REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Immunologie et maladies infectieuses

Présenté par : BEN KESSIRAT adel **&** KHALDOUMI Maroua

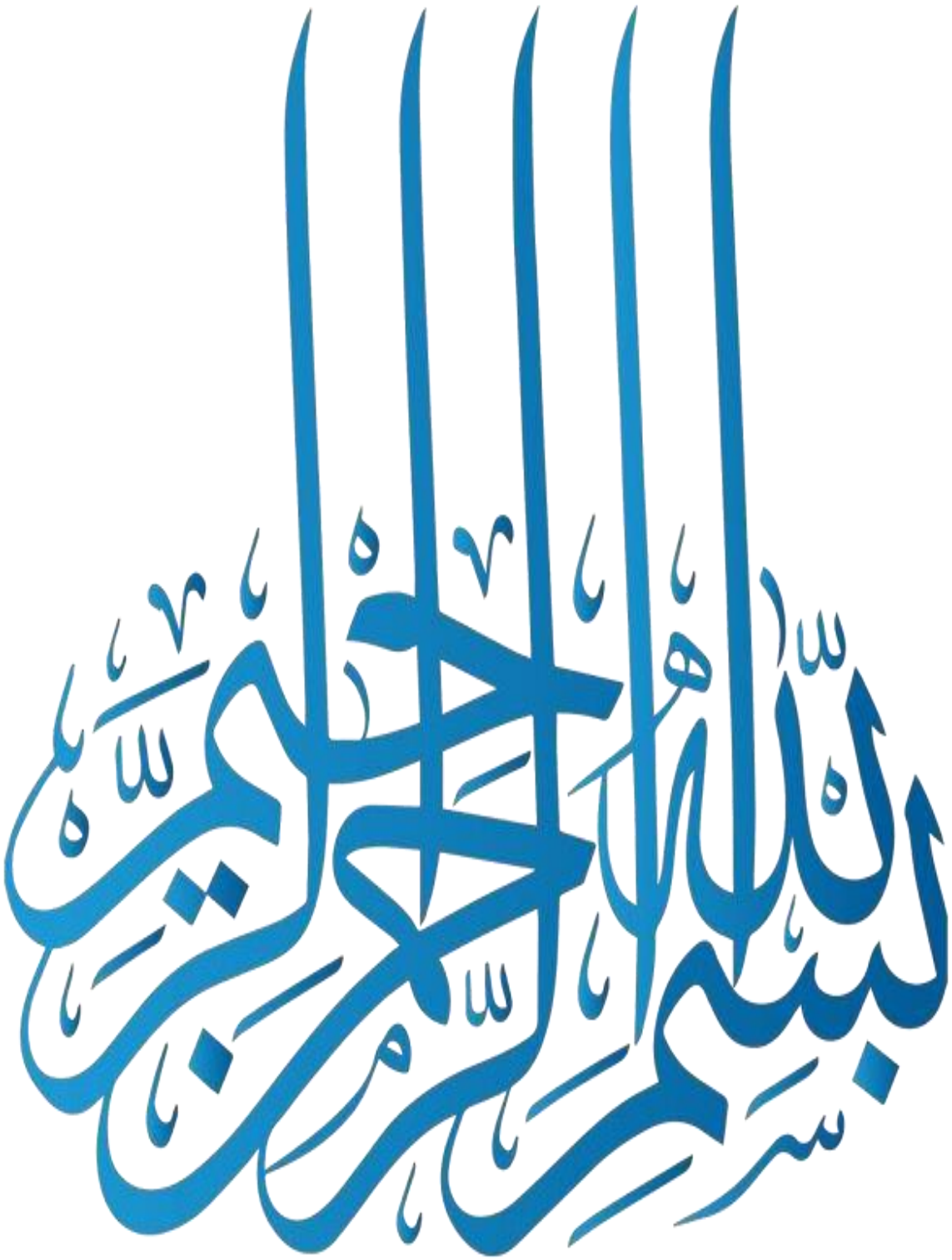
Thème

Réaffectation des agonistes et des antagonistes du récepteur nicotinique de l'acétylcholine de type 7 contre le SARS-CoV-2 à l'aide des outils d'amarrage moléculaire

Soutenue publiquement le : 18 /06 /2023. Devant le jury composé de :

Dr MEZIANE.Warda	**MCB**	Université de Médéa	Présidente
Dr GASMI.Sara	**MCA**	Université de Médéa	Examinatrice
Dr DOUAOUI Sanaa	**MCB**	Université de Médéa	Promotrice

2022/2023


بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciements

Louange à **Allah**, Seigneur de l'univers, et que Ses bénédictions soient sur le **Prophète Muhammad** (que la paix soit sur lui) et sa noble famille

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à **Allah**, le Tout-Puissant, le Clément et le Miséricordieux. C'est grâce à Sa guidance, Sa bénédiction et Sa volonté que nous avons pu mener à bien ce projet de fin d'études.

Nous tenons à remercier Mlle DOUAOUI Sanaa, notre promotrice pour sa qualité remarquable d'encadrement, c'est grâce à son grand cœur, pour sa grande disponibilité, sa grande contribution, et pour le temps qu'il a consacré à la correction de ce mémoire.

Nous remercions également les enseignants du département de science de la vie et la nature et pour leur soutien et leur encouragement.

Merci à nos collègues de la post graduation.
Nous remercions également tous ceux qui ont aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Enfin, que Messieurs le président de jury et les membres qui feront l'honneur d'examiner ce mémoire ; trouvent l'expression de notre parfaite considération.

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je dédie ce travail à mes très chers parents

Je les remercié pour leur aide, leur soutient et encouragement qu'ils m'ont apporté tout au long de mes études et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui et j'espère qu'un jour je serai capable de leur donner ou moins le minimum car, quoiqu'on face, on n'arrivera jamais à leurs rendre tout

« Que dieu les protèges »

Je le dédie également à ma grande mère Mamito qui m'a toujours poussé et Motivé dans mes études.

A Mon chère frère Mohamed pour ses encouragement son soutien moral.

A la famille : KHALDOUMI et BOUMAHEDI et KADERI

A notre encadreur Mlle DOUAOUI SANA

A tous ceux qui ont veillé à mon instruction

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment avec l'expression de tous mes sentiments et mon respect.

KHALDOUMI Maroua

Dédicace

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Dieu pour m'avoir accordé le succès dans mes études et dans ma vie. Je souhaite également remercier chaleureusement tous les enseignants de la Faculté des sciences naturelles et de la vie, en particulier le Dr. Ben Haffri Nadir et Mlle Douaoui Sanaa, pour leur patience, leur effort et leur soutien tout au long de mon parcours académique.

D'un autre côté, je ressens une profonde tristesse pour mon père qui aurait souhaité être présent en ce moment, mais le destin en a décidé autrement.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance envers tous mes amis d'autres disciplines, ainsi que mes amis de la vie quotidienne et pratique, Sahi Wail, Nassri Bouchhir et ma fille Ghazzali Anmar

Je vous aime tous et je vous souhaite le succès dans votre vie et votre carrière.

BEN KESSIRAT Adel

Résumé :

L’objectif de ce travail est d’explorer et de réaffecter in silico les ligands du récepteur nicotinique de l'acétylcholine de type 7 (nAChR a7) contre le virus SARS-CoV-2. L'objectif principal était d'identifier des molécules potentielles pour le développement de médicaments plusefficaces contre cette infection. Cette étude est basée principalement sur des méthodes de l’amarrage moléculaire en utilisant es logiciels AutoDock 4.2 et Discovery Studio 2021.Aussi, nous avons eu recours aux portails web CB-DOCK-2 et SwissADME pour évaluer les caractéristiques physico-chimiques et l'interaction des molécules ciblées avec les protéines du virus.

Les résultats démontrent que les agonistes GTS-21 et PNU-282987 sont les plus efficaces pour entraver l'attachement, la réplication, la transcription et l'échappement du virus. Le GTS-21 se lie spécifiquement au récepteur ACE2 avec une forte affinité. D’une manière intéressante, le PNU-282987 perturbe l'interaction entre le virus et l'ACE2 avec une affinité intermédiaire mais en interagissant avec des acides aminés clés « hot spot ».

Nous concluons que ces deux agonistes de la voie cholinergique anti-inflammatoire pourraientêtre envisagés comme de bons candidats dans la modulation de l’infection au COVID19.

Mots-clés : SARS-CoV-2, agonistes, antagonistes, amarrage moléculaire, ACE2 interaction, stabilité, nAChR a7.

Abstract:

The aim of this study was to explore and repurpose in silico the ligands of the nicotinic acetylcholine receptor type 7 (nAChR a7) against the SARS-CoV-2 virus. The main objective was to identify potential molecules for the development of more effective drugs against this infection. This study primarily relied on molecular docking methods using software such as AutoDock 4.2 and Discovery Studio 2021. Additionally, we utilized the CB-DOCK-2 and SwissADME web portals to evaluate the physicochemical characteristics and interaction of thetargeted molecules with viral proteins.

The results demonstrate that the GTS-21 and PNU-282987 agonists are the most effective in hindering virus attachment, replication, transcription, and escape. GTS-21 specifically binds to the ACE2 receptor with high affinity. Interestingly, PNU-282987 disrupts the interaction between the virus and ACE2 with intermediate affinity by interacting with key "hot spot" aminoacids.

We conclude that these two agonists of the anti-inflammatory cholinergic pathway could be considered as promising candidates in modulating COVID-19 infection.

Keywords: SARS-CoV-2, agonists, antagonists, molecular docking, ACE2 interaction, stability, nAChR a7.

ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف وإعادة استخدام مركبات مستقبل الأستيل كولين النيكوتيني من النوع 7 (nAChR a7) ضد فيروس SARS-CoV-2 بشكل افتراضي. الهدف الرئيسي هو تحديد جزيئات محتملة لتطوير أدوية أكثر فعالية ضد هذا العدوى. تعتمد هذه الدراسة بشكل أساسي على طرق الربط الجزيئي باستخدام برامج مثل AutoDock 4.2 وDiscovery Studio 2021. بالإضافة إلى ذلك، استخدمنا بوابات الويب CB-DOCK-2 وSwissADME لتقييم الخصائص الفيزيكوكيميائية وتفاعل الجزيئات المستهدفة مع بروتينات الفيروس.

تشير النتائج إلى أن محفزات GTS-21 وPNU-282987 هي الأكثر فعالية في عرقلة ارتباط الفيروس، واستنساخه، ونسخه، والهروب. يرتبط GTS-21 بشكل خاص بمستقبل ACE2 بتفاعلية عالية. ومن اللافت للاهتمام، فإن PNU-282987 يعطل التفاعل بين الفيروس وACE2 بتفاعلية وسطية من خلال التفاعل مع الأحماض الأمينية الحرجة «نقاط ساخنة » نستنتج أنه يمكن اعتبار هذين المحفزين من المسار الكوليني الأنسجة المضاد للالتهابات كمرشحين واعدة في تنظيم عدوى

.COVID-19

الكلمات الدالة: SARS-CoV-2، محفزات، مانعات، ربط جزيئي، تفاعل ACE2، استقرار، nAChR a7.

Table des matières

Introduction Générale **1**

Chapitre I : Aperçu du SARS-CoV-2 ..... **3**

I.1 Les coronavirus 3

I.2 Le SARS-CoV-2 4

I.2.1 La composition génomique 4

I.2.2 La structure de SARS CoV-2 5

I.2.2.1 Les protéines structurales 5

I.2.2.1.1 La protéine M 5

I.2.2.1.2 La protéine E 6

I.2.2.1.3 La protéine N 6

I.2.2.1.4 La protéine Spike 6

I.2.2.2 Les protéines non- structurales 7

I.2.2.3 Les protéines accessoires 10

I.3 Interaction hôte - virus 13

I.3.1 Récepteur hôte ACE2 pour la fixation du SARS-CoV-2 13

I.3.2 Autres récepteurs de l'hôte pour la fixation du SARS-CoV-2 14

I.4 Mécanisme d'entrée du SARS-CoV-2 14

I.4.1 Attachement et entrée des cellules hôtes 14

I.4.1.1 Interaction entre SARS-CoV-2 et la protéase de l'hôte 14

I.4.1.2 Fusion de la membrane plasmique médiée par le récepteur 14

I.4.1.2.1 Complexe du Spike avec le récepteur ACE2 14

I.4.1.2.2 Clivage de la jonction S1-S2 de la protéine S par la furine 15

I.4.1.2.3 Rôle de TMPRSS2 dans l'entrée du virus 15

I.4.2 Fusion membranaire 15

I.4.3 Internalisation Endocytose 16

I.4.4 Attachement SARS-CoV-2 médié par les anticorps 16

I.5 Traduction du génome 16

I.6 Réplication et transcription 17
I.7 Assemblage et libération 18
I.8 Immuopathologie de SARS-CoV-2 19
I.8.1 La réponse immunitaire innée 19
I.8.1.1 Tempête des cytokines « Cytokine Storm » 19
I.8.1.2 La pathogénicité du COVID et l'inflammasome 19
I.8.2 La réponse adaptative 20
I.8.2.1 Réponses des cellules T 20
I.8.2.1.1 Les lymphocytes helper 20
I.8.2.1.2 Les cellules Th17 21
I.8.2.1.3 Cellules T régulatrices (Treg) 21
I.8.2.1.4 Les cellules cytotoxiques 21
I.8.2.1.5 Cellules T à mémoire après la guérison du covid-19 21
I.8.2.2 Réponses des cellules B et des anticorps 22
I.9 Diagnostic 23
I.9.1 Diagnostic clinique 23
I.9.2 Diagnostic sérologique 23
I.9.3 Diagnostic moléculaire 23
I.10 La prise en charge thérapeutique 23
I.10.1 Traitement symptomatique 23
I.10.2 Les Médicament disponible à ce jour 24
I.10.3 La vaccination 24
I.11 Le récepteur Alpha 7 nicotinique de la voie cholinergique anti-inflammatoire 25
I.11.1 Les ligands du récepteur Alpha 7 (récepteur nicotinique de l'acétylcholine de type 7) : 25
I.11.1.1 GTS-21 25
I.11.1.2 PNU-282987 26
I.11.1.3 Alpha bungarotoxine 26
Chapitre II : L'amarrage moléculaire et SARS-CoV-2 27
II.1 Reprogrammation des médicaments assistée par ordinateur et ses applications pour le SRAS-CoV-2 27

