudier les interaction des 11 meilleurs ligands portant les codes : **86138, 91731, 86398, 11159021 11158353, 11048796, 47898, 91727, 10935908, 71230671, 3391107**, parmi 61 ligands dont l'énergie d'interaction a été calculée lors des expériences de doking .

Le tableau suivant résume les différentes interactions.

Tableau 4 : interactions des 11 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine 2CEO.

PUBCHEM ID	Acides aminés	INTERACTIONS
86138	LYS : A270	PI-CATION
	ARG : A381	CARBON HYDROGEN BOND
	ALA : A27	ALKYL + PI-ALKYL
	ARG : A378	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A269	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A376	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A248	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A276	ALKYL + PI-ALKYL
91731	SER : A266	HALOGEN (FLUORINE)
	ASN : A273	CARBON HYDROGEN BOND
	ARG : A381	CARBON HYDROGEN BOND
	LYS : A270	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND
	GLN : A238	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND
	ARG : A378	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A269	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A376	ALKYL + PI-ALKYL
	86398	GLU : A377
ARG : A381		CONVENTIONAL HYDROGEN BOND

	ARG : A378	CARBON HYDROGEN BOND
	LYS : A270	CARBON HYDROGEN BOND
	LEU : A269	PI-ALKYL
	LEU : A376	PI-ALKYL
11159021	ARG : A381	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND + CARBON HYDROGEN BOND + PI-CATION
	LYS : A270	UNFAVORABLE DONOR -DONOR + PI-SIGMA
	ARG : A378	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A269	ALKYL + PI-ALKYL
11158353	ASN : A273	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND
	SER : A23	CARBON HYDROGEN BOND + PI-CATION
	SER : A24	CARBON HYDROGEN BOND + PI-CATION
	LYS : A270	CARBON HYDROGEN BOND + PI-CATION
	ARG : A381	CARBON HYDROGEN BOND + PI-CATION
	LEU : A269	HALOGEN (FLUORINE)
	LEU : A376	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
11048796	ARG : A 381	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND + CARBON HYDROGEN BOND + PI-CATION
	LYS : A270	UNFAVORABLE DONOR -DONOR + PI-SIGMA

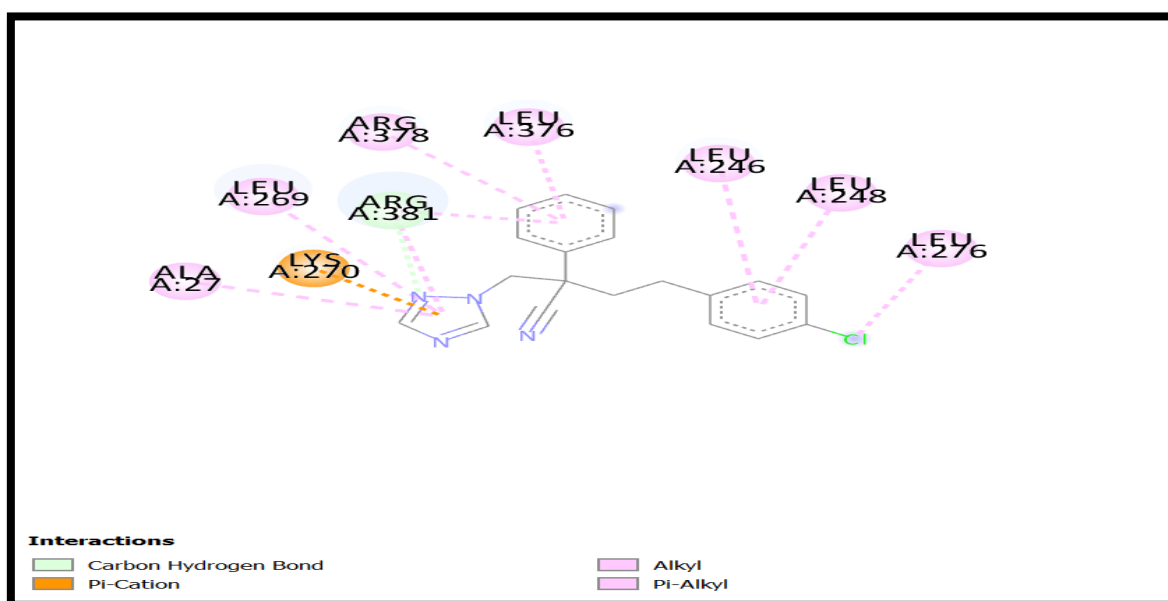
	ARG : A378	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A269	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
47898	LYS : A270	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND
	ALA : A27	ALKYL + PI-ALKYL
	ARG : A381	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A248	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A269	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A376	ALKYL + PI-ALKYL
91727	ARG : A378	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND + PI- SIGMA
	TRP : A272	AMIDE-PI STACKED
	ASN : A273	HALOGEN (FLUORINE)
	ARG : A381	HALOGEN (FLUORINE)
	LEU : A248	PI-ALKYL
	LEU : A269	PI-ALKYL
	LEU : A376	PI-ALKYL
10935908	ASN : A273	CONVENTIONAL HYDROGEN BOND
	GLN : A238	CARBON HYDROGEN BOND
	LEU : A269	CARBON HYDROGEN BOND
	ARG : A381	PI-SIGMA
	ALA : A27	ALKYL + PI-ALKYL

	LYS : A270	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A376	ALKYL + PI-ALKYL
71230671	TRP : A272	HALOGEN (FLUORINE)
	ARG : A378	PI-CATION
	LEU : A376	PI-SIGMA
	ARG : A381	PI-SIGMA
	ALA : A27	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A 248	ALKYL + PI-ALKYL
	SER : A 24	CARBON HYDROGEN BOND
	LEU : A269	CARBON HYDROGEN BOND
	ASN : A273	CARBON HYDROGEN BOND
3391107	SER : A23	HALOGEN (FLUORINE)
	ARG : A378	CARBON HYDROGEN BOND
	SER : A24	CARBON HYDROGEN BOND
	ARG : A 381	PI-SIGMA
	ALA : A27	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A269	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A376	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A246	ALKYL + PI-ALKYL
	LEU : A276	ALKYL + PI-ALKYL

Le mode des interaction entre chaque ligands avec le protéine 2CEO :

2-1 La stabilité du complexe formé est régit par divers interactions que nous avons schématisé sur la figure (11) ci-dessous, le composé **86138** a présenté un score de liaison de -8kcal/mol avec la création d'une liaison Pi-cation avec acide aminés (LYS :A 270), une liaison hydrogène avec acide aminés (ARG :A 381) et sept liaison Alkyl – Pi alkyl avec les acides aminés (ALA : A27 ; ARG : A378 ; LEU : A269 ;LEU :A 376 ;LEU :A246 ;LEU : A248 ; LEU : A276) .

(A)



(B)

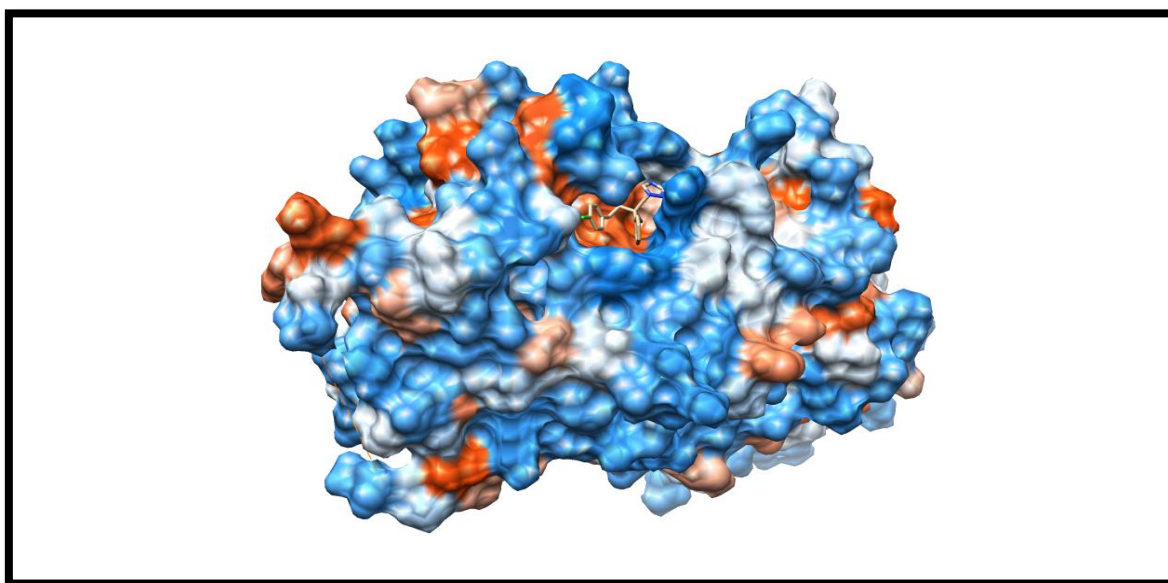
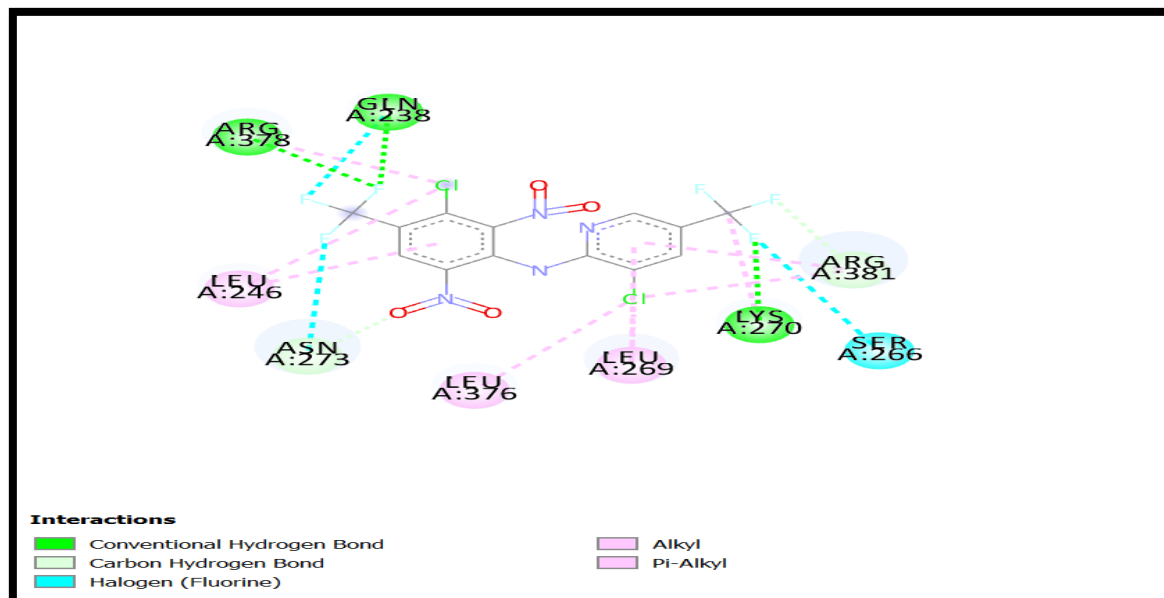


Figure 11: (A) la visualisation des interactions 2D du composé 86138 avec la protéine 2CEO. (B) superposition de la FENBUCONAZOLE dans le site actif de 2CEO.

2-2 La stabilité du complexe formé est régit par divers interactions que nous avons schématisées sur la figure (12) ci –dessous , le composé **91731** a présenté un score de liaison de -8 kcal / mol avec la création d'une liaison Halogène (fluorine) avec le résidu (SER A :266) et cinq liaison Hydrogène (ASN A :273) ; (ARG A :381) ; (LYS A :270) ; (GLN A :238) ; (ARG A : 378) . et trois liaison alkyl –Pi alkyl avec acide aminée (LEU A : 246) ; (LEU A : 269) ; (LEU A : 376) .

