

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique ET Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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 Appliquée

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la NSP3 pour le traitement potentiel du
SARS CoV-2

Présenté par : BOUKERROU Rayane
RAHAL Imene

Le 23/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : MOKRANI E.H. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : BENSEGUENI A. (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : GUENDOUZE A. (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire :
2021 - 2022



Remerciement

On remercie tout d'abord dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mr. Mokrani E.H** Maître de Conférences « B » à l'Université Frères Mentouri Constantine -1, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de notre jury :

Mr. BENSEGUENI A. (Professeur à UFM Constantine 1), pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Nos profonds remerciements vont aussi à **Melle GUENDOUZE A.** Maître de Conférences « B » à l'Université Frères Mentouri Constantine -1 d'avoir eu l'amabilité de bien vouloir examiner ce travail.



Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail

A ma **très chère mère** qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

A mon **très cher père** pour ses encouragements, son soutien surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études

A **mon frère et mes deux sœurs** pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux.

A ma chère binôme, **Imene** pour son entente et sa sympathie.

A mes chères amies **Manel, Rania, Asma, Asma** et **Ines** pour leur aide et supports dans les moments difficiles.

Notre encadreur **monsieur Mokrani**. Merci pour tous les conseils dont j'ai pu bénéficier au cours de notre travail

A l'ensemble de **mes proches**, aussi tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

:

RAYANE





Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce modeste travail

À mes **chers parents**,

A **mon père**, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordé.

A **mon frère**, mon bras droit, à mes **deux sœurs** qui m'avez toujours soutenu et encouragé.

À toute mes **cousins et cousines**, merci pour leur amours et leurs encouragements, que dieu le tout puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A la mémoire de ma chère **grand-mère**, mon oncle {**Rachid**} et ma tante adorable {**tata Mimiya**}, qui nous ont quitté trop tôt, que dieu les gardes dans leur vaste paradis.

Sans oublier mon binôme {**Rayane**} pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

A tous mes amis **Ikram, Rania, Asma, Ines**....et toutes les personnes qui me sont chères et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

A notre encadreur monsieur {**Mokrani**} merci pour tous les conseils dont j'ai pu bénéficier au cours de notre travail.

Imene



TABLE DES MATIERES

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Revue bibliographique

Chapitre I : SARS-CoV-2

1. Introduction.....	3
2. Epidémiologie	3
3. Mode de transmission	4
3.1. Mode directe.....	4
3.2. Mode indirecte.....	5
4. Mode d'action du COVID-19.....	5
4.1. Pénétration du virus dans la cellule hôte	5
4.2. Cycle de réplication	6
5. Traitement	6

Chapitre II : Macro domaine X NSP3

1. Introduction.....	8
2. Macrodomaines	8
3. Protéine non structurale NSP3.....	8
4. Macrodomaine du SARS-COV2	9
4.1. Structure	9
4.2. Mode d'action.....	10

Chapitre III: Docking moléculaire

1. Introduction.....	13
2. Docking moléculaire	13
2.1. Principe.....	13
2.1.1. Docking.....	13
2.1.2. Scoring.....	13

2.2. Evolution du docking moléculaire.....	14
2.2.1. Docking rigide.....	14
2.2.2. Docking semi flexible.....	14
2.2.3. Docking flexible.....	15
3. Outils du docking moléculaire	15
3.1. Récepteur	15
3.2. Ligand.....	15
3.3. Programmes du docking moléculaire.....	16

Partie pratique

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

1. Matériel	18
1.1. Programmes	18
1.1.1. Surflex Dock.....	18
1.1.2. Open Babel	18
1.1.3. BIOVIA Discovery Studio	18
1.2. Banque de données et sites internet	19
1.2.1. PDB (Protein Data Bank).....	19
1.2.2. PubChem.....	20
1.2.3. SwissADME.....	21
2. Méthodes	21
2.1. Tests de fiabilité du programme de docking	21
2.1.1. RMSD	21
2.1.2. Analyse visuelle.....	22
2.2. Choix de la cible	22
2.3. Préparation de la protéine	23
2.4. Préparation du ligand.....	23
2.5. Docking moléculaire par Surflex	24
2.5.1. Génération du protomol	24
2.5.2. Docking moléculaire	24
2.5.3. Calcul de RMSD.....	24
2.5.4. Optimisation du RMSD	24
2.6. Proposition de nouveaux inhibiteurs de Macro domaine X de la NSP3.....	25
2.7. Prédiction des Propriétés ADME	25

2.7.1. Propriétés physico-chimiques.....	25
2.7.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	26

Chapitre V : Résultats et Discussion

1. Tests de fiabilité du programme de docking moléculaire.....	27
1.1. Test RMSD.....	27
1.2. Analyse visuelle	28
1.3. Conclusion.....	28
2. Etude des interactions du Macro domaine X- inhibiteurs.....	29
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs du Macro domaine X de la NSP3.....	30
4. Mode d'interaction des meilleurs inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3	32
5. Evaluation des propriétés ADME	34
5.1. Propriétés physico-chimiques	35
5.2. Propriétés pharmacocinétiques	36
 Conclusion Générale.....	 37

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des figures

Figure 1: Structure des coronavirus.	3
Figure 2: Représentation schématique des sécrétions nasales et orales.	4
Figure 3: Durée de vie du SARS CoV-2 sur les surfaces.	5
Figure 4: Cycle de vie du SARS-COV-2	6
Figure 5: Découpage en domaines de la protéine multifonctionnelle NSP3.	8
Figure 6: Structure du macrodomaine I du SARS-CoV2 en complexe avec ADP-ribose.....	9
Figure 7: Représentation schématique des cascades de signalisation IFN primaire et secondaire.....	10
Figure 8: Représentation de surface de NSP3 Mac1 avec ADPr lié (cyan) dans une fente de liaison profonde et ouverte.....	11
Figure 9: Représentation schématique du macrodomaine qui inverse la ribosylation de l'ADP dépendante de PARP9/DTX3L induite par la signalisation IFN.	12
Figure 10: Principe général d'un programme de docking.	14
Figure 11: Concept clé-serrure.....	14
Figure 12: Utilisation des différents logiciels de docking en 2010-2011.	16
Figure 13: Interface graphique d'Open Babel.....	18
Figure 14: Interface graphique du programme Biovia Discovery Studio.	19
Figure 15: Page d'accueil de la PDB.	20
Figure 16: Page d'accueil de la PubChem.	20
Figure 17: Page de soumission SwissADME.....	21
Figure 18: Structure 2D de l'inhibiteur CMP du complexe 7JME.	23
Figure 19: Résultat en pourcentage du test RMSD.....	27
Figure 20: Superposition de la géométrie du ligand CMP du complexes 7JME obtenue par rayon-X(le rouge) et celle obtenue par SurfleX(le violet).	28
Figure 21: Analyse visuelle du mode d'interaction de CMP dans le site actif de la macro domaine X de la NSP3.	29
Figure 22: Diagramme des interactions du composé CMP dans le site actif du macro domaine X de la NSP3.	30
Figure 23: Analyse visuelle du mode d'interaction du composé S96 dans le site actif de la macro domaine X de la NSP3.	33

Figure 24: Diagramme des interactions du composé S96 dans le site actif du macro domaine X de la NSP3. **34**

Liste des tableaux

Tableau 1: Les principaux programmes de docking moléculaire..	16
Tableau 2: Caractéristiques des complexes Macro domaine X-Inhibiteur.	22
Tableau 3: Numéro d'accèsion, score et structure 2D des trois meilleurs inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3.	31
Tableau 4: Propriétés physico-chimiques de CMP, S96 et Oseltamivir.	35
Tableau 5: Propriétés pharmacocinétiques des composés CMP, Oseltamivir et S96.	36

Liste des Annexes

Annexe 01 : Liste des 100 complexes utilisés pour tester la fiabilité du protocole de docking.

Annexe 02 : Tableau des 100 similaires issu de la PubChem avec leur score.

Liste des abréviations

3D : Trois dimensions

2D : Deux dimensions

Å : Angstrom

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

ADME : Absorption Distribution Métabolisme Excrétion

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADPr : Adénosine diphosphate ribose

ADRP : ADP-ribose 1''-monophosphatase

ARN : Acide Ribonucléique.

BHE perméabilité : Barrière hémato-encéphalique

COVID-19 : Coronavirus Disease of 2019 (Maladie du Coronavirus 2019).

CMP : ADENOSINE-3',5'-CYCLIC-MONOPHOSPHATE

CYP1A2 : Cytochrome P1A2

CYP2C19 : Cytochrome P2C19

CYP2C9 : Cytochrome P2C9

CYP2D6: Cytochrome P2D9

CYP3A4: Cytochrome P3A4

GACVS: Global Advisory Committee on Vaccine Safety

GI absorption: Gastro-intestinal absorption

KD: kilo Dalton

NCBI : National Center for Biotechnology Information

nLF : nombre des liaisons flexibles

nON : Nombre d'accepteur d'hydrogène

nOHNH : Nombre de donneurs d'hydrogène.

NSP 3 : protéine non structurale 3

Mac1 : Macro domaine X

IFN : interféron.

LogP : Coefficient de partage Eau/Octanol

LF : liaison flexible

PARP : poly ADP-ribose polymérase

PDB : Protein Data Bank (Banque de données protéiques)

PM : Poids Moléculaire

Protéine S : protéine Spike (protéine de pointe)

Protéine E : Protéine d'enveloppe

Protéine M : la glycoprotéine membranaire

Protéine N : Protéine de nucléocapside

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

RMSD : Root Mean Square Deviation

TMPRSS2 : Transmembrane Protease Serine 2.

TPSA : Surface polaire

SRAS-COV 2 : Syndrome respiratoire aigu sévère du Corona Virus 2

OMS : Organisation Mondiale de la Santé



Introduction

Introduction générale

Le nouveau coronavirus récemment apparu, « coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère-2 (SRAS-CoV-2) », a provoqué une maladie hautement contagieuse appelée maladie à coronavirus 2019 (COVID-19). Ce virus a été signalé pour la première fois en décembre 2019 dans la ville de Wuhan en Chine, qui en moins de trois mois s'est propagé dans les quatre coins du monde, et a été déclaré pandémie mondiale par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) le 11 mars 2020. Jusqu'à présent, la pandémie en cours a gravement endommagé la plupart des pays du monde et devient une menace majeure pour les pays à revenu faible et intermédiaire [1].

À ce jour, les options thérapeutiques pour le traitement de la COVID-19 restent limitées. Actuellement, aucun médicament curatif ne permet de traiter cette maladie n'i encore mois de la prévenir [2]. Donc, de nouvelles stratégies de traitement sont nécessaires de toute urgence [3]. Plusieurs recherches étaient réalisées pour développer des thérapies antivirales efficaces pour traiter la COVID-19. À ce titre, l'inhibition du macro domaine X de la protéine non structurale NSP3 représente une stratégie prometteuse pour enrayer ce virus. En effet, cette enzyme est impliquée dans la pathogénicité virale en perturbant l'immunité innée de l'hôte grâce à son activité mono (ADP-ribosyl) hydrolase [4].

L'objectif essentiel de notre travail de master est de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3 par docking moléculaire. Cette approche théorique permet de simuler l'orientation et les interactions d'un ligand donné à l'égard de sa cible thérapeutique, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins onéreux et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales [5].

Avant de commencer le travail de simulation, l'évaluation de la performance du logiciel de docking moléculaire Surflex s'impose. Dans ce contexte, l'écart quadratique moyen (Root Mean Square Deviation ou RMSD) a été calculé pour 100 complexes protéine-ligand pris de manière arbitraire via la banque de données PDB. Ce test a été conforté par une analyse visuelle permettant de mettre en évidence la superposition des poses de ligands de référence et simulées.

Par la suite, des calculs de docking moléculaire menées sur 100 similaires chimiques d'un inhibiteur de départ vont permettre de dégager celui le plus actifs théoriquement sur la cible enzymatique étudiée. Enfin, une étude prédictif des propriétés physicochimiques et

pharmacocinétiques du composé le plus prometteur permettra de se renseigner sur son profil ADME.



CHAPITRE I
SARS-CoV-2

1. Introduction

La maladie à coronavirus (COVID19) est une maladie infectieuse due au virus SARS-CoV-2, apparu en Chine à partir de chauve-souris infectées. Cette, maladie, dont les symptômes évoquent ceux de la grippe saisonnière, est plus sévère chez les personnes âgées et les personnes rendues vulnérables par certaines maladies chroniques ou des traitements [6]. Les coronavirus sont des virus sphériques enveloppés, qui auraient une nucléocapside hélicoïdale à l'intérieur d'une capsid de structure icosaédrique, elle-même entourait d'une enveloppe membranaire. Ils ont été nommés sur la base de leur apparence de couronne dans la microscopie électronique [7]. Leur génome se compose d'un ARN linéaire monobrin, non segmenté, de polarité positive, d'environ 30 kb et qui code pour 7 à 10 protéines. Leurs protéines virales importantes sont la protéine **nucléocapside (N)**, la **glycoprotéine membranaire (M)** et la **glycoprotéine de pointe (S)** [8].

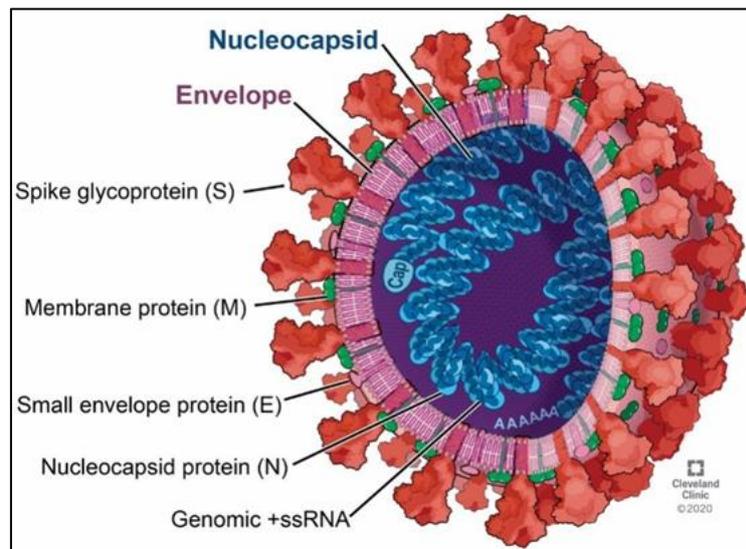


Figure 1: Structure des coronavirus.

2. Épidémiologie

La fin de 2019 a provoqué une sensation due à une épidémie catastrophique qui a semé la terreur dans les quatre coins du monde [9].

- ❖ Le 31 décembre 2019, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a été informée d'une épidémie de « pneumonie de cause inconnue » dans la ville de Wuhan en Chine.
- ❖ Le 23 janvier 2020, 581 cas avaient été confirmés en Asie ou aux Etats-Unis. Les autorités chinoises avaient émis des restrictions de déplacement à Wuhan.

- ❖ Le 15 février 2020, un rapport de l'OMS rapportait que la barre des 50 000 cas de COVID-19 avait été franchie en Chine, Plus de 500 cas d'infection avaient été rapportées en dehors du pays.
- ❖ Le 11 mars 2020, avec plus de 121 000 cas rapportés, l'OMS a officiellement déclaré que l'épidémie de la COVID-19 était maintenant considérée comme une pandémie mondiale.
- ❖ En Mai 2022, plus de 515 millions de cas positifs et plus de 6.15 millions de personnes sont décédés à cause de la COVID 19 à travers le monde.
- ❖ En Algérie, le 25 février 2020 été le début de la propagation du COVID-19 lorsqu'un ressortissant italien a été testé positif au SARS-CoV-2. Depuis, des milliers de cas sont ensuite détectés pour atteindre 266 000 cas positif et 6875 de décès en Mai 2022 [10].

3. Mode de transmission

Globalement, il existe deux modes de transmission du SARS CoV-2 : direct et indirect.

3.1. Mode directe

C'est la transmission via des gouttelettes respiratoires et des aérosols lorsqu'une personne infectée respire, tousse ou parle, peut être aussi transmis par d'autres fluides corporels et sécrétions comme les matières fécales, la salive, l'urine, le sperme et les larmes. Le risque de transmission est accru si la personne infectée est présente à moins d'un mètre d'une hôte sensible [11].

