



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie وكلية علوم والحياة الطبيعية

Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Thème

Docking moléculaire : Quercétine – SARS-CoV2

Présenté et soutenu par Mlle BENDIB Souria
Mlle MANAA Hayet

Le : 19/09 /2021

Président du jury
Examineur
Encadreur

Mr. NACIB Youcef
Mr. NOUADRI Tahar
Mme.BENLOUNISSIAïcha

(Professeur –UFM, Constantine 1)
(Professeur – UFM, Constantine1)
(M.C.A - ENSB, Constantine)

Année universitaire : 2020-2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي يُرِيهِمْ آيَاتِهِ
وَالَّذِي يُخْرِجُ النَّوْمَ
وَالَّذِي يُخْرِجُ النَّوْمَ
وَالَّذِي يُخْرِجُ النَّوْمَ

REMERCIEMENTS

Tout d'abord nous remercions Allah qui nous a donné le courage, la patience et la volonté et nous a permis de reprendre nos études universitaires après une longue rupture afin de finaliser ce travail ;

Nous remercions notre encadreur Mme. BENLOUNISSI Aïcha pour la confiance qu'elle nous a accordées et son aide lors de la réalisation de ce travail ;

Toute notre gratitude va aux membres de jury pour avoir accepté de présider et examiner ce manuscrit ;

Nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail :

*À mes très chers parents qui ont toujours été là
pour moi, et qui m'ont donné un magnifique
modèle de labeur et de persévérance .J'espère qu'ils
trouveront dans ce travail toute ma
reconnaissance et tout mon amour ;*

À tous mes collègues de promotion de master

À mon binôme SOURIA ;

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force
de continuer.*

HAYET

Dédicace

Je dédie ce travail :

*À mes très chers parents qui ont toujours été là
pour moi, et qui m'ont donné un magnifique
modèle de labeur et de persévérance .J'espère qu'ils
trouveront dans ce travail toute ma
reconnaissance et tout mon amour ;*

À tous mes collègues de promotion de master

À mon binôme HAYET ;

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force
de continuer.*

SOURIA

Résumé

Le coronavirus-2 (SARS-CoV-2) est une menace mondiale émergente qui met à rude épreuve la capacité de soins de santé dans le monde. Au 27 mai, la maladie causée par le SRAS-CoV-2 (COVID-19) avait tué plus de 2,5 millions de personnes dans le monde, ce qui rend impératif l'étude et le développement de traitements médicamenteux appropriés pour la prévention et le traitement du virus. L'utilisation des informations de séquence disponibles, la modélisation de la symétrie et l'établissement d'un certain nombre de médicaments disponibles peuvent être efficaces pour inhiber le SRAS-CoV 2. La quercétine est un flavonoïde bien connu dont les propriétés antivirales ont été étudiées dans de nombreuses études. La justification biologique de L'utilisation expérimentale dans le contexte actuel de l'épidémie doit être privilégiée. Nous présentons les preuves actuelles sur l'utilisation de la quercétine pour la prophylaxie dans les populations à haut risque et pour le traitement des patients COVID-19 comme une aide à des agents pharmacologiques prometteurs tels que le Remdesivir ou le plasma de convalescence.

Mots clés : SARS-CoV-2, COVID-19, Quercetin et amarrage moléculaire.

Abstract

Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) is an emerging global threat that is straining the capacity for healthcare around the world. On May 27th 2021, the disease caused by SARS-CoV-2 (COVID-19) had killed more than 2.5 million people worldwide, making it imperative to study and develop appropriate drug treatments for prevention and treatment of the virus. Using the available sequence information, modeling symmetry, and establishing a number of available drugs can be effective in inhibiting SARS-CoV 2. Quercetin is a well-known flavonoid whose antiviral properties have been shown to be effective. The biological justification for experimental use in the current context of the epidemic should be privileged. We present the current evidence on the use of quercetin for prophylaxis in high risk populations and for the treatment of COVID-19 patients as an aid to promising pharmacological agents such as Remdesivir or convalescent plasma.

Key-words: SARS-CoV-2, COVID-19, Quercetin and molecular Docking.

(SARS-CoV-2) Coronavirus-2 تهديد عالمي ناشئ يجهد القدرة على الرعاية الصحية في جميع أنحاء العالم. اعتباراً من مايو/أيار 27، تسبب المرض الناجم عن (COVID-19) SARS-CoV-2 في مقتل أكثر من 2,5 مليون شخص في مختلف أنحاء العالم. ومن الضروري دراسة وتطوير علاجات مناسبة للعقاقير من أجل الوقاية من COVID-19 وعلاجها. باستخدام معلومات التسلسل المتاحة، ونمذجة التماثل، وإنشاء عدد من الأدوية المتاحة يمكن أن تكون فعالة في كبح SARS-CoV2 الكورسيتين (Quercétin) هو فلافونويد معروف جيداً وقد ثبت أن خصائصه المضادة للفيروسات فعالة. درست في العديد من الدراسات. وينبغي إيلاء الأولوية للمبرر البيولوجي للاستخدام التجريبي في السياق الحالي للوباء. ونقدم الأدلة الحالية على استخدام الكيرسيتين في الوقاية في المجموعات السكانية المعرضة لخطر شديد وفي علاج مرضى COVID-19 كمساعدة للعوامل الدوائية الواعدة مثل ريمديسفير أو البلازما المعدية.

الكلمات المفتاحية: SARS-CoV-2 ؛ COVID-19 و Quercétin ؛ نمذجة التماثل.

Table des matières

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des abréviations.....	Iii
Introduction.....	2
Chapitre I : L’Espèce Coronavirus (cov)	
1. Historique.....	5
2. Taxonomie.....	6
2.1 Alphacoronavirus.....	6
2.2 Betacoronavirus.....	7
2.3 Gammacoronavirus.....	7
2.4 Deltacoronavirus.....	7
3. Origine des coronavirus.....	8
4. Les principaux coronavirus.....	9
4.1. Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) Coronavirus.....	9
4.2. Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERSCoV).....	10
4.3. La COVID 19 : SYNDROME RESPIRATOIRE AIGU SEVERE SRAS-COV.....	11
4.3.1. Chronologie de l’épidémie.....	11
4.3.2. Aspects épidémiologiques.....	12
4.3.3. Aspects virologiques.....	12
4.3.4. Caractéristiques Général.....	14
4.3.4.1. Morphologie de SARS-CoV-2.....	14
4.3.4.2. Génome.....	16
4.3.4.3. Déterminants structurels dans la pathogénicité du SARS- Cov2.....	17
4.3.5. Cycle de vie et répllication du SRAS-CoV-2.....	20

Chapitre II : Quercétine

1. Introduction.....	22
2. Structure de la quercétine.....	22
3. Propriétés physicochimiques de la quercétine.....	23
4. Sources alimentaires de quercétine.....	24
5. Absorption, biodisponibilité et métabolisme de la quercétine.....	24
5.1 .Absorption.....	25
5.2. Transformation et transport.....	25
5.3. Excrétion.....	25
6. Effet de la quercétine sur l'inflammation et la fonction immunitaire.....	26
6.1. In Vitro.....	26
6.1.1. Anti-inflammation et promotion de l'immunité.....	26
6.1.2. Mécanisme d'action.....	26
6.2. In Vivo.....	28
6.2.1. Modèles animaux références.....	28
6.2.2. Mécanisme d'action chez l'animal.....	28
7. Pleins feux sur le SARS-Cove 2.....	29
8. Qercetin et docking moléculaire.....	30

Chapitre III : Docking moléculaire

1. Le Docking moléculaire.....	32
1.1. Principe.....	32
1.2. Docking et Scoring.....	32
2. Outils du docking moléculaire.....	33
2.1. Ligand.....	33
2.2. Récepteur.....	34
2.3. Comparaison et superposition de molécules.....	34
3 Algorithmes de Docking.....	35
4. Les programmes du docking.....	36
4.1. AutoDock.....	36

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

1. Matériel.....	39
1.1 Microordinateurs.....	39
1.2. Programmes.....	39
1.3 Banques de données.....	40
2. Méthodes.....	40
2.1. Préparation de la protéine.....	40
2.2 Préparation de ligand.....	40
3. Règle de Lipinski.....	41
4. docking Moléculaire.....	42

Chapitre VI : Résultats et Discussion

1. Résultats de doking moléculaire.....	44
1.1. Test RMSD.....	44
1.2. Étude des interactions.....	45
2. L'analyse visuelle.....	46
Conclusion.....	49
Références bibliographiques.....	51
Annexes.....	I

LISTE DES FIGURES

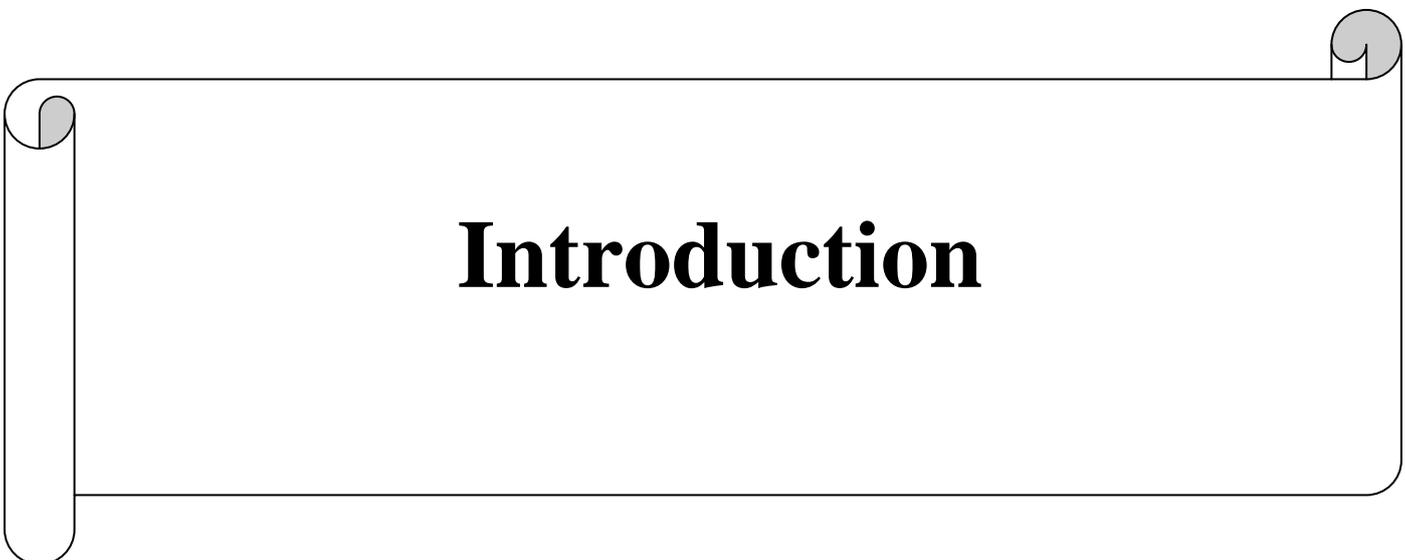
Figure 1	Groupe diversifié de coronavirus et leur mode d'entrée chez l'homme via les principaux récepteurs.....	6
Figure 2	Représentation schématique de la taxonomie des Coronaviridae.....	8
Figure 3	Résumé des groupes d'animaux naturels et des hôtes intermédiaires pour les sept CoVs qui peuvent causer des maladies chez les humains.....	9
Figure 4	Structure génétique du coronavirus.....	13
Figure 5	Hypothèse de la relation entre le SARSCoV-2 et la pyroptose cellulaire.....	14
Figure 6	Structure du SARS-CoV-2 : (A)-Illustration du virion SARS-CoV-2 créé aux CDC (USA) ; (B)-Représentation schématique de la structure du SARS-CoV-2 ; (C)-Image au microscope électronique d'une fine section de SARS.....	15
Figure 7	Schéma d'un coronavirus.....	15
Figure 8	Organisation du génome du SARS-CoV-2.	16
Figure 9	Cycle de vie du SRAS-CoV-2.	20
Figure 10	Structure chimique de la quercétine.	22
Figure 11	Structure moléculaire de la quercétine, du glycoside de quercétine, du glucuronide de quercétine, du sulfate de quercétine et de la quercétine méthylée.....	23
Figure 12	Représentations chimiques des effets anti-inflammatoires possibles de la quercétine contre le SARS-CoV-1/2.....	31
Figure 13	Principe général du Docking. Moléculaire.....	33
Figure 14	Comparaison des programmes de Docking les plus cités.....	37
Figure 15	Représentation de ligand quercétine.....	41
Figure 16	Liaison entre le ligand et la protéine.....	45
Figure 17	Représentation des liaisons de Van Der Waals et des liaisons Hydrogènes.....	46
Figure 18	Interactions entre le ligand Quercétine et les acides aminés de 7ACT.....	46
Figure 19	Représentation de la molécule 7ACT et du complexe SARS-Cov-2_Quercétine.....	47

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Liste partielle des coronavirus humains pathogènes.....	12
Tableau 2	Adresses des principaux programmes de Docking moléculaire.....	36
Tableau 3	Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques.....	39
Tableau 4	Structure de la protéine et ligand cible natif	44
Tableau 5	Valeurs de RMSD et charge de complexe protéine-inhibiteur.....	45

Liste des abréviations

PDB	Protéine Data Banque.
SDF	Structure Data File
ADN	Acide désoxyribonucléique
SARS-CoV-2	Coronavirus 2 du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère
CoV	Coronavirus
Docking	méthodes de la modélisation moléculaire.
MERS-CoV	Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient
ARN :	Acide ribonucléique
ARNm	ARN messenger
BCoV	Coronavirus Bovin
HCoV-OC43	Coronavirus respiratoire Humain, souche OC43
HCoV 229-E	Coronavirus Humain, souche 229-E
ACE2	Angiotensin converting enzyme 2
IL	Interleukine
IFN-γ	Interféron-gamma
TNFα	TumorNecrosis Factor-alpha
RBDs	Receptor-BindingDomains
ORFs	Open Reading Frames : cadres de lecture ouverts
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire



Introduction

Introduction

Fin 2019, la maladie à coronavirus (COVID-19) est apparue, le virus qui en est responsable fait partie de la famille des Coronaviridae. Il a été signalé à l'origine à Wuhan, en Chine, et s'est rapidement répandu dans le monde[1]. Le nouveau virus a été nommé «SARS-CoV-2» par le Comité international de taxonomie des virus, et a infecté plus de 113 millions de personnes et tué plus de 2,5 millions[2]. L'Organisation mondiale de la santé l'a déclarée pandémie mondiale le 11 mars 2020[3]. L'épidémie mondiale a eu un impact économique et social sans précédent sur les pays, car elle a provoqué la fermeture de nombreuses institutions et l'annulation de voyages dans la plupart des pays du monde pour plusieurs mois.

Les patients atteints de pneumonie à coronavirus ont de la fièvre et une température supérieure à 38 degrés avec des symptômes tels que toux sèche, fatigue, dyspnée, difficulté à respirer et symptômes ressemblant à du verre givré dans les poumons. Une grande quantité de mucus peut être découverte dans le tissu disséqué sans inclusions virales évidentes[4].

La quercétine (également connue sous le nom de pentahydroxyflavone) est présente dans plusieurs légumes, feuilles, graines et céréales, où elle est conjuguée à des sucres résiduels pour former des glycosides de quercétine [5].

Des études suggèrent que la supplémentation en quercétine peut favoriser des effets antioxydants, anti-inflammatoires, antiviraux et immunoprotecteurs. La quercétine a été étudiée dans divers types et modèles d'infection virale en raison de ses effets antiviraux prometteurs dans l'inhibition des polymérase, des protéases, de la transcriptase inverse, de la suppression de l'ADN gyrase et de la liaison aux protéines de capsid virales[15].

La recherche dans l'industrie pharmaceutique est un processus qui prend du temps avec un risque élevé d'échec. Pour cela, le processus de développement des médicaments a été amélioré grâce à l'utilisation des techniques dites "haut-débit", qui sont efficaces lorsqu'elles sont combinées à des outils informatiques. Le Docking est une des méthodes de la modélisation moléculaire, devenu un outil indispensable dans le domaine de la conception de molécules médicamenteuses dans le but de prédire les détails de l'interaction moléculaire entre une molécule et une protéine cible ayant un intérêt thérapeutique[6].

Dans cet objectif, cette étude a été réalisée afin de simuler l'effet de la quercétine sur la protéine membranaire du SARS-CoV-2 grâce à la bio-informatique, pour ce faire le docking moléculaire a été réalisé grâce au programme VirtualDocker (AutoDock), pour comprendre le mode de formation du complexe SARS-CoV-2 - Quercétin.

Le manuscrit est divisé en trois grandes parties :

Partie 1 : Composée de trois chapitres, le premier donne un aperçu général sur l'espèce coronavirus ; le deuxième chapitre, a permis de mieux comprendre le ligand quercétin, ses propriétés physico-chimiques et ses effets lors des infections virales et le troisième résume et explique le Docking moléculaire.

Partie 2 : englobe le matériel utilisé et les méthodes adoptées pour la réalisation de ce travail ; La dernière partie présente et discute les résultats obtenus.



Synthèse bibliographique

Chapitre I: L'Espèce Corona Virus (CoV)

1. Historique

En raison de l'existence d'une morphologie de type couronne basée sur des examens de microscopie électronique, le terme "Coronavirus" a été inventé en 1968. En 1975, il a été classé par le Comité International de Taxonomie des Virus comme appartenant à la famille des "Coronaviridae" dans l'ordre des "Nidovirales"[7]. Basé sur des réactions sérologiques croisées, il est divisé en trois genres (**figure 1**): les virus respiratoires du groupe I comprennent le coronavirus respiratoire porcine (VCPR), le coronavirus félin (FECoV), le virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV), le virus de la gastro-entérite transmissible (TEGV), le coronavirus canin (CCoV), le virus de la péritonite infectieuse féline (FIPV). Porcine Epidemic Diarrhoea Virus (PEDV) et Human Coronavirus HCoV-229E. L'infection respiratoire humaine est causée par des virus du groupe II comme le HCoV-OC43, le HCoV-HKU1 et le virus de l'hépatite murine (MHV)[8].

L'hépatite, les maladies pulmonaires, les maladies intestinales, l'encéphalite et la démyélinisation persistante sont tous des troubles causés par le VHM, un prototype de coronavirus. Les virus qui causent la maladie chez les animaux comprennent le coronavirus bovin (BCoV), le virus de l'encéphalomyélite hémagglutinante porcine (VHR), le coronavirus équin (ECoV), le virus de la sialodacryoadénite CoV (SDAV) et le syndrome respiratoire aigu sévère (SARS CoV). Dans cette catégorie[9].

Toutefois, la question pour savoir si le SARS-CoV devrait être classé dans le groupe II ou dans un nouveau groupe IV est toujours à l'étude. De plus, le virus de la bronchite infectieuse aviaire (VBI) et le coronavirus de la Turquie (TCoV) sont deux virus qui causent l'infection chez les oiseaux et sont classés comme virus du groupe III. D'après les séquences de réplicase et de nucléocapside (N), les analyses expérimentales *in silico* ont démontré que ces virus sont distincts de ceux qui causent l'infection chez les mammifères. L'infection humaine est facilitée par les récepteurs les plus répandus, tels qu'ACE2, APN, Neu5 et 9Ac2[10].