(A)



(B)

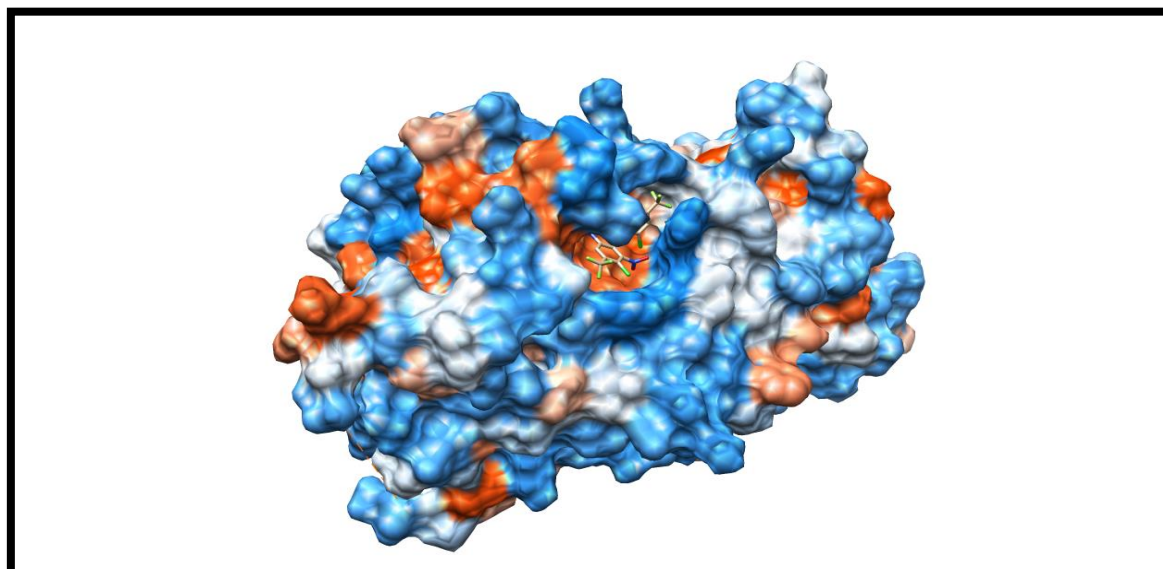
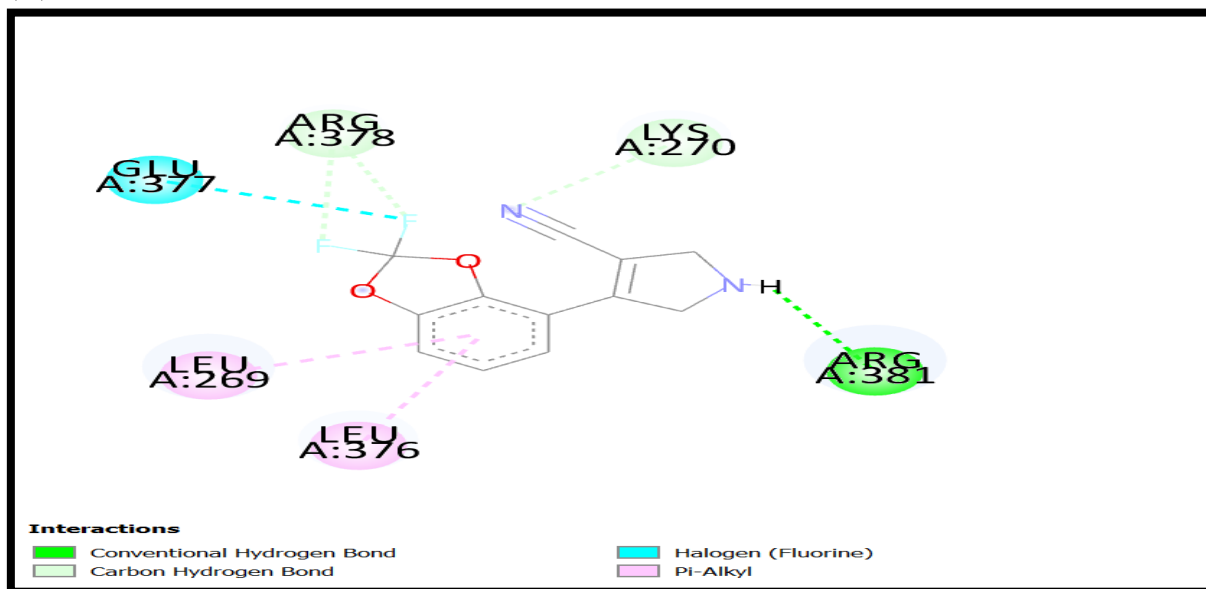


Figure 12 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 91731 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de la FLUZINAM dans le site actif de 2CEO.

2-3 La stabilité du complexe formé est régit par divers interactions que nous avons schématisées sur la figure (13) ci –dessus , le composé **86398** a présenté un score de liaison de $-8,1$ kcal / mol avec la création d'une liaison Halogène avec acide aminées (GLU A :377) et trois liaisons Hydrogène avec les acides aminées (ARG A :381) ; (ARG A : 378) ; (LYS A : 270) , et deux liaisons Pi Alkyl avec les résidu (LEU A : 269) ;(LEU A : 376) .

(A)



(B)

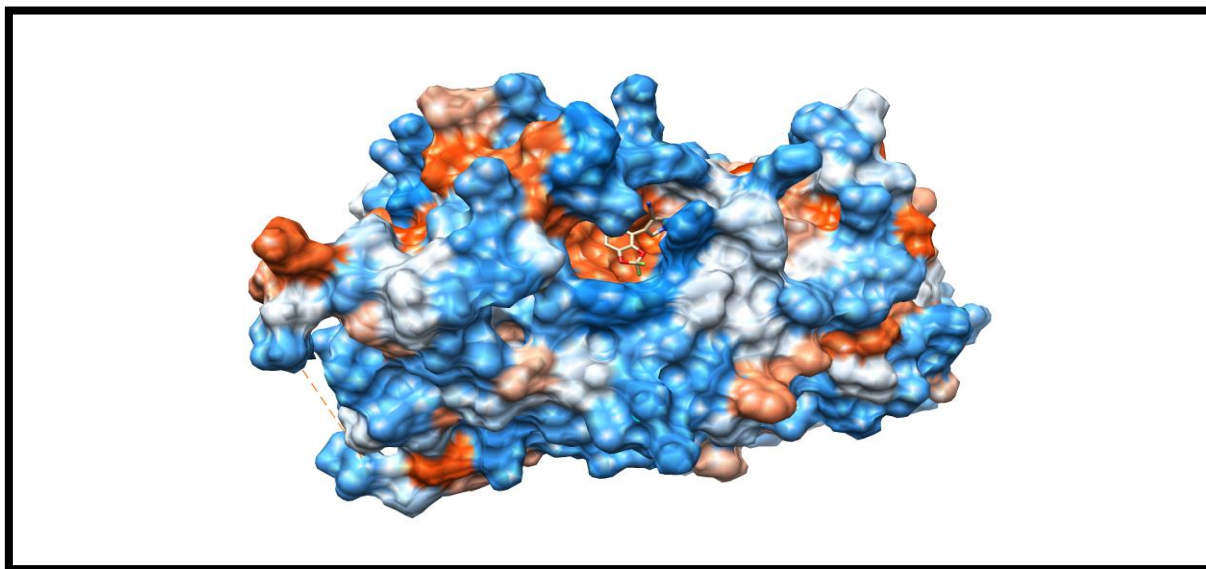
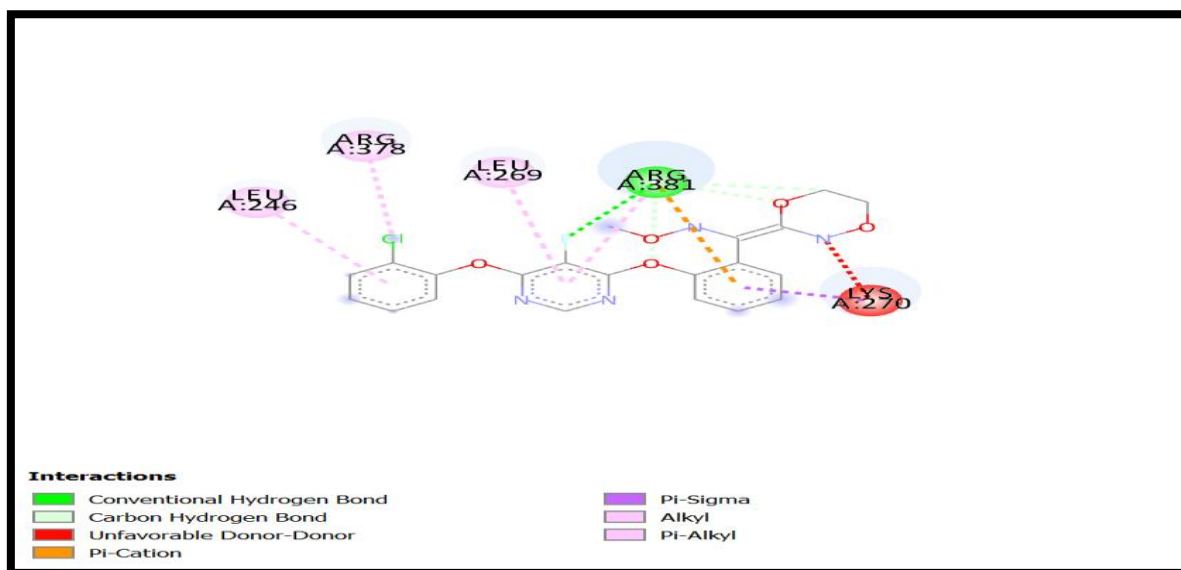


Figure 13 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 86398 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de la FLUDIOXONIL dans le site actif de 2CEO.

2-4 La stabilité du complexe formé est régit par divers interactions que nous avons schématisées sur la figure (14) ci –dessus , le composé **11159021** a présenté un score de liaison de $-8,5$ kcal / mol avec la création d'une liaison Pi cation +deux liaisons Hydrogène avec le acide aminées (ARG A : 381) , une liaison Unfavorable donor-donor et liaisons Pi sigma avec acide aminées (LYS A : 270), et trois liaisons Alkyl - Pi Alkyl avec les résidus (ARG A : 378) ; (LEU A : 246) ; (LEU A : 269) .

(A)



(B)

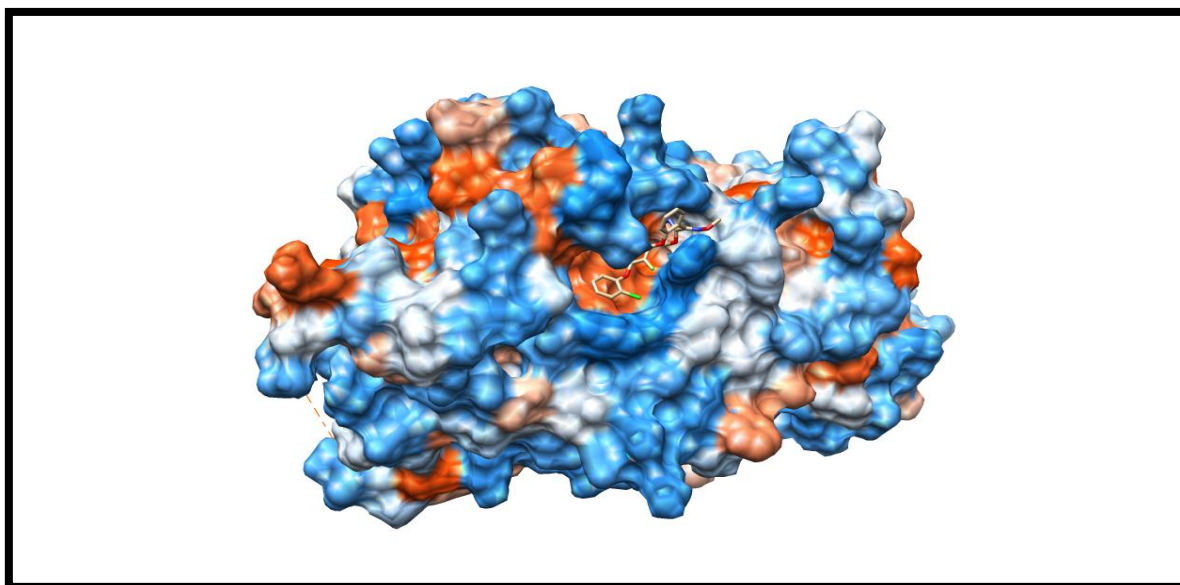


Figure 14 : (A) la visualisation des interactions de composé 11159021 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de la FLUOPICOLIDE dans le site actif de 2CEO.

La stabilité du complexe formé est régit par divers interactions que nous avons schématisées sur la figure(15) ci –dessus (annexes) , le composé **11158353** a présenté un score de liaison de **- 8,4 kcal / mol**, Au total, **8** résidus d'acides aminés de la protéine *TBG* ont été engagés dans différentes interactions moléculaires avec **FLUOPYRAM**, ce ligand a formé une interaction de liaison hydrogène avec aa (**ASN A : 273**), De plus une liaison hydrogène + Pi cation avec les résidus (**SER A : 23**) ; (**SER A :24**) ;(**LYS A :270**) ; (**ARG A : 381**) , une liaison halogène avec acide aminées (**LEU A : 269**), et deux liaisons Alkyl - Pi Alkyl avec (**LEU A : 376**) ; (**LEU A : 246**). De la même manière, le composé **11048796** a présenté un score de liaison de **- 8,5kcal / mol** .Au total, **5** résidus d'acides aminés de la protéine *TBG* ont été engagés dans différentes interactions moléculaires avec **FLUOXASROBIN** ,la figure(16) ci –dessous (annexes). deux liaison Hydrogène + Pi cation avec acide aminées (**ARG A : 381**) , une liaison UNFAVORABLE DONOR-DONOR + Pi sigma avec les résidus (**LYS A : 270**) , et trois liaison Alkyl -Pi Alkyl avec les résidus (**ARG A :378**) ;(**LEU A :269**) ; (**LEU A : 246**) . pour le composé **47898** présente une score de liaison de **-8,4Kcal/mol** , Au total, **7** résidus d'acides aminés de la protéine *TBG* ont été engagés dans différentes interactions moléculaires avec **FLUOTOLANIL** ,la figure(17) ci –dessus (annexes) . la création d'une liaison hydrogène avec acide aminé (**Lys A :270**) et six liaisons Pi-Alkyl + Alkyl avec les résidus (**ALA A :27**) , (**ARG A :381**) , (**LEU A :246**) , (**LEU A :248**) , (**LEU A :269**) , (**LEU A : 376**) .pour le composé **91727** présente une score de liaison de **-8,4Kcal/mol** ,L'analyse structurale a révélé que **FLUTRIAFOL** emballé contre **7** résidus d'acides aminés de la protéine *TBG* ,la figure(18) ci –dessous (annexes) .Ce ligand a formé d'une liaison HYDROGENE + Pi-SIGMA avec acide aminé (**ARG : A378**) et une liaison amide-Pi STACKED avec acide aminé (**TRP : A272**) et deux liaisons halogène avec les acides aminés (**ASN A :273**) , (**ARG A :381**) et trois liaisons Pi-Alkyl avec les acides aminés (**LEU A :248**) , (**LEU A :269**) , (**LEU A :376**) .