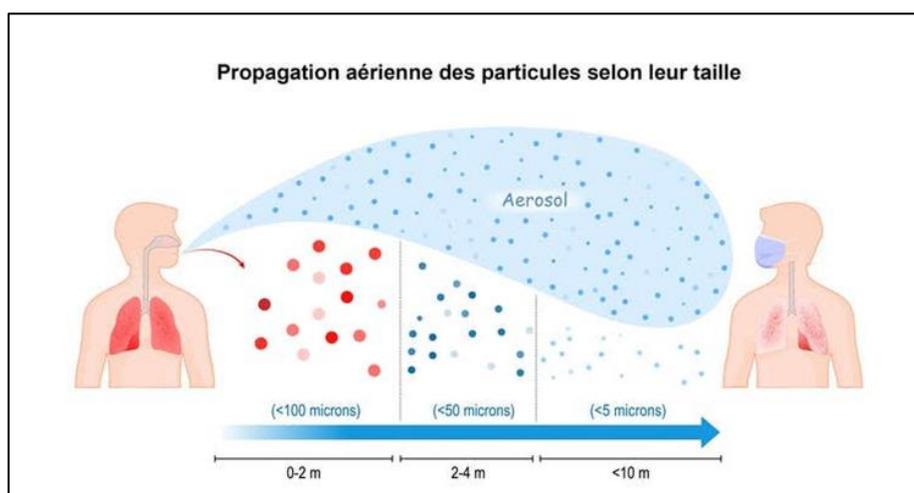


Figure 2: Représentation schématique des sécrétions nasales et orales.

3.2. Mode indirecte

La transmission indirecte peut se produire via des surfaces (par exemple, des meubles et des accessoires) présents dans l'environnement immédiat d'un patient infecté et des objets utilisés sur la personne infectée (par exemple, un stéthoscope ou un thermomètre) [12] [13].

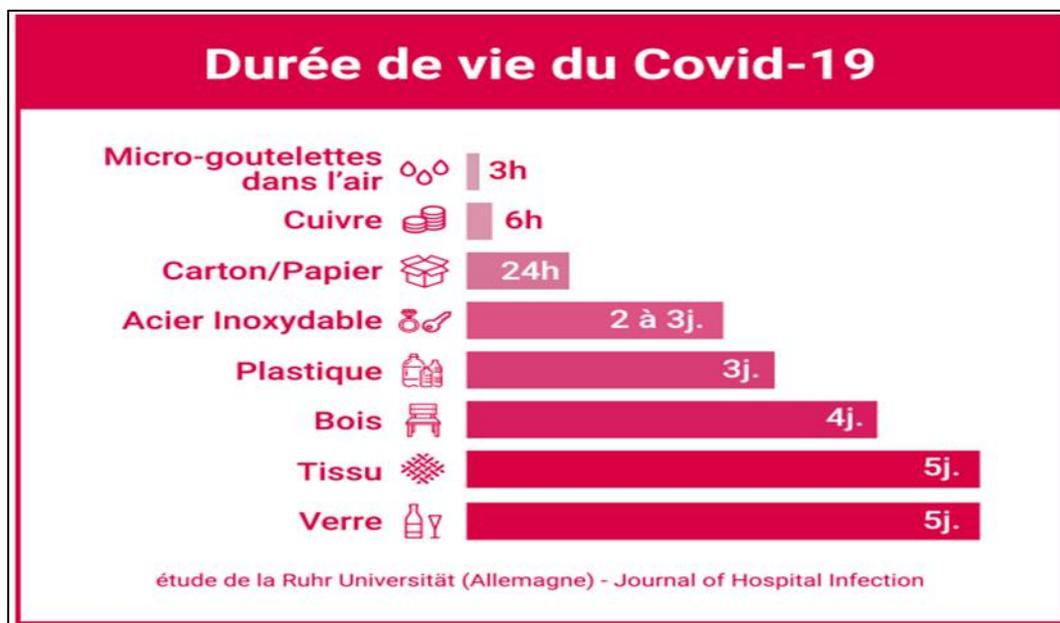


Figure 3: Durée de vie du SARS CoV-2 sur les surfaces.

4. Mode d'action du COVID-19

4.1. Pénétration du virus dans la cellule hôte

Pour que le SARS-COV-2 rentre dans la cellule hôte, la protéine S utilise le récepteur cellulaire ACE2 - une métalloprotéine dont la fonction première est la dégradation de l'angiotensine II en angiotensine. La liaison de la sous unité S1 à ACE2 entraîne une modification conformationnelle de la protéine S, exposant S2 et permettant l'endocytose puis la fusion membranaire. Cette fusion nécessite l'activation de la protéine S par le clivage au niveau de la jonction S1/S2 et d'un autre site de S2, notamment réalisée par la protéase membranaire TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2). Le SRAS-CoV-2 pourrait également utiliser d'autres récepteurs cellulaires de la protéine S pour infecter les cellules qui n'expriment pas l'ACE-2, ainsi que les lymphocytes T in vitro mis en évidence [14] [15].

4.2. Cycle de réplication

Après la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol de la cellule hôte, la machinerie cellulaire traduit le gène de la réplicase en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab) clivées en nombreuses protéines indispensables au cycle viral (notamment deux protéases virales et une ARN-polymerase ARN-dépendant) s'assemblant en un large complexe de transcription et de réplication. Ce complexe permet d'une part de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti sens appelés ARN sous génomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions. Finalement les brins d'ARN synthétisés sont combinés avec la protéine N pour former la nucléocapside et l'assemblage XXX avec les glycoprotéines d'enveloppe permet le bourgeonnement de nouvelles particules virales [16].

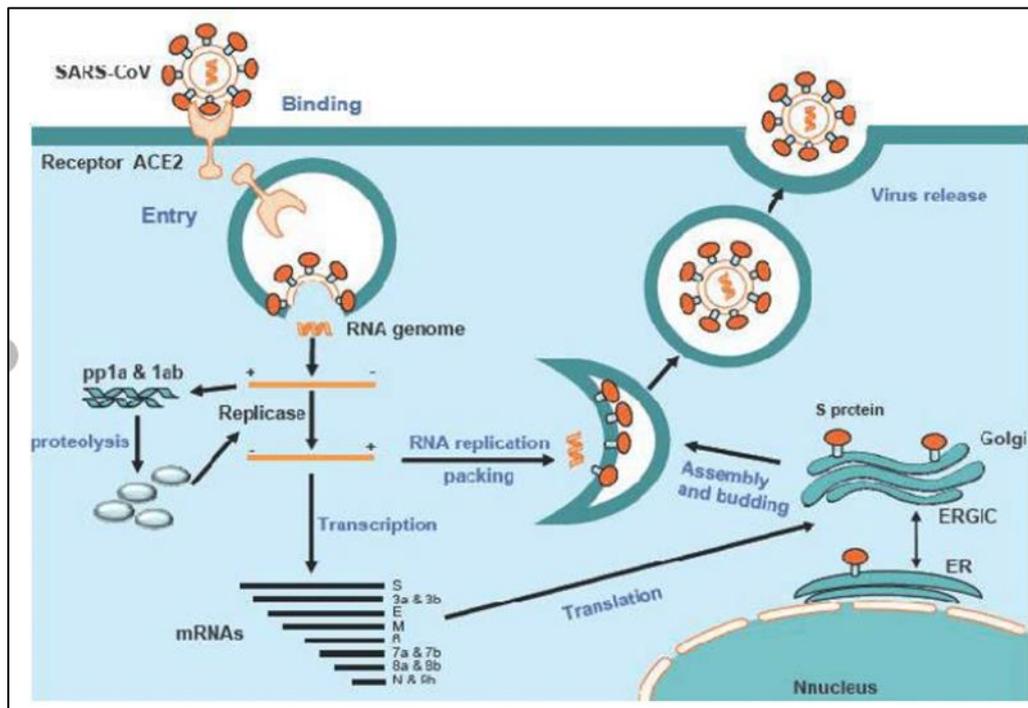


Figure 4: Cycle de vie du SARS-COV-2

5. Traitement

Au début de l'année 2020, de très nombreuses équipes scientifiques se sont mises au travail à travers le monde pour trouver de remèdes contre le SARS CoV-2. Cependant, aucun traitement curatif n'est mis sur le marché pour enrayer cette épidémie. Toutefois, des vaccins préventifs ont été mis sur le marché pour essayer de diminuer la propagation de cette maladie infectieuse :

❖ **Vaccin d'Oxford (AstraZeneca)**

Son efficacité était de 76 %, mais elle est propre aux événements survenus 15 jours après la deuxième dose, avec un intervalle de 29 jours [17].

❖ **Vaccin Sinovac (BBIBP)**

D'après l'OMS, deux doses de Sinovac administrées tous les 21 jours, sont efficaces à 79 % contre l'infection symptomatique au SRAS-CoV-2, 14 jours ou plus après la seconde dose [18].

❖ **Le vaccin de Pfizer-BioNTech (BNT162b2)**

Le comité consultatif mondial pour la sécurité des vaccins (GACVS) a conclu que le vaccin de Pfizer présente des avantages évidents dans toutes les tranches d'âge en matière de réduction des hospitalisations et des décès dus à la COVID-19. Son efficacité s'est établie à 95% [19].



CHAPITRE II

Macro domaine X

NSP3

1. Introduction

Le génome du SRAS-CoV-2 code pour 4 protéines structurales, 9 protéines accessoires et 16 protéines non structurales responsables de la réplication virale. Le développement d'antiviraux contre ce virus s'est concentré sur la réaffectation de médicaments existant pour inhiber les activités enzymatiques des protéines impliquées dans sa réplication, y compris les ARN polymérases et les protéases virales. Ici, nous nous concentrons sur l'inhibition de la Macro domaine X (Mac1), une ADP ribosylhydrolase de macrodomaine conservée au sein de la protéine non structurale 3 (NSP3) [20].

2. Macrodomaines

Les macrodomaines représentent une classe d'hydrolases de ribosyle ADP conservées qui sont exprimées par des virus préoccupants, y compris les coronavirus. Les macrodomaines viraux sont essentiels à la réplication et aux pathogénèses induites par le virus ; ces enzymes constituent donc une cible prometteuse pour la thérapie antivirale [21].

3. Protéine non structurale NSP3

La protéine non structurale 3 (NSP3) est la plus grande protéine codée par le génome du coronavirus, avec une masse moléculaire moyenne d'environ 200 kD. Cette protéine est une composante essentielle du complexe réplication/transcription. Elle comprend divers domaines (7 domaines) dont le macrodomaine (domaine X nommé XD) essentiel à la pathogénèse du coronavirus (Figure 5) [22].

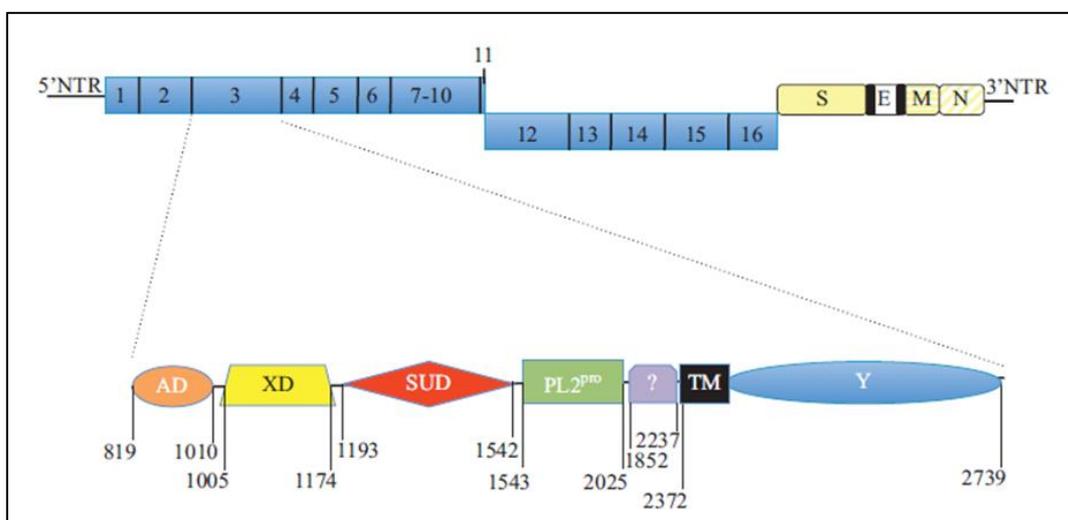


Figure 5: Découpage en domaines de la protéine multifonctionnelle Nsp3.

4. Macrodomaine du SARS-COV2

C'est un macrodomaine conservé au niveau de la NSP3. Il est également appelé « domaine X », « Nsp3b » ou alors « Mac1 ». Ce domaine (Mac1) est indispensable pour la réplication de l'ARN dans le contexte d'un réplicon SARS-CoV2. Il joue aussi un rôle dans la lutte contre la réponse immunitaire innée de l'hôte. L'affinité pour l'adénosine diphosphate ribose (ADPr) ou poly-ADP-ribose est une caractéristique bien connue de ce domaine, et dans certains cas, il montre également une activité ADP-ribose 1''-monophosphatase (ADRP) [23].

4.1. Structure

Le domaine X adopte un pli sandwich à trois couches conservé. Le domaine avec ce pli est appelé macrodomaine en raison de sa similitude avec le domaine supplémentaire dans la variante MacroH2A de l'histone humaine 2A. Typiquement, le domaine X comprend une feuille centrale avec sept brins dans l'ordre 1, 2, 7, 6, 3,5, 4, 1 et 4 étant antiparallèles au reste. Six hélices sont situées des deux côtés de ce feuillet, avec les hélices 1, 2 et 3 d'un côté et 4, 5 et 6 de l'autre [24].

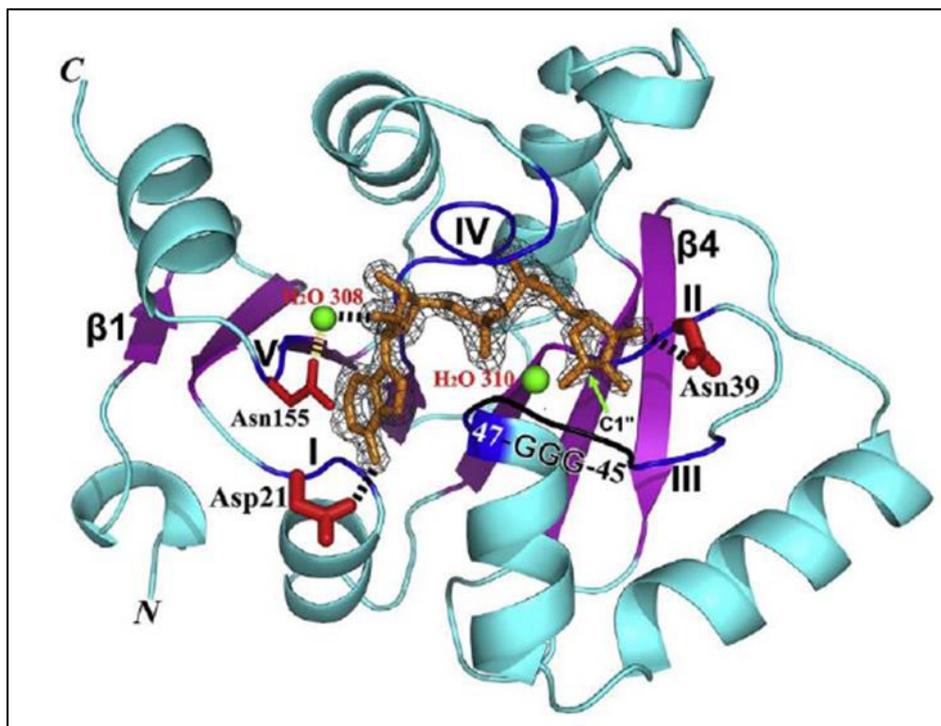


Figure 6: Structure du macrodomaine I du SARS-CoV2 en complexe avec ADP-ribose

4.2. Mode d'action

Après une infection par un virus, les cellules hôtes activent des réponses immunitaires innées, centrées sur une classe de cytokines appelées interférons (IFN), qui induisent un état antiviral cellulaire qui peut inhiber plusieurs étapes cruciales du cycle de réplication virale, empêchant essentiellement l'établissement d'une infection virale. La signalisation IFN de type I est initiée lors de la reconnaissance du virus-acides nucléiques dans le cytoplasme, conduisant à la production et la sécrétion d'IFN de type I, tandis que l'IFN de type II est sécrété par les cellules immunitaires. L'ADP-ribosylation est récemment apparue comme un régulateur critique de la réponse IFN, est une modification post-traductionnelle sous-explorée catalysée par les ADP-ribosyl transférase appelée collectivement poly (ADP-ribose) polymérase (PARP). Plusieurs PARP humaines sont induites par la réponse IFN et participent aux défenses antivirales en régulant la signalisation IFN elle-même, en modulant les processus de l'hôte tels que la traduction et le trafic de protéines, ainsi qu'en modifiant et en inhibant directement les protéines virales cibles [25].

