



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

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

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Bioinformatique

Intitulé :

Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la Main Protease du SARS-CoV-2

Préparé Par :

- ❖ **ROUABAH Safia**
- ❖ **HIRECHE Yousra**

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI.A. (Professeur à UFM Constantine 1).

Rapporteur: MOKRANI E.H. (Maître de Conférences B à UFM Constantine 1).

Examineur : . KELLOU.K. (Maître -assistant Classe A à UFM Constantine 1).

Année Universitaire : 2020-2021

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre encadreur Mr. MOKRANI E. H. Maître de Conférences « B » à l'Université Frères Mentouri Constantine -1, sans lequel ce travail n'aurait pas été possible. Son attention exceptionnelle et sa disponibilité nous ont été d'une richesse très formatrice.

*Nos remerciements les plus vifs à **Mr. HAMIDECHI-A** Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider ce jury ;*

On exprime également notre reconnaissance à Mr KELLOU.K. (Maître -assistant Classe A à l'Université Frères Mentouri Constantine -1) pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Un grand merci à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Merci.

Introduction générale.....1

Revue bibliographique

Chapitre 1 : COVID-19

1 Introduction..... 3
2 Epidémiologie..... 3
4 Mécanisme de physiopathologie..... 4
5 Traitement..... 6

Chapitre 2 : Main Protéase

1 Introduction..... 7
2 Structure de la Mpro..... 7
3 Structure et spécificité du site actif de la Mpro..... 8
4 Mécanisme d'action de la Mpro..... 9

Chapitre 3 : Le Docking Moléculaire

1 Introduction..... 10
2 Docking moléculaire..... 10
3 Outils du Docking moléculaire 11
3.1 Récepteur..... 11
3.2 Ligand..... 11
3.3 Programmes du Docking moléculaire 12
4 Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité..... 13

Partie pratique

Chapitre 4 :Matériel et Méthodes

1.1 Programmes..... 14
1.1.1 FlexX..... 14
1.1.2 Visual Molecular Dynamics(VMD)..... 14
1.1.3 OpenBabel..... 15
1.2 Banques de données et sites internet..... 15
1.2.1 PDB (Protein Data Base)..... 15
1.2.2 PubChem..... 16

1.2.3 SwissADME.....	16
2 Méthode.....	17
2.1 Choix et préparation de la cible.....	17
2.2 Préparation du ligand	18
2.3 Docking moléculaire par FlexX.....	18
2.4 Test de fiabilité du logiciel.....	19
2.4.1 Test RMSD.....	19
2.4.2 Analyse visuelle.....	19
2.5 Proposition de nouveaux inhibiteurs de la Mpro.....	20
2.6 Prédiction des propriétés ADME.....	20
2.6.1 Propriétés physico-chimiques.....	20
2.6.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	21
Chapitre 5 : Résultats et Discussion	
1 Evaluation de la performance du programme FlexX.....	22
1.1 RMSD.....	22
1.2 Analyse visuelle.....	23
1.3 Conclusion.....	23
2 Etude des interactions Mpro-SRAS CoV-2-inhibiteurs.....	24
3 Proposition de nouveaux inhibiteurs de la Mpro-SRAS-CoV-2.....	25
3.1 Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques.....	25
3.2 Etude des interactions des meilleurs similaires vis-à-vis de l'enzyme	31
3.2.1 Composé S119.....	31
3.2.2 Composé S127.....	32
3.2.3 Composé S175.....	34
4. Prédiction des paramètres ADME	36
4.1. Propriétés physico-chimiques	36
4.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	37
Conclusion générale.....	38
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les codes PDB des complexes MproSRAS-CoV-2-Inhibiteurs avec leurs résolutions.....	17
Tableau 2 : Classement, numéro d'accèsion et énergie des 188 similaires chimiques étudiés.....	26
Tableau 3 : Propriétés physicochimiques des composés S119, S127, S175 ainsi que la chloroquine.....	36
Tableau 4 : Propriétés pharmacocinétiques propriétés physicochimiques des composés S119, S127, S175 ainsi que la chloroquine.....	37

Liste des figures

<u>Figure 1</u> : Cycle de réplication SRAS-CoV-2.....	5
<u>Figure 2</u> : Structure 3D du SRAS CoV-2-Mpro.....	8
<u>Figure 3</u> : Représentation du surface des poches de liaison au substrat du SRAS CoV2...	9
<u>Figure 4</u> : Mécanisme d'hydrolyse du SRAS CoV-2-Mpro.....	9
<u>Figure 5</u> : Les deux étapes de docking moléculaire <<Docking>> et <<Scoring>>.....	11
<u>Figure 6</u> : Comparaison des programmes du docking les plus cités.....	12
<u>Figure 7</u> : Représentation de modèle Clé-serrure pour le docking rigide.....	13
<u>Figure 8</u> : Interface du logiciel FlexX.....	14
<u>Figure 9</u> : Interface du logiciel VMD.....	15
<u>Figure 10</u> : Interface du logiciel OpenBabel version (2.0.2).....	15
<u>Figure 11</u> : Page d'accueil de la PDB.....	16
<u>Figure 12</u> : Page d'accueil de la PubChem.....	16
<u>Figure 13</u> : Page d'accueil du serveur SwissADME.....	17
<u>Figure 14</u> : Structure chimique de l'inhibiteur F3F du complexe 2GZ8.....	18
<u>Figure 15</u> : Interface graphique LeadIT du programme FlexX.....	19
<u>Figure 16</u> : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.....	22
<u>Figure 17</u> : Superposition de la géométrie du ligand F3F du complexe 2GZ8.....	23
<u>Figure 18</u> : Mode d'interaction du composé F3F dans le site actif de la Mpro-SRAS-CoV-2.....	25
<u>Figure 19</u> : Conformation 2D du composé S119.....	31
<u>Figure 20</u> : Mode d'interaction du composé S119 dans le site actif de la Mpro-SRAS-CoV-2.....	32
<u>Figure 21</u> : Conformation 2D du composé S127.....	33
<u>Figure 22</u> : Mode d'interaction du composé S127 dans le site actif de la Mpro-SRAS-CoV-2.....	34
<u>Figure 23</u> : Conformation 2D du composé S175.....	35
<u>Figure 24</u> : Mode d'interaction du composé S175 dans le site actif de la Mpro-SRAS-CoV-2.....	35

Liste des abréviations

3D : Trois dimensions

2D : Deux dimensions

Å : Angstrom

AA : Acide Aminé

AC : Adenylyl cyclase

ADME : Absorption Distribution Métabolisme Excrétion/toxicité

BBB perméabilité : Blood–Brain Barrier perméabilité

CYP1A2 : Cytochrome P1A2

CYP2C19 : Cytochrome P2C19

CYP2C9 : Cytochrome P2C9

CYP2D6 : Cytochrome P2D9

CYP3A4 : Cytochrome P3A4

GI absorption : Gastro-intestinal absorption

PM : Poids Moléculaire

nLF : nombre des liaisons flexibles

nON : Nombre d'accepteur d'hydrogène

nOHNH : Nombre de donneurs d'hydrogène.

Kcal/Mol : Kilo calories/Mol

LogP : Coefficient de partage Eau/Octanol

LF : liaison flexible

PDB : Protein Data Bank (Banque de donnée proteique)

VMD : Visual Molecular Dynamics

RMSD : Root Mean Square Deviation

TPSA : Surface polaire

Mpro : Mainprotease

3CLpro : enzyme cystéine de type 3-chymotrypsine like protéase

VIH : Virus de l'immunité humaine

VHC : Virus de l'hépatite C

FDA : administration des aliments et des médicaments (food and drug administration)

SRAS-COV : Syndrome respiratoire aigu sévère du Corona Virus

OMS : Organisation Mondiale de la Santé



Introduction générale

Introduction générale :

La maladie à coronavirus (COVID-19) est une maladie respiratoire qui peut se propager d'une personne à une autre. Cette maladie infectieuse, causée par le virus SARS-CoV-2 a été identifiée pour la première fois à Wuhan, en Chine, et s'est rapidement propagé à travers le monde. Cette maladie a été nommée COVID-19 par l'OMS, abréviation de « Corona Virus Disease 2019 ». Depuis son apparition, la COVID-19 s'est rapidement devenue un véritable fléau qui ronge la santé publique aux quatre coins du monde. En effet, cette pandémie est l'un des événements les plus dévastateurs de l'histoire, avec des impacts remarquables sur la santé, les systèmes économiques et les habitudes de l'ensemble de la population mondiale.

Jusqu'à présent, aucun traitement curatif ne permet de guérir complètement la maladie à la COVID-19. Cependant, quelques stratégies médicamenteuses prometteuses sont proposées. À ce titre, l'inhibition de la Main protéase (Mrpo) semble tout indiquée car peu de travaux ont été dédiés à cette enzyme qui pourtant pourrait jouer un rôle crucial dans le traitement de cette maladie. En effet, cette enzyme contrôle la réplication des coronavirus y compris le SRAS-CoV-2. C'est à ce titre que l'utilisation de nouveaux inhibiteurs de la Mrpo peut s'avérer un moyen efficace pour traiter cette maladie en bloquant la réplication de cet éventuel virus

L'objectif essentiel du présent travail est de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de la Mpro par docking moléculaire. Ces méthodes théoriques consistent à prédire l'affinité d'un très grand nombre de molécules pour le site actif d'une cible thérapeutique donnée, ce qui est plus facile à mettre en œuvre, plus rapide pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. Initié au début des années 1980, le docking moléculaire s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouveaux produits biologiquement actifs [1].

Avant de rechercher de nouveaux inhibiteurs de la Mrpo, nous avons tenté, dans un premier temps, d'évaluer la performance du programme de docking moléculaire « FlexX » utilisé dans cette étude. Pour cela, nous avons fait appel au test de fiabilité par *Root Mean Square Deviation* (RMSD).

Dans un deuxième temps, nous avons réalisé des calculs de docking moléculaire sur une collection de 188 similaires chimiques d'un puissant inhibiteur de la Mrpo. Les meilleurs inhibiteurs issus de ce docking vont faire l'objet d'une étude prédictive sur leurs propriétés

Introduction

physicochimiques et pharmacocinétiques potentielle afin de se renseigner sur leur profil ADME.



Chapitre 1

COVID19

1. Introduction

Avant 2003, les seuls coronavirus pathogènes connus étaient hCoV-229E et hCoVOC43, tous deux responsables de maladies respiratoires insignifiantes avec des symptômes similaires au rhume [2] La découverte du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) et coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient qui a causé le SRAS (2003), respectivement, ont soulevé d'énormes préoccupations concernant la dangerosité et la forte contagiosité des nouveaux coronavirus [3.4] En décembre 2019, quelques dizaines de personnes travaillant au marché de gros de Wuhan sont hospitalisées pour un syndrome respiratoire très sévère causé par un nouveau virus ; SRAS-CoV 2 ou COVID-19.

La propagation rapide mondiale de la nouvelle maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) a rendu public mondial santé en grave difficulté depuis début 2020. La COVID-19 est une maladie respiratoire, affectant principalement les poumons et provoquant des symptômes de divers degrés de morbidité [5] Cette maladie est causée par un virus à ARN simple brin (+ ssRNA) appartenant à la famille des *Coronaviridae* capables de se propager chez l'homme et animaux [6] Le génome du SRAS-CoV-2 est représenté par deux cadres de lecture ouverts qui code pour deux grandes polyprotéines, pp1a et pp1ab. Après le clivage protéolytique, ces gènes sont traduits en protéines non structurales matures (NSP). Les enzymes impliquées dans cette conversion sont deux cystéine protéases, à savoir la protéase de type papaine PLpro et la protéase 3CLpro de type chymotrypsine. Cette dernière, plus connue sous le nom de Mpro (Main Protéase) est indispensable à la prolifération et à l'infectiosité du virus, car permettant la maturation des virus polyprotéines et, par conséquent, leur assemblage en de nouveaux virions. Il est communément admis que la découverte de nouvelles thérapies spécifiques visant à inhiber ces processus protéolytiques peut être d'une grande utilité dans la lutte contre la COVID-19 ainsi que dans la prévention des épidémies virales.

2. Epidémiologie

La fin de l'année 2019, mois de Décembre, l'humanité s'est réveillée sur une information bouleversante, parlant de l'existence d'un virus communément nommé la COVID19. Wuhan ville située à l'extrême Sud Est de la Chine abritant une population de 35 millions, s'est vu mise en quarantaine afin d'étudier et voir l'évolution de cet intrus. Des dizaines de cas voir des centaines chaque jour, les medias à travers le monde se sont éclipsés

devant la présence d'un virus dont le comportement était inconnu, attaquant plusieurs personnes mettant toute l'organisation mondiale de la santé dans la gêne.

En 31 Mai 2021, plus de 170 millions de personnes à travers le monde sont touchées par cette maladie qui a engendré plus de 3.45 millions de décès. Les états unis d'Amérique est le pays le plus touché par cette pandémie avec 33.3 millions de cas confirmés suivie par l'Inde et le Brésil avec 27.9 et 16.5 millions de cas respectivement [6].

En Algérie, la COVID-19 se propage à partir du 25 février 2020 lorsqu'un ressortissant italien a été testé positif au SARS-CoV-2. Depuis, des milliers de cas sont ensuite détectés pour atteindre plus de 129 000 cas positifs et 3465 décès en Juin 2021[7].

3. Mode de transmission

De nombreuses études et revues systématiques ont été publiées sur plusieurs modes de transmission potentiels, notamment les gouttelettes respiratoires, le contact rapproché, les matières contaminées, la membrane conjonctive ou la transmission verticale. En effet, les dernières études expérimentales appuient l'hypothèse de la transmission du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère par des particules fines (gouttelettes respiratoires ou aérosols) en cas d'exposition prolongée dans un espace mal ventilé. Le principal mode de transmission du COVID-19 reste cependant les gouttelettes respiratoires et les contacts étroits non protégés [8].

- La transmission du COVID-19 se produit principalement par contact étroit (moins de 2 m) non protégé avec une personne infectée. Selon l'épidémiologie de la COVID-19, cette transmission s'effectue surtout par les gouttelettes respiratoires de personnes symptomatiques, pré-symptomatiques et, plus rarement, asymptomatiques.
- La transmission sur des distances plus grandes (plus de 2 m) est moins courante, mais possible dans certaines conditions, comme l'exposition prolongée dans un espace mal ventilé. Il est alors possible d'inhaler de fines gouttelettes respiratoires ou des aérosols. Il est probable que la transmission aérienne de la COVID-19 soit un mode de transmission opportuniste, ce qui signifie qu'elle se fait le plus souvent par des voies non aériennes, mais peut se faire par des aérosols dans des conditions favorables.
- La transmission par la membrane conjonctive, la transmission verticale (intra-utérine), la transmission fécale-orale, la transmission par matières contaminées et la transmission

zoonotique sont relativement peu fréquentes. Si elles restent possibles, on connaît encore mal leur contribution à l'épidémiologie de la COVID-19

4. Mécanisme physiopathologique

Le cycle de réplication du SRAS-CoV-2 est illustré à la figure N° 1. L'entrée du virus dans la cellule pulmonaire est régulée par l'interaction de la protéine de pointe (protéine S) avec le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE-2), situé à la surface des pneumocytes [9]. Diverses enzymes protéolytiques importantes sont impliquées dans la réplication et l'infection capacité de SARS-CoV-2, y compris SARS-CoV-2 Mpro, SARS-CoV-2 PLpro et TMPRSS-2.