La stabilité du complexe formé est régit par divers interactions que nous avons schématisées sur la figure (19) ci –dessous (annexes) , le composé **10935908** (**MANDESTROBIN**) présente une score de liaison de **-8 Kcal/mol** avec la création d'une liaison hydrogène avec acide aminé (**ASN :A273**) et deux liaisons CARBON HYDROGENE BOND avec acide aminé (**GLN A :238**) , (**LEU A :269**) et une liaison Pi-Alkyl avec acide aminé (**ARG : A381**) et quatre liaisons Pi-Alkyl + Alkyl avec les résidus (**ALA A :27**) , (**LYS A :270**) , (**LEU A :246**) (**LEU A :376**) , ensuite le composé **71230671** présente une score de liaison de **-8,2 Kcal/mol** avec la création d'une liaison HALOGEN avec acide aminé

(TRP A :272) et une liaison Pi-cation avec acide aminé (ARG A :378) et deux liaisons Pi-SIGMA avec acide aminés (LEU : A376) , (ARG A:381) et deux liaisons Pi-Alkyl + Alkyl avec acides aminés (ALA : A27) , (LEU : A 248) et trois liaisons CARBON HYDROGENE BOND avec acides aminés (SER A :24) , (LEU A :269) , (ASN A :273) figure (20) ci – dessous (annexes).

La stabilité du complexe formé est régit par divers interactions que nous avons schématisées sur la figure (21) ci –dessous(annexes) , le composé **3391107** présente une score de liaison de **-8Kcal/mol** avec la création d'une liaison HALOGEN avec acide aminé (SER A :23) et deux liaisons CARBON HYDROGENE BOND avec les acides aminées (ARG A :378) , (SER A :24) et liaison Pi-SIGMA avec acide aminé (ARG A :381) et cinq liaisons Pi-Alkyl + Alkyl avec acides aminés (ALA A :27) , (LEU A :269) , (LEU A :376) , (LEU A :246) , (LEU A :276) .

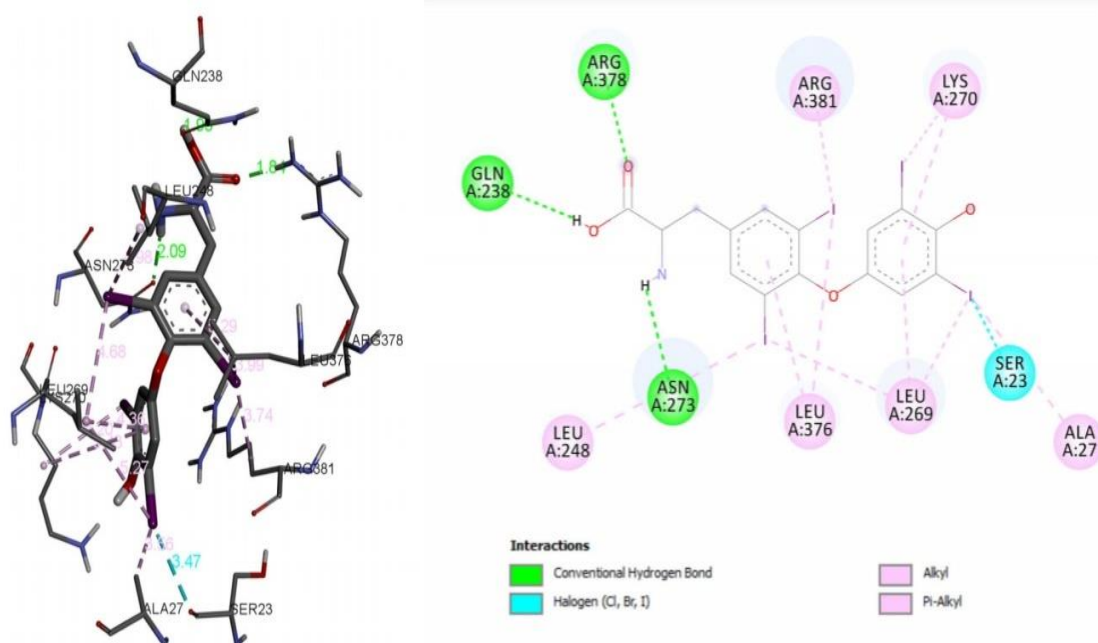


Figure 22: la thyroxine ligand native et son interaction avec la protéine 2CEO(36)

Les interactions ligand protéine sont importantes pour évaluer la stabilité de la fluctuation conformationnelle du modèle de ligand protéine (36), dans le but de savoir le site de fixation dans la protéine cible 2CEO, nous avons comparé la similitude entre les acides aminés par lesquels le ligand thyroxine se fixe avec la protéine 2CEO, et les acides aminés de chacun des 11 composés ayant les meilleures affinités contre le site actif de la protéine 2CEO. Les interactions du ligand natif thyroxine avec 2CEO ont été exposées en **Figure 22** avec les résidus concernés LEU : A248 ; LEU : A269 ; LEU : A376 ; SER : A23 ; ALA : A27 ; LYS : A270 ; ARG : A381 ; ARG : A378 ; ASN : A273 ; GLN : A238 (36). Les résidus en commun avec le composé **86138** par rapport au ligand THYROXINE étaient LYS : A270 ; ARG : A381 ; ALA : A27 ; LEU : A269 ; ARG : A378 ; LEU : A376 ; LEU : A248. Pour le composé **91731** les AA en commun : (ASN : A273 ; ARG : A381 ; LYS : A270 ; GLN : A238 ; ARG : A378 ; LEU : A269 ; LEU : A376), les AA en commun avec le composé **86398** : ((ARG : A381 ; ARG : A378 ; LYS : A270 ; LEU : A269 ; LEU : A376.) Pour le composé **11158353** les AA en commun : ASN : A273 ; SER : A23 ; LYS : A270 ; ARG : A381 ; LEU : A269 ; LEU : A376.

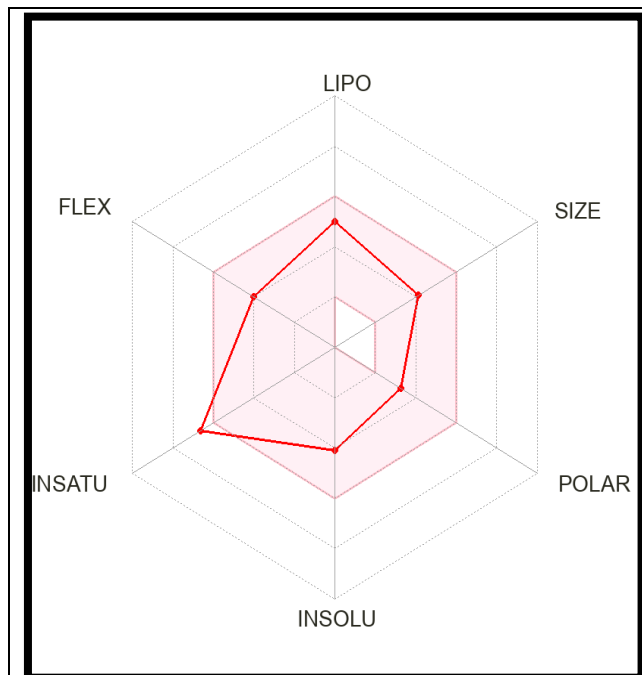
Les acides aminés : ARG : A381 ; LYS : A270 ; ARG : A378 ; LEU : A269. sont les résidus des interactions de la ligand natif thyroxine avec 2CEO qui étaient en commun avec les deux composés **11159021** et **110448796** ; il y a six AA qui sont en commun avec le composé **91727** : ARG : A378 ; ASN : A273 ; ARG : A381 ; LEU : A248 ; LEU : A269 ; LEU : A376 et 6 AA avec le composé **3391107** : SER : A23 ; ARG : A378 ; ARG : A381 ; ALA : A27 ; LEU : A269 ; LEU : A376, sept résidus en commun avec le composé **10935908** : : ASN : A273 ; GLN : A238 ; LEU : A269 ; ARG : A381 ; ALA : A27 ; LYS : A270 ; LEU : A376 et Pour le composé **71230671** les AA en commun : ARG : A378 ; LEU : A376 ; ARG : A381 ; ALA : A27 ; LEU : A248 ; LEU : A269 ; ASN : A273 ; et pour le composé **47898** il s'agit de 6 AA en commun : ALA : A27 ; ARG : A381 ; LYS : A270 ; LEU : A248 ; LEU : A269 ; LEU : A376

Chaque molécule potentiellement bioactive doit se conformer à plusieurs critères de base, tel sa solubilité, sa stabilité, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, métabolisme, d'excrétion et de toxicité qui est basée sur la règle de 5 formulée par Lipinski. Cette règle décrit un ensemble de critères, permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D). (37)

Les critères sont :

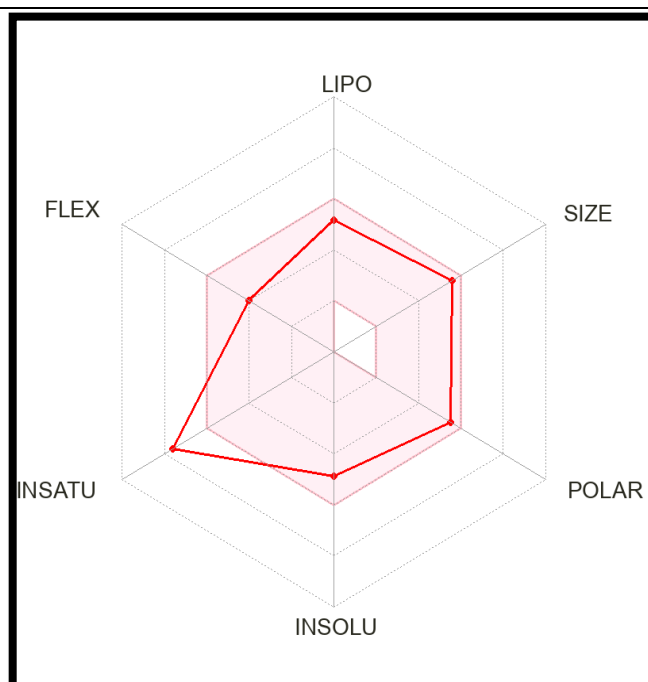
- Un poids moléculaire (PM) inférieur ou égale à 500 g/mol ;
- Log P inférieur ou égale à 5 ;
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 5 ;
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 10.