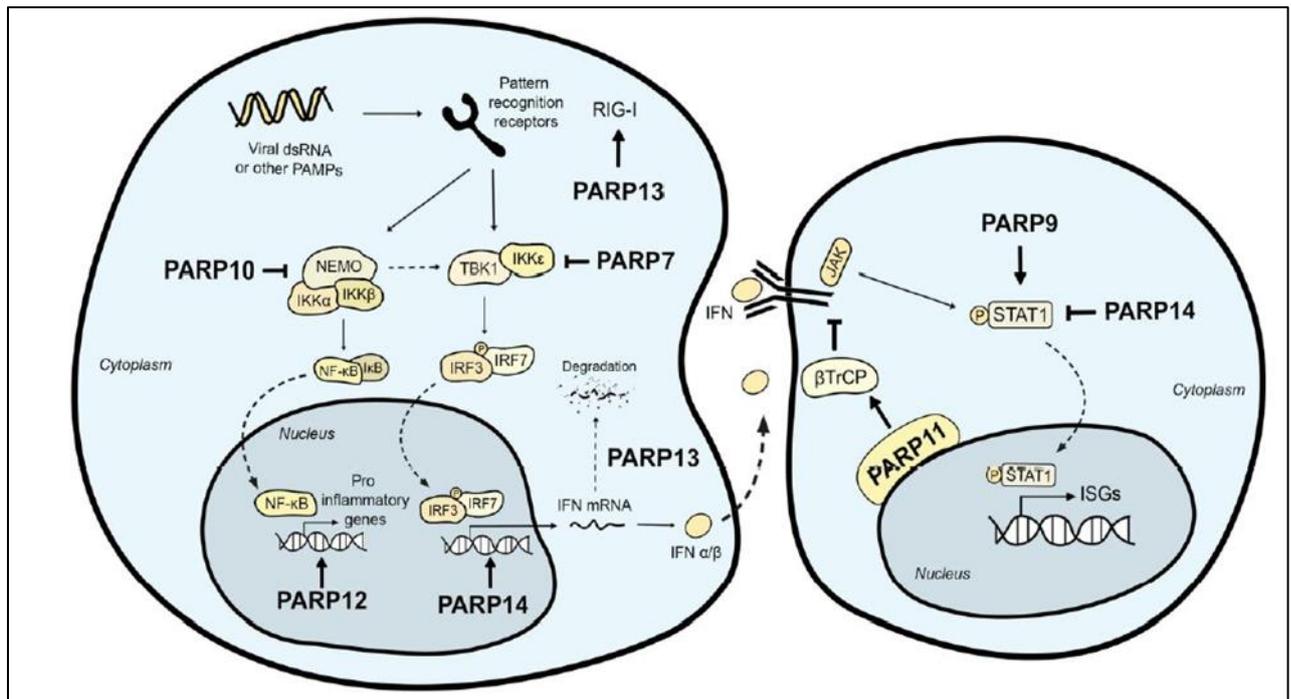


Figure 7: Représentation schématique des cascades de signalisation IFN primaire et secondaire.

Dans le cas du SARS CoV-2, le macrodomaine peut médier la résistance à la réponse de l'interféron antiviral, car il présente une capacité d'inhiber l'expression de gènes liés à l'immunité innée. Ce domaine se lie à l'ADP-ribose et au poly(ADP)-ribose. Cette liaison permet d'hydrolyser les modifications ADP-ribose, contrecarrant ainsi l'activation antivirale

PARP et donc il va échapper ou supprimer les réponses IFN de l'hôte. Ainsi, le macrodomaine facilite la réplication de l'ARN viral et permet la synthèse des nouveaux ARN génomiques avec une grande variabilité [26]. Ceci a permis de considérer ces enzymes comme cible prometteuse pour la thérapie antivirale.

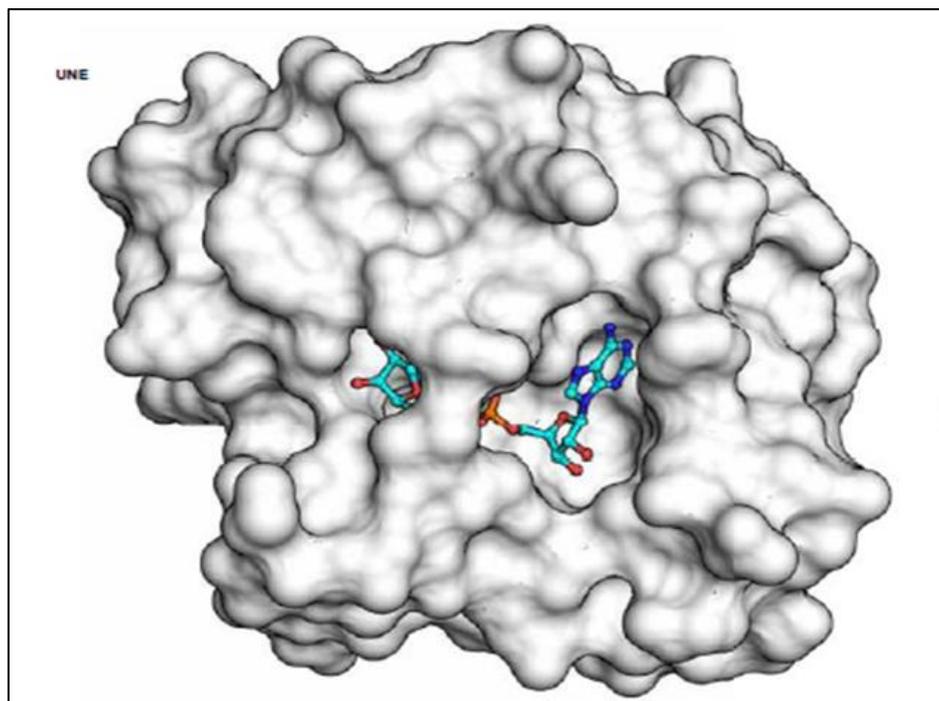


Figure 8: Représentation de surface de NSP3 Mac1 avec ADPr lié (cyan) dans une fente de liaison profonde et ouverte.

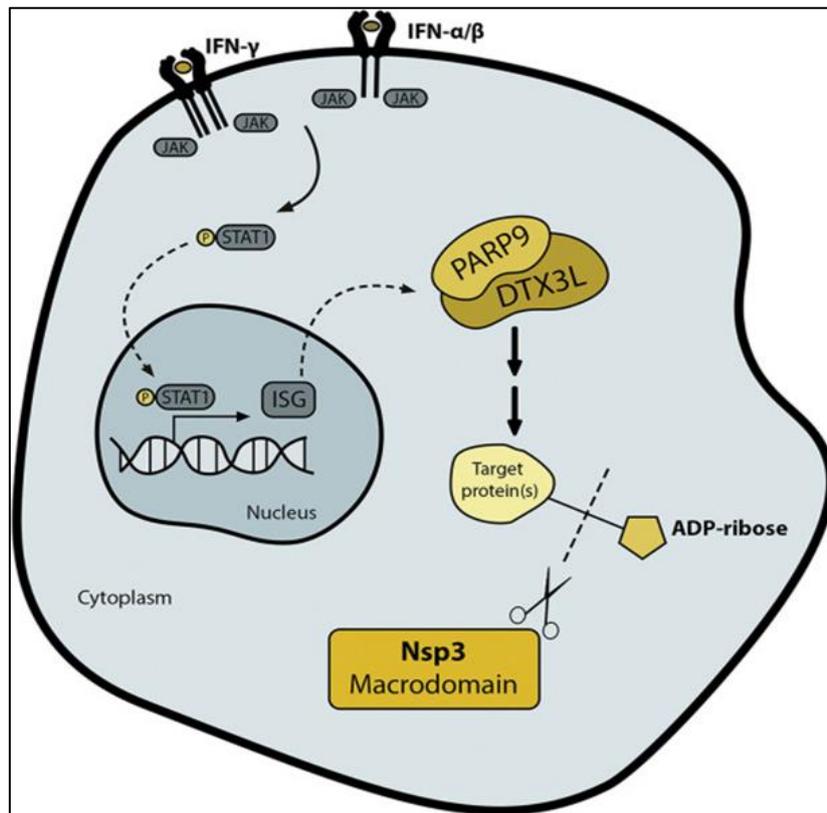


Figure 9: Représentation schématique du macrodomaine qui inverse la ribosylation de l'ADP dépendante de PARP9/DTX3L induite par la signalisation IFN.



CHAPITRE III

*Docking
Moléculaire*

1. Introduction

La découverte de nouveaux médicaments est le résultat d'un processus de recherche très long et coûteux [27]. Avec le développement de la cristallographie aux rayons X et des outils informatiques, les techniques de modélisation de l'amarrage moléculaire sont devenues cruciales permettant de rationaliser le processus de développement de médicaments. [28] Il s'agit d'une approche théorique permettant de simuler l'affinité et les interactions d'un très grand nombre de ligands à l'égard d'une cible thérapeutique donnée, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales in vitro [29].

2. Docking moléculaire

2.1. Principe

Docking (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand) [28]. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires :

2.1.1. Docking

C'est l'étape de sélection, qui consiste à placer le ligand au site actif de la protéine et à prélever les conformations, positions et orientations (poses) possibles en ne gardant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables [29].

2.1.2. Scoring

C'est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles suggérées [30].

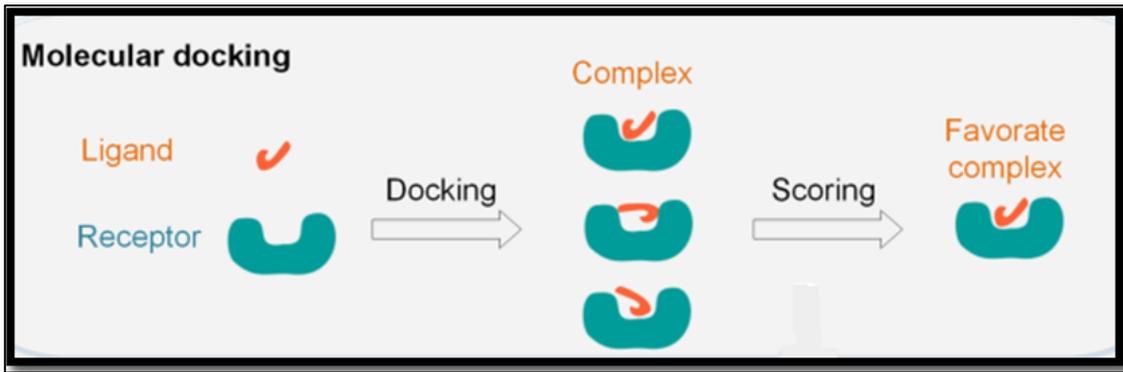


Figure 10: Principe général d'un programme de docking.

2.2. Evolution du docking moléculaire

Il existe trois types de docking moléculaire :

2.2.1. Docking rigide

Les premiers logiciels de docking développés au début des années 80 considéraient le récepteur et le ligand comme corps rigides, en se basant sur le concept « clé-serrure ». C'est le docking le plus simple et rapide, parce que la taille de l'espace de recherche est plus petite, mais si la conformation du ligand est incorrecte, la probabilité de trouver un ajustement complémentaire sera plus faible [29] [31].

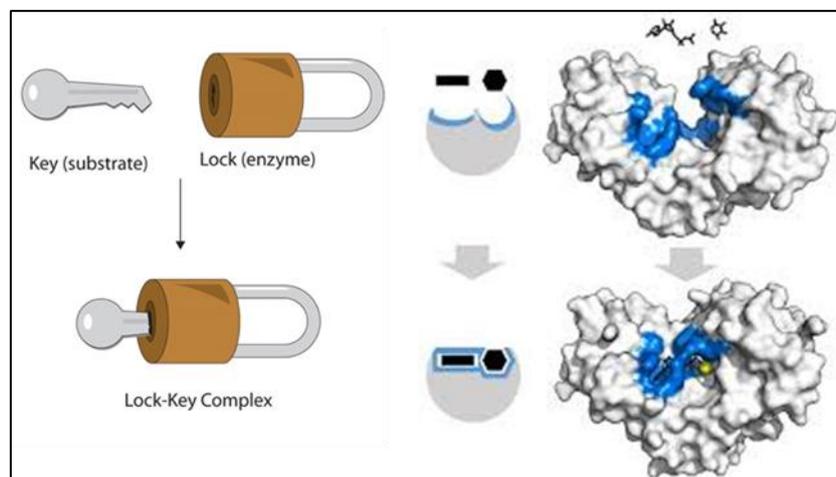


Figure 11: Concept clé-serrure.

2.2.2. Docking semi-flexible

La flexibilité lors des interactions protéine-ligand est un facteur très important. Cela peut représenter un processus de sélection de conformation qui se termine par l'adaptation du ligand et du récepteur l'un à l'autre [32]. Actuellement, la quasi-majorité des programmes de docking

prennent en compte la flexibilité du ligand tout en considérant la cible comme corps rigide, c'est ce qu'on appelle docking semi-flexible [33].

2.2.3. Docking flexible

Le docking flexible simule avec plus de précision les interactions entre les molécules. Cela permet de modifier facilement la conformation du système d'amarrage (récepteur et ligand). Ce processus est trop compliqué [34].

3. Outils du docking moléculaire

3.1. Récepteur

Les Structures tridimensionnelles de diverses cibles thérapeutiques sont disponibles via la banque de données Protein Data Bank (PDB) ; qui est accessible gratuitement en ligne (<http://www.rcsb.org/pdb/>) [35] [36]. Il s'agit d'une grande archive de données structurales 3D des macromolécules biologiques : (protéines, ADN, ARN ...etc.) [37]. Elle Contient des milliers de structures protéiques déterminées expérimentalement par cristallographie aux rayons X, par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou par la microscopie électronique [38]. Il est important de noter que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette banque de donnée, mais si cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, il devient alors possible de construire la structure 3D la de la cible souhaitée, en utilisant la modélisation par homologie [28].

3.2. Ligand

Le choix du ligand est une étape essentielle afin de réussir le docking moléculaire. Ainsi, la structure 3D d'un ligand donné est obtenue par deux moyens : Le premier, consiste à utiliser des ligands obtenus à partir de la littérature, qu'on peut dessiner optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2, etc.) à l'aide des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl...etc. Le second moyen consiste à consulter des banques de données de ligands (chimiothèques), qui fournissant un nombre considérable de structures 3D de molécules pour le docking. Parmi les chimiothèques les plus utilisés, nous citons : PubChem, Zinc, la Chimiothèque Nationale Française [39] [40] [41].

3.3. Programme du docking moléculaire

Au cours des 20 dernières années, plus de 60 outils et programmes d'amarrage moléculaire différents ont été développés pour un usage académique et commercial [42]. Ces programmes utilisent différentes stratégies de placement de ligands [43], différents algorithmes de recherche et des divers fonctions de score [44] (tableau 1). Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, Flex, DOCK et ICM (Figure 12) [45].

