

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



# MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la Matière

Chimie

Chimie pharmaceutique

Réf. : Entrez la référence du document

---

Présenté et soutenu par :

**Karoui Mekka Charifa**

Le : 19/06/2023

## Etude des interactions dans l'inhibition de la protéase NS3/4A du virus de l'hépatite C par Docking moléculaire

---

### Jury :

Dr.	Ouassaf Mebarka	M.C.A	Université Mohamed Khider de Biskra	Rapporteur
Dr.	Youcef Oumhani	M.C.B	Université Mohamed Khider de Biskra	Présidente
Dr.	Almi Imane	M.C.B	Université Mohamed Khider de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2022/2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## Remerciements

C'est grâce à Dieu " الله "le tout puissant qui m'a donné et le courage et la volonté pour achever ce modeste mémoire. Mes plus sincères remerciements vont à mon encadreur

**Dr. Ouassaf Mebarka**, Pour avoir accepté de diriger ma mémoire de Mastère. Je lui remercie vivement pour le temps qu'il a consacré pour ma mémoire.

Merci pour vos explications, pour vos conseils, pour votre patience et de me donner l'énergie positive.

Je remercie énormément **Dr. Youcef Oumhani** d'avoir acceptée de présider le jury de ma mémoire

Je remercie également **Dr. Almi Imane** d'avoir acceptée de juger mon travail.



# Dédicace

Je dédie ce travail à **mon père**, qui a toujours cru en moi et m'a encouragé à poursuivre mes rêves. A **Ma mère**, la perle rare, la flamme de ma vie pour sa tendresse infinie et ses sacrifices, à mes frères **Akram** et **Mohamed mohcen** et mes sœurs **Rachida**, **Ikram** et **Imane**. À toute ma famille et mes amis

**Mekka charifa**



# Résumé

La protéase NS3 du virus de l'hépatite C (VHC) et son activateur protéique NS4A jouent un rôle essentiel dans la conversion de la polyprotéine virale en ses protéines non structurales constitutives. Ainsi, le complexe NS3/4A représente une cible prometteuse pour la thérapie antivirale contre le VHC.

Dans cette étude visant à développer de nouveaux médicaments contre le virus de l'hépatite C, nous avons utilisé le logiciel MOE pour effectuer un criblage virtuel de 197 composés au niveau du site actif 4A92. Parmi ces composés, nous avons identifié 174 molécules présentant une affinité inférieure à celle du composé de référence F9K, dont le score était de -8.82 kcal/mol. Des serveurs web tels que SwissADME et ProTox II ont été utilisés pour prédire et analyser les propriétés de compatibilité avec les médicaments (DRUG-LIKENESS) ainsi que les paramètres pharmacocinétiques ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité).

Cette étude a permis l'identification de dix-sept composés (7, 13, 21, 30, 33, 34, 88, 93, 96, 103, 104, 137, 158, 165, 173, 182 et 183) conformes à la règle de Lipinski, parmi lesquels huit ne présentent aucun risque en termes de toxicité.

Pour confirmer la stabilité de ces huit composés, une simulation dynamique moléculaire a été réalisée. Les résultats ont démontré que ces complexes conservent leur intégrité structurelle et leur affinité avec la protéase NS3 du VHC.

Ces résultats constituent une base prometteuse pour le développement de nouveaux médicaments contre le virus de l'hépatite C.

**Mots clés:** protease, VHC, 4A92, Docking moléculaire, DRUG-LIKENESS, ADMET, Inhibiteurs.

# Abstract

The NS3 protease of the hepatitis C virus (HCV) and its protein activator NS4A are involved in the processing of the viral polyprotein into its constituent non-structural proteins. The NS3/4A complex is therefore an interesting target for antiviral therapy against HCV.

In this study, aimed at developing new drugs against hepatitis C virus, we used the MOE software to perform virtual screening of 197 compounds at the active site 4A92. We identified 174 compounds that showed lower affinity than the reference compound (F9K), which had a score of -8.82 kcal/mol. Web servers such as SwissADME and ProTox II were used to predict and analyze the drug-likeness and pharmacokinetic properties (ADMET - absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity).

This study led to the identification of seventeen compounds (7, 13, 21, 30, 33, 34, 88, 93, 96, 103, 104, 137, 158, 165, 173, 182, and 183) in accordance with Lipinski's rule, eight of which showed no toxicity risks.

To confirm the stability of these eight compounds, a molecular dynamics simulation was conducted. The results demonstrated that these complexes maintain their structural integrity and affinity with the NS3 protease of HCV.

These findings provide a promising basis for the development of new drugs against the hepatitis C virus.

**Keywords:** protease, HCV, 4A92, molecular docking, DRUG-LIKENESS, ADMET, Inhibitors.

## ملخص

يلعب البروتيناز NS3 لفيروس التهاب الكبد (HCV) C وبروتينه المنشط NS4A دورًا مهمًا في تحويل البروتين المتعدد الفيروسي إلى بروتيناته غير الهيكلية المكونة. وبالتالي، يمثل مجمع NS3 / 4A هدفًا واعدًا للعلاج المضاد للفيروسات ضد التهاب الكبد الوبائي. في هذه الدراسة التي تهدف إلى تطوير عقاقير جديدة ضد فيروس التهاب الكبد C، استخدمنا برنامج MOE لإجراء فحص افتراضي لـ 197 مركبًا في الموقع النشط 4. A92 من بين هذه المركبات، حددنا 174 جزيءًا تمثل تقاربًا أقل من المركب المرجعي F9K ، الذي كانت درجاته -8.82 كيلو كالوري / مول. تم استخدام خوادم الويب مثل SwissADME و ProTox II للتنبؤ بخصائص توافق الأدوية وتحليلها (DRUG-LIKENESS) بالإضافة إلى معلومات حركية الدواء) ADMET الامتصاص والتوزيع والتمثيل الغذائي والإفراز والسمية. (سمحت هذه الدراسة بتحديد سبعة عشر مركبًا (7، 13، 21، 30، 33، 34، 88، 93، 96، 103، 104، 137، 158، 165، 173، 182 و 183) وفقًا لقاعدة ليبينسكي ، ثمانية التي لا تشكل أي خطر من حيث السمية .

تم إجراء محاكاة ديناميكية جزيئية لتأكيد استقرارية هذه الثمانية مركبات. أظهرت النتائج أن هذه المجموعات تحتفظ بسلامة هيكلها وترابطها مع بروتيناز NS3 لفيروس التهاب الكبد C.

توفر هذه النتائج أساسًا واعدًا لتطوير عقاقير جديدة ضد فيروس التهاب الكبد C.

**كلمات مفتاحية:** بروتيناز ، فيروس التهاب الكبد C ، 4A92 ، تشابك جزيئي ، صفة الدواء ، ADMET ، مثبطات.

# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Introduction générale..... 1**

**Les références..... 3**

## **Chapitre I : Recherche bibliographique**

<b>1.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>4</b>
<b>2.</b>	<b>Définition l'hépatite virale.....</b>	<b>4</b>
<b>3.</b>	<b>Définition de l'hépatite C.....</b>	<b>5</b>
<b>4.</b>	<b>Caractéristiques et classification.....</b>	<b>6</b>
<b>5.</b>	<b>La structure.....</b>	<b>6</b>
<b>6.</b>	<b>Cycle cellulaire de VHC.....</b>	<b>8</b>
<b>6.1</b>	<b>Liaison cellulaire et entrée.....</b>	<b>9</b>
<b>6.2</b>	<b>Translation et traitement.....</b>	<b>9</b>



<b>6.3</b>	Réplication de l'ARN.....	<b>10</b>
<b>6.4</b>	Assemblage et libération du virus.....	<b>10</b>
<b>7.</b>	<b>Les Protéines virales.....</b>	<b>10</b>
<b>7.1</b>	Protéine structurale.....	<b>11</b>
<b>8.</b>	<b>Diagnostic de VHC.....</b>	<b>18</b>
<b>9.</b>	<b>Traitement.....</b>	<b>19</b>
<b>10.</b>	<b>Prévention.....</b>	<b>20</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>21</b>

## **Chapitre II : METHODES DE CRIBLAGE VIRTUEL IN SILICO**

<b>1.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>27</b>
<b>2.</b>	<b>Le criblage virtuel .....</b>	<b>27</b>
<b>3.</b>	<b>stratégies de criblage virtuel.....</b>	<b>27</b>
<b>4.</b>	<b>Le Docking moléculaire.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1</b>	Docking avec ligand rigide.....	<b>29</b>
<b>4.2</b>	Docking avec ligand flexible.....	<b>29</b>
<b>4.3</b>	Le Docking semi-flexible.....	<b>29</b>
<b>5.</b>	<b>Les outils du docking moléculaires.....</b>	<b>29</b>
<b>5.1</b>	Les récepteurs.....	<b>29</b>
<b>5.2</b>	Les ligands.....	<b>30</b>
<b>6.</b>	<b>Les interactions protéine – ligand.....</b>	<b>30</b>

6.1	Les interactions de Van Der Walls (VDW).....	30
6.2	Les liaisons hydrogènes.....	31
6.3	Les interactions électrostatiques.....	31
6.4	Les interactions hydrophobes.....	32
7.	<b>Les étapes de Docking moléculaire.....</b>	<b>33</b>
7.1	Le Docking.....	33
7.2	Le Scoring.....	34
8.	<b>Protocole de Docking.....</b>	<b>34</b>
9.	<b>les fonctionne de score.....</b>	<b>35</b>
9.1	Fonctions de score empiriques.....	35
9.2	Fonctions de score basées sur les champs de force.....	36
9.3	Fonctions << knowledge-based >>.....	36
9.4	Les fonctions consensus.....	36
10.	<b>Les paramètres de « DRUG-LIKINES ».....</b>	<b>37</b>
10.1	Règle de LIPINSKI .....	37
11.	<b>les propriétés ADME.....</b>	<b>33</b>
11.1	Absorption.....	38
11.2	La distribution.....	38
11.3	Métabolisme.....	38
11.4	L'élimination.....	39
11.5	La toxicité .....	40

<b>12.</b>	<b>La Dynamique moléculaire .....</b>	<b>40</b>
<b>12.1</b>	<b>Principe .....</b>	<b>41</b>
<b>12.2</b>	<b>Mise en œuvre d'un calcul de DM.....</b>	<b>41</b>
	<b>Les références.....</b>	<b>42</b>

### **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

<b>1.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>46</b>
<b>2.</b>	<b>Matériel.....</b>	<b>47</b>
<b>2.1</b>	<b>Micro-ordinateur.....</b>	<b>47</b>
<b>2.2</b>	<b>Banques (bases) de données et outils logiciels .....</b>	<b>47</b>
<b>2.2.1</b>	La banque de données sur les protéines « Protéine Data Bank (PDB) ».....	47
<b>2.2.2</b>	Swisse ADME.....	48
<b>2.2.3</b>	Binding DB.....	48
<b>2.2.4</b>	ProTox-II .....	48
<b>2.2.5</b>	MOE (Molecular Operating Environment).....	49
<b>2.2.6</b>	BIOVIA Discovery Studio Visualiser.....	50
<b>3.</b>	<b>Méthodologie des calculs.....</b>	<b>51</b>
<b>3.1</b>	Préparation de la protéine.....	52
<b>3.2</b>	Détection de cavité.....	54
<b>3.3</b>	Préparation des ligands.....	55
<b>3.4</b>	Simulation de Docking moléculaire.....	56

3.5	Prédiction des propriétés moléculaires des ligands.....	57
3.6	Prédictions des propriétés ADMET.....	57
3.7	Simulation de dynamique moléculaire.....	57
4.	<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>58</b>
4.1	Résultats de Docking moléculaire.....	58
4.2	Etude les interactions enzyme-ligand.....	59
4.3	Discussion de Docking moléculaire.....	80
5.	<b>Résultats des propriétés moléculaires (Drug likeness).....</b>	<b>81</b>
5.1	Application de la règle de cinq (règle de Lipinski) .....	83
6.	<b>propriétés ADME.....</b>	<b>83</b>
7.	<b>la Toxicité.....</b>	<b>85</b>
8.	<b>Résultats de dynamique moléculaire.....</b>	<b>88</b>
	<b>Les références.....</b>	<b>97</b>
	<b>Conclusion générale.....</b>	<b>101</b>

## Annexes

# Liste des tableaux

## Chapitre I

<b>Tableau I.1</b>	Protéines virales et leurs fonctions dans le cycle de vie du VHC.	<b>10</b>
--------------------	---	-----------

## Chapitre III

<b>Tableau III.1</b>	présentant les caractéristiques de l'ordinateur utilisé	<b>47</b>
<b>Tableau III.2</b>	Propriétés d'enzyme 4A92.	<b>53</b>
<b>Tableau III.3</b>	les propriétés de la cavité choisie (site actif) de l'enzyme 4A92.	<b>55</b>
<b>Tableau III.4</b>	Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 4A92 avec les ligands Etudiés	<b>59</b>
<b>Tableau III.5</b>	Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE	<b>59</b>
<b>Tableau III.6</b>	les interactions des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 4A92.	<b>60</b>
<b>Tableau III.7</b>	Interactions entre le ligand de réf et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92.	<b>66</b>
<b>Tableau III.8</b>	Interactions entre le ligand 96 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92	<b>68</b>
<b>Tableau III.9</b>	Interactions entre le ligand 33 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92	<b>70</b>
<b>Tableau III.10</b>	Interactions entre le ligand 183 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92.	<b>73</b>
<b>Tableau III.11</b>	Interactions entre le ligand 182 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92	<b>76</b>
<b>Tableau III.12</b>	Interactions entre le ligand 182 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92	<b>79</b>

<b>Tableau III.13</b>	Résultats d'application de la Règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs de 4A92.	<b>81</b>
<b>Tableau III.14</b>	Propriétés ADME des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 4A92.	<b>83</b>
<b>Tableau III.15</b>	les résultats de la toxicité.	<b>86</b>

# Liste des Figures

## Chapitre I

<b>Figure I.1</b>	Le virus de l'hépatite C connaît une forte croissance depuis 2010.	<b>4</b>
<b>Figure I.2</b>	Cirrhose.	<b>5</b>
<b>Figure I.3</b>	Classification et attribution des génotypes/sous-types du VHC.	<b>6</b>
<b>Figure I.4</b>	Structure du pro-virion du VHC.	<b>7</b>
<b>Figure I.5</b>	Organisation génomique du VHC.	<b>8</b>
<b>Figure I.6</b>	Cycle Viral du VHC.	<b>9</b>
<b>Figure I.7</b>	Unité asymétrique de la protéine E1 (PDB ID : 4UOI).	<b>12</b>
<b>Figure I.8</b>	Représentation spatiale de la protéine enveloppée E2 (PDB ID : 4WEB).	<b>12</b>
<b>Figure I.9</b>	Structure RMN de l'hexamère p7 (PDB ID : 2M6X).	<b>13</b>
<b>Figure I.10</b>	Ensemble RMN de la protéine NS3 (PDB ID : 2JY0).	<b>13</b>
<b>Figure I.11</b>	Complexe peptide NS4A : domain protéase NS3 du HCV (PDB ID : 1A1R).	<b>14</b>
<b>Figure I.12</b>	Structure RMN de la protéine non structurale AB du VHC, NS4B (1-40). (PDB ID : 2LVG)	<b>15</b>
<b>Figure I.13</b>	Forme dimérique de la protéine du domaine I de la NS5A du VHC (PDB ID : 3FQQ).	<b>15</b>
<b>Figure I.14</b>	Monomère de la polymérase NS5B du virus de l'hépatite C (PDB ID : 3FQK).	<b>16</b>
<b>Figure II.15</b>	les deux grandes stratégies de criblage virtuel (LBVS/SBVS).	

## Chapitre II

<b>Figure II.1</b>	Les deux grandes stratégies de criblage virtuel (LBVS/SBVS)	<b>28</b>
<b>Figure II.2</b>	l'interaction de VDW.	<b>31</b>
<b>Figure II.3</b>	la liaison hydrogène.	<b>31</b>
<b>Figure II.4</b>	Les interactions électrostatiques.	<b>32</b>
<b>Figure II.5</b>	Les interactions hydrophobes	<b>33</b>
<b>Figure II.6</b>	Simulation du Docking et Scoring.	<b>34</b>
<b>Figure II.7</b>	Schéma du protocole général de docking.	<b>35</b>
<b>Figure II.8</b>	Sites d'absorption, Distribution, métabolisme, Excrétion.	<b>37</b>
<b>Figure II.9</b>	Les deux phases de métabolisme.	<b>39</b>
<b>Figure II.10</b>	Représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme.	<b>39</b>
<b>Figure II.11</b>	Facteurs de toxicité responsables de l'échec des candidats médicaments lors des études toxicologiques.	<b>40</b>

## Chapitre III

<b>Figure III.1</b>	interface du site protéine Data Base.	<b>48</b>
<b>Figure III.2</b>	L'interface du site ProTox-II.	<b>49</b>
<b>Figure III.3</b>	L'interface du logiciel Moe 2014.	<b>50</b>
<b>Figure III.4</b>	L'interface du logiciel Discovery Studio Visualiser.	<b>51</b>
<b>Figure III.5</b>	Protocole de calcul	<b>51</b>
<b>Figure III.6</b>	La structure 3D de l'enzyme 4A92 préparé	<b>52</b>



<b>Figure III.7</b>	La structure chimique du ligand Co-cristallisé (F9K)	<b>53</b>
<b>Figure III.8</b>	la cavité choisie de l'enzyme 4A92.	<b>55</b>
<b>Figure III.9</b>	Interactions entre le ligand de réf et l'enzyme 4A92	<b>65</b>
<b>Figure III.10</b>	Interactions entre le ligand 96 et les résidus de 4A92 (A/2D, B/3D)	<b>67</b>
<b>Figure III.11</b>	le complexe 96-4A92	<b>68</b>
<b>Figure III.12</b>	Interactions entre le ligand 33 et les résidus de 4A92 (A/2D, B/3D)	<b>69</b>
<b>Figure III.13</b>	le complexe 33-4A92	<b>71</b>
<b>Figure III.14</b>	Interactions entre le ligand 183 et les résidus de 4A92 (A/2D, B/3D).	<b>72</b>
<b>Figure III.15</b>	le complexe 183-4A92	<b>74</b>
<b>Figure III.16</b>	Interactions entre le ligand 182 et les résidus de 4A92 (A/2D, B/3D).	<b>75</b>
<b>Figure III.17</b>	le complexe 182-4A92.	<b>77</b>
<b>Figure III.18</b>	Interactions entre le ligand 33 et les résidus de 4A92 (A/2D, B/3D).	<b>78</b>
<b>Figure III.19</b>	le complexe 33-4A92	<b>79</b>
<b>Figure III.20</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 13-4A92 en fonction de temps	<b>89</b>
<b>Figure III.21</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 33-4A92 en fonction de temps.	<b>90</b>
<b>Figure III.22</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 30-4A92 en	<b>91</b>

fonction de temps.

<b>Figure III.23</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 88-4A92 en fonction de temps.	<b>92</b>
<b>Figure III.24</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 89-4A92 en fonction de temps	<b>93</b>
<b>Figure III.25</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 96-4A92 en fonction de temps.	<b>94</b>
<b>Figure III.26</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 103-4A92 en fonction de temps	<b>95</b>
<b>Figure III.27</b>	évaluation de l'énergie potentielle de complexe 182-4A92 en fonction de temps.	<b>96</b>

# Liste des abréviations

**2D** : Deux dimensions.

**3D** : Trois dimensions

**Å** : Ångstrom.

**ADMET** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination, Toxicité.

**ASP** : Acide Aspartique.

**ALA** : Alanine.

**ARN** : Acide ribonucléique

**ARG** : Arginine

**BBB** : Blood-Brain Barrier (barrière hémato-encéphalique).

**CYP** : L'enzyme CYtochromes P 450.

**CYS** : Cystéine.

**D°** : Daltons

**DM** : Dynamique moléculaire.

**GI** : Gastro Intestinale

**GLN** : Glutamine.

**GLY** : Glycine.

**GLU** : Acide Glutamique.

**HTS**: High Throughput Screening.

**HIS**: Histidine.

**Kp** : Coefficient de perméabilité cutanée.

**LD50** : La dose létale médiane.

**LBVS**: Ligand-based virtual screening.

**LEU** : Leucine.

**LYS**: Lysine.

**MOE**: Molecular Operating Environment.

**mol** : mole

**MMFF94x** : Champ de force.

**MET** : Méthionine

**NV** : Nombre de Violation

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé.

**PDB** : La banque de données.

**P-gp** : Glycoprotéine P.

**PHE** : Phénylalanine.

**PM** : Poids Moléculaire.

**PS** : Pico Second.

**QSAR** : Relation structure – activité quantitative.

**RMN**: Résonance magnétique nucléaire.

**RMSD**: Root Mean Square Deviation.

**SBVS**: Structure-based virtual screening.

**SMILE**: Simplified Molecular-Input Line-Entry.

**VAL** : Valine

**VDW** : Van Der Waals.

**VHC** : Virus hépatite C.

INTRODUCTION

GENERALE

---

## *Introduction générale*

---

L'infection par le virus de l'hépatite C est un problème de santé publique et l'une des principales causes de maladie du foie [1], la gravité de cette infection réside dans son évolution chronique et le développement d'une cirrhose ou d'un cancer du foie [2]. Selon les statistiques de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), il y a plus de 58 millions de cas d'hépatite chronique dans le monde, dont 200 000 en provenance d'Algérie, et il y a environ 1,5 million de nouveaux cas d'infection chaque année. Environ 3,2 millions d'adolescents et d'enfants. [3] En 2019, environ 290 000 personnes sont décédées de l'hépatite C, la cause de décès la plus fréquente étant la cirrhose ou le carcinome hépatocellulaire [3].

La protéase NS3/4A est une enzyme essentielle dans le cycle de réplication du virus de l'hépatite C, qui est responsable du clivage de la poly protéine protéique virale en une variété de protéines fonctionnelles, de sorte que le virus puisse se répliquer et se propager *in vivo*. En tant que cible thérapeutique, la protéase NS3/4A est un domaine d'intérêt pour le développement de médicaments anti-VHC à action directe. Dans cette étude, on examinera les interactions impliquées dans l'inhibition de la protéase NS3/4A et discutera des implications de ces résultats pour le développement de nouveaux traitements contre l'hépatite C [4].

La modélisation moléculaire peut être considérée comme une série de techniques informatisées basées sur des méthodes chimiques théoriques et des données expérimentales. Elle permet d'analyser les molécules et les systèmes moléculaires, ainsi que de prédire leurs propriétés moléculaires, chimiques et biochimiques [5]. Ces techniques sont généralement nécessaires lorsque l'expérience réelle est trop difficile, trop dangereuse, trop coûteuse, trop longue, trop rapide, éthiquement inacceptable ou même impossible à réaliser. La modélisation moléculaire permet non seulement de développer des mécanismes de complexation et des distributions d'énergie, mais aussi de démontrer et de prédire les conformations les plus stables ainsi que les interactions existantes entre les enzymes et les ligands.

Les méthodes de modélisation moléculaire, telles que le docking (amarrage) et la dynamique moléculaire, sont extrêmement utiles en biologie, en pharmacie et en médecine. Cela est dû au fait que la plupart des principes actifs sont de petites molécules, appelées ligands, qui interagissent avec des cibles biologiques d'intérêt thérapeutique, généralement des protéines (récepteurs), afin de modifier le mécanisme d'action de la protéine [6].

---

## *Introduction générale*

---

Le but de mon travail est d'étudier les interactions qui existent entre une série de 197 molécules et l'enzyme 4A92 en combinant deux méthodes : le docking moléculaire et la dynamique moléculaire.

La présentation générale du travail sera la suivante :

1. Introduction générale : Cette section fournira une description de l'hépatite et expliquera l'objectif de mon travail.
2. Chapitre 1 : Informations générales sur l'hépatite C et la protéase NS3/4A. Cette partie donnera un aperçu de l'hépatite C en tant que maladie et présentera la protéase NS3/4A en tant que cible thérapeutique.
3. Chapitre 2 : Méthodes de modélisation moléculaire. Ce chapitre se concentrera sur les différentes méthodes utilisées dans la modélisation moléculaire, en mettant l'accent sur le docking moléculaire et la dynamique moléculaire. Il expliquera les principes de ces méthodes et leur utilisation dans l'étude des interactions moléculaires.
4. Chapitre 3 : Résultats et discussion. Cette section présentera les principaux résultats de mon étude, en mettant en évidence les interactions identifiées entre les 197 molécules et l'enzyme 4A92. Les résultats seront discutés en fonction de leur pertinence pour le traitement de l'hépatite C.
5. Conclusion générale : Cette partie résumera les principales conclusions de mon travail et mettra en évidence les perspectives futures de recherche dans ce domaine.

En suivant cette structure, j'espère pouvoir présenter de manière claire et organisée les résultats de mon étude sur les interactions entre les molécules et l'enzyme, tout en fournissant des informations contextuelles pertinentes sur l'hépatite C.



### **Les références :**

- [1] Shen, H. (2012). Hepatitis C infection models. Thèse de doctorat. Paris 5.
- [2] Krati, K., Cherquaoui, H., Oubaha, S., et al. (2015). Les hémodialysés HVC sont-ils vraiment des patients difficiles à traiter?. Pan African Medical Journal,22(1).
- [3] World Health Organization. (n.d.). Hepatitis C Fact Sheet. Retrieved from <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>.
- [4] Sali, D. L., Ingram, R., Wendel, M., et al. (1998). Serine protease of hepatitisC virus expressed in insect cells as the NS3/4A complex. Biochemistry,37(10), 3392-3401.
- [5] Höltje, H.-D., & Folkeis, G. (1997). Molecular Modeling: Basic Principles and Applications. VCH.
- [6] Kitchen, D.-B., Decornez, H., Furr, J.-R., et al. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. NatureReviews Drug Discovery, 3, 935-949.

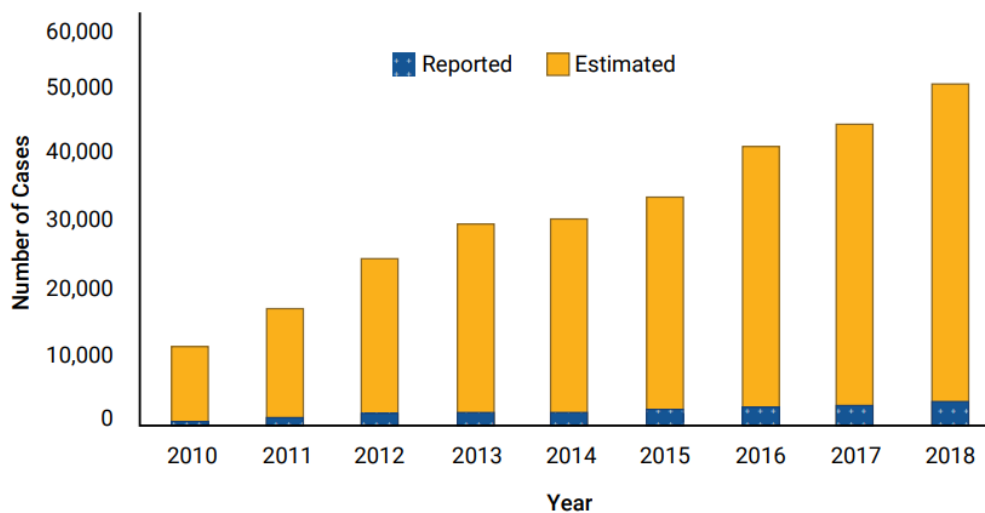
Chapitre I :  
Recherche  
bibliographique

## Chapitre I : Recherche bibliographique

### 1. Introduction

Au cours des siècles passés, l'humanité a été confrontée à de nombreuses infections et propagations virales à travers le monde, entraînant des pertes traumatisantes en vies humaines et en ressources [1].

L'hépatite virale C (VHC) est une maladie infectieuse causée par le virus de l'hépatite C. Selon les rapports et les études disponibles, la tendance générale de la progression des cas de VHC varie d'un pays à l'autre. Dans certains pays, on a observé une augmentation des cas, tandis que dans d'autres, une diminution a été constatée grâce à la mise en place de programmes de prévention, de dépistage et de traitement [2-5]. Les Etats-Unis d'Amérique ont estimé à environ 50000 le nombre de cas en 2018, sans compter que les hépatites B et C continuent de provoquer 1,1 million de décès par an en raison de maladies chroniques du foie et de cancers [6,7], La figure suivante montre la progression des cas de VHC entre 2010 et 2018.



**Figure I.1:** Le virus de l'hépatite C connaît une forte croissance depuis 2010

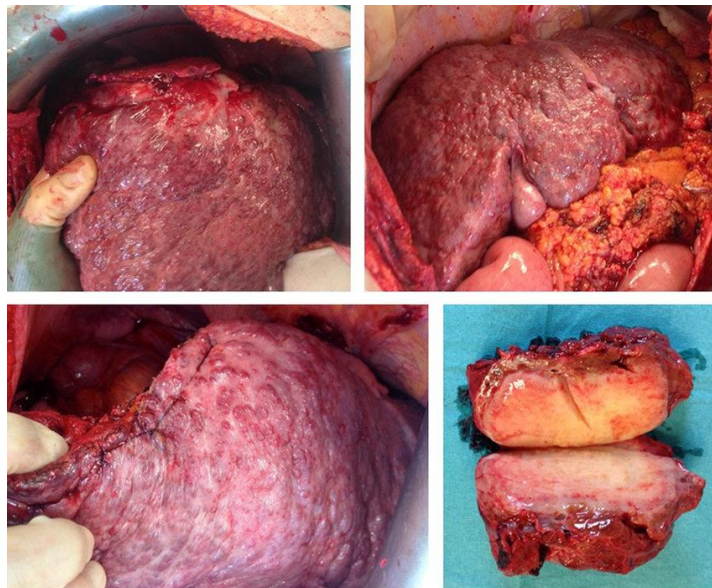
### 2. Définition l'hépatite virale

Une hépatite virale est définie comme étant un processus inflammatoire du foie lié à un virus. Actuellement, cinq virus sont connus comme étant les agents étiologiques d'une hépatite

: les virus des hépatites A à E (virus hépatite A (**VHA**), virus hépatite B (**VHB**), virus hépatite C (**VHC**), virus hépatite D ou Delta (**VHD**), virus hépatite E (**VHE**). Tous ces virus induisent une hépatite aiguë [8]. Les virus **B**, **C** et **D** provoquent des hépatites qui guérissent parfois spontanément en phase aiguë, mais qui peuvent devenir chroniques. Les hépatites **A** ou **E** ne deviennent jamais chroniques. Dans certains cas, l'hépatite peut être grave. [9,10]

### **3. Définition de l'hépatite C**

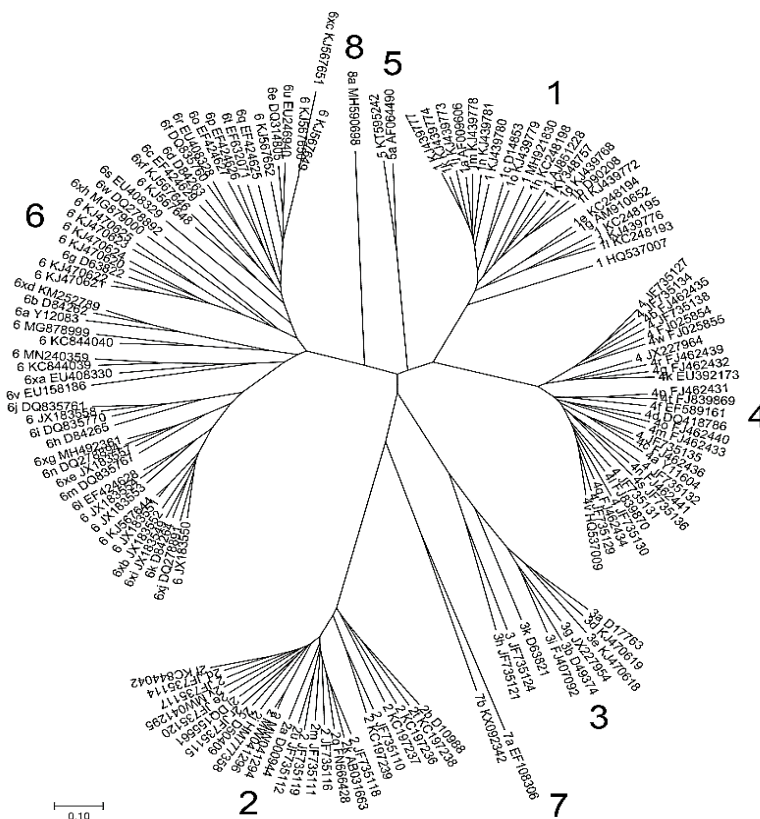
Après la découverte du virus de l'hépatite B (**VHB**) en **1968** puis du virus de l'hépatite A (**VHA**) en **1973**, l'existence d'un autre agent transmissible responsable d'hépatite post-transfusionnelle dite « non-A, non-B » fut envisagée dès **1975**. En **1989**, grâce à une collaboration entre Houghton et D.Bradley, un clone a été identifié par technique de clonage moléculaire [11]. Le virus de l'hépatite C (**VHC** : virus de l'hépatite C) est responsable de lésions hépatiques de sévérité variable d'un individu à l'autre, pouvant évoluer lentement vers une cirrhose puis un adénocarcinome hépatique [12]. Le virus de l'hépatite C est transmis par le sang et les modes d'infection les plus fréquents résultent de l'exposition à de petites quantités de sang, se produisant lors de la consommation de drogues injectables, des injections à risque [13].



**Figure I.2: Cirrhose**

#### 4. Caractéristiques et classification

Le virus de l'hépatite C (VHC) est un virus enveloppé à ARN à brin positif classé dans le genre Hepacivirus au sein de la famille des Flaviviridae. La famille des Flaviviridae comprend le virus de la fièvre jaune, le virus du Nil occidental et le virus de la dengue. Les particules du VHC sont sphériques et de taille hétérogène, leur diamètre étant généralement compris entre 40 et 80 nm. Sept génotypes et 84 sous-types du VHC ont été reconnus en 2014 [14-16]. Actuellement, il existe 8 génotypes et 93 sous-types selon le Comité international de taxonomie des virus : ICTV comme illustré dans la **figure I.3** [17].



**Figure I.3:** Classification et attribution des génotypes/sous-types du VHC

#### 5. La structure

Le VHC est un petit virus enveloppé de **55 à 65 nm** de diamètre, l'enveloppe est constituée d'une double couche phospholipidique d'origine cellulaire dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines virales **E1 (gp31)** et **E2 (gp70)** organisées en hétérodimères. La capsids est composée de la protéine de core C (**p21**). Le génome est constitué d'une molécule

d'ARN monocaténaire, linéaire, non segmenté, de polarité positive, monocistronique, d'environ **9,6 kb** [18]. Le génome du **HCV** est subdivisé en trois régions [19, 20] :

1. Région 5' non codante : contient les séquences les plus conservées.
2. Cadre de lecture ouvert : sa traduction permet la synthèse d'une polyprotéine précurseur qui est clivée par des protéases virales et cellulaires => protéines virales structurales et non structurales
3. Région 3' non codante.

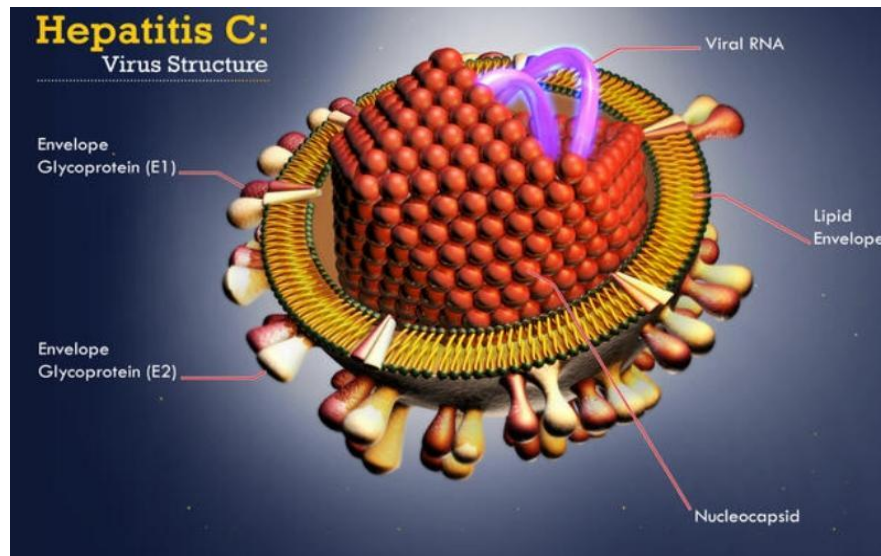


Figure I.4: Structure du pro-virion du VHC

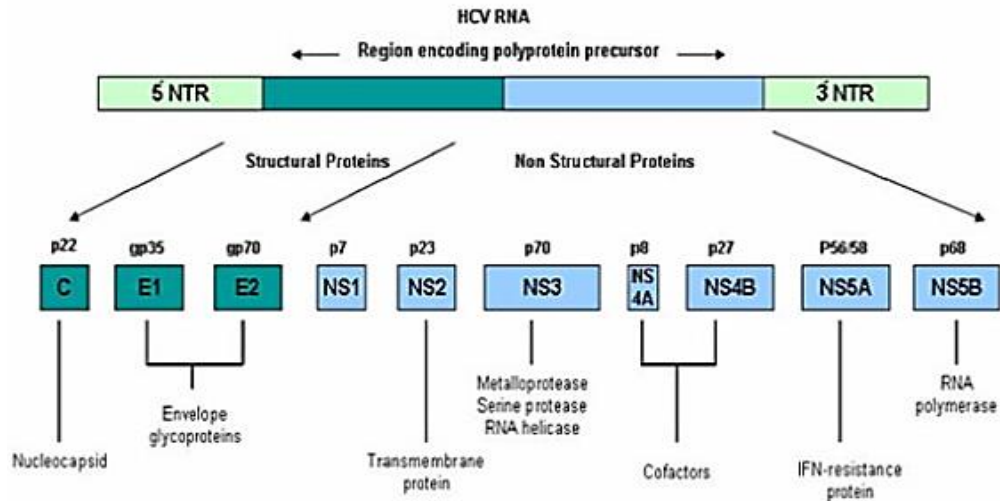


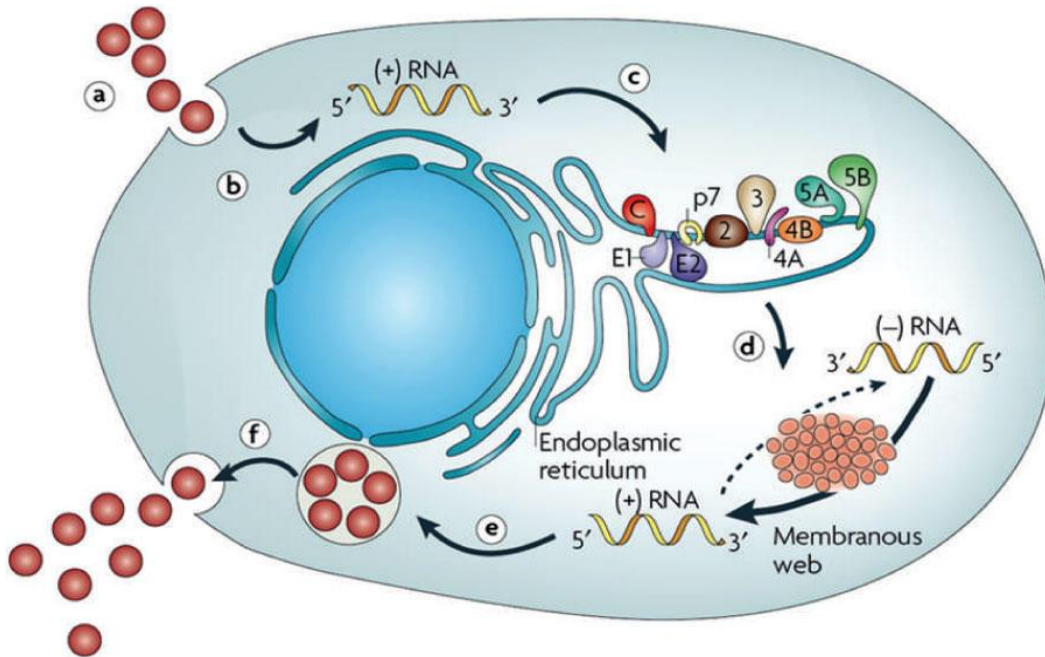
Figure I.5 : Organisation génomique du VHC

## 6. Cycle cellulaire de VHC

Le génome de l'ARN viral est couvert par une couche de nucléocapside et par les enveloppes glycoprotéiques E1 et E2. La réplication du VHC se produit principalement dans les hépatocytes, qui sont présents dans le foie [21, 22].

Le cycle de réplication du VHC peut être défini en quatre étapes principales :

1. Liaison cellulaire et entrée
2. Translation et traitement
3. Réplication de l'ARN
4. Assemblage et libération du virus.



**Figure I.6 :** Cycle Viral du VHC

### 6.1 Liaison cellulaire et entrée

Les particules de VHC circulant dans le sang d'une personne infectée peuvent être liées aux lipoprotéines ou aux immunoglobulines de l'hôte ou être présentes sous forme de particules de VHC libres [23]. Les lipoprotéines et les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 sont cruciales pour l'interaction entre le VHC et la cellule hôte [24]. Plusieurs protéines de l'hôte sont impliquées dans l'interaction entre le VHC et l'hôte et dans l'entrée ultérieure dans la cellule, qui a lieu par un processus d'endocytose. [25]

### 6.2 Traduction et traitement

À l'intérieur de la cellule, le génome ARN est libéré dans le cytoplasme, où la traduction se produit dans les ribosomes du réticulum endoplasmique (RE). La synthèse du génome du VHC code pour une polyprotéine de plus de 3 000 acides aminés, qui se clivera ensuite en dix protéines structurales et non structurales (NS) matures. Les protéines structurales et la protéine p7 sont traitées par la peptidase de signal du RE. Les protéines NS (NS2/3/4A/4B/5A/5B), quant à elles, sont traitées par des protéases virales. Ces protéines sont essentielles à la réussite de la réplication et à la formation ultérieure de nouvelles particules virales [23, 26].