Les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des 11 principaux ligands ont été évaluées à l'aide de du site Web SwissADME(**figure 23**) en vue de déterminer le potentiel pharmacologique de chacun de ces composés sur la base de la règle de Lipinski



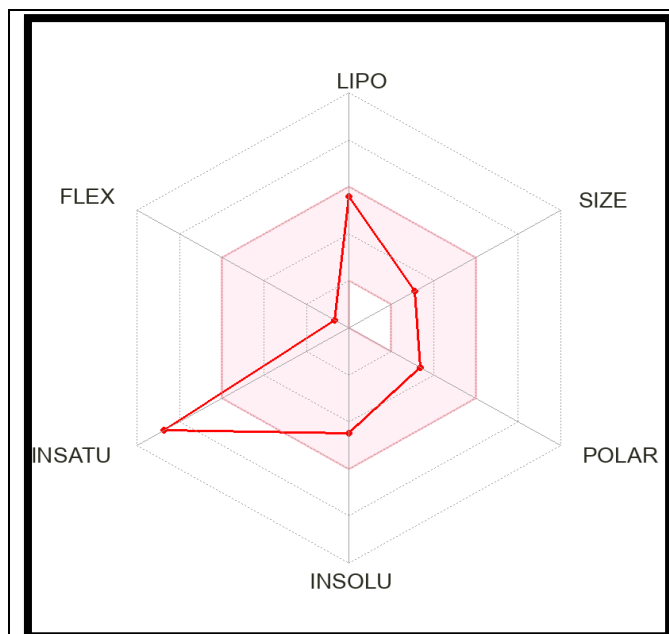
Code : 86138

Molécule : fenbuconazole



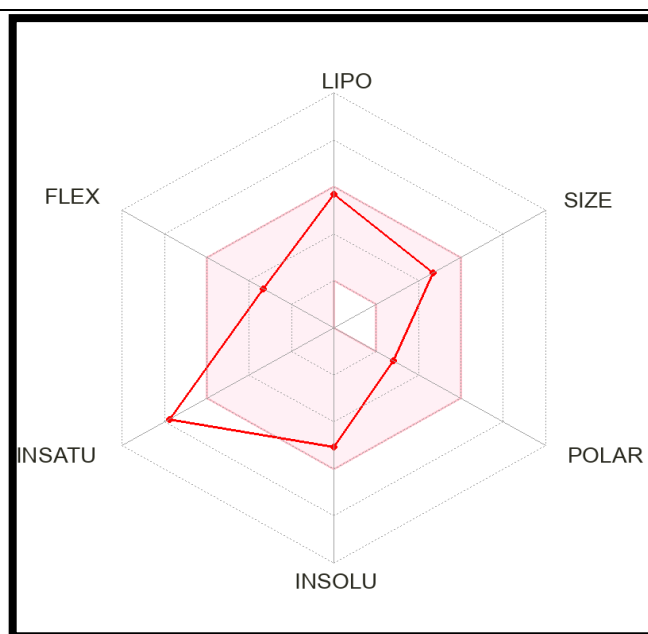
Code : 91731

Molécule : fluazinam



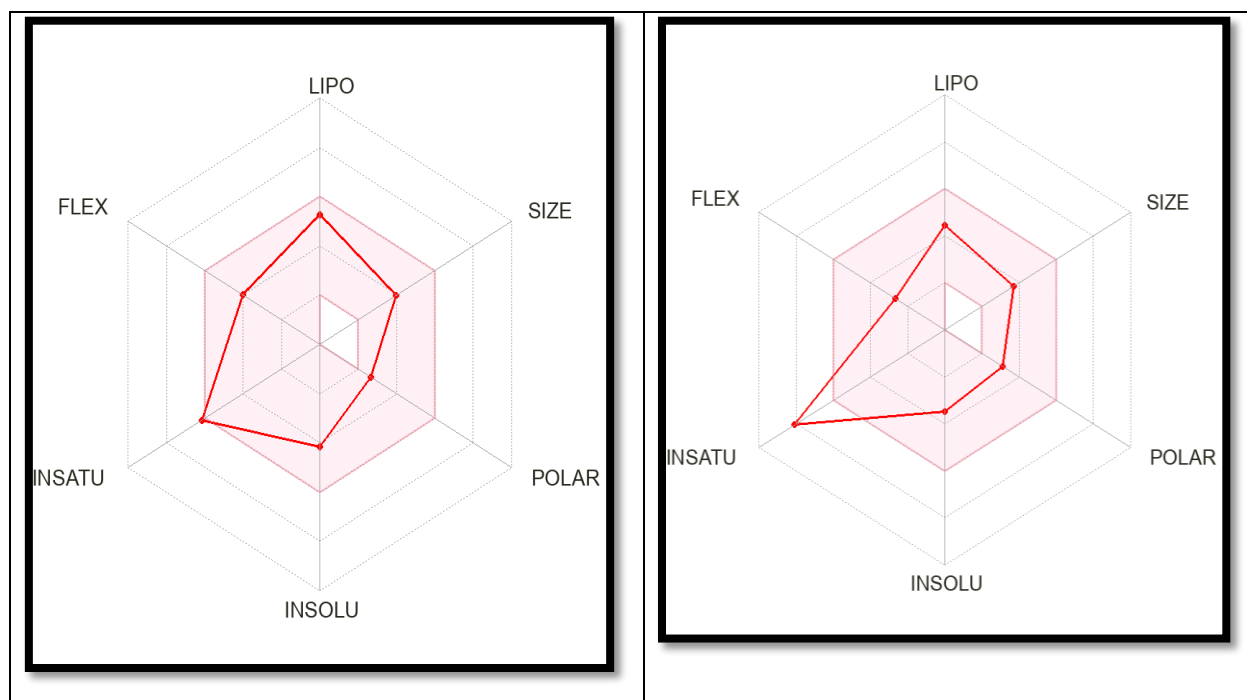
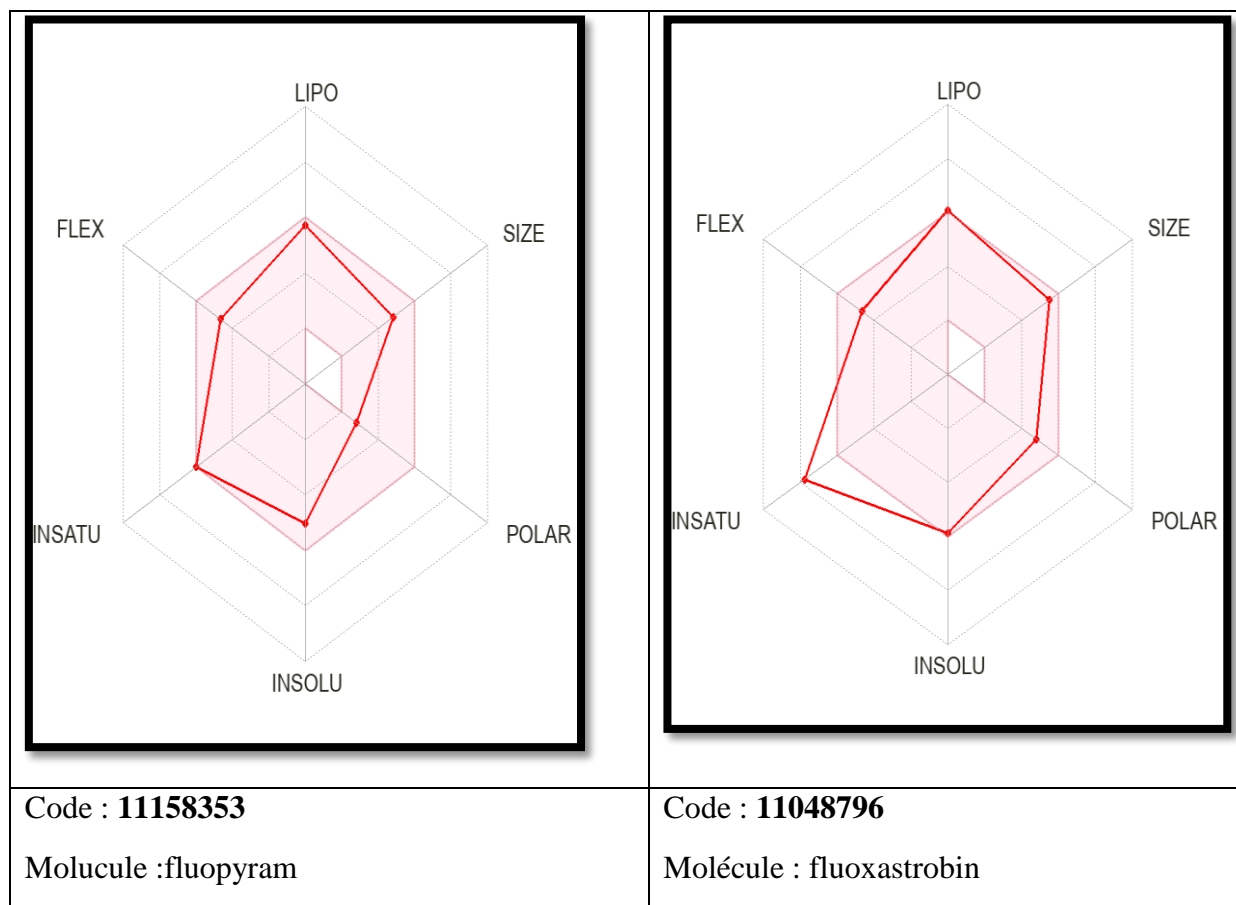
Code : 86398

Molécule : fluodioxonil

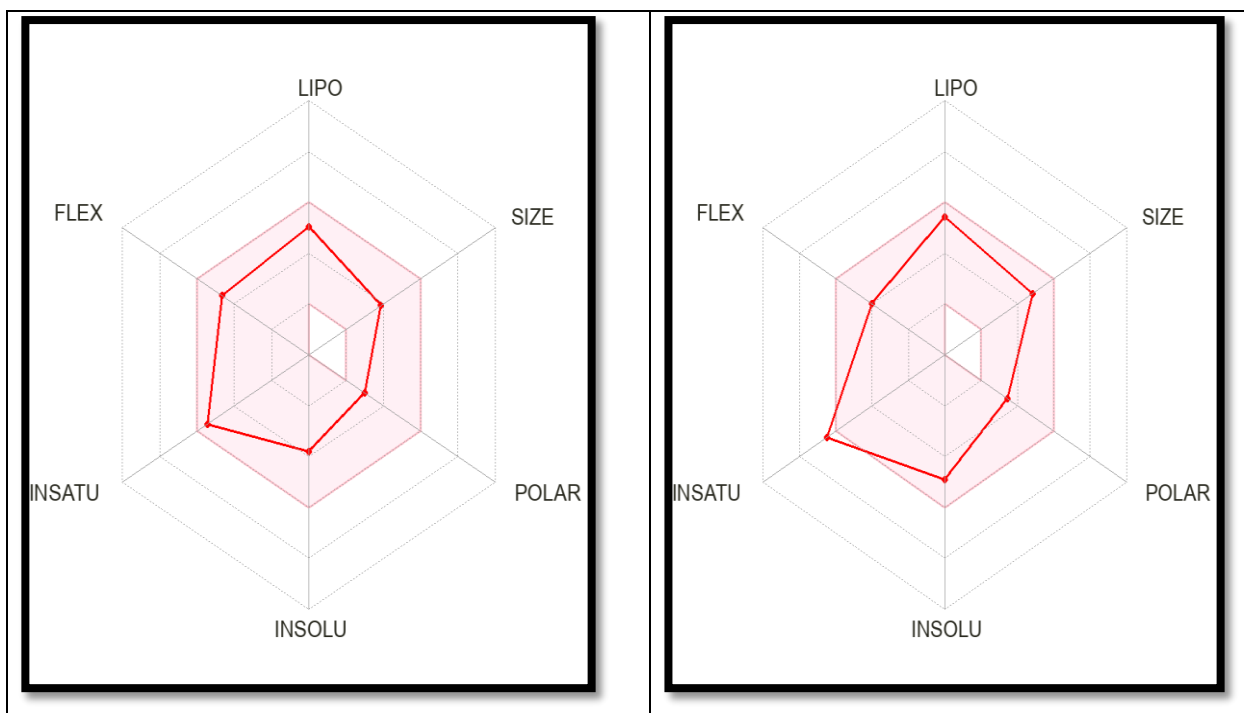


Code : 11159021

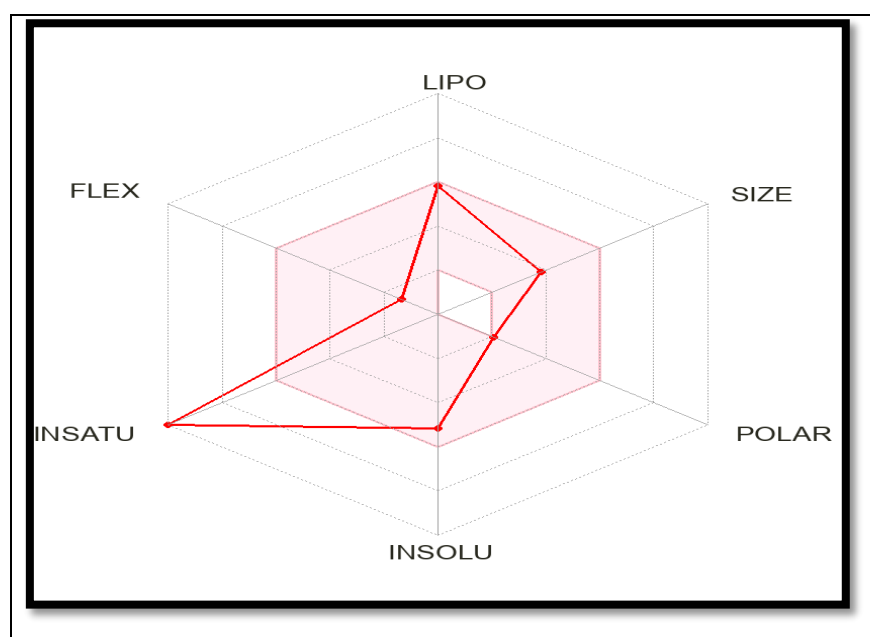
Molécule : fluopicolide



Code : 47898 Molécule : flutolanil	Code : 91727 Molécule : flutriafol
--	--



Code : 10935908 Molécule ; mandestrobine	Code : 71230671 Molécule : menefentrifluconazole
--	--



Code : 3391107

Molécule : quintec

Figure-23 : Les propriétés ADME des 6 principaux ligands portant les codes : 86138-91731-86398-11159021-11158353-11048796-47898-91727-10935908 71230671-3391107

- ❖ La règle de Lipinski, également connue sous le nom de règle 5, le composé qui ne réponde pas à au moins trois des cinq critères est susceptible de poser des problèmes d'administration orale
- lipophilie (XLOGP3 entre - 0,7 et + 5,0),
 - le poids moléculaire (entre 150 et 500 g/mol),
 - la polarité (entre 20Å et 130Å),
 - l'insolubilité (log S ESOL entre 0 et -6),
 - l'insaturation (fraction Csp3 entre 0.25 et 1)
 - la flexibilité (entre 0 et 9)

Le tableau suivant résume les différents résultats de l'application de la règle de lipinski :

Tableau-05 : Propriétés pharmacocinétiques des 11 principaux ligands.