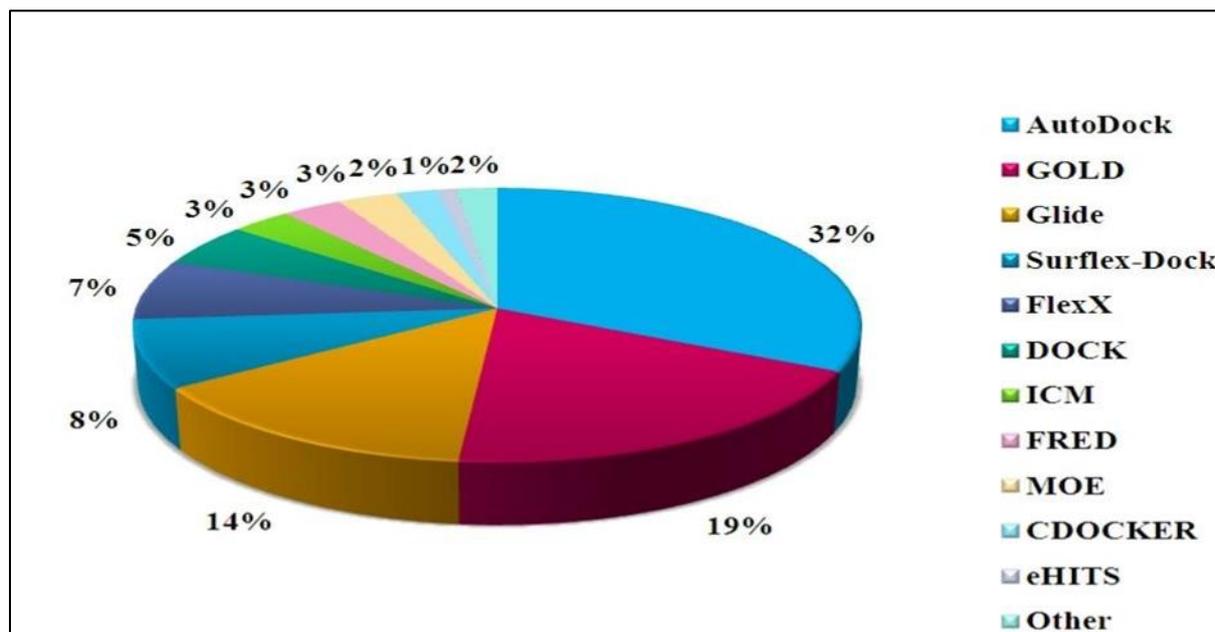


Figure 12: Utilisation des différents logiciels de docking en 2010-2011.

Tableau 1: Les principaux programmes de docking moléculaire. [44].

Nom	Éditeur	Site internet
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
Fred Open	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/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html



Chapitre IV

Matériel et

Méthodes

1. Matériel

1.1. Programme

1.1.1. Surflex Dock

Surflex c'est l'un des logiciels de docking moléculaire les performants. Il est largement utilisé et capable d'amarrer des ligands avec une grande précision dans un environnement d'acides aminés [46]. Dans notre travail, nous avons utilisé le version 1.3 du programme Surflex-Dock.

1.1.2. Open Babel

Open Babel version 2.0.2 est un programme libre principalement utilisé dans des applications de chemo-informatique pour la conversion des fichiers de structures chimiques en plusieurs formats [47].

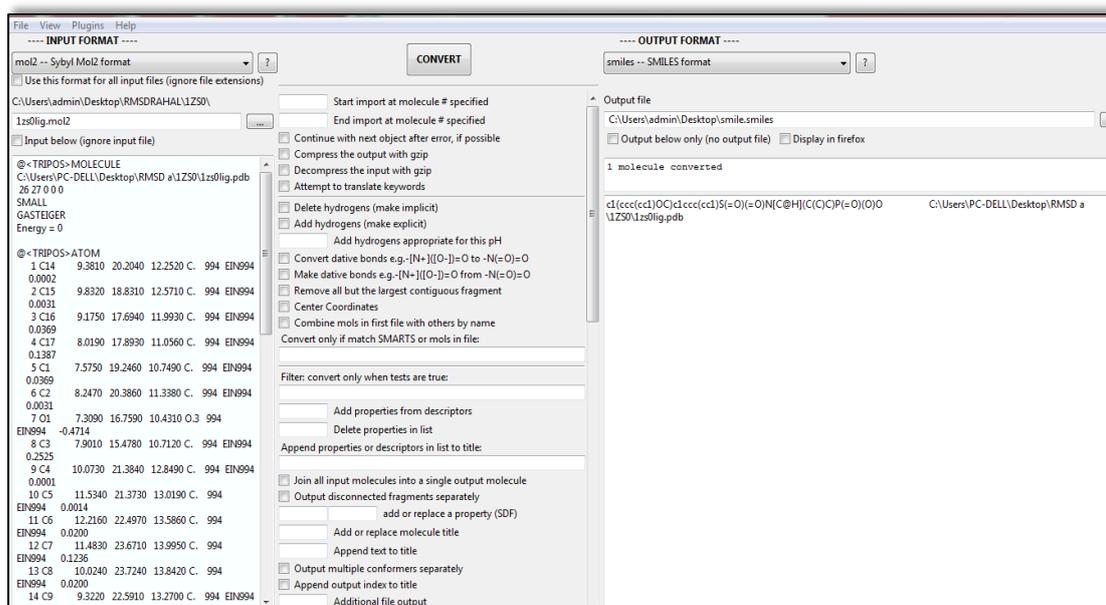


Figure 13: Interface graphique d'Open Babel.

1.1.3. BIOVIA Discovery Studio

BIOVIA Discovery Studio version 9.1.0 est un programme de modélisation moléculaire accessible gratuitement et riche en fonctionnalités pour la visualisation [48]. Il a été utilisé dans le présent travail pour la visualisation de la superposition des ligands issus du test de fiabilité et aussi pour visualiser le positionnement des différents inhibiteurs dans le site actif étudié.

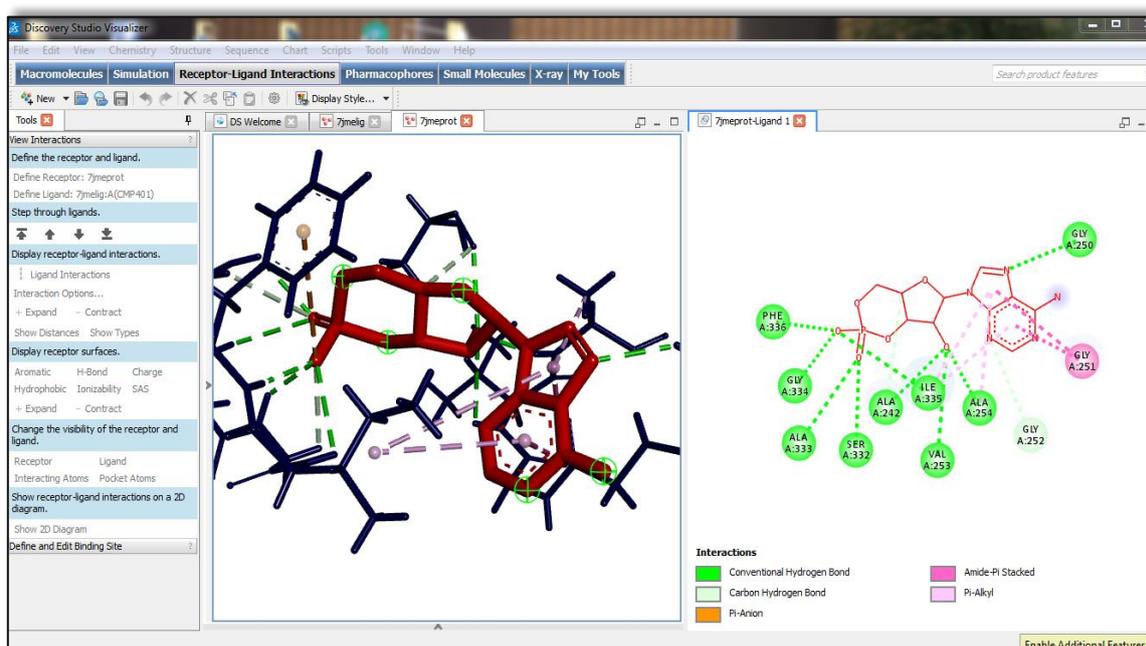


Figure 14: Interface graphique du programme Biovia Discovery Studio.

1.2. Banque de données et sites internet

1.2.1. PDB (Protein Data Bank)

Protein Data Bank (PDB) est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (ou structure 3D) de macromolécules biologiques : protéines essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN. Elle est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique [35]. En Mai 2022, la PDB répertorie plus de 190 000 structures 3D de macromolécules dont plus de 165 000 protéines.

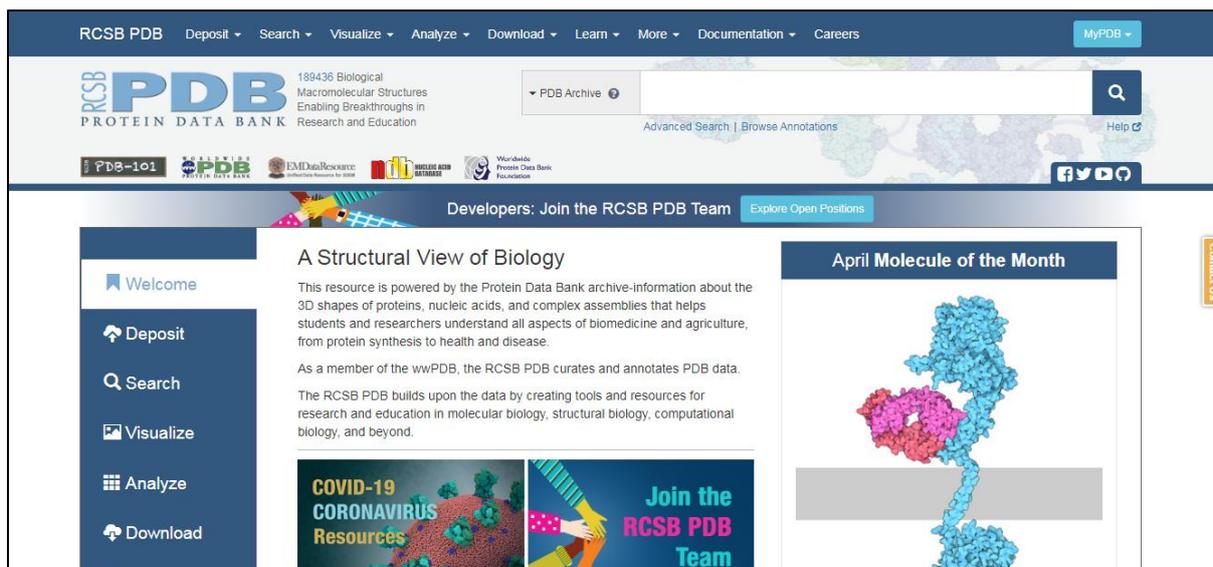


Figure 15: Page d'accueil de la PDB.

1.2.2. PubChem

Pubchem est une base de données de ligands (chimiothèque) créée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) qui contient des informations sur les structures chimiques, identifiants, propriétés physiques et chimiques, activités biologiques, tests biologiques, brevets, toxicité, etc., de petites molécules composés tels que les médicaments, nucléotides, peptides, mais aussi de macromolécules [49]. Cette banque de données a été utilisée dans notre travail pour obtenir des structures similaires (analogues structuraux) d'un ligand d'intérêt.

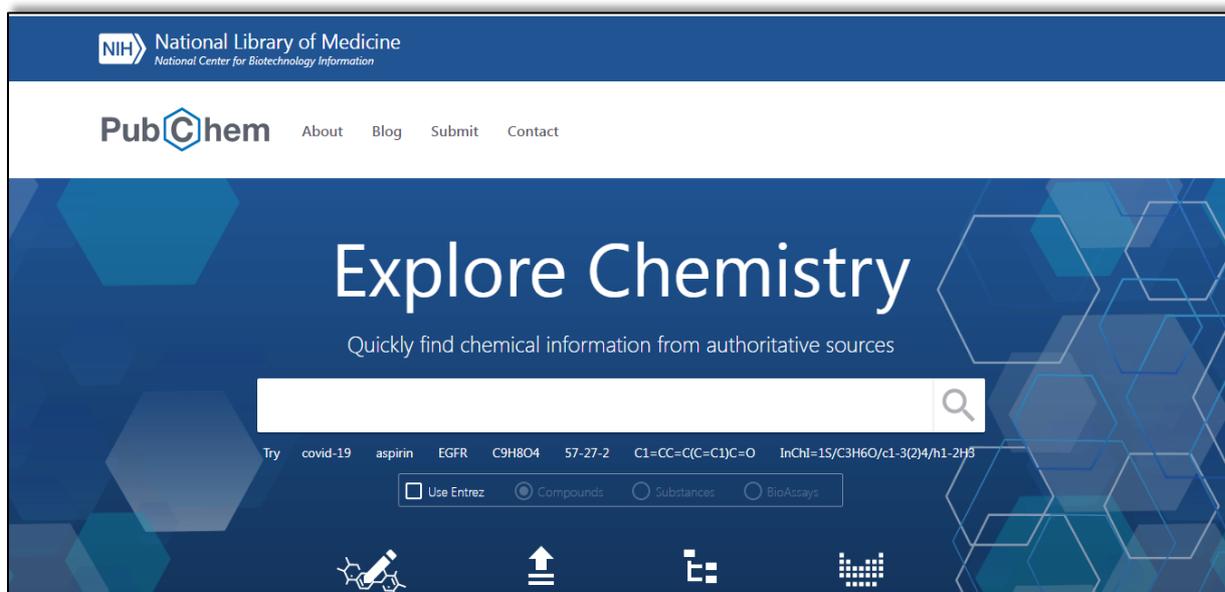


Figure 16: Page d'accueil de la PubChem.

1.2.3. SwissADME

Il s'agit d'un outil Web libre pour l'évaluation des propriétés physicochimiques et pharmacocinétique des différents ligands [50].

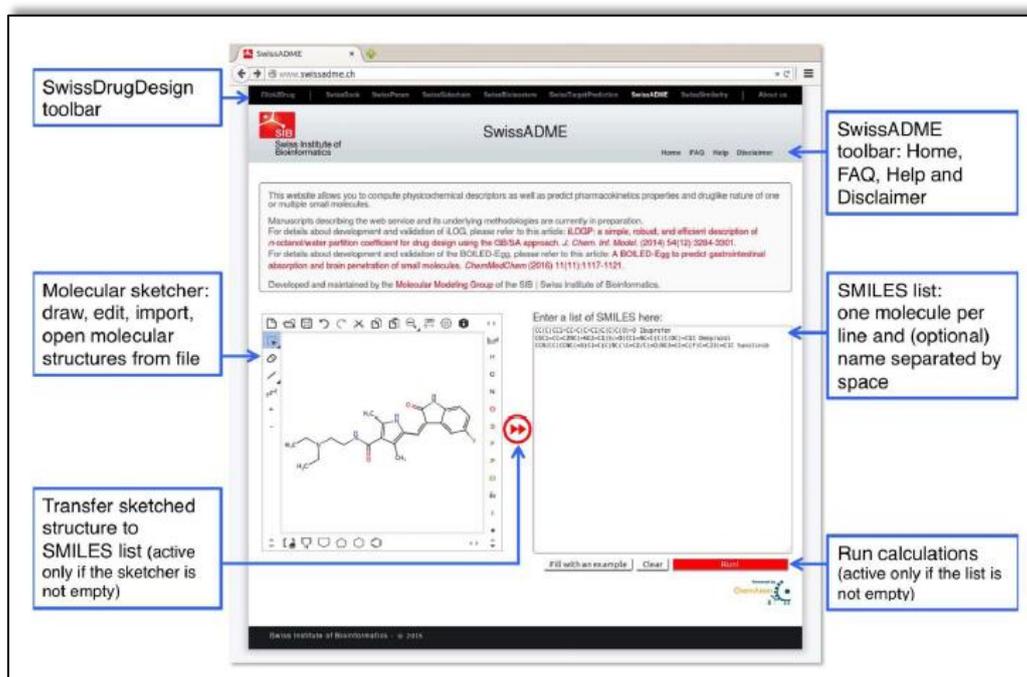


Figure 17: Page de soumission SwissADME.

