

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

قسم الميكروبيولوجيا
Département de Microbiologie
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs microbiens de la
Main protéase du SARS-CoV-2**

Présenté par : BOUTELDJA Selma
HANNACHI Yasmine
ZOUAK Fatiha

Le 26/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme. SEKHRI-ARAFA, Nedjoua (MCA – UFM, Constantine 1).
Examineur 1 : Mr. HAMIDECHI Abdelhafid (Professeur - UFM, Constantine 1).
Examineur 2 : Mr. BOULAHROUF Khaled (MCB - UFM, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 - 2022**

Remerciements

*El hamdouliallah, Nous remercions en premier lieu **ALLAH le tout puissant** qui nous a donné le courage, la patience et la volonté pour accomplir ce travail dans les meilleures conditions et dépasser toutes les difficultés que nous avons rencontrés au cours de sa réalisation.*

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements :

*A notre chère encadrante Mme. **SEKHRI-ARAF**A Nedjoud MCA au Département de Microbiologie(SNV, UMC), pour sa disponibilité, ses remarques constructives et la justesse de ses corrections durant toute la période du travail, pour la confiance qu'elle nous a accordée et son aide précieuse, sa patience, sa gentillesse, et ses qualités humaines.*

*Nos remerciements les plus vifs à **Mr. HAMIDECHI Abdelhafid** Professeur à L'université des Frères Mentouri Constantine 1, pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de notre mémoire.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à **Mr. BOULAHROUF Khaled** MCB au Département de Microbiologie (SNV, UMC), pour avoir accepté de juger ce travail, ainsi que pour son aide, ses conseils précieux, ses encouragements tout au long de notre travail.*

*Nous prenons aussi plaisir à remercier **Mr. MOKRANI Mohcen** MCB au Département de Biochimie (SNV, UMC), pour nous avoir reçu dans son laboratoire accompagné, aidé et contribué à la réalisation de la partie pratique de notre travail, sa patience et ces nombreux conseils pertinents .*

*Nous tenons également à remercier **Mme Gaci Meriem.** MCB au Département de Microbiologie (SNV, UMC) pour son aide précieuse et son guide dans notre travail. Un grand « **Merci** » à tous nos enseignants du parcours qui nous ont transmis notre savoir actuel tout au long de notre cursus.*

Enfin, nous remercions toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce mémoire



Dédicaces

Au nom d'ALLAH le Miséricordieux, le Clément.

D'abord je remercie Allah tout puissant d'avoir atteint ce stade de réussite,

*D'un profond amour et d'une immense gratitude je dédie ce mémoire :
À mon très cher papa, qui m'a toujours aidé et guidé vers le chemin de la
réussite.*

*À ma très chère maman, pour m'avoir toujours écoutée, pour son soutien
moral et ses précieux conseils, son encouragement ; sa patience, son amour.*

À ma tante Djemeaa, que Dieu la préserve.

*À mes collègues Selma et Yasmine qui m'ont soutenue et encouragée tout au
long de notre projet de fin d'études.*

*À toutes mes amies et mes sœurs que j'aime Hadjer, Lyliya, Imen, Samiha
Pour nos cinq ans ensemble, à nos moments de joie, de stress, de bonheur
.Merci de tout mon cœur.*

À ma cousine et ma plus belle sœur que j'aime beaucoup Romaiissa

À mes frères et mes sœurs, toute ma famille.

À tous mes collègues de promotion de master.

*À mes enseignants ainsi qu'à tous les étudiants de ma
Promotion.*

*À Toutes mes enseignantes de Coran dans ma vie, qui ont joué un grand rôle
dans ma discipline morale et religieuse.*

A tous ceux que j'aime.

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

Enfin, un grand « Merci » à tous nos enseignants du parcours.

FATIHA





Dédicaces

A celle qui ne cesse de se sacrifier pour moi, à ma fierté et mon bonheur, la source de mes efforts. À ma chère maman qui m'a donné l'amour, la confiance, avec un énorme plaisir, et une immense joie, je dédie ce travail pour ta permanente présence à mes côtés et ton soutien tout au long de ma vie.

Maman merci pour ta patience, tes encouragements et tes orientations durant toutes mes années d'études.

Je dédie ce travail aussi

A ma grand- mère qui m'a arrosée de tendresse et d'espoir et m'a béni par ses prières.

A mon cher père et mon grand frère grâce à vous j'ai appris le sens de la responsabilité, vigueur et l'intelligence émotionnelle. Je voudrais vous remercier pour l'amour, la générosité que vous m'avez donnée

A mes chères copines : Raounek, Asma, qui ont été ma source de motivation durant toute cette période. Vous êtes pour moi des amis sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble

A mes chères enseignantes Sekhri, Guergouri, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour elles. Je les remercie pour leur soutien moral et pour tous leurs précieux conseils qu'Allah vous protège et comble de bonheur et que la paix soit avec vous en toute heure.

À mon binôme du travail Selma et Fatiha, pour tous les moments que nous avons passés ensemble. Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées.

Mes collègues de la promotion de master BMM. À tous mes enseignants durant les années d'études

YASMINE





Dédicaces

Avec mes gratitudes les plus sincères, Je dédie ce mémoire :

À mes chers parents La lumière de ma vie qui ont œuvré pour ma réussite, pour leur amour, leur soutien, leur patience, tous leurs sacrifices consentis et leurs précieux conseils, pour toute leur aide et leur présence dans ma vie, veuillez recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A ma chère sœur, et mes chers frères, mes meilleures souvenirs sont à côté de vous, merci pour votre humer, votre folie, votre joie de vivre et surtout pour votre présence dans ma vie.

A toute l'équipe administrative de département de microbiologie SNV qui m'a soutenu toujours de différentes manières avant et durant ce travail.

A mes amies et binômes yasmine et fatiha pour leur aide, soutien, leur disponibilité et responsabilité ainsi que pour tous les moments de joie que l'on a passé ensemble durant ce travail.

Et enfin Je remercie toute personne qui a contribué à la réalisation de ce travail.

SELMA



Résumé

La pandémie de la COVID-19 causée par le virus *SARS-CoV-2*, a provoqué depuis le début de l'année 2020 jusqu'à ce jour plus de 5.3 millions de décès dans le monde entier.

Bien qu'il n'existe jusqu'à ce jour aucun médicament spécifique contre le *SARS-CoV-2*, les études progressent quotidiennement pour trouver de nouveaux médicaments permettant d'éradiquer ce virus.

Dans cette étude nous proposons de nouveaux inhibiteurs d'origine microbienne de la Main protéase qui représente une cible thérapeutique de *SARS-CoV-2*, en simulant *in silico* l'affinité de 68 composés extraits de la littérature envers la Mpro par l'utilisation du Docking Moléculaire.

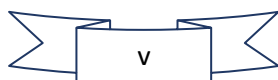
Cette méthode *in silico* consiste à prédire le mode d'interaction protéine-ligand, par le FlexX qui est parmi les programmes les plus utilisés dans cette approche.

Nos résultats montrent que 70% de valeurs RMSD calculées sont inférieures ou égales à 2Å ce qui confirme la performance de ce logiciel.

Notre étude révèle les composés 21, 48 et 55 comme des meilleurs inhibiteurs potentiels de la Mpro avec des scores soit -36,16kJ/mol, -28,38kJ/mol, et -27,01kJ/mol respectivement qui dépassent celui de référence N3 (-15,30kJ/mol).

Enfin, la prédiction des paramètres pharmaco-cinétiques et des propriétés physico-chimiques a montré que ces composés possèdent de bons profils ADME et peuvent être proposés comme des nouveaux inhibiteurs potentiels de la Mpro du *SARS-CoV-2*.

Mots clés: *SARS-CoV-2*, Main protéase, COVID-19, Docking Moléculaire, FlexX, inhibiteurs microbiens.



Abstract

The covid-19 pandemic caused by SARS-CoV-2 virus, has caused more than 5.3 million deaths worldwide since the beginning of 2020.

Although there is no specific drug against SARS-CoV-2 until now, studies are daily progressing to find new drugs to eradicate this virus.

In this study we propose new microbial inhibitors of the main protease which represents a therapeutic target of SARS-CoV-2, by the simulation in silico the affinity of 68 compounds extracted from the literature towards the Mpro by using molecular Docking.

This method consists in predicting the protein-ligand interaction mode by Flexx, it's among the most used programs in this approach.

Our results show that 70% of the calculated RMSD values are less than or equal to 2Å which confirms the performance of this software.

Our study reveals compounds 21, 48 and 55 as the best potential Mpro inhibitors with scores of -36.16kJ/mol, -28.38kJ/mol, and -27.01kJ/mol respectively which exceed that of reference N3 (-15.30 kJ/mol).

Finally, the prediction of pharmaco-kinetic parameters and physic-chemical properties showed that these compounds have good ADME profiles, and they can be proposes as new potentials inhibitors against the Mpro of SARS-CoV-2.

Key words

SARS-CoV-2, Main protease, COVID-19, Molecular Docking, FlexX, microbial inhibitors.

ملخص

تسببت جائحة COVID-19 الناجمة عن فيروس SARS-CoV-2 في وفاة أكثر من 5.3 مليون شخص في جميع أنحاء العالم منذ بداية عام 2020 حتى يومنا هذا. على الرغم من عدم وجود دواء محدد حتى الآن ضد SARS-CoV-2، إلا أن الدراسات تتقدم يوميًا للعثور على أدوية جديدة للقضاء على هذا الفيروس.

في هذه الدراسة، نقترح مثبطات جديدة من أصل ميكروبي للبروتياز الرئيسي والذي يمثل هدفًا علاجيًا لـ SARS-CoV-2، بواسطة محاكاة جاذبية 68 مركبًا تجاه Mpro باستخدام الإرساء الجزيئي. تعتمد هذه الطريقة على التنبؤ بطريقة تفاعل البروتين مع الرابط، ويعد FlexX من بين البرامج الأكثر استخدامًا في هذا النهج.

تظهر نتائجنا أن 70% من قيم RMSD التي تم حسابها أقل من أو تساوي 2 Å، مما يؤكد فعالية هذا البرنامج. كشفت دراساتنا أن المركبات 21 و 48 و 55 هي أفضل المثبطات المحتملة لـ Mpro بنتائج 36.16 kJ/mol، 28.38 kJ/mol، و 27.01 kJ/mol على التوالي والتي تتجاوز تلك الخاصة بالمركب المرجعي (15.30 -15.30 kJ/mol).

أخيرًا، أظهرت الدراسة التنبؤية للخصائص الحركية الدوائية والفيزيائية والكيميائية أن هذه المركبات تمتلك خصائص ADME جيدة و يمكن اقتراحهم كمثبطات جديدة للبروتياز الرئيسي الخاص بالـ SARS-CoV-2.

الكلمات المفتاحية

مثبطات ميكروبية، البروتياز الرئيسي، الإرساء الجزيئي، FlexX، COVID-19، SARS-CoV-2

Liste des abréviations

ACE 2	<i>Angiotensin-converting enzyme 2</i>
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	ADN complémentaire
AEC	<i>acyl-enzyme Complex</i>
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion
BBB	<i>Blood–Brain Barrier</i>
COVID-19	<i>Coronavirus Disease 2019</i>
CoV	Coronavirus
CITV	Comité international de taxonomie des virus
CI50	Concentration inhibitrice 50
CYP	Cytochrome
DDP4	Dipeptidyl peptidase 4
GLP-1	<i>Glucagon -like peptide -1</i>
GI	Absorption gastro-intestinal
HCoV	<i>Human Coronaviruses</i>
HCoV-229E	<i>Human coronavirus 229E</i>
HCoV-HKU1	<i>Human coronavirus HKU1</i>
HCoV-NL63	<i>Human coronavirus NL63</i>
HCoV-OC43	<i>Human coronavirus OC43</i>
HR	<i>heptad repeat</i>
HTS	<i>High technologie system</i>
H1N1	virus de la grippe A sous types <i>H1N1</i>
H3N2	virus de la grippe a sous types <i>H3N2</i>
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
Ip	Inhibiteur de protéase
Kb	Kilo-bases
kDa	kiloDalton
MERS-CoV	<i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
Mpro	Main protéase
NPL	Nanoparticules lipidiques
NSP	<i>Non-structural proteins</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information.</i>

NIH	<i>National Institute of Health.</i>
ORF	<i>Open Reading Frame</i>
PMAP	<i>Proteolysis Map</i>
PLpro	<i>Papain-like protease</i>
pp	polyprotéine
pp1a	Poly-protéine 1a
pp1ab	Poly-protéine 1ab
PAV	Peptide anti-viral
PSM	Polysaccharides microbiens
RBD	<i>Receptor Binding Domain</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
PDB	<i>Protéine data bank</i>
RT-qPCR	<i>Retro-Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
RdRp	<i>ARN-dépendantes ARN polymérase</i>
RTC	<i>Replication-Transcription Complex</i>
RMN	Résonance magnétique nucléaire
SARS-CoV-1	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-1</i>
SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2</i>
SRT	Séquences de régulation transcriptionnelle
SIDA	Syndrome d'Immuno Déficience Acquis
THA	Thio-hemiketal
VIH	Virus d'Immuno déficience Humaine
VHC	Virus de l'hépatite C
VOC	<i>Variant of concern</i>
VOI	<i>Variant of interest</i>
VHS	<i>Virus herpes simplex</i>
3CL pro	<i>3 Chymotrypsine-like protease</i>

Glossaire

Atome électronégatif

Atome est une grandeur physique qui caractérise sa capacité à attirer les électrons lors de la formation d'une liaison chimique avec un autre atome.

Cadre de lecture

En biologie moléculaire, un cadre de lecture est un mode de regroupement des nucléotides constituant la séquence d'un acide nucléique en triplets consécutifs.

Chimiothèque

Collection de molécules dont les structures et éventuellement les propriétés sont archivées sous un format électronique.

Chymotrypsine

La chymotrypsine est une peptidase digestive sécrétée par le pancréas, de la famille des protéases à sérine.

In silico

Recherche ou un essai effectué au moyen de calculs complexes informatisés ou de modèles informatiques.

Nucléophile

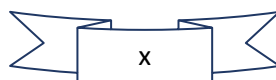
Substance possédant un excès de charge négative ou un doublet non liant, est un composé chimique attiré par les espèces chargées positivement, par opposition à un composé électrophile.

Tropisme tissulaire

Le tropisme d'un virus se définit comme l'ensemble des cellules cibles et permissives à ce virus.

Sites en tandem

Une répétition en tandem est une suite de plusieurs motifs de nucléotides adjacents dans une séquence d'ADN et qui se répètent à l'identique.



Listes des figures

Figure 1 : Particule de coronavirus en microscope électronique	3
Figure 2 : Arrangement génomique du <i>SARS-CoV-2</i>	6
Figure 3 : Structure du virus <i>SARS-CoV-2</i>	8
Figure 4 : Cycle de multiplication du <i>SARS-CoV-2</i>	9
Figure 5 : La structure cristalline de la Mpro	14
Figure 6 : Mécanisme Catalytique de la Mpro du <i>SARS-CoV-2</i>	16
Figure 7 : Principe d'action des inhibiteurs des protéases.....	17
Figure 8 : La liaison hydrogène	26
Figure 9 : La liaison ionique	27
Figure 10 : Interactions hydrophobes	27
Figure 11 : Interactions de van der Waals	28
Figure 12 : Page d'accueil de la pub Chem	32
Figure 13 : Page d'accueil de la PDB.....	32
Figure 14 : Interface du programme Chem3D.	33
Figure 15 : Interface du logiciel FlexX.	34
Figure 16 : Interface du programme Open Babel.....	34
Figure 17 : Interface du programme VMD.....	35
Figure 18 : La page d'accueil du serveur SwissADME	36
Figure 19 : La structure cristalline de la Mpro en complexe avec l'inhibiteur N3 (6LU7)	38
Figure 20 : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles	41
Figure 21 : Superposition de la géométrie du ligand F3F du complexes 2GZ8 obtenue par rayon-X	42
Figure 22 : Mode d'interaction du l'inhibiteur de référence N3 dans le site actif de la Mpro.....	44
Figure 23 : Mode d'interaction du composé 21 dans le site actif de la Mpro.....	45
Figure24:Moded'interaction du composé 48 dans le site actif de laMpro.....	46
Figure25 : Mode d'interaction du composé 55 dans le site actif de la Mpro.....	47

Listes des Tableaux

Tableau 1 : Classification taxonomique du <i>SARS-CoV-2</i>	5
Tableau 2 : Les différents variants de <i>SARS-CoV-2</i>	11
Tableau 3 : Exemples des inhibiteurs testés in vitro pour la Mpro du <i>SARS-CoV-2</i>	18
Tableau 4 : Programmes de Docking Moléculaire.....	30
Tableau 5 : Caractéristiques de micro-ordinateur utilisé.....	31
Tableau 6 : Les scores des complexes protéine/ligand étudiés	43
Tableau 7 : Propriétés physico-chimiques des trois meilleurs composés	48
Tableau 8 : propriétés pharmaco-cinétiques des trois meilleurs composés.....	49

Table des matières

Remerciements.....	i
Dédicaces.....	i
Dédicaces.....	iii
Dédicaces.....	iv
Résumé.....	v
Abstract.....	vi
ملخص.....	vi
Liste des abréviations.....	viii
Glossaire.....	x
Listes des figures.....	xi
Listes des Tableaux.....	xii
Table des matières.....	xiii
SARS-CoV-2	
Introduction.....	1
1. Coronavirus.....	3
1.1. Les coronavirus pandémiques.....	4
1.1.1. Le syndrome respiratoire aigu sévère et le <i>SARS-CoV</i>	4
1.1.2. Le syndrome respiratoire du Moyen-Orient et le <i>MERS-CoV</i>	4
1.1.3. Le syndrome respiratoire aigu sévère et le <i>SARS-CoV-2</i>	4
1.2. Le virus <i>SARS-CoV-2</i>	5
1.2.1. Classification.....	5
1.2.2. Structure et génome du <i>SARS-CoV-2</i>	5
1.2.3. Les principales protéines et leurs fonctions.....	6
a) Protéine Spike (S).....	6
b) Protéine d'enveloppe (E).....	7
c) Protéine membranaire (M).....	7
d) Protéine de nucléocapside (N).....	7
e) Complexe réplicase-transcriptase.....	7
1.2.4. Cycle de multiplication.....	8
1.2.5. Les variants de <i>SARS-CoV-2</i>	10
a) Variants d'intérêt.....	10
b) Variants préoccupants.....	10

Main protéase

1. Introduction.....	12
2. Les protéases.....	12
2.1. Les protéases virales.....	12
2.2. Les protéases du <i>SARS-CoV-2</i>	13
3. La Main protéase.....	13
3.1. Structure de la Main protéase.....	13
3.2. Mécanisme d'action de la Main protéase.....	15
4. Inhibiteurs des protéases.....	16
5. Inhibiteurs de la Main protéase.....	17

Inhibiteurs d'origine microbienne

1. Introduction.....	18
2. Activités thérapeutiques des micro-organismes.....	19
2.1. Activité anticancéreuse.....	19
2.2. Activité immunosuppresseur.....	19
2.3. Activité anti-fongique.....	19
2.4. Activité pour le traitement de l'anémie.....	19
2.5. Activité antioxydante.....	20
2.6. Activité pour le traitement du diabète.....	20
3. Les micro-organismes comme source antivirale.....	20
3.1. Polysaccharides.....	20
3.2. Peptides.....	21
3.3. Alcaloïdes.....	21
3.4. Polycétones.....	21
3.5. Terpénoïdes.....	21
3.6. Quinones.....	22
3.7. Stéroïdes.....	22

Docking Moléculaire

1. Introduction.....	23
2. Docking Moléculaire.....	23
3. Criblage virtuel.....	23
3.1. Criblage virtuel « Structure-based ».....	24
3.2. Criblage virtuel « Ligand-based ».....	24
4. Outils du criblage virtuel.....	24

4.1.	Récepteur	24
4.2.	Ligand	25
5.	Scoring.....	25
6.	Interactions protéines-ligands	25
6.1.	Liaison hydrogène	25
6.2.	Interaction ionique	26
6.3.	Interactions hydrophobes	27
6.4.	Interactions de Van der waals	27
7.	Types de Docking	28
7.1.	Docking rigide	28
7.2.	Docking semi-flexible.....	29
7.3.	Docking flexible	29
8.	Algorithmes de Docking.....	29
8.1.	Ajustement de fragments (Reconstruction).....	29
8.2.	Simulation par trajectoire (Aléatoire)	29
9.	Programmes de Docking	30

Matériels et méthodes

1.	Matériel.....	31
1.1.	Micro-ordinateur.....	31
1.2.	Banques de données.....	31
1.2.1.	PubChem	31
1.2.2.	Protein data bank.....	32
1.3.	Programmes et sites web.....	33
1.3.1.	Chem3D version 16.0.....	33
1.3.2.	FlexX	33
1.3.3.	Open Babel	34
1.3.4.	Visual molecular dynamics.....	35
1.3.5.	Serveur SwissADME	35
2.	Méthodes	36
1.1.	Test de fiabilité.....	36
2.1.1.	Test RMSD	36
2.1.2.	Analyse visuelle	37
2.2.	Choix et préparation de la cible.....	37
2.3.	Choix et préparation des ligands (Andrianasolo <i>et al.</i> , 2012).....	38
2.4.	Docking Moléculaire du complexe Mpro-N3	38

2.5.	Docking Moléculaire du complexe Mpro-ligand	39
2.6.	Analyse et Visualisation des résultats.....	39
2.7.	Prédictions des propriétés ADME	39
2.7.1.	Propriétés physico-chimiques	40
2.7.2.	Propriétés pharmaco-cinétiques	40
Résultats et discussion		
1.	Test de fiabilité	41
1.1.	RMSD	41
1.2.	Analyse visuelle.....	41
2.	Etude des interactions Mpro-ligand	42
2.1.	Etude des interactions Mpro-N3.....	44
2.2.	Le composé 21.....	45
2.3.	Le composé 48.....	45
2.4.	Le composé 55.....	46
3.	Prédictions des paramètres ADME	47
3.1.	Propriétés physico-chimiques	48
3.2.	Propriétés pharmaco-cinétiques	49
Conclusion		Error! Bookmark not defined.
Bibliographie		54

A graphic of a scroll with a black outline and a light gray fill. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curled up. The word "Introduction" is written in a black, serif font in the center of the unrolled portion.

Introduction

Introduction

La maladie à Coronavirus (COVID-19) a été identifiée pour la première fois à Wuhan, en Chine en tant qu'une maladie respiratoire susceptible d'être transmise par un virus appelé le *SARS-CoV-2*. Cette pathologie a été nommée par l'OMS (COVID-19), abréviation de « *Corona Virus Disease 2019* ».