### 6.3 Réplication de l'ARN

Après les clivages décrits en protéines matures, un complexe de réplication basé sur plusieurs protéines virales est formé sur la membrane du RE [22]. Un modèle, le brin d'ARN complémentaire de sens négatif, est d'abord synthétisé, puis l'ARN de sens positif est répliqué [25].

### 6.4 Assemblage et libération du virus

L'ARN positif nouvellement formé est successivement incorporé dans de nouvelles particules virales. L'assemblage des nouvelles particules virales n'est pas complètement compris, mais il a été suggéré que l'enveloppe virale est construite au niveau de la membrane ER. Enfin, on pense que les particules virales sont libérées par la voie sécrétoire [22, 25].

## 7. Les Protéines virales

Le code du génome du virus de l'hépatite C (VHC) est celui d'une seule polyprotéine. Cette polyprotéine de 3010 acides aminés est traitée par des protéases cellulaires et virales pour générer 10 polypeptides [23] (**Figure I.5**). Les protéines non structurales sont libérées de la polyprotéine après clivage par les protéases NS2-3 et NS3-4A du VHC, tandis que les protéines structurales sont libérées par la (les) peptidase(s) signal du réticulum endoplasmique (RE) de l'hôte [27]. Une transformation supplémentaire médiée par une peptidase de signal se produit également à l'extrémité C-terminale de la protéine de la capsid [28]. Outre le grand cadre de lecture ouvert codant pour la polyprotéine, le génome du VHC contient un cadre de lecture +1 chevauchant qui peut conduire à la synthèse d'une protéine supplémentaire [29].

**Tableau I.2** : Protéines virales et leurs fonctions dans le cycle de vie du VHC [30].

Protéine	Taille moléculaire	Fonction
<b>Noyau (Cœur)</b>	21 KDa	Liaison avec l'ARN ; nucléocapside
<b>E1</b>	31-35 KDa	Glycoprotéine d'enveloppe ; s'associe à E2
<b>E2</b>	70 KDa	Glycoprotéine d'enveloppe ; liaison avec les récepteurs ; association avec E1

<b>p7</b>	7 KDa	Canal ionique
<b>NS2</b>	21 KDa	Composant de la protéinase NS2-3
<b>NS3</b>	69 KDa	Domaine protéinique N-terminal ; domaine NTPase/hélicase C-terminal
<b>NS4A</b>	6 KDa	Cofacteur de la protéinase NS3-4A
<b>NS4B</b>	27 KDa	Induit des altérations de la membrane
<b>NS5A</b>	56-58 KDa	Phosphoprotéine
<b>NS5B</b>	68 KDa	ARN polymérase ARN-dépendante

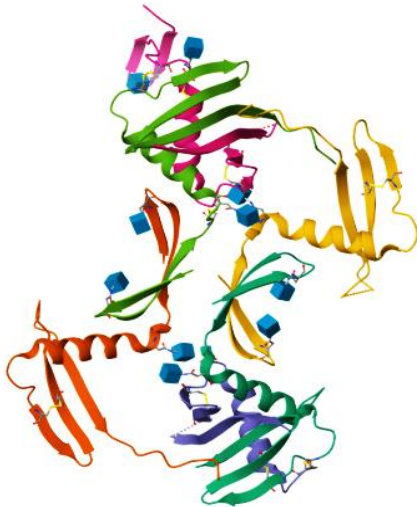
## 7.1 Protéine structurale

### Protéine du Cœur

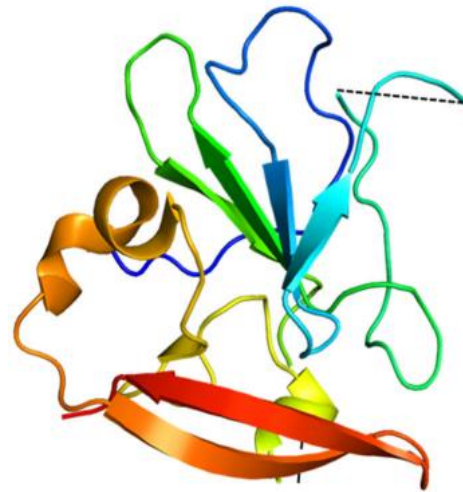
La protéine du noyau est une protéine de liaison à l'ARN qui est présumée forger la nucléocapside virale. Elle est séparée de la polyprotéine par une peptidase de signal de l'hôte au niveau de l'extrémité C-terminale, ce qui donne la forme immature de la protéine [31], et le peptide de signal présent à l'extrémité C-terminale de la protéine centrale est traité par une peptidase de signal de l'hôte, ce qui donne la forme mature de la protéine [28].

### Glycoprotéines E1 et E2

Les glycoprotéines du VHC, E1 et E2, sont libérées de la polyprotéine par un clivage de la peptidase signal de l'hôte [32]. Ce sont des protéines transmembranaires de type I avec un grand ectodomaine N-terminal et un domaine transmembranaire C-terminal, et elles s'assemblent en hétérodimères non covalents [33]. Les ectodomaines des glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 du VHC sont fortement modifiés par des glycanes liés à l'azote. En effet, E1 et E2 possèdent respectivement jusqu'à 6 et 11 sites de glycosylation potentiels, dont la plupart sont bien conservés [34, 35].



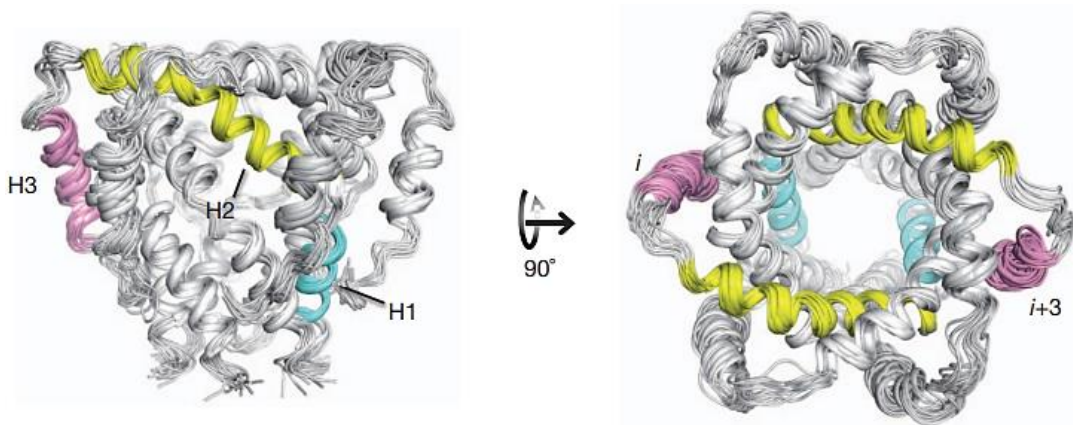
**Figure I.7:** Unité asymétrique de la protéine E1(PDB ID: 4UOI)



**Figure I.8 :** Représentation spatiale de la protéine enveloppée E2(PDB ID : 4WEB)

### Polypeptide p7

Le polypeptide p7 est une petite protéine membranaire polytopique composée de deux domaines transmembranaires dont les N- et C- terminaux sont orientés vers la lumière du RE [36]. L'extrémité C-terminale de p7 contient une séquence permettant de réinitialiser la translocation et, lorsqu'elle est fusionnée à une protéine rapporteuse, cette séquence fonctionne comme un peptide signal [36,37]. La double topologie membranaire de la p7, avec peu de résidus accessibles d'un côté ou de l'autre de la membrane, suggère que la p7 exerce probablement sa (ses) fonction(s) sur les structures membranaires. Lorsqu'elle est exprimée par des systèmes d'expression hétérologues, la p7 peut être trouvée en association avec les membranes du RE et/ou des mitochondries [36, 38, 39].

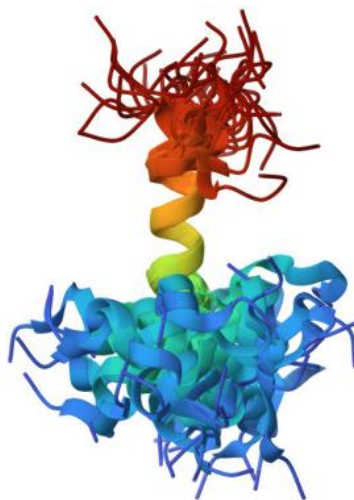


**Figure I.9** : Structure RMN de l'hexamère p7 (PDB ID :2M6X) [40]

## I.7.2 Protéine non-structurale

### Protéine NS2

La NS2 est une protéine membranaire intégrale qui n'est pas essentielle à la formation du complexe de réplication [41, 42]. La fonction de la NS2 dans sa forme mature est inconnue ; cependant, avant d'être clivée de la polyprotéine, la NS2 participe à une activité protéasique responsable du clivage à la jonction NS2/NS3 [43]. Les 180 premiers résidus de NS3 sont également nécessaires à ce clivage. En outre, l'enzyme NS2-3 a été décrite comme une cystéine protéinase [44]. La structure de NS2 révèle une cystéine protéase dimérique avec deux sites actifs composites [45].



**Figure I.10** : Ensemble RMN de la protéine NS3 (PDB ID : 2JY0)

### Protéines NS3 et NS4A

La NS3 est une protéine multifonctionnelle dotée d'un domaine protéase de type sérine en N-terminal et d'un domaine hélicase ARN/NTPase en C-terminal. Le domaine protéasique de la NS3 a un pli caractéristique de type chymotrypsine et est composé de deux domaines bêta-barrel [46, 47]. L'activité protéasique de la NS3 est stimulée par le cofacteur NS4A. En effet, NS4A apporte un brin bêta au domaine protéasique N-terminal et permet ainsi son repliement complet [46]. De plus, il provoque un changement de conformation qui conduit à un déplacement de la triade catalytique. La NS3 n'a pas de domaine transmembranaire, mais elle s'associe de façon non covalente avec le domaine central de la NS4A, qui est une protéine membranaire [30].



**Figure I.11** : Complexe peptide NS4A : domain protéase NS3 du HCV (PDB ID: 1A1R)

### Protéine NS4B

La protéine NS4B est une protéine non structurale fortement hydrophobe qui devrait contenir quatre domaines transmembranaires [48, 49]. Il a été précédemment démontré que la NS4B est palmitoylée dans la région C-terminale de la protéine [50]. Les N- et C-terminaux de la NS4B sont situés dans le cytosol ; cependant, une fraction du N-terminal peut également être trouvée dans le lumen du RE [49]. Une hélice amphipathique putative dans le N-terminus de la NS4B a été proposée comme médiateur de l'association avec la membrane [51].



**Figure I.12 :** Structure RMN de la protéine non structurale AB du VHC, NS4B(1-40) (PDB ID: 2LVG)

### Protéine NS5A

La NS5A est une protéine associée à la membrane qui contient une hélice alpha amphipathique unique à son extrémité N, qui sert d'ancrage dans le plan de la membrane [52, 53]. Comme la majorité des protéines du VHC, la NS5A est identifiée en association avec les membranes du RE ou des membranes dérivées du RE [52]. Outre sa séquence d'ancrage membranaire, la NS5A comporte trois domaines distincts séparés par des séquences de faible complexité (LC) I, II et III [54].

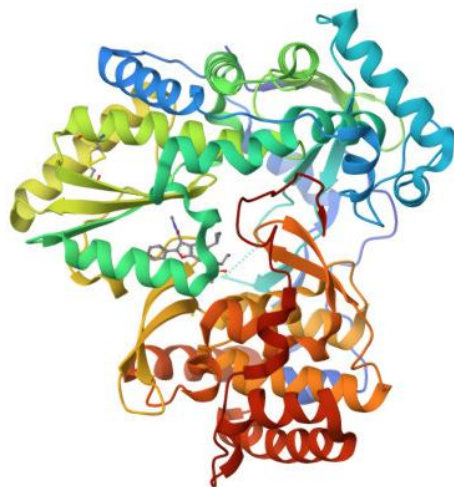


**Figure I.13 :** Forme dimérique de la protéine du domaine I de la NS5A du VHC (PDB ID : 3FQQ)

Il a été démontré que la NS5A se lie à l'ARN du VHC et plus spécifiquement aux extrémités 3' des ARN des strand plus et moins du VHC, avec une prédilection pour le tractus polypyrimidine dans la région 3' non traduite de l'ARN du strand positif [55]. Par ailleurs, la structure du domaine I de la NS5A fournit un cadre pour la conception rationnelle de petites molécules antivirales. Les deux autres domaines de la NS5A sont moins bien caractérisés. Il a été suggéré que le domaine II joue un rôle dans l'inhibition de la protéine kinase PKR activée par l'ARN double brin induit par l'interféron [56], et le domaine III est une région moins conservée, qui peut tolérer des insertions ou des délétions partielles [57,58].

### Protéine NS5B

La NS5B est une ARN polymérase ARN-dépendante, qui est le composant catalytique de la machinerie de réplication de l'ARN du VHC. Cette enzyme synthétise l'ARN en utilisant une matrice d'ARN. La NS5B peut initier la synthèse de l'ARN de novo, au moins in vitro, et on suppose que l'initiation de novo fonctionne également in vivo [59].



**Figure I.14** : Monomère de la polymérase NS5B du virus de l'hépatite C (PDB ID : 3FQK)

La structure cristalline du domaine catalytique de la NS5B montre un pli structural comparable à celui d'autres polymérases avec des sous-domaines palmaire, doigt et pouce [60, 61]. Le domaine palmaire contient le site actif de l'enzyme, tandis que les doigts et le pouce modulent l'interaction avec la chaîne d'ARN.

L'activité de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN semble être modulée par l'interaction avec d'autres protéines virales (NS3 et NS5A) [59]. Il a été démontré que la cyclophiline B, une peptidyl-prolyl cis-trans-isomérase, interagit avec la région C-terminale de la NS5B et semble stimuler son activité de liaison à l'ARN [62].

## **8.Diagnostic de VHC**

Nous utilisons les tests susmentionnés pour déterminer si un patient risque de contracter l'hépatite C. [63-65]

1. Les symptômes de l'infection chronique par le VHC ne reflètent pas l'activité de la maladie, les signes déclarés sont (Fatigue - nausées - anorexie - myalgie - arthralgie - faiblesse - perte de poids). Les symptômes apparaissent généralement une fois que la cirrhose s'est développée.
2. L'examen physique permet de rechercher des signes de maladie chronique du foie (jaunisse, télangiectasie, gynécomastie, hépatomégalie, splénomégalie, circulation collatérale, ascite ou œdème).
3. Tests biochimiques pour détecter la présence de nécrose hépatique (concentrations de SGOT (Serumglutaminoxaloacetic transaminase) et SGPT (Serumglutamicpyruvic transaminase)) et de cholestase (concentrations de FA, bilirubine, et GGTP (gammaglutamylotranspeptidase)) et évaluer la fonction hépatique (temps de prothrombine, concentrations d'albumine).
4. Analyse PCR à l'aide de kits commerciaux tels que : Quantiplex HCV RNA v 2.0 (Bayer Diagnostics, Puteaux, France), CobasAmplacor HCV Monitor assay (COBAS v 2.0 Roche Diagnostics Systems), LCX ABBOTT point final), ABI-Prism p-7000 ABBOTT (temps réel) Si un test est utilisé, il doit être effectué pour surveiller la réponse au traitement.

## **9.Traitement**

Les traitements suivants [66] représentent les nouveaux traitements développés au cours des deux dernières décennies pour le VHC :

**Sofosbuvir** est un puissant inhibiteur pangénotypique de l'ARN polymérase NS5B qui présente une barrière élevée à la résistance et qui a été approuvé séparément par la Food and Drug Administration (FDA) sous le nom de Sovaldi en décembre 2013.



La posologie de **Viekira** est de deux comprimés d'**ombitasvir**, de **paritaprévir** et de **ritonavir** combinés, pris une fois par jour, et d'un comprimé de **dasabuvir** pris deux fois par jour. **Viekira XR** simplifie cette procédure en combinant les quatre médicaments en un seul comprimé (**dasabuvir 200 mg, ombitasvir 8,33 mg, paritaprévir 50 mg et ritonavir 33,3 mg**), mais exige que le patient prenne trois comprimés une fois par jour [67].

**Technivie** se compose uniquement de **150 mg de paritaprevir**, de **100 mg de ritonavir** et de **25 mg d'ombitasvir (PrO)** et est utilisé exclusivement pour le traitement des patients GT 4[68]. L'**ombitasvir** est un inhibiteur de la NS5A avec une activité antivirale pangénotypique, le **paritaprevir** est un inhibiteur de la sérine protéase NS3/4A et le **dasabuvir** est un inhibiteur non nucléosidique de la polymérase NS5B. Le **ritonavir** est un puissant inhibiteur des enzymes du cytochrome P450 (CYP) 3A4 utilisé en tant qu'amplificateur pharmacologique du **paritaprévir**, mais il n'a pas d'activité antivirale intrinsèque [67].

## 10. Prévention

Il n'existe pas de vaccin pour prévenir l'hépatite C. Le meilleur moyen de prévenir l'hépatite C est d'éviter les comportements susceptibles de propager la maladie, en particulier l'injection de drogues avec du matériel d'injection non stérile. L'hépatite C peut se propager lorsqu'une personne entre en contact avec le sang d'une personne infectée. L'injection de drogues est le mode de transmission le plus courant du VHC aux États-Unis. Pour les personnes qui s'injectent des drogues, les programmes de prévention communautaires, tels que les traitements assistés par médicaments et les programmes de distribution de seringues, peuvent réduire la transmission du VHC [69-71].

**Références bibliographiques**

- [1] European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis B. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2021. Stockholm: ECDC; 2022
- [2] Sroor, F. M., Khatab, T. K., Basyouni, W. M., & El-Bayouki, K. A. (2019). Synthesis and molecular docking studies of some new thiosemicarbazone derivatives as HCV polymeraseinhibitors. *Synthetic Communications*, 49(11), 1444-1456.
- [3] Lafridi, H., Almalki, F. A., Ben Hadda, T., Berredjem, M., Kawsar, S. M. A., Alqahtani, A. M., Esharkawy, E. R., Lakhrissi, B., & Zgou, H. (2023). In silico evaluation of molecular interactions between macrocyclic inhibitors with the HCV NS3 protease. Docking and identification of antiviral pharmacophore site. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 41(6), 2260–2273. <https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2029571>
- [4] Gholizadeh, M., Łapczuk-Romańska, J., Post, M., Komaniecka, N., Mazlooman, S. R., Kaderali, L., & Drożdżik, M. (2023). A Mixture Method for Robust Detection HCV Early Diagnosis Biomarker with ML Approach and Molecular Docking. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7207.
- [5] Elshemey, W., Ibrahim, I. M., Elfiky, A. A., & Elgohary, A. M. (2023). Prediction of HCV E2 association with the host-cell chaperone, GRP78. *Informatics in MedicineUnlocked*, 101257.
- [6] U.S. Department of Health and Human Services. Viral hepatitis national strategic plan for the United States: a roadmap to elimination (2021–2025). Washington, DC: US Department of Health and Human Services; 2020. <https://www.hhs.gov/sites/default/files/Viral-Hepatitis-National-Strategic-Plan-2021-2025.pdf> .accédé le 11/5/2023
- [7] World Health Organization. Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022–2030. Geneva, Switzerland: World Health Organization;

2022. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/full-final-who-ghss-hiv-vh-sti\\_1-june2022.pdf?sfvrsn=7c074b36\\_1](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/full-final-who-ghss-hiv-vh-sti_1-june2022.pdf?sfvrsn=7c074b36_1) .accédé le 11/5/2023
- [8] Mario R, (2002) :Hépatologie Clinique , Paris : Flammarion, Edition 2, 2148p (P827-954)
- [9] Bihl, F., and F. Negro. (2009). Chronic hepatitis E in the immunosuppressed: a new source of trouble? *Journal of Hepatology*. 50:435-437
- [10] De Niet, A., H.L. Zaaijer, I. Ten Berge, C.J. Weegink, H.W. Reesink, and U. Beuers. (2012). Chronic hepatitis E after solid organ transplantation. *Netherlands Journal of Medicine*.70:261-266
- [11] Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-Bviral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-362.
- [12] Organisation mondiale de la santé (OMS) 2022. Rapport mondial sur l'hépatite C. Genève, lien : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c> . accédé le 5/12/2023
- [13] Lavanchy, D. (2011). Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clinicalmicrobiology and infection*, 17(2), 107-115.
- [14] Catanese MT, Uryu K, Kopp M, et al. Ultrastructuralanalysis of hepatitis C virus particles. *Proc NatlAcadSci U S A*. 2013;110:9505-10
- [15] Dubuisson J, Cosset FL. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle: an update. *J Hepatol*. 2014;61:S3-S13
- [16] Lindenbach BD, Rice CM. The ins and outs of hepatitis C virus entry and assembly. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11:688-700
- [17] Table 1 - Confirmed HCV genotypes/subtypes (March 2022) CONFIRMED HCV GENOTYPES/SUBTYPES, lien:

- [https://ictv.global/sg\\_wiki/flaviviridae/hepacivirus/table1](https://ictv.global/sg_wiki/flaviviridae/hepacivirus/table1) . accédé le 12/5/2023
- [18] Clarke B. Molecular virology of hepatitis C virus. *J Gen Virol* 1997 ; 78 : 2397-2410
- [19] JM. Pawlotsky. « Flaviviridae-Virus de l'hépatite C et virus GB-C ». In : *Traité de virologie médicale*. Paris : Editions ESTEM, 2003. p. 699
- [20] Parvaiz, Fahed&Manzoor, Sobia&Tariq, Huma &Javed, Farakh& Fatima, Kaneez&Qadri, Ishtiaq. (2011). Hepatitis C Virus Infection: Molecular Pathways to Insulin resistance. *Virology journal*. 8. 474. 10.1186/1743-422X-8-474.
- [21] Hoofnagle, J. H. Course and Outcome. *Hepatology* 2002, 36, S21–S29
- [22] Bartenschlager, R.; Lohmann, V.; Penin, F. The Molecular and Structural Basis of Advanced Antiviral Therapy for Hepatitis C Virus Infection. *Nat. Rev. Microbiol.* 2013, 11, 482–496.
- [23] Penin, F.; Dubuisson, J.; Rey, F. a; Moradpour, D.; Pawlotsky, J.-M. Structural Biology of Hepatitis C Virus. *Hepatology* 2004, 39, 5–19.
- [24] Zeisel, M. B.; Felmlee, D. J.; Baumert, T. F. Hepatitis C Virus: From Molecular Virology to Antiviral Therapy. 2013, 369, 87–112.
- [25] Moradpour, D.; Penin, F.; Rice, C. M. Replication of Hepatitis C Virus. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007, 5, 453–463.
- [26] Bartenschlager, R.; Ahlborn-Laake, L.; Mous, J.; Jacobsen, H. Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 and NS4/5 Junctions. *J. Virol.* 1993, 67, 3835–3844.
- [27] Reed KE, Rice CM. Overview of hepatitis C virus genome structure, polyprotein processing, and protein properties. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000; 242: 55-84
- [28] McLauchlan J, Lemberg MK, Hope G, Martoglio B. Intramembrane proteolysis promotes trafficking of hepatitis C virus core protein to lipid droplets. *EMBO J* 2002; 21: 3980-3988

- [29] Branch AD, Stump DD, Gutierrez JA, Eng F, Walewski JL. The hepatitis C virus alternate reading frame (ARF) and its family of novel products: the alternate reading frame protein/ F-protein, the double-frameshift protein, and others. *SeminLiver Dis* 2005; 25: 105-117
- [30] Dubuisson J. (2007). Hepatitis C virus proteins. *World journal of gastroenterology*, 13(17), 2406–2415. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i17.2406>
- [31] Santolini E, Migliaccio G, La Monica N. Biosynthesis and biochemical properties of the hepatitis C virus core protein. *J Virol* 1994; 68: 3631-3641
- [32] Dubuisson J, Penin F, Moradpour D. Interaction of hepatitis C virus proteins with host cell membranes and lipids. *Trends CellBiol* 2002; 12: 517-523
- [33] Deleersnyder V, Pillez A, Wychowski C, Blight K, Xu J, Hahn YS, Rice CM, Dubuisson J. Formation of native hepatitis C virus glycoprotein complexes. *J Virol* 1997; 71: 697-704
- [34] Goffard A, Dubuisson J. Glycosylation of hepatitis C virus envelopeproteins. *Biochimie* 2003; 85: 295-301
- [35] Zhang M, Gaschen B, Blay W, Foley B, Haigwood N, Kuiken C, Korber B. Tracking global patterns of N-linked glycosylation site variation in highly variable viral glycoproteins: HIV, SIV, and HCV envelopes and influenza hemagglutinin. *Glycobiology* 2004; 14: 1229-1246
- [36] Carrère-Kremer S, Montpellier-Pala C, Cocquerel L, Wychowski C, Penin F, Dubuisson J. Subcellular localization and topology of the p7 polypeptide of hepatitis C virus. *J Virol* 2002; 76: 3720-3730
- [37] Carrère-Kremer S, Montpellier C, Lorenzo L, Brulin B, Cocquerel L, Belouzard S, Penin F, Dubuisson J. Regulation of hepatitis C virus polyprotein processing by signal peptidase involves structural determinants at the p7 sequence junctions. *J BiolChem* 2004; 279: 41384-41392

- [38] Griffin S, Clarke D, McCormick C, Rowlands D, Harris M. Signal peptide cleavage and internal targeting signals direct the hepatitis C virus p7 protein to distinct intracellular membranes. *J Virol* 2005; 79: 15525-15536
- [39] Griffin SD, Harvey R, Clarke DS, Barclay WS, Harris M, Rowlands DJ. A conserved basic loop in hepatitis C virus p7 protein is required for amantadine-sensitive ion channel activity in mammalian cells but is dispensable for localization to mitochondria. *J Gen Virol* 2004; 85: 451-461
- [40] OuYang, B., Xie, S., Berardi, M. et al. Unusual architecture of the p7 channel from hepatitis C virus. *Nature* **498**, 521–525 (2013). <https://doi.org/10.1038/nature12283>
- [41] Blight KJ, Kolykhalov AA, Rice CM. Efficient initiation of HCV RNA replication in cell culture. *Science* 2000; 290: 1972-1974
- [42] Lohmann V, Körner F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999; 285: 110-113
- [43] Lindenbach BD, Rice CM. Flaviviridae: The Viruses and Their Replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 991-1042
- [44] Pallaoro M, Lahm A, Biasiol G, Brunetti M, Nardella C, Orsatti L, Bonelli F, Orrù S, Narjes F, Steinkühler C. Characterization of the hepatitis C virus NS2/3 processing reaction by using a purified precursor protein. *J Virol* 2001; 75: 9939-9946
- [45] Lorenz IC, Marcotrigiano J, Dentzer TG, Rice CM. Structure of the catalytic domain of the hepatitis C virus NS2-3 protease. *Nature* 2006; 442: 831-835
- [46] Kim JL, Morgenstern KA, Lin C, Fox T, Dwyer MD, Landro JA, Chambers SP, Markland W, Lepre CA, O'Malley ET, Harbeson SL, Rice CM, Murcko MA, Caron PR, Thomson JA. Crystal structure of the hepatitis C virus NS3 protease domain

- complexed with a synthetic NS4A cofactor peptide. *Cell* 1996; 87: 343-355
- [47] Love RA, Parge HE, Wickersham JA, Hostomsky Z, Habuka N, Moomaw EW, Adachi T, Hostomska Z. The crystal structure of hepatitis C virus NS3 proteinase reveals a trypsin-like fold and a structural zinc binding site. *Cell* 1996; 87: 331-342
- [48] Hügler T, Fehrman F, Bieck E, Kohara M, Kräusslich HG, Rice CM, Blum HE, Moradpour D. The hepatitis C virus nonstructural protein 4B is an integral endoplasmic reticulum membrane protein. *Virology* 2001; 284: 70-81
- [49] Lundin M, Monné M, Widell A, Von Heijne G, Persson MA. Topology of the membrane-associated hepatitis C virus protein NS4B. *J Virol* 2003; 77: 5428-5438
- [50] Yu GY, Lee KJ, Gao L, Lai MM. Palmitoylation and polymerization of hepatitis C virus NS4B protein. *J Virol* 2006; 80: 6013-6023
- [51] Elazar M, Liu P, Rice CM, Glenn JS. An N-terminal amphipathic helix in hepatitis C virus (HCV) NS4B mediates membrane association, correct localization of replication complex proteins, and HCV RNA replication. *J Virol* 2004; 78: 11393-11400
- [52] Brass V, Bieck E, Montserret R, Wölk B, Hellings JA, Blum HE, Penin F, Moradpour D. An amino-terminal amphipathic alpha-helix mediates membrane association of the hepatitis C virus nonstructural protein 5A. *J BiolChem* 2002; 277: 8130-8139
- [53] Penin F, Brass V, Appel N, Ramboarina S, Montserret R, Ficheux D, Blum HE, Bartenschlager R, Moradpour D. Structure and function of the membrane anchor domain of hepatitis C virus nonstructural protein 5A. *J BiolChem* 2004; 279: 40835-40843
- [54] Tellinghuisen TL, Marcotrigiano J, Gorbalenya AE, Rice CM. The NS5A protein of hepatitis C virus is a zinc metalloprotein. *J BiolChem* 2004; 279: 48576-48587
- [55] Huang L, Hwang J, Sharma SD, Hargittai MR, Chen Y, Arnold JJ, Raney KD,

- Cameron CE. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A (NS5A) is an RNA-binding protein. *J BiolChem* 2005; 280: 36417-36428
- [56] Gale M, Blakely CM, Kwieciszewski B, Tan SL, Dossett M, Tang NM, Korth MJ, Polyak SJ, Gretch DR, Katze MG. Control of PKR protein kinase by hepatitis C virus nonstructural 5A protein: molecular mechanisms of kinase regulation. *MolCell Biol* 1998; 18: 5208-5218
- [57] Appel N, Pietschmann T, Bartenschlager R. Mutational analysis of hepatitis C virus nonstructural protein 5A: potential role of differential phosphorylation in RNA replication and identification of a genetically flexible domain. *J Virol* 2005; 79: 3187-3194
- [58] Moradpour D, Evans MJ, Gosert R, Yuan Z, Blum HE, Goff SP, Lindenbach BD, Rice CM. Insertion of green fluorescent protein into nonstructural protein 5A allows direct visualization of functional hepatitis C virus replication complexes. *J Virol* 2004; 78: 7400-7409
- [59] Bartenschlager R, Frese M, Pietschmann T. Novel insights into hepatitis C virus replication and persistence. *Adv Virus Res* 2004; 63: 71-180
- [60] Bressanelli S, Tomei L, Roussel A, Incitti I, Vitale RL, Mathieu M, De Francesco R, Rey FA. Crystal structure of the RNAdependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *Proc Natl AcadSci USA* 1999; 96: 13034-13039
- [61] Lesburg CA, Cable MB, Ferrari E, Hong Z, Mannarino AF, Weber PC. Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase from hepatitis C virus reveals a fully encircled active site. *Nat StructBiol* 1999; 6: 937-943
- [62] Watashi K, Ishii N, Hijikata M, Inoue D, Murata T, Miyanari Y, Shimotohno K. Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. *Mol Cell* 2005; 19: 111-122
- [63] Screening for hepatitis C virus infection in adults: recommendation statement. *Ann*



- Intern Med 2004; 140: 462.
- [64] Calonge N, Randhawa G. The meaning of the U.S. Preventive Services Task Force grade I recommendation: screening for hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 2004; 141: 718.
- [65] Alter MJ, Seeff LB, Bacon BR, et al. Testing for hepatitis C virus infection should be routine for persons at increased risk for infection. *Ann Intern Med* 2004; 141: 715.
- [66] Kish, T., Aziz, A., & Sorio, M. (2017). Hepatitis C in a New Era: A Review of Current Therapies. *P & T : a peer-reviewed journal for formulary management*, 42(5), 316–329.
- [67] Viekira Pak (ombitasvir, paritaprevir, ritonavir, and dasabuvir) prescribing information. North Chicago, Illinois: AbbVie Inc.; June 2016
- [68] Technivie (ombitasvir, paritaprevir, and ritonavir) prescribing information. North Chicago, Illinois: AbbVie; June 2016.
- [69] Krawczynski K, Alter MJ, Tankersley DL, et al. Effect of immunoglobulin on the prevention of experimental hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 1996; 173:822-8.
- [70] Centers for Disease Control. Recommendations for follow-up of health-care workers after occupational exposure to hepatitis C virus. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:603-6.
- [71] Alter, M. J., & Moyer, L. A. (1998). The Importance of Preventing Hepatitis C Virus Infection Among Injection Drug Users in the United States. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes & Human Retrovirology*, 18, S6–S10. doi:10.1097/00042560-199802001-00003

**Chapitre II :**  
**Méthodes de**  
**criblage**  
**virtuel in silico**

### **Chapitre II : METHODES DE CRIBLAGE VIRTUEL IN SILICO**

#### **1.Introduction :**

La modélisation moléculaire constitue une approche scientifique innovante et originale qui permet des simulations informatiques dans des domaines extrêmement divers (comme Le développement d'un nouveau médicament), aussi bien dans des domaines très fondamentaux que plus largement appliqués. Il s'appuie sur des modèles moléculaires théoriques et offre des possibilités de recherche extrêmement diverses, partant de l'interaction de petites molécules et son récepteur, la réaction chimique d'un ligand sur sa cible, ou l'analyse de la flexibilité d'un système biologique [1].

Il y a nombreuses méthodes sont utilisées, telles que la chimie quantique, la mécanique moléculaire, docking moléculaire et la dynamique moléculaire. Ils sont chargés de traiter de gros volumes de données produits et d'optimiser leur progression [2]

#### **2. Le criblage virtuel :**

Le criblage virtuel est la sélection in silico des meilleurs candidats médicaments qui agissent sur une protéine cible donnée [3]. Le criblage peut se faire in vitro, à la paillasse, mais son coût est très élevé plusieurs euros par composé testé. Multiplié par le nombre de composés ou ligands qui peuvent être synthétisés par les industries chimiques [4].

Effectivement cette technique permet de rapidement déceler des interactions potentielles avec une cible pour laquelle aucun test biochimique ou cellulaire n'est établi et l'élimination des composés supposés inactifs.

#### **3.stratégies de criblage virtuel :**

Il faut distinguer deux grandes stratégies de criblage virtuel (Figure II.1) :

##### **Criblage basé sur la structure de ligands (« ligand-based virtual screening » ou LBVS) :**

Les méthodes de criblage virtuel basées sur les ligands reposent sur la connaissance préalable de ligand ayant une activité sur la cible thérapeutique connue. Il sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « Hits » afin d'identifier d'autres composés similaires, présentent des caractéristiques d'activité communes [5]. Il faut cependant se méfier

des redondances entre plusieurs molécules actives lorsqu'elles appartiennent à une même série chimique, ou des séries chimiques très proches. Dans ce cas précis, les redondances observées sont généralement liées au squelette de la série et non pas aux propriétés impliquées dans l'activité. L'idéal est d'avoir des molécules structurellement différentes desquelles nous pouvons extraire des informations communes.

### Criblage virtuel basé sur la structure de la cible (« < structure-based virtual screening » ou SBVS) :

Conception de médicaments basée sur la structure utilise les interactions perçues au sein des complexes ligands-récepteurs pour générer des modèles de liaison et les utiliser dans la découverte et l'optimisation de nouveaux ligands bioactifs [6].

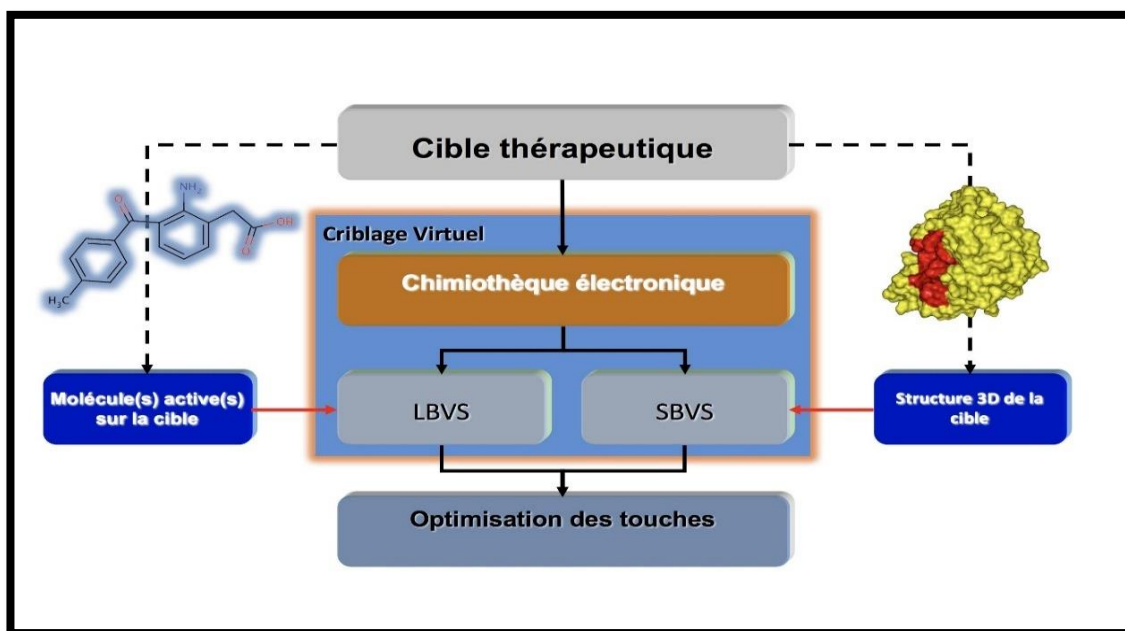


Figure II 1 : les deux grandes stratégies de criblage virtuel (LBVS/SBVS).

## 4. Le Docking moléculaire

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de Docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le

terme Docking seul est couramment employé pour désigner un « < Docking protéine-ligand > » [6]. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux.

On peut distinguer trois niveaux de Docking :

### **4.1 Docking avec ligand rigide :**

Le ligand et la protéine sont tous les deux considérés comme étant rigides. Seuls les 6 degrés de liberté de translation et rotation sont explorés pour le ligand, c'est à dire que le ligand peut subir des translations et des rotations dans chacune des trois dimensions [7]. Cette technique reflète le principe de la serrure et de la clé « lock and key » [8,9].

### **4.2 Docking avec ligand flexible :**

Lorsque les méthodes de docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du docking. La première étape correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver, parmi les conformations proposées, la conformation bioactive. Pendant la deuxième étape, une fonction de score évalue ces conformations [10].

### **4.3 Le Docking semi-flexible :**

Dans cette technique, le ligand est flexible afin d'explorer toutes ses conformations possibles, alors que la cible est maintenue rigide durant l'assemblage. Ce type de Docking présente, certes l'avantage de nécessiter un temps de calcul relativement court mais il ne tient pas compte des changements conformationnels requis par la cible [11].

## **5. Les outils du docking moléculaires :**

### **Les récepteurs :**

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures utilisés issues d'une base de données de structures appelée la Protéine Data Bank (PDB).

La PDB est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de

l'ensemble des règnes biologiques. La PDB est gratuitement accessible par Internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Elle contient plusieurs de milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie aux rayons X, soit par RMN [12].

### **Les ligands :**

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule dont la fonction chimique lui permet de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme ligand est le plus couramment utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique (une branche de la chimie inorganique). En biologie, un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule cible, protéine ou acide nucléique, et remplit généralement un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, régulation de l'activité enzymatique, transmission du signal. Le terme est largement utilisé dans la recherche sur les protéines pour désigner les molécules qui interagissent avec les protéines de manière non covalente et spécifique et jouent un rôle dans leur fonction [13].

### **6. Les interactions protéine - ligand :**

Au site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles [14].

#### **6.1 Les interactions de Van Der Walls (VDW) :**

Ce sont des interactions entre atomes, molécules, ou entre une molécule et un cristal. Ces interactions Van Der Walls s'appliquent à très courte distance (qui varie entre 2,2 et 4Å) et ne concernent donc que les atomes de surface. Les interactions de Van Der Walls sont des dipôles non permanents de faible rayon d'action (**FigureII.3**) Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice [15].

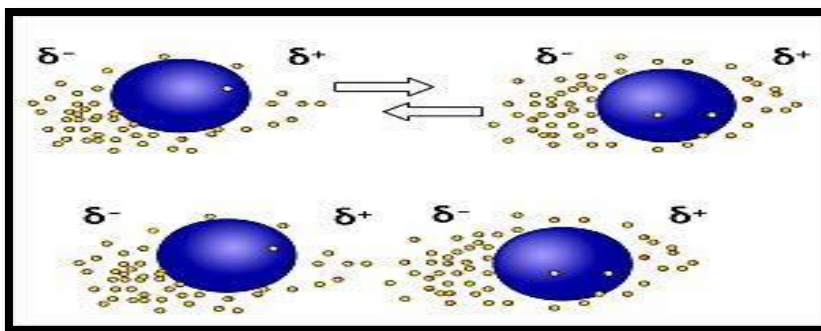


Figure II.2 : l'interaction de VDW

### 6.2 Les liaisons hydrogènes :

Les ponts hydrogène avec une force de l'ordre de 2 à 4 kcal/mol agissent, dans les systèmes biologiques, à très courte distance (0,9 à 2,8 Å) entre un H lié à un O ou un N avec un O ou un N (**Figure II.4**). Ils sont peu nombreux et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°) [16]. L'orientation et la géométrie des liaisons hydrogènes contribuent à la force des liaisons hydrogènes.

