

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية - البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction protéine-Ligand : cas du thymol et d'adhésine 4le8 de *Candida albicans*.

Présenté par : BOURBOUHAT Mounia
BOUTAOUTAOU Sara

Le 30/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : BENLOUNISSI Aïcha (MC-A- ENSB).
Examinatrice 1 : BECHKRI Sakina (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinatrice 2 : CHAOUI Naouel (Professeur Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية - البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction protéine-Ligand : cas du thymol et d'adhésine 4le8 de *Candida albicans*.

Présenté par : BOURBOUHAT Mounia
BOUTAOUTAOU Sara

Le 30/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : BENLOUNISSI Aïcha (MC-A- ENSB).
Examinatrice 1 : BECHKRI Sakina (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examinatrice 2 : CHAOUI Naouel (Professeur Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements



Nous exprimons tout d'abord nos profonds remerciements à Allah qui nous a donné le courage et la volonté de mener à terme cette étude.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme Aïcha Benlounissi d'avoir accepté d'encadrer ce mémoire, pour ses conseils et orientations fructueuses pour la confiance qu'elle nous a accordé tout au long de la réalisation de ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et notre gratitude envers tous ceux qui nous ont soutenu et encouragé tout au long de cette traversée du désert et nous ont permis de redoubler d'effort et de persévérance.

Nos vifs remerciements vont à Madame Chaoui Naouel (Professeur, à l'UFMC₁) ainsi qu'à Madame Bechkri Sakina (Maître de Conférences classe A, à l'UFMC₁) qui ont accepté d'examiner ce mémoire.

Dédicaces

*En premier lieu et avant tout,
Je prie Dieu de m'avoir donné la volonté et le courage d'achever
mes études.*

J'ai l'honneur de dédie ce travail :

*A mes très chers parents (Nora et Salim),
qui m'ont soutenus et encouragés durant toute la période de mes
études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie, que Dieu
les protège et me donne la force pour que je puisse leurs rendre
un petit peu de leurs bien faits,
Je ne peux jamais arriver à faire ça.*

A ma petite soeur Manel et mes chers frères Saber Et Raouf

A mes chère(s) copin(e)s,

Mes princes Walid et Anes.

*A mes amies Amina, Medjda et Meriem et également ma
binôme Mounia.*

En fin, à tous ceux que j'aime.

Sara♥

Dédicaces

Nous remercions ALLAH♥

*Qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage
d'entamer et terminer ce mémoire.*

Je dédie ce travail...

*À mes chers parents Idris et Nora, qui m'ont tout
donné sans rien attendre en retour.*

*A toutes ma famille ; ma sœur Madiha,
Mes frères Nasr Eddine et Nour et Islem
Et tous ceux qui me sont chers.*

À moi-même

Mounia ♥

Sommaire

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux :	ii
Liste des abréviations :	iii
Introduction générale	1
Revue bibliographique	2
Chapitre I : <i>Candida albicans</i>.	3
1. Définition.....	4
2. Taxinomie.....	4
3. Morphologie	5
5. Epidémiologie et pouvoir pathogène.....	7
6. Les facteurs de risques.....	8
Chapitre II :L'adhérence cellulaire.	8
1. Définition de l'adhérence cellulaire (L'adhésion cellulaire).....	11
1.1. Les molécules d'adhésion	11
1.2. Les types d'adhérence cellulaire :.....	13
1.3. Les étapes de l'adhérence cellulaire :	14
1.4. Le rôle de l'adhésion cellulaire :.....	15
2. Cas d'une levure, <i>Candida albicans</i>	15
2.1. Adhérence aux cellules épithéliales et endothéliales	15
2.1.2. L'adhérence aux cellules endothéliales	16
3. Croissance et formation de biofilm	16
3.1. Le cycle de vie d'un biofilm de <i>C.albicans</i>	17
4. Les adhésines.....	18
4.1. Les interactions spécifiques	18
4. 2. Les interactions non spécifiques :.....	21
Chapitre III : Le Thymol	22

1. Définition.....	23
2. la fiche de synthèse.....	23
3. Rôle du thymol	24
4. Structure chimique	24
5. Propriétés du thymol	24
7. Relation avec <i>candida albicans</i>	25
Chapitre IV :Docking moléculaire	26
1. Introduction.....	27
2.1. Le ligand	28
3. Les programmes de docking.....	29
4. Applications et avantages	30
Partie pratique	32
Chapitre I : Matériel et méthodes	33
1. Matériel	34
1.1. Microordinateur	34
1.2. Programmes	34
1.3. Banques de Données :.....	34
1.3.1. PDB.....	34
1.3.2. DrugBank.....	34
2. Les méthodes	35
2.1. Préparation de la protéine	35
2.2. Préparation du ligand	35
3. Docking Moléculaire	36
Chapitre II : Résultats et discussion	37
1. Docking moléculaire	38
2. Interaction « Thymol- Adhésine complète » (pose 2)	38
Conclusion et perspectives	43
Références bibliographiques	44

Annexes	53
Résumés	55

Liste des figures

Figure 1: <i>Candida albicans</i>	4
Figure 2: Principales morphologies des pathogènes fongiques humains. (En haut) Images de cellules de <i>C. albicans</i> visualisées par microscopie à contraste interférentiel différentiel (DIC) (barre = 10 μ m). (En bas) Représentation schématique de chaque morphologie...	5
Figure 3: La reproduction de <i>Candida albicans</i>	6
Figure 4: Molécules d'adhésion cellulaire.	11
Figure 5: Caractéristiques structurales de quatre familles de CAM	12
Figure 6: Représentation schématique de la structure des sélectines. CR : domaine homologue aux protéines régulatrices du complément, E : domaine homologue au facteur de croissance EGF (Epidermal Growth Factor), L: domaine lectinique de type C (calcium)	13
Figure 7: Les cadhérines	13
Figure 8: Formation du biofilm chez <i>Candida albicans</i>	17
Figure 9: Les étapes du développement du biofilm de <i>C. albicans</i>	18
Figure 10: Représentation de la structure peptidique adhésines (a) Hwp1, (b) Als1, (c) Als5, (d) Int1 de <i>C. albicans</i>	20
Figure 11: Le Thymol	23
Figure 12: Complexe de molécules assemblées à partir de deux molécules	27
Figure 13: Comparaison des programmes de docking	29
Figure 14: Structure 3D de l'adhésine 4LE8.	35
Figure 15: Structure 2D du thymol.	36
Figure 16: Emplacement du ligand « thymol » sur l'adhésine de <i>Candida albicans</i> ; 1 : visualisé avec autodock 4.2.6 ; 2 : visualisé avec Pymol.	39
Figure 17: Représentation du site de liaison ligand sur l'adhésine 4le8 de <i>Candida albicans</i>	39
Figure 18: Représentation des acides aminés impliqués dans la fixation du thymol sur l'adhésine 4le8 de <i>Candida albicans</i> , a : acides aminés avec ligand ; b : acides aminés sans ligand.....	40
Figure 19: Représentation des acides aminés impliqués dans la stabilité du complexe thymol-l'adhésine 4le8 de <i>Candida albicans</i> et les distances en Å°.	40

Figure 20: Les acides aminés impliqués dans la stabilité du complexe Thymol-adhésine
4le8 de *Candida albicans*. 41

Liste des tableaux :

Tableau 1: Les différentes formes de candidose.	8
Tableau 2: fiche de synthèse.....	23
Tableau 3: Programmes d'amarrage signalés et, le cas échéant, le dernier numéro de version, les références clés et les sites Web.....	30
Tableau 4: Structures de la protéine cible et du ligand natif.	38

Liste des abréviations :

ADT	AutoDock Tools
ALS	lectin-like sequence
CAM	Les molécules d'adhésion cellulaire (acronyme de l'anglais cell adhesion molecule)
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CDH	Les cadhérines
CR3	récepteur du complément de type 3
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
DIC	contraste interférentiel différentiel
ECM	Extra Cellulaire Matrice
E	épithéliales
GPI	glycosylphosphatidylinositol
ICA	les molécules d'adhésion intercellulaire
MAdCAM-1	La molécule d'adhésion cellulaire d'adressage muqueux-1
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MTL	Mating type locus
N	neurales
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PDB	Protein Data Bank (banque de donnée protéique) Protein Data Bank European (banque de donnée protéique European)
PE-CAM-1	La molécule d'adhésion plaquette-cellule endothéliale-1
P	placentaires
S	Sérine-thréonine
VCAM-1	La molécule d'adhésion vasculaire-1
VIH	Le virus de l'immunodéficience humaine

Introduction générale

Introduction générale

Les infections fongiques sont des maladies causées par des champignons microscopiques (Fungi), selon la présence de ces infections ils peuvent être cutanés (sur la peau) ou bien dans les tissus profonds par Infections Fongiques Invasive. *Candida albicans* une espèce fongique de type levure responsable d'une mycosede type candidose, c'est un saprophyte qui infecte la peau ou les muqueuses (buccales, vaginales, œsophagiques ou intestinales.) (Saidi & Sadoudi, 2018).

C. albicans un champignon opportuniste, qui est pathogène dans certains conditions en formant des amas de cellules microbienne par la formation d'un biofilm quiest l'origine de l'infection microbienne par la capacité d'adhérence aux cellules de l'hôtepar le biais des adhésines (Cotter & Kavanagh, 2000).

Il a été observé l'effet antimicrobien de l'huile extrait du thym contre la levure *candida albicans*, cette activité revient à la présence de molécules bioactives notamment le thymol, un composé phénolique aromatique connue par ses propriétés biologiques : antioxydante, pharmacologique et antifongique (Hamri & Brinis, 2018).

Le développement des outils de bio-informatique comme le docking moléculaire qui est l'une des méthodes de modélisation moléculaire est primordiale pour prédire les interactions moléculaires entre la molécule et son cible qui résulte un effet thérapeutique.

L'objectif de ce travail est de contribuer à savoir l'effet inhibiteur du Thymol sur l'adhésine de *C. albicans* et confirmer les études qui suggèrent que ce terpénoïde inhibe l'adhérence de cette levure. Le présent manuscrit est scindé en deux parties :

✚ **La première partie : partie bibliographique** ; quatre chapitres dont le 1^{er} présente des généralités sur *Candida albicans*, le 2^{ème} explique le phénomène d'adhésion et les adhésines de *C.albicans*, le 3^{ème} est sur le thymol et le dernier donne un aperçu général sur l'espèce docking moléculaire.

✚ **La deuxième partie : partie pratique composé de 2 chapitres dont le 1^{er}** englobe le matériel utilisé et les méthodes adoptées pour la réalisation de ce travail et le 2^{ème} présente et discute les résultats obtenus.

✚ Enfin, une **conclusion** générale et des perspectives viendront clôturer ce manuscrit

**Revue
bibliographique**

Chapitre I :
Candida albicans.

1. Définition

Candida albicans est la levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida* (Lachance et al., 2011) **Figure 1**. C'est un organisme mycotique ; fait partie de la famille des champignons (della Valle, 2019). Naturellement présent dans les muqueuses du corps humain, à savoir dans la bouche, les intestins, l'œsophage ainsi que sur la peau et les muqueuses génitales (Lafaurie, 2020).

Ce champignon est important d'un point de vue médicale, car il peut causer un large éventail de maladies allant d'infections superficielles à des maladies disséminées, qui se manifestent principalement chez les personnes immunodéprimées (Luo et al., 2013), un déséquilibre hormone ou un traitement par les antibiotiques répétés altèrent la flore intestinale et une candidose peut s'installer (Lafaurie, 2020).



Figure 1: *Candida albicans* (Colm, 2010).

2. Taxinomie

La classification taxonomique d'après NCBI (Schoch, et al., 2020):

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota.

Classe : Saccharomycetes

Ordre : Saccharomycetales

Famille : Debaryomycetaceae

Genre : *Candida*.

Espèce : *Candida albicans*.

Le genre *Candida* est polyphylétique car il comprend des espèces appartenant à deux groupes qui ont divergé il y a plus de 150 millions d'années. Aujourd'hui le genre comprend plus de 200 espèces (**Campus de Parasitologie-Mycologie - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), 2013**), les plus courantes en pathologie humaine sont : *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* et *C. kefyr* (**Monniot, 2012**).

3. Morphologie

Les espèces fongiques peuvent se développer sous trois formes cellulaires principales : la levure, les pseudohyphes et les hyphes. Les levures sont des organismes unicellulaires ovales qui peuvent présenter un bourgeonnement axial ou bipolaire. Les pseudohyphes et les hyphes sont souvent appelés morphologies "filamenteuses" car les cellules se développent généralement de manière polarisée, de forme allongée et connectées bout à bout. Les cellules pseudohyphales sont généralement ovales et présentent des constriction à la jonction septale. En revanche, les cellules hyphes ont généralement des côtés parallèles, sont de largeur uniforme et ont de vrais septa sans rétrécissement (**Thompson et al., 2011**).