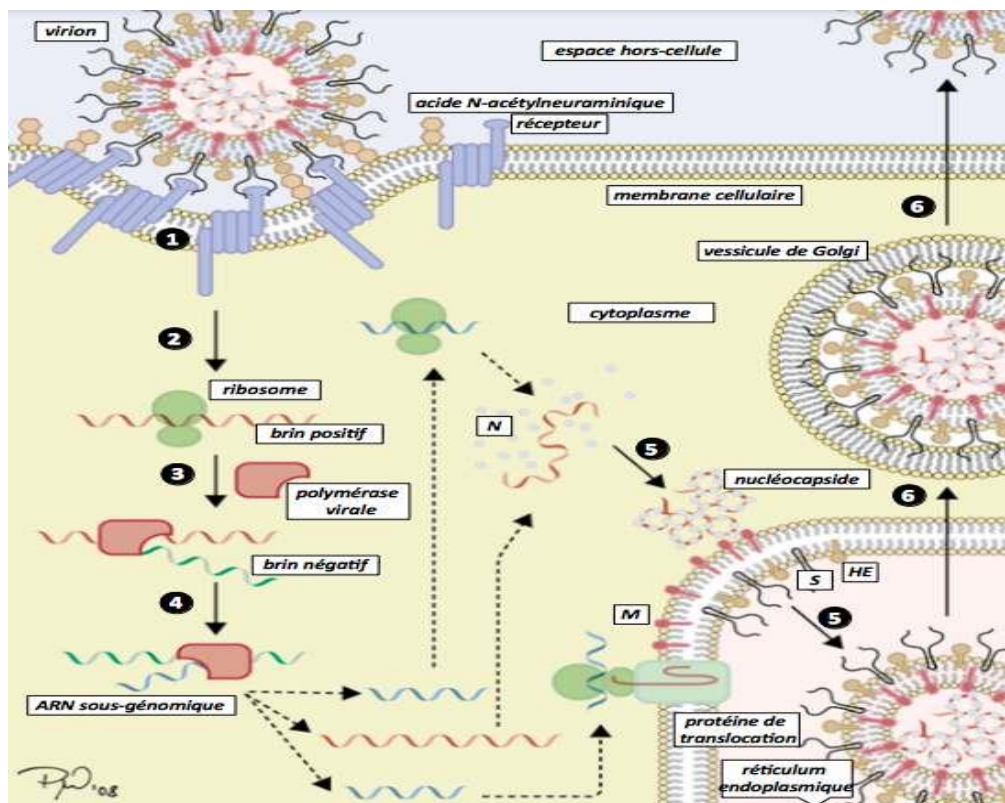


Figure1 : Cycle de réplication SRAS CoV2

Après la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol de la cellule hôte, la machinerie cellulaire traduit le gène de la réplicase en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab) clivées en nombreuses protéines indispensables au cycle viral (notamment deux protéases virales et une ARN-polymérase ARN-dépendant) s'assemblant en un large complexe de transcription et de réplication. Ce complexe permet d'une part de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti-sens appelés ARN sous-génomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions. Finalement les

brins d'ARN synthétisés sont combinés avec la protéine N pour former la nucléocapside et l'assemblage avec les glycoprotéines d'enveloppe permet le bourgeonnement de nouvelles particules virales [10].

5.Traitement

Malgré une vaccination à grande échelle en cours dans le monde, les problèmes liés à cette maladie virale sont loin d'être résolus, en particulier en raison de l'insurrection et de la diffusion de nouvelles souches. Par conséquent, la nécessité de trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques pour le traitement abordable de cette dangereuse infection devient alors cruciale. À ce titre, la Main protéase (Mrpo) semble tout indiquée car peu de travaux ont été dédiés à cette enzyme qui pourtant pourrait jouer un rôle crucial dans le traitement de cette maladie. En effet, cette enzyme contrôle la réplication des coronavirus y compris le SRAS-CoV-2. C'est à ce titre que l'utilisation de nouveaux inhibiteurs de la Mrpo peut s'avérer un moyen efficace pour traiter cette maladie en bloquant la réplication de cet éventuel virus [11].



Chapitre 2

La Main Protease

1. Introduction

La cystéine protéase de type 3-chymotrypsine (3CL pro) également connu sous le nom Main protéase (Mpro) est une enzyme contrôlant la réplication des coronavirus y compris le SRAS-CoV-2. Par conséquent, l'inhibition de cette enzyme pourrait bloquer la réplication et la propagation de ce virus. En association avec la deuxième protéase virale fondamentale PLpro, elle effectue plus de 11 coupes à la polyprotéine 1a / 1ab (pp) en l'hydrolysant en 16 protéines non structurales matures (NSPS) Ces dernières sont impliquées dans la synthèse d'ARN sous-génomique nécessaire à la production des protéines virales par la cellule hôte.

2. Structure de la Mpro

SARS-CoV-2 Mpro est l'une des cibles les plus intéressantes pour le traitement de la COVID-19 [14–15]. Cette enzyme joue un rôle important dans le cycle de réplication de tous les coronavirus y compris le SARS-CoV-2 [16]. Sur le plan structural, cette enzyme comporte une seule chaîne de 306 acides aminés.

La Mpro est une enzyme conservée parmi celles des coronavirus. Elle possède un grand degré d'homologie avec les protéases des coronavirus tels que le MERS-CoV et le SARS-CoV. En effet, la Mpro de ce dernier virus présente une homologie structurale de 96% vis-à-vis de la Mpro du SARS-CoV-2. Ceci renforce l'hypothèse que les inhibiteurs de la Mpro SARS-CoV pourront inhiber également la Mpro du SARS-CoV 2. Dans ce contexte, Zhang L. et al. ont publié, en Mars 2020, la structure cristallographique aux rayons X (PDB : **6LU7**) du SARS-CoV-2 Mpro lié à un inhibiteur à base de peptide connu sous le nom de N3 (voir ci-après) [14]. Ce composé a été conçu auparavant comme un inhibiteur à large spectre des Mpro coronavirus [17][18].

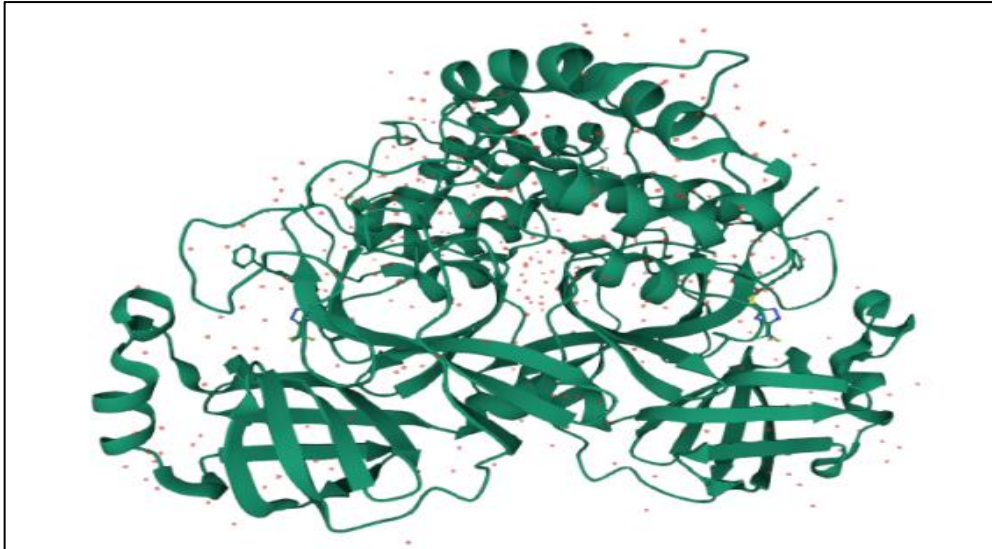


Figure 2 : Structure 3D du SARS-CoV-2 Mpro

2. Structure et spécificité du site actif de la Mpro

Le site actif de l'enzyme se compose de 4 poches (S1', S1, S2, S4) [19], en plus d'une poche S10 contenant la dyade catalytique [20]. Cette dyade catalytique est composée du Cys145 et His41 et est insérée dans une fente entre les domaines I et II (figure N°3) L'absence d'un troisième acide aminé catalytique standard est compensé par la présence d'une eau [21,20,22], qui forme des liaisons hydrogène avec le résidu de His41. Une autre molécule d'eau est située dans le site actif de l'enzyme établit également des liaisons hydrogène avec les résidus Phe140, His163 et Glu166, stabilisant le trou oxyanion [23]. Les inhibiteurs de cette enzyme peuvent remplacer les deux molécules d'eau à l'intérieur du site de liaison, et ceci est probablement associé à une augmentation significative de la puissance [14,17,24–25]. L'hydrolyse des polyprotéines virales par la Mpro génère la séquence Leu-Gln (Ser, Ala, Gly) ;un caractéristique motif partagé parmi les coronavirus. Il est à noter qu'il n'y a pas de protéases humaines générant ce type de motif. Par conséquent, on peut raisonnablement supposer que les peptidomimétiques et les inhibiteurs de Mpro pourraient être extrêmement sélectifs [26,15].

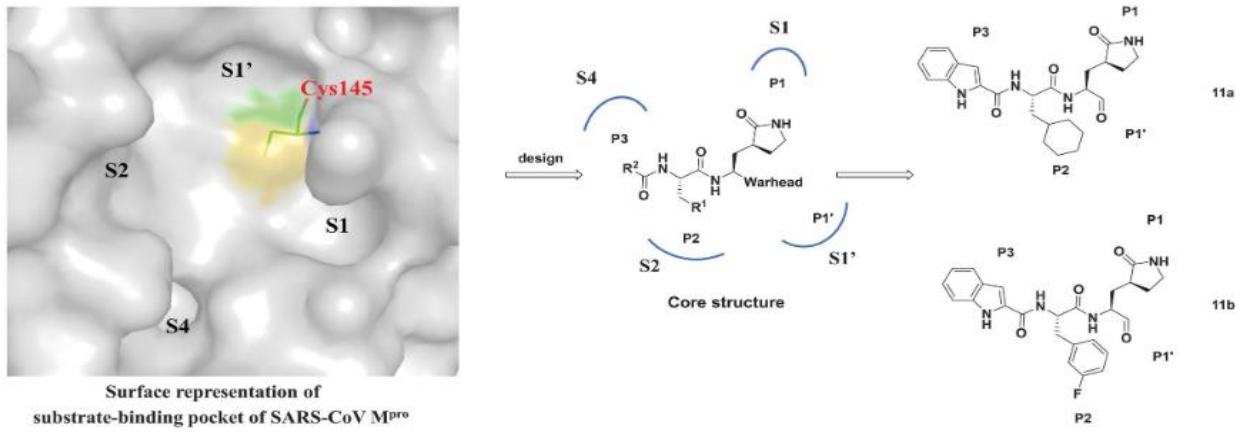


Figure 3 : Représentation de surface des poches de liaison au substrat du SRAS CoV-2

3. Mécanisme d'action de la Mpro

Les résidus Cys145 et His41 forment une dyade catalytique dans laquelle le groupe thiol (-SH) de la cystéine est responsable de l'hydrolyse [20,22]. His41 fournit les conditions de pH optimales nécessaires pour l'activation du groupe -SH, qui à son tour réalise l'attaque nucléophile du substrat. L'ensemble du processus réalisé par le Mpro est représenté sur la figure N°4 et est divisé en quatre phases: (1) Déprotonation du groupe -SH du Cys145 par His41, avec formation de l'ion thiolé activé; (2) attaque nucléophile de ce dernier sur le carbone carbonyle de le substrat et la formation d'un adduit tétraédrique; (3) libération de l'hydrolyse peptidique produit avec l'extrémité N-terminale libre et régénération du catalytique His41; (4) thio-ester hydrolyse avec libération du fragment peptidique restant avec l'extrémité C-terminale libre [27,28].

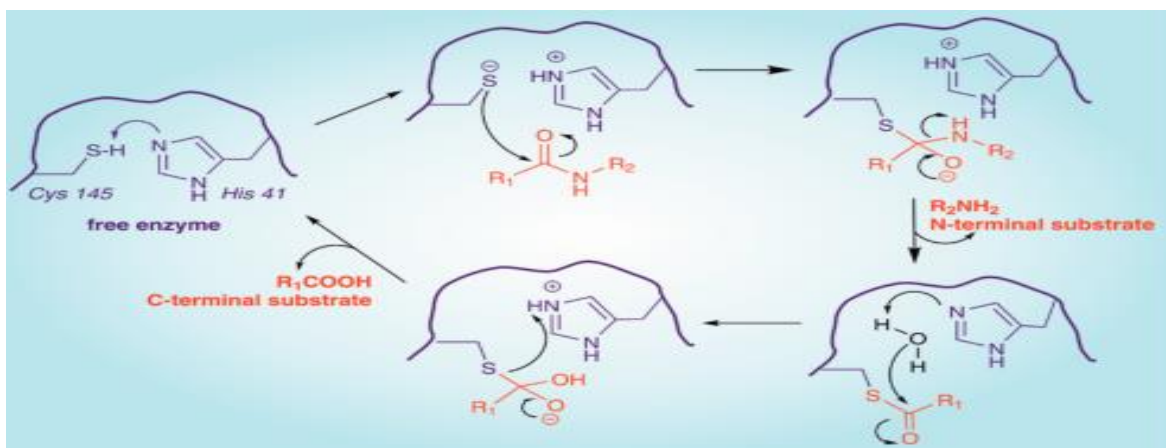


Figure 4 : Mécanisme d'hydrolyse du SARS-CoV-2 Mpro. Les acides aminés de la dyade catalytique et du substrat sont représentés en bleu et en orange, respectivement.



Chapitre 3

Docking moléculaire

1. Introduction

La conception d'un nouveau médicament est un ensemble d'étapes et de processus très long et fastidieux durant entre 10 à 12 pour un coût global d'un milliard de dollars. Dans le passé, l'approche classique de développement d'un nouveau médicament était basée sur le criblage à haut débit (*High-Through Screening* ou HTS). Cette approche consiste à tester expérimentalement l'affinité d'un très grand nombre de ligand à l'égard d'une cible thérapeutique donnée. Actuellement, et avec le développement de l'outil informatique, des méthodes plus efficaces ont été introduites pour la découverte de nouveaux médicaments reposant sur le criblage virtuel *in silico*. Cette dernière approche permettant de simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligand envers une cible d'intérêt, ce qui est plus facile à mettre en œuvre pour un coût bien moindre que l'approche expérimentale. Initié au début des années 1990, le criblage virtuel s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans les premières phases de conception d'un nouveau médicament [29].

2. Docking moléculaire

Aussi connue par l'amarrage ou l'arrimage moléculaire, est une approche *in silico* permettant de prédire la conformation d'un complexe récepteur-ligand, où la cible biologique d'intérêt thérapeutique (récepteur) est généralement une protéine ou une molécule d'acide nucléique (ADN ou ARN) et le ligand est une petite molécule. A l'heure actuelle, il existe plus que 40 programmes (logiciels) de docking moléculaire. Bien que ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques, leur protocole est composé de 2 étapes complémentaires : La première étape dite **docking** permet au ligand d'adopter plusieurs conformations et plusieurs positions au niveau de son récepteur afin de retenir celle la plus favorable. La deuxième étape, dite **scoring**, est l'étape de classement, permettant d'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 proposées [30].