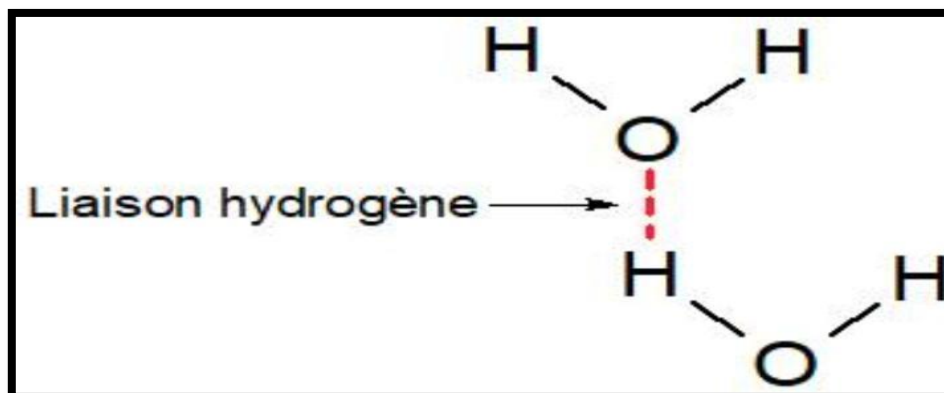


Figure II.3 : la liaison hydrogène

### 6.3 Les interactions électrostatiques :

Certains acides aminés peuvent être chargés positivement ou négativement, ce qui donne lieu à des interactions électrostatiques. Ces interactions électrostatiques agissent à "longues" distances (autour de 10 Å), entre des groupes d'atomes électriquement chargés (**Figure II.5**) [17]. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau [18].

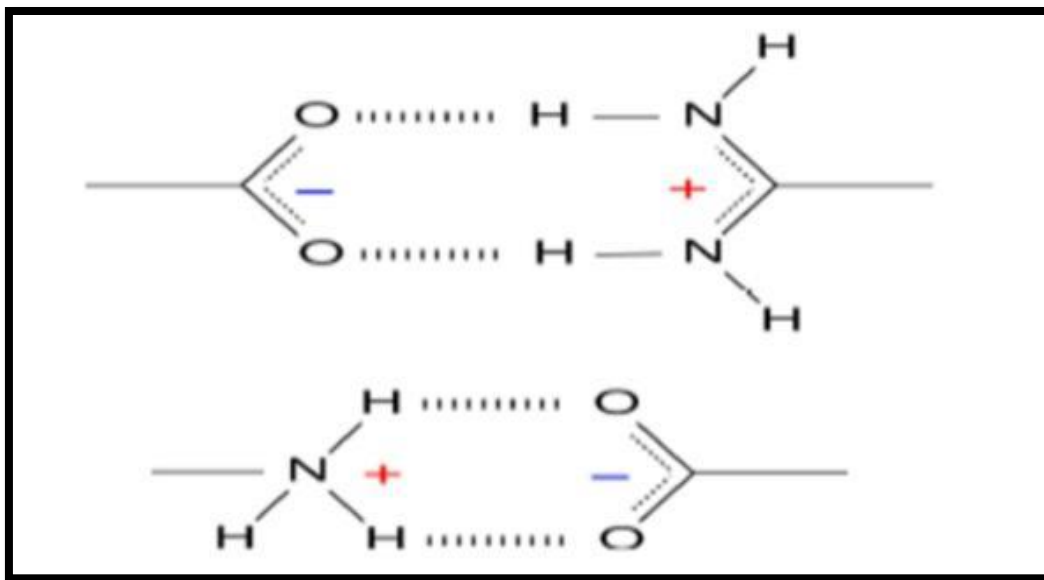


Figure II.4\_:Les interactions électrostatiques

### 6.4 Les interactions hydrophobes :

Sont des chaînes organiques saturées ou aromatiques non polaires ayant très peu d'affinité pour l'eau (**Figure II.5**). Ils ont tendance à se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'environnement aqueux [19].



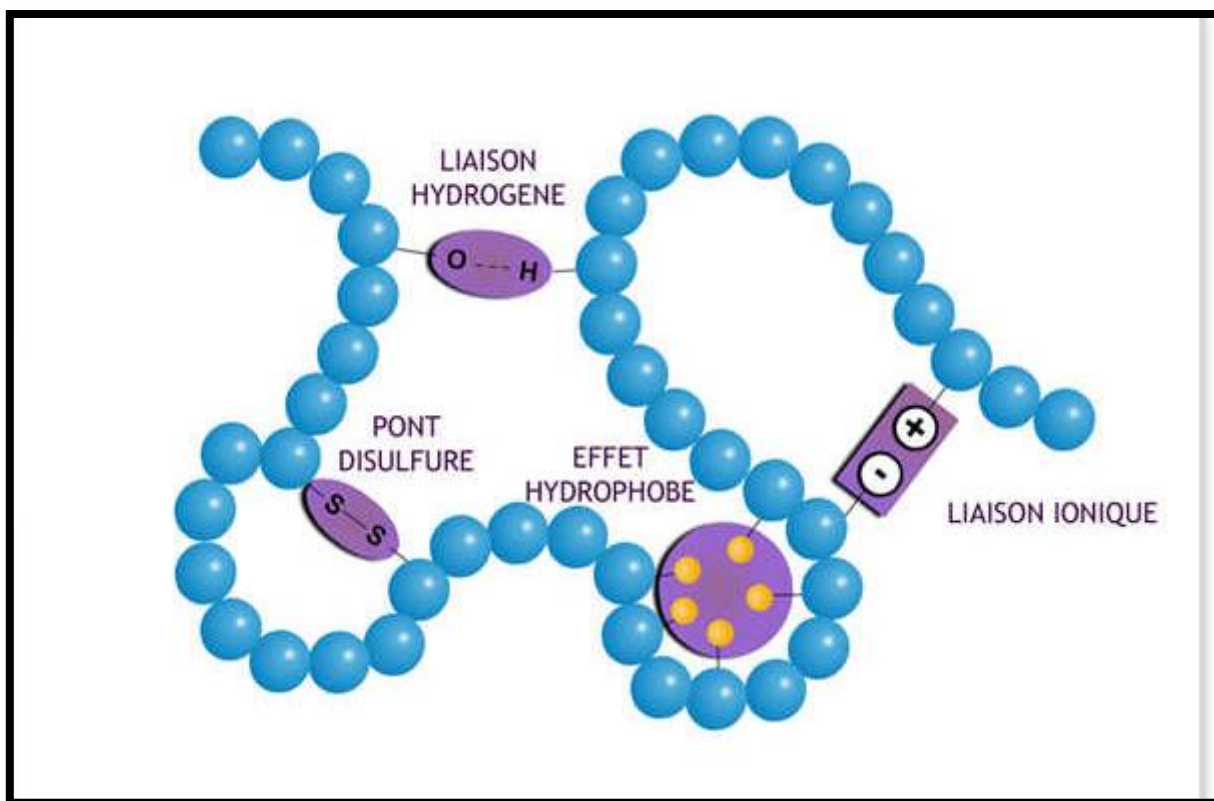


Figure II.5 : Les interactions hydrophobes

## 7. Les étapes de Docking moléculaire :

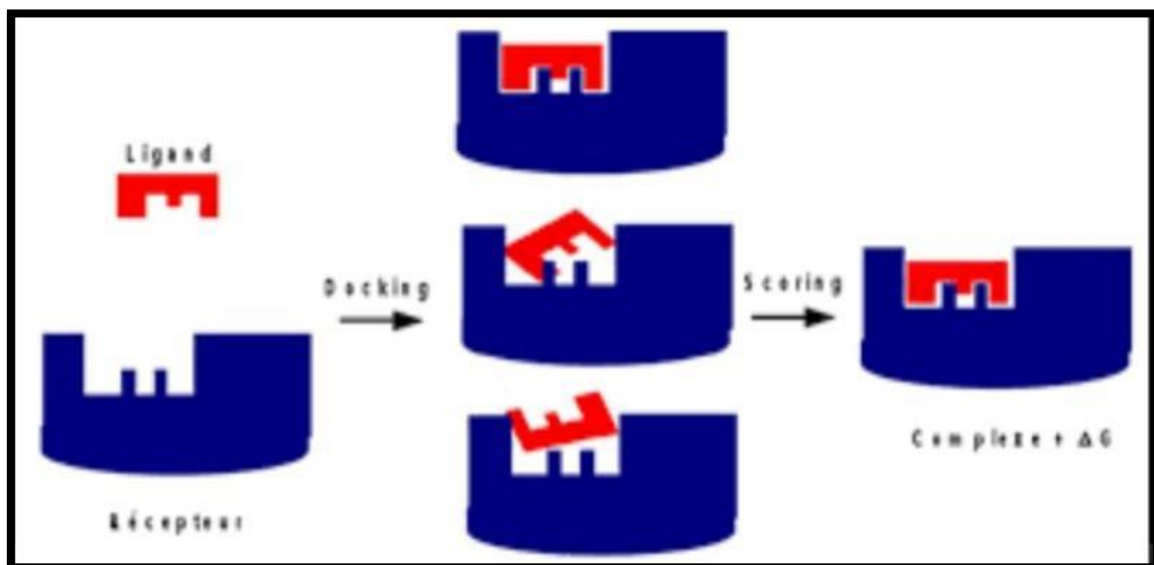
Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring (Figure II.7) Ces deux étapes sont respectivement liées aux méthodes d'échantillonnage [20].

### 7.1 Le Docking :

La première étape, 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.

### 7.2 Le Scoring :

La deuxième étape, 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 proposé [21].



**Figure II.6:** Simulation du Docking et Scoring.

Quatre étapes sont principalement employées pour la modélisation du système protéine - ligand :

- Détermination des structures
- Préparation des structures
- Docking
- Prédiction/évaluation.

### 8. Protocole de Docking:

- ✓ Choix du mode de représentation des protéines
- ✓ Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction
- ✓ Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque le score 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.

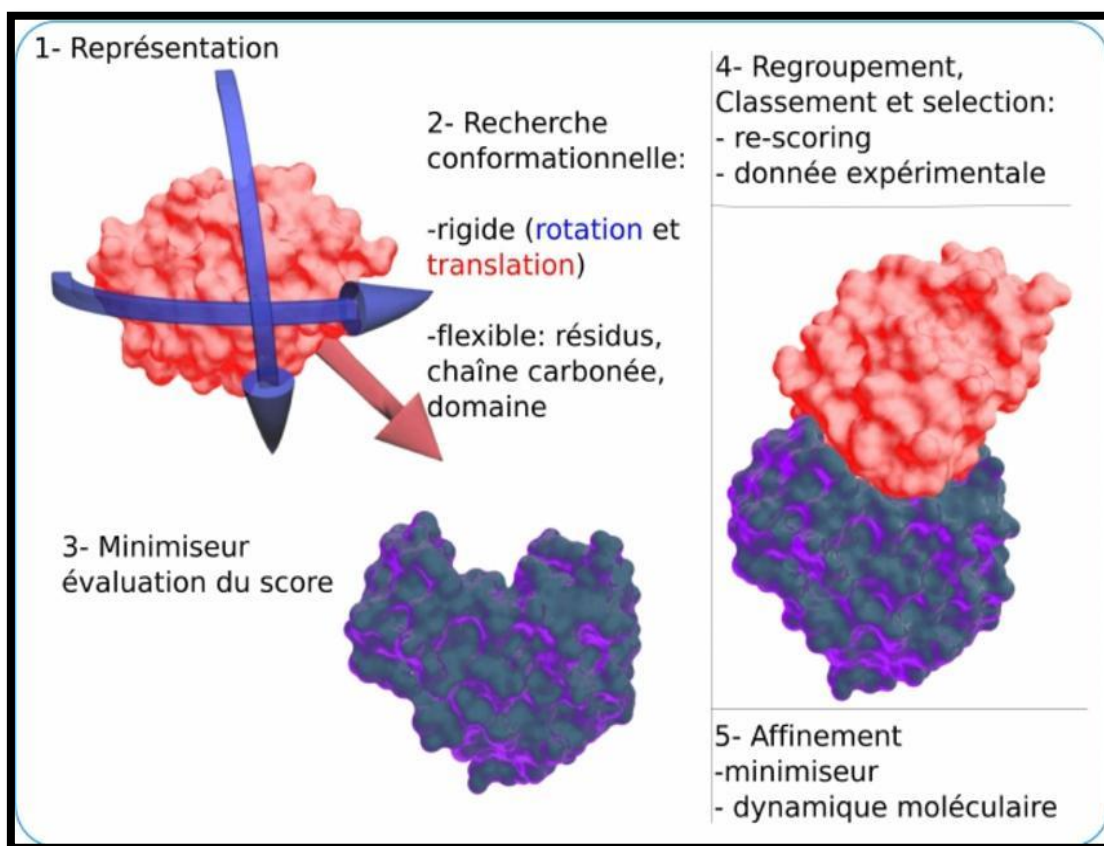


Figure II.7 : Schéma du protocole général de docking

### 9.les fonctionne de score :

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se 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 de complexe [22].

#### 9.1 Fonctions de score empiriques

Les fonctions empiriques de score estiment l'affinité des complexes protéine-ligand en additionnant des termes d'interaction (liaison hydrogène, interaction hydrophobe, interaction

ionique...). Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage. Cependant, le principal inconvénient de ces fonctions empiriques est leur forte dépendance aux données utilisées pour les calibrer qui, en cas de mauvaise paramétrisation, peut limiter leur transférabilité sur des systèmes différents. Parmi les principales fonctions de score empiriques, on peut citer :ChemScore, PLP, et LigScore[23].

### **9.2 Fonctions de score basées sur les champs de force :**

Les fonctions de score basées sur un champ de force calculent, par mécanique moléculaire, l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) et l'énergie interne du ligand. Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de Van der Waals et électrostatiques. L'énergie interne du ligand est généralement écrite de manière similaire [24,25]. Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force sont par exemple :Goldscore [26], DOCK [27] et Autodock [24, 28].

### **9.3 Fonctions <<knowledge-based>> :**

Ces fonctions sont construites sous l'hypothèse qu'un complexe cristallographique observé représente le placement optimal des atomes du ligand, relativement aux atomes de la protéine. Ainsi, le calcul des potentiels des paires d'atomes ligand/protéine se fait à partir des données structurales uniquement. Par exemple, les potentiels de force moyenne (PMF) [29] sont construits à partir des complexes de la PDB et les potentiels statistiques sont dérivés par types similaires d'atomes. SMOG [30] et "DrugScore" [31] sont d'autres fonctions "knowledge-based" populaires.

### **9.4 Les fonctions consensus :**

Ces fonctions hybrides combinent les résultats issus de diverses fonctions de score. On estime qu'il est possible de compenser partiellement les faiblesses intrinsèques de chacune des fonctions de score employées, évitant leurs erreurs individuelles et ainsi d'augmenter la probabilité d'identifier des composés actifs [32]. Cependant, si les termes des différentes fonctions de score sont fortement corrélés, l'intérêt du consensus devient limité car il peut entraîner une amplification des erreurs, au lieu de les atténuer. Ces fonctions consensus ont récemment fait l'objet d'une revue [33].

### 10. Les paramètres de « DRUG-LIKINES » :

#### 10.1 Règle de LIPINSKI :

Règle de LIPINSKI est la plus utilisée pour l'identification des composés « DRUG-LIKE ». 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 [34].

- ✓ Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- ✓ Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5.
- ✓ Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10.
- ✓  $\text{Log } P \leq 5$

#### 11.les propriétés ADME:

Le profil ADME-Tox d'une molécule est l'ensemble des paramètres caractérisant sa biodisponibilité dans l'organisme, c'est à dire, son absorption, sa distribution, son métabolisme, son excrétion et sa toxicité [35].

Utilisés pour réduire le nombre de composés d'une chimio thèque en sélectionnant les plus adaptés à devenir des candidats médicaments, avant tout processus de criblage. L'utilisation de ces filtres a donné de très bons résultats [36].

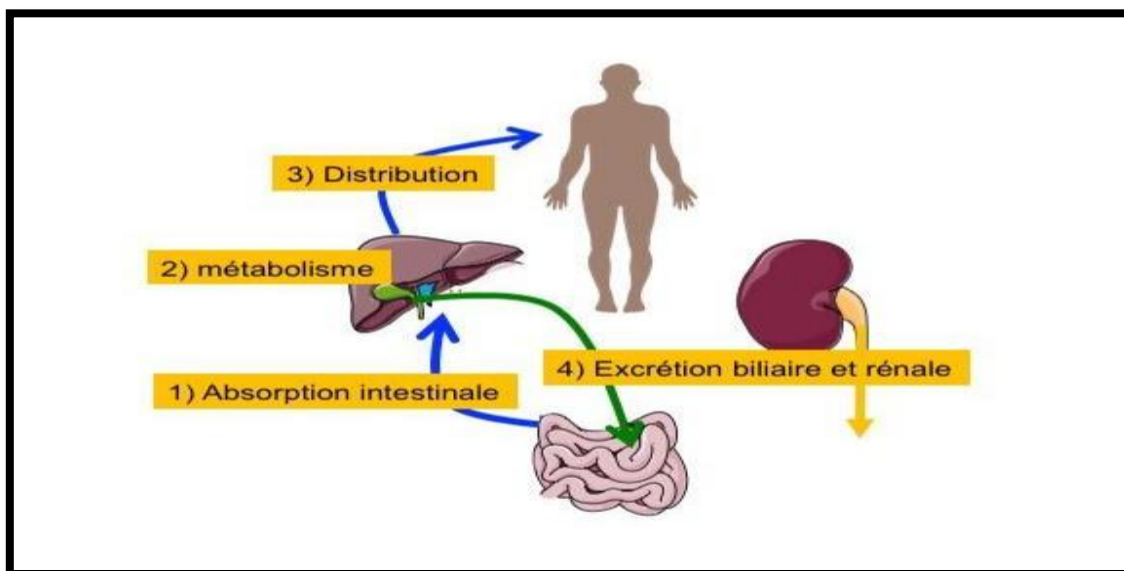


Figure II.8: Sites d'absorption, Distribution, métabolisme et excrétion.

### **11.1 Absorption :**

L'absorption est le processus par lequel le médicament inchangé passe de son site d'administration à la circulation générale. La voie d'administration du médicament influence cette première phase : la voie intraveineuse est la voie de référence puisque par définition, à la différence des autres voies (orale par exemple) toute la dose administrée atteint la circulation générale [37].

### **11.2 Distribution :**

Ce critère mesure la capacité d'une molécule à diffuser, par exemple via le flux sanguin, à travers l'organisme. En effet, une molécule doit pouvoir passer d'un compartiment à un autre, afin de pouvoir arriver in fine à l'endroit où sa cible doit être atteinte. La forte liaison à des protéines plasmatiques a un impact négatif sur la distribution d'une molécule [38].

### **11.3 Métabolisme :**

Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par le système enzymatique de l'organisme. Cette modification est réalisée dans le but de le rendre plus hydrosoluble et donc plus facilement éliminable. De nombreux organes peuvent réaliser ces transformations (poumons, rein, intestin, etc.) mais c'est le foie qui métabolise majoritairement les médicaments. Les modifications réalisées peuvent rendre les xénobiotiques inactifs mais peuvent également leur conférer une activité médicamenteuse, ou une activité toxique. Deux types de réactions enzymatiques interviennent lors de la biotransformation : les réactions enzymatiques de phase I et celles de phase II [39].

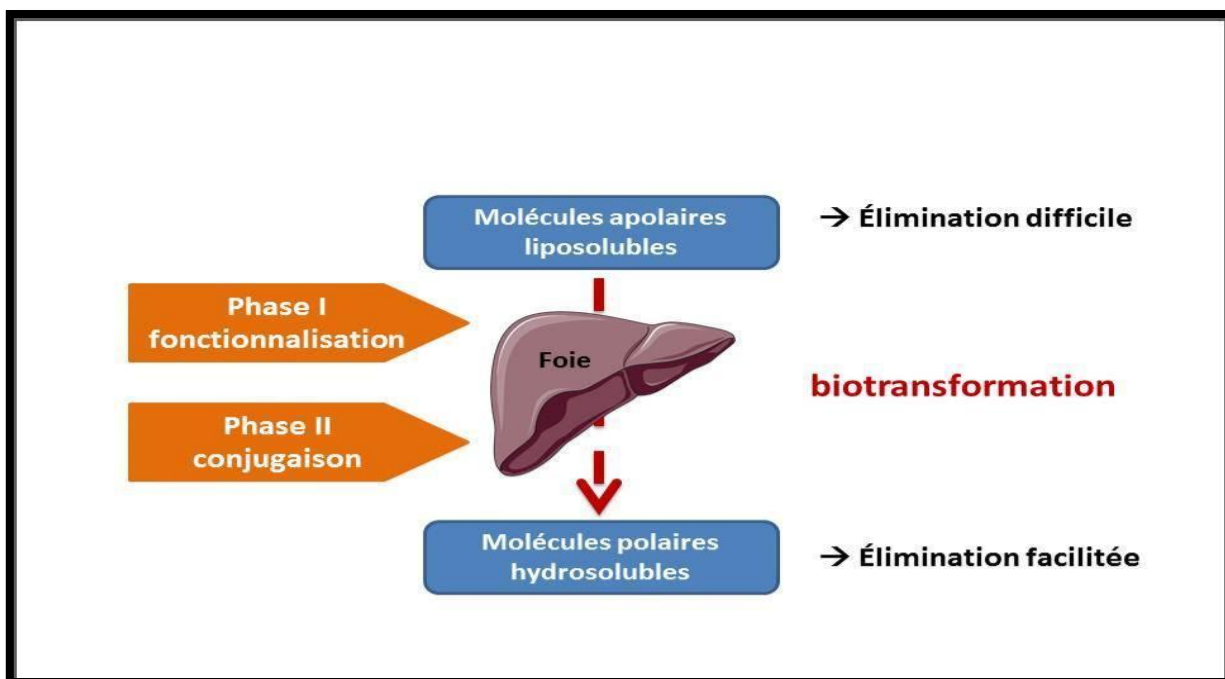


Figure II.9 : Les deux phases de métabolisme

#### 11.4 Elimination :

Elimination se définit comme le volume de plasma contenant la quantité de médicament éliminée par unité de temps. Si, stricto sensu, la clairance d'un médicament peut être le résultat de n'importe quelle voie d'élimination, les éliminations hépatique et rénale sont, habituellement, les deux principales à prendre en compte dans l'étude des médicaments [40].

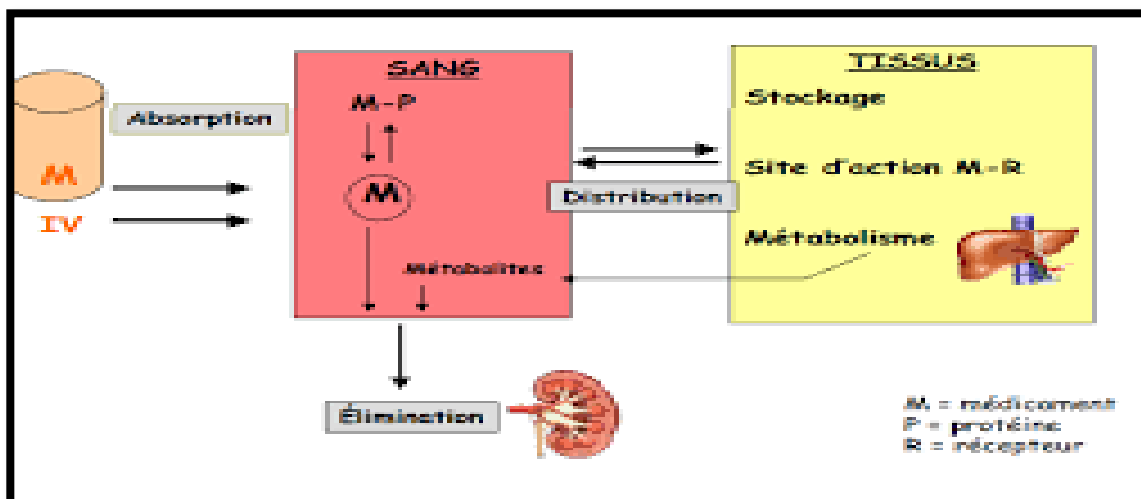
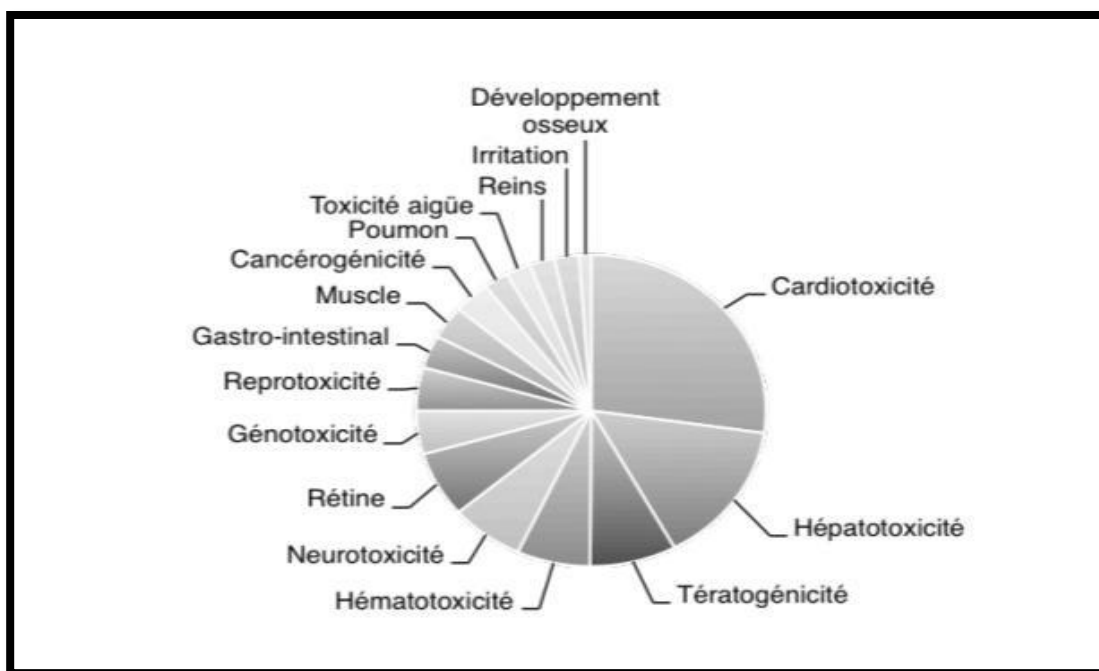


Figure II.10 : Représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme.

### 11.5 Toxicologie :

La toxicité d'un candidat-médicament est l'un des paramètres les plus redoutés par les développeurs, surtout lorsqu'il entre en phases cliniques. En effet, un candidat-médicament présentant des effets secondaires graves lors des phases cliniques est immédiatement abandonné, et ce généralement de manière définitive. Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure lors des phases précoces de développement R&D. La toxicité peut être classifiée selon l'organe affecté ou selon le mécanisme de toxicité [41].



**Figure II.11 :** Facteurs de toxicité responsables de l'échec des candidats médicaments lors des études toxicologiques.



### 12. La Dynamique moléculaire :

#### 12.1 Principe :

Chaque atome d'une molécule est considéré comme une masse ponctuelle et obéit à la loi de l'action de masse, et son mouvement est déterminé par la fonction de la force appliquée à l'atome par d'autres atomes au cours du temps, en utilisant la loi suivante [42] :

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a}_i = \frac{m_i d^2 \vec{r}_i}{dt^2}$$

Avec :

**$F_i$**  : Vecteur force agissant sur l'atome  $i$

**$m_i$**  : masse de l'atome  $i$

**$a_i$**  : Vecteur accélération de l'atome  $i$

**$r_i$**  : La position de l'atome  $i$ .

#### Mise en œuvre d'un calcul de DM :

Avant de démarrer la simulation DM, il est important d'avoir un modèle de départ proche de la structure réelle.

- ✓ La structure moléculaire est minimisée par la mécanique moléculaire pour obtenir une conformation optimisée avec la plus petite valeur d'énergie
- ✓ Dynamique moléculaire : Généralement, le calcul DM peut être divisé en trois étapes :
  - Thermalisation : Cela implique de chauffer le système pour atteindre la température requise (généralement 300 K)
  - Equilibration : Il s'agit d'une étape importante de stabilisation de la température du système, et il y aura des échanges majeurs entre l'énergie potentielle et cinétique.
  - Dynamique ou production : Il s'agit d'une étape vraiment utilisable dans ce processus de simulation, la conformation peut être sauvegardée tous les 0,05 ou 0,1ps [42].

### **Les références :**

- [1] Chemelle, J.-A. (2010). Étude par modélisation moléculaire de l'effet allergène des antibiotiques de la famille des  $\beta$ - lactamines, tant sur le plan immédiat que retardé. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I. (NNT:20101010818). (tel-008601181).
- [2] Nocedal, J., Wright, S.J. (2006). Quasi-Newton Methods. In T.V. Mikosch, S.I. Resnick, S.M. Robinson (Eds.), Numerical Optimization.
- [3] Lyne, P.D. (2002). Structure-based virtual screening: an overview. Drug Discovery Today, 7(20), 1047-1055.
- [4] Congreve, M., Murray, C.W., Blundell, T.L. (2005). Keynote review: Structural biology and drug discovery. Drug Discovery Today, 10(13), 895-907.
- [5] Bentaleb, L. (2021). CONCEPTION ET EVALUATION DES MOLECULES ANTICANCEREUSES PAR APPROCHES IN SILICO: Inhibiteurs Des Kinases AKTI et LMTK3.
- [6] Warren, G.L., Andrews, W.C., Capelli, A.M., Clark, B., LaLonde, J., Lambert, M.H., Lindvall, M., Nevins, N., Semus, S., Senger, S., Tedesco, G., Wall, I.D., Woolven, J.M., Peishoff, C.E., Head, M.S. (2006). A critical assessment of docking programs and scoring functions. Journal of Medicinal Chemistry, 49, 5912-5931.
- [7] Bendif, B. (2015). Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la DHPS par docking moléculaire.
- [8] Lichtenthaler, F.W. (1995). 100 Years "Schlüssel-Schloss-Prinzip": What Made Emil Fischer Use this Analogy? Angewandte Chemie International Edition in English, 33, 2364-2374.

- [9] Vuorinen, A., Schuster, D. (2015). Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods*, 71, 113-134.
- [10] Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., et al. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, 935-949
- [11] Alvarez, J.C. (2004). High-throughput docking as a source of novel drug leads. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8(4), 365-370.
- [12] Fortuné, A. (2006). *Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à L'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance*. Thèse de doctorat d'université : Sciences du médicament. Université Joseph Fourier - Grenoble I. France.
- [13] Wang, R.X., Lai, L.H., Wang, S.M. (2002). Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction. *Journal of Computational Aided Molecular Design*, 16, 11.
- [14] ALMI, I. (2016). Contribution à l'étude du Pharmacophore d'une série de dérivés de nitrobenzoxadiazole, sont des inhibiteurs de glutathione-S-transferase P1-1(GSTP). Mémoire en Master 2. Université Med Khider Biskra.
- [15] Teniou, S. (2012). Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire: Technologie des Explorations Biochimiques. Université Mentouri Constantine.
- [16] El Hadji Said, K. (2016). Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Thèse de Master d'université de TLEMCEM Faculté des Sciences Département de Chimie. Tlemcen, Algérie.
- [17] Salpin, F. (2008). Laine et colorants: fixation, quantification et vieillissement. Étude par spectrométrie Roman. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie.

[18] Renvez, G. (2010). Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines: vers un processus de docking. Thèse de doctorat d'université: Nanophysique. Université Toulouse III- Paul Sabatier. France.

[19] Dr. Kassoul, A. (2015). ENZYMOLOGIE. Faculté de médecine, première année médecine dentaire.

[20] Dekkiche, Z., Benaiche, S. (2018). Modélisation par Docking moléculaire de l'interaction Enzyme-Inhibiteur: Cas de la Tyrosine kinase-JAK2 en tant-que cible thérapeutique impliquée dans les pathologies du sang. Mémoire de master: biochimie appliqué. Université Mentouri Constantine. Algérie.

[21] Arrault, A. (2007). Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de doctorat d'université: Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Université d'Orléans. France.

[22] Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, 935-949.

[23] Bissantz, C., Folkers, G., Rognan, D. (2000). Protein-based virtual screening of chemical databases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(23), 4759-4767.

[24] Verdonk, M.L., Cole, C., Hartshorn, M.J., Murray, C.W., Taylor, R.D. (2003). Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 52(4), 609-623.

[25] Ewing, T.J.A., Makino, S., Skillman, A.G., Kuntz, I.D. (2001). DOCK 4.0: Search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 15(5), 411-428.

- [26] Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., Klebe, G. (1996). A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of Molecular Biology*, 261(3), 470-489.
- [27] Muegge, I., Martin, Y.C. (1999). A general and fast scoring function for protein-ligand interactions: a simplified potential approach. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(5), 791-804.
- [28] DeWitte, R.S., Shakhnovich, E.I. (1996). SMOG: de Novo Design Method Based on Simple, Fast and Accurate Free Energy Estimates. 1. Methodology and Supporting Evidence. *Journal of the American Chemical Society*, 118(47), 11733-11744.
- [29] Gohlke, H., Hendlich, M., & Klebe, G. (2000). Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, 295(2), 337-356.
- [30] Harrison, P. S., Corkery, J. J., Marco, M. A., & Walters, W. P. (1999). Consensus scoring: A method for obtaining improved hit rates from docking databases of three-dimensional structures into proteins. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42(25), 5100-5109.
- [31] Fehr, M. (2006). Consensus scoring for protein-ligand interactions. *Drug Discovery Today*, 11(9-10), 421-428.
- [32] Monge, A. (2006). Design and use of optimized chemical databases for "in silico" research of new bioactive compounds. Theses, Université d'Orléans.
- [33] Li, A. P. (2001). Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 6, 357-366.
- [34] Empereur-Mot, C. (2017). Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel: courbes de prédictivité & Screening Explorer. Thèse de doctorat. ÉCOLE DOCTORALE Sciences des Métiers de l'Ingénieur.
- [35] Yang, R. D., Benz, M. A., Cheeseman, Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 2006, 9, 124–133

[36] Doogue, M. P., Polasek, T. M. The ABCD of Clinical Pharmacokinetics. *TherAdv Drug Saf* 2013, 4 (1), 5–7. <https://doi.org/10.1177/2042098612469335>

[37] Naudot, M. (2013). Caractérisation par imagerie en temps réel de cultures cellulaires hépatiques en biopucesmicrofluidiques. Thèse de doctorat. Université de Technologie de Compiègne.

[38] Garza, Aaron Z., Sharon B. Park, and RemekKocz. 2022. “Drug Elimination” In *StatPearls,Treasure Island (FL): StatPearlsPublishing*.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547662/>

[39] Valerio, L. G., Jr. (2009). In silico toxicology for the pharmaceutical sciences. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 241(3), 356-370.

[41] Debord, J. Introduction à la modélisation moléculaire, 2004, pp.37-41

[42] Dugas, H. Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques etpratiques, Chapitre 1, introduction à la modélisation moléculaire, quatrième édition,Librairie de l’Université de Montréal, 1996.

# Chapitre III

## Résultats et

## Discussions

**1.Introduction :**

Le docking moléculaire, ou l'amarrage moléculaire, revêt une grande importance dans la découverte de médicaments antiviraux. Il s'agit d'une méthode de simulation informatique utilisée pour prédire et étudier les interactions entre des molécules médicamenteuses potentielles et les protéines cibles spécifiques des virus.

L'une des applications clés du docking moléculaire dans le domaine antiviral est la recherche de composés capables de se lier de manière sélective et spécifique aux protéines virales essentielles. En comprenant comment ces molécules interagissent avec les protéines virales, les chercheurs peuvent concevoir des médicaments qui interfèrent avec le cycle de vie viral, inhibent la réplication du virus ou bloquent l'activité de protéines virales critiques.

Le docking moléculaire permet également d'explorer virtuellement de nombreuses structures chimiques différentes, en évaluant leur compatibilité et leur affinité avec la cible virale. Cela facilite la recherche de nouvelles molécules potentielles qui pourraient devenir des médicaments antiviraux efficaces.

Ce chapitre présente les résultats de notre étude des interactions entre différents inhibiteurs avec l'enzyme (4A92) par la méthode Docking moléculaire à l'aide du logiciel MOE. Les principaux paramètres de cette étude sont le score et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs et aussi les différents types d'interactions présentes entre certains acides aminés de la protéine étudiée et celle de l'inhibiteur.

On a étudié et présenter également dans ce chapitre les propriétés moléculaires des ligands (DRUG-LIKNESS), les propriétés ADMET et l'étude de dynamique moléculaire(DM).



## 2. Matériel :

L'objectif essentiel de ce travail est d'étudier les interactions existantes entre une série de 197 molécules avec l'enzyme 4A92 en combinant entre trois méthodes à savoir docking moléculaire dynamique moléculaire et propriété ADME. Pour ce faire, nous avons utilisé le matériel suivant :

### 2.1. Micro-ordinateur :

Notre travail a été effectué par un Micro-ordinateur, a été utilisés pour l'exécution et l'analyse des résultats obtenus, les caractéristiques de ces machines sont mentionnées sur le tableau III.1 :

**Tableau III.1** : présentant les caractéristiques de l'ordinateur utilisé

Caractéristiques	Ordinateur
Mémoire (RAM)	4 Go
Processeur	Intel (R) core(TM) i3-231M CPU@ 2.10GHz
Système d'exploitation	Windows 7 professionnel
Type de système	64 bite

### 2.2. Banques (bases) de données et outils logiciels :

#### 2.2.1. La banque de données sur les protéines « Protéine Data Bank (PDB) » :

Collection mondiale de données sur les structures tridimensionnelles (structure 3D) des macromolécules biologiques : protéines essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont principalement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN [3].

The screenshot shows the PDB entry page for 4a92. The header includes the EMBL-EBI logo and navigation links for Services, Research, Training, and About us. The main content area is titled 'PDBe > 4a92' and contains the following information:

- Title:** Full-length HCV NS3-4A protease-helicase in complex with a macrocyclic protease inhibitor.
- Source organism:** Hepacivirus C
- Primary publication:** A macrocyclic HCV NS3/4A protease inhibitor interacts with protease and helicase residues in the complex with its full-length target. (Schiering N, D'Arcy A, Villard F, Simic O, Kamke M, Monnet G, Hassiepen U, Svergun DI, Pulfer R, Eder J, Raman P, Bodendorf U. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108** 21052-6 (2011) PMID: 22160684)
- X-ray diffraction:** 2,73Å resolution
- Released:** 28 Dec 2011
- DOI:** 10.2210/pdb4a92/pdb
- Model geom... / Fit model/d...:** Visual indicators for model geometry and fit quality.
- 3D Visualization:** A 3D molecular model of the protein-ligand complex is shown.
- Quick links:** Citations, Structure analysis, Function and Biology, Ligands and Environments, Experiments and Validation, View, Downloads, 3D Visualisation.
- Navigation:** Function and Biology, Details, Ligands and Environments.
- Reactions catalysed:** 2 bound ligands.

**Figure III.1** : interface du site protéine Data Base.

### 2.2.2 Swisse ADME :

C'est un site gratuit permet de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, le caractère médicamenteux et la compatibilité avec la chimie médicale d'une ou plusieurs petites molécules pour aider à la découverte de nouveaux médicaments [4].

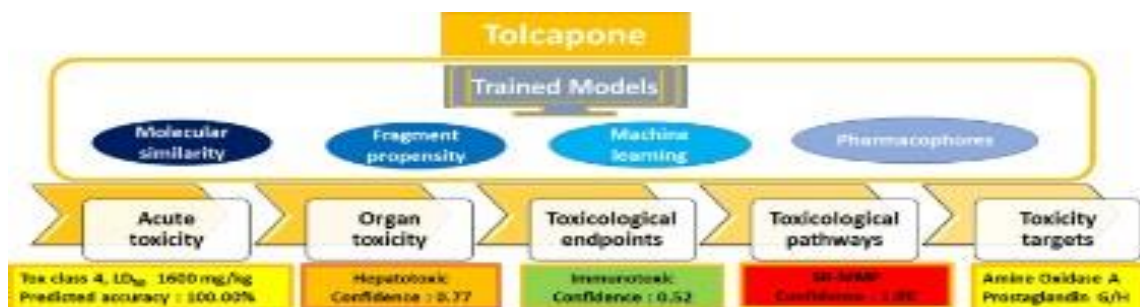
### 2.2.3 Binding DB :

BindingDB est une base de données publique accessible sur le Web des affinités de liaison mesurées, se concentrant principalement sur les interactions des protéines considérées comme des cibles médicamenteuses avec de petites molécules de type médicament. Au 12 avril 2023, BindingDB contient 48 900 entrées, chacune avec un DOI, contenant 2 699 360 données de liaison pour 9 009 cibles protéiques et 1 159 737 petites molécules. Il existe 2823 structures cristallines protéine-ligand avec des mesures d'affinité BindingDB pour les protéines avec 100% d'identité de séquence, et 8263 structures cristallines permettant aux protéines d'avoir 85% d'identité de séquence (<http://www.bindingdb.org>) [5].

### 2.2.4 ProTox-II :

Le serveur Web ProTox-II offre plusieurs avantages par rapport aux modèles informatiques existants. Le serveur Web ProTox inclut à la fois la connaissance des cibles chimiques et moléculaires. Une nouveauté du serveur Web ProTox-II est que le schéma de prédiction est classé en différents niveaux de toxicité tels que la toxicité orale, la toxicité organique (hépatotoxicité), les paramètres toxicologiques (tels que la mutagénicité, la carcinotoxicité, la cytotoxicité et l'immunotoxicité), les voies toxicologiques (AOP) et cibles

de toxicité fournissant ainsi un aperçu du mécanisme moléculaire possible derrière une telle réponse toxique. La nouvelle version, ProTox-II intègre la similarité moléculaire, basée sur les pharmacophores, les propensions aux fragments, les caractéristiques les plus courantes et les modèles d'apprentissage automatique pour la prédiction de divers paramètres de toxicité [6].