II.2 Les règles de Lipinski 27
II.3 L'amarrage moléculaire : nouvelle approche de « Drug design » 28
II.4 Les objectifs de l'amarrage 28
II.5 La conception de médicaments 28
II.6 Les types d'amarrage moléculaire 29
II.7 Les Algorithmes d'amarrage moléculaire et leur Utilisation 30
II.8 Fonctions de la notation (scoring) protéine-ligand 30
II.9 Protocoles d'amarrage 32
Chapitre III : Matérielle et méthode 34
III.1 Matériel 34
III.1.1 Microordinateur 34
III.1.2 Bases de données 35
III.1.2.1 « PDB » (protéine Data Bank) 35
III.1.2.2 « PubChem » 35
III.1.2.3 nCoVDock2 (COVID-19 Docking Server 2.0) 35
III.1.2.4 CB-Dock2 35
III.1.2.5 Molinspiration 36
III.1.2.6 SwissADME 36
III.1.3 Les outils de l'amarrage 36
III.1.3.1 BIOVIA Discovery Studio 2021 36
III.1.3.2 Autodock Tools 37
III.2 Méthode 38
III.2.1 Préparation de la protéine 38
III.2.2 Utilisation des ligands 39
III.2.3 Préparation du ligand 40
III.2.4 Amarrage protéine-ligand 40
Chapitre IV : Les résultats 42
IV.1.1 Interprétation des résultats d'amarrage moléculaire 43
IV.1.2 Site d'interaction et les types des liaisons de chaque ligand avec (ACE2-spike) : . 44
IV.1.2.1 Site d'interaction de GTS-21 avec (ACE2-spike) 44
IV.1.2.1.1 Les types des liaisons 44

IV.1.2.2 Site d'interaction de PNU-282987 avec (ACE2-spike)..... 45
IV.1.2.2.1 Les types des liaisons 46
IV.1.2.3 Site d'interaction d'Alpha-bungarotoxine avec (ACE2-spike) 47
IV.1.2.3.1 Les types des liaisons 47
IV.2 Les NSP..... 48
IV.3 Les protéines accessoires 52
IV.4 Les protéines structurelles..... 54
IV.5 Étude les propriétés physico-chimiques des molécules sélectionnés (drug-likeness prediction) 56
IV.5.1 Application de la règle de Lipinski aux trois molécules 56
IV.5.2 Étude de la biodisponibilité..... 57
IV.5.2.1 Les propriétés physico-chimiques 57
IV.5.2.1.1 Interprétation des résultats..... 59
IV.5.2.2 Etude de l'absorption des molécules 59
IV.5.2.2.1 Interprétation des résultats..... 60
IV.5.3 Efficacité de ligand 60
chapitre V : Discussion..... 63
Conclusion Générale..... 67
Bibliographies..... 69

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les protéines non structurelles des coronavirus et leurs fonctions 7
Tableau 2 : Les protéines accessoires des coronavirus et leurs fonctions 11
Tableau 3 : les Micro-ordinateur utilisés et leurs caractéristiques 34
Tableau 4 : représente la structure 2D des ligands utilisés dans notre travail 39
Tableau 5 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines de la phase d'attachement avec GTS-21. 42
Tableau 6 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines de la phase d'attachement avec PNU-282987. 42
Tableau 7 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines de la phase d'attachement avec Alpha-bungarotoxine 43
Tableau 8 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines non structurelles avec GTS-21 49
Tableau 9 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines non structurelles avec PNU-28298750
Tableau 10 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines non structurelles avec Alpha-bungarotoxine 51
Tableau 11 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines accessoires avec GTS-21 52
Tableau 12 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines accessoires avec PNU-282987 53
Tableau 13 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines accessoires avec Alpha bungarotoxine 53
Tableau 14 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines structurelles avec GTS-21 54
Tableau 15 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines structurelles avec PNU-282957 55
Tableau 16 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines structurelles avec alpha bungarotoxine 55
Tableau 17 : Les résultats de l'application de la règle des 5 de Lipinski sur les trois ligands 56
Tableau 18 : Propriété physicochimique de base des ligands de test et ligand référence 58
Tableau 19 : les résultats de l'équation (1) 61

Liste des figures

Figure 1: Organisation génomique du SARS-CoV-2 4
Figure 2: Structure du SRAS-CoV-2 5
Figure 3: La structure des domaines de la protéine Spike du SARS-CoV-2 7
Figure 4: Représentation schématique de l'interaction entre ACE2 et la S-glycoprotéine du SRAS-CoV-2 conduisant à la liaison et à la fusion. 13
Figure 5: Un aperçu du cycle de vie du H-CoV dans la cellule hôte 18
Figure 6: Amarrage moléculaire 28
Figure 7:La théorie de la serrure et de la clé 29
Figure 8: Modèle d'adaptation induite 30
Figure 9: Démarche de travail 33
Figure 10 : (A) le positionnement de la GTS-21 dans le complexe 6M0J (B) la cavité des interactions moléculaires entre GTS-21 et 6M0J 44
Figure 11 : le site de liaison GTS-21 avec le complexe (ACE 2-spike) en bidimensionnel (2D) 45
Figure 12 : (A) le positionnement de la PNU-282987 dans le complexe 6M0J (B) la cavité des interactions moléculaires entre PNU-282987 et 6M0J 46
Figure 13 : le site de liaison PNU-282987 avec le complexe (ACE-2-spike) en bidimensionnel (2D) 46
Figure 14 : (A) le positionnement de alpha-bungarotoxine dans le complexe 6M0J (B) la cavité des interactions moléculaires entre alpha-bungarotoxine et 6M0J 47
Figure 15 : Le site de liaison alpha-bungarotoxine avec le complexe (ACE-2-spike) en Bidimensionnel (2D) 48
Figure 16 : Le radar de biodisponibilité permet d'avoir un premier aperçu de la ressemblance d'une molécule (A) : GTS-21 (B) : PNU 282987 (C) : Alpha-bungarotoxine avec un médicament 59
Figure 17 : Le BOILED-Egg de la prédiction intuitive de l'absorption gastro-intestinale passive et pénétration cérébrale en fonction de la position des molécules dans le WLOGP-versus-TPSA 60
Figure 18: Schéma récapitulatif de la production in Silico des sites d'actions du récepteurs alpha 7 sur le cycle viral du COVID-19 66

Liste des abréviations

2D : Deux dimensions.

Å : Angström.

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

ARNs : Acide ribonucléique simple brin

ARNsg : Acide ribonucléique sous génomique

CADDD : La méthode de conception et de détection de médicaments assistée par ordinateur

CD : Groupe de différenciation

COVID-19 : Maladie à coronavirus 2019

GSDM : Gasdermine D
HCoVs : humains coronavirus
IFN : Les interférons
IL : L'interleukine

La région ERGIC : ER-Golgi intermédiate compartiment

LBDD: Ligand-based drug design

MDA: RIG-I-like récepteur

MERS-CoV : Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient

M-Pro : Main protéine

NF-kB : Nuclear factor-kappa B activateur transcriptionnel

NLR : Récepteur de type NOD

NSP : Les protéines non- structurales

OMS : l'Organisation Mondiale de la Santé

ORF: Open Reading frame

PDB: Protéine Data Bank

P-gp : Glycoprotéine P

PL-Pro : Protéase de type papaïne

QSAR : Relation quantitative structure-activité

RdRp : ARN polymérase ARN-dépendante

RTC : Complexe multiprotéique réplicase-transcriptase

SARS-CoV : syndrome respiratoire aigu sévère

SARS-CoV-2 : coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

SBDD : Structure-based drug design

STAT : Le transducteur de signal et l'activateur de la transcription

TMPRSS2 : une protéine transmembranaire de type 2 à activité sérine-protéase

TPSA: Surface polaire topologique

α7nAChR : Le récepteur Alpha 7 nicotinique de la voie cholinergique

GTS-21 : DMXBA or DMBX-anabaseine

PNU : Benzamide, N-(3R)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl-4-chloro-

Log P : mesure de la solubilité différentielle de composés chimiques

Introduction Générale :

L'année 2020 a été marquée par une pandémie mondiale causée par l'émergence d'un virus qui a fait son apparition à Wuhan, en Chine, vers la fin de l'année 2019. Cette infection virale peut entraîner une infection pulmonaire grave, connue sous le nom de pneumonie, ainsi que des complications telles que le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) et d'autres problèmes respiratoires (Guan et *al.*, 2020). Cependant, en raison de ses similarités génétiques avec le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS), le virus responsable a été désigné sous le nom de SARS-CoV-2 (Standl et *al.*, 2021)

Au cours de l'année qui a suivi l'annonce de l'OMS, de nombreux vaccins ont été développés, autorisés par des organismes de réglementation du monde entier, et ont commencé à être administrés à la population (Rome et *al.*, 2021). Malheureusement, à ce stade, il n'existe toujours aucun traitement officiel pour les personnes infectées. De plus, étant donné que de nombreuses personnes dans le monde n'ont pas encore accès aux vaccins et que le virus continue de subir des mutations, il devient de plus en plus difficile d'atteindre l'immunité collective. Par conséquent, la recherche d'un traitement reste une priorité cruciale et urgente.

Dans cette situation, les approches informatiques peuvent être combinées avec la bioinformatique afin de détecter les séquences de protéines responsables de la pathogénicité et de prédire leur structure. Ces structures peuvent ensuite être analysées informatiquement en tenant compte de leurs caractéristiques structurales et moléculaires pour identifier des sites potentiels de liaison médicamenteuse, où un agent thérapeutique pourrait se lier avec une forte affinité (J. Rigden, 2017)

Le but de ce projet de fin d'études est d'étudier la capacité des ligands de la voie cholinergique anti-inflammatoire, représentée par le récepteur α7 nAChR, à contrecarrer l'infection par le SARS-CoV-2 en ciblant spécifiquement son processus d'attachement et en inhibant toutes les phases de réplication, de transcription et d'échappement. Pour atteindre cet objectif, nous nous appuierons sur une combinaison de méthodes bio-informatiques et de conception rationnelle de médicaments. Nous avons utilisé des outils d'amarrage moléculaire, nous explorons le potentiel de ces agonistes à se lier de manière spécifique aux protéines virales cruciales impliquées dans ces processus clés. En bloquant l'attachement initial du virus aux cellules hôtes et en perturbant les étapes critiques de

réplication et de transcription virale, nous espérons ouvrir de nouvelles perspectives pour le développement de thérapies antivirales efficaces contre le SARS-CoV-2. Ce projet vise à contribuer à la lutte contre la pandémie actuelle en proposant des stratégies prometteuses pour bloquer la propagation du virus et réduire sa virulence

chapitre I : Aperçu du SARS-CoV-2

I.1 Les coronavirus :

Les coronavirus sont des virus enveloppés de la famille des Coronaviridae qui font partie de l'ordre des Nidovirales. Ils sont définis comme virus à ARN simple brin (ARNs) à sens positif classés en quatre familles : Coronaviridae, Mesoniviridae, Roniviridae et Arteriviridae. (Zúñiga et *al.*, 2010) .

La Coronavirinae est l'une des deux sous-familles de la famille des Coronaviridae, Ils peuvent être catégorisés en quatre genres : les coronavirus alpha, les coronavirus bêta coronavirus, les coronavirus gamma et les coronavirus delta (Yousefi and Eslami, 2022). Les chauves-souris et les rongeurs représentent les hôtes réservoirs pour les coronavirus alpha et bêta, tandis que les oiseaux pour les deux autres genres. Cependant, les coronavirus sont capables de passer de leurs réservoirs physiologiques à d'autres animaux. L'homme peut être infectés, mais la transmission du réservoir animal à l'homme semble généralement nécessiter un hôte intermédiaire (Campana et *al*., 2020a)

A ce jour, sept CoVs humains (HCoVs) sont connus. Parmi eux, HCoV-229E et HCoV-NL63 sont des alpha-CoVs. Les cinq autres bêta-CoV sont le HCoV-OC43, le HCoV-HKU1, coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV), (MERS-CoV) et le SARS-CoV2 qui a causé des épidémies mortelles (Ye et *al*., 2020).

SARS-CoV initié en novembre 2002 à Foshan, en Chine, et s'est ensuite transformée en une infection mondiale en 2003 avec un taux de létalité de 10% dans le monde. (Kirtipal et *al*., 2020a)

MERS-CoV a été reconnu pour la première fois comme une nouvelle maladie respiratoire fébrile en Arabie Saoudite en juin 2012. En date du 21 septembre 2015, l l'OMS a signalé 1569 cas confirmés en laboratoire, (Jh and Cs, n.d.)

SARS-CoV-2 un nouveau coronavirus humain, s'est déclaré en décembre 2019 ~~et~~ qui a infecté plus de 230 millions de personnes avec 4,87 millions de décès, selon les dernières données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (Yan et *al*., 2022).

I.2 Le SARS-CoV-2 :

I.2.1 La composition génomique:

Le SARS-CoV-2 est un nouveau béta-coronavirus à +ARNss, dont la taille moyenne est de 60 à 120 nm de diamètre. Le génome du SARS-CoV-2 est relativement grand atteignant 29,99 kb de taille. (Latifi-Pupovci, 2022a)

Un génome typique de beta-coronavirus comprend au moins six gènes (cadres de lecture ouverts ; ORF), dont certains ou tous peuvent être clivés par protéolyse post-transcriptionnelle / traductionnelle en protéines ou peptides plus petits ayant une importance pour le cycle d'infection virale. (Wong and Saier, 2021) .