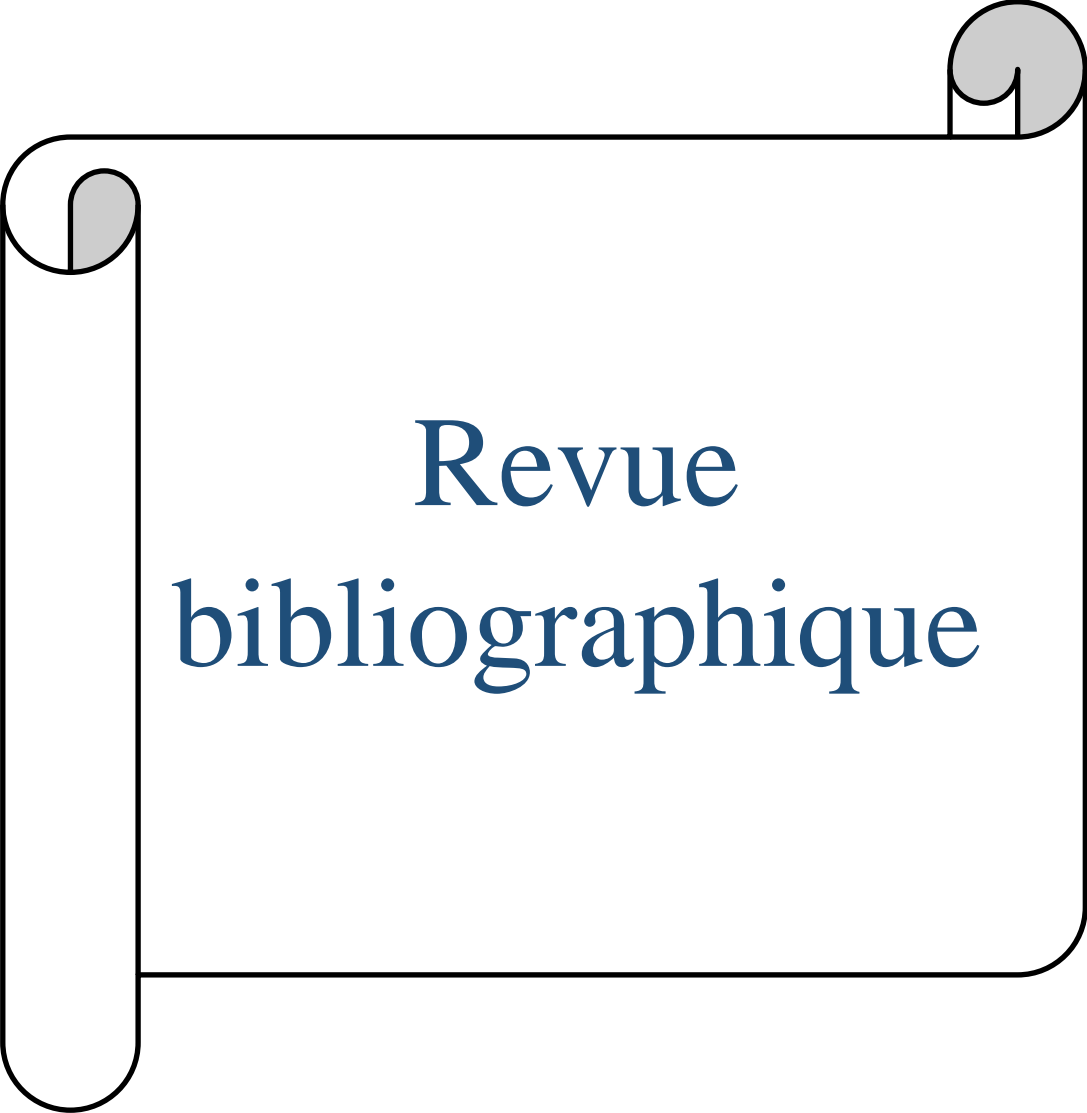
Cette maladie s'est propagée rapidement dans le monde entier (**Zhu et al., 2020**). Depuis son apparition, la COVID-19 est rapidement devenue un fléau qui affecte la santé publique, entraînant plus de 5.33 millions de décès dans le monde (**OMS, 2022**). En effet, cette pandémie est l'un des événements les plus dévastateurs de l'histoire avec son influence sur les différents secteurs socio-économiques.

Actuellement, il n'existe aucun remède contre cette maladie. Cependant, quelques stratégies médicamenteuses sont proposées. À ce titre, l'inhibition de la Main protéase (Mpro) semble d'autant plus pertinente. Malheureusement peu de travaux ont été consacrés à cette enzyme qui pourrait pourtant jouer un rôle crucial dans le traitement de cette maladie. Cette enzyme contrôle la réplication et est conservée chez tous les coronavirus y compris le *SARS-Cov-2*. Raison pour laquelle l'utilisation de nouveaux inhibiteurs de la Mpro peut être un bon moyen de traiter cette maladie en bloquant la réplication de ce dangereux virus (**Citarella et al., 2021**).

Dans notre étude et dans un premier lieu nous avons sélectionné 68 molécules d'origine microbienne extraits de la littérature, pour tester leur mode d'interaction envers notre cible (Mpro), ces molécules ont été sélectionnées en se basant sur leurs structures simples et leurs activités thérapeutiques contre d'autres pathogènes notamment le virus de l'hépatite C (HCV) dont la protéase présente des similarités structurelles avec notre cible.

Par ailleurs nous avons évalué la performance du programme de Docking Moléculaire « FlexX » par le test de fiabilité *Root Mean Square Deviation* (RMSD), par la suite nous avons réalisé des calculs de Docking Moléculaire sur une collection de 68 molécules microbiennes qui peuvent interagir avec la Mpro. Les meilleurs inhibiteurs issus de ce Docking vont faire l'objet d'une étude prédictive sur leurs propriétés physico-chimiques et pharmaco-cinétiques potentielles afin de se renseigner sur leur profil d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME).

L'objectif principal de ce travail est de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de la Mpro à l'aide de l'outil bio-informatique, en utilisant la modélisation par Docking Moléculaire qui devient actuellement un moyen incontournable pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques. Cette méthode bio-informatique présente de nombreux avantages, elle est rapide, plus efficace et moins coûteuse que les criblages expérimentaux (**Grosdidier, 2015**). En outre, Notre étude vise également à étudier *in silico* les propriétés biologiques ADME de ces composés.



Revue
bibliographique



Chapitre 01
SARS-CoV-2

1. Coronavirus

Les coronavirus (COVs) sont des virus à ARN qui ont l'aptitude à muter rapidement au cours de leur réplication pour qu'ils puissent s'adapter aux différentes conditions environnementales. Cette capacité est due à leur changement du tropisme tissulaire qui entraîne à reconnaître des nouveaux hôtes (**Vabret et Miszczak, 2010**).

Les coronavirus appartiennent à la famille de *coronaviridae*, ils sont des virus pléomorphes, enveloppés avec une taille qui varie de 80 à 200 nm. Leur observation microscopique montre des projections d'environ 20 nm à la surface du virion constituées par la protéine de surface S ou Spike qui confère au coronavirus leur aspect de couronne d'où ils prennent leur dénomination du « *corona* » signifiant «*couronne* » en latin (Figure 1) (**Kin et Vabret, 2016**).

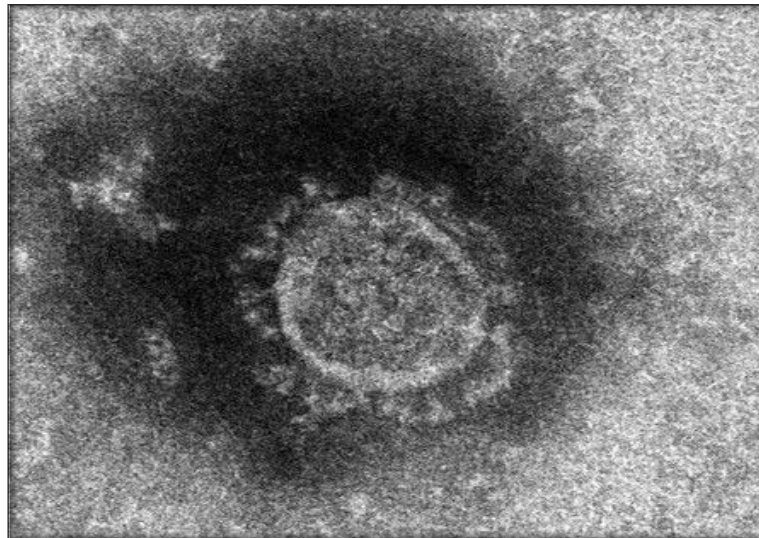


Figure 1 : Particule de coronavirus en microscope électronique (<https://www.nippon.com/fr/news/yjj2020013101568/>)

Le genre *coronavirus* a été créé en 1967 et a fait l'objet d'un regroupement à partir des études morphologiques des virus animaux connus depuis 1930 et des virus identifiés chez l'homme, Parmi les *Nidovirales*, seul le genre *Coronavirus* inclut des virus identifiés chez l'homme. Les Coronavirus ont été répartis en 3 groupes distincts : 1, 2 et 3 en fonction des données sérologiques et moléculaires. Les Coronavirus du groupe 3 représentent les virus aviaires tandis que ceux de groupe 1 et 2 infectent les mammifères, y compris les humains (**Vabret et al., 2009**).

1.1. Les coronavirus pandémiques

1.1.1. Le syndrome respiratoire aigu sévère et le *SARS-CoV*

Il a été découvert pour la première fois en Chine en novembre 2002, et a été considéré qu'il s'agissait d'une infection zoonotique car le *SARS-CoV* ou un virus génétiquement apparenté à ce dernier a été détecté chez plusieurs animaux, dont les civettes palmistes masquées, le chien viverrin et les chauves-souris rhinolophes. La protéine S du *SARS-CoV* se lie principalement à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2), mais il existe d'autres possibilités notamment le CD 209 L, qui est une lectine de type C (Nakamura *et al.*, 2022).

1.1.2. Le syndrome respiratoire du Moyen-Orient et le *MERS-CoV*

Il a été initialement signalé pour un patient décédé en raison d'une maladie respiratoire grave à Jeddah, en Arabie saoudite en juin 2012. Le *MERS-CoV* est génétiquement proche des coronavirus des chauves-souris. Contrairement au *SARS-CoV*, le *MERS-CoV* se lie à la dipeptidyl peptidase 4 (DDP4) et envahit les cellules hôtes (Nakamura *et al.*, 2022).

1.1.3. Le syndrome respiratoire aigu sévère et le *SARS-CoV-2*

Un séquençage métagénomique de l'ARN effectué sur le premier patient hospitalisé en décembre 2020, a permis l'identification d'un nouveau coronavirus, les auteurs l'ont appelé par rapport à Wuhan « *WH-Human1 coronavirus* » ou *2019-nCoV*. En février 2020, le Comité international de taxonomie des virus (CITV) a annoncé que le *nCoV* porterait le nom de coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (*SARS-CoV-2*). D'autres chercheurs avaient déjà découvert que le *SARS-CoV-2* utilise le récepteur ACE2 pour pénétrer dans les cellules hôtes (Yan *et al.*, 2020). En raison de la large diffusion des récepteurs ACE2 dans l'organisme, les infections par le *SARS-CoV-2* chez l'homme peuvent provoquer divers symptômes car il est couramment distribué à la surface des cellules épithéliales des voies respiratoires, des monocytes alvéolaires et des macrophages, les cellules endothéliales, les neurones cérébraux, les cellules épithéliales tubulaires des reins et les cellules muqueuses des intestins (Kaul, 2020).

1.2. Le virus SARS-CoV-2

1.2.1. Classification

Le SARS-CoV-2 appartient à l'ordre des *Nidovirales*, à la famille des *Coronaviridae*, à la sous-famille des *Orthocoronavirinae*, au genre *Betacoronavirinae* et au sous-genre *Sarbecovirus* (Tableau 01).

Tableau 1 : Classification taxonomique du SARS-CoV-2

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=2697049>)

Domaine	<i>Riboviria</i>
Ordre	<i>Nidovirales</i>
Sous-ordre	<i>Cornidovirineae</i>
Famille	<i>Coronaviridae</i>
Sous-famille	<i>Orthocoronavirinae</i>
Genre	<i>Betacoronavirus</i>
Sous genre	<i>Sarbecovirus</i>
Espèce	<i>SARS-CoV-2</i>

1.2.2. Structure et génome du SARS-CoV-2

Le SARS-Cov-2 est un virus sphérique enveloppé d'une taille de 60 à 220 nm, comprend de l'extérieur vers l'intérieur, la protéine Spike (S) (donne l'aspect en couronne au virus en microscopie électronique), l'enveloppe (E), la membrane (M) et la nucléocapside (N) laquelle est icosaédrique à symétrie cubique. Cette dernière contient le génome viral (**Jamai et al., 2020**).

Le génome du SARS-Cov-2 est un ARN monocaténaire non segmenté et positif (27-32 kb), comporte un nombre variable de cadres de lecture ouverts (ORF). Le premier cadre de lecture ouvert ORF1 a/b (environ deux tiers de l'ensemble du génome) situé à l'extrémité 5' et permet de la traduction de deux poly-protéines, pp1a et pp1ab, lesquelles seront clivés par la suite en 16 protéines non structurales (NSP). La pp1a correspond aux NSP1 à NSP11 et la pp1ab comprend les NSP12 à NSP16. Toutes les NSPs, à l'exception de la NSP1, constituent le complexe multiprotéique réplécase-transcriptase (RTC) impliqué dans la réplication et la transcription des coronavirus (Figure 2) (**Jamai et al., 2020**).

Alors que les ORFs restants situés à l'extrémité 3' codent pour des protéines structurales (quatre protéines essentielles) dont la protéine S, E, M, N, (Kin et Vabret, 2016). Ainsi que Plusieurs protéines accessoires, qui interfèrent avec la réponse immunitaire de l'hôte, leur nombre et leurs fonctions sont limités par chaque coronavirus. Chaque gène structural et accessoire est précédé par des séquences de régulation transcriptionnelle (SRT), condition préalable à leur expression fonctionnelle (Jamai *et al.*, 2020).

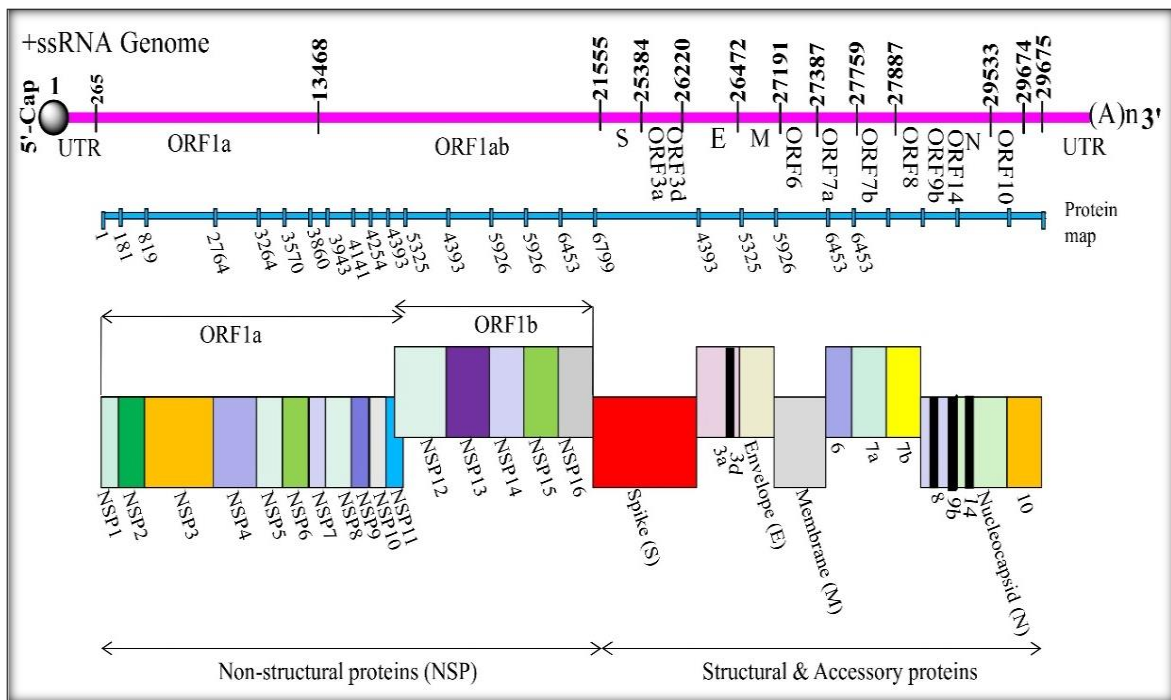


Figure 2 : Arrangement génomique du SARS-CoV-2

(Yadav *et al.*, 2021)

1.2.3. Les principales protéines et leurs fonctions

a) Protéine Spike (S)

La protéine S (~150 KDa) reconnaît les récepteurs des cellules hôtes et sert comme médiateur pour l'attachement, la fusion et l'entrée ultérieure du virus dans la cellule hôte, facilite la fusion entre les cellules infectées et non infectées en formant des cellules géantes multinucléées, une stratégie permettant la propagation directe du virus entre les cellules pour éviter les anticorps neutralisant le virus. Une protéase de type furine de la cellule hôte

clive la protéine S en S1 et S2. S1 constitue le grand domaine de liaison au récepteur et S2 favorise sa fusion avec la membrane de la cellule hôte (**Naqvi et al., 2020**).

b) Protéine d'enveloppe (E)

Les protéines d'enveloppe E constituent un groupe de protéines virales relativement petites (75 acides aminés) qui contribuent à l'assemblage et à la libération des virions (**Naqviet al., 2020**).

c) Protéine membranaire (M)

Les protéines M sont des protéines structurales longues de 222 acides aminés qui jouent un rôle majeur dans l'encapsulation de l'ARN (**Tang et al., 2020**). Les protéines M sont les 6 protéines virales les plus abondantes des CoVs qui sont impliquées dans l'attribution d'une forme distincte au virus. La présence de trois domaines transmembranaires est une caractéristique distincte des protéines M (**Naqvi et al., 2020**).

d) Protéine denucléocapside (N)

Les protéines de la nucléocapside N jouent un rôle important dans l'empaquetage de l'ARN viral dans la ribonucléocapside et elles sont impliquées dans la réplication du génome viral et dans la modulation des voies de signalisation cellulaire (Figure 3) (**Cong et al., 2020**).

e) Complexe réplécase-transcriptase

C'est une autre enzyme essentielle qui contribue au clivage de l'ARN de l'hôte et à la réplication de l'ARN viral. C'est une protéine multifonctionnelle contribuant à la pathogénicité virale. Cependant, le rôle principal de cette enzyme est d'aider à la transcription et à la réplication de l'ARN viral. Principalement, la poly-protéine de la réplécase est composée de trois domaines : le domaine macro, le domaine papaine et le domaine protéase principal (**Naqviet al., 2020**).

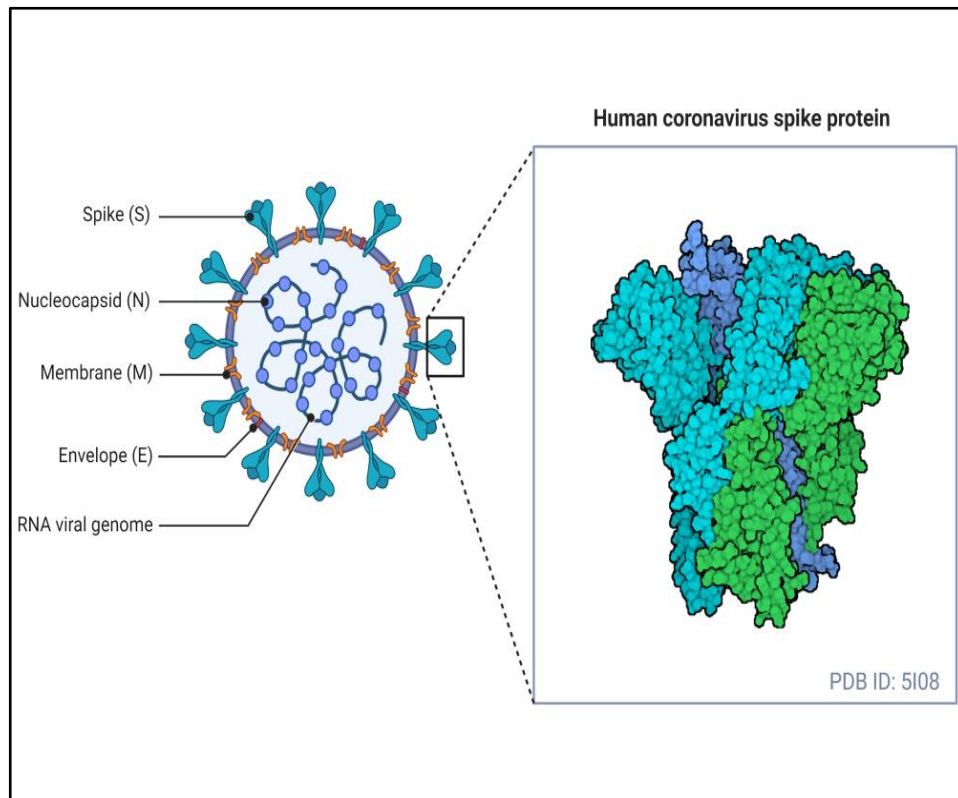


Figure 3 : Structure du virus SARS-CoV-2

(<https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/covid-19-puts-mass-spectrometry-in-the-spotlight-353626>)

1.2.4. Cycle de multiplication

Le cycle de multiplication de SARS-CoV-2 dans la cellule comporte plusieurs étapes commençant par l'attachement, pénétration et décapsidation puis la synthèse des macromolécules (acides nucléiques et protéines) (Jamaïet *al.*, 2020). Ces synthèses vont permettre l'assemblage des nucléocapsides ensuite l'enveloppement et la libération des virions infectieux en même temps qu'une lyse de la cellule infectée.

Ce cycle lytique existe dans les cellules respiratoires infectées par le virus. Le virus s'attache spécifiquement au récepteur de la cellule sensible grâce à une interaction de haute affinité entre la protéine S virale et l'ACE2, récepteur cellulaire de l'hôte. En effet, la protéine S est constituée de deux sous-unités fonctionnelles : la sous-unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous-unité S2 assure la fusion de l'enveloppe virale et la membrane cellulaire. Le clivage de la protéine S par les protéases de la cellule hôte active la fusion au niveau de deux sites en tandem, « heptad repeat 1 » (HR1) et HR2. (Jamaïet *al.*, 2020).

Dans la phase précoce, une fois que le virus est libéré dans le cytoplasme, il va détourner la machinerie cellulaire à son profit et puisque son génome est de polarité positive donc il sera directement utilisé en tant que ARN messager (ARNm) pour être traduit en deux polyprotéines (pp1a, pp1ab). Celles-ci possèdent une activité protéase qui assure leur auto-clivage en plusieurs protéines non structurales (NSPs), ces derniers donnent naissance au complexe RTC. Par la suite le RTC va synthétiser un ensemble d'ARN génomique et sous-génomique de sens négatif qui va être utilisé dans la synthèse des ARNm lesquelles seront traduites tardivement en des protéines structurales (M, S, E, N) (Claude, 2020 ; bourdon, 2020).