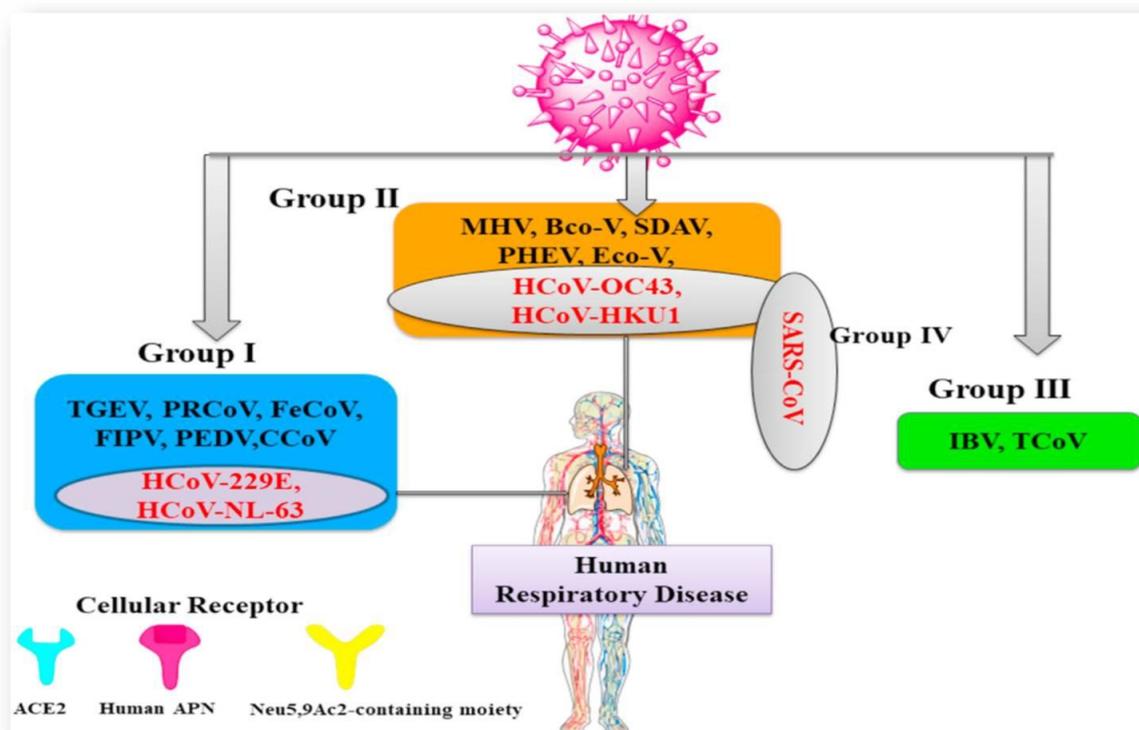


Figure 1 :Groupe diversifié de coronavirus et leur mode d'entrée chez l'homme via les principaux récepteurs [10].

2. Taxonomie

Les coronavirus appartiennent à la sous-famille des coronavirinae dans la famille des Coronaviridae. Le nom scientifique du coronavirus est Orthocoronavirinae ou Coronavirinae. Ils appartiennent à la famille des Coronaviridae, de l'ordre des Nidovirales et du royaume Riboviria [11].

Les coronavirus sont divisés en alpha-coronavirus et en beta-coronavirus qui infectent les mammifères par contre les gamma-coronavirus et les virus delta-coronavirus infectent principalement les oiseaux [12] (figure 1).

1.1. Genre : Alphacoronavirus

Espèces :

- Coronavirus humain 229E ;
- Coronavirus humain NL63 ;
- Miniopterus bat coronavirus 1.

- Miniopterusbatcoronavirus HKU8, virus de la diarrhée épidémique porcine, Coronavirus de la chauve-souris rhinolophe HKU2, chauve-souris scotophilecoronavirus

2.1. Genre :Betacoronavirus

Espèces types :

- Murine coronavirus
- Coronavirus bovin
- Humain coronavirus OC43
- Coronavirus humain HKU1
- Murine coronavirus
- Coronavirus de pipistrellus bat HKU5
- Coronavirus de la chauve-souris Rousettus HKU9

2.2. Genre :Gammacoronavirus

Espèces types :

- Infectieux virus de la bronchite
- Coronavirus du béluga SW1, incfieux virus de la bronchite

2.3. Genre :Deltacoronavirus

Espèces types :

- Bulbul coronavirus HKU11
- Coronavirus porcin HKU15[13]

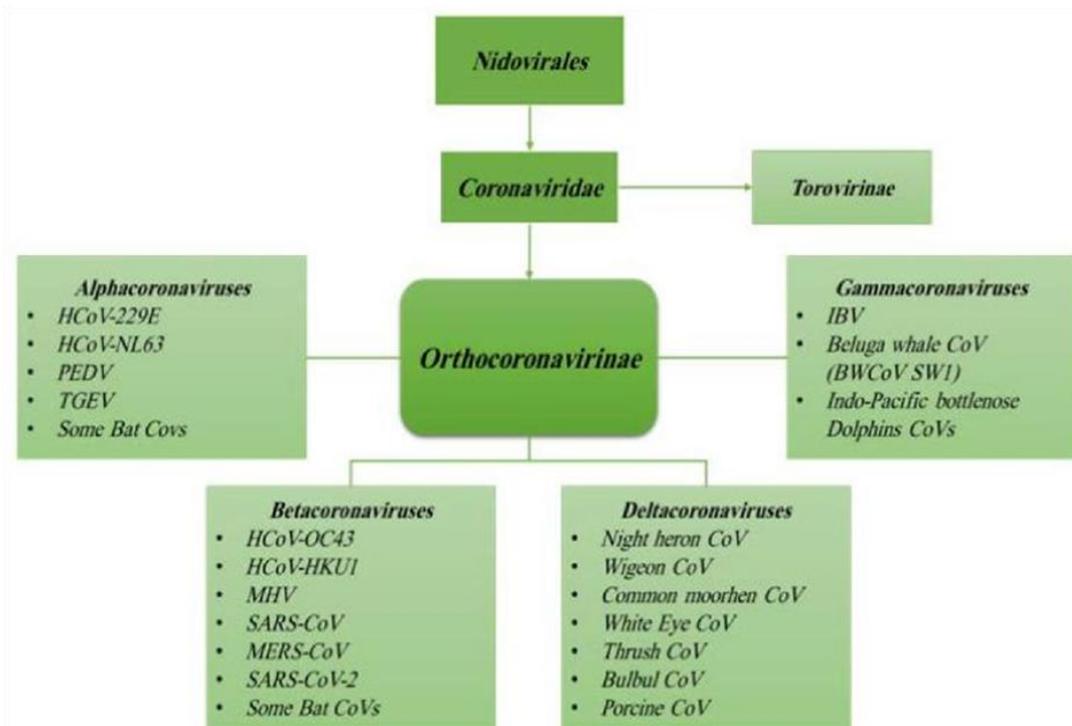


Figure 2 : Classification de différents types de coronavirus au sein de la famille des coronaviridae, sous-famille Orthocoronavirinae et les genres respectifs alpha, bêta, gamma et deltacoronaviruses. Le CoV 2 du SRAS est classé comme un virus betacoronavirus[14].

3. Origine des coronavirus

Les CoV peuvent être isolés à partir de différentes espèces animales, y compris les oiseaux, le bétail et les mammifères tels que les chameaux, les chauves-souris, les civettes de palmiers masquées, les souris, les chiens et les chats [15]. Les CoV animaux sont connus pour provoquer des maladies aiguës chez plusieurs animaux, ces derniers, peuvent jouer un rôle important en tant que hôtes intermédiaires qui permettent la transmission du virus d'une espèce à l'homme. Les genres *Gamma* - et *Deltacoronavirus* infectent les oiseaux, mais certains d'entre eux peuvent également infecter les mammifères [15] (figure 3).

D'autre part, les *alpha* et *bétacoronavirus* n'infectent que les mammifères et provoquent généralement des maladies respiratoires chez l'homme ; parmi celles-ci, les souches 229E, OC43, HKU1 et NL63 sont les plus répandues infectant les jeunes enfants, les nourrissons ainsi que les personnes âgées [15].

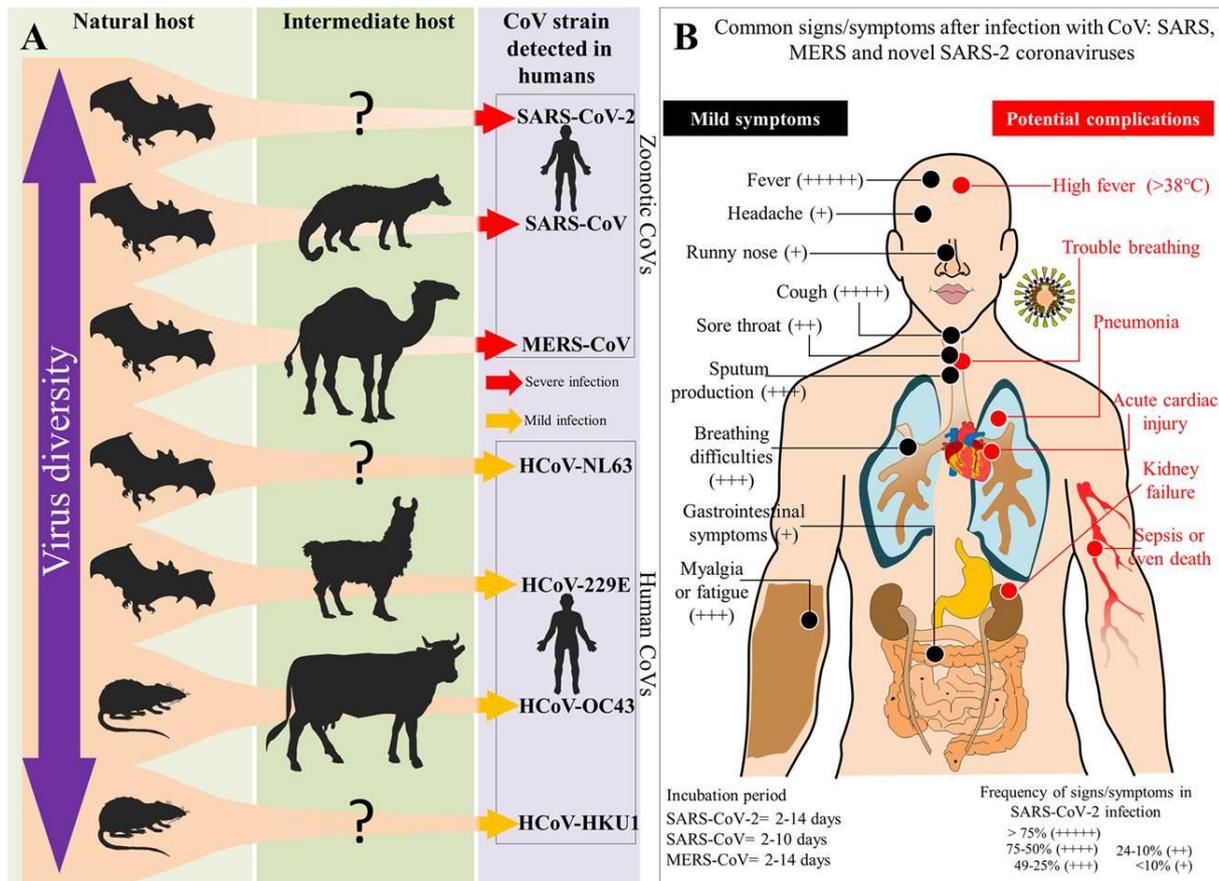


Figure 3 : Résumé des groupes d’animaux naturels et des hôtes intermédiaires pour les sept CoVs qui peuvent causer des maladies chez les humains[16].

Les différents CoVs peuvent causer des infections modérées ou graves chez les humains, et certains des hôtes intermédiaires de ces virus ne sont pas encore connus. Les infections par différents CoVssymptômes qui se chevauchent quel que soit le type de virus maladie [16].

Les signes et les symptômes peuvent affecter différents systèmes et organes, variant de symptômes légers dans la plupart des cas (fièvre, toux, myalgie, maux de tête et écoulement nasal, entre autres symptômes), qui peut évoluer vers des complications avec un pronostic plus mauvais (pneumonie, insuffisance rénale, problèmes respiratoires, blessure cardiaque aiguë, septicémie et décès). La période d’incubation diffère entre de 2 à 14 jours [16].

4. Les principaux coronavirus

4.1. Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV) coronavirus

Le nombre de coronavirus identifiés a continué d’augmenter de façon significative pour inclure les virus de plusieurs autres espèces animales comme les veaux, les chiens, les chats, les chauves-souris, les moineaux, les lapins et les dindons. En 2002-2003, le CoV-SARS a

causé une éclosion de maladie avec des décès dans 29 pays, la plupart des cas en Chine et à Hong Kong. Le nombre total de cas signalés était de 8096, dont 774 décès, correspondant à un taux de mortalité de 9,6 %, avant que la maladie ne s'éteigne en partie en raison d'une quarantaine stricte protocoles. Selon la séquence génomique[17], le SARS-CoV semblait être très étroitement lié à un autre virus de la civette de palmier de l'Himalaya, dont elle pourrait avoir émergé. Plus tard, les civettes ont été très étroitement liés à un autre un hôte intermédiaire pour le SARS-CoV, avec des chauves-souris comme hôte naturel[17].

Hu et al, [6] ont effectué une étude de surveillance de cinq ans des coronavirus isolés liés au SARS de chauves-souris chevalines dans la province du Yunnan, en Chine, où 11 CoV semblables au SARS ont été identifiés. Les comparaisons des génomes ont révélé une grande diversité génétique parmi ces virus dans plusieurs gènes, notamment S, ORF3, et ORF8. Malgré les différences dans les séquences de protéines S, les 11 coefficients de même récepteur humain de conversion de l'enzyme-2 (hACE2) de l'angiotensine, démontrant une relation étroite avec le SARS-CoV. Par conséquent, le SARS-CoV a probablement émergé grâce à la recombinaison des CoV semblables à ceux du SARS chez les chauves-souris avant d'infecter les civettes, à partir desquelles le virus recombinant s'est propagé aux humains, causant le SARS épidémique.[17]

4.2. Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV)

Le SRMO commence par la toux, la fièvre et des problèmes respiratoires, mais peut évoluer vers une pneumonie et une insuffisance rénale:

- Plus de 1600 cas humains et l'éclosion se poursuit ;
- Taux de mortalité >30 % ;
- Les cas sont sporadiques et ne peuvent être liés à une seule source (d'après le séquençage du génome) ;
- Les pays les plus touchés sont la péninsule arabique (Bahreïn, Iran, Jordanie, Koweït, Liban, Oman, Qatar, Arabie saoudite, Émirats arabes unis et Yémen) ;
- Transmission occasionnelle de personne à personne très rare ;
- La plupart des cas de transmission de personne à personne se produisent dans un milieu hospitalier ;
- De nombreux chameaux en bonne santé dans la péninsule arabique ont des anticorps spécifiques au CoV-MERS (indiquant une infection passée), mais les infections

surviennent souvent chez les personnes n'ayant aucun contact connu avec les chameaux ;

- Un virus très similaire au CoV-MERS a été trouvé chez certaines chauves-souris (l'analyse de séquence suggère que le virus s'est déplacé des chauves-souris aux chameaux) ;
- De nombreuses questions sur l'épidémiologie du CoV-MERS demeurent sans réponse ;
- Des cas sporadiques de SRMO continuent d'être signalés ;
- Les procédures strictes de contrôle des infections chez les patients hospitalisés limitent la propagation de personne à personne dans ce contexte et la transmission parmi les contacts occasionnels ou domestiques est rare[18].

Bien que le MERS-CoV et le SARS-CoV soient tous deux des bêta-coronavirus, ils proviennent de sources différentes et ont des caractéristiques uniques. Le SARS-CoV a un tropisme pour les cellules épithéliales ciliées des voies respiratoires et son récepteur est l'ACE2. En revanche, le MERS-CoV a un tropisme pour les cellules épithéliales respiratoires non ciliées et son récepteur est le DPP4. La comparaison continue de ces deux virus permettra de mieux comprendre la transmission du CoV et la pathogenèse. La propension à la recombinaison du CoV et sa présence omniprésente chez les chauves-souris justifient une surveillance étroite et une étude de ces agents pathogènes humains potentiels[18].

4.3. La COVID 19 : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SARS-COV)

4.3.1. Chronologie de l'épidémie

La survenue de cas de pneumonies sévères a été observée en décembre 2019 dans la ville de Wuhan, en Chine. Un nouveau coronavirus associé à cette épidémie a été identifié au début janvier 2020 et la maladie, apparue en 2019, a été appelée Covid (*Coronavirus disease*)-19. L'épidémie s'est rapidement répandue hors de Chine pour affecter, en l'espace de quelques semaines, tous les pays du monde. Neuf mois après le début de la pandémie (septembre 2020), ce sont 30 millions de cas et 2 millions de décès qui ont été répertoriés[19].

4.3.2. Aspects épidémiologiques

L'émergence rapide du SARS-CoV-2 et sa diffusion pandémique montre que ce virus est bien plus contagieux que les SARS-CoV-I et que le Mers-CoV. Le R_0 ¹ initialement estimé entre 2,2 et 2,7 a été plus récemment estimé à 5,7 avec une fourchette de 3,8 à 8,9. Le temps de doublement du nombre de personnes infectées était compris entre 2,2 et 3,2 jours au début de l'épidémie avec un intervalle sériel, c'est-à-dire le temps séparant deux cas successifs, de sept à huit jours. Contrairement au SARS-CoV-I et au Mers-CoV, le virus est abondamment excrété par voie respiratoire par des sujets asymptomatiques ce qui favorise grandement sa diffusion. Le SARS-CoV-2 infecte d'autres espèces animales : tigres et lions dans un zoo, mais également les furets, les chats et les chiens[19].

Tableau 1: Liste partielle des coronavirus humains pathogènes[21].

Virus	Gènes	Symptomes
HCoV-229E	alpha	infections légères des voies respiratoires
HCoV-NL63	alpha	infections légères des voies respiratoires
HCoV-OC43	beta	infections légères des voies respiratoires
HCoV-HKU1	beta	
SARS-CoV	beta	syndrome respiratoire aigu sévère, taux de mortalité de 11 %
MERS-CoV	beta	syndrome respiratoire aigu sévère, taux de mortalité de 34 %
SARS-CoV-2	beta	syndrome respiratoire aigu sévère, taux de mortalité de 2,6 %

4.3.3. Aspects virologiques

Le virus responsable de cette pandémie a été dénommé SARS-CoV-2, de ce fait, le virus responsable du SARS en 2003 est souvent dénommé maintenant SARS-CoV-I. Le plus proche du SARS-CoV-2 est un virus de la chauve-souris (*Rhinolophus affinis*²), avec 96 % d'identité. Le SARS-CoV-2 présente, par rapport, au virus la chauve-souris et à celui du SARS-CoV-I des différences au niveau du site de liaison au récepteur ACE2 sur la protéine S. Le SARS-CoV-2 se lie au récepteur ACE2 humain avec beaucoup plus d'affinité que les deux autres virus. Les particularités du site de liaison au récepteur ACE2 sur la

¹**R0** : Les niveaux de vaccination doivent être au-dessus d'un seuil appelé « R-Naught » ou RO (SIR [« susceptible-infectieuse-récupérée »])

²**Le genre *Rhinolophus*** : regroupe des chauves-souris, plus connues sous le nom de rhinolophes ou rhinolophes vrais. Ce genre est le seul de la sous-famille des Rhinolophinae (*Rhinolophinae*).

protéine S se retrouvent chez un coronavirus proche du SARS-CoV(**figure 4**) identifié chez le pangolin malais (*Manis javanica*³) importé illégalement et présent sur les marchés chinois. Il n'a toutefois pas été clairement établi à ce jour de lien direct entre le coronavirus du pangolin et le SARS-CoV-2 et un autre hôte intermédiaire n'est pas à écarter. L'hypothèse d'une origine naturelle du SARS-CoV-2 par passage à l'homme au cours d'une transmission zoonotique est privilégiée par rapport à l'hypothèse d'une manipulation de laboratoire.