En outre, la région génomique située à proximité immédiate de l'extrémité 5' possède deux domaines distincts, la séquence leader et la région non traduite (UTR), capables de former une multitude de structures en boucle, indispensables à la réplication et à la transcription du génome viral. Les séquences de régulation transcriptionnelle (SRT) précèdent chaque gène structurel et accessoire qui sont indispensables à leur expression fonctionnelle.(Yadav et *al*., 2021a) .

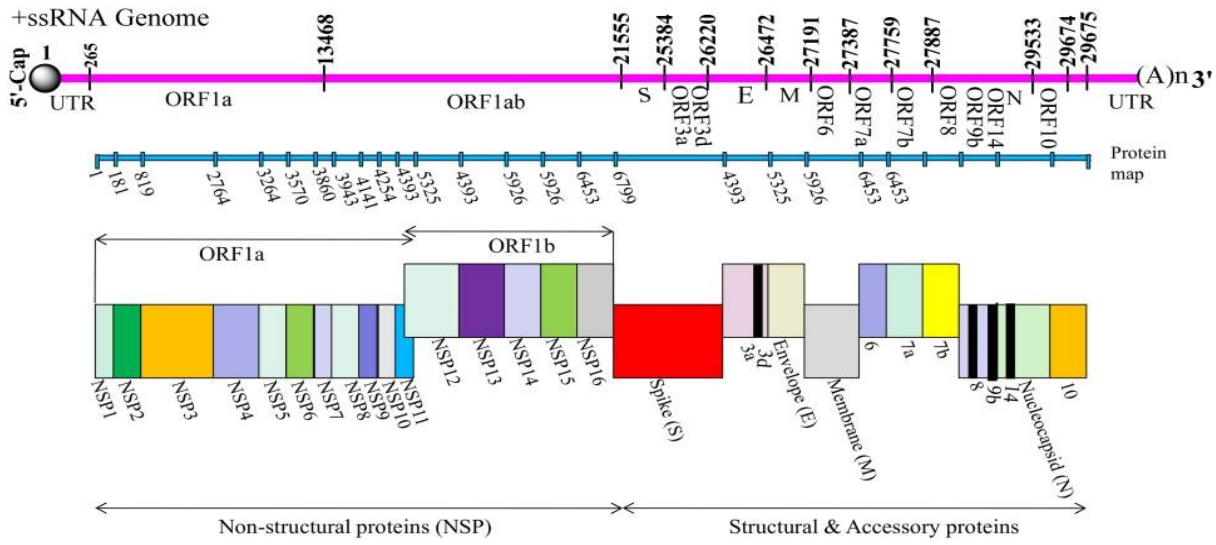


Figure 1 : Organisation génomique du SARS-CoV-2

L'organisation génomique du SARS-CoV-2 montre une disposition séquentielle de divers gènes non structurels, structurels et accessoires, comme suit : 5'-cap-leader-UTR-replicase -S (Spike) - E (Enveloppe) - M (Membrane) - N (Nucléocapside)- 3'UTR-poly (A) tail avec des gènes accessoires tels

que 3a, 3d, 6, 7a,7b, 8, 9b, 14 et 10 intercalés parmi les gènes structurels. 10 intercalés parmi les gènes de structure précédant l'extrémité 30 du génome de l'ARN viral.(Yadav et *al*., 2021a)

I.2.2 La structure de SARS CoV-2 :

Le génome du coronavirus est le plus le plus grand de tous les virus à ARN (27,6-31 kb) et code pour les quatre protéines structurelles : des glycoprotéines spike (S), des protéines d'enveloppe (E), des protéines membranaires (M) et une nucléocapside (N). Le rôle des protéines est la liaison et l'entrée du virus dans la cellule hôte (Campana et *al*., 2020b) (Yousefi and Eslami, 2022) . Outreles protéines mentionnées ci-dessus, il existe plusieurs protéines non structurels « Tableau 1 » et protéines accessoires « Tableau 2 » qui ensemble sont responsables des aspects structurel et fonctionnels de virus. Les divers aspects structurels des protéines susmentionnées sont résumés ci-dessous. (Yadav et *al*., 2021b) .

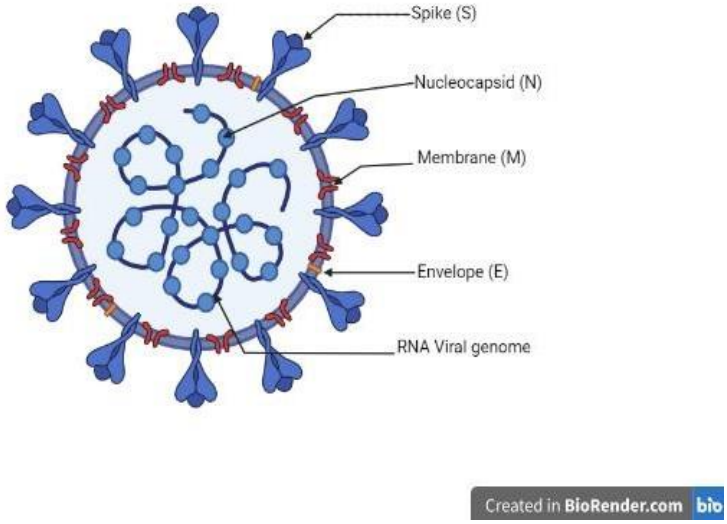


Figure 2: Structure du SRAS-CoV-2

Adapté de (Latifi-Pupovci, 2022b) crée par BioRender.com.

I.2.2.1 Les protéines structurales :

I.2.2.1.1 La protéine M :

La protéine M est une glycoprotéine de type III, elle est la protéine structurelle la plus abondante du SARS-CoV-2.(Bai et *al*., 2022). La protéine M contient une région transmembranaire (TM) et possède un ectodomaine N-terminal glycosylé et un endodomaine C-terminal. Les protéines M interagissent avec d'autres protéines virales structurelles à la fois par le biais du domaine

transmembranaire et de l'endodomaine. La proteine M peut également interagir avec l'ARN qui porte le signal d'emballage génomique Coronavirus .L'assemblage du coronavirus est alors complété sur la membrane de l'appareil pré-Golgien .(Neuman et *al*., 2011)

I.2.2.1.2 La protéine E :

La protéine d'enveloppe du CoV (E) est une courte protéine membranaire intégrale de 76 à 109 acides aminés et d'une taille de 8,4 à 12 kDa. Elle est considérée comme un canal ionique Elle est activement synthétisée pendant l'infection virale, elle se localise principalement dans la région ERGIC (ER-Golgi intermédiate compartiment) de la cellule, où le bourgeonnement et la morphogenèse du virus. Elle dispose des domaines multiples : amino-terminus (N-terminus), transmembranaire (TMD) et carboxyle terminal (C-terminal). (Schoeman and Fielding, 2019).

La protéine E constitue un canal ionique impliquée la pathogenèse notamment la courbure ou la scission de la membrane, le mouvement latéral de la protéine dans les membranes au site d'assemblage ou elle pourrait faciliter le processus de bourgeonnement. (Nieto-Torres et *al*., 2014) (Venkatagopalan et *al*., 2015) .

I.2.2.1.3 La protéine N :

La protéine de la nucléocapside (PN) fait environ 45 kDa (Fan et al., 2005), elle contient trois régions intrinsèquement désordonnées (bras N, région de liaison centrale et queue C) en plus de deux domaines structuraux : un domaine N-terminal et un domaine C-terminal. Contrairement aux autres protéines structurelles majeures, la protéine N est la seule protéine qui a pour fonction principale de se lier au génome ARN du coronavirus pour constituer la nucléocapside. La protéine N agit comme un chaperon moléculaire, elle est indispensable pour la synthèse de l'ARN viral et la régulation des processus cellulaires, tels que l'apoptose cellulaire et la progression du cycle cellulaire. (Bai et *al*., 2022)

I.2.2.1.4 La protéine Spike :

Le SARS-CoV-2 Spike est une protéine homotrimérique qui se trouve à la surface de la membrane virale. Chaque monomère est constitué de deux sous-unités, S1 et S2, situées respectivement aux extrémités N- et C-terminale. S1 se compose du domaine N-terminal (NTD) et du domaine de liaison au récepteur (RBD). Au niveau du RBD se trouve un sous-domaine appelé motif de liaison au récepteur (RBM). S2 se compose du peptide de fusion (FP), de deux répétitions α-helicoïdales

heptadiques (HR1 et HR2), d'une région de boucle, d'un domaine transmembranaire (TM) et d'une queue cytoplasmique (CT). (Chitsike and Duerksen-Hughes, 2021)

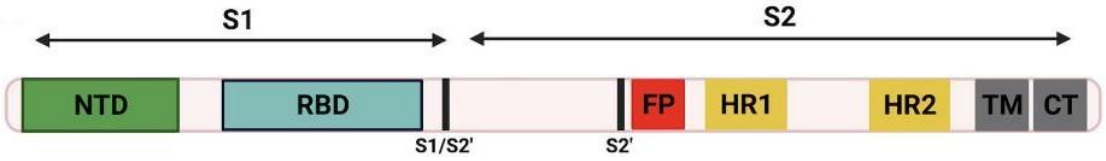


Figure 3: La structure des domaines de la protéine Spike du SARS-CoV-2

Elle comprend deux sous-unités, S1 et S2 : S1 est constituée des domaines NTD, RBD et RBM au sein du RBD et la sous-unité S2 est constituée de FP, HR1 et HR2, TM et de la queue cytoplasmique (CT).(Chitsike and Duerksen-Hughes, 2021)

I.2.2.2 Les protéines non- structurales :

Les ORF1a et ORF1b du SARS-CoV-2 codent pour 16 NSP avec de multiples fonctions enzymatiques. Impliqués dans la réplication et la transcription de l`ARN viral (Bai et *al*., 2022)

Tableau 1 : Les protéines non structurelles des coronavirus et leurs fonctions.

Protéines non structurales	Fonction	La taille	Références
Cadre de lecture ouvert : ORF1a			
Nsp1	• Bloque la traduction de la cellule hôte • Dégradation de l'ARNm cellulaire • Inhibition de la signalisation de l'IFN • Modulent l'expression des gènes de l'hôte et du virus pendant l'infection par le CoV • Entraîne le blocage de la réponse immunitaire innée	9 kD	(Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp2	• Indispensable à la réplication virale • Peut jouer un rôle adaptateur/régulateur critique pour la fonction nsp3	65 kD	(Yousefi and

			Eslami, 2022)
Nsp3	• Se lie à l'ARN viral, à la protéine de nucléocapside, ainsi qu'à d'autres protéines virales, et participe à la transformation des polyprotéines • Bloque la réponse immunitaire innée de l'hôte • Clivage de la polyprotéine virale • Un composant essentiel de la complexe réplication / transcription	200 kD	(Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp4	• Médiateur de l'interaction avec les membranes cellulaires	54 kD	(Bai et *al.*, 2022)
Nsp5	• Clive la polyprotéine virale • Protéase à cystéine • Inhibition de la signalisation de l'IFN • Nouvelles cibles pour les inhibiteurs de sites non actifs	32 kD	(Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp6	• Défenses antivirales de l'hôte. • Limiter l'expansion des autophagosomes	30 kD	(Bai et *al.*, 2022) (Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp7	• Forme un complexe avec nsp8 : primase • Cofacteur avec nsp8 et nsp12	9 kD	(Bai et *al.*, 2022)

	• Peut agir comme une pince de processivité pour l'ARN polymérase.		(Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp8	• Cofacteur avec nsp7 et nsp12 • Complexe avec nsp7 : primase • Catalyse la synthèse des amorces d'ARN	21 kD	(Yousefi and Eslami, 2022) (Bai et *al*., 2022)
Nsp9	• Protéine réplicase • Protéine liant les acides nucléiques	12 kD	(Bai et *al*., 2022) (Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp10	• Interagit avec nsp14 et nsp16. • Régule la fonction de la réplicase virale	14 kD	(Bai et *al*., 2022)
Nsp11	• Peptide court à l'extrémité de l'ORF1a	2 kD	(Yousefi and Eslami, 2022)
Cadre de l'lecture ouvert ORF1b			
Nsp12	• Nucléotidyl transférase associée à la RdRp(nsp7-nsp8-nsp12) des nidovirus • RdRp dépendant des amorces • Catalyse la synthèse de l'ARN viral	105 kD	(Yousefi and Eslami, 2022)

			(Bai et *al.*, 2022)
Nsp13	• Interagit avec nsp8 et nsp12, régule l'activité hélicase	66 kD	(Bai et al., 2022)
Nsp14	• L'activité d'Exonucléase est importante pour la relecture du génome viral. • Impliqué dans le coiffage de l'ARNm • Diminue l'incidence des nucléotides mal appariés	58 kD	(Bai et *al*., 2022) (Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp15	NendoU (EndoU a été considéré comme un marqueur spécifique du nidovirus, EndoU)	38 kD	(Yousefi and Eslami, 2022)
Nsp16	Participe à l'encapsulation de l'ARNm Protège l'ARN viral de la reconnaissance de MDA5.	33 kD	(Yousefi and Eslami, 2022) (Bai et *al*., 2022)

I.2.2.3 Les protéines accessoires :

Le génome du SARS-CoV-2 code pour onze protéines accessoires (3a, 3b, 3c, 3d, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 9c et 10), qui jouent un rôle important dans son interaction avec les cellules hôtes pour aider le virus à échapper au système immunitaire et à renforcer sa virulence. Comme indiqué dans le « Tableau 2 »