Ensuite les protéines de structure s'auto-assemblent en capsomères puis en nucléocapside par intégration du génome répliqué. Les bourgeons forment les vésicules contenant les virions fusionnent avec la membrane plasmique pour être libérés (Figure 4) (Jamaïet *al.*, 2020).

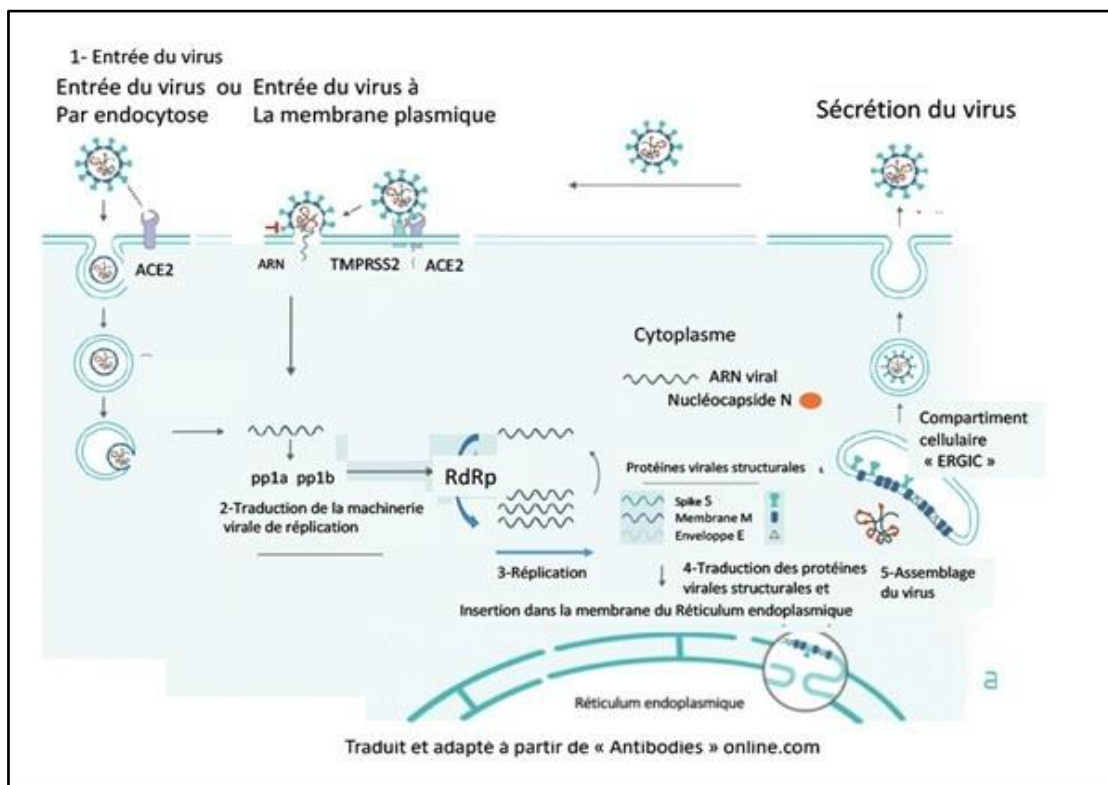


Figure 4 : Cycle de multiplication du SARS-CoV-2

(<https://arbre-des-connaissances-apsr.org/le-cycle-viral-de-SARS-CoV-2/>)

1.2.5. Les variants de SARS-CoV-2

La très grande taille du génome et l'absence des systèmes de réparation des erreurs chez le SARS-CoV-2 a permis l'émergence de nouveaux variants (**Ravi et al., 2022**).

À la fin de l'année 2020, divers variants du SARS-CoV-2 sont apparus, présentant un risque élevé pour la santé publique mondiale. Ces variants sont appelés variants d'intérêt (*variant of interest*) ou (VOI) et variants préoccupants (*variant of concern*) ou (VOC) afin de donner la priorité à la surveillance et à la recherche au niveau mondial (Tableau 2) (**OMS, 2021**).

a) Variants d'intérêt

Par rapport à la séquence de référence du SARS-CoV-2 de Wuhan, tous les VOCs actuels présentent la substitution D614G qui augmente l'affinité avec l'ACE2 et la transmissibilité, ils ont aussi un effet négatif sur les diagnostics, les vaccins, les traitements. Les différents VOIs sont : Epsilon, Zeta, Eta, Theta, Iota, Kappa, Lambda et Mu (**Ravi et al., 2022**).

b) Variants préoccupants

Ils possèdent des marqueurs génétiques spécifiques qui affectent la transmissibilité virale, la virulence, la réduction de la neutralisation par les anticorps obtenus par infection naturelle ou par vaccination, la capacité à échapper à la détection. Les différents VOCs sont : Alpha, Bêta, Gamma, Delta et Omicron (**Ravi et al., 2022**).

Tableau 2 : Les différents variants de SARS-CoV-2 (Kumar et al., 2022).

Variants	Mutations dans la protéine S	Premiers échantillons répertoriés
AlphaB.1.1.7	Spike: 69del, 70del, 144del, E484K, S494P, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H K1191N	Le Royaume-Uni Septembre 2020
Beta B.1.351	Spike: D80A, D215G, 241del, 242del, 243del, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V	Afrique du Sud Mai 2020
Gamma P.1	Spike : L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I	Japon/Brésil Novembre 2020
Delta B.1.617.2	Spike : T19R, (G142D), 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N	Inde Octobre 2020
Omicron B.1.1.529	A67V, H69del-V70del, T95I, G142D-V143del-Y144del-Y145del, N211del-L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N...	Plusieurs pays novembre 2021
Lambda C.37	Spike: D614G, L452Q, F490S, T859N, T76I, G75V, del247/253	Pérou Décembre 2020
Mu B.1.621, B.1.621.1	Spike : T95I, Y144S, Y145N, R346K, E484K, N501Y, D614G, P681H, D950N	Colombie Janvier 2021
Epsilon B.1.427/B.1.429	Spike: L452R, D614G (B.1.427) Spike: S13I, W152C,	États-Unis - (Californie) Mars 2020
Eta B.1.525	Spike: A67V, 69del, 70del, 144del, E484K, D614G, Q677H, F888L	Le Royaume-Uni / Nigeria Décembre 2020
Lota B.1.526	Spike: L5F, T95I, D253G, S477N, E484K, D614G, A701V	États-Unis (New York) Novembre 2020
Kappa B.1.617.1	Spike: T95I, G142D, E154K, L452R, E484Q, D614G, P681R, Q1071H	Inde Octobre 2020



Chapitre 02
Main-protéase

1. Introduction

La pandémie de la COVID-19 a suscité un besoin urgent de nouvelles stratégies thérapeutiques. Aucun médicament n'a encore été définitivement approuvé pour inhiber l'activité du *SARS-CoV-2*, mais de nouveaux candidats médicaments ciblant le cycle de réplication viral sont en cours d'étude, dont la Main protéase (Mpro) qui joue un rôle essentiel dans la réplication du virus, ce qui fait une cible privilégiée des efforts de découverte des molécules thérapeutiques (Macip *et al.*, 2022).

2. Les protéases

Les Protéases sont des enzymes protéolytiques qui catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques. Elles sont classés selon leur type catalytique en Protéases aspartiques, cystéines, glutamiques, sérines et thréonines, en fonction du résidu d'acide aminé fonctionnel du site actif (Macip *et al.*, 2022).

Les Protéases sont présentes dans tous les organismes vivants, y compris les microorganismes (champignons, bactéries, virus...). Elles sont impliquées dans un large éventail de processus cellulaires et métaboliques, notamment le cycle cellulaire, la régulation de l'expression génique, la réplication génomique (Sabotič et Kos, 2012).

Outre la base de données MEROPS (<https://www.ebi.ac.uk/merops/>), on peut trouver des informations sur les protéases dans plusieurs autres bases de données en ligne, notamment la base de données Degradome (<http://degradome.uniovi.es/>) et la *Proteolysis Map* (PMAP) (<http://www.proteolysis.org/>) (Sabotič et Kos, 2012).

2.1. Les protéases virales

Les protéases virales sont des enzymes clés pour la réplication virale, elles sont spécifiques pour chaque virus, et elles interviennent dans le clivage des polyprotéines virales à des sites bien précis, c'est une étape principale pour la production des virions (Ladoux *et al.*, 2020).

Les protéases sont des cibles médicamenteuses bien validées qui ont fait l'objet de développement de plusieurs médicaments antiviraux, y compris les infections par le (VIH) ou le (VHC) (Ullrich et Nitsche, 2020).

2.2. Les protéases du SARS-CoV-2

Le virus du SARS-CoV-2 porte deux types de protéases à cystéine non structurales essentiels à son cycle viral : la Mpro ou 3CL pro (Main protéase ou 3 Chymotrypsine-like-protéase) codée par la nsp5, et la PLpro (papain-like-protéase) codée par la nsp3.

La Mpro clive les poly-protéines virales en 11 sites au niveau des liaisons peptidiques en libérant les protéines fonctionnelles pour la réplication virale, Tandis que La PLPro a une activité ubiquitineuse, et peut intervenir dans l'altération de la réponse immunitaire innée de l'hôte infecté (**Hardenbrook et Zhang, 2022**).

3. La Main protéase

3.1. Structure de la Main protéase

La Mpro est une enzyme clé qui joue un rôle critique dans le cycle viral du SARS-CoV 2, laquelle est médiée par un complexe formé de deux poly-protéines pp1a et pp1ab qui sont traduites à partir de l'ARN viral. en clivant ces poly-protéines en au moins 11 sites, la Mpro libère les protéines vitales nécessaires à la réplication virale (**Banerjee et al., 2021**), en conséquence, l'inhibition de cette enzyme peut empêcher la production des particules virales et donc l'arrêt du cycle infectieux du virus, de ce fait, la Main protéase est considéré comme une cible virale prometteuse pour la conception et le développement de nouveaux médicaments contre le SARS-CoV-2 (**Ullrich et Nitsche, 2020**).

La première structure cristalline de la Mpro du SARS-CoV-2 a été déterminée par diffraction des rayons X à une résolution de 2,16 Å, et a été déposée à la *Protein Data Bank* (PDB) par Jin *et al*, et publiée le 5 février 2020, sous l'ID PDB 6LU7. Depuis, de nombreuses structures de la protéase ont été déposées, y compris l'enzyme cristallisée avec divers inhibiteurs (**Antonopoulou et al., 2022**).

La Mpro est une protéase à cystéine avec une dyade catalytique dans son site actif composé de résidu cystéine (Cys145) et résidu histidine (His41), bien que d'autres protéases à cystéine contiennent un troisième résidu catalytique (triade catalytique), cette place est compensée par la présence d'une molécule d'eau dans le site actif de la Mpro, formant des liaisons hydrogènes avec His41 (**Ullrich et Nitsche, 2020**).

La Mpro est un homodimère contenant deux protomères, chacun comprenant trois domaines :

Le domaine I (résidus 8-101), le domaine II (résidus 102-184) et le domaine III (résidus 201-303) (Figure 5). Les deux premiers domaines ont une structure en feuillets β antiparallèles qui forment une structure similaire à la chymotrypsine et accueillent le site actif dans une fente formée entre eux alors que le troisième est formé de cinq hélices α qui est relié au domaine II par une longue région d'acides aminés en boucle et joue un rôle dans la dimérisation de l'enzyme laquelle est essentielle pour la fonction catalytique due à l'interaction entre les deux protomères par différentes forces intermoléculaires qui contribue à la formation de la sous-site S1 du site actif, ce dernier est constitué de quatre sous sites (S1, S1', S2, S4) (Mengist *et al.*, 2021).

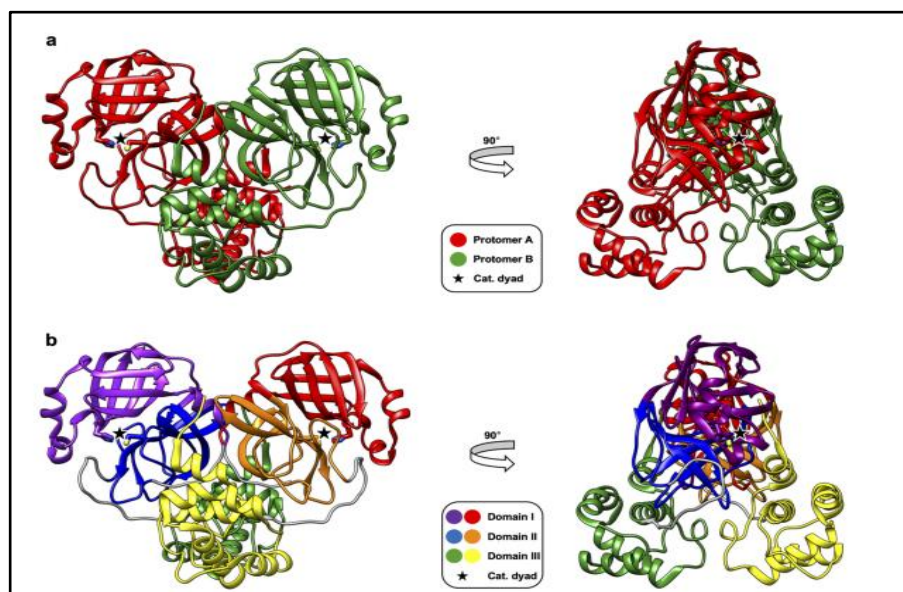


Figure 5 : La structure cristalline de la Mpro (Ullrich et Nitsche, 2020).

3.2. Mécanisme d'action de la Main protéase

Le processus protéolytique de la Mpro se fait principalement en plusieurs étapes comme suit (Figure 6) :

- Le clivage de la liaison peptidique des poly-protéines est suggéré d'être initié par le transfert de proton de groupe thiol (SH) du Cys145 à l'imidazole du His41 (Déprotonation de Cys145), avec formation de l'ion thiolé activé (S⁻).
- Attaque nucléophile de l'ion thiolé résultant, de la liaison peptidique au niveau du carbone carbonyle, formant un composé intermédiaire "thio-hémikétal".
- Transfert de proton de His41 à l'atome d'azote de la liaison peptidique (Déprotonation de His41), formant le deuxième intermédiaire "complexe acyl-enzyme" ce qui permet le clivage de la liaison et la libération du premier produit avec l'extrémité N-terminale libre.
- L'attaque d'une molécule d'eau de l'atome de carbone carbonyle du peptide avec transfert simultané d'un proton à His41 (réprotonation du His41).
- A la fin, rupture de la liaison covalente entre Cys145 et le peptide et libération du produit restant avec l'extrémité C-terminal permettant de la régénération de la dyade catalytique (**Mengist *et al.*, 2021**).

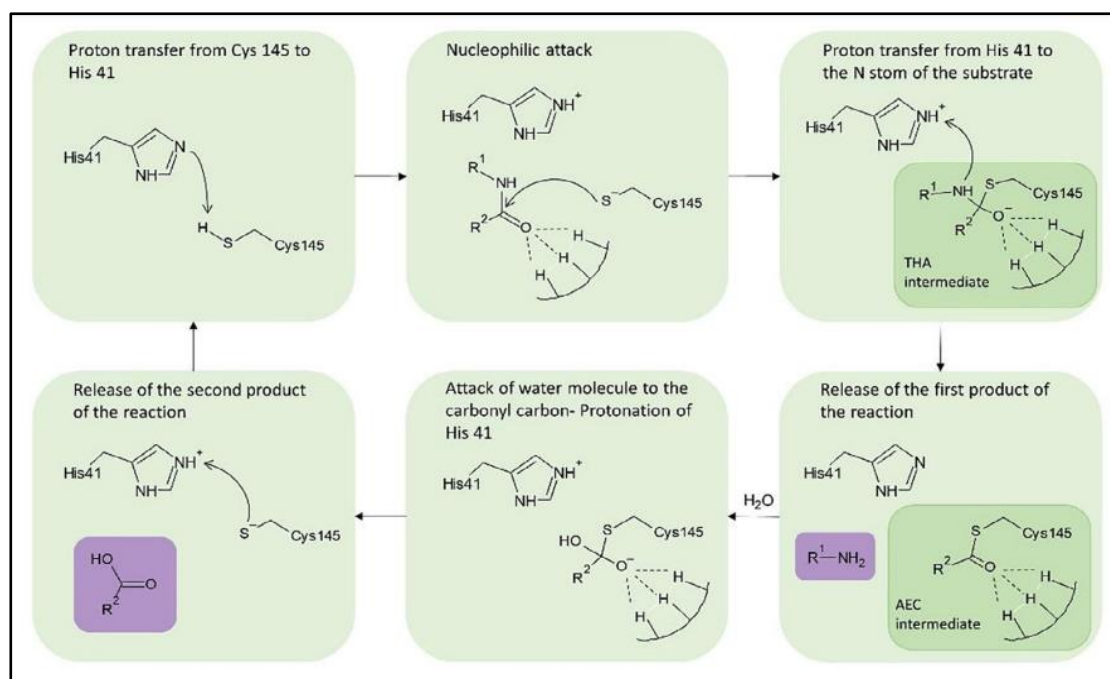


Figure 6 : Mécanisme Catalytique de la Mpro du SARS-Cov-2

(THA: thio-hemiketal; AEC: complex acyl-enzyme. Les deux produits de la réaction sont surlignés en violet) (Antonopoulou *et al.*, 2022)

4. Inhibiteurs des protéases

Les inhibiteurs des protéases (IP) constituent un mécanisme très important pour contrôler l'activité protéolytique. Ils sont intimement liés aux protéases qu'ils inhibent, leur mécanisme d'action consiste souvent à bloquer physiquement le site actif de la protéase par une liaison de haute affinité à des sites situés de part et d'autre du site actif. Cette liaison peut être réversible ou irréversible.

Le premier inhibiteur de la protéase (IP) du VIH, le saquinavir, a été mis sur le marché en 1995 pour traiter les malades atteints du Sida. Depuis, des inhibiteurs d'autres protéases ont été développés pour lutter contre les maladies à infection virale (Ladoux *et al.*, 2020).

Une classification détaillée est incluse dans la base de données MEROPS, qui suit une hiérarchie similaire à celle des protéases. Les IP sont regroupés en familles sur la base de l'homologie de séquence et en clans sur la base de la structure tertiaire des protéines (Sabotič et Kos, 2012). Le principe d'action des IP est schématisé dans la Figure 7.

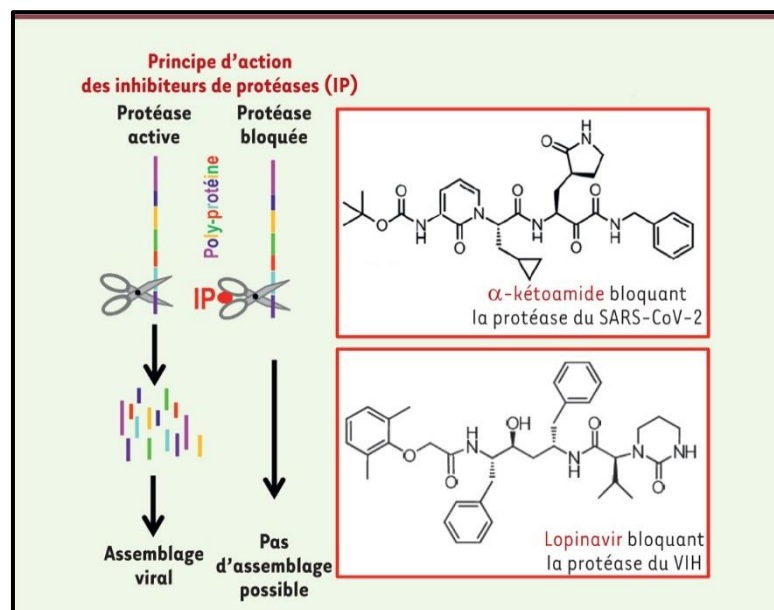


Figure 7 : Principe d'action des inhibiteurs des protéases (**Ladoux et al., 2020**)

5. Inhibiteurs de la Main protéase

Compte tenu de la nécessité urgente de développer des interventions thérapeutiques pour traiter la pandémie mondiale COVID-19, des stratégies telles que la réadaptation et le repositionnement des médicaments existants sont étudiés pour tester la capacité de ces derniers à inhiber l'activité biologique de la Mpro du SARS-CoV-2 (Tableau 3) (**Ladoux et al., 2020**).

Dans le Tableau 3, on cite quelques exemples d'inhibiteurs d'origine synthétique qui ont fait l'objet des recherches *in vitro* visant l'activité antivirale de la Mpro de SARS-CoV-2. La plupart de ces composés sont déjà utilisés pour d'autres usages thérapeutiques, Cependant, l'activité et l'efficacité de ces molécules contre la Mpro reste encore sous l'étude, dont leur activité *in vivo* peut présenter différents effets indésirables (**Coelho et al., 2020 ; Antonopoulou et al., 2022**).

Tableau 3 : Exemples des inhibiteurs testés in vitro pour la Mpro du SARS-CoV-2 (Coelho *et al.*, 2020 ; Antonopoulou *et al.*, 2022)

Composé	CI50 (μM)
Thiomersal	0.6 ± 0.1
Acétate de phénylmercure	0.4 ± 0.06
Bronopol	4.4 ± 0.6
Acide tannique	2.1 ± 0.2
Hématoporphyrine	3.9 ± 0.6
Chloranil	4.1 ± 0.8
Plombagine	17.1 ± 9
Vanitolid	4.6 ± 0.6
Evans blue	0.2 ± 0.06
Protoporphyrine IX	23 ± 2.4
Bocéprévir	5.4/ 1.59
Narlaprévir	16.11
Télaprévir	18



Chapitre 03
**Inhibiteurs
microbiens**

1. Introduction

Depuis la pandémie mondiale de la COVID-19, les chercheurs dans le monde entier recrutent et exploitent tous les efforts pour le développement des molécules thérapeutiques contre le *SARS-CoV-2*, cependant, à ce jour et à l'exception des médicaments réadaptés, il n'existe aucun médicament spécifique approuvé nouvellement développé pour le traitement de cette maladie. Il est donc essentiel de rechercher des nouvelles molécules d'activité anti-*SARS-CoV-2* (**Raihan et al., 2021**).

En parallèle, les médicaments conventionnels présentent des échecs contre les infections virales, ainsi que l'apparition des résistances virales spécifiques contre ces médicaments est devenu un phénomène courant.

Les sources des composés bioactifs les plus intéressantes sont d'origine naturelle lesquelles sont produits à partir des plantes, des animaux, des micro-organismes, cependant, l'utilisation des plantes et des animaux posent certains problèmes de sécurité et d'économie, dans ce contexte, les micro-organismes sont considérés comme la meilleur source alternative pour la production des molécules naturelles et économiquement rentables (**Raihan et al., 2021**).

