



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes, des Sciences de
La Nature et de La Vie
Département des Sciences de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Matière Filière
: Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Réf. : Entrez la référence du document

Présenté et soutenu par :

HAZHAZI NESRINE ET BEN YAHOUB MOUFIDA

Le : 26 /06 /2021

Conception In Silico De Nouveaux Composés Antiviraux

Jury :

| | | | | |
|----|-----------------|-----|----------------------|-----------|
| Dr | Ouassaf Mebarka | MCA | Université de Biskra | Encadreur |
| Dr | Djani Faiçal | MCA | Université de Biskra | Président |
| Dr | Lehraki Faiza | MAA | Université de Biskra | Examineur |

Année universitaire : 2020/2021



Remerciement

En tout premier lieu, je remercie Allah, le tout puissant, de m'avoir fait ce que je suis aujourd'hui, de m'avoir donné la force, la volonté et le courage pour réussir toutes mes années scolaires primaire, secondaire, et universitaire, et pour l'achèvement de ce travail avec persévérance. Alhamdulillah.

*Je tiens à exprimer mes remerciements aux membres du jury : Feïçel Djani ;lahraki
Faizza .*

*A mon cher maîtresse et président de mémoire , Dr. Ouassaf Moubareka
Je vous remercie de nous avoir confié ce travail et de me faire l'immense honneur de présider le jury de notre mémoire . Pendant notre études, j'ai eu le privilège de bénéficier de votre enseignement et de vos conseils précieux. Je vous exprime toute ma gratitude et mon respect profond.*



Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,

Leur tendresse, leur soutien et leurs prières

Tout au long de mes études, pour toute

Leur assistance et leur présence dans ma vie.

A mes frères et soeurs pour leur encouragement

permanente et leur soutien moral.

A tous mes amis et surtout A MON MEILLEUR AMI Moufida Benyahoub

et ma famille

Hazhazi nesrine



Dédicaces

Je dédie cette mémoire ...

A MA MERVEILLEUSE MERE

*A MON CHER PERE A mes frères et soeurs pour leur encouragement
permanente et leur soutien moral.*

A MON MEILLEUR AMI

Hazhazi Nesrine

À TOUS MES AMIS ET PLUS SPECIALEMENT

Benzetta Abir, Boualamek hawla, Ben Abdellah Ahlem, OumHani , Iness, Roumaïssa

.....

*Merci pour les agréables moments qu'on a passé ensemble. Merci pour la
sympathie et l'affection que vous m'avez toujours porté. Puisse Dieu vous
procurer bonheur, santé, succès et réussite.*

Moufida Benyahoub

SOMMAIRE

| | |
|--|-----|
| Remerciements..... | i |
| SOMMIRE..... | ii |
| LISTE DES FIGURES..... | iii |
| LISTE DES TABLEAUX..... | iv |
| LISTE DES PRINCIPALES ABRÉVIATIONS..... | v |
| CODES DES ACIDES AMINES CITES DANS CE TRAVAIL..... | vi |
| INTRODUCTION GENERALE..... | 1 |
| Référence..... | 3 |

Chapitre I : LE CORONA VIRUS

| | |
|---|----|
| I.1. Introduction..... | 4 |
| I.2. Définitions et classification..... | 4 |
| I.2.1. Corona virus..... | 4 |
| I.2.2. COVID-19..... | 5 |
| I.2.3. Le virus SARS-CoV-2..... | 5 |
| I.3. L'origine du corona virus SARS-CoV-2..... | 6 |
| I.4. Description du virus responsable de COVID19..... | 6 |
| I.4.1. Propriétés morphologiques et structurales du corona virus..... | 6 |
| I.5. Cycle de multiplication viral..... | 7 |
| I.6. Epidémiologie..... | 9 |
| I.6.1. Caractère épidémiologique à l'échelle mondiale..... | 9 |
| I.7. Réservoir et mode de transmission..... | 10 |
| I.8. Symptômes et épidémiologie..... | 11 |
| I.8.1. Prise en charge d'un cas possible d'infection au SARS-CoV-2..... | 12 |
| I.9. Traitement Spécifique de l'infection covid-19..... | 14 |
| I.9.1. Traitement symptomatique..... | 14 |
| I.9.1.1 Oxygénothérapie..... | 14 |
| I.9.1.2 Ventilation mécanique..... | 14 |
| I.9.2. Traitement spécifique..... | 14 |

| | |
|---|-----------|
| I.10. Précautions prises pour prévenir le covid-19..... | 15 |
| Références..... | 16 |

Chapitre II : DOCKING MOLECULAIRE

| | |
|--|-----------|
| II.1. Introduction..... | 18 |
| II.2. Docking moléculaire..... | 18 |
| II.3. Les outils du Docking moléculaire..... | 19 |
| II.3.1.Ligand..... | 19 |
| II.3.2.Récepteur..... | 20 |
| II.4. Représentations simplifiées des phénomènes de Docking moléculaire..... | 20 |
| II.5. Interaction protéine-ligan..... | 22 |
| II.5.1.Interactions électrostatiques..... | 22 |
| II.5.2.Les forces de Van Der Waals..... | 22 |
| II.5.3.La liaison hydrogène..... | 23 |
| II.5.4.Interactions hydrophobes..... | 24 |
| II.6. Processus de scoring..... | 25 |
| II.7. Protocole général de Docking..... | 25 |
| II.8. Paramètres Drug-Like..... | 26 |
| II.8.1.Règle de lipinski..... | 27 |
| II.8.2.Règles de Veber..... | 27 |
| Références..... | 28 |

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|---|----|
| III.1. Introduction..... | 31 |
| III.2. Matériel et outils utilisés..... | 31 |
| III.2.1.Micro-ordinateur..... | 32 |
| III.2.2.Banques (bases) de données et outils logiciels..... | 32 |
| III.3. Méthodologie du travail..... | 37 |
| III.3.1.Préparation de l'Enzyme..... | 39 |
| III.3.2.Détection des cavité..... | 40 |
| III.3.3.Préparation des ligands..... | 43 |
| III.3.4.Simulation Docking moléculaire..... | 49 |

| | |
|---|-----------|
| III.3.5. Prédiction des propriétés moléculaires des ligands | 49 |
| III.4. Résultats et Discussion..... | 50 |
| III.4.1. Docking moléculaire..... | 50 |
| A/ enzyme-ligand de référence (N3)..... | 54 |
| B/ Étude des interactions enzyme-ligand..... | 55 |
| III.5. Résultats des propriétés moléculaires (Drug likeness)..... | 71 |
| A) Application de la règle de cinq (règle de Lipinski) | 71 |
| B) Application de la Règle de Veber..... | 73 |
| Références..... | 74 |
| CONCLUSION GENERALE..... | 75 |
| ANNEXE | |

Liste des principales abréviations

| | |
|-------------------|--|
| ADN | Acide Désoxyribonucléique |
| COVID-19 | Corona Virus Infections Disease 2019 |
| Diagnostic RT-PCR | Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction |
| ME | microscopie électronique |
| MERS-COV | Middle East Respiratory Syndrome |
| MOE | Molecular Operating Environment |
| NRB | Nombre des liaisons rotatives (Rotatable bonds). |
| OMS | Organisation mondiale de la santé |
| ON | liaisons hydrogène accepteurs |
| PDB | Protein Data Bank |
| PDBe | Protein Data Bank European (banque de donnée protéique European) |
| PDBj | Protein Data Bank Japan (banque de donnée protéique Japan) |
| RMN | Résonance Magnétique Nucléaire |
| SARS-CoV | Sever Acute Respiratory SyndromCoronavirus |
| SARS-CoV-2 | SRAS = syndrome respiratoire aigu sévère, du au COV-2 corona virus 2 |
| TPSA | Topological Polar Surface Area |
| V.d.W | Van der Waals |

Codes des Acides Aminés cités dans ce travail

| | |
|----------------|------------------------------|
| Asn (N) | Asparagine |
| Asp (D) | Acide aspartique (Aspartate) |
| Cys (C) | Cystéine |
| Gln (Q) | Glutamine |
| Glu (E) | Acide glutamique (Glutamate) |
| Gly (G) | Glycine |
| His (H) | Histidine |
| Ile (I) | Isoleucine |
| Leu (L) | Leucine |
| Met (M) | Méthionine |
| Phe (F) | Phénylalanine |
| Ser (S) | Serine |
| Thr(T) | Thréonine. |
| Trp (W) | Tryptophane |
| Tyr (Y) | Tyrosine |

LISTE DES FIGURES

| N° | Figures | Pages |
|--------------|---|-------|
| I.1 | classifications de la corona virus | 6 |
| I.2 | représentation schématique du coronavirus SARS-Cov-2 | 8 |
| I.3 | Schéma montrant de façon simplifiée la reconnaissance entre le SARS-CoV-2 et une cellule humaine exprimant le récepteur ACE2 | 9 |
| I.4 | Le cycle de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2 Légende | 9 |
| I.5 | Evolution du nombre quotidien de nouveaux cas confirmés et nouveaux décès par COVID-19 du 25 février 2020 au 21 mars 2021 en Algérie | 11 |
| I.6 | Modes de transmission du SARS-CoV-2 | 12 |
| I.7 | les symptômes caractéristiques la maladie de corona | 13 |
| I.8 | Prise en charge des sujets contacts par niveau de risque | 14 |
| II.1 | Représentation schématique du Docking moléculaire | 18 |
| II.2 | Principe général de Docking | 19 |
| II.3 | Le modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur | 21 |
| II.4 | Le modèle d'ajustement induit induced fit pour modéliser la formation d'un complexe | 21 |
| II.5 | Interactions électrostatiques | 22 |
| II.6 | Les interactions de Vander Waals | 23 |
| II.7 | La liaison hydrogène est une interaction entre deux dipôles, l'un formé par le donneur et l'atome d'hydrogène, l'autre par l'accepteur et le carbone auquel est lié | 24 |
| II.8 | Interaction hydrophobe | 24 |
| II.9 | Protocole général de docking | 26 |
| III.1 | Interface du site Protéine Data Bank (PDB) | 33 |
| III.2 | Interface du logiciel MOE | 34 |
| III.3 | Interface du logiciel Chem draw | 35 |
| III.4 | Interface Web du logiciel Molinspiration | 36 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|---------------|---|----|
| III.5 | Interface Web de visualiseur Discovery studio | 37 |
| III.6 | Méthodologie de Travail | 38 |
| III.7 | Structure 3D de l'enzyme 6LU7 simplifi | 39 |
| III.8 | structures chimiques 2D de ligand de référence N3 | 40 |
| III.9 | Cavité 1 de l'enzyme 6lu7 | 41 |
| III.10 | structures chimiques 2D des ligands L1-118 | 48 |
| III.11 | Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE | 53 |
| III.12 | Interactions entre le ligand de référence N3 et les résidus de site actif de 6LU7 | 55 |
| III.13 | Interactions entre le ligand 3 et les résidus de site actif de 6LU7 | 59 |
| III.14 | Interactions entre le ligand 7 et les résidus de site actif de 6LU7 | 60 |
| III.15 | Interactions entre le ligand 84 et les résidus de site actif de 6LU7 | 62 |
| III.16 | Interactions entre le ligand 85 et les résidus de site actif de 6LU7 | 63 |
| III.17 | Interactions entre le ligand 87 et les résidus de site actif de 6LU7 | 65 |
| III.18 | Interactions entre le ligand 90 et les résidus de site actif de 6LU7 | 66 |
| III.19 | Interactions entre le ligand 108 et les résidus de site actif de 6LU7 | 68 |
| III.20 | Interactions entre le ligand 110 et les résidus de site actif de 6LU7 | 69 |
| III.21 | Interactions entre le ligand 115 et les résidus de site actif de 6LU7 | 71 |

LISTE DES TABLEAUX

| N° | Tableaux | Pages |
|--------------|--|-------|
| I.1 | Précautions à prendre pour les Traitements antiviraux..... | 15 |
| III.1 | Caractéristiques des ordinateurs utilisés | 32 |
| III.2 | Composition de la chaîne A de protéine protéase (6LU7)..... | 40 |
| III.3 | Propriétés des cavités de l'enzyme 6LU7..... | 42 |
| III.4 | Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 6LU7 avec les ligands Etudiés | 51 |
| III.5 | Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE..... | 53 |
| III.6 | résultats de Docking moléculaire et l'analyse des interactions pour les meilleurs complexes | 56 |
| III.7 | Résultats d'application de la Règle de Lipinski p our les meilleurs inhibiteurs de SARs-COV 2 | 72 |
| III.8 | Résultats de l'application de la Règle Veber pour les meilleurs inhibiteurs de SARsCOV2..... | 73 |

INTRODUCTION GENERALE

En fin décembre 2019, La maladie due au nouveau corona virus a été signalée pour la première fois à la ville de Wuhan en chine sous forme des cas de pneumonie aigue d'étiologie inconnue compliquée de syndrome respiratoire aigu sévère. Une semaine plus tard, les autorités sanitaires chinoises en ont avisé l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). Début janvier 2020, l'agent pathogène, qui en était responsable, était identifié comme un nouveau corona virus appelé SARS-CoV-2. L'appellation SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) est utilisée pour désigner ce nouveau virus de la famille corona viridae. L'OMS a proposé l'acronyme COVID-19 pour désigner la maladie causée par ce virus [1].

Comme il n'y a pas encore de médicament contre le SARS-CoV-2, des essais cliniques pour tester l'efficacité des inhibiteurs de la protéase du VIH sur le COVID-19 ont été menés en Chine [2]. Et d'autres sont en cours en Europe. Le VIH n'est pas apparenté aux coronavirus, et la répllication de son matériel génétique s'effectue par un mécanisme différent. Mais il produit lui aussi une poly-protéine qui doit être coupée 9 fois par une protéase pour former les nouvelles particules virales.

Pour comprendre le fonctionnement des protéases virales, il faut certes connaître leur séquence d'acides aminés, mais aussi leur structure tri-dimensionnelle. Cela permet alors de caractériser précisément le site catalytique de l'enzyme, qui sera la cible des molécules à usage thérapeutique capables de le bloquer. Les coronavirus possèdent deux protéases [3]. La structure cristalline de la protéase majeure du SARS-CoV-2, 3CL^{pro} (3C-like proteinase), vient d'être publiée [4]. Sa séquence protéique est identique à 96 % à celle des protéases 3CL^{pro} des autres coronavirus, qui ont été très étudiées [5, 7]. Elle coupe la poly-protéine virale 11 fois au niveau de motifs LEU-GLN-(SER/ALA/GLY). La deuxième protéase du SARS-CoV-2, PL^{pro} (papain-like protease), a des propriétés différentes de celles de 3CL^{pro}, notamment une activité déubiquitinase, et elle pourrait intervenir pour altérer la réponse immunitaire innée de l'hôte infecté. La structure cristalline de cette protéase n'est pas encore connue.

Les méthodes computationnelles ont été largement utilisées pour la sélection des candidats médicaments contre le SARS-CoV-2 avant de procéder aux essais expérimentaux. Au cœur de ces méthodes, on trouve le criblage virtuel basé sur le docking moléculaire, ce

Introduction générale

Dernier permet de prédire l'orientation d'une molécule au sein du site actif d'une cible donnée. Pratiquement, le docking moléculaire combine l'utilisation d'un algorithme de recherche permettant de générer des modes de liaison putatifs du ligand dans le site actif, ou 'pose', et une fonction de score employée pour classer les différentes poses selon un score prédit d'affinité.

Notre objectif de travail est d'étudier les interactions existantes entre une série nouvellement synthétisée des molécules ANTI-HIV d'origine naturel avec l'enzyme Protéase sars-cov2 (6LU7) en utilisant la méthode de Docking moléculaire.

Le travail de ce mémoire est présenté en trois chapitres :

Le premier chapitre: Description générale sur la corona virus

Le deuxième chapitre : expose quelques notions fondamentales sur le Docking moléculaire.

Le troisième chapitre: Nous avons analysé et discuté les résultats obtenus. On montre plus particulièrement les interactions entre les différents inhibiteurs avec l'enzyme Protéase (6LU7) par la méthode du Docking moléculaire en utilisant le logiciel MOE.

Après, on montre comment nous avons sélectionné les quatre meilleurs inhibiteurs.

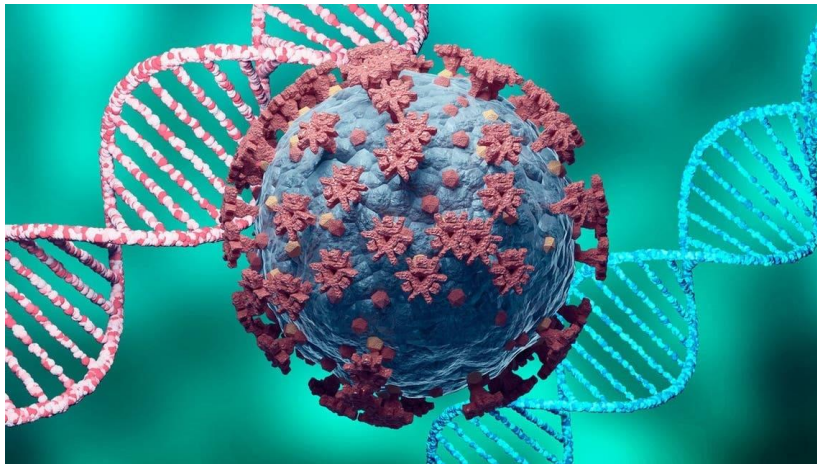
Conclusion générale: Tirer une conclusion générale à partir des résultats obtenus au cours de ce travail.

Références

- [1] INSPQ institut national de santé publique du Québec. COVID-19: Caractéristiques épidémiologiques et cliniques, **2020**.
- [2] Cao, B.; Wang, Y.; Wen, D.; et al., N. Engl. J. Med. **2020**, 382, 1787–99.
- [3] Hilgenfeld, R., FEBS. J. **2014**, 281, 4085–4096.
- [4] Zhang, L.; Lin, D.; Sun, X.; et al., Science. **2020**, 368, 409–12.
- [5] Anand, K.; Ziebuhr, J.; Wadhwani, P.; et al., Science. **2003**, 300, 1763–1767.
- [6] Lapatto, R.; Blundell, T.; Hemmings, A.; et al., Nature. **1989**, 342, 299–302.
- [7] Juckel, D.; Dubuisson, J.; Belouzard, S., Med. Sci. **2020**, 36, 633–41.

CHAPITRE I

LE CORONA VIRUS



I.1. Introduction

Le corona virus SARS-CoV-2, responsable de la pandémie qui a débuté à Wuhan, en Chine, au cours de la dernière partie de 2019, s'est propagé dans 213 pays, régions et territoires selon l'OMS [1,2].

Totalement méconnue jusqu'à la fin décembre 2019, l'infection à Corona virus (SARS Cov2), appelée COVID-19, a brûlé toutes les étapes en très peu de temps, passant de la phase d'épidémie dans une province de Chine (Hubei) à celle de pandémie en mars 2020 touchant quasiment tous les pays.

Depuis, cette maladie n'a pas cessé de nous surprendre par son profil protéiforme, sa propagation fulgurante, sa virulence et son apparente « intelligence ». Le virus donne l'impression d'être programmé pour tuer et nuire de différentes façons. Annoncé par deux tentatives d'épidémies de brève durée, opérées par deux proches cousins, le SARS-CoV-2002, et le syndrome MERS-CoV ou 2012-nCoV, il envahit le monde en quelques semaines et l'organisme en quelques jours, semant la terreur et paralysant l'économie mondiale. Initialement localisée aux voies respiratoires hautes, cette affection à point de départ infectieux, se propage aux poumons réalisant un syndrome de détresse respiratoire aiguë sévère (SDRA). De là, et telle une bombe à fragmentation, elle peut, à partir du 6ème jour, atteindre tous les organes sans exception, se transformant en une maladie inflammatoire ressemblant beaucoup par certains aspects à une vascularité aiguë multi-systémique ou à un syndrome d'activation macrophagique. Même quelques semaines après que l'infection soit totalement éteinte, il semble bien que la phase inflammatoire peut survenir et être à l'origine de manifestations à type de syndromes des anticorps anti phospholipides [3].

I.2. Définitions et classification

I.2.1. Corona virus

Sont une famille de virus à ARN qui infectent de nombreux animaux vertébrés. Ils doivent leur nom à leur enveloppe en forme de couronne (corona) qui est constituée d'une membrane.

Chez l'être humain, plusieurs coronavirus peuvent entraîner des infections respiratoires allant du simple rhume à des maladies plus graves comme le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) causé par le SARS-COV1 et le syndrome respiratoire du moyen orient

(MERS). Le dernier coronavirus SARS-COV2 qui a été découvert, est responsable de la maladie à coronavirus 19.

I.2.2. COVID-19

Maladie infectieuse causée par le dernier coronavirus découvert (SARS-COV 2). Ce nouveau virus et cette maladie étaient inconnus avant l'apparition de la flambée de WUHAN (Chine) en décembre 2019 [4].

I.2.3. Le virus SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2 est le nom du Coronavirus responsable de la maladie Corona Virus Disease 2019 ou la COVID-19, ce virus classé selon le type de Genus voir la (Figure I.1) [5].

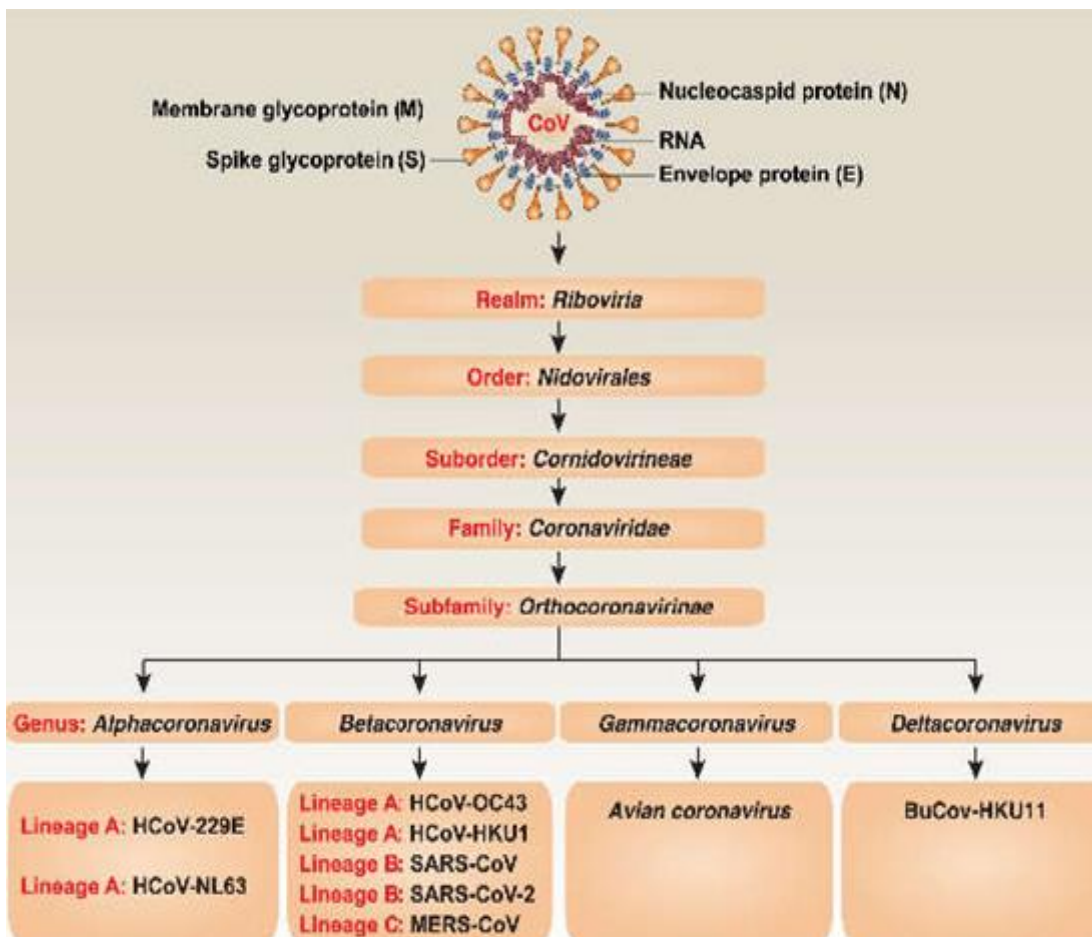


Figure I.1: classifications de la corona virus

I.3. L'origine du corona virus SARS-CoV-2

Il appartient à une importante famille de virus infectant principalement les animaux qui provoque des infections chez l'Homme, le plus souvent associées à des rhumes et des syndromes grippaux bénins. Toutefois, deux coronavirus ont entraîné des épidémies graves chez l'Homme : le SRAS-CoV (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère-Coronavirus) en 2002-2003 et le MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus) depuis 2012. Comme le SRAS-CoV et le MERS-CoV, le COVID-19 a une origine animale.

La COVID-19 est très contagieuse et peut ne se transmettre de personne à personne, sans ressentir les symptômes de la maladie [6].

I.4. Description du virus responsable de COVID-19

1.4.1. Propriétés morphologiques et structurales du corona virus

Les corona virus sont des particules virales enveloppées et de forme sphérique, dont certains font couramment 60 à 200 nm de diamètre avec une capsidie à l'intérieur de structure icosaédrique, de 65nm, et une nucléocapsidie hélicoïdale.

L'aspect en couronne visible en microscopie électronique (ME) est dû à la présence sur l'enveloppe virale de grandes glycoprotéines (ou spicules S), possédant u Chez certains corona virus, une seconde couche de péplomère est formée n globule et une portion fine, en forme de massue de 20 nm de hauteur.

Les autres glycoprotéines sont des protéines intégrées à la membrane (M), une protéine membranaire (E), et des hélices de protéine de nucléocapsidie (N) qui est étroitement lié à l'ARN génomique. Par des protéines Hémagglutinine Estérase (HE) [17,18]. (Figure I.2)

Le SARS-COV 2 partage assez d'homologies avec le SARS-COV. Ainsi des études phylogénétiques, réalisées lors de l'identification de ce nouveau virus, ont déduit que son génome présente 79,5% d'identité avec le SARS-COV. Les protéines S, qu'il exprime à sa surface, lui permettent de se fixer au récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE), tout comme le SARS-COV [6].