Tableau 2 : Les protéines accessoires des coronavirus et leurs fonctions

Protéines accessoires	Fonction	Références
Cadre de lecture ouvert : ORF1b		
ORF3a	Interagit avec le système immunitaire de l'hôte en activant l'expression du gène pro-IL-1b et la sécrétion d'IL-1b, activant ainsi finalement la signalisation NF-kB et les inflammasomes NLRP3 et favorisant la génération de tempêtes de cytokines Induisant la mort des cellules nécrotiques et le développement de lysosomes.	(Bai et *al*., 2022) (Redondo et *al*., 2021)
ORF3b	La protéine ORF3b a une longueur de 22 aa. La protéine ORF3b est un puissant antagoniste de l'interféron (IFN), et supprime l'induction de l'interféron de type I .	(Redondo et *al*., 2021)
ORF3c	L'ORF3c est codé par un cadre chevauchant l'ORF3a (près de l'extrémité 5') et est conservé parmi les Sarbecovirus end). Il possède un domaine transmembranaire prédit domaine transmembranaire hautement conservé, ce qui suggère des interactions au sein de la bicouche lipidique telles que la rupture de la membrane ou l'activation de la signalisation associée à la membrane.	(Redondo et *al*., 2021)
ORF 3d	L'analyse phylogénétique a montré que l'ORF3d est limité à un sous-ensemble de Beta coronavirus, ce qui suggère que cet ORF peut être utilisé pour étudier les différences taxonomiques entre les coronavirus.	(Redondo et *al*., 2021)

ORF6	L'ORF6 est capable de bloquer le transport du facteur de transcription STAT du cytoplasme vers le noyau, bloquant ainsi l'activation de l'IFN. ORF6 se lie à Rae1-Nup98 serait similaire à la liaison de la protéine M dans le VSV (Vesicular Stomatitis Virus) mais cela reste à explorer.	(Redondo et *al*., 2021)
ORF7a	ORF7a du SRAS-CoV-2 se lie aux monocytes CD14+ du sang périphérique humain avec une grande efficacité, augmentant ainsi la capacité d'expression spectaculaire de cytokines pro-inflammatoires par les cellules immunitaires humaines.	(Redondo et *al*., 2021)
ORF7b	L'ORF7b pourrait potentiellement interférer avec certains processus cellulaires qui sous-tendent certains symptômes communs de l'infection par le SRAS-CoV-2 impliquant la formation et l'adhésion cellule-cellule épithéliale, tels que la fréquence cardiaque, la dysrégulation.	(Redondo et *al.*, 2021)
ORF8	ORF8 est capable de former des assemblages uniques à grande échelle, qui ne sont pas observés lors de l'infection par le CoV-SRAS. Cet assemblage unique d'ordre supérieur peut médier l'immunosuppression et l'évasion immunitaire.	(Bai et *al*., 2022)
ORF9b	L'ORF9b supprime l'immunité innée. La surexpression de l'ORF9 a induit l'autophagie dans les cellules hôtes par l'intermédiaire d'ATG5.	(Redondo et *al*., 2021)
ORF9c	L'ORF9c interagit avec les récepteurs Sigma qui sont impliqués dans le remodelage des lipides et la réponse au stress du RE.	(Redondo et *al.*, 2021)
ORF 10	Inconnu	

I.3 Interaction hôte - virus :

Les protéines réceptrices à la surface des cellules hôtes sont essentielles à la fixation du virus sur les cellules hôtes, tant pour la fusion que pour l'endocytose. Les coronavirus pénètrent dans les cellules hôtes de trois manières. Le premier mécanisme est basé sur la fusion de la membrane plasmique tandis que le deuxième est Médie par les récepteurs endocytose. Enfin, les coronavirus peuvent aussi pénétrés par un mécanisme dépendent des anticorps (Zhang et al., 2021a)

I.3.1 Récepteur hôte ACE2 pour la fixation du SARS-CoV-2 :

Le virus entre d'abord en contact avec les cellules cibles qui expriment l'ACE2 par le biais d'un contact direct entre le RBD S1 et l'ACE2. Cette liaison au récepteur et la fixation du virus constituent la première étape de l'entrée du virus dans les cellules.(Chitsike and Duerksen-Hughes, 2021)

Dans les voies respiratoires, le récepteur ACE2 est largement distribué sur les cellules épithéliales de la trachée, des bronches, des glandes séreuses bronchiques et des alvéoles , ainsi que sur les monocytes et les macrophages alvéolaires (Kirtipal et *al*., 2020b)

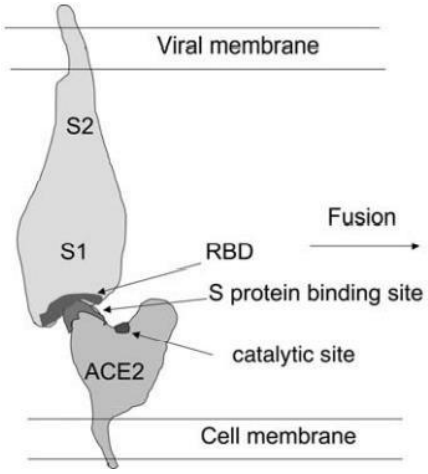


Figure 4: Représentation schématique de l'interaction entre ACE2 et la S-glycoprotéine du SRAS-CoV-2 conduisant à la liaison et à la fusion.

Le site RBD est représenté comme une surface contenant une ou plusieurs cavités qui se lient à une ou plusieurs crêtes à proximité du canal profond contenant le site catalytique. (Prabakaran et *al*., 2004)

I.3.2 Autres récepteurs de l'hôte pour la fixation du SARS-CoV-2 :

Il y a plusieurs molécules ont été proposées comme récepteurs de substitution pour le SARS-CoV-2 comme **Neuropilin-1** (NRP1) (Jackson et *al*., 2022) , **Lectines de type C, DC-SIGN et L-SIGN** (Jackson et *al*., 2022) , **TIM et TAM** (Jackson et *al*., 2022) , **Heparan Sulfate Protéoglycanes (** HSPG) (Nugent, 2022)

I.4 Mécanisme d'entrée du SARS-CoV-2 :

Pour infecter une cellule, le SARS-CoV-2 utilise de multiples facteurs de l'hôte, dont les modèles d'expression Co-déterminent donc le tropisme viral. La pénétration dans la cellule et la traduction du génome à grand ARN lancent un cycle de réplication cytoplasmique qui intègre une variété remarquable de stratégies pour ajuster l'expression des gènes viraux au niveau de la traduction et de la transcription. Les étapes successives qui conduisent finalement à la libération de la progéniture virale sont coordonnées dans le temps et dans l'espace, et dépendent largement de l'organisation structurale et du métabolisme du virus. (Malone et *al*., 2022a)

I.4.1 Attachement et entrée des cellules hôtes :

I.4.1.1 Interaction entre SARS-CoV-2 et la protéase de l'hôte :

La présence du domaine de liaison au récepteur (RBD) dans le domaine N-terminal (NTD) de la sous-unité S1 entraîne une liaison directe avec le domaine peptidase de l'ACE2, tandis que l'extrémité C-terminale de la sous-unité S2 est responsable de sa fixation à l'enveloppe virale après protéolyse au niveau du site S1/S2 et conduit finalement à sa fusion avec la membrane de la cellule hôte.(Rahbar Saadat et *al*., 2021)

La transition de la protéine S est permise par deux étapes de clivage protéolytique après l'engagement d'ACE2. La première de ces étapes est localisée à la jonction S1-S2, et la seconde est localisée au site S2′ dans la sous-unité S2. La jonction S1-S2 est clivée par la furine dans la cellule productrice du virus, alors que le clivage du site S2′ nécessite encore des protéases de la cellule cible (Jackson et *al*., 2022)

I.4.1.2 Fusion de la membrane plasmique médiée par le récepteur :

I.4.1.2.1 Complexe du Spike avec le récepteur ACE2 :

Le virus entre d'abord en contact avec les cellules cibles qui expriment l'ACE2 par le biais d'un contact direct entre le RBD S1 et l'ACE2. Cette liaison au récepteur et la fixation du virus

constituent la première étape de l'entrée du virus dans les cellules. (Chitsike and Duerksen-Hughes, 2021) (Figure 4)

I.4.1.2.2 Clivage de la jonction S1-S2 de la protéine S par la furine :

La furine une sorte de proprotéine convertase, est une protéine transmembranaire de type I exprimée dans toutes les cellules eucaryotes. Elle est activée par le pH acide dans le réseau trans-golgi.(Rahbar Saadat et *al*., 2021)

Le SARS-CoV-2 contient quatre acides aminés (Arg-Arg-Ala-Arg) distincts sur ses sous-unités S1 et S2, ce qui entraîne l'introduction de sites de clivage de la furine (Jackson et al., 2022; Samudrala et *al*., 2020). Les sites de clivage de la furine facilitent une très forte fixation de la S- glycoprotéine avec le récepteur ACE-2 du SRAS-CoV-2(Samudrala et *al*., 2020). Le clivage de cette liaison est une condition préalable au clivage du site S2′(Jackson et *al*., 2022).

I.4.1.2.3 Rôle de TMPRSS2 dans l'entrée du virus :

TMPRSS2 est une protéine transmembranaire de type 2 à activité sérine-protéase. L'expression de TMPRSS2 est détectée dans les cellules basales de l'épithélium de la prostate, ainsi que dans l'épithélium de divers autres tissus, notamment l'épithélium des voies respiratoires, les alvéoles, les ovaires.

La sous-unité S1 composée du RBD contribue à la liaison avec le récepteur ACE2 sur les cellules cibles et stabilise l'état de pré-fusion de la sous-unité S2 ancrée dans la membrane. Ensuite, les HR1 et HR2 de la sous-unité S2 se rapprochent progressivement l'une de l'autre et forment une structure à six hélices (6-HB), ce qui provoque la fusion de l'enveloppe virale et la membrane de la cellule hôte

Le deuxième site de clivage protéolytique ciblé par TMPRSS2, appelé site S2', est situé dans le domaine S2 N-terminal de la protéine S. De manière inhabituelle, TMPRSS2 clivait également l'ACE2 humaine après l'interaction de la protéine S avec l'ACE2, induisant l'excrétion de l' ACE2 et favorisant l'absorption des particules virales.(Zhang et *al*., 2021b)

I.4.2 Fusion membranaire :

Les régions de la répétition heptapeptidique 1 (HR1) et de la répétition heptapeptidique 2 (HR2) de la sous-unité S2 de la protéine S interagissent après clivage pour former le site de fusion du groupement à 6 hélices (6HB). Comme une étape critique dans la facilitation et l'achèvement de la

fusion de la membrane virale avec la membrane de la cellule hôte. Le processus de fusion est une condition préalable à l'internalisation du virus, à la libération intracellulaire du contenu viral, la réplication et l'infection ultérieure d'autres cellules.(Latifi-Pupovci, 2022b)

I.4.3 Internalisation Endocytose :

Les cathepsines sont des protéases non spécifiques avec des activités endopeptidase et exopeptidase qui participent à la dégradation des protéines dans les endosomes tardifs et les lysosomes. Si les cellules cibles expriment une quantité insuffisante de TMPRSS2 ou si un complexe virus-ACE2 ne rencontre pas de TMPRSS2, le virus lié à l'ACE2 est internalisé par endocytose médiée par la clathrine dans l'endolysosome tardif, où le site S2′ est clivé par les cathepsines. (Jackson et *al*., 2022)

Une fois dans la cellule, l'acidification de l'endosome induit la fusion de la membrane du virus et de l'endosome, ce qui entraîne le désenrobage viral (libération de l'ARN viral) et l'initiation de la réplication virale et de l'infection. (Latifi-Pupovci, 2022b)

I.4.4 Attachement SARS-CoV-2 médié par les anticorps :

Les virus peuvent également envahir les cellules hôtes par l'internalisation, médiée par les anticorps, des complexes immuns virus-anticorps. Ce phénomène particulier, appelé effet Ac-dependent enhancement (ADE), Au cours de l'ADE, une molécule d'anticorps se lie à une particule virale par sa région Fab, tandis que la région Fc de l'anticorps interagit avec le récepteur Fc (FcR) à la surface des cellules hôtes, ce qui entraîne la formation d'un complexe virus-anticorps-FcR pour l'endocytose. Ainsi, les cellules portant le FcR sont la principale cible de l'entrée virale médiéepar les anticorps.

Au cours de l'infection par le SRAS-CoV, les anticorps anti-S facilitent l'internalisation du virus indépendante du FcR dans divers types de cellules immunitaires circulantes, notamment les macrophages, les monocytes et les lymphocytes B. (Zhang et *al*., 2021c)

I.5 Traduction du génome :

La libération du génome du coronavirus dans le cytoplasme de la cellule hôte marque le début d'un programme complexe d'expression des gènes viraux, hautement régulé dans l'espace et dans

le temps. Le site de traduction ORF1a et ORF1b de l'ARN génomique produit deux polyprotéines, pp1a et pp1ab (V'kovski et *al.*, 2021) (Figure 5).

Après synthèse, la polyprotéine est dégradée par deux protéases (Nsp3 et Nsp5) en 16 protéines non structurales différentes (nsp1-16) : 11 Nsps du fragment ORF1a (Nsp1 à Nsp11) et 5 du fragment ORF1b (Nsp12 à Nsp16) (Gusev et *al*., 2022)

I.6 Réplication et transcription :

La plupart des Nsps nouvellement traduites, ainsi que la protéine de structure, c'est-à-dire la protéine N, forment le complexe multi-protéique réplicase-transcriptase (RTC) qui assure la réplication et la transcription du génome viral Au site des organelles réplicatives, le complexe RTC contenait RdRp(nsp7-nsp8-nsp12) en tant que protéine principale de la réplicase transcriptase pour la synthèse des sous-genres brins d'ARN viral de sens négatif sous génomique et de la transcription de sens négatif molécules d'ARN subgénomique à partir des ARNm de sens positif correspondants.