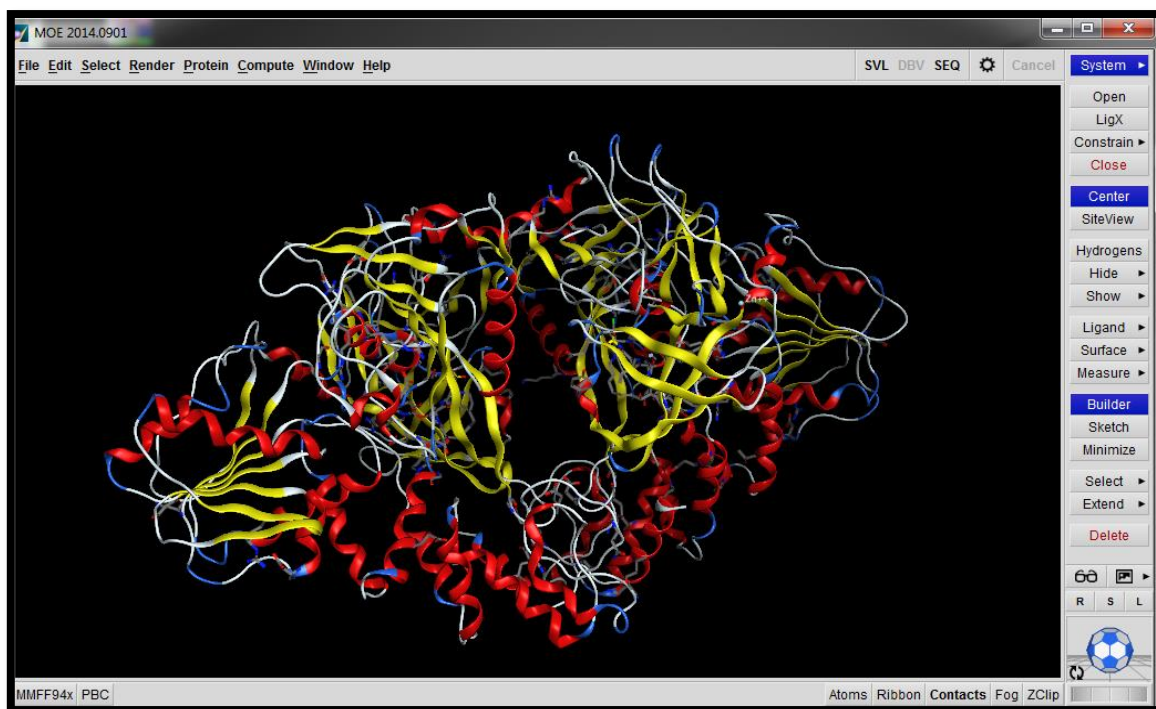


**Figure III.2:** L'interface du site ProTox-II.

### 2.2.5 MOE (Molecular Operating Environment) :

Est une plate-forme logicielle pour la découverte de médicaments qui combine la visualisation, la modélisation, la simulation et le développement de méthodologies en une seule unité. Les biologistes, les chimistes médicaux et les chimistes informaticiens utilisent les applications scientifiques du MOE dans leurs recherches universitaires, pharmaceutiques et biotechnologiques. MOE fonctionne avec Windows, Linux, Unix et MacOs. Les principaux domaines d'utilisation de MOE comprennent la conception basée sur la structure, la conception basée sur les fragments, la découverte de pharmacophores, les applications de la chimie médicale, les applications biologiques, la modélisation des protéines et des anticorps, la modélisation et les simulations moléculaires, la chimie computationnelle et le QSAR [7].

Le programme MOE a été utilisé pour mon étude car il est convivial et a démontré son efficacité dans de nombreuses études [8,9].



**Figure III.3 :** L'interface du logiciel Moe 2014.

### 2.2.6. BIOVIA Discovery Studio Visualiser

Est une suite logicielle complète pour l'analyse et la modélisation des structures moléculaires, des séquences et d'autres données pertinentes pour les chercheurs en sciences de la vie. Le produit comprend des outils pour effectuer une analyse de données sur la base des données ainsi que des fonctionnalités d'affichage et d'édition de données. Cet outil a été utile pour simuler les interactions créées entre l'enzyme et ses inhibiteurs [10].

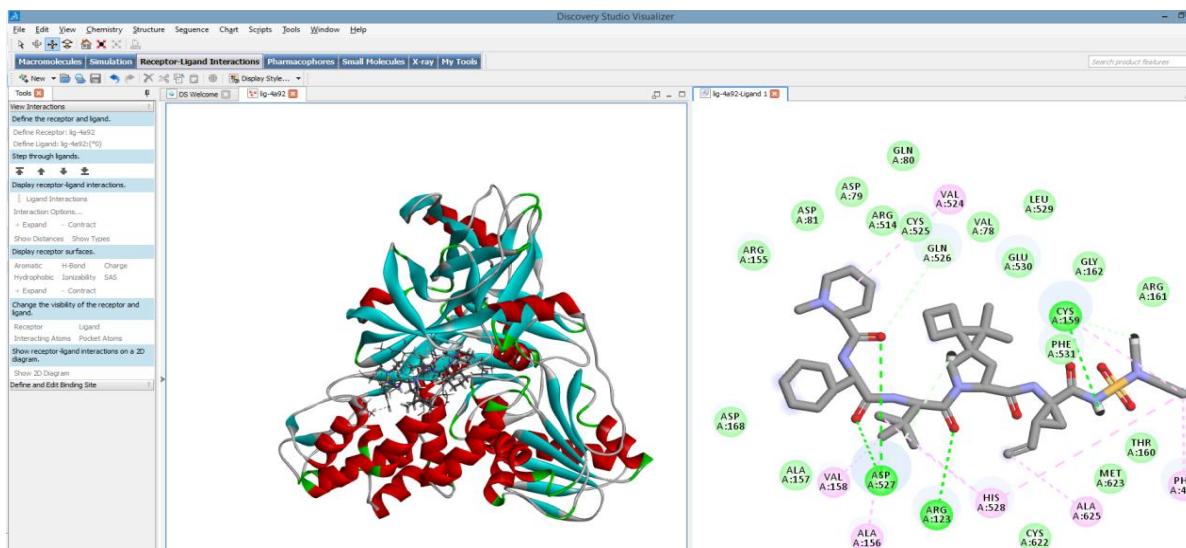


Figure III.4 : L'interface du logiciel Discovery Studio Visualiser.

### 3.Méthodologie des calculs :

Notre étude se concentrera sur la façon dont le site actif de l'enzyme 4a92 interagit avec ses ligands pour produire un composé stable et elle est réalisée à l'aide du programme "MOE", nous avons donc développé une méthodologie générale pour l'amarrage moléculaire, et l'avons résumée dans le schéma suivant :

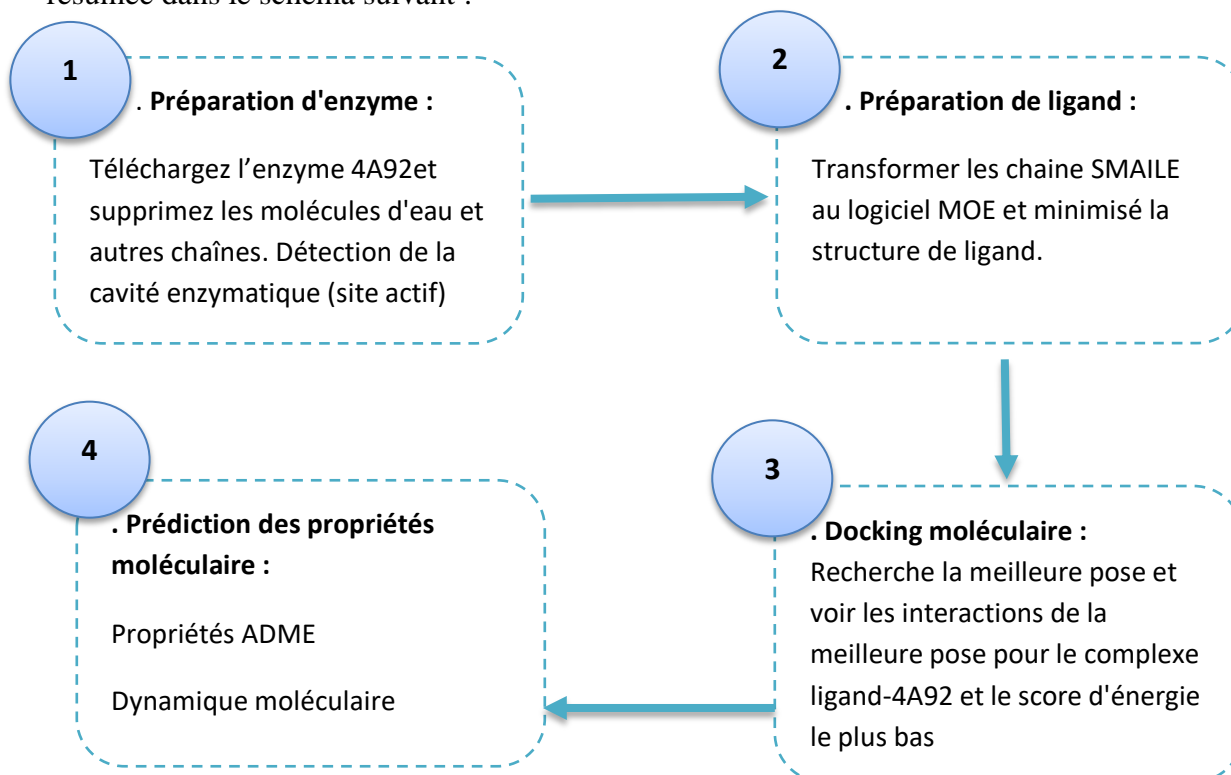
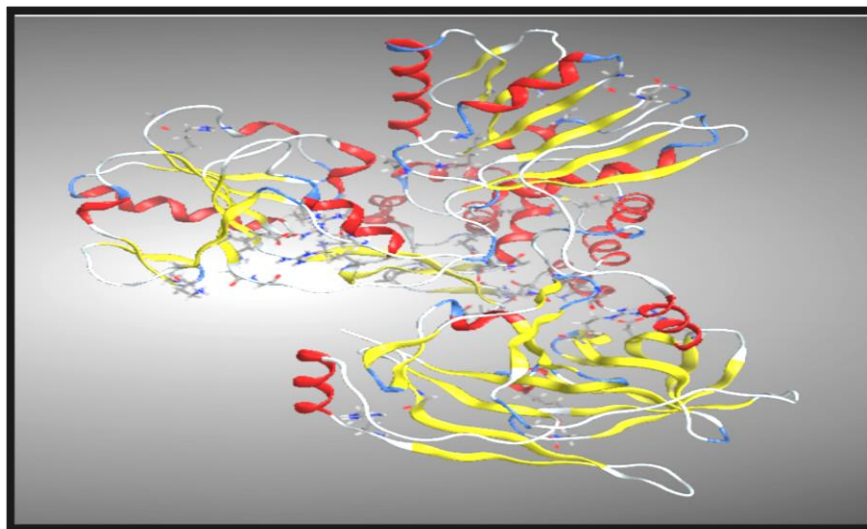


Figure III.5 : Protocole de calcul

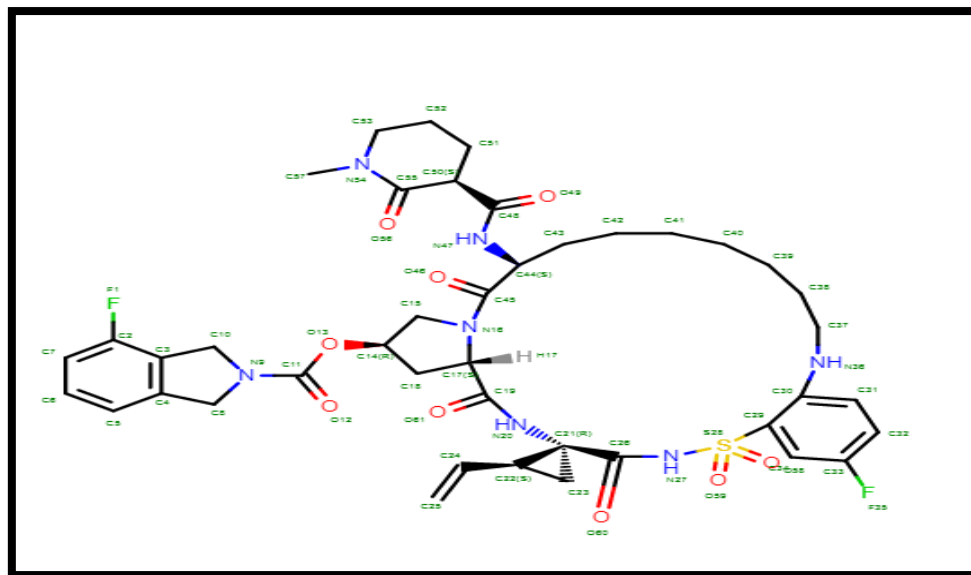
### 3.1. Préparation de la protéine :

Le téléchargement de Protéase-hélicase NS3-4A du VHC pleine longueur en complexe avec un inhibiteur de protéase macrocyclique a été fait à partir de la base de données Protéine Data Bank [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)[11] avec le code d'accès 4A92 sous format PDB. La structure tridimensionnelle (Structure 3D) de 4A92 est correctement définie par diffraction en rayon X avec une résolution égale à 2,73 Å (**Figure III.5**), Le 4A92 est Co-cristallisé avec l'inhibiteur F9K: (1'R,2R,2'S,6S,24AS)-17-FLUORO-6-(1-METHYL-2-OXOPIPERIDINE-3-CARBOXAMIDO)-19,19-DIOXIDO-5,21,24-TRIOXO-2' VINYL1,2,3,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,20,21,23,24,24AOCTADECALHYDROSPIRO[BENZO[S]PYRROLO[2,1-G][1,2,5,8,18]THIATETRAAZACYCLOICOSINE-22,1'-CYCLOPRO-2-CARBOXYLATEPAN]-2-YL4-FLUOROISOINDOLINE (C<sub>42</sub>H<sub>51</sub>F<sub>2</sub>N<sub>7</sub>O<sub>9</sub>S).



**Figure III.6 :** La structure 3D de l'enzyme 4A92 préparé

La structure chimique du ligand Co-cristallisé (F9K) avec le récepteur (4A92) est donnée dans la figure suivante :



**Figure III.7 :** La structure chimique du ligand Co-cristallisé (F9K)

**Tableau III.2 :** Propriétés d'enzyme 4A92.

Enzyme	Classification	Chaîne	Résolution	Résidus	Atomes
4A92	Hépacivirus c	A ,B	2,73 Å	1 278	9 848

La préparation d'une protéine dans le programme MOE (Molecular Operating Environment) comprend plusieurs étapes importantes pour garantir une modélisation et une simulation moléculaire précises. Voici les étapes générales de préparation d'une protéine dans MOE :

1. Importation de la structure de la protéine : La première étape consiste à importer la structure de la protéine dans MOE à partir d'un fichier de format approprié, tel que PDB (Protein Data Bank).
2. Ajout des hydrogènes : MOE ajoute automatiquement les atomes d'hydrogène manquants à la structure de la protéine. Les atomes d'hydrogène sont essentiels pour les calculs ultérieurs, tels que les calculs de force de liaison.

3. Correction de la protonation : MOE permet de prédire les états de protonation des acides aminés, en tenant compte du pH du milieu. Cela permet de modéliser les formes ionisées des résidus d'acides aminés, ce qui est important pour les interactions protéine-ligand.
4. Élimination des molécules d'eau et des ions : Les molécules d'eau et les ions inutiles peuvent être supprimés de la structure de la protéine pour simplifier les calculs et réduire la taille du système.
5. Correction des anomalies structurelles : MOE peut détecter et corriger les anomalies structurelles, telles que les distances de liaison anormales ou les angles inhabituels. Ces corrections contribuent à améliorer la qualité structurelle de la protéine.
6. Optimisation de la géométrie : Une optimisation géométrique peut être effectuée pour minimiser les tensions stériques et améliorer la conformation de la protéine.
7. Attribution des charges partielles : MOE attribue des charges partielles aux atomes de la protéine en utilisant des méthodes de polarisation moléculaire, ce qui est important pour les calculs de force et d'interaction.

### **3.2. Détection de cavité :**

La cavité active, également connue sous le nom de site actif, est une région spécifique d'une protéine où se produisent des interactions chimiques avec d'autres molécules, telles que les substrats, les ligands ou les cofacteurs. Cette région est essentielle pour l'activité biologique de la protéine, car c'est là que se déroulent les réactions chimiques ou les processus de liaison spécifiques.

La cavité active est souvent formée par un arrangement tridimensionnel précis des résidus d'acides aminés dans la protéine. Ces résidus peuvent présenter des propriétés chimiques particulières, telles que des charges électriques, des groupes fonctionnels spécifiques ou des régions hydrophobes, qui facilitent l'interaction avec les molécules cibles. [12]. Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé le logiciel MOE pour détecter 21 cavités dans l'enzyme 4A92. Parmi ces cavités, nous avons choisi la cavité 4 Figure III.8 pour effectuer notre calcul de docking, car elle présente des caractéristiques intéressantes et





### **3.3. Préparation des ligands :**

Pour rassembler des composés après avoir identifié l'enzyme qu'ils inhibent, nous avons utilisé le site BindingDB. C'est une base de données complète qui fournit des informations sur les interactions protéine-ligand et leurs affinités de liaison. Le site permet aux utilisateurs de rechercher des enzymes spécifiques et de récupérer les composés pertinents qui ont été testés pour leur activité inhibitrice contre ces enzymes.

Tout d'abord, nous avons accédé au site BindingDB et nous avons navigué vers la fonction de recherche.

Ensuite, nous avons saisi le nom ou l'identifiant de l'enzyme que nous souhaitons étudier. La base de données nous a fourni une liste de composés qui ont été testés pour leur affinité de liaison avec l'enzyme spécifiée.

Pour affiner notre recherche, nous avons utilisé divers filtres disponibles sur le site. Nous avons pu restreindre les résultats en fonction de critères spécifiques tels que les propriétés des composés, les constantes de liaison. Cela nous a aidés à nous concentrer sur les composés les plus pertinents pour nos objectifs de recherche.

Les structures des ligands peuvent être importées dans MOE à partir de fichiers de formats courants tels que SDF (Structure-Data File) ou SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System). Et par le MOE on a effectué la minimisation de l'énergie sur les structures des ligands pour éliminer les tensions stériques et les contraintes énergétiques.

Les structures 2D des 197 inhibiteurs sont représentés dans l'Annexe N°1.

### **3.4. Simulation de Docking moléculaire :**

Dans le développement de nouveaux médicaments, le Docking est souvent utilisé pour déterminer l'orientation de petites molécules liées à leurs protéines cibles afin de calculer leur affinité et leurs niveaux d'activité à l'aide du logiciel Moe.

MOE est basé sur un type de Docking semi-flexible, le ligand étant considéré comme flexible et la chaîne principale de l'enzyme a été maintenue rigide. Il utilise le champ de force MMFF94x pour optimiser la conformation au cours de calcul [13].

L'interaction des résidus du site actif de la protéine 4A92 avec le ligand pour former un complexe stable a été étudiée à l'aide du logiciel MOE. Effectivement, le processus de docking

moléculaire se compose généralement de deux parties complémentaires : le docking et le scoring.

**Docking** : La première étape du docking moléculaire consiste à prédire la conformation spatiale préférentielle (ou la pose) d'un ligand lorsqu'il se lie à la protéine cible. Cette étape implique la recherche de différentes orientations et positions possibles du ligand dans la cavité active de la protéine.

**Scoring** : Une fois que les poses du ligand ont été générées lors de l'étape de docking, chaque pose est évaluée quantitativement à l'aide d'une fonction de score. Le scoring vise à estimer l'affinité ou la force de liaison entre le ligand et la protéine cible. Différents critères et termes énergétiques sont pris en compte pour calculer le score, tels que les interactions électrostatiques, les interactions hydrophobes, les interactions van der Waals, les ponts hydrogène, etc. [14].

### **3.5. Prédiction des propriétés moléculaires des ligands :**

Les descripteurs moléculaires et les propriétés de probabilité médicamenteuse (propriétés Drug likeness ) des composés basés sur la règle de LIPINSKI (Règles de cinq), ont été analysés à l'aide de l'outil serveur Swiss ADME (<http://www.swissadme.ch>).

Chaque complexe suit ces étapes : Copiez le SMILE pour chaque ligand, puis collez le SMILE dans l'outil Swiss ADME et calculez les propriétés moléculaires.

### **3.6. Prédiction des propriétés ADMET :**

Une bonne pharmacocinétique et une bonne efficacité sont des déterminants majeurs du succès du développement de médicaments [15]. Par conséquent, une mauvaise absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité (ADMET) cause des échecs coûteux aux stades avancés du développement du médicament. Ainsi, il est obligatoire que ces domaines soient pris en compte aux premiers stades du processus de découverte de médicaments [16].

La composition chimique du composé a été soumise à une analyse in silico de sa synthèse, de son métabolisme, de son élimination et de sa toxicité à l'aide de l'outil " ProTox II" disponible sur <https://tox-new.charite.de>. Le profil pharmacocinétique du composé a été évalué.

### **3.7. Simulation de dynamique moléculaire :**

Les simulations de dynamique moléculaire (MD) sont utilisées pour étudier les propriétés thermodynamiques et les phénomènes dépendant du temps des systèmes biomoléculaires. Elles permettent d'obtenir une compréhension détaillée des aspects dynamiques de la structure, de la reconnaissance et de la fonction des biomolécules. Cependant, les simulations MD fournissent principalement des données sur les positions atomiques, les vitesses et les niveaux d'énergie à des instants donnés.

Dans le contexte de votre étude, les simulations MD ont été utilisées pour évaluer les changements conformationnels et comprendre la stabilité des complexes formés entre le récepteur (enzyme 4A92) et les inhibiteurs. Les complexes ligand-protéine avec les meilleurs scores de docking ont été sélectionnés comme fichiers d'entrée pour les simulations MD d'une durée de 1000 picosecondes. [17].

Ces simulations DM ont permis de suivre la dynamique des complexes ligand-protéine sur une échelle de temps plus longue et d'observer les fluctuations, les mouvements et les interactions atomiques. Les résultats de ces simulations ont contribué à l'évaluation de la stabilité des complexes et ont fourni des informations supplémentaires pour la sélection des meilleurs inhibiteurs. [18,19].

## **4.Résultats et discussion :**

### **4.1. Résultats de Docking moléculaire :**

Dans cette étude, nous avons utilisé le logiciel Discovery Studio pour étudier en détail les interactions entre l'enzyme (**4A92**) et les composés en comparant le ligand de référence (**F9K**) avec les ligands sélectionnés qui forment un complexe « ligand-récepteur ». La conformation d'énergie la plus stable est la plus faible.

Avant de discuter des résultats de l'étude des interactions enzyme-ligand, il est pertinent de présenter les scores (exprimés en kcal/mol) ainsi que les résultats du RMSD (Root Mean Square Deviation) pour la meilleure pose de chaque ligand. Ces données sont récapitulées dans le Tableau III.4.

Suite à 30 itérations de recherche, plusieurs poses ont été identifiées. Chaque pose représente une configuration différente du ligand dans la cavité active de la protéine. Le choix de la pose se fait en sélectionnant la structure avec l'énergie la plus basse, c'est-à-dire celle qui présente la plus faible énergie potentielle.

Ces poses permettent de mieux comprendre les interactions entre l'enzyme et le ligand. En analysant les scores de docking et les résultats du RMSD, il est possible d'évaluer l'affinité de liaison et la similarité structurale entre les différentes poses. Les scores de docking, exprimés en kcal/mol, fournissent une mesure quantitative de l'aptitude de chaque pose à former une interaction favorable avec l'enzyme cible.

**Tableau III.4:** Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 4A92 avec les ligands Etudiés

Composé N°	PubChem Cid	Score (kcal/mol)	RMSD
<b>96</b>	59533381	-10.44	2.37
<b>31</b>	59533346	-9.66	2.02
<b>33</b>	59533280	-10.18	2.56
<b>183</b>	59533322	-10.59	2.80
<b>182</b>	59533304	-11.04	1.31
<b>Lréf</b>	F9K	-8.82	2.14

**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
<b>Structure</b>	Parfait	Acceptable	Inadéquat	Inacceptable

#### 4.2. Etude les interactions enzyme-ligand :

Une fois que le complexe ligand-enzyme est formé, il adopte la conformation la plus stable qui correspond au niveau d'énergie le plus bas. Afin de mieux comprendre les interactions entre le ligand et la protéine, nous avons effectué une étude détaillée des interactions présentes dans les cinq complexes les plus favorables. D'après cette étude nous pouvons obtenir une vision détaillée des forces stabilisatrices et des motifs de liaison entre le ligand et la protéine. Cette analyse approfondie nous aide à mieux comprendre les interactions ligand-protéine et à identifier les caractéristiques clés qui favorisent la formation du complexe.

Cette étude porte sur les cinq principaux ligands (31, 33, 96, 182 et 183), qui ont les énergies les plus faibles en comparaison avec le « ligand de référence » F9K. Les résultats des interactions entre ces ligands et l'enzyme sont présentés dans le **Tableau III.6**. À l'aide du programme Discovery Studio, les structures 2D et 3D des interactions protéine-ligand ont été visualisées.

**Tableau III.6:** les interactions des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 4A92.

Complexes (Ligands-4A92)	Les interactions	Les Categories	Les types
<b>96-4A92</b>	ALA156	Hydrophobe	alkyl
	MET485	Hydrophobe	alkyl
	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	LEU517	Hydrophobe	Alkyl
	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	HIS57	Hydrophobe	Alkyl
	ARG155	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ARG155	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Conventional hydrogen bond

	ASP79	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP79	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
<b>31-4A92</b>	VAL524	Hydrophobe	Pi-Alkyl
	GLN526	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	VAL158	Hydrophobe	Alkyl
	ALA156	Hydrophobe	Alkyl
	ARG123	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	HIS528	Hydrophobe	Alkyl
	HIS528	Hydrophobe	Alkyl
	ALA626	Hydrophobe	Alkyl
	PHE438	Hydrophobe	Alkyl
	CYS159	Hydrogène	Alkyl
	CYS159	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	CYS159	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	MET585	Hydrophobe	Alkyl
	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	ALA156	Hydrophobe	Alkyl
	VAL158	Hydrophobe	Alkyl
	HIS528	Hydrophobe	Alkyl

<b>33-4A92</b>	ALA625	Hydrophobe	Alkyl
	HIS57	Hydrophobe	Alkyl
	ALA625	Hydrophobe	Alkyl
	PHE531	Hydrophobe	Alkyl
	ARG123	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	GLN526	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	CYS159	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
<b>183-4A92</b>	CYS159	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	HIS528	Hydrophobe	Alkyl
	HIS528	Hydrophobe	Alkyl
	HIS528	Hydrophobe	Pi-PIT
	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	ASP168	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ARG155	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	GLN526	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	CYS159	Hydrophobe	Conventional hydrogen bond
	VAL158	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ALA157	Hydrophobe	Carbone hydrogen bond
	LEU517	Hydrophobe	Pi-alkyl



	ALA156	Hydrophobe	Alkyl
	ALA156	Hydrophobe	Pi-alkyl
	HIS528	Hydrogène	Pi-alkyl
	VAL158	Hydrophobe	Alkyl
	LEU517	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
<b>182-4A92</b>	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	VAL524	Hydrophobe	Alkyl
	HIS528	Hydrophobe	Alkyl
	ALA156	Hydrophobe	Alkyl
	ALA156	Hydrophobe	Alkyl
	HIS57	Hydrophobe	Alkyl
	CYS159	Hydrophobe	Pi- Alkyl
	ARG155	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	HIS528	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ARG155	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	CYS159	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	GLN80	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ARG155	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP79	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	GLN526	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ASP168	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ALA157	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ARG155	Hydrogène	Conventional hydrogen bond

<b>F9K-4A92</b>	ALA625	Hydrophobe	Pi-Alkyl
	CYS159	Hydrophobe	Pi-Alkyl
	CYS159	Hydrophobe	Alkyl
	PHE438	Hydrophobe	Alkyl
	ALA156	Hydrophobe	Pi-Alkyl
	VAL158	Hydrophobe	Pi-Alkyl
	PHE531	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ARG123	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	HIS528	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	CYS159	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Conventional hydrogen bond
	HIS528	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ASP527	Hydrogène	Carbone hydrogen bond
	ALA157	Electrostatique	Pi-Anion

### Les interactions enzyme -ligand de référence :

En utilisant les interactions enzyme-ligand de référence, il est possible de comparer les interactions observées dans d'autres complexes ligand-enzyme. Cela permet d'évaluer la similitude des interactions et de déterminer si un ligand donné peut former des interactions similaires ou comparables à celles de la référence.

Les résultats de la re-docking du ligand de référence indiquent une affinité élevée et une interaction favorable avec l'enzyme, avec un score de -8,82 (kcal/mol) et la formation de 15 liaisons spécifiques qui comprennent :

Six liaisons hydrophobiques :

- Une liaison entre le cycle benzène du ligand et le résidu **ALA625** avec une distance 5.22 Å, selon le type « **Pi-Alkyl** ».
- Une liaison entre le cyclohexane du ligand et le résidu **CYS159** avec une distance 5.08 Å, selon le type « **Pi-Alkyl** ».
- Deux liaisons liées entre l'atome de carbone et les résidus **CYS159** et **PHE438** avec les distances respectivement : 5.41 Å et 5.39 Å, selon le type « **Alkyl** ».
- Une liaison entre le cyclopentane du ligand et le résidu **ALA156** avec une distance 4.64 Å, selon le type « **Pi-Alkyl** ».
- Une liaison entre le cyclo-eicosane du ligand et le résidu **VAL158** avec une distance 5.23 Å, selon le type « **Pi-Alkyl** ».

Neuf liaisons hydrogène :

- Cinq liaisons formés entre l'atome d'oxygène et les résidus **PHE531**, **ARG123**, **CYS159** avec les distances respectivement : 2.04 Å, 2.41 Å, 2.34 Å, selon le type « **conventionnel hydrogène bond** ». Les deux autres avec **HIS528** avec les distances respectivement : 2.47 Å et 2.67 Å, selon le type « **carbone hydrogène bond** ».
- Quatre liaisons formés entre l'atome d'hydrogène et les résidus **ASP168**, **ASP527** avec les distances respectivement : 2.62 Å et 2.58 Å selon le type « **carbone hydrogène bond** », et les deux autres avec **ASP527** avec deux distances différentes : 2.38 Å et 2.40 Å selon le type « **conventionnel hydrogène bond** ».

Une liaison de type pi-Anion, formée entre le cycle benzène du ligand et le résidu **ASP81** avec une distance : 4.73 Å.

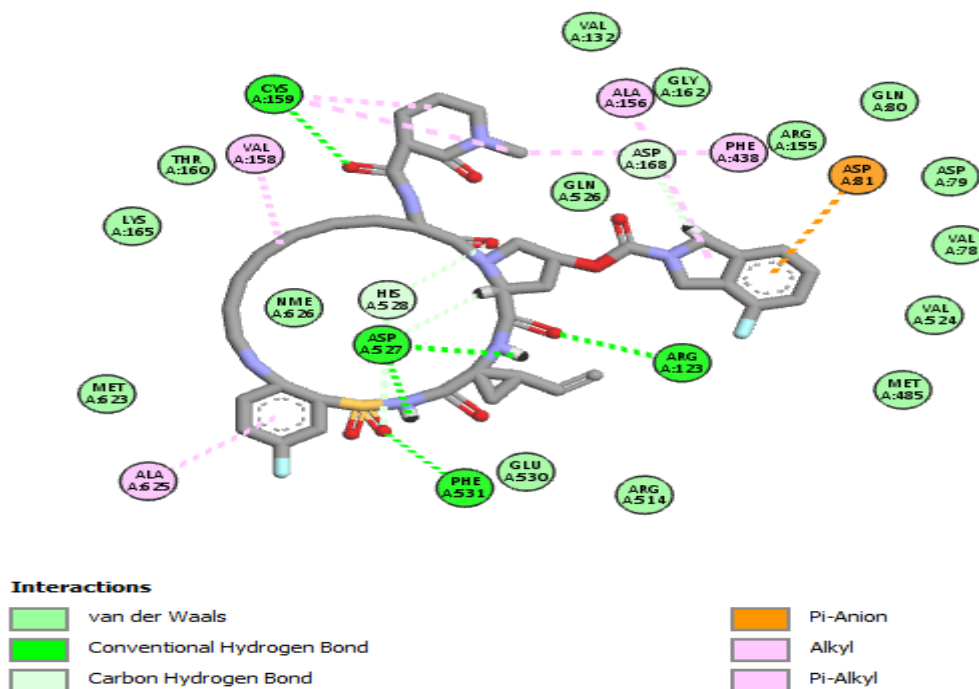


Figure III.9: Interactions entre le ligand de réf et l'enzyme 4A92

Tableau III.7 Interactions entre le ligand de réf et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92.

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:ARG123:HH22 - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,41337	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:CYS159:HG - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,33701	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 A:PHE531:H - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,0442	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :*O:H - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,67306	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 :*O:H - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	1,9535	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6 :*O:H - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,61587	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7 :*O:H - A:ASP527:O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,40017	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
8 :*O:H - A:ASP527:O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,3802	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
9 A:HIS528:HA - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,67417	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10 A:HIS528:HD2 - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,47013	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11 :*O:H - A:ASP527:O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,58496	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
12 :*O:H2 - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,81533	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
13 :*O:H1 - A:ASP168:OD2	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,62408	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
14 A:ASP81:OD2 - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,73811	Electrostatic	Pi-Anion
15 A:ALA156 - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,64163	Hydrophobic	Alkyl
16 A:VAL158 - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,22692	Hydrophobic	Alkyl
17 A:CYS159 - :*O	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,41312	Hydrophobic	Alkyl
18 :*O:C - A:CYS159	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,07885	Hydrophobic	Alkyl
19 A:PHE438 - :*O:C	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,38999	Hydrophobic	Pi-Alkyl
20 :*O - A:ALA625	✓Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,22379	Hydrophobic	Pi-Alkyl

Les interaction 96-4A92 :

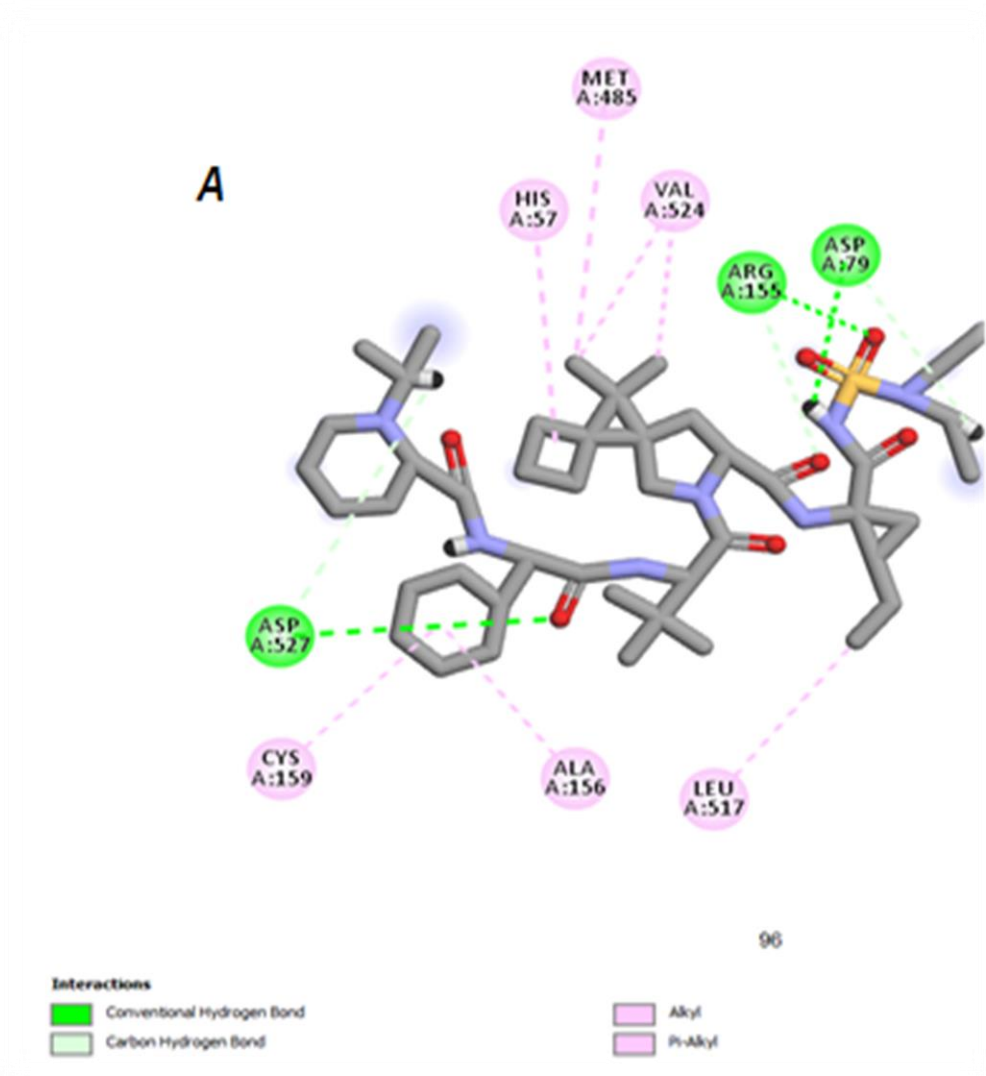
Ce complexe a un score de -10,44 kcal/mol et forme 13 liaisons :

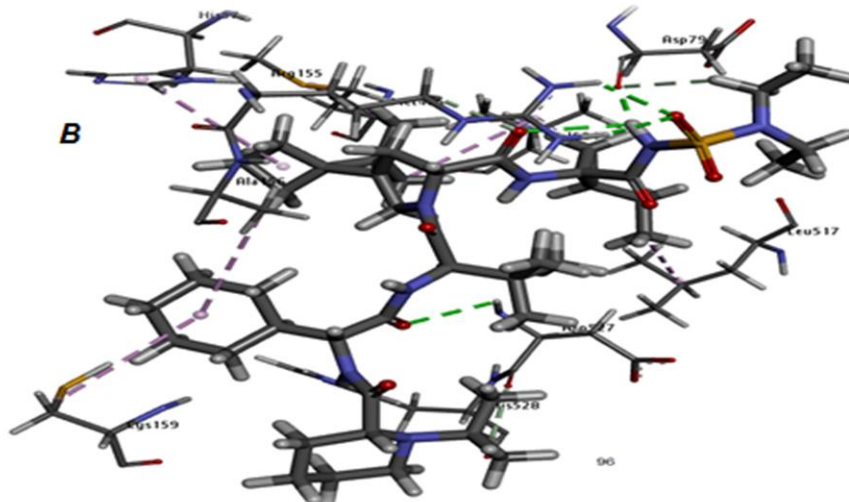
Sept liaisons hydrophobique :

- Deux liaisons entre le cyclohexane du ligand et le résidu **ALA156** et **CYS159**, les distances sont respectivement de 4.99 Å et 5.17 Å.
- Quater liaisons sont liées entre l'atome de carbone et les résidus : **VAL524** avec deux distances 4.70 Å et 4.52 Å, **LEU517** et **MET485** avec les distances respectivement 4.16 Å et 5.08Å selon le type « **Alkyle** »
- Une liaison entre le cyclobutane du ligand et le résidu **HIS57**de distance 5.06Å.

Six liaisons hydrogènes :

- Trois liaisons formés entre l'atome d'oxygène et les résidus **ASP527** et **ARG155** avec les distances respectivement : 2.40 Å et 2.93 Å selon le type « **conventionnel hydrogène bond** », et **ARG155** par une distance 2.83 Å, selon le type « **carbone hydrogène bond** ».
- Trois liaisons de types H, sont liées entre l'hydrogène de ligand et les résidus **ASP79** et **ASP527** avec les distances respectivement :2.73 Å,2.98 Å selon le type « **carbone hydrogène bond** », et **ASP79** par une distance 1.89 Å selon le type « **conventionnel hydrogène bond** ».