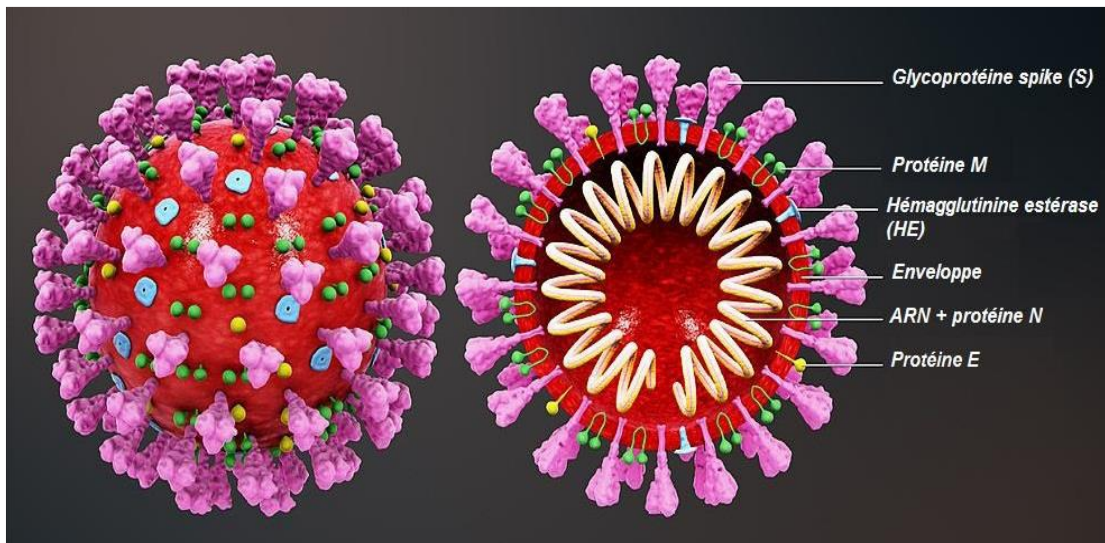


Figure I.2: représentation schématique du coronavirus SARS-Cov-2

I.5. Cycle de multiplication viral

La réplication des coronavirus, est essentiellement cytoplasmique avec une durée du cycle de multiplication de 14 à 18 heures [7]. La période de latence est d'environ de 6 à 7 heures. Les coronavirus peuvent induire la production d'un effet cytopathique sur les cellules infectées. Dans le cas du coronavirus bovin, cet effet est dépendant de la présence de trypsine dans le milieu de culture.

Attachement et pénétration

L'adsorption du coronavirus à la membrane cellulaire nécessite l'interaction entre les récepteurs cellulaires et les protéines de surface du virus. Autant la glycoprotéine S que la glycoprotéine HE a la capacité de se lier aux récepteurs cellulaires. Le coronavirus de la gastroentérite transmissible porcine (TGEV) ainsi que le coronavirus humain HCV-229E, par leur protéine S, reconnaissent l'aminopeptidase N présente à la surface de certaines cellules. La glycoprotéine S du coronavirus murin MHV, reconnaît à la surface des cellules une protéine de 110 K appartenant à la famille des antigènes carcinoembryonnaires. Enfin, pour le coronavirus bovin, autant les glycoprotéines S qu'HE reconnaissent à la surface des érythrocytes de poulet et de souris, les résidus d'acide neuraminique (Figure I.4). Même si certains récepteurs cellulaires ont été identifiés chez les coronavirus, le mécanisme moléculaire de l'infection n'en est pas pour autant élucidé. De nombreuses recherches restent à venir en ce domaine [8].

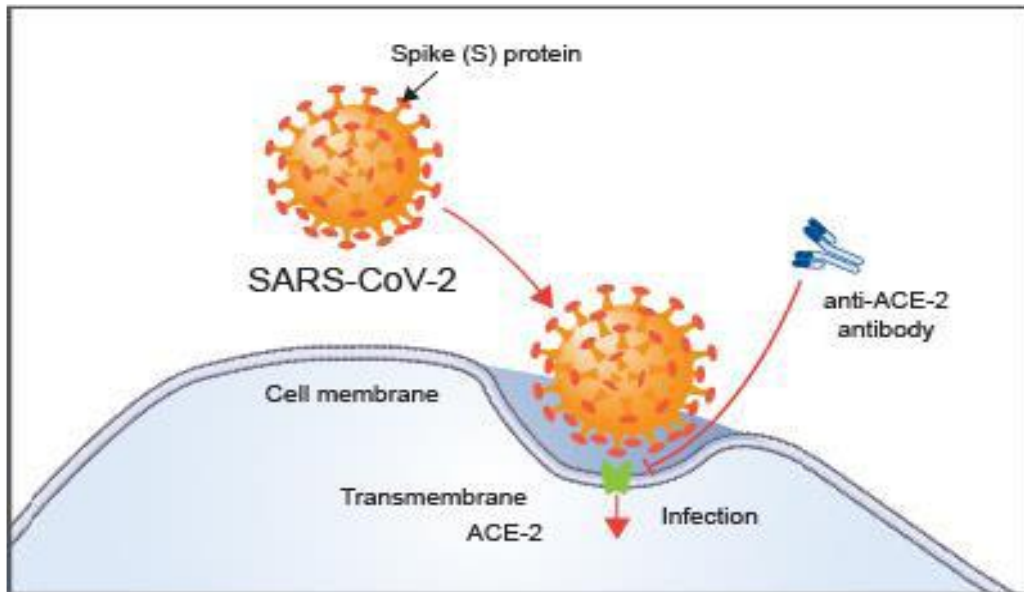


Figure I.3: Schéma montrant de façon simplifiée la reconnaissance entre le SARS-CoV-2 et une cellule humaine exprimant le récepteur ACE2 [16].

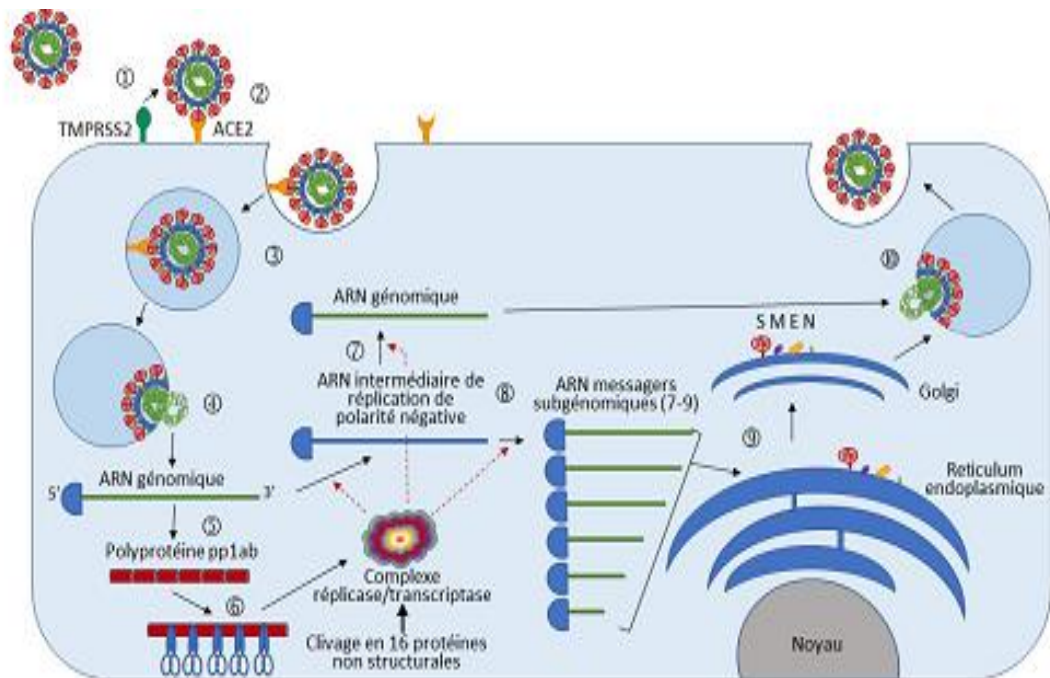


Figure I.4: Le cycle de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2 Légende

- Attachement/fusion : Adsorption de la glycoprotéine S du virus sur l'ACE2 de surface de la cellule humaine et fusion enveloppe virale / membrane cellulaire.
- Libération du génome viral dans le cytoplasme.
- Traduction de l'ARN viral en protéines non structurales : complexe, réplication / transcription.
- réplication du génome viral et synthèse des protéines virales structurales et accessoires.
- Les protéines N et les ARN génomiques néo synthétisés s'assemblent pour former les nucléocapsides.
- Les particules virales néoformées sont assemblées et excrétées de la cellule *via* le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et l'appareil de Golgi [9].

I.6. Epidémiologie

I.6.1. Caractère épidémiologique à l'échelle mondiale

Les premiers cas de COVID 19 ont été apparus, en mois de décembre 2019 En fin janvier 2020, l'OMS déclarait que la situation était une urgence de santé publique à portée internationale (USPPI). Une pandémie mondiale a été déclarée, Le 11 mars. L'évolution épidémiologique était de fort potentiel épidémique avec mise en tension majeure du système sanitaire. Elle s'est déroulée en trois phases ; le premier épisode accidentel d'infection d'un nouvel hôte sans transmission secondaire, débordements successifs donnant lieu à une chaîne locale limitée dans la nouvelle population touchée, et installation de l'épidémie du fait d'une transmission massive au sein de la nouvelle population hôte, jusqu'à la pandémie, par exemple voir (figure I.5). Qui présentée L'évolution du nombre quotidien de nouveaux cas confirmés et nouveaux décès par COVID-19 du 25 février 2020 au 21 mars 2021 en Algérie [10].

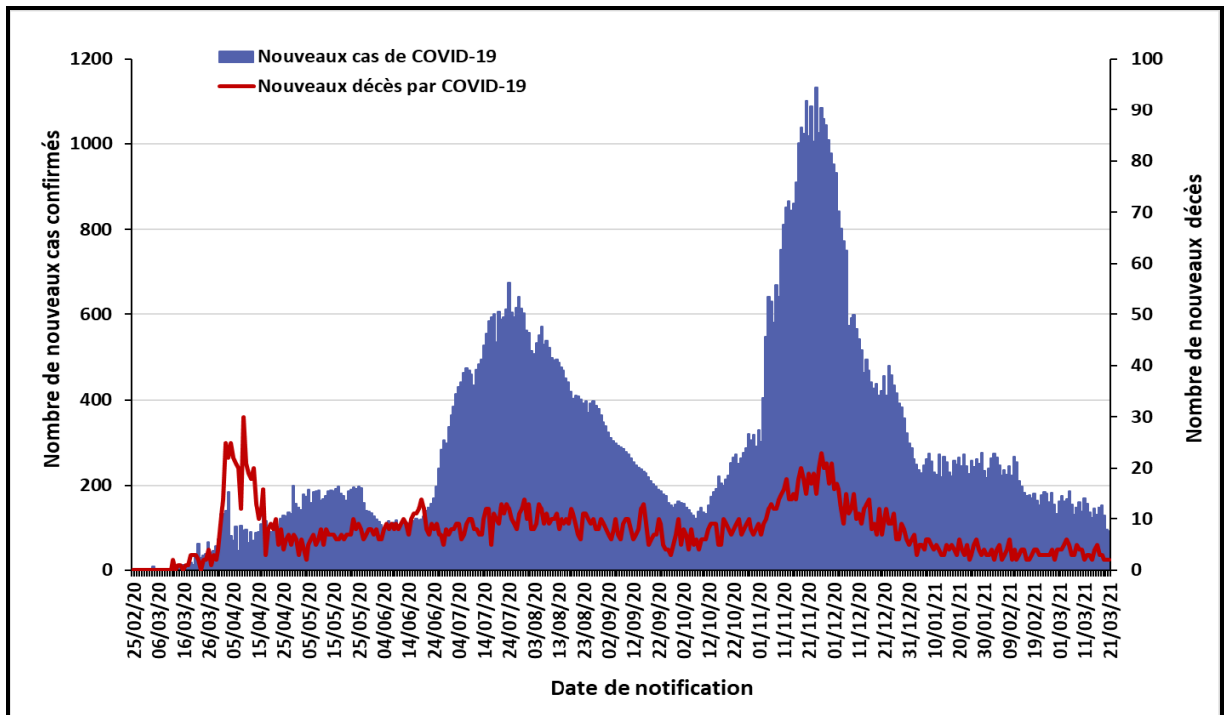


Figure I.5: Evolution du nombre quotidien de nouveaux cas confirmés et nouveaux décès par COVID-19 du 25 février 2020 au 21 mars 2021 en Algérie

I.7. Réservoir et mode de transmission

Les portes de sortie du virus sont le nez et la bouche. Les portes d'entrée : les muqueuses du nez, de la bouche et des yeux. Le virus Sars-CoV-2 se transmet par les sécrétions respiratoires qu'on émet quand on tousse, qu'on éternue, qu'on parle, qu'on crie, qu'on chante où qu'on embrasse.

Le virus est transporté par les gouttelettes. Il ne circule pas dans l'air tout seul, mais peut atteindre une personne à proximité (moins d'un mètre) ou se fixer sur une surface souillée par les gouttelettes (comme les mains, les mouchoirs, etc). On considère donc qu'un contact étroit avec une personne infectée est nécessaire pour transmettre la maladie : même lieu de vie, contact direct à moins d'un mètre lors d'une discussion, d'une toux, de cris, d'un éternuement ou en l'absence de mesures de protection (gestes barrières, masques, etc.). Plus le contact est long et rapproché, plus le risque de contamination augmente (plus de 15 minutes, à moins d'un mètre (Figure I.6)

Un autre mode de transmission est dit « manu-portée » : le virus est porté par la main. Une personne peut transporter le virus sans être elle-même infectée : elle peut l'avoir sur les

main, si elle a touché une surface souillée par les gouttelettes contenant du virus peut rentrer dans son organisme si elle se touche le nez, les yeux ou la bouche.

Le virus peut se déposer sur les surfaces qu'elle touche (une barre dans les transports en commun, une poignée de porte, une boîte de conserve dans un magasin, etc.), les mains d'une autre personne qu'elle serre, les yeux, la bouche, le nez d'une autre personne qu'elle touche. D'où la recommandation d'un lavage régulier des mains au savon et l'utilisation de gel hydro alcoolique [11].

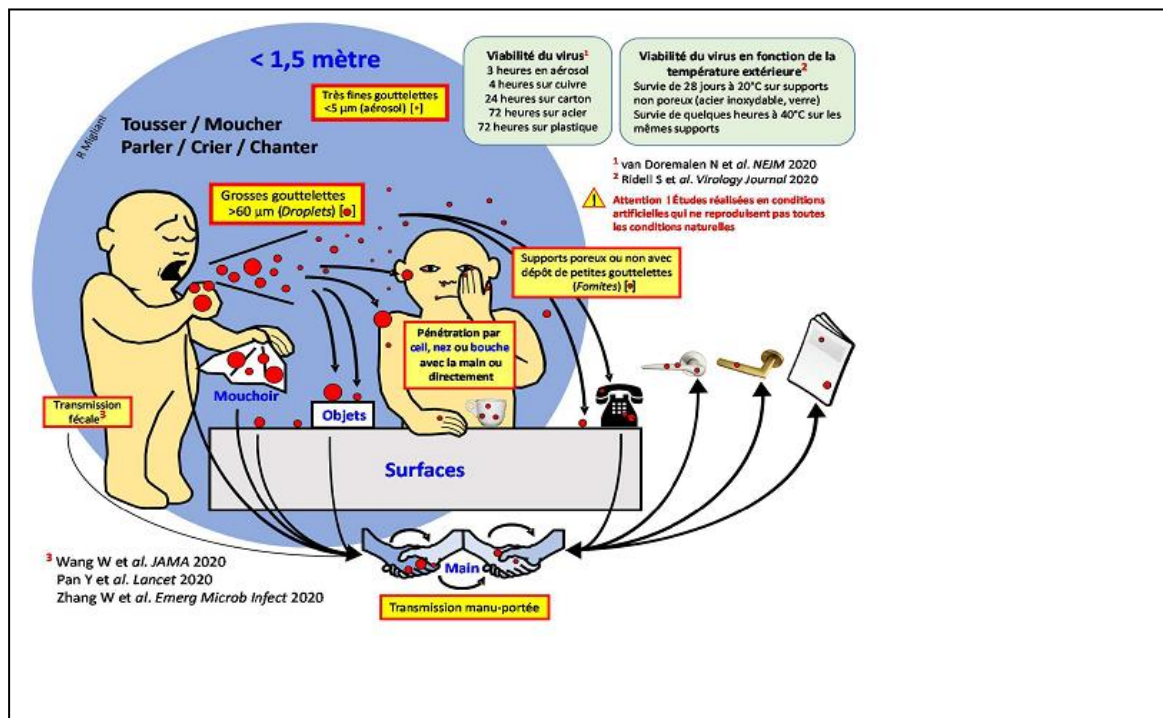


Figure I.6: Modes de transmission du SARS-CoV-2

I.8. Symptômes et épidémiologie

Le SRAS, au départ nommé pneumopathie atypique, est caractérisé par une fièvre élevée (>38°C), associée à un ou plusieurs symptômes respiratoires : toux sèche, essoufflement, difficultés respiratoires. D'autres symptômes peuvent être constatés comme des maux de tête, des douleurs musculaires, des diarrhées et un malaise général. La durée d'incubation ne dépasse généralement pas 10 jours. L'OMS considère que le taux de létalité global est de 15 % et peut dépasser 50 % chez les personnes de plus de 65 ans [12].

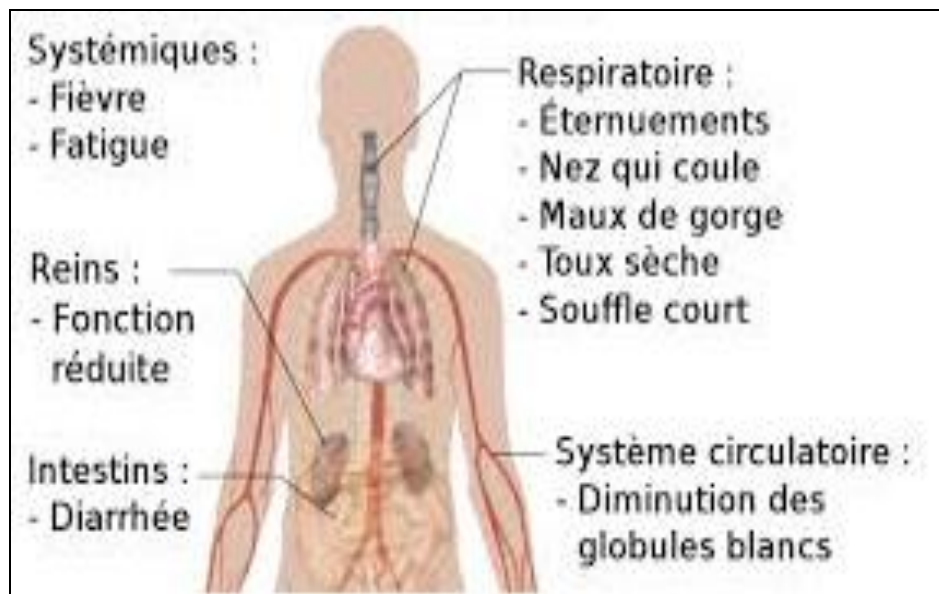


Figure I.7: les symptômes caractéristiques la maladie de corona

I.8.1. Prise en charge d'un cas possible d'infection au SARS-CoV-2

Pour tout cas possible, des prélèvements des voies aériennes respiratoires hautes (prélèvements naso-pharyngés, oro-pharyngés ou salivaires, selon les recommandations de la HAS) devront être réalisés en vue d'une analyse par amplification moléculaire (RT-PCR, RT-LAMP) ou par test antigénique. Par ailleurs, il est également recommandé de réaliser chez les cas hospitalisés, dans la mesure du possible, des prélèvements respiratoires des voies aériennes respiratoires basses (expectoration provoquée/crachats induits, aspiration trachéale, lavage broncho-alvéolaire) (Figure I.8), notamment en cas d'infection respiratoire basse documentée. Le dispositif SI-DEP permet la notification des cas confirmés par RT-PCR, RT-LAMP ou test antigénique via la transmission des résultats de laboratoire aux acteurs en charge de la prise en charge et des investigations autour des cas [13].

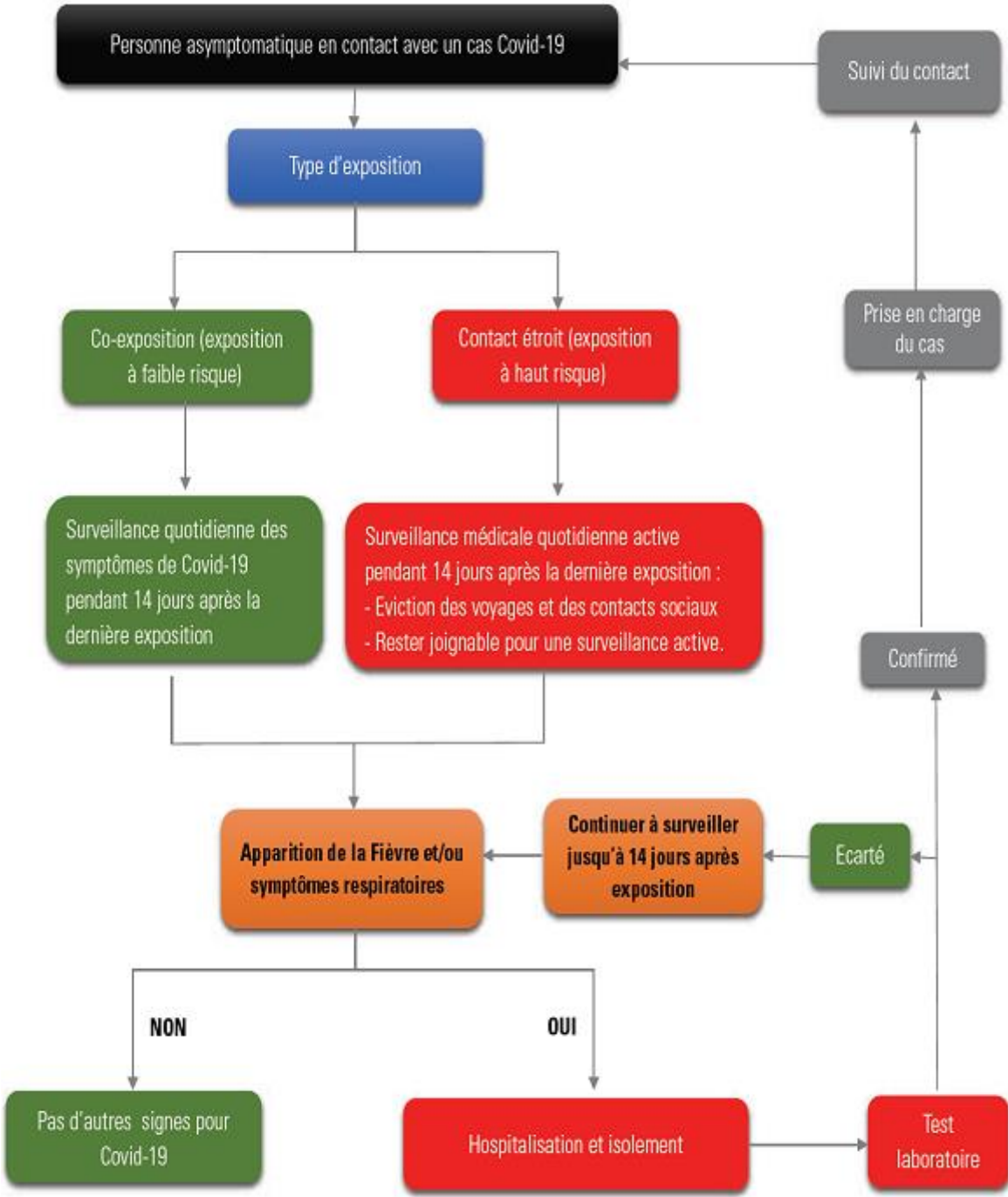


Figure I.8 : Prise en charge des sujets contacts par niveau de risque

I.9. Traitement Spécifique de l'infection covid-19

I.9.1. Traitement symptomatique

I.9.1.1 Oxygénothérapie

Objectif : Obtenir une saturation en oxygène supérieure ou égale à 92%.

Les modes d'administration de l'O₂ varient en fonction des débits administrés :

- Lunettes à oxygène : débit entre 0,5 à 5l/min ;
- Masque à oxygène : débit entre 5 à 8 l/min ;
- Masque à oxygène avec réserve au-dessus de 8l/min (uniquement en l'absence de respirateur).

I.9.1.2 Ventilation mécanique

Si non amélioration après 1 à 2h. Les patients concernés sont ceux présentant une insuffisance respiratoire aiguë d'installation rapide inexplicquée, avec ou sans notion de contagé ou des patients déjà hospitalisés et dont l'hypoxémie n'est pas corrigée par l'oxygénothérapie.

Objectifs : Ventilation protectrice

- Corriger suffisamment les échanges gazeux.
- Optimiser le recrutement alvéolaire.
- Minimiser le risque baro-volo traumatique.
- Limiter le risque de transmission du virus au personnel et aux autres patients.

I.9.2. Traitement spécifique

Pour tous les patients présentant une forme modérée, une forme avec pneumonie et/ou une forme sévère suspecte d'une infection Covid-19 : il sera prescrit, en l'absence de contre-indications et sous surveillance médicale :

1^{ère} intention :

- Chloroquine : à raison de 500 mg, 2 fois par jour pendant 5 à 7 jours
- Hydrox chloroquine : à raison de 200 mg, 3 fois par jour pendant 10 jours

2^{ème} intention :

- Lopinavir /ritonavir : (comprimé 200/50 mg) à raison de 2 cp, 2 fois par jour en respectant les règles d'utilisation et ce pendant 5 à 7 jours
- Atazanavir : 300 mg/jour pendant 2 semaines.

– Surveillance toutes les 4 à 6 heures (transcription sur une fiche de surveillance des éléments de surveillance) : état clinique, température, fréquences cardiaque et respiratoire, pression artérielle et SpO2. Si des facteurs de risque sont présents (âge avancé, pathologies chroniques sous-jacentes, grossesse) l'évolution vers un cas critique peut survenir [14].