Les brins négatifs nouvellement produits de les ARN génomiques et sg sont ensuite utilisés comme matrices pour la production de brins sens positifs (ARNm), en particulier dans la génération de ARN génomique (réplication du génome) et ARNm sg (transcription). Ces brins d'ARN nouvellement synthétisés agissent comme génome pour la génération de nouvelle progéniture virale. De plus, plusieurs ARNm de plus petite taille sont produits à partir du dernier tiers du génome viral. Dernier tiers du génome viral qui suit les cadres de lecture ORF1a et ORF1b, interprétés en quatre protéines structurelles virales (S, E, M, et N) et avec les protéines accessoires (ORF3a à ORF9b) font partie de la progéniture virale (Kirtipal et *al*., 2020a) (Figure 5)

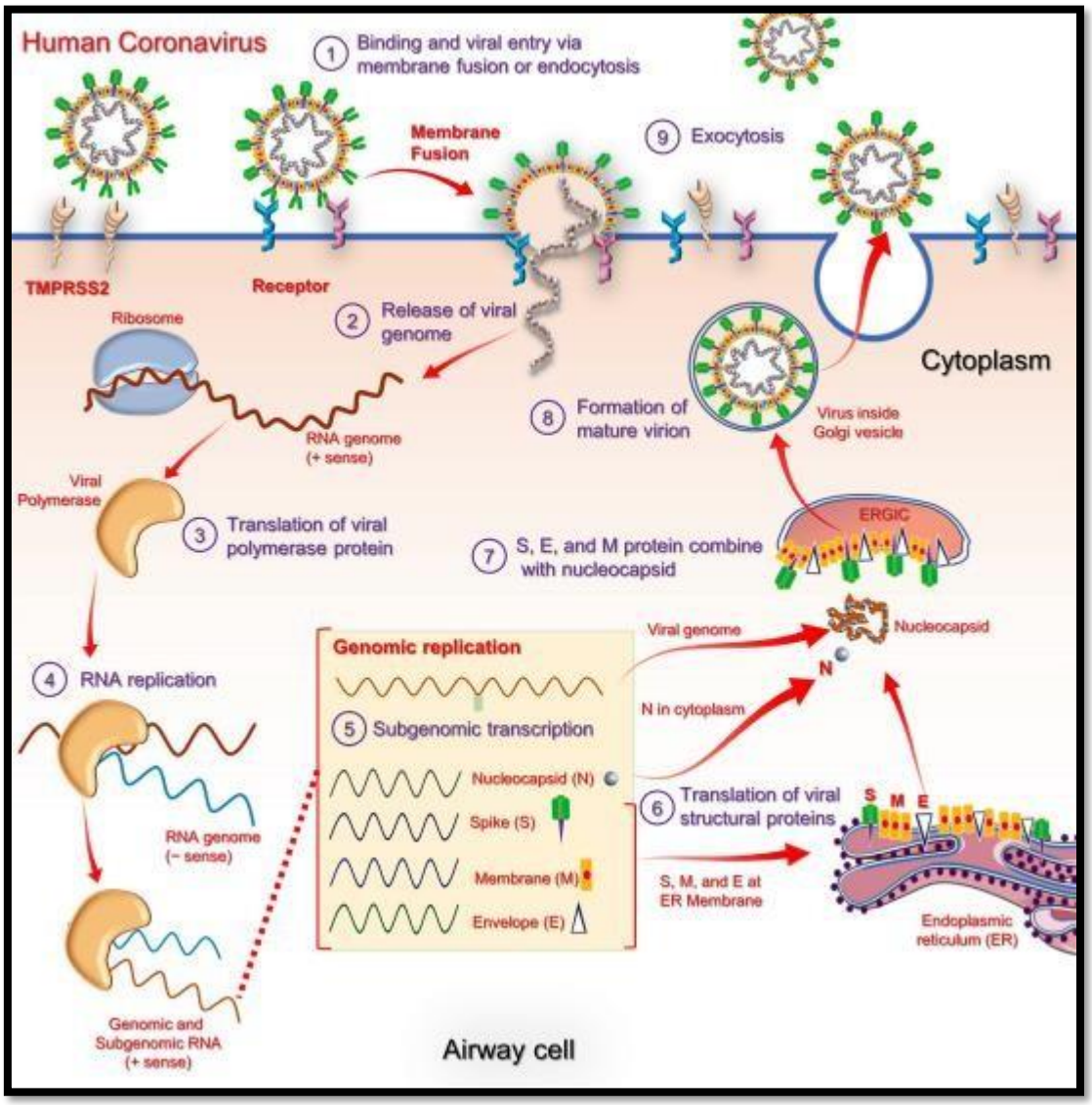


Figure 5: Un aperçu du cycle de vie du H-CoV dans la cellule hôte (Kirtipal et *al.*, 2020a)

I.7 Assemblage et libération :

Les ARN génomique à brin court « sg-mRNA's » (minus-strand genomic RNA) sont essentiels à la production des quatre protéines structurelles du coronavirus, qui sont nécessaires à l'assemblage et à la sortie des virions(Malone et *al.*, 2022b). Le processus de traduction de l'ARN viral qui s'est produit à l'intérieur du réticulum endoplasmique des cellules hôtes a conduit à la formation de protéines structurelles à savoir S, E et M , qui se sont déplacées le long de la voie sécrétoire vers le compartiment intermédiaire de Golgi. Dans ce compartiment, la protéine N emballe le génome ARN nouvellement produit et prend ainsi la forme d'une nucléocapside

hélicoïdale. Ensuite, l'assemblage du virion est déclenché par la protéine M via de multiples interactions protéine-protéine qui ont aidé à l'incorporation de la nucléocapside, de l'enveloppe et des protéines de pointe dans les particules virales. Plus tard, la progéniture virale germe dans le compartiment intermédiaire du réticulum endoplasmique et du Golgi (ERGIC) et est libérée sous forme de vésicules sécrétoires qui fusionnent avec la membrane plasmique de la cellule hôte par exocytose (Kirtipal et *al*., 2020b). Il a été récemment démontré que les nouveaux virions quittent la cellule via le trafic lysosomal plutôt que par la voie sécrétoire biosynthétique utilisée par de nombreux autres virus enveloppés.(Malone et *al.*, 2022b)

I.8 Immuopathologie de SARS-CoV-2 :

I.8.1 La réponse immunitaire innée :

La réponse immunitaire innée est la première ligne de défense contre le SRAS-CoV-2, limitant l'entrée, la traduction, la réplication et l'assemblage du virus, aidant à identifier et à éliminer les cellules infectées, et à coordonner le développement de l'immunité adaptative et à l'accélérer ce qui contribue à éliminer l'infection et à prévenir la réinfection par le même agent pathogène. Cette réponse est spécifique des cellules dendritiques, des monocytes/macrophages, des neutrophiles. (Diamond and Kanneganti, 2022)

I.8.1.1 Tempête des cytokines « Cytokine Storm » :

La tempête de cytokines fait référence à la surproduction de cytokines inflammatoires ayant une large gamme d'activités biologiques et provenant de divers tissus et cellules (principalement des cellules immunitaires).(Song et *al.*, 2020)

La tempête des cytokines est induite par l'activation de grand nombre de cellules, y compris les cellules B, les cellules T, les cellules NK, les macrophages, les cellules dendritiques, les neutrophiles, les monocytes et les cellules tissulaires résidentes, telles que les cellules épithéliales et endothéliales, qui libèrent de grandes quantités de cytokines pro-inflammatoires. (Azkur et *al*., 2020)

I.8.1.2 La pathogénicité du COVID et l'inflammasome :

La pathogénicité du COVID-19 est complexe, et la virulence et la pathogénicité de la maladie sont en outre associées à l'activation virale de l'inflammasome cytoplasmique NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3 (NLRP3). (Azkur et *al*., 2020)

Les NLR réagissent à l'infection par le SRAS-CoV-2 et induisent la production d'IFN de type I et de cytokines pro-inflammatoires. NLRP3, l'un des capteurs d'inflammasomes les mieux caractérisés, est déclenché en réponse aux PAMPs et DAMPs, conduisant à l'activation de la caspase-1, la production et la libération de l'IL-1β et de l'IL-18 bioactifs et le clivage de la gasdermine (GSDM) D, qui forme des pores dans la membrane plasmique pour provoquer la rupture de la membrane médiée par la mort cellulaire pyroptotique. En outre, le fragment de clivage actif de la GSDMD provoque une perforation cellulaire étendue en s'insérant dans la bicouche lipidique, ce qui entraîne le gonflement et la lyse des cellules suivis de la libération de contenus tels que la matrice cellulaire et les cytokines. (Diamond and Kanneganti, 2022) (Song et *al*., 2020)

I.8.2 La réponse adaptative :

Une fois les défenses innées franchies, le virus est confronté à la fois aux classes I et II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et à l'activation directe des cellules tueuses naturelles (NK). Les molécules du CMH-II, intégrées dans les membranes des cellules présentatrices d'antigènes (macrophages, monocytes, cellules dendritiques et cellules B)

Au cours d'une infection virale, les cellules T CD4+ et CD8+ contribuent au contrôle viral en produisant des cytokines effectrices et en exerçant une activité cytotoxique. (Jung and Shin, 2021)

I.8.2.1 Réponses des cellules T :

I.8.2.1.1 Les lymphocyte helper :

Les Th1 peuvent produire de grandes quantités d'interféron (IFN) γ, activer les macrophages et sont responsables des réactions d'hypersensibilité retardée. Il a été récemment démontré que l'infection par le SARS-CoV-2 peut inciter les lymphocytes T CD4+ à se différencier en cellules Th1 pathogènes, en sécrétant de grandes quantités d'interleukine-6 (IL-6) et de facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF). Un tel milieu cytokinique favorise l'activation des monocytes CD14+ CD16+, qui libèrent à leur tour de l'IL-6 et peuvent migrer du sang vers les poumons, devenant ainsi éventuellement des macrophages alvéolaires ou des cellules dendritiques.(Pelaia et *al*., 2020)

De plus, les Th2 sont pilotée lors de leur différenciation par Gata3, stimulant une immunité indépendante des phagocytes et médiée par les éosinophiles, nécessaire pour combattre les

parasites helminthiques. Elles produisent de l'IL-4, de l'IL-5 et de l'IL-13, qui stimulent la production d'anticorps IgE, activent les éosinophiles et favorisent l'expulsion des parasites des tissus muqueux. (de Candia et *al*., 2021)

I.8.2.1.2 Les cellules Th17 :

Lors de l'infection au COVID19, il a été noté l'existence du développement des cellules Th17. Par l'intermédiaire de l'activation de la voie SOCS-3 (suppressor of cytokine signalling-3), (Pelaia et *al*., 2020). Les Th17 dépendants de l'IL-6 sécrètent l'IL-17A et l'IL-17F qui synthétisent efficacement l'IL-8. Cette dernière joue un rôle clé dans la stimulation de la survie et du recrutement des neutrophiles dans les poumons. qui sont probablement impliqués dans le déclenchement de la tempête de cytokines associée à l'infiltration neutrophilique pulmonaire et peuvent conduire à des réactions d'auto-immunité(Pelaia et *al*., 2020; Zanza et *al*., 2022)

I.8.2.1.3 Cellules T régulatrices (Treg) :

Expriment le CD25 et le facteur de transcription FOXP3 et jouent un rôle clé dans le contrôle anti-inflammatoire/immunosuppressif de la réponse immunitaire. Immunosuppresseur de la réponse immunitaire, soutenant l'homéostasie immunologique. Les cellules T-reg agissent en inhibant l'action de leurs homologues pro-inflammatoires Th1 et Th17, via la production de IL-10, IL-35 et du facteur de croissance transformant (TGF)-β.(de Candia et *al*., 2021)

I.8.2.1.4 Les cellules cytotoxiques :

Pendant le COVID-19 aigu, les lymphocytes T CD8+ spécifiques du SRAS-CoV-2 expriment non seulement des marqueurs d'activation (CD38 et HLA-DR), des marqueurs de prolifération (Ki-67) et des molécules cytotoxiques (perforine et granzyme B), expriment également le point de contrôle immunitaire récepteurs inhibiteurs (PD-1 et TIM-3). Cependant, la production d'IFN-γ par les cellules T CD8+ spécifiques au SARS-CoV-2 était indépendante de l'expression de PD 1,ce qui suggère que les cellules T PD-1+CD8+ spécifiques au SARS-CoV-2 étaient fonctionnelles et non épuisées.(Jung and Shin, 2021)

I.8.2.1.5 Cellules T à mémoire après la guérison du covid-19 :

Différenciation des cellules T CD8+ spécifiques du SRAS-CoV-2 pendant la période de convalescence de COVID-19. De la phase de convalescence précoce à la phase de convalescence tardive, la fréquence des cellules T CD8+ spécifiques du SRAS-CoV-2 exprimant CD38 et PD-1

diminue progressivement, tandis que la fréquence des cellules T CD8+ spécifiques du SRAS-CoV-2 exprimant CCR7, CD45RA et CD127 augmente. En particulier, parmi les cellules T CD8+ spécifiques du SRAS-CoV-2, la fréquence des cellules T mémoires de type cellules souches (TSCM) CCR7+CD45RA+CD95+ qui ont la capacité de s'auto-renouveler et d'être multipotentes augmente à la fin de la phase de convalescence.