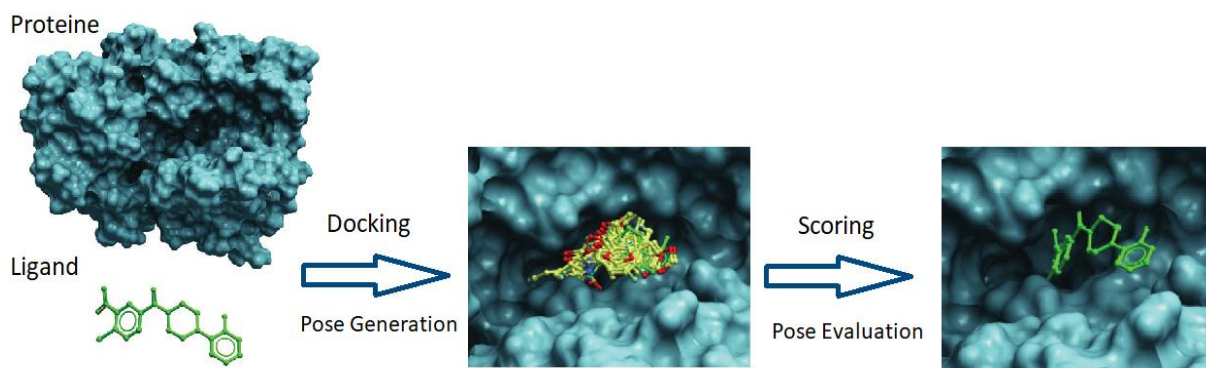


Figure 5: Les deux étapes de docking moléculaire, « docking » et « scoring ». [31]

3. Outils du docking moléculaire

3.1. Récepteur

Les structures 3D des différentes cibles thérapeutiques (protéines) sont disponibles via la banque de données *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Cette banque fournit de diverses structures protéiques 3D qui ont été résolues par la cristallographie au rayon X, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la microscopie électronique.

Les coordonnées spatiales de chaque atome des structures 3D se trouvent dans un format de référence, appelé *pdb*, lu par différents logiciels de visualisation, de modélisation, de criblage virtuel...etc. Donc, il suffit de consulter la PDB et d'inscrire le nom de la structure pour télécharger le fichier de n'importe quelle cible (si disponible) sous le format *pdb*. Chaque fichier *pdb* contient diverses annotations relatives à la protéine en question. On trouve par exemple: le nom du récepteur, l'équipe qui a résolue la structure, la méthode expérimentale, ...etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes (ligand, métaux, résidus modifiés, ...etc.), la structure secondaire et les coordonnées spatiales atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée [32].

3.2. Ligand

Le choix du ligand est une étape très importante pour réussir un docking moléculaire. Ainsi, la structure 3D d'un ligand donné peut être obtenu soit par :

- L'utilisation des ligands de la littérature que nous pouvons dessiner, optimiser et sauvegarder dans différents formats (pdb, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, MarvinSketch, ChemSketch.
- La consultation des banques de données de ligands (chimiothèques) fournissant un nombre très important de structures 3D de ligands prêtes pour le docking. Parmi les chimiothèques les plus utilisés, nous pouvons citer : *ZINC*, *PubChem*, *AvailablechemicalDirectory* (ACD), *MDL Drug data Report* (MDDR), ou *National Cancer Institute Database* (NCI) [33].

3.3 Programmes de docking moléculaire

L'utilisation de méthodes informatiques tel que le docking moléculaire a largement facilité la découverte de nouveaux candidats médicaments. En effet, celles-ci permettent de tester en un temps relativement court des millions de molécules afin de dégager celles capables d'interagir avec le site de liaison d'une protéine. Actuellement, plus de 40 logiciels de docking sont disponibles dont FlexX qui a été utilisé dans notre travail, ainsi que, GOLD et AutoDock. Ces trois logiciels sont les plus fréquemment cités et pèsent 53 % du total de citations trouvées dans la littérature [34].

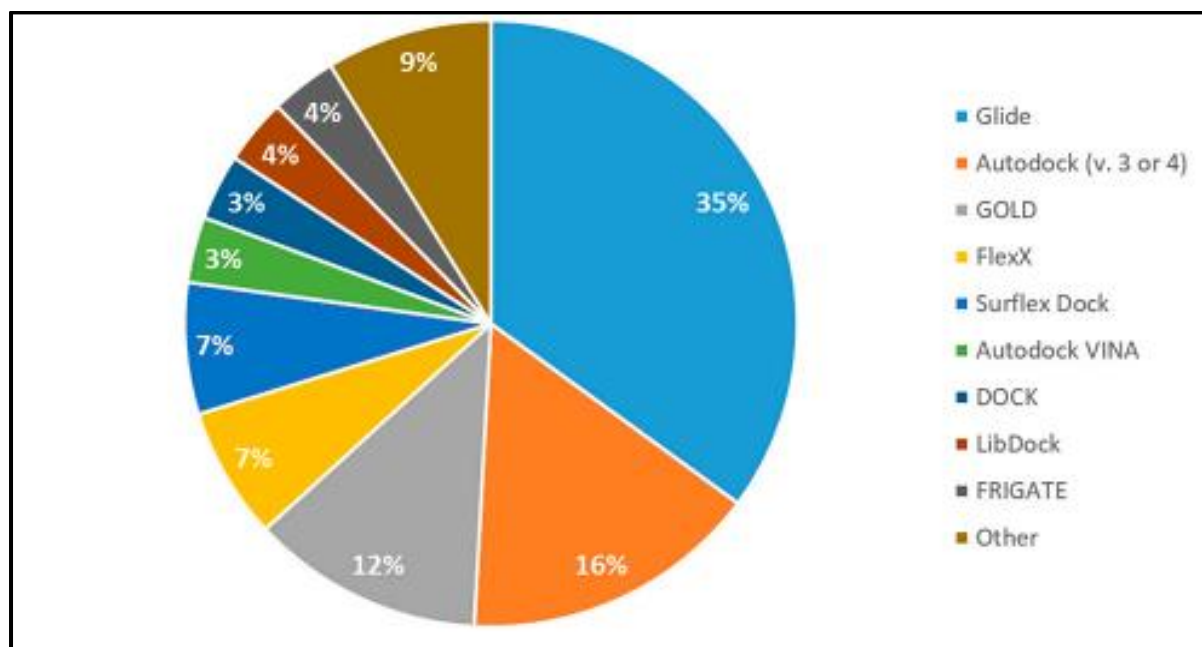


Figure 6 : Comparaison des programmes de docking les plus cités

4. Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

Les premiers logiciels de docking développés au début des années 80 considéraient le récepteur et le ligand rigides en se basant sur le modèle « clé-serrure ». C'est sans aucun doute la catégorie la plus simple et rapide de docking (Figure N°7). Mis en marche plus tard, le docking semi-flexible a permis d'obtenir des résultats plus précis. Le récepteur est considéré comme corps rigide mais tient compte de la flexibilité du ligand. Aujourd'hui, la puissance de calcul des ordinateurs permet, pour certains logiciels de docking, de traiter la flexibilité du ligand et de façon partielle le récepteur [35].

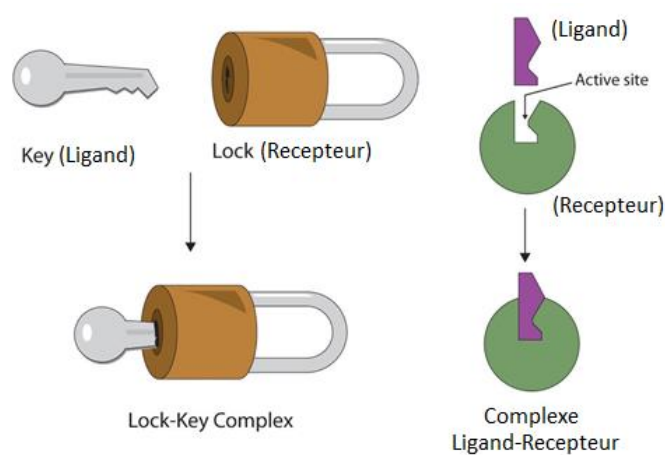


Figure 7: Représentation du modèle Clé-serrure pour le docking rigide.



Matériel Et Méthodes

1. Matériel

Dans notre étude, nous avons utilisé un microordinateur ayant une mémoire vive de 4 Go et un processeur Intel ((R) Core (TM) i3-6006U). Les programmes utilisés ont été installés sous le système d'exploitation Windows 7 Professionnel.

1.1. Programmes

1.1.1. Flex-X :

FlexX (<http://www.biosolveit.de/>) a été utilisé dans notre travail pour prédire les interactions protéine-ligand. Pour une protéine donnée et un ligand, FlexX prédit la géométrie du complexe ainsi qu'une estimation de l'énergie d'interaction en KJ/mol [36]. Ce programme utilise une approche incrémentale pour chercher les conformations les plus stables d'un complexe protéine-ligand.

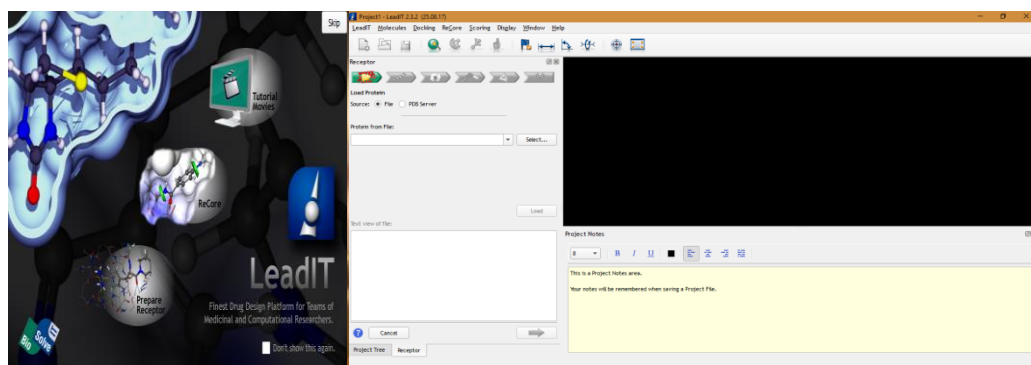


Figure 8 : interface d'accueil du logiciel flexX

1.1.2 Visual Molecular Dynamics (VMD)

VMD est conçu pour la visualisation et l'analyse des systèmes biologiques tels que les protéines et les acides nucléiques. Ce programme peut lire les fichiers standards de la banque de données de protéines (PDB) et afficher leur contenu [37].

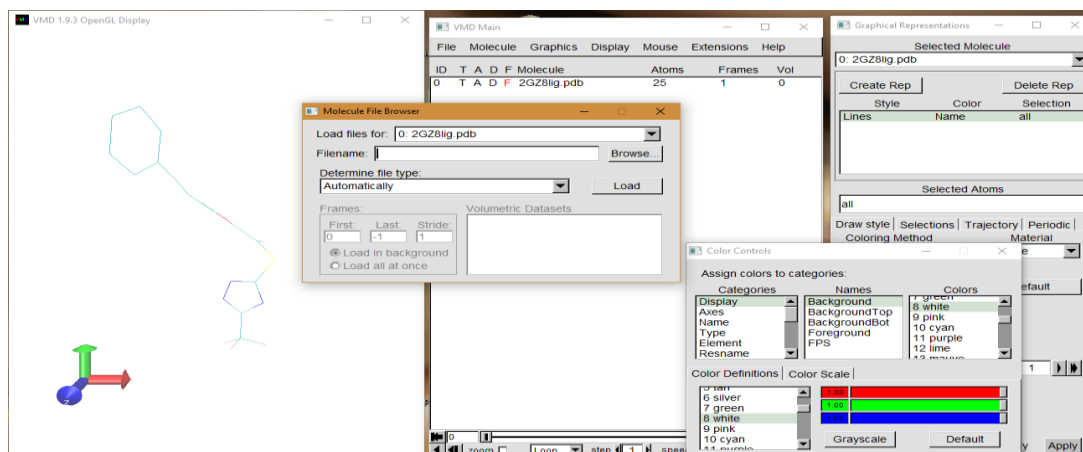


Figure 9 : Interface du logiciel VMD

1.1.3. OpenBabel

Le programme libre OpenBabel version 2.0.2 [38], nous a servis pour la conversion des fichiers, contenant les données chimiques, d'un format à un autre (pdb, mol, sdf, smi... etc).

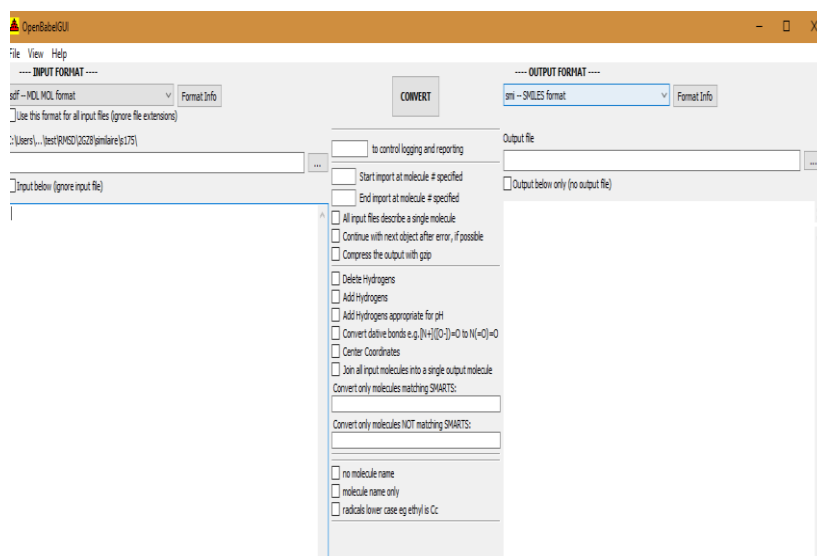


Figure 10 : L'interface du logiciel OpenBabel version (2.0.2)

1.2. Banques de données et sites internet

1.2.1 : PDB (Protein Data Bank)

La PDB est la principale source de données de biologie structurale qui permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique [39]. La structure tridimensionnelle de la Mpro a été extraite à partir de cette banque.

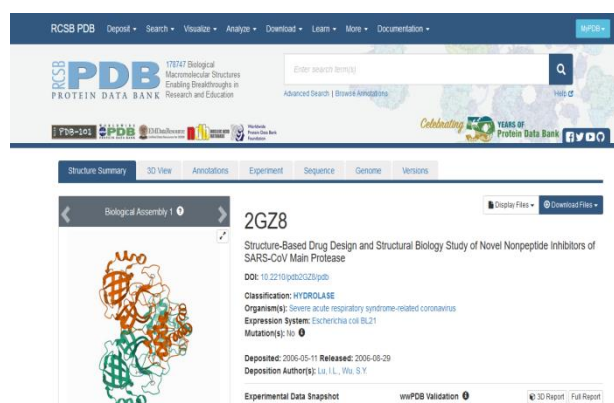


Figure 11 : Page d'accueil de la PDB

1.2.2. PubChem

La PubChem est une banque de données de molécules chimiques (Chimiothèque) gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la *National Institutes of Health* (NCI). Cette chimiothèque répertorie plus de 97 millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental, etc. La pubChem nous a été utile afin d'obtenir des similaires structuraux de notre ligand de base [40].