Tableau I.1: Précautions à prendre pour les Traitements antiviraux

| Médicament | Précautions |
|---|--|
| Chloroquine / Hydrox chloroquine | Risque d'hypoglycémies : précaution en cas d'association aux sulfamides ou à l'insuline Allongement du QT : précaution chez les patients qui ont une cardiopathie sous-jacente, risque augmenté par l'association à l'azithromycine |
| Lopinavir / Ritonavir | Hyperglycémie, détérioration de l'équilibre glycémique |
| Remdesivir | Hépatotoxicité : précaution en cas d'hépatopathie antérieure |
| Glucocorticoïdes | Hyperglycémie, risque de surinfection bactérienne |

I.10. Précautions prises pour prévenir le covid-19

Plus que jamais, pour se protéger et protéger les autres de la pandémie du COVID - 19 actuelle, il est très important de respecter [15]:

- La distance entre chaque personne
- Les gestes barrières
 - L'hygiène des mains
 - L'hygiène respiratoire
- Rester à la maison quand on est malade

Références

- [1] Coronavirus Disease (COVID-19) Outbreak Situation. Available online:
<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
- [2] COVID19CoronavirusPandemic. Available online:
<https://www.worldometers.info/coronavirus/>
- [3] Zhang, Y.; et al., N. Engl. J. Med., **2020**, 23, 06-08.
- [4] kaddour. I, Role de l'idec dans la gestion de la crise sanitaire de COVID-19 en ehpad, Thèse de doctorat, Université Paris descartes, 2020.
- [5] Daolin. T, Paul. C, Rui. K, The hallmarks of COVID-19 disease. PLOS Pathogens.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008536> May 22, 2020
- [6] Coronavirus : chiffres clés et évolution de la COVID-19 en France et dans le Monde
<https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/coronavirus-chiffres-cles-et-evolution-de-la-covid-19-en-france-et-dans-le-monde>
- [7] Tooze, J.; Tooze, S.; Warren, G., Eur. J. Cell. Biol., **1998**, 33, 281- 293.
- [8] CAVANAGH, D., Arch. Virol., **1994**, 135, 227-237.
- [9] Itto, M. P, Faculté de médecine Dentaire ,Rabat .SARS CoV-2 et la pandémie Covid 19 Presentation, 2020.
- [10] Pr.Philippe Sansonetti, Covid-19 ou la chronique d'une émergence annoncée, Epidémiologie de covid-19, Chaire de microbiologie et maladies infectieuses. Collège de France, 2020.
- [11] Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19.
<https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>
- [12] Health, C. for D. and R. EUA Authorized Serology Test Performance. FDA **2021**.
- [13] COVID-19 : PLAN DE PREPARATION ET DE RIPOSTE A LA MENACE DE L'INFECTION CORONAVIRUS – FAF.
<http://www.faf.dz/covid-19-plan-de-preparation-et-de-riposte-a-la-menace-de-linfection-coronavirus/>
- [14] Plan de préparation et de riposte à la menace de l'infection Covid-19 – Société de Pédiatrie de l'Ouest
<https://www.spo-dz.com/plan-de-preparation-et-de-riposte-a-la-menace-de-linfection-covid-19/>

[15] Corona virus-19 (COVID-19) Prévention, traitement et protection de soi et des autres
Un programme de formation d'auto-apprentissage pour Agents et prestataires de santé
communautaire Mars 2020 . www.medicinesforhumanity.org

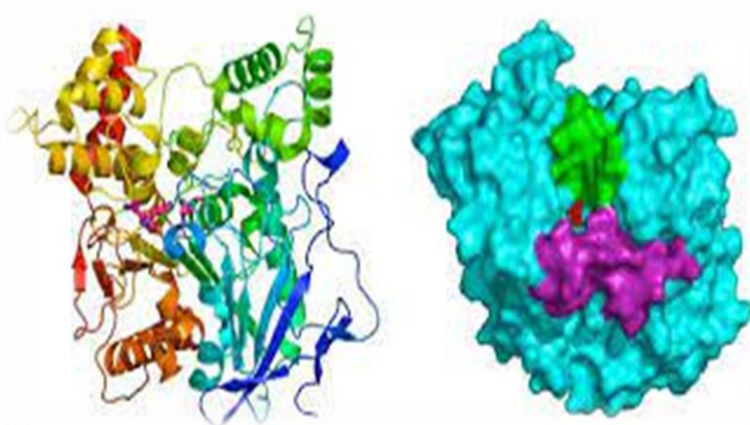
[16] <https://www.rndsystems.com/resources/articles/ace-2-sars-receptor-identified>

[17] Zhou, P.; Yang, X.L.; Wang, X.G.; Hu, B.; Zhang, L.; Zhang, W.; Si, H.R.; Zhu, Y.;
Li, B.; Huang, C.L.; et al., Nature., **2020**, 579, 270–273.

[18] Coronavirus : chiffres clés et évolution de la COVID-19 en France et dans le Monde.
<https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/coronavirus-chiffres-cles-et-evolution-de-la-covid-19-en-france-et-dans-le-monde>

CHAPITRE II

DOCKING MOLECULAIRE



II.1.Introduction

L'emploi des outils de l'informatique dans la recherche en biologie, chimie et médecine est devenu incontournable. Une des applications de la bioinformatique utilisée actuellement est le Docking, celui-ci est une méthode de modélisation moléculaire qui, à travers une simulation permet de prédire l'interaction entre une protéine et un ligand. Ce criblage rend possible la sélection des molécules dont l'activité biologique est la plus probable. Cette technique d'étude insilico est plus rapide, plus efficace et moins coûteuse par rapport aux méthodes expérimentales classiques [1,2]. Le ligand constitue la partie thérapeutique du médicament, la protéine correspond au transporteur du ligand. L'industrie pharmaceutique produit tous les jours de nouveaux ligands qui ont besoin d'un moyen d'assimilation au sein des cellules pour être efficaces médicalement.(Figure II.1)Le but principal de l'amarrage moléculaire est de simuler par ordinateur le processus d'identification moléculaire et d'obtenir une conformation optimisée de manière à minimiser l'énergie libre du système global, Dans ce chapitre nous nous a éclairés sur quelques notions fondamentales sur le Docking moléculaire [3].

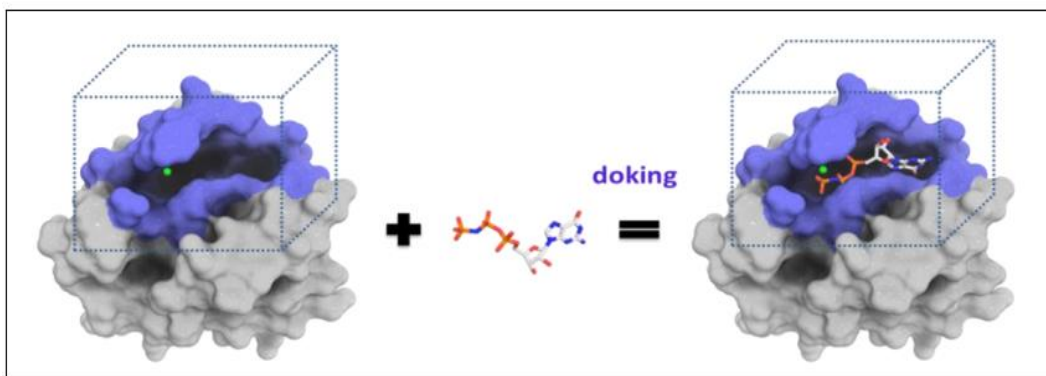


Figure II.1: Représentation schématique du Docking moléculaire

II.2.Docking moléculaire

Le docking peut être défini comme étant l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. Il a des applications pratiques dans l'ingénierie des protéines et la conception de nouveaux médicaments. Il y a différents types de docking dont ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine. Le « docking » moléculaire consiste à prédire la ou les structures des complexes formés entre une molécule active et une protéine [4].

Le Docking moléculaire a pour but de prédire la conformation et l'orientation d'un ligand dans le site actif de la protéine, ainsi que la détermination de mode d'interaction des liaisons probables, et énergétiquement, en prédisant l'affinité de liaison [5,6]. Le processus de Docking moléculaire implique deux étapes fondamentales qui sont le Docking et le Scoring (Figure II.2):

- **Le Docking** est l'étape des algorithmes utilisés pour la prédiction de la conformation du ligand ainsi que sa position et son orientation dans le site actif de la protéine (généralement appelés pose).
- **Le Score** est l'étape de l'évaluation de l'affinité de liaison entre le ligand et le récepteur et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking. Deux étapes sont respectivement liées aux méthodes d'échantillonnage [7,8].

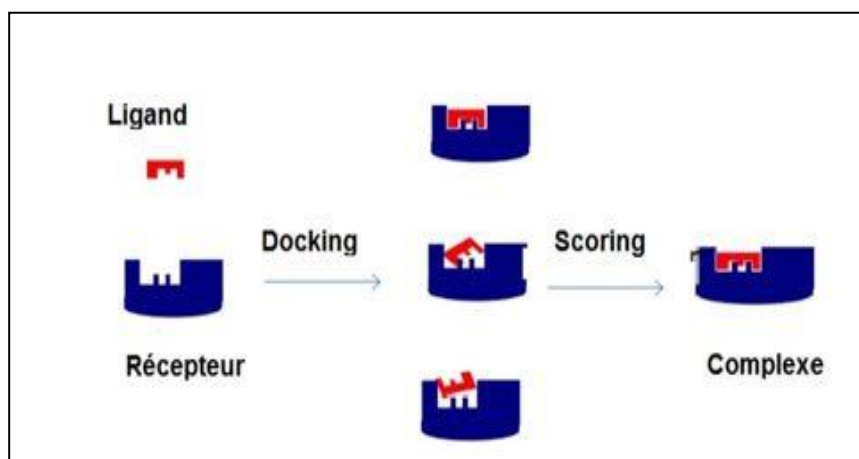


Figure II.2: Principe général de Docking

II.3. Les outils du Docking moléculaire

II.3.1. Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux [9]. Le choix du ligand est une étape très importante dans le Docking moléculaire, il doit être sous forme 3D. Pour y obtenir, il existe deux moyens : la première souvent d'aspect commercial ; est constituée de bases de données de structures chimiques appelées : chimiothèques. Le second moyen consiste à utiliser ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de

construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl... [10]. Un ligand peut être :

- **Un substrat** : molécule qui se fixe au site actif de la protéine ou de l'enzyme pour subir une action : (décarboxylation, hydrolyse, déshydrogénation ...).
- **Coenzyme** : molécule qui complète l'action de certaines enzymes.
- **Activateur** : composé chimique qui entraîne un changement de conformation du site actif de l'enzyme pour augmenter son affinité pour le substrat.
- **Inhibiteur** : contrairement à l'activateur, ce type de ligand modifie la structure électronique du site actif diminuant l'affinité de l'enzyme pour son substrat [11].

II.3.2. Récepteur

Récepteur est macromoléculaire étant le plus souvent une protéine [12]. Pour l'obtention des récepteurs, on utilise les structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la banque de donnée PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN). Les données structurales sont obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN et sont accessibles gratuitement sur internet via des sites Web définis de ses organisations membres dont : RCSB PDB, PDBj, PDBe,...etc., la PDB compte plus de 141616 structures de bio-macromolécules. Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de Docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ...etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [13,14].

II.4.Représentations simplifiées des phénomènes de Docking moléculaire

Les processus de reconnaissance moléculaire sont généralement représentés de manière simplifiée sous la forme du modèle clé-serrure voir la (Figure II.3) qui a été proposé par Hermann Emil Fischer dès 1894. Ce modèle fait apparaître la notion de

complémentarité de forme entre une molécule et sa cible, et le complexe résultant est stabilisé par des interactions favorables entre les deux entités.

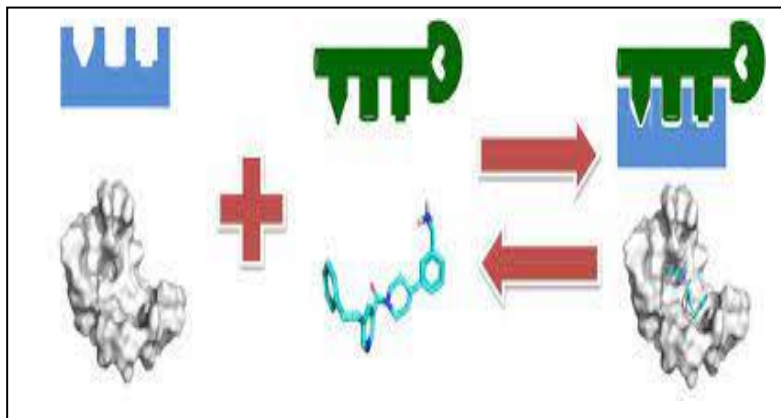


Figure II.3: Le modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur R

Cependant, une serrure et une clé sont des entités rigides contrairement aux molécules qui peuvent souvent adopter un ensemble de conformations stables, d'où la limite de ce modèle, certes très intuitif mais trop simpliste. La remise en cause de cette vision statique des choses a donné naissance à une forme alternative de représentation, à savoir le modèle main-gant ou d'ajustement induit ("induced fit") proposé par Daniel Koshland en 1958. Dans ce dernier, la main représente le ligand qui peut à la fois changer de conformation et induire une modification de la forme du gant qui symbolise le récepteur [15-17].

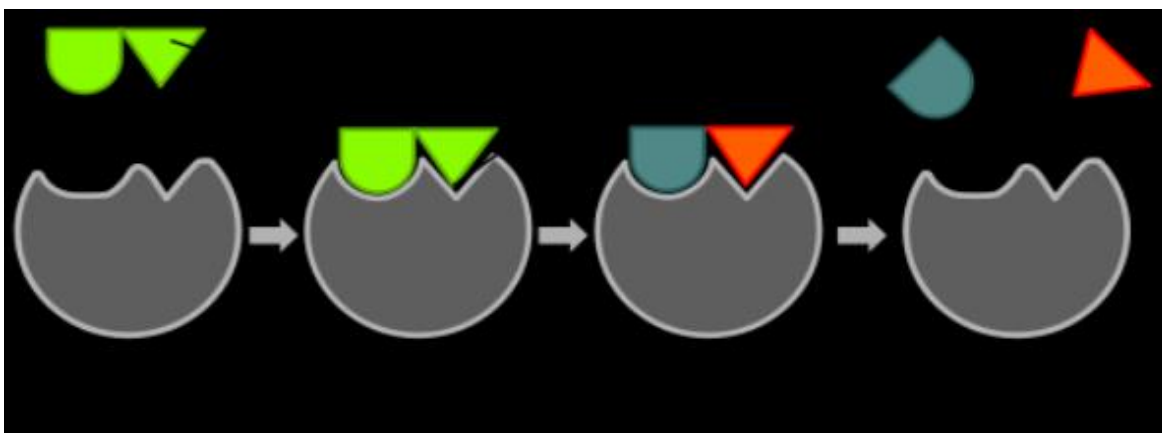


Figure II.4: Le modèle d'ajustement induit induced fit pour modéliser la formation d'un complexe

II.5. Interaction protéine-ligand

Le Docking moléculaire permet l'étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation du complexe ligand récepteur. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles :

II.5.1. Interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques elles se forment lorsque deux groupements chimiques porteurs de charges opposées, se trouvent à une distance l'une de l'autre suffisamment proche pour créer une force d'attraction électrostatique entre elles (Figure II.5). Les molécules endogènes, notamment les protéines, et beaucoup de médicaments sont ionisés dans les milieux biologiques. Il existe donc entre ces molécules des forces d'attraction et de répulsion. Ce type de liaison est aussi appelé interaction ionique [18].

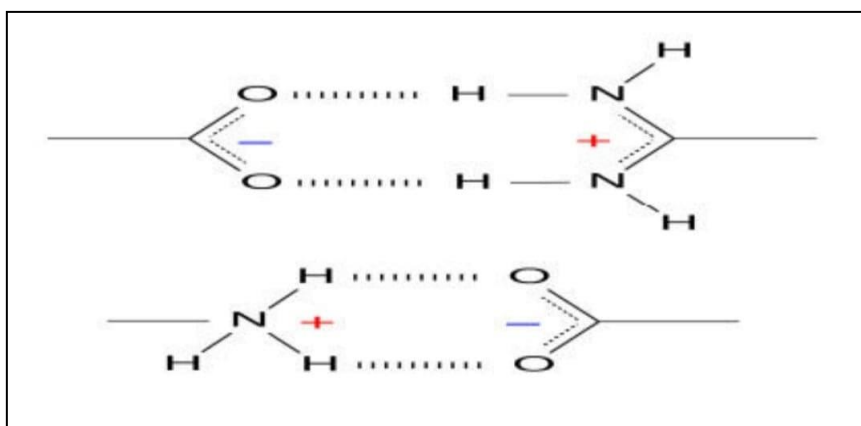


Figure II.5 : Interactions électrostatiques [19]

II.5.2. Les forces de Van Der Waals

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres (figure II.6) Pour des atomes distants de 3-4 Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Les interactions de Van der Waals sont très faibles [20,21].

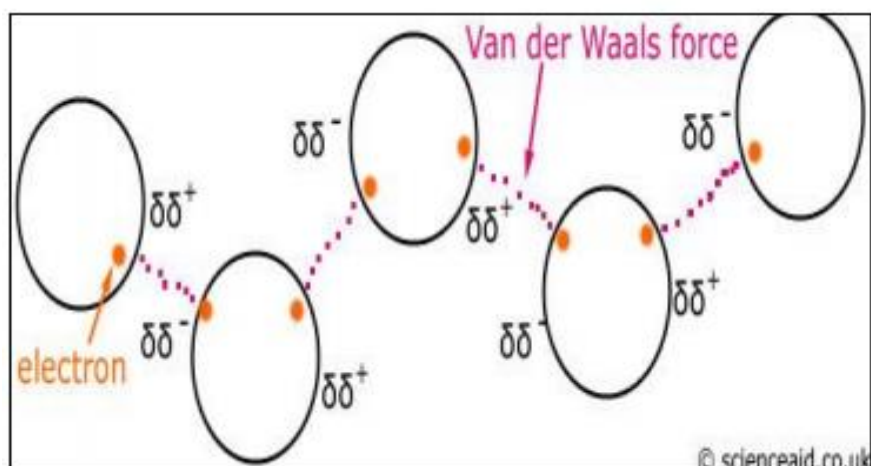


Figure II.6 : Les interactions de Vander Waals

II.5.3.La liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes impliquant un atome d'hydrogène. C'est une liaison physique qui se situe entre la liaison covalente et l'interaction électrostatique. Le caractère covalent de la liaison hydrogène a été démontré à la fin des années 1990, mais la force d'interaction prédominante reste électrostatique [22]. Cette liaison ne s'effectue pas avec n'importe quel atome. Il faut un donneur et un accepteur (sous-entendu de proton) :

- Le donneur est l'atome d'hydrogène lié de manière covalente à un atome électronégatif ; typiquement azote, oxygène, fluor.
- L'accepteur est un autre atome électronégatif, uniquement azote, oxygène ou fluor. La liaison hydrogène est donc le résultat d'une interaction dipôle-dipôle (Figure II.7).

Les liaisons hydrogène sont souvent décrites par deux paramètres : la longueur de la liaison et l'angle formé par les trois atomes. Les valeurs des angles et des distances varient respectivement de 90 à 180 degrés et de 1.2 à 4.0 Å [23].

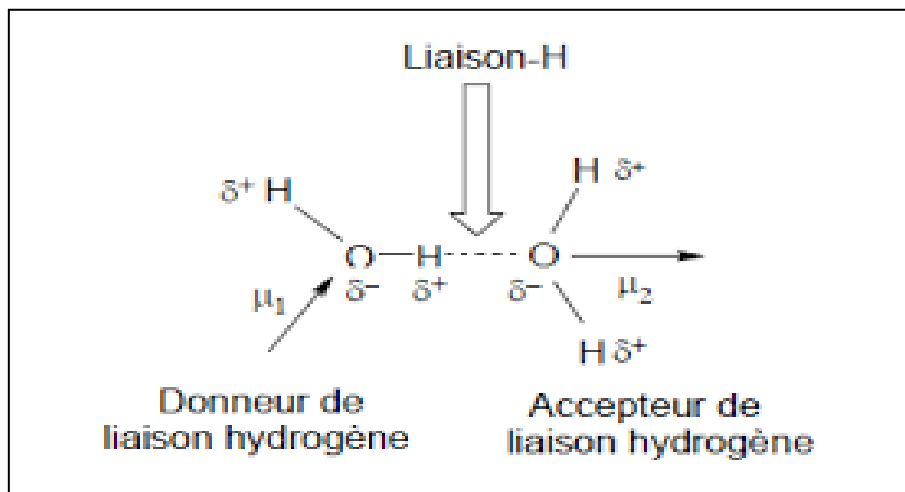


Figure II.7: La liaison hydrogène est une interaction entre deux dipôles, l'un formé par le donneur et l'atome d'hydrogène, l'autre par l'accepteur et le carbone auquel il est lié

II.5.4. Interactions hydrophobes

Les acides aminés dont le radical est hydrophobe et apolaire ont la propriété d'empêcher la formation des liaisons hydrogène entre les molécules d'eau (Figure II.8). Ils forment dans la structure des protéines des zones hydrophobes où les molécules d'eau ne peuvent échanger aucune liaison avec les radicaux d'acides aminés [24].

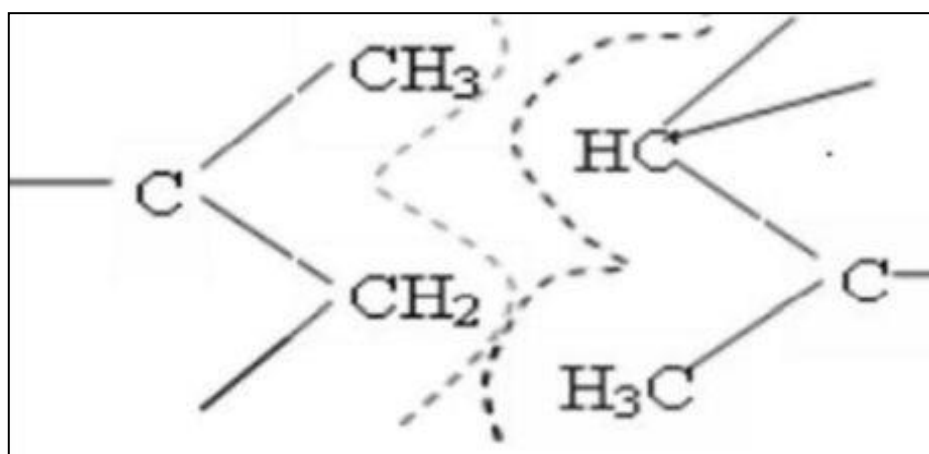


Figure II.8: Interaction hydrophobe

II.6. Processus de scoring

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme décomplexe. Le principe thermodynamique est le suivant :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

L'utilisation des fonctions de Scoring est double. Tout d'abord, elles permettent de déterminer la conformation qui représentera au mieux le ligand concerné. Cette conformation est appelée « première pose ». L'autre utilisation des scores est de pouvoir classer les premières poses de chaque ligand afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses.

Malgré tout, il subsiste encore beaucoup d'inconnues dans le mécanisme de reconnaissance lors de la formation des complexes tels que la formation de liaisons hydrogène, les termes entropiques ainsi que le rôle à jouer des molécules d'eau dans le processus de solvation et de désolvation. Nous avons montré que le Docking est accompagné d'une multitude d'approximations. Il en va de même pour les fonctions de Scoring pour lesquelles il est impossible d'évaluer toutes les interactions intra et interatomiques. Bien que ces approximations existent, ces méthodes sont utiles pour nos applications de criblage virtuel [25].

II.7. Protocole général de Docking

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives (Figure II.9) :

- Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.),
- Exploration conformationnelle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou Flexible position/orientation/forme du ligand),
- Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de Score) des conformations issues de l'exploration,
- Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats

lorsque la scorpène ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.

- Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire. Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison [26].

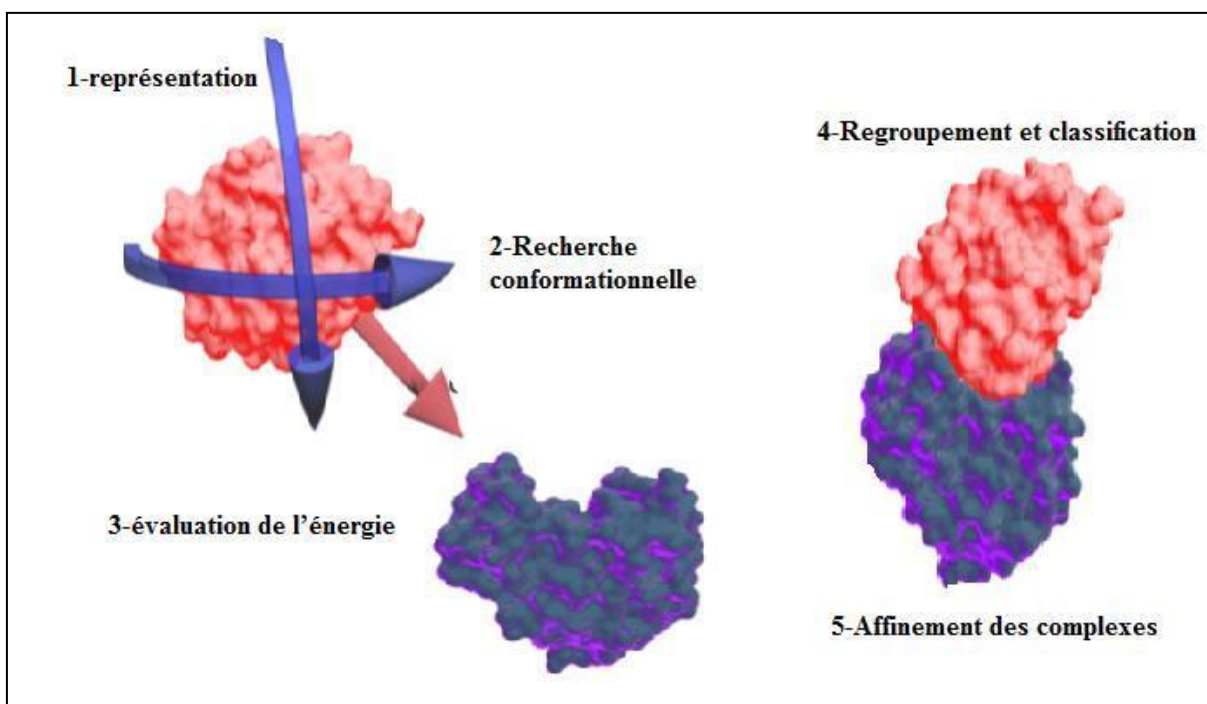


Figure II. 9 : Protocole général de docking

II.8. Paramètres Drug-Like

La similarité médicamenteuse ou « Drug likeness » est un concept qualitatif utilisé en Drug Design pour estimer combien une molécule est « Drug-Like » en ce qui concerne des facteurs comme la biodisponibilité. Il est estimé à partir de la structure moléculaire avant même que la substance soit synthétisée et testée. Drug likeness peut être défini aussi comme un équilibre complexe de diverses propriétés moléculaires et caractéristiques de structure qui déterminent si une molécule particulière est similaire aux médicaments connus. Ces propriétés, principalement l'hydrophobicité, la distribution électronique, les caractéristiques de liaison hydrogène, la taille et la flexibilité des molécules et la présence

de diverses caractéristiques pharmacophoriques influent sur le comportement de la molécule dans un organisme vivant, notamment sa biodisponibilité, ses propriétés de transport, sa réactivité, sa toxicité la stabilité et beaucoup d'autres définir l'espace chimique de la ressemblance avec les médicaments. Les critères les plus utilisés pour l'espace chimique de type médicamenteux sont la règle de Lipinski et Veber [27,28]

II.8.1 Règle de lipinski

Un contributeur majeur dans le domaine de la caractérisation de composés « Drug-like » est Lipinski avec la « règle des 5 » [29]. Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés « Drug-like » [30]. D'après cette règle, les composés ne validant pas au moins deux des critères suivants ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité. Chaque médicament potentiel doit se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologique d'absorption, de distribution, métabolisme, d'excrétion et de toxicité qui est basée sur la règle de 5. 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) [31] « règles de Lipinski » ou « la règle de 5 », comportent cinq critères physico-chimiques qui décrivent la molécule :

- Masse moléculaire ≤ 500 Da
- $\text{Log P} \leq 5$
- Accepteurs de liaisons H ≤ 10
- Donneurs de liaisons H ≤ 5

II.8.2. Règles de Veber

Les règles Veber suggèrent que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale [32]. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale [33].

Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par Veber et al [34] :

- Le nombre des liaisons rotatives ≤ 10
- La surface polaire (PSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$

Références

- [1] Dunn, M. F.; Protein Ligand Interactions General Description. In eLS; American Cancer Society, **2010**.
- [2] Rosen, E. D.; O'Donnell, A. L.; Koenig, R., *J. Mol. Cell. Endocrinol.* **1991**, 78, 83-88.
- [3] Vakser, I. A.; Protein Docking for Low-Resolution Structures. *Protein Eng* **1995**, 8 (4), 371–377.
- [4] Brooijmans, N.; Kuntz, I. D., *Annu.Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2003**, 32, 335-373.
- [5] Heberlé, G.; de Azevedo, W. F., *Curr. Med. Chem.*, **2011**, 18, 1339-1352.
- [6] Duhovny, D.; Nussinov, R. et al., Efficient unbound docking of rigid molecules. International workshop on algorithms in bioinformatics, Springer.**2002**.
- [7] Morris, G. M.; Lim-Wilby, M., *Methods. Mol. Biol.*, **2008**, 443, 365-382.
- [8] Kitchen, D. B.; Decornez, H.; *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2004**, 11, 935-949.
- [9] Leacha, R., molecular modelling: Principles and application. pearson education canada., **2001**,582, 10-6.
- [10] Monge. A, Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silicos de nouveaux composés bioactifs, Thèse de doctorat, Université d'Orléans, France, **2006**.
- [11] Renvez. G, Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines vers un processus de docking. Thèse de doctorat Université Toulouse III - Paul Sabatier France, **2010**.
- [12] El Hadji Said. K, Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire, Thèse de Master d'université de Tlemcen, **2016**.
- [13] Martin. L, Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif une application sur la protéine kinase FAK, Thèse de doctorat Université Montpellier2 France, **2006**.
- [14] Douguet. D, Etude des interactions protéine-protéine et protéine-ligand par bio- et chimie-informatique structurale : Identification de petites molécules bio-actives, Thèse de doctorat, Université de Nice-SophiaAntipolis France, **2007**.
- [15] Horvath, D.; Brillet, L.; Roy, S.; Conilleau, S.; Tantar, A.A.; Boisson, J.C.; Melab, N.; Talbi, E.G.; Local vs. global search strategies in evolutionary GRID-based conformational sampling & docking. In IE Congress on Evolutionary Computation CEC 09, IEEE: Trondheim, Norway, **2009**; 247-254.

- [16] Parent, B.; Kökösy, A.; Horvath, D.; *Soft. Computing.* **2007**, 11, 63-79.
- [17] Pearlman, D. A.; Case, D. A.; Caldwell, J. W.; Ross, W. S.; Cheatham, T. E.; Debolt, S.; Ferguson, D.; Seibel, G.; Kollman, P. AMBER a package of computer-programs for applying molecular mechanics, normal-mode analysis, moléculaire-dynamics and free-energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Computer Physics Communications*, **1995**, 91, 1-41.
- [18] Toumi. A, Contribution à l'étude théorique d'une série d'antagonistes du récepteur CCK1 de la cholécystokinine. Conformation structure et réactivité par docking moléculaire, Thèse de doctorat, Université Houari Boumediene, **2008**.
- [19] Salpin, F, laine et colorants fixation, quantification et vieillissement. Étude par Spectrométrie Roman Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, **2008**.
- [20] Karp, G.; *Biologie moléculaire et cellulaire*. 3^{ème} édition. France : De Boeck. **2004**, 850.
- [21] Voet, D.; Voet, J. G.; *Biochimie*. 2^{ème} édition. France : De Boeck. **2005**, 1600.
- [22] Isaacs E.D.; Shukla A.; Platzman P .M; Hamann D.R.; Barbielleini B.R.; TulkC.A.; *Phys. Rev. Lett.*, **1999**,82, 600-603.
- [23] Hioual, K. S.; Etude comparative de l'efficacité de deux programmes de docking et application à l'inhibition de la neuraminidase, **2017**.
- [24] salah. D, Modélisation de la structure d'une protéineimpliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands, Mémoire de Master.Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzo, **2014**.
- [25] Kollman, P.A.; Massova, I.; Reyes, C.; Kuhn, B.; Huo, S.; Chong, L.; Lee, M.; Lee, T.; Duan, Y.; Wang, W.;D Omini, O.; Cieplak, P.; Srinivasan, J.; Case, D.A.; Cheatham, T.E.; *Acc. Chem. Res.*, **2000**, 33, 889-897.
- [26] Lalout Soufi. W, Contribution a la modélisation des interactions dans les biomolécules Cas de la Maladie de Parkinson, Thèse de doctorat, Université Tlemcen, **2016**.
- [27] Martin, E.J.; Critchlow, R.E., *J. Comb. Chem.*, **1999**, 1, 32–45.
- [28] Barn, D.;Caulfield, W.; Cowley, R.; Dickins, R.; Bakker, W.I.; McGuire, R.; Morphy, J.R.; Rankovic, Z.; Thorn, M., *J. Comb. Chem.*, **2001**, 3,534–541.
- [29] Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J., *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2001**,46, 3-26.
- [30] Lipinski, C.A., *Drug Discov. Today.*, **2004**, 1,337-341.

[31] Boucherit,H. ;Chikhi,A. ;Bensegueni,A. ;Merzoug,A. ;Hioual,k. ;Mokrani,E.Lamarrae Moléculaire :Une Nouvelle Approche Pour Luter contre Le Développement de La Tuberculose. Review of Industrial Microbiology Sanitary and Environnemental. **2013**, 7, 133-149.

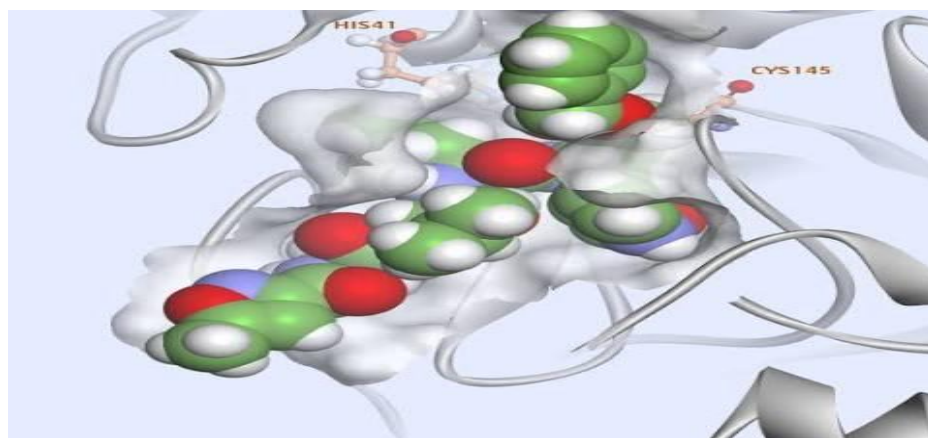
[32] Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D., J. Med. Chem.,**2002**, 45, 2615-23.

[33] Remko, M.; Swart, M.; Bickelhaupt, F. M., J. Bioorg. Med. Chem., **2006**, 14, 1715-1728.

[34] Segall, D. M., J. Curr. Pharm. Des., **2012**,18, 1292-1310.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION



III.1.Introduction

La recherche en virologie moléculaire a ouvert de nouvelles voies la connaissance et la compréhension des propriétés virales, le nature du parasitisme obligatoire des virus et, pour une certaine étendue, les mécanismes impliqués dans les maladies virales. Sur le d'autre part, la recherche de médicaments naturels et artificiels pour inhiber et guérir les infections virales chez l'homme et les animaux été gâché par l'échec [1].

Malheureusement, beaucoup naturellement substances présentes, ainsi que les drogues synthétiques qui ont un effet inhibiteur sur la réplication du virus, ont également un effet inhibiteur sur les processus moléculaires chez les personnes infectées et tissus non infectés. Ainsi, la recherche de substances antivirales est gravement entravée par l'exigence d'un médicament avec une fonction inhibitrice très spécialisée qui n'interférer avec toute voie métabolique spécifique de la cellule.

Les interactions entre molécules sont à la base des mécanismes biologiques. Les détails de ces interactions, au niveau moléculaire sont donc d'un très grand intérêt.

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 (ligands) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur) [2].

Ce chapitre présente les résultats de notre étude des interactions entre différents inhibiteurs avec l'enzyme (6LU7) par la méthode Docking moléculaire à l'aide du logiciel MOE, Le Docking peut se décliner en deux étapes successives (bien qu'elles soient souvent corrélées) : premièrement, l'échantillonnage des positions, orientations et conformations (ou plus simplement poses) d'un ligand à la surface d'un récepteur ; ensuite, le tri de ces poses grâce à une fonction de score qui leur associe une énergie d'interaction estimée.

III.2.Matériel et outils utilisés

Avant de présenter les détails de notre méthodologie que nous avons suivi afin d'accompli ce travail, nous présentons dans cette section le matériel et outils sur lesquels nous sommes appuyés pour réaliser ce travail.

III.2.1. Micro-ordinateur

Notre travail a été effectué en utilisant deux micro-ordinateurs dont les caractéristiques sont présentées dans le (Tableau III.1).

Tableau III.1: Caractéristiques des ordinateurs utilisés

| Caractéristiques | Ordinateur 1 | Ordinateur 2 |
|------------------------|--|--|
| Mémoire (RAM) | 4 GO | 4GO |
| Processeur | Intel(R) Core(TM) i3-3110M CPU @ 2,40GHz 2,40 GHz | Intel(R) Core(TM) i3-6006U CPU @ 2,00GHz 2,00 GHz |
| Système d'exploitation | Windows 7 Professionnel | Windows 10 Professionnel |
| Type de système | 32 bits | 64 bits |

III.2.2. Banques (bases) de données et outils logiciels**- Protéine Data Bank (PDB) :**

Est la seule archive mondiale de données structurales sur les macromolécules biologiques (Figure III.1). Il comprend des données obtenues par cristallographie aux rayons X et résonance magnétique nucléaire (RMN) spectrométrie soumise par des biologistes et biochimistes du monde entier [3].

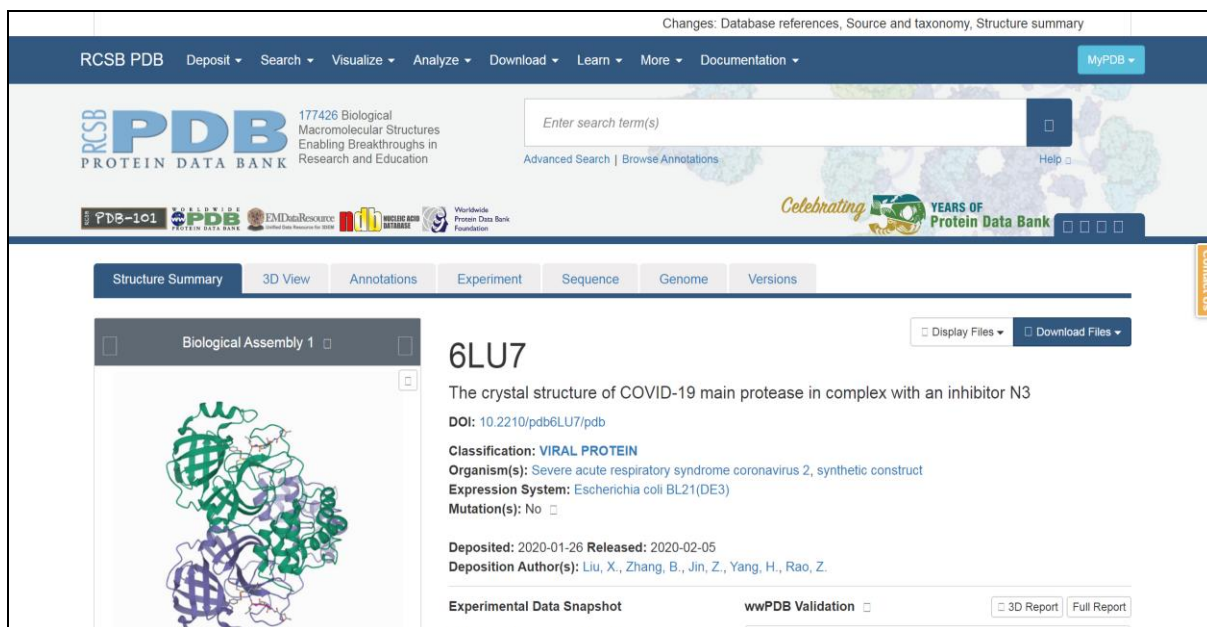


Figure III.1 : Interface du site Protéine Data Bank (PDB)

-MOE (Moléculaire Operating Environnement) :

Est une plateforme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation, et les simulations. Le MOE est capable de suivre les idées de conception et les modifications des ligands avec des modèles de propriété, de produire des graphiques de corrélation pour visualiser la structure, la propriété, les relations d'activité et de visualiser la surface des protéines hydrophobes et chargées pour étudier les régions sujettes à l'agrégation [4]. La (Figure III.2) montre l'interface graphique du logiciel MOE.

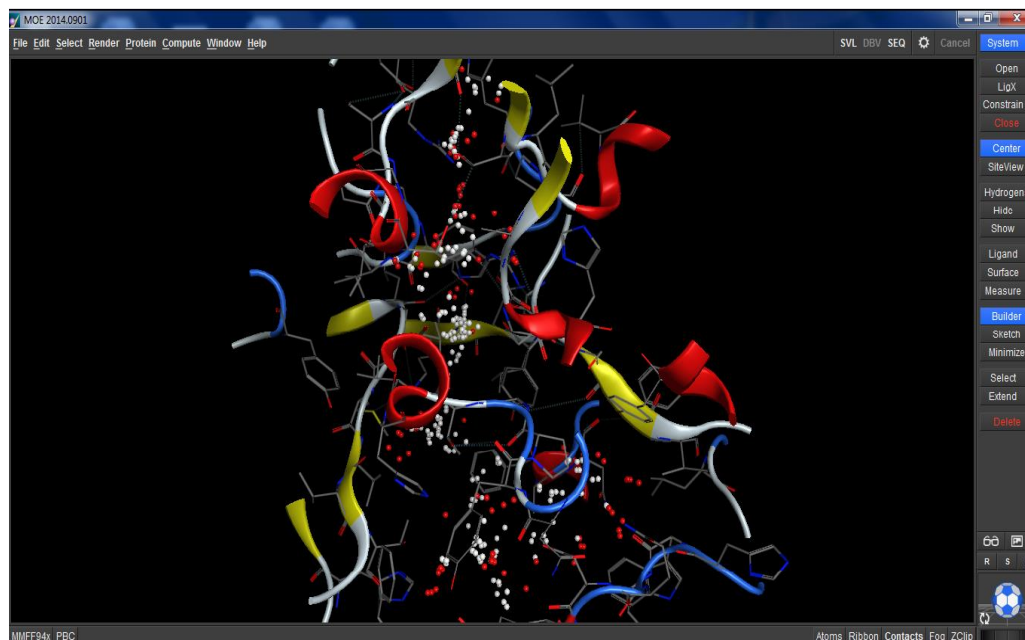


Figure III.2 : Interface du logiciel MOE

-Chem Draw Prime:

Est la version comprenant les fonctionnalités essentielles. En plus de fournir les éléments usuels tels que les cycles, liaisons, chaînes, atomes et les groupes fonctionnels, ChemDraw Prime comprend des calculateurs de propriétés, des modèles d'équipements chimiques et de laboratoire ainsi que des outils de dessin de plaque CCM et gel d'électrophorèse. La (Figure III.3) montre l'interface graphique du logiciel Chem Draw.

-Les fonctionnalités de Chem Draw Prime:

1. Dessin de molécules,
2. Calcul des données stœchiométriques.

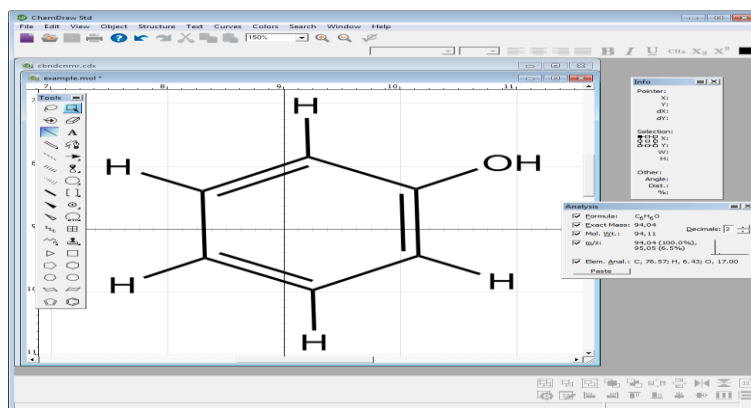


Figure III.3 : Interface du logiciel Chem draw

- Molinspiration :

Molinspiration propose une large gamme d'outils logiciels de chimie prenant en charge la manipulation et le traitement des molécules, y compris la conversion SMILES et SD file, la normalisation des molécules, la génération de tautomères, la fragmentation des molécules, le calcul de diverses propriétés moléculaires nécessaires dans QSAR, la modélisation moléculaire et la conception de médicaments, la représentation de molécules de haute qualité, outils de bases de données moléculaires prenant en charge les recherches de sous-structure et de similarité [5].

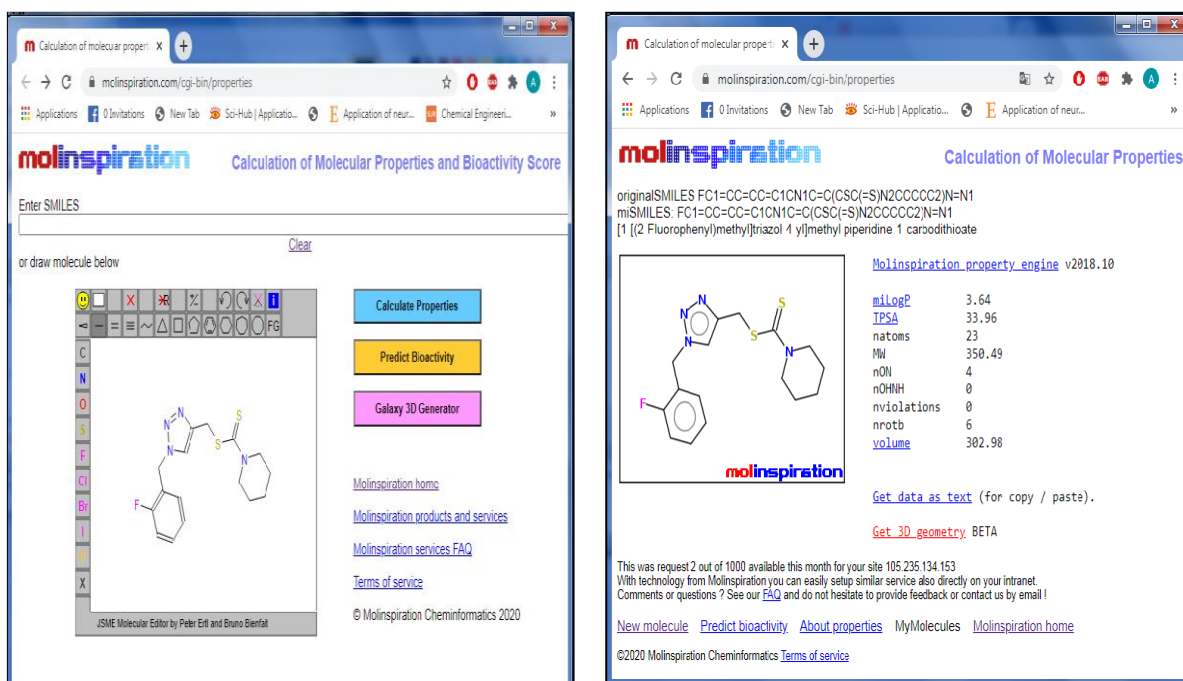


Figure III.4 : Interface Web du logiciel Molinspiration

-Discovery studio

Le visualiseur Discovery Studio est un visualiseur gratuit qui peut être utilisé pour ouvrir des données générées par d'autres logiciels de la gamme de produits Discovery Studio. Il est conçu pour offrir un environnement interactif permettant de visualiser et d'éditer des structures moléculaires, des séquences, des données de réflexion des rayons X, des scripts et d'autres données voir (la Figure III.5).

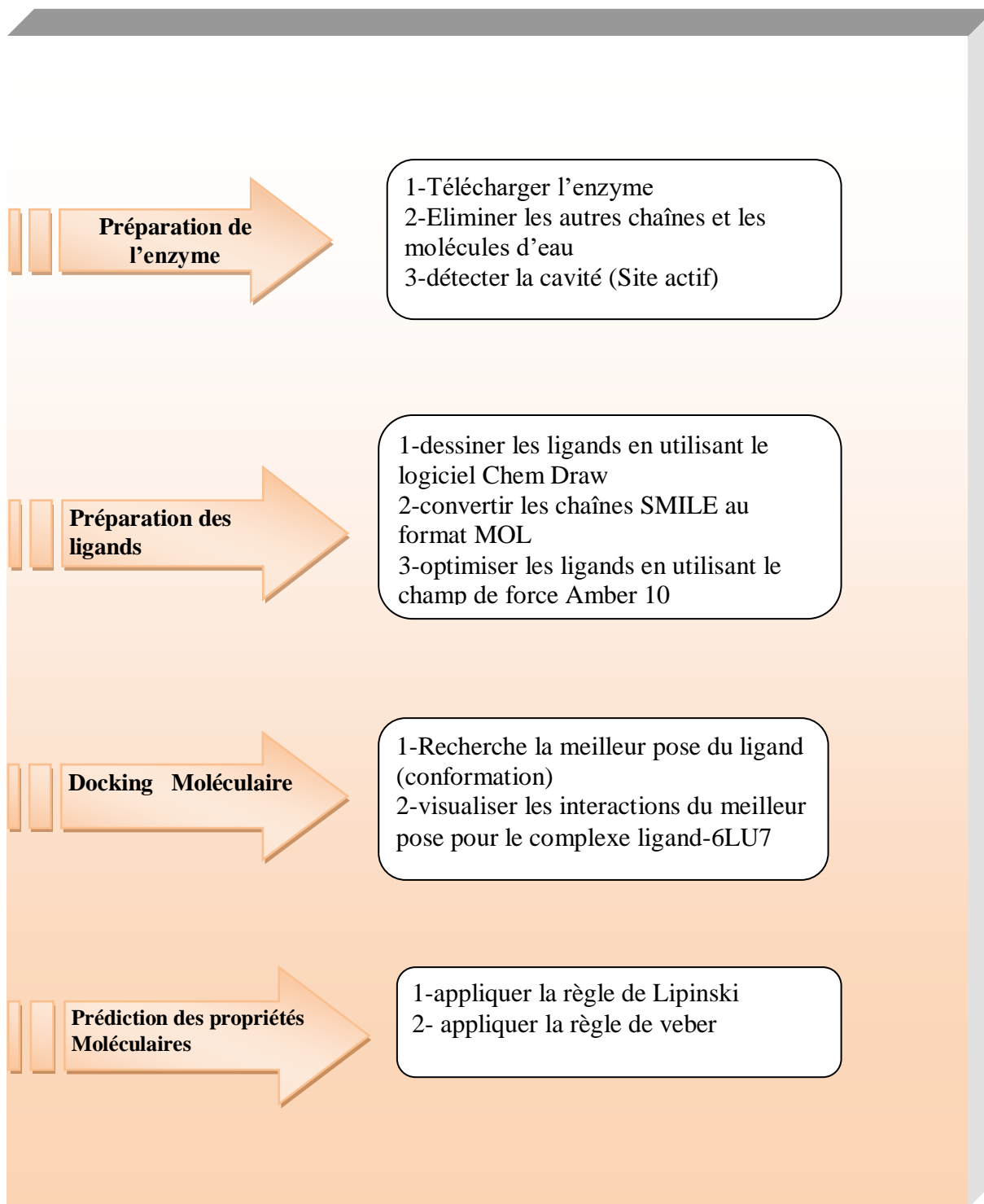


Figure III.6 : Méthodologie de Travail

III.3.1. Préparation de l'Enzyme

La structure 3D de protéine protéase SARs-covid2 de notre étude (Figure III.7), a été téléchargée sous le code 6LU7 sous format PDB Co-cristallisée avec l'inhibiteur de la formule (N-[(5-METHYLISOXAZOL-3-YL)CARBONYL]ALANYL-L-VALYL-N~1~-((1R,2Z)-4-(BENZYLOXY)-4-OXO-1-{[(3R)-2-OXOPYRROLIDIN-3-YL]METHYL}BUT-2-ENYL)-L-LEUCINAMIDE (protéine), (C35H48N6O8). (Figure III.8) . La structure de 6LU7 est correctement définie par diffraction aux rayons X avec une résolution égale à 2.16 Å. La résolution en angström de la protéine est une des données reflétant la qualité des structures ayant permis de construire le modèle cristallographique. Généralement, une résolution proche de 1 Å permet de distinguer tous les atomes y compris les hydrogènes. Une résolution de l'ordre de 6 Å permet seulement de distinguer que des structures de types «hélice α » ou «feuille β »

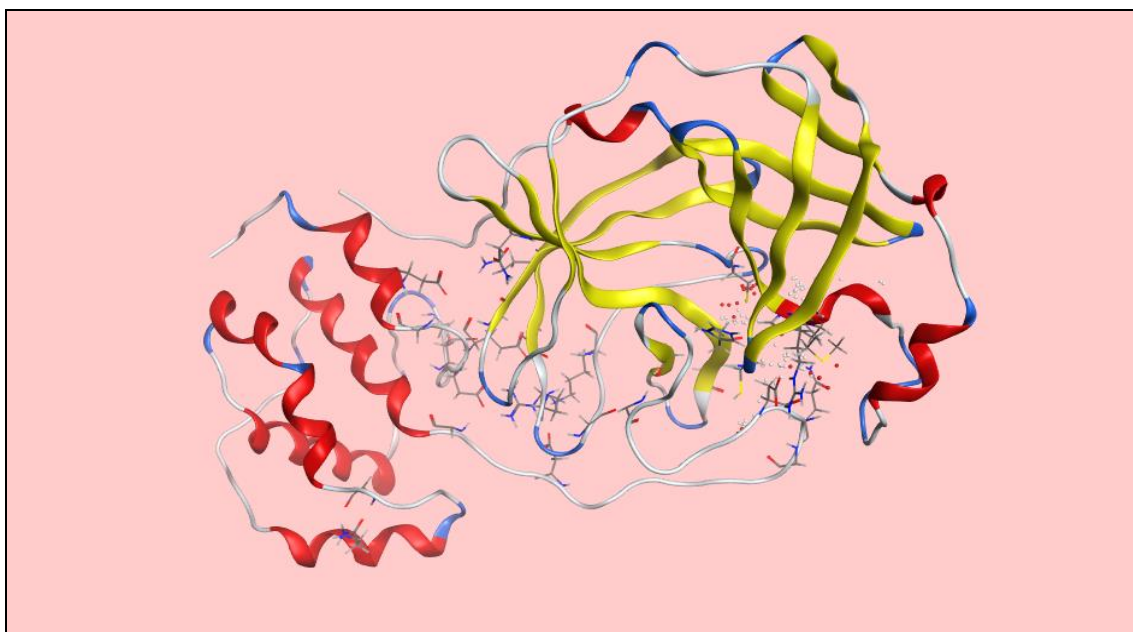


Figure III.7: Structure 3D de l'enzyme 6LU7 simplifié

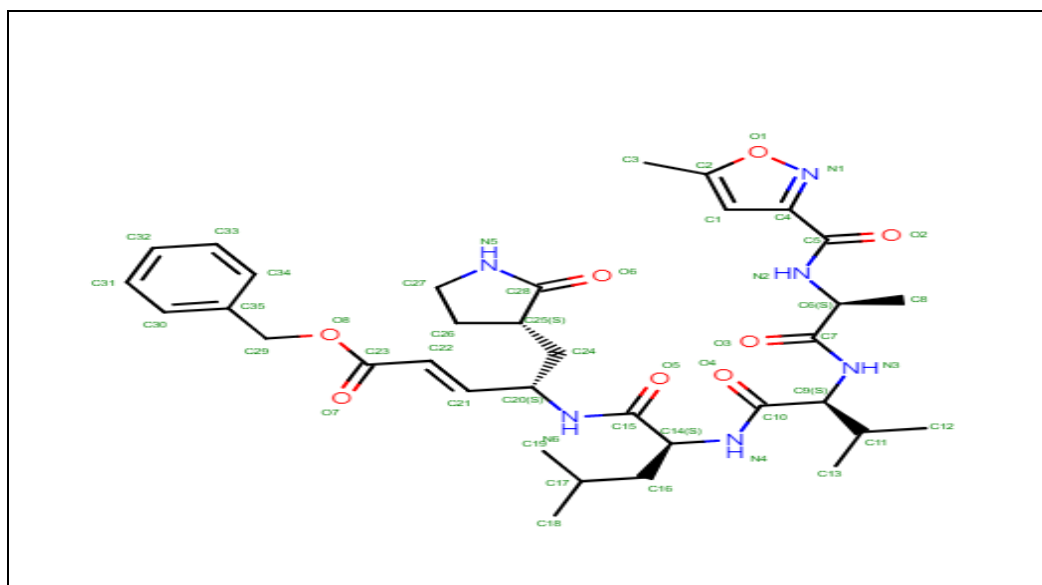


Figure III.8: structure chimique 2D de ligand de référence N3

Lors de la préparation de l'enzyme simplifier, on a éliminé les deux chaînes B et C (L'enzyme étant formée d'une seule chaîne A) ainsi que les molécules d'eau et les cofacteurs. Le (Tableau III.2) montre quelques propriétés de la chaîne A de l'enzyme simplifié.