2. Méthodes

2.1. Tests de fiabilité du programme de docking

Avant d'aborder l'étude *in silico* portant sur l'inhibition du macro domaine X de la NSP3 nous avons tout d'abord tenté d'évaluer la performance du logiciel Surflex-Dock par le test RMSD (Root Mean Square Deviation) suivi par une analyse visuelle.

2.1.1. RMSD

Le RMSD est la mesure de la distance moyenne entre les atomes des molécules superposées. Il est souvent utilisé pour valider le protocole du docking en comparant la conformation d'un complexe protéine-ligand conçu par le logiciel du docking vis-à-vis de la conformation cristallographique de référence (observée expérimentalement). Si le programme utilisé est capable de produire une pose similaire à la configuration expérimentale, cela signifie que le docking est validé. Il est considéré que les meilleurs logiciels de docking génèrent des valeurs RMSD inférieure à 2 Å. Cette valeur est un seuil au-dessus duquel la précision du

positionnement est jugée mauvaise, entraînant l'invalidation du protocole [51]. Dans notre travail, le test de RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand pris d'une manière arbitraire de la PDB, afin de tester la capacité du programme Surflex-Dock à reproduire le mieux possible les complexes expérimentaux. Ce test a été suivi par une analyse visuelle pour vérifier la superposition de la conformation d'un ligand donné vis-à-vis de sa pose expérimentale.

Les calculs des valeurs de RMSD sont effectués par le logiciel Surflex-Dock en utilisant la commande suivante :

❖ Surflex -dock rms ligand.mol2 final0.mol2

Si les valeurs obtenues de RMSD sont supérieures à 2 Å, il sera préférable d'optimiser les poses de docking en utilisant la commande suivante.

❖ Surflex-dock oprms ligand.mol2 final0.mol2

2.1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape complémentaire au test par RMSD permettant de vérifier la superposition de la pose théorique d'un ligand vis-à-vis de sa pose expérimentale de référence.

2.2. Choix de la cible

La structure cristallographique du macro domaine X de la NSP3 a été téléchargée de la banque de données PDB. Cette dernière nous a proposé 2 structures cristallographiques des complexes de cette enzyme avec un inhibiteur. Les caractéristiques de ces complexes sont représentées dans le tableau 2.

Tableau 2: Caractéristiques des complexes Macro domaine X-Inhibiteur.

Code PDB	Code de l'inhibiteur	Résolution (Å)	Nombre de chaînes
7QG7	U08	1.72	2
7JME	CMP	1.55	1

La résolution en angström de la protéine est un critère reflétant la qualité des structures ayant permis de construire le modèle cristallographique. La résolution proche de 1 Å permet de distinguer tous les atomes y compris les hydrogènes. Dans notre cas, nous avons choisi le complexe 7JME car il est défini par sa faible valeur de résolution 1,55 Å et une meilleure structure. Cette protéine se compose d'une seule chaîne A de 175 acides aminés, et complexée avec un inhibiteur portant le code CMP qui est ADENOSINE-3',5'-CYCLIC-MONOPHOSPHATE.

2.3. Préparation de la protéine

Un fichier de structure PDB typique n'est pas adapté pour une utilisation immédiate. Sa préparation précoce est indispensable avant de passer au docking moléculaire. Cette préparation consiste à ajouter les hydrogènes qui manquent et à éliminer les molécules d'eau. Par la suite, le fichier de la protéine a été converti en mol2.

2.4. Préparation du ligand

Dans cette étape, notre inhibiteur de référence CMP (ADENOSINE-3',5'-CYCLIC-MONOPHOSPHATE) a été pris comme structure de départ pour la recherche et la conception d'une chimiothèque de similaires chimiques via la PubChem. Ce ligand a été séparé de sa cible (7JME) puis converti au format mol2 à l'aide du logiciel Open Babel.

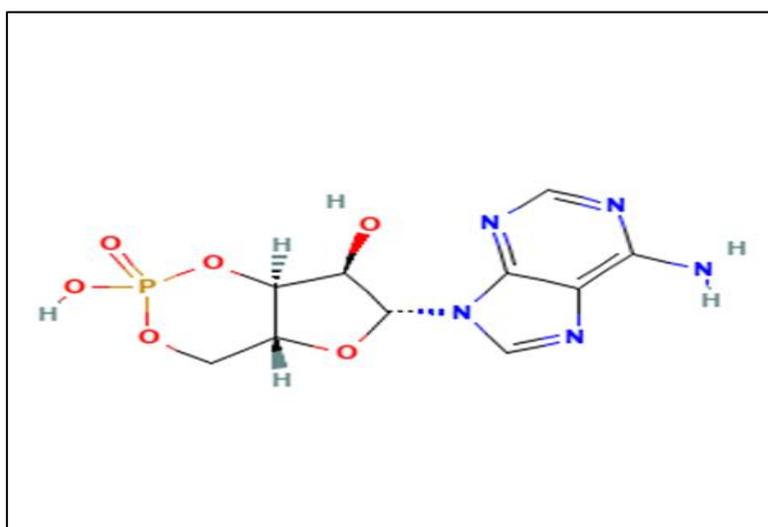


Figure 18: Structure 2D de l'inhibiteur CMP du complexe 7JME.

2.5. Docking moléculaire par Surflex

Le docking moléculaire a été effectué à l'aide du logiciel Surflex selon les étapes suivantes :

2.5.1. Génération du protomol

Avant d'effectuer les calculs de docking moléculaire, le programme Surflex procède à l'identification du site actif de l'enzyme en générant une pseudo-molécule appelée "protomol". Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

```
Surflex -dock proto ligand.mol2 proteine.mol2 pl
```

2.5.2. Docking moléculaire

Le docking moléculaire commence par une fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments obtenus permet de rechercher les meilleures conformations du ligand dans le site actif de l'enzyme. Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

```
Surflex -dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 proteine.mol2
```

2.5.3. Calcul de RMSD

Le calcul des valeurs du RMSD est effectué à l'aide de la commande suivante :

```
Surflex -dock rms ligand.mol2 final-0.mol2
```

2.5.4. Optimisation du RMSD

Si le RMSD obtenu est supérieur à 2 Å, le programme surflex peut optimiser la géométrie des ligands en utilisant la commande suivante :

```
Surflex -dock oprms ligand.mol2 final-0.mol2
```

2.6. Proposition de nouveaux inhibiteurs de Macro domaine X de la NSP3

L'inhibiteur CMP (ADENOSINE-3',5'-CYCLIC-MONOPHOSPHATE) du complexe 7JME a été pris comme structure initiale pour obtenir un ensemble de composés similaires via la base de données PubChem. Cette dernière a généré 247 similaires du composé d'origine avec degré de similarité de 98 %. Dans notre travail, les 100 premiers similaires chimiques du composé CMP ont été téléchargés en format sdf. Le docking moléculaire de ces composés à l'égard du site actif étudié nous permettra de révéler les inhibiteurs potentiels de notre enzyme cible.

2.7. Prédiction des Propriétés ADME

Au cours de la recherche pharmaceutique, les propriétés liées à l'Absorption, la Distribution, le Métabolisme, l'Élimination (ADME) sont essentielles à la réussite des étapes cliniques dans le cadre de la conception de nouveaux médicaments [52]. Pour vérifier les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de nos inhibiteurs identifiés du macro domaine X de la NSP3 du SARS CoV-2, une étude prédictive (in silico) a été menée en utilisant le serveur SuissADME [50].

2.7.1. Propriétés physico-chimiques

2.7.1.1. Règle de Lipinski

La "règle des cinq" de Lipinski a été introduite pour évaluer la biodisponibilité d'un composé chimique par voie orale pour caractériser les molécules de type médicament [53]. Selon cette règle, un composé a plus de chances d'être administré par voie orale s'il répond au minimum à 3 des 5 critères suivants :

- ❖ Le poids moléculaire (PM) ≤ 500 mol/g.
- ❖ Le nombre d'accepteur d'hydrogène (AH) (O ou N) ≤ 10 .
- ❖ Le nombre de donneur d'hydrogène(DH) (OH ou NH) ≤ 5 .
- ❖ Le nombre de liaisons flexibles (n.LF) ≤ 15 .
- ❖ Le coefficient de partition octanol / eau "logP" ou une lipophilie ≤ 5 .

2.7.1.2. Règle de Veber

Veber, D.F. et al ont apporté deux critères complémentaires à la règle des 5 pour une sélection plus stricte des composés « drug-like » administrés par voie orale [54] :

- ❖ La surface polaire de la molécule $TPSA \leq 140 \text{ \AA}^2$
- ❖ Nombre de liaisons à libre rotation ≤ 10 .

2.7.1.3. Solubilité dans l'eau et accessibilité à la synthèse chimique

En complément de ces règles, la vérification de la solubilité dans l'eau et l'accessibilité à la synthèse chimique ont été également prises en considération lors de la sélection des molécules candidates potentielles.

2.7.2. Propriétés pharmacocinétiques

L'étude du devenir du médicament dans l'organisme doit prendre en compte la présence de plusieurs barrières biologiques dans le corps humain protégeant le milieu interne de toutes les substances exogènes. Si le médicament arrive à pénétrer dans le corps, il y aura une série d'obstacles différents sur son chemin vers la cible. Ces obstacles comprennent principalement les barrières buccales, gastriques, intestinales, pulmonaires, hépatiques, rénales, hémato-encéphalique et cutanées. Le serveur SwissADME a été utilisé pour évaluer in silico le comportement de nos inhibiteurs à l'égard de ces barrières à savoir : l'Absorption gastro-intestinale, perméabilité hémato-encéphalique, l'inhibition des Cytochromes P450 ainsi que la perméabilité cellulaire [55]. [56].



Chapitre V
Résultats et
Discussion

1. Tests de fiabilité du programme de docking moléculaire

Avant d'étudier in silico l'inhibition du macro domaine X de la NSP3 par différentes molécules, il était primordial d'évaluer la fiabilité du programme Surflex, en faisant appel à deux tests différents :

- ❖ Le test par RMSD.
- ❖ L'analyse visuelle.

1.1. Test RMSD

Le teste RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéines-ligands tirés d'une façon aléatoire de la PDB. A titre de rappel, ce test permet d'évaluer la capacité du programme Surflex à prédire l'emplacement correct des ligands au sein de leur site actif. Il est considéré que les meilleurs logiciels de docking génèrent des valeurs RMSD inférieure à 2 Å. Les résultats obtenus dans notre travail sont représentés dans la figure N° 19.

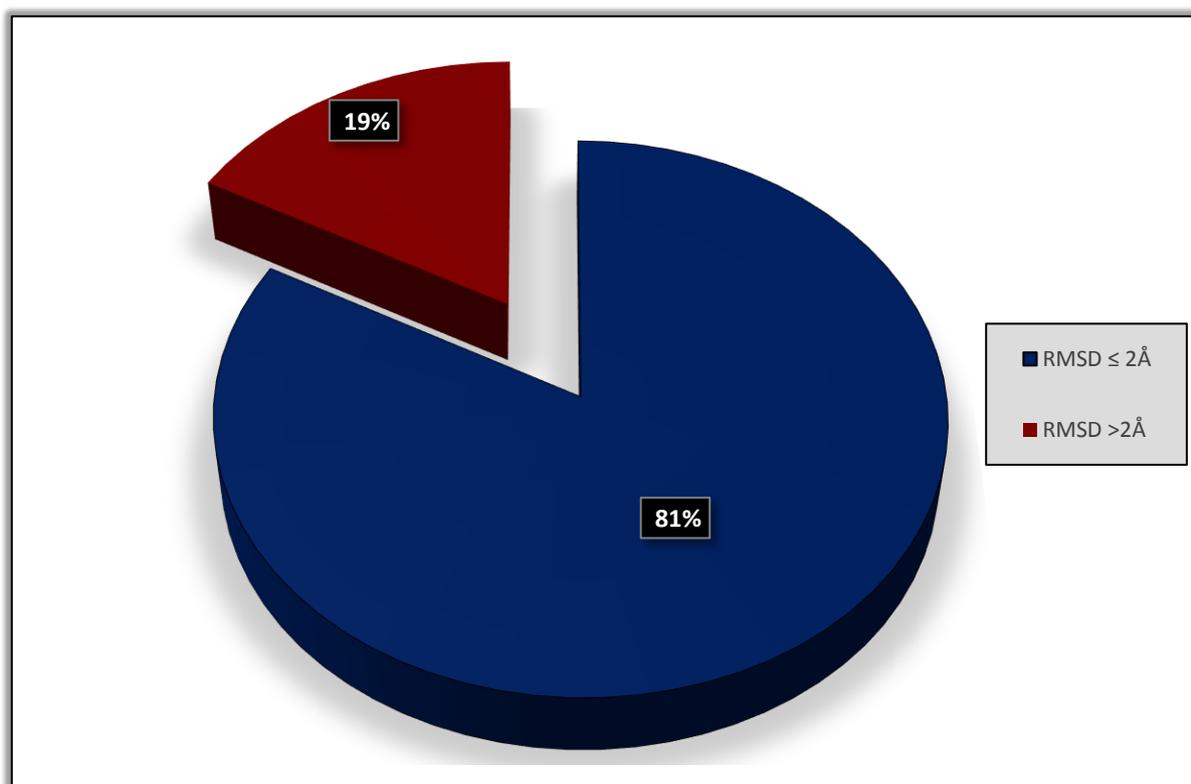


Figure 19: Résultat en pourcentage du test RMSD.

Il ressort de la figure 9 que 81% des complexes traités par le logiciel Surflex ont des valeurs RMSD inférieures à 2Å et que 19% seulement ont présenté des valeurs de RMSD supérieures à cette valeur norme. Ces résultats confirment ceux obtenus par TENIOU S et al (2012) qui révèlent un pourcentage de 85,8% de complexes avec des valeurs de RMSD parfaitement dans les normes. Ainsi, nous pouvons conclure que le programme Surflex est fiable permettant de stimuler correctement les interactions protéine-ligand.

1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle faisant suite au test par RMSD est aussi une étape très importante pour confirmer les résultats obtenus. Elle permet de mettre en évidence la superposition des poses des ligands générés par les logiciels vis-à-vis de ceux de référence. Dans notre cas, la figure N° 20, montre clairement une superposition de la pose expérimentale (de référence) du ligand CMP (colorée en rouge) vis-à-vis de celle proposée par Surflex (colorée en violet). Cette superposition confirme la faible valeur de RMSD générée par le logiciel (0.104Å).

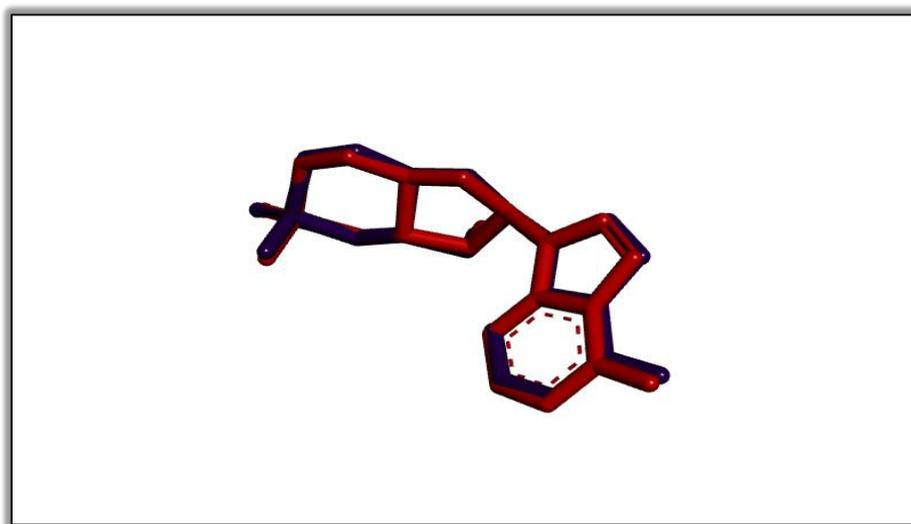


Figure 20: Superposition de la géométrie du ligand CMP du complexes 7JME obtenue par rayon-X(le rouge) et celle obtenue par Surflex(le violet).

1.3. Conclusion

À l'issue du test par RMSD et l'analyse visuelle, nous pouvons valider la performance du programme Surflex qui peut être utilisé sans risque d'erreurs dans notre travail du docking moléculaire, pour étudier *in silico* l'inhibition du macro domaine X de la NSP3.