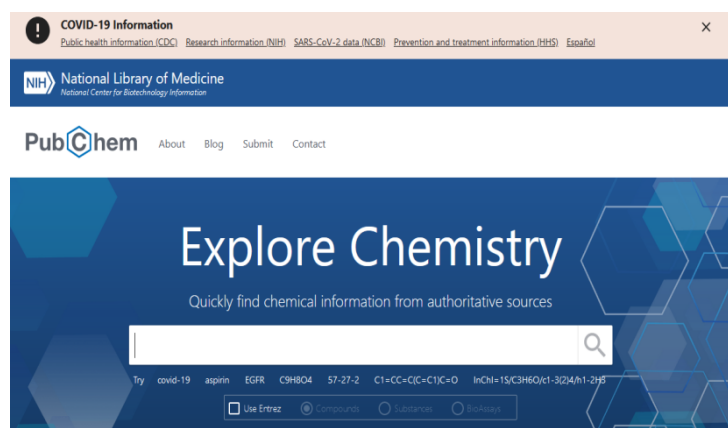


Figure 12 : Page d'accueil de la PubChem

1.2.3. SwissADME :

Ce serveur en ligne est géré par l'Institut suisse de bioinformatique (SIB), qui fournit des services et des ressources en bioinformatique aux scientifiques. SwissADME fournit notamment une plate-forme pour évaluer la règle de cinq de *Lipinski* sur la biodisponibilité

orale des médicaments. Il peut également prédire les propriétés pharmacocinétiques et les propriétés *drug-like* des candidats-médicaments et des petites molécules [41] .

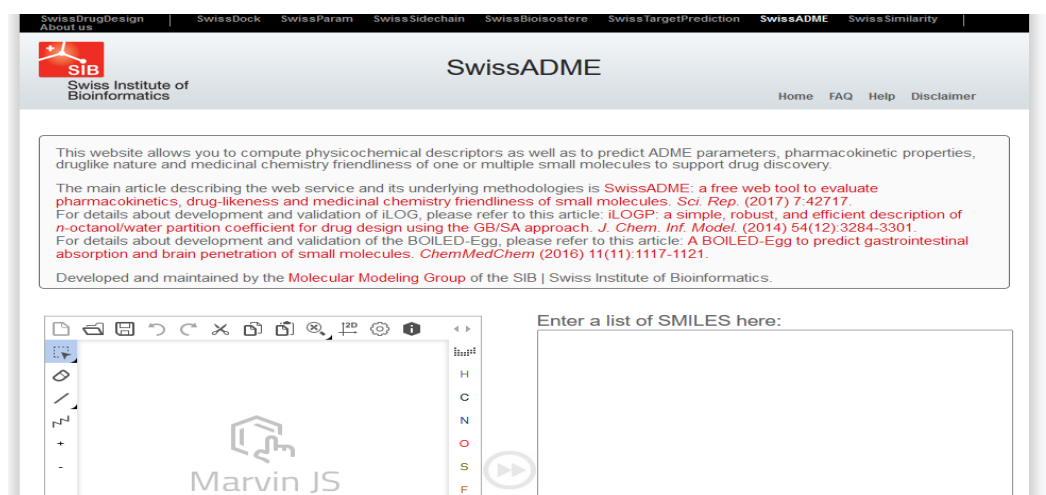


Figure 13 : La page d'accueil du serveur SwissADME

2. Méthode

2.1. Choix et préparation de la cible :

La structure tridimensionnelle de la Mpro faisant l'objet de notre étude, a été obtenue via la banque de donnée PDB sous format pdb. Cette dernière nous a proposé deux structures cristallographiques des complexes Main protéase SARS CoV-2-Inhibiteur avec différentes valeurs de résolution. Les codes PDB de ces complexes ainsi que leur résolution sont représentés dans le tableau 1.

Tableau N°1: Les codes PDB des complexes Mrpo SARS CoV-2-Inhibiteur avec leur résolution.

N°	Code PDB	Code des ligands	Résolution (Å)
2	2GZ8	F3F	1,97
3	2GZ9	G3F	2.17

Parmi ces deux complexes, nous avons choisi celui portant le code **2GZ8**, car il s'agit d'une structure correctement définie avec une résolution de 1.97 Å ; soit la plus faible valeur. Ce complexe récupéré de la PDB a été prétraité, en éliminant tous les ligands inutiles,

les molécules d'eau, ainsi que l'inhibiteur de ce complexe à l'aide de programme VMD et ce afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. La cible est par la suite enregistrée dans un fichier sous format .pdb.

2.2. Préparation des ligands

L'inhibiteur de référence **F3F** (S-[5-(TRIFLUOROMETHYL)-4H-1,2,4-TRIAZOL-3-YL] 5-(PHENYLETHYNYL)FURAN-2-CARBOTHIOATE) existant dans le complexe **2GZ8** a été choisi comme structure de départ pour rechercher via la PubChem des composés similaires. Ce ligand a été séparé de sa cible (2GZ8) puis converti au format smiles en utilisant respectivement les programmes VMD et OpenBabel.

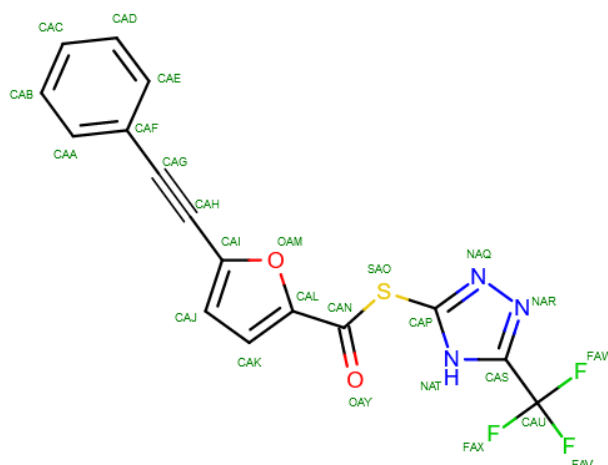


Figure 14 : Structure chimique de l'inhibiteur **F3F** du complexe **3GZ8**

2.3. Docking moléculaire par FlexX

Le programme FlexX permet la prédiction des meilleures conformations d'un ligand donné au sein du site d'interaction de l'enzyme. Les différentes conformations résultantes du ligand dans le site actif de l'enzyme sont évaluées et classifiées sur la base de leur énergie d'interaction théorique exprimée en KJ/mol.

Les résultats du docking par FlexX apparaissent sous forme d'un tableau qui donne, par défaut, les 10 meilleures poses d'un ligand au sein de sa cible. L'interface graphique de ce programme nous génère également un diagramme des interactions non seulement en 2D mais aussi en 3D (Figure 15)

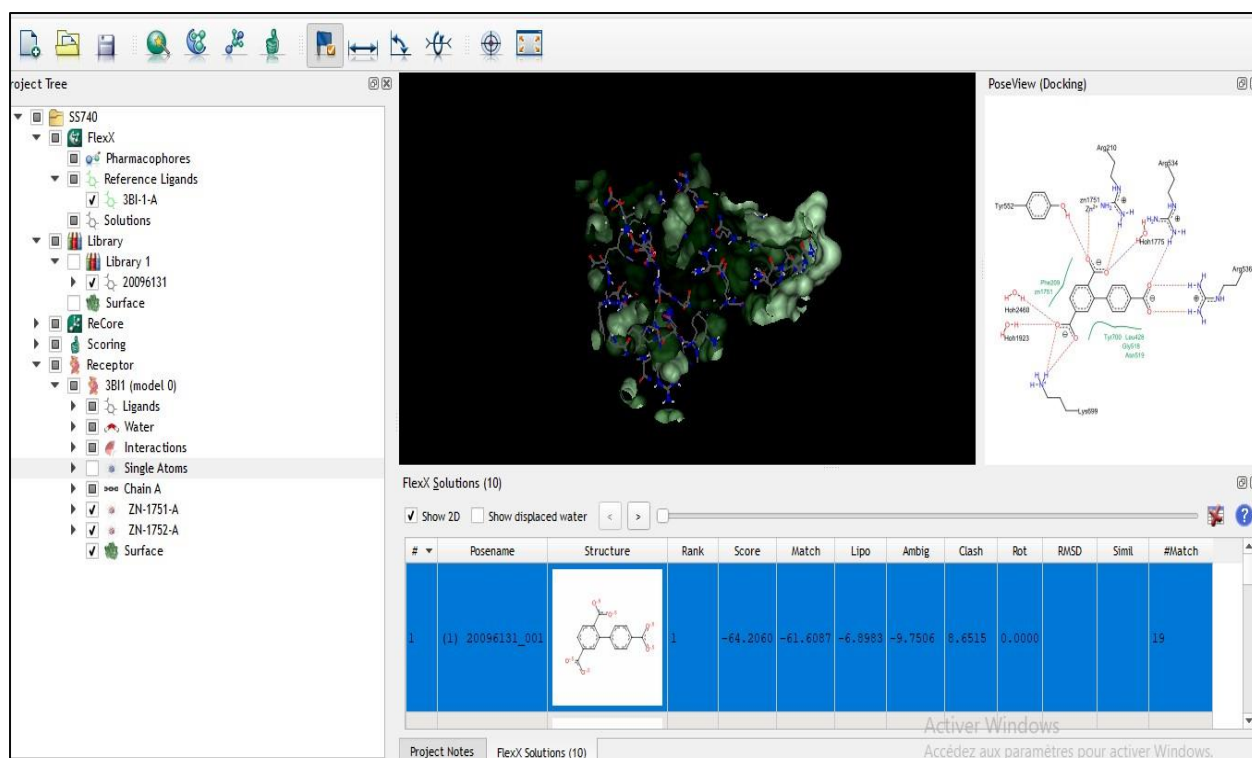


Figure 15 : Interface graphique LeadIT du programme FlexX.

2.4. Test de fiabilité du logiciel

2.4.1. Test RMSD

Suite au docking moléculaire, le programme FlexX prédit le positionnement du ligand au sein du site actif de la protéine. Selon la littérature, un programme de docking est aussi performant s'il est capable à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Dans ce cadre, la valeur de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*) qui représente la moyenne des différences de positions du ligand simulée par le programme vis-à-vis de celle déterminée expérimentalement doit être inférieure à 2 Å [42]. Dans le présent travail, ce test a été réalisé sur 101 complexes (protéine-ligand) tirés de façon aléatoire de la PDB.

2.4.2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape complémentaire du test RMSD. Elle permet de visualiser la superposition de la conformation d'un ligand donné vis-à-vis de sa pose expérimentale de référence. S'il n'y a pas une différence significative entre la pose du ligand générée par docking et celle déterminée expérimentalement, on peut donc juger fiable la prédiction.

2.5. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la Mpro

à titre de rappel, le composé S-[5-(TRIFLUOROMETHYL)-4H-1,2,4- TRIAZOL-3-YL] 5-(PHENYLETHYNYL)FURAN-2-CARBOTHIOATE a été pris comme structure de départ pour la recherche d'une collection de similaires chimiques via la chimiothèque *PubChem*. Avec un pourcentage de similarité de 80%, la chimiothèque *PubChem* nous a proposé 188 composés similaires de notre composé de départ. Le docking moléculaire par FlexX de ces composés similaires dans le site actif de l'enzyme nous permettra de révéler de nouveaux inhibiteurs potentiels de la Mpro SRAS CoV-2.

2.6. Prédiction des propriétés ADME

Afin de vérifier *in silico* si les inhibiteurs identifiés de la Mpro SRAS CoV-2 peuvent atteindre leur cible dans l'organisme en y restant suffisamment de temps pour induire leur éventuel effet biologique, nous avons mené une étude prédictive des propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme d'excrétion (ADME). Dans cette optique, le serveur SuissADME a été utilisé afin de prédire plusieurs critères physicochimiques et pharmacocinétiques leurs propriétés ADME.

2.6.1. Propriétés physicochimiques

En 1997, Lipinski et *al* ont proposés une règle permettant d'évaluer la biodisponibilité d'un composé chimique par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D). Selon cette règle, un composé doit valider au moins deux des quatre (2/4) critères suivants pour avoir la chance d'être disponible oralement [43] :

- Masse moléculaire ≤ 500 Da.
- LogP ou coefficient de partage octanol /eau ≤ 5 .
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène ≤ 5 .
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène ≤ 10 .

Pour une sélection plus rigoureuse des composés « *drug-like* », Veber, D.F. et *al* (2002) proposent un complément de la règle de Lipinski par les deux critères suivants [44] :

- L'aire de surface polaire (TPSA) doit être inférieure ou égale à 140 \AA^2 .
- Le nombre de liaisons flexibles (nLF) doit être inférieur ou égal à 10.

2.6.2. Propriétés pharmacocinétiques :

Un médicament une fois entré dans l'organisme, rencontre une série d'obstacles divers sur son chemin vers la cible. Ces obstacles incluent principalement les barrières buccale, gastrique, intestinale, pulmonaire, hépatique, rénale, hémato-encéphalique et de la peau. Dans notre travail, le serveur SuissADME a été également employé afin de simuler certains critères pharmacocinétiques des inhibiteurs d'intérêt à savoir : l'absorption gastro-intestinale, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique et l'inhibition des cytochromes P450.



Résultats Et Discussion

1. Evaluation de la performance du programme FlexX

L'étude *in silico* de l'inhibition de la Mrpo par docking moléculaire nécessite une évaluation préalable de la performance du programme FlexX en faisant appel à deux tests différents :

- L'écart quadratique moyen ou le RMSD (*Root Mean Square Deviation*).
- L'analyse visuelle

1.1.RMSD

Ce test a été réalisé sur une série de 101 complexes tirés de façon aléatoire de la PDB. Au cours de ce test, nous avons évalué la capacité du programme de docking moléculaire FlexX à prédire l'emplacement correct de chaque ligand au sein du site actif de sa protéine cible. La prédiction est acceptable si les valeurs de RMSD ne dépassent pas 2Å [40]. La liste des complexes étudiés avec les valeurs de RMSD est représentée dans L'annexe N°1 et la figure N°16.

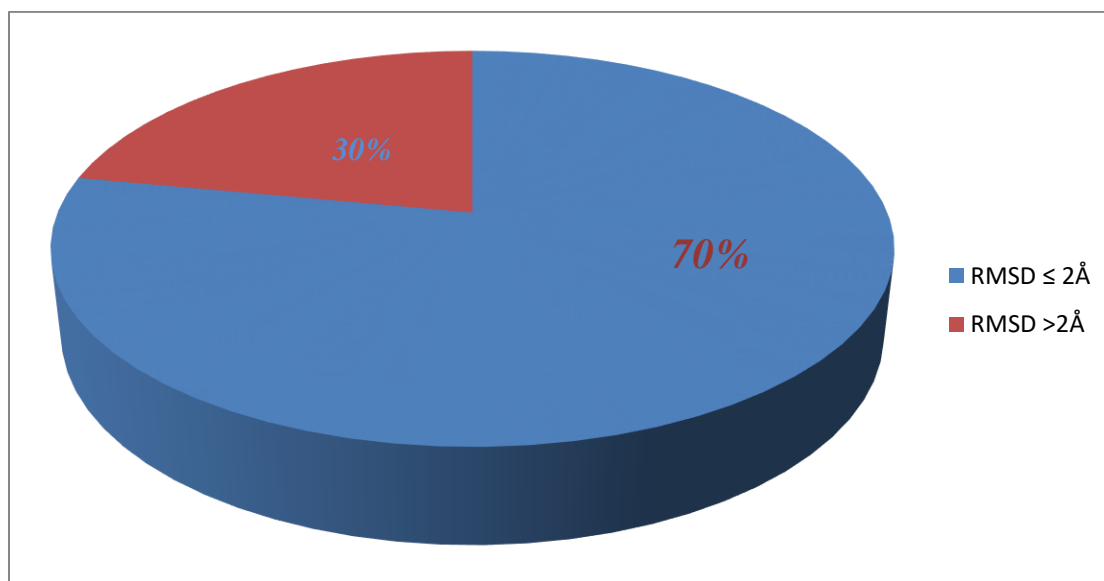


Figure 16 : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.