Il est intéressant de noter que les sources microbiennes naturelles représentent plus de 40 % des nouveaux médicaments découverts depuis 1980. Cela est dû à l'importance considérable des substances bioactives d'origine microbienne présentant diverses activités biologiques, notamment antivirales, antibactériennes, anticancéreuses... (**Razali et al., 2021**).

En outre, les micro-organismes sont d'avantage privilégiés par rapport aux plantes et les animaux en raison de leurs caractéristiques uniques (une croissance rapide, un taux de production élevé, une manipulation facile, une fermentation à grande échelle avec un coût raisonnable dans un petit espace. Ainsi que le génie métabolique et génétique qui peut facilement être appliqué aux micro-organismes).

En conséquence, ils ont un grand potentiel pour être utilisés dans l'étude de l'activité antivirale de *SARS-CoV-2* en ciblant une voie essentiel dans le cycle viral de ce dernier, dans ce cas-là, c'est l'activité de la protéase Mpro (**Raihan et al., 2021**).

2. Activités thérapeutiques des micro-organismes

Les métabolites microbiens ont longtemps été utilisés comme des sources faciles et fiables pour la synthèse de nouveaux produits pharmaceutiques et thérapeutiques contre différents types de pathogènes, y compris les virus, les bactéries, les champignons et les parasites (**Gupta et al., 2014**).

2.1. Activité anticancéreuse

Les métabolites microbiens sont parmi les plus importants agents chimio-thérapeutiques du cancer. Le taxol est une molécule produite par les champignons endophytes qui inhibe les cellules cancéreuses de mammifères à division rapide en favorisant la polymérisation de la tubuline et en interférant avec la dégradation normale des microtubules pendant la division cellulaire. En 1992, le taxol a été approuvé pour le cancer réfractaire de l'ovaire, et aujourd'hui, il est utilisé contre le cancer du sein (**Gupta et al., 2014**).

2.2. Activité immunosuppresseur

La suppression de la réponse immunitaire, soit par des médicaments, ou par des radiations, pour prévenir le rejet de greffes ou pour contrôler les maladies auto-immunes, est appelée l'immunosuppression. La cyclosporine A est un immunosuppresseur microbienne produite par la moisissure, *Tolypocladium nivenum*. Elle est utilisée dans les transplantations cardiaques, hépatiques et rénales (**Gupta et al., 2014**).

2.3. Activité anti-fongique

Le besoin de développer des nouveaux antibiotiques plus efficaces pour combattre les agents pathogènes microbiens multi-résistants est en croissance. Cependant, seul un nombre limité d'agents antifongiques sont actuellement disponibles pour le traitement des infections fongiques potentiellement mortelles. Les pneumocandines sont des produits naturels dérivés du champignon *Glarea lozoyensis*, qui ont été récemment approuvés par *Food and drug administration*(FDA) comme un médicament antifongique. Le composé s'est révélé efficace dans des modèles animaux de candidose disséminée, d'aspergillose, de coccidiomycose (**Gupta et al., 2014**).

2.4. Activité pour le traitement de l'anémie

On connaît la méthode conventionnelle de production d'acide folique par la synthèse chimique où les matières premières utilisées sont coûteuses et le rendement

du produit final est faible. Il existe certaines bactéries et levures productrices d'acide folique qui accumulent des concentrations élevées d'acide folique dans le milieu et peuvent même être cultivées dans le lactosérum ou le plasma de lait. *Lactococcus lactis* et *Saccharomyces cerevisiae* sont identifiées comme des meilleures sources microbiennes pour la production et l'amélioration de l'absorption de l'acide folique (Gupta *et al.*, 2014).

2.5. Activité antioxydante

L'isolement des antioxydants microbiens a fait l'objet de recherches au début des années 1980, Il a été démontré que la bactérie probiotique *Streptococcus thermophilus* a une puissante activité antioxydante, protégeant l'organisme des radicaux libres qui augmentent dans le corps en raison du vieillissement (Gupta *et al.*, 2014).

2.6. Activité pour le traitement du diabète

Le diabète est une maladie courante qui survient lorsque l'apport d'insuline est insuffisant pour que l'organisme métabolise correctement le sucre. Des cellules bactériennes sont génétiquement modifiées pour produire de grandes quantités d'insuline humaine afin de gérer le diabète. La GLP-1 est une protéine qui est capable de déclencher la production d'insuline par les cellules du pancréas chez les personnes en bonne santé, Récemment, les chercheurs ont créé une souche *E. coli* non pathogènes génétiquement modifiés produisant de cette protéine qui peut déclencher la production d'insuline par des cellules intestinales humaines en réponse au glucose (Gupta *et al.*, 2014).

3. Les micro-organismes comme source antivirale

3.1. Polysaccharides

Les polysaccharides microbiens (PSM) interviennent dans l'inhibition au niveau de différents stades de cycle viral (fixation du virus à la cellule hôte, pénétration, synthèse du matériel génétique et des protéines), Le polysaccharide sulfaté bioactif, p-KG03, obtenu à partir de *Gyrodinium impudicum* a montré une activité antivirale contre le H1N1 en interférant l'entrée virale dans la cellule hôte (Liu *et al.*, 2020).

3.2. Peptides

L'hydrophobie des peptides antiviraux d'origine microbienne (PAV), en a faits des candidats médicaments prometteurs contre les virus enveloppés. Ils sont signalés chez des bactéries et des champignons, mais pas encore chez des algues (**Vilas Boas et al., 2019**), Les AVP microbiens sont avantageux par leur spécificité et grande efficacité, ainsi que leur faible toxicité. Ils peuvent inhiber la particule virale en entrant en compétition avec la molécule réceptrice dans la membrane de la cellule hôte ce qui empêche l'adsorption qui en résulte (**Heydari et al., 2021**).

3.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires structurellement diversifiés qui ont de nombreuses applications thérapeutiques, la plupart des alcaloïdes utilisés en thérapie humaine sont d'origine végétale. Cependant, plusieurs études récentes ont montré qu'un certain nombre de champignons produisent des alcaloïdes en tant que métabolites secondaires agissant contre les micro-organismes pathogènes, y compris les virus. Un certain nombre d'études rapportent que ces derniers inhibent l'ADN polymérase, la Topoisomérase et la transcriptase inverse des virus, La stachyflin, un alcaloïde obtenu à partir de *Stachybotrys sp* a montré une activité antivirale prometteuse *in vitro* contre le virus de la grippe AH1N1 (**Raihan et al., 2021**).

3.4. Polycétones

De nombreuses polycétones isolées de micro-organismes ont montré qu'ils inhibaient l'infection virale de diverses manières, la sclérotorine, une polycétone isolée d'un endophyte *Penicillium sclerotiorum* interfère essentiellement avec l'intégrase et la protéase du VIH-1, deux enzymes essentielles au maintien du cycle de vie du virus à l'intérieur de la cellule hôte (**Selim et al., 2018**).

3.5. Terpénoïdes

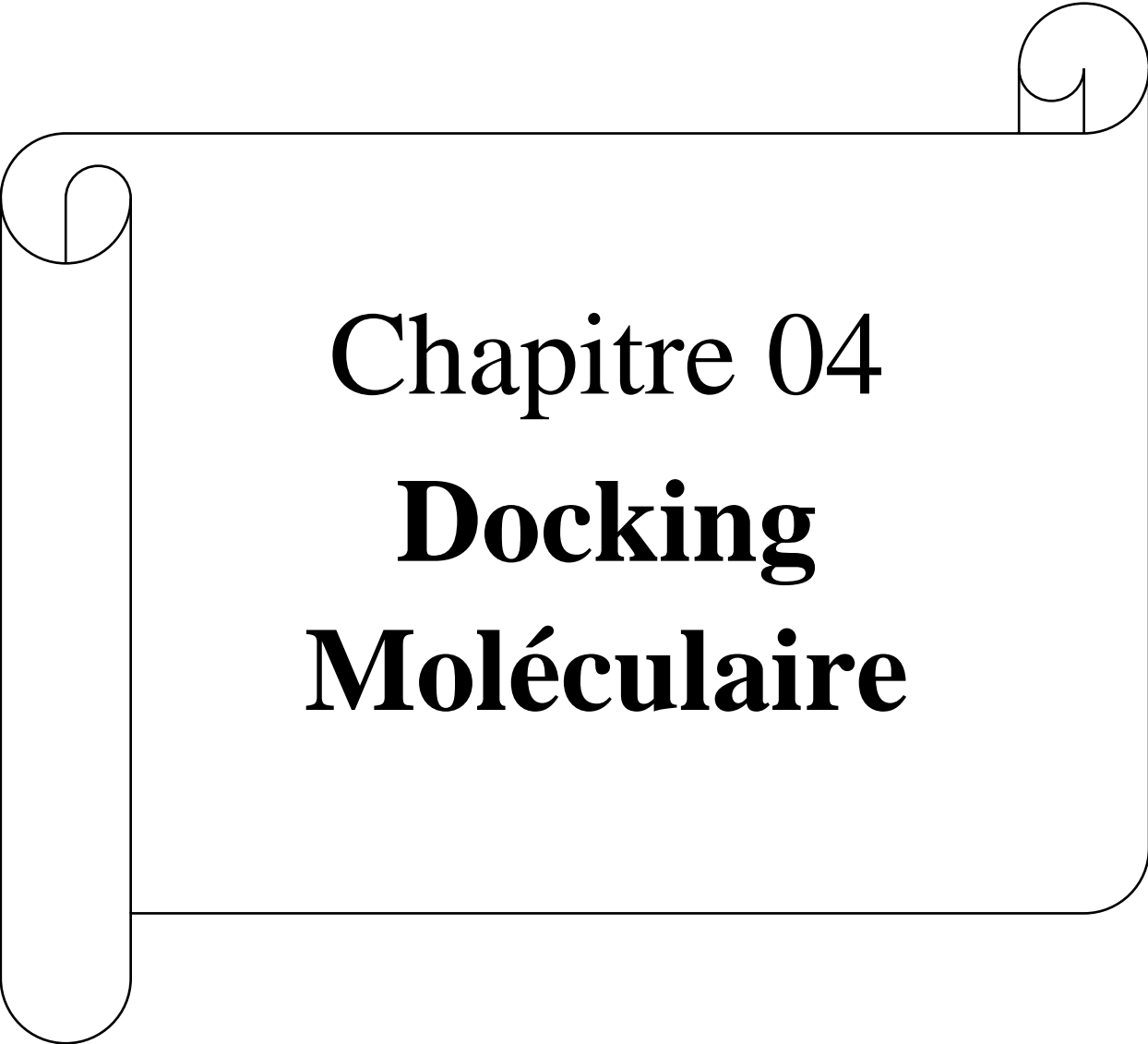
Les terpénoïdes sont l'un des composés aromatiques naturels les plus abondants, que l'on trouve principalement dans les plantes. Cependant, certains microorganismes peuvent les synthétiser, l'ochracéopone A, l'isoasteltoxine et l'asteltoxine obtenues à partir *Aspergillus ochraceo petaliformi* sont présentés des activités antivirales contre les virus de la grippe H1N1 et H3N2 (**Raihan et al., 2021**).

3.6. Quinones

Les quinones sont des composés organiques aromatiques que l'on retrouve de manière ubiquitaire chez les procaryotes et les eucaryotes. Les quinones microbiennes agissent par l'inhibition du transport des électrons ainsi qu'elles peuvent agir en tant qu'inducteurs d'espèces réactives de l'oxygène. La coccoquinone A, un dérivé d'antraquinone, obtenue à partir d'*Aspergillus versicolor* fonctionne comme un agent anti-VHS (**Raihan et al., 2021**).

3.7. Stérols

Les stérols, sont considérés comme des composés bioactifs naturels courants lesquelles inhibent l'infection virale par l'empêchement de l'attachement viral dépendant des lipides de l'hôte, Un stérol hautement oxygéné appelé Cladosporisteroid B isolé d'un champignon *Cladosporium* sp., a agi comme un agent antiviral contre *H3N2* (**Raihan et al., 2021**).



Chapitre 04
Docking
Moléculaire

1. Introduction

La découverte de nouvelles molécules bioactives et non toxiques est un processus couteux en temps et en argent, atteignant jusqu'à 2.6 milliards de dollars en moyenne, et durant généralement plus de 12 ans. Dans le passé, des méthodes purement expérimentales ont été employées. Le criblage à haut débit (HTS) consiste à évaluer expérimentalement l'affinité d'un très grand nombre de composés à l'égard d'une protéine cible afin d'identifier des « hits » et de les optimiser (Asses, 2011).

Actuellement l'évolution des outils informatiques, notamment la puissance de calcul et la capacité de stockage des bases de données, nous a servi pour exploiter les nouvelles approches informatisées dites « *in-silico* », qui sont nécessaires pour le développement et la rationalisation de conception des médicaments (Grosdidier, 2015).

2. Docking Moléculaire

L'amarrage ou l'arrimage moléculaire, est une approche *in silico* qui a apparue dans le début des années 1990 (Wieber, 2008), permettant de prédire la conformation d'un complexe récepteur-ligand, où la cible biologique d'intérêt thérapeutique (protéine ou acide nucléique) et le ligand est une petite molécule. Actuellement, il existe plus que 40 programmes de Docking Moléculaire. Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques, leur protocole est composé de 2 étapes complémentaires : La première étape dite Docking, permet au ligand d'adopter plusieurs conformations et plusieurs positions au niveau de son récepteur afin d'obtenir celle la plus favorable. La deuxième étape, dite scoring, est l'étape de classement, permettant de préciser l'affinité entre le ligand et la protéine (Mokrani, 2012).

3. Criblage virtuel

Le criblage virtuel est une approche théorique permettant la simulation de l'affinité d'un très grand nombre de ligands vis-à-vis d'une cible thérapeutique donnée. Le criblage virtuel permet donc de trier les molécules indésirables ou ceux ayant une faible affinité. Dans le temps présent, on distingue deux types de criblage virtuel, selon la nature des informations disponibles : Le criblage virtuel « *Structure-based* » et « *Ligand-based* » (Asses, 2011).

3.1. Criblage virtuel « *Structure-based* »

C'est une approche qui se fonde sur la connaissance de la structure spéciale de la cible biologique aussi connue sous le nom du criblage directe, car elle consiste à prédire les différentes interactions chimiques spécifiques entre la cible et les différentes molécules de la chimiothèque (Asses, 2011; Daina *et al.*, 2017).

3.2. Criblage virtuel « *Ligand-based* »

C'est une approche indirecte du ciblage virtuel. Elle se repose uniquement sur les connaissances acquises concernant des ligands de référence ayant prouvé expérimentalement une affinité à l'égard de la cible d'intérêt biologique. Ces ligands peuvent être utilisés en tant que pharmacophore qui possède essentiellement les caractéristiques pour être actif (Huang, 2010; Asses, 2011).

4. Outils du criblage virtuel

Pour réaliser un Docking Moléculaire, trois paramètres sont indispensables : un récepteur de nature protéique, un ligand et un programme de Docking.

4.1. Récepteur

Est une macromolécule de nature protéique, qui peut se lier spécifiquement et de manière réversible à une autre molécule appelée Ligand ; dont la structure tridimensionnelle provient souvent de PDB (<https://www.rcsb.org/>). Cette dernière est la plus grande archive mondiale de données structurales de macromolécules biologiques (protéines et acides nucléiques). Ces structures tridimensionnelles sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN (Beutraït, 2011)

Pour avoir les coordonnées spatiales de chaque atome de la structure 3D de protéine donnée, il suffit de consulter la PDB et inscrire le nom de structure pour télécharger sa structure dans un fichier au format *pdb* (Beutraït, 2011). Ce dernier est un format de référence contient diverses informations sur les macromolécules et lu par différents logiciels de visualisation et de modélisation et de criblage virtuel (Mokrani, 2012).

Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette banque de données et si cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, il devient alors possible de construire la structure

3D de la cible souhaitée, en utilisant la modélisation par homologie (Mokrani, 2012).

4.2. Ligand

Un ligand est en général une petite molécule capable de se lier de manière réversible à une macromolécule cible, La liaison ainsi constituée peut soit déclencher un cycle de modifications ayant pour point de départ le récepteur (effet activateur), soit au contraire inhiber le fonctionnement de celui-ci (effet bloquant) (Monge, 2007) . Il existe deux méthodes pour y obtenir. La première consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (protéine data bank, Molfile, Molfile2...) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que *ChemDraw*, *Titan* ou *Sybyl*. Le deuxième moyen consiste à consulter des banques de données de ligands (chimiothèques) fournissant un nombre très important de structures 3D de ligands prêtes pour le Docking. Parmi les chimiothèques les plus utilisées, nous pouvons citer : *PubChem*, *Zinc*... (Rudnitskaya *et al.*, 2010).

5. Scoring

Le procédé d'arrimage génère une liste de complexes représentant les modes d'association les plus favorables entre le ligand et le récepteur macromoléculaire. Les méthodes de scoring permettent, par la suite, d'évaluer l'affinité du complexe formé et d'attribuer un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking afin de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire aux mieux le mode d'association réel (Hazan, 2008).

6. Interactions protéines-ligands

La stabilité de ligand au sein du site actif de la protéine est assurée par des interactions de nature non covalente.

6.1. Liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une interaction attractive qui s'effectue entre deux groupes d'atomes accepteurs et donateurs impliquant un atome d'hydrogène. Le donneur est l'atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électronégatif, typiquement azote, oxygène, fluor. Tandis que l'accepteur est un autre atome électronégatif (Figure 8).

Ce type d'interactions peut s'établir entre deux molécules différentes (extra moléculaires), mais également au sein d'une même molécule (intramoléculaire). Dans ce dernier cas, elles vont tenir un rôle prépondérant dans la structure et conformation de la molécule.

La liaison hydrogène est principalement décrites par deux paramètres : la longueur de la liaison et l'angle formé par les trois atomes. Les valeurs des angles et des distances varient respectivement de 90 à 180 degrés et de 1.2 à 4.0 Å. Ces paramètres caractéristiques qui dépendent essentiellement du milieu vont déterminer la force des liaisons hydrogènes (**Beautrait, 2008**).

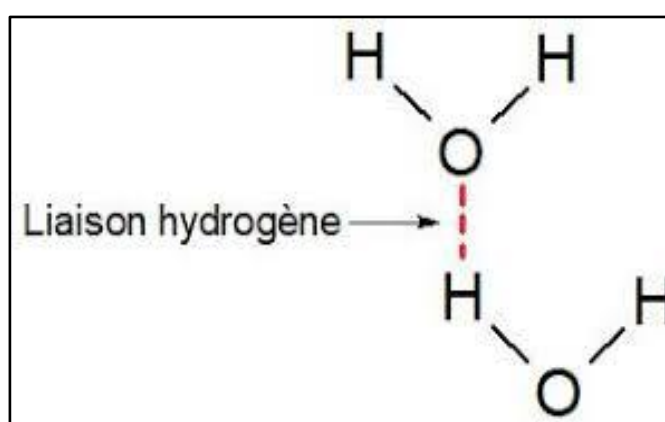


Figure 8 : La liaison hydrogène

(<https://webphysique.fr/liaison-hydrogene/>)

6.2. Interaction ionique

La liaison ionique est le résultat d'une attraction électrostatique entre deux ions de charges opposées. Ces derniers sont formés initialement à partir de deux atomes d'une différence d'électronégativité supérieure à 1,7. L'atome le moins électronégatif cède un ou plusieurs électrons à l'atome le plus électronégatif, formant ainsi des ions positifs et négatifs respectivement. Sous l'effet de l'attraction électrostatique, les deux ions se rapprochent jusqu'à une distance d'équilibre et forment alors une liaison ionique (**Beautrait, 2008**).

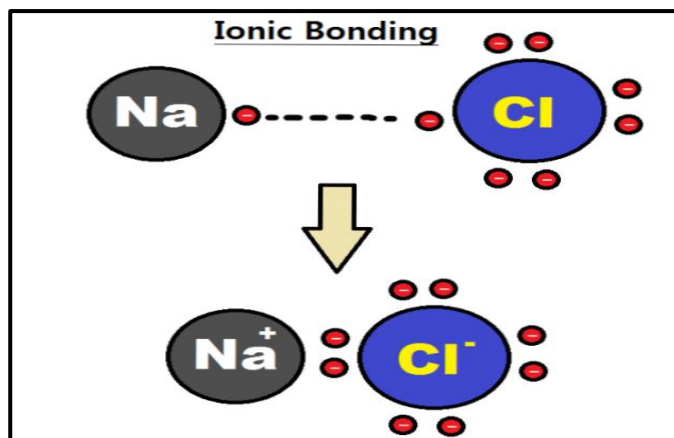


Figure 9 : La liaison ionique

(<https://fr.sawakinome.com/>)

6.3. Interactions hydrophobes

Les interactions hydrophobes s'opèrent entre les groupes non polaires qui sont incapables de former des liaisons hydrogènes et ne peuvent donc pas s'hydrater, ces groupes alors se rassemblent par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau et sont enfouis à l'intérieur des molécules. L'interaction hydrophobe a d'importantes conséquences sur la conformation et la stabilité des molécules, elle est à l'origine du processus de repliement des protéines par exemple (**Beautrait, 2008**) (Figure 10).

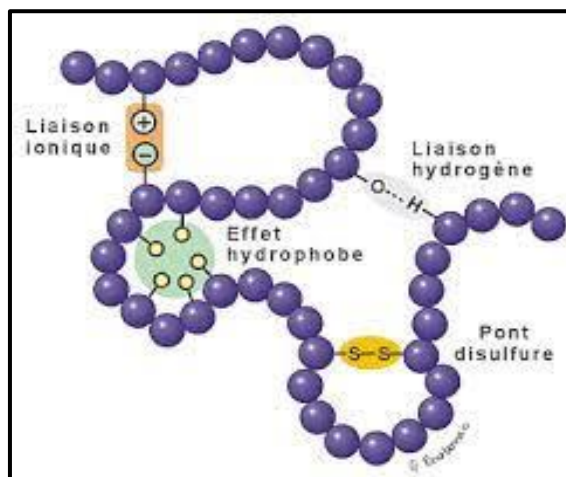


Figure 10 : Interactions hydrophobes

(<https://www.supagro.fr/ress-tice/ue1>)

6.4. Interactions de Van der waals

L'interaction de van der waals est une faible force d'attraction entre des molécules électriquement neutres qui entrent en collision ou passent très près les unes

des autres. La force de van der Waals est causée par des attractions temporaires entre les régions riches en électrons d'une molécule et les régions pauvres en électrons d'une autre. Ces attractions sont très courantes mais sont beaucoup plus faibles que les liaisons chimiques (Wang *et al.*, 2019)(Figure 11).