2. Etude des interactions du Macro domaine X- inhibiteurs

En regard des publications énoncées dans le cadre de la COVID-19, très peu d'inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3 été découverts et reportés à travers la littérature. À ce titre, l'ADENOSINE-3'.5'-CYCLIC-MONO PHOSPHATE (CMP) est l'un des inhibiteurs de cette cible. Sa pose de référence existe dans la banque de données PDB en complexe avec le macro domaine X de la NSP3 (complexe 7JME). La reconstruction de ce complexe par docking moléculaire avec Surflex donne lieu à une affinité de $7.01M^{-1}$. L'analyse visuelle montre que ce composé est bien placé dans le site actif étudié avec la mise en place de plusieurs types d'interactions (Figure 21 et 22). En effet, 8 liaisons hydrogènes sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Ala242, Gly250, Val253, Ala254, Ser332, Ala333, Ile335 et Phe336. De plus, 3 liaisons carbone- hydrogène sont également formées entre la CMP et les résidus Ala243, Gly252 et Gly334.

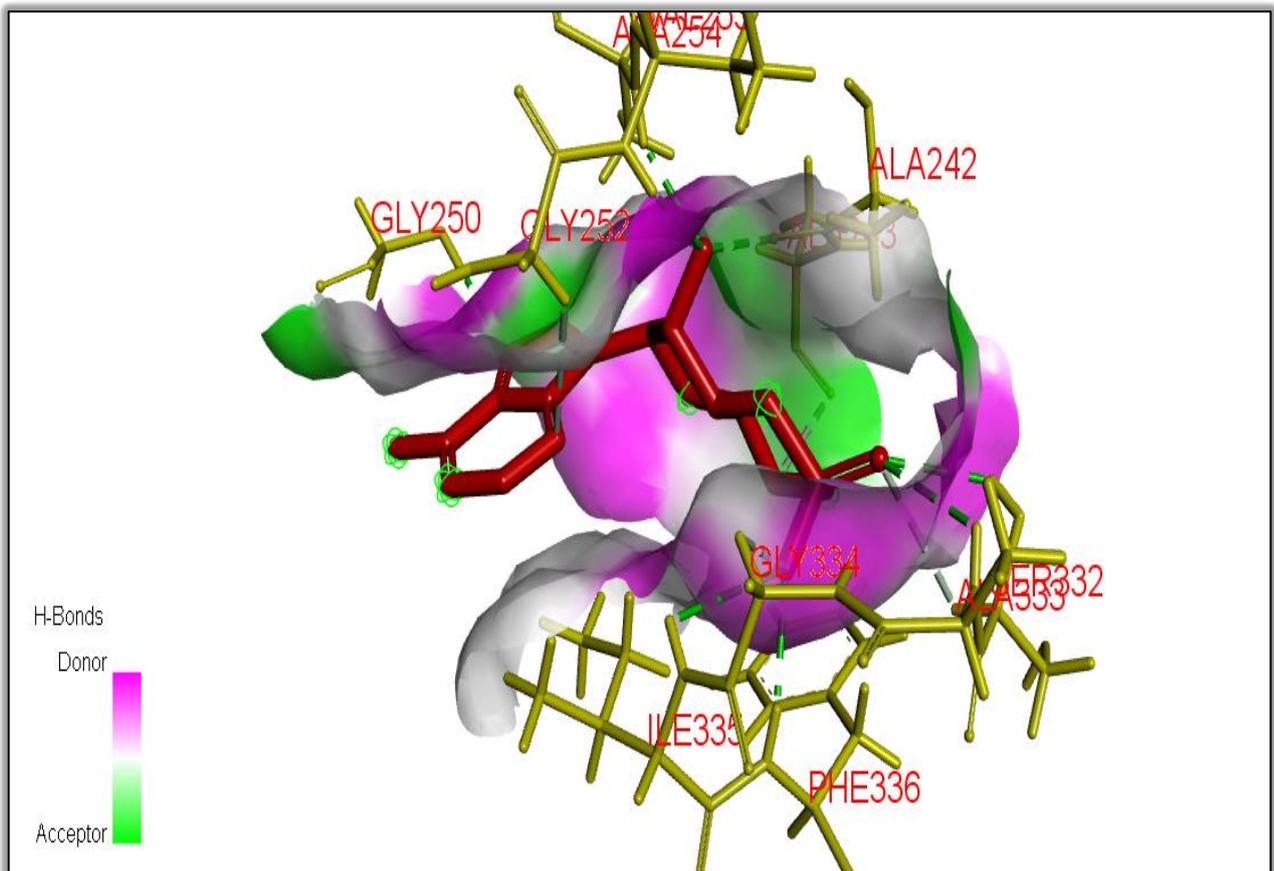


Figure 21: Analyse visuelle du mode d'interaction de CMP dans le site actif de la macro domaine X de la NSP3.

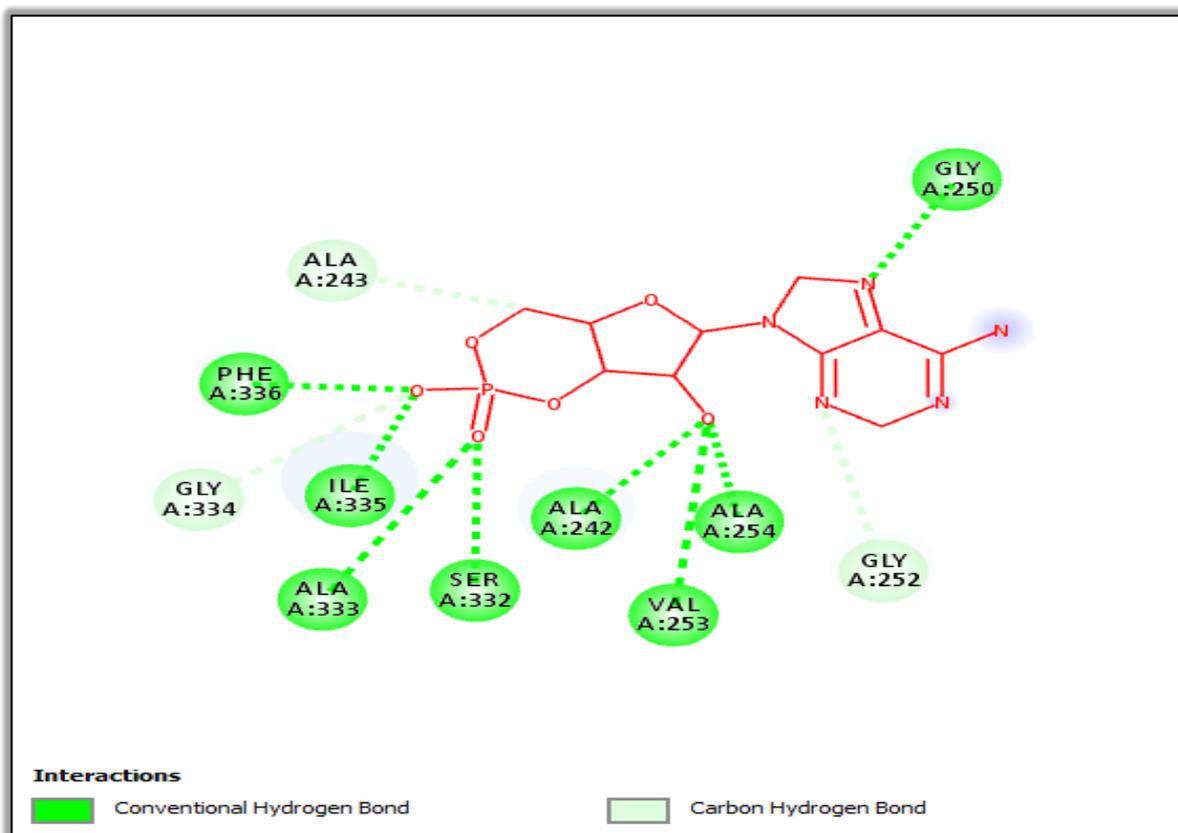
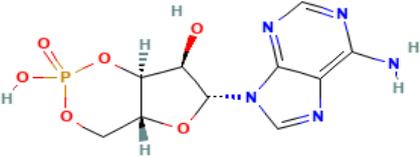
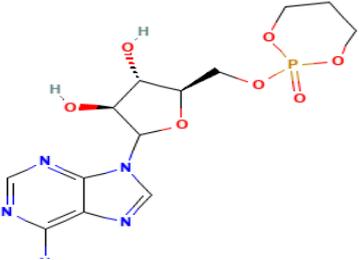
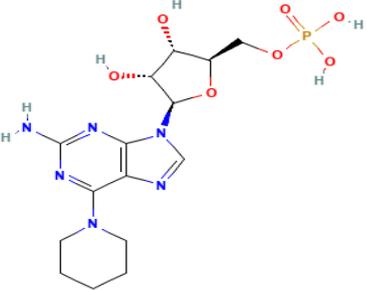


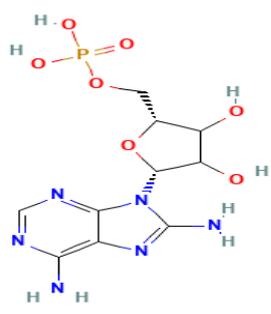
Figure 22: Diagramme des interactions du composé CMP dans le site actif du macro domaine X de la NSP3.

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs du Macro domaine X de la NSP3

Dans l'espoir de développer des nouveaux inhibiteurs plus puissants du macro domaine X de la NSP3, l'inhibiteur CMP du complexe 7JME a été pris comme structure de départ pour le criblage d'une collection de similaires chimiques. Dans cette optique, les 100 similaires chimiques de ce composé tirés de la PubChem ont fait l'objet du criblage virtuel à l'égard du site actif étudié. Les résultats obtenus révèlent 3 nouveaux inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3 avec un score bien meilleur que celui du composé de départ soit 7.01 M⁻¹ (Tableau N° 3).

Tableau 3: Numéro d'accèsion, score et structure 2D des trois meilleurs inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3.

Composé	Numéro d'accèsion	Score d'affinité M-1	Structure 2D
CMP	6076	7.01	
S53	132485	7.29	
S72	22803478	7.59	

S96	70387563	8.04	
-----	----------	------	---

4. Mode d'interaction des meilleurs inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3

Le composé S96 se présente le meilleur inhibiteur du macro domaine X de la NSP3 obtenu dans cette étude avec une affinité de 8.04 M⁻¹. L'analyse visuelle montre qu'il est bien placé dans la cavité catalytique de l'enzyme (Figure 23). Cette affinité se traduit par la mise en place de sept liaisons hydrogènes faisant intervenir les résidus Ala242, Gly251, Val253, Ala254, Leu330 et Ile335. De plus, deux interactions de type π -Amide formées avec Gly251 et une interaction de type π -Alkyle avec Ile335 participent à la stabilité du S96 dans le site actif étudié (Figure 24).

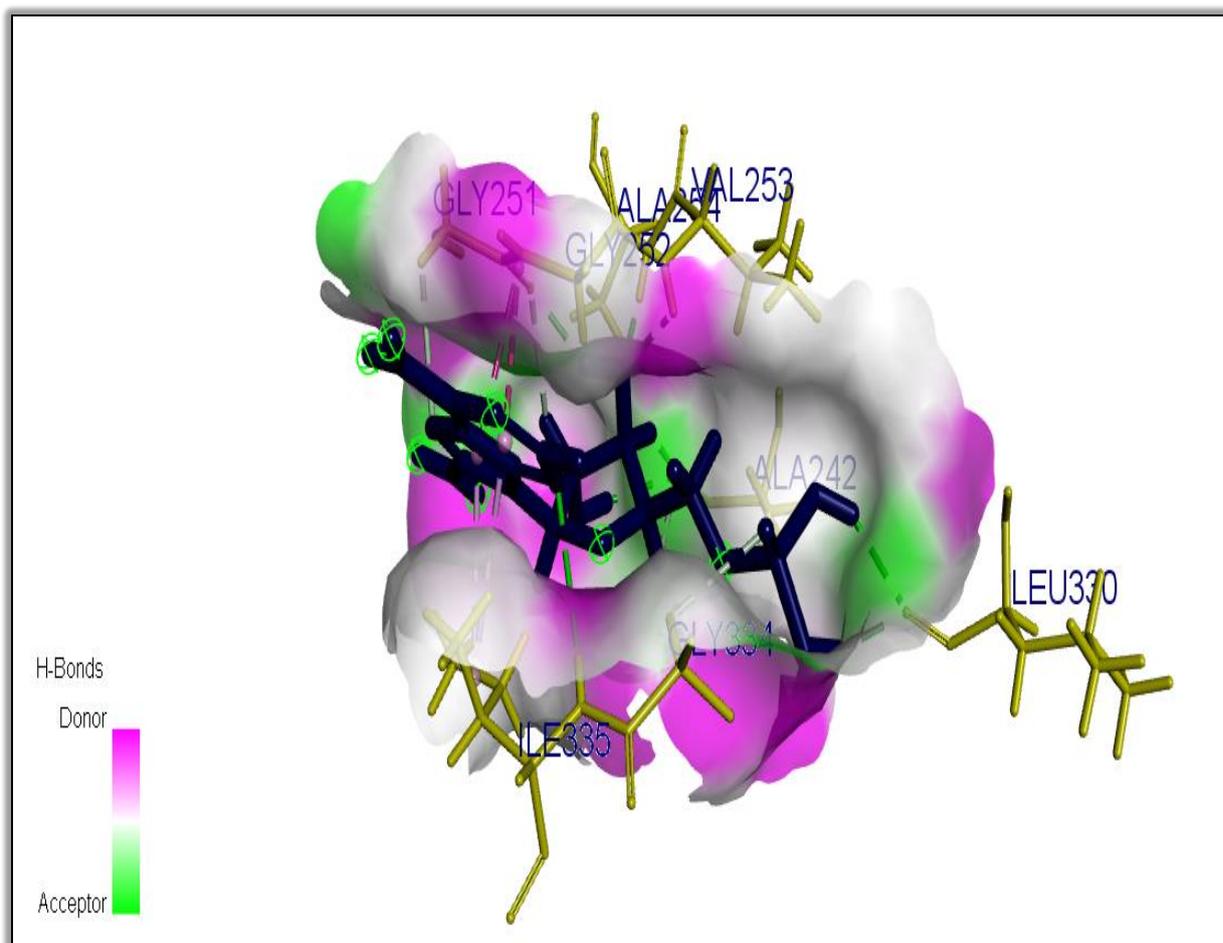


Figure 23: Analyse visuelle du mode d'interaction du composé S96 dans le site actif de la macro domaine X de la NSP3.