Il ressort de la figure N°16 que 70% des valeurs de RMSD obtenues suite au docking moléculaire par FlexX sont inférieures à 2Å alors que seulement 30% sont supérieures à cette valeur seuil. Ces résultats montrent que ce programme simule correctement les interactions protéine-ligand.

1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape essentielle pour confirmer les résultats du test RMSD et de vérifier d'avantage la performance du programme FlexX. La visualisation des résultats permet donc de déterminer si la pose d'un ligand simulée se superpose avec celle Co-cristallisée. Dans notre cas, l'analyse visuelle a été réalisée sur le complexe Mpro-SARS CoV 2-Inhibiteur portant le code pdb **2GZ8**.

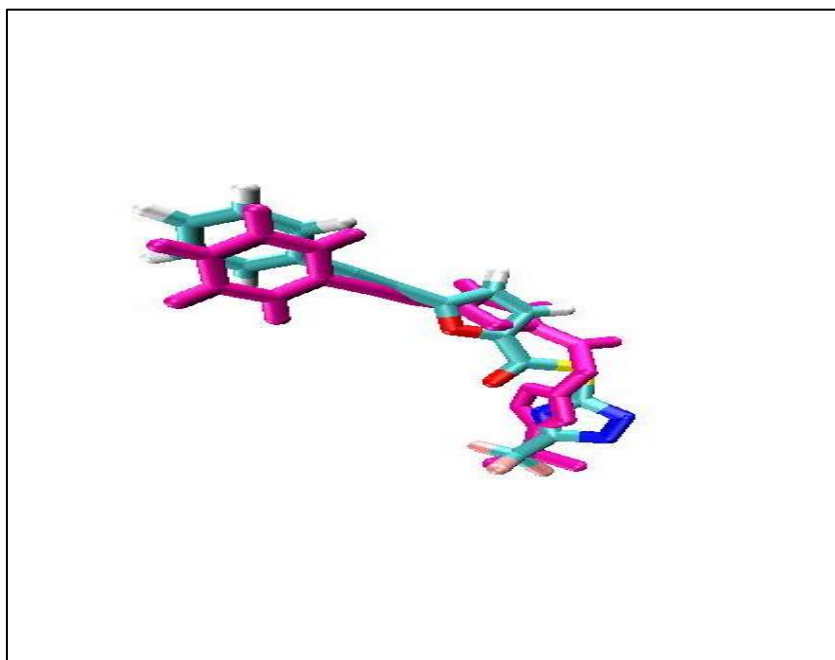


Figure 17: Superposition de la géométrie du ligand **F3F** du complexes **2GZ8** obtenue par rayon-X (colorée en Violet) et celle obtenue par FlexX (colorée en Vert).

En effet, la figure N°17 montre une bonne superposition de la pose du ligand générée par FlexX (colorée en vert) vis-à-vis de celle de référence donnée par cristallographie au rayon X (colorée en violet). Cela témoigne davantage de la fiabilité du programme FlexX pour l'étude *in silico* de l'inhibition de la Mpro.

1.3. Conclusion

À la lumière des résultats obtenus avec les tests de fiabilité par RMSD et l'analyse visuelle, nous pouvons conclure que le programme FlexX est performant. Il peut être utilisé, sans trop risque d'erreurs, pour étudier *in silico* l'inhibition de la Mpro-SARS CoV 2 par différents inhibiteurs.

2. Etude des interactions Mpro-SARS CoV-2-inhibiteurs

À l'heure actuelle très peu d'inhibiteurs de la Mpro-SARS CoV-2 sont reportés à travers la littérature. Parmi ces inhibiteurs, le composé **S-[5-(TRIFLUOROMETHYL)-4H-1,2,4-TRIAZOL-3-YL] 5-(PHENYLETHYNYL) FURAN-2-CARBOETHIOATE** portant le code PDB **F3F** se présente comme un inhibiteur puissant de cette enzyme. Cet inhibiteur existe dans la banque de données PDB en complexe avec la Mpro-SARS CoV-2 sous le code 2GZ8. Dans la perspective de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs plus puissants dérivés de ce composé, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, ses mécanismes d'inhibition mis en place. A l'aide du programme FlexX, nous avons pu simuler son mode d'inhibition tout en évaluant son énergie d'interaction à l'égard de la cible. L'interface graphique LeadIT nous a aidé à visualiser le nombre et le type de liaisons mises en jeu lors de ces interactions. En effet, l'énergie d'interaction obtenue après docking moléculaire de ce composé à l'égard de la Mpro-SARS CoV-2 est de -15.96 KJ/mol.

Comme le montre la figure N°18 cette énergie d'interaction se traduit par la mise en place de cinq liaisons hydrogènes. La première liaison est située entre le résidu Glu166 de l'enzyme et l'oxygène de l'inhibiteur. La deuxième liaison est formée entre l'Asn142 et l'atome du soufre de l'inhibiteur. Le résidu Ser144 s'engage dans la formation de la troisième et la quatrième liaison hydrogène avec les azotes cycliques de l'inhibiteur. La dernière liaison est observée entre la Cys145 et l'azote cycliques de l'inhibiteur. Il est important de souligner que le complexe Mpro-SARS CoV-2-Composé **F3F** est également par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus Cys145, Gly143, Ala191, Leu167, Pro168, Met165, Thr190, Glu166 et Gln192 de l'enzyme.

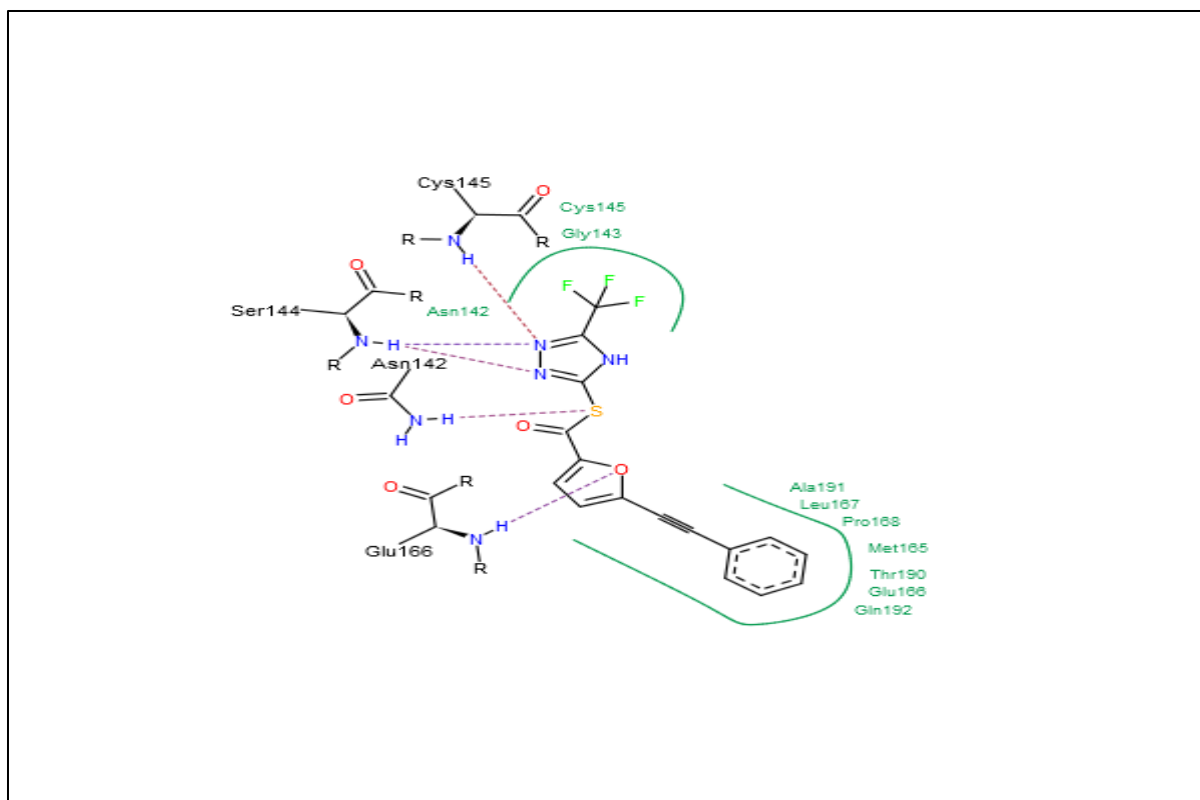


Figure 18: Mode d'interaction du composé **F3F** dans le site actif de la Mpro-SARS CoV-2

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la Mpro-SARS CoV-2

3.1 Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques

Le composé **F3F** a été pris comme structure de départ afin de rechercher dans la *PubChem* des composés similaires. En effet, cette banque de données nous a proposé une collection de 188 composés similaires avec un taux de similarité allant jusqu'à 80%. Dans l'espoir d'améliorer le score de l'inhibiteur de départ (-15.96 KJ/mol), une série de calculs de docking moléculaire a été menée sur la collection de similaires chimiques. Les résultats obtenus, classés par leur énergie d'interaction, sont représentés dans le tableau N°2

Tableau N°2: Classement, numéro d'accèsion et énergie d'interaction des 188 similaires chimiques étudiés.

Classement	N° similaire	Numéro d'accèsion	Energie d'interaction
1	S119	1627998	-39,22
2	S127	1892742	-36,27
3	S175	8436879	-34,57
4	S113	1617061	-34,35
5	S134	1988949	-33,96
6	S124	1840496	-33,68
7	S128	1892743	-33,63
8	S116	1622214	-33,26
9	S179	8437057	-33,22
10	S178	8436972	-33,06
11	S164	8436673	-32,33
12	S133	1988948	-32,20
13	S145	3647937	-31,02
14	S8	1617063	-31,01
15	S186	8437064	-30,94
16	S172	8436838	-30,90
17	S3	1840499	-30,85
18	S93	4887327	-30,85
19	S114	1617062	-30,74
20	S106	1400377	-30,72
21	S122	1635170	-30,62
22	S5	1628000	-30,60
23	S144	3639547	-30,60
24	S108	1401400	-30,36
25	S185	8437063	-30,15
26	S169	8436678	-30,13
27	S181	8437059	-29,82
28	S120	1627999	-29,81
29	S130	1985720	-29,79
30	S117	1624830	-29,67
31	S148	3781359	-29,42
32	S131	1988946	-29,23
33	S21	141755427	-29,15
34	S166	8436675	-29,14

35	S184	8437062	-29,14
36	S125	1840498	-28,78
37	S167	8436676	-28,73
38	S168	8436677	-28,69
39	S171	8436837	-28,61
40	S43	87712315	-28,59
41	S183	8437061	-28,57
42	S132	1988947	-28,53
43	S147	3736303	-28,53
44	S115	1622213	-28,43
45	S23	87907790	-28,36
46	S41	87712573	-28,25
47	S187	8437073	-28,03
48	S149	4244601	-27,84
49	S176	8436971	-27,78
50	s103	1397840	-27,75
51	S104	1397841	-27,74
52	S165	8436674	-27,46
53	S54	87711997	-27,20
54	S182	8437060	-27,10
55	S65	87711566	-27,07
56	S170	8436683	-27,04
57	S40	87712623	-26,99
58	S180	8437058	-26,71
59	S20	152631614	-26,59
60	S151	5541298	-26,52
61	S146	3713757	-26,47
62	S152	5555264	-26,36
63	S39	87712628	-26,33
64	S30	87713016	-26,25
65	S27	87713259	-26,04
66	S118	1626094	-25,95
67	S142	2649637	-25,89
68	S60	87711825	-25,83
69	S57	87711872	-25,77
70	S109	1402507	-25,77
71	S110	1402508	-25,77
72	S123	1827725	-25,75
73	S88	11426422	-25,69
74	S38	87712635	-25,68

75	S62	87711797	-25,68
76	S52	87712066	-25,66
77	S55	87711917	-25,65
78	S135	1995187	-25,65
79	S32	87712888	-25,61
80	S101	489218	-25,39
81	S126	1891027	-25,39
82	S24	87907781	-25,16
83	S141	2551726	-25,14
84	S63	87711697	-25,11
85	S188	8437229	-25,06
86	S64	87711640	-24,96
87	S16	489198	-24,95
88	S67	87711515	-24,94
89	S47	87712123	-24,87
90	S75	58652802	-24,79
91	S105	1400376	-24,75
92	S77	49791559	-24,74
93	S100	463751	-24,74
94	S34	87712805	-24,71
95	S22	88051984	-24,68
96	S15	489199	-24,65
97	S1	6451047	-24,64
98	S163	8306390	-24,60
99	S17	489197	-24,49
100	S83	22209646	-24,44
101	S56	87711891	-24,39
102	S111	1414718	-24,37
103	S112	1414721	-24,37
104	S49	87712072	-24,21
105	S33	87712845	-24,04
106	S173	8436863	-24,04
107	S48	87712121	-23,97
108	S31	87712898	-23,96
109	S35	87712779	-23,94
110	S85	22209628	-23,91
111	S61	87711812	-23,85
112	S174	8436864	-23,85
113	S44	87712245	-23,83
114	S45	87712243	-23,77
115	S76	58652682	-23,68

116	S80	49791555	-23,66
117	S59	87711844	-23,62
118	S136	1996261	-23,59
119	S36	87712766	-23,50
120	S121	1630559	-23,37
121	S29	87713018	-23,35
122	S37	87712745	-23,25
123	S11	489213	-23,13
124	S51	87712069	-23,11
125	S72	69606087	-23,05
126	S102	953755	-23,01
127	S162	7989533	-22,84
128	S12	489208	-22,83
129	S46	87712185	-22,82
130	S42	87712366	-22,77
131	S13	489207	-22,61
132	S84	22209636	-22,61
133	S28	87713157	-22,57
134	S156	7538510	-22,47
135	S150	5298568	-22,43
136	S18	489196	-22,39
137	S81	49791554	-22,39
138	S6	2669729	-22,33
139	S50	87712070	-22,32
140	S14	489206	-22,31
141	S159	7770461	-22,26
142	S66	87711563	-22,22
143	S129	1984928	-22,21
144	S154	7398046	-22,07
145	S78	49791557	-21,98
146	S160	7818780	-21,95
147	S58	87711854	-21,91
148	S79	49791556	-21,90
149	S161	7896614	-21,72
150	S4	1711492	-21,66
151	S74	68955066	-21,60
152	S157	7556697	-21,47
153	S68	69768861	-21,33
154	S53	87712038	-21,32
155	S153	7233609	-21,15

156	S143	2668162	-20,91
157	S155	7413654	-20,86
158	S158	7557100	-20,68
159	S107	1401399	-20,54
160	S26	87827657	-20,44
161	S69	69768371	-20,44
162	S95	2215236	-20,25
163	S25	87830360	-20,12
164	S94	2985581	-19,88
165	S96	972316	-19,72
166	S91	9879425	-19,37
167	S7	2214180	-19,35
168	S138	2089841	-19,18
169	S9	741349	-18,90
170	S10	740366	-18,56
171	S89	9921919	-18,40
172	S139	2096687	-18,28
173	S137	2088444	-18,19
174	S92	9857074	-18,10
175	S86	17469414	-17,71
176	S140	2107325	-17,53
177	S97	741345	-17,46
178	S71	69606105	-16,95
179	S70	69606114	-16,84
180	S98	715320	-16,64
181	S82	42952461	-16,37
182	S90	9900981	-16,27
183	S19	152762741	-16,08
184	2gz8	2822496	-15,96
185	S73	69606083	-15,80
186	S99	715307	-15,76
187	S2	2822496	-15,04
188	S87	17447991	-14,29

Il ressort de ce tableau que le criblage virtuel de cette collection de similaires chimiques envers le site actif étudié fait ressortir 183 composés ayant une énergie d'interaction bien meilleure que celle du composé de départ qui, à titre de rappel, égale à -15.96 KJ/mol.