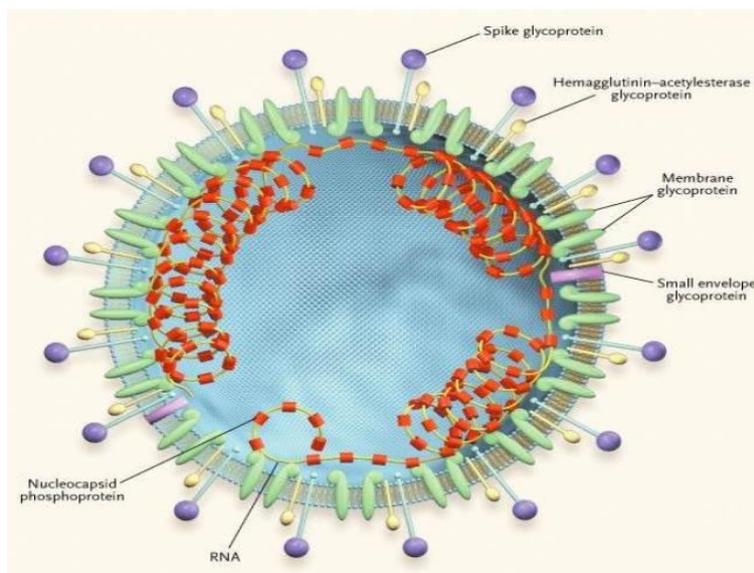


Figure 4 : Structure génétique du coronavirus[20].

Le terme « pyroptose cellulaire » a été proposé pour la première fois en 2013[22]. Au cours des dernières décennies, de plus en plus de preuves suggèrent que la « pyroptose » est une nouvelle forme inflammatoire de mort cellulaire programmée. En 2019, [23] ont découvert que la viroporine 3a du SARS-CoV déclenchait l'activation de l'inflammasome NLRP3 et la sécrétion d'IL-1 β dans les macrophages dérivés de la moelle osseuse, suggérant une pyroptose cellulaire induite par le SRAS-CoV34 Les voies impliquées dans l'activation de la signalisation entre NLRP3m IL-1 β , L'IL-18 et le GSDMD sont illustrés sur la (**figure 5**) et font l'objet d'études dans des échantillons de patients atteints du SARS-CoV-2 .Le COVID-19 pourrait être lié à la pyroptose cellulaire, notamment dans les lymphocytes via l'activation de l'inflammasome NLRP3. Les changements morphologiques dans les lymphocytes et les

³**Manis javanica** : (pangolin malais) que l'on trouve dans la péninsule malaisienne et sur les îles de Java, Bornéo, Sumatra, aux Philippines, etc. ; Également appelés fourmiliers écailleux, les pangolins sont des mammifères insectivores édentés, dont le corps est plus ou moins totalement recouvert d'écailles. Leur morphologie les apparente aux oryctéropes et aux tatous.

macrophages, les niveaux d'acides nucléiques et de protéines dans les cellules classiques et non classiques, la détection de NLRP3 et GSDMD et le rôle des cytokines inflammatoires IL-1 β et IL-18 nécessitent des recherches supplémentaires[21].

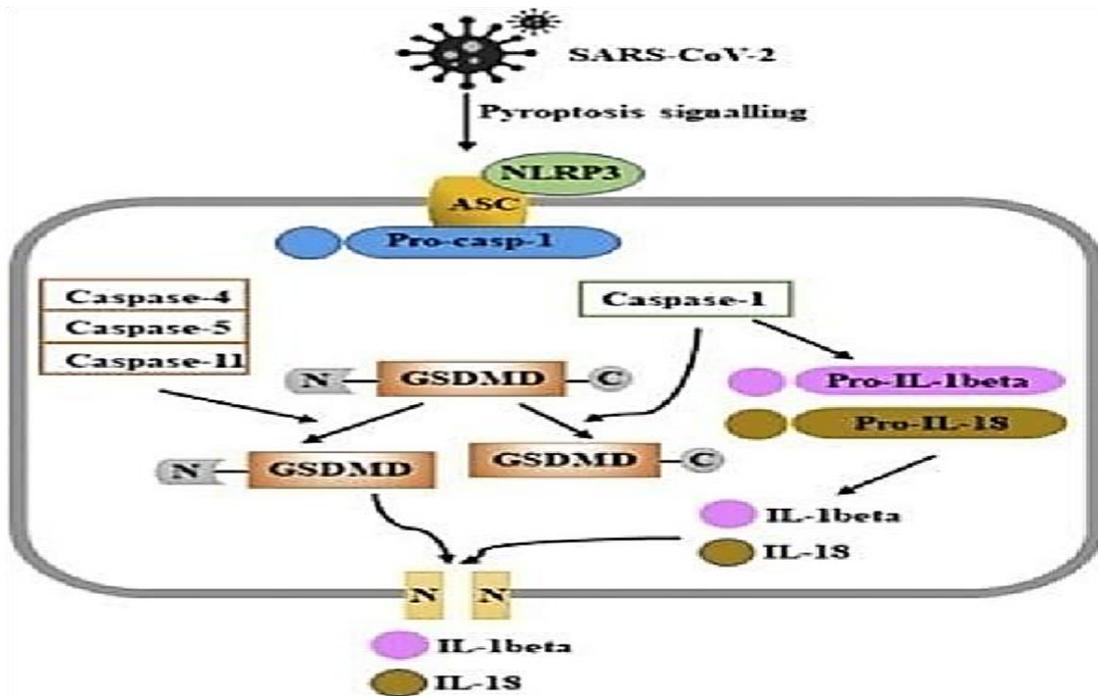


Figure 5 : Hypothèse de la relation entre le SARSCoV-2 et lapyroptose cellulaire[21].

4.3.4. Caractéristiques Général

4.3.4.1. Morphologie de SARS-CoV-2

Tel que mentionné précédemment, un virus doit remplir certains critères pour être appelé un coronavirus. Les membres de la famille des Coronaviridae sont relativement grands, enveloppés et monobrinés (virus à ARN). En fait, ils sont les plus grands virus à ARN connus avec les tailles de virion de 118 à 136 nm de diamètre et de génome de 25 à 32 kilobases (kbp) de longueur. Les virions sont de forme sphérique et sont caractérisés par des pointes relativement importantes qui émergent de l'enveloppe virale. On a isolé et signalé la morphologie du nouveau coronavirus chez une jeune femme de 35 ans. Pour l'identification, des monocouches de cellules de vero ont été inoculées avec les échantillons oropharyngés du patient. Les effets cytopathiques ont été corrigés avec 2 % de formaldéhyde et 2,5 % de glutaraldéhyde. Ces cellules fixes ont été sectionnées et observées sous un microscope électronique (**figure 6**)[24].

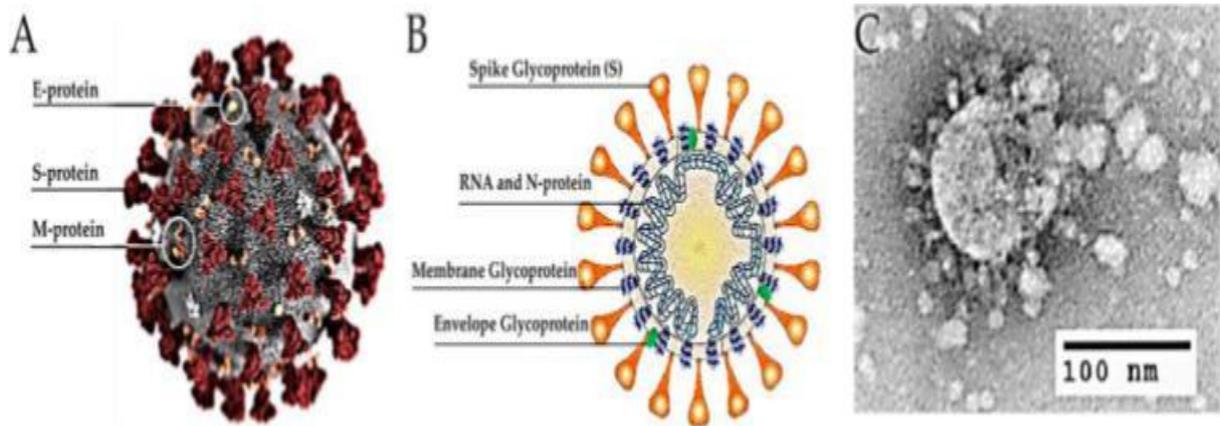


Figure 6 : Structure du SARS-CoV-2 : (A)-Illustration du virion SARS-CoV-2 créé aux CDC (USA) ;(B)-Représentation schématique de la structure du SARS-CoV-2 ;(C)-Image au microscope électronique d'une fine section de SRAS[24].

L'observation montre quatre protéines principales, appelées protéines structurales et d'autres protéines accessoires définissant la structure visible du nouveau coronavirus. Les protéines commençant de l'intérieur vers l'extérieur comprennent la protéine nucléocapside (N), la membrane (M) glycoprotéine, l'enveloppe (E), la glycoprotéine et l'épi (S) glycoprotéine (figure 7).

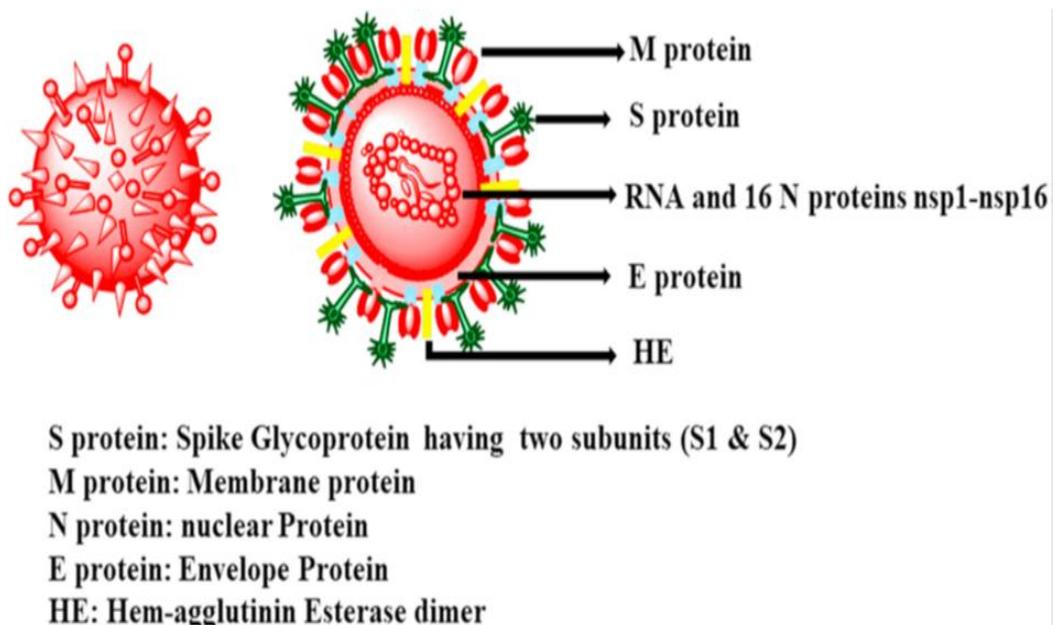


Figure 7 : Schéma d'un coronavirus [25].

4.3.4.2. Génome

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN caractérisés par une molécule d'ARN à brin positif simple, coiffé en 5' de 26 à 32 kb, et l'ARN comprend au moins six cadres de lecture ouverts (ORF). Le premier ORF (ORF1a / b) comprend environ 2/3 du génome et code pour des protéines de répliquase, et les ORF restants codent principalement pour quatre protéines structurales : pointe (S), membrane (M), enveloppe (E) et nucléocapside (N) [26](figure 8).

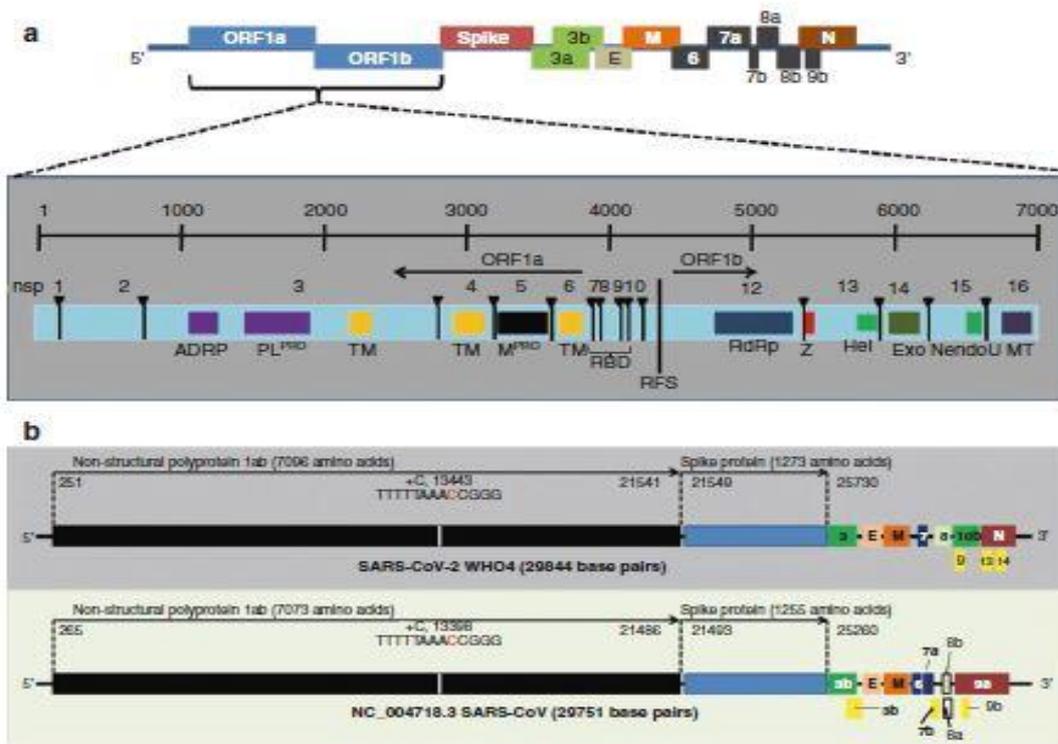


Figure 8 : Organisation du génome du SARS-CoV-2 [17].

La figure 8 montre l'organisation du génome (a) ainsi que la taille du génome qui peut varier de 26 à 32 kilobases (kbp) et contient de 6 à 11 cadres de lecture ouverts (ORFs) qui encodent 9680 acides aminés. Le premier ORF représente environ 67 % (près des deux tiers) du génome et code 16 protéines non structurales (nsp), tandis que les protéines accessoires et structurales sont codées par les autres ORF. Les fonctions des NSPS (b) Codage des régions du SARS-CoV-2 et du SARS-CoV. Seuls les ORF de plus de 100 nucléotides ont été présentés [26].

4.3.4.3. Déterminants structurels dans la pathogénicité du SARS-Cov2

Pour lutter contre la nouvelle pandémie, il est essentiel de bien comprendre les facteurs qui déterminent la pathogénicité du virus, notamment le mécanisme sous-jacent de reconnaissance des récepteurs, l'entrée des cellules et le traitement des protéines virales à l'intérieur des cellules [27].

a. Récepteur de virus

D'après l'analyse du génome viral du nouveau virus et la grande similitude avec le SARS-CoV, il est probable que le SARS-CoV-2 utilise l'ACE2 comme récepteur pour l'invasion cellulaire. D'autres preuves que l'ACE2 est le récepteur du SARS-CoV-2 sont fournies par le fait que les fibroblastes rénaux de bébé hamster transfectés avec l'ACE2 humain deviennent sensibles à l'infection SARSCoV-2[27]. L'enzyme ACE2 participe à l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone. ACE2 est une exo-peptidase qui catalyse la conversion de l'angiotensine I au nonapeptide Ang- ou la conversion de l'angiotensine II à l'heptapeptide Ang- . Des études antérieures ont démontré une corrélation positive entre le profil d'expression de l'ACE2 et l'infectiosité du CoV-SARS. De plus, certaines variantes de l'ACE2 interagissent avec les protéines S du SARS-CoV-2 ou NL635 ayant une affinité inférieure [27].

b. Spike de glycoprotéine (protéine S)

La glycoprotéine homo-trimérique (protéine S), qui dépasse de la surface virale, est le premier point d'ancrage du virus à la cellule hôte .La protéine SARS-COV-2 partage environ 77 de l'identité de séquence avec la protéine SARS-COV ,S et se lie au récepteur ACE2 humain pour l'entrée de virion dans les cellules hôtes,les sous-unités S1 et S2 ont deux rôles principaux dans l'interaction de la protéine avec la cellule hôte .Le S1 agit comme récepteur pour la liaison et le S2 est un S ancré à la membrane qui coordonne la fusion des membranes virales et des cellules hôtes . La sous-unité S1 a une paire de domaines structuraux bien définis, le RBD et le S-NTD. La structure pleine longueur de la protéine S et sa structure cristalline sont disponibles en Cryo-EM [28].

La structure RBD dispose d'un noyau en tôle b à cinq brins ($\beta 1-\beta 3-\beta 5-\beta 4-\beta 2$), flanqué de chaque côté d'une courte hélice. Respectivement. Une carte tridimensionnelle à l'échelle atomique du RBD du SARS-CoV-2 en complexe avec l'ACE2 humain montre que la RBD de la protéine CoV-2 S du SARS est plus compacte et lie l'ACE-2 humain quatre fois plus

fortement que la protéine SARS-CoV S. Cinq de ces six résidus diffèrent entre le SARS-CoV-2 et le SARS-CoV, ce qui explique l'affinité de liaison plus élevée de la protéine SARS-CoV-2 S pour l'ACE2 humain. Même si le SARS-CoV-2 RBD a une affinité de liaison plus élevée que le SARS-CoV RBD pour l'ACE2 humain, l'affinité de liaison de la protéine SARS-CoV-2 S entière pour l'ACE2 humain est inférieure ou comparable à celle de la protéine SARS-CoV S. La RBD de la protéine SARS-CoV S est principalement à l'état debout, mais elle est surtout à l'état couché dans le SARS-CoV-2 et n'est pas exposée et incapable de se lier à l'ACE2. Ainsi, bien que le SARS-CoV-2 RBD soit plus puissant, il est moins exposé que le SARS-CoV RBD et l'efficacité globale d'entrée du SARS-CoV-2 et du SARS-CoV est comparable [29].

c. Protéine nucléocapside (N)

La protéine nucléocapside est une protéine structurale importante qui emballe l'ARN viral dans la ribonucléocapside hélicoïdale et interagit avec les autres protéines structurales pendant l'assemblage des virions menant à l'encapsidation du génome. La protéine N est produite en grande quantité pendant l'infection et est hautement immunogène, donc une cible puissante pour le développement de vaccins. La protéine SARS-COV-2 N se compose de deux protéine hautement conservées domaines : le domaines de liaison ARN N-terminal (N-NTD) et domaine de dimérisation C-terminal (N-CTD). Dans l'ensemble, le N-NTD a un pli à droite, où l'épingle à cheveux β et le noyau de la feuille β rappellent respectivement le doigt et la paume et sont enrichis en résidus d'acides aminés de base et aromatiques. Les résidus chargés positivement des régions de la paume et des doigts saisissent l'épine dorsale chargée négativement de l'ARNss, tandis que les résidus aromatiques de la région de la paume fournissent une interaction d'empilage de base supplémentaire [30].