La génération de cellules TSCM (Stem cell-like memory T) est également observée parmi les cellules T CD4+ spécifiques du SRAS-CoV-2. Les cellules T mémoires semblables à des cellules souches (TSCM) ont la capacité d'auto-renouvellement et de multipotence pour repeupler le large spectre de sous-ensembles de cellules T mémoires et effectrices et de large spectre de sous-ensembles de cellules T mémoires et effectrices. La génération de cellules TSCM est nécessaire à la mémoire des cellules T à long terme. (Jung and Shin, 2021)

I.8.2.2 Réponses des cellules B et des anticorps :

Chez la plupart des personnes infectées, la séroconversion se produit dans les 5 à 15 jours. La production d'anticorps des isotypes IgM et IgA se produit en premier. La réponse IgG est retardée de 2 à 3 jours et est principalement marquée par les anticorps appartenant aux sous-classes IgG1 et IgG3. Le taux sérique d'IgM atteint un pic en 1 à 2 semaines, puis tombe rapidement en dessous du seuil de détection en 2 à 3 semaines. La production d'IgA atteint son maximum entre le 16e et le 22e jour après l'infection disparaît du sérum plus lentement que les IgM. Le pic de la réponse IgG se situe généralement entre la 3e et la 7e semaine, suivi d'un plateau et enfin d'une diminution marquée du taux sérique. (Vályi-Nagy et *al*., 2022)

Les taux sériques d'anticorps neutralisants du virus évoluent généralement parallèlement à ceux des anticorps isotypes IgG anti-spike (anti-S).

Les cellules B mémoire jouent un rôle crucial en agissant rapidement et en activant les anticorps protecteurs lorsqu'elles rencontrent à nouveau le SRAS-CoV-2. Diverses études indiquent que les cellules B à mémoire spécifiques du SRAS-CoV-2 s'accumulent pendant plusieurs mois après l'infection initiale. Les niveaux croissants de mutations somatiques des anticorps suggèrent que l'activité continue dans le centre germinal entraîne la maturation de l'affinité des réactions des anticorps avec le temps. Le maintien constant de l'affinité développée par les cellules B à mémoire pourrait aider à éliminer les maladies ultérieures. (Upreti and Samant, 2022)

I.9 Diagnostic :

I.9.1 Diagnostic clinique :

Bien que le diagnostic de COVID-19 soit suspecté sur la base des symptômes de la pneumonie (par exemple, toux sèche, fatigue, myalgie, fièvre et dyspnée), l'imagerie thoracique joue un rôle important dans l'évaluation de l'étendue de la maladie et de la gravité de la maladie.(Hosseiny et *al*., 2020)

I.9.2 Diagnostic sérologique :

Il existe actuellement plusieurs catégories de tests sérologiques pour détecter le SARSCoV-2 comme les tests sérologiques les plus couramment utilisés sont les dosages immunologiques à flux latéral (LFIA), les dosages immunologiques enzymatiques (ELISA) et les tests immunologiques par chimioluminescence (CLIA). Selon le test utilisé, ils peuvent détecter les anticorps IgM, IgA, IgG ou les anticorps totaux. (Ong et *al*., 2021)

I.9.3 Diagnostic moléculaire :

(RT-PCR) a été développé pour la détection rapide du coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV). Le test, basé sur de multiples d'amorces et de sondes situées dans différentes régions du génome du SRAS-CoV, permet de distinguer le SRAS-CoV des autres coronavirus humains et animaux (Emery et *al*., 2004)

I.10 La prise en charge thérapeutique :

I.10.1 Traitement symptomatique :

À ce jour, il n'existe pas de traitement efficace généralement prouvé contre le COVID-19 ou les antiviraux contre le SRAS-CoV-2, bien que certains traitements aient montré certains avantages dans certaines sous-populations de patients. Les chercheurs et les fabricants mènent des essais cliniques à grande échelle pour évaluer divers traitements proposés contre le COVID-19(Hu et *al.*, 2021) .

De plus, aucun traitement officiel spécialement conçu pour le SARS-CoV-2 n'a été approuvé. Il existe actuellement de multiples traitements médicamenteux utilisés contre le virus. Cependant, ceux-ci agissent comme une aide complémentaire qui soulage les symptômes et raccourcit le temps de récupération.

I.10.2 Les Médicament disponible à ce jour :

A ce jour. Selon « COVID-19 Vaccine & Therapeutics Tracker »[1] environ de 506 médicaments thérapeutiques en cours de développement et 419 autres sont en cours d'essais cliniques

Nous citons à titre d'exemple les (lopinavir-ritonavirv) sont des inhibiteurs de protéase où le lopinavir est un inhibiteur de la protéase du VIH-1, qui est associé au ritonavir pour augmenter sa demi-vie plasmatique. Le lopinavir est également un inhibiteur du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus (SRAS-CoV) (Horby et *al*., 2020) .

(Remdesivir et Favipiravi) sont des inhibiteurs de l'ARN polymérase, inhibe la réplication virale en entrant en compétition avec les nucléotides endogènes pour l'incorporation dans la réplication de l'ARN viral via l'ARN polymérase dépendante de l'ARN.(Jorgensen et *al*. 2020)

I.10.3 La vaccination :

Selon « COVID-19 Vaccine & Therapeutics Tracker » [2] tenu 5 avril 2021 il existe actuellement plus 216 vaccins candidats en cours de développement et de 92 vaccins en cours d'essais cliniques.

La vaccination a pour but la stimulation de la production d'anticorps neutralisants, offrant une protection contre l'infection au COVID-19 et réduisant la gravité de l'infection (Ong et *al*., 2021)

La majorité des vaccins sont basé sur l'administration d'antigènes viraux ou de séquences génétiques virales visent à induire des anticorps neutralisants contre la protéine virale de pointe (S), empêchant ainsi l'attachement du virus à l'ACE2 de la cellule cibler.

Ces vaccins appartiennent à 5 catégories distinctes :

Vaccins à ARNm (Biontech and Moderna) , Vaccins à vecteur viral défectueux pour la réplication (astraZeneca) ,Vaccins à base de pathogènes inactivés (Sinovac) , Vaccins à base de sous-unités protéiques (Novavax) , Vaccins à particules de type viral (Medicago) (Kyriakidis et *al.*, 2021)

[1] https://biorender.com/covid-vaccine-tracker

[2] https://biorender.com/covid-vaccine-tracker

Toutes ces catégories de vaccins ont leurs avantages et leurs inconvénients, mais elles ne sont pas efficaces à 100 % contre les nouvelles variantes.

I.11 Le récepteur Alpha 7 nicotinique de la voie cholinergique anti-inflammatoire :

L'a7nAChR, qui régule la suppression de la synthèse des cytokines par la voie cholinergique anti-inflammatoire, a récemment été caractérisé comme un régulateur important de l'inflammation Outre le contrôle cholinergique neuronal de l'inflammation, le système cholinergique non neuronal régule également la fonction immunitaire. Le a7nAChR classique est le plus abondant dans le cerveau, où il a été initialement découvert et étudié en tant que récepteur aneuronal. Cependant, le a7nAChR est également exprimé dans une variété de cellules non neuronales, y compris les cellules T, les macrophages, l'endothélium vasculaire et les cellules musculaire lisses des vaisseaux (VSMC) et bien d'autres qui participe à la voie anti-inflammatoire cholinergique, à l'angiogenèse, au remodelage vasculaire et au stress vasculaire oxydatif. L'acétylcholine produite par les cellules T module l'activité immunitaire en agissant de manière autocrine/paracrine sur l'a7nAChR de différentes cellules immunitaires.(Vieira-Alves et *al.*, 2020)

I.11.1 Les ligands du récepteur Alpha 7 (récepteur nicotinique de l'acétylcholine de type 7) :

Dans cette étude nous avons utilisé les ligands agonistes des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine dans la lutte contre la maladie COVID-19 causée par le virus SARS-CoV-2.

I.11.1.1 GTS-21 :

Également connu sous le nom de DMXB-A, est une petite molécule synthétique c'est-à-dire qu'elle est produite en laboratoire plutôt que d'être extraite d'une source naturelle. Sa formule chimique est $C_{14}H_{10}N_2O$ [3], qui agit comme un agoniste sélectif des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, réduit la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, dont l'interleukine-6 (IL6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF), dans des modèles d'endotoxémie et de septicémie, et ses effets anti-inflammatoires sont largement attribués à l'action de l'α7 nAChR. (Garg and Loring, 2019).

[3] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5310985

I.11.1.2 PNU-282987 :

La molécule PNU-272887 est une petite molécule organique synthétique, sa formule chimique C14H17ClN2O [4] . PNU282987 L'agoniste sélectif (α7nAChR) diminué les niveaux de facteurs pro-inflammatoires, MDA et Aβ, a augmenté l'activité SOD et les niveaux de facteur anti-inflammatoire (IL10) in vivo et aussi augmenté l'expression d'Arg1, diminué l'expression d'iNOS, d'IL1β et de TNFα in vitro. [5]

I.11.1.3 Alpha bungarotoxine :

L'a-bungarotoxine est une toxine neurotoxique puissante produite par le serpent taïwanais de la famille des Elapidae, Bungarus multicinctus, Sa formule chimique est C50H70O14 cette toxine agit en bloquant les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine situés dans le système nerveux central. (Young et *al*., 2003)

[4] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9795278

[5] https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36898594/

Chapitre II : L’amarrage moléculaire et SARS-CoV-2

II.1 Reprogrammation des médicaments assistée par ordinateur et ses applications pour le SRAS-CoV-2 :

Notre corps est une machine extrêmement complexe. À tout moment, de nombreuses molécules différentes interagissent les unes avec les autres (entre eux) et aide le système à fonctionner. Lorsqu'un agent externe comme le SARS-CoV-2 perturbe le système, trouver un médicament ciblé n'est pas une tâche facile. L'espace des médicaments possibles est infini, et lorsqu'une molécule est considérée comme un médicament, ses interactions avec les autres molécules du système sont très importantes et doit être sécurisé pour l'hôte (Oztas, 2021)

La règle de cinq Lipinski est la règle qui peut être déduite de l'efficacité et de la capacité à choisir le ligand approprié. (Lipinski et *al.*, 2001)

Afin de découvrir l'efficacité du ligand et de le considérer comme un médicament, plusieurs expériences doivent être réalisées. Étant donné que ces expériences prennent beaucoup de temps, des méthodes de calcul avancées et rapides ont réduit le temps et ont montré des résultats très acceptables.

II.2 Les règles de Lipinski :

La règle des 5 de Lipinski permet de faire la distinction entre les ligands non médicamenteux et les ligands médicamenteux. La méthode de conception et de détection de médicaments assistée par ordinateur (CADDD). Elle promet une forte probabilité de réussite ou d'échec en raison de la ressemblance avec un médicament pour les molécules qui respectent au moins deux des règles correspondantes. Pour le choix d'un ligand, il faut tenir compte de la :

(1) Un nombre inférieur à cinq donneurs de liaisons hydrogène

(2) un nombre inférieur à dix accepteurs de liaisons hydrogène

(3) Une masse moléculaire inférieure à 500 Da

(4) Lipophilie élevée (exprimée par un logarithme non supérieur à 5)(Dnyandev et *al*., 2021)

II.3 L’amarrage moléculaire : nouvelle approche de « Drug design »

Le domaine de l'amarrage moléculaire a évolué au cours des trois dernières décennies, poussé par les besoins de la biologie moléculaire structurelle et de la découverte de médicaments basés sur la structure. Cela a été grandement facilité par l'augmentation spectaculaire de la disponibilité et de la puissance des ordinateurs, ainsi que par la facilité croissante d'accès aux bases de données sur les petites molécules et les protéines (“morris2008.pdf,” n.d.)

L’Amarrage moléculaire est un outil clé de la biologie moléculaire structurelle et de la conception de médicaments assistés par ordinateur. L'objectif de l'amarrage ligand-protéine est de prédire le(s) mode(s) de liaison prédominant(s) d'un ligand avec une protéine de structure tridimensionnelle connue (“morris2008.pdf,” n.d.)

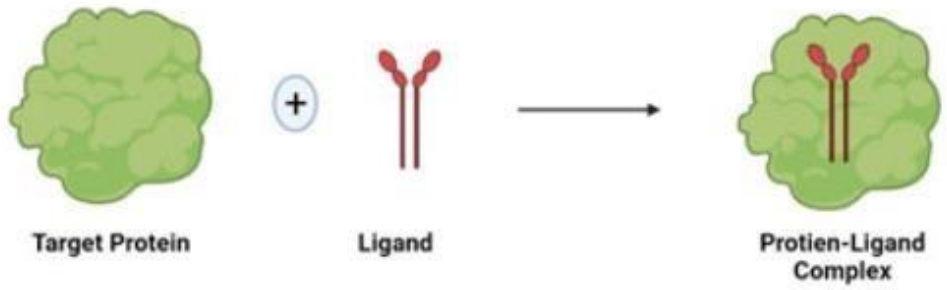


Figure 6: Amarrage moléculaire (Raval and Ganatra, 2022b)

II.4 Les objectifs de l’amarrage :

L'objectif d'un logiciel de l’amarrage moléculaire automatisé est de comprendre et de prévoir la reconnaissance moléculaire et structurelle en identifiant les modes de liaison probables et en prédisant énergétiquement leurs affinités. L'amarrage moléculaire se fait généralement entre une petite molécule dite ligand et une macromolécule cible généralement une protéine dite récepteur (“morris2008.pdf,” n.d.)