**Figure III.10:** Interactions entre le ligand 96 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92 (A/2D, B/3D)

**Tableau III.8** Interactions entre le ligand 96 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category
1	A:ARG155:HH11 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,40009	Hydrogen Bond
2	A:ARG155:HH21 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,83186	Hydrogen Bond
3	A:ASP527:HN - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,93078	Hydrogen Bond
4	*O:H - A:ASP79:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	1,89951	Hydrogen Bond
5	*O:H - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,68804	Hydrogen Bond
6	A:ARG155:HD2 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,63935	Hydrogen Bond
7	*O:H2 - A:ASP79:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,73819	Hydrogen Bond
8	*O:H - A:ASP527:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,9888	Hydrogen Bond
9	A:ALA156 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,99058	Hydrophobic
10	A:CYS159 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,17283	Hydrophobic
11	*O:C - A:LEU517	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,16611	Hydrophobic
12	*O:C - A:VAL524	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,70918	Hydrophobic
13	*O:C - A:MET485	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,08932	Hydrophobic
14	*O:C - A:VAL524	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,52403	Hydrophobic
15	A:HIS57 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,0629	Hydrophobic



**Figure III.11** : le complexe 96-4A92.

#### **Les interactions 31-4A92 :**

Ce complexe montre un score de -9.67 kcal/mol, il forme avec l'enzyme 15 liaisons en sachant que :

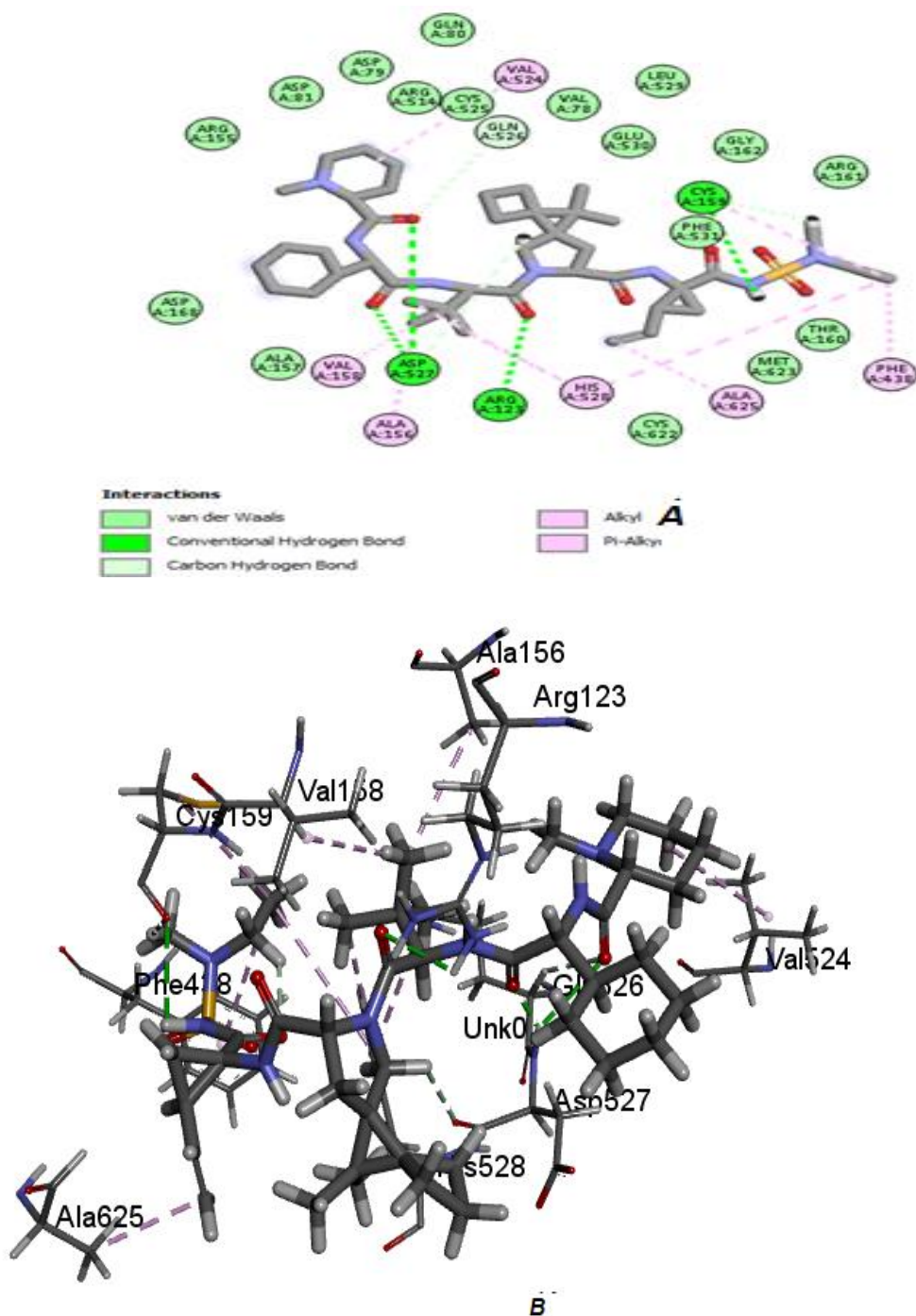
Sept liaisons fortes de type hydrogène :

- Quater liaisons sont liées entre l'atome d'oxygène de composé et les résidus suivants : **ASP527** avec deux distances 2.0001Å et 2.70412 Å, selon la catégorie « **conventionnel hydrogène bond** » et **ARG123** à une distance :2,6872 Å, selon le type « **Conventionnel hydrogène bond** » et **GLN526** avec une distance :2.79 Å, selon la catégorie « **carbone hydrogène bond** ».
- Les autres liaisons hydrogènes sont liées entre l'atome d'hydrogène de ligand et les résidus : **CYS159** avec deux distance :3.07457Å et 2.58519Å, et **ASP527** avec une distance :2.89007 Å.

D'autre part, ce ligand forme huit liaisons de type hydrophobique, l'une est lié entre le cyclohexane de ligand et le résidu : **VAL524** à une distance 4,82776 Å. Les autres liaisons sont liées entre l'atome de carbone et les résidus **HIS528** avec deux distances différentes



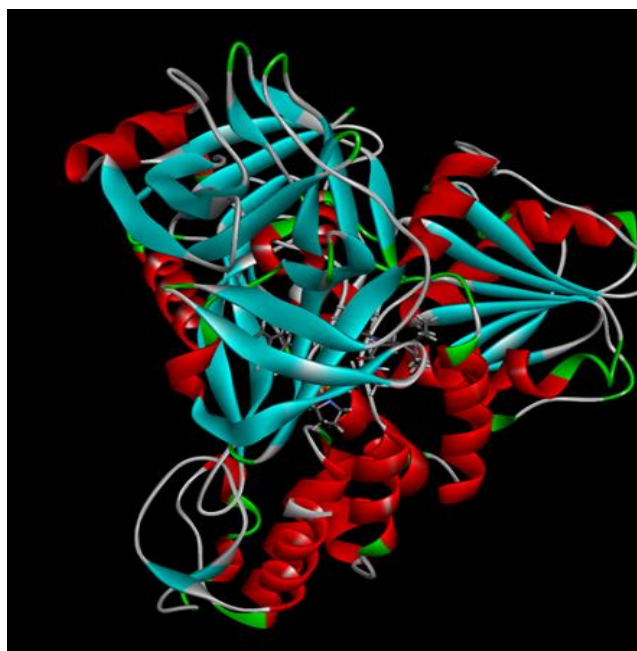
5.2679 Å et 4.89551 Å, et VAL158, ALA156, ALA625, PHE438 et CYS159 avec les distances respectivement :4.76514 Å,4.09308 Å,3.6371 Å,5.32422 Å.



**Figure III.12:** Interactions entre le ligand 33 et les résidus de4A92 (A/2D, B/3D)

**Tableau III.9** : Interactions entre le ligand 33 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92

	Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category
1	A:ARG123:HH21 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2,68372	Hydrogen Bond
2	A:ASP527:H - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2,0001	Hydrogen Bond
3	A:ASP527:H - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	2,70412	Hydrogen Bond
4	:*O:H - A:CYS159:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: green;">■</span>	Ligand No...	3,07457	Hydrogen Bond
5	A:GLN526:HA - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand No...	2,79357	Hydrogen Bond
6	:*O:H2 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand No...	2,68738	Hydrogen Bond
7	:*O:H2 - A:CYS159:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand No...	2,58519	Hydrogen Bond
8	:*O:H2 - A:ASP527:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: lightgreen;">■</span>	Ligand No...	2,89007	Hydrogen Bond
9	A:ALA156 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4,09386	Hydrophobic
10	A:VAL524 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4,82776	Hydrophobic
11	A:ALA625 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	3,63471	Hydrophobic
12	:*O:C - A:CYS159	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4,9377	Hydrophobic
13	:*O:C - A:VAL158	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4,76514	Hydrophobic
14	A:PHE438 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	5,32422	Hydrophobic
15	A:HIS528 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	5,19618	Hydrophobic
16	A:HIS528 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	5,2679	Hydrophobic
17	A:HIS528 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<span style="color: magenta;">■</span>	Ligand No...	4,89551	Hydrophobic

**FigureIII.13** : le complexe 33-4A92

**Les interactions 183-4A92 :**

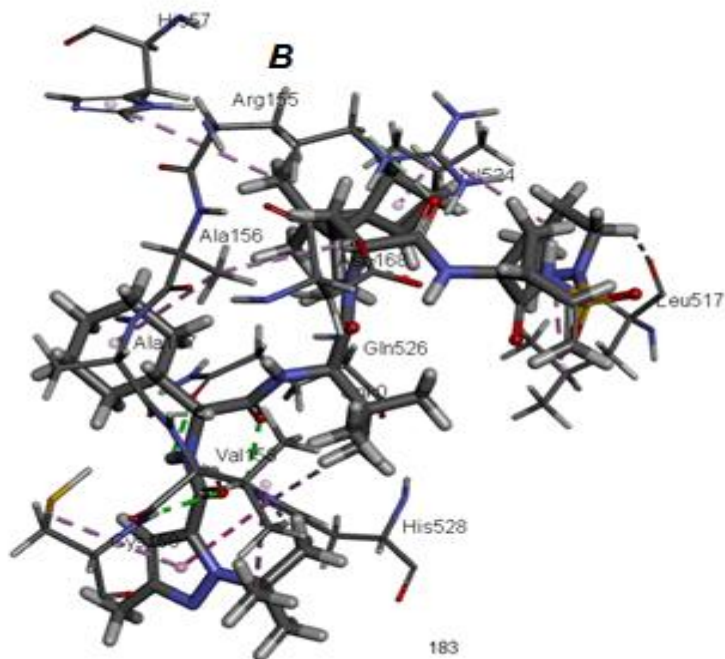
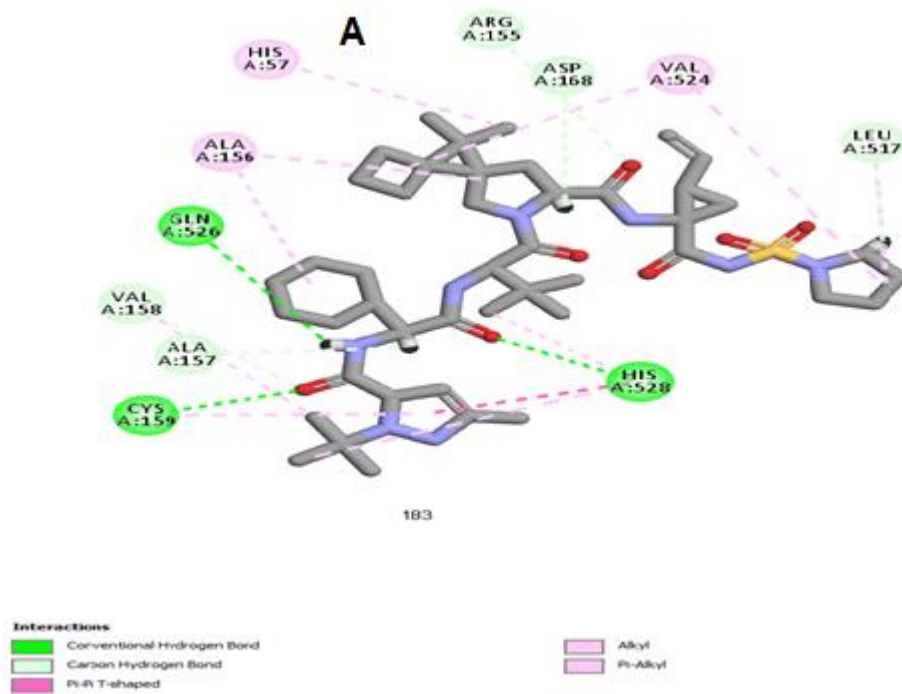
Les résultats montrent que le ligand 183 a un score de -10.59Kcal/mol et que ce complexe est impliqué dans la réalisation de 19 liaisons avec le site actif de notre enzyme 4A92. Ce complexe peut être classé comme suit :

Huit liaisons d'hydrogène :

- Quatre formés entre l'oxygène du ligand et les résidus **CYS159** avec deux distances différentes 2.40 Å et 2.35 Å selon le type « **conventionnel hydrogène bond** », et **ASP527** Å selon la catégorie « **conventionnel hydrogène bond** » et **VAL158**, **ARG155** avec les distances respectivement 2.52 Å et 3.09 Å Selon le type « **carbone hydrogène bond** ».
- Quatre liaisons de type H sont liées entre l'hydrogène de ligand et le résidu **LEU517**, **ASP168** et **ALA157** avec les distances respectivement 2.60 Å, 2.62 Å, 2.39 Å, selon le type « **carbone hydrogène bond** », **GLN526** par une distance 2.87 Å, selon la catégorie « **conventionnel hydrogène bond** ».

Onze liaisons hydrophobique :

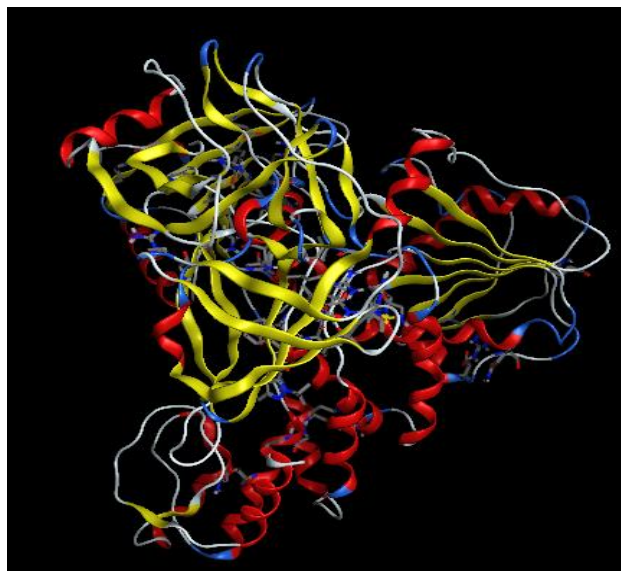
- Quatre liaisons sont liées entre l'atome de carbone et les résidus : **HIS528** avec trois distances différentes 5.12 Å, 4.88 Å et 5.28684 Å, **VAL158** et **HIS57** avec les distances respectivement 5.05 Å et 5.43 Å.
- Deux liaisons sont liées entre le cyclopentène de ligand et les résidus : **HIS528** et **CYS159** avec les distances respectivement : 5.02 Å, 5.14 Å.
- Trois liaisons entre le cyclopentane du ligand et le résidu **ALA156**, **LEU517** et **VAL524** les distances respectivement 4.63 Å, 5.27 Å et 4.35 Å.
- Une liaison entre le cyclobutane de ligand et le résidu : **VAL524** à une distance 4.24 Å
- Une liaison entre le cyclohexane du ligand et le résidu : **ALA156** par une distance 4.76 Å.



**FigureIII.14** : Interactions entre le ligand 183 et les résidus de4A92 (A/2D, B/3D).

**Tableau III.10** : Interactions entre le ligand 183 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92.

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:CYS159:HN - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond Monitor	2,35912	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:HIS528:HE2 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond Monitor	2,4002	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :*O:H - A:GLN526:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond Monitor	2,87784	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 A:ARG155:HD2 - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	3,095	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
5 A:VAL158:HA - :*O:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	2,5693	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6 :*O:H - A:ALA157:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	2,39651	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7 :*O:H - A:ASP168:OD2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	2,26596	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 :*O:H2 - A:LEU517:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	2,60833	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9 A:HIS528 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	5,02451	Hydrophobic	Pi-Pi T-shaped
10 A:ALA156 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,63114	Hydrophobic	Alkyl
11 A:ALA156 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,76294	Hydrophobic	Alkyl
12 A:VAL524 - :*O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,24907	Hydrophobic	Alkyl
13 :*O - A:LEU517	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	5,27088	Hydrophobic	Alkyl
14 :*O - A:VAL524	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,35486	Hydrophobic	Alkyl
15 :*O:C - A:VAL158	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	5,0573	Hydrophobic	Alkyl
16 A:HIS57 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	5,43054	Hydrophobic	Pi-Alkyl
17 A:HIS528 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,88853	Hydrophobic	Pi-Alkyl
18 A:HIS528 - :*O:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	5,12978	Hydrophobic	Pi-Alkyl
19 :*O - A:CYS159	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	5,14053	Hydrophobic	Pi-Alkyl

**Figure III.15** : le complexe 183-4A92**Les interactions 182-4A92 :**

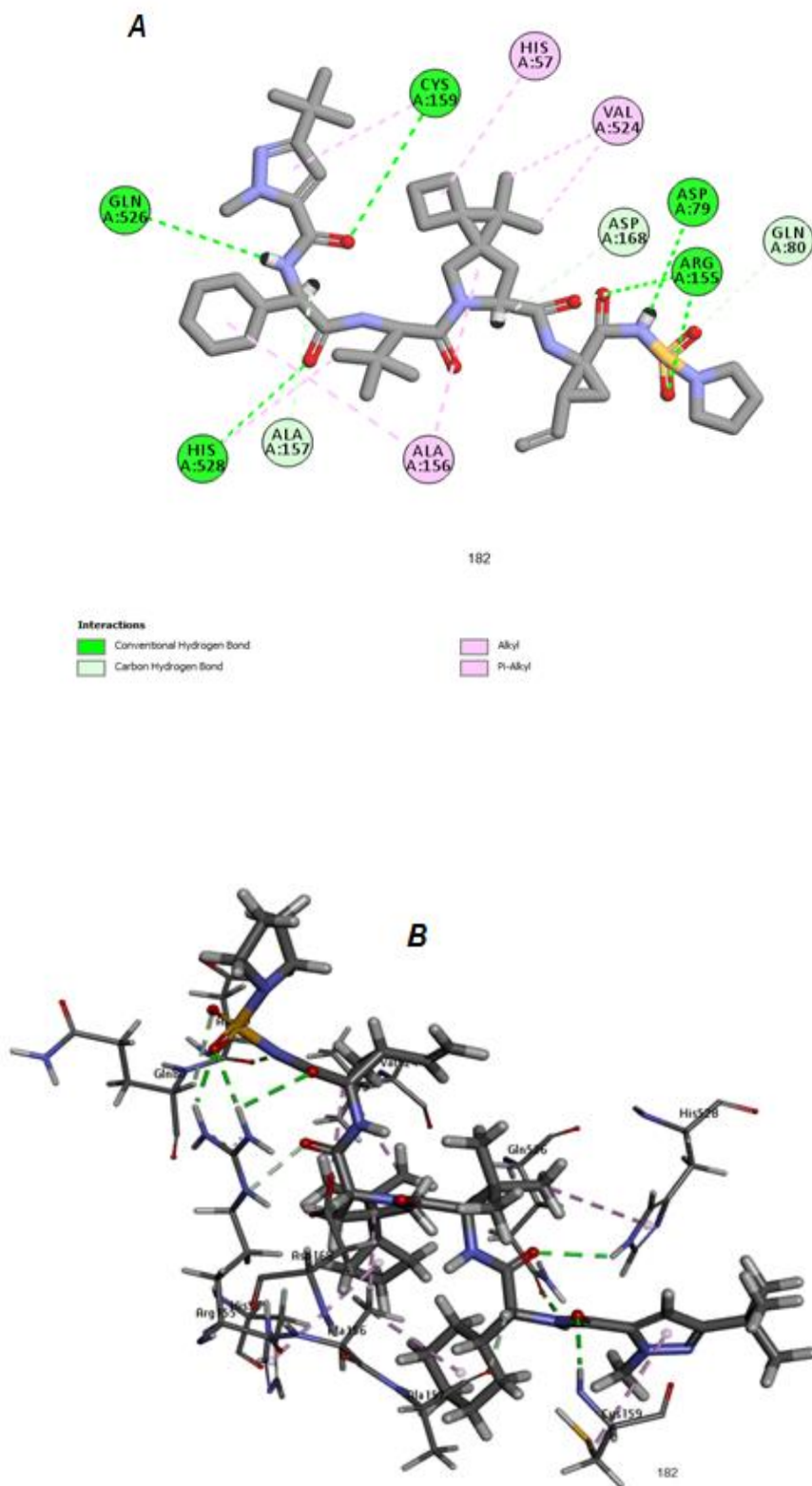
Le complexe 182-4A92 a un score de -11,04 Kcal/mol, et ce composé a le meilleur score d'amarrage moléculaire par rapport aux autres composés, c'est-à-dire le meilleur inhibiteur de notre criblage virtuel, qui se forme avec l'enzyme à 17 liaisons.

Dix liaisons fortes d'hydrogène :

- Six liaisons sont liées entre l'atome d'oxygène de ligand et les résidus : **ARG155**, par deux distances de 2.81 Å et 2.56 Å, et **CYS159** par une distance 2.37 Å, selon la catégorie « **conventionnel hydrogène bond** », **GLN80** et **ASP155** avec les distances respectivement : 2.81 Å et 3.75 Å, selon la catégorie « **carbone hydrogène bond** ».
- Quater liaisons de type H sont liées entre l'hydrogène de ligand et le résidu : **ASP79**, **GLN526** avec les distances respectivement : 2.02 Å, 2.37 Å selon le type « **conventionnel hydrogène bond** », et **ASP168** et **ALA157** avec les distances : 2.58 Å et 2.39 Å, selon le type « **carbone hydrogène bond** ».

Sept liaisons hydrophobique :

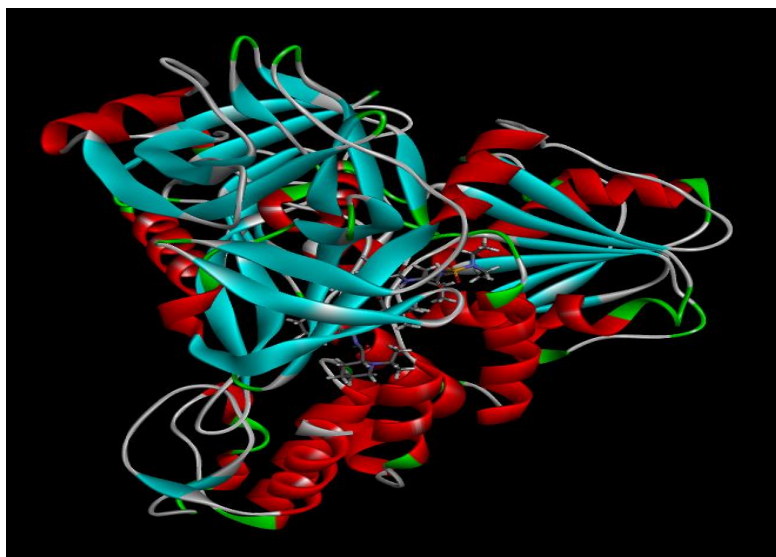
- Trois liaisons sont liées entre l'atome de carbone et les résidus : **VAL524** avec deux distances : 4.75 Å et 4.64 Å, et **HIS528** par une distance 5.06 Å, selon le type Alkyle.
- Une liaison entre le cyclobutane de ligand et le résidu : **HIS57** à une distance 5.22 Å.
- Une liaison entre le cyclopentadiene du ligand et le résidu : **CYS159** par une distance 5.10 Å.
- Une liaison entre le cyclopentane du ligand et le résidu : **ALA156** par une distance 4.39 Å.
- Une liaison entre le cyclohexane du ligand et le résidu : **ALA156** par une distance 4.53 Å.



**Figure III.16** : Interactions entre le ligand 182 et les résidus de 4A92 (A/2D, B/3D).

**Tableau III.11:** Interactions entre le ligand 182 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:ARG155:HH11 - : *0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,07499	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:ARG155:HH21 - : *0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,81769	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 A:ARG155:HH21 - : *0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,56491	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 A:CYS159:H - : *0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,37792	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 A:HIS528:HE2 - : *0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,59459	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6 : *0:H - A:GLN526:OE1	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,37656	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7 : *0:H - A:ASP79:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,02772	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
8 A:GLN80:HA - : *0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,81435	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9 A:ARG155:HD3 - : *0:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,75347	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10 : *0:H - A:ASP168:OD2	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,5848	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11 : *0:H - A:ALA157:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	2,39053	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
12 A:ALA156 - : *0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,53267	Hydrophobic	Alkyl
13 A:ALA156 - : *0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,39866	Hydrophobic	Alkyl
14 : *0:C - A:VAL524	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,756	Hydrophobic	Alkyl
15 : *0:C - A:VAL524	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	4,64989	Hydrophobic	Alkyl
16 A:HIS57 - : *0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,11027	Hydrophobic	Pi-Alkyl
17 A:HIS528 - : *0:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,0629	Hydrophobic	Pi-Alkyl
18 : *0 - A:CYS159	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	■	Ligand Non-bond Monitor	5,10348	Hydrophobic	Pi-Alkyl

**Figure III.17 :** le complexe 182-4A92.**Les interactions 33-4A92 :**

Ce complexe a un score de -10,18 kcal/mol et forme 14 liaisons :

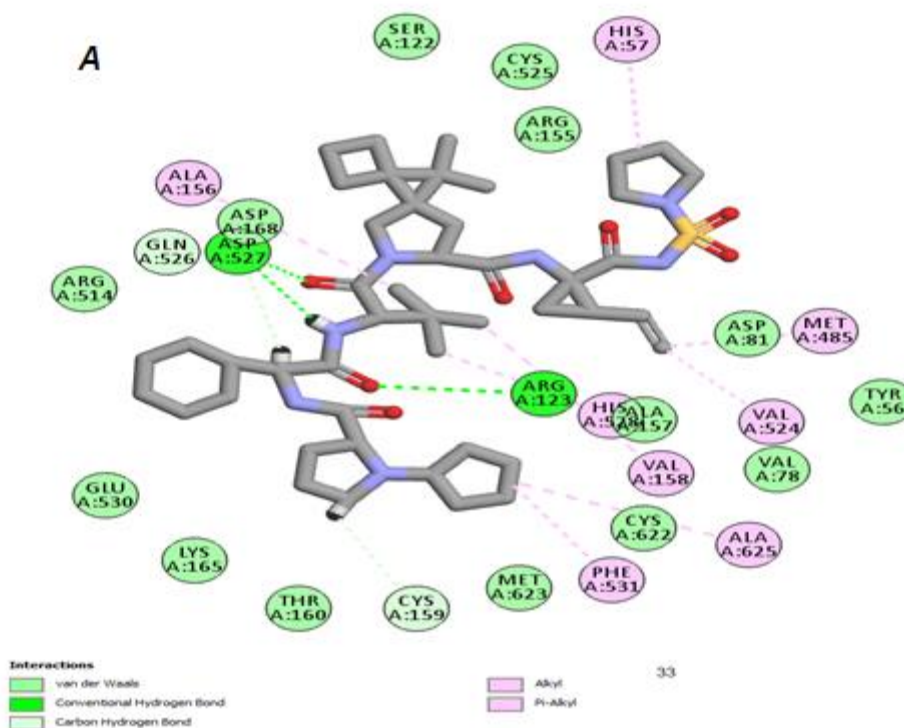
Huit liaisons hydrophobique :

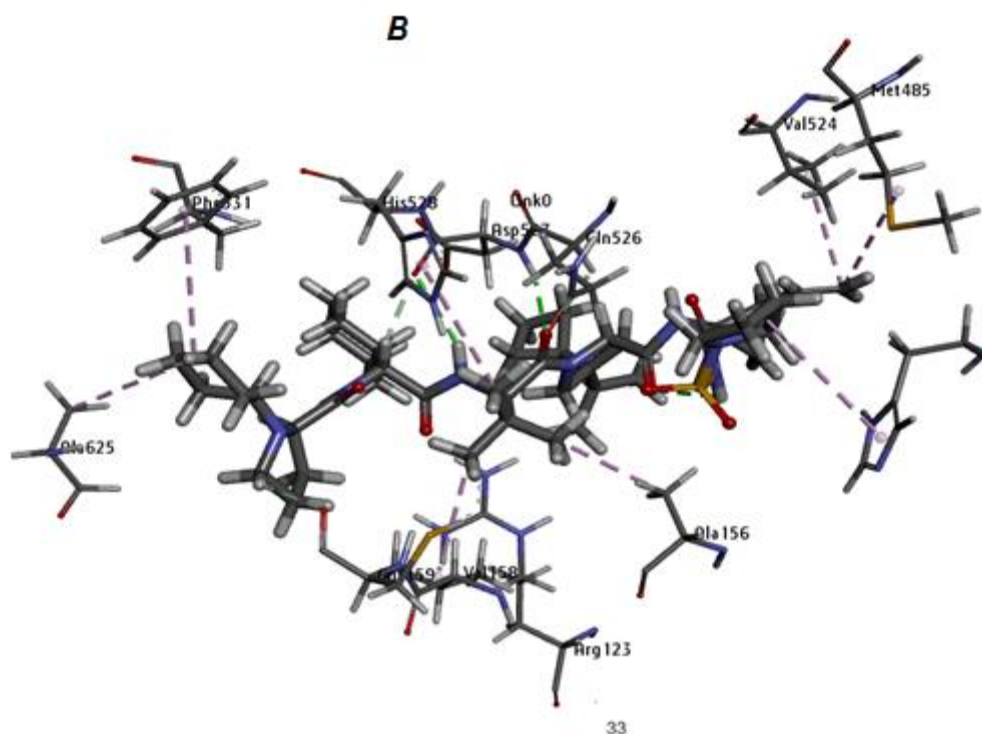


- Trois liaisons entre le cyclopentane du ligand et les résidus **HIS57**, **ALA625** et **PHE531**, les distances sont respectivement de 5.09 Å, 4.71 Å et 4.72 Å.
- Cinq liaisons sont liées entre l'atome de carbone et les résidus : **MET585**, **VAL524**, **ALA156**, **VAL158** et **HIS528** avec les distances respectivement 4.67 Å, 4.34Å, 3.68 Å ,4.08 Å et 4.65 Å selon le type « **Alkyle** »

Six liaisons hydrogène :

- Trois liaisons formés entre l'atome d'oxygène et les résidus **ARG123** et **ASP527** avec les distances respectivement : 1.86 Å et 2.09 Å selon le type « **conventionnel hydrogène bond** », et **GLN526** par une distance 2.55 Å, selon le type « **carbone hydrogène bond** ».
- Trois liaisons de types H, sont liées entre l'hydrogène de ligand et les résidus **CYS159** et **ASP527** avec les distances respectivement :2.68 Å,2.41 Å selon le type « **carbone hydrogène bond** », et **ASP527** par une distance 2.86 Å selon le type « **conventionnel hydrogène bond** ».





**Figure III.18** : Interactions entre le ligand 33 et les résidus de 4A92 (A/2D, B/3D).

**Tableau III.12**: Interactions entre le ligand 182 et les résidus de site actif de l'enzyme 4A92

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types
1 A:ARG123:HH21 - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond Monitor	1,86435	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2 A:ASP527:HN - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond Monitor	2,09705	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3 :*:O:H - A:ASP527:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond Monitor	2,68901	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4 :*:O:H - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Green	Ligand Non-bond Monitor	3,02508	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5 A:GLN526:HA - :*:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	2,55169	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6 :*:O:H - A:ASP527:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	2,41196	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7 :*:O:H1 - A:CYS159:O	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Light Green	Ligand Non-bond Monitor	2,68491	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8 A:ALA156 - :*:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	3,68742	Hydrophobic	Alkyl
9 A:ALA625 - :*	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,77494	Hydrophobic	Alkyl
10 :*:C - A:VAL158	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,08517	Hydrophobic	Alkyl
11 :*:C - A:MET485	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,67538	Hydrophobic	Alkyl
12 :*:C - A:VAL524	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,34353	Hydrophobic	Alkyl
13 A:HIS57 - :*	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	5,09775	Hydrophobic	Pi-Alkyl
14 A:HIS528 - :*:C	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,65906	Hydrophobic	Pi-Alkyl
15 A:PHE531 - :*	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	Pink	Ligand Non-bond Monitor	4,72686	Hydrophobic	Pi-Alkyl



**FigureIII.19** : le complexe 33-4A92

#### **4.3. Discussion de Docking moléculaire :**

Les résultats présentés dans le Tableau (Annexe N°2) révèlent qu'un total de 174 inhibiteurs à faible énergie (score < F9K) ont été identifiés. Parmi ces inhibiteurs, les cinq ligands 31, 33, 96, 183 et 182 forment les complexes avec le récepteur 4A92 présentant les scores les plus bas par rapport au ligand de référence. Cela suggère que ces complexes sont les plus stables parmi tous les inhibiteurs étudiés. La classification de ces ligands révèle que L182 est le plus stable, suivi de L183, L96, L33 et L31, tandis que le ligand de référence (F9K) présente un score de -8,82 (kcal/mol).

D'après le Tableau IV.3, il a été observé que certains acides aminés sont communs entre le ligand de référence (Lréf) et notre ligand étudié. Ces acides aminés comprennent HIS528, VAL158, ALA157, ALA156, ALA625, ARG123, ASP527 et CYS159. Ils ont joué un rôle important dans la formation des conformations les plus favorables pour notre ligand.

Ces acides aminés ont également été identifiés comme étant les principaux résidus interagissant dans le site actif de la cible. Leur présence et leur interaction avec le ligand suggèrent leur rôle crucial dans la reconnaissance et la liaison spécifique du ligand à l'enzyme

Selon les résultats de Tableaux III.7-12 :

Nous avons constaté que les distances d'interactions hydrogène dans nos complexes étaient généralement courtes (Distances entre 2,5 Å et 3,1 Å), ce qui suggère une interaction forte.

Le nombre de liaisons hydrogène dans les complexes formés est élevé, ce qui a contribué à la stabilité de ces composés.

### 5. Résultats des propriétés moléculaires (Drug likeness) :

Selon l'étude précédente, nous avons récupéré dix-neuf composés comme les meilleurs inhibiteurs (score <-10). Pour une étude plus approfondie, ont évalué les propriétés moléculaires de ces composés selon La règle de cinq (règle de Lipinski).

#### 5.1. Application de la règle de cinq (règle de Lipinski) :

Tableau III.13 présente les résultats de l'évaluation de la règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs. Ces résultats sont obtenus en utilisant l'outil web SwissADME.

**Tableau III.13:** Résultats d'application de la Règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs de 4A92.

N°	Cid	MW <500	Logp ≤5	HBA < 10	HBD < 5	N° de la violation	LogS <-6
7	59533233	830.13	2.23	9	4	1	-7.60
13	59533351	882.21	2.88	9	4	1	-8.53
21	59533220	912.23	2.30	10	4	1	-8.20

<b>30</b>	59533303	870.20	2.72	9	4	1	-8.25
<b>33</b>	59533280	868.18	2.72	9	4	1	-8.21
<b>34</b>	59533224	842.14	2.39	9	4	1	-7.76
<b>88</b>	59533289	842.14	2.39	9	4	1	-7.65
<b>89</b>	59533389	872.13	0.92	11	4	2	-6.10
<b>93</b>	59533169	858.18	2.56	9	4	1	-8.21
<b>96</b>	59533381	860.20	2.63	9	4	1	-8.28
<b>103</b>	59533265	856.17	2.56	9	4	1	-7.26
<b>104</b>	59533366	844.16	2.39	9	4	1	-7.80
<b>107</b>	59533259	878.12	2.56	11	4	2	-8.18
<b>137</b>	59533191	858.14	1.66	10	4	1	-6.97
<b>158</b>	59533247	858.10	2.86	9	4	1	-8.38
<b>165</b>	59533383	851.11	2.38	9	4	1	-7.88
<b>173</b>	59533319	839.10	2.12	9	4	1	-7.29
<b>182</b>	59533304	867.15	2.71	9	4	1	-8.11
<b>183</b>	59533322	802.08	1.89	9	4	1	-6.88
<b>Lréf</b>	F9K	867.96	1.33	11	4	2	-7.19

- Tous les ligands, y compris F9K, ont un poids moléculaire supérieur à 500 Da, ce qui rend leur pénétration à travers les membranes cellulaires plus difficile. En raison de leur taille et de leur poids, ces ligands peuvent avoir du mal à traverser la barrière lipidique des membranes cellulaires.

- D'après le Tableau III.13, on peut observer que la plupart des ligands présentent un nombre d'accepteurs d'hydrogène (HBA) inférieur à 10, à l'exception des ligands 21, 89 et 137

Une faible valeur de HBA indique que la molécule a moins d'atomes susceptibles de former des liaisons hydrogène. Cela peut influencer la capacité du ligand à établir des interactions spécifiques avec la protéine cible.

- Selon les données du Tableau III.13, il est observé que tous les ligands présentent un nombre de donneurs d'hydrogène inférieur à 5. Cela peut favoriser la perméabilité des ligands à travers les membranes cellulaires
- Le coefficient de partage est un moyen de mesurer la propension d'une molécule à diffuser à travers les membranes, qui est liée à sa propension à diffuser dans un solvant organique. On peut avoir à travers le (Tableau III.13) que la valeur de log P est inférieur à cinq, alors il y a une bonne absorption orale et intestinale.
- Le L<sub>réf</sub> a un nombre d'accepteurs d'hydrogène supérieur à 10 et un nombre de donneurs d'hydrogène inférieur à 5.
- La solubilité dans l'eau (LogS) : est une mesure de la quantité de substance chimique pouvant se dissoudre dans l'eau à une température donnée. L'unité de solubilité est généralement exprimée en mg / L (milligrammes par litre) ou en ppm (parties par million). Tous les valeurs de Log S est inférieur à -6 ce qui indique une solubilité réduite dans l'eau. **Nombre de violation** : Ont noté que les composés violent N<sub>v</sub>=1 (7,13, 21 ,30 ,33 ,34 ,88 ,93 ,96, 103, 104, 137, 158,165,173,182,183) puisque leur masse dépasse le poids requis.

Les composés 89 et 107 ont deux violations de Lipinski (des poids moléculaires supérieurs à 500 DA et des nombres d'accepteurs d'hydrogène supérieurs à 10).

Les résultats indiquent que 17 des composés étudiés répondent aux règles de Lipinski, ce qui suggère que ces ligands théoriquement ne devraient pas présenter de problèmes de biodisponibilité orale. Cependant, il est important de noter que le ligand de référence (L<sub>réf</sub>) ne répond pas à ces critères

## 6. propriétés ADME :

Après avoir évalué la conformité d'une molécule aux règles de Lipinski, il est important de mener des études ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion) pour évaluer ses propriétés pharmacocinétiques

L'étude du profil ADMET pour les dix-neuf composés est très importante afin de comprendre la capacité de ces composés à produire un effet thérapeutique comme souhaité et pour éviter la survenue d'effets secondaires pouvant entraîner des résultats négatifs.

**Tableau III.14:** Propriétés ADME des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 4A92.

N°	cid	GI-Absorption	BBB	Log KP	CYP1A2	CYP2C19	CYP2D6	CYP2C9	CYP3A4	P-gp
7	59533233	Faible	Non	-7.00	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
13	59533351	Faible	Non	-6.64	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
21	59533220	Faible	Non	-7.40	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
30	59533303	Faible	Non	-6.65	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
33	59533280	Faible	Non	-6.81	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
34	59533224	Faible	Non	-6.99	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
88	59533289	Faible	Non	-7.11	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
89	59533389	Faible	Non	-9.25	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
93	59533169	Faible	Non	-6.61	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
96	59533381	Faible	Non	-6.48	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
103	59533265	Faible	Non	-6.94	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
104	59533366	Faible	Non	-6.82	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui

<b>107</b>	59533259	Faible	Non	-6.98	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
<b>137</b>	59533191	Faible	Non	-8.08	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
<b>158</b>	59533247	Faible	Non	-6.70	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
<b>165</b>	59533383	Faible	Non	-7.05	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
<b>173</b>	59533319	Faible	Non	-7.29	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
<b>182</b>	59533304	Faible	Non	-6.99	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
<b>183</b>	59533322	Faible	Non	-7.45	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui
<b>Lréf</b>	F9K	Faible	Non	-9.02	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui

Les propriétés ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion) des composés sélectionnés après l'étude de docking moléculaire ont été prédites à l'aide du serveur en ligne SwissADME pour évaluer leurs propriétés pharmacocinétiques. Les résultats présentés dans le Tableau III.14 indiquent que tous les composés conçus ont des valeurs de log  $k_p$  négatives, ce qui suggère une mauvaise pénétration cutanée. De plus, les capacités d'absorption gastro-intestinale (GI) de tous les composés sont faibles

Selon les résultats obtenus avec le programme SwissADME, il a été observé que toutes les substances étudiées ne sont pas capables de traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB) et de pénétrer dans le cerveau. La barrière hémato-encéphalique est une barrière physiologique qui limite le passage de certaines substances du système sanguin vers le cerveau.

Cependant, dans le cas des composés candidats antiviraux, il n'est pas nécessaire qu'ils traversent la barrière hémato-encéphalique car leur cible d'action principale est située en dehors du système nerveux central.



Concernant l'inhibition des isoformes, la SwissADME a prédit que les molécules inhibent uniquement le CYP3A4 ; Ce résultat est considéré comme un point positif dans nos composés, car si un composé chimique proposé comme médicament inhibe toutes les enzymes cytochromes, cela pourrait avoir des conséquences néfastes sur le métabolisme et la santé humaine. Les enzymes cytochromes, en particulier les cytochromes P450, jouent un rôle crucial dans le métabolisme des médicaments et d'autres composés dans le corps.

### 7.1a Toxicité :

La prédiction de la toxicité par des méthodes *in silico* permet de réduire le besoin de tests *in vivo* coûteux et chronophages. Les méthodes *in silico* peuvent fournir rapidement des informations préliminaires sur la toxicité potentielle d'une substance, ce qui permet de prioriser les composés pour les études ultérieures [20]. Le tableau ci-dessous affiche les nombreux paramètres liés à la toxicité mesurés.

**Tableau III.15** : les résultats de la toxicité.

Composé	Hépatotoxicité	Cancérogénicité	Immunotoxicité	Mutagénicité	cytotoxicité	LD50 (Mg/kg)
7	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	3000
13	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	3000
21	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	1800
30	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	3000
33	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	3000
34	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	3000
88	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	1480

<b>89</b>	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	1800
<b>93</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	3000
<b>96</b>	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	3000
<b>103</b>	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	3000
<b>104</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	3000
<b>107</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	3000
<b>137</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	1800
<b>158</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	1000
<b>165</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	3000
<b>173</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	519
<b>182</b>	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	1000
<b>183</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	1480
<b>F9K</b>	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive	5000

D'après les résultats du Tableau III.15, Ces résultats sont encourageants, car ils indiquent que la majorité des composés étudiés ne présentent pas d'activité toxique indésirable, notamment en ce qui concerne l'hépatotoxicité, la cancérogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité et la cytotoxicité. Cela suggère que ces composés pourraient être relativement sûrs et avoir un potentiel d'utilisation dans des applications médicales ou pharmaceutiques.