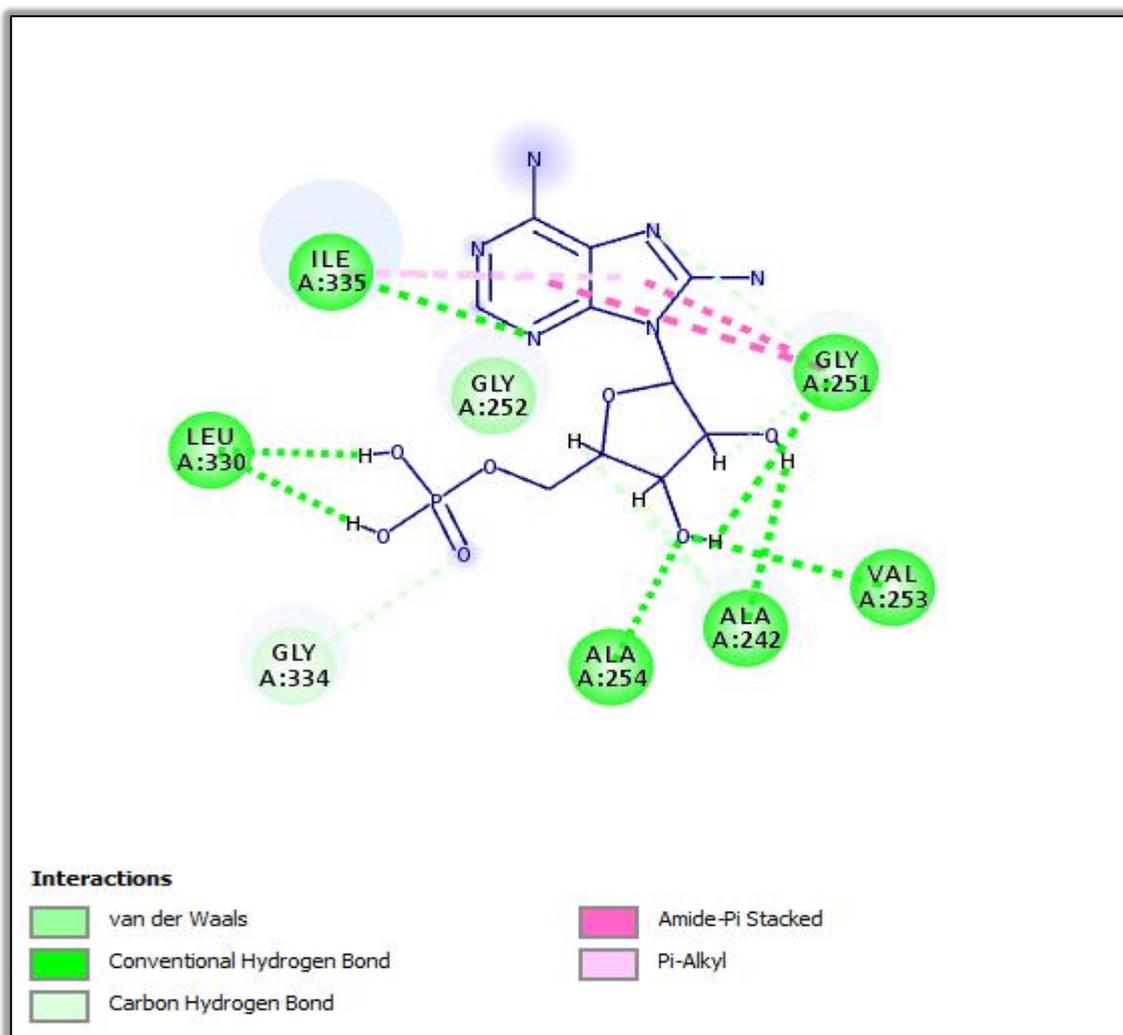


Figure 24: Diagramme des interactions du composé S96 dans le site actif du macro domaine X de la NSP3.

5. Evaluation des propriétés ADME

Afin de vérifier *in silico* si le composé S96 peut atteindre sa cible dans l'organisme en y restant suffisamment de temps pour induire son éventuel effet biologique, nous avons mené une étude prédictive de ses propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques en utilisant le serveur SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>).

5.1. Propriétés physico-chimiques

Dans notre travail, plusieurs propriétés physicochimiques du composé S96 sont simulées à savoir : le poids moléculaire, nombre de liaisons flexibles, le coefficient de partage logP, TPSA,...etc. Ces propriétés ont été également simulées pour le composé de départ CMP et aussi pour L'Oseltamivir ; un antiviral qui servira de standard. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°4.

Tableau 4: Propriétés physico-chimiques de CMP, S96 et Oseltamivir.

Propriétés	Ligand de départ CMP	meilleur similaire S96	Oseltamivir
Formule	C ₁₀ H ₁₂ N ₅ O ₆ P	C ₁₀ H ₁₅ N ₆ O ₇ P	C ₁₆ H ₂₈ N ₂ O ₄
PM (g/mol) Poids moléculaire	329.21 g/mol	362.24 g/mol	321.40 g/mol
nLF nombre de liaisons flexibles	1	4	9
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	9	10	5
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	3	6	2
Log P	-1.78	-2.96	1.38
TPSA Å	164.65Å	221.90Å	90.65Å
Règle de Lipinski	Parfaitement Conforme	Conforme (2infractions)	Parfaitement Conforme
Règle de Veber	Non (1 infraction)	Non (1infraction)	Parfaitement Conforme
Solubilité dans l'eau	Soluble	Soluble	Soluble
Accessibilité à la synthèse	4.30	4.43	4.44

Il ressort du tableau 4 que les composés CMP, Oseltamivir ainsi que S96 répondent à la règle de Lipinski. Cependant, ce dernier présente une infraction à la règle de Veber. D'autre part, le composé S96 a présenté une bonne solubilité dans l'eau et donc une bonne distribution. Avec

des valeurs moyennes de l'accessibilité à la synthèse chimique, le problème soulevé du TPSA peut être résolu lors de l'optimisation du composé S96.

5.2. Propriétés pharmacocinétiques

Les propriétés pharmacocinétiques telles que l'absorption gastrointestinale, la perméabilité hématoencéphalique et l'inhibition des cytochromes P450 ont été prédites pour les composés CMP, Oseltamivir et S96. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°5.

Tableau 5: Propriétés pharmacocinétiques des composés CMP, Oseltamivir et S96.

Propriétés	CMP	Meilleur similaire S96	Oseltamivir
GI absorption	Elevée	Faible	Elevée
BHE perméabilité	Faible	Faible	Faible
CYP1A2 inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP2C19 inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP2C9 Inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP2D6 inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP3A4 inhibition	Négative	Négative	Négative

La prédiction des propriétés pharmacocinétiques montre une faible absorption gastro-intestinale du composé S96 contrairement aux standards étudiés. Ceci peut être résolu lors de son optimisation. Avec une faible perméabilité hémato-encéphalique, ce composé ne pourra pas parvenir au système nerveux central ce qui permet d'éviter tout effet secondaire. Le composé S96 ainsi que les standards n'ont présenté aucun effet inhibiteur potentiel sur les cytochromes P450 et donc aucune interaction médicamenteuse. Il convient de mentionner que les cytochromes P450 sont responsables du métabolisme de la plupart des médicaments dans le foie.



Conclusion

Générale

Conclusion générale

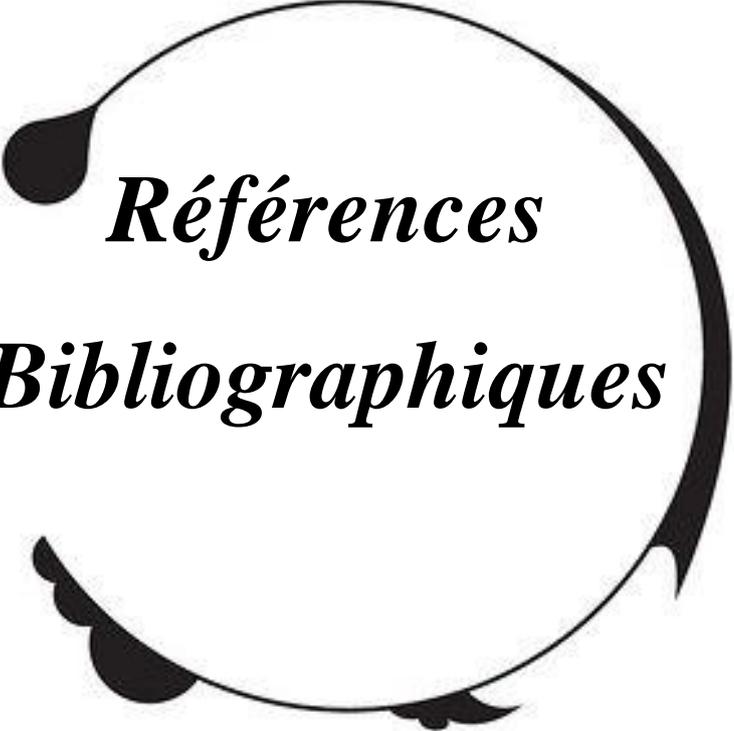
L'objectif essentiel de notre travail de Master était de proposer de nouveaux inhibiteurs potentiels du Macro domaine X de la NSP3 pour lutter contre le SARS CoV-2. Pour cela, nous avons fait appel aux approches par docking moléculaire avec Surflex.

Au préalable, nous avons testé la fiabilité du programme surflex par le test RMSD qui permet de calculer la déviation entre une pose expérimentale d'un ligand vis-à-vis de sa pose prédite par le programme. Ce test a été réalisé sur 100 complexes protéines -ligands tirés arbitrairement de la PDB. Par la suite, nous avons effectué une analyse visuelle afin de mettre en évidence la superposition du ligand simulé vis-à-vis de celui de référence. Avec 81% de valeurs de RMSD inférieurs à 2 Å et une superposition entre la pose théorique et celle expérimentale, nous pouvons conclure que ce programme est fiable et peut être utilisé sans trop risque d'erreurs dans notre étude pour développer de nouveaux inhibiteurs de la cible étudiée.

Dans la perspective de développer de nouveaux inhibiteurs plus puissants et plus sélectifs du Macro domaine X de la NSP3, le composé **CMP** du complexe **7JME** a été utilisé comme structure de départ. Avec un degré de similarité de 98 %, la banque de données PubChem nous a fourni une collection de 245 similaires chimiques. Le criblage virtuel de 100 similaires de cette collection à l'égard du site actif du Macro domaine X fait ressortir les composés **S53**, **S72** et **S96** comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme avec une affinité bien meilleure que celle du composé de départ soit 7.01 M⁻¹. Parmi ces composés, nous avons choisi le composé **S96** ayant la plus grande affinité à l'égard de la cible soit 8.04 M⁻¹.

Enfin, l'étude prédictive des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques nous renseigne de manière positive sur le profil ADME du composé **S96** qui pourrait être suggéré comme inhibiteur potentiel du Macro domaine X de la NSP3.

Comme perspective, il serait intéressant de tester in vitro et/ou in vivo l'activité biologique du composé **S96** afin de valider nos résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche in silico.



Références
Bibliographiques

- [1] Lone, S.A., and Ahmad, A. COVID-19 pandemic – an African perspective, *Emerging Microbes & Infections*. 2020 ; p 10.
- [2] Moutaouakkil, Y., Tadlaoui, Y., Bennana, A., Lamsaouri, J., Atbib, Y., et al. Les anti-inflammatoires et SARS-CoV-2 (COVID-19), douleur - évaluation - diagnostic - traitement. 2020 ; p 5.
- [3] Alhammad, Y.M.O., Kashipathy, M.M., Nonfoux, L., Battaile, P.K., Johnson, D.K., et al. The SARS-CoV-2 Conserved Macrodomein Is a Mono-ADP-Ribosylhydrolase, *Journal of Virology*. 2021 ; p 20.
- [4] Brosey, C.A., Zamal, A., Houli, J.H., Lichtarge, O., Katsonis, P. Targeting SARS-CoV-2 Nsp3 macrodomain structure with insights from human poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) structures with inhibitors. 2021 ; p 16.
- [5] Grosdidier, A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier faculté de pharmacie de Grenoble. 2007 ; p 92.
- [6] Kin, N., and Vabret A. Les infections à coronavirus humains, *Revue Francophone des Laboratoires*. 2016 ; p 10.
- [7] Risco, C., Anto, I.M., Enjuanes, L., and Carrascosa, J.L . The transmissible gastroenteritis coronavirus contains a spherical core shell consisting of M and N proteins, *Journal of Virology*. 1996 ; p 5.
- [8] Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Zhao, X., Tan, W., et al .A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China 2019, *New England Journal of Medicine*. 2020 ; p 7.
- [9] Suivez la propagation de la COVID-19 à travers le monde, LEDEVOIR. disponible sur: https://www.ledevoir.com/documents/special/20-03_covid19-carte-dynamique/index.html (consulté le 15-04-2022)
- [10] Algérie Presse Service, disponible sur:<https://www.aps.dz/sante-science-technologie/tag/Coronavirus> (consulté le 20-04-2022)
- [11] Karia, R., Ishita, G., Yadav, A., Khandait, H. COVID-19 and its Modes of Transmission, *SN Comprehensive Clinical Medicine*. 2020 ; p 4.

- [12] Cai, J., Sun, W., Huang, J., Gamber, M., Wu, J., He, G. Indirect Virus Transmission in Cluster of COVID-19 Cases, Wenzhou, China, 2020, *Emerging Infectious Diseases*. 2020 ; p 3.
- [13] Brlek, A., Vidovič, S., Vuzem, S., Turk, K., Simonović, Z. Possible indirect transmission of COVID-19 at a squash court, Slovenia, March 2020: case report, *Epidemiology & Infection*. 2020; p 3.
- [14] Hoffmann, M., et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor, *Cell*. 2020 ; p 1.
- [15] Breining, P., Frølund, A.N., Højen, J.F., Kjolby, M., Nielsen, L.P., et al. Camostat mesylate against SARS-CoV-2 and COVID-19—Rationale, dosing and safety, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2021 ; p 9.
- [16] Hafiz, M.N.L., Kenya, D.C., Muhammad, B., and Roberto, P.S. The Emergence of Novel-Coronavirus and its Replication Cycle – An Overview. *J*. 2020 ; p 5.
- [17] Pottegård, A., Lund, L.C., Karlstad, Q., Dahl, J., Andersen, M., et al. Arterial events, venous thromboembolism, thrombocytopenia, and bleeding after vaccination with Oxford-AstraZeneca ChAdOx1-S in Denmark and Norway: population based cohort study. 2021 ; p 10.
- [18] Ismail AlHosani, F., Eduardo Stanciole, A., Aden, B., Timoshkin, A., Najim, O. , et al. Impact of the Sinopharm's BBIBP-CorV vaccine in preventing hospital admissions and death in infected vaccinees: Results from a retrospective study in the emirate of Abu Dhabi, United Arab Emirates (UAE). 2022 ; p 8.
- [19] Zambrano, L.D., Laura, D., Margaret, M.N., Olson, S.M., et al. Effectiveness of BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) mRNA Vaccination Against Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Among Persons Aged 12–18 Years — United States, July–December 2021. 2022 ; p 7.
- [20] Russo, L.C., Tomasin, R., Matos, I.A., Manucci, A.C., Sven, T., et al. The SARS-CoV-2 Nsp3 macrodomain reverses PARP9/DTX3L-dependent ADP-ribosylation induced by interferon signaling. *Journal of Biological Chemistry*. 2021 ; p 14.
- [21] Dasovich, M., Zhuo, J., Goodman, J.A., Thomas, A., McPherson, L.R., et al. High-Throughput Activity Assay for Screening Inhibitors of the SARS-CoV-2 Mac1 Macrodomain. *ACS Chemical Biology*. 2022 ; p 7.

- [22] Lei, J., Kusov, Y., et Hilgenfeld, R. Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein', *Antiviral Research*. 2018 ; p 17.
- [23] Schuller, M., Correy, G.J., Gahbauer, S., Fearon, D., Wu, T., et al. Fragment binding to the Nsp3 macrodomain of SARS-CoV-2 identified through crystallographic screening and computational docking, *Science Advances*. 2022 ; p 24.
- [24] Li, M., Ye, G., Si, Y., Shen, Z., Liu, Z., et al. Structure of the multiple functional domains from coronavirus non structural protein 3, *Emerging Microbes & Infections*. 2021 ; p 16.
- [25] Hoch, N.C. Host ADP-ribosylation and the SARS-CoV-2 macrodomain, *Biochemical Society Transactions*. 2021 ; p 11.
- [26] Zorzini, V., Zhu, Z., Schuller, M., Ahel, D., Ahel, I., et Rack, J.G.M. Macrodomaines viraux : une évaluation structurale et évolutive du potentiel pharmacologique, *Open Biology*, royalsocietypublishing.org/journal/rsob. 2020 ; p 21.
- [27] Empereur-Mot C. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Paris : Conservatoire National Des Arts et Métiers. France. 2017 ; p 26.
- [28] Mokrani, EL.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. Mémoire du magister d'Université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2012 ; p 75.
- [29] Boucherit, H., Chikhi, A., Bensegueni, A., Merzoug, A., et Mokrani, EL.H. « L'amarrage moléculaire : Une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose », vol. 2013 ; p 18.
- [30] Bouchrit, H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molécules. Thèse de magister en biochimie. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012 ; p 17.
- [31] Zoubiri, M., et Oulami, M. Etude in silico de l'inhibition de la 3-Chymotrypsinlike Protease en vue de combattre le Syndrome Respiratoire Aigue Sever (SRAS). Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2021 ; p 113.