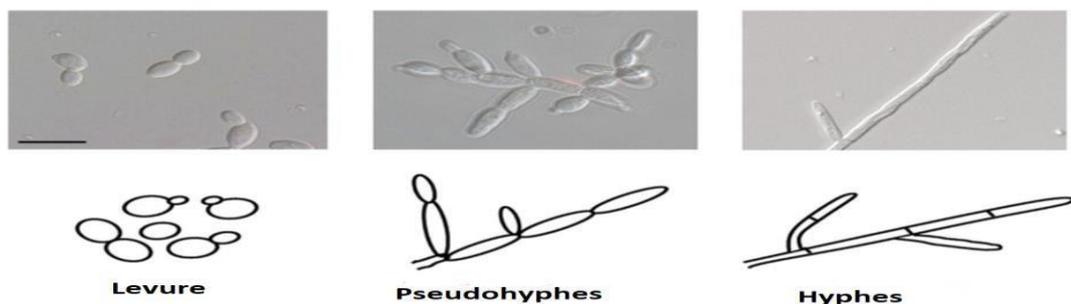


Figure 2: Principales morphologies des pathogènes fongiques humains. (En haut) Images de cellules de *C. albicans* visualisées par microscopie à contraste interférentiel différentiel (DIC) (barre = 10 µm). (En bas) Représentation schématique de chaque morphologie (**Thompson et al., 2011**).

Candida albicans est un champignon dimorphe car il prolifère sous forme de levure ou d'hyphes. Le passage d'une forme à une autre est le résultat d'interactions complexes entre des facteurs externes et internes, et est coordonné en partie par des protéines régulatrices de polarité conservées dans les cellules eucaryotes. Cependant, les cellules de levure et les cellules hyphes ne sont pas les seuls états morphologiques de *C. albicans* (**Whiteway & Bachewich, 2007**). La levure pathogène *Candida albicans* passe

de manière héréditaire et à une fréquence élevée, d'un phénotype général à un autre, identifié par la morphologie des colonies sur gélose (Slutsky et al., 1985).

Les changements de forme de croissance sont influencés par des programmes d'expression génique modifiés qui sont induits à certains stades de l'ontogénie ou par des facteurs environnementaux. Donc il faut distinguer les dimorphismes soumis à des conditions ontogéniques (irréversibles) et à des conditions environnementales (réversibles) (Kreisel & Schauer, 1989).

4. Reproduction

C. albicans est généralement **diploïde (2N)** dans la nature et peut se reproduire de manière **asexuée** ou **sexuée** - par accouplement homothallique ou hétérothallique (Usher, 2019).

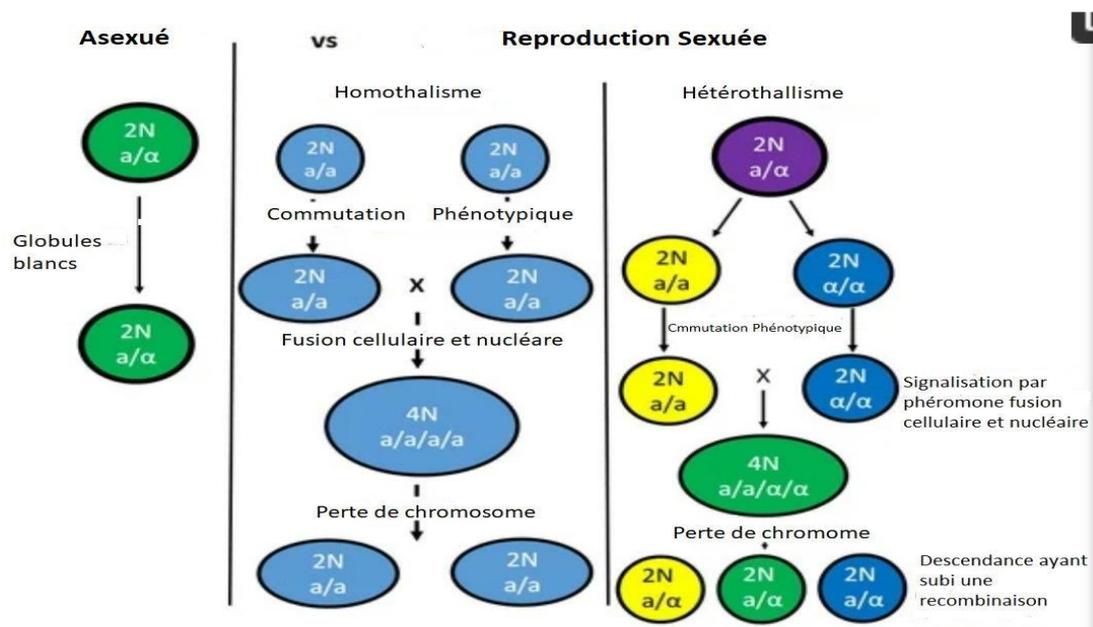


Figure 3: La reproduction de *Candida albicans* (Usher, 2019).

C. albicans se reproduit principalement de manière asexuée, la reproduction est assurée par le bourgeonnement de blastospores à un pôle spécifique de la cellule, qui apparaissent après que le noyau a subi une mitose simple et une compartimentation cellulaire, à une blastospore fille qui est ensuite séparée de la blastospore mère sous certaines conditions (température, pH, composition du milieu) (Beucher, 2007).

Mais depuis la découverte du Mating type locus (MTL) et des conditions nécessaires à la reproduction de *C. albicans*, un cycle parasexuel (reproduction et

réduction du génome, mais pas de méiose) a été établi comme un modèle possible de reproduction sexuée chez *C. albicans*. En analysant le génome de *C. albicans*, une région similaire au MTL de *Saccharomyces cerevisiae* a été identifiée, indiquant ainsi que *C. albicans* porte l'allèle MTL et qu'il est diploïde. Les souches homozygotes pour le locus MTL sont capables de s'accoupler (**Beucher, 2007**). Pour pouvoir s'accoupler, les cellules MTL α et MTL α doivent passer du blanc à l'opaque ; les cellules opaques sécrètent une phéromone qui va conduire à la formation de tubes de conjugaison, permettant la fusion cellulaire et nucléaire ainsi que les cellules tétraploïdes (4N). L'accouplement homothallique est entraîné par la perte de Bar1 dans les cellules MTL α . Les cellules tétraploïdes (4N) sont instables et subissent une perte chromosomique pour revenir à un état diploïde (2N) ; dans le cas d'un accouplement allogénique, cela se traduira par des cellules recombinantes qui peuvent présenter des niveaux plus élevés de résistance aux médicaments et des avantages pour la santé (**Usher, 2019**) (**Figure 03**).

5. Epidémiologie et pouvoir pathogène

Les *Candida* causent un problème de santé publique majeur au cours des deux dernières décennies qui entraînent des taux élevés de morbidité et de mortalité (**Poulain, 2013**), des levures opportuniste et peuvent être endogènes ou exogènes (**Campus de Parasitologie-Mycologie - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL)**). C'est l'espèce fongique la plus courante qui est à l'origine des infections nosocomiales (**Ruhnke, 2006**); sa pathogénicité ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisant locaux ou généraux.

6. La candidose

Est une infection causée par des espèces de *Candida* (le plus souvent *Candida albicans*) et se manifeste par des lésions muco-cutanées, une fongémie et parfois une infection focale de divers organes. Les symptômes dépendent du site d'infection et comprennent la dysphagie, les lésions cutanées et muqueuses, la cécité, les symptômes vaginaux (prurit, brûlure, leucorrhée), la fièvre, le choc, l'oligurie, l'insuffisance rénale et la coagulation intravasculaire disséminée. Le diagnostic est confirmé par l'examen histopathologique et la culture des sites habituellement stériles (**Revankar, 2021**).

Tableau 1: Les différentes formes de candidose (Ysabelle & Dora, 2021)..

Forme de candidose	Zones de présence
Les candidoses cutanées	superficielles, se développent dans les zones de transpiration : plis cutanés (pli interfessier, aisselles, aine), espaces interdigitaux. Elles peuvent apparaître au niveau des ongles.
Les candidoses des muqueuses	superficielles également, peuvent se situer au niveau buccal (le <u>muguet</u>), génital (fréquente chez la femme) ou du tube digestif (notamment dans l'œsophage).
Les candidoses généralisées ou systémiques	Ces affections peuvent toucher plusieurs organes, voire l'ensemble de l'organisme, mettant parfois en jeu le pronostic vital.

6. Les facteurs de risques

Selon l'étude de Ysabelle & Dora (2021), elles sont favorisées par :

- ✚ Les cures répétées d'antibiotiques.
- ✚ La prise de traitements qui altèrent l'immunité (corticoïdes, immunosuppresseurs, chimiothérapies, etc.).
- ✚ Une immunodépression (d'origine congénitale, liée au VIH ou à une transplantation).

Les mycoses vaginales, sont les candidoses les plus fréquentes, concernant 10 à 20% des femmes en période d'activité sexuelle. Selon l'étude (Ysabelle & Dora, 2021), elles sont favorisées par :

- ✚ Les modifications hormonales.
- ✚ La prise de contraceptifs œstroprogestative
- ✚ La transpiration.
- ✚ Les pantalons trop serrés.

- ✚ Les sous-vêtements qui ne sont pas en coton
- ✚ Le port de protège-slips.
- ✚ Une mauvaise hygiène.
- ✚ Les rapports sexuels prolongés.

Chapitre II :
L'adhérence
cellulaire.

1. Définition de l'adhérence cellulaire (L'adhésion cellulaire)

L'adhésion cellulaire est une fonction essentielle acquise par les organismes supérieurs afin de former des tissus, des organes et des systèmes qui s'efforcent de remplir les fonctions physiologiques nécessaires à la survie de l'individu. En raison de la présence de matrice extracellulaire (adhésion indirecte), d'autre part, l'adhésion directe est formée par la présence de molécules d'adhésion au sein de la membrane plasmique (**Simon, 2011**).

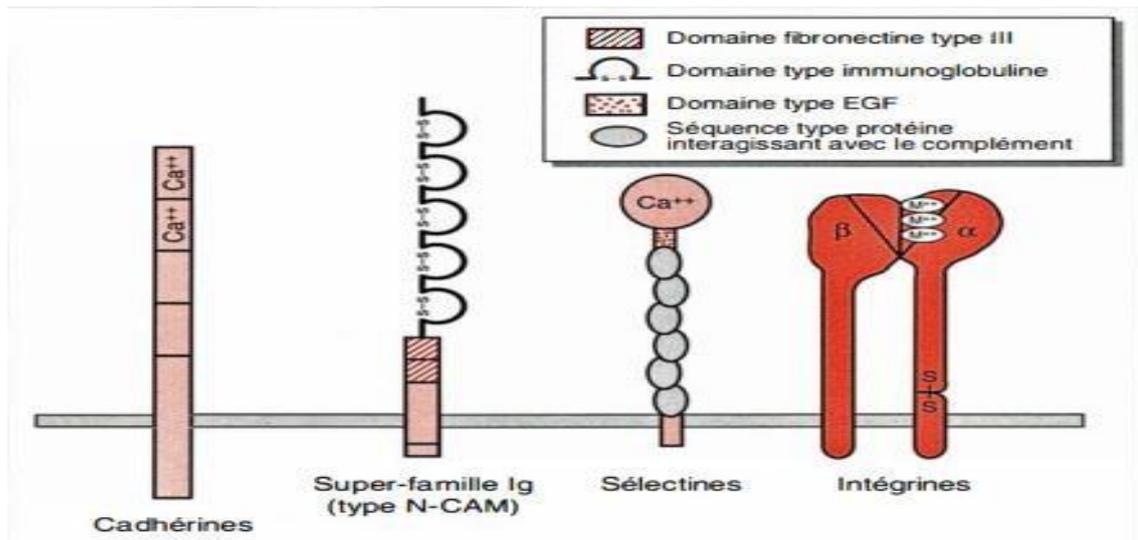


Figure 4: Molécules d'adhésion cellulaire (**Ellepigrafica, s. d.**).

L'adhésion dépend de facteurs de microenvironnement ; des facteurs solubles (comme les cytokines), des facteurs matriciels, les entités cellulaires (les tumeurs, cellules immunitaires...) et leur surface cellulaires (**Jebali et al., 2011**).

1.1. Les molécules d'adhésion

Les molécules d'adhésion cellulaire sont des glycoprotéines exprimées à la surface des cellules et jouent un rôle important dans les maladies inflammatoires et néoplasiques. Il existe quatre groupes principaux (**Figure 5, 6**) : la famille des intégrines, la superfamille des immunoglobulines, les sélectines et les cadhérines (**Elangbam, 1997**) qui sont à la modulation et au maintien des interactions entre les cellules et à la communication de cellule à cellule (et de matrice à cellule) (**Zhong et al., 2015**).