Dans l'IBV, il a été démontré que les régions N- et C-terminales, et non la région centrale, interagissent avec le 3-UTR spécifique de l'ARNg viral. Les résidus N-terminaux sont essentiels mais pas suffisants pour se lier à l'ARN. Ce qui suggère que les résidus conservés R76 et K78 soient impliqués dans les interactions électrostatiques, et que les résidus Y92 et Y94 s'empilent contre les bases d'ARN. Les résidus dans cette région peuvent être ciblés pour la stratégie de conception de médicaments [31].

Dans l'une des structures cristallines à haute résolution, le N-NTD de l'IBV forme un dimère très stable avec des sous-unités monomères imbriquées disposées de la tête à la queue

s'étendant dans une structure en fibrille avec la région de la paume, riches en résidus de base, exposés à la surface [31].

d. Protéines de la membrane(M) et de l'enveloppe(E)

Les coronavirus s'assemblent/bourgeonnent aux lumens de l'ERGIC et sont libérés par exocytose. Les protéines structurales, M, E et S, possèdent les séquences de signaux de trafic et s'accumulent dans l'ER. L'incorporation efficace de ces protéines et du complexe ribonucléoprotéique est essentielle pour la maturation et le bourgeonnement de nouvelles particules de virion. Les protéines M et E jouent un rôle majeur dans la régulation de l'assemblage du virion. Les deux protéines sont conservées dans les β -coronavirus et partagent plus de 90 % d'identité séquentielle avec leurs homologues du SARS-CoV[32].

La protéine SARS-CoV-2-M est une glycoprotéine longue transmembranaire de type III de 222 acides aminés et est la protéine structurale la plus abondante. La protéine M interagit avec elle-même ainsi que d'autres protéines structurales, S, E et N. Son interaction avec les protéines E et N passe par l'endo-domaine C-terminal. Les résidus L218 et L219 de la protéine SARS-CoV-2-M sont nécessaires pour l'emballage de la nucléocapside. La protéine SARS-CoV-2-M peut être un immunogène potentiel dans les applications thérapeutiques [28].

La structure récente de la RMN du TMD de la protéine SARS-CoV-2 E présentait un faisceau d'hélice pentamérique entourant un pore central hydrophile cationique étroit, semblable aux viroporines. Les quatre derniers acides aminés de la protéine E sont impliqués dans son interaction avec les protéines associées à la jonction de l'hôte qui peuvent faciliter la diffusion virale [33].

4.3.5. Cycle de vie et réplication du SRAS-CoV-2

En tant que micro-organisme intracellulaire obligatoire, le coronavirus exploite la machinerie de la cellule hôte pour sa propre réplication et sa propagation (**figure 9**).

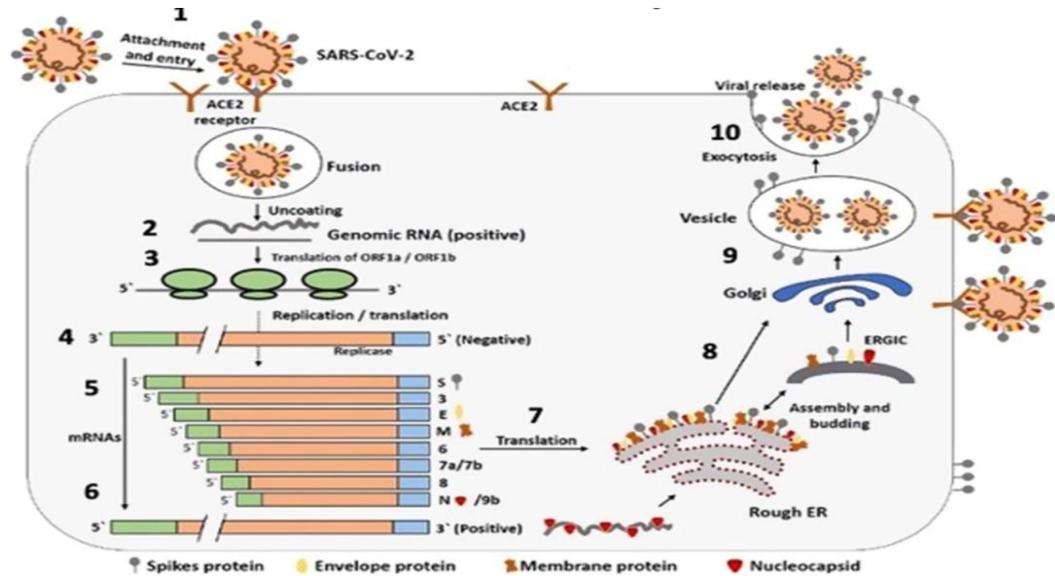


Figure 9: Cycle de vie du SRAS-CoV-2 [33].

Le cycle de vie du nouveau coronavirus (SARS-CoV-2) (**figure 9**), commence lorsque sa protéine de pointe se fixe à un récepteur ACE2 sur une membrane cellulaire (1) et pénètre dans la paroi cellulaire où elle réplique un ARN génomique (2_4), puis produit « subgénomique Les ARN (5_6) synthétisent diverses protéines de pointe par traduction (7) et le nouvel ARN génomique devient le génome d'une nouvelle particule virale (8). Cela se combine avec le brin d'ARN génomique, fusionne dans l'appareil de réticulum endoplasmique-Golgi en une particule virale complète dans une vésicule (9), et les nouvelles particules virales sont libérées (exocytose) dans la région extracellulaire (10) [34].

La pathogénèse et le cycle de vie du SARS-CoV-2 comprend un complexe de transferts génomiques d'ARN et de régénérations pour produire la prolifération du virus. Le processus extracellulaire et intracellulaire (cytoplasme de l'hôte) impliqué est illustré sur la figure 9 et tracé à travers les étapes suivantes:

- Lorsque la protéine de pointe du SARS-CoV-2 se lie au récepteur ACE-2 de la cellule hôte, le virus pénètre dans la cellule;
- Ensuite, l'enveloppe grasseuse du virus est décollée, ce qui libère l'ARN génomique viral dans le cytoplasme;

- Les ARN ORF1a et ORF1b (gènes) sont produits par l'ARN génomique, puis traduits en protéines pp1a et pp1ab, respectivement;
- Les protéines pp1a et pp1ab sont clivées par protéase (protéolyse) pour un total de 16 protéines non structurales;
- Certaines des protéines non structurales forment un complexe de réplication / transcription (dépendant de l'ARN polymérase, RdRp), qui utilise l'ARN génomique du brin (+) comme matrice;
- L'ARN génomique du brin (+) produit par le processus de réplication devient le génome d'une nouvelle particule virale;
- Les ARN sous-génomiques produits par la transcription sont traduits en protéines (S: protéine de pointe, E: protéine d'enveloppe, M: protéine de membrane, et N: protéine de nucléocapside) qui forment une particule virale;
- Les protéines de pointe, d'enveloppe et de membrane pénètrent dans le réticulum endoplasmique et la protéine de nucléocapside est combinée avec l'ARN génomique du brin (+) pour devenir un complexe nucléoprotéique;
- Ce complexe se fond dans la particule virale complète dans le réticulum endoplasmique [35].

Chapitre II : QUERCÉTIN

1. Introduction

La quercétine, un flavonoïde présent dans les fruits et légumes, possède des propriétés biologiques uniques qui améliorent le rendement mental et physique et réduisent le risque d'infection. La base des avantages potentiels pour la santé globale et la résistance aux maladies y compris anti-cancérigènes, les activités anti-inflammatoires, antivirales, antioxydantes et psychostimulantes, ainsi que la capacité d'inhiber la peroxydation lipidique, l'agrégation plaquettaire et la perméabilité capillaire, de stimuler la biogenèse mitochondriale. Par conséquent, il est intéressant de mener des essais cliniques bien conçus pour évaluer ce complément alimentaire. Cette étude examine les effets de la quercétine sur les récepteurs membranaires du SARS-CoV-2 [36].

2. Structure de la quercétine

Chez les plantes, la quercétine est produite à partir du phénylpropanoïde voie et est finalement dérivée de la phénylalanine. Il est converti en 4-coumaroyl-CoA, via l'ammonialysate de phénylalanine, à la cinnamate-4-hydroxylase et à la 4-coumaroyl-CoA-ligase. Ceci est combiné avec le malonyl-CoA dans un rapport 1: 3 par 7,2'-dihydroxy-4'méthoxyisoflavanol synthase pour former tétrahydroxychalcone. Celui-ci est à son tour converti en naringénine et en ériodyctiol par le flavonoïde 3'-hydroxylase. Enfin, l'ériodyctiol est hydroxylé et converti en quercétine (**Figure 10**) en utilisant flavanolsynthase [36].

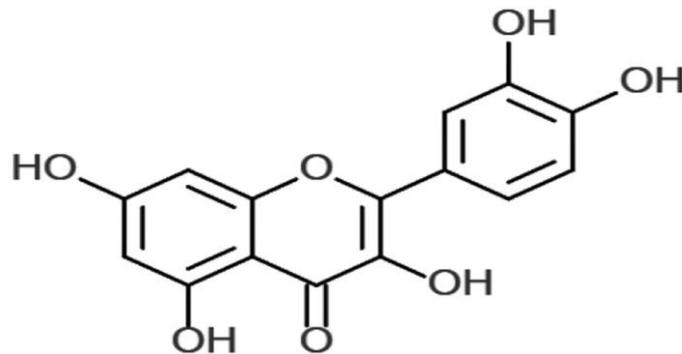


Figure 10 : Structure chimique de la quercétine [37].

3. Propriétés physicochimiques de la quercétine

La quercétine est classée comme un flavonol, l'une des six sous-classes de composés flavonoïdes. A été utilisée depuis 1857, et est dérivé de quercetum (forêt de chênes), après Quercus. C'est un naturellement inhibiteur du transport de l'auxine polaire. L'Union internationale de chimie pure et appliquée la nomenclature de la quercétine (IUPAC) est 3, 31, 41, 5,7-pentahydroxyflvanone (ou son synonyme 3, 31, 41, 5,7-pentahydroxy-2 phénylchromène-4 one). Cela signifie que la quercétine a un groupe OH positions 3, 5, 7, 31 (figure 11) [38].

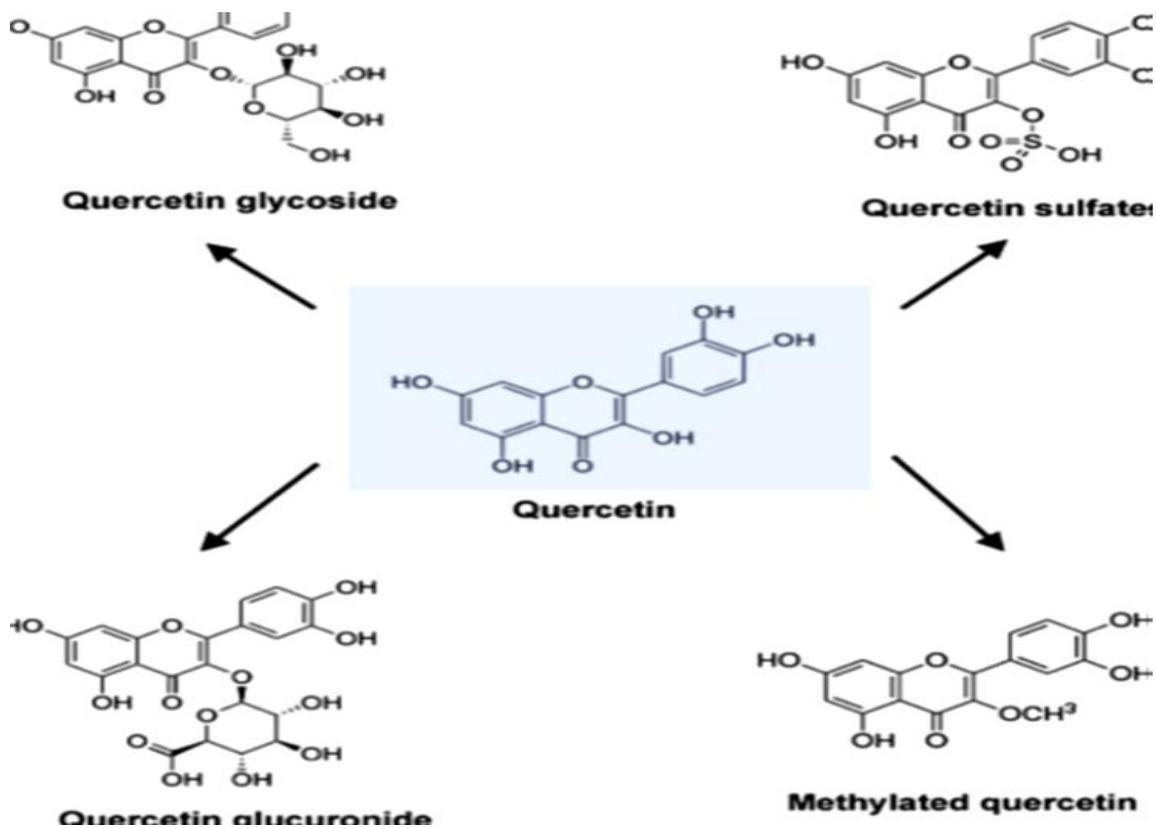


Figure 11 : Structure moléculaire de la quercétine, du glycoside de quercétine, du glucuronide de quercétine, du sulfate de quercétine et de la quercétine méthylée [39].

La Quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$) est un aglycone, manquant un sucre attaché. C'est un jaune de citron brillant cristal d'aiguille et entièrement insoluble dans l'eau froide, peu soluble dans l'eau chaude, mais tout à fait soluble dans l'alcool et les lipides.

Un glycoside de quercétine est formé en attachant un groupe glycosyle (un sucre comme glucose, rhamnose ou rutinose) en remplacement de l'un des groupes OH (généralement à la position 3). Le groupe glycosyl ci-joint peut modifier la solubilité [39].

4. Sources alimentaires de quercétine

Les flavonols de type quercétine sont largement distribués dans les plantes. On les trouve dans une variété d'aliments, notamment les pommes, les baies, les légumes Brassica, les câpres, les raisins, les oignons, les échalotes, le thé et les tomates, ainsi que dans de nombreuses graines, noix, fleurs, écorces et feuilles. La quercétine se trouve également dans les plantes médicinales, notamment le Ginkgo biloba, Hypericum perforatum et Sambucus canadensis [40].

Dans les oignons rouges, des concentrations plus élevées de quercétine se produisent dans les anneaux les plus externes et dans la partie la plus proche de la racine, cette dernière étant la partie de la plante avec la concentration la plus élevée. Une étude a révélé que les tomates cultivées biologiquement avaient 79 % plus de quercétine que les fruits cultivés chimiquement. La quercétine est présente dans divers types de miel provenant de différentes sources végétales. Les sources alimentaires de quercétine comprennent les légumes, les fruits, les baies, les noix, les boissons et d'autres produits d'origine végétale. Dans la région de Suihua au nord de la Chine, l'apport en quercétine était de 4,37 mg/jour, où les principales sources alimentaires de flavonol étaient les pommes, suivies des pommes de terre, de la laitue et des oranges, alors que l'apport moyen en quercétine était de 4,43 mg/jour, avec la pomme, la pomme de terre, le céleri, l'aubergine et l'actinidia étant les principales sources alimentaires de quercétine à Harbin, en Chine [41].

La quercétine était principalement ingérée à partir d'oignons et de thé vert, aussi bien en été qu'en hiver. Les légumes, comme les asperges, le poivron vert, les tomates et la laitue frisée rouge, étaient de bonnes sources de quercétine en été. En Australie, les thés noirs et verts étaient les sources dominantes de quercétine. D'autres sources comprenaient l'oignon, le brocoli, la pomme, le raisin et les haricots [42].

5. Absorption, biodisponibilité et métabolisme de la quercétine

La première étude sur la pharmacocinétique de la quercétine chez les humains a révélé une très faible biodisponibilité orale après une seule dose orale. L'absorption estimée du glycoside

de quercétine, la forme naturelle de la quercétine, varie de 3 % à 17 % chez les individus sains recevant 100 mg [43].

5.1. Absorption

Les glycosides de quercétine peuvent être absorbés différemment selon le type de sucre attaché. Les données disponibles indiquent que les glucosides de quercétine sont beaucoup mieux absorbés que leurs rutinosides. Parmi les dérivés de la quercétine, les formes conjuguées de ses glycosides sont mieux absorbées que la quercétine. Les glucosides de quercétine purifiés sont capables d'interagir avec les récepteurs de transport du glucose dépendants du sodium dans l'épithélium muqueux et peuvent donc être absorbés par l'intestin grêle in vivo [43-44].

5.2. Transformation et transport

Les métabolites de la quercétine analysés dans des échantillons de plasma et de foie ont montré que les concentrations de ses dérivés dans le foie étaient inférieures à celles dans le plasma et que les métabolites hépatiques étaient fortement méthyles. Des études limitées suggèrent que la quercétine ait été méthylée, vulcanisée et glucuronidée dans le foie. L'apport continu de nourriture contenant de la quercétine s'est accumulé dans le sang et a augmenté de façon significative la concentration de quercétine dans le plasma, ce qui était significativement corrélé à son contenu alimentaire. La quercétine est présente sous forme conjuguée dans le sang humain dont la forme principale est le glycoside [45].

Alors que l'isorhamnétine et les dérivés sulfatés de l'acide glucoside de la quercétine représentent 91,5 % de ses métabolites, les autres métabolites comprennent son glucuronoside et sa forme méthylée. Boulton a également constaté que la protéine plasmatique conjuguée à la quercétine diminuait ainsi sa biodisponibilité dans les cellules [46].

5.3. Excrétion

La recherche limitée suggère que la quercétine et ses métabolites ont tendance à s'accumuler dans les organes impliqués dans son métabolisme et son excrétion, et que peut-être les mitochondries pourraient être une zone de concentration de la quercétine dans les cellules. Les sujets humains peuvent absorber des quantités importantes de quercétine provenant d'aliments ou de suppléments, et l'élimination est assez lente, avec une demi-vie rapportée allant de 11 à 28 h. Une grande quantité de quercétine absorbée est largement métabolisée et finalement éliminée par les poumons [47].