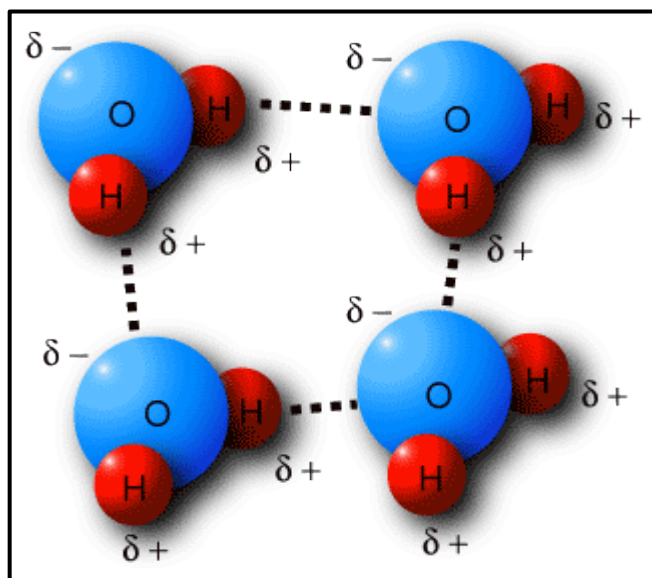


Figure 11 : Interactions de van der Waals

(<https://tpegeckoln.wordpress.com/2016/12/09/les-forces-de-van-der-waals-2/>)

7. Types de Docking

Trois catégories de Docking peuvent être établies selon la manière dont la flexibilité des molécules est traitée au cours de l'échantillonnage qui a pour fonction de générer un ensemble de poses d'un ligand à la surface d'une protéine (Lagarde, 2014).

7.1. Docking rigide

Il consiste à traiter le ligand et le récepteur tous les deux comme entièrement rigides en se basant sur le modèle de liaison de type "serrure-clé" où ni le ligand ni le récepteur ne subissent des modifications conformationnelles suite à leur interaction (chevrollier, 2019).

Ce type a été utilisé principalement par les premiers logiciels de Docking au début des années 1980, Il est considéré comme la catégorie la plus facile et rapide (Lagarde, 2014).

7.2. Docking semi-flexible

Les algorithmes de Docking semi-flexible supportent la flexibilité du ligand, ce qui a permis d'obtenir des résultats plus précis, tandis que le récepteur est considéré comme un corps rigide, il repose sur l'hypothèse sommaire que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand, c'est le type de Docking le plus précis et le plus utilisé actuellement (**Chevrollier, 2019**).

7.3. Docking flexible

Il prend en compte à la fois la flexibilité du ligand et du récepteur, ce type de Docking représente une approche plus réaliste et mène à de bons résultats du fait que la structure cristallographique du récepteur peut être plus représentative de l'état de la protéine dans son environnement naturel, ce qui permet d'améliorer la simulation correcte du mode d'interaction protéine-ligand. En revanche, cette catégorie implique certaines difficultés liées au temps de calculs nécessaires pour exploiter le Docking flexible efficacement (**Lagarde, 2014**).

8. Algorithmes de Docking

La recherche des modes d'association protéine-ligand les plus favorables se fait principalement grâce aux algorithmes de Docking qui ont été conçus pour les déterminer de façon objective, rapide et efficace. Ces algorithmes peuvent être scindés en deux catégories principales selon la méthode utilisée : L'ajustement de fragments et la simulation par trajectoire.

8.1. Ajustement de fragments (Reconstruction)

Dans les points où les rotations sont possibles, le ligand va être découpé en parties rigides et flexibles. La partie rigide est mise en interaction avec le récepteur, puis les parties flexibles sont ajoutées de manière successive avec une exploration des angles de torsion. Des logiciels tels que DOCK ou SURFLEX utilisent cette approche qui permet de faire un criblage rapide (**Guillemain, 2012**).

8.2. Simulation par trajectoire (Aléatoire)

À l'extérieur du site actif, et à partir d'une position initiale aléatoire, le ligand considéré dans son entier explore le site étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur. D'autres logiciels qui sont plus précis ont été employés notamment : AutoDock (**Guillemain, 2012**).

9. Programmes de Docking

L'utilisation du Docking Moléculaire a largement facilité la découverte de nouveaux candidats médicaments grâce à des programmes de Docking, citons à titre d'exemple : Glide, Autodock, GOLD, FlexX et Surflex (Tableau 4). Ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques tel que : l'Algorithme génétique (GA), l'algorithme de Monte Carlo (MC) et l'Algorithme de construction incrémentale (IC) (**Junior *et al.*, 2009**).

Tableau 4 : Programmes de Docking Moléculaire (**Junior *et al.*, 2009**).

Nom	Editeur	Site internet
AutoDock	Institut de recherche Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	Université de California-San Francisco	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes h	http://www.eyesopen.com/products/applications/fre
Glide	Schrodinger	http://www.schrodinger.com/products/glide.html
Gold	Centre de données cristallographiques Cambridge	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/
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
FDS	Université de Southampton	http://www.southampton.ac.uk/
PLANTS	Université de Konstanz	http://www.uni-konstanz.de/



Partie pratique



Matériel et Méthodes

1. Matériel

Pour réaliser ce travail nous avons utilisé plusieurs programmes et outils informatiques qui sont mentionnés ci-dessous :

1.1. Micro-ordinateur

Les caractéristiques du micro-ordinateur utilisé dans ce travail sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Caractéristiques du micro-ordinateur utilisé

Mémoire (RAM)	6.00 Go
Type de Système	Système d'exploitation 64 bits
Processeur	Intel(R) Core(TM) i5-82505u CPU@ 1.70 GHz
Système D'exploration	Windows 7 édition intégral

1.2. Banques de données

1.2.1. PubChem

PubChem est une banque de données américaine de molécules chimiques (chimiothèque), développée et maintenue par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), elle englobe plusieurs millions de composés mis en ligne, et recueille des descriptions de substances chimiques et de leurs activités biologiques à partir de plus de 500 sources de données et diffuse gratuitement ces données au public. En outre, *PubChem* contient des informations sur les composés qui peuvent être utiles pour le criblage virtuel, en raison de l'intégration des données avec *DrugBank* (Stanzione et al., 2021). *PubChem* est une ressource d'information essentielle pour les communautés de recherche biomédicale dans de nombreux domaines tels que la chimiométrie, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments (Kim, 2019), elle nous a aidé pour rechercher les structures 2D des ligands utilisés dans notre travail, elle est accessible par la site web (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

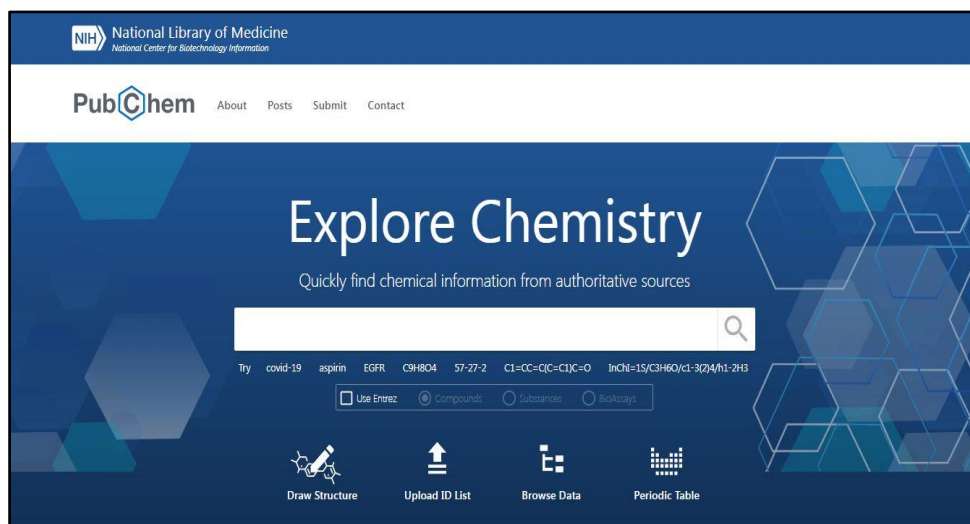


Figure 12 : Page d'accueil de la PubChem

1.2.2. Protein data bank

La banque de données protéiques (*Protein Data Bank*) ou PDB est la principale source de données de biologie structurale (macromolécules biologiques) qui permet en particulier d'accéder à des structures 3D (structures tridimensionnelles) de protéines d'intérêt pharmaceutique. Ces structures sont principalement déterminées par les deux méthodes, la cristallographie aux rayons X et la RMN (résonance magnétique nucléaire) (Tong et Ranganathan, 2013).

Elle nous a permis d'obtenir la structure 3D de notre cible et des autres complexes protéiques qui ont été utilisés pour le test RMSD (<https://www.rcsb.org/>).



Figure 13 : Page d'accueil de la pdb

1.3. Programmes et sites web

1.3.1. Chem3D version 16.0

C'est un logiciel de modélisation qui nous a permis de construire, de générer des modèles 3D de différents ligands utilisés pour l'amarrage moléculaire, et d'optimiser leur géométrie.

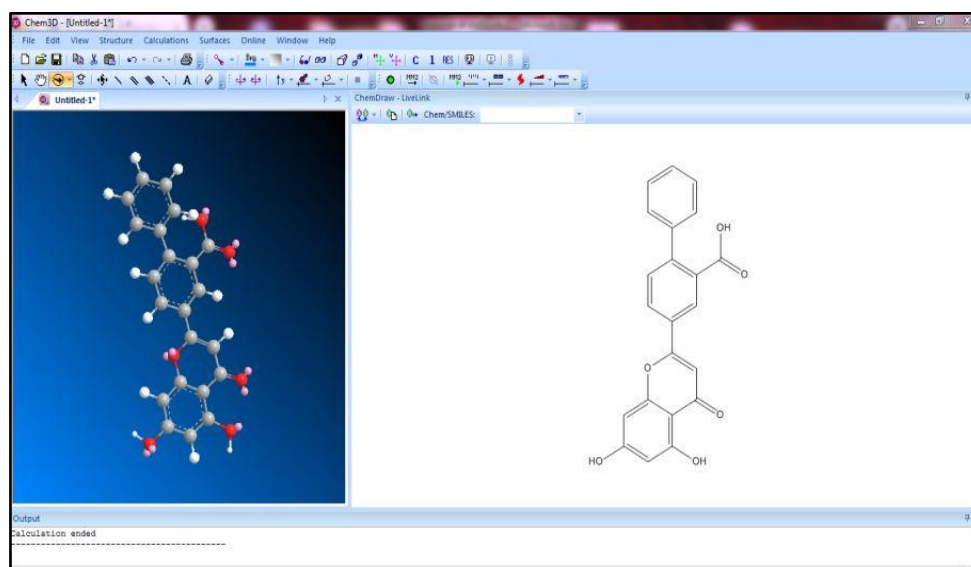


Figure 14 : Interface du programme Chem3D.

1.3.2. FlexX

Dans notre travail, nous avons utilisé le programme FlexX de la version (2.3.2) pour réaliser le Docking Moléculaire de notre protéine cible vis-à-vis des inhibiteurs microbiens potentiels.

FlexX est un programme d'arrimage moléculaire qui permet de prédire l'affinité et le mode d'interaction entre un ligand et une protéine donnée, en simulant la géométrie du complexe formé ainsi qu'une estimation de l'énergie d'interaction qui en résulte en KJ/mol. Ce programme utilise une approche incrémentale pour chercher les conformations les plus stables d'un ligand au sein du site actif de la protéine cible (Tiwari *et al.*, 2009).

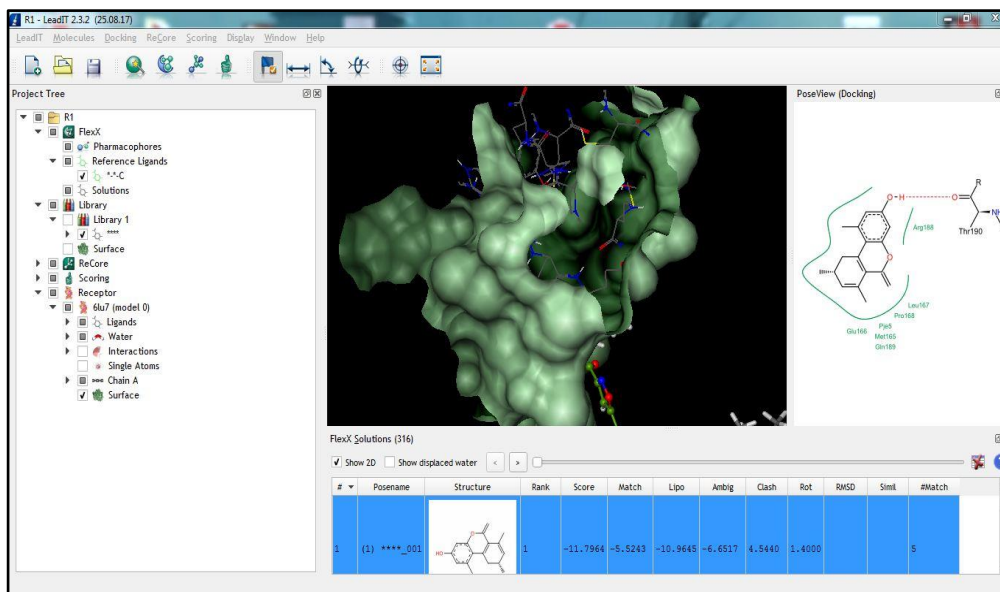


Figure 15 : Interface du logiciel FlexX.

1.3.3. Open Babel

Le programme Open Babel version (2.0.2), est un programme libre qui nous a facilité la conversion des données biologiques d'un format à un autre. Les différents formats que ce logiciel prend en charge comprennent : *pdb*, *mol*, *mol2*, *sdf*, etc (O'Boyle et al., 2011).

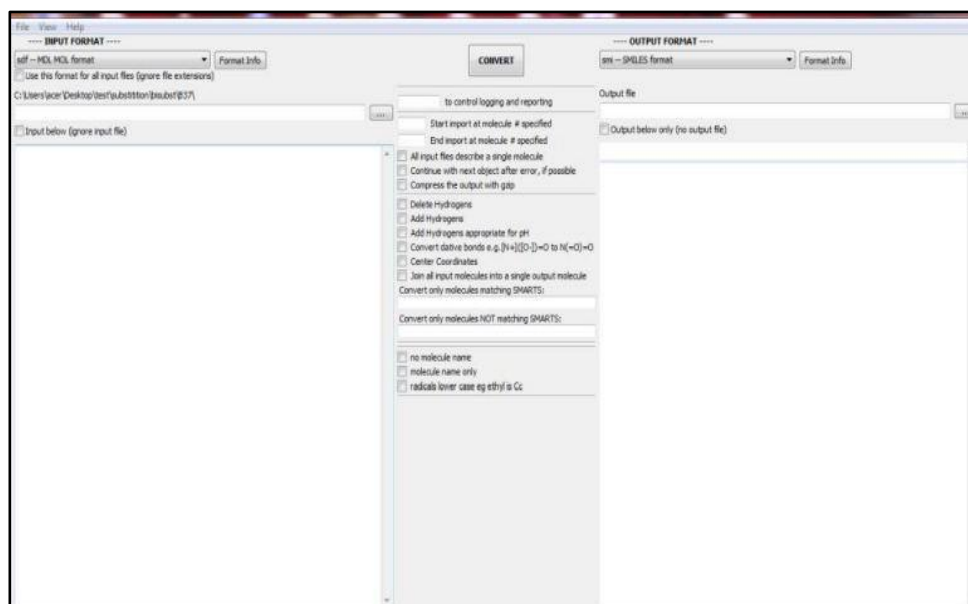


Figure 16 : Interface du programme Open Babel

1.3.4. Visual molecular dynamics

le programme VMD (visualmoleculardynamics) version (1.9.3) est conçu pour la modélisation, la visualisation et l'analyse de données biologiques telles que les protéines, les acides nucléiques provenant de la PDB. Dans notre cas, nous avons utilisé ce programme pour l'analyse visuelle des ligands superposés utilisés dans le test de fiabilité.

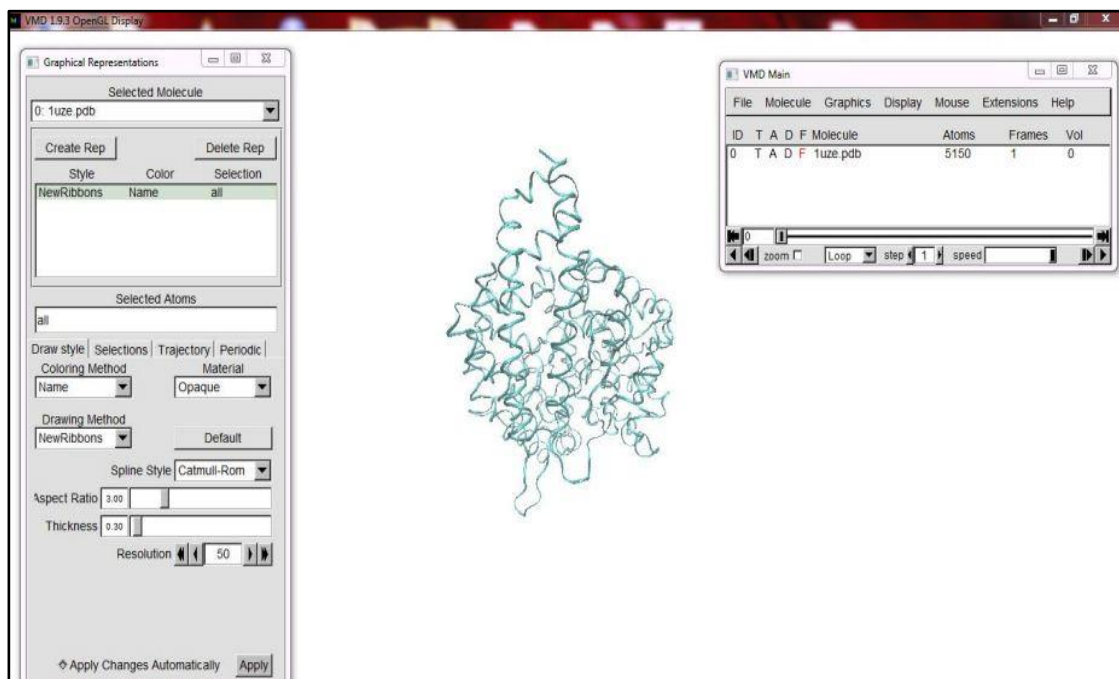


Figure 17 : Interface du programme VMD

L

1.3.5. Serveur SwissADME

Ce serveur nous a aidé à calculer les paramètres physico-chimiques et pharmaco-cinétiques de nos meilleurs inhibiteurs résultants(<http://www.swissadme.ch>.)

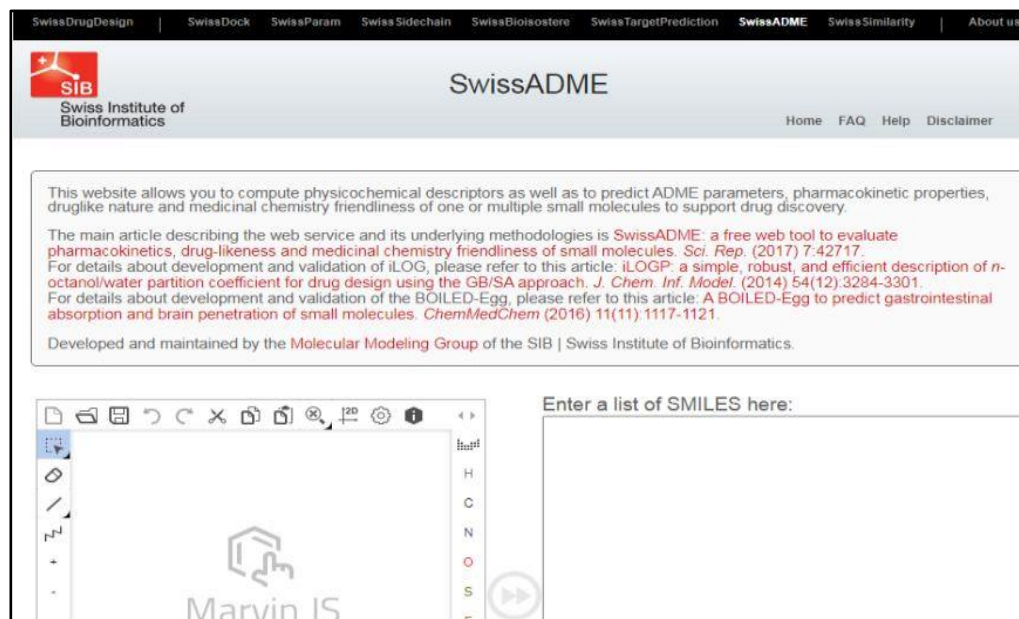


Figure 18 : La page d'accueil du serveur SwissADME

2. Méthodes

1.1. Test de fiabilité

Afin de valoriser et confirmer les résultats obtenus au cours de notre travail, il est indispensable d'étudier d'abord la fiabilité et la performance du logiciel utilisé pour le Docking, au moyen de deux tests :

- Test RMSD (*Root Mean Square Deviation*).
- Analyse visuelle.

2.1.1. Test RMSD

La valeur de déviation quadratique moyenne ou 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 simulé par le logiciel du Docking vis-à-vis de sa conformation cristallographique de référence (celui observé expérimentalement). Si le protocole utilisé est capable de régénérer une pose similaire à la configuration expérimentale, cela signifie que le Docking est validé.

La valeur seuil admise est de 2 Å, Plus la valeur de RMSD se rapproche de 0, plus la conformation prédite par le logiciel se superpose avec celle de référence. La norme actuelle pour évaluer la performance d'un logiciel de Docking est de faire ce

test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés (**Lagarde, 2014**).

Ce test a été effectué sur une série de 101 complexes tirés de façon aléatoire de la PDB.

2.1.2. Analyse visuelle

C'est une étape complémentaire du test RMSD, pour confirmer la fiabilité des simulations, en vérifiant la superposition de la confirmation de ligand simulé par le programme vis-à-vis sa pose expérimentale de référence. S'il n'y a pas une différence significative entre la pose du ligand généré par Docking et celle déterminée expérimentalement, la simulation par le logiciel utilisé est peut donc être jugée comme fiable. Cette étape a été effectuée à l'aide de programme VMD en utilisant le ligand F3F en complexe avec la Mpro de *SARS-CoV*.

2.2. Choix et préparation de la cible

La structure tridimensionnelle de notre cible d'étude "la Mpro", a été obtenue via la banque de données PDB, Parmi les complexes proposés par cette banque, celui portant le code 6LU7 a été choisi, Ce code correspond à la structure 3D de la Mpro en complexe avec l'inhibiteur co-cristallisé (N3) avec une résolution de 2.16 Å. Ensuite le complexe a été téléchargé sous format pdb (Figure 18).