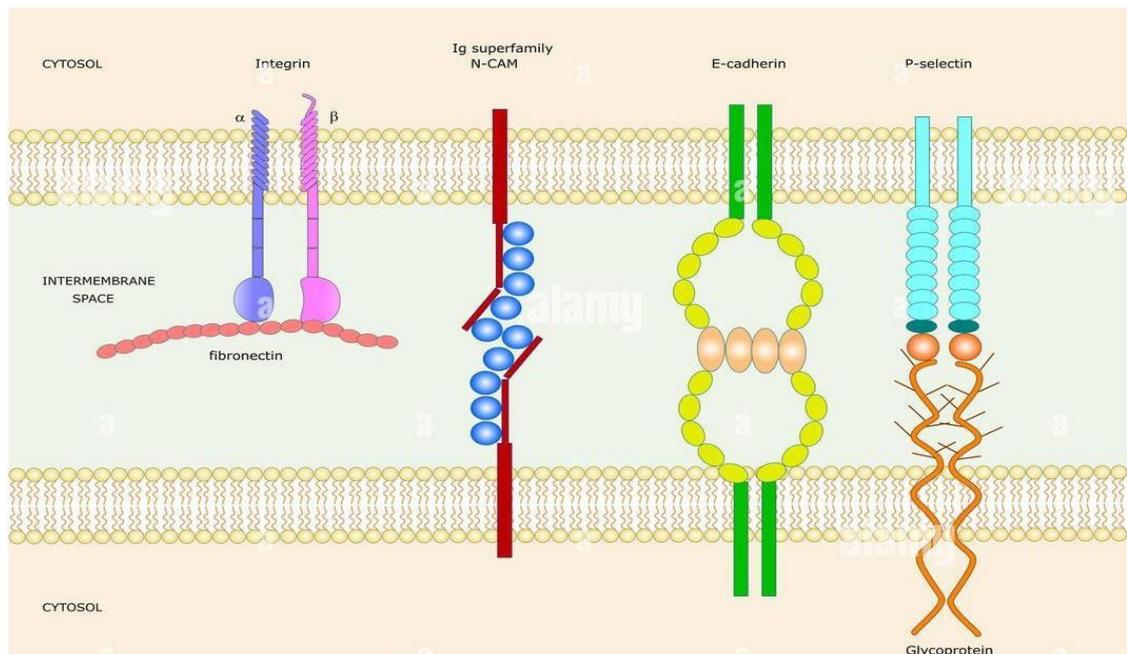


Figure 5: Caractéristiques structurales de quatre familles de CAM (Peyri ras, 1992).

La famille des intégrines : sont des glycoprotéines sous forme de dimère ($\alpha\beta$) présentent une extrémité extracellulaire N-terminale et étant elles aussi calcium (Ca^{2+}) dépendante (Simon, 2011).

La superfamille des immunoglobulines : Y compris l'antigène de fonction leucocytaire-2, l'antigène de fonction leucocytaire-3, les molécules d'adhésion intercellulaire (ICAM), la molécule d'adhésion vasculaire-1 (VCAM-1), la molécule d'adhésion plaquette-cellule endothéliale-1 (PE-CAM-1) et la molécule d'adhésion cellulaire d'adressage muqueux-1 (MAdCAM-1) (Elangbam et al., 1997).

La famille des sélectines : ont la particularité de posséder un domaine de liaison aux sucres, le CRD (Carbohydrate Recognition Domain) (Jebali, 2013) y compris la sélectine E (CD62E), la sélectine P (CD62P) et la sélectine L (CD62L) (Elangbam et al., 1997), voir Figure 6.

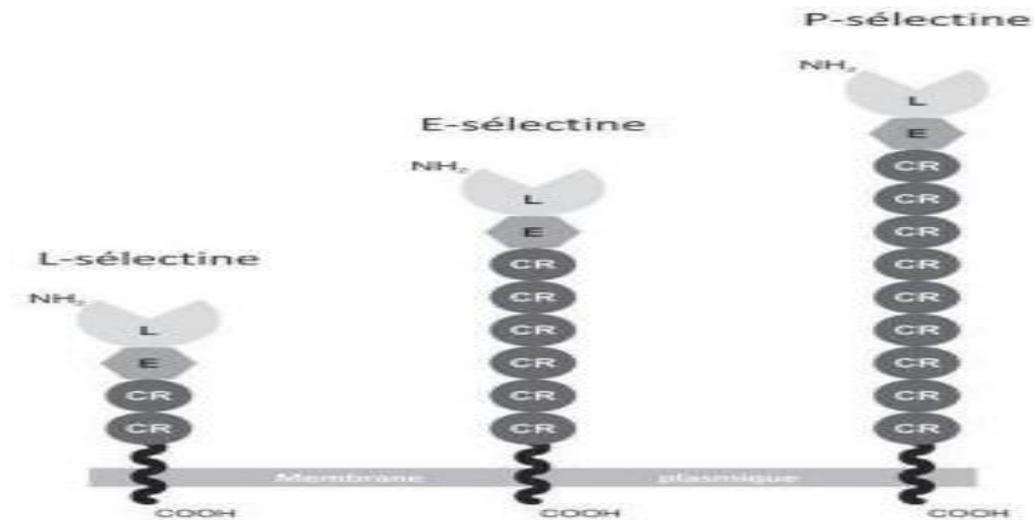


Figure 6: Représentation schématique de la structure des sélectines. CR : domaine homologue aux protéines régulatrices du complément, E : domaine homologue au facteur de croissance EGF (Epidermal Growth Factor), L: domaine lectinique de type C (calcium) (Jebali. et al., 2011).

Les cadhérines (CDH) : sont des molécules d'adhésion cellulaire majeures et comprennent des sous-classes épithéliales (E), placentaires (P) et neurales (N) (Elangbam, 1997).

1.2. Les types d'adhérence cellulaire :

Il existe deux types d'adhérence cellulaire (Cours : L'adhérence cellulaire, 2020) :

Adhérence intercellulaire assurée par des glycoprotéines membranaires appelées CAM (molécules d'adhésion cellulaire), dont il existe plusieurs types, dépendant ou non du calcium, par exemple : cellules de l'épithélium (Mège, 1991).

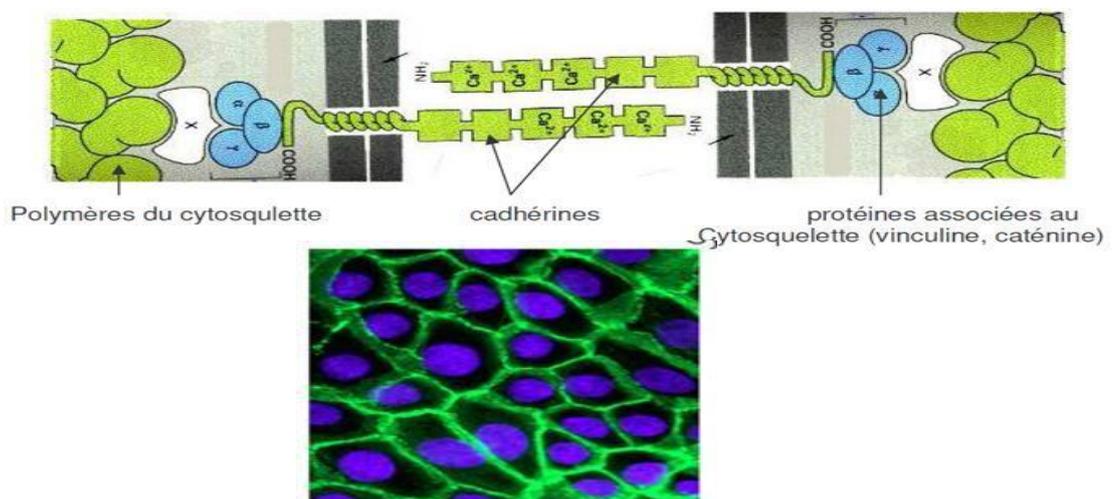


Figure 7: Les cadhérines (Cours : L'adhérence cellulaire, 2020).

- ✓ **Adhérence cellule-matrice (cellules d'un épithélium sur la membrane basale) :**
par deux modes d'adhérence soit par le biais de molécules non intégriniques : Les CAM, Les protéoglycanes ou les protéines de la famille du CD44 ou récepteur à l'acide hyaluronique, ou par le biais des intégrines.

1.3. Les étapes de l'adhérence cellulaire :

Les processus d'attachement et de détachement comportent en règle générale quatre phases successives (**Pierres ,2000**) :

- ✓ **L'approche :**

Le milieu extérieur : par exemple, l'écoulement sanguin au cours de l'interaction leucocyte/endothélium).

Les cellules : la force protrusive exercée par un lamellipode.

Les interactions des surfaces peuvent engendrer une force répulsive avant que ne survienne le contact des récepteurs.

- ✓ **Formation de la première liaison :**

Formation de la première liaison qui est sans doute le déterminant de l'adhésion, car son apparition est nécessaire, et parce que sa durée conditionne le renforcement de l'interaction. Cette étape est clairement contrainte par les propriétés fonctionnelles des récepteurs cellulaires.

- ✓ **Consolidation de l'attachement :**

Quelques minutes après la formation de la première liaison, la connexion est considérablement renforcée : ainsi, alors qu'une interaction ligand-récepteur peut être perturbée par une force de plusieurs dizaines de piconewtons, une force mille fois supérieure est souvent nécessaire pour séparer rapidement les deux cellules connectées. Ce renforcement implique des événements complexes.

- ✓ **Détachement :**

La séparation des cellules est souvent nécessaire pour la poursuite de leurs activités (par exemple, la migration). Le mécanisme de l'adhésion mortelle est mal compris et il est impossible de déterminer si l'activation des récepteurs d'adhésion est un

mécanisme réversible.

1.4. Le rôle de l'adhésion cellulaire :

Les phénomènes d'adhésion dans la plupart des phases de la vie cellulaire (survie, prolifération, migration, différenciation, activation) et les phénomènes pathologiques (infection, maladies cardiovasculaires, développement de métastases cancéreuses, réponses inflammatoires, interaction des organismes avec les biomatériaux) jouent un rôle important (**Bongrand, 2000**).

2. Cas d'une levure, *Candida albicans*

La capacité d'adhérer aux tissus de l'hôte - est considéré comme essentiel au cours des premiers stades de la colonisation et de l'invasion des tissus (G Cotter, 2000). Pour infecter son hôte, les cellules de levure de *C. albicans* adhèrent à la cellule hôte à l'aide d'adhésines (**Martin et al., 2021**).

L'adhésion est obtenue grâce à une combinaison de mécanismes spécifiques (interactions ligand-récepteur) et non spécifiques (charges électrostatiques, forces de van der Waals) qui permettent à la levure de se fixer à divers types de tissus et surfaces inanimées (**Cotter & Kavanagh, 2000**). L'attachement et l'adhésion de *C. albicans* reposent sur au moins 4 systèmes de reconnaissance ; ceux-ci peuvent varier selon le type d'adhésine, le type de cellule hôte (épithéliale, endothéliale ou plaquettaire) et le ligand de la cellule hôte (protéine ou glucide).

2.1. Adhérence aux cellules épithéliales et endothéliales

L'adhésion aux cellules hôtes est essentielle pour *C. albicans*, ce qui explique les propriétés d'adhésion de ce pathogène opportuniste (**Monniot, 2012**).

2.1.1. L'Adhérence aux cellules épithéliales

De nombreuses études ont montré que les cellules de *Candida*, en particulier la forme mycélienne, sont capables de se lier aux monosaccharides ou aux disaccharides des cellules épithéliales via des composés de surface de type lectine. La glucosamine et la mannosamine ont également inhibé la liaison, alors qu'aucun des autres sucres testés (méthylés ou non) n'a montré cet effet. Ces données suggèrent que le groupe amino du

sucre est responsable de l'inhibition de l'adhésion de ce micro-organisme eucaryote aux cellules épithéliales. De nombreuses études ont montré que les cellules de *Candida*, en particulier la forme mycélienne, sont capables de se lier aux monosaccharides ou aux disaccharides des cellules épithéliales via des composés de surface de type lectine, les glucosamine et la mannosamine ont également inhibé la liaison, alors qu'aucun des autres sucres testés (méthylés ou non) n'a montré cet effet. Ces données suggèrent que le groupe amino du sucre est responsable de l'inhibition de l'adhésion de ce micro-organisme eucaryote aux cellules épithéliales (Segal et al., 1982 ; Beucher, 2007).

2.1.2. L'adhérence aux cellules endothéliales

Il existe actuellement deux théories différentes sur la façon dont *C. albicans* adhère à l'endothélium. La première théorie propose que les cellules doivent d'abord subir une transformation morphogénétique en une forme hyphale avant de se lier à la paroi endothéliale vasculaire. Une deuxième possibilité, cependant, est que des changements morphologiques ne sont pas nécessaires pour que *C. albicans* envahisse les tissus. Dans ce cas, les cellules de levure adhèrent à l'endothélium puis migrent dans le tissu sans subir de transformation morphogénétique (Grubb et al., 2008).

La dissémination de *Candida albicans* implique la levure entrant dans la circulation sanguine (Beucher, 2007). Elle est capable de se lier aux cellules sanguines et aux protéines plasmatiques telles que facteurs du complément, fibrinogène et plaquettes (Monniot, 2012). L'adhésion et la morphogénèse de *C. albicans* conduisent à la formation de biofilm et à l'invasion tissulaire.

3. Croissance et formation de biofilm

Un biofilm est une communauté de micro-organismes bien organisée et coopérante. Les cellules microbiennes s'attachent aux surfaces et développent un biofilm (Kokare et al., 2009).