Tableau III.2: Composition de la chaîne A de protéine protéase (6LU7)

| Molécules | Chaîne | Résidus | Atomes |
|-----------------------------------|----------|------------|---------------------|
| Protéine Main protéase | A | 306 | Total : 4683 |

III.3.2.Détection des cavités

La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité (Figure III.9). Les molécules sur lesquelles agit une enzyme sont définies comme les substrats de la réaction enzymatique. Chaque enzyme reconnaît spécifiquement une ou plusieurs molécules de substrat selon un principe de

complémentarité, grâce à des sites de reconnaissance et de fixation situés à sa surface. Le site actif est constitué de deux parties [6].

- Site de reconnaissance (ou site de liaison au substrat), permettant de fixer le substrat grâce à certains acides aminés.
- Site catalytique (ou a lieu la transformation du substrat), permettant de transformer le substrat grâce à des acides aminés qui interagissent avec le substrat.

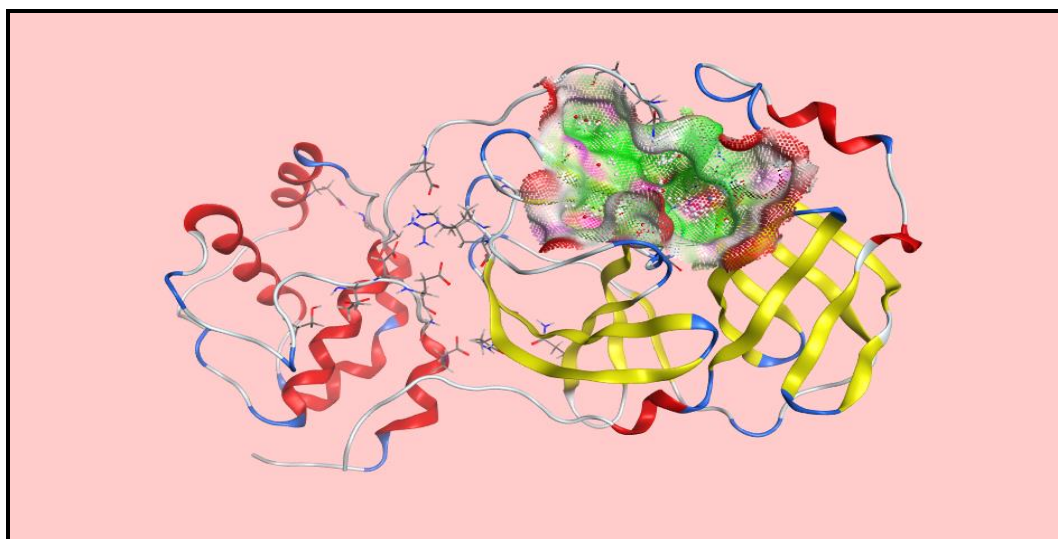


Figure III.9: Cavité 1 de l'enzyme 6lu7

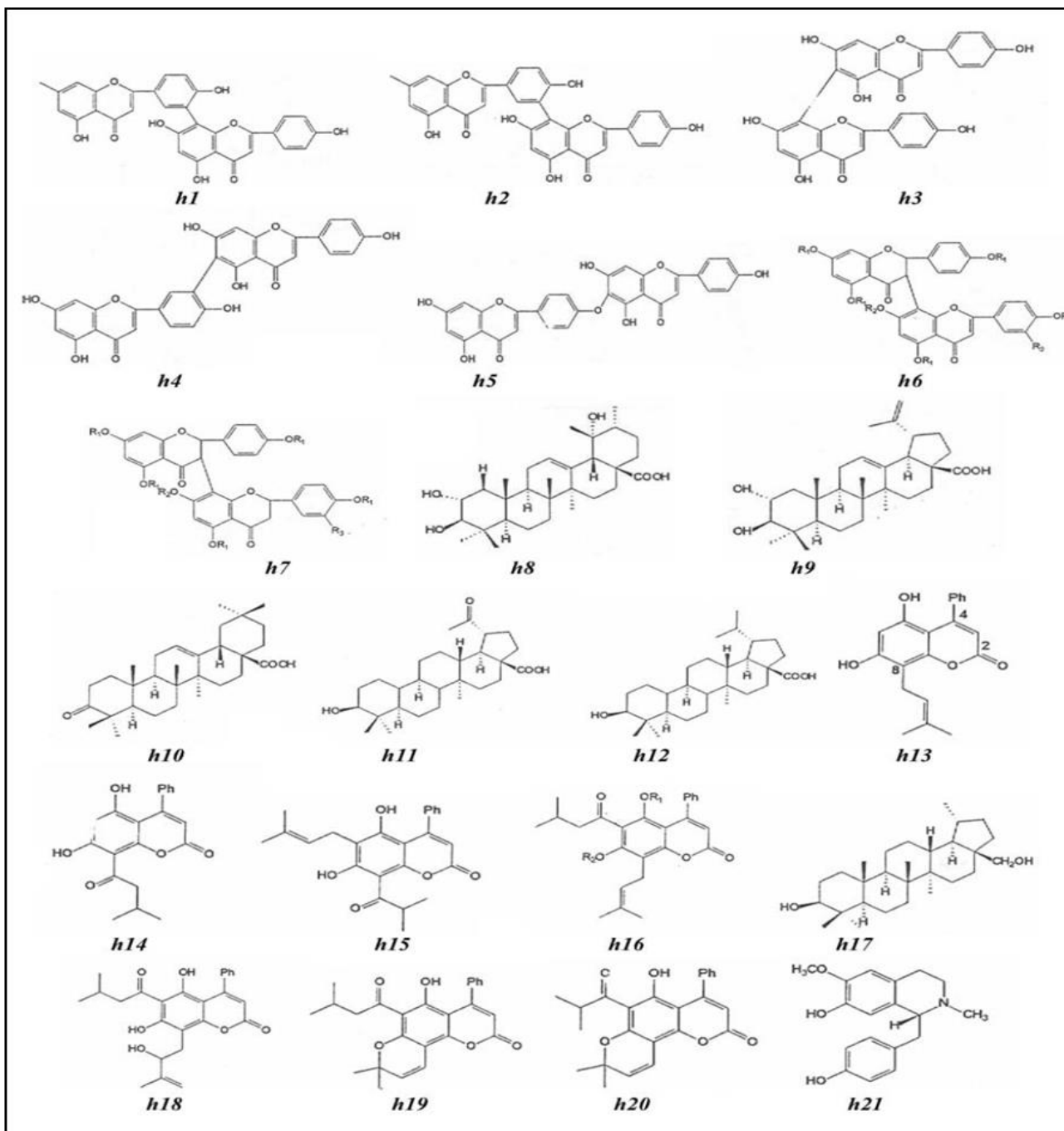
Dans notre étude 15 cavités ont été détectées dans l'enzyme 6LU7 par le logiciel MOE (Tableau III.3). Nous avons choisi la cavité 1 qui a un volume important 109Å³ a été prédite, aussi nous avons trouvé que le ligand de la Co-cristallisation de l'enzyme 6LU7 est fixé dans la cavité 1.

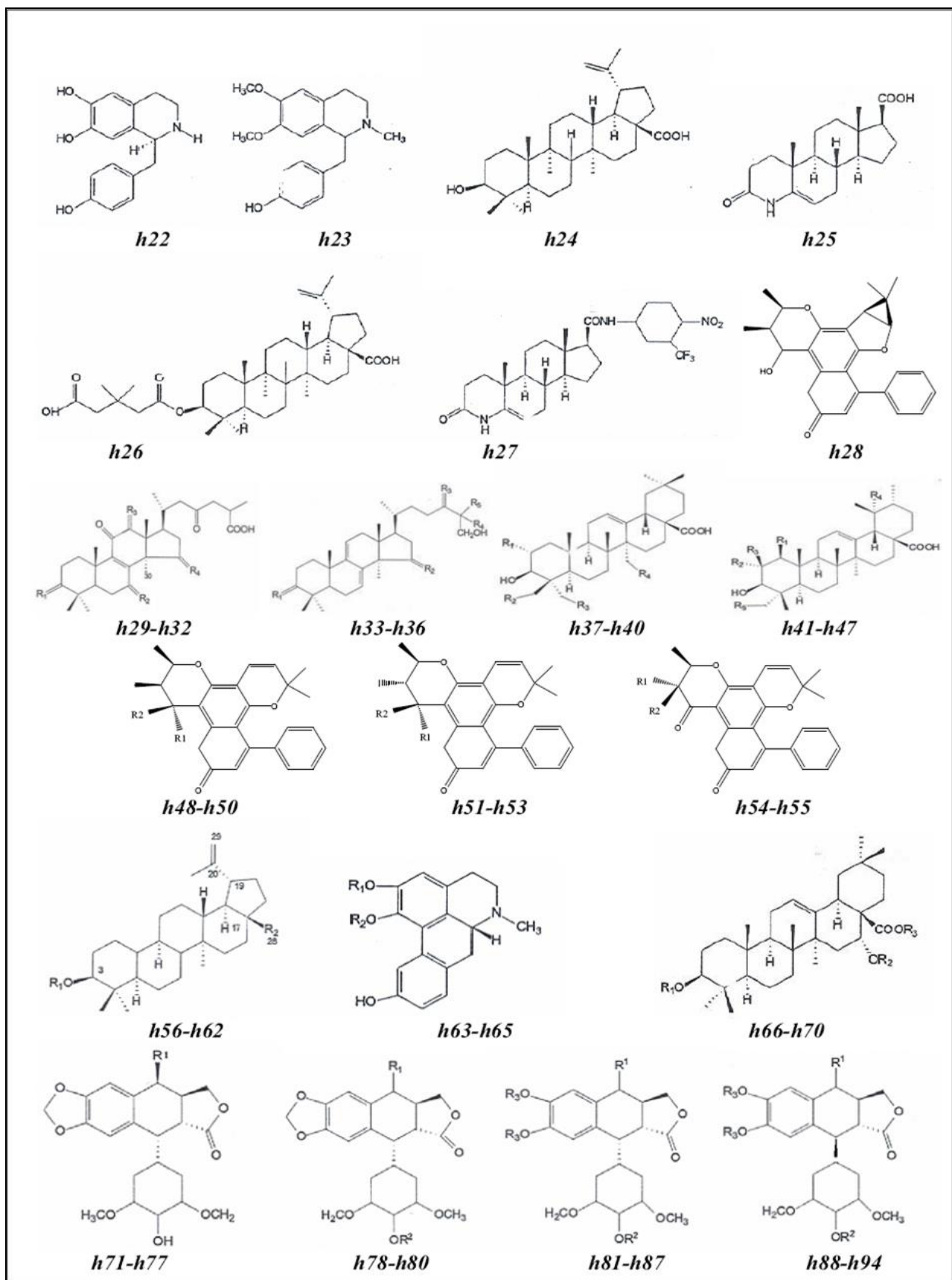
Tableau III.3: Propriétés des cavités de l'enzyme 6LU7

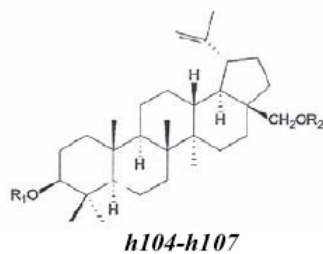
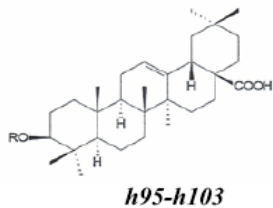
| Site | Size | PLB | Hyd | Side | Residues |
|-----------|------|-------|-----|------|---|
| 1 | 109 | 3.05 | 21 | 60 | 1:(THR24 THR25 THR26 LEU27 HIS41 CYS44 THR45 SER46 MET49 PRO52 TYR54 PHE140 LEU141 ASN142 GLY143 SER144 CYS145 HIS163 HIS164 MET165 GLU166 LEU167 PRO168 HIS172 ASP187 ARG188 GLN189 THR190 GLN192) |
| 2 | 58 | 1.26 | 25 | 51 | 1:(PHE8 PRO9 VAL104 ARG105 ILE106 GLN107 GLN110 THR111 PHE112 GLN127 ASN151 ILE152 ASP153 TYR154 CYS156 SER158 THR292 PHE294 ASP295 ARG298) |
| 3 | 34 | 0.43 | 12 | 25 | 1:(GLU14 GLY15 CYS16 MET17 VAL18 GLN19 TRP31 GLN69 ALA70 GLY71 ASN95 ASN119 GLY120 SER121 PRO122) |
| 4 | 27 | 0.31 | 12 | 19 | 1:(TRP218 PHE219 LEU220 ASN221 PHE223 SER267 GLU270 LEU271 ASN274 GLY275 ASN277 ARG279) |
| 5 | 28 | 0.09 | 13 | 29 | 1:(GLN107 PRO108 GLY109 GLN110 ILE200 VAL202 ASN203 GLU240 HIS246 ILE249 THR292 PRO293) |
| 6 | 28 | -0.08 | 12 | 19 | 1:(GLY2 PHE3 ARG4 LYS5 TRP207 ILE281 LEU282 GLY283 SER284 GLU288 PHE291) |
| 7 | 19 | -0.10 | 12 | 19 | 1:(THR199 TYR237 TYR239 LEU271 LEU272 GLY275 MET276 ALA285 LEU286 LEU287) |
| 9 | 23 | -0.27 | 16 | 24 | 1:(VAL212 ILE213 GLY215 ARG217 GLN256 THR257 THR304 PHE305 GLN306) |
| 10 | 10 | -0.46 | 8 | 11 | 1:(CYS22 GLY23 THR24 THR25 VAL42 ILE43 CYS44 THR45 ASP48 LYS61) |
| 11 | 14 | -0.62 | 9 | 16 | 1:(ARG217 LEU220 ASN221 ARG222 PHE223 GLY258 ILE259 ASP263 MET264 SER267) |
| 12 | 17 | -0.66 | 6 | 20 | 1:(ARG131 LYS137 LEU286 LEU287 GLU288 ASP289 GLU290) |
| 13 | 17 | -0.67 | 3 | 17 | 1:(ARG131 LYS137 ASP197 THR198 THR199 ASN238 LEU287 ASP289) |
| 14 | 7 | -0.93 | 3 | 4 | 1:(PRO132 ASN133 PRO184 ALA194 GLY195 THR196) |
| 15 | 6 | -1.17 | 7 | 9 | 1:(GLY11 LYS12 GLY15 CYS16 LYS97 PRO99) |

III.3.3. Préparation des ligands

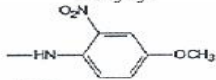
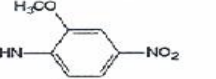
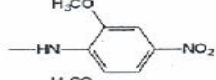
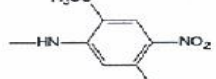
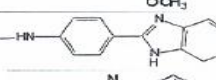
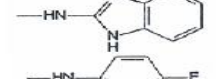



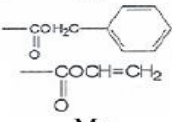

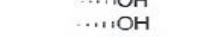
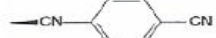


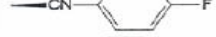









Les ligands que nous avons étudiés sont anti-VIH, que nous proposons comme inhibiteurs de l'enzyme protéase SARS-COV2. Ces inhibiteurs sont dessinés à l'aide de Chem Draw Ensuite, l'optimisation de la géométrie des ligands a été réalisée par le logiciel MOE à l'aide d'un champ de force Amber 10, et les structures des ligands sont illustrées à la (Figure III.10).

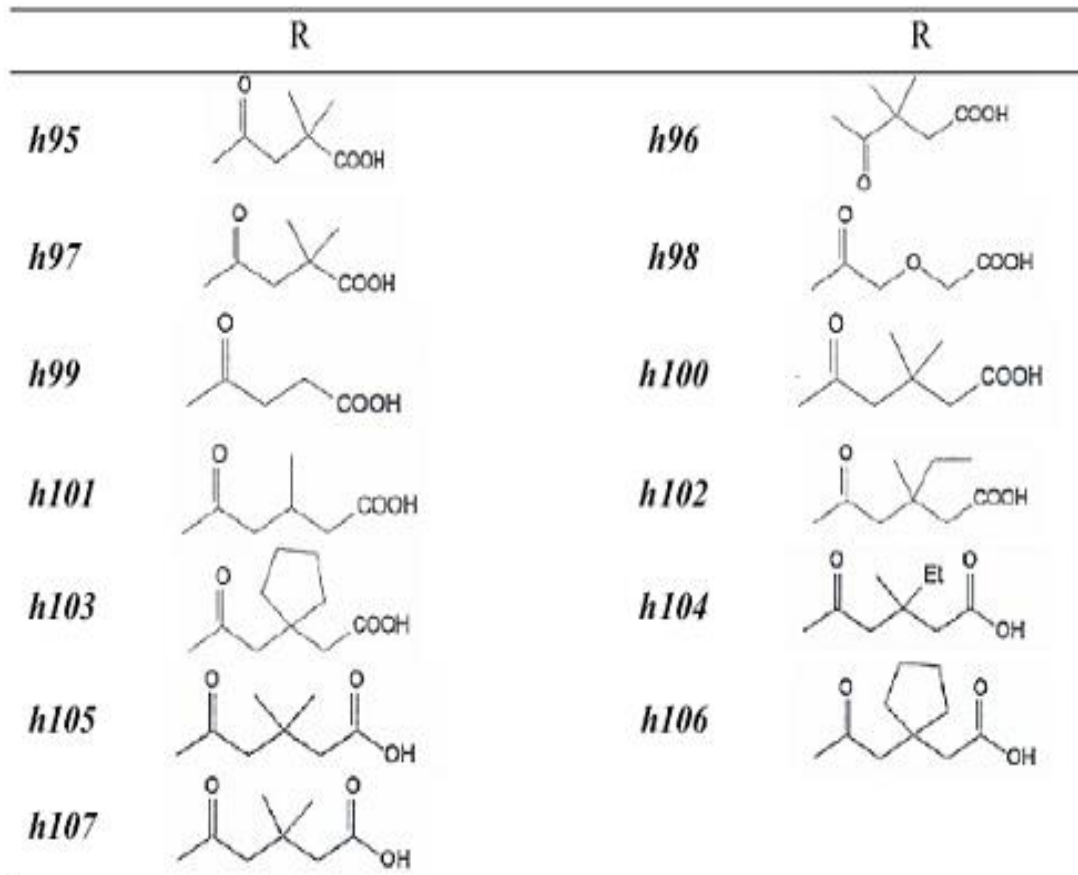






| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|-----------------|--|---------------------------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| <i>h29</i> | | O | | | - |
| <i>h30</i> | | | | O | - |
| <i>h31</i> | O | O | | O | - |
| <i>h32</i> | | | O | O | - |
| <i>h33</i> | | H ₂ | | OH | CH ₃ |
| <i>h34</i> | O | | CH ₃ | CH ₃ | CH ₂ OH |
| <i>h35</i> | O | H ₂ | CH ₃ | CH ₃ | CH ₂ OH |
| <i>h36</i> | O | H ₂ | | OH | CH ₃ |
| <i>h137</i> | H | H | H | H | - |
| <i>h38</i> | OH | H | OH | H | - |
| <i>h39</i> | OH | OH | H | H | - |
| <i>h40</i> | H | H | H | OH | - |
| <i>h41</i> | H | H | H | OH | H |
| <i>h42</i> | H | H | H | H | H |
| <i>h43</i> | H | OH | H | H | H |
| <i>h44</i> | H | OH | H | H | OH |
| <i>h45</i> | H | OH | OH | OH | H |
| <i>h46</i> | H | OH | OH | OH | H |
| <i>h47</i> | OH | OH | OH | OH | H |
| <i>h48, h51</i> | H | OH | - | - | - |
| <i>h49, h52</i> | OH | H | - | - | - |
| <i>h50, h53</i> | H | OAc | - | - | - |
| <i>h54</i> | Me | H | - | - | - |
| <i>h455</i> | H | Me | - | - | - |
| <i>h56</i> | H | COOH | - | - | - |
| <i>h57</i> | H | CH ₂ OH | - | - | - |
| <i>h58</i> | H | COOCH ₂ COOCH ₃ | - | - | - |
| <i>h59</i> | Ac | COOH | - | - | - |
| <i>h60</i> | COC ₆ H ₅ | COOH | - | - | - |
| <i>h61</i> | COCH=CHCH ₃ | COOH | - | - | - |
| <i>h62</i> | COCH ₂ CH ₂ COOH | COOH | - | - | - |
| <i>h63</i> | Me | OH | - | - | - |
| <i>h64</i> | Me | Me | - | - | - |
| <i>h65</i> | H | Me | - | - | - |

| | | | | | |
|-------------|---|--|----|---|---|
| h66 | H | H | H | - | - |
| h67 | H | H | Me | - | - |
| h68 | Ac | H | Me | - | - |
| h69 | Ac | Ac | H | - | - |
| h70 | Butyryl | H | Me | - | - |
| h71 |  | - | - | - | - |
| h72 |  | - | - | - | - |
| h73 |  | - | - | - | - |
| h74 |  | - | - | - | - |
| h75 |  | - | - | - | - |
| h876 |  | - | - | - | - |
| h77 |  | - | - | - | - |
| h78 |  | H | - | - | - |
| h79 |  |  | - | - | - |
| h80 |  | Me | - | - | - |
| h81 |  | Me | H | - | - |
| h82 |  | Me | Me | - | - |
| h83 |  | H | Me | - | - |
| h84 |  | H | Me | - | - |
| h85 |  | Me | Me | - | - |
| h86 |  | H | Me | - | - |
| h87 |  | H | Me | - | - |
| h88 |  | Me | H | - | - |
| h89 |  | Me | Me | - | - |
| h90 |  | H | Me | - | - |
| h91 |  | H | Me | - | - |
| h92 |  | Me | Me | - | - |
| h93 |  | H | Me | - | - |
| h94 |  | H | Me | - | - |



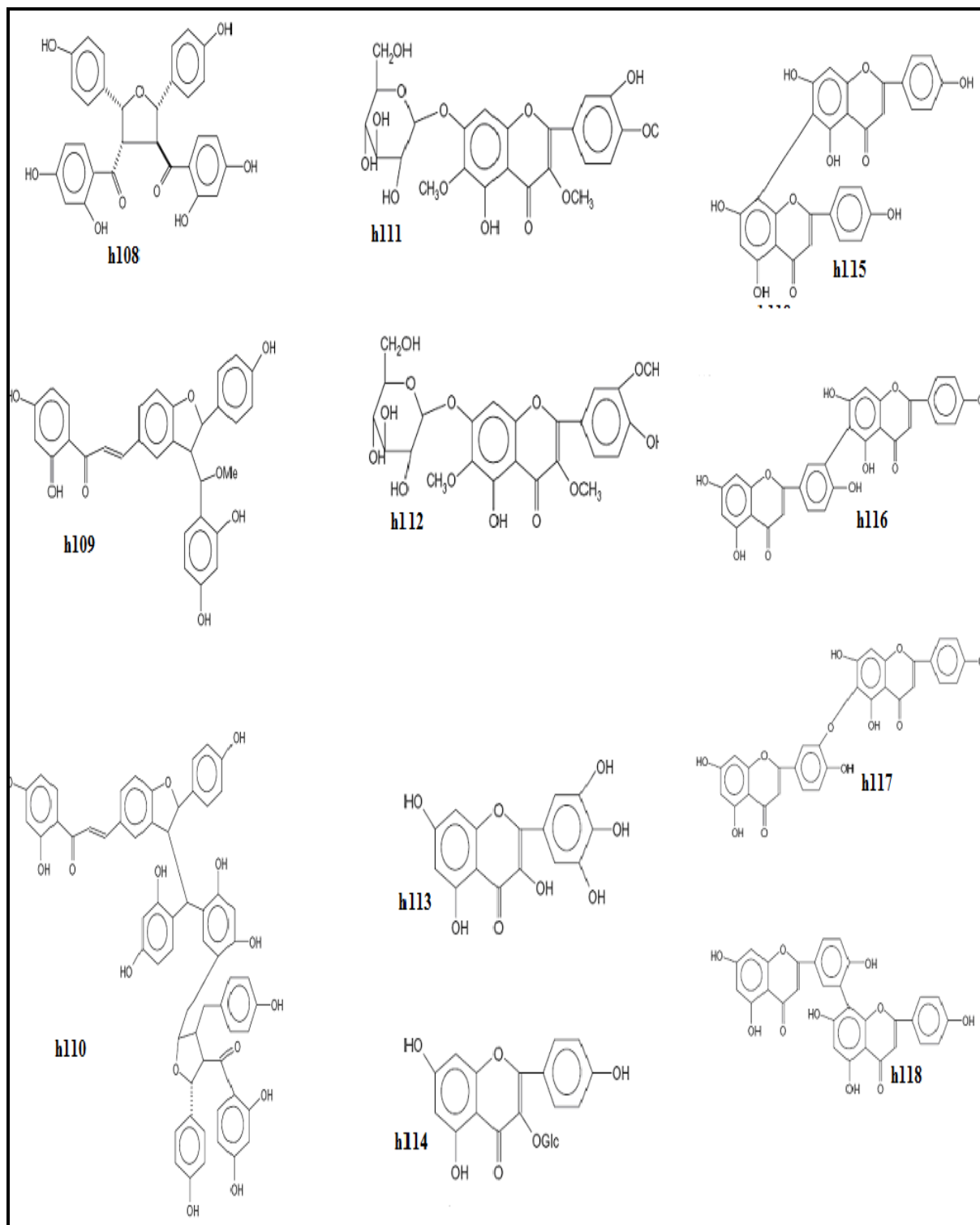


Figure III.10: structures chimiques 2D des ligands L1-118

III.3.4.Simulation Docking moléculaire

Dans la mise au point de nouveaux médicaments, l'amarrage (Docking) sert souvent à déterminer l'orientation des petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité a l'aide d'un logiciel Moe.