Un fichier de structure PDB typique n'est pas adapté pour une utilisation immédiate, vu qu'elle peut présenter certains problèmes qui doivent être corrigés avant d'entamer le Docking Moléculaire, pour cela le complexe 6LU7 a été prétraité dans un premier temps par le logiciel FlexX, en ajoutant les atomes d'hydrogènes et en éliminant les molécules d'eau ainsi que la séparation de l'inhibiteur co-cristallisé N3 afin de libérer le site actif, en parallèle, La présence d'un inhibiteur dans ce complexe permet de la définition et la localisation du site actif. La cible est par la suite enregistrée dans un fichier au format pdb.

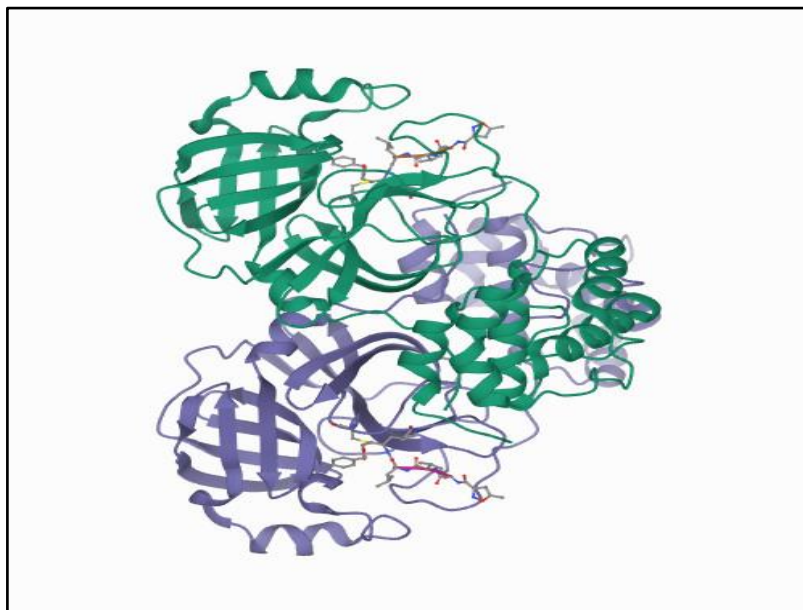


Figure 19 : La structure cristalline de la Mpro en complexe avec l'inhibiteur N3 (6LU7) (**Jin *et al.*, 2020**)

2.3. Choix et préparation des ligands

Dans ce travail, 68 ligands d'origine microbienne issue de différentes espèces tirées à partir de la littérature ont été utilisés pour le criblage virtuel avec la Mpro.

Ces molécules ont été sélectionnées en se basant sur leurs bio-activités thérapeutiques contre diverses maladies, ainsi que leurs similitudes structurelles avec notre cible. Cependant, ces molécules ont été filtrées dans un premier temps en éliminant ceux qui ont des structures trop complexes avec un grand nombre des liaisons flexibles.

Les structures 2D ainsi que la 3D des ligands ont été construites à l'aide de logiciel (3Dchem.), suivi par une optimisation de leur géométrie en minimisant leur énergie par l'utilisation de champ de force MM2 présent dans chem3D, avant de l'enregistrer sous format mol2.

2.4. Docking Moléculaire du complexe Mpro-N3

Pour évaluer l'activité inhibitrice d'un ligand vis-à-vis de notre protéine, il est primordial de comprendre tous d'abord les interactions mis en jeu au niveau moléculaire dans le mécanisme d'inhibition d'un meilleur inhibiteur expérimentalement actif sur la cible.

Dans ce cadre, Le composé N3 (N-[(5-METHYLISOXAZOL-3-YL)CARBONYL]ALANYL-L-VALYL-N-((1R,2Z)-4-(BENZYLOXY)-4-OXO-1-[(3R)-2-OXOPYRROLIDIN-3-YL]METHYL)BUT-2-ENYL)-L-LEUCINAMIDE-) co-cristallisé du complexe 6LU7 a été choisi comme un ligand de référence pour développer de nouveaux inhibiteurs potentiels plus puissants envers de la Mpro, et cela grâce à son activité inhibitrice approuvée sur le plan expérimental (IC₅₀= 9.0 μM ± 0.8) ainsi que *in silico* avec un meilleur score d'amarrage ($\Delta G = -15,3$ KJ/mol) (**Jin et al., 2020**).

Le ligand N3 a été séparé du complexe 6LU7 à l'aide du logiciel FlexX et a subi d'une préparation précoce, les modifications apportées au ligand ont été enregistrées, ensuite un Docking Moléculaire a été effectué sur le complexe Mpro-N3 par le programme FlexX afin de donner un score de départ dont ceux qui le dépassent représentent les inhibiteurs potentiels de la Mpro.

2.5. Docking Moléculaire du complexe Mpro-ligand

Un Docking Moléculaire a été effectué par FlexX pour les 68 composés microbiens vis-à-vis la Mpro, dans le but de prédire leur affinité envers elle, et dont le récepteur a été considéré comme rigide alors que le ligand représente la partie flexible, Le Docking par FlexX se fait par une fragmentation puis reconstruction du ligand, Il utilise le récepteur sous le format pdb et les ligands sous le format sdf ou mol2.

2.6. Analyse et Visualisation des résultats

Une fois que l'opération de Docking Moléculaire est terminée, les résultats sont obtenus sous forme d'un tableau où sont classées par ordre décroissant en portent les énergies d'interaction des différentes poses du ligand étudié exprimée en kJ/mol plus d'une représentation schématique des différentes interactions que forme le ligand avec la cible soit en forme 2D ou 3D.

2.7. Prédiction des propriétés ADME

Afin de vérifier *in silico* si les inhibiteurs identifiés de la Mpro peuvent atteindre leur cible dans l'organisme en y restant suffisamment de temps pour induire leur éventuel effet biologique, nous avons mené une étude prédictive des propriétés (ADME).

Dans ce cadre, le serveur SwissADME a été utilisé a fin de prédire les critères physico-chimiques et pharmaco-cinétiques de nos meilleurs inhibiteurs.

2.7.1. Propriétés physico-chimiques

En 1997, Lipinski *et al* ont proposé une règle permettant d'évaluer la biodisponibilité d'un composé chimique par voie orale à partir de sa structure 2D. Selon cette règle, un composé doit valider au moins deux sur quatre (2/4) critères suivants pour avoir la chance d'être disponible oralement (**Lipinski *et al.*, 2001**).

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

Pour une sélection plus rigoureuse des composés « *drug-like* », Veber *et al* (2002) ont proposé un complément de la règle de Lipinski par les deux critères suivants (**Cecchelli *et al.*, 2007**) :

- L'aire de surface polaire (TPSA) doit être inférieure ou égale à 140 \AA^2 .
- Le nombre de liaisons flexibles (nLF) doit être inférieur ou égal à 1.

2.7.2. Propriétés pharmaco-cinétiques

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



Résultats et discussion

1. Test de fiabilité

1.1. RMSD

L'évaluation de la fiabilité par le RMSD a été effectuée sur 101 complexes (protéine-ligand) que nous avons téléchargé de la PDB et regroupé dans le tableau de l'annexe. Il ressort de la Figure 20 que 70% des valeurs de RMSD obtenues suite au Docking Moléculaire par FlexX sont inférieures à 2Å alors que seulement 30% sont supérieures à cette valeur seuil. Ces résultats montrent que ce programme simule correctement les interactions protéine-ligand.

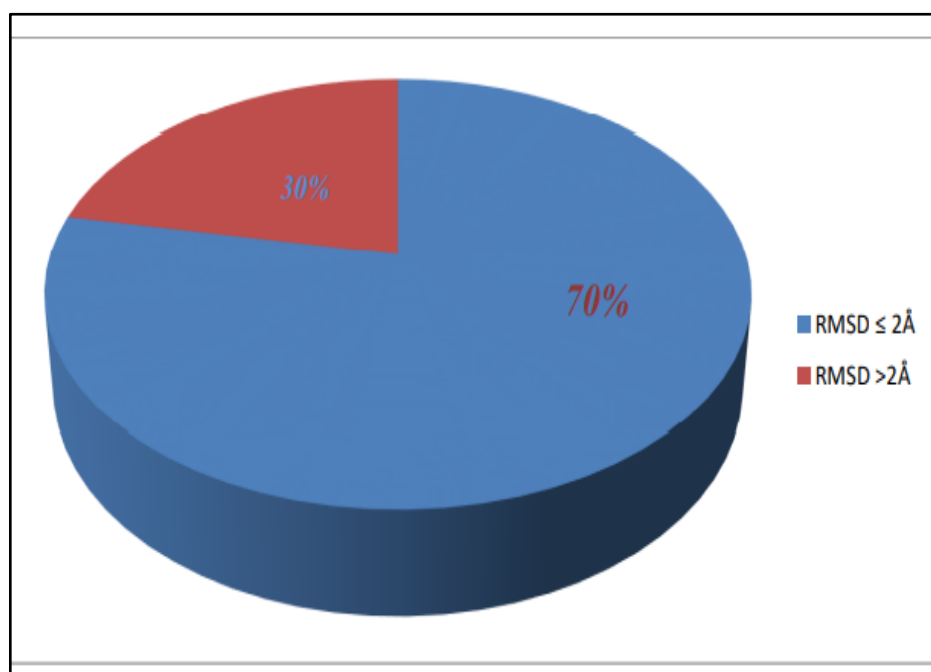


Figure 20 : Résultats en pourcentage du test RMSD à deux intervalles

1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape primordiale pour affirmer les résultats du test RMSD et de revérifier la performance du programme FlexX. La visualisation des résultats à travers le programme VMD, elle nous a permis de préciser si la pose d'un ligand simulée se superpose avec celle Co-cristallisée. Dans notre cas, l'analyse visuelle a été réalisée sur le complexe Mpro-F3Fportant le code pdb 2GZ8.

En effet, la Figure 21 montre une bonne superposition de la pose du ligand générée par FlexX (colorée en vert) vis-à-vis de celle de référence donnée par

cristallographie au rayon X (colorée en rouge). Cela témoigne davantage de la fiabilité du programme FlexX pour l'étude *in silico* de l'inhibition de la Mpro.

Par conséquent, nous pouvons donc conclure que le programme FlexX est performant pour réaliser le Docking Moléculaire.

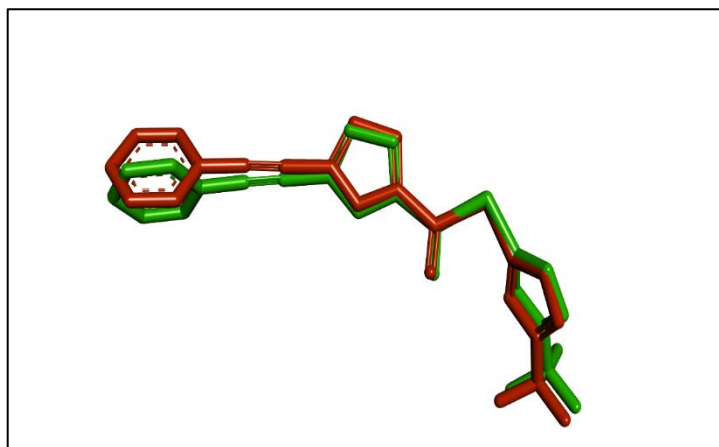


Figure 21 : Superposition de la géométrie du ligand F3F du complexe 2GZ8 obtenue par rayon-X (Colorée en Violet) et celle obtenue par FlexX (colorée en Vert).

2. Etude des interactions Mpro-ligand

L'arrimage moléculaire effectué aux 68 composés microbiens envers la Mpro à l'aide du programme FlexX, nous a permis de simuler les interactions intervenantes dans la formation de ces complexes et évaluer leurs affinités, cette dernière est calculée et traduite par des scores dont le meilleur score représente le meilleur inhibiteur en se basant sur la puissance d'énergie d'interaction.

Parmi les 68 composés (Tableau 06), seulement 36 molécules présentent une affinité supérieure à celle de notre ligand de référence avec un score de départ égale à -15,30kJ/mol. Les trois meilleurs inhibiteurs obtenus dans ce travail sont 21, 48 et 55 avec des Scores respectives de -36.16kJ/mol, -28.38kJ/mol, -27.01kJ/mol.

Tableau 6 : Les scores des complexes protéine/ligand étudiés

Composés	Nom de composés	Scores	Source microbienne
21	Ammonificin C	-36,16	<i>Thermovibrioammonificans</i>
48	Pityriacitrin E	-28,38	<i>Malasseziafurfur</i>
55	Kaempférol	-27,01	<i>Staphylococcus aureus</i>
7	Semicochliodinol A	-25,97	<i>Chrysosporiummerdarium</i>
28	Emodin	-24,88	<i>Penicillium chrysogenum/Aspergillus ochraceus</i>
57	Taxifolin	-23,65	<i>Cercidiphyllumjaponicum</i>
47	Proximicin C	-23,55	<i>ActinomyceteVerrucosisporaMarine</i>
27	Alatinone	-23,4	<i>Penicillium chrysogenum</i>
29	Ω-hydroxyemodin	-23,05	<i>Penicillium chrysogenum</i>
20	Eucapsitrione	-22,41	<i>Cyanobacteriumeucapsis</i>
40	Flavipin	-22,19	<i>Aspergillus terreus/flavipes</i>
9	Semicochliodinol	-21,66	<i>Chrysosporiummerdarium</i>
30	Chrysoginone	-21,5	<i>Penicillium</i>
43	Sulochrin	-21,49	<i>Aspergillus terreus</i>
31	Chrysophanol	-21,45	<i>Penicillium islandicum</i>
62	Coccoquinone A	-21,13	<i>Staphylotrichumcoccosporium</i>
49	Penimethavone A	-21,05	<i>Penicillium chrysogenum/Streptomyces</i>
8	Semicochliodinol B	-20,36	<i>Chrysosporiummerdarium</i>
45	Citriquinochroman	-20,35	<i>Penicillium citrinum</i>
38	Dihydrocitrinone	-20,14	<i>Aspergillus terreus</i>
51	Cordyol C	-19,91	<i>Aspergillus sp.</i>
6	Griseoxanthone C	-19,9	<i>Penicillium patulum</i>
65	Scequinadoline A	-19,86	<i>Scedosporiumapiospermum/Dichotomomycescejpji</i>
46	Holyrine B	-19,36	<i>Streptococcus mutans</i>
23	Pyranonigrin A	-19,27	<i>Aspergillus niger</i>
42	10-méthoxydihydrofusicin	-18,82	Actinomycètes
26	3A-Hydroxy-3,5-dihydromonacolin L	-18,47	<i>Aspergillus terreus</i>
32	2',3'-dihydrosorbicillin	-18,31	<i>Trichodermasp</i>
58	Silybin	-17,93	<i>Silybummarianum</i>
52	Piperitol	-17,65	<i>Oidiodendrongriseum</i>
34	Fuscinarin	-17,18	<i>Aspergillussydowii and Penicilliumcitrinum</i>
54	Alutenusin	-16,78	<i>Alternaria</i>
22	Jbir-90	-16,35	<i>Streptomyces</i>
41	Noroquinadolinea	-15,84	<i>Cladosporiumsp.</i>
64	Purpurester A	-15,74	<i>Talaromycespurpureogenus</i>

2.1. Etude des interactions Mpro-N3

Afin de comprendre le mécanisme d'action de l'inhibiteur N3 portant le code 6LU7 vis-à-vis la Mpro du SARS-CoV-2, un Docking Moléculaire a été effectué sur le complexe Mpro-N3 à l'aide de programme FlexX, en effet, l'énergie d'interaction obtenue après le Docking de ce composé est de -15.9 kJ/mol.

Comme le montre la Figure 22, cette énergie d'interaction se traduit par la mise en place de six liaisons hydrogènes. Les deux premières liaisons sont formées entre la fonction amine des deux résidus Thr190 et Gln192 et la fonction cétone de N3. Le résidu Gln189 s'engage dans la formation de la troisième et la quatrième liaison hydrogène avec les azotes cycliques de l'inhibiteur. La cinquième liaison est observée entre la Glu166 par son fonction amine et l'inhibiteur. La dernière liaison est aussi observée entre le résidu Glu166 et l'azote cycliques de N3. Il est important de souligner que le complexe Mpro-N3 est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus Met165, Ala191, Gln189, Thr190, Pro168, His 41, Met49, Pje5, de l'enzyme.

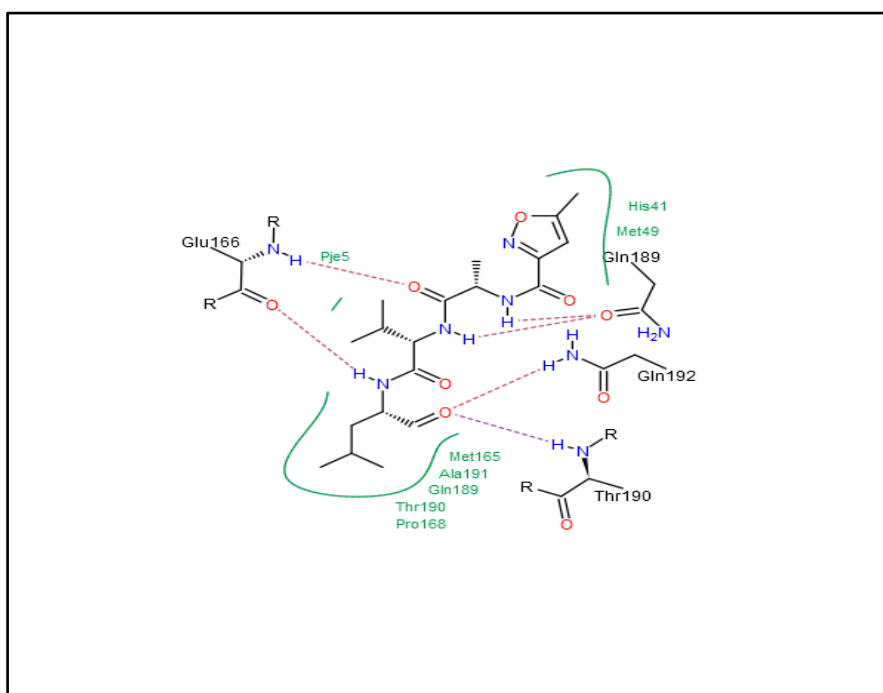


Figure22 : Mode d'interaction de l'inhibiteur de référence N3 dans le site actif de la Mpro

2.2. Le composé 21

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré l'Ammonificin C composé(21) comme meilleur inhibiteur de la Mpro avec une meilleure énergie d'interaction égale à -36,16 kJ/mol.

Ce composé a été isolé à partir de la bactérie marine hydrothermale *Thermovibrio ammonificans*, des anciennes études l'ont déjà approuvé comme une molécule anticancéreuse(Andrianasolo *et al.*, 2012).

Selon l'analyse visuelle effectuée par FlexX, Cette molécule a montré une stabilité parfaite au sein de site actif de la Mpro qui a été assuré par de nombreuses interactions hydrophobiques formées avec les résidus : Leu167, Thr190, pje5, Glu 166, Gln189, Met 165 et la Met 49. Ainsi que neuf liaisons hydrogènes, dont Les deux premiers sont formés entre le résidu Glu 166 et l'inhibiteur, et trois autres avec un résidu pje5. Ensuite les deux résidus Gln192 et Thr190 se lient par deux liaisons hydrogènes dans la même place sur l'inhibiteur (Figure 23).

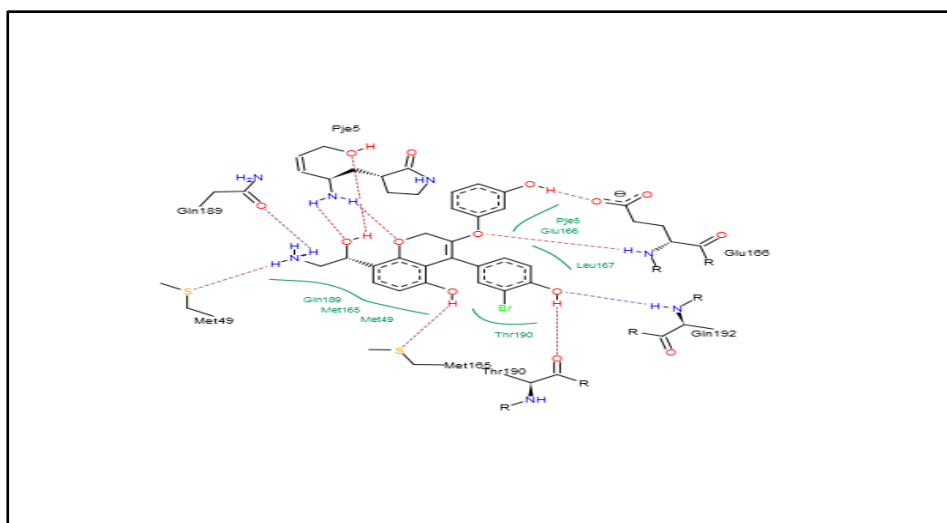


Figure 23 : Mode d'interaction du composé (21) dans le site actif de la Mpro

2.3. Le composé 48

Le Pityriacitrin E (48)est le deuxième composé qui a présenté une bonne affinité envers la Mpro de SARS-CoV-2 avec une énergie d'interaction soit -28,38kJ/mol, cette molécule est un alcaloïde qui a été isolé de la bactérie *Malassezia furfur*, il a été approuvé pour ses activités antivirales et anti fongiques(Wang *et al.*, 2021).

L'analyse visuelle de ce composé montre qu'il établit trois liaisons hydrogènes. Les deux premières sont formées entre l'inhibiteur et la fonction amine des deux résidus Gln192, Thr190. La troisième liaison est entre la fonction amine de Glu 166 et la fonction cétone de l'inhibiteur, De plus le complexe de Mpro- 48 est stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques formées avec les résidus Asp187, His41, Met165, Arg188, Gln189, Glu166 (Figure24).