6. Effet de la quercétine sur l'inflammation et la fonction immunitaire

6.1. In Vitro

6.1.1. Anti-inflammation et promotion de l'immunité

La quercétine a été signalée comme une substance anti-inflammatoire de longue durée qui possède une forte capacité anti-inflammatoire. Elle possède un potentiel anti-inflammatoire qui peut être exprimé sur différents types de cellules, à la fois dans les modèles animaux et humains. Elle est connue stabilisateur des mastocytes et activité cytoprotectrice gastro-intestinale. Elle peut également jouer un rôle modulateur, une action biphasique et réglementaire sur l'inflammation et l'immunité. En outre, la quercétine a un effet immunosuppresseur sur la fonction des cellules dendritiques [48].

6.1.2. Mécanisme d'action

Plusieurs études in vitro utilisant différentes lignées cellulaires ont montré que la quercétine inhibe la production de facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) induite par le lipopolysaccharide (LPS) dans les macrophages et la production d'IL-8 induite par le LPS dans les cellules du poumon A549. De plus, dans les cellules gliales, il a été démontré que la quercétine pouvait inhiber les niveaux d'ARNm induits par le LPS de TNF- α et d'interleukine (IL)-1 α , cet effet de la quercétine a entraîné une diminution apoptotique neuronale induite par microglial [49].

Quercétine inhibe la production de enzymes produisant l'inflammation (cyclooxygénase (COX) et lipoxigénase (LOX)) [50-51]. Elle limite l'inflammation induite par le LPS par inhibition de Phosphatidylinositol-3-kinase à médiation Src et Syk-phosphatidylinositol-3-kinase à médiation (PI3K)-(p85) tyrosine phosphorylation et la formation subséquente du récepteur de type Toll 4 (TLR4)/MyD88/PI3K qui limite l'activation de voies de signalisation en aval dans les cellules RAW 264,7. Elle peut également inhiber la libération à médiation Fc ϵ R1 des cytokines pro-inflammatoires, de la tryptase et de l'histamine dérivée du sang du cordon ombilical humain mastocytes cultivés (hCBMCs); cette inhibition semble également entraîner une inhibition de l'afflux de calcium comme phospho-protéine kinase C (PKC). L'étude de la quercétine contre l'inflammation induite par le H₂O₂ montre les effets protecteurs de la quercétine contre l'inflammation dans la veine ombilicale endothéliale humaine cellules (HUVECs) et a indiqué que l'effet a été transmis par la régulation des cellules vasculaires la molécule d'adhérence 1 (VCAM-1) et l'expression CD80 [52].

La quercétine induit significativement l'expression du gène ainsi que la production de Th-1 dérivé interféron- γ (IFN- γ) et l'interleukine dérivée du Th-2 (IL-4) régulée par le sang périphérique normal cellules mononucléaires (PBMC). En outre, le traitement avec de la quercétine a augmenté l'expression phénotypique de Cellules IFN- γ et cellules positives IL-4 diminuées par analyse de cytométrie de flux, qui corroborent avec la protéine étudiée sur la sécrétion et l'expression génique. Ces résultats suggèrent que les effets de la quercétine peuvent être transmis par l'induction de la cytokine dérivée du Th1, IFN- γ , et l'inhibition de la cytokine dérivée du Th-2, IL-4 [53].

La quercétine est capable d'inhiber les métalloprotéines matricielles, qui sont normalement inhibées par le plasminogène Activatorinhibitor 1 (PAI-1) in humandermafibroblasts. IL-1-stimulated IL-6 production from les mastocytes humains sont régulés par des voies biochimiques distinctes de la dégranulation induite par les IgE, la quercétine peut bloquer à la fois la sécrétion d'IL-6 et deux étapes de transduction de signal clé. On sait que la quercétine possède à la fois une activité de stabilisation des mastocytes et une activité cytoprotectrice gastro-intestinale. Une étude démontre que la molécule a un effet régulateur direct sur les propriétés fonctionnelles de base du système immunitaire des cellules qui peuvent être médiées par la kinase régulée extracellulaire 2 (Erk2), des protéines activées par mitogène(MAP) kinase voie de signal dans les lymphocytes PBMC activés par mitogènes humains et les lymphocytes T purifiésLa propriété s'avère inhibitrice à une panoplie énorme de cibles moléculaires dans la concentration micromolaire [54].

La quercétine a montré un comportement biphasique chez les basophiles à des doses nanomolaires et donc son action sur les cellules impliquées dans l'inflammation allergique. La quercétine affecte l'immunité et l'inflammation en agissantprincipalement sur les leucocytes, en ciblant de nombreuses kinases de signalisation intracellulaires et phosphatases, les enzymes et les protéines membranaires sont souvent cruciales pour une fonction des cibles intracellulaires et le nombre élevé de composés naturels potentiellement efficaces agents thérapeutiques anti-inflammatoires, demande des informations et des preuves supplémentaires pour comprendre la rôle de ces substances dans la biologie cellulaire animal. Le traitement in vitro des lymphocytes T activés avec des blocs de quercétine induits par la tyrosine phosphorylation IL-12 de JAK2, TYK2, STAT3 et STAT4, entraîne une diminution de la prolifération des lymphocytes T induite par l'IL-12 et Th1 différenciation [55].

6.2. In Vivo

6.2.1. Modèles animaux

La quercétine exerce une activité inflammatoire et immunomodulatrice dans plusieurs modèles murins d'auto-immunité. In vivo, les expériences animales soutiennent également un effet anti-inflammatoire. La quercétine améliore la réponse inflammatoire induite par la carraghénane et un régime riche en gras. La quercétine réduit la production de TNF- α et d'oxyde nitrique dans les tissus adipeux viscéraux et la synthèse d'oxyde nitrique abaissée. Dans l'arthrite chronique induite par un adjuvant chez le rat, la quercétine diminue les signes cliniques de l'arthrite comparativement aux témoins non traités. Chez le rat, l'administration de la quercétine après un traumatisme améliore la récupération de la fonction motrice après un traumatisme aigu dû à une lésion médullaire traumatique [56].

Des doses intrapéritonéales (IP) de 5 à 100 micromoles de quercétine/kg de poids corporel ont entraîné la marche de la moitié ou plus des animaux, bien qu'avec un déficit. Le rétablissement après une lésion de la moelle épinière semble dépendre fortement de la dose et de la fréquence des doses. Dans cette étude, une dose IP plus faible était inefficace. Dans une autre étude, comparativement à un témoin non traité, un groupe d'animaux (dont aucun n'a récupéré la fonction motrice suffisante pour marcher), suite à l'administration de la quercétine deux fois par jour pendant trois à dix jours, environ 50 % des animaux ont récupéré suffisamment de leur fonction de marcher. Cependant, lorsque la quercétine a été injectée trois fois par jour, aucun des neuf animaux n'a récupéré la capacité de marcher [57].

6.2.2. Mécanisme d'action chez l'animal

Une étude a montré que la quercétine exerçait un effet protecteur contre l'inflammation induite par l'irradiation. Cette molécule possède une activité contre l'isoprotérénol induite par la sécrétion de cytokines, la lésion oxydative myocardique et déficience de la fonction immunitaire, et son mécanisme d'action pharmacologique était lié au moins en partie à l'activité antioxydante de la quercétine. Cette dernière a diminué les signes histologiques d'inflammation aiguë chez les animaux traités dans une dose dépendante par la suppression du recrutement de leucocytes, la diminution des niveaux de chimiokine et les niveaux de malondialdéhyde du produit final de la peroxydation lipidique et l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes dans le modèle expérimental de rat maquette [58].

La quercétine a amélioré l'encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE) en bloquant la signalisation de l'IL-12 et Th1 différenciation et myocardite auto-immune expérimentale

(EAM) chez des rats Agouti foncés en interférant avec la production de pro-inflammatoires (TNF- α et IL-17) et/ou anti-inflammatoires (IL-10) cytokines. La quercétine supprime très probablement universellement l'accumulation et l'activation des cellules immunitaires, y compris les cellules anti-inflammatoires, alors qu'elle a spécifiquement augmenté l'expression des gènes associée à la phosphorylation oxydative mitochondriale chez des souris obèses sous régime alimentaire occidentale. La suppression du stress oxydatif et de l'activité NF- κ B a probablement contribué à la prévention de l'accumulation et de l'activation des cellules immunitaires et de l'inflammation chronique de l'épididyme du tissu adipeux chez les souris obèses sous régime alimentaire occidentale [59].

7. Pleins feux sur le SARS-Cove 2

La quercétine a été étudiée pour son effet antiviral possible sur plusieurs membres de la famille des Coronaviridae et, comme l'ont mentionné Ling Yi et ses collègues, « la quercétine est très prometteuse en tant que médicament potentiel dans le traitement clinique du SARS ». Le SARS Coronavirus, décrit en 2003, est un virus à ARN simple brin d'environ 29 700 nucléotides, qui utilise des sites de ribosomes pour coder deux glycoprotéines de réplicase, PP1a et PP1b, qui interviennent dans la réplication virale. Une fois cette glycoprotéine précurseur synthétisée, la protéase de type 3C (3CLpro) joue un rôle essentiel dans la libération lytique de ses réplicats. La quercétine-3b-galactoside se lie à la protéase SARS-Cov 3CL et inhibe son activité protéolytique avec une CI50 de $42,79 \pm 4,95 \mu\text{M}$. Cette action inhibitrice sur 3CLpro dépend de l'hydroxyle Groupe de quercétine qui, comme le montrent la modélisation moléculaire et la mutation Q189A, reconnaît Gln189 comme un site crucial sur 3CLpro responsable de la liaison de la quercétine [60].

La quercétine a également été identifiée comme un composé capable de bloquer l'entrée du SARS-Coronavirus dans les cellules Vero E6 avec une concentration semi-efficace (CE50) de $83,4 \mu\text{M}$ et avec une faible cytotoxicité (CC50 $3,32 \text{ mM}$). Le SARS-CoV-2, le virus responsable de la pandémie COVID-19 de 2020, appartient au genre Betacoronavirus et au sous-genre Sarbecovirus et, en raison de sa liaison aux récepteurs similaires domaines, il est supposé, de la même manière que le SARS-CoV, infecter les pneumocytes de type II entrant via le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II. La protéase 3CL du SARS-Cov-2 conserve le même site Gln189 du SARS-Cov 3CLpro, qui était auparavant identifié comme le site de liaison des groupes hydroxyle de la quercétine et de ses dérivés [61].

Fait intéressant, une étude *in vitro* du traitement à l'acide ascorbique sur des cellules d'organes trachéaux d'embryons de poulet (CETO) a favorisé la résistance à l'infection par le coronavirus mais n'a montré aucun effet sur l'orthomyxovirus ou le paramyxovirus [62].

Malgré l'étendue et la profondeur des études antivirales *in vitro* et *in vivo* sur les effets immunomodulateurs de l'administration de quercétine et de vitamine C, d'autres études sont absolument nécessaires pour confirmer les activités inhibitrices de la quercétine sur l'entrée du virus SARSCov-2, l'ARN polymérase et sur d'autres enzymes du cycle de vie viral [36].

8. Quercetin et docking moléculaire

Récemment, afin de trouver de nouveaux candidats exprimant une activité potentielle contre les cibles virales du SARS-CoV-2, un certain nombre d'études rapportant l'utilisation de la modélisation informatique à des fins de dépistage ont été publiées. Typiquement, ces modèles déterminent l'énergie libre de liaison entre un ligand et un récepteur [63].

Une énergie libre de liaison plus faible indique une interaction ligand-récepteur plus forte. Bien que l'obtention de résultats comparables via différentes approches de modélisation puisse être un défi, l'amarrage moléculaire informatisé permet de visualiser l'affinité de liaison relative de milliers de molécules pour les récepteurs viraux énumérés ci-dessus. En plus de la vitesse et de la polyvalence de cette méthode pour trouver rapidement un inhibiteur puissant du SARS-CoV-2, un autre avantage du criblage d'amarrage moléculaire est la réduction des coûts élevés associés au criblage physique de l'activité de grandes banques de substances naturelles. Les composés qui, grâce à cette méthode, démontrent une interaction significative avec les récepteurs viraux peuvent ensuite être transférés vers des tests cellulaires pour vérifier l'efficacité et la toxicité [64].

Les résultats de confirmation peuvent alors accélérer les tests sur les animaux et les essais cliniques. Récemment, le criblage virtuel de 83 composés couramment utilisés en médecine traditionnelle chinoise pour leur activité contre l'ARN polymérase ARN-dépendante du SARS-CoV-2 a identifié l'aflavine, un polyphénol antioxydant, comme un inhibiteur potentiel. De même, le criblage virtuel de 115 composés utilisés dans la médecine traditionnelle chinoise a mis en évidence 13 pour des études supplémentaires. Certains d'entre eux étaient des composés polyphénoliques naturels tels que la quercétine et le kaempférol, qui ont déjà fait l'objet d'une attention considérable pour le traitement d'autres types de maladies [65].

Il a été démontré que la quercétine inhibe l'entrée de SARS-CoV-1/2 à l'intérieur des cellules en interférant avec l'expression de l'ACE2. De plus, la quercétine initie la production d'IFN- γ par les lymphocytes T, ce qui améliore l'activité antivirale et la présentation des antigènes par phagocytose et l'expression des molécules MHC-I et MCH-II. la diminution de l'inflammation et de coagulation sanguine dans les poumons est obtenue par l'inhibition de la production d'IL-8 par la quercétine. Fait important, la quercétine inhibe également la production d'IL-4 et de TNF- α , ce qui aide à améliorer l'inflammation [66].

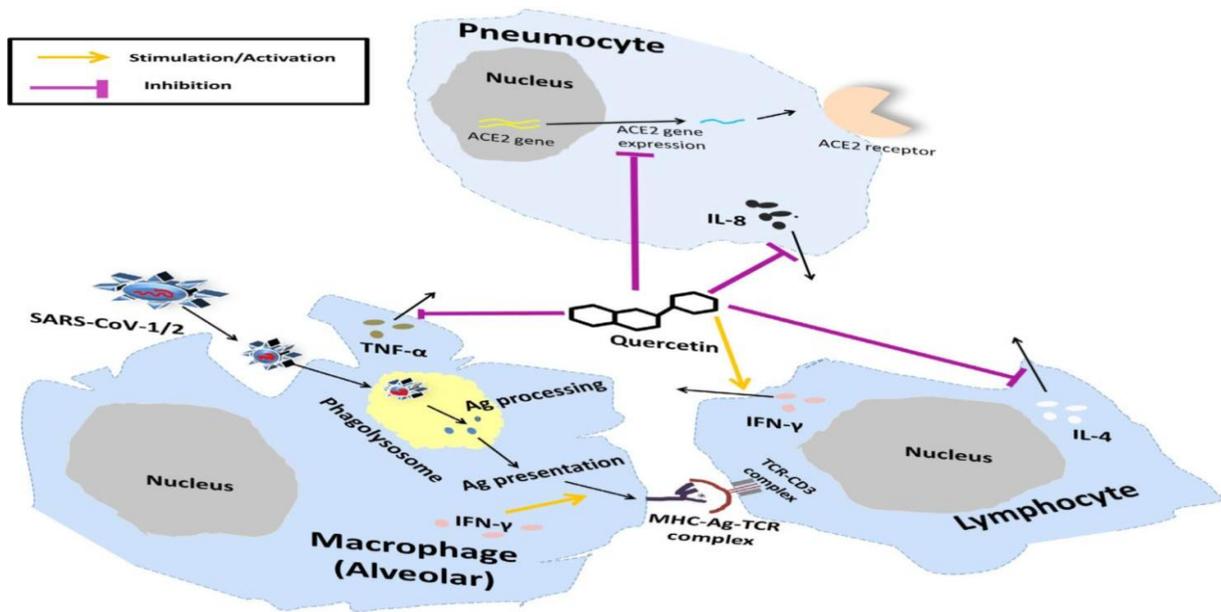


Figure 12 : représentations chimiques des effets anti-inflammatoires possibles de la quercétine contre le SARS-CoV-1/2 [67].

Chapitre III : Docking moléculaire

1. Le Docking moléculaire

1.1. Principe

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le Docking moléculaire connu aussi sous le nom « amarrage moléculaire » reste une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et par suite la conception de médicaments. Le docking moléculaire est un processus de simulation qui prédit de la structure et la conformation d'un complexe moléculaire récepteur-ligand. Le récepteur macromoléculaire étant généralement de nature protéique et le ligand est soit une petite molécule soit une autre protéine, il est également un outil important dans la conception de médicaments où on utilise une simulation assistée par ordinateur. Le Docking moléculaire a pour but de prédire la conformation et l'orientation d'un ligand au niveau de son site de fixation sur la protéine, ainsi que la détermination de son mode d'interaction avec les liaisons probables, énergétiquement, en prédisant son affinité à la liaison. Le processus de Docking moléculaire implique deux étapes fondamentales [68].

1.2. Docking et Scoring.

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 13**). Ces deux étapes sont respectivement liées aux méthodes d'échantillonnage [69].

- **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.

- **Le Scoring** (la deuxième) 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 proposées [69].

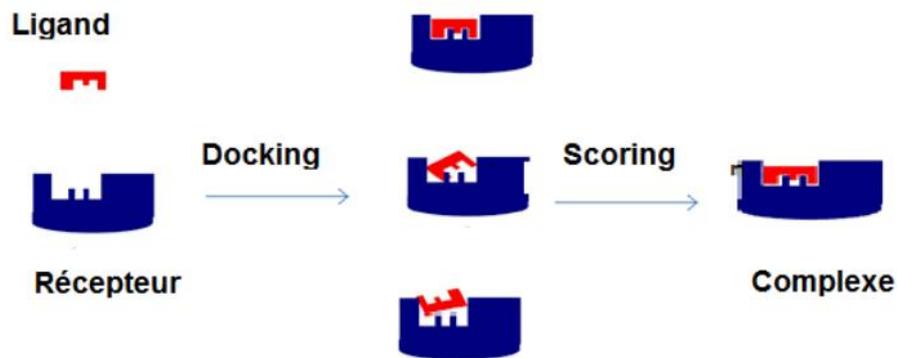


Figure 13: Principe général de Docking moléculaire [69].

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

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

2. Outils du docking moléculaire

Les logiciels de docking sont des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (protéine).

2.1. Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique [71].

En biologie, un ligand (du latin *ligandum*, liant) est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule cible, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel: stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique ou transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions. La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en trois dimensions (3D).

L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet de promouvoir ce changement de conformation, appelé ajustement induit. Cette modification structurale peut ainsi moduler, éventuellement, son état fonctionnel et son activité [70].

La structure des ligands est obtenue par deux moyens :

1. Consiste à utiliser des ligands du PDB ou de la littérature avec possibilité de les reproduire par dessin, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Titan ;
2. Consiste à utiliser des collections de molécules virtuelles commerciales, constituées de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimiques dont la plus utilisée est PubChem [71].

2.2. Récepteur

Le récepteur est une macromoléculaire, le plus souvent, une protéine; obtenus par structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la banque de données PDB. Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN) [72].

En 2018, la PDB a compté plus de 141616 structures de bio-macromolécules. Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension *pdb* lisibles par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ...etc. Certaines informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z, qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée, peuvent s'y trouver. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de reconstruire la structure 3D de la cible souhaitée [71].