MOE est basé sur un type de docking semi-flexible et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible et la chaîne principale de l'enzyme a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles. Il utilise le champ de force MMFF94x pour optimiser les conformations au cours de calcule [7].

L'étude de l'interaction entre les résidus de site actif de la protéine 6LU7 et les ligands pour former des complexes stables est réalisée à l'aide du logiciel MOE, Le docking comprend essentiellement deux sections complémentaires : le docking et le scoring.

La première section (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.

La deuxième section (le scoring) utilisées pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison entre deux molécules après avoir été passées par l'étape de docking. C'est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposée. Le meilleur résultat pour le docking et le complexe protéine-ligand avec la plus faible énergie [8]

III.3.5.Prédiction des propriétés moléculaires des ligands

Des descripteurs moléculaires et des propriétés Drug likeness basé sur la règle de Lipinski (Règles de cinq), Vabre sont analysés, en utilisant l'outil serveur Molinspiration (<http://www.molinspiration.com>).

III.4.Résultats et Discussion

III.4.1.Docking moléculaire

Avant de détailler les résultats de l'étude des interactions enzyme-ligand, nous allons tout d'abord présenter les résultats de scores (kcal/mol) et du RMSD de meilleure pose pour chaque ligand (Tableau III.4). Sachant que :

Le scores : représente les interactions liées à l'électrostatique (comme les liaisons hydrogène et les interactions de VdW), les effets de solvation et de désolvation et l'énergie nécessaire pour déformer le ligand [8]. Le score devrait correspondre directement à l'affinité de liaison en du ligand pour la protéine, de sorte que les ligands présentant le meilleur score soient les meilleurs liants [9].

En général, une pose de ligand est finalement sélectionnée en fonction d'un score d'amarrage [10]. C'est-à-dire, le choix de la pose est correspondu à la structure qui a l'énergie la plus basse.

RMSD (Root Mean Square Deviation) : Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (le ligand de référence). Les performances d'un programme de Docking sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est le plus petit possible. Le positionnement, C'est-à dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD [11].

Le Tableau III.5 explique les différents intervalles de valeurs RMSD données par le logiciel MOE.

D'après le (Tableau III.4): On note que les complexes formés par les ligands L3,L7,L84 ,L85,L87,L90, L108, L110, L115, et le 6LU7 possèdent les plus petites énergies du Score par rapport aux autres ligands,et aussi par rapport au complexe de ligand co-cristalliser (L réf), ceci montre que ces ligands peuvent former des complexes stables qui sont classés par l'ordre suivant :L110 < L07 < L90 < L115 < L108< L87 <L03<L 85< L84<L réf
D'autre part, pour les valeurs de RMSD obtenus, on peut les considérer comme suites :

Tableau III.4: Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 6LU7 avec les ligands Etudiés

| Composé N° | S- score (kcal/mol) | RMSD | Composé N° | S- score (kcal/mol) | RMSD |
|------------|---------------------|-------|------------|---------------------|-------|
| 01 | -7.234 | 2.410 | 54 | -6,839 | 2,068 |
| 02 | -7.741 | 1.795 | 55 | -6,829 | 1,687 |
| 03 | -7.912 | 2.209 | 56 | -5,404 | 2,370 |
| 04 | -7.039 | 2.129 | 57 | -5,580 | 1,352 |
| 05 | -7.206 | 1.340 | 58 | -6.215 | 1,667 |
| 06 | -7.675 | 1.427 | 59 | -6,201 | 1,989 |
| 07 | -8.296 | 1.646 | 60 | -6,058 | 2,522 |
| 08 | -5.338 | 1.998 | 61 | -5,583 | 1,701 |
| 09 | -5.650 | 1.364 | 62 | -5,447 | 1,399 |
| 10 | -5.275 | 1.281 | 63 | -6,081 | 1,138 |
| 11 | -3.475 | 1.493 | 64 | -6,077 | 1,086 |
| 12 | -5.695 | 1.102 | 65 | -6,004 | 1,531 |
| 13 | -6.484 | 1.907 | 66 | -5,045 | 3,168 |
| 14 | -6.108 | 1.744 | 67 | -4,942 | 1,824 |
| 15 | -7.207 | 1.082 | 68 | -5,596 | 2,461 |
| 16 | -7.418 | 1.642 | 69 | -6,165 | 1,201 |
| 17 | -5.454 | 1.677 | 70 | -6,303 | 3,065 |
| 18 | -7.283 | 1.574 | 71 | -7,449 | 2,189 |
| 19 | -7.167 | 1.231 | 72 | -7,119 | 1,823 |
| 20 | -7.191 | 1.110 | 73 | -7,764 | 2,630 |
| 21 | -6.399 | 2.700 | 74 | -7,550 | 2,244 |
| 22 | -6.148 | 3.801 | 75 | -7,531 | 3,473 |
| 23 | -6.026 | 1.192 | 76 | -7,183 | 2,573 |
| 24 | -5.359 | 2.338 | 77 | -7,134 | 1,920 |
| 25 | -5.620 | 2.324 | 78 | -6,203 | 2,078 |
| 26 | -6.221 | 3.202 | 79 | -6,230 | 2,639 |
| 27 | -4.138 | 2.260 | 80 | -7,234 | 0,926 |
| 28 | -3.768 | 2.139 | 81 | -6,305 | 1,693 |

| | | | | | |
|-------------------|----------------|--------|-----|---------------|-------|
| 29 | -6.903 | 3.472 | 82 | -6,637 | 2,611 |
| 30 | -6.196 | 2.725 | 83 | -6,637 | 2,443 |
| 31 | -6.961 | 1.942 | 84 | -7,806 | 1,419 |
| 32 | -1.451 | 2.230 | 85 | -7,875 | 1,288 |
| 33 | -6.379 | 1.368 | 86 | -7,586 | 1,667 |
| 34 | -5.880 | 1.145 | 87 | -7,973 | 2,833 |
| 35 | -5.826 | 5.101 | 88 | -6,189 | 1,444 |
| 36 | -6.405 | 1.504 | 89 | -6,856 | 1,311 |
| 37 | -5.530 | 1.138 | 90 | -8,064 | 2,228 |
| 38 | -5.845 | 2.151 | 91 | -7,831 | 3,036 |
| 39 | -5.690 | 1.674 | 92 | -7,395 | 3,038 |
| 40 | -5.444 | 1.640 | 93 | -7,761 | 2,734 |
| 41 | -5.877 | 1.278 | 94 | -7,743 | 1,364 |
| 42 | -5.568 | 3.471 | 95 | -5,717 | 2,708 |
| 43 | -5.986 | 3.840 | 96 | -5,839 | 1,730 |
| 44 | -6.075 | 2.104 | 97 | -6,137 | 1,872 |
| 45 | -5.814 | 2.288 | 98 | -6,121 | 2,201 |
| 46 | -5.322 | 2.275 | 99 | -2,560 | 2,804 |
| 47 | -6.301 | 4.318 | 100 | -6,165 | 1,645 |
| 48 | 4.318 | 4.318 | 101 | -5,925 | 1,505 |
| 49 | -6.505 | -6.505 | 102 | -6 ,169 | 2,095 |
| 50 | -6.505 | 2.348 | 103 | -2,034 | 2,650 |
| 51 | -6.703 | 1.968 | 104 | -6,356 | 2,144 |
| 52 | 1.968 | 1.465 | 105 | -6,050 | 1,581 |
| 53 | -6.442 | 2.654 | 106 | -6,519 | 2,368 |
| 111 | -7.203 | 3.754 | 107 | -6,365 | 1,749 |
| 112 | -6.834 | 1.123 | 108 | -7,994 | 2.087 |
| 113 | -5.516 | 1.885 | 109 | -7.900 | 2.407 |
| 114 | -7.196 | 1.162 | 110 | -8.667 | 6.663 |
| 115 | -8.021 | 1.726 | 116 | -7,422 | 1,620 |
| 117 | -7,700 | 1,319 | 118 | -7,283 | 2,622 |
| L réf (N3) | -7.7903 | | | | |

Les composés sélectionnés en gras représentent les meilleurs ligands, qu'on va étudier leurs interactions.

Tableau III.5: Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE

| RMSD | RMSD <1.5 | 1.5<RMSD <3.5 | 3.5<RMSD <6 | RMSD <6 |
|-----------|-----------|---------------|-------------|--------------|
| Structure | Parfait | Acceptable | Inadéquat | Inacceptable |

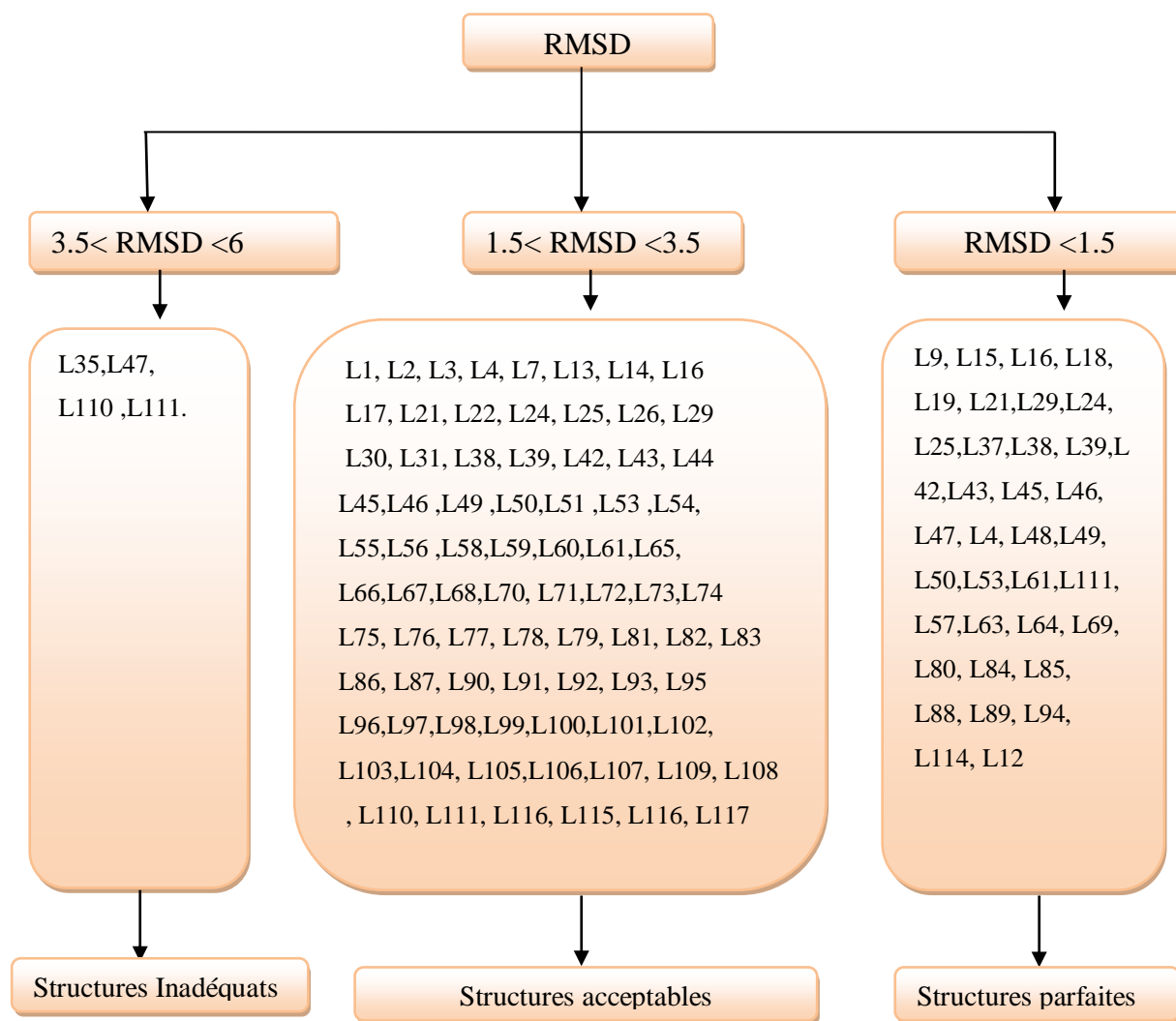
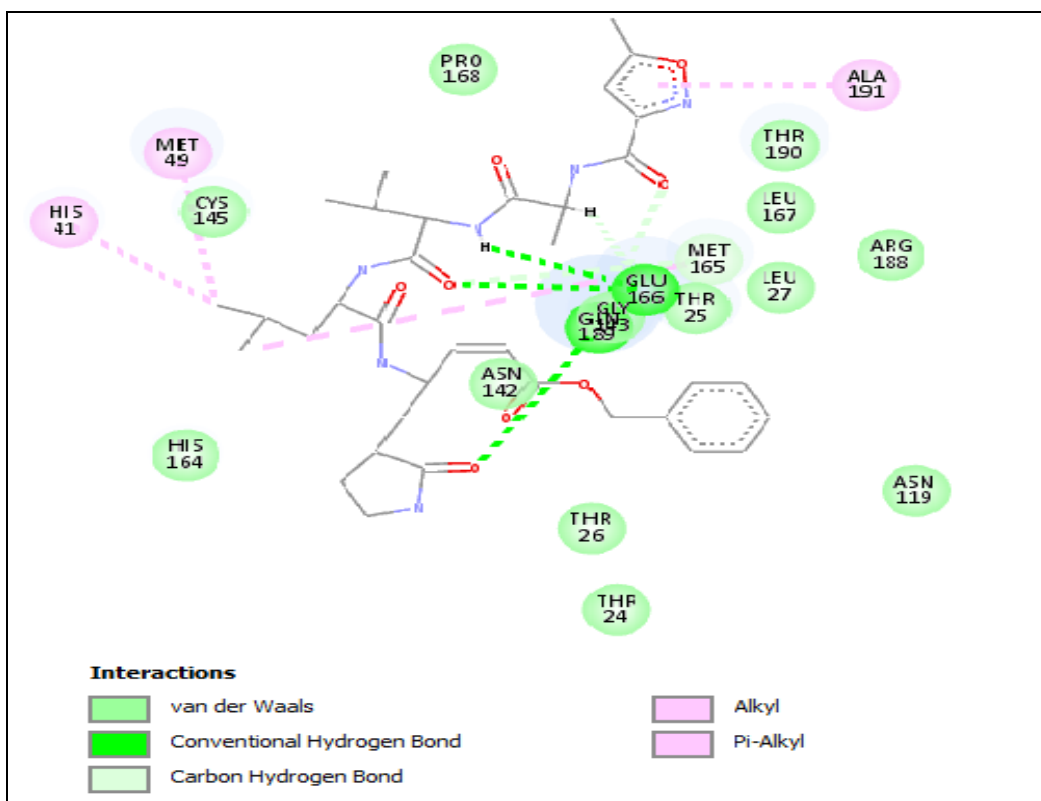


Figure III.11 : Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE

A) Enzyme-ligand de référence (N3) :

Dans l'objectif de proposer de nouveaux inhibiteurs de la 6LU7, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur composé réellement actif sorti du criblage total. Il s'agit du ligand de référence N3 (C₃₅H₄₈N₆O₈) issue de la chimiothèque d'évaluation utilisée dont le score s'évalue à "**-7.79 kcal/mol**".

La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la 6LU7 a été réalisée à l'aide du logiciel MOE. On observe que : Le N3 établit Trois liaisons avec l'enzyme 6LU7 (Figure III.12) : La première liaison d'interaction de type H-donneur est établie entre le N 72 du ligand et le résidu d'acide aminé GLU166 de L'enzyme, et la deuxième liaison H-accepteur entre l'atome d'O du carbonyle et le résidu GLN189 ; GLY 43, et la troisième liaison de type d'interaction moyenne de type pi-H est formée entre l'Hétérocycle oxazole de ligand et celui du résidu Ala191 de l'enzyme.



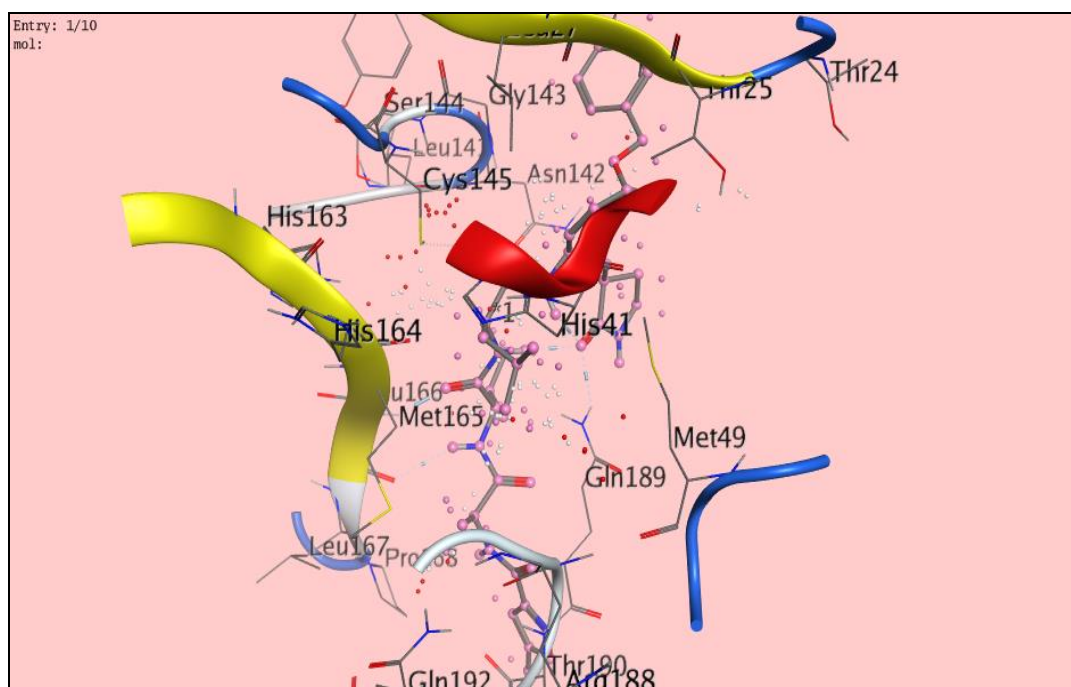


Figure III.12: Interactions entre le ligand de référence N3 et les résidus de site actif de 6LU7

B) Étude des interactions enzyme-ligand:

Dans l'objectif de proposer de nouveaux inhibiteurs de la 6LU7, on a étudié, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur composé réellement actif sorti du criblage total. Cette étude est effectuée sur les neuf meilleurs ligands (L3, L7, L84, L85, L87, L90, L108, L110, L115) voir les valeurs en gras dans le Tableau III.6.

Les structures 2D, 3D des interactions protéine-ligand ont été visualisées par des programmes de Discovery studio. Les résidus de liaison et leurs chaînes ont été identifiés à partir du complexe protéine-ligand comme indiqué dans les figures suivantes :

Dans cette analyse, les composés les plus actifs de la base de données phytochimiques ont interagi avec les résidus d'acides aminés du site actif par le biais de forces d'interaction telles que la liaison hydrogène (liaison hydrogène conventionnelle et carbone) et l'interaction hydrophobe (Pi-alkyle donneur Hydrogen Bond, Pi-Pi T-Shaped, Pi-Sigma et -Pi-stacked interactions).

Tableau III.6: résultats de Docking moléculaire et l'analyse des interactions pour les meilleurs complexes

| Complexes | Liaison hydrogène | Interactions hydrophobique | Autre liaison | E (kcal/ml) |
|--|---|----------------------------|---------------|---------------|
| 6LU7-L3 8-((5,7-dihydroxy-2-(4-oxo-4H-chromen-6-yl)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one | LEU141, GLY143, ASP187, | THR 24 | MET 165 | -7.912 |
| 6LU7-L7 5,7-dihydroxy-8-(2-hydroxy-5-(5hydroxy-7-methyl-4-oxo-4-4a, 8a-dihydro-4H-chromen-4-one | THR26, SER144, HIS163 | MET49 | CYS145 | -8,064 |
| 6LU7-L84 ethyl 4-((2-((3aR, 9S, 9aR)-9-(4-hydroxy-3,5-dimethoxycyclohexyl)-6,7-dimethoxy-1 oxo-1.3, 3a, 4,9,9a-hexahydronaphtho [2,3c] furan-4-yl) ethyl) amino)benzoate | HIS 163, MET 49 HIS 41, MET165 | MET 49 | ////////// | -7,806 |
| 6LU7-L85 (3aR,9S,9aR)-4-(2-((4-fluorophenyl) amino)ethyl)-6,7-dimethoxy-9-(3, 4,5 trimethoxycyclohexyl)-3a, 4,9, 9a-tetrahydronaphtho [2.3-c]furan-1(3H)-one | CYS145, SER144, GLY143 | MET165 | ////////// | -7,875 |
| 6LU7-L87 (3aR, 9S, 9aR)-4-(2-((4-fluorophenyl) amino) ethyl)-9-(4-hydroxy-3,5 dimethoxycyclohexyl)-6,7-dimethoxy-3a, 4, 9,9a-tetrahydronaphtho [2,3] furan-1(3H)-one | ASP187, MET 49, GLY143 | PRO168, MET49 | THR 190 | -7,973 |
| 6LU7-L90 4-((2-((3aR, 9R, 9aR)-9-(4-hydroxy-3,5-)-6,7dimethoxy-1- | MET165, HIS41, ASP187, | THR 190 | THR 190 | -8,064 |

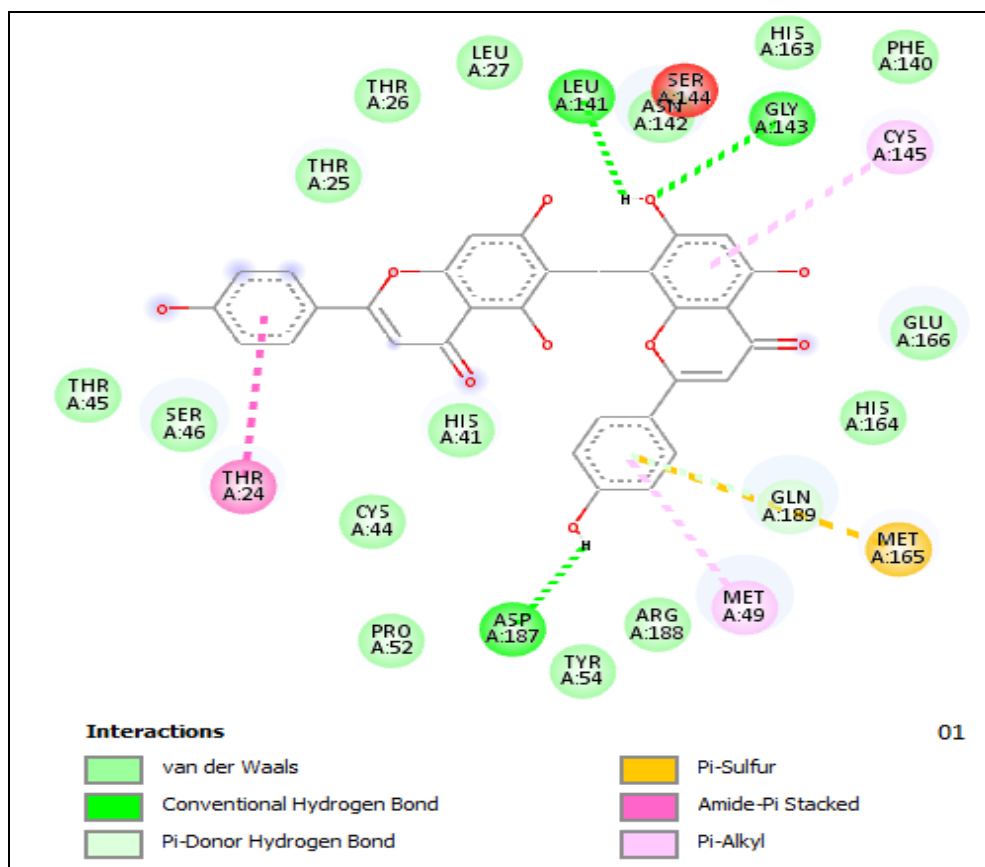
| | | | | |
|---|--|--------------------|-------------------|---------------|
| oxo-1, 3,3a, 4, 9,9a-hexahydronaphtho [2,3-c]furan-4- yl) amino benzonitrile | CYS145 | | | |
| 6LU7-L108 (2R,3S, 4S, 5S)-2,5-bis (4-hydroxyphenyl) tetrahydrofuran-3,4-diyl) bis ((2,4-dihydroxyphenyl) methanone) | GLU166 | MET 49, CYS145 | CYS 145 | -7.994 |
| 6LU7-110 (E)-3-(3-(2-(5-(3-((SR)-4-(2,4-dihydroxybenzoyl)-3-(2,4-dihydroxybenzyl)-5-(4-hydroxyphenyl)tetrahydrofuran-2-yl)propyl)-2-hydroxyphenyl)-2-(2,4-dihydroxyphenyl)ethyl)-2-(4-hydroxyphenyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one | GLU166, GLN189 | CYS 145 | CYS 145 | -8.667 |
| 6LU7-115 8-(2-(5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-6-yl) ethyl)-5,7dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one | ASN 142, THR24, THR 190, ASN142 | GLU 166, CYS145 | CYS145, GLU166 | -8,021 |

Les résultats ont également révélé les acides aminés suivants, ARG188, ASN142, ASP187, CYS145, GLN192, GLY143, HIS163, HIS164, HIS41, LEU141, MET165, MET49, PHE140, PRO168, SER144, THR26 et TYR54 se sont avérés jouer un rôle important dans les conformations les plus favorables, ils se sont également avérés être les résidus clés interagissant dans le site actif de la cible. De plus, TYR54, MET165 (interactions de liaison

H), CYS145 et MET49 (interactions hydrophobes) étaient les plus dominants, ils ont donc été impliqués dans de nombreux cas possibles pour former les complexes amarrés.