II.5 La conception de médicaments :

Les approches informatiques sont des outils utiles pour interpréter et guider les expériences afin d'accélérer le processus de conception de médicaments. La conception de médicaments est basée sur :

- La structure " Structure-based drug design " (SBDD)
- Les ligands " ligand-based drug design " (LBDD)

Sont les deux types généraux d'approches de conception de médicaments assistée par ordinateur existants " computer-aided Drug design " (CADD)

Les méthodes SBDD analysent les informations structurelles tridimensionnelles des cibles macromoléculaires, généralement des protéines ou de l'ARN, afin d'identifier les sites et interactions clés qui sont importants pour leurs fonctions biologiques respectives. (Yu and MacKerell, 2017)

II.6 Les types d’amarrage moléculaire :

Les premières méthodes d'amarrage reposaient sur l'hypothèse de la clé et du verrou proposée par Fischer, selon laquelle le ligand et le récepteur peuvent être traités comme des corps rigides et leur affinité est directement proportionnelle à l'ajustement géométrique entre leurs formes.(Pagadala et *al.*, 2017)

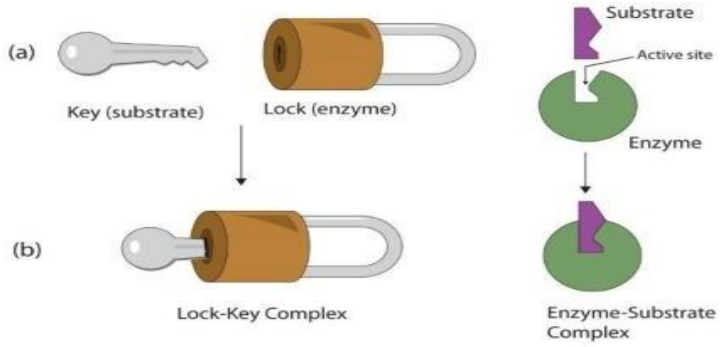


Figure 7: La théorie de la serrure et de la clé (Raval and Ganatra, 2022a)

Plus tard, la théorie de "l'ajustement induit" (induced fit) proposée par Koshland a suggéré que le ligand et le récepteur devraient être traités comme des corps flexibles pendant l'amarrage. Chaque mouvement du squelette affecte plusieurs chaînes latérales, contrairement aux chaînes latérales relativement indépendantes.(Pagadala et *al.*, 2017)

Comme le montre la (Figure 7), s'adaptent l'un à l'autre par de modestes changements de conformation jusqu'à ce qu'une correspondance idéale soit atteinte.(Raval and Ganatra, 2022b)

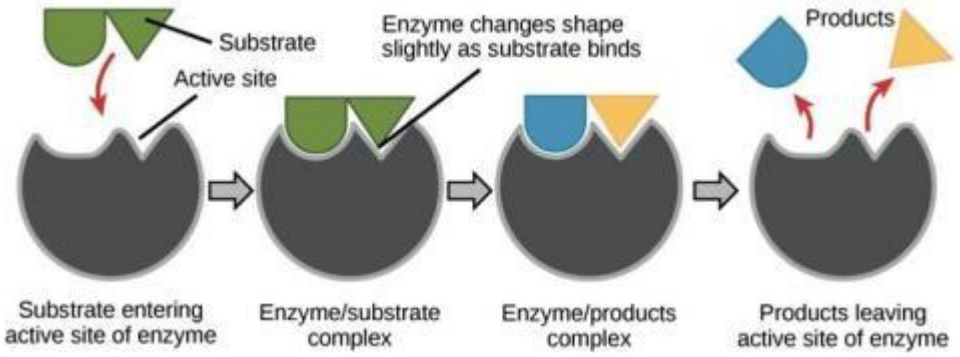


Figure 8: Modèle d'adaptation induite (Raval and Ganatra, 2022a)

Ainsi, la procédure d'échantillonnage dans l'amarrage récepteur/ligand entièrement flexible est d'un ordre de grandeur plus élevé en termes de nombre de degrés de liberté que dans l'amarrage flexible avec un récepteur rigide. Par conséquent, ces algorithmes d'amarrage flexibles prédisent non seulement le mode de liaison d'une molécule avec plus de précision que les algorithmes à corps rigide, mais aussi son affinité de liaison par rapport aux autres composés.(Pagadala et *al.*, 2017) .

II.7 Les Algorithmes d'amarrage moléculaire et leur Utilisation :

Il existe un certain nombre d'excellentes revues des méthodes d'amarrage moléculaire et un grand nombre de publications comparant les performances de divers outils d'amarrage où la liaison de ligands de petites molécules à de grandes cibles protéiques est au cœur de nombreux processus biologiques. La prédiction précise des modes de liaison entre le ligand et la protéine (le problème de l'amarrage) est d'une importance fondamentale dans la conception moderne de médicaments basée sur la structure. (Taylor et *al.*, n.d.)

Plusieurs algorithmes de l'amarrage sont couramment utilisés, par exemple AutoDock2, DOCK3 , FlexX4 , FRED5 , Glide6 , GOLD7 , ICM8 et QXP.FRED,5 Glide,6 GOLD,7 ICM,8 et QXP9 . (Cole et *al.*, 2005)

II.8 Fonctions de la notation (scoring) protéine-ligand :

Un ensemble de techniques informatiques connues sous le nom de fonctions de notation a été largement utilisé dans la SBDD pour évaluer rapidement les interactions entre les protéines et les ligands. Elles peuvent être appliquées aux tâches d'amarrage moléculaire afin d'évaluer les différentes poses potentielles de liaison du ligand et de choisir la plus avantageuse « pose la mieux

notée » (best scored-pose). L'affinité de liaison du composé est représentée par le score de la position la plus avantageuse. (Yang et *al.*, 2022)

II.9 Protocoles d'amarrage :

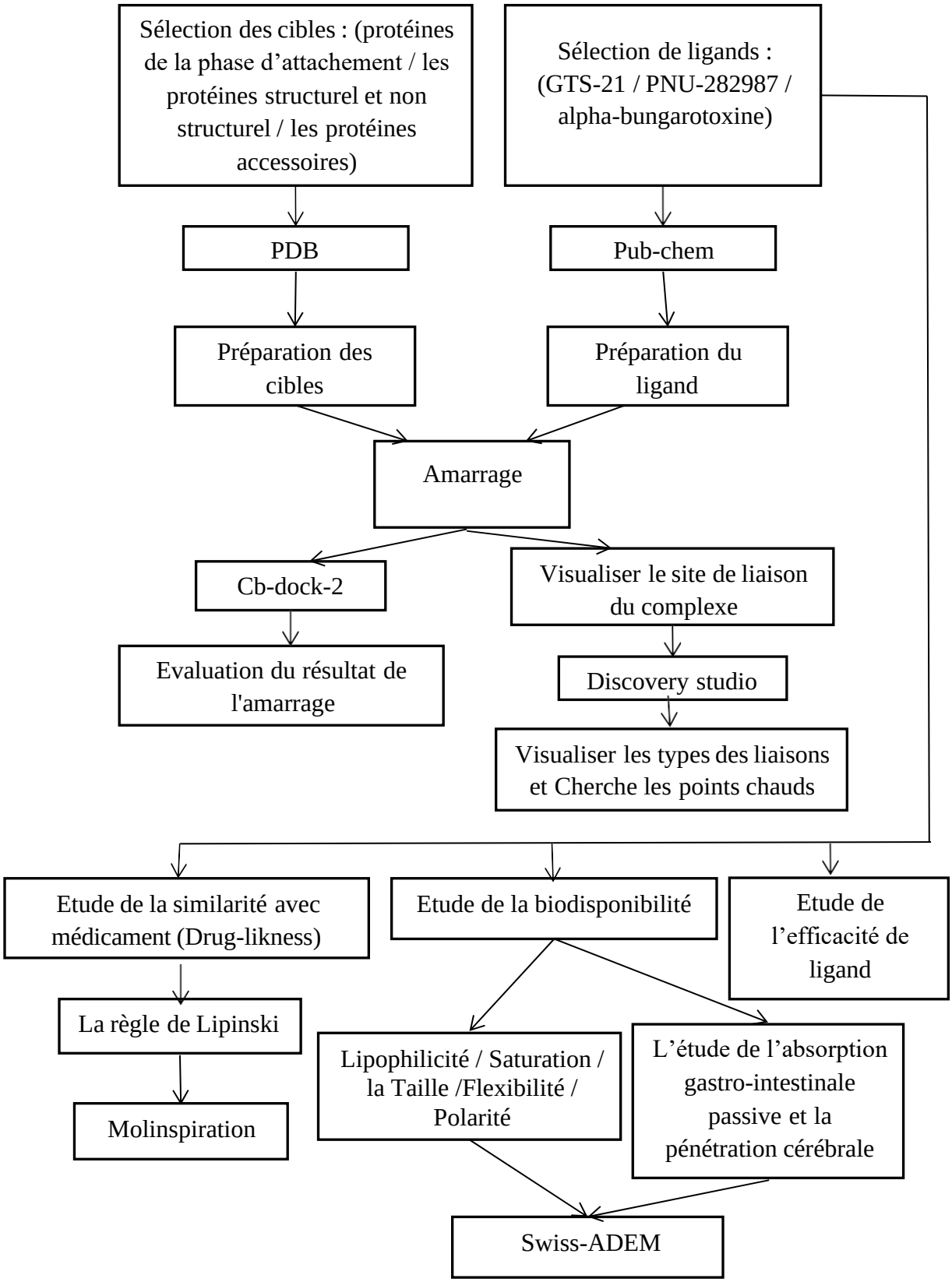


Figure 9: Démarche de travail, Cet organigramme illustre les étapes clés communes à tous les protocoles d'amarrage. Les structures 3D de la macromolécule cible et de la petite molécule doivent d'abord être sélectionnées, puis chaque structure doit être préparée selon les exigences de la méthode d'amarrage utilisée. Après l'amarrage, les résultats doivent être analysés en sélectionnant les modes d'amarrage avec les meilleures performances. Par la suite, nous avons également analysé les propriétés physico-chimiques des ligands afin de déterminer leur biodisponibilité et pharmacologie

chapitre III : Matérielle et méthode

III.1 Matériel :

L'objectif essentiel de ce travail est d'approcher la modélisation par l'amarrage moléculaire et étudier le mode d'interaction le plus probable de chaque ligand (GTS-21, PNU-282987, alpha-bungarotoxine) contre les protéines majeures de SARS-CoV-2 dans différentes phases d'attachement et pour l'inhibition des protéines structural et non structurel et aussi les protéines accessoires, Dans notre étude, nous avons utilisé le matériel mentionné ci-dessous a été utilisé :

III.1.1 Microordinateur :

Deux Micro-ordinateur a été utilisé pour l'exécution et l'analyse et l'interprétation des résultats. Les caractéristiques des Laptop sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 3 : les Micro-ordinateur utilisés et leurs caractéristiques.

	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2
Processeur	Processeur Intel(R) Core (TM) i5	Processeur Intel(R) Core (TM) i3-6006U à 2,00 GHz 2,00 GHz
Carte graphique	AMD Radeon R2 Graphiques	NVIDIA GeForce 940MX
Mémoire RAM	4.00 GO	12.00 GO
Type de système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits
Système d'exploitation	Microsoft Windows 10 professionnel	Microsoft Windows 10 professionnel

III.1.2 Bases de données :

III.1.2.1 « PDB » (protéine Data Bank) :

La banque de données sur les protéines (PDB) est une archive de structures tridimensionnelles de protéines, d'acides nucléiques et d'autres macromolécules biologiques (principalement les protéines) déterminées expérimentalement.

Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN.(Abola et *al.*, 1996)[6]

III.1.2.2 « PubChem » :

Pub-Chem est la plus grande collection au monde d'informations chimiques librement accessibles. Recherchez des produits chimiques par nom, formule moléculaire, structure et autres identifiants. Trouvez des propriétés chimiques et physiques, des activités biologiques, des informations sur la sécurité et la toxicité, des brevets, des citations bibliographiques. [7]

Cette bibliothèque a été utilisée pour mettre en évidence les similitudes structurelles de notre ligand.

III.1.2.3 nCoVDock2 (COVID-19 Docking Server 2.0):

nCoVDock2 (COVID-19 Docking Server 2.0), a été construit pour faciliter l'évaluation des modes et des affinités de liaison entre les cibles sélectionnées du virus COVID19 et les petites molécules, les peptides et les anticorps. [8]

III.1.2.4 CB-Dock2 :

C'est une version améliorée du serveur CB-Dock pour l'arrimage aveugle protéine-ligand, intégrant la détection de cavités, l'arrimage et l'ajustement de modèles homologues.

Compte tenu de la structure tridimensionnelle (3D) d'une protéine et d'un ligand, nous pouvons prédire leurs sites de liaison et leur affinité pour la découverte de médicaments assistée par ordinateur.[9]

[6] https://www.rcsb.org/
[7] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
[8] https://ncovdock2.schanglab.org.cn/
[9] https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php

III.1.2.5 Molinspiration :

Molinspiration propose une large gamme d'outils logiciels de chimie informatique qui prennent en charge la manipulation et le traitement des molécules, y compris la conversion des formats SMILES et SDfile, la normalisation des molécules, la génération de tautomères, la fragmentation des molécules, le calcul de diverses propriétés moléculaires nécessaires à la QSAR, la modélisation moléculaire et la conception de médicaments, une représentation de molécules de haute qualité, des outils de bases de données moléculaires prenant en charge les recherches de sous-structures et de similarité. Nos produits prennent également en charge le criblage virtuel basé sur les fragments, la prédiction de la bioactivité et la visualisation des données.

Les outils de Molinspiration sont écrits en Java, ce qui permet de les utiliser pratiquement sur n'importe quelle plateforme informatique.[10]

III.1.2.6 SwissADME :

Swiss-ADME vous permet de calculer les descripteurs physicochimiques et de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la compatibilité avec la chimie médicinale d'une ou de plusieurs petites molécules afin d e soutenir la découverte de médicaments.[11]

III.1.3 Les outils de l'amarrage :

III.1.3.1 BIOVIA Discovery Studio 2021 :

BIOVIA Discovery Studio rassemble dans un environnement commun plus de 30 ans de recherche évaluée par les pairs et des techniques in silico de classe mondiale telles que la mécanique moléculaire, les calculs d'énergie libre, le développement de biothérapeutiques, etc. Il fournit aux chercheurs un ensemble complet d'outils pour explorer les nuances de la chimie des protéines et catalyser la découverte de petites et grandes molécules thérapeutiques, de l'identification de la cible à l'optimisation de la tête de série.