Biofilm de *Candida albicans* :

Parmi les différentes espèces de *Candida* impliquées dans la formation de biofilms, *C. albicans* est l'espèce qui a fait l'objet des études les plus nombreuses. La majorité des infections à *C. albicans* sont associées à sa capacité à former des biofilms (Tsui et al., 2016).

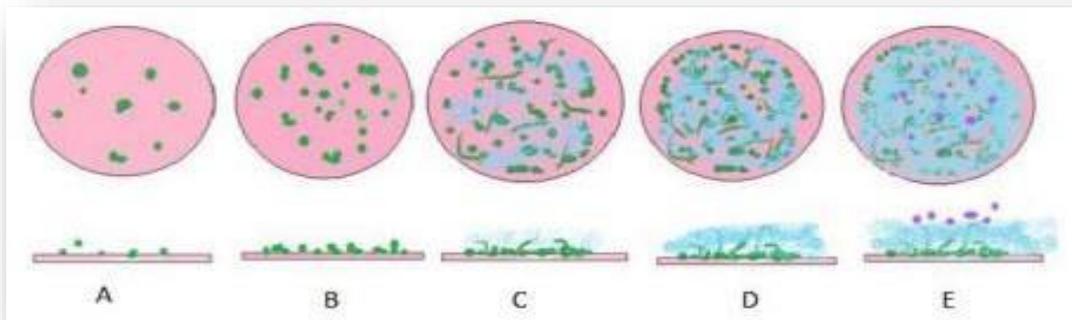


Figure 8: Formation du biofilm chez *Candida albicans* (Loraux, 2017).

3.1. Le cycle de vie d'un biofilm de *C.albicans*

Il a maintenant été établi que le cycle de vie des biofilms de *C. albicans* commence par des cellules de levure planctoniques adhérant au substrat et commençant à proliférer, aboutissant à la formation d'un biofilm mature hautement structuré composé d'interactions avec des levures, des pseudohyphes et des pseudomycètes. Les hyphes sont intégrés dans la matrice extracellulaire. Ce cycle se poursuit au fur et à mesure que le biofilm se disperse, se détache ou se dissout, complétant le cycle de vie du biofilm lorsque les cellules libérées du biofilm engendrent de nouvelles surfaces (Uppuluri et al, 2010).

3.2. Les étapes de la formation d'un biofilm

Le déroulement de la formation du biofilm de *C. albicans* en distinguant trois phases : la phase précoce, la phase intermédiaire et la phase de maturation (Cateau et al., 2012 ; Loraux, 2017) :

- **La phase précoce** : concerne les onze premières heures du développement. Des blastospores de *Candida* adhèrent à la surface d'un dispositif puis forment des microcolonies.
- **La phase intermédiaire** : entre 12 et 30 h d'évolution du biofilm, est caractérisée par la synthèse de l'ECM (Matrice Extra Cellulaire) qui par son aspect de « brouillard », vient recouvrir les colonies fongiques. Cette étape consiste à produire des pseudomycéliums et du mycélium et une matrice extracellulaire constituée de cellules noyées dans des biofilms. La composition de cette matrice dépend de l'espèce de *Candida* et sa quantité dépend des conditions environnementales.
- **La phase de maturation** : (environ 38 à 72 heures), l'ECM s'épaissit et finit par contenir complètement des éléments fongiques. A ce stade, il est quasiment

impossible de distinguer les spores, alors que le mycélium et le pseudomycélium sont encore visibles dans la matrice. Le processus de propagation de la levure est alors déclenché par la séparation des fragments de biofilm.

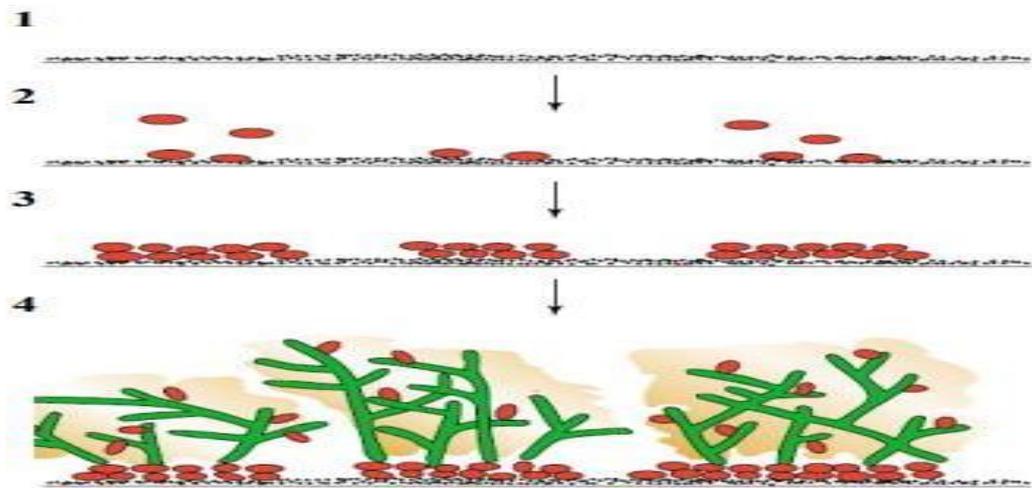


Figure 9: Les étapes du développement du biofilm de *C. albicans* (Irimès, 2010).

1 : Surface d'un cathéter recouverte d'un film formé des protéines de l'hôte (points noirs); **2 :** Attachement initial des blastospores (rouge) à la surface; **3 :** Formation des couches basales des microcolonies; **4 :** Développement des microcolonies par l'ajout d'une couche supérieure formée principalement des formes filamenteuses (vert) et par la production d'une matrice extracellulaire (jaune) qui enveloppe les deux couches de la microcolonie (Irimès, 2011).

4. Les adhésines

L'andésine de *Candida albicans* est une protéine présente à la surface des cellules. L'expression des différentes adhésines à la surface de la paroi cellulaire varie en fonction du milieu dans lequel l'agent pathogène est présent. Certaines molécules salivaires, notamment les molécules riches en proline, favorisent l'adhésion de *C. albicans* à la matrice buccale. Les liaisons utilisées par les adhésines comprennent les lectines, les liaisons protéine-protéine et les interactions hydrophobes (Martineau, 2004).

4.1. Les interactions spécifiques

4.1.1 Les adhésines spécifiques jouant un rôle majeur dans l'adhérence de *C. albicans*

Les adhésifs de *Candida albicans* sont divers ; la suppression d'une seule adhésine

n'a généralement entraîné qu'une réduction partielle de l'adhérence par rapport à la souche sauvage. Cela peut être dû au fait que plusieurs adhésines sont impliquées dans l'adhésion **(Baldo et al 2007)** :

➤ **Les adhésines de *C. albicans* caractérisées au niveau moléculaire :**

Chez *C. albicans*, huit familles de gènes ALS (lectin-like sequence) codant pour les adhésines ont été mises à jour. Parmi elles, les adhésines Als1p et Als3p permettent à *C. albicans* d'adhérer aux cellules endothéliales vasculaires et aux cellules épithéliales buccales. En revanche, les adhésines Als5p, Als6p et Als7p n'interfèrent pas avec l'adhésion de *C. albicans* à ces cellules. L'adhésine Hwp1 de *C. albicans* s'est également révélée importante lors d'infection des muqueuses buccale et œsophagienne. Alors que Camp65p joue un rôle crucial lors d'infection des cellules épithéliales vaginales **(Baldo et al 2007)**.

Les sites de N-glycosylation partagés sont représentés par des hexagones **(Figure 10)** ; chaque protéine est susceptible d'être fortement O-glycosylée. Les régions hydrophobes sont représentées en violet : elles agissent comme des signaux de sécrétion (N-terminal), comme des sites d'ancrage GPI (glycosylphosphatidylinositol) en C-terminal, ou à des positions transmembranaires. Als1p et Als5p contiennent 3 domaines : un domaine d'hypoglycosylation N-terminal ; un domaine central comprenant des répétitions en tandem (flèches), de longueur variable mais hautement conservée ; et un domaine C-terminal riche en sérine-thréonine (S), qui est le la plus conservée dans la famille des protéines Als. Int1p contient un domaine L (permettant la liaison au ligand) et un domaine RGD riche en arginine, glycine et aspartate, homologue aux protéines de *S. aureus*, ClfA, liant le fibrinogène **(El Kirat, 2010)**.

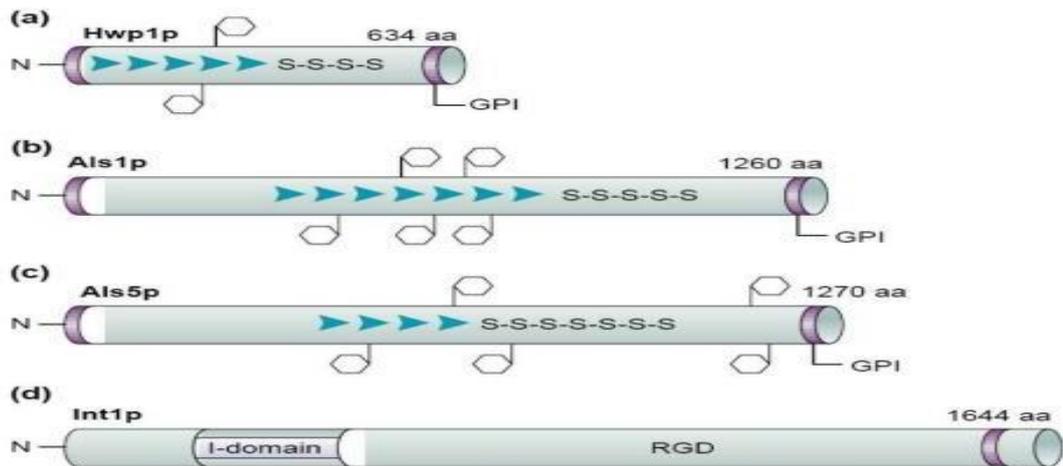


Figure 10: Représentation de la structure peptidique adhésives (a) Hwp1, (b) Als1, (c) Als5, (d) Int1 de *C. albicans* (El Kirat, 2010).

➤ **Les adhésines de type lectine :**

Présentent sur la surface de la paroi fongique, se lient à des glycoprotéines de surface des cellules épithéliales (Chambard, 2009).

➤ **Les adhésines fibrillaires :**

Contrairement aux précédentes, les fibroadhésines se présentent sous la forme de structures filamenteuses, alignées perpendiculairement à la surface cellulaire, impliquées dans l'adhésion de cette levure à l'endothélium rénal ainsi qu'aux polysaccharides (Auzeil, 1992).

➤ **Les adhésines se liant au C3b et C3d :**

L'adhésine de liaison C3b est un analogue de l'intégrine car elle est hautement homologue au récepteur du complément de type 3 (CR3) présent à la surface des neutrophiles polymorphonucléaires et des macrophages ce qui inhibe la phagocytose des pathogènes en entrant en compétition avec le récepteur C3b des cellules polymorphonucléaires neutrophiles (Chambard, 2009).

➤ **Le fibrinogène :**

Les molécules fongiques responsables de cette interaction sont trois mannoprotéines de, qui sont principalement localisées à la surface des tubes germés (Chambard, 2009).

➤ **Les protéases secrètes :**

Cette levure possède une famille de dix gènes qui codent pour les protéases aspartiques sécrétées (SAP) qui jouent un rôle important dans différents aspects du processus d'infection (**Baldo et al 2007**).

4. 2. Les interactions non spécifiques :

La surface cellulaire de *Candida albicans* est hydrophobe donc les cellules sont liées par des liaisons non covalentes ou faibles pour former des biofilms (**Essalih, 2022**).

Chapitre III :

Le Thymol

1. Définition

Thymol, est un phénol monoterpénoïde naturel, cristallin et incolore, avec une odeur caractéristique, il est également connu sous les noms chimiques 2-isopropyl-5-méthylphénol et 5-méthyl-2-isopropylphénol .C'est un isomère du carvacrol et c'est le principal ingrédient actif de l'huile extraite de l'espèce *Thymus vulgaris*, communément appelée thym. C'est une plante aromatique vivace, ligneuse, très ramifiée et de petite hauteur (Escobar et al., 2020).

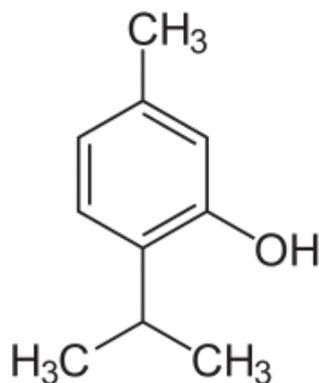


Figure 11: Le Thymol (Marouf & Tremblin, s. d.).

2. la fiche de synthèse

Tableau 2: fiche de synthèse (Charie, 2019).

Nom commun	Thymol
Famille biochimique	phénols monoterpéniques
Nom(s) scientifique(s)	5-Methyl-2-isopropylphenol
Masse molaire	150 g/mol
Point d'éclair	104°C
Température d'ébullition	233°C
Formule brute	C ₁₀ H ₁₄ O

3. Rôle du thymol

Utilisé comme stabilisant dans les préparations pharmaceutiques. Il a été utilisé pour ses actions antiseptique, antibactérienne et antifongique, mais aussi pour stabiliser les préparations pharmaceutiques (*Thymol, 2008*), et était autrefois utilisé comme vermifuge (*Thymol, 2020*).