Molécule	LIPO Lipophil ity	POLAR(A ²)Polarit y	INSOLU Insolubili ty	INSTAT UInsatur ation	FLEX Flexibility	Lipinski(Pfizer) filter
86138	3.23	54.50	-4.09	0.21	6	Yes : 0 violation
91731	2.17	70 .74	-3.59	0.08	4	Yes : 0 violation
86398	4.30	58.04	-4.47	0.08	1	Yes : 0 violation
11159021	4.43	41.99	-5.07	0.14	5	Yes : 0 violation

11158353	4.52	41.99	-5.03	0.25	7	Yes : 0 violation
11048796	5.13	96.65	-5.87	0.14	7	Yes : 0 violation
47898	3.70	38.33	-4.17	0.24	6	Yes : 0 violation
91727	2.30	50.94	-3.46	0.12	4	Yes : 0 violation
10935908	3.31	47.56	-3.79	0.32	7	Yes : 0 violation
71230671	4.01	60.17	-4.90	0.22	6	Yes : 0 violation
3391107	4.66	22.12	-5.15	0.00	2	Yes; 1 violation: MLOGP>4.15

III. Discussion générale :

L'exposition aux fongicide est connu pour avoir un potentiel de perturbation de la thyroïde.

La globuline liant la thyroxine est principalement responsable de la liaison et transporter les hormones thyroïdiennes vers les tissus nécessaires. Des anomalies fonctionnelles et une quantité altérée de *TBG* peuvent être responsables de variations des quantités totales d'hormones thyroïdiennes. Des anomalies et une quantité altérée de *TBG* peuvent être responsables de variations des quantités totales d'hormones thyroïdiennes (27). Des études antérieures ont déterminé que Le tébuconazole a montré une bonne interaction avec *2CEO*; le fongicide tébuconazole a démontré des effets considérables potentiel de toxicité par interaction avec les protéines *TBG* et *SHBG*; la stabilité les interactions du tébuconazole peuvent entraîner des déséquilibres hormonaux et finalement les toxicités endocriniennes et reprotoxiques.(36)

Nous avons analysé l'interaction *in silico* de certains fongicides avec Thyroxine-binding globulin; les 11 fongicide a démontré des interactions alkyl pi alkyl, les interactions hydrogene, pi cation et pi sigma. Deux fongicides (fluopicolide et fluaxostrobin) ayant un même ΔG très faible (une bonne affinité avec la protéine *2CEO*); montrent après la comparaison entre les interactions (*2CEO* – ligand native) figure (22) une similitude sur les quatre acides aminés (ARG381-ARG378-LYS270-LEU269). Nous pouvons donc postuler que ces AA appartiennent au site de fixation dans la protéine *2CEO* ;

Selon d'autres études, l'analyse structurelle a révélé que métabolite bisphénol A (MBP) emballé contre 17 résidus d'acides aminés de la protéine *TBG*. Ces résidus étaient Ser-23, Ser-24, Ala-27, Gln-238, Leu-246, Leu-248, Ser-266, Leu-269, Lys-270, Trp-272, Asn-273, Leu-276, Leu-374, Leu-376, Arg-378, Arg-381 et Ile-383; ont indiqué que le MBP a la plus grande affinité de liaison pour le *TBG* le MBP a le potentiel le plus élevé parmi l'ensemble donné de composés pour perturber le transport des hormones thyroïdiennes et les voies de signalisation thyroïdienne. L'ingérence dans le transport thyroïdien va ensuite perturber l'homéostasie de la T4 dans la circulation entraînant une fonction hormonale thyroïdienne défavorable.(38) analogues du BPA formaient des interactions importantes avec un certain nombre de résidus de *TBG* Sur la base de l'affinité de liaison, LES ANALOGUES BPA semblent avoir une plus grande thyroïde-potentiel perturbateur(39); DE LA GLANDE thyroïde contrôle négatif mone-dépendant de la concentration de *TBG*, ces changements liés à l'âge de la concentration de *TBG* correspondent aux niveaux d'ARNm de *TBG*. C'est aussi l'augmentation de la concentration de *TBG* est associée à une augmentation de la ARNm *TBG* dans le foie La concentration de *TBG* est régulée par les hormones thyroïdiennes ainsi que les hormones sexuelles. L'hyperthyroïdie est associée à diminution des concentrations de *TBG* et hypothyroïdie(40)

D'après les résultats de la prédiction *in silico* des propriétés physico chimique, nous avons observé que dix composé respectent la règle de lipinski; donc ce résultat reflète une prédiction d'une bonne absorption par voie orale .et les 10 fongicide peuvent être toxiques. Les résultats obtenus dans cette étude sont prometteurs, et il est nécessaire d'approfondir les études sur ces molécules fongicides.



Conclusion Générale

Notre travail avait pour but essentiel d'étudier par docking moléculaire les interactions entre la protéine thyroxine binding globulin et certains fongicide.

Nous avons étudié 61 composé (fongicides) ; le logiciel Auto dock vina est appliqué afin d'obtenir les énergies d'interactions entre la cible protéique et les différents ligands.

Nos résultats ont montré que 11 fongicides présentent de bonnes énergies d'interactions avec la protéine *2CEO*. La prédiction de l'affinité pour la cible a été complétée par une prédiction des paramètres pharmacocinétique et toxicité ; 10 composé ont montré les meilleures propriétés ADMET.

Ceci indique que ces fongicides peuvent entraîner des déséquilibres hormonaux et finalement des effets délétères sur l'organisme.

Enfin nous pouvons dire que cette étude peut être approfondie, en faisant appel à d'autres programmes d'étude *in silico*, et éventuellement de pour suivre les études *in vitro* et *in vivo* sur ces fongicides .

Référence bibliographiques

(1) richel. Guide pratique de toxicologie. Paris, 2002. [Www.deboeck.com](http://www.deboeck.com)

(2) NEO, A., & SYN, N. Pesticides Fongicides et

(3)Gupta, P. K. (2018). Toxicity of herbicides. In *Veterinary toxicology* (pp. 553-567). Academic Press.

(4)KHIAT, L., & GUERFI, S. (2018). Mise en évidence, in vitro, de l'effet d'un fongicide systémique sur l'antracnose de la tomate. Page 21 , 22

(5)Maufras, J. Y. (2002). *Fongicides des céréales et protéagineux*. Institut technique des céréales et des fourrages. Page 216

(6)Djouamaa, M., Debabsa, R., & Bouasla, S. (2008). Comportement morphologique, physiologique et biochimique de trois variétés de blé dur (*Triticum durum. desf*) sous traitement par un fongicide. *TILT 250EC*). *DES Biologie et Médecine Universitaire de Souk-Ahras, 41*.

(7)Youbi, M. (2005). *Effets des deux fongicides artea et punch nouvellement introduits en algérie sur la physiologie et le métabolisme respiratoire du blé dur (triticum du rum desf)* (Doctoral dissertation, Annaba) page 64 .

(8) Nabila, A. MÉMOIRE DE M.

(9) LAIFA, A. Recensement Et Classification Des Pesticides Dans Le Ziban De L'EST.

(10) Corbaz, R. (1990). Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. PPUR

Presses polytechniques.

(11) Amghar, D. (2019). Contribution à l'étude de l'influence d'un herbicide, le Glyphosate et d'un

Fongicide, le Mancozèbe, sur la germination, la croissance et la physiologie de deux céréales:

Hordeumvulgare L. et Avenasativa L (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

(12) Amgoud, H. (2015). Influence de deux fongicides sur la germination, la croissance et la teneur en

Proline de quelques variétés de blé (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

(14)Bechairia Somia, B. B. (2022). Enquête sur les fongicides utilisés dans la région de Guelma, mode d'action, homologation et évaluation des quantités utilisées.

- (16) d'Ariane, F. Évaluation préalable de six substances inscrites sur la Liste intérieure des substances.
- 18) Massart, C., & Corbineau, E. (2006). Transporteurs d'iodures et fonction thyroïdienne. *Immuno-analyse & biologie spécialisée*, 21(3), 138-143.
- (20) Wémeau, J. L. (2022). *Les maladies de la thyroïde*. Elsevier Health Sciences.
- (21) Salomon, KA (2019). *Modélisation moléculaire et conception de médicaments*. Editeur MJP.
- (22) Pr A.Boudjemaa, 2014/Fac.Méd/Dépt.méd UDL/ Physiologie. Mémoire 3
- 23) Hoffenberg, R., & Ramsden, D. B. (1983). The transport of thyroid hormones. *Clinical Science*, 65(4), 337-342.
- (24)Xavier, D. I. E. U. (2019). Resistance to thyroid hormone and analytical interferences.
- (25)Furman, B. L. (2017). Thyroxine.
- (26) Leclère, J., Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J. L., & Wemeau, J. L. (2001). *La thyroïde: des concepts à la pratique clinique*. Paris: Elsevier.
- (27) Pappa, T., Ferrara, A. M., & Refetoff, S. (2015). Inherited defects of thyroxine-binding proteins. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29(5), 735-747.
- (28) Gershengorn, M. C., Cheng, S. Y., Lippoldt, R. E., Lord, R. S., & Robbins, J. (1977). Characterization of human thyroxine-binding globulin. Evidence for a single polypeptide chain. *Journal of Biological Chemistry*, 252(23), 8713-8718.
- (29) Salvatore, D., Davies, T. F., Schlumberger, M. J., Hay, I. D., & Larsen, P. R. (2016). Thyroid physiology and diagnostic evaluation of patients with thyroid disorders. In *Williams textbook of endocrinology* (pp. 333-368). Elsevier.
- (30)Pappa, T., & Refetoff, S. (2017). Thyroid hormone transport proteins: thyroxine-binding globulin, transthyretin, and albumin.
- (31) Stanzione, F., Giangreco, I., & Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry*, 60, 273-343.
- (32)Fougere, É. (2019). La maladie de Basedow. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(588), 13-15.
- (34) Nowak, F. V. (2009). *The Thyroid Gland: Function and Regulation*. Ohio University.
- (35) Bouchagra, S. (2018). *MODELISATION DES INTERACTIONS PROTEINE-PETITES MOLECULES: ETUDE DE LA RELATION STRUCTURE-FONCTION DANS LE CAS DES LIPASES* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat]. Annaba: Université Badji Mokhtar).
- (36) Abdi, S. A. H., Alzahrani, A., Asad, M., Alquraini, A., Alghamdi, A. I., & Sayed, S. F. (2021). Molecular docking and dynamics simulation to screen interactive potency and stability of fungicide tebuconazole with thyroid and sex hormone- binding globulin:

Implications of endocrine and reproductive interruptions. *Journal of Applied Toxicology*, 41(10), 1649-1659.

37) Boucherit, H., Chikhi, A., Bensegueni, A., Merzoug, A., Hioual, K. S., & MOKRANI, E. (2013). L'amarrage moléculaire: une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose. *Review of Industrial Microbiology Sanitary and Environnemental*, 7, 133-149.

(38) Sheikh, I. A. (2020). Molecular interactions of thyroxine binding globulin and thyroid hormone receptor with estrogenic compounds 4-nonylphenol, 4-tert-octylphenol and bisphenol A metabolite (MBP). *Life sciences*, 253, 117738.

(39) Beg, M. A., & Sheikh, I. A. (2020). Endocrine disruption: Molecular interactions of environmental bisphenol contaminants with thyroid hormone receptor and thyroxine-binding globulin. *Toxicology and Industrial Health*, 36(5), 322-335.

(40) Schussler, G. C. (2000). The thyroxine-binding proteins. *Thyroid*, 10(2), 141-149.

41) Lalmi, F., Sadoul, J. L., & Rohmer, V. (2015, October). Les cancers de la thyroïde: de l'épidémiologie à la biologie moléculaire. In *Annales d'Endocrinologie* (Vol. 76, No. 6, pp. S19-S28). Elsevier Masson.