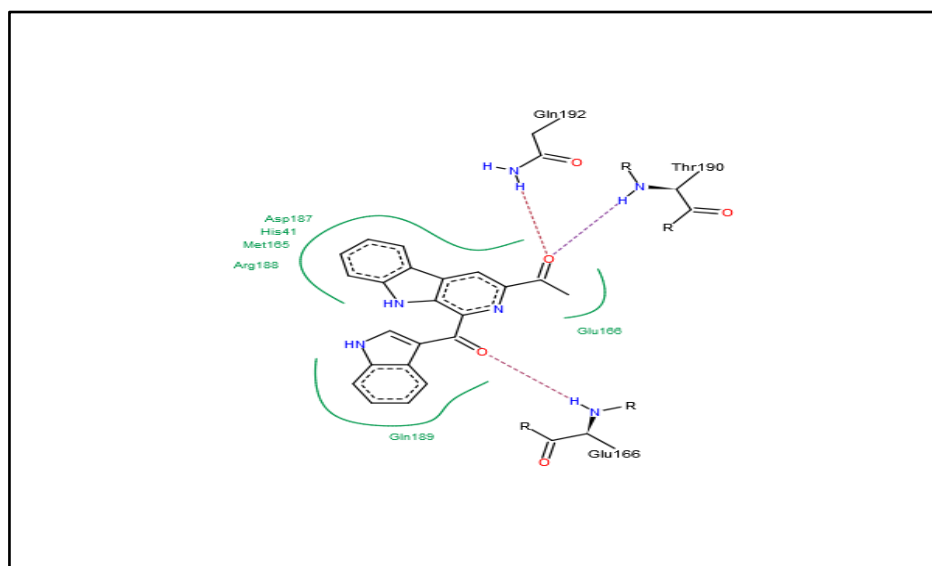


Figure 24 : Mode d'interaction du composé (48) dans le site actif de la Mpro

2.4. Le composé 55

Le Kaempférol (55) est également un puissant inhibiteur potentiel de la Mpro extrait de la bactérie *Staphylococcus aureus* qui a fourni une énergie d'interaction égale à -27,01 kJ/mol. Ce composé inhibe le site actif de la Mpro en formant six liaisons hydrogènes. Les deux premières sont formées entre le résidu Tyr45 et Asp187 et l'inhibiteur, ensuite le résidu Pje5 avec sa fonction amine forme une liaison hydrogène avec la fonction cétone de l'inhibiteur, La quatrième liaison hydrogène lie le résidu His 164 par sa fonction cétone avec l'inhibiteur, en fin les deux dernières liaisons se forment entre la fonction amine des deux résidus Glu166 et Gln 192 et l'inhibiteur. De nombreuses interactions hydrophobiques participent à la stabilité du complexe Mpro-55, sont formées avec les résidus : Gln192, Leu167, Met165, Thr190, Pro168, Gln189, Asp187, Arg188, His41 (Figure 25).

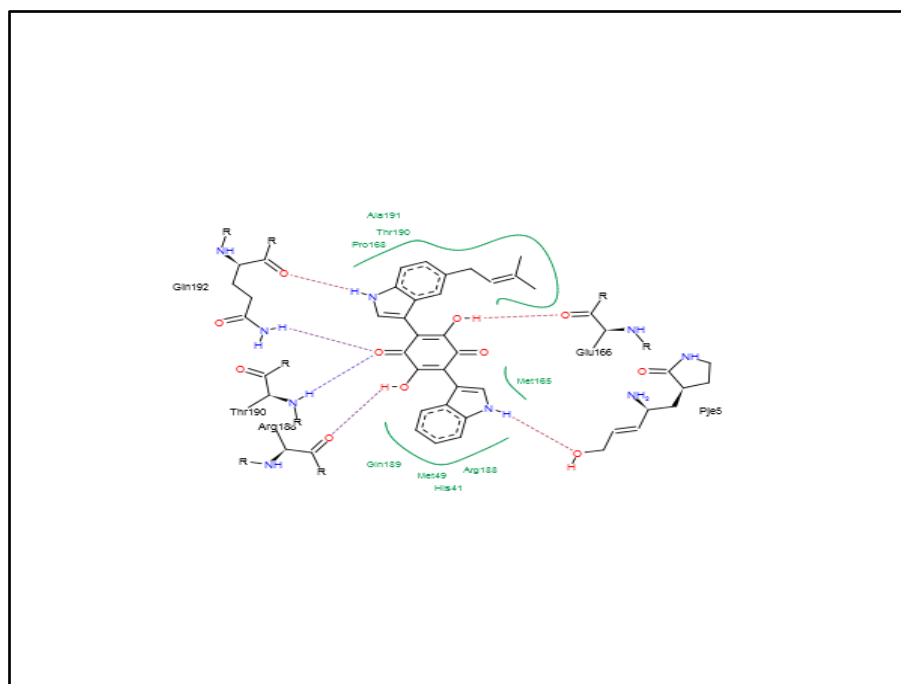


Figure 25 : Mode d'interaction du composé (55) dans le site actif de la Mpro

Les résultats obtenus par le FexX montrent que la plupart des composés ayant une meilleure affinité que celui de référence envers la Mpro de *SARS-CoV-2*, sont extraites des champignons principalement les genres *Penicillium* et *Aspergillus*, ce qui indique que ces deux genres ont des potentialités antivirales prometteuses vis-à-vis le *SARS-CoV-2*.

3. Prédiction des paramètres ADME

Avant de proposer les composés 21, 48, 55 comme de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la Mpro du *SARS-CoV-2*, il était indispensable de compléter notre travail par une étude prédictive des propriétés physico-chimiques et pharmaco-cinétiques afin de vérifier leur profil ADME. Pour cela, La N3a été utilisée comme standard.

3.1. Propriétés physico-chimiques

Une analyse des propriétés physico-chimiques a été effectuée pour les trois meilleurs composés en utilisant le serveur SwissADME, afin de définir le composé ayant la meilleure probabilité d'être un candidat médicament. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Propriétés physico-chimiques des trois meilleurs composés

Propriétés	Standard (N3)	21	48	55
Formule	C19H30N4O5	C23H20BrNO6	C22H15N3O2	C15H10O6
PM (g/mol) Poids moléculaire	394.47	486.31	353.37	286.24
nLF Nombre de liaisons flexibles	13	5	3	1
nON Nombre d'accepteur d'hydrogène	6	7	3	6
nOHNH Nombre de donneurs d'hydrogène	3	5	2	4
Log P	1.68	2.79	3.58	1.58
TPSA Å²	130.40	125.40	78.61	111.13
Règle de Lipinski	Conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
Règle de Veber	N'est pas conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
Solubilité dans l'eau	Moyenne	Faible	Faible	Soluble
Accessibilité à la synthèse	41	4.39	2.70	3.14

D'après le tableau représenté au-dessus, les résultats physico-chimiques obtenus par le serveur SwissADME montrent que les composés 21, 48, 55 répondants parfaitement aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui indique qu'ils peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes. Cependant le composé 55 présente une bonne solubilité dans l'eau qui favorise sa perméabilité dans le sang. Par rapport à l'accessibilité à la synthèse, les composés 21, 48, 55 semblent être chimiquement synthétisables comme les résultats le montrent dont les valeurs sont inférieures à 5.

3.2. Propriétés pharmaco-cinétiques

Les résultats obtenus suite à l'analyse des propriétés pharmaco-cinétiques des composés 21, 48 et 55 sont illustrés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Propriétés pharmaco-cinétiques des trois meilleurs composés

Propriétés	N3	21	48	55
GI absorption	Elevée	Elevée	Elevée	Elevée
BBB perméabilité	Faible	Faible	Faible	Faible
CYP1A2 inhibition	Négative	Négative	Positive	Positive
CYP2C19 inhibition	Négative	Négative	Positive	Négative
CYP2C9 inhibition	Négative	Négative	Positive	Négative
CYP2D6 inhibition	Négative	Positive	Positive	Positive
CYP3A4 inhibition	Négative	Positive	Positive	Positive

a) Absorption

Le ligand de référence N3 et les composés 21, 48, 55 présentent une bonne perméabilité gastro-intestinale (GI), donc ils peuvent traverser le tractus gastro-intestinal pour atteindre la circulation sanguine.

b) Distribution

Tous les autres composés y compris le N3 ne peuvent pas franchir la barrière hémato-encéphalique(BBB), ce qui l'empêchent d'atteindre le système nerveux central et donc ne pas provoquer des effets secondaires.

c) Métabolisme

Nous constatons que seuls le N3 ne présentent aucun effet inhibiteur pour les CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4. Cependant les composés 21, 48, 55 inhibent les 5 isoformes des cytochromes (CYP), ce qui être à l'origine des interactions médicamenteuses au niveau du foie. Il est utile de préciser que ce dernier problème peut être résolu lors de l'optimisation de ces composés.

Conclusion

Les résultats obtenus d'après les deux tableaux suggèrent que nos molécules potentielles ont un bon profil pharmacologique, par conséquent on peut les exploiter dans le processus de développement des médicaments contre le *SARS-CoV-2*.



Conclusion

Conclusion

Notre travail de master a pour objectif majeur l'acquisition des compétences en simulation informatique, en particulier le Docking Moléculaire, afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs d'origine microbienne de la Mpro, cible enzymatique récente jouant un rôle clé pour lutter contre le SARS-CoV-2. Au départ, nous avons évalué la performance du programme de Docking Moléculaire FlexX en réalisant le test RMSD sur 101 complexes protéines-ligands. Par la suite nous avons procédé à une analyse visuelle de la superposition entre la conformation d'un ligand simulé par FlexX et celle de référence déterminée expérimentalement. Avec 70% des valeurs de RMSD parfaitement dans les normes et une superposition entre la pose théorique et celle expérimentale, nous pouvons conclure que le programme FlexX est suffisamment fiable et peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs dans le cadre de notre étude.

Dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de la Mpro par Docking Moléculaire. En prenant comme structure de départ le ligand N3 du complexe de base 6LU7, Le Docking Moléculaire des 68 composés microbiens sélectionnés à l'égard du site actif de la Mpro fait ressortir les composés numéro 21, 48 et 55 comme des meilleurs inhibiteurs de cette enzyme avec des énergies d'interaction respectives de -36,16 kJ/mol, -28,38 kJ/mol et -27,01 kJ/mol.

Enfin, l'étude prédictive des propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques des composés 21, 48, 55, montre que ces derniers présentent un bon profil ADME.

Cette étude révèle l'importance des outils bio-informatiques dans le développement rapide des molécules thérapeutiques, ainsi qu'elle met en valeur les potentialités antivirales des métabolites microbiens et leur capacité d'être des candidats médicamenteux prometteurs.

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



Bibliographie

Bibliographie

A

Andrianasolo, E.H., Haramaty, L., Rosario-Passapera, R., et al. (2012) Ammonificins C and D, hydroxyethylamine chromene derivatives from a cultured marine hydrothermal vent bacterium, *Thermovibrio ammonificans*. *Marine Drugs***10**: 2300–2311. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3497024/>

Antonopoulou, I., Sapountzaki, E., Rova, U., and Christakopoulos, P. (2022) Inhibition of the main protease of SARS-Cov-2 (Mpro) by repurposing/designing drug-like substances and utilizing nature's toolbox of bioactive compounds. *Computational and Structural Biotechnology Journal* **20**: 1306–1344 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2001037022000848>.

Asses, (2011) Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Met. Thèse de doctorat : Chimie Informatique et Théorique. France : Université Henri Poincaré, 137 p. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01746221/file/Manuscrit-corrigeA_-asses.pdf

B

Banerjee, R., Perera, L., and Tillekeratne, L.M.V. (2021) Potential SARS-Cov-2 main protease inhibitors. *Drug Discovery Today* **26**: 804–816 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644620305237>.

Beautrait, A. (2008) Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Thèse de doctorat : Chimie Informatique et Théorique. Nancy : Université de Henri Poincaré, 217 p. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00610626/document>.

Bourdon, (2020) Le cycle viral de *SARS-Cov-2*. Arbre des connaissances <https://arbre-des-connaissances-apsr.org/le-cycle-viral-de-SARS-COV-2/>. Accessed May 10, 2022.

C

Cecchelli, R., Berezowski, V., Lundquist, S., et al. (2007) Modelling of the blood-brain barrier in drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery***6**: 650–661. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17667956/>

Chevrollier, N. (2019) Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse de doctorat : Sciences de la vie et de la santé. Paris : Université de Paris-Saclay, 176 p. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02436914/document>.

Citarella, A., Scala, A., Piperno, A., and Micale, N. (2021) SARS-Cov-2 Mpro: A Potential Target for Peptidomimetics and Small-Molecule Inhibitors. *Biomolecules* **11**: 607. <https://www.mdpi.com/2218-273X/11/4/607>

Claude, A.J. (2020) Covid-19. Sciences en livres <https://www.dev.scienceenlivre.org/covid-19/>. Accessed May 10, 2022.

Coelho, C., Gallo, G., Campos, C.B., et al. (2020) Biochemical screening for SARS-Cov-2 main protease inhibitors. *Public Library of Science* **15**: e0240079
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0240079>.

Cong, Y., Ulasli, M., Schepers, H., et al. (2020) Nucleocapsid Protein Recruitment to Replication-Transcription Complexes Plays a Crucial Role in Coronaviral Life Cycle. *Journal of Virology* **94**: e01925-19. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31776274/>

D

Daina, A., Blatter, M.-C., Baillie Gerritsen, V., et al. (2017) Drug Design Workshop: A Web-Based Educational Tool To Introduce Computer-Aided Drug Design to the General Public. *Journal of Chemical Education* **94**: 335–344. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jchemed.6b00596>

G

Grosdidier, A. (2015) Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat : pharmacie, France : université joseph fourier 90 p. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01115990/document>

Guillemain, H. (2012) Evaluation et application de méthodes de criblage in silico. These de doctorat : Bioinformatique, France : Université de Cnam, 148 p. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00814270/document>.

Gupta, C., Prakash, D., and Gupta, S. (2014) Natural useful therapeutic products from microbes. *Journal of Microbiology & Experimentation*, **1**:30-37
<https://medcraveonline.com/jmen/jmen-01-00006.pdf>.

H

Hardenbrook, N.J., and Zhang, P. (2022) A structural view of the SARS-Cov-2 virus and its assembly. *Current Opinion in Virology* **52**: 123–134
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625721001516>.

Hazan, C. (2008) recherche d'inhibiteurs de haute affinite de l'adn polymerase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat : Biologie structurale, Paul Sabatier : Université de TOULOUSE, 249 p. <http://www.theses.fr/2008tou30082>.

Heydari, H., Golmohammadi, R., Mirnejad, R., et al. (2021) Antiviral peptides against Coronaviridae family: A review. *Peptides*. **139**: 170526. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33676968/>

Huang, H.-J. (2010) Current developments of computer-aided drug design. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **41**: 623-635. https://www.researchgate.net/publication/251710691_Current_developments_of_computer-aided_drug_design

J

Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G., and Mahmoud, M. (2020) Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio***31**: 15–20
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7378507/>.

Jin, Z., Du, X., Xu, Y., et al. (2020) Structure of Mpro from SARS-Cov-2 and discovery of its inhibitors. *Nature***582**: 289–293.<https://www.nature.com/articles/s41586-020-2223-y>

Junior, W.F., Dias, R., Timmers, L.F.M., et al. (2009) Bioinformatics Tools for Screening of Antiparasitic Drugs. *Current Drug Targets* **10**: 232
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32363221/>

K

Kaul, D. (2020) An overview of coronaviruses including the SARS-2 coronavirus - Molecular biology, epidemiology and clinical implications. *Current Medicine Research and Practice***10**: 54–64.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32363221/>

Kim, S. (2019) Public Chemical Databases. In *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*. Academic Press, Oxford. pp. 628–639
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128096338201921>.

Kin, N., and Vabret, A. (2016) Les infections à coronavirus humains. *Revue Francophone des Laboratoires* **2016**: 25–33
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773035X16303690>.

Kumar, A., Parashar, R., Kumar, S., et al. (2022) Emerging SARS-Cov-2 variants can potentially break set epidemiological barriers in COVID-19. *Journal of Medical Virology* **94**: 1300–1314.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34811761/>

L

Ladoux, A., Azoulay, S., and Dani, C. (2020) Cibler la protéase majeure du *SARS-Cov-2* pour fabriquer un médicament efficace contre ce coronavirus. *Médecine/sciences (Paris)* **36**: 555–558
<https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/abs/2020/06/msc200106/msc200106.html>.

Lagarde, N. (2014) 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 : Bioinformatique, France : Université de Cnam, 314 p. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01132490/file/These_Nathalie_Lagarde.pdf.

Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., and Feeney, P.J. (2001) Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews***46**: 3–26.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11259830/>

Liu, Z.-H., Niu, F.-J., Xie, Y., et al. (2020) A review: Natural polysaccharides from medicinal plants and microorganisms and their anti-herpetic mechanism. *Biomedicine and Pharmacotherapy***129**: 110469.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32768956/>

M

Macip, G., Garcia-Segura, P., Mestres-Truyol, J., et al. (2022) A Review of the Current Landscape of SARS-Cov-2 Main Protease Inhibitors: Have We Hit the Bullseye Yet? *International Journal of Molecular Sciences* **23**: 259 <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/1/259>.

Mengist, H.M., Dilnessa, T., and Jin, T. (2021) Structural Basis of Potential Inhibitors Targeting SARS-Cov-2 Main Protease. *Frontiers in Chemistry* **9**: 622898. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2021.622898/full>

Mokrani, E.H. (2012) 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: Technologie des explorations biochimiques, Constantine : Université Mentouri, 75 p. <https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/MOK6107.pdf>.

Monge, A. (2007) Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche `` *in silico* `` de nouveaux composés bioactifs. Thèse de doctorat : Chimie Informatique et Théorique. France : Université d'orleans 161 p. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00122995/document>

N

Nakamura, T., Isoda, N., Sakoda, Y., and Harashima, H. (2022) Strategies for fighting pandemic virus infections: Integration of virology and drug delivery. *Journal of Controlled Release* **343**: 361–378. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35122872/>

Naqvi, A.A.T., Fatima, K., Mohammad, T., et al. (2020) Insights into SARS-Cov-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **1866**: 165878 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092544392030226X>.

O

O'Boyle, N.M., Banck, M., James, C.A., et al (2011) Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics* **3**: 33. <https://jcheminf.biomedcentral.com/articles/10.1186/1758-2946-3-33>

OMS (2021) COVID-19 weekly epidemiological update, edition 56,. World Health Organization, . <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345454>. Accessed April 20, 2022.

OMS (2022) <https://www.who.int/fr>. Accessed June 15, 2022.

R

Raihan, T., Rabbee, M.F., Roy, P., et al (2021) Microbial Metabolites: The Emerging Hotspot of Antiviral Compounds as Potential Candidates to Avert Viral Pandemic Alike COVID-19. *Frontiers in Molecular Biosciences* **8**:732-256 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2021.732256/full>.

Ravi, V., Saxena, S., and Panda, P.S. (2022) Basic virology of SARS-CoV 2. *Indian Journal of Medical Research Microbiol* **40**: 182–186. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35300895/>

Razali, R., Asis, H., and Budiman, C. (2021) Structure-Function Characteristics of SARS-Cov-2 Proteases and Their Potential Inhibitors from Microbial Sources. *Microorganisms***9**: 2481. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34946083/>

Rudnitskaya, A., Török, B., and Török, M. (2010) Molecular Docking of enzyme inhibitors: a computational tool for structure-based drug design. *Biochemistry and Molecular Biology Education* **38**: 261–265. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21567838/>

S

Sabotič, J., and Kos, J. (2012) Microbial and fungal protease inhibitors—current and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology***93**: 1351–1375 <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-011-3834-x>.

Selim, K.A., Elkhateeb, W.A., Tawila, A.M., et al. (2018) Antiviral and Antioxidant Potential of Fungal Endophytes of Egyptian Medicinal Plants. *Fermentation***4**: 49 <https://www.mdpi.com/2311-5637/4/3/49>.

Stanzione, F., Giangreco, I., and Cole, J.C. (2021) Chapter Four - Use of molecular Docking computational tools in drug discovery. In *Progress in Medicinal Chemistry*. Witty, D.R., and Cox, B. (eds). Elsevier, pp. 273–343 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079646821000047>.

T

Tang, T., Bidon, M., Jaimes, J.A., et al. (2020) Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. *Antiviral Research***178**: 104792. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32272173/>

Tiwari, R., Mahasenan, K., Pavlovicz, R., et al. (2009) Carborane clusters in computational drug design: a comparative Docking evaluation using AutoDock, FlexX, Glide, and Surflex. *Journal of Chemical Information and Modeling* **49**: 1581–1589. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19449853/>

Tong, J.C., and Ranganathan, S. (2013) 3 - Scientific publications and databases. In *Computer-Aided Vaccine Design*. Tong, J.C., and Ranganathan, S. (eds). Woodhead Publishing, pp. 21–46 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781907568411500039>.

U

Ullrich, S., and Nitsche, C. (2020) The SARS-Cov-2 main protease as drug target. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **30**: 127377 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7331567/>.

V

Vabret, A., Dina, J., Brison, E., et al. (2009) Coronavirus humains (HCoV). *Pathologie Biologie* **57**: 149–160 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7125620/>.

Vabret, A., and Miszczak, F. (2010) Changement de tropisme des coronavirus. *Revue Francophone des Laboratoires***2010**: 63–68.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7140254/>

Vilas Boas, L.C.P., Campos, M.L., Berlanda, R.L.A., et al. (2019) Antiviral peptides as promising therapeutic drugs. *Cellular and Molecular Life Sciences***76**: 3525–3542.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31101936/>

W

Wang, H.-F., Tang, C., and Zhang, Q. (2019) A review of graphene-based 3D van der Waals hybrids and their energy applications. *Nano Today***25**: 27–37
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1748013218306005>.

Wang, T.-N., Yang, S., Shi, S.-Y., et al. (2021) Pityriacitrin marine alkaloids as novel antiviral and anti-phytopathogenic-fungus agents. *Pest Management Science***77**: 4691–4700
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.6510>.