Avec Discovery Studio, vous pouvez :

[10] https://www.molinspiration.com/
[11] http://www.swissadme.ch/

- Étudier et tester des hypothèses in silico avant de procéder à une mise en œuvre expérimentale coûteuse, réduisant ainsi le temps et les dépenses nécessaires à la mise sur le marché des produits.
- Mener l'exploration scientifique depuis l'identification de la cible jusqu'à l'optimisation de la piste grâce à une multitude d'outils de modélisation et de simulation éprouvés dans le domaine des sciences de la vie.
- Exploiter BIOVIA Pipeline Pilot pour automatiser les processus, créer et déployer des flux de travail personnalisés et intégrer des types de données, des bases de données et des outils tiers ou internes.
- Améliorer la productivité personnelle et stimuler la collaboration en équipe en permettant aux chercheurs de partager des données et de prendre des décisions plus éclairées.

III.1.3.2 Autodock Tools :

AutoDock est une suite d'outils d'amarrage automatisés. Il est conçu pour prédire comment les petites molécules, telles que les substrats ou les médicaments candidats, se lient à un récepteur dont la structure 3D est connue. Au fil des ans, il a été modifié et amélioré pour ajouter de nouvelles fonctionnalités, et plusieurs moteurs ont été développés.

Les distributions actuelles d'AutoDock se composent de deux générations de logiciels : AutoDock 4 et AutoDock Vina. Plus récemment, nous avons développé AutoDock-GPU, une version accélérée d'AutoDock 4 qui est des centaines de fois plus rapide que le code d'amarrage original pour une seule unité centrale.

AutoDock 4 se compose en fait de deux programmes principaux : autodock effectue l'amarrage du ligand à un ensemble de grilles décrivant la protéine cible ; autogrid précalcule ces grilles.

Outre leur utilisation pour l'amarrage, les grilles d'affinité atomique peuvent être visualisées. Cela peut aider, par exemple, les chimistes de synthèse organique à concevoir de meilleurs liants.

AutoDock Vina ne nécessite pas de choisir des types d'atomes et de précalculer des grilles pour eux. Au lieu de cela, il calcule les grilles en interne, pour les types d'atomes nécessaires, et ce pratiquement instantanément.

Ils ont également développé une interface graphique appelée AutoDockTools, ou ADT en abrégé, qui permet notamment de définir les liaisons qui seront traitées comme rotatives dans le ligand et d'analyser les amarrages.

AutoDock a des applications dans les domaines suivants :

La cristallographie aux rayons X

La conception de médicaments basée sur la structure

L'optimisation des têtes de série

Le criblage virtuel (HTS)

La conception de bibliothèques combinatoires

L'amarrage protéine-protéine

Études des mécanismes chimiques

III.2 Méthode :

III.2.1 Préparation de la protéine :

Dans notre travail, nous avons utilisé des protéines au format Pdb, ils ont téléchargé à partir de la "Protéine Data Bank" (PDB). Après avoir téléchargé la protéine cible. Celle-ci est transférée vers « autodock Tools »

En utilisant le logiciel « autodock Tools » pour quelques modifications nécessaires sur la protéine cible téléchargée :

1- Supprimer les ligands associés avec la cible s'il existe.
2- Supprimer les molécules d'eau.
3- Ajouter les charges kollman .
4- Ajouter des atomes d'hydrogène polaire.

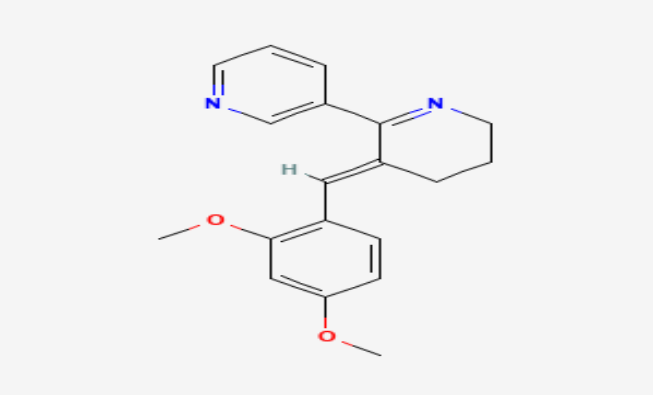
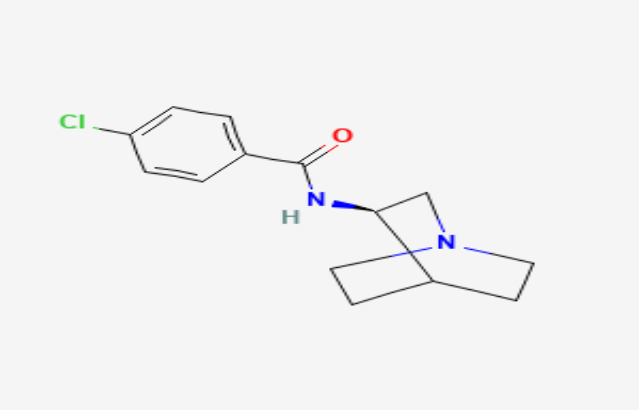
Après cela la protéine enregistrer sous forme (PDB). Dans la deuxième étape, la protéine cible stockée sous forme PDB est transférée vers BIOVIA Discovery Studio 2021 pour supprimer tous

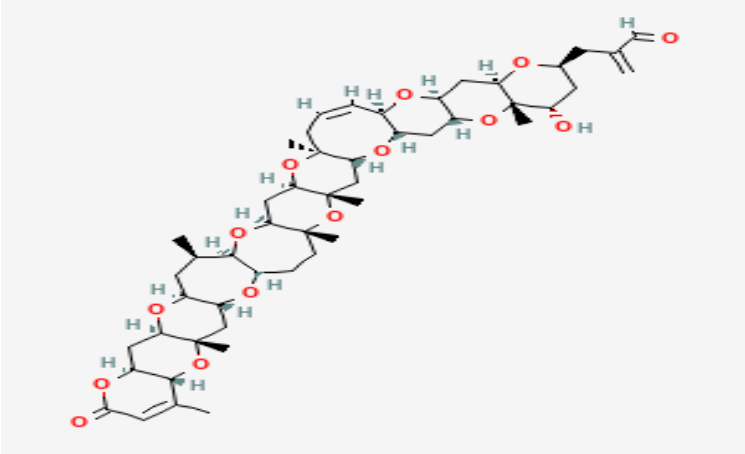
les ligands associés à la protéine s'il existe. C'est ainsi que la protéine est prête pour l'amarrage moléculaire.

III.2.2 Utilisation des ligands :

Nous avons utilisé différentes particules sous forme de SDF pour chaque ligand, qui sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 4 : représente la structure 2D des ligands utilisés dans notre travail.

Les ligands	Structure 2D à partir d'une base de données Pubchem
GTS-21	
PNU	

α-bungarotoxine	

III.2.3 Préparation du ligand :

La première étape consiste à télécharger les molécules à partir de la base de données Pubchem que nous téléchargeons en 2D.

La deuxième étape consiste à convertir la molécule du format sdf en pdb à l'aide de programme STUDIO DISCOVERY 2021.

La troisième étape nous utilisons « auto dock Tools » (lors de l'introduction d'un ligand dans le programme va devenir prête automatiquement) C'est ainsi que le ligand cible est prête pour l'amarrage moléculaire.

III.2.4 Amarrage protéine-ligand :

La première étape consiste à ouvrir le serveur CB-Dock 2 pour l'amarrage aveugle protéine-ligand, intégrant la détection des cavités, l'amarrage et l'ajustement des modèles homologues.

La dixième étape consiste à :

1- Sélectionner télécharger le fichier de protéine déjà prépare sou forme PDB sur la platform.
2- Sélectionner le ligand a exploré et le télécharger sur la plateforme.
3- Lancer le processus après avoir vérifié tous les paramètre requis.
4- Télécharger le complexe Protéine-Ligand sous forme PDB.
5- La détection et l'étude du site de liaisons :

6- Il s’agit d’une étape spéciale que nous utilisons uniquement pour l’identification de site de liaison et pour étudier. Visualiser.et analyser le type de liaisons entre la protéine et le ligand.

7- A ce stade, nous utilisons le programme STUDIO DISCOVERY 2021 où après avoir téléchargé le composé depuis le site CB-dock 2, nous l'entrons dans le STUDIO DISCOVERY 2021, nous passons à (interactions ligand-récepteur) puis (interaction ligand) après cela le une interaction spécifique du site apparaîtra. Pour voir le composé à deux dimensions, on appuie sur (afficher le graphique à deux dimensions), et pour les types de liaisons et la longueur des liaisons apparaissent, on appuie sur (afficher les distances

chapitre IV : Les résultats

Sur les tableaux « Tableau 5» « Tableau 6 » « Tableau 7 » nous représentant les résultats de l'amarrage des trois molécules étudiées aux protéines ACE2 et Spike sous leurs différentes formes physiologiques

https://ncovdock2.schanglab.org.cn/index/annotation/index.html

Tableau 5 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines de la phase d'attachement avec GTS-21.

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
GTS-21	• **ACE2-Spike**	**6M0J**	**-8**	342	-30, 32, -22	21, 21, 21
	• **Noyau de fusion**	7cot	-7.7	7520	211,211,159	35, 32, 21
	• **Spike état de fermeture**	6zge	-8.6	5923	236,228,229	32, 29, 35
	• **Spike état ouvert**	6yvb	-8.3	3414	18, -1, 1	28, 21,21

Tableau 6 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines de la phase d'attachement avec PNU-282987.

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
PNU 282987	• **ACE2-Spike**	**6M0J**	**-6.9**	715	-35, 26 , 4	21, 21, 21

	• **Noyau de fusion**	7cot	-8.3	3225	18, - 1, 1	29, 21, 34
	• **Spike état de fermeture**	6zge	-7.6	6221	215,214,267	29, 35, 21
	• **Spike état ouvert**	6yvb	-8.7	15083	213,211,206	32,32, 35

Tableau 7 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines de la phase d'attachement avec Alpha-bungarotoxine.

Le ligand	**Protéine**	**Code PDB**	**Vina score**	**Cavité volume (Å3)**	**Center (x, y, z)**	**Taille d'amarrage (x, y, z)**
Alpha-bungarotoxine	• **ACE2-Spike**	**6M0J**	**-13.4**	342	-30, 32,22	42,42,42
	• **Noyau de fusion**	7cot	-12	265	24, -3, -14	42,42,42
	• **Spike état de fermeture**	6zge	-12.6	13932	231,208,222	42, 42,42
	• **Spike état ouvert**	6yvb	-12.7	14842	213,211,206	42, 42,42

IV.1.1 Interprétation des résultats d'amarrage moléculaire :

A partir des tableaux N° 5, 6 et 7, nous avons constatés que la molécule Alpha-bungarotoxine est la plus stable avec les protéines de la phase d'attachement par rapport aux deux agonistes étudiés. Principalement avec le complexe ACE-2-Spike, avec des énergies d'affinité estimées à (-8) ; (-6.9) et (-13.4) respectivement.

IV.1.2 Site d'interaction et les types des liaisons de chaque ligand avec (ACE2-spike) :

Afin de compléter notre investigation, nous avons décidé d'étudier le site d'interaction de ces ligands et les types de liaisons auxquelles ces molécules se lient avec le complexe (ACE2-spike).

IV.1.2.1 Site d'interaction de GTS-21 avec (ACE2-spike) :

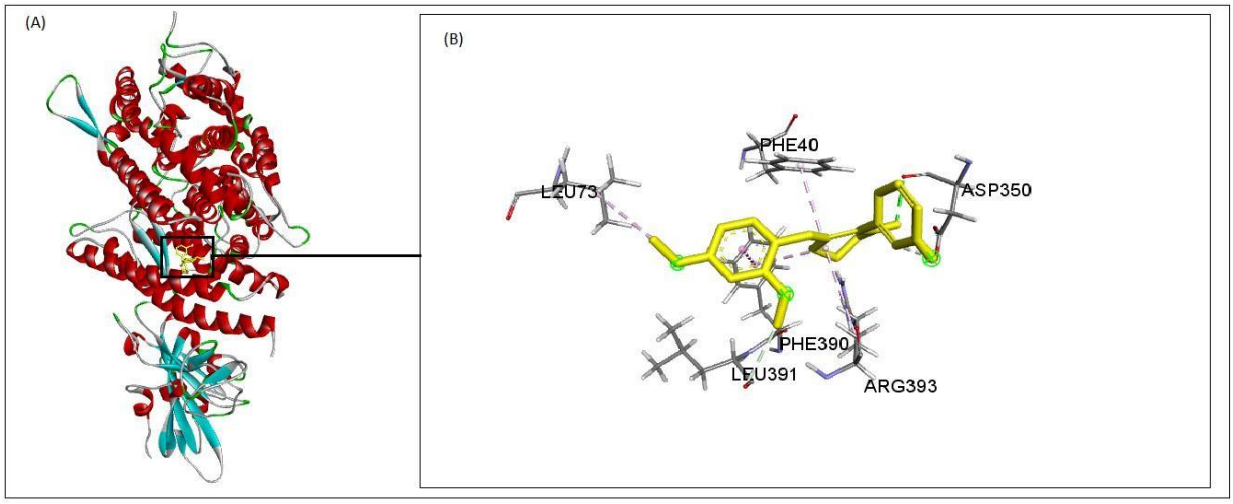


Figure 10 : (A) le positionnement de la GTS-21 dans le complexe 6M0J (B) la cavité des interactions moléculaires entre GTS-21 et 6M0J

Le complexe 6M0J : le site de GTS-21 réagit dans avec (ACE-2).

IV.1.2.1.1 Les types des liaisons :

La figure suivante représente la cavité d'interaction, les liaisons établies entre le ligand et le complexe protéique ainsi que les acides aminés engagés :