Cependant, il convient de noter que certains composés (7, 21, 34, 93, 104, 107, 137, 158, 165, 173 et 183) ont montré une activité sur l'immunotoxicité. Cela soulève des préoccupations quant à leur impact potentiel sur le système immunitaire. Il serait important de poursuivre des études plus approfondies pour évaluer ces effets et déterminer si ces composés pourraient présenter des risques pour la santé.

Par ailleurs, les composés 13, 30, 33, 88, 89, 96, 103 et 182 ont été considérés comme ne présentant aucun danger, car ils ne présentaient pas d'activité toxique dans les différentes catégories évaluées. Cela suggère que ces composés pourraient être de bons candidats pour de futures études et éventuellement pour le développement de médicaments.

Il est important de souligner que ces résultats sont basés sur des prédictions de toxicité in silico et qu'ils doivent être confirmés par des études expérimentales approfondies pour une évaluation plus complète de la sécurité des composés.

#### **La dose létale médiane ou (LD50) :**

La valeur de la LD50 (Dose Létale Médiane) est utilisée pour évaluer la toxicité aiguë d'une substance [21]. C'est-à-dire sa capacité à causer la mort chez un pourcentage donné d'individus d'une population exposée. Dans le cas des ligands 7, 13, 30, 33, 34, 93, 96, 103, 104, 107, 165, ainsi que le ligand de référence F9K, on observe une LD50 comprise entre 2000 mg/kg et 5000 mg/kg. Indique que les composés sont considérés comme ayant une faible toxicité aiguë. Cela signifie que ces composés sont moins susceptibles de causer des effets toxiques graves ou la mort à l'exposition.

#### **8. Résultats de dynamique moléculaire :**

Les simulations de dynamique moléculaire sont réalisées sur les huit meilleurs inhibiteurs de l'enzyme 4A92, qui sont résulté d'après l'étude de Docking moléculaire et les paramètres ADMET. Pour cela on va utiliser l'énergie potentielle (U) pour le but d'évaluer et vérifier la stabilité de ces huit complexes. Le processus de simulation a été exécuté pendant 1000 Ps (1000 Ps d'équilibre et 900 Ps de production) afin de vérifier la stabilité des complexes Enzyme-ligand.

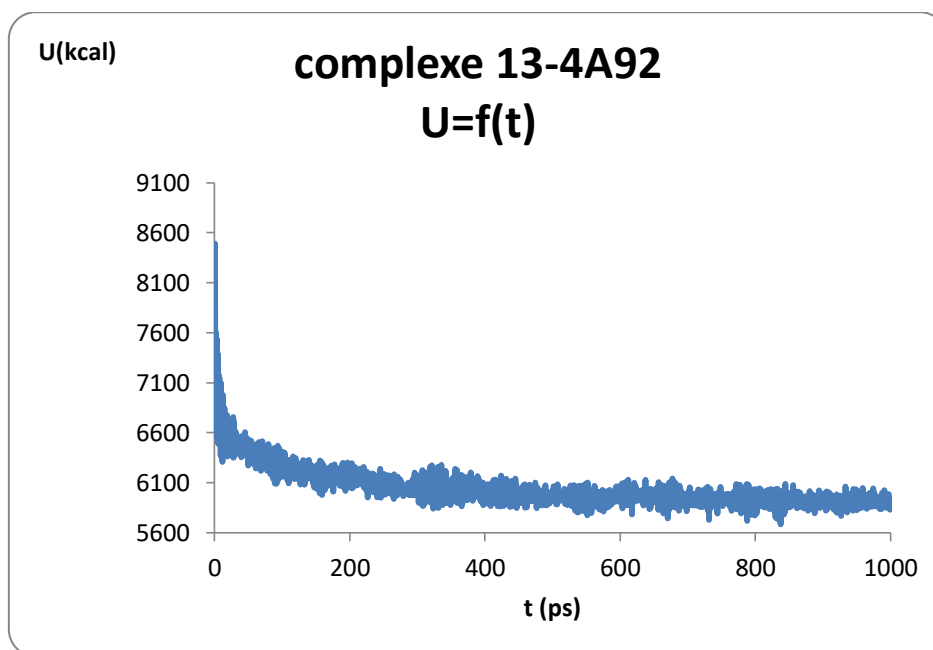
#### **Interprétation de la courbe du complexe 13-4A92 :**

**L'intervalle 1 (0-200 Ps) :** Dans ce premier intervalle, la courbe du complexe 13-4A92 a montré qu'un grand changement d'énergie potentielle de 7127,1 à 6193,5 kcal/mol entre 0 et 200 Ps.

**L'intervalle2 (200 Ps – 600 Ps) :** on remarque dans le deuxième intervalle une légère variation du potentiel d'énergie : 6193,5 à 6071,6 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** le troisième intervalle indiquant que l'énergie potentielle varié entre 600 Ps et 1000 Ps d'une valeur 6071,6 à 5853,6 kcal/mol.

La figure III.20 montre la variation de l'énergie potentielle de complexe 13-4A92 en fonction du temps pendant 1000 Pico seconde.



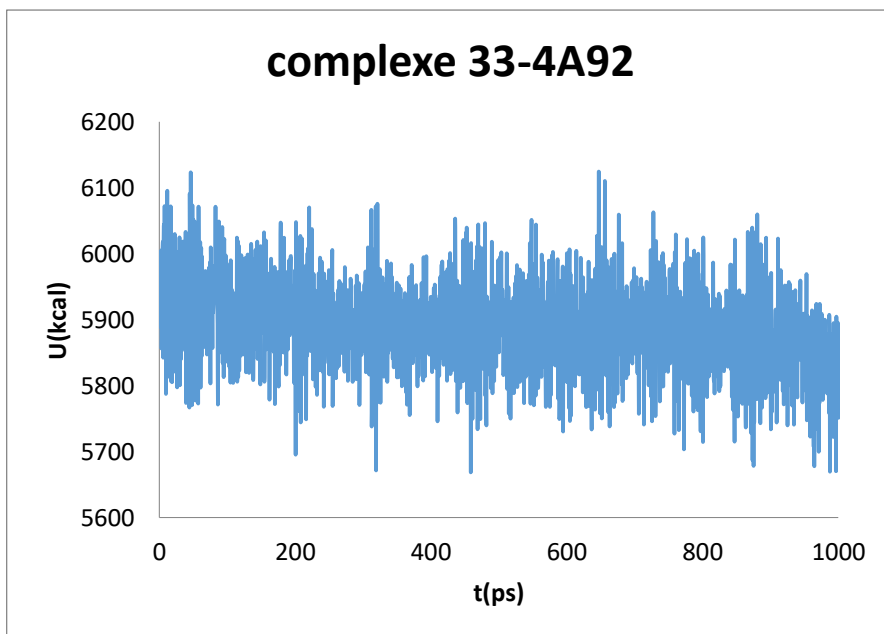
**Figure III.20 :** évaluation de l'énergie potentielle de complexe 13-4A92 en fonction de temps.

#### **Interpretation de la courbe du complexe 33-4A92 :**

**L'intervalle 1 (0-200 Ps) :** ce premier intervalle montre que l'énergie potentielle variant de 5967,4 à 5975,5 kcal/mol entre 0 et 200 Ps.

**L'intervalle2 (200 Ps – 600 Ps) :** on remarque aussi une légère variation du potentiel d'énergie : 5975,5 à 6000,9 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** finalement ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle de 6000,9 à 5751,0 kcal/mol.



**Figure III.21** : évaluation de l'énergie potentielle de complexe 33-4A92 en fonction de temps.

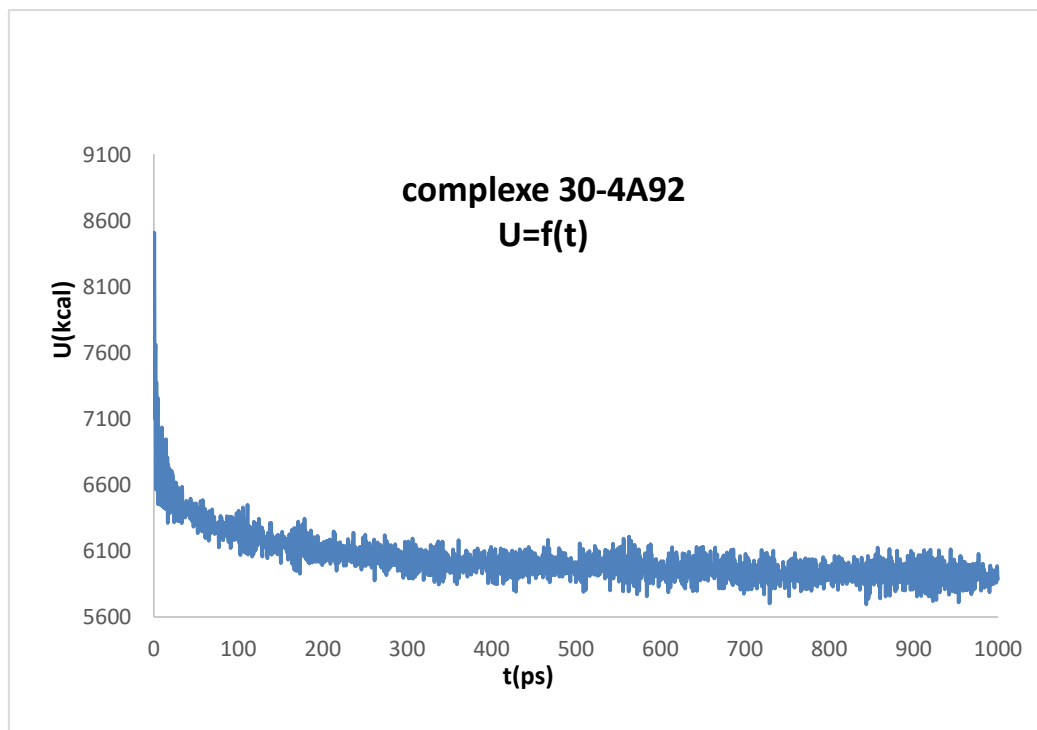
#### **Interprétation de la courbe du complexe 30-4A92 :**

**L'intervalle 1 (0-200 Ps) :** ce premier intervalle montre que l'énergie potentielle variant de 7127,1 à 6117,4 kcal/mol entre 0 et 200 Ps. C'est le plus grand changement d'énergie potentielle.

**L'intervalle2 (200 Ps – 600 Ps) :** on remarque aussi une légère variation du potentiel d'énergie : 6117,4 à 6005,4 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** finalement ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle de 6005,4 à 5887,1 kcal/mol

La figure III.22 montre l'énergie potentielle du complexe 30-4A92 en fonction du temps pendant 1000 picosecondes.



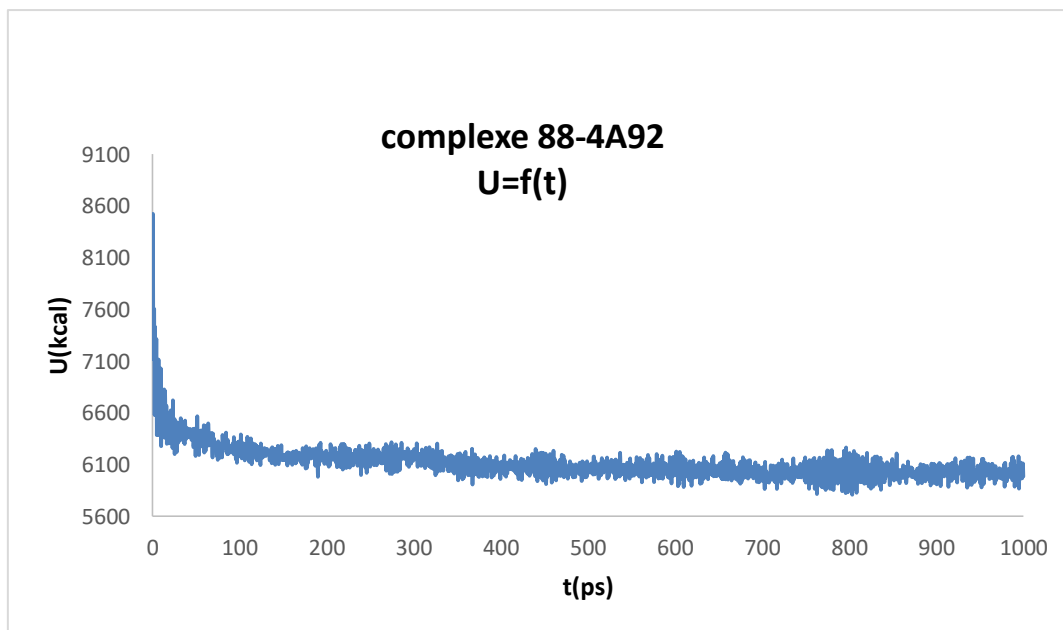
**Figure III.22** : évaluation de l'énergie potentielle de complexe 30-4A92 en fonction de temps.

#### **L'interprétation du complexe 88-4A92 :**

**L'intervalle 1 (0-200 Ps) :** ce premier intervalle montre que l'énergie potentielle variant de 7124,0 à 6155,7 kcal/mol entre 0 et 200 Ps.

**L'intervalle2 (200 Ps – 600 Ps) :** dans le deuxième intervalle on remarque qu'une légère variation du potentiel d'énergie : 6155,7 à 6040,6 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** finalement ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle de 6040,6 à 5987,9 kcal/mol.



**Figure III.23** : évaluation de l'énergie potentielle de complexe 88-4A92 en fonction de temps.

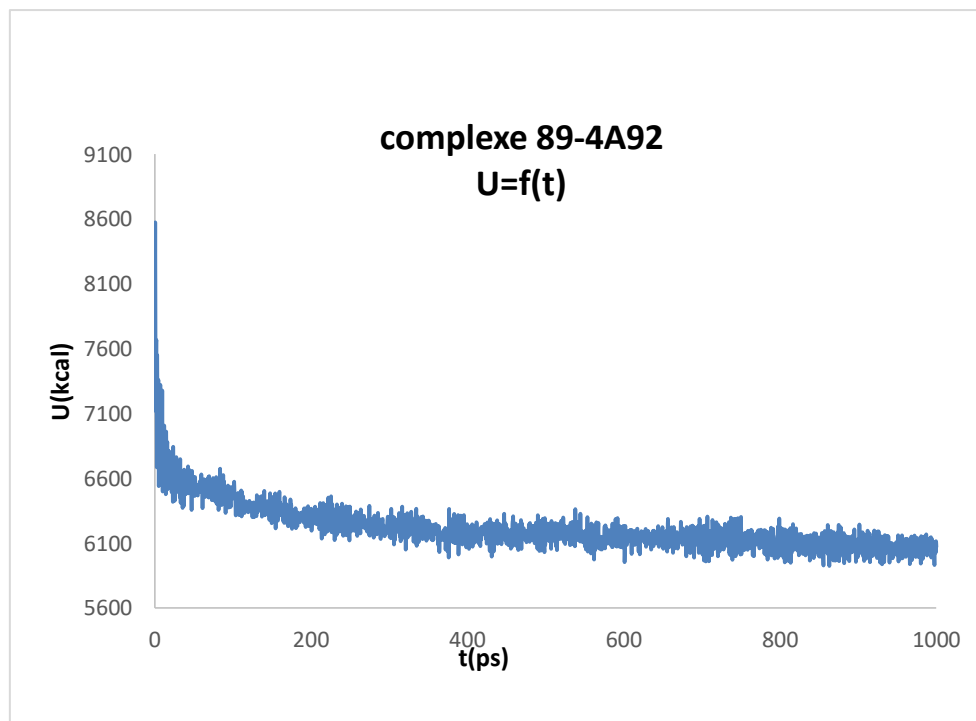
#### L'interprétation du complexe 89-4A92 :

**L'intervalle 1 (0-200 Ps)** : le premier intervalle montre que l'énergie potentielle variant de 7142,5 à 6365,0 kcal/mol entre 0 et 200 Ps.

**L'intervalle2 (200 Ps – 600 Ps)** : le deuxième intervalle on remarque qu'une légère variation du potentiel d'énergie : 6365,0 à 6062,2 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps)** : finalement ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle est assez faible de 6062,2 à 6072,1 kcal/mol.

La figure III.24 affiche l'énergie potentielle du complexe 89-4A92 en fonction du temps pendant 1000 picosecondes.



**Figure III.24** : évaluation de l'énergie potentielle de complexe 89-4A92 en fonction de temps.

#### L'interprétation du complexe 96-4A92 :

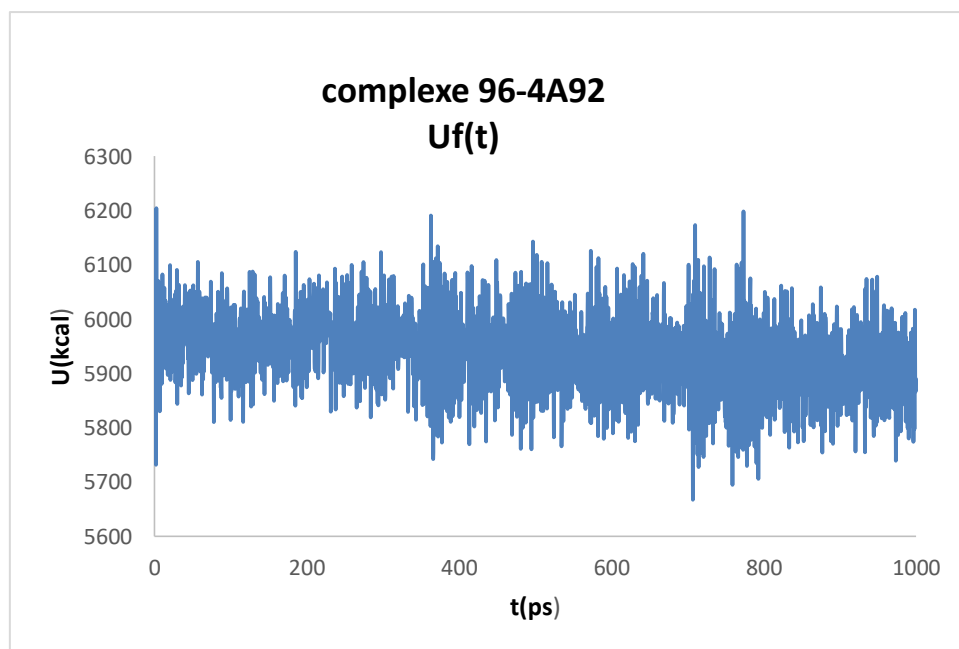
**L'intervalle 1 (0-200 Ps)** : Dans ce premier intervalle, la courbe du complexe 103-4A92a montrée qu'un changement d'énergie potentielle de 6151,7 à 5874,4 kcal/mol entre 0 et 200 Ps

**L'intervalle 2 (200 Ps – 600 Ps)** : le deuxième intervalle on remarque qu'une légère variation du potentiel d'énergie : 5874,4 à 5993,9 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps)** : ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle de 5993,9 à 5889,7 kcal/mol.

La figure III.25 affiche l'énergie potentielle du complexe 96-4A92 en fonction du temps pendant 1000 picosecondes.





**Figure III.25** : évaluation de l'énergie potentielle de complexe 96-4A92 en fonction de temps.

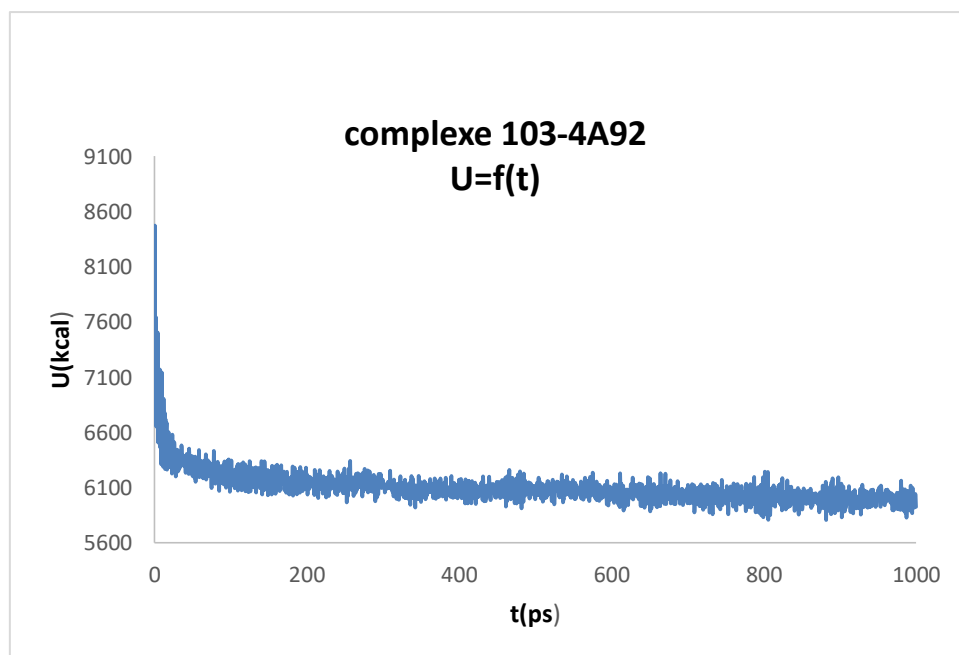
**Interprétation de la courbe du complexe 103-4A92 :**

**L'intervalle 1 (0-200 Ps) :** Dans ce premier intervalle, la courbe du complexe 103-4A92a montré qu'un grand changement d'énergie potentielle de 7130,8 à 6223,4 kcal/mol entre 0 et 200 Ps

**L'intervalle2 (200 Ps – 600 Ps) :** le deuxième intervalle on remarque qu'une légère variation du potentiel d'énergie : 6223,4 à 6068,2 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle de 6068,2 à 5926,4 kcal/mol.

La figure III.26 montre l'énergie potentielle du complexe 103-4A92 en fonction du temps pendant 1000 picosecondes



**Figure III.26:** évaluation de l'énergie potentielle de complexe 103-4A92 en fonction de temps.

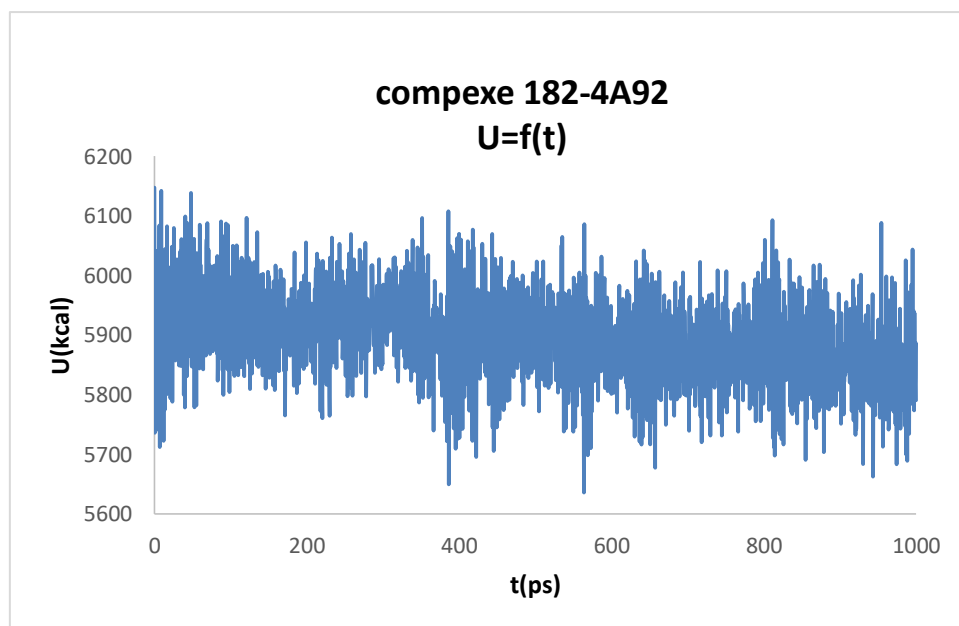
#### **Interprétation de la courbe du complexe 182-4A92 :**

**L'intervalle 1 (0-200 Ps) :** Dans ce premier intervalle, la courbe du complexe 103-4A92a montré qu'un changement d'énergie potentielle de 6147,4 à 5920,3 kcal/mol entre 0 et 200 Ps

**L'intervalle 2 (200 Ps – 600 Ps) :** le deuxième intervalle on remarque qu'une légère variation du potentiel d'énergie : 5920,3 à 5801,2 kcal/mol.

**L'intervalle 3 (600 Ps – 1000 Ps) :** ce dernier intervalle indiquant que la variation de l'énergie potentielle de 5801,2 à 5790,6 kcal/mol.

La figure III.27 montre l'énergie potentielle du complexe 182-4A92 en fonction du temps.



**Figure III.27:** évaluation de l'énergie potentielle de complexe 182-4A92 en fonction de temps.

Après l'interprétation des courbes des complexes 13-4A92, 33-4A92, 30-4A92, 88-4A92, 89-4A92, 96-4A92, 103-4A92 et 182-4A92, nous constatons que le changement d'énergie ( $\Delta U$ ) est faible, nous concluons que ces complexes conservent leur stabilité après 600 Ps (picosecondes).

Si l'on compare les interactions moléculaires avant et après la simulation de dynamique moléculaire (les tableaux dans l'annexe N°2) on observe que les interactions sont similaires.

Cela signifie que les interactions essentielles entre les molécules n'ont pas subi de changements significatifs pendant la simulation. Cela indique que les structures moléculaires sont relativement stables et conservent leurs interactions fonctionnelles.

**Les références :**

- [1] Perez, R.M. (2003). *Pharm. Biol.*, 41, 107-157.
- [2] Aurélien. G (2007). Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives (Thèse de doctorat). Université Joseph Fourier.
- [3] Schiering, N., D'Arcy, A., Simic, O., Eder, J., Raman, P., Svergun, D.I., Bodendorf, U. (2023). RCSB PDB protein data bank. 4A92 Full-length HCV NS3-4A protease-helicase in complex with a macrocyclic protease inhibitor. Released: 2023-04-01. Disponible sur: <https://www.rcsb.org/>
- [4] Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717> Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017).
- [5] Liu, T., Lin, Y., Wen, X., Jorissen, R. N., & Gilson, M. K. (2007). BindingDB: a web-accessible database of experimentally determined protein-ligand binding affinities. *Nucleic Acids Research*, 35(Database issue), D198-201. doi: 10.1093/nar/gkl999
- [6] Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., & Preissner, R. (2018). ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W257-W263. doi: 10.1093/nar/gky318.
- [7] Abdelall, E.K.A., Lamie, P.F., Ali, W.A.M. (2016). Cyclooxygenase-2 and 15 lipoxygenase inhibition, synthesis, anti-inflammatory activity and ulcer liability of new celecoxib analogues: Determination of region-specific pyrazole ring formation by NOESY. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
- [8] Aldeghi, M., Heifetz, A., Bodkin, M.J., Knapp, S., Biggin, P.C. (2016). Predictions of ligand selectivity from Absolute binding free energy calculations. *J. Am. Chem. Soc.*

- [9] Vilar, S., Cozza, G., & Moro, S. (2008). Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 8(18), 1555-1572. doi: 10.2174/156802608786786624. PMID:19075767.
- [10] BIOVIA. Discovery Studio Visualization. San Diego: Dassault Systèmes, 2021. <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/molecular-modeling/simulation/discovery-studio-visualization/>
- [11] Fatma D. (2016). Développement d'un nouveau biocapteur enzymatique ultrasensible pour la détection conductimétrique de l'ochratoxine A dans l'huile d'olive. Ingénierie des aliments. Université de Lyon. (Thèse de doctorat). Français.
- [12] Jonathan B. et Michael A. Walters. (2014). Chemistry: Chemical con artists foil drug discovery. *Nature News*, 513(7519), 481.
- [13] Ajay M. A. et Murcko, J. (1995). *J. Med. Chem*, 38, 4953-4967.
- [14] 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. (2004). *J. Med. Chem*, 47, 1739-1749.
- [15] Pelkonen, T., Roine, I., Cruzeiro, M. L., Pitkäranta, A., Kataja, M., & Peltola, H. (2011). Slow initial  $\beta$ -lactam infusion and oral paracetamol to treat childhood bacterial meningitis: a randomised, controlled trial. *The Lancet infectious diseases*, 11(8), 613-621.
- [16] Hollingsworth, S. A., & Dror, R. O. (2018). Molecular dynamics simulation for all. *Neuron*, 99(6), 1129-1143.
- [17] Aier, I., Varadwaj, P. K., & Raj, U. (2016). Structural insights into conformational stability of both wild-type and mutant EZH2 receptor. *Scientific Reports*, 6(1), 1-10.

[18] Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.* 2002 Jun 6;45(12):2615-23. doi: 10.1021/jm020017n. PMID: 12036371

[19] <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/>

[20] Chong, L. H., Li, H., WETZEL, I., Cho, H., & Toh, Y. (2018). A liver-immune coculture array for predicting systemic drug-induced skin sensitization. *Lab on a Chip*, 18(21), 3239–3250.

[21] Artursson, P., Neuho, S., Matsson, P., & Tavelin, S. (2007). Passive permeability and active transport models for the prediction of oral absorption. In *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, Vol. 5. Taylor, J. B., & Triggle, D. J. (Eds.). Amsterdam: Elsevier, pp. 259–278.

# **CONCLUSION GENERALE**

---

## CONCLUSION GENERALE

---

La protéase NS3/4A est une cible thérapeutique prometteuse dans le développement de médicaments antiviraux contre l'hépatite C. En inhibant cette enzyme, on peut bloquer la réplication du virus et traiter l'infection de manière directe.

Cette recherche avait pour but essentiel d'acquérir des compétences en simulation informatique, en particulier la modélisation moléculaire pour contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs (médicaments) potentiellement actifs et efficaces de la protéase NS3/4A ciblant l'enzyme « 4A92 » jouant un rôle prometteur dans le traitement de l'hépatite C.

Dans cette étude, le docking moléculaire est utilisé pour prédire comment les inhibiteurs potentiels se lient à l'enzyme NS3/4A. Cette technique permet d'évaluer les interactions moléculaires entre les inhibiteurs et l'enzyme, et de prédire leur affinité et leur capacité à inhiber l'activité de l'enzyme

Les résultats de notre étude ont permis de déterminer les meilleurs complexes formés entre l'enzyme 4A92 et les ligands étudiés. Deux principaux facteurs ont été pris en compte pour cette évaluation : l'énergie score formée par le complexe enzyme-ligands et les interactions moléculaires observées

L'étude de docking moléculaire a révélé que 174 inhibiteurs formaient des complexes avec le récepteur 4A92, avec des scores de liaison plus bas que celui du ligand de référence. Cette analyse suggère que ces inhibiteurs ont la capacité de se lier au site actif de l'enzyme NS3/4A du virus de l'hépatite C.

Les cinq inhibiteurs, à savoir les inhibiteurs 30, 33, 96, 182 et 183, présentant la valeur d'énergie la plus faible lors de l'étude de docking moléculaire, ont été sélectionnés pour une étude approfondie des interactions dans le site actif de l'enzyme NS3/4A.

La plupart des ligands étudiés dans notre recherche aient montré des interactions par liaison hydrogène avec les acides aminés ARG123, CYS159 et ASP79, ainsi que des interactions hydrophobes avec les résidus ALA156, VAL524 et HIS 528.



---

## CONCLUSION GENERALE

---

Ces interactions par liaison hydrogène et hydrophobes entre les ligands et les résidus spécifiques du site actif de l'enzyme NS3/4A sont importantes pour la stabilité et la spécificité de l'inhibition de l'enzyme. Ils contribuent à la formation d'un complexe inhibiteur-enzyme stable et à l'empêchement de l'activité enzymatique.

L'évaluation des propriétés de DRUG-LIKENESS sur les 19 composés, avec un score inférieur à -10, a été réalisée en utilisant la règle de Lipinski. Cette règle est largement utilisée dans la découverte de médicaments pour évaluer la biodisponibilité orale des composés. Les ligands 7, 13, 21, 30, 33, 34, 88, 93, 96, 103, 104, 137, 158, 165, 173, 182 et 183 ont été identifiés comme respectant la règle de Lipinski, ce qui suggère qu'ils sont potentiellement adaptés à une administration par voie orale en raison de leur "Drug-likeness" favorable.

En parallèle, Pour approfondir ces recherches, on a évalué les propriétés médicamenteuses de ces dix-sept composés (7,13, 21 ,30 ,33 ,34 ,88 ,93 ,96, 103, 104, 137, 158,165,173,182,183) selon l'application des propriétés ADMET

Les résultats de l'évaluation des propriétés ADMET des composés indiquent les observations suivantes :

- Faible absorption intestinale : Les composés présentent une faible capacité d'absorption à travers l'intestin, ce qui peut limiter leur biodisponibilité orale. Cela peut nécessiter des stratégies spécifiques, telles que l'utilisation de formulations appropriées, pour améliorer leur absorption.
- Inhibition sélective du CYP3A4 : Les composés ont montré une inhibition uniquement du CYP3A4, qui est une enzyme impliquée dans le métabolisme des médicaments. Cela suggère qu'il y a moins de risques d'interactions médicamenteuses indésirables liées à d'autres enzymes du cytochrome P450.
- Absence de risques d'hépatotoxicité, cancérogénicité, immunotoxicité, mutagénicité et cytotoxicité : Les composés 13, 30, 33, 88, 89, 96, 103 et 182 ont été évalués et ne montrent pas de signes de toxicité hépatique, cancérogénicité, immunotoxicité, mutagénicité et cytotoxicité. Cela indique un bon profil de sécurité pour ces composés.

---

## **CONCLUSION GENERALE**

---

Ensuite, la dynamique moléculaire est employée pour simuler le mouvement des complexes inhibiteur-enzyme sur une échelle de temps plus longue. Cela permet de comprendre comment les interactions entre les inhibiteurs et l'enzyme évoluent dans un environnement biologique plus réaliste.

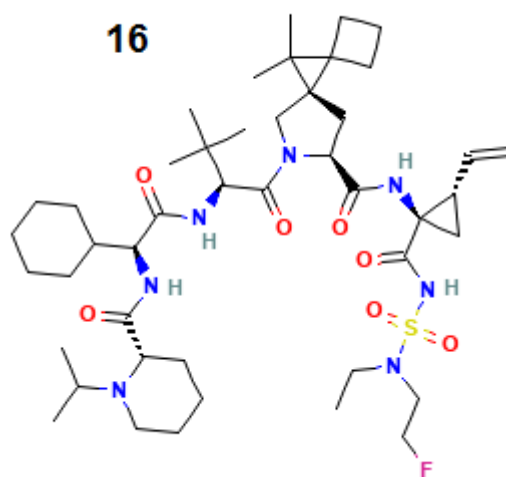
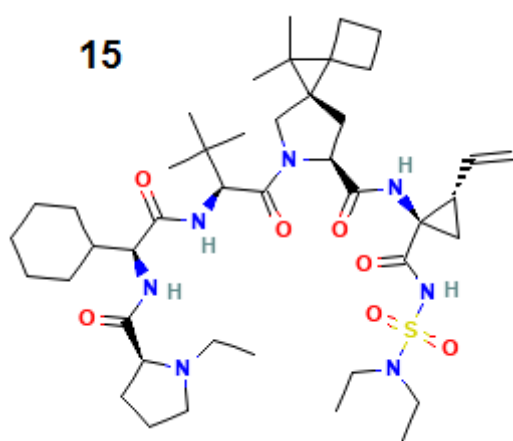
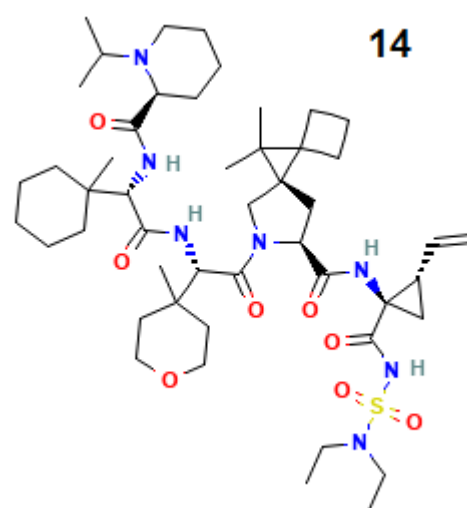
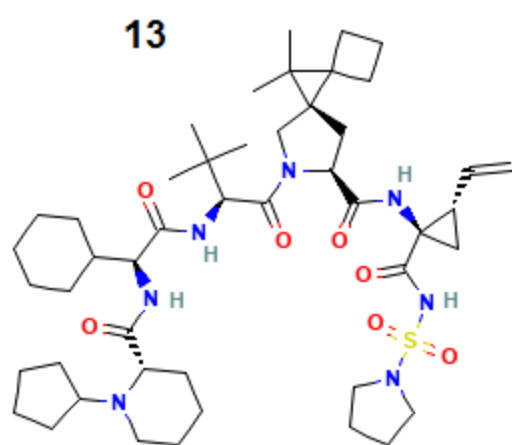
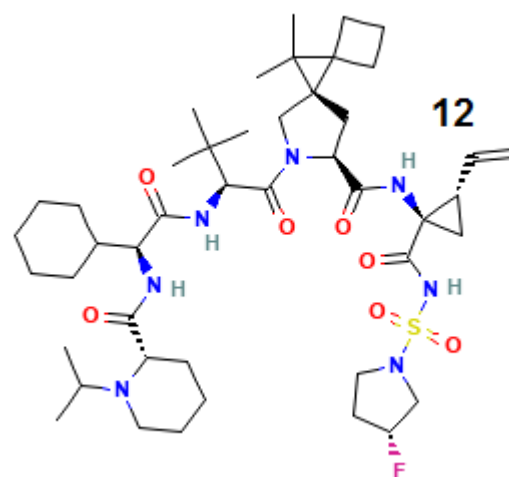
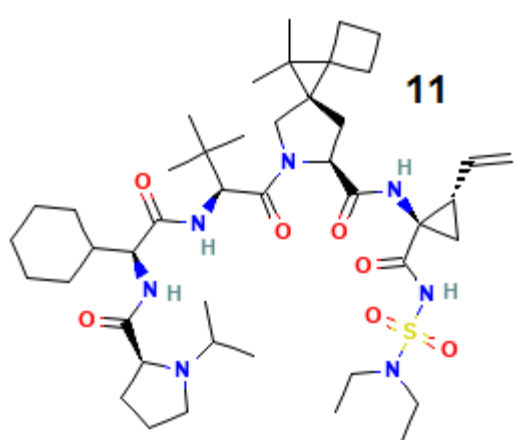
Les résultats de notre étude de simulation de dynamique moléculaire indiquent que les 8 complexes inhibiteur-enzyme sont stables, Cette stabilité est un critère important pour évaluer l'aptitude de ces complexes à être utilisés comme médicaments potentiels contre l'hépatite C.

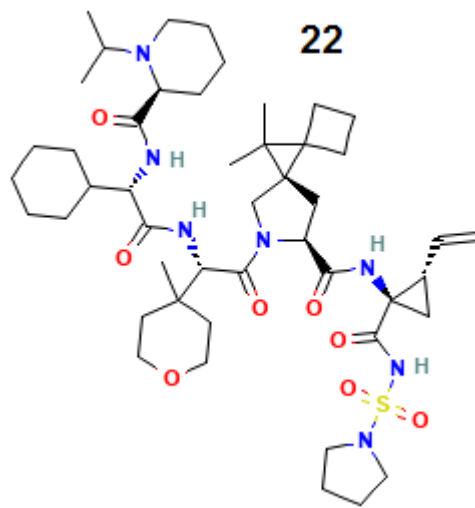
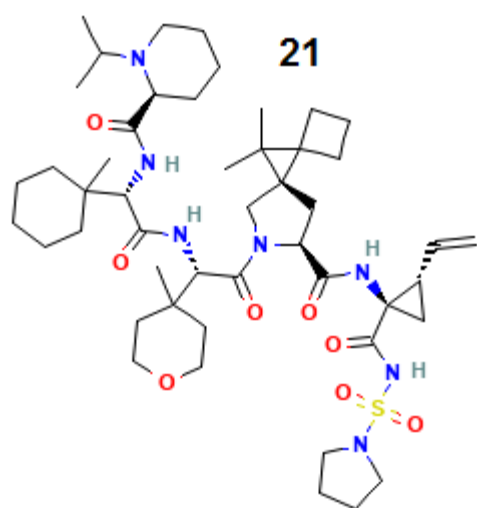
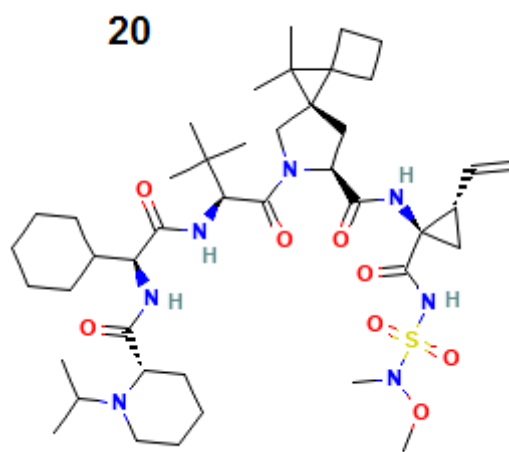
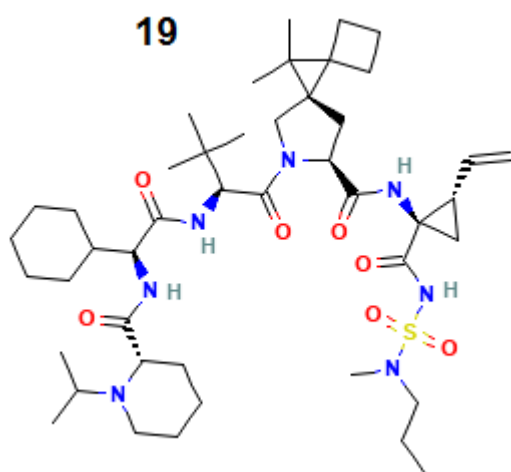
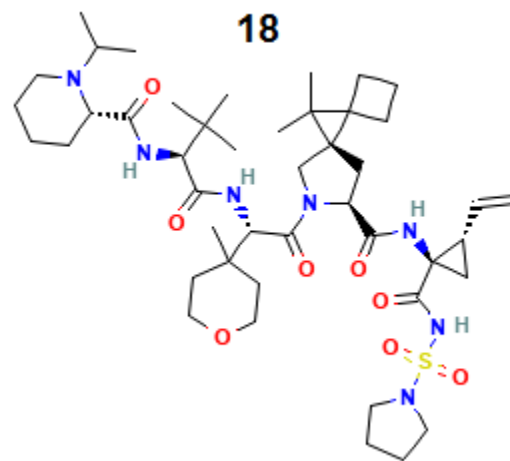
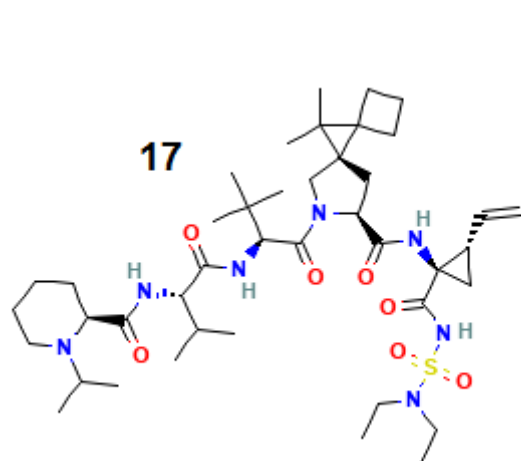
En fin en peut dire que Les résultats de notre étude indiquent clairement que les composés sélectionnés ont un fort potentiel pour être développés en tant que nouveaux médicaments antiviraux contre l'hépatite C.