Les site web :

(13) <https://www.futura-sciences.com/planete/questions-reponses/agriculture-pesticides-pays-plus-gros-consommateurs-10757/#:~:text=En%20terme%20de%20valeur%20totale,sur%20les%20cultures%20en%202016.>

(15) https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiP04TFkIL_AhXh57sIHRHYCNwQFnoECAkQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.officiel-prevention.com%2Fdossier%2Fprotections-collectives-organisation-ergonomie%2Frisque-chimique-2%2Fla-prevention-des-risques-professionnels-des-fongicides&usg=AOvVaw2GHP5j3C5Xogt3M1vt0crT

(17) https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiP04TFkIL_AhXh57sIHRHYCNwQFnoECBAQAw&url=https%3A%2F%2Freporterre.net%2FLes-fongicides-dans-l-eau-potable-aggraveraient-la-maladie-d-Alzheimer-selon-des&usg=AOvVaw0iZz32WoGSsmtXRt8JhQGX

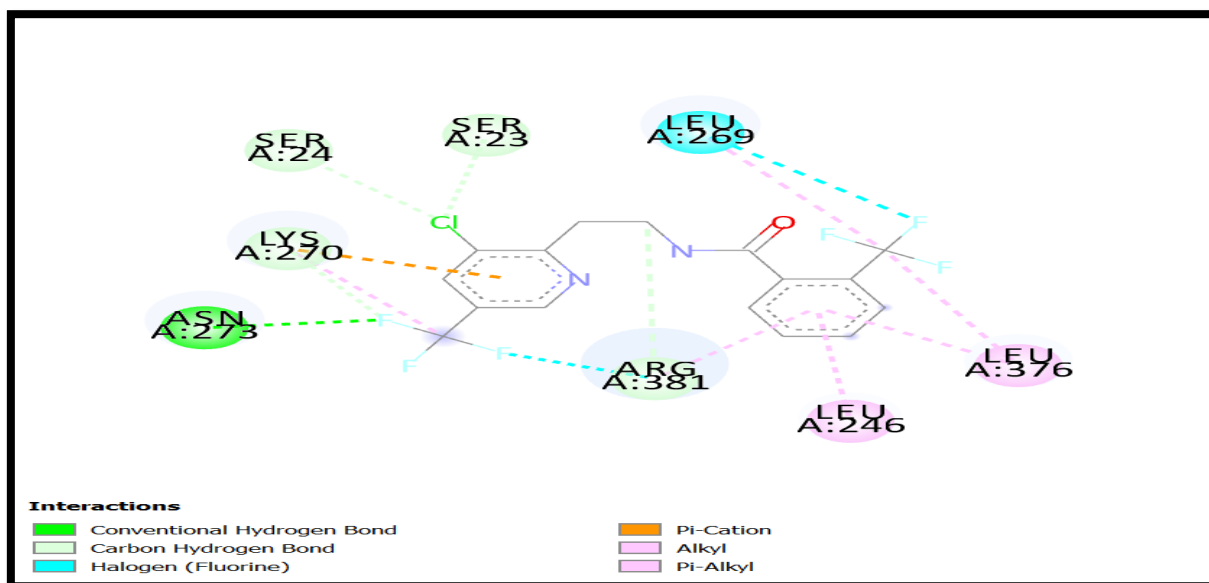
(33) <https://www.doctissimo.fr/html/dossiers/thyroide/14827-traitement-maladies-thyroide.htm>

(19) <https://sante.journal-des-femmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2538816-glande-thyroide-role-anatomie-localisation-probleme/>



ANNEXES

(A)



(B)

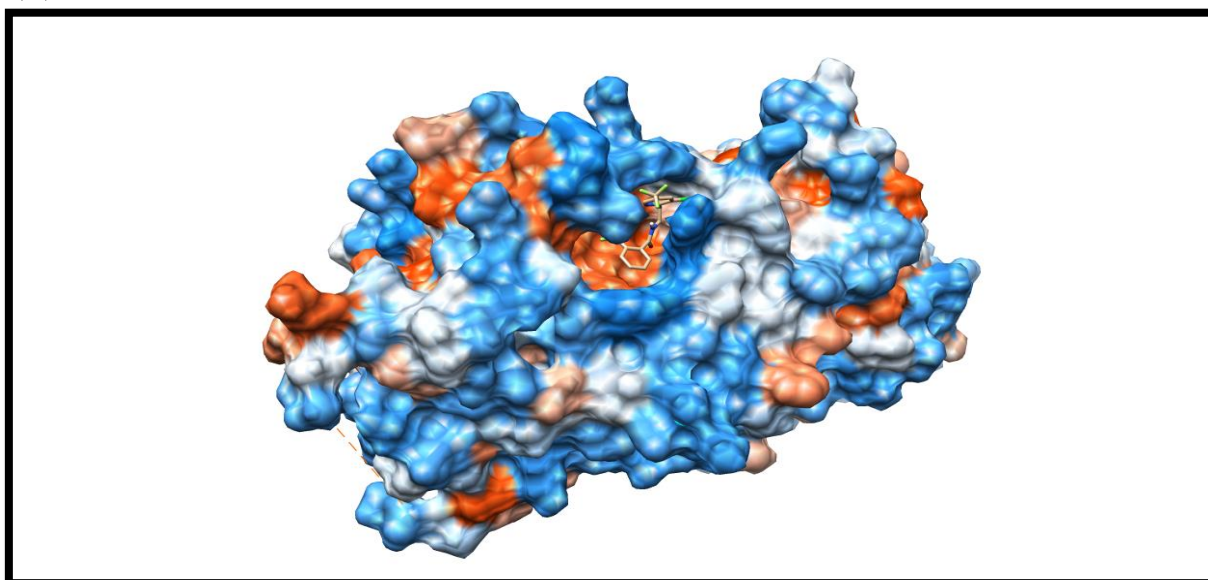
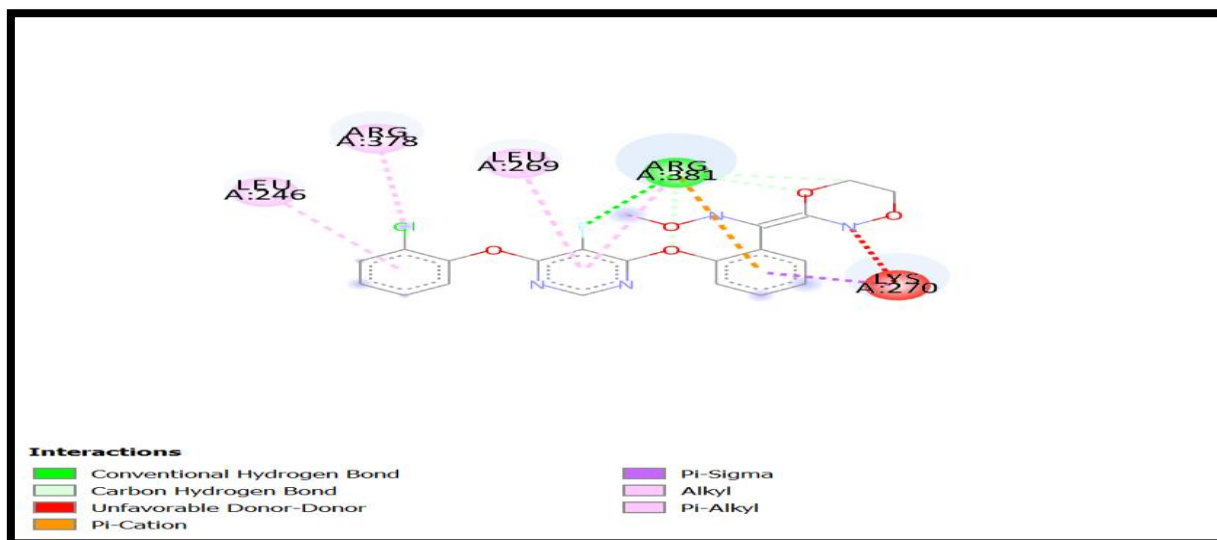


Figure15 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 11158353 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de la FLUOPYRAM dans le site actif de 2CEO.

(A)



(B)

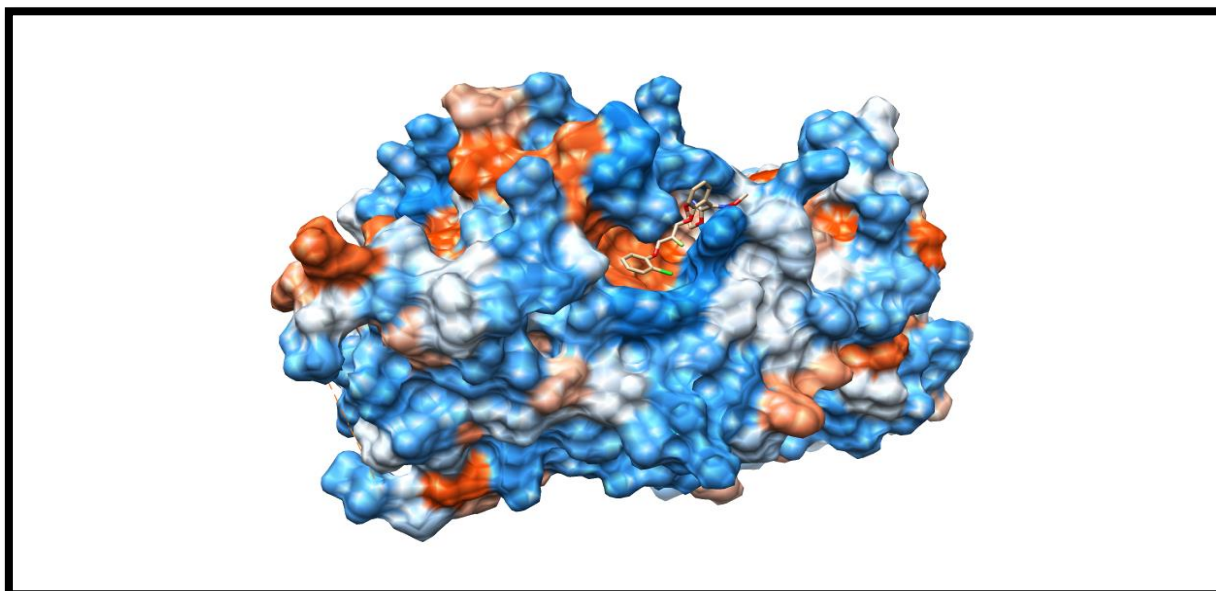
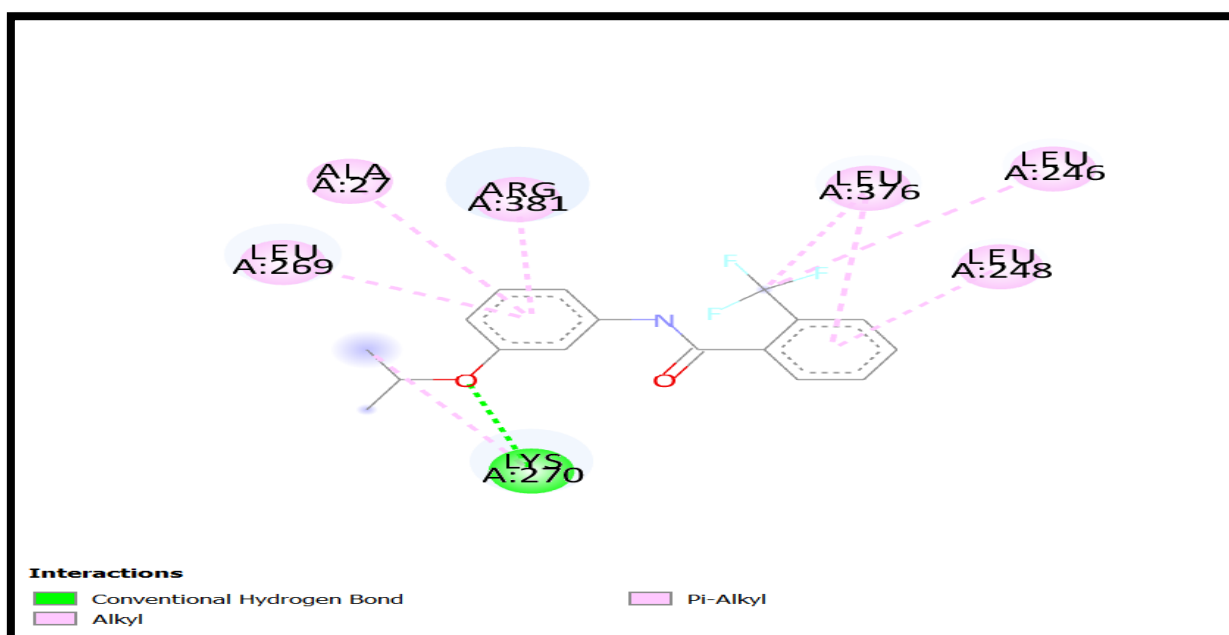


Figure 16: (A) la visualisation des interactions de composé 11048796 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de la FLUOXASROBIN dans le site actif de 2CEO.