4. Structure chimique

Le thymol, monoterpène à fonction phénol, se caractérise donc par un groupement méthyl et un groupement isopropyl situé en para l'un de l'autre. Le groupement isopropyl est en ortho de la fonction -OH. Il s'agit donc du 2-isopropyl-5-méthylphénol. Sa formule brute est C₁₀H₁₄O. D'autres noms peuvent lui être donnés comme le p-cymen-3-ol ou encore 3-hydroxyp-cymène. Le carvacrol, phénol que l'on retrouve également dans l'huile essentielle de thym, souvent associé au thymol, est son isomère. Le groupement méthyl est alors situé en ortho de la fonction hydroxyle (*David, 2019*).

5. Propriétés du thymol

Le thymol est u Selon (*Charie, 2019*) le thymol présente les activités suivantes :

- Antibactérienne
- Antivirale
- Antifongique
- Antiprotozoaire
- Insectifuge
- Anti-élastase
- Anti-oxydante
- Immunomodulante

utilisé entre autres dans le traitement contre le varroa, parasite de la famille des acariens attaquant l'abeille (*Thymol, 2010*).

➤ Propriétés physico-chimiques

Il se présente sous forme de cristaux incolores avec une odeur aromatique. Il est soluble dans les alcools, le gras et l'huile et peu soluble dans l'eau (*Thymol, 2010*).

➤ Propriétés pharmacologiques

Le thymol est utilisé entre autres dans le traitement contre le varroa, parasite de la famille des acaridés attaquant l'abeille (**Thymol, 2010**).

6. Sources alimentaires du thymol

Le Thymol est un composé aromatique particulièrement présent dans le thym. Il se présente sous la forme de cristaux incolores dégageant une odeur très marquée de thym, la composition de l'huile essentielle varie d'un organe à l'autre chez la même espèce végétale. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (poils sécréteurs, poches sécrétrices, canaux sécréteurs, cellules à huiles essentielles). Le thymol est retrouvé principalement dans les parties aériennes fleuries de certaines Lamiacées (**David, 2019**).

✚ Thym à Thymol : 37 à 55%

✚ Ajowan : 28 à 45%

✚ Origan Compact : 8 à 28%

✚ Sarriette des Montagnes : ≤ 15% (**Charie, 2019**).

7. Relation avec *candida albicans*

Thymol s'est avéré avoir un effet fongicide sur les espèces de *Candida* et un effet synergique lorsqu'il est combiné avec la nystatine (**De Castro et al., 2015**).

Chapitre IV :

Docking moléculaire

1. Introduction

Avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire s'est très vite introduit dans le domaine de la recherche en biologie (**Boucherit et al., 2013**).

Le docking est une méthode de modélisation moléculaire qui utilise différents algorithmes. Les critères de choix de ces algorithmes sont d'une part le nombre de composés à tester, et d'autre part le temps et les moyens de calcul nécessaires pour atteindre la précision et le résultat souhaités (**Loubna, 2020**).

Le docking moléculaire est utilisé pour prédire la structure du complexe intermoléculaire résultant de l'association entre au moins deux molécules (**Asses, 2011**). Il est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro* (**Boucherit et al., 2013**). Il consiste à prédire la conformation optimale entre deux molécules afin de créer un complexe de molécules stable (**Figure 12**).

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée (**Boucherit et al., 2013**).

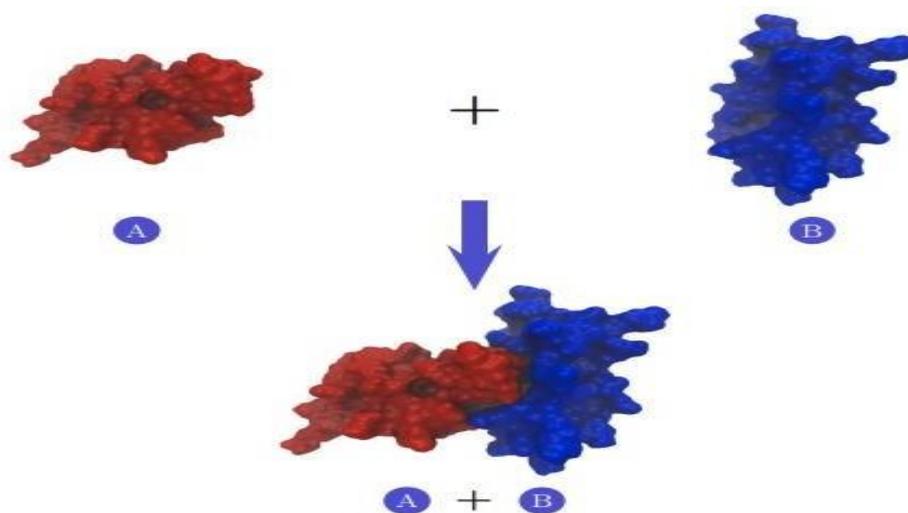


Figure 12: Complexe de molécules assemblées à partir de deux molécules (**Simard, 2012**).

La stimulation :

Est une partie principale importante du processus de docking dans lequel le ligand et la protéine sont séparés par certaines distances physiques. Pour que le ligand trouve son site actif à l'intérieur d'une molécule cible (protéine) après s'être déplacé autour d'une certaine pose changeante de conformation dans l'espace 3D. L'amarrage peut être stimulé ou quadrillé entre **(Behera et al., 2013)**.

- Protéine cible (récepteur) / petit ligand.
- Protéine / peptide.
- Protéine / protéine.
- Protéine / nucléotide.

2. Les outils de docking moléculaire

2.1. Le ligand

C'est la molécule partenaire complémentaire qui se lie au récepteur. Les ligands sont les plus souvent des molécules simples mais peuvent aussi être un autre bio polymère **(Behera, 2013)**. Il possède un site conformationnel qui lui permet de "reconnaître" la molécule réceptrice pour s'insérer dans un site typologiquement complémentaire. La liaison résultante peut déclencher un cycle de modification à partir du récepteur (activation), ou au contraire inhiber la fonction de ce dernier (blocage) **(Lavergne, s.d)**.

- Il doit être chimiquement actif.
- Il a une forme géométrique, une taille et une surface déterminée.
- Il doit contenir des liaisons flexibles (liaisons souples et rigides).
- Il a la capacité d'accepter et de donner les électrons **(Behera et al., 2013)**.

2.2. Le Récepteur

La molécule "réceptrice", le plus souvent une protéine ou un autre bio polymère, est appelée Récepteur **(Behera et al, 2013)**.

La plupart des cellules ont divers types de récepteurs à leur surface. Un récepteur est une molécule dotée d'une structure tridimensionnelle qui ne peut se lier qu'à des substances parfaitement adaptées, comme une clé dans une serrure. Ils permettent aux substances extracellulaires naturelles (mais issues de l'organisme) d'influencer l'activité des cellules. Des exemples de ces substances comprennent les neurotransmetteurs et les

hormones. L'effet peut être de stimuler ou d'inhiber un processus au sein de la cellule (Farinde, 2021).

3. Les programmes de docking

Les logiciels les plus fréquemment cités dans la littérature sont : **AutoDock** (Youcef) **GOLD** (Genetic Optimisation for Ligand Docking) **FlexX**(Thomsen et al.,

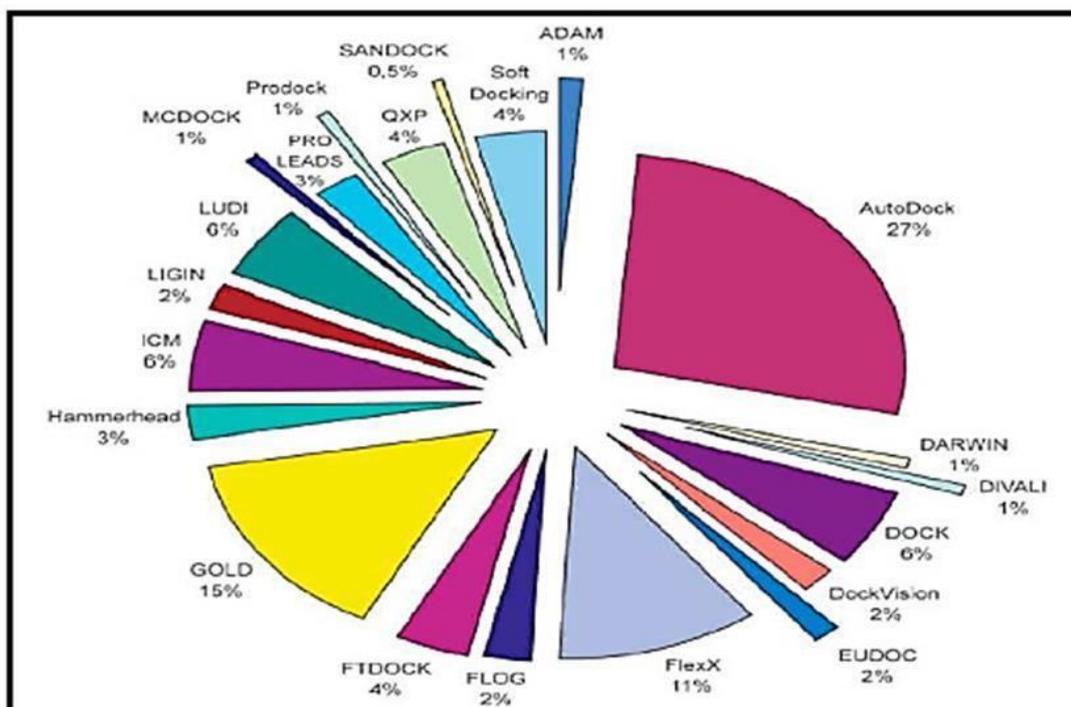


Figure 13: Comparaison des programmes de docking (Louacheni, 2013).

Tableau 3: Programmes d'amarrage signalés et, le cas échéant, le dernier numéro de version, les références clés et les sites Web (Moitessier et al., 2009).

Programme	Reference(s)	Site web	Algorithme de recherche
Affinity	N/A	www.accelrys.com/products/datasheets/i2_affinity_data.pdf	MC
ADAM	(<u>Yamada and Itai, 1993</u> , <u>Mizutani et al., 1994</u> , <u>2006</u>)	www.immd.co.jp/en/product_2.html	RBD
Autodock 4.0	(<u>Morris et al., 1998</u> , <u>Osterberg et al., 2002</u>)	autodock.scripps.edu/	GA
DOCK 6	(<u>Oshiro et al., 1995</u> , <u>Knegt et al., 1997</u> , <u>Kang et al., 2004</u> , <u>Moustakas et al., 2006</u>)	dock.compbio.ucsf.edu/	IC
FlexX 2.2	(<u>Rarey et al., 1996</u>)	www.biosolveit.de/	IC
GOLD 3.1	(<u>Verdonk et al., 2003</u> , <u>2005</u>)	www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/	GA
Quantum	N/A	www.q-lead.com/cnt/quantum	N/A

4. Applications et avantages

Le programme d'amarrage a deux applications principales, la prédiction en mode interactif et optimiser les molécules qui ont déjà une activité avec le récepteur. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour évaluer les performances de différents programmes d'amarrage pour chaque application. La capacité d'un algorithme à trouver l'emplacement correct d'un ligand par rapport à son récepteur est généralement déterminée par l'écart quadratique moyen (RMSD) d'un modèle conçu par logiciel par rapport à la vis de structure cristalline, une valeur acceptable est une différence maximale de 2 angströms, au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme insuffisante ; souvent, les erreurs d'amarrage sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à des fonctions de notation insuffisantes. Pour savoir quelle est l'erreur, il faut comparer l'énergie la plus basse

obtenue par l'amarrage avec le score de la structure cristalline. Si la fraction du complexe amarré n'est pas aussi bonne que la fraction de la structure cristalline, c'est un problème avec la partie responsable de la traversée de l'espace conformationnel. L'échantillonnage dans ce cas était incomplet, ne trouvant pas le conformère correspondant à l'énergie potentielle minimale globale. Si le score d'amarrage est bien inférieur à la structure cristalline, il s'agit d'une erreur dans la fonction de score. Pour résoudre ces problèmes, il faut dans le premier cas augmenter le nombre de conformères évalués, et dans le second cas il faut revoir la fonction de notation. Ce sont les cas classiques, en supposant que l'espace conformationnel autour de la structure expérimentale est parfaitement parcouru et que la structure cristalline correspond bien à l'énergie potentielle minimale globale. Par conséquent, il doit être ajusté en fonction de son propre calcul (**Chikhi, 2007**).

Partie pratique

Chapitre I :

Matériel et méthodes

1. Matériel

Le matériel mentionné ci-dessous a été utilisé :

1.1. Microordinateur

Nous avons utilisé un microordinateur ayant une mémoire vive de 202 Go. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 10.