# Annexes



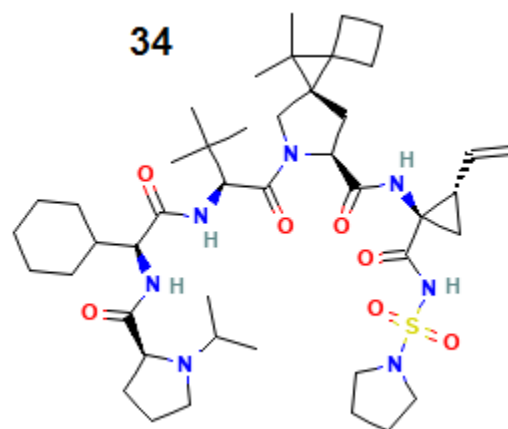
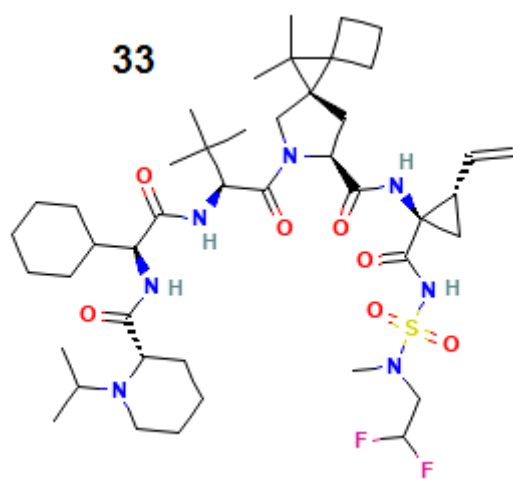
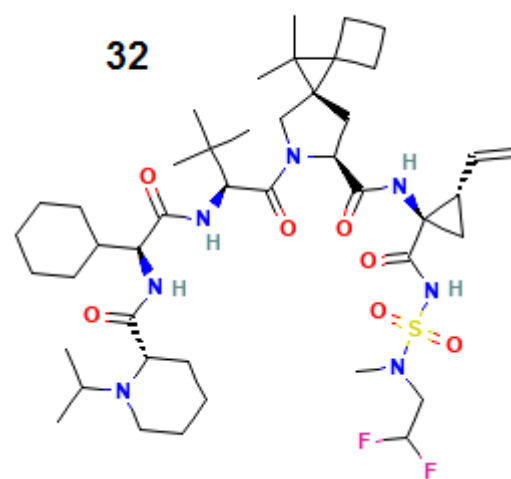
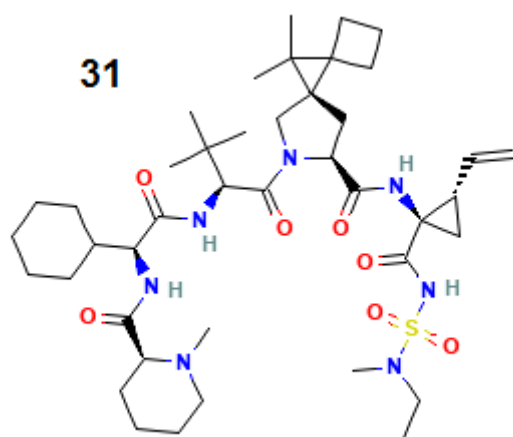
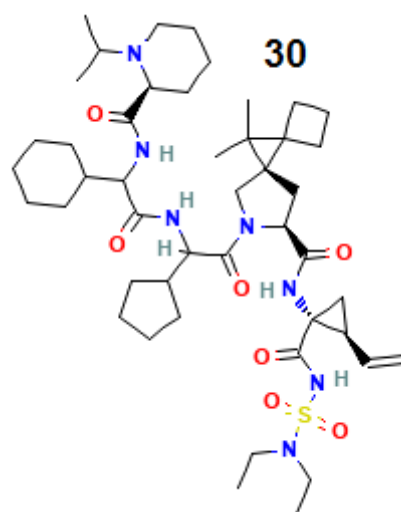
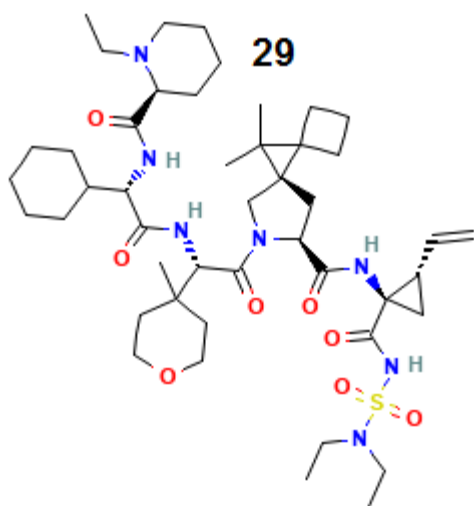


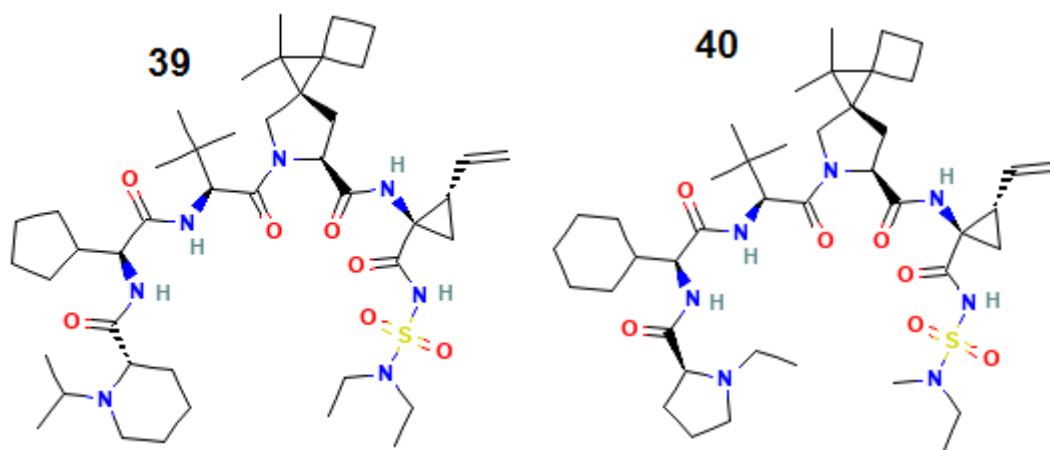
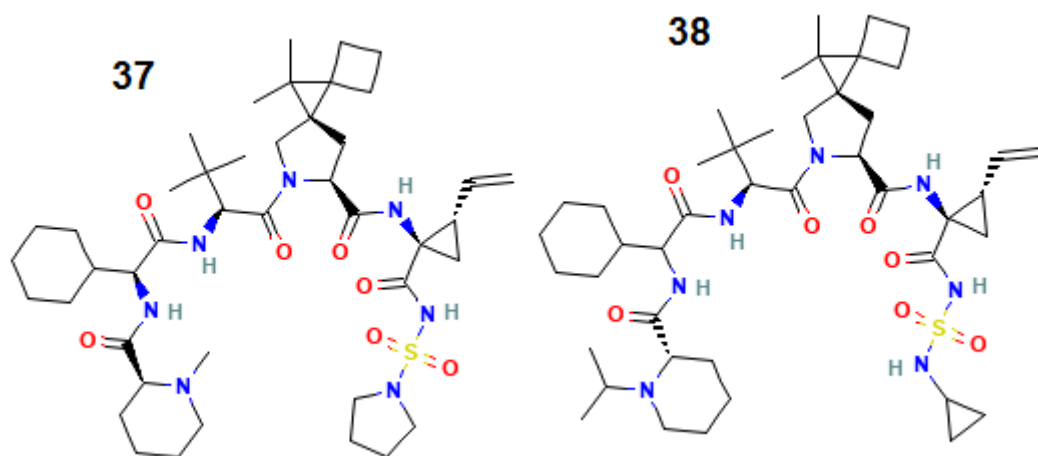
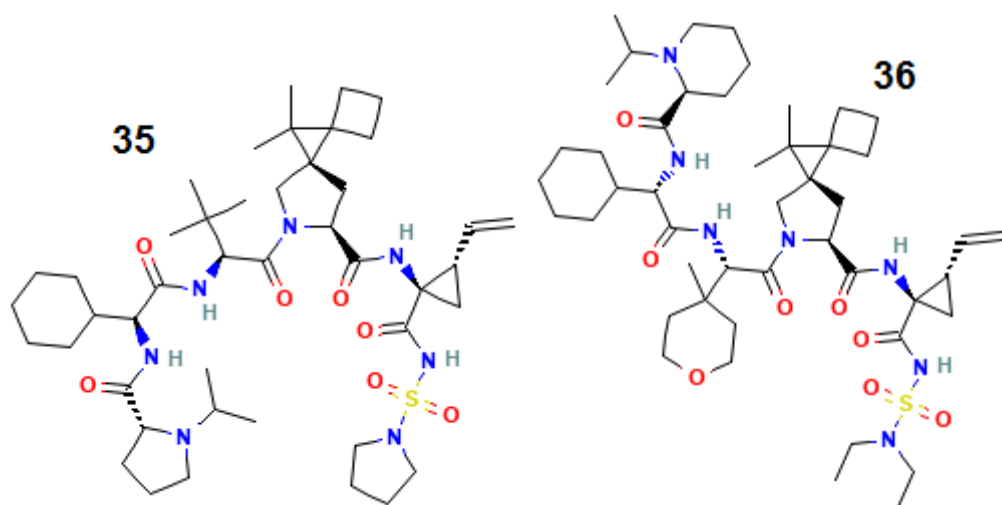


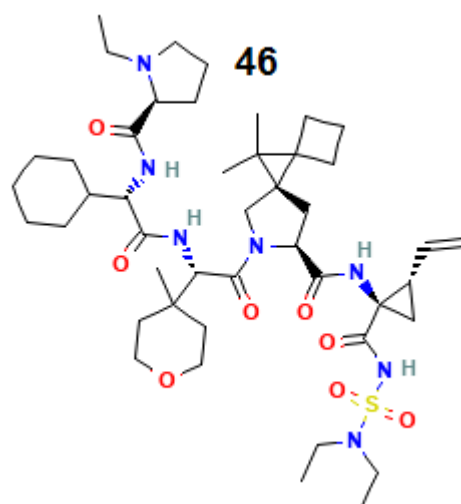
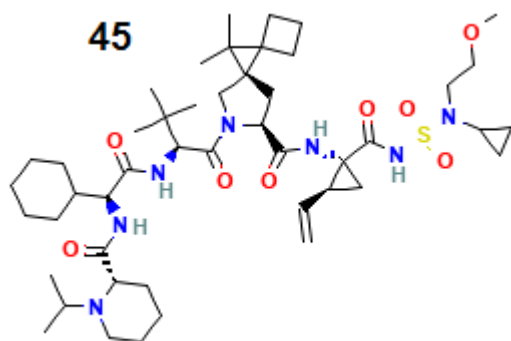
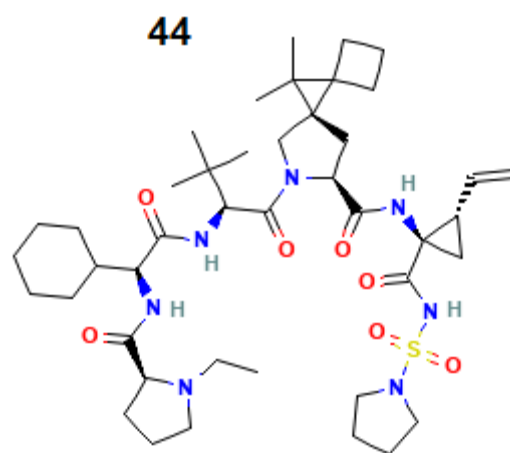
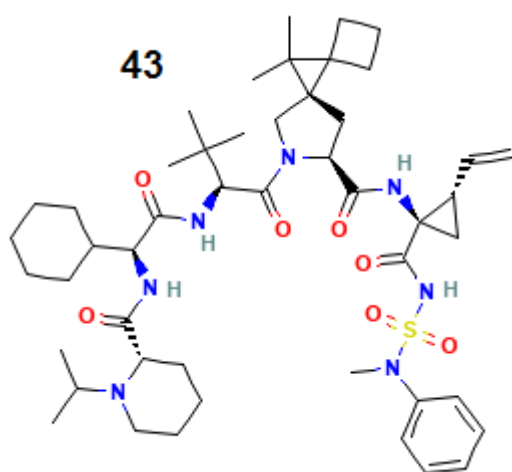
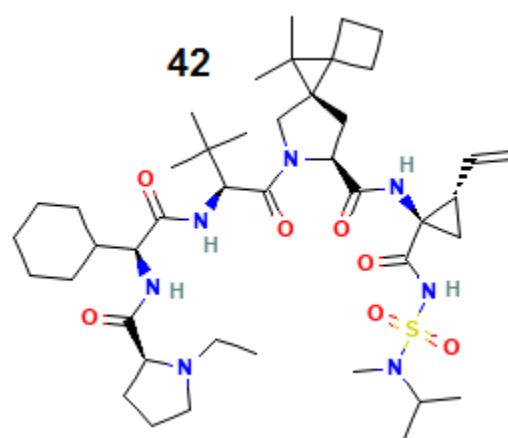
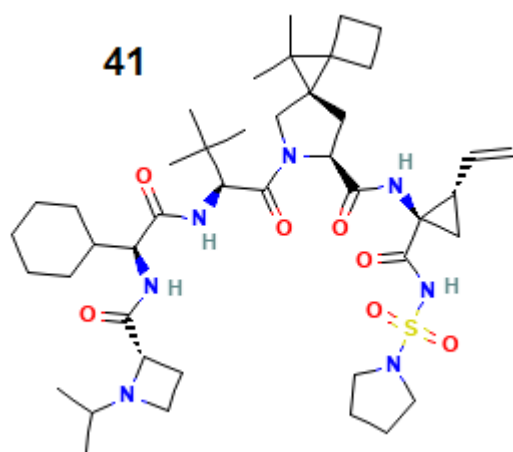




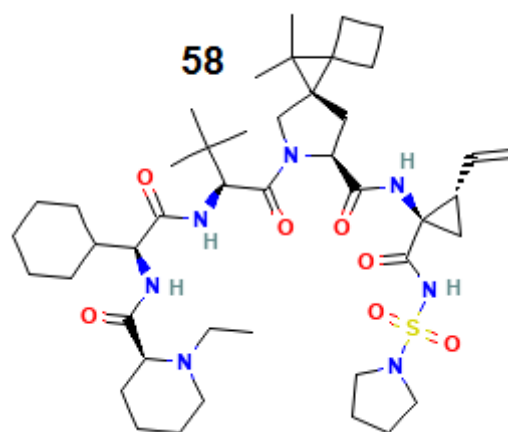
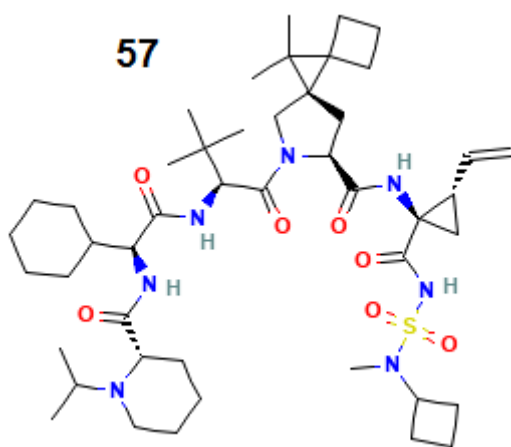
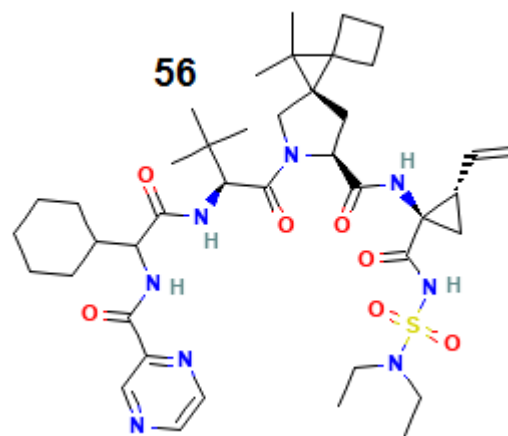
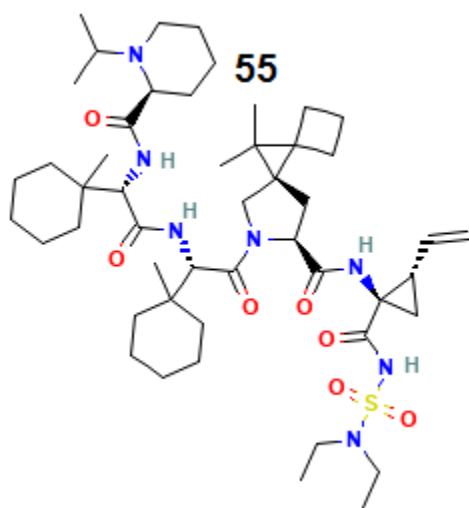
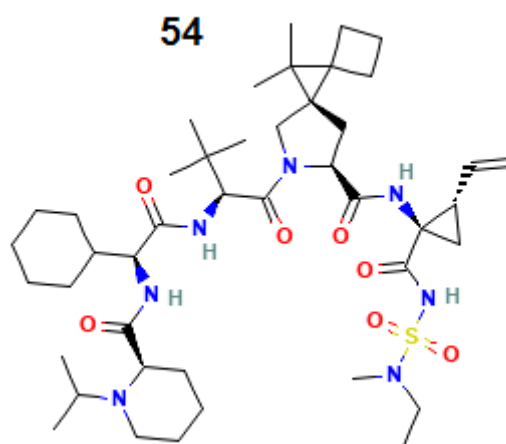
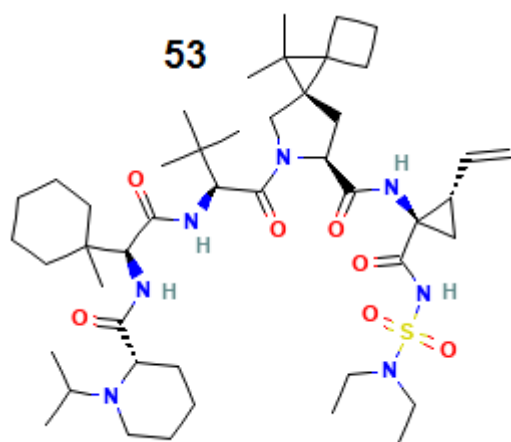


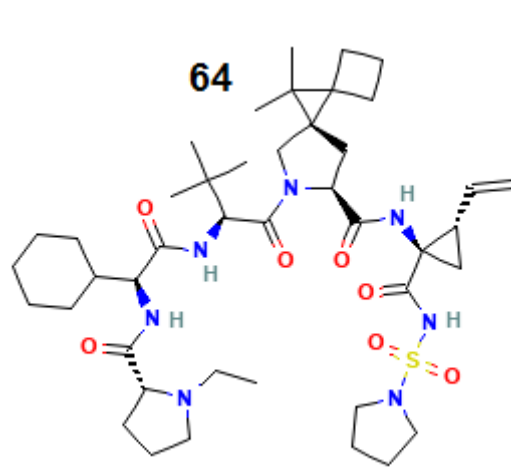
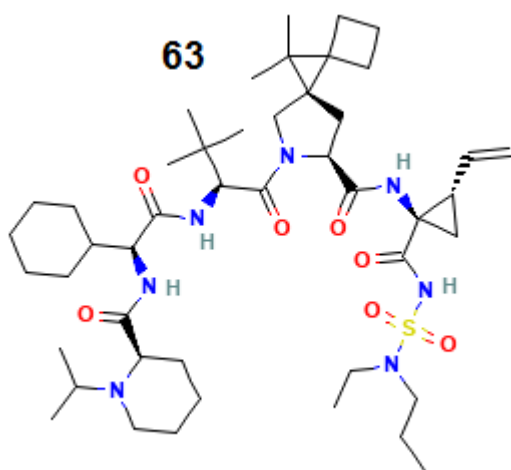
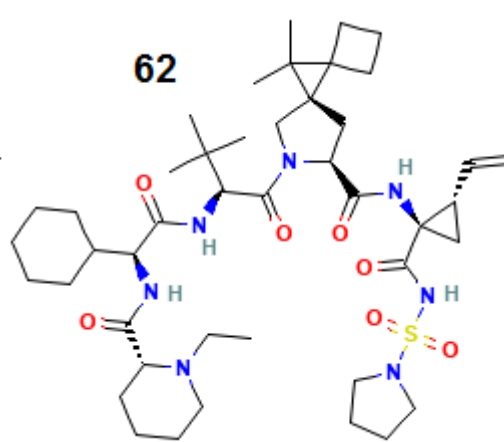
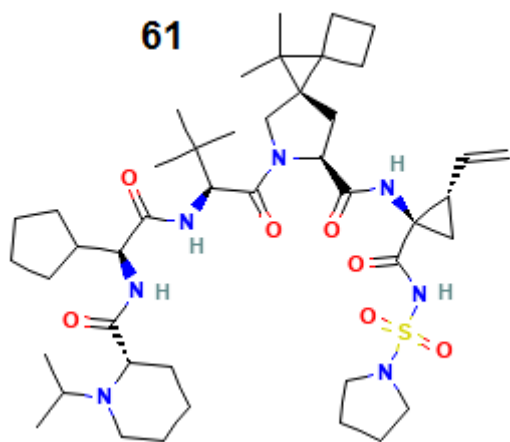
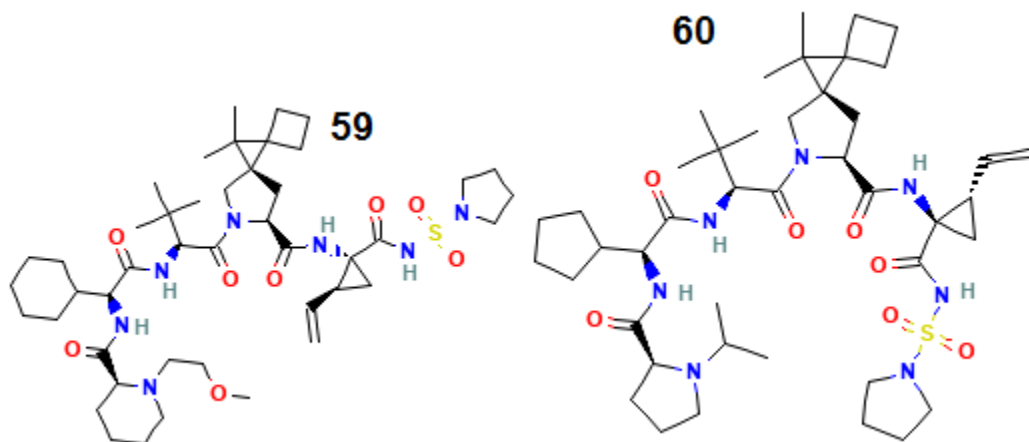








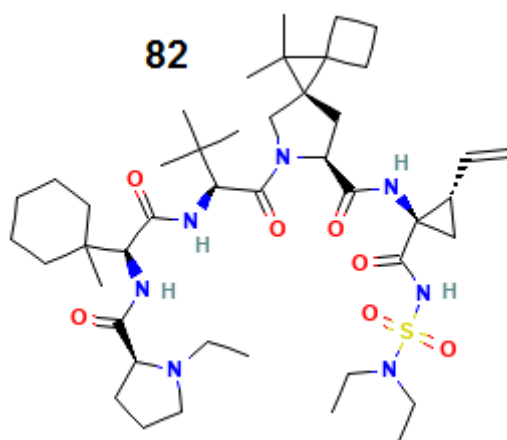
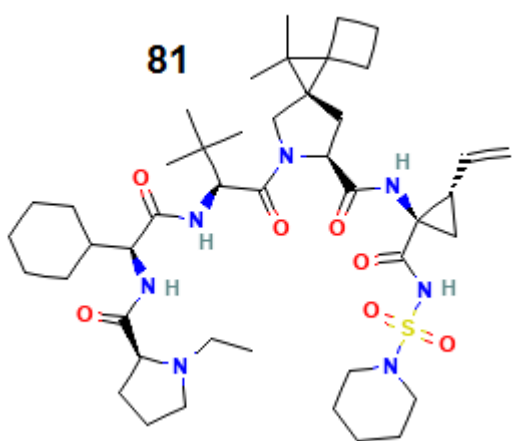
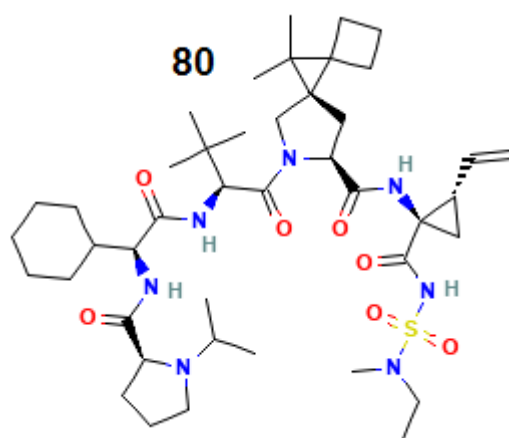
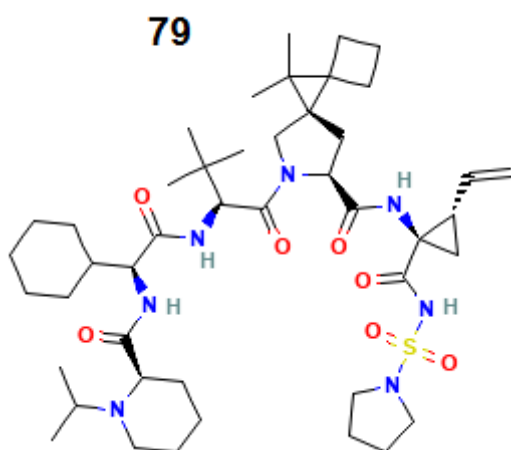
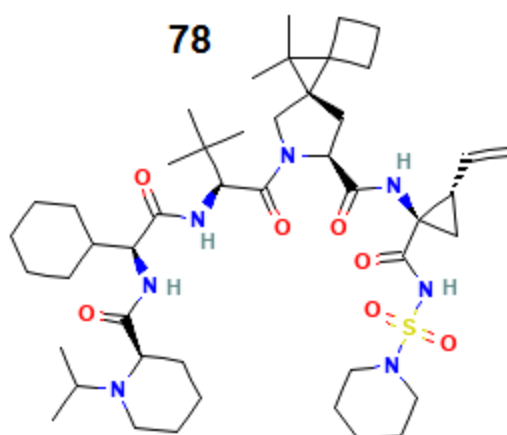
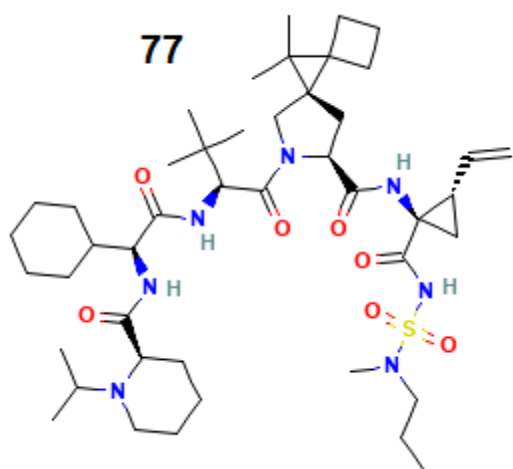


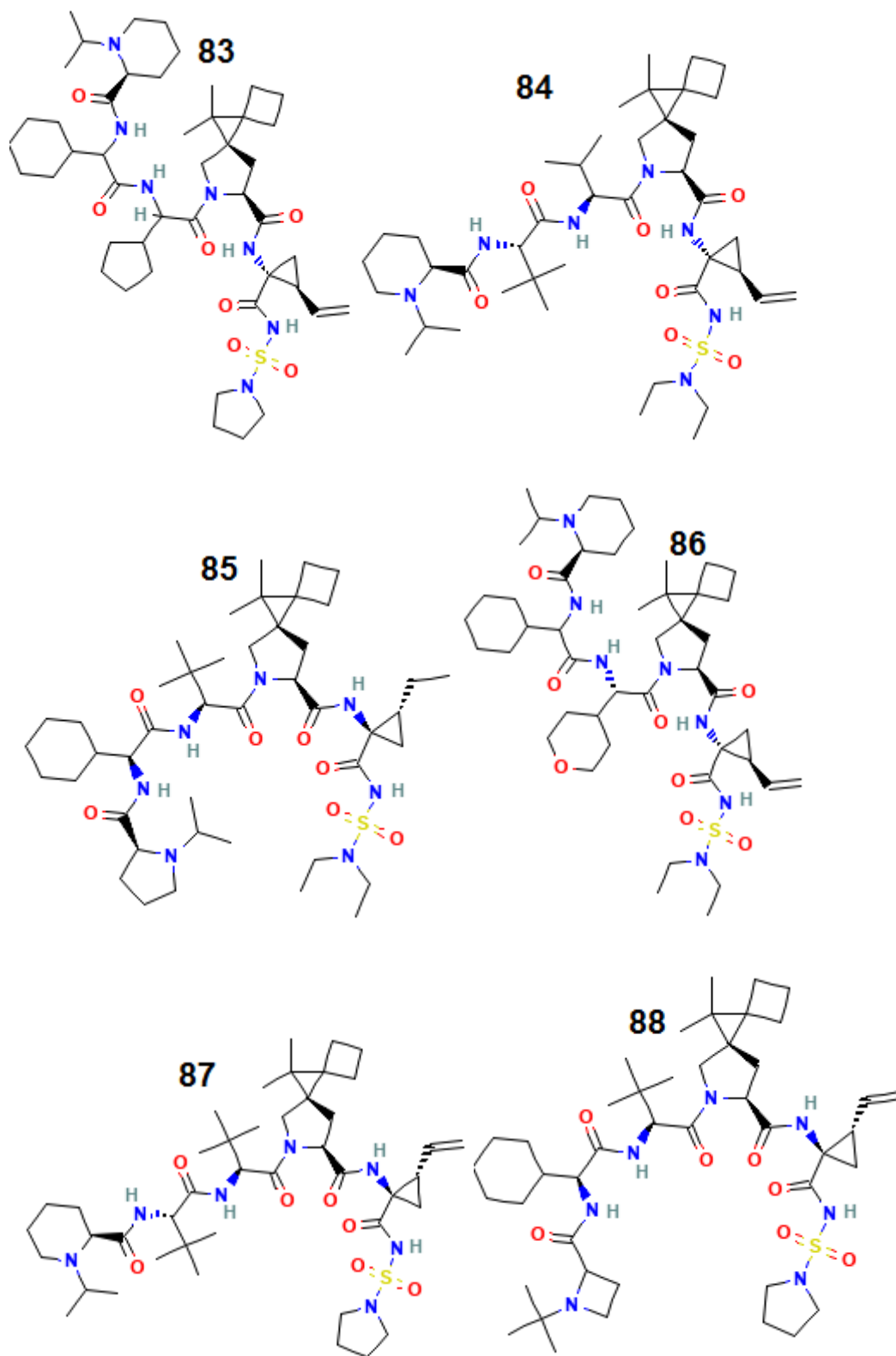


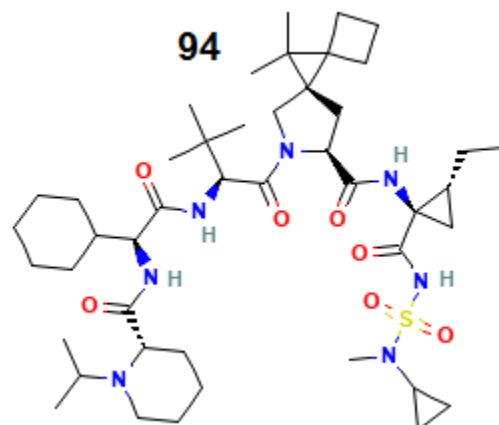
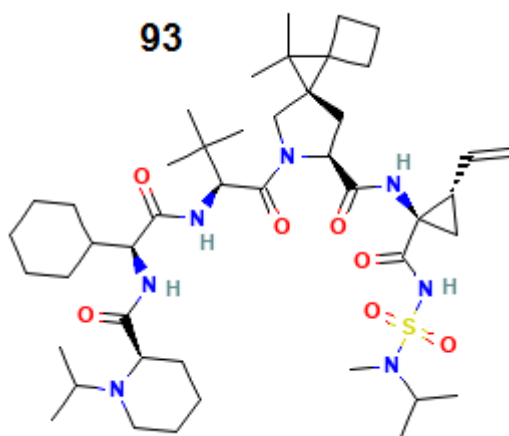
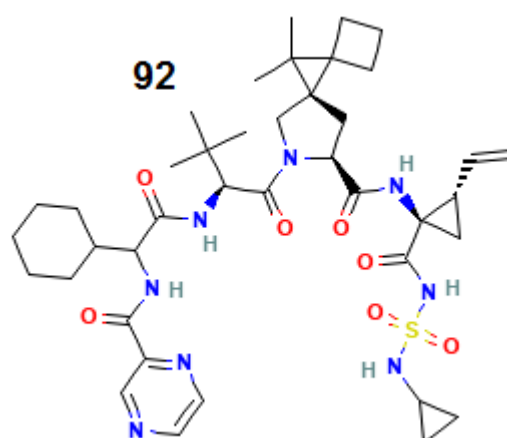
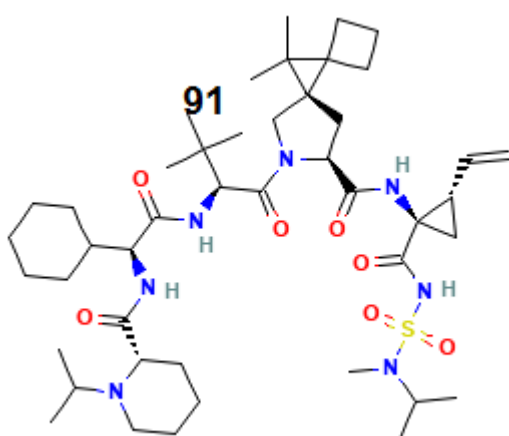
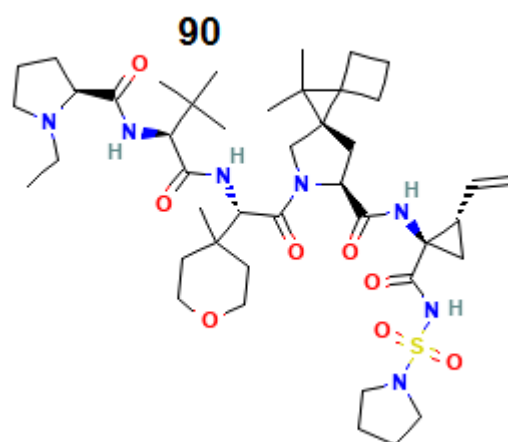
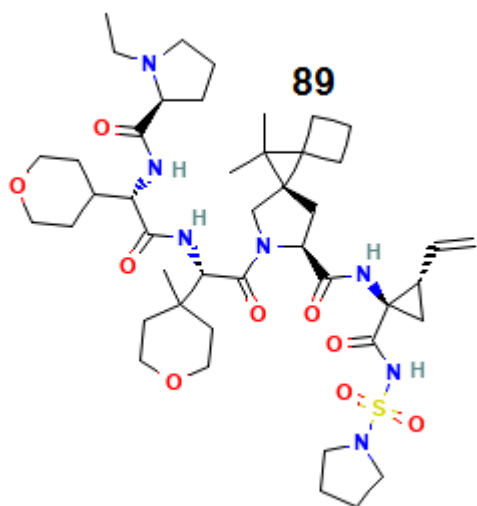










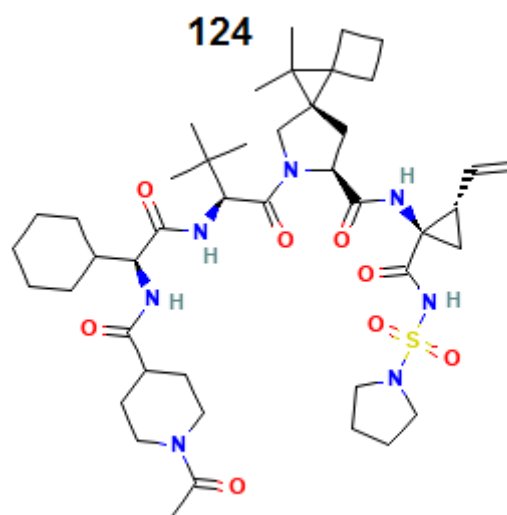
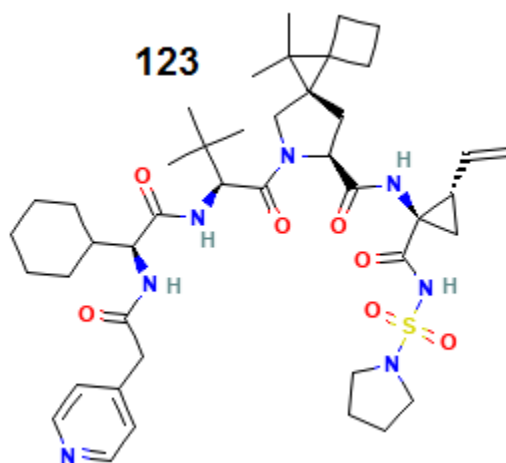
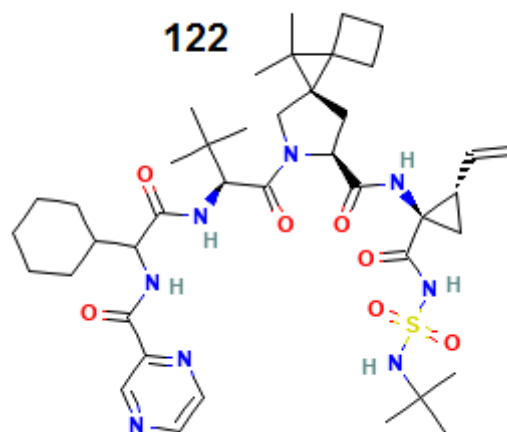
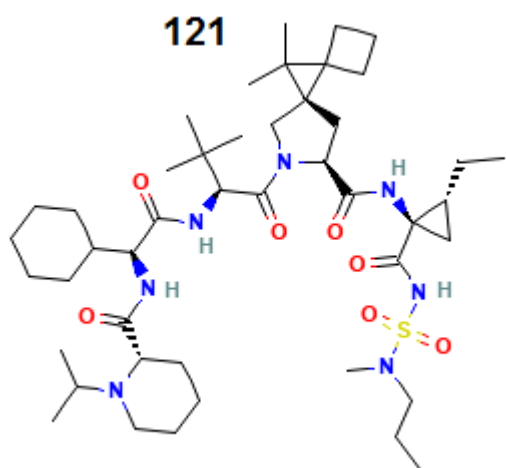
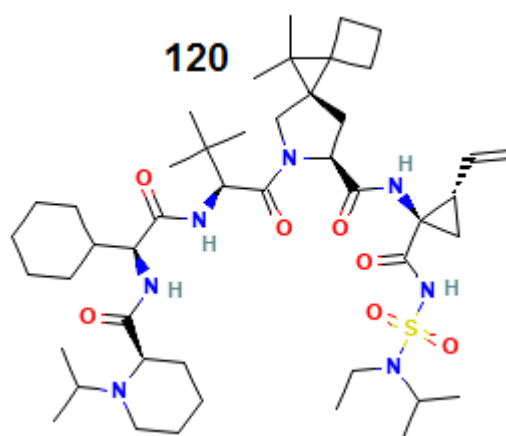
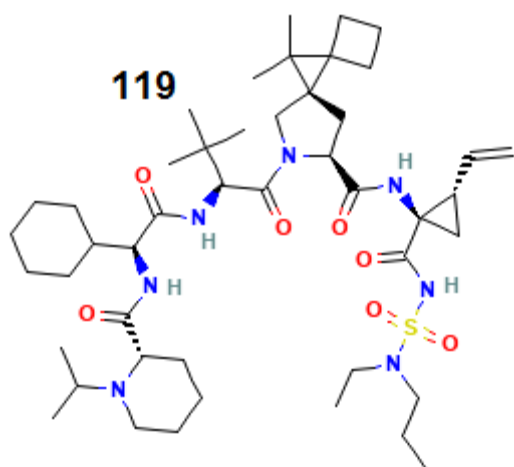