2.3. Comparaison et superposition de molécules

L'activité biologique d'une molécule est souvent corrélée à sa capacité à interagir avec le site actif d'une enzyme ou bien encore au niveau d'un récepteur. Modéliser l'ensemble de l'interaction ligand-récepteur peut être relativement coûteux en temps de calcul. Parfois même si la structure 3D du récepteur n'est pas connue et n'est pas encore disponible dans la PDB, rendre cette étude quasiment impossible. Dans une première approximation on peut

superposer la structure 3D (préalablement optimisée) d'une molécule nouvelle avec une molécule biologiquement active et connue pour une pathologie donnée. On peut alors savoir si la nouvelle molécule a une chance d'être active et si elle a un mécanisme d'action similaire à la molécule de référence [73].

Le RMS est un indice standard pour « mesurer » la « qualité » de la superposition en déterminant les coordonnées de l'atome dans les molécules et les distances entre les atomes et les molécules. Au fur et à mesure que le RMS augmente on commence à voir apparaître des différences significatives entre les conformations les valeurs de RMS dépendent également de la taille des systèmes étudiés. On peut utiliser le RMS pour superposer des protéines et étudier les différences de structure 3D entre différentes isoformes, ou encore les différences de conformation induites par une mutation [69].

3. Algorithmes de Docking

Le problème posé dans un protocole d'amarrage est de maximum importance. Le succès d'un algorithme d'amarrage dans la prévision une pose ligamentaire est normalement mesurée en termes de l'écart quadratique moyen-carré (RMSD) entre positions des ligands à atomes lourds observées et celui(s) prédit par l'algorithme.

La recherche conformationnelle est un aspect central qui détermine l'efficacité de la recherche³. Dans un système biologique réel, le système inclurait : au moins le ligand, le récepteur macromoléculaire et la molécule de solvant. En raison du nombre énorme de degrés de liberté associés aux molécules de solvant qu'ils sont normalement exclus du problème, ou dans des cas spéciaux implicitement modélisé dans les fonctions de notation comme un moyen de l'effet du solvant. Cependant, même les une partie du système — le ligand et le récepteur — a un nombre impossible de degrés de liberté, et donc, la dimensionnalité du problème doit être réduit par l'application de différentes approximations, permettre à l'espace de recherche d'être plus efficace échantillonné. Il y a différents niveaux d'approximation. Le plus base est l'approximation corps rigide, très populaire dans

Approches précoces du problème d'amarrage (et encore très beaucoup appliqué dans le domaine de l'amarrage protéine-protéine) qui traite le ligand et le récepteur comme étant rigides et explore seulement les 6 degrés de translation et de rotation liberté, excluant ainsi toute forme de flexibilité. Une approche commune de nos jours est la modélisation de la flexibilité ligand en supposant un récepteur de protéines rigides, 3 seulement l'espace conformationnel du ligand. Idéalement, toutefois, la flexibilité des protéines doit également être prise en compte, et certaines approches à cet égard ont été élaborées [74].

4. Les programmes du docking

À l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM (tableau 2). Ils permettent notamment un des algorithmes spécifiques néétique, Recuit criblage rapide de vastes bibliothèques de composés [75].

Tableau2 : Adresses des principaux programmes de Docking moléculaire[69]

Nom	Editeur	SiteInternet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/ceirus2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

4.1. AutoDock

L'AutoDock : est un programme utilisé pour le docking protéine-ligand. Il s'agit d'un ensemble de procédures, dont le but de prédire l'interaction de petites molécules, telles que des médicaments candidats « ligand » ou des substrats à un récepteur dont la structure 3D est connue. Les distributions actuelles d'AutoDock se composent de deux générations de logiciels: AutoDock 4 et AutoDock Vina, AutoDock permet d'utiliser trois méthodes de recherche différentes [76,77]:

- (i) une méthode de recherche utilisant un algorithme génétique classique, où les chromosomes sont réellement des chaînes de caractères. Ces chromosomes sont composés dans l'ordre des trois coordonnées cartésiennes représentant la translation du ligand, suivies de quatre variables définissant un quaternion. Ce dernier qui est un ensemble mathématique qui définit la rotation du ligand dans l'espace donnant à la fin une valeur réelle pour chaque angle de torsion représentant chaque liaison du ligand.
- (ii) une deuxième méthode de recherche locale, basée sur un recuit simulé de type Monte Carlo, peut être ajoutée pour minimiser l'énergie;

(iii) une méthode mixte de recherche globale et locale, basé sur les principes génétiques énoncés par Jean Baptiste Lamarck au début du XXe siècle. Selon Lamarck, les caractéristiques acquises (phénotype) par un individu au cours de sa vie peuvent se transmettre à sa descendance (génotype), ce qui revient à dire que le phénotype d'un individu peut modifier son génotype. Dans le cadre du docking moléculaire, cette théorie de Lamarck peut être utilisée [77].

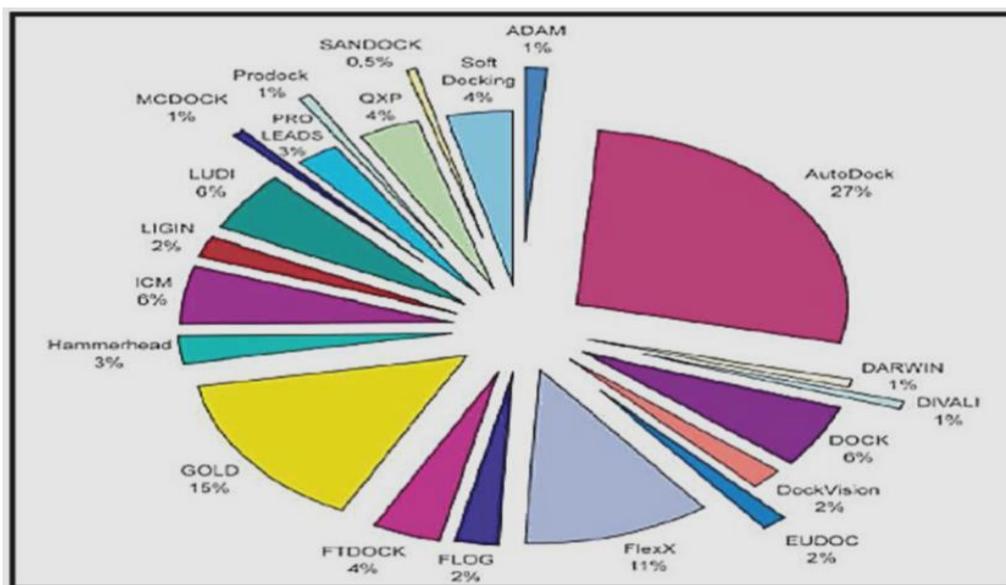


Figure 14 : Comparaison des programmes de Docking les plus cités [77].



Matériel et Méthodes

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

1. Matériel

L'objectif essentiel de ce travail est d'approcher la modélisation par docking moléculaire et étudier le mode d'interaction le plus probable de la nucléocapsid phosphoprotéine (N-NTD) du coronavirus responsable de COV 19 (noté COV dans la suite du texte) avec la quercétine. Pour ce faire le matériel mentionné ci-dessous a été utilisé

1.1. Microordinateur

Deux micro-ordinateurs ont été utilisés pour l'exécution et l'analyse des résultats obtenus, les caractéristiques de ces machines sont mentionnées sur le tableau 3.

Tableau 3 : Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques

	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2
Mémoire (RAM)	4.00 GO	4.00 GO
Type du système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 32 bits
Processeur	Intel(R) Core (TM) i5-4300 CPU @ 1.90 GHz, 2494 MHz	Intel(R) Core (TM) i5-4300 CPU @ 1.90 GHz, 2494 MHz
Système d'exploitation	Microsoft Windows 10 professionnel	Microsoft Windows 7 professionnel

1.2. Programmes

Les programmes utilisés pour réaliser la partie pratique sont :

- « **OpenBabel** » version 2.0.2 : permet la conversion d'un fichier contenant des données structurales d'un format à un autre (pdb, mol2, mol, sdf, smi....etc).
- « **AutoDock** » : non-commercial d'un programme d'amarrage d'un ligand à une protéine cible, outil précis et rapide). Dans cette étude l'outil qui a été utilisé est AutoDock 4.2/ADT.
- « **MGL Tools** » : La signification de MGL est Molecular Graphics Laboratory [79].
- « **Paymol** » : Système graphique moléculaire doté d'un puissant visualiseur moléculaire de capacité 3D.

1.3. Banques de données

a- « PDB » (Protein Data Bank)

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. [80]

b-« Pubchem »

Banque de données américaine des molécules chimiques, elle est gérée par NCBI (*le National Center for Biotechnology Information*). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux du ligand utilisé dans cette étude [81].

2. Méthodes

2.1. Préparation de la protéine

La cible thérapeutique étudiée dans ce travail est la protéine nucléocapside (N)ducovirus responsable de la COV, la structure de cette protéine a été obtenue de la banque de données « Protein Data Bank » (PDB).

La structure cristalline de la protéase principale du coronavirus responsable de la COV avec l'ARNss de 10ml comme inhibiteurs (7ACT), disponible dans la banque de données sur les protéines, a été utilisée comme récepteur. La structure tridimensionnelle de la protéine cible a été extraite du PDB en donnant l'ID du PDB dans la base de données. Les fichiers de la Banque de données sur les protéines (BDP) peuvent présenter divers problèmes qui doivent être corrigés avant d'être utilisés pour l'amarrage. Pour ce faire les inhibiteurs d'ARNssentier10mersont retirés de la molécule protéique.

2.2. Préparation de ligand

Les modèles bidimensionnels et tridimensionnels du ligand ont été obtenus à partir de la base de données Pub Chem sous format SDF, ce dernier a été converti au format pdb grâce à l'outil Open Babel.

Le ligand utilisé dans le cadre de cette étude est un antiviral de nature flavonoïde, il s'agit de la quercétine (**figure15**), molécule prometteuse, puisqu'elle affiche le plus haut taux d'arrimage à la protéine du coronavirus responsable de la COV.

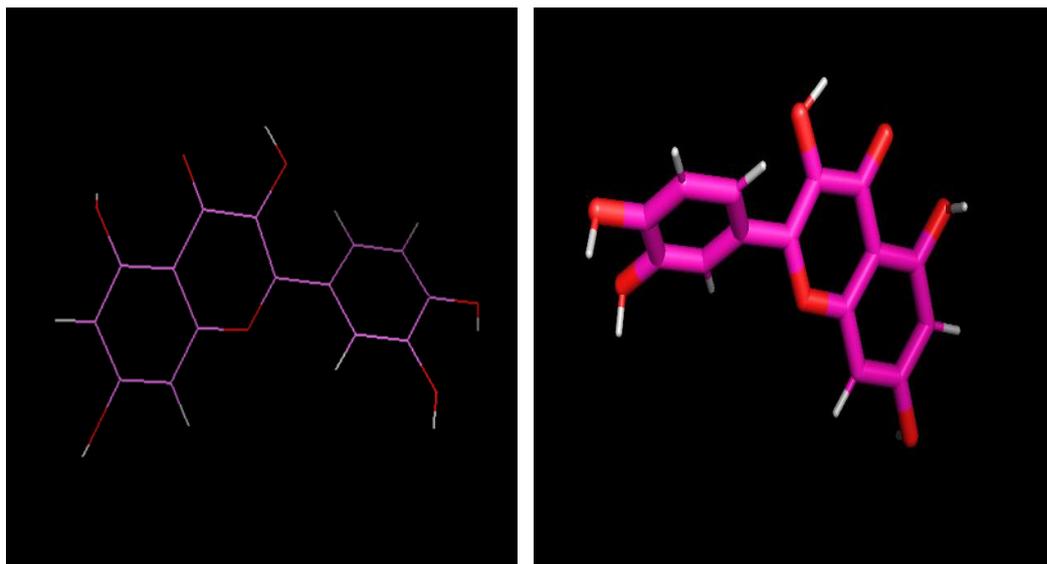


Figure 15 : représentation de ligand quercétine.

3. Règle de Lipinski

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. Dans ce contexte, « la règle de 5 » communément appelé « règle de **LIPINSKI** » permet de déterminer si un composé chimique ayant des propriétés médicamenteuses est susceptible d'être administré par voie orale chez les humains. Selon cette règle, un composé est capable d'être administré par voie orale s'il remplit au moins trois (3) critères des cinq (5) suivants :

- Un poids moléculaire maximum de 500g/mol.
- Un coefficient de partition (logP) ou une lipophile ≤ 5 .
- Le nombre de donneurs de liaisons Hydrogène un maximum de 5 (≤ 5).
- Le nombre d'accepteurs de liaisons Hydrogène Un maximum de 10 (≤ 10).
- nombre de fonctions rotatives (flexibles et linéaires) ≤ 15 [78].

•**LogP** est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau. Le $\text{LogP} = \text{Log}(C_{\text{oct}} / C_{\text{eau}})$, doit être compris entre -2 et 5. Cette valeur permet de déterminer le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. S'il est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement[82].

4. Docking Moléculaire

Les mécanismes et les interactions sous-jacents entre Quercetin et les protéines cibles liées au COV, peuvent être révélés et prédits par une stratégie d'amarrage.

L'amarrage moléculaire a été appliqué pour vérifier et tester comment la Quercétine (ligand) interagit avec les protéines cibles (récepteurs).

La structure cristalline 3D de Quercetin (CID:5280343) a été obtenue à partir du PubChemcellule des récepteurs de la protéase principale SARS-COV-2 a été retrouvée sur la banque de données (PDB).

Les ligands et les protéines ont été préparés et amarrés par les outils Autodock 4.2 (MolecularGraphicsLaboratory, ScrippsResearch Institute) et AutoDockTools 4.2. Les résultats ont permis d'avoir l'énergie de liaison (BE, plus l'énergie est négative, meilleur est la liaison du ligand.), la moyenne pondérée du score d'amarrage pour évaluer la fiabilité et décrire la précision du positionnement du ligand.

L'énergie de liaison de la quercétine aux protéines cibles est mentionnée plus loin dans le texte.

Les résultats de l'accrochage ont été analysés dans Paymol pour évaluer les interactions potentielles entre le ligand et les protéines cibles. Le programme a été exécuté en utilisant le système de Microsoft Window 10 selon le protocole mnéprécédemment.



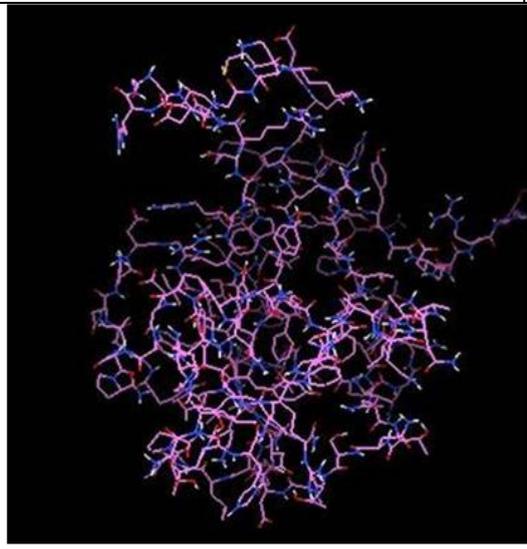
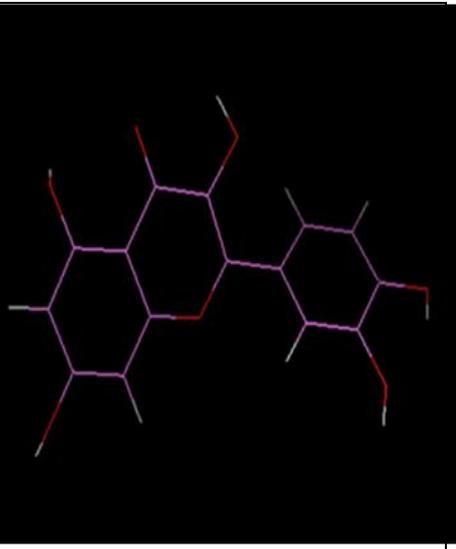
Résultats et Discussion

Chapitre VI : Résultats et Discussion

1. Résultats de docking moléculaire

L'étude de l'interaction entre les acides aminés de la protéine du COV et la quercétine à l'aide du logiciel Auto DockTools nécessite le téléchargement des structures nécessaires à partir des bases de données citées précédemment, la structure des deux molécules utilisées dans cette étude sont reportées sur le **tableau 4**.

Tableau 4. Structures de la protéine cible (a) et du ligand natif (b).

PDB ID	Macromolécule	Native Ligand
7ACT		

1.1. Test RMSD

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur. La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square dérivatif) de la position du ligand calculée par le logiciel par rapport au ligand de référence existant au niveau de la PDB. La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms. Le test de fiabilité du programme autodocktool par le RMSD, a été réalisé en utilisant 10 complexes protéines-ligands pris de manière arbitraire de la PDB. Les complexes sont téléchargés au format. Pdb (**annexe n°1**).

1.2. Étude des interactions

Les interactions entre les sites de protéine SARS-CoV2 et la quercétine sont calculées lors du docking moléculaire, les valeurs sont présentées dans le **tableau 5**.

Tableau 5: Valeurs de RMSD et charge de complexe protéine-inhibiteur.

Code PDB de complexe	Bindingenergy	RMSD (Å)
7ACT	-5,36	0.503

La quercétine est un ligand de la famille des flavonoïdes efficace. Ce qui signifie qu'il se lie aux glucides comme tous les flavonoïdes, aide à lutter contre le stress oxydatif en captant et en bloquant l'activité des radicaux libres, mais aussi en inhibant l'oxydation des lipides. C'est un antioxydant reconnu. Il répond à la règle de cinq de Lipinski où il est représenté par : MW: 302.23g/mol ClogP<5 :1.5 et No. de donneurs de liaisons H<5 : 5 et No. d'accepteur de liaisons H ≤ 10 : 7 , **la figure 16** montre également la forme du quercétine et ses liens avec (N-NTD) du coronavirus responsable de COV 19

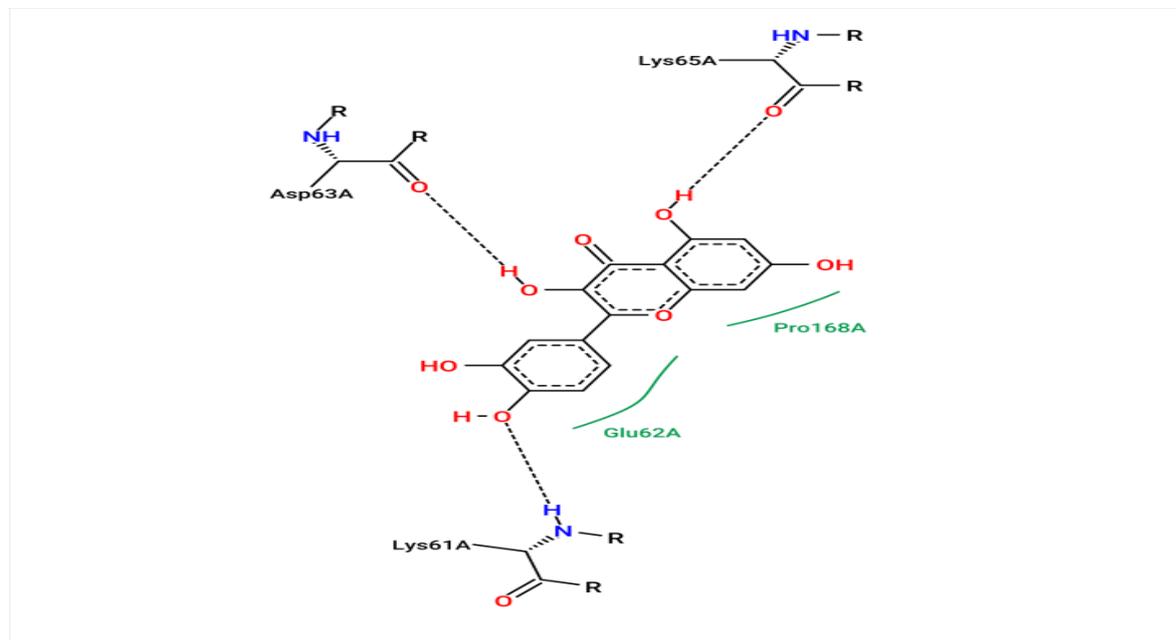


Figure 16 : Liaison entre le ligand et la protéine.