1.2. Programmes

On a utilisé plusieurs programmes pour réaliser cette étude :

- ✓ **AutodockTool** version 120 un nouveau programme d'amarrage moléculaire et de criblage virtuel (**Trott & Olson, 2010**).
- ✓ **Mgltools** Version 1.5.7 pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires comprenant AutoDockTools (ADT) : une interface graphique pour configurer et exécuter AutoDock ; Visionneuse de molécules Python (PMV) ; et Vision : un environnement de programmation visuelle pour la construction de réseaux décrivant de nouvelles combinaisons de méthodes de calcul et produisant de nouvelles visualisations de leurs données
<https://sbgrid.org/software/titles/mgltools/>
- ✓ **Pymol** version 2.5.2 est un logiciel libre de visualisation de structures chimiques en 3D.

1.3. Banques de Données :

1.3.1. PDB

Une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (ou structure 3D) de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement, et acides nucléiques <https://www.rcsb.org/> . Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN (**Lewisiscrazy, 2021**).

1.3.2. DrugBank

Une base de données en ligne complète et gratuite contenant des informations sur les médicaments et les cibles médicamenteuses. En tant que ressource bioinformatique et chimioinformatique, nous combinons des données détaillées sur les médicaments

(c'est- à-dire chimiques, pharmacologiques et pharmaceutiques) avec des informations complètes sur les cibles médicamenteuses (c'est-à-dire la séquence, la structure et la voie). DrugBank Online est largement utilisé par l'industrie pharmaceutique, les chimistes médicaux, les pharmaciens, les médecins, les étudiants et le grand public. En raison de sa vaste portée, de ses références complètes et de ses descriptions détaillées des données, permet des avancées majeures dans l'industrie de la médecine basée sur les données <https://go.drugbank.com/>

2. Les méthodes

2.1. Préparation de la protéine

La structure de la protéine de cette étude est obtenue à partir de la banque de donnée « Protein Data Bank » (PDB) (**Figure 14**).

Une protéine responsable de l'adhésion de la levure *Candida albicans* : l'adhésine 4LE8, avec une valeur de résolution inférieure à 2 Å de : **1.75 Å**, composé de 2 chaînes et a un poids moléculaire de 64.79 KDa.



Figure 14: Structure 3D de l'adhésine 4LE8.

2.2. Préparation du ligand

La structure du ligand 3D a été obtenue à partir de la banque de données **DrugBank**, est représenté dans **la figure 15**. Cette étude est dans le but d'étudier l'interaction entre le ligand (thymol) et une protéine de type adhésine, le ligand est de nature phénolique

(figure16) ; une molécule connu par ses activités biologiques parmi elles l'antifongique

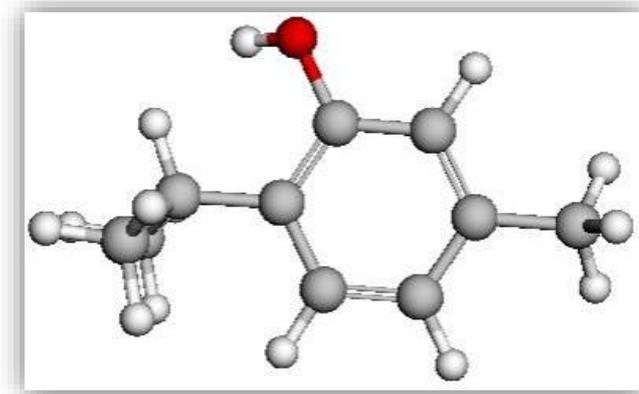


Figure 15: Structure 2D du thymol.

3. Docking Moléculaire

Cette étape nécessite la disponibilité de la protéine **adhésine (4le8)** format Pdb, le protomol généré dans l'étape précédente et le **ligand thymol** sous format Pdb. Le docking moléculaire par « **AutoDockTools** » permet d'avoir les dix (10) meilleures positions (conformations) de chaque ligand au sein du site actif étudié, classées par leur score.

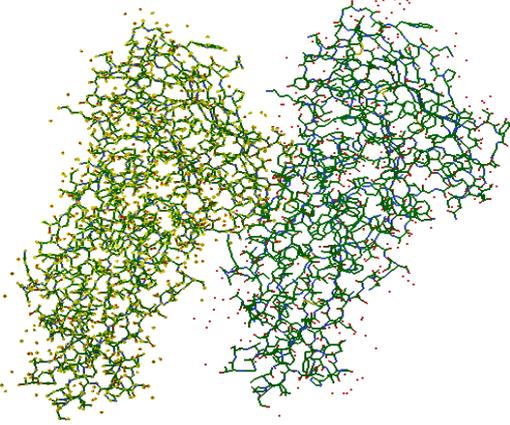
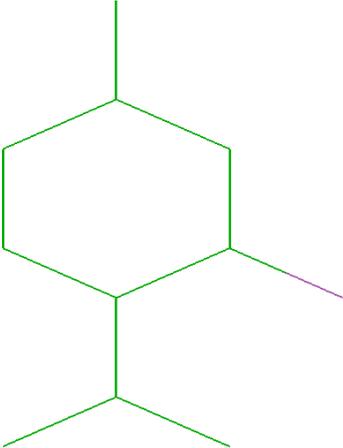
Chapitre II :

Résultats et discussion

1. Docking moléculaire

L'étude de l'interaction entre les acides aminés de la protéine Adhésine et le thymol à l'aide du logiciel Auto Dock 2.6.0 nécessite le téléchargement des structures nécessaires à partir des bases de données citées précédemment, la structure des deux molécules utilisées dans cette étude sont reportées sur le **tableau 4**. Le fichier dlg a permis d'avoir les coordonnées atomiques des dix meilleures poses du ligand dans le site actif de la protéine étudiée et par conséquent, d'avoir les structures 3D des complexes des différentes interactions avec plusieurs représentations, leur énergie de liaison ainsi que les constantes d'inhibition K_i correspondantes (**annexe**).

Tableau 4: Structures de la protéine cible et du ligand natif.

Macromolécule (4le8)	Ligand natif (DB02513)
	

2. Interaction « Thymol- Adhésine complète » (pose 2)

Les résultats du Docking moléculaire ont permis de déterminer la meilleure pose du ligand sur le site de fixation de la protéine 4le8, sur dix poses la deuxième était la plus stable avec une énergie d'interaction et une constante d'inhibition de l'ordre de $-4,46 \text{ kcal.mol}^{-1}$ et $534,65 \text{ }\mu\text{M}$ Respectivement.

La visualisation de l'interaction entre la protéine 4le8, complète (Chaînes A et B), et le thymol ainsi que la visualisation de l'emplacement du ligand thymol (représentée en sphères) au sein du site actif de cette protéine, prédit par AutoDock et Pymol a permis de

localiser l'emplacement du ligand sur la chaîne A de l'adhésine avec 13 points de fixation (Figure16).

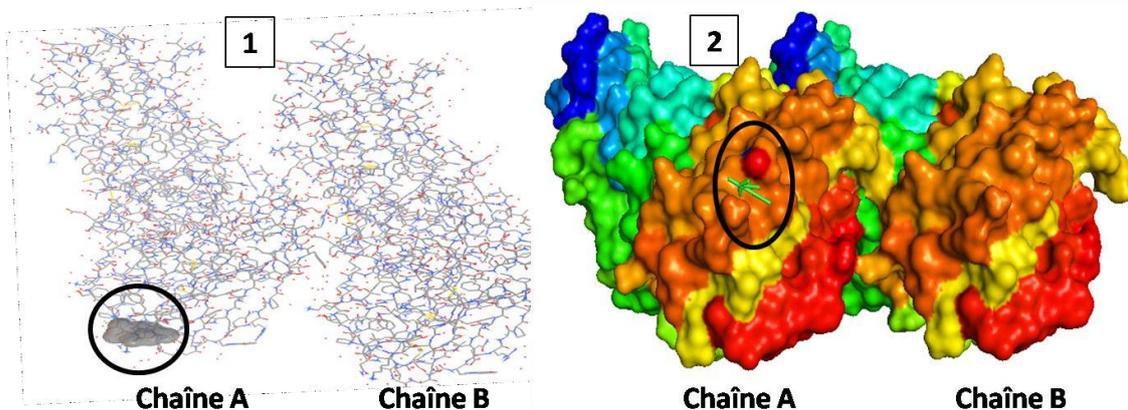


Figure 16: Emplacement du ligand « thymol » sur l'adhésine de *Candida albicans* ; 1 : visualisé avec autodock 4.2.6 ; 2 : visualisé avec Pymol.

La visualisation du site de liaison du ligand et de l'adhésine, par le logiciel Pymol, a permis d'identifier tous les acides aminés impliqués dans la liaison du thymol à l'adhésine 4le8 (Figure17).

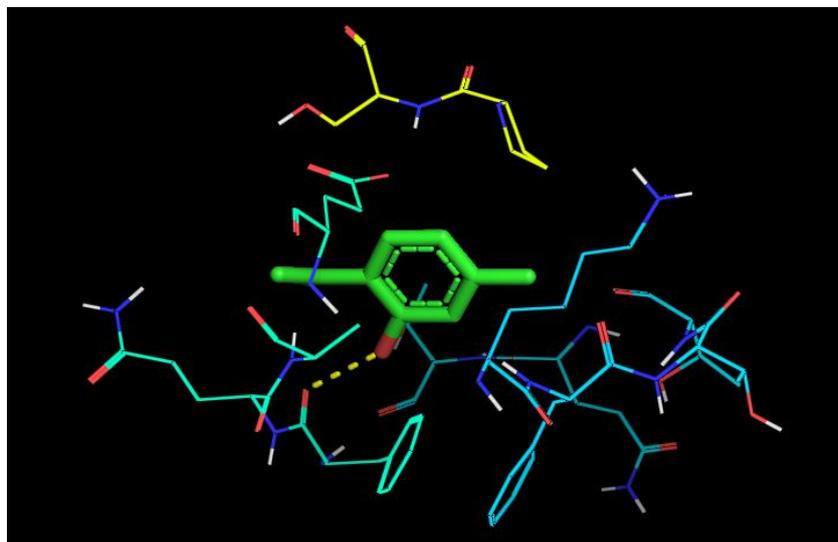


Figure 17: Représentation du site de liaison ligand sur l'adhésine 4le8 de *Candida albicans*.

La **figure 18**, permet de voir clairement les résidus impliqués, il s'agit de : LYS59, PHE60, THR61, THR62, GLN64, THR65, PHE81, GLN82, ALA83, GLU85, PRO174 et SER175.

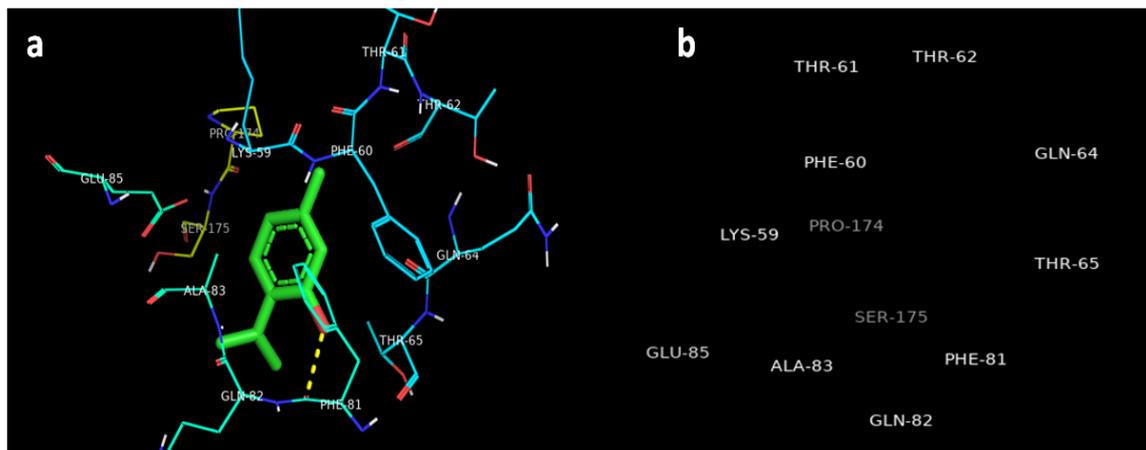


Figure 18: Représentation des acides aminés impliqués dans la fixation du thymol sur l'adhésine 4le8 de *Candida albicans*, a : acides aminés avec ligand ; b : acides aminés sans ligand.

La **figure 19** laisse apparaître deux liaisons hydrogènes établie entre le résidu PHE60 d'une part et le PHE81 d'une autre part et le thymol de longueur égale à 3,0 et 2,6Å respectivement, de type OH. La troisième liaison hydrogène est établie par l'ALA83 et est d'une d'une longueur égale à 2,3 Å.