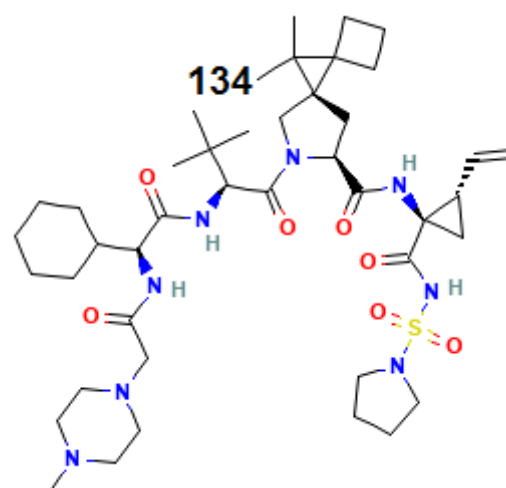
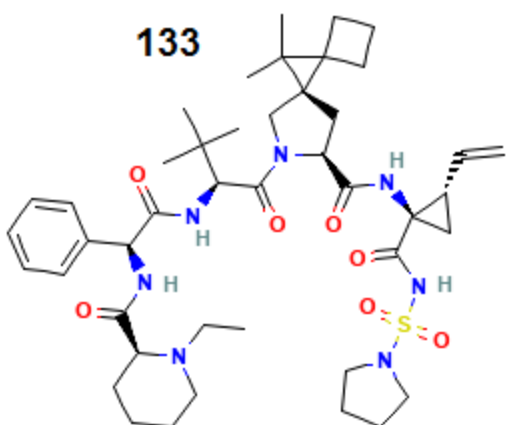
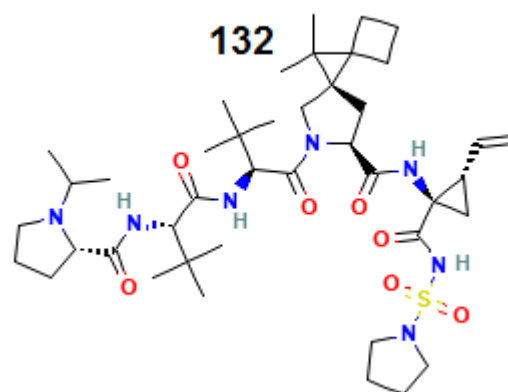
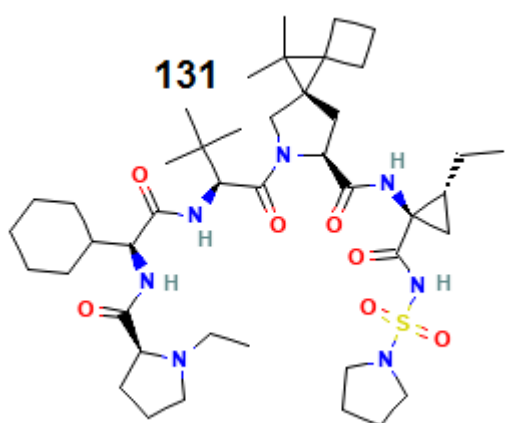
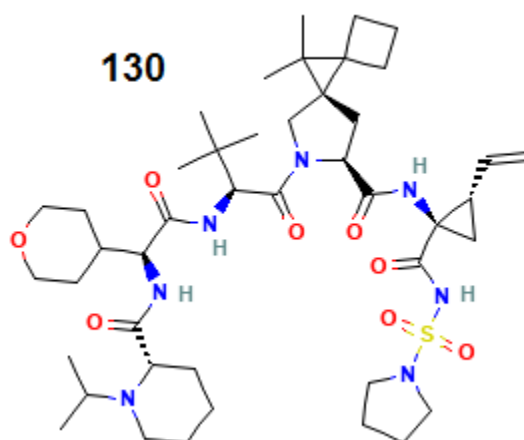
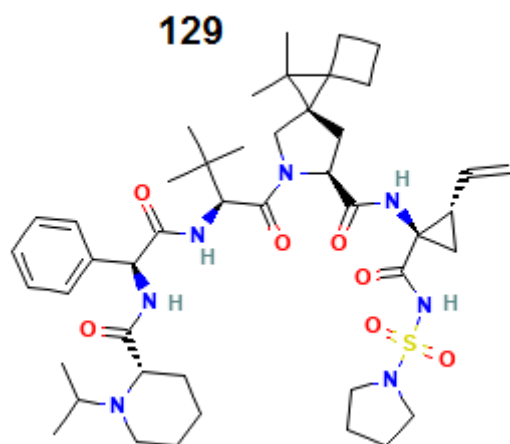


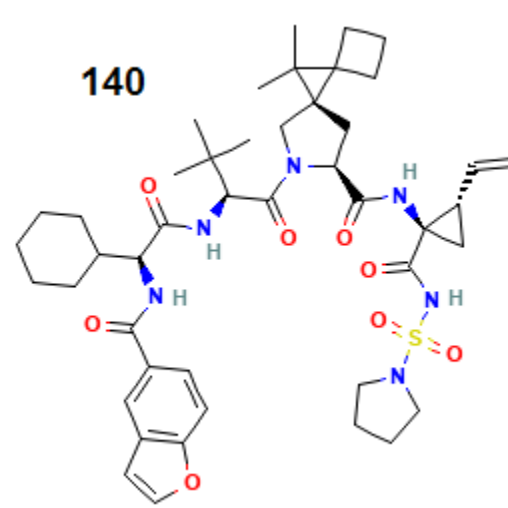
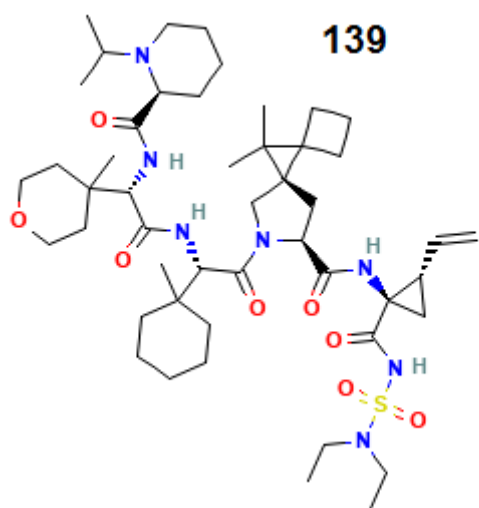
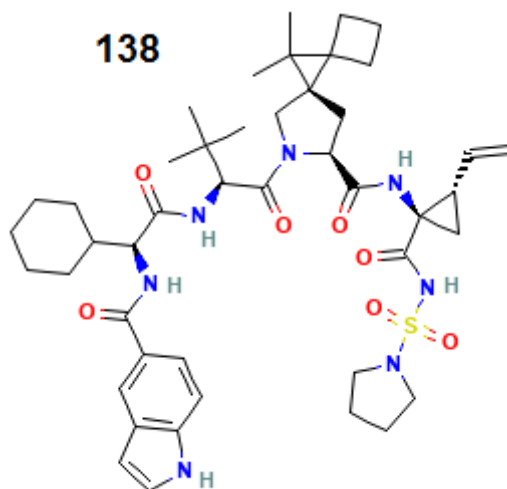
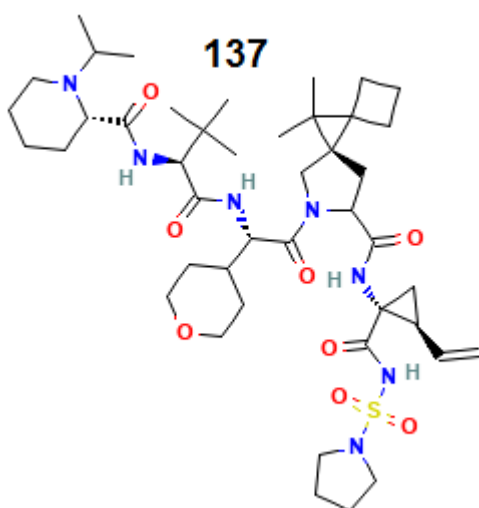
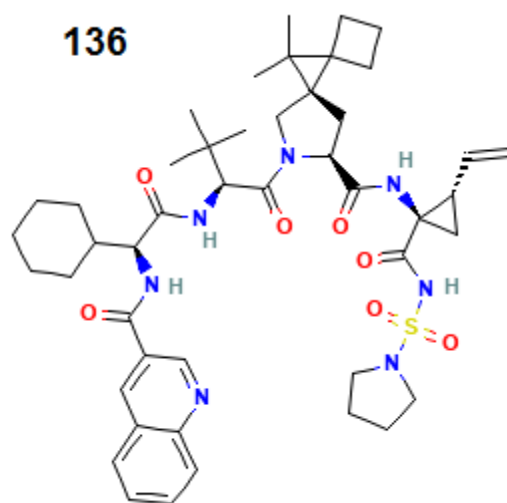
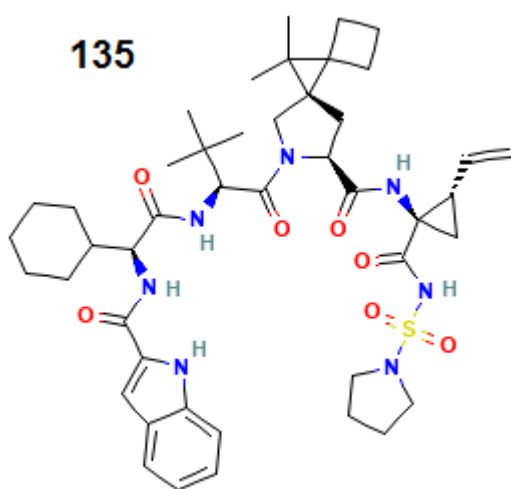




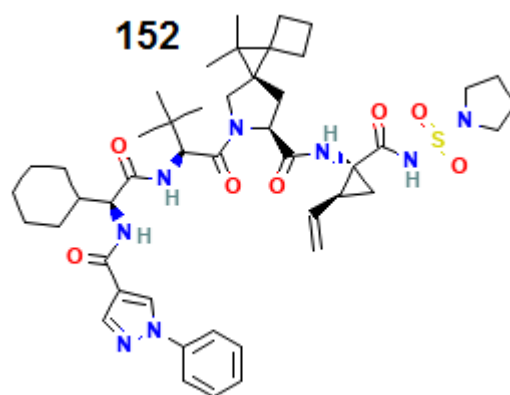
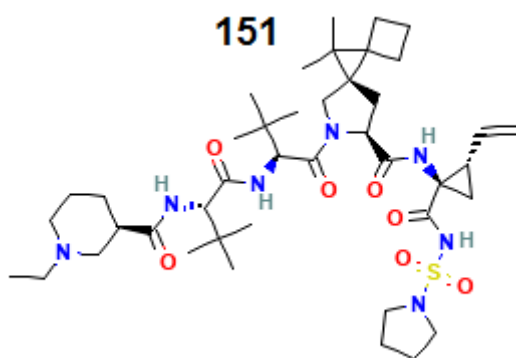
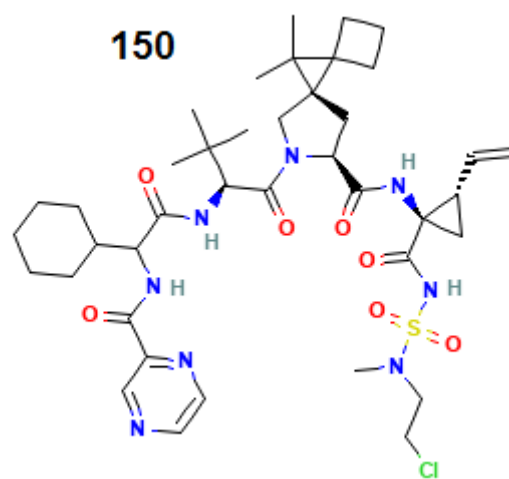
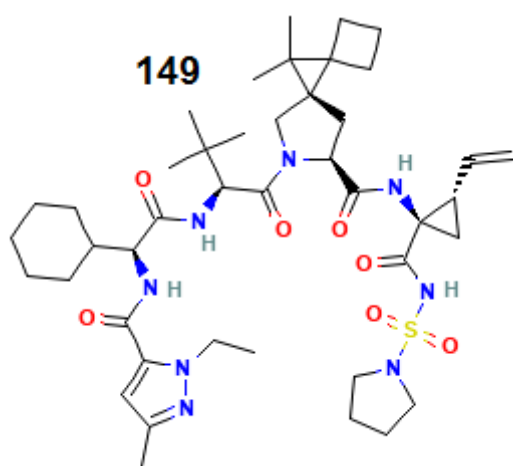
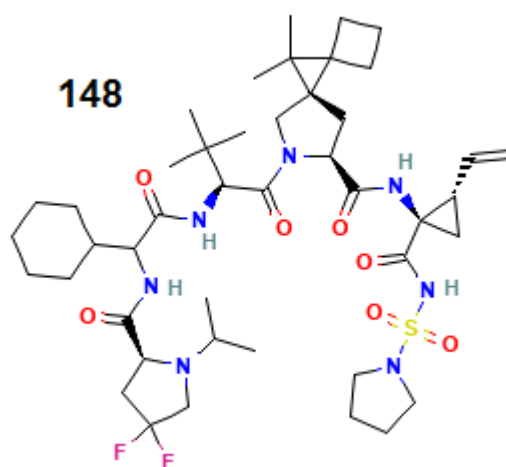
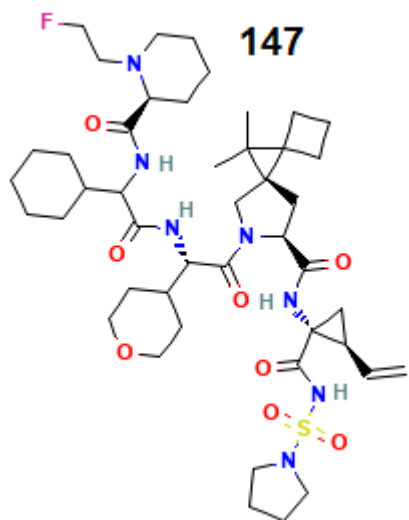
















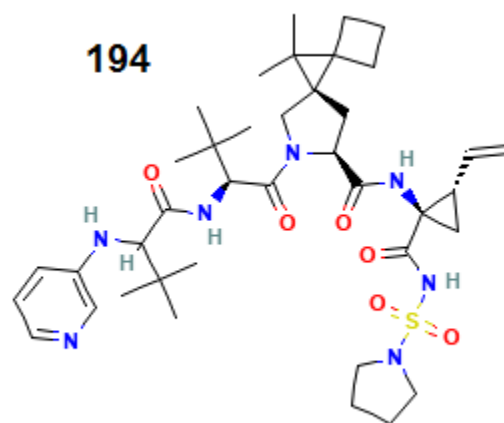
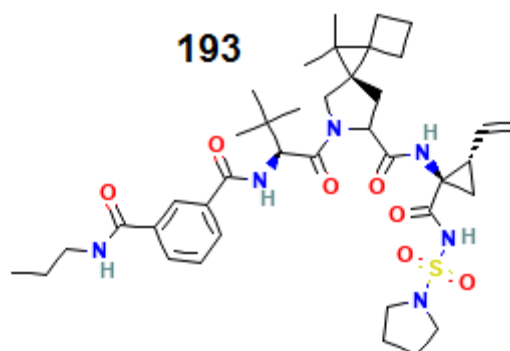
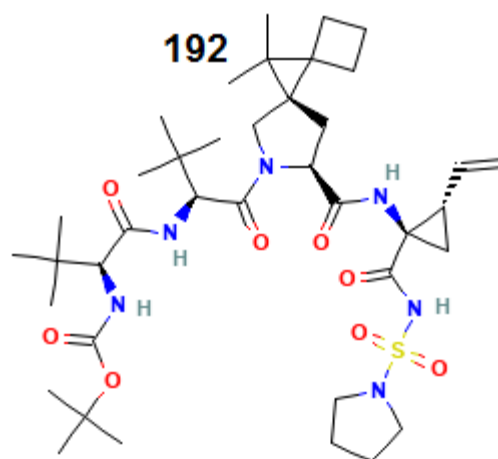
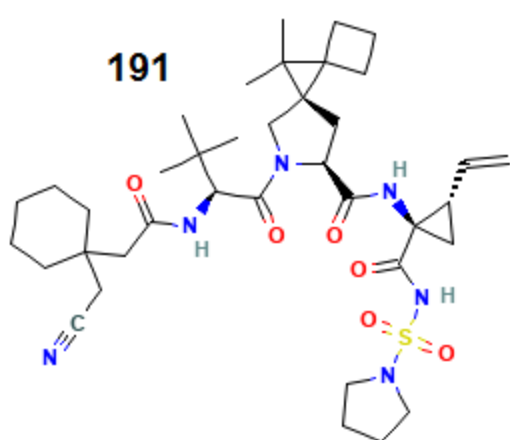
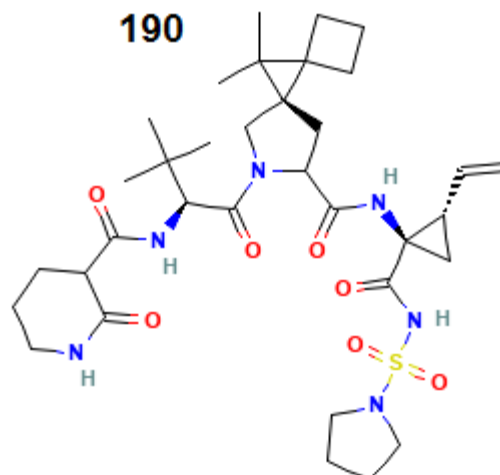
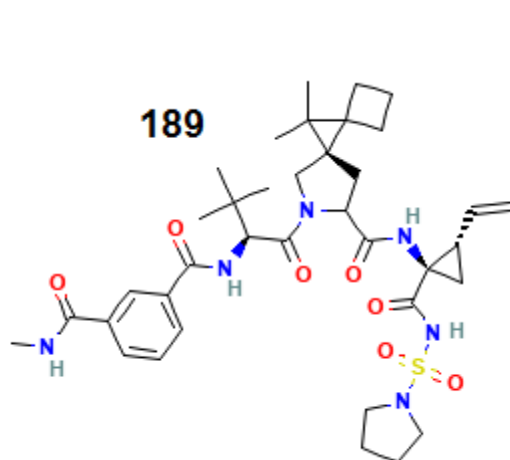














## Annexe N°2

**Tableau :** Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 4A92 avec les ligands Etudiés

Composé N°	PubChem Cid	Score (kcal/mol)	RMSD	Composé N°	PubChem Cid	Score (kcal/mol)	RMSD
1	46917028	-9.09	2.80	32	59533173	-9.43	3.40
2	59533285	-9.85	2.00	33	59533280	-10.18	2.56
3	59533353	-9.49	2.82	34	59533224	-10.21	2.54
4	59533400	-9.05	2.45	35	59533354	-9.47	2.77
5	59533200	-9.10	2.40	36	59533279	-9.77	2.16
6	46941102	-9.00	2.88	37	59533321	-9.86	2.81
7	59533233	-10.18	3.50	38	59533342	-9.27	3.06
8	59533242	-9.63	2.87	39	68763207	-9.59	2.58
9	59533283	-9.69	2.32	40	59533328	-9.12	1.62
10	59533209	-9.17	2.97	41	59533176	-8.41	2.93
11	59533190	-9.21	1.87	42	46941267	-9.32	2.22
12	59533163	-9.15	2.76	43	59533290	-9.92	2.20
13	59533351	-10.06	1.96	44	59533386	-9.53	2.64
14	59533271	-9.30	1.95	45	59533231	-9.77	2.64
15	46941103	-9.16	2.31	46	59533323	-9.26	1.92
16	59533226	-9.25	2.08	47	46940037	-9.53	2.89
17	59533315	-9.35	4.58	48	59533269	-9.88	2.72
18	46941269	-9.61	2.68	49	46941187	-9.20	4.06
19	59533189	-9.40	2.70	50	59533243	-8.76	1.92
20	59533355	-9.89	2.34	51	68764136	-9.64	2.31
21	59533220	-10.14	2.56	52	46940123	-9.91	2.15
22	59533295	-8.85	2.07	53	46940038	-9.59	2.81
23	59533229	-8.73	2.22	54	59533382	-9.63	2.62
24	59533359	-9.39	2.87	55	59533374	-9.75	2.52
25	59533215	-9.60	2.79	56	59533339	-9.58	2.38
26	59533394	-9.79	2.14	57	59533246	-9.41	2.89
27	59533185	-9.75	2.18	58	59533302	-9.03	2.64
28	59533165	-9.06	2.06	59	46941104	-9.50	4.01
29	59533266	-9.09	2.08	60	59533314	-8.70	2.80
30	59533303	-10.38	2.19	61	59533367	-9.28	3.65
31	59533346	-9.66	2.02	62	59533291	-9.41	1.87

<b>63</b>	59533343	-9.50	2.57	<b>96</b>	59533381	-10.44	2.37
<b>64</b>	59533244	-9.26	2.53	<b>97</b>	59533212	-9.19	2.73
<b>65</b>	46941268	-9.71	2.33	<b>98</b>	59533368	-9.42	2.35
<b>66</b>	59533399	-9.82	2.69	<b>99</b>	59533296	-9.46	2.59
<b>67</b>	59533258	-8.89	2.80	<b>100</b>	59533263	-9.83	2.56
<b>68</b>	59533197	-9.34	2.33	<b>101</b>	59533318	-9.35	3.32
<b>69</b>	59533336	-9.27	2.50	<b>102</b>	59533183	-9.54	2.69
<b>70</b>	59533310	-9.01	2.78	<b>103</b>	59533265	-10.51	2.18
<b>71</b>	59533344	-9.72	2.33	<b>104</b>	59533366	-10.65	1.73
<b>72</b>	46940039	-9.85	2.78	<b>105</b>	59533227	-9.18	1.95
<b>73</b>	56952030	-9.69	2.98	<b>106</b>	59533330	-9.40	2.04
<b>74</b>	59533187	-9.34	2.33	<b>107</b>	59533259	-10.11	2.44
<b>75</b>	59533395	-9.28	2.50	<b>108</b>	59533167	-8.98	2.55
<b>76</b>	59533254	-9.42	2.33	<b>109</b>	46939959	-9.85	2.10
<b>77</b>	59533308	-8.94	2.79	<b>110</b>	59533228	-9.72	2.98
<b>78</b>	59533198	-9.71	2.33	<b>111</b>	59533252	-9.11	1.90
<b>79</b>	59533293	-9.85	2.78	<b>112</b>	59533372	-9.25	2.09
<b>80</b>	59533350	-9.70	2.96	<b>113</b>	59533211	-9.54	2.46
<b>81</b>	46941010	-8.82	1.83	<b>114</b>	59533313	-8.95	2.47
<b>82</b>	59533248	-9.79	2.58	<b>115</b>	59533332	-9.63	2.45
<b>83</b>	59533373	-9.42	2.33	<b>116</b>	89394957	-9.19	3.62
<b>84</b>	46939961	-8.93	2.25	<b>117</b>	59533365	-9.09	2.14
<b>85</b>	59533363	-9.11	2.0271	<b>118</b>	59533282	-9.77	1.84
<b>86</b>	59533195	-9.51	2.85	<b>119</b>	46941189	-9.65	2.49
<b>87</b>	59533196	-9.15	2.54	<b>120</b>	59533300	-9.50	2.17
<b>88</b>	59533289	-10.11	2.75	<b>121</b>	59533352	-9.59	1.98
<b>89</b>	59533389	-10.23	1.81	<b>122</b>	59533391	-8.92	2.14
<b>90</b>	59533256	-8.35	2.32	<b>123</b>	59533385	-9.23	1.95
<b>91</b>	46941188	-9.86	2.02	<b>124</b>	59533178	-9.57	2.24
<b>92</b>	59533286	-9.44	2.49	<b>125</b>	59533390	-9.70	2.35
<b>93</b>	59533169	-10.25	1.18	<b>126</b>	91663795	-9.38	2.96
<b>94</b>	59533239	-9.97	2.18	<b>127</b>	59533264	-9.05	2.90
<b>95</b>	59533205	-9.50	2.12	<b>128</b>	59533396	-8.92	2.37

<b>129</b>	59533298	-9.69	2.35	<b>162</b>	59533179	-9.02	2.32
<b>130</b>	59533320	-9.00	2.44	<b>163</b>	59533311	-9.07	2.50
<b>131</b>	59533299	-9.30	2.11	<b>164</b>	59533219	-9.51	2.73
<b>132</b>	59533221	-8.98	2.89	<b>165</b>	59533383	-10.07	2.66
<b>133</b>	59533397	-8.50	2.71	<b>166</b>	59533273	-9.46	2.26
<b>134</b>	59533337	-9.14	2.21	<b>167</b>	59533237	-8.64	2.20
<b>135</b>	59533378	-9.31	2.38	<b>160</b>	89394973	-9.89	4.42
<b>136</b>	59533335	-9.79	2.90	<b>161</b>	59533270	-8.95	1.62
<b>137</b>	59533191	-10.09	2.93	<b>162</b>	59533179	-9.02	2.32
<b>138</b>	59533171	-9.52	2.08	<b>163</b>	59533311	-9.07	2.50
<b>139</b>	59533235	-9.41	2.11	<b>164</b>	59533219	-9.51	2.73
<b>140</b>	59533377	-9.20	1.71	<b>165</b>	59533383	-10.07	2.66
<b>141</b>	59533267	-9.65	2.66	<b>166</b>	59533273	-9.46	2.26
<b>142</b>	59533261	-9.18	2.13	<b>167</b>	59533237	-8.64	2.20
<b>143</b>	59533333	-9.56	1.75	<b>168</b>	59533188	-9.68	2.70
<b>144</b>	59533222	-9.42	2.55	<b>169</b>	59533340	-9.03	2.60
<b>145</b>	59533257	-9.66	2.81	<b>170</b>	59533193	-9.40	2.08
<b>146</b>	59533398	-9.77	2.75	<b>171</b>	59533251	-9.03	2.00
<b>147</b>	59533312	-9.97	2.91	<b>172</b>	59533345	-9.27	2.72
<b>148</b>	59533375	-9.53	3.00	<b>173</b>	59533319	-10.14	2.84
<b>149</b>	59533236	-9.58	2.79	<b>174</b>	59533184	-9.57	3.00
<b>150</b>	59533307	-8.89	2.41	<b>175</b>	59533401	-8.57	1.74
<b>151</b>	59533341	-9.10	2.79	<b>176</b>	59533234	-9.11	2.42
<b>152</b>	59533180	-9.61	2.67	<b>177</b>	59533305	-8.91	1.85
<b>153</b>	59533371	-8.95	2.27	<b>178</b>	59533170	-9.99	2.70
<b>154</b>	59533384	-9.64	2.22	<b>179</b>	59533276	-9.26	1.60
<b>155</b>	59533181	-8.34	2.07	<b>180</b>	59533287	-9.28	1.61
<b>156</b>	59533272	-9.90	1.95	<b>181</b>	59533334	-9.96	2.91
<b>157</b>	59533260	-8.98	2.84	<b>182</b>	59533304	-11.04	1.31
<b>158</b>	59533247	-10.08	1.79	<b>183</b>	59533322	-10.59	2.80
<b>159</b>	59533324	-8.89	2.10	<b>184</b>	59533322	-8.71	2.94
<b>160</b>	89394973	-9.89	4.42	<b>185</b>	59533362	-8.50	185
<b>161</b>	59533270	-8.95	1.62	<b>186</b>	59533206	-8.78	2.60



<b>187</b>	59533327	-9.01	2.57
<b>188</b>	59533217	-8.63	1.89
<b>189</b>	59533274	-9.34	1.76
<b>190</b>	46941012	-8.61	1.88
<b>191</b>	59533358	-8.21	2.02
<b>192</b>	59533164	-8.47	1.80
<b>193</b>	59533168	-9.34	2.25
<b>194</b>	59533194	-8.27	2.14
<b>195</b>	59533306	-9.15	2.01
<b>196</b>	59533347	-9.43	2.77
<b>197</b>	59533202	-8.75	2.10
<b>Lr�f</b>	F9k	-8.82	2.14

### Annexe N°3 : les interactions de complexe après l'étude DM

**Tableau 1** : le résultat de dynamique moléculaire du complexe 13-4A92.

	Name	Distance	Types
1	A:CYS159:H - :*0:O	2,02661	Conventional Hydrogen Bond
2	A:CYS159:HG - :*0:O	2,5742	Conventional Hydrogen Bond
3	A:ARG161:H - :*0:O	2,99203	Conventional Hydrogen Bond
4	A:HIS528:HE2 - :*0:O	2,83266	Conventional Hydrogen Bond
5	*0:H - A:CYS159:O	2,07232	Conventional Hydrogen Bond
6	*0:H - :*0:O	2,37463	Conventional Hydrogen Bond
7	*0:H - :*0:O	1,98395	Conventional Hydrogen Bond
8	*0:H1 - A:CYS159:O	2,81191	Carbon Hydrogen Bond
9	*0:H2 - A:MET623:O	2,44137	Carbon Hydrogen Bond
10	*0:H1 - A:MET623:O	2,70636	Carbon Hydrogen Bond
11	*0:H2 - A:MET623:O	3,0463	Carbon Hydrogen Bond
12	*0:H - A:GLN526:OE1	2,29024	Carbon Hydrogen Bond
13	*0:H1 - A:ALA157:O	2,49851	Carbon Hydrogen Bond
14	*0:H - A:ASP79:O	2,55483	Carbon Hydrogen Bond
15	A:ALA156 - :*0	4,85513	Alkyl
16	A:ALA156 - :*0:C	4,2851	Alkyl
17	A:ALA157 - :*0:C	4,22352	Alkyl
18	A:VAL158 - :*0	5,14537	Alkyl
19	A:CYS159 - :*0	5,37908	Alkyl
20	A:ALA625 - :*0:C	4,48435	Alkyl
21	*0:C - A:MET623	4,3369	Alkyl
22	*0:C - A:VAL158	4,86784	Alkyl
23	*0:C - A:CYS159	4,6603	Alkyl
24	A:PHE438 - :*0:C	3,76594	Pi-Alkyl
25	A:PHE531 - :*0:C	3,73219	Pi-Alkyl

**Tableau2** : le résultat de dynamique moléculaire du complexe 33-4A92.

	Name	Distance	Category	Types
1	A:ASP527:H - :*0:O	1,56736	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:HIS528:HE2 - :*0:O	1,78341	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	*0:H - :*0:O	1,89484	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	*0:H - :*0:O	1,3746	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	*0:H - A:ASP527:O	1,4627	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6	A:GLN526:HA - :*0:O	3,08438	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7	A:HIS528:HD2 - :*0:O	2,59889	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8	*0:H - A:ASP527:O	2,83643	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9	*0:H1 - A:ALA157:O	2,78614	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10	*0:H - A:CYS525:O	2,55154	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11	*0:H - A:LEU517:O	2,38811	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
12	*0:S - A:HIS528	5,17786	Other	Pi-Sulfur
13	A:VAL158 - :*0	5,1309	Hydrophobic	Alkyl
14	*0:C - A:MET623	3,71247	Hydrophobic	Alkyl
15	*0:C - A:CYS159	4,2364	Hydrophobic	Alkyl
16	A:HIS57 - :*0	4,67097	Hydrophobic	Pi-Alkyl
17	A:PHE438 - :*0:C	5,08034	Hydrophobic	Pi-Alkyl
18	A:HIS528 - :*0:C	5,21955	Hydrophobic	Pi-Alkyl
19	A:PHE531 - :*0:C	4,81761	Hydrophobic	Pi-Alkyl

**Tableau 3** : le résultat de dynamique moléculaire du complexe 30-4A92.

	Name	Distance	Category	Types
1	A:CYS159:H - :*0:O	2,02661	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:CYS159:HG - :*0:O	2,5742	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	A:ARG161:H - :*0:O	2,99203	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	A:HIS528:HE2 - :*0:O	2,83266	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	*0:H - A:CYS159:O	2,07232	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6	*0:H - :*0:O	2,37463	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7	*0:H - :*0:O	1,98395	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
8	*0:H1 - A:CYS159:O	2,81191	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9	*0:H2 - A:MET623:O	2,44137	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10	*0:H1 - A:MET623:O	2,70636	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11	*0:H2 - A:MET623:O	3,0463	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
12	*0:H - A:GLN526:OE1	2,29024	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
13	*0:H1 - A:ALA157:O	2,49851	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
14	*0:H - A:ASP79:O	2,55483	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
15	A:ALA156 - :*0	4,85513	Hydrophobic	Alkyl
16	A:ALA156 - :*0:C	4,2851	Hydrophobic	Alkyl
17	A:ALA157 - :*0:C	4,22352	Hydrophobic	Alkyl
18	A:VAL158 - :*0	5,14537	Hydrophobic	Alkyl
19	A:CYS159 - :*0	5,37908	Hydrophobic	Alkyl
20	A:ALA625 - :*0:C	4,48435	Hydrophobic	Alkyl
21	*0:C - A:MET623	4,3369	Hydrophobic	Alkyl
22	*0:C - A:VAL158	4,86784	Hydrophobic	Alkyl
23	*0:C - A:CYS159	4,6603	Hydrophobic	Alkyl
24	A:PHE438 - :*0:C	3,76594	Hydrophobic	Pi-Alkyl
25	A:PHE531 - :*0:C	3,73219	Hydrophobic	Pi-Alkyl

**Tableau 4 :** le résultat de dynamique moléculaire du complexe 88-4A92.

	Name	Distance	Category	Types
1	A:ALA157:H - :*0:O10	2,68329	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:CYS159:HG - :*0:O18	2,06572	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	A:HIS528:HE2 - :*0:O28	2,7998	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	:*0:H20 - A:GLN526:OE1	2,69454	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	A:ALA156:HA - :*0:O10	2,49855	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6	A:GLN526:HA - :*0:O46	2,48266	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7	A:HIS528:HE1 - :*0:O28	2,77402	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8	:*0:H8 - :*0:O38	2,64174	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9	:*0:H21 - A:GLN526:OE1	2,24755	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10	:*0:H34 - A:CYS159:O	2,36442	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11	:*0:H56 - A:ASP168:OD2	2,85933	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
12	:*0:H57 - A:ASP168:OD1	2,83756	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
13	:*0:H1 - A:PHE438	3,0004	Hydrogen Bond;Electrostatic	Pi-Cation;Pi-Donor Hydrogen Bond
14	A:ALA156 - :*0	4,96865	Hydrophobic	Alkyl
15	:*0:C13 - A:VAL132	4,57363	Hydrophobic	Alkyl
16	:*0:C44 - A:MET485	4,79314	Hydrophobic	Alkyl
17	:*0:C44 - A:VAL524	4,59851	Hydrophobic	Alkyl
18	:*0:C59 - A:MET485	4,55946	Hydrophobic	Alkyl
19	A:HIS57 - :*0	4,85672	Hydrophobic	Pi-Alkyl

**Tableau 5** : le résultat de dynamique moléculaire du complexe 89-4A92.

	Name	Distance	Category	Types
1	A:CYS159:HG - :*0:O19	2,11428	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:PHE486:H - :*0:O41	2,91445	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	A:GLN526:HE22 - :*0:O42	2,49962	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	A:HIS528:HE2 - :*0:O15	2,84143	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	*0:H14 - A:GLN526:OE1	1,96859	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6	*0:H25 - A:GLN526:OE1	2,01334	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7	*0:H6 - A:ASP527:O	2,94109	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8	*0:H15 - A:ALA157:O	2,19911	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
9	*0:H19 - A:CYS159:O	2,52311	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
10	*0:H46 - :*0:O38	2,74837	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11	A:LYS136 - :*0	5,36062	Hydrophobic	Alkyl
12	A:ALA157 - :*0	4,3281	Hydrophobic	Alkyl
13	A:CYS159 - :*0	5,1551	Hydrophobic	Alkyl
14	*0:C36 - A:VAL524	4,37384	Hydrophobic	Alkyl
15	*0:C54 - A:LYS136	4,09427	Hydrophobic	Alkyl
16	A:HIS57 - :*0	4,93734	Hydrophobic	Pi-Alkyl
17	A:HIS57 - :*0:C53	4,37825	Hydrophobic	Pi-Alkyl
18	A:HIS528 - :*0	4,39524	Hydrophobic	Pi-Alkyl

**Tableau 6** : le résultat de dynamique moléculaire du complexe 96-4A92.

	Name	Distance	Category	Types
1	:*0:N50 - A:ASP527:OD1	5,11389	Electrostatic	Attractive Charge
2	A:ARG155:HH11 - :*0:O11	1,96961	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	A:ARG155:HH21 - :*0:O11	1,90465	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	A:CYS159:H - :*0:O44	1,72517	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	A:ASP527:H - :*0:O34	1,78009	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6	:*0:H1 - A:ASP527:O	1,96946	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7	:*0:H10 - :*0:O19	1,98038	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
8	:*0:H37 - A:ALA157:O	2,4837	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
9	:*0:H50 - A:ASP527:O	1,95018	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
10	A:VAL158:HA - :*0:O44	2,44802	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
11	:*0:H22 - A:ASP168:OD2	2,60254	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
12	:*0:H26 - :*0:O34	2,69443	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
13	:*0:H27 - :*0:O34	2,24518	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
14	:*0:H38 - A:ALA157:O	2,72495	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
15	A:ALA156 - :*0	4,48936	Hydrophobic	Alkyl
16	A:ALA156 - :*0	4,64684	Hydrophobic	Alkyl
17	:*0:C30 - A:VAL158	4,51336	Hydrophobic	Alkyl
18	:*0:C59 - A:VAL524	4,1562	Hydrophobic	Alkyl
19	:*0:C60 - A:VAL524	3,89035	Hydrophobic	Alkyl
20	A:HIS57 - :*0	4,59241	Hydrophobic	Pi-Alkyl
21	A:HIS57 - :*0:C60	4,59798	Hydrophobic	Pi-Alkyl
22	A:TYR516 - :*0:C1	5,00374	Hydrophobic	Pi-Alkyl
23	A:HIS528 - :*0:C47	4,18515	Hydrophobic	Pi-Alkyl
24	A:PHE531 - :*0:C47	4,7455	Hydrophobic	Pi-Alkyl

**Tableau 7** : le résultat de dynamique moléculaire du complexe 103-4A92.

	Name	Distance	Category	Types
1	:*0:N32 - A:ASP81:OD2	5,09091	Electrostatic	Attractive Charge
2	A:ARG161:H - :*0:O51	2,61216	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	A:ASP527:H - :*0:O18	2,11422	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	:*0:H57 - A:CYS159:O	2,18677	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	A:THR160:HA - :*0:O51	2,72276	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
6	A:GLN526:HA - :*0:O18	2,71175	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
7	:*0:H8 - A:ASP527:O	2,82376	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
8	A:ALA156 - :*0:C15	3,7638	Hydrophobic	Alkyl
9	A:ALA156 - :*0	3,78937	Hydrophobic	Alkyl
10	A:CYS159 - :*0	4,5979	Hydrophobic	Alkyl
11	:*0:C29 - A:VAL524	4,20767	Hydrophobic	Alkyl
12	A:HIS57 - :*0	4,58686	Hydrophobic	Pi-Alkyl
13	A:PHE438 - :*0	5,40808	Hydrophobic	Pi-Alkyl
14	A:HIS528 - :*0:C13	5,39958	Hydrophobic	Pi-Alkyl
15	A:HIS528 - :*0:C14	4,98879	Hydrophobic	Pi-Alkyl



**Tableau 8** : le résultat de dynamique moléculaire du complexe 182-4A92.

	Name	Distance	Category	Types
1	A:ARG123:HH11 - :*0:O48	2,53119	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
2	A:ARG123:HH11 - :*0:N53	2,34371	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
3	A:ARG123:HH21 - :*0:O10	2,46981	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
4	A:ARG123:HH22 - :*0:O48	1,37717	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
5	A:ARG155:HH12 - :*0:O52	1,44146	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
6	A:ARG155:HH21 - :*0:O52	2,46497	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
7	A:CYS159:H - :*0:O28	1,84933	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
8	A:CYS159:HG - :*0:O28	2,37539	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
9	A:HIS528:HE2 - :*0:O18	2,28967	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
10	*0:H32 - A:GLN526:OE1	2,0141	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
11	*0:H53 - A:ASP79:O	1,35254	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond
12	A:VAL158:HA - :*0:O28	2,76188	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
13	*0:H34 - A:GLN526:OE1	2,79682	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
14	*0:H36 - A:GLN526:OE1	2,70934	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond
15	A:HIS528:ND1 - :*0	4,61713	Electrostatic	Pi-Cation
16	A:HIS528 - :*0	4,07184	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked
17	A:ALA156 - :*0	5,1842	Hydrophobic	Alkyl
18	*0:C1 - A:VAL524	4,77153	Hydrophobic	Alkyl
19	*0:C13 - A:VAL158	5,17061	Hydrophobic	Alkyl
20	*0:C15 - A:VAL158	4,12542	Hydrophobic	Alkyl
21	*0:C46 - A:LEU517	5,03277	Hydrophobic	Alkyl
22	*0:C61 - A:VAL524	4,74731	Hydrophobic	Alkyl
23	A:HIS57 - :*0	5,39066	Hydrophobic	Pi-Alkyl
24	A:HIS57 - :*0	5,26395	Hydrophobic	Pi-Alkyl
25	A:HIS57 - :*0:C61	5,23343	Hydrophobic	Pi-Alkyl
26	A:HIS528 - :*0:C13	4,51333	Hydrophobic	Pi-Alkyl
27	*0 - A:CYS159	5,04623	Hydrophobic	Pi-Alkyl