2. L'analyse visuelle

La visualisation de résultat du Docking moléculaire réalisée avec la quercétine comme ligand montre un bon positionnement de cet inhibiteur sur le site de fixation de la protéine du CoV. Le complexe formé est stabilisé au sein du virus par les forces de Van der Waals (VDW) et les liaisons hydrogènes établies entre l'inhibiteur et les acides aminés : GLY170, GLU62, ASP63, GLN58, PHE171, GLY60, PRO168, LEU64, LYS61 et LYS65 (figures 17 et 18).

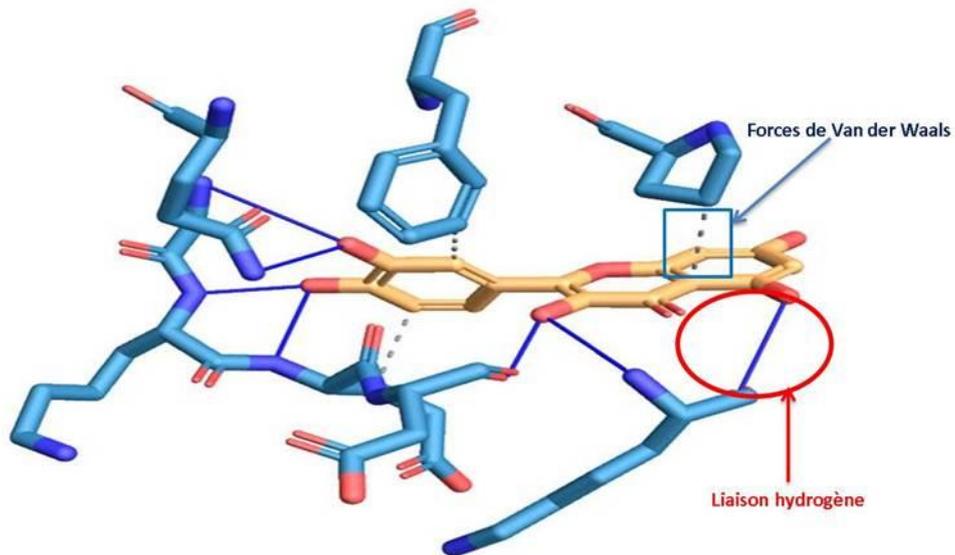


Figure 17 : Représentation des liaisons de Van Der Waals et des liaisons hydrogènes.

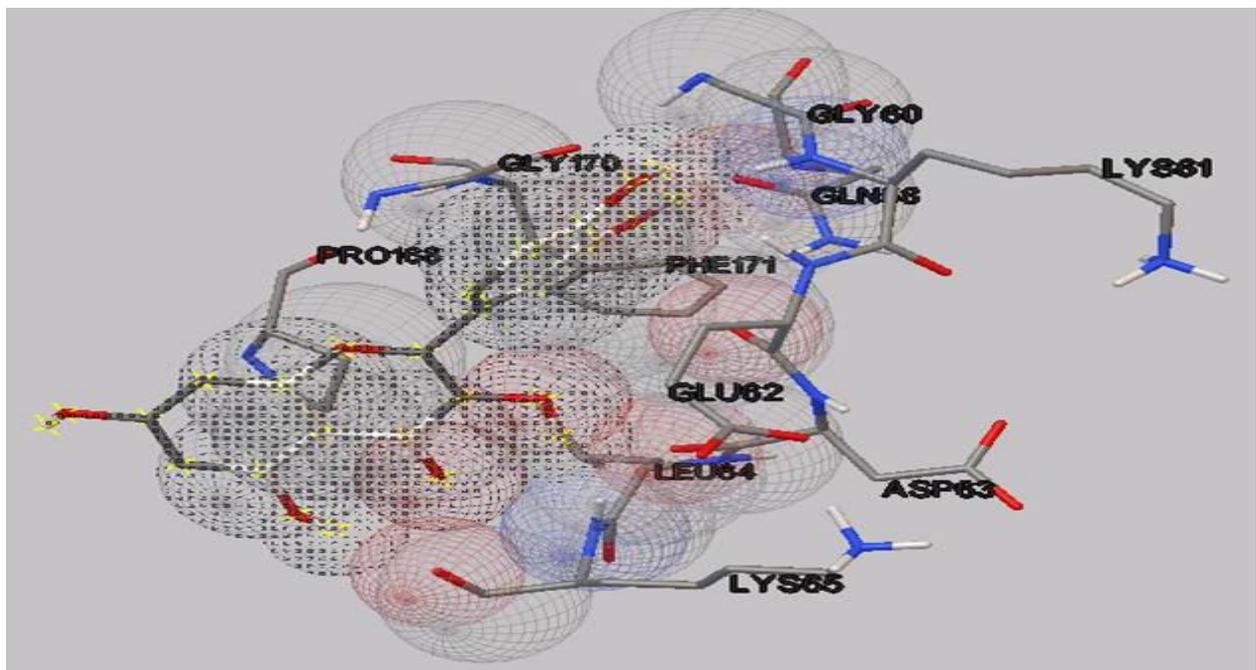


Figure 18 : Interactions entre le ligand quercétine et les acides aminés de 7ACT.

Le but principal de ce travail est la mise en évidence d'une éventuelle action inhibitrice exercée par la quercétine sur la protéine nucleocapsidephosphoprotein N-terminal du CoV. en utilisant le moyen de simulations bioinformatiques.

La **figure 19** laisse apparaître un complexe quercétine - protéine de CoV. où 10 sites potentiels d'association ont été obtenus, dont nous avons sélectionné le numéro 7 pour sa richesse en charges négatives avec une énergie d'interaction égale à $-5,36 \text{ kcal mol}^{-1}$, ceci représente la meilleure activité inhibitrice comparé aux autres (**figure 19**).

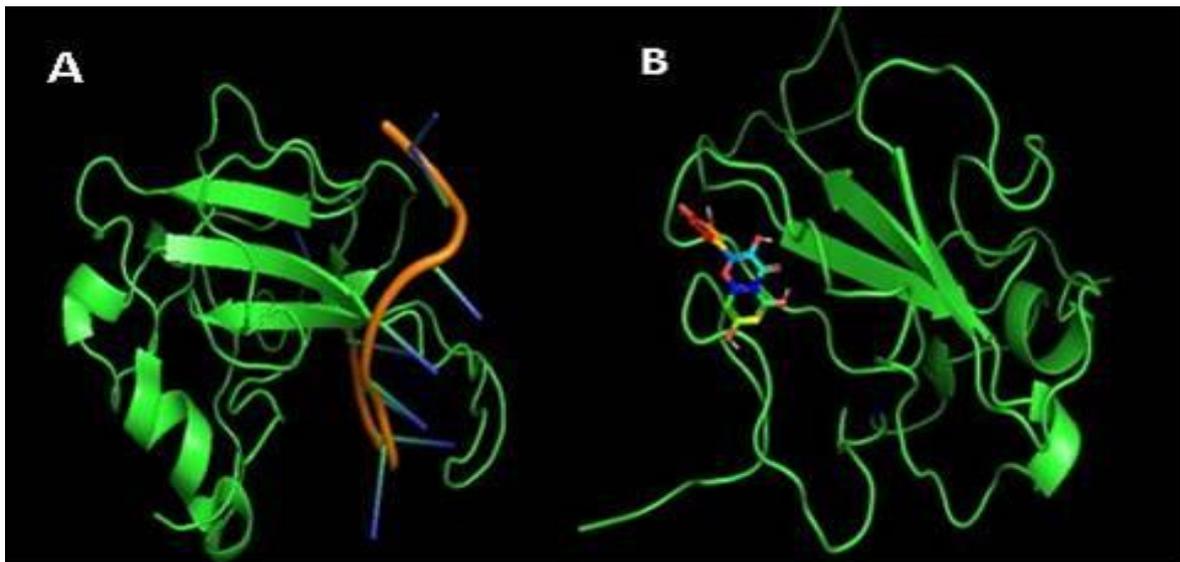


Figure 19 : Représentation la molécule, (A) : 7ACT ; (B) : complexe SARS-CoV-2_quercétine

Les interactions qui gouvernent la stabilité de complexe sont de type hydrophobe en plus de liaisons hydrogènes et des forces de Van der Waals remarquables à l'interface protéine-récepteur ACE2. **Hui et al.(2020)** dans une étude d'amarrage moléculaire in vitro pour analyser la probabilité d'amarrage moléculaire entre la quercétine et la protéase virale, ont remarqué que les protéases jouent un rôle essentiel dans la réplication virale, et plus précisément, 7ACT comme principale protéase (Mpro) trouvée dans le SARS-CoV-2.

Notre étude montre que la quercétine a établie des liaisons H interagissant avec les acides aminés dans le site actif du virus Mpro. Cette molécule est bien connue pour ses bénéfices de promotion de la santé ainsi que pour ses applications pharmacologiques et cliniques [83]. Malheureusement il a été impossible de comparer les résultats du docking moléculaire réalisé sur cette molécule à des travaux réalisés sur le Cov. Responsable de la COVID-19 par manque de recherche réalisées dans ce sens, mais il est à noter que plusieurs études sur

l'effet de la quercétine sur diverses maladies, notamment son rôle dans l'amélioration des troubles neurodégénératifs (Maladie d'Alzheimer (MA) ont été menées [83].

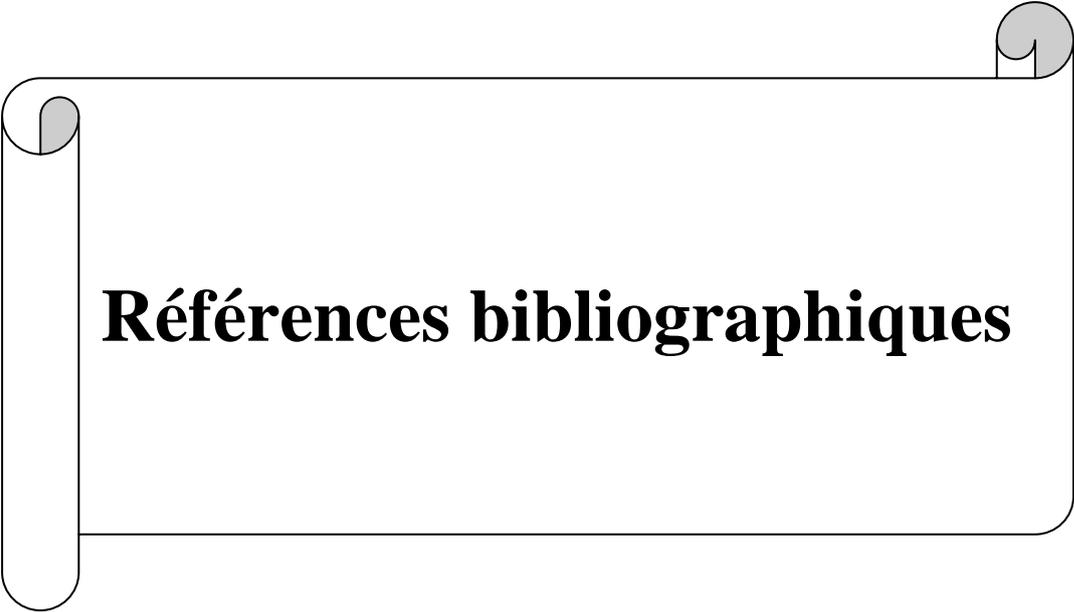
L'augmentation des concentrations plasmatiques de quercétine, n'a pas entraîné de symptômes indésirables et n'a eu aucun effet sur le nombre total de jours de maladie de l'IVRS [84]. D'autres études montrent que l'utilisation de la supplémentation en quercétine est particulièrement fructueuse chez les personnes souffrant d'une maladie qui est associée aux deux processus, tels que l'hypertension et la sarcoïdose [85].

De nombreuses tentatives ont été menées au cours des années successives pour comprendre le mécanisme de base de l'action de la quercétine dans la réduction des risques de maladies cardiovasculaires [86] ainsi que sa capacité à favoriser la perte de viabilité cellulaire, en particulier de sa capacité à cibler les voies moléculaires impliquées dans le métabolisme du glucose et la fonction mitochondriale [87].

Conclusion

La pandémie de COVID-19 est la plus récente des pandémies qui n'a pas encore été complètement résolue, en attendant qu'un vaccin efficace soit mis au point, les chercheurs du monde entier concentrent leurs efforts sur la sélection de traitements efficaces possibles, en gardant à l'esprit que le règne végétal a, depuis l'Antiquité, fourni aux structures chimiques des « médicaments ». Grâce à ce qui a été étudié et appliqué à la protéine du Cov. Ce travail a été élaboré dans le but de mener une simulation permettant de fournir des informations sur la possibilité ou non d'inhiber les protéines responsables de l'infection de la cellule cible par le coronavirus.

L'amarrage moléculaire effectué a permis de voir la capacité de la quercétine à se lier à la 7ACT principale protéase responsable du SARS-CoV-2. Principalement grâce à la liaison 7 riche en charges négatives possédant une énergie d'interaction égale à $-5,36 \text{ kcal mol}^{-1}$, ceci représente la meilleure activité inhibitrice comparé aux autres sites de liaisons visualisés sur le complexe.



Références bibliographiques

Références bibliographiques et webographiques

- [1]- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., ... Cao, B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. (2020).
Doi: 10.1016/s0140-6736(20)30183-5
- [2]-World health organization. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic : Les chiffres en un coup d'œil. (2021) <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
- [3]- Liu, Y., Gayle, A. A., Wilder-Smith, A., &Rocklöv, J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *Journal of Travel Medicine*. (2020).
doi: 10.1093/jtm/taaa021
- [4]- World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 71. World Health Organization, (2021) <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331684>.
- [5]- Ganesan, S., Faris, A. N., Comstock, A. T., Wang, Q., Nanua, S., Hershenson, M. B., &Sajjan, U. S. *Quercetin inhibits rhinovirus replication in vitro and in vivo*. *Antiviral Research*. (2012) 94(3), 258–271. doi:10.1016/j.antiviral.2012.03.005
- [6]- Kurkinen, S. T., Niinivehmas, S., Ahinko, M., Lätti, S., Pentikäinen, O. T., &Postila, P. A. Improving Docking Performance Using Negative Image-Based Rescoring. *Frontiers in Pharmacology*, (2018).9.doi: 10.3389/fphar.2018.00260
- [7]- Woods, R. D., & Wesley, R. D. Cultivation techniques for animal coronaviruses: Emphasis on feline infectious peritonitis virus, canine coronavirus, transmissible gastroenteritis virus, and porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus. *Journal of Tissue Culture Methods*. (1988). 11(2), 95–100. doi:10.1007/bf01404139.
- [8]- Terada, Y., Matsui, N., Noguchi, K., Kuwata, R., Shimoda, H., Soma, T., ... Maeda, K. Emergence of Pathogenic Coronaviruses in Cats by Homologous Recombination between Feline and Canine Coronaviruses. *PLoS ONE*, (2014).9(9), e106534. doi:10.1371/journal.pone.0106534

- [9]- Li, F. Receptor Recognition Mechanisms of Coronaviruses: a Decade of Structural Studies. *Journal of Virology*, (2014). 89(4), 1954–1964. doi:10.1128/jvi.02615-14
- [10]- Agrahari, R., Sonali. M ,Kanchan .V , Suraja Kumar. N, Deviprasad. S, Swati. M. Update vision on COVID-19: Structure, immune pathogenesis treatment and safety assessment". *Sensors International 2*. (2021)P 1-9 doi: 10.1016/j.sintl.2020.100073
- [11]- Payne, S. *Family Coronaviridae Viruses*: (2017) chap. 17, Family Coronaviridae P 149–158. doi: 10.1016/b978-0-12-803109-4.00017-9
- [12]- Wertheim, J. O., Chu, D. K. W., Peiris, J. S. M., Kosakovsky Pond, S. L., & Poon, L. L. M. A Case for the Ancient Origin of Coronaviruses. *Journal of Virology*, (2013). 87(12), 7039–7045. doi:10.1128/jvi.03273-12
- [13]- Budholiya, P., Ali, A. W., Gunwan, D., Sahil, S., Tyagi, C. K., Sharma, H. COVID-19: A Global Pandemic of 21st Century. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2020; 10(3-s):311-321 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i3-s.4088>
- [14]- Bouzidi, Basma. *Enquête de la séro prévalence Covid 19 chez les donneurs de sang dans la région Marrakech-Safi 2020* .mémoire master de biotechnologie médicale. Rabat : universitemohammed v de rabat 2018/2020 P 98
- [15]- Hozhabri, H., PicciSparascio, F., Sohrabi, H., Mousavifar, L., Roy, R., Scribano, D., ... Sarshar, M. The Global Emergency of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2): An Update of the Current Status and Forecasting. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, (2020). 17(16), 5648. Doi:10.3390/ijerph17165648
- [16]. Da Costa, V. G., Moreli, M. L., & Saivish, M. V. The emergence of SARS, MERS and novel SARS-2 coronaviruses in the 21st century. *Archives of Virology*. (2020). doi:10.1007/s00705-020-04628-0
- [17]- Helmy, Y. A., Mohamed, F., Elasad, A., Sobieh, A., Kenney, S. P., and Shehata, A. A. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics,

Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *Journal of Clinical Medicine* .2020. 9,1225; doi:10.3390/jcm9041225

[18]. Payne, S. *Family Coronaviridae*. Viruses, (2017) chap. 17 Family Coronaviridae P 149–158. doi:10.1016/b978-0-12-803109-4.00017-9

[19]. Segondy, M. *Les Coronavirus humains*. Revue Francophone Des Laboratoires. (2020) (526), 32–39. doi:10.1016/s1773-035x(20)30311-7

[20] Budholiya, P., Ali, A.W., Gunwan, D., Sahil, S., Tyagi, C.K., Sharma, H., COVID-19: A Global Pandemic of 21st Century ,*Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2020; 10(3-s):311-321 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i3-s.4088>

[21] Jain, R., Jain, N., Jain, S. K., Dhakar, R. C. SARS – COV-2 (COVID-19) Pandemic: A Critical Review on Novel Coronavirus Pathogenesis, Clinical Diagnosis and Treatment, *Journal Drug.Delivery,and,Therapeutics*.2020.10(3):241252 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i3.3985>

[22] Cookson, B. T., & Brennan, M. A. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends in Microbiology*. (2001). 9(3), 113–114. doi:10.1016/s0966-842x(00)01936-3

[23] Chen, I. Y., Moriyama, M., Chang, M. F., Ichinohe, T. Severe acute respiratory syndrome coronavirus viroporin 3a activates the NLRP3 inflammasome. *Frontiers in microbiology*.2019; 10.