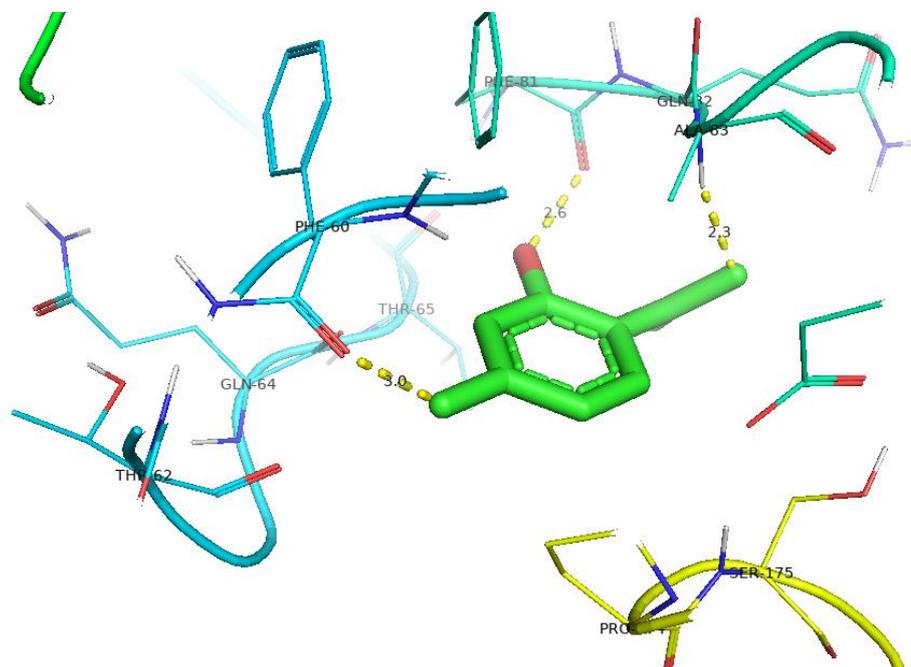


Figure 19: Représentation des acides aminés impliqués dans la stabilité du complexe thymol-l'adhésine 4le8 de *Candida albicans* et les distances en Å°.

Les acides aminés responsables de la stabilité du complexe Thymol-adhésine 4le8, sont représentés sur la Figure 20. Le complexe formé est stabilisé par les liaisons hydrogènes établies entre le ligand et les acides aminés : PHE60, PHE81, ALA83 et PRO174.

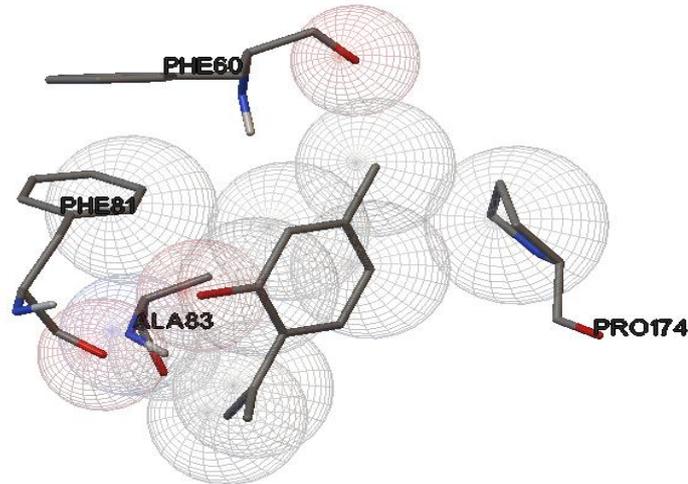


Figure 20: Les acides aminés impliqués dans la stabilité du complexe Thymol-adhésine 4le8 de *Candida albicans*.

Le but principal de ce travail est la mise en évidence d'une éventuelle action inhibitrice exercée par le thymol sur la protéine adhésine (4le8) de la *levure candida albicans* en utilisant le moyen de simulations bio-informatiques. La **Figure 18** laisse apparaître un complexe Thymol-Adhésine où 10 sites potentiels d'association ont été obtenus, dont nous avons sélectionné le numéro 9 pour sa richesse en charges négatives avec une énergie d'interaction égale à $-3.33 \text{ kcal mol}^{-1}$ et $-3.36 \text{ kcal mol}^{-1}$ respectivement, ceci représente la meilleure activité inhibitrice comparé aux autres (**annexe**).

Selon les travaux de **Boneti et al (2021)**, le thymol et le carvacrol se sont avérés efficaces sur l'inhibition des bactéries, avec des valeurs de MIC et de MBC à 1,87 mM. De leur côté **Lambert et al (2001)**, ont démontré que l'efficacité de l'huile essentielle de thym contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* est due à une synergie entre ses principaux constituants : le carvacrol et le thymol. D'autre part, **Viollon et Chaumont (1994)** ont décrit l'effet fongitoxique du thymol et du carvacrol sur *Cryptococcus neoformans*, champignon opportuniste rencontré au cours du SIDA. **Guinoiseau (2010)**, a démontré que les composés phénoliques, comme le thymol, ont les plus hautes activités antibactériennes.

Pour absence de manipulation au laboratoire ; le travail réalisé reste à compléter par d'autres essais bactériologiques au laboratoire.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives.

Conclusion et perspectives :

Au sein de l'embranchement des mycètes qui sont des microorganismes ; *Candida albicans* est une levure responsable de candidoses. Ces dernières sont des infections fongiques opportunistes très fréquentes.

Cette levure envahit les tissus et les cellules humaines par le phénomène d'adhésion et la formation de biofilm. Les adhésines sont des protéines responsables de cette adhérence cellulaire et donc la pathogénicité de ce microorganisme.

Dans le but de lutter contre les candidoses, cette étude s'intéresse à l'inhibition de l'adhérence cellulaire par une molécule naturelle issue d'une plante aromatique : le thymol, en utilisant le docking moléculaire qui est l'une des méthodes de modélisation moléculaire.

Le docking moléculaire a été développé en conséquence du développement des outils de bio-informatiques, ce qui a permis d'investir dans le domaine de recherche de biologie. Le docking a pour but de prédire la conformation la plus favorable du ligand à son protéine, dans ce cas le thymol à l'adhésine de *C. albicans*.

Les résultats du Docking moléculaire dans cette étude ont donné l'énergie d'interaction correspondante au complexe thymol-chaîne A de l'adhésine 4le8 de *Candida albicans*, ainsi que la constante d'inhibition de ce dernier. La visualisation de l'interaction entre la protéine 4le8, complète (Chaînes A et B), et le thymol ainsi que la visualisation de l'emplacement du ligand thymol (représentée en sphères) au sein du site actif de cette protéine, prédit par AutoDock et Pymol a permis de localiser l'emplacement du ligand sur la chaîne A de l'adhésine avec localiser l'emplacement du ligand sur l'adhésine avec 13 points de fixation, ainsi que les acides aminés impliqués dans la stabilité du complexe grâce aux liaisons hydrogènes établies avec le ligand, il s'agit de : PHE60, PHE81, ALA83 et PRO174.

Les résultats n'étant pas complets il serait intéressant de :

- ✚ Faire des études in-vivo de bactériologie pour prouver les prédictions de docking moléculaire ;
- ✚ Réaliser des traitements à base de thymol contre la candidose.

Références bibliographiques

Références bibliographiques.

Andrea, B., Benedetta, T., Roberto, M., Barbara, R., Giulia, G., Andrea, P., Ester, G.(2021). Le thymol, le carvacrol et l'eugénol réduisent la croissance d'Escherichia coli K88 et l'expression des gènes de virulence in vitro. *Journées Recherche Porcine*, 53, 243-244.

Asses, Y. (2011). Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur,c-Met (Thèse de doctorat, Université Nancy 1).

Auzeil, N. (1992). Recherche d'antifongiques inhibiteurs de l'adhésion : synthèse et activité biologique de thio-derivés lipophiles (thiocyanates, thiourées, azoles mono et polycycliques) (Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré-Nancy 1).

Baldo, A., Mathy, A., Vermout, S., Tabart, J., Losson, B., & Mignon, B. (2007). Les mécanismes d'adhérence des champignons responsables de mycoses superficielles. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 151). ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.

Bongrand, P. (2000). Contrôle de l'adhérence cellulaire. *médecine/science (M/S)* , p974-978.

Boucherit, H., Chikhi, A., Bensegueni, A., Merzoug, A., Hioual, K.,& Mokrani, E. (2013). L'amarrage Moléculaire : Une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose. *Review of Industrial Microbiology Sanitary and Environmental*, 7(2), 133-149.

Behera, S. M., Mohanta, R. K., Sahu, S. K., Banerjee, M., & Mohanta, L. (2013). Molecular docking: a review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(1), 236-257.
Farinde, A. (2021, juin). *Sélectivité du site d'action*. www.msmanuals.com. Consulté le 10 juin 2022, à l'adresse <https://www.wjpr.net/>

Beucher, B. (2007). Spécificité antigénique de l'Als3p de *Candida albicans* et implication de cette protéine dans l'interaction avec les constituants de l'hôte (Thèse de doctorat, Université d'Angers).

Cateau, E., Rodier, M. H., & Imbert, C. (2012). Candidoses associées aux cathéters-Quelle place pour les verrous antifongiques?. *médecine/sciences*, 28(8-9), 740-745, DOI :

Références bibliographiques.

<https://doi.org/10.1051/medsci/2012288016>

Campus de Parasitologie-Mycologie - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). (2013, 10 novembre). *Candidose*. Consulté le 19 mai 2022, à l'adresse

<http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/candidoses/site/html/1.html>

Chambard, F. (2009). Les candidoses cutanéomuqueuses: physiopathologie et conseils à l'officine.

Charie, T. (2019). *Le Thymol dans les huiles essentielles*. Compagnie des sens. Consulté le 27 juin 2022, à l'adresse <https://www.compagnie-des-sens.fr/thymol/>

Chikhi, A. (2007). Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase–Substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. (Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine).

Colm, G. (2010, 17 juillet). *Fichier : Candida albicans 2.jpg* [Observation sous microscope]. Fichier: Candida albicans2.jpg.

https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Candida_albicans_2.jpg

Cotter, G., & Kavanagh, K. (2000). Adherence mechanisms of *Candida albicans*. *British journal of biomedical science*, 57(3), 241.

Cours : L'adhérence cellulaire. (2020). www.ebiologie.fr. Consulté le 23 mai 2022, à l'adresse <https://www.ebiologie.fr/cours/s/10/1-adherence-cellulaire>

David, M. (2019). *Sources, propriétés et applications* (Thèse de doctorat, Université de Limoges).

De Castro, R. D., de Souza, T. M. P. A., Bezerra, L. M. D., Ferreira, G. L. S., de Brito Costa, E. M. M., & Cavalcanti, A. L. (2015). Antifungal activity and mode of action of thymol and its synergism with nystatin against *Candida* species involved with infections in the oral cavity: an in vitro study. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-7. DOI

<https://doi.org/10.1186/s12906-015-0947-2>

Références bibliographiques.

Elangbam, C. S., Qualls Jr, C. W., & Dahlgren, R. R. (1997). Cell adhesion molecules—update. *Veterinary pathology*, 34(1), 61-73. DOI:

<https://doi.org/10.1177/030098589703400113>

Ellepigrafica. (s. d.). *Molécules d'adhésion cellulaire (comes)* [Illustration].

www.alamyimages.fr. [https://www.alamyimages.fr/molecules-d-adhesion-cellulaire-](https://www.alamyimages.fr/molecules-d-adhesion-cellulaire-comes-image430727143.html)

[comes-image430727143.html](https://www.alamyimages.fr/molecules-d-adhesion-cellulaire-comes-image430727143.html)

Essalih, M. A. (2022). Candidoses urinaires : Revue de la littérature (Thèse de doctorat, Université de Mohamed V).

El Kirat, S. (2010). Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions Candida-phagocytes; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez *C. lusitaniae* (Thèse de doctorat, Bordeaux 2).

Escobar, A., Perez, M., Romanelli, G., & Blustein, G. (2020). Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12), 9243-9269. DOI :

<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.009>

Farinde, A. (2021, juin). Sélectivité du site d'action. *LE MANUEL MSD* .

Grubb, S. E., Murdoch, C., Sudbery, P. E., Saville, S. P., Lopez-Ribot, J. L., & Thornhill, M. H. (2008). Candida albicans-endothelial cell interactions: a key step in the pathogenesis of systemic candidiasis. *Infection and immunity*, 76(10), 4370-4377. DOI :

<https://doi.org/10.1128/IAI.00332-08>

Hamri Abir & Brinis Aicha. (2018). Effets antimicrobiens des extraits de *Thymus vulgaris* chez *Candida albicans* responsable des infections uro-génitales (Mémoire de mastère, Université Mostaganem).

Irimes, C. (2011). Caractérisation génétique, phénotypique et formation de biofilm des souches de *Candida albicans* répondant ou non au farnésol.(Mémoire de master, Université de Montréal).

Références bibliographiques.

Jebali, J., Jeanneau, C., Bazaa, A., Mathieu, S., El Ayeb, M., Luis, J., ... & Marrakchi, N. (2011). Les sélectines : acteurs de l'adhérence cellulaire et potentiel cible thérapeutique. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 88(1-4), 3.