1) Interactions 6LU7 – L3 (Figure III.13)

L'interaction du ligand 3 avec le site actif de l'enzyme donne le score **-7.912** kcal/mol. Cependant ce ligand forme quatre liaisons, sachant que : les trois premières liaisons sont de type H-accepteur et sont formées entre les trois atomes d'O du ligand et les résidus Leu 141, GLY 143, ASP. 187 La quatrième liaison est de type Amide pi-H, et qui est formée entre le noyau benzoïque du ligand et le résidu THR 24 du récepteur et la liaison pi-H entre le cycle benzène et les résidus MET 49 et CYS 145 Le complexe (6LU7- ligand3) est stabilisé aussi par des interactions hydrophobiques avec les résidus : CYS145 et MET 49 de l'enzyme.



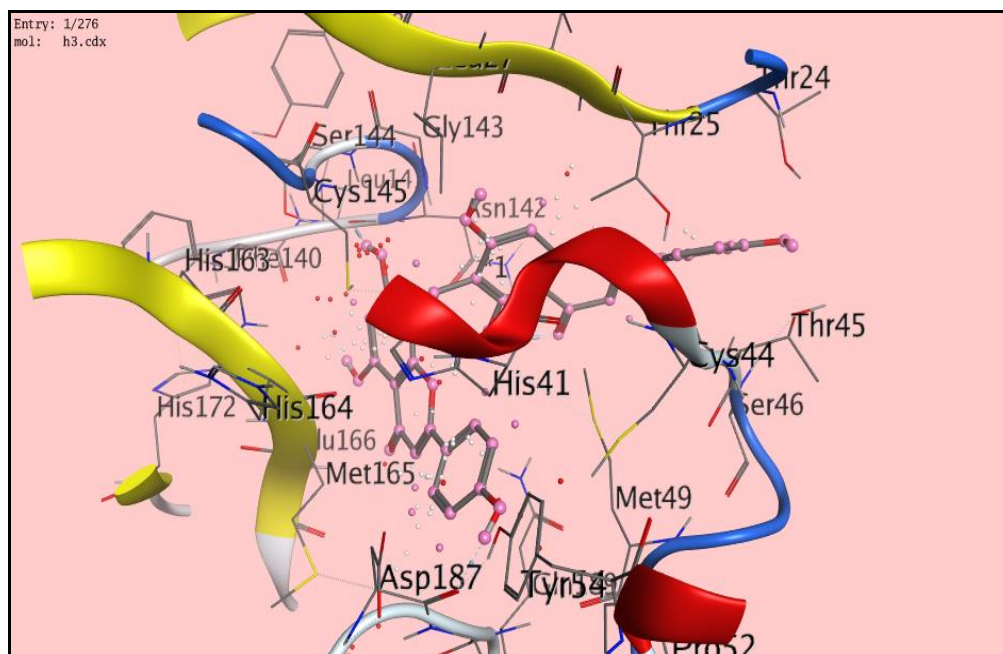


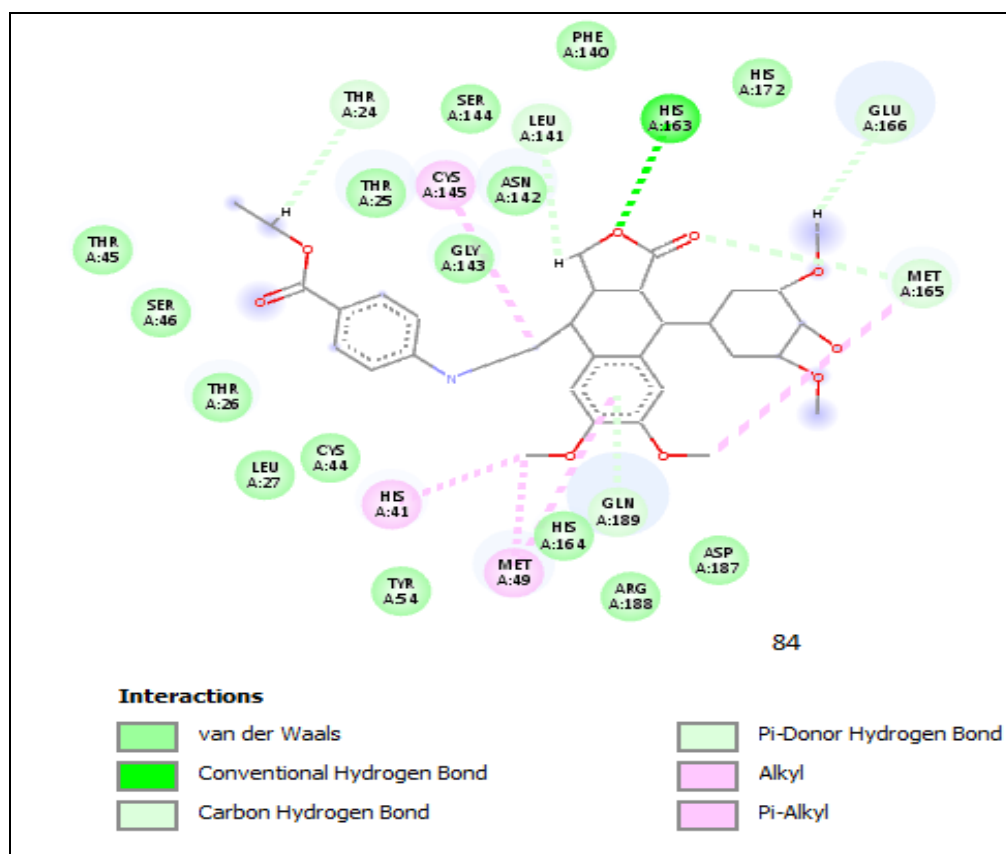
Figure III.13: Interactions entre le ligand 3 et les résidus de site actif de 6LU7

2) Interactions 6LU7 – L7 (Figure III.14)

Avec une valeur du score égale à **-8,064** kcal/mol, le ligand 7 forme trois liaisons, dont l'une est de type H-donneur entre L'O du ligand et le résidu THR 26, Ser144, HIS163 de l'enzyme. L'autre liaison est de type pi-H entre le cycle benzène du ligand et le résidu MET49, de l'enzyme. La troisième liaison est de type pi-sulfure, formée entre le cycle Benzène du ligand et le résidu CYS 145 de l'enzyme. Le complexe 6LU7 – L7 est également stabilisé par des interactions de Van der Waals avec les résidus d'acides aminés : SER46, ASN142, LEU141.

3) Interactions 6LU7 – L 84 (Figure III.15)

Avec le score qui s'évalue à **-7,806 kcal/mol**. L'analyse visuelle montre que le ligand 84 inhibe 6LU7 en formant trois liaisons. Une liaison de type H accepteur entre l'atome d'oxygène de l'hétérocycle du ligand et les résidus HIS 163, La deuxième liaison est de type H donneur entre L'oxygène du ligand et les résidus MET165, Met 49 ; HIS 41 la troisième liaison de type Pi-H donneur est observée entre le cycle phényle du ligand et le résidu MET 49.



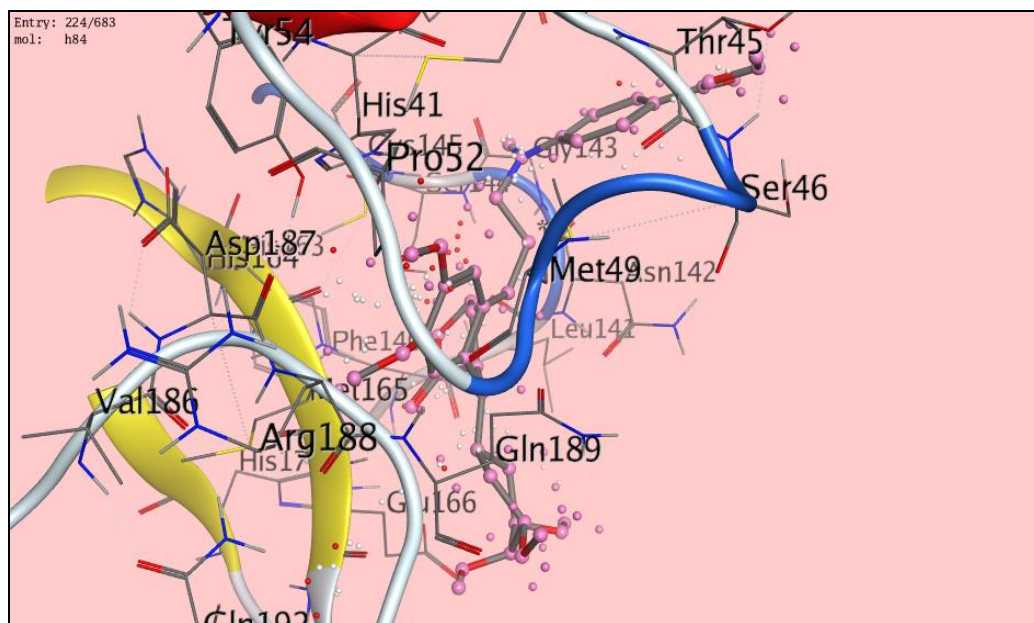


Figure III.15: Interactions entre le ligand 84 et les résidus de site actif de 6LU7

4) Interactions 6LU7 – L85 (Figure III.16)

Le ligand 85 est avec un score égal à **-7,875** kcal/mol. Ce score peut être expliqué par la présence de quatre interactions la première est de type H- accepteur entre L'O et les résidus CYS145, SER144 la deuxième liaison de type H-donneur entre le OH du ligand et le résidu GLY143 et qui sont formées respectivement entre O36 et les résidus SER144, CYS 145 et la troisième liaison de type PI-H entre le cycle Benzène et le résidu MET165 la quatrième liaison de type van der Waals avec les résidus ASN142, GLN189 qui stabilise le complexe (6LU7-L85).

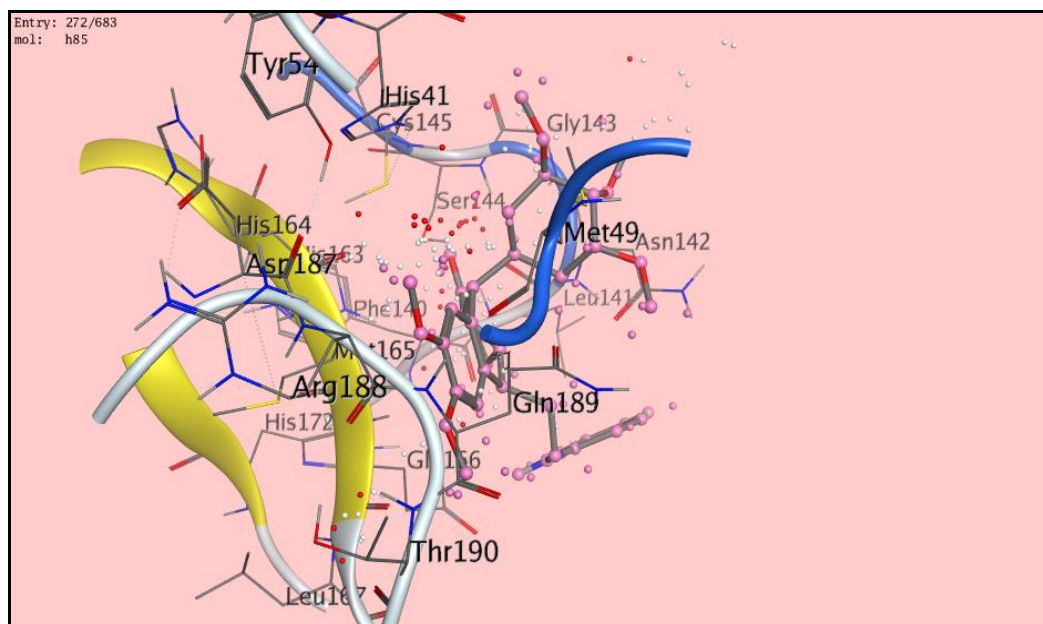
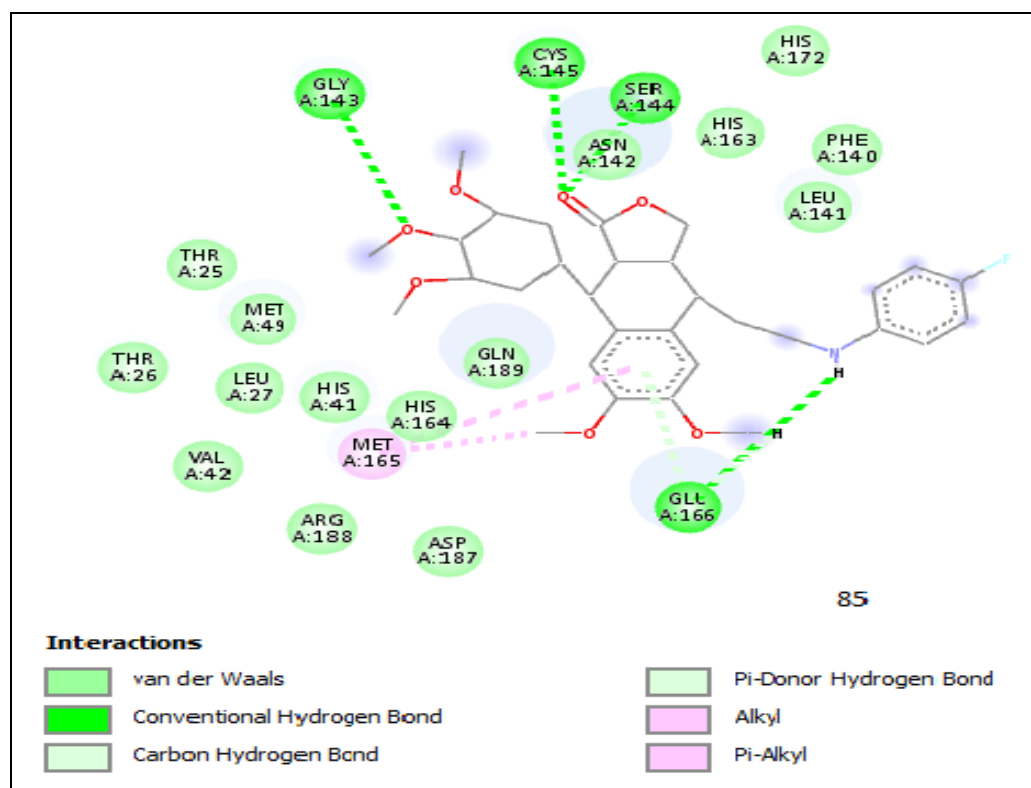


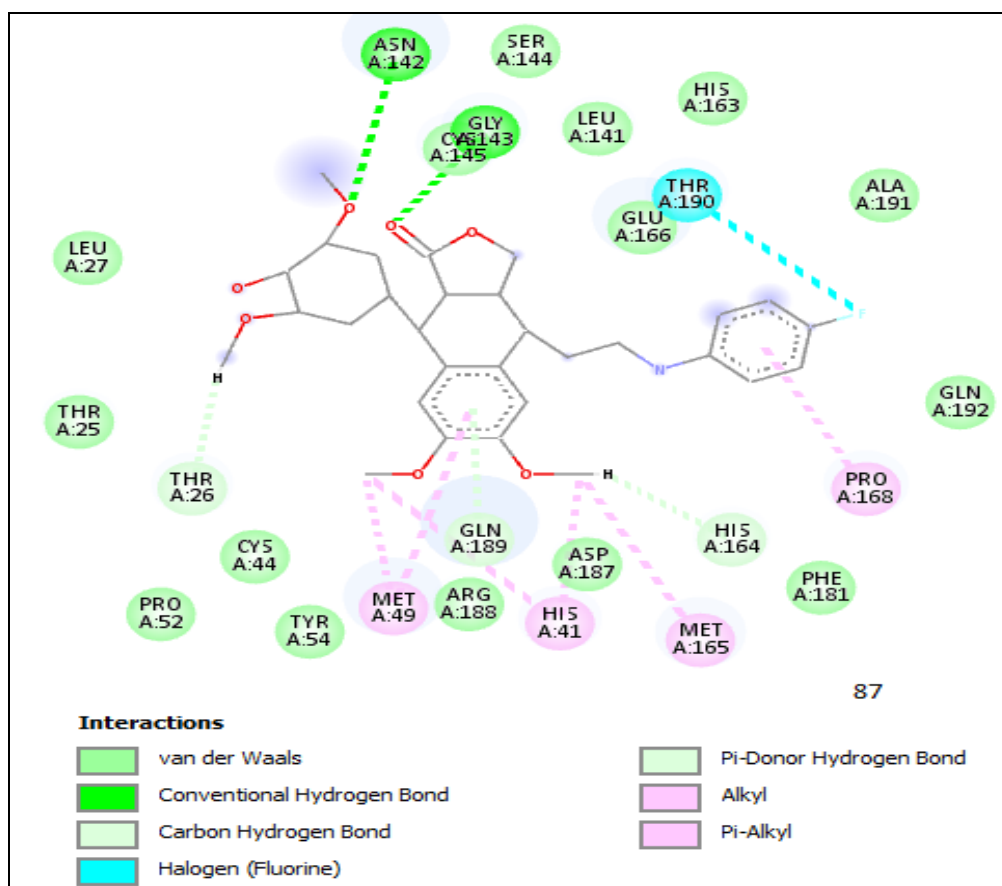
Figure III.16: Interactions entre le ligand 85 et les résidus de site actif de 6LU7

5) Interactions 6LU7– L87 (Figure III.17)

La visualisation des résultats du Docking moléculaire montrent que le ligand 87 se caractérise par un score **-7,973 kcal/mol**.

Il établit quatre liaisons : la première est de type H-donneur qui est formée entre le groupement (OH) de cycle Benzénique du ligand et les résidus : ASP187, MET 49. Les autres liaisons sont de type H-accepteur entre l'atome de L'O du ligand et le résidu : GLY143.

Les deux autres liaisons sont de type PI-H entre les cycles Benzéniques et les résidus : PRO168, MET49 et la dernière liaison de type Halogène (Fluorine) ont été observées entre le groupement alkyle de cycle Benzénique et l'acide aminé THR190. Des interactions hydrophobiques interviennent pour stabiliser le complexe (6LU7– L87) avec les résidus : HiS41, MET 49, PRO168, GLN189.



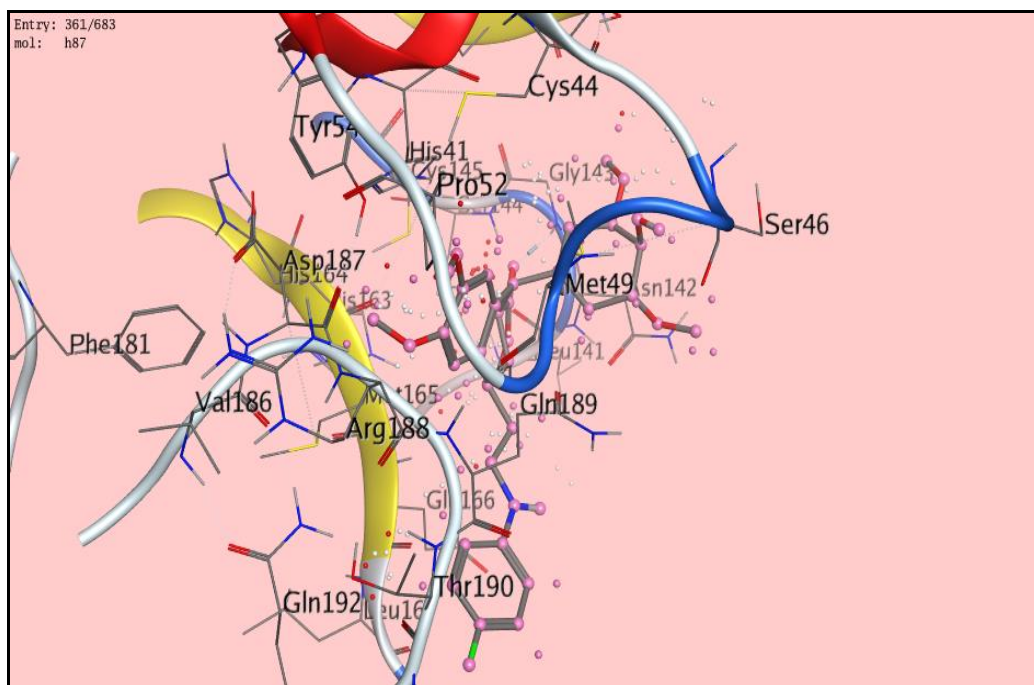


Figure III.17: Interactions entre le ligand 87 et les résidus de site actif de 6LU7

6) Interactions 6LU7 – L90 (Figure III.18)

L'analyse visuelle montre que le ligand 90 a un score **-8,064** kcal/mol en établissant quatre types des liaisons. Sachant que la première est de type H-donneur qui est observée entre les atomes O du ligand et les résidus MET165, HIS41, ASP187. Autre liaison est de type H-accepteur entre l'O du ligand et les résidus CYS 145 .la troisième liaison est de type hydrophobique Pi-H est observée entre les cycles Benzène du ligand et les résidus MET 49, PRO168 La dernière liaison de type Halogène (Fluorine) avec le résidu THR 190 de l'enzyme.

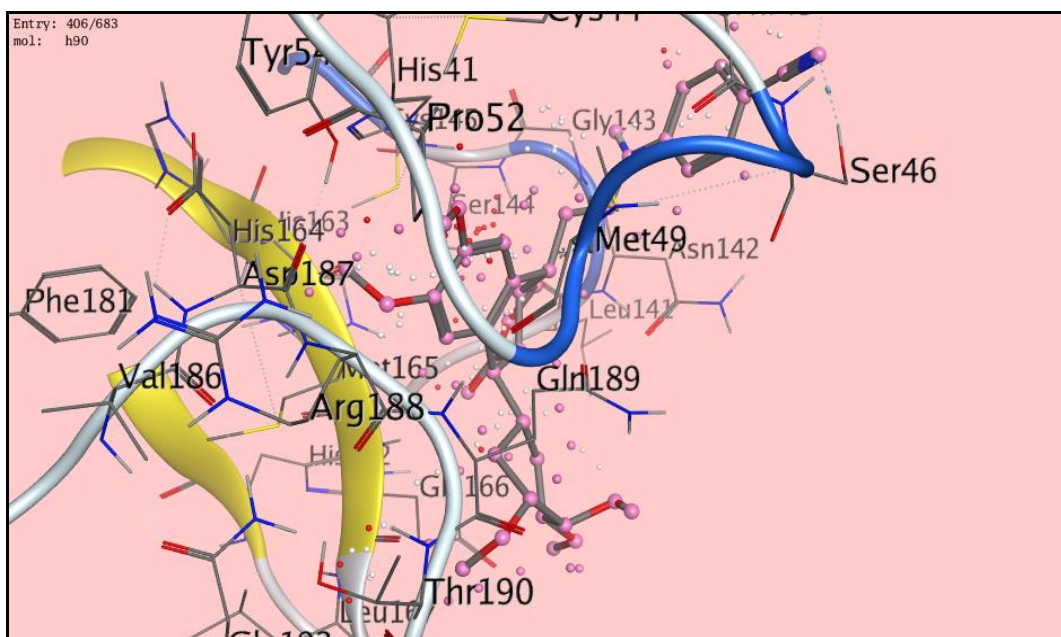
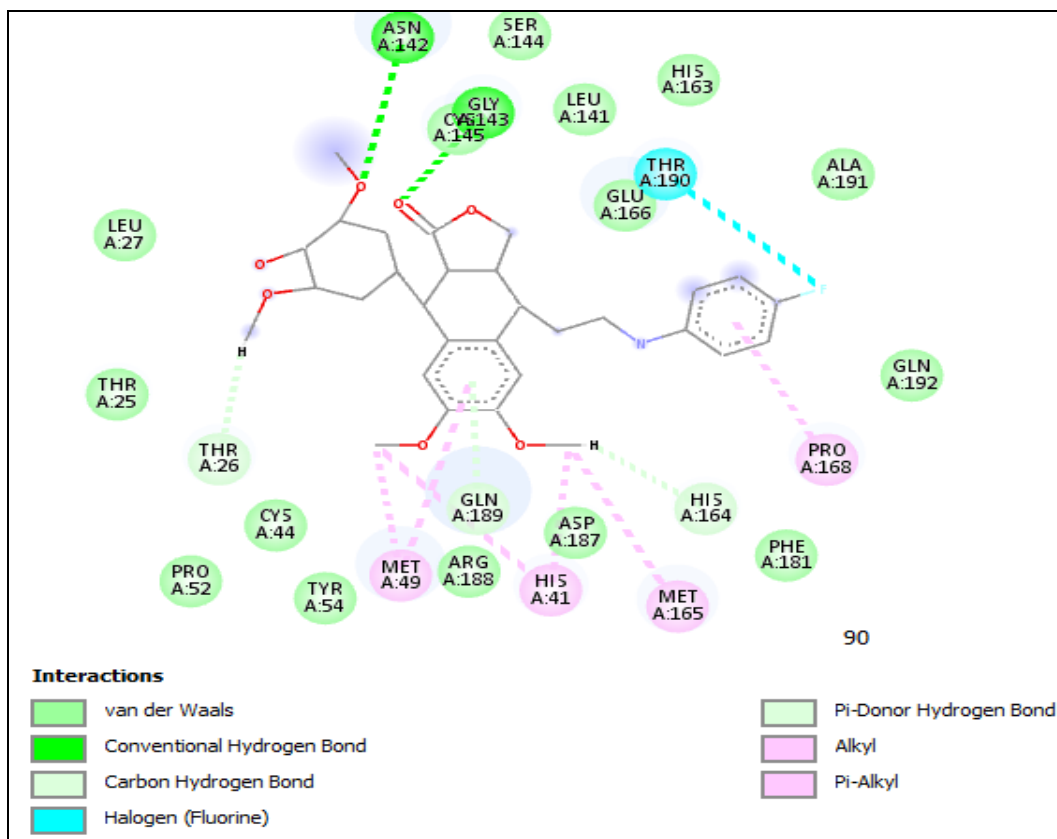
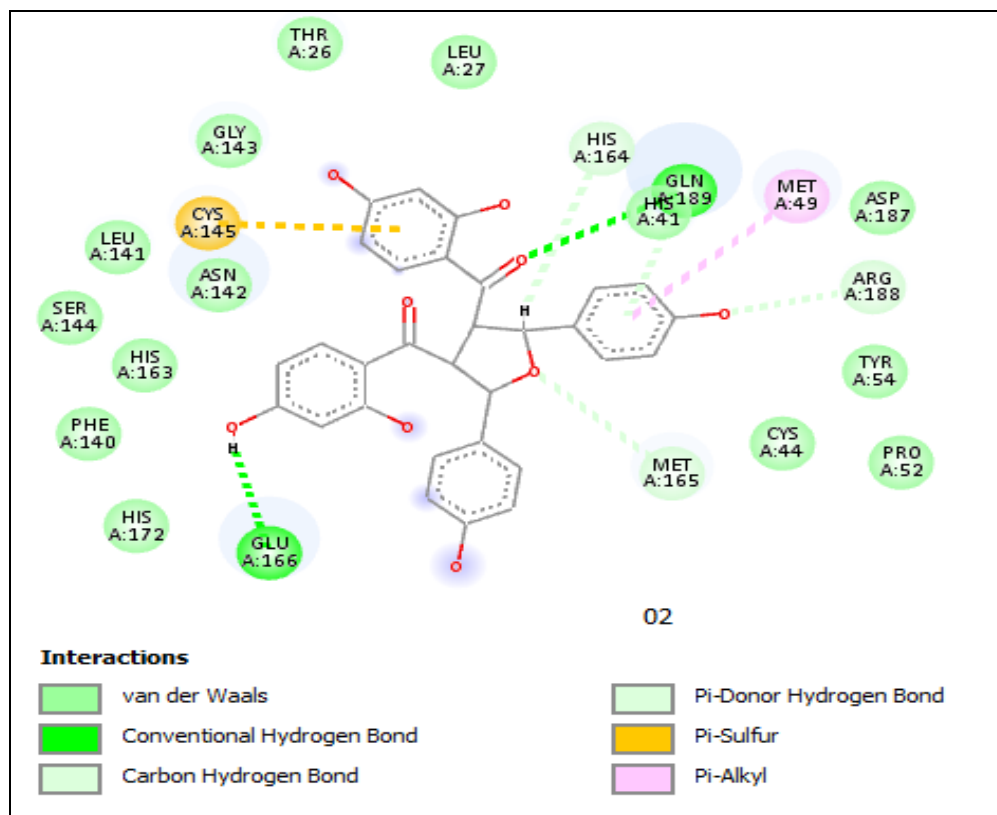


Figure III.18: Interactions entre le ligand 90 et les résidus de site actif de 6LU7

7) Interactions 6LU7 – L108 (Figure III.19)

L'analyse visuelle du complexe L111et 6LU7 ($S=-7.99$ kcal/mol) nous révèle Quatre liaisons, dont les deux premières sont de types H-accepteur et H-donneur respectivement et sont formées entre le OH (hydroxyle) et le résidu GLU166 de l'enzyme, et L'O du ligand et le résidu GLN189 de l'enzyme. Les deux autres liaisons sont de type pi-H et pi-sulfure sont formées respectivement entre les cycles benzène et les résidus du ligand MET 49, CYS 145 de l'enzyme Le complexe ici est stabilisée par des interactions hydrophobiques avec les résidus : HIS164, LEU27, ARG188.