[24] Prabhakar, H., Kapoor, I., &Mahajan, C. (Eds.). *Clinical Synopsis of COVID-19*.Chap1 , Introduction: History of Coronavirus Disease Pandemic. (2020).doi:10.1007/978-981-15-8681-1

[25] From Bio wiki. Middle East respiratory syndrome–related coronavirus 2012.last edited on 12 August 2021, at 20:57 (UTC). Disponiblesur : <http://rule of sixfield of science.com./2012/09/a-newcoronavirus-should-youcare.htm>

- [26] Singh, V., Luthra, A., Chauhan, R., and Meena, S. C. *Clinical Synopsis of COVID-19*. (2020). Chap 2. Basic Virology and Pathophysiology of COVID-19. doi:10.1007/978-981-15-8681-1 P 5-30
- [27]. Alipoor, S. D., Mortaz, E., Jamaati, H., Tabarsi, P., Bayram, H., Varahram, M., and Adcock, I. M. COVID-19: Molecular and Cellular Response. *Front Cell Infect Microbiol.* (2021). 11: 563085. Doi: 10.3389/fcimb.2021.563085
- [28] Sarkar, M., & Saha, S. Structural insight into the role of novel SARS-CoV-2 E protein: A potential target for vaccine development and other therapeutic strategies. *PLOS ONE*. (2020). 15(8), e0237300. doi:10.1371/journal.pone.0237300.
- [29] Satarker, S., Nampoothiri, M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Archives of Medical Research.* (2020). doi:10.1016/j.arcmed.2020.05.012.
- [30]. Zeng, W., Liu, G., Ma, H., Zhao, D., Yang, Y., Liu, M., ... Jin, T. Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* (2020). doi:10.1016/j.bbrc.2020.04.136
- [31] Jayaram, H., Fan, H., Bowman, B. R., Ooi, A., Jayaram, J., Collisson, E. W., ... Prasad, B. V. V. X-Ray Structures of the N- and C-Terminal Domains of a Coronavirus Nucleocapsid Protein: Implications for Nucleocapsid Formation. *Journal of Virology.* (2006). 80(13), 6612–6620. doi:10.1128/jvi.00157-06
- [32]. Zeng, W., Liu, G., Ma, H., Zhao, D., Yang, Y., Liu, M., ... Jin, T. Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* (2020). doi:10.1016/j.bbrc.2020.04.136
- [33] Sarkar, M., & Saha, S. Structural insight into the role of novel SARS-CoV-2 E protein: A potential target for vaccine development and other therapeutic strategies. *PLOS ONE*. (2020). 15(8), e0237300. doi:10.1371/journal.pone.0237300

- [34] Adnan Shereen, M., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., & Siddique, R. COVID-19 infection: origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*. (2020). doi:10.1016/j.jare.2020.03.005
- [35] Catania, L. J. *SARS-CoV-2 and the COVID-19 pandemic. Foundations of Artificial Intelligence in Healthcare and Bioscience*. (2021). Chapter 8, SARS-CoV-2 and the COVID-19 pandemic P 445–467 DOI:10.1016/b978-0-12-824477-7.00004-3
- [36]. ColungaBiancatelli, R. M. L., Berrill, M., Catravas, J. D., & Marik, P. E. Quercetin and Vitamin C: An Experimental, Synergistic Therapy for the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2 Related Disease (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, 11. (2020). doi:10.3389/fimmu.2020.01451
- [37]. Burger, M. C. ChemDoodle Web Components: HTML5 toolkit for chemical graphics, interfaces, and informatics. *Journal of Cheminformatics*. (2015). 7(1). doi:10.1186/s13321-015-0085-3
- [38] Ross, J. A., & Kasum, C. M. DIETARY FLAVONOIDS: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition*. (2002). 22(1), 19–34. doi:10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957
- [39]. Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M., Wang, S., Yin, Y. Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*. (2016). 8(3), 167. doi:10.3390/nu8030167
- [40] Wiczowski, W., Romaszko, J., Bucinski, A., Szawara-Nowak, D., Honke, J., Zielinski, H., & Piskula, M. K. Quercetin from Shallots (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) Is More Bioavailable Than Its Glucosides. *The Journal of Nutrition*. (2008). 138(5), 885–888. doi:10.1093/jn/138.5.885
- [41] SAMPSON, L., RIMM, E., HOLLMAN, P. C. H., de VRIES, J. H. M., & KATAN, M. B. Flavonol and Flavone Intakes in US Health Professionals. *Journal of the American Dietetic Association*. (2002). 102(10), 1414–1420. Doi:10.1016/s0002-8223(02)90314-7

- [42] Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., & Törrönen, A. R. Content of the Flavonols Quercetin, Myricetin, and Kaempferol in 25 Edible Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (1999). 47(6), 2274–2279. doi:10.1021/jf9811065
- [43] Manach, C., Morand, C., Texier, O., Favier, M.-L., Agullo, G., Demigné, C., Rémésy, C. Quercetin Metabolites in Plasma of Rats Fed Diets Containing Rutin or Quercetin. *The Journal of Nutrition*. (1995). 125(7), 1911–1922. doi:10.1093/jn/125.7.1911
- [44] Crespy, V., Morand, C., Manach, C., Besson, C., Demigné, C., & Rémésy, C. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. (1999). 277(1), G120–G126. doi:10.1152/ajpgi.1999.277.1.g120
- [45] BOULTON, D. W., WALLE, U. K., & WALLE, T. Extensive Binding of the Bioflavonoid Quercetin to Human Plasma Proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. (1998). 50(2), 243–249. doi:10.1111/j.2042-7158.1998.tb06183.x
- [46] Morand, C., Crespy, V., Manach, C., Besson, C., Demigné, C., & Rémésy, C. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. (1998). 275(1), R212–R219. doi:10.1152/ajpregu.1998.275.1.r212
- [47] Young, J. F., Nielsen, S. E., Haraldsdóttir, J., Daneshvar, B., Lauridsen, S. T., Knuthsen, P., Dragsted, L. O. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *The American Journal of Clinical Nutrition*. (1999). 69(1), 87–94. doi:10.1093/ajcn/69.1.87
- [48] Bureau, G., Longpré, F., & Martinoli, M.-G. Resveratrol and quercetin, two natural polyphenols, reduce apoptotic neuronal cell death induced by neuroinflammation. *Journal of Neuroscience Research*. (2008). 86(2), 403–410. doi:10.1002/jnr.21503
- [49] Erlund, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*. (2004). 24(10), 851–874. doi:10.1016/j.nutres.2004.07.005

[50] Lee, K. M., Hwang, M. K., Lee, D. E., Lee, K. W., & Lee, H. J. Protective Effect of Quercetin against Arsenite-Induced COX-2 Expression by Targeting PI3K in Rat Liver Epithelial Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (2010). 58(9), 5815–5820. doi:10.1021/jf903698s

[51] Kim, H. P., Mani, I., Iversen, L., & Ziboh, V. A. Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. (1998). 58(1), 17–24. doi:10.1016/s0952-3278(98)90125-9

[52] YANG, D., LIU, X., LIU, M., CHI, H., LIU, J., & HAN, H. Protective effects of quercetin and taraxasterol against H₂O₂-induced human umbilical vein endothelial cell injury in vitro. *Experimental and Therapeutic Medicine*, (2015). 10(4), 1253–1260. doi:10.3892/etm.2015.2713

[53] Nair, M. P. ., Kandaswami, C., Mahajan, S., Chadha, K. C., Chawda, R., Nair, H., ... Schwartz, S. A. The flavonoid, quercetin, differentially regulates Th-1 (IFN γ) and Th-2 (IL4) cytokine gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. (2002). 1593(1), 29–36. doi:10.1016/s0167-4889(02)00328-2

[54] Huang, R.-Y., Yu, Y.-L., Cheng, W.-C., OuYang, C.-N., Fu, E., & Chu, C.-L. Immunosuppressive Effect of Quercetin on Dendritic Cell Activation and Function. *The Journal of Immunology*. (2010). 184(12), 6815–6821. doi:10.4049/jimmunol.0903991.

[55] Muthian, G., & Bright, J. J. Quercetin, a Flavonoid Phytoestrogen, Ameliorates Experimental Allergic Encephalomyelitis by Blocking IL-12 Signaling Through JAK-STAT Pathway in T Lymphocyte. *Journal of Clinical Immunology*. (2004). 24(5), 542–552. doi:10.1023/b:joci.0000040925.55682.a5

[56] Mamani-Matsuda, M., Kauss, T., Al-Kharrat, A., Rambert, J., Fawaz, F., Thiolat, D., ... Mossalayi, M. D. Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental

arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators. *Biochemical Pharmacology*. (2006). 72(10), 1304–1310. doi:10.1016/j.bcp.2006.08.001

[57] Schültke, E., Kamencic, H., Skihar, V. M., Griebel, R., Juurlink, B. Quercetin in an animal model of spinal cord compression injury: *Correlation of treatment duration with recovery of motor function*. *Spinal Cord* 2010, 48, 112–117.

[58] Dong, Y., Wang, J., Feng, D., Qin, H., Wen, H., Yin, Z., ... Li, C. Protective Effect of Quercetin against Oxidative Stress and Brain Edema in an Experimental Rat Model of Subarachnoid Hemorrhage. *International Journal of Medical Sciences*. (2014). 11(3), 282–290. doi:10.7150/ijms.7634

[59] Kobori, M., Takahashi, Y., Sakurai, M., Akimoto, Y., Tsushida, T., Oike, H., & Ippoushi, K. Quercetin suppresses immune cell accumulation and improves mitochondrial gene expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Molecular Nutrition & Food Research*. (2015). 60(2), 300–312. doi:10.1002/mnfr.201500595

[60] Chen, L., Li, J., Luo, C., Liu, H., Xu, W., Chen, G., ... Jiang, H. Binding interaction of quercetin-3- β -galactoside and its synthetic derivatives with SARS-CoV 3CLpro: Structure–activity relationship studies reveal salient pharmacophore features. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. (2006). 14(24), 8295–8306. doi:10.1016/j.bmc.2006.09.014

[61] Chen, L., Li, J., Luo, C., Liu, H., Xu, W., Chen, G., ... Jiang, H. Binding interaction of quercetin-3- β -galactoside and its synthetic derivatives with SARS-CoV 3CLpro: Structure–activity relationship studies reveal salient pharmacophore features. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. (2006). 14(24), 8295–8306. doi:10.1016/j.bmc.2006.09.014

[62] Atherton, J. G., Kratzing, C. C., & Fisher, A. The effect of ascorbic acid on infection of chick-embryo ciliated tracheal organ cultures by coronavirus. *Archives of Virology*. (1978). 56(3), 195–199. doi:10.1007/bf01317848

[63] Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*. (2016). 11(5), 905–919. doi:10.1038/nprot.2016.051

[64] Chen, Y., de Bruyn Kops, C., & Kirchmair, J. Data Resources for the Computer-Guided Discovery of Bioactive Natural Products. *Journal of Chemical Information and Modeling*. (2017).57(9), 2099–2111. doi:10.1021/acs.jcim.7b00341.

[65] Cassidy, L., Fernandez, F., Johnson, J. B., Naiker, M., Owoola, A. G., & Broszczak, D. A. Oxidative Stress in Alzheimer's Disease: A Review on Emergent Natural Polyphenolic Therapeutics. *Complementary Therapies in Medicine*, (2019). 102294. doi:10.1016/j.ctim.2019.102294

[66]. Derosa, G., Maffioli, P., D'Angelo, A., & Di Pierro, F. (2020). A role for quercetin in coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Phytotherapy Research*. doi:10.1002/ptr.6887

[67] Wiley, J., & Sons Ltd. Molecular and functional resemblance of dexamethasone and quercetin: A paradigm worth exploring in dexamethasonenonresponsive COVID-19 patients *Phytotherapy Research*. 2020;1–4. DOI: 10.1002/ptr.6886
<http://wileyonlinelibrary.com/journal/ptr>

[68] Alexandre Beutraït. *Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel*. Thèse de Doctorat : chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. 2008. 122p.

[69] DEKKICHE Zakia, BENAICHE Soulef. *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. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2018. P 93

[70] Leach, A.R. *Molecular modelling: Principles and application*. Pearson Education Canada. 2001.582. 10-6p

[71] Mokrani, E. H. *Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique*. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. p 75

[72] El Hadji Said K. *Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire*. These de Master : Chimie. Tlemcen : université de TLEMCEM. Algérie. 2016. 50P

[73] Trouillas P. Chapitre 4 - *Modélisation Moléculaire et Biologie*. Thèse de doctorat : biophysique. Université de Lille. France. 2009. 17p.

[74] Navea, S., Tauler, R., Goormaghtigh, E., and de Juan, A .Chemometric Tools for Classification and Elucidation of Protein Secondary Structure from Infrared and Circular Dichroism Spectroscopic Measurements.*Function, and Bioinformatics*. (2006). 63:527–541 DOI 10.1002/prot

[75]. ZERDAOUI Sara, BOUNASLA Sara. *Docking moléculaire de deux flavones Naturels contre l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase*. mémoire de Master : chimie UNIVERSITÉ MOHAMED BOUDIAF – M'SILA. Algérie. 2019/2020. P 143

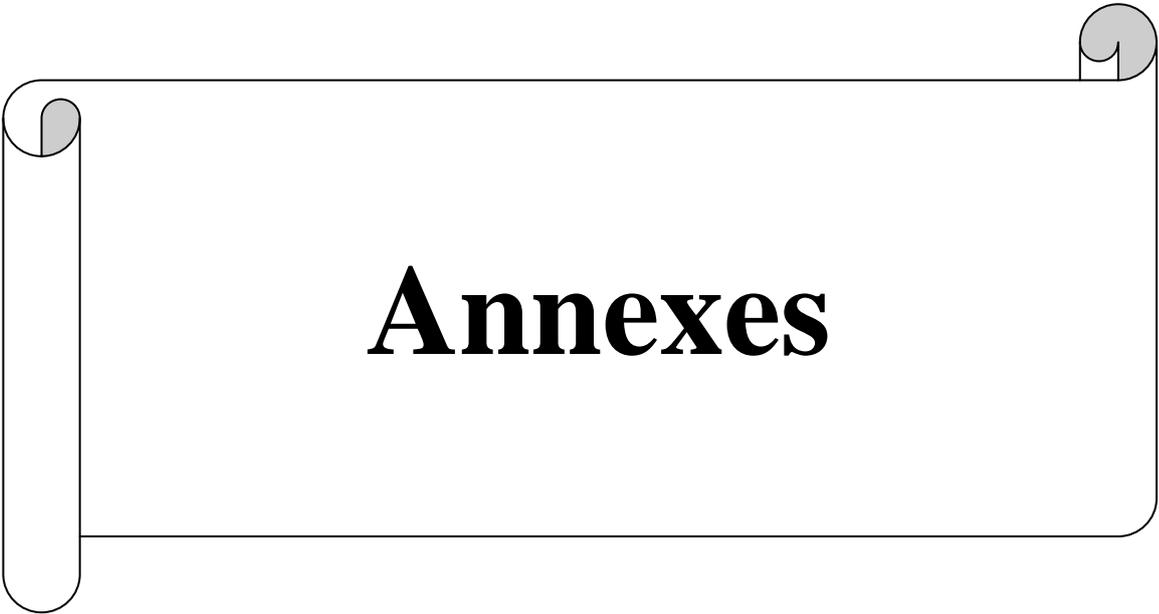
[76]. AutoDock. AutoDock 4.2.6 Download Page : Windows (577K) md5sum 8dadcd08691ec206060ba7e84d32a1cfa. bySargisDallakyan — last modified 2014-08-11 14:51 Contributors: Michael E. Pique and Ruth Huey. Disponible sur : <http://autodock.scripps.edu/>

[77]. BOUCHAGRA Samah, *modelisation des intractionsproteine-petites molecules : etude de la relation structure-fonction dans le cas lipases*. Thèse de doctorat:Chimie Organique et Bioorganique. UNIVERSITY BADJI MOKHTAR – ANNABA. Algérie. 2018. P 145

[78] Navea, S., Tauler, R., Goormaghtigh, E., and de Juan, A .Chemometric Tools for Classification and Elucidation of Protein Secondary Structure from Infrared and Circular Dichroism Spectroscopic Measurements.*Function, and Bioinformatics*. (2006). 63:527–541 DOI 10.1002/prot

[79] MGL Tools. downloads : mgltools_win32_1.5.6_Setup.exe. By SargisDallakyan — Contributors: Anna Omelchenko, Michel Sanner, SowjanyaKarnati last modified. 2020-07-29 10:06. Disponible sur : <http://mgltools.scripps.edu/downloads>

- [80] RCSB PDB protein data banque. 7ACT : The SARS-CoV-2 nucleocapsid phosphoprotein N-terminal domain in complex with 10mer ssRNA . Released: 2020-10-28
Author(s): Veverka, V. Disponiblesur : <https://www.rcsb.org/>
- [81] Pubcem. Quercetin : 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one. Create 2004-09-16. Modify 2021-08-21. Disponible sur : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [82]. Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R. S., & Li, F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *Journal of Virology*. (2020). doi:10.1128/jvi.00127-20
- [83] Elumalai, P., & Lakshmi, S. Role of Quercetin Benefits in Neurodegeneration. *The Benefits of Natural Products for Neurodegenerative Diseases*.(2016).229–245. Doi:10.1007/978-3-319-28383-8_12
- [84] Heinz, S. A., Henson, D. A., Austin, M. D., Jin, F., & Nieman, D. C. Quercetin supplementation and upper respiratory tract infection: A randomized community clinical trial. *Pharmacological Research*. (2010). 62(3), 237–242. doi:10.1016/j.phrs.2010.05.001
- [85] Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*.(2008). 585(2-3), 325–337. doi:10.1016/j.ejphar.2008.03.008
- [86] Patel, R. V., Mistry, B. M., Shinde, S. K., Syed, R., Singh, V., & Shin, H.-S. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *European Journal of Medicinal Chemistry*. (2018). 155, 889–904. doi:10.1016/j.ejmech.2018.06.053
- [87] Reyes-Farias, M., & Carrasco-Pozo, C. The Anti-Cancer Effect of Quercetin: Molecular Implications in Cancer Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*.(2019). 20(13), 3177. doi:10.3390/ijms20133177



Annexes

Annexe N°1

RMSD TABLE

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	7	-5.36	0.00	50.05	RANKING
1	2	9	-5.35	0.19	50.07	RANKING
2	1	1	-5.09	0.00	38.32	RANKING
3	1	3	-5.04	0.00	37.78	RANKING
4	1	5	-4.98	0.00	57.84	RANKING
4	2	2	-4.91	0.30	57.81	RANKING
5	1	8	-4.89	0.00	56.48	RANKING
6	1	6	-4.79	0.00	46.32	RANKING
7	1	10	-4.66	0.00	49.24	RANKING
8	1	4	-4.58	0.00	52.09	RANKING

Annexe N°2

```
binding_energy=-5.36
ligand_efficiency=-0.24
inhib_constant=117.91
inhib_constant_units=uM
intermol_energy=-7.15
vdw_hb_desolv_energy=-7.16
electrostatic_energy=0.03
total_internal=-2.78
torsional_energy=1.79
unbound_energy=-2.78
filename=7act.dlg
cIRMS=0.0
refRMS=50.05
rseed1=None
rseed2=None
```