Les composés **S119**, **S127** et **S175** se représentent comme meilleurs inhibiteurs potentiels de la Mpro-SARS CoV-2 avec des énergies d'interaction respectives de -39,22 KJ/mol, -36,27 KJ/mol et -34,57 KJ/mol.

3.2 Etude des interactions des meilleurs similaires vis-à-vis de l'enzyme

3.2.1. Composé S119

Le composé **S119** se présente comme meilleur inhibiteur de la Mpro-SARS CoV-2 obtenu dans cette étude avec une énergie d'interaction égale à -39.22 KJ/mol. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ce composé à l'égard de sa cible montre qu'il établit cinq liaisons hydrogènes. La première est formée entre l'oxygène de l'inhibiteur et le résidu Glu166. La fonction carboxylique du composé **S119** s'engage, quant à elle, dans la formation de trois liaisons hydrogènes une avec Thr19 et deux avec Gln192. Ce dernier résidu forme avec la fonction amine de l'inhibiteur une dernière liaison hydrogène. Le composé **S119** est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobes avec les résidus : Thr190, Gln189, Ser144, Met165, His163, Leu141, Cys145, Glu166 et l'Asn142. (Figures N°20).

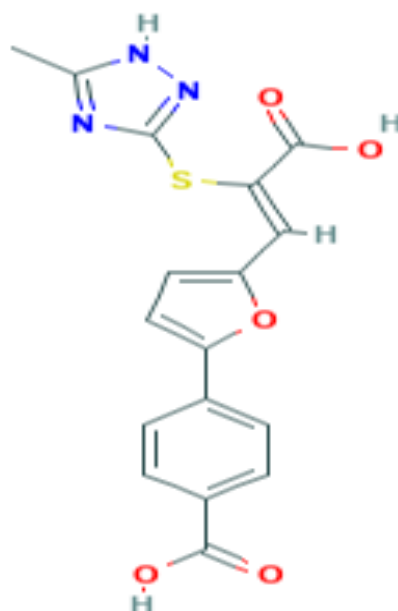


Figure 19 : Conformation 2D du composé **S119**

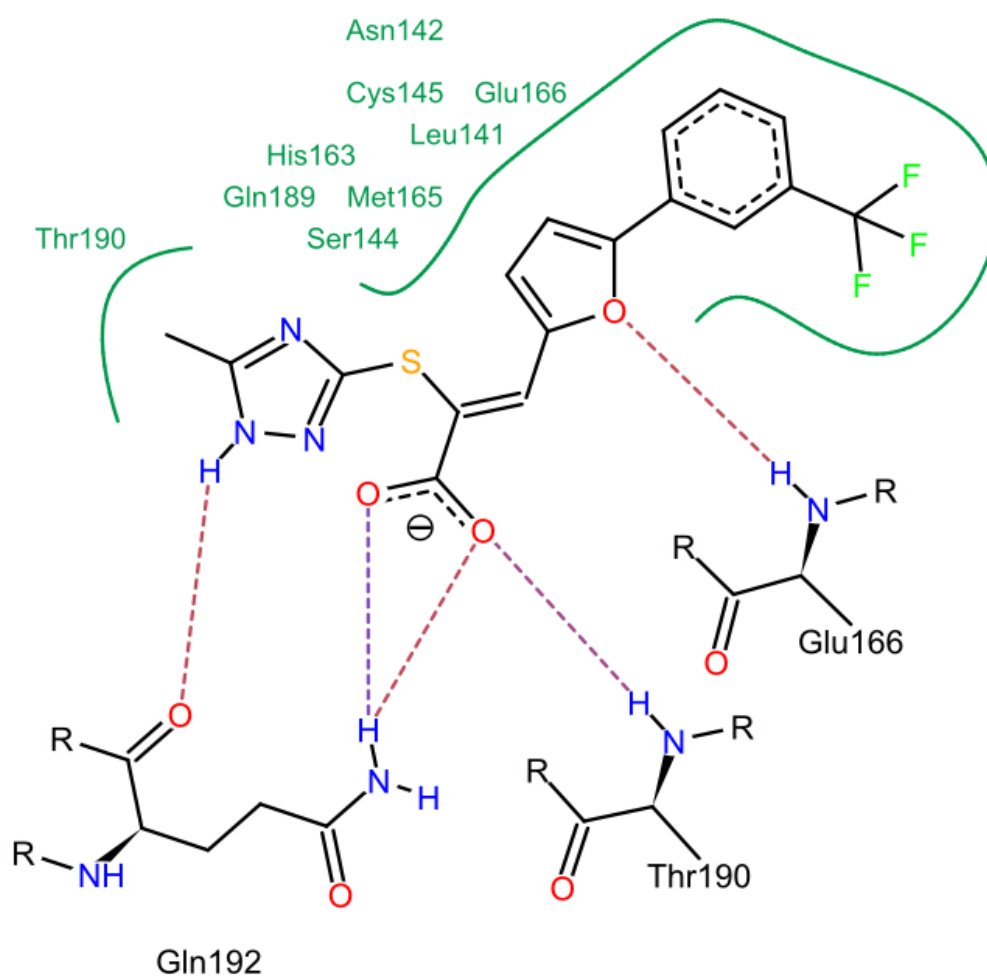


Figure 20 : Mode d'interaction du composé **S119** dans le site actif de la Mpro-SARS CoV-2

3.2.2. Composé S127

Le composé **S127** à l'instar du composé **S119**, est également un puissant inhibiteur de la Mpro-SARS CoV-2 avec une bonne énergie d'interaction soit -36.27kJ/mol.

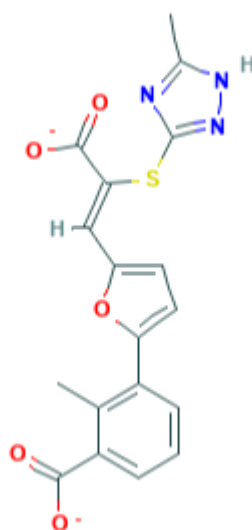


Figure 21 : Conformation 2D du composé **S127**

L'analyse visuelle montre que le complexe Mpro-SARS CoV-2-composé **S127** est stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus : Asn142, Gly143, Glu166, Thr25, Thr26, Cys145, Leu141 et la Phe140. De plus, huit liaisons hydrogène sont observées dans la formation de ce complexe (voir figure N°21).

La première liaison est formée entre la Phe140 et l'azote (N). La fonction carboxylique de l'inhibiteur forme cinq liaisons hydrogène, la première avec le résidu Cys145, la deuxième avec Gly143 et les trois derniers avec le résidu Ser144. L'atome de soufre de l'inhibiteur établit une liaison hydrogène avec His163. Enfin, le résidu Gly143 forme une dernière liaison hydrogène avec l'oxygène cyclique de l'inhibiteur.

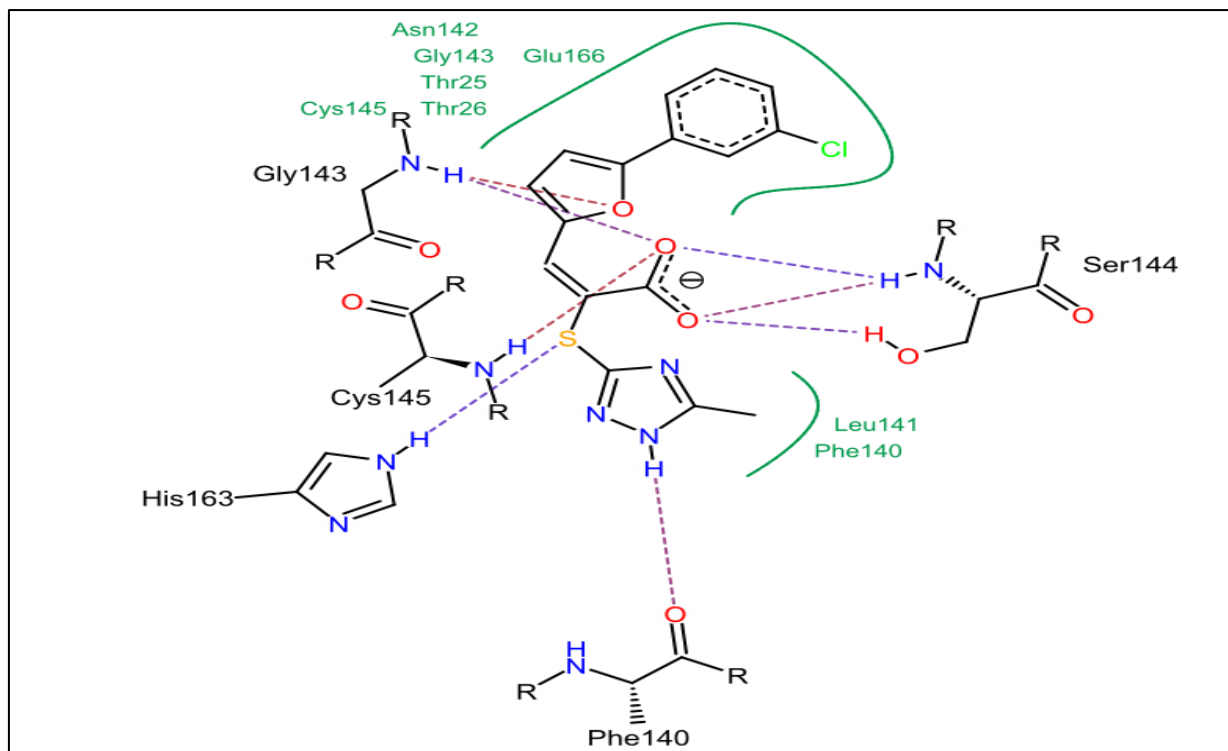


Figure N°22: Mode d'interaction du composé *S127* dans le site actif de la Mpro-SARS CoV-2

3.2.3. Composé *S175*

Le composé **S175** est le troisième meilleur inhibiteur potentiel de la Mpro-SARS CoV-2 obtenu dans ce travail avec une énergie d'interaction égale à $-34,57$ KJ/mol. Ce composé inhibe le site actif de la Mpro-SARS CoV-2 en formant six liaisons hydrogènes. La première est formée avec le résidu Gly143, la deuxième avec Asn142, la troisième avec Glu166. La fonction carboxylique de l'inhibiteur forme trois liaisons hydrogènes une avec His163 et deux avec Ser144. De nombreuses interactions hydrophobes participent à la stabilité du complexe Mpro-SARS CoV-2-Composé **S175**. Ces interactions sont formées avec les résidus Asn142, Met165, Glu166, Gln189, Arg188, Leu141, His41 et Cys145 de l'enzyme.

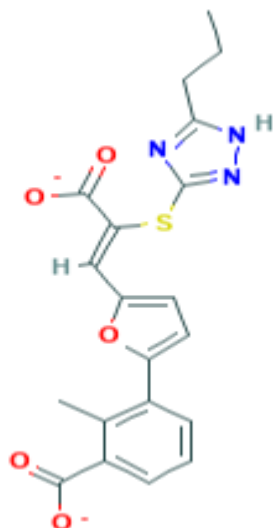


Figure 23 : Conformation 2D du composé **S175**

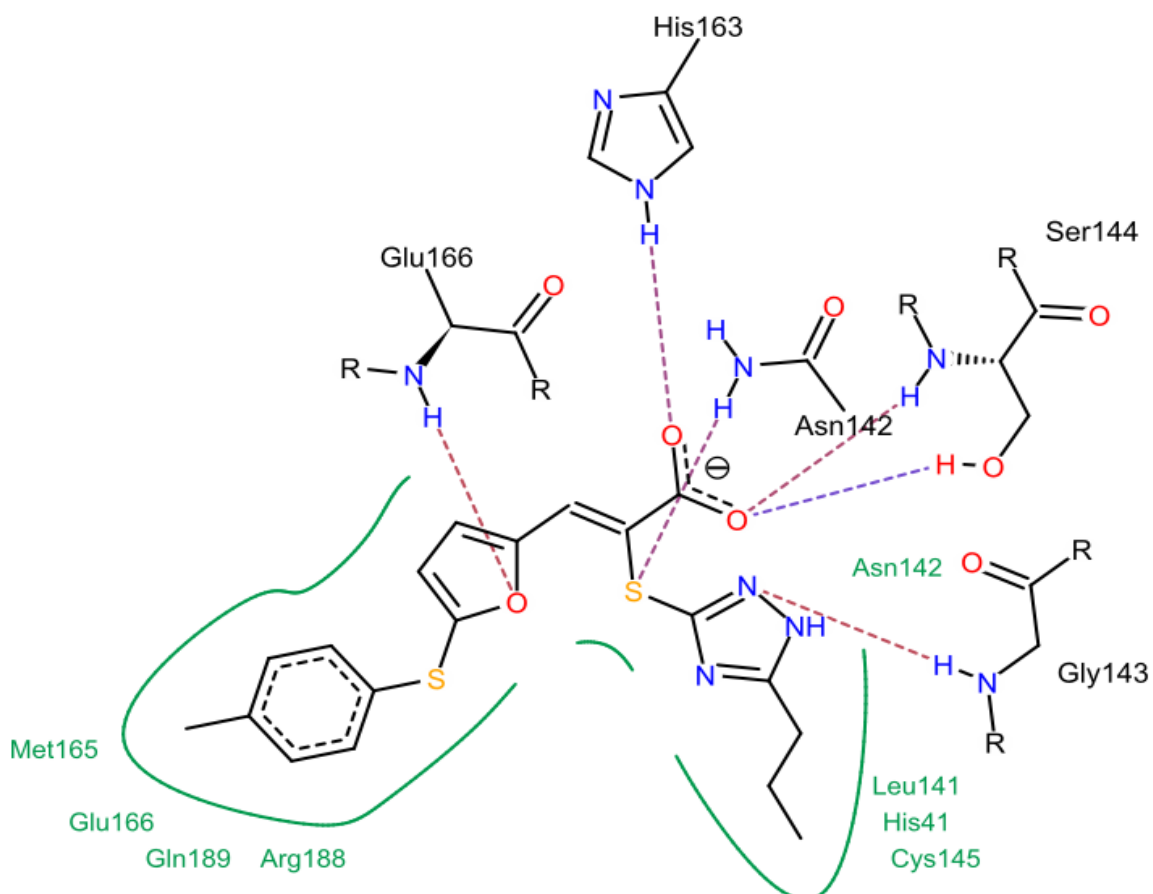


Figure N°24 : Mode d'interaction du composé **S175** dans le site actif de la Mpro-SARS CoV-2.