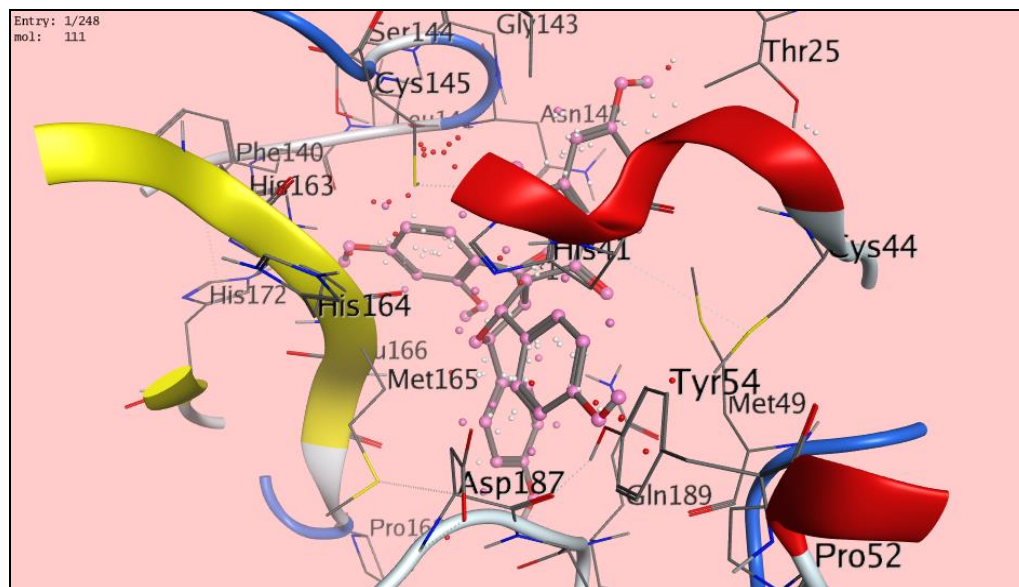


Figure III.19: Interactions entre le ligand 108 et les résidus de site actif de 6LU7

8) Interactions 6LU7 – L110 (Figure III.20)

Le ligand 113 se caractérise par un score plus élevée **-8.667** kcal/mol. L'analyse visuelle du complexe (6LU7– L113) montre la présence de Trois liaisons sachant que : La première liaisons sont de type H-donneur et sont formés entre l'atome d' O du ligand et le résidu Glu166 de l'enzyme , Les deux autres liaisons sont de type H-accepteur entre l'O le résidu GLN189 et l'autre de type pi-sulfure entre le cycle Benzène du ligand et le résidu CYS 145 de l'enzyme Le complexe ici est stabilisée par des interactions de van der waals avec les résidus MET165,HIS164.

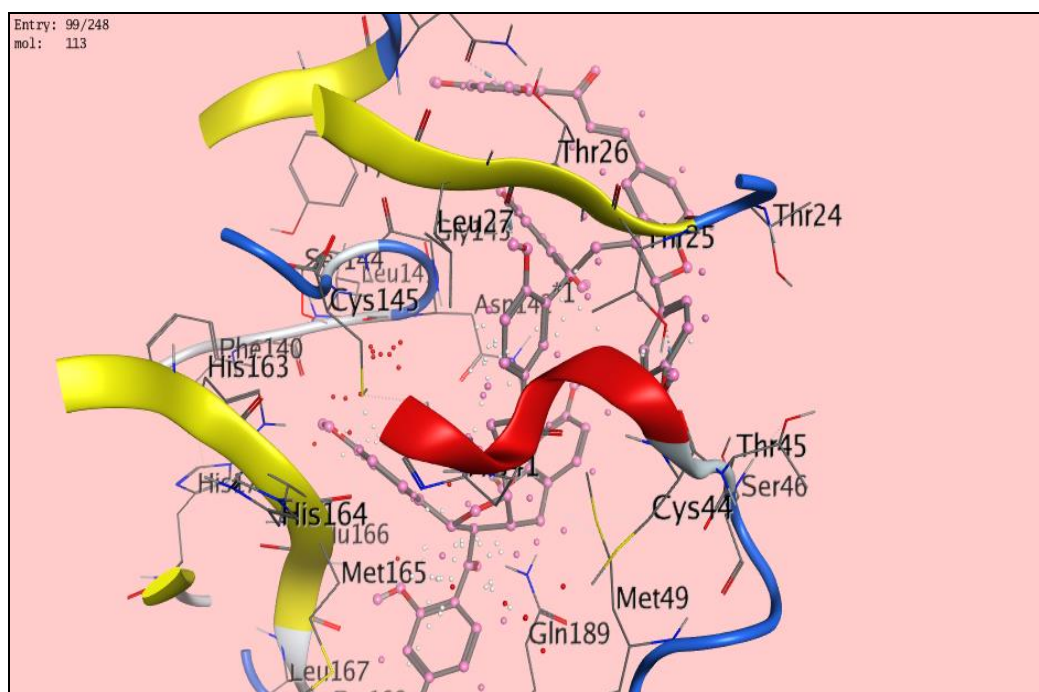
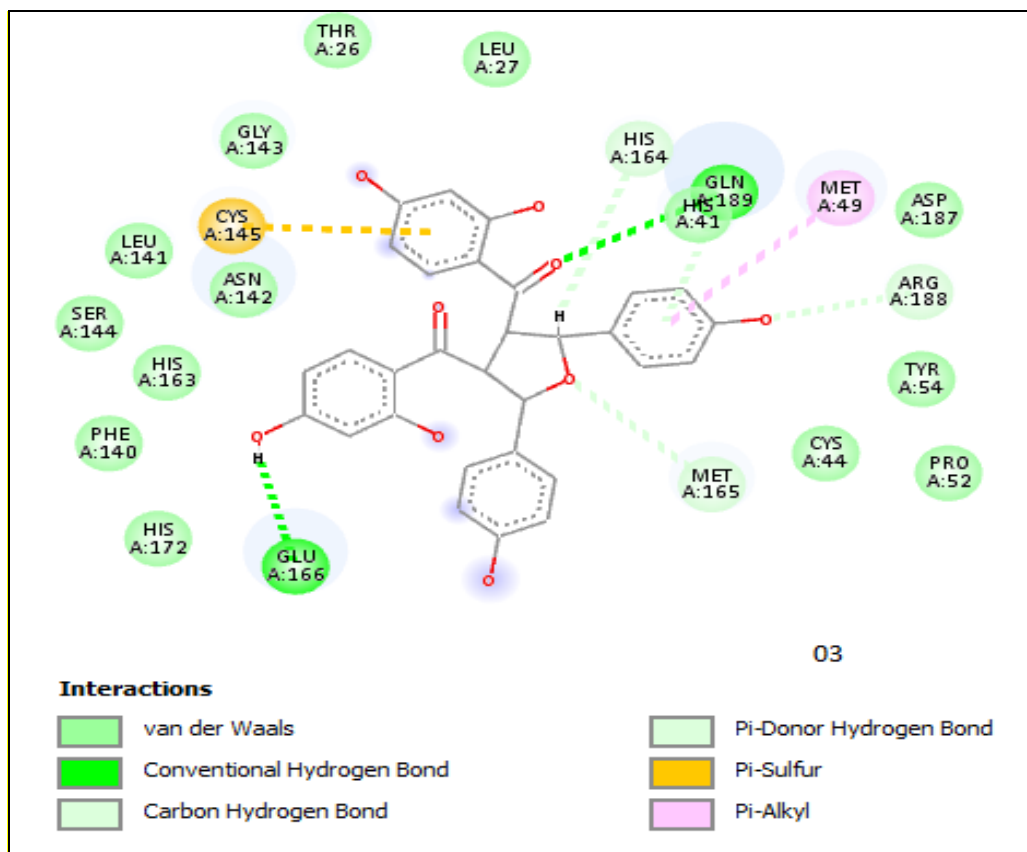


Figure III.20: Interactions entre le ligand 110 et les résidus de site actif de 6LU7

9) Interactions 6LU7 – L115 (Figure III.21)

Le ligand 118 possède la valeur la plus élevée des scores obtenus qui est égal **-8,021** kcal/mol. L'analyse visuelle du complexe (6lu7– L118) indique la présence de trois liaisons sachant que : la première est de type H-donneur entre l'O et ligand et les résidus ASN 142, THR 24, THR 190 de l'enzyme. La deuxième et la troisième liaison de types H-accepteur qui sont établies respectivement entre l'O du ligand et le résidu ASN 142 de l'enzyme Enfin la dernière liaison est de type pi-H qui est formée entre l'hétérocycle du ligand et le résidu GLU 166 de l'enzyme et le cycle benzène et le résidu CYS14.

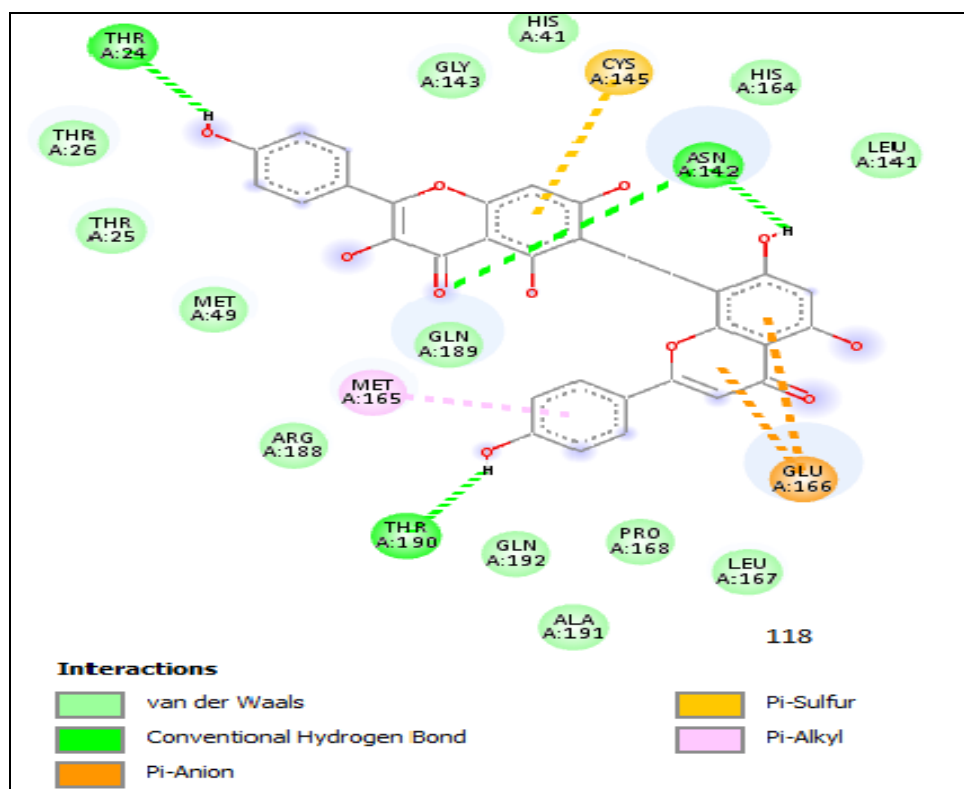


Tableau III.7: Résultats d'application de la Règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs de SARs-COV 2

| Composé N° | N° ON | N° OHNH | Masse(UMA) | Log P | Nombre de la violation |
|---------------|-------|---------|------------|-------|---------------------------|
| 03 | 10 | 6 | 552,49 | 5,74 | 3 |
| 07 | 10 | 6 | 558.54 | 3.40 | 2 |
| 84 | 10 | 2 | 597,71 | 3.22 | 1 |
| 85 | 8 | 1 | 557.66 | 3.23 | 1 |
| 87 | 8 | 2 | 543.63 | 2.83 | 1 |
| 90 | 9 | 2 | 550,65 | 2.43 | 1 |
| 108 | 9 | 6 | 528.51 | 4.27 | 2 |
| 110 | 15 | 11 | 105.13 | 9.25 | 4 |
| 115 | 10 | 6 | 566.52 | 5.76 | 3 |
| N3 | 14 | 5 | 680.80 | 2,32 | 2 |

N°ON: Liaisons hydrogène accepteurs N°OHNH: Liaisons hydrogène donneurs

- La masse moléculaires de tous les ligands et de N3 sont supérieurs à 500 Da, par conséquent les ligands sont difficiles à pénétrer dans la membrane cellulaire.

-On peut avoir à travers le (Tableau III.7) que la plupart des ligands ont des nombres accepteurs d'hydrogène inférieurs à 10, sauf le ligand 110.

-les ligands 84, 85, 87,90 ayant le nombre donneur d'hydrogène inférieur à 5 ce qui conduit à une meilleure perméabilité.

-Alors que, le Lref possède un nombre accepteur d'hydrogène supérieur à 10 et un nombre donneur d'hydrogène et égal à 5.

▪ **Le nombre de violation**, nous remarquons que nos composés ont une violation $N_v=1$ (L84, L85, L87, L90) car ils ont Une masse supérieure au poids requis). A l'exception des cinq composés (L3, L7, L108, L110, L115), ils ont plusieurs violations, car ils ne remplissent pas les conditions et d'autre part aussi le ligand de référence montre 2 violations, car il ne réalise pas 2 conditions de Lipinski. De cela, nous pouvons conclure que : les composés répondent aux règles

de Lipinski est 4, suggérant que ces ligands théoriquement n'auraient pas de problèmes avec la biodisponibilité orale. Par contre le Lref ne répond pas à cette règle

B) Application de la Règle de Veber

Le Tableau III.8 présente les résultats des propriétés concernant la règle de Veber. Ces résultats sont calculés et obtenus en utilisant le logiciel Molinspiration.

Tableau III.8: Résultats de l'application de la Règle Veber pour les meilleurs inhibiteurs de SARs-COV2

| Composé N° | TPSA (Å ²) | N° rotb |
|------------|------------------------|---------|
| 03 | 181,79 | 4 |
| 07 | 173.98 | 4 |
| 84 | 121.80 | 12 |
| 85 | 84.50 | 10 |
| 87 | 95.50 | 9 |
| 90 | 119.29 | 9 |
| 108 | 164.74 | 6 |
| 110 | 275.12 | 16 |
| 115 | 181.79 | 5 |
| N3 | 197.83 | 18 |

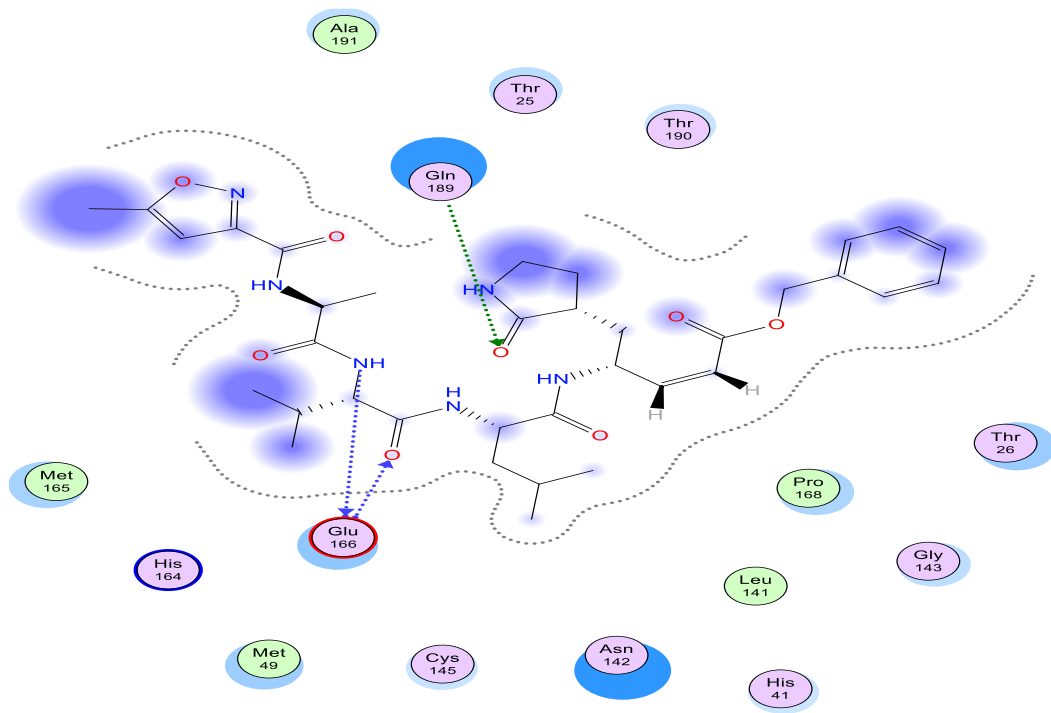
D'après les résultats du tableau en remarquant que :

- **Pour les NRB :** Les composés (03, 07, 87, 90, 108, 115) ont des valeurs de liaisons rotatives inférieures ou égal à 10 par rapport au ligand de référence (NRB=18). Un faible nombre des liaisons rotatives donc une flexibilité réduite pour tous les composés ce qui indique que ces ligands lors de la liaison à une protéine ne changent que légèrement leur conformation. Par contre, le ligand de référence et les deux composés (84, 110) a un NRB>10 donc une grande flexibilité.
- **Pour la surface polaire (TPSA) :** Les composés étudiés contiennent des valeurs de TPSA inférieures à 140 Å² ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et du transport à travers les membranes biologiques. Alors que d'autres composés également le ligand de référence ont une valeur de TPSA supérieure à 140 (= 197.83) par conséquent, nous prédisons un mauvais transport à travers les membranes.

Références

- [1] Perez, R.M., *Pharm. Biol.* **2003**, 41, 107-157.
- [2] Aurélien. G, Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives, Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, **2007**.
- [3] Stanislas. D, Les logiciels de visualisation moléculaire dans l'enseignement des sciences de la vie : conceptions et usages, Thèse de doctorat, Ecole normale supérieure, Cachan, **2012**.
- [4] Santiago, V.; Giorgio, Cozza.; Stefano, Moro., *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, 8, 1555-1572.
- [5] Molinspiration Cheminformatics. Calculation of molecular properties and bioactivity score. [Computer software]. Retrieved from <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>, **2018**.
- [6] Benarous. K, Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes alpha amylase, trypsine et lipase, Mémoire d'Ingénieur d'état ingénie biologique, Université Amar Telidji Laghouat, Algérie, **2006**.
- [7] Ajay M. A.; Murcko, J., *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 4953-4967.
- [8] Richard, A. F.; Jay, L. B.; Robert, B. M.; Thomas, A. H.; Jasna, J. K.; Daniel, T. M.; Matthew, P. R.; Eric, H. Knoll.; Mee, Sh.; Jason, K. P.; et al., *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 1739-1749.
- [9] Hui, S. L.; Sunhwan, J.; Hyun-Suk, L.; Wonpil, I., *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, 52, 1821-1832.
- [10] Bernd, K.; Matthias, Rarey.; Thomas, L., *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, **1999**, 37, 228-241
- [11] Raphaël. B, Déchiffrer le code histone : épigénétique et toxicologie placentaire, PhD thesis, Université René Descartes, **2014**.

CONCLUSION GENERALE



Les travaux présentés dans cette mémoire concernent principalement l'utilisation de la méthode Docking moléculaire dans le cadre de la découverte de nouveaux médicaments.

L'objectif principal est d'élucider les interactions actuelles entre une nouvelle classe de molécules antivirales d'origine naturelle avec l'enzyme protéase (6LU7) impliquée dans le traitement de SARS-CoV-2.

Premièrement, nous avons présenté la maladie SARS-CoV-2 en général, et dans la deuxième partie, nous avons abordé les principes de base de la méthode Docking moléculaire ainsi que différents concepts de filtration qui nous aident à approfondir l'étude des composés proposés dans cette étude tels que les propriétés drug-likeness. Dans le troisième chapitre, nous avons présenté la partie la plus importante de ce travail qui est le développement du protocole de Docking moléculaire par le logiciel MOE (version 2014) pour les inhibiteurs proposés. L'amarrage moléculaire a été réalisé sur une série de 118 composés pour prédire l'affinité de chaque composé avec la cible 6LU7. Par conséquent, par rapport au score L_{ref} ($S = -7,7903$ kcal/mol), neuf composés ont été décrits comme de meilleurs inhibiteurs car ils ont des valeurs de score inférieur (de $-8,66$ Kcal à $-7,80$ kcal/mol) et cela qualifie ces composés d'être plus stable et avoir une affinité plus élevée pour l'enzyme 6LU7 que pour la référence (N3). Ces résultats ont été confirmés par l'analyse visuelle des schémas réactionnels montrant la présence d'interactions hydrophobes et cela les a rendus plus stables.

Les composés L3, L7, L84, L85, L87, L90, L108, L110, L115 présentaient de fortes liaisons avec les résidus dans le site actif, ils formaient des liaisons H avec les résidus Gln189, Cys 145 et His41. Ils interagissent avec les résidus hydrophiles Glu166, Thr 24, Thr 25 et Thr26.

Pour approfondir nos recherches, nous avons mené une autre étude pour évaluer les propriétés médicamenteuses des neuf composés récupérés. Cela se fait selon les règles : Lipinski, Veber. On peut voir que les composés 84, 85, 87 et 90 respectent la règle de Lipinski (où toutes les valeurs de logP sont <5 , poids moléculaire <500 , HBA ≤ 10 et HBD <5), ainsi que la règle de Veber.

Cette évaluation nous a permis de constater que les quatre composés avaient une bonne biodisponibilité orale parmi les neuf composés.

| *Conclusion Générale*

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que les quatre composés sont les meilleurs inhibiteurs pour ralentir la progression du sars cov2 et peuvent être proposés comme nouveaux médicaments.

Annexe

Les Interaction entre les ligands
et les résidus de site actif pour
l'enzyme 6lu7

Abstract

The rapid spread of the novel corona virus (SARS-CoV-2) as a serious threat to the world public health is in dire need of finding potential therapeutic agents. Main protease (Mpro) is one of the vital drug targets amongst all the corona viruses, as the protein is indispensable for virus. Natural compounds are widely recognized as valuable source of antiviral drugs due to their structural diversity and safety. In this study, we used the molecular docking strategy to study the interactions of 118 natural compounds having antiviral properties (anti-HIV) with corona virus-targeted Mpro protein using the MEO our study revealed that 9 molecules having the highest affinity scores compared to the reference molecules N3, with docking scores ranging from (from -8.66 kcal to -7.80 kcal / mol). The drug likeness properties were also determined for the selected compounds. This study results in the identification that four compounds 84, 85, 87 and 90 comply with the rule of Lipinski as well as the Veber rule. These molecules may emerge as a promising ligand against SARS-CoV-2 and thus needs further detailed investigations.

Keywords: SARS-CoV-2; Inhibitor; Mpro; Molecular Docking ;Lipinski ;Veber.

Résumé

La propagation rapide du nouveau coronavirus (SARS-COV-2) comme une menace sérieuse pour la santé publique mondiale a besoin de trouver des agents thérapeutiques potentiels. La protéase principale (Mpro) est l'une des cibles de médicament vitales parmi tous les coronavirus, car la protéine est indispensable pour le virus. Les composés naturels sont largement reconnus comme source de drogues antivirales en raison de leur diversité structurelle et de leur sécurité. Dans cette étude, nous avons utilisé la stratégie de Docking moléculaire pour étudier les interactions de 118 composés naturels ayant des propriétés antivirales (anti-VIH) avec Mpro ciblée de coronavirus en utilisant le programme MEO, Notre étude a révélé que 9 molécules ayant des scores d'affinité les plus élevées par rapport ligand de référence N3, avec des scores de Docking allant de (-8,66 kcal à -7,80 kcal / mol). Aussi nous avons déterminé les propriétés drug likeness pour les composés sélectionnés. Cette étude entraîne l'identification de quatre composés 84, 85, 87 et 90 conformément à la règle de Lipinski ainsi que la règle Veber. Nous avons montré que ces quatre composés présentent un intérêt comme point de départ pour la conception des inhibiteurs Mpro SARS-CoV-2. Les composés peuvent être évalués pour leurs activités inhibitrices à l'aide des techniques expérimentales.

Mots-clés: SARS-CoV-2; Inhibitor; Mpro; Molecular Docking;Lipinski ;Veber.