- [32] Lagarde, N. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat Spécialité : Bioinformatique. École doctorale Abbé Grégoire France. 2014 ; p 123.
- [33] Bahita, S.S., et Hourri, L. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'Aldose réductase par docking moléculaire. Mémoire de master Spécialité : Biochimie Appliquée. Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie . 2019 ; p 25.
- [34] Rosenfeld, R., Vajda, S., et Delisi., C. Flexible docking and desing Animal Review of Biophysics Biomoleculr Structure. 1995 ; 677-700.
- [35] Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., et Bourne, P.E. The protein data bank. Nucleic Acids Research. 2000 ; 235-242.
- [36] Burley, S.K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich, S., Chen, L., Crichlow, G.V., et al. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences, Nucleic Acids Research. 2021 ; 437-451.
- [37] Grosdidier, A. Conception d ' un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives Aurélien Grosdidier To cite this version. 2015 ; p 92.
- [38] Fortuné, A. Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à L'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance. Thèse de doctorat d'université : Sciences du médicament. Grenoble : Université Joseph Fourier - Grenoble I. France. 2006 ; p 168.
- [39] Rudnitskaya, A., Török, B., et Török, M. Molecular docking of enzyme inhibitors. Biochemistry and Molecular Biology Education. 2010 ; 261-265.
- [40] Stefaniu, A. Introductory Chapter: Molecular docking and molecular dynamics techniques to achieve rational drug design. Molecular Docking and Molecular Dynamics. 2019 ; p 5.
- [41] Chaudhary, K.K., et Mishra, N. A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. Databases. 2016 ; p 4.
- [42] Pagadala, N.S., Syed, K., et Tuszynski, J. Software for molecular docking: a review. Biophysical Reviews. 2017 ; 91-102.

- [43] Hamena, K., et Necib, M. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la glutamate carboxypeptidase II pour le traitement des troubles neurologiques. Mémoire de master Spécialité : Biochimie Appliquée. Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie . 2020 ; p 14.
- [44] Zemouri, R., et Dehamchi, A. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5 pour le traitement de l'arthrose. Mémoire de master Spécialité : Biochimie Appliquée. Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie. 2019 ; p 20.
- [45] Bessadok, M.A. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique Structurale. Paris : université pierre et marie curie. France. 2011 ; p 189.
- [46] Cleves, AE., Jain, AN. Knowledge-guided docking : accurate prospective prediction of bound configurations of novel ligands using Surflex-Dock. J Comput Aided Mol Des. 2015 ; 485-509.
- [47] Boyle, O., Noel, M., Banck, M., Crain, A.J., Chris, M., Vandermeersch, T., Hutchison, G.R. Open Babel: An Open Chemical Toolbox. Journal of Cheminformatics. 2011 ; p 14.
- [48] Client, D.S., Studio, D., Discovery, T., et Client, S. Introduction to the Discovery Studio Client; 1-7.
- [49] Sunghwan, K., Paul, A.T., Bolton, E.E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., et al. PubChem Substance and Compound databases, Nucleic Acids Research, Volume44, Issue D1. 2016 ; 1202-1213.
- [50] Daina, A., Michielin, O., et Zoete, V. SwissADME : a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, Scientific Reports. 2017 ; p 13.
- [51] Kufareva, I., et Abagyan, R. Methods of protein structure comparison, Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.). 2012 ; 231-257.
- [52] Canault, B. Développement d'une platform de prediction in silico des propriétés d'Orléans. 2018.

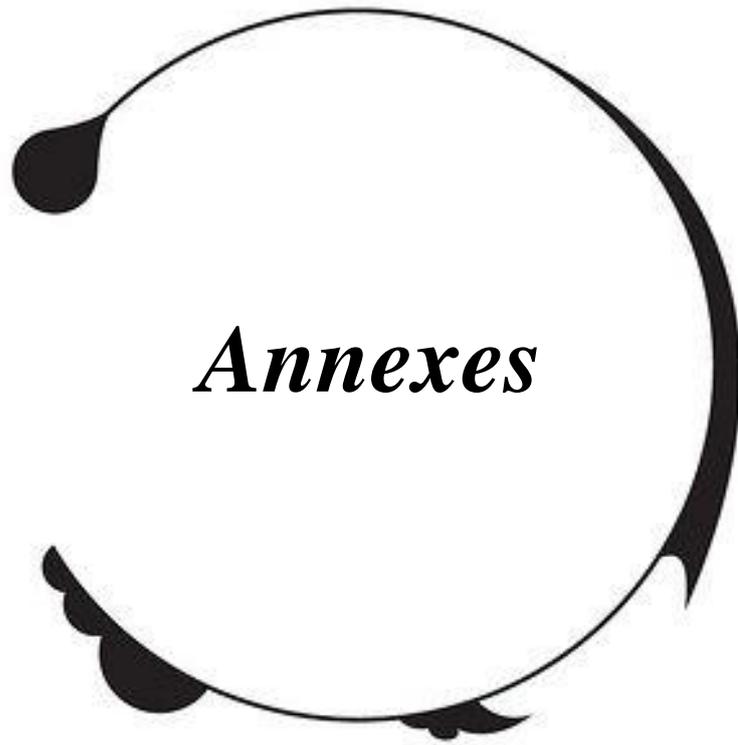
[53] Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997 ; 3-26.

[54] Veber, D.F., Johnson, S.R., Cheng, H.Y., Smith, B.R., Ward, K.W., et al. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. 2002 ; 2615-2623.

[55] Site du collège National de Pharmacologie Médicale, « Repenses d'experts à vos questions sur les médicaments et le COVID-19 » sur :

<https://pharmacomedicale.org/> (consulté le 03-05-2022).

[56] Bodor, N., Buchwald, P. Recent advances in the brain targeting of neuropharmaceuticals by chemical delivery *Reviews*. 1999 ; 229-254



Annexes

Annexe 1 : Liste des 100 complexes utilisés pour tester la fiabilité du protocole de docking.

N°	Code PDB	Code ligand	RMSD (Å)
1	1AIM	ZYA	1.437
2	1C84	761	1.694
3	1C1C	612	0.376
4	1EB2	BPO	2.350
5	1FK9	EFZ	0.252
6	1G36	R11	1.515
7	1HPX	KNI	0.754
8	1H39	R03	0.666
9	1HGG	NAG	0.605
10	1IVS	VAA	1.688
11	1K1M	FD4	1.805
12	1K1N	CCR	1.945
13	1NDV	FR0	1.676
14	1NMS	161	1.166
15	1O79	R23	3.55
16	1QPL	587	2.34
17	1RTI	HEF	1.528
18	1T40	ID5	1.908
19	1TKT	H12	0.323
20	1TL1	H18	1.938
21	1VRU	AAP	1.656
22	1VYZ	N5B	1.656
23	1YKR	628	1.687
24	1ZVX	FIN	0.652
25	2ABI	1CA	1.17
26	2ANO	26	2ANO
27	2AUX	27	2AUX
28	2BKZ	28	2BKZ
29	2B5J	29	2B5J
30	2BPM	30	2BPM
31	2F89	31	2F89

32	2FDV	32	2FDV
33	2GZ8	33	2GZ8
34	2J5F	34	2J5F
35	2ONZ	35	2ONZ
36	2QDH	36	2QDH
37	2R3N	SCZ	1.432
38	2R4B	GW7	1.011
39	2VG6	NWB	0.45
40	2WOM	ZZE	1.167
41	2WON	ZZE	0.772
42	3K5F	AYH	0.514
43	3K37	BCZ	2.988
44	3K6L	2BB	1.315
45	3KOO	24D	3.163
46	3LjT	LA3	1.841
47	3NZA	D2K	0.642
48	3NZD	D2Q	0.834
49	3OF8	I0Y	1.443
50	3OAP	9CR	2.551
51	3O0U	O47	0.171
52	3QTS	X46	1.512
53	3QKK	X02	2.516
54	3QTQ	X35	2.034
55	3QTZ	X42	2.438
56	3QTU	X44	1.534
57	3R01	UNE	0.07
58	3R8U	Z31	1.89
59	3R8V	Z62	0.779
60	3RTT	KLH	1.425
61	3S00	Z60	0.309
62	3S79	ASD	0.042
63	3TPP	5HA	2.127
64	4ACU	QN7	1.456
65	4EBV	007	1.132
66	4G9C	0WP	1.736

67	4GLX	0XS	0.036
68	4GL5	G29	1.497
69	4HOE	18G	1.07
70	4IKR	PVP	0.703
71	4IKS	TFD	1.723
72	4JPE	1M7	0.061
73	4LXM	1YU	2.558
74	4M7V	RAR	2.704
75	4NCM	704	2.751
76	4PNC	7NP	0.047
77	4WK7	3PQ	1.188
78	4WKE	3PU	1.588
79	4WY1	3VO	0.087
80	5CLU	S8A	1.600
81	5F94	3UO	0.778
82	5HVT	NVS	1.586
83	5HLP	65A	1.71
84	5ISP	U06	0.613
85	5JF1	BB2	1.768
86	5JL9	ASD	0.869
87	5QCN	BVM	0.778
88	5SZ7	72H	0.278
89	5ZA7	HMX	1.768
90	5ZAG	94I	1.681
91	5ZAH	30I	1.803
92	5ZC5	09I	2.668
93	6AAH	9T6	1.028
94	6MDB	JE4	2.696
95	6MDD	JE7	2.832
96	6OHS	MJY	1.984
97	6SUK	FT8	0.602
98	7JRN	TTT	1.204
99	7K40	U5G	1.251
100	7TLN	INC	4.38

Annexe 2 : Tableau des 100 similaires issu de la PubChem avec leur score.

N°	Pubchem ID	Score (final0)
S1	6083	6.31
S2	6076	5.87
S3	41211	3.48
S4	94136	4.32
S5	7059571	5.42
S6	34768	7.02
S7	100299	6.39
S8	15938965	4.89
S9	23669773	5.87
S10	224	5.78
S11	83862	6.31
S12	169185	4.45
S13	3013082	5.12
S14	12358355	6.70
S15	15938966	2.51
S16	53481006	4.76
S17	274	2.60
S18	323587	4.33
S19	440315	6.83
S20	23421209	4.90
S21	193895	4.81
S22	256106	2.91
S23	6603718	5.04
S24	23616165	5.87
S25	256105	5.37
S26	446488	5.74
S27	644264	6.31
S28	4132952	5.74
S29	6714006	7.02
S30	21189377	2.60
S31	21786111	4.16
S32	23902375	4.85
S33	78225644	6.57
S34	290479	3.38
S35	1780944	3.95
S36	3450688	4.96
S37	6338568	3.97

S38	6604194	4.83
S39	12071879	6.94
S40	12358318	3.34
S41	13823553	4.90
S42	22806693	4.54
S43	25322946	4.71
S44	25322948	6.42
S45	45358029	3.56
S46	46874558	6.25
S47	56992563	5.02
S48	57183118	2.50
S49	57358045	4.51
S50	69131819	5.87
S51	638042	5.29
S52	92144436	1.88
S53	132485	7.29
S54	216878	5.86
S55	324113	6.23
S56	352020	4.82
S57	446048	6.31
S58	22803666	2.66
S59	3080770	4.45
S60	3246347	5.01
S61	3482394	6.02
S62	3554458	3.98
S63	5316444	5.79
S64	6713792	3.94
S65	12358354	4.57
S66	14017900	2.39
S67	14185387	6.16
S68	15081097	5.20
S69	16212025	4.53
S70	134820273	5.98
S71	16760266	3.13
S72	22803478	7.59
S73	153693945	3.43
S74	12866365	6.78
S75	25074416	5.35
S76	40467852	4.53
S77	40469467	3.91

S78	40469468	3.33
S79	42609785	3.86
S80	44348067	1.92
S81	515384	6.78
S82	46936820	6.07
S83	54277447	3.68
S84	57461573	4.67
S85	57879890	3.59
S86	57879893	3.46
S87	57994455	3.97
S88	129093363	6.82
S89	59057550	3.44
S90	59112131	3.29
S91	60046036	5.26
S92	129034209	5.57
S93	92022826	5.83
S94	68668347	4.41
S95	90678750	6.05
S96	70387563	8.04
S97	70917665	4.53
S98	90678749	4.72
S99	90678741	3.30
S100	90678742	3.11



Résumé

Résumé

Fin 2019, un nouveau coronavirus apparu en Chine à partir de chauve-souris infectées. Ce virus, responsable du syndrome respiratoire aigue sévère, se propage rapidement et provoque un effet catastrophique sur la population mondiale. Dans cette étude, nous avons tenté de développer in silico de nouveaux inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3, cible thérapeutique pour lutter contre le SARS-CoV-2. Dans ce contexte, le criblage virtuel d'une collection de 100 similaires chimiques du ligand ADENOSINE-3',5'-CYCLIC-MONOPHOSPHATE fait ressortir les composés **S53**, **S72** et **S96** comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme avec des affinités meilleures que celle du composé de départ soit 7.01M⁻¹. Le composé **S96** sort du lot avec une meilleure affinité à l'égard de la cible soit 8.04 M⁻¹ et un bon profil ADME.

Mots clés: COVID-19, Docking moléculaire, surflex. Macro domaine X, NSP3, inhibiteur.

Abstract

In late 2019, a new coronavirus appeared in China from infected bats. This virus, responsible for severe acute respiratory syndrome (SARS), spreads rapidly and causes a catastrophic effect on the world population. In this study, we attempted to develop in silico new inhibitors of the macro X domain NSP3, a therapeutic target to fight against SARS-CoV-2. In this context, the virtual screening of a chemical library of 100 similar chemicals of the ligand ADENOSINE-3', 5'-CYCLIC-MONOPHOSPHATE highlights compounds **S53**, **S72** and **S96** as new inhibitors of this enzyme with affinities better than that of the starting compound: 7.01 M^{-1} . The compound **S96** stands out with a better affinity towards the target of 8.04 M^{-1} and a good ADME.

Key words: COVID-19, Molecular docking, surflex. Macro X domain, NSP3, Inhibitor.

الملخص

في نهاية عام 2019، ظهر فيروس كورونا جديد في الصين من الخفافيش المصابة. ينتشر هذا الفيروس، المسؤول عن مرض الالتهاب الرئوي الحاد (سارس)، بسرعة ويسبب تأثيرًا كارثيًا على سكان العالم.

في العمل الحالي، حاولنا تطوير مثبطات جديدة نظرية ل Macro domaine X NSP3 وهو هدف علاجي

لمحاربة فيروس كورونا SARS-COV2. من أجل ذلك تم إجراء فحص افتراضي على 100 جزيئة مماثلة

لمادة المركب ADENOSINE-3', 5' -CYCLIC-MONOPHOSPHATE يسلط الضوء على المركبات

S72, S53, S96 كمثبطات جديدة مع تقارب أفضل من مركب البداية أي 1-7.01 M.

المركب **S96** تم اختياره كأفضل مثبط ل Macro X domaine مع تقارب قوي 1-8.04M و

ADME جيد.

الكلمات المفتاحية: COVID-19 الالتحام الجزيئي، surflex، Macro X domaine، NSP3، مثبط .

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BOUKERROU Rayane
RAHAL Imene

Mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la NSP3 pour le traitement potentiel du SARS CoV-2

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

Fin 2019, un nouveau coronavirus apparu en Chine à partir de chauve-souris infectées. Ce virus, responsable du syndrome respiratoire aigue sévère, se propage rapidement et provoque un effet catastrophique sur la population mondiale. Dans cette étude, nous avons tenté de développer in silico de nouveaux inhibiteurs du macro domaine X de la NSP3, cible thérapeutique pour lutter contre le SARS-CoV-2. Dans ce contexte, le criblage virtuel d'une collection de 100 similaires chimiques du ligand ADENOSINE-3',5'-CYCLIC-MONOPHOSPHATE fait ressortir les composés **S53**, **S72** et **S96** comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme avec des affinités meilleures que celle du composé de départ soit 7.01M-1. Le composé **S96** sort du lot avec une meilleure affinité à l'égard de la cible soit 8.04 M-1 et un bon profil ADME.

Mots-clefs: COVID-19, Docking moléculaire, surflex. Macro domaine X, NSP3, inhibiteur.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de **Biochimie Appliquée** (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : MOKRANI E.H. (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : BENSEGUENI A. (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : GUENDOUCHE A. (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