Wieber, F. (2008) Racines scientifiques de la conception dite rationnelle de médicaments sur ordinateur : pour une histoire de la modélisation (bio) moléculaire. *Philosophia Scientiæ Travaux d'histoire et de philosophie des sciences* 93–109.<https://journals.openedition.org/philosophiascientiae/109>

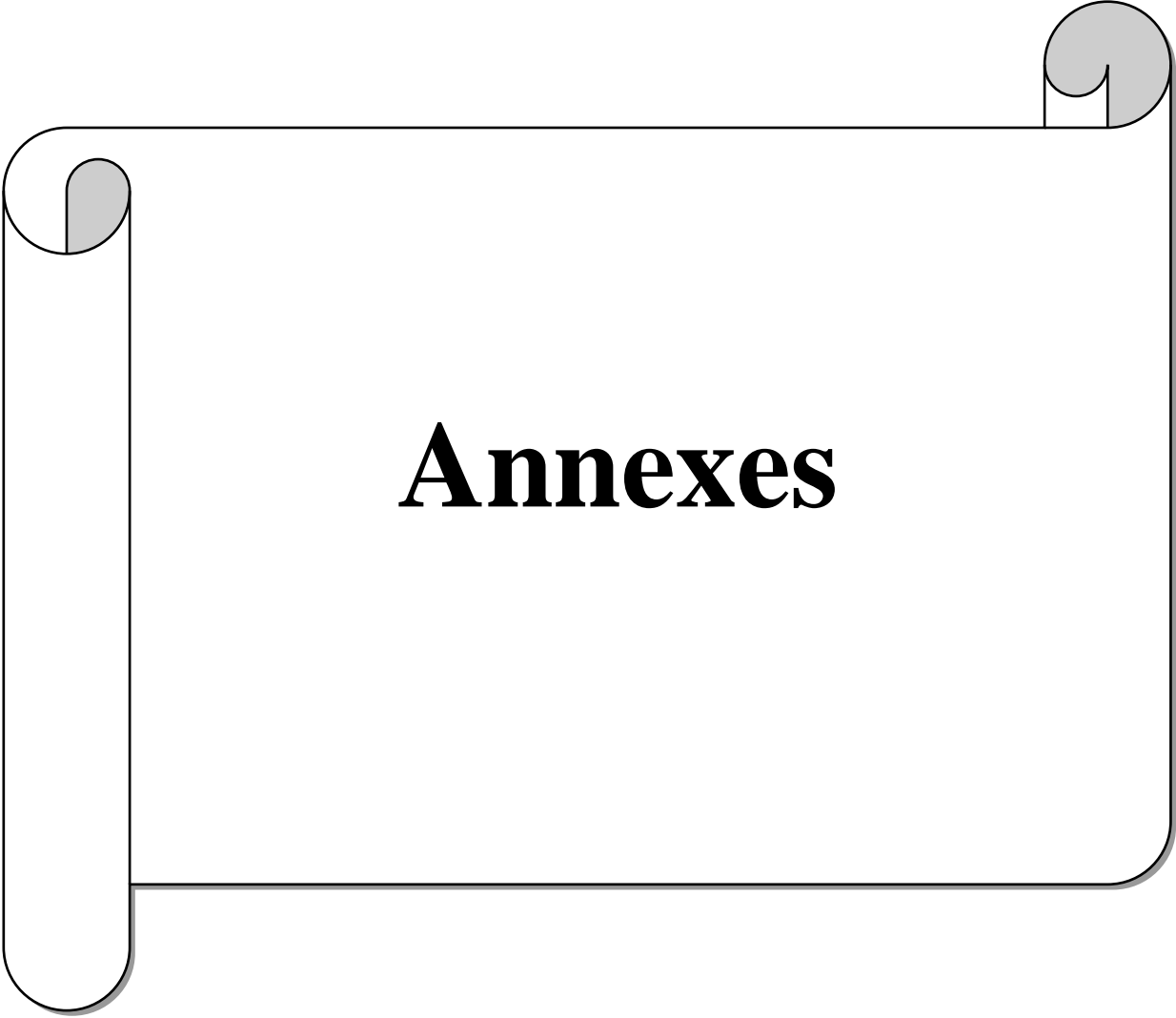
Y

Yadav, R., Chaudhary, J.K., Jain, N., et al. (2021) Role of Structural and Non-Structural Proteins and Therapeutic Targets of SARS-Cov-2 for COVID-19. *Cells***10**: 821
<https://www.mdpi.com/2073-4409/10/4/821>.

Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., et al. (2020) Structural basis for the recognition of SARS-Cov-2 by full-length human ACE2. *Science***367**: 1444–1448
<https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb2762>.

Z

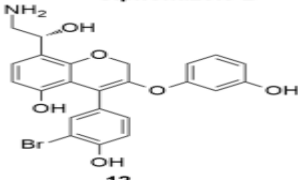
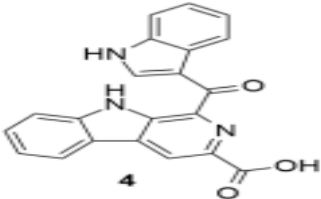
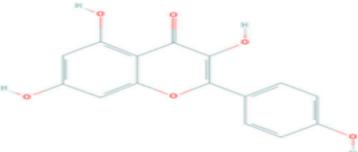
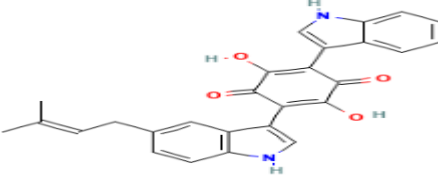
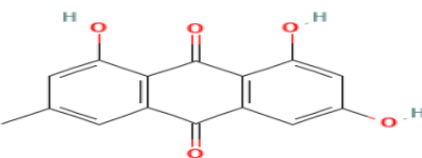
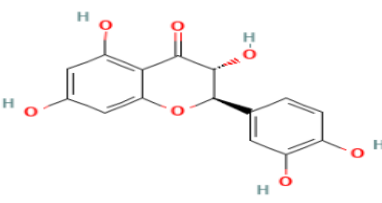
Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., et al. (2020) A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England Journal of Medicine***382**: 727–733.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31978945/>

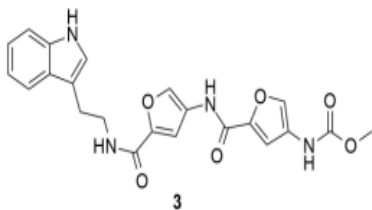
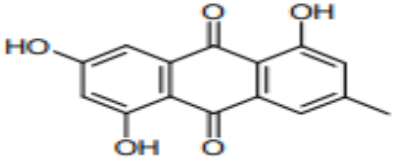
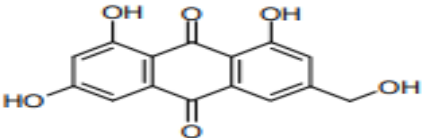
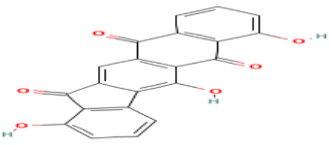
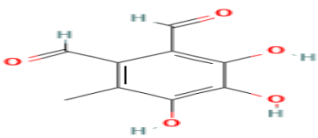
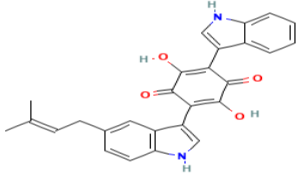
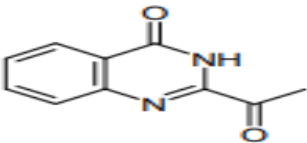


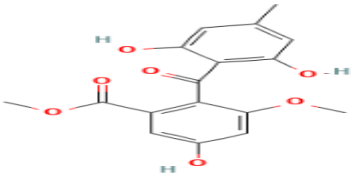
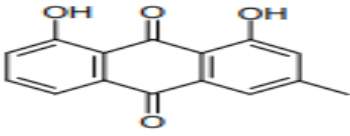
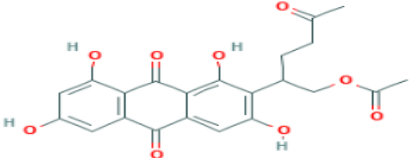
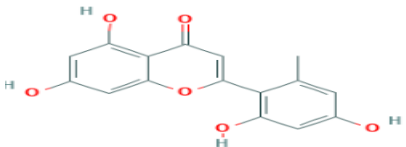
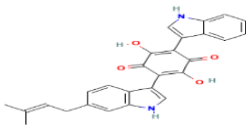
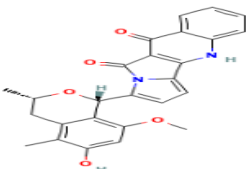
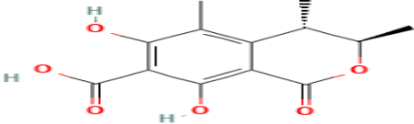
Annexes

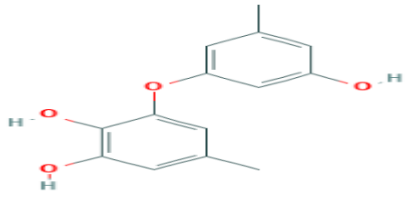
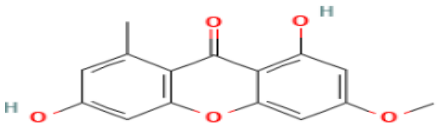
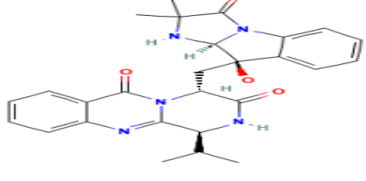
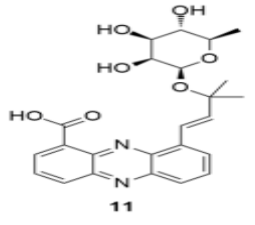
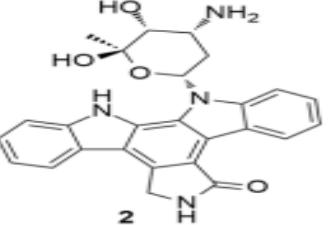
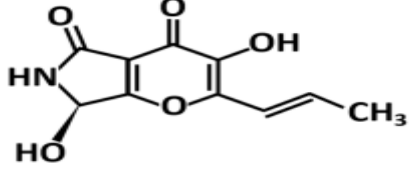
Annexes

Tableau : Structures 2D et scores des composés microbiens

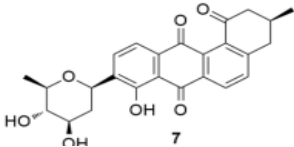
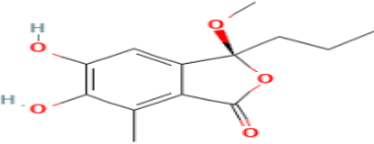
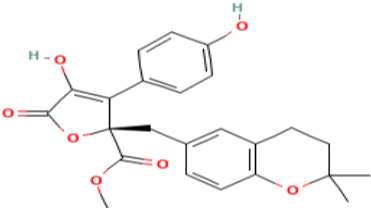
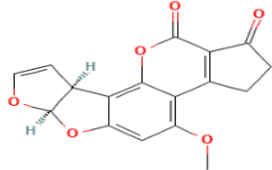
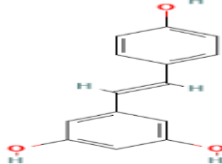
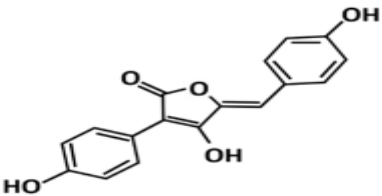
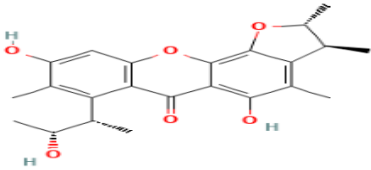
Composés	Nom de composés	Scores	Structures 2D
21	Ammonificin C	-36,16	
48	Pityriacitrin E	-28,38	
55	Kaempferol	-27,01	
7	Semicochliodinol A	-25,97	
28	Emodin	-24,88	
57	Taxifolin	-23,65	

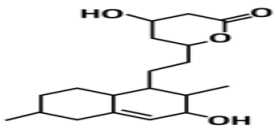
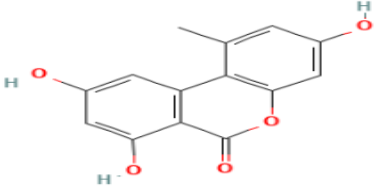
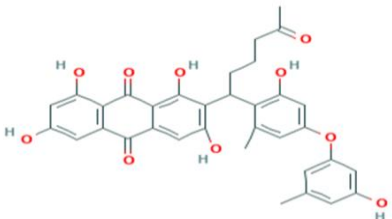
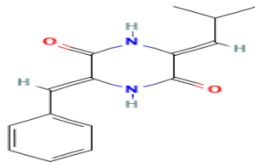
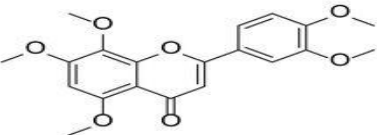
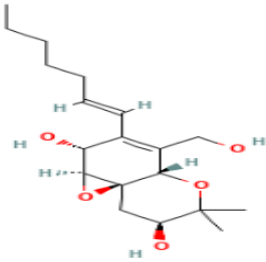
47	Proximicin C	-23,55	
27	Alatinone	-23,4	
29	Ω -hydroxyemodin	-23,05	
20	Eucapsitrione	-22,41	
40	Flavipin	-22,19	
9	Semicochliodinol	-21,66	
30	Chrysoginone	-21,5	

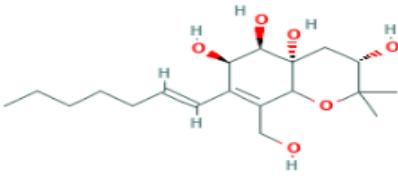
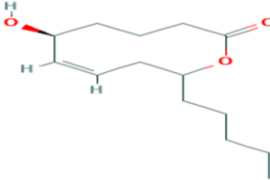
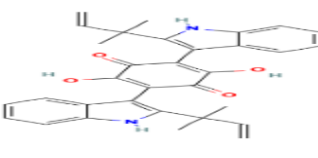
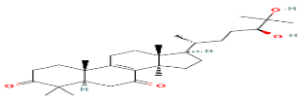
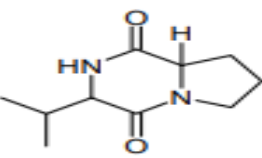
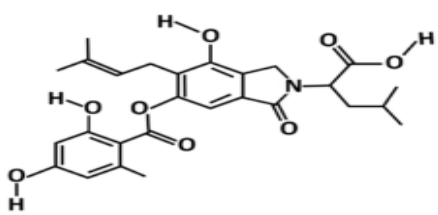
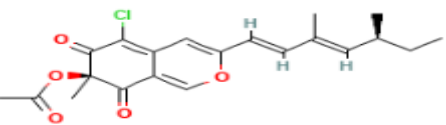
43	Sulochrin	-21,49	 The chemical structure of Sulochrin is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered ring containing a carbonyl group. This central system is further fused to two additional rings, one of which is a benzene ring with a hydroxyl group. The structure is highly substituted with various functional groups, including hydroxyl groups and a methoxy group.
31	Chrysophanol	-21,45	 The chemical structure of Chrysophanol is a naphthoquinone derivative. It consists of two benzene rings fused to a central six-membered ring containing two carbonyl groups. The structure is substituted with two hydroxyl groups and a methyl group.
62	Coccoquinone A	-21,13	 The chemical structure of Coccoquinone A is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered ring containing a carbonyl group. This central system is further fused to two additional rings, one of which is a benzene ring with a hydroxyl group. The structure is highly substituted with various functional groups, including hydroxyl groups and a methoxy group.
49	Penimethavone A	-21,05	 The chemical structure of Penimethavone A is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered ring containing a carbonyl group. This central system is further fused to two additional rings, one of which is a benzene ring with a hydroxyl group. The structure is highly substituted with various functional groups, including hydroxyl groups and a methoxy group.
8	Semicochliodinol B	-20,36	 The chemical structure of Semicochliodinol B is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered ring containing a carbonyl group. This central system is further fused to two additional rings, one of which is a benzene ring with a hydroxyl group. The structure is highly substituted with various functional groups, including hydroxyl groups and a methoxy group.
45	Citriquinochroman	-20,35	 The chemical structure of Citriquinochroman is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered ring containing a carbonyl group. This central system is further fused to two additional rings, one of which is a benzene ring with a hydroxyl group. The structure is highly substituted with various functional groups, including hydroxyl groups and a methoxy group.
38	Dihydrocitrinone	-20,14	 The chemical structure of Dihydrocitrinone is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring fused to a five-membered ring containing a carbonyl group. This central system is further fused to two additional rings, one of which is a benzene ring with a hydroxyl group. The structure is highly substituted with various functional groups, including hydroxyl groups and a methoxy group.

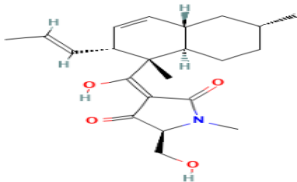
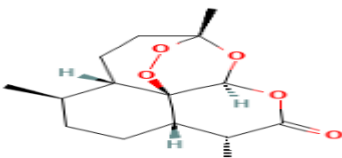
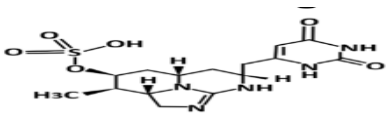
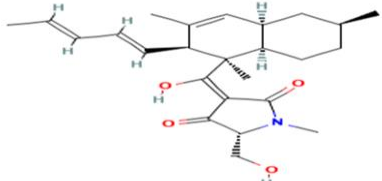
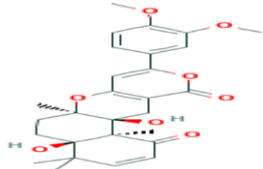
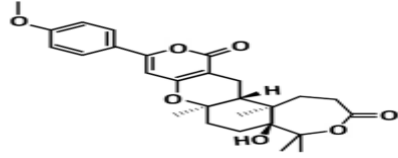
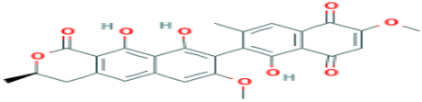
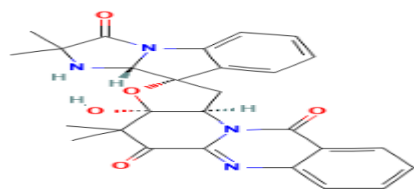
51	Cordyol C	-19,91	
6	Griseoxanthone C	-19,9	
65	Scequinadoline A	-19,86	
53	Endophenazine D	-19,43	
46	Holyrine B	-19,36	
23	Pyranonigrin A	-19,27	

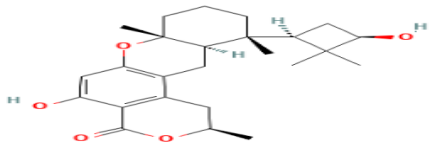
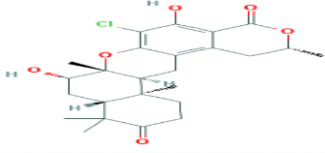
42	10-méthoxydihydrofuscin	-18,82	
26	3A-Hydroxy-3,5-dihydromonacolin L	-18,47	
32	2',3'-dihydrosorbicillin	-18,31	
58	Silybin	-17,93	
52	Piperitol	-17,65	
34	Fuscinarin	-17,18	
54	Alutenusin	-16,78	

22	Jbir-90	-16,35	
64	Purplester A	-15,74	
17	Aspernolide A	-14,74	
36	Aflatoxin B	-14,13	
56	Resveratrol	-13,85	
25	Aspergilide B1	-13,72	
66	Seco-penicitrinol	-13,42	

35	3 α -Hydroxy-3,5-dihydromonacolin L	-12,38	
1	Alternariol	-11,79	
15	Aspergilol H	-11,65	
59	Albonoursin	-11,39	
4	Iso-sinensetin	-10,99	
12	Cytosporin D	-9,82	

13	Cytosporin L	-9,18	 <p>Chemical structure of Cytosporin L, a complex polyketide with multiple hydroxyl groups and a long alkyl chain.</p>
11	Putaminoxin D	-8,61	 <p>Chemical structure of Putaminoxin D, a polyketide with a long alkyl chain and a hydroxyl group.</p>
63	Hinnuliquinone	-8,07	 <p>Chemical structure of Hinnuliquinone, a complex polyketide with multiple hydroxyl groups and a long alkyl chain.</p>
5	Lucidumol A	-7,79	 <p>Chemical structure of Lucidumol A, a complex polyketide with multiple hydroxyl groups and a long alkyl chain.</p>
33	maculosin-5	-7,75	 <p>Chemical structure of maculosin-5, a complex polyketide with multiple hydroxyl groups and a long alkyl chain.</p>
18	Sterenin M	-7,36	 <p>Chemical structure of Sterenin M, a complex polyketide with multiple hydroxyl groups and a long alkyl chain.</p>
3	Sclerotiorin	-6,94	 <p>Chemical structure of Sclerotiorin, a complex polyketide with multiple hydroxyl groups and a long alkyl chain.</p>

2	Equisetin	-6,91	
67	Artemisinin	-5,47	
19	Deoxycylindrospermopsin	-4,81	
14	Phomasetin	0	
16	Arisugacin A	0	
24	dehydroxyisoterreulactone A	0	
50	Xanthoradone A	0	
60	Neosartoryadin A	0	

61	Talaromyolide D	0	 <p>The chemical structure of Talaromyolide D is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring with a hydroxyl group (-OH) at the 2-position and a methoxy group (-OCH₃) at the 4-position. This benzene ring is fused to a six-membered ring containing a ketone group (=O) and a hydroxyl group (-OH). Further fused to this is another six-membered ring with a ketone group (=O) and a hydroxyl group (-OH). The structure is highly branched with several methyl groups and a complex ring system, including a seven-membered ring and a five-membered ring, all connected by various linkages.</p>
68	Chrodrimanin K	0	 <p>The chemical structure of Chrodrimanin K is a complex polycyclic molecule. It features a central benzene ring with a chlorine atom (-Cl) at the 1-position, a hydroxyl group (-OH) at the 2-position, and a methoxy group (-OCH₃) at the 4-position. This benzene ring is fused to a six-membered ring containing a ketone group (=O) and a hydroxyl group (-OH). Further fused to this is another six-membered ring with a ketone group (=O) and a hydroxyl group (-OH). The structure is highly branched with several methyl groups and a complex ring system, including a seven-membered ring and a five-membered ring, all connected by various linkages.</p>

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BOUTELDJA Selma
HANNACHI Yasmine
ZOUAK Fatiha

Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs microbiens de la Main protéase du SARS-CoV-2

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie Moléculaire des Microorganismes

Résumé

La pandémie de la COVID-19 causée par le virus SARS-CoV-2, a provoqué depuis le début de l'année 2020 jusqu'à ce jour plus de 5.3 millions de décès dans le monde entier.

Bien qu'il n'existe jusqu'à ce jour aucun médicament spécifique contre le SARS-CoV-2, les études progressent quotidiennement pour trouver de nouveaux médicaments permettant d'éradiquer ce virus.

Dans cette étude nous proposons de nouveaux inhibiteurs d'origine microbienne de la Main protéase qui représente une cible thérapeutique de SARS-CoV-2, en simulant *in silico* l'affinité de 68 composés extraits de la littérature envers la Mpro par l'utilisation du Docking Moléculaire.

Cette méthode *in silico* consiste à prédire le mode d'interaction protéine-ligand, par le FlexX qui est parmi les programmes les plus utilisés dans cette approche.

Nos résultats montrent que 70% de valeurs RMSD calculées sont inférieures ou égales à 2Å ce qui confirme la performance de ce logiciel.

Notre étude révèle les composés 21, 48 et 55 comme des meilleurs inhibiteurs potentiels de la Mpro avec des scores soit -36,16kJ/mol, -28,38kJ/mol, et -27,01kJ/mol respectivement qui dépassent celui de référence N3 (-15,30kJ/mol).

Enfin, la prédiction des paramètres pharmaco-cinétiques et des propriétés physico-chimiques a montré que ces composés possèdent de bons profils ADME et peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs potentiels de la Mpro du SARS-CoV-2.

Mots-clefs : SARS-CoV-2, Main protéase, COVID-19, Docking Moléculaire, FlexX, inhibiteurs microbiens.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biochimie appliquée

(Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Mme. SEKHRI-ARAFI, Nedjouda (MCA – UFM, Constantine 1).

Examineur 1 : Mr. HAMIDECHI Abdelhafid (Professeur - UFM, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr. BOULAHROUF Khaled (MCB - UFM, Constantine 1).