A)



(B)

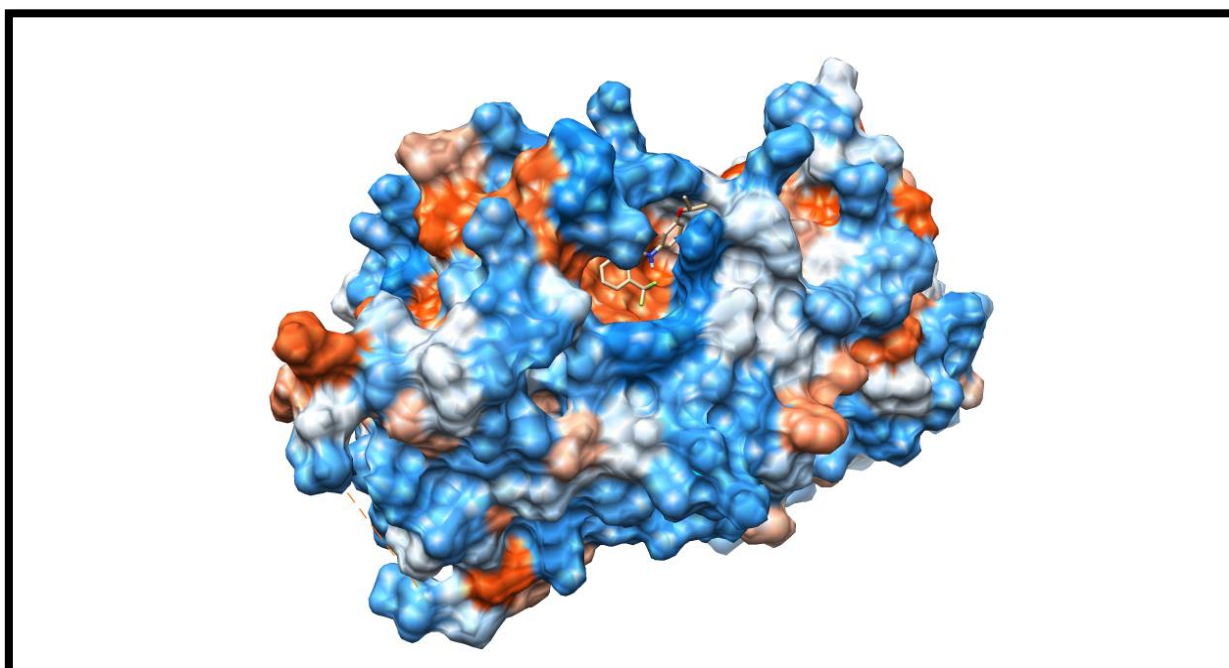
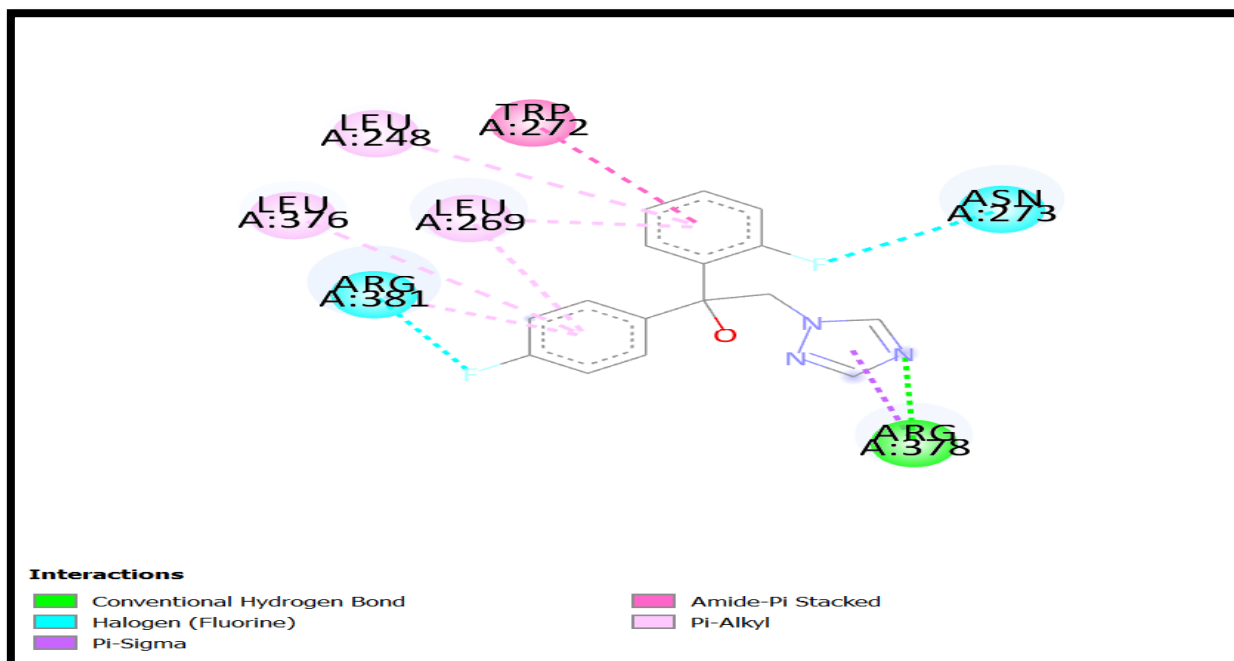


Figure 17 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 47898 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de la FLUOTOLANIL dans le site actif de 2CEO.

(A)



(B)

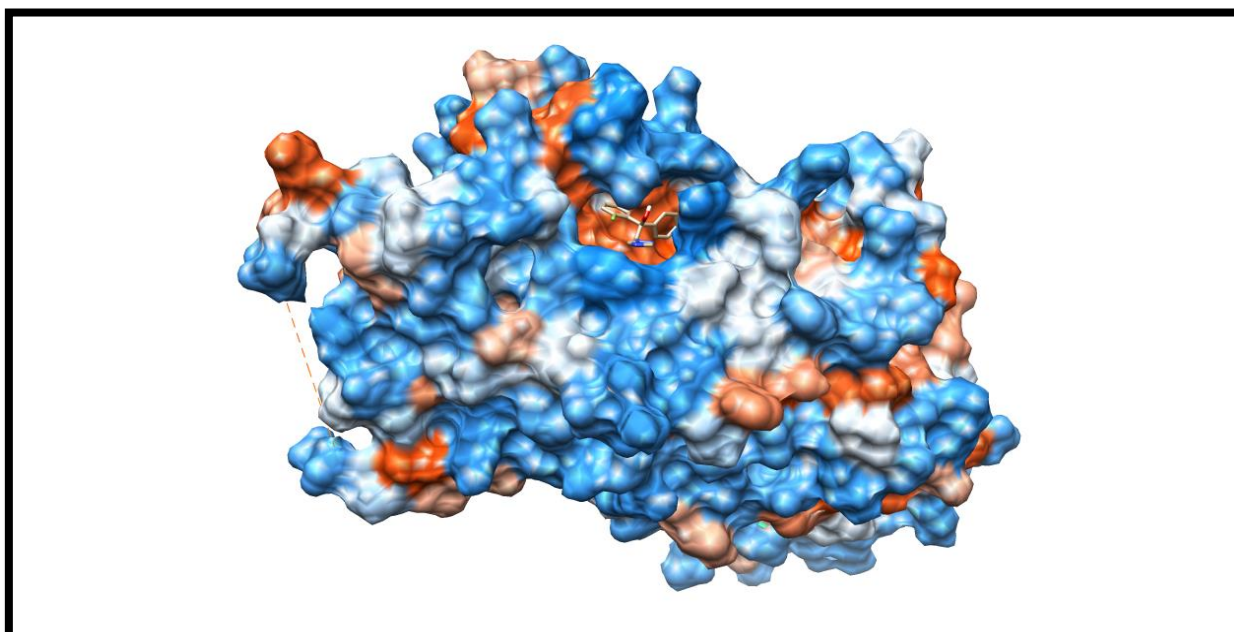
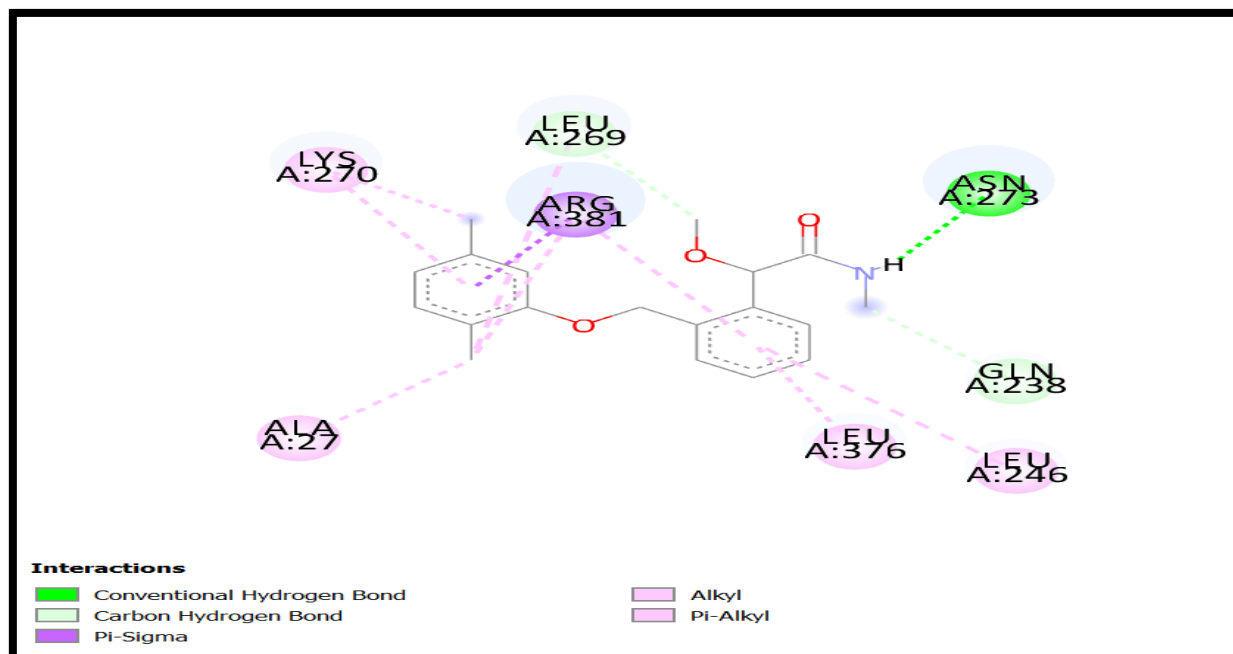


Figure 18 : (A) la visualisation des interactions de composé 91727 avec la protéine 2CEO

(B) superposition de la FLUTRIAFOL dans le site actif de 2CEO

(A)



(B)

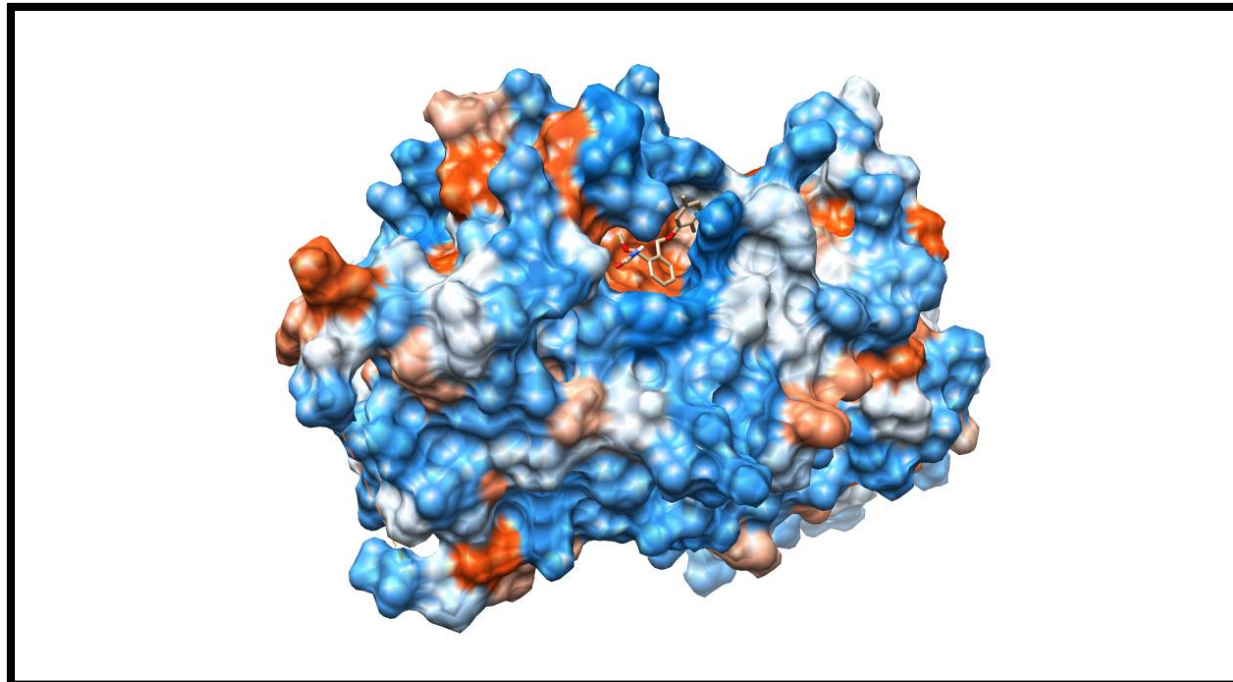
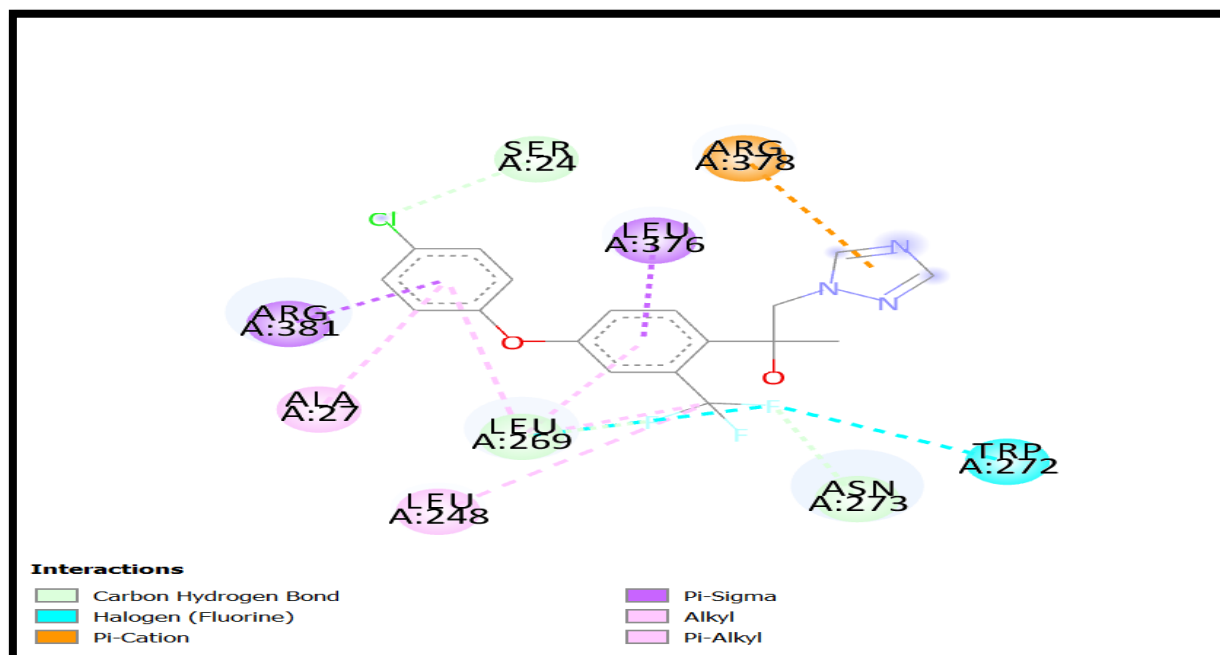