4. Prédictions des paramètres ADME

Avant de proposer les composés **S119**, **S127** et **S175** comme nouveaux inhibiteurs plus puissants de la Mpro-SARS CoV-2, il était indispensable de compléter notre travail par une étude prédictive des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques afin de vérifier leur profil ADME. Dans cette optique, nous avons utilisé le serveur SuissADME. La chloroquine a été utilisée comme standard.

4.1. Propriétés physico-chimiques

Tableau N°3 : Propriétés physicochimiques des composés **S175**, **S127**, **S119** ainsi que la chloroquine.

Propriétés	Chloroquine	S175	S127	S119
Formule	C ₁₈ H ₂₆ ClN ₃	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₃ S ₂	C ₁₆ H ₁₁ ClN ₃ O ₃ S	C ₁₇ H ₁₂ F ₃ N ₃ O ₃ S
PM (g/mol)	319.87	401.50	360.79	395.36
nLF	8	8	5	6
nON	2	5	5	8
nOHNH	1	2	1	2
Log P	4.15	4.10	2.80	3.76
TPSA Å ²	28.16	142.61	120.14	117.31
Règle de Lipinski	Parfaitement conforme	Parfaitement Conforme	Parfaitement conforme	conforme
Règle de Veber	Parfaitement conforme	non conforme	conforme	conforme
Solubilité dans l'eau	Moyenne	Faible	Moyenne	Moyenne
Accessibilité à la synthèse	2.76	3.82	3.40	3.60

Ces résultats montrent que les composés **S127** et **S119** tout comme la chloroquine répondent parfaitement aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui indique qu'ils peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes. Cependant, le composé S175 ne respecte pas la règle de Veber à cause de sa valeur de TPSA légèrement supérieure aux normes soit 140 Å². Ce dernier, bien qu'il possède le meilleur effet inhibiteur envers l'enzyme, n'a pas présenté une bonne solubilité dans l'eau et ce contrairement aux composés **S127**, **S119** ainsi

que le standard ce qui leur favorise la perméabilité dans le sang. Par rapport à l'accessibilité à la synthèse, les composés cités dans le tableau semble être chimiquement synthétisables comme les résultats le montrent dont les valeurs sont inférieure à 5. Il est utile de préciser que ce paramètre a été simulé sur une échelle allant de 1 (facile à synthétiser) jusqu'à 10 (difficile à synthétiser).

4.2. Propriétés pharmacocinétiques

Tableau N°4 : Propriétés pharmacocinétiques des composés **S175**, **S127**, **S119** ainsi que la chloroquine.

Propriétés	Chloroquine	S175	S127	S119
GI absorption	élevée	Faible	élevée	Faible
BBB perméabilité	élevée	Faible	Faible	Faible
CYP1A2 inhibition	Positive	Positive	Positive	Positive
CYP2C19 inhibition	Négative	Positive	Positive	Positive
CYP2C9 inhibition	Négative	Positive	Positive	Positive
CYP2D6 inhibition	Positive	Négative	Négative	Négative
CYP3A4 inhibition	Positive	Positive	Négative	Positive

Le composé **S127** a présenté le meilleur profil pharmacocinétique parmi les composés étudiés. En effet, avec une perméabilité gastro-intestinale élevée, ce composé peut traverser tractus gastro-intestinal pour atteindre la circulation sanguine. De plus, il présente une faible perméabilité hémato-encéphalique ce qui l'empêche d'atteindre le système nerveux central et donc ne pas provoquer des effets secondaires. Cependant, ce composé inhibe 3 parmi les 5 isoformes des cytochromes P450 ce qui peut être à l'origine des interactions médicamenteuses au niveau du foie. Il est utile de préciser que ce dernier problème peut être résolu lors de l'optimisation de ce composé.



Conclusion générale

Notre travail de master avait pour objectif majeur l'acquisition des compétences en simulation informatique, en particulier le docking moléculaire, afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de la Mpro ; cible enzymatique récente jouant un rôle clé pour lutter contre le SARS-CoV-2.

Au préalable, nous avons jugé utile d'évaluer la performance du programme de docking moléculaire FlexX utilisé dans cette étude par l'écart quadratique moyen ou le RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Ce test a été réalisé sur 101 complexes protéines-ligands pris de manière arbitraire via la PDB. Par la suite, nous avons vérifié visuellement la superposition entre la conformation d'un ligand simulé par FlexX et celle de référence déterminée expérimentalement. Avec 70% des valeurs de RMSD parfaitement dans les normes et une superposition entre la pose théorique et celle expérimentale, nous pouvons conclure que le programme FlexX est suffisamment fiable et peut être utilisé sans trop risque d'erreurs dans le cadre de notre étude.

Dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de la Mpro par docking moléculaire. En prenant comme structure de départ le ligand **F3F** du complexe de base **2GZ8**, la banque de données *PubChem* nous propose une collection de 188 similaires chimiques. Le docking moléculaire de cette collection à l'égard du site actif de la Mpro fait ressortir les composés **S119**, **S127** et **S175** comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme avec des énergies d'interaction respectives de -39,22 KJ/mol, -36,27 KJ/mol et -34,57 KJ/mol. Enfin, l'étude prédictive des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques de ces composés met en valeur le composé **S127** qui a présenté le meilleur profil ADME.

En termes de perspectives d'avenir, ce travail pourra être complété et prolongé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* afin de valider nos résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.



Références bibliographiques

- [1]. Citarella, A.; Scala, A.; Piperno, A.; Micale, N. SARS-CoV-2 Mpro: A Potential Target for Peptidomimetics and Small-Molecule Inhibitors. *Biomolecules* **2021**, *11*, 607. <https://doi.org/10.3390/biom11040607>
- [2]. Adachi, S.; Koma, T.; Doi, N.; Nomaguchi, M.; Adachi, A. Commentary: Origin and Evolution of Pathogenic Coronaviruses. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 811. [CrossRef] [PubMed]
- [3]. Drosten, C.; Günther, S.; Preiser, W.; Van Der Weft, S.; Brodt, H.-R.; Becker, S.; et al. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 1967–1976. [CrossRef] [PubMed]
- [4]. Chan, J.F.W.; Li, K.S.M.; To, K.K.W.; Cheng, V.C.C.; Chen, H.; Yuen, K.-Y. Is the Discovery of the Novel Human Betacoronavirus 2c EMC/2012 (Hcov-EMC) the Beginning of Another SARS-Like Pandemic? *J. Infect.* **2012**, *65*, 477–489. [CrossRef] [PubMed]
- [5]. Huang, C.; Wang, Y.; Li, X.; Ren, L.; Zhao, J.; Hu, Y.; Zhang, L.; Fan, G.; Xu, J.; Gu, X.; et al. Clinical Features of Patients Infected with 2019 Novel Coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **2020**, *395*, 497–506. [CrossRef]
- [6]. Khailany, R.A.; Safdar, M.; Ozaslan, M. Genomic Characterization of a Novel SARS-Cov-2. *Gene Rep.* **2020**, *19*, 100682. [CrossRef] [PubMed]
- [7]. Nadeem, M.S.; Zamzami, M.A.; Choudhry, H.; Murtaza, B.N.; Kazmi, I.; Ahmad, H.; al, Potential Therapeutic Targets and Treatment for Coronavirus Disease (COVID-19). *Pathogens* **2020**, *9*, 307. [CrossRef] [PubMed]
- [8]. Meyerowitz, EA., Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. « Transmission of SARS-CoV-2: a review of viral, host, and environmental factors », *Annals of Internal Medicine*, 17 septembre 2020 [Cyberpublication avant impression]. En ligne : <https://doi.org/10.7326/m20-5008>.
- [9]. Lei, H., X. Xu, S. Xiao, X. Wu et Y. Shu. « Household transmission of COVID-19-a systematic review and meta-analysis », *Journal of Infection*, 25 août 2020 [Cyberpublication avant impression]. En ligne : <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.08.033>.
- [10]. Bi, Q., Y. Wu, S. Mei, C. Ye, X. Zou, Z. Zhang et coll. « Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study », *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, vol. 20, no 8, p. 911-919. En ligne : [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30287-5](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30287-5).

- [11]. Li, W., B. Zhang, J. Lu, S. Liu, Z. Chang, P. Cao et coll. « Characteristics of household transmission of COVID-19 », *Clinical Infectious Disease*, 2020, vol. 71, n o 8, p. 1943-1946. En ligne : <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa450>
- [12]. Thiel, V.; Ivanov, K.A.; Putics, Á.; Hertzog, T.; Schelle, B.; Bayer, S et al. Mechanism and Enzymes Involved in SARS Coronavirus Genome Expression. *J. Gen. Virol.* **2003**, *84*, 2305–2315. [[CrossRef](#)]
- [13]. Du, Q.-S.; Wang, S.-Q.; Zhu, Y.; Wei, D.-Q.; Guo, H.; Sirois, S.; Chou, K.-C. Polyprotein Cleavage Mechanism of SARS Cov Mpro and Chemical Modification of the Octapeptide. *Peptides* **2004**, *25*, 1857–1864. [[CrossRef](#)]
- [14]. Zhang, L.; Lin, D.; Sun, X.; Curth, U.; Drosten, C.; Sauerhering, L.; Becker, S.; Rox, K.; Hilgenfeld, R. Crystal Structure of SARS-Cov-2 Main Protease Provides a Basis for Design of Improved A-Ketoamide Inhibitors. *Science* **2020**, *368*, 409–412. [[CrossRef](#)]
- [15]. Hilgenfeld, R. From SARS to MERS: Crystallographic Studies on Coronaviral Proteases Enable Antiviral Drug Design. *FEBS J.* **2014**, *281*, 4085–4096. [[CrossRef](#)]
- [16]. Xue, X.; Yu, H.; Yang, H.; Xue, F.; Wu, Z.; Shen, W et al. Structures of Two Coronavirus Main Proteases: Implications for Substrate Binding and Antiviral Drug Design. *J. Virol.* **2008**, *82*, 2515–2527. [[CrossRef](#)].
- [17]. Jin, Z.; Du, X.; Xu, Y.; Deng, Y.; Liu, M.; Zhao, Y et al. Structure of Mpro from SARS-Cov-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature* **2020**, *582*, 289–293. [[CrossRef](#)].
- [18]. Morse, J.S.; Lalonde, T.; Xu, S.; Liu, W.R. Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-Ncov. *Chembiochem* **2020**, *21*, 730–738. [[CrossRef](#)].
- [19]. Muramatsu, T.; Takemoto, C.; Kim, Y.-T.; Wang, H.; Nishii, W.; Terada, T.; et al. SARS-Cov 3CL Protease Cleaves Its C-Terminal Autoprocessing Site by Novel Subsite Cooperativity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2016**, *113*, 12997–13002. [[CrossRef](#)]
- [20]. Anand, K.; Ziebuhr, J.; Wadhwani, P.; Mesters, J.R.; Hilgenfeld, R. Coronavirus Main Protease (3clpro) Structure: Basis for Design of Anti-SARS Drugs. *Science* **2003**, *300*, 1763–1767. [[CrossRef](#)]

- [21]. Ziebuhr, J. Molecular Biology of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *Curr. Opin. Microbiol.* **2004**, *7*, 412–419. [[CrossRef](#)]
- [22]. Ho, B.-L.; Cheng, S.-C.; Shi, L.; Wang, T.-Y.; Ho, K.-I.; Chou, C.-Y. Critical Assessment of the Important Residues Involved in the Dimerization and Catalysis of MERS Coronavirus Main Protease. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0144865. [[CrossRef](#)]
- [23]. Zhou, X.; Zhong, F.; Lin, C.; Hu, X.; Zhang, Y.; Xiong, B.; Yin, X.; Fu, J.; He, W.; Duan, J.; et al. Structure of SARS-Cov-2 Main Protease in the Apo State Reveals the Inactive Conformation. *Biorxiv* **2020**. [[CrossRef](#)]
- [24]. Li, J.; Zhou, X.; Zhang, Y.; Zhong, F.; Lin, C.; McCormick, P.J.; Jiang, F.; Luo, J.; Zhou, H.; Wang, Q.; et al. Crystal Structure of SARS-Cov-2 Main Protease in Complex with the Natural Product Inhibitor Shikonin Illuminates a Unique Binding Mode. *Sci. Bull.* **2021**, *66*, 661–663. [[CrossRef](#)]
- [25]. Jin, Z.; Zhao, Y.; Sun, Y.; Zhang, B.; Wang, H.; Wu, Y et al. Structural Basis for the Inhibition of SARS-Cov-2 Main Protease by Antineoplastic Drug Carmofur. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2020**, *27*, 529–532. [[CrossRef](#)]
- [26]. Zhang, L.; Lin, D.; Kusov, Y.; Nian, Y.; Ma, Q.; Wang, J et al. α -Ketoamides As Broad-Spectrum Inhibitors of Coronavirus and Enterovirus Replication: Structure-Based Design, Synthesis, and Activity Assessment. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 4562–4578. [[CrossRef](#)]
- [27]. Pillaiyar, T.; Manickam, M.; Namasivayam, V.; Hayashi, Y.; Jung, S.-H. An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-Cov) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 6595–6628. [[CrossRef](#)]
- [28]. Huang, C.; Wei, P.; Fan, K.; Liu, Y.; Lai, L. 3C-Like Proteinase from SARS Coronavirus Catalyzes Substrate Hydrolysis by a General Base Mechanism. *Biochemistry* **2004**, *43*, 4568–4574. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- [29] ASSES Y. Conception par modélisation et criblage *in silico* d'inhibiteurs du récepteur cMet. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Nancy I : Université Henri Poincaré. France. 2011.137p
- [30] MOKRANI E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la deptydyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de

Références bibliographiques

magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine 1. Algérie. 2012. 75p

[31] KHODJA Linda. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la Kynurénine 3-monoxygénase par docking moléculaire. Mémoire de master en Biochimie : Biochimie Appliquée. Constantine : Université Frères Mentouri Constantine 1. Algérie. 2020. 61p.

[32] Hanane bouchrit. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Thèse de magister : Technologies des explorations biochimiques. Constantine : université Mentouri. Algérie. 2012. 70 p

[33] Arrault A. *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. Orléans : Université d'Orléans. France. 2007. 176 p*

[34] Merzoug .A Etude *in silico* de l'inhibition de la peptide des formalyse . Mémoire de magister en Biochimie:Université Mentouri Constantine Algérie 2012. 46 p

[35] Cakmak Z. Optimisation d'un test d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine-I. Thèse de doctorat d'université : Agriculture et alimentation. Québec : université de Laval. Canada. 2008. 81p

[36] Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T. and Klebe, G. (1996), A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm, *Journal of Molecular Biology*, **261**, 470-489.