Kokare, C. R., Chakraborty, S., Khopade, A. N., & Mahadik, K. R. (2009). Biofilm: importance and applications. DOI:

<https://doi.org/10.4236/oalib.1105900>

Kontoyianni, M., McClellan, L. M., & Sokol, G. S. (2004). Evaluation of docking performance: comparative data on docking algorithms. *Journal of medicinal chemistry*, 47(3), 558-565. DOI:

<https://doi.org/10.1021/jm0302997>

Kreisel, H., & Schauer, F. (1989). Dimorphismus im system der pilze—grauzone der taxonomie?. *Zentralblatt für Mikrobiologie*, 144(4), 219-229. DOI:

[https://doi.org/10.1016/S0232-4393\(89\)80080-0](https://doi.org/10.1016/S0232-4393(89)80080-0)

Lachance, M. A., Boekhout, T., Scorzetti, G., Fell, J. W., & Kurtzman, C. P. (2011). *Candida Berkhout (1923)*. In *The yeasts* (pp. 987-1278). Elsevier. DOI:

<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00090-2>

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3), 453-462. DOI :

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x>

Lewisiscrazy. (2021, 27 avril). *Protein Data Bank - Définition et Explications*. www.techno-science.net. Consulté le 20 juin 2022, À l'adresse <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Protein-Data-Bank.html>

Lorax, C (2017). *Caractérisations génotypique et phénotypique de souches de Candida glabrata développant des résistances aux antifongiques* [Thèse de doctorat, Université de Bordeaux]. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01655125. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01655125/document>

Lafaurie, L. (2020, 23 novembre). *Candida albicans : symptômes et traitements*. www.doctissimo.fr. Consulté le 19 2022, à l'adresse

Références bibliographiques.

<https://www.doctissimo.fr/sante/mycoses/principales-mycoses/candida-albicans-definition-symptome-traitement>

Louacheni, F. (2014). Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul (Mémoire de master, Institut de la Francophonie pour l'Informatique).

Loubna, A. (2020). Conception et évaluation des molécules anticancéreuses par approches in silico : Inhibiteurs des Kinases AKT1 et LMTK3. (Thèse de doctorat, Université de Mohamed V).

Luo, S., Skerka, C., Kurzai, O., & Zipfel, P. F. (2013). Complement and innate immune evasion strategies of the human pathogenic fungus *Candida albicans*. *Molecular immunology*, 56(3), 161-169. DOI :

<https://doi.org/10.1016/j.molimm.2013.05.218>

Marouf, A., & Tremblin, G. (s. d.). *Thymol*. Mémento technique À l'usage des biologistes et biochimistes. Consulté le 27 juin 2022, à l'adresse https://www.grenoble-sciences.fr/pap-ebooks/marouf-tremblin/fiche_produit/thymol

Martin, H., Kavanagh, K., & Velasco-Torrijos, T. (2021). Targeting adhesion in fungal pathogen *Candida albicans*. *Future Medicinal Chemistry*, 13(03), 313-334. DOI :

<https://doi.org/10.4155/fmc-2020-0052>

Martineau, P. (2004). Caractérisation d'une protéine de 47 KDA chez le pathogène humain *Candida albicans*. (Mémoire de master, l'Université Laval).

Mège, R. M. (1991). Les molécules d'adhérence cellulaire : molécules morphogénétiques.

Pierres, A., BENOLIEL, A. M., & Bongrand, P. (2000). Contrôle de l'adhérence cellulaire. *MS. Médecine sciences*, 16(8-9), 974-978.

Monniot, C. (2012). Les protéines à ancre GPI de *Candida albicans* dans l'interaction avec l'hôte : de l'étude de domaines solubles à la caractérisation de la protéine Rbt1 (Thèse de doctorat, AgroParisTech).

Moitessier, N., Englebienne, P., Lee, D., Lawandi, J., & Corbeil, A. C. (2008). Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods:

Références bibliographiques.

a long way to go. *British journal of pharmacology*, 153(S1), S7-S26. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707515>

Peyriéras, N. (1992). Les mécanismes moléculaires de l'adhérence cellulaire. *MS. Médecine sciences*, 8(6), 591-596.

Poulain, D. (2015). Candida albicans, plasticity and pathogenesis. *Critical reviews in microbiology*, 41(2), 208-217. DOI: <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.813904>

Revankar, S. G. (2021, avril). *Candidose (Invasive)*. www.msmanuals.com. Consulté le 19 mai 2022, à l'adresse <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladiesinfectieuses/mycoses/candidose-invasive>

Ruhnke, M. (2006). Epidemiology of Candida albicans infections and role of non-Candidaalbicans yeasts. *Current drug targets*, 7(4), 495-504. DOI : <https://doi.org/10.2174/138945006776359421>

Saidi, C., & Sadoudi, M. (2018). Epidemiologie des infections fongiques invasives au CHU de Tizi-ouzou. (Mémoire de master, Université de Tizi Ouzou).

Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., ... & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020. DOI : <https://doi.org/10.2174/138945006776359421>

Segal, E., Lehrer, N., & Ofek, I. (1982). Adherence of Candida albicans to human vaginal epithelial cells: inhibition by amino sugars. *Pathobiology*, 50(1), 13-17. DOI : <https://doi.org/10.1159/000163121>

Simard, J. (2012). Collaboration haptique étroitement couplée pour la manipulation moléculaire interactive (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

Simon, M. (2011, 21 mai). *Adhérence cellulaire*. www.cours-pharmacie.com. Consulté le 19 mai 2022, à l'adresse <https://www.cours-pharmacie.com/biologie-cellulaire/adherence-cellulaire.html>

Références bibliographiques.

Slutsky, B., Buffo, J., & Soll, D. R. (1985). High frequency switching of colony morphology in *Candida albicans*. *Science*, 230(4726), 666-669. DOI:

<https://doi.org/10.1126/science.3901258>

Thompson, D. S., Carlisle, P. L., & Kadosh, D. (2011). Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. *Eukaryotic cell*, 10(9), 1173-1182. DOI:

<https://doi.org/10.1128/EC.05085-11>

Thomsen, R., & Christensen, M. H. (2006). MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of medicinal chemistry*, 49(11), 3315-3321. DOI :

<https://doi.org/10.1021/jm051197e>

Thymol. (2020, 12 juin). drugbank. Consulté le 27 juin 2022, à l'adresse

<https://go.drugbank.com/>

Thymol. (2008, 16 décembre). Aromathérapie. Consulté le 26 juin 2022, à l'adresse

<http://www.aromacopa.com/thymol.php>

Thymol. (2010). Academic. Consulté le 26 juin 2022, à l'adresse

<https://fr-academic.com/dic.nsf/frwiki/1631336>

Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461. DOI:

<https://doi.org/10.1002/jcc.21334>

Tsui, C., Kong, E. F., & Jabra-Rizk, M. A. (2016). Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathogens and disease*, 74(4). DOI:

<https://doi.org/10.1093/femspd/ftw018>

Uppuluri, P., Chaturvedi, A. K., Srinivasan, A., Banerjee, M., Ramasubramaniam, A. K., Köhler, J. R., ... & Lopez-Ribot, J. L. (2010). Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS pathogens*, 6(3), e1000828. DOI:

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000828>

Références bibliographiques.

Usher, J. (2019). The mechanisms of mating in pathogenic fungi—a plastic trait. *Genes*, *10*(10), 831. DOI:

<https://doi.org/10.3390/genes10100831>

Valle, D A.-C. (2019). *Qu'est-ce qu'un candida albicans ?* journaldesfemmes.fr. Consulté le 10 mai 2022, à l'adresse <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2514813-candida-albicans-definition-traitement-symptomes/>

Viollon, C., & Chaumont, J. P. (1994). Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*, *128*(3), 151-153. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01138476>

Whiteway, M., & Bachewich, C. (2007). Morphogenesis in *Candida albicans*. *Annual review of microbiology*, *61*, 529. DOI: <https://doi.org/10.1146%2Fannurev.micro.61.080706.093341>

Ysabelle, S., & Dora, L. (2021, 24 novembre). *Candidose (candida) : tout savoir sur cette infection fongique.* www.santemagazine.fr. Consulté le 19 mai 2022, à l'adresse https://www.santemagazine.fr/sante/fiche-maladie/candidose-candida_177203

Zhong, X., Drgonova, J., Li, C. Y., & Uhl, G. R. (2015). Human cell adhesion molecules: annotated functional subtypes and overrepresentation of addiction-associated genes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1349*(1), 83-95. DOI: <https://doi.org/10.1111/nyas.12776>

Annexes

Annexe.

Tableau: RMSD

RMSD TABLE

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	2	-4.46	0.00	177.56	RANKING
2	1	3	-4.45	0.00	192.69	RANKING
2	2	8	-4.44	0.30	192.68	RANKING
3	1	10	-4.36	0.00	193.99	RANKING
3	2	5	-4.32	1.83	194.21	RANKING
4	1	1	-4.17	0.00	172.94	RANKING
4	2	9	-4.14	0.53	173.17	RANKING
5	1	6	-4.12	0.00	188.07	RANKING
5	2	7	-4.05	1.36	187.86	RANKING
6	1	4	-4.05	0.00	171.05	RANKING

Résumés

Résumés.

Résumé :

En gardant à l'esprit que le règne végétal a, depuis l'antiquité, fourni aux structures chimiques des « médicaments », Le thymol un terpénoïde connue par ses propriétés biologiques notamment antifongique, qui peut être un fongicide naturel contre les candidoses.

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés aux interactions moléculaires entre le thymol et l'adhésine de la levure, s à l'aide du Docking moléculaire qui est une des méthodes de la modélisation moléculaire, en menant une simulation permettant de fournir des informations sur la possibilité ou non d'inhiber l'adhésine responsables de l'adhésion cellulaire de *Candida albicans*.

Les résultats du docking fait par le programme AutoDock ont permis d'obtenir la liaison de thymol à la protéine adhésine, sa fixation sur le site actif situé dans la chaîne A de l'Adhésine, par la liaison aux acides aminés : PHE60, PHE81, ALA83 et PRO174.

Mots clés : Adhésine, *Candida albicans*, Thymol, Autodock, Docking moléculaire.

ملخص:

مع الأخذ بعين الاعتبار أن المملكة النباتية قد زودت منذ العصور القديمة التركيبات الكيميائية بـ "الأدوية"، الثيمول Thymol وهو تيربينويد معروف بخصائصه البيولوجية، ولا سيما مضاد للفطريات، والذي يمكن أن يكون مضاد فطري طبيعي ضد الإصابة بـ candidose.

في هذا العمل الحالي، كنا مهتمين بالتفاعلات الجزيئية بين الثيمول واللاصق الجرثومي لخميرة candida، باستخدام الالتحام الجزيئي الذي يعد إحدى طرق النمذجة الجزيئية، من خلال إجراء محاكاة لتوفير معلومات حول إمكانية أو عدم تثبيط الالتصاق الجرثومي للخميرة عن طريق اللاصق الجرثومي المسؤول عن التصاق *Candida albicans*.

أتاحت نتائج الإرساء الذي تم إجراؤه بواسطة برنامج AutoDock الحصول على ارتباط الثيمول بالبروتين اللاصق الجرثومي، وبينت ارتباطه بالموقع النشط الموجود في السلسلة A من بروتين اللاصق الجرثومي، عن طريق الارتباط بالأحماض الأمينية PRO174، ALA83، PHE81، PHE60.

الكلمات المفتاحية: *AutoDock*، *Candida albicans*، الثيمول، الإرساء الجزيئي، اللاصق الجرثومي،

Abstract:

Since antiquity, the plant kingdom has provided chemical structures with “medicines”. Thymol, a terpenoid known for its biological properties, in particular antifungal, which can be a natural fungicide against candidiasis.

In this present work, we aims to study the molecular interactions between thymol and yeast adhesin, using molecular docking which is one of molecular modeling methods by conducting a simulation to provide information on the possibility or not of inhibiting the adhesin responsible for the cell adhesion of this yeast *Candida albicans*.

The results of the docking done by the AutoDock program shown the binding of thymol to the adhesin protein in the active site located in the chain A of the Adhesin, by binding to the amino acids positions: PHE60, PHE81, ALA83 et PRO174.

Key words: Adhesine, *Candida albicans*; molecular docking, AutoDock, Thymol.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BOURBOUHAT Mounia
BOUTAOUTAOU Sara

Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction protéine-Ligand : cas du thymol et d'adhésine 4le8 de *Candida albicans*.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie.

En gardant à l'esprit que le règne végétal a, depuis l'antiquité, fourni aux structures chimiques des « médicaments », Le thymol un terpénoïde connue par ses propriétés biologiques notamment antifongique, qui peut être un fongicide naturel contre les candidoses.

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressées aux interactions moléculaires entre le thymol et l'adhésine de la levure *C. albicans*, à l'aide du Docking moléculaire qui est une des méthodes de modélisation moléculaire, en menant une simulation permettant de fournir des informations sur la possibilité ou non, d'inhiber l'adhésine 4le8 responsables de l'adhésion cellulaire de *Candida albicans*.

Les résultats du docking réalisé à l'aide du programme AutoDock 4.6.0 et du logiciel Pymol, ont permis de visualiser la liaison de thymol à la sous unité A de l'adhésine 4le8, grâce aux acides aminés : PHE60, PHE81, ALA83 et PRO174.

Mots-clefs : Adhésine, *Candida albicans*, Thymol, Autodock, Docking moléculaire.

Jury d'évaluation :

Encadreur : BENLOUNISSI Aïcha (M.C.A – ENSB).
Examinatrice 1: BECHKRI Sakina (M.C.A – UPMC1).
Examinatrice 2 : CHAOUI Naouel (Professeur – UPMC1).