Figure 19 : (A) la visualisation des interactions 2D de composé 10935908 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de MANDESTROBIN dans le site actif de 2CEO.

(A)



(B)

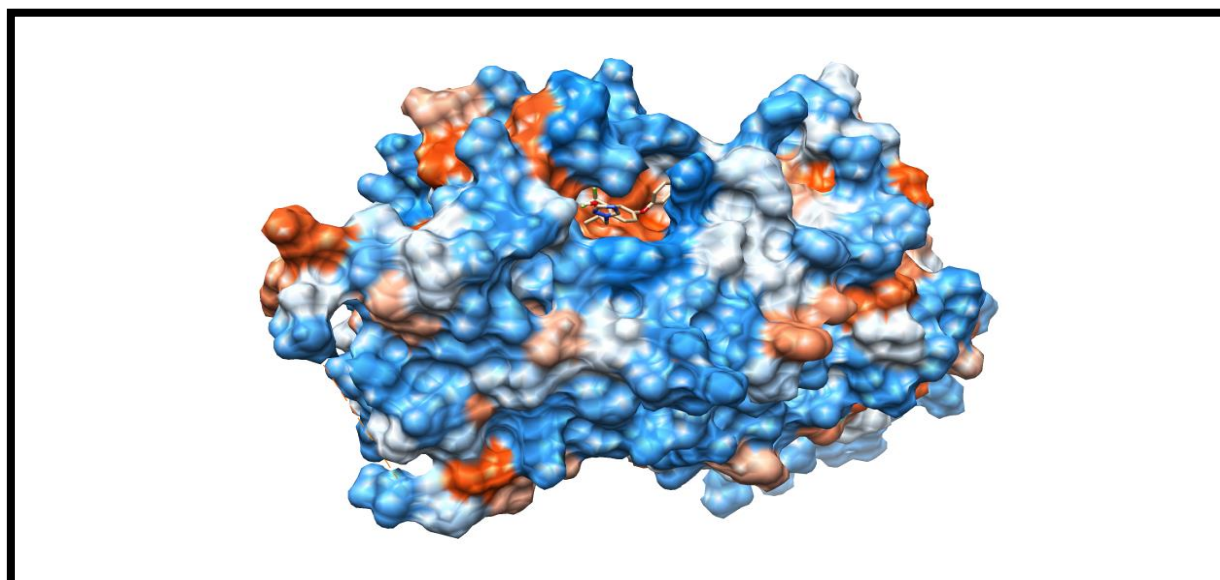
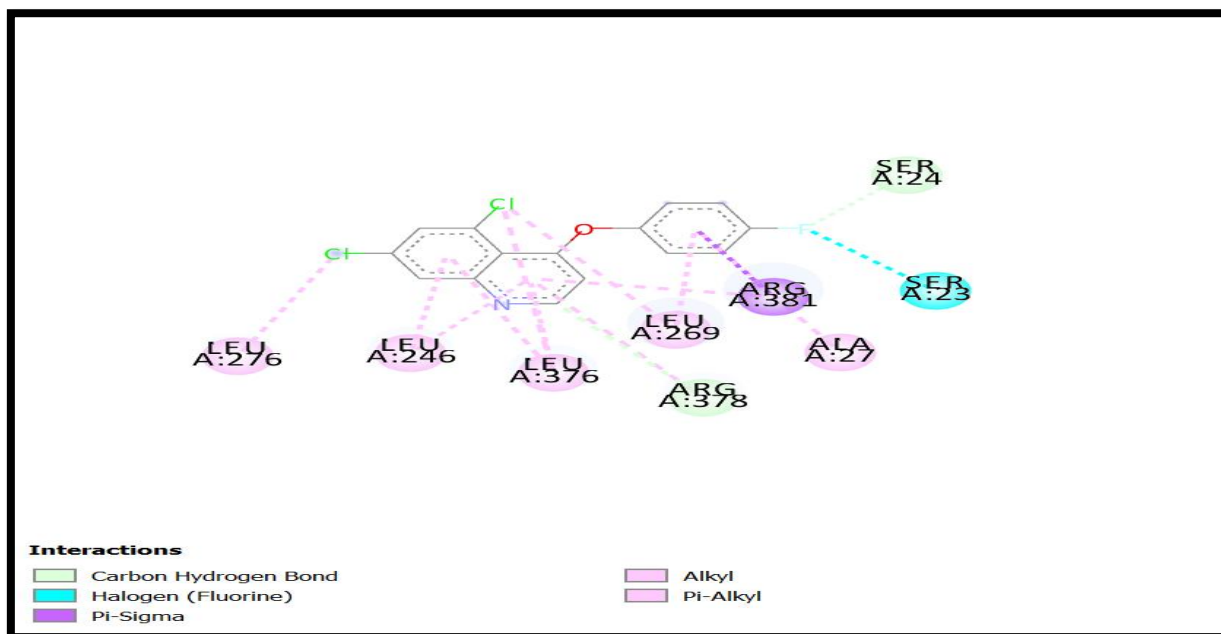


Figure 20 : (A) la visualisation des interactions de composé 71230671 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de mefentrifluconazol dans le site actif de 2CEO.

(A)



(B)

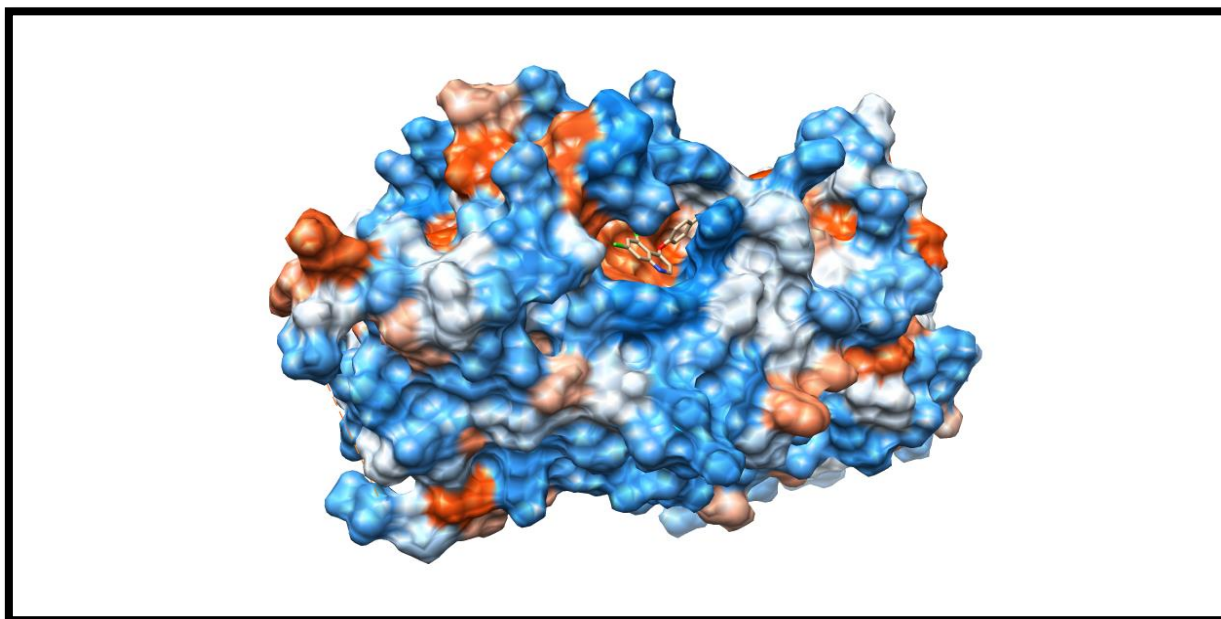


Figure 21: (A) la visualisation des interactions de composé 3391107 avec la protéine 2CEO.

(B) superposition de QUINTEC dans le site actif de 2CEO.

ملخص

مبيدات الفطريات هي أيضًا منتجات كيميائية للصحة النباتية مصممة للقضاء على الفطريات الطفيلية للنبات أو الحد منها. تعتبر مبيدات الفطريات سامة بشكل عام للإنسان ، وفي هذا السياق ، قمنا بتقييم سمية 61 مبيد فطري على نشاط الجلوبيولين المرتبط بهرمون الغدة الدرقية.

طبقنا تقنية الالتحام الجزيئي (في دراسة silico) من أجل ترشيد ونمذجة طريقة تفاعل هذه الروابط مع 2CEO بروتين لتقييم طاقة المجمعات التي تم الحصول عليها (برنامج autodock vina) مدمج في برنامج UCSF Chimera. أخيرًا ، تم استخدام خادم SwissADME لتقييم الخصائص الحركية الدوائية والتنبؤ بمعلمات ADME.

أظهرت النتائج أن عشر جزيئات التالية ، فينبوكونازول ، فلوزينام ، فلوديوكسونيل ، فلوبيكوليد ، فلوبييرام ، فلوكساستروبين ، فلوتولانيل ، فلوتريافول ، ماندستروبين ، ميفنتريفلوكونازول أكثر سمية على نشاط الجلوبيولين المرتبط بهرمون الغدة الدرقية.

الكلمات الدالة :

مبيدات الفطريات ، الجلوبيولين المرتبط بهرمون الغدة الدرقية (2CEO) ، الالتحام الجزيئي ، في silico.

Résumé

Les fongicides sont des substances chimiques phytosanitaires conçus pour éliminer ou limiter le développement des champignons parasites des végétaux. Les *fongicides* sont généralement *toxiques* pour l'humain, Dans ce contexte, nous avons évalué la toxicité de 61 fongicides sur l'activité de la thyroxine-binding globulin.

Nous avons appliqué le technique du docking moléculaire (étude in silico) afin de rationaliser et modéliser le mode d'interaction de ces ligands avec la protéine 2CEO pour l'évaluation de l'énergie des complexes obtenus (logiciel autodock vina) intégré dans le logiciel UCSF Chimera . Enfin, le serveur SwissADME été utilisé pour l'évaluation des propriétés pharmacocinétique et la prédiction des paramètres ADME.

Les résultats trouvés ont montré que les dix molécules suivantes fenbuconazole, fluazinam, fludioxonil, fluopicolide, fluopyram, fluoxastrobin, flutolanil, flutriafol, mandestrobin, mefentrifluconazole sont parmi les plus toxiques sur l'activité de la thyroxine-binding globulin et méritent d'être étudiés plus en profondeur.

Mots clés :

Fongicides, thyroxine-binding globulin (2CEO), docking moléculaire, in silico.

Abstract

Fungicides are phytosanitary chemical products designed to eliminate or limit the development of plant parasitic fungi.

Fungicides are generally toxic to humans. In this context, we evaluated the toxicity of 61 fungicides on the activity of thyroxine-binding globulin.

We applied the molecular docking technique (in silico study) in order to rationalize and model the mode of interaction of these ligands with the 2CEO protein for the evaluation of the energy of the complexes obtained (autodockvina software) integrated into UCSF Chimera software. Finally, the SwissADME server was used for the evaluation of pharmacokinetic properties and the prediction of ADME parameters.

The results found showed that following ten molecules fenbuconazole, fluazinam, fludioxonil, fluopicolide, fluopyram, fluoxastrobin, flutolanil, flutriafol, mandestrobin, mefentrifluconazole are more toxic on the activity of thyroxine-binding globulin.

Key words:

Fungicides, thyroxine-binding globulin(2CEO), molecular docking, in silico.