[37] Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*. 1996; **14**(1): 33-38

[38] OpenBabel 2.0.2. [En ligne].<http://openbabel.org>. consulté le : [08/06 /2019].

[39] Protein Data Bank (PDB). Biological macromolecular structures. [En ligne] <http://www.rcsb.org/>. Consulté le : [08/06/2019] .

[40]National center for Biotechnology information PubChem [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Références bibliographiques

- [41] Gabb J., Jackson R. M., Sternberg M. J. E. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 1997; **272**: 106-120.
- [42] Daina, A., Michielin, O. and Zoete, V. (2017), SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Scientific Reports*, **7**; 42717 .
- [43] C .A .Lipinski,*et al.*, « Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings» *Advanced drug delivery reviews* vol. 44, no1 p.235-249, 2001.
- [44] D. F. Veber, S. R. Johnson, H.-Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, et K. D. Kopple, « Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates », *J. Med. Chem.*, vol. 45, no 12, p. 2615-2623, 2002



Annexes

Annexe 1 : Valeurs de RMSD des 101 complexes protéine/ligand étudiés

N°	Code PDB	Code des ligands	RMSD
1	1N7I	SAH	1,73
2	1AH3	NAP	1,52
3	1AIM	ZYA	1,18
4	1EB2	BPO	1,5
5	1EKO	184	4,88
6	1K1M	FD4	4,41
7	1P9S	DIO	4,47
8	1RTI	HEF	1,96
9	1YKR	628	0,74
10	1YZ3	SAH	1,1
11	1ZVX	FIN	1,87
12	2G5P	3GP	3,41
13	2G71	SAH	1,74
14	2JBJ	G88	5,3
15	2ONZ	TMJ	0,4
16	2R4B	GW7	1,3
17	2RJP	886	1,48
18	2V35	J54	7,24
19	2XBU	5GP	2,39
20	2ZJF	BSU	0,48
21	2EW8	SO4	9,06
22	3N9S	TD4	1,19
23	3QKQ	HEM	1,21
24	3QTQ	X35	0,67
25	3VP2	BPO	1,84
26	3WYM	3K9	1,52
27	4CDL	LLK	4,22
28	4IU6	FZ1	6,34
29	4MIK	JIL	0,97
30	4MQ4	2D5	2,45
31	4NCM	704	1,11
32	4YTF	4HZ	5,04
33	5AFW	EDO	5,58
34	5FI2	5XX	5,41
35	5I3A	HQE	0,36
36	5TFT	HEM	1,27
37	5URS	8LA	9,78
38	5ZAN	9A6	6,05
39	6FH5	DD8	0,97
40	6MDA	JED	0,59

Annexes

41	6MDB	JE4	1,49
42	6MDC	JEA	1,97
43	6MDD	JE7	0,67
44	6O9X	MOS	5,72
45	6OA3	MOM	3,7
46	6OHS	MJY	1,62
47	1OI9	N20	0,6
48	2OPB	SAH	1,32
49	2QJR	TB	0,84
50	3VVG	ZGB	1,99
51	1C84	761	1,14
52	1H39	R03	1,73
53	1LI9	PO4	1,57
54	1KIM	THM	0,92
55	1N8Q	DHB	1,96
56	1OGQ	NAG	3,75
57	1PNN	984	1,45
58	1YW8	A75	2,8
59	2AN5	SAH	1,18
60	2ANQ	NDP	2,74
61	2BU5	TF1	3,17
62	2CL5	SAM	1,95
63	2F6V	SK2	1,45
64	2OGZ	U1N	1,97
65	2QDH	M2P	1,76
66	2R3N	SCX	1,88
67	2RF6	SO4	1,05
68	2RIP	34Q	1,86
69	2VJ8	HA2	1,51
70	3CCC	7AC	0,76
71	3I28	34N	1,29
72	3K5F	AYH	1,56
73	3KOO	24D	1,8
74	3LJT	LA3	1,92
75	3OF8	10Y	4,95
76	3RZ3	U94	2,43
77	3TPP	5HA	1,45
78	4CGA	QLW	2,42
79	4EY7	E20	1,78
80	4G9C	OWP	1,49
81	4KZO	NAP	10,02
82	4LXM	1YU	10,04
83	4MO8	2VQ	1,94
84	4OGN	2U5	1,76
85	4ONC	FMT	2,55

86	4ZZ2	3YG	1,12
87	5C28	4XV	2,51
88	5CLU	S8A	1,5
89	5D0R	B1T	1,18
90	5EEC	ZXN	1,92
91	5HVT	NVS	1,15
92	5IWC	6EQ	2,31
93	5J9Y	6HL	1,95
94	5SZ7	72H	1,92
95	6AAH	9T6	1,78
96	6DND	PLP	0,77
97	6OA3	MOM	3,61
98	6Q0Z	P7V	1,91
99	7TLN	INC	1,97
100	2V11	C80	1,33
101	2GZ8	F3F	1,78

Annexe 2 : Numéro d'accession et le score des 188 Similaires

classement	N° similaire	code	score
1	S119	1627998	-39,22
2	S127	1892742	-36,27
3	S175	8436879	-34,57
4	S113	1617061	-34,35
5	S134	1988949	-33,96
6	S124	1840496	-33,68
7	S128	1892743	-33,63
8	S116	1622214	-33,26
9	S179	8437057	-33,22
10	S178	8436972	-33,06
11	S164	8436673	-32,33
12	S133	1988948	-32,20
13	S145	3647937	-31,02
14	S8	1617063	-31,01
15	S186	8437064	-30,94
16	S172	8436838	-30,90
17	S3	1840499	-30,85
18	S93	4887327	-30,85
19	S114	1617062	-30,74

Annexes

20	S106	1400377	-30,72
21	S122	1635170	-30,62
22	S5	1628000	-30,60
23	S144	3639547	-30,60
24	S108	1401400	-30,36
25	S185	8437063	-30,15
26	S169	8436678	-30,13
27	S181	8437059	-29,82
28	S120	1627999	-29,81
29	S130	1985720	-29,79
30	S117	1624830	-29,67
31	S148	3781359	-29,42
32	S131	1988946	-29,23
33	S21	141755427	-29,15
34	S166	8436675	-29,14
35	S184	8437062	-29,14
36	S125	1840498	-28,78
37	S167	8436676	-28,73
38	S168	8436677	-28,69
39	S171	8436837	-28,61
40	S43	87712315	-28,59
41	S183	8437061	-28,57
42	S132	1988947	-28,53
43	S147	3736303	-28,53
44	S115	1622213	-28,43
45	S23	87907790	-28,36
46	S41	87712573	-28,25
47	S187	8437073	-28,03
48	S149	4244601	-27,84
49	S176	8436971	-27,78
50	s103	1397840	-27,75
51	S104	1397841	-27,74
52	S165	8436674	-27,46
53	S54	87711997	-27,20
54	S182	8437060	-27,10
55	S65	87711566	-27,07
56	S170	8436683	-27,04
57	S40	87712623	-26,99
58	S180	8437058	-26,71
59	S20	152631614	-26,59
60	S151	5541298	-26,52
61	S146	3713757	-26,47

Annexes

62	S152	5555264	-26,36
63	S39	87712628	-26,33
64	S30	87713016	-26,25
65	S27	87713259	-26,04
66	S118	1626094	-25,95
67	S142	2649637	-25,89
68	S60	87711825	-25,83
69	S57	87711872	-25,77
70	S109	1402507	-25,77
71	S110	1402508	-25,77
72	S123	1827725	-25,75
73	S88	11426422	-25,69
74	S38	87712635	-25,68
75	S62	87711797	-25,68
76	S52	87712066	-25,66
77	S55	87711917	-25,65
78	S135	1995187	-25,65
79	S32	87712888	-25,61
80	S101	489218	-25,39
81	S126	1891027	-25,39
82	S24	87907781	-25,16
83	S141	2551726	-25,14
84	S63	87711697	-25,11
85	S188	8437229	-25,06
86	S64	87711640	-24,96
87	S16	489198	-24,95
88	S67	87711515	-24,94
89	S47	87712123	-24,87
90	S75	58652802	-24,79
91	S105	1400376	-24,75
92	S77	49791559	-24,74
93	S100	463751	-24,74
94	S34	87712805	-24,71
95	S22	88051984	-24,68
96	S15	489199	-24,65
97	S1	6451047	-24,64
98	S163	8306390	-24,60
99	S17	489197	-24,49
100	S83	22209646	-24,44
101	S56	87711891	-24,39
102	S111	1414718	-24,37
103	S112	1414721	-24,37
104	S49	87712072	-24,21

Annexes

105	S33	87712845	-24,04
106	S173	8436863	-24,04
107	S48	87712121	-23,97
108	S31	87712898	-23,96
109	S35	87712779	-23,94
110	S85	22209628	-23,91
111	S61	87711812	-23,85
112	S174	8436864	-23,85
113	S44	87712245	-23,83
114	S45	87712243	-23,77
115	S76	58652682	-23,68
116	S80	49791555	-23,66
117	S59	87711844	-23,62
118	S136	1996261	-23,59
119	S36	87712766	-23,50
120	S121	1630559	-23,37
121	S29	87713018	-23,35
122	S37	87712745	-23,25
123	S11	489213	-23,13
124	S51	87712069	-23,11
125	S72	69606087	-23,05
126	S102	953755	-23,01
127	S162	7989533	-22,84
128	S12	489208	-22,83
129	S46	87712185	-22,82
130	S42	87712366	-22,77
131	S13	489207	-22,61
132	S84	22209636	-22,61
133	S28	87713157	-22,57
134	S156	7538510	-22,47
135	S150	5298568	-22,43
136	S18	489196	-22,39
137	S81	49791554	-22,39
138	S6	2669729	-22,33
139	S50	87712070	-22,32
140	S14	489206	-22,31
141	S159	7770461	-22,26
142	S66	87711563	-22,22
143	S129	1984928	-22,21
144	S154	7398046	-22,07
145	S78	49791557	-21,98
146	S160	7818780	-21,95
147	S58	87711854	-21,91

Annexes

148	S79	49791556	-21,90
149	S161	7896614	-21,72
150	S4	1711492	-21,66
151	S74	68955066	-21,60
152	S157	7556697	-21,47
153	S68	69768861	-21,33
154	S53	87712038	-21,32
155	S153	7233609	-21,15
156	S143	2668162	-20,91
157	S155	7413654	-20,86
158	S158	7557100	-20,68
159	S107	1401399	-20,54
160	S26	87827657	-20,44
161	S69	69768371	-20,44
162	S95	2215236	-20,25
163	S25	87830360	-20,12
164	S94	2985581	-19,88
165	S96	972316	-19,72
166	S91	9879425	-19,37
167	S7	2214180	-19,35
168	S138	2089841	-19,18
169	S9	741349	-18,90
170	S10	740366	-18,56
171	S89	9921919	-18,40
172	S139	2096687	-18,28
173	S137	2088444	-18,19
174	S92	9857074	-18,10
175	S86	17469414	-17,71
176	S140	2107325	-17,53
177	S97	741345	-17,46
178	S71	69606105	-16,95
179	S70	69606114	-16,84
180	S98	715320	-16,64
181	S82	42952461	-16,37
182	S90	9900981	-16,27
183	S19	152762741	-16,08
184	2gz8	2822496	-15,96
185	S73	69606083	-15,80
186	S99	715307	-15,76
187	S2	2822496	-15,04
188	S87	17447991	-14,29



Résumé

Résumé

L'inhibition de la Main protéase (Mrpo) est une des voies thérapeutiques les plus prometteuses pour lutter contre le SRAS-CoV-2 (COVID-19). Afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs potentiels de cette enzyme, nous avons fait appel aux approches de simulation par docking molécules. Dans cette optique, le docking moléculaire d'une collection de 188 composés chimiques à l'égard du site actif de la Mpro fait ressortir les composés **S119**, **S127** et **S175** comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme avec des énergies d'interaction respectives de -39,22 KJ/mol, -36,27 KJ/mol et -34,57 KJ/mol. L'étude prédictive des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques de ces composés met en valeur le composé **S127** qui a présenté le meilleur profil ADME.

Mots clés: COVID-19, Docking moléculaire, Enzyme, Inhibiteur, MPro

Abstract

Inhibition of the main protease (M^{pro}) is one of the most promising therapeutic routes to fight against SARS-CoV-2 (COVID-19). In order to contribute to the development of new potential inhibitors of this enzyme, we have called upon simulation approaches by docking molecules. In this perspective, the molecular docking of a collection of 188 chemical compounds with respect to the active site of M^{pro} brings out the compounds S119, S127 and S175 as new inhibitors of this enzyme with respective interaction energies of -39,22 KJ / mol, -36.27 KJ / mol and -34,57 KJ / mol. The predictive study of the physicochemical and pharmacokinetic properties of these compounds highlights the compound S127 which exhibited the best ADME profile.

Keywords: COVID-19, Molecular docking, Enzyme, Inhibitor, M^{Pro}.

المخلص :

يعد تثبيط البروتياز الرئيسي (Mrpo) أحد أكثر الطرق العلاجية الواعدة لمحاربة COVID-19 (SARS-CoV-2). من أجل المساهمة في تطوير مثبطات محتملة جديدة لهذا الإنزيم ، قمنا باستعمال مناهج المحاكاة عن طريق الالتحام الجزيئي. من هذا المنظور ، إن الالتحام الجزيئي لمجموعة من 188 مركبًا كيميائيًا فيما يتعلق بالموقع الفعال لـ Mpro يبرز المركبات S119 و S127 و S175 كمثبطات جديدة لهذا الإنزيم مع طاقات تفاعلية تبلغ -39 ، 22 كيلو جول / مول ، -36.27 كيلوجول / مول و -34.57 كيلوجول / مول. تبرز الدراسة التنبؤية للخصائص الفيزيائية والكيميائية والحركية الدوائية لهذه المركبات المركب S127 الذي أظهر أفضل ملف تعريف ADME.

الكلمات المفتاحية: COVID-19 الالتحام الجزيئي ، الإنزيم ، المانع ، MPro

Présenté et soutenu par : -ROUABAH Safia
-HIRECHE Yousra

Date de soutenance : 12/07/2021

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

Spécialité : Bioinformatique

Thème :

Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la Main Protease du SARS-CoV-2

Résumé

L'inhibition de la Main protéase (Mrpo) est une des voies thérapeutiques les plus prometteuses pour lutter contre le SRAS-CoV-2 (COVID-19). Afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs potentiels de cette enzyme, nous avons fait appel aux approches de simulation par docking molécules. Dans cette optique, le docking moléculaire d'une collection de 188 composés chimiques à l'égard du site actif de la Mpro fait ressortir les composés S119, S127 et S175 comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme avec des énergies d'interaction respectives de -39,22 KJ/mol, -36,27 KJ/mol et -34,57 KJ/mol. L'étude prédictive des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques de ces composés met en valeur le composé **S127** qui a présenté le meilleur profil ADME

Mots clés: COVID-19, Docking moléculaire, Enzyme, Inhibiteur, MPro

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI.A. (Professeur à UFM Constantine 1).

Rapporteur : MOKRANI E.H. (Maître de Conférences B à UFM Constantine 1).

Examineur : KELLOU.K. (Maître -assistant Classe A à UFM Constantine 1).

Année universitaire : 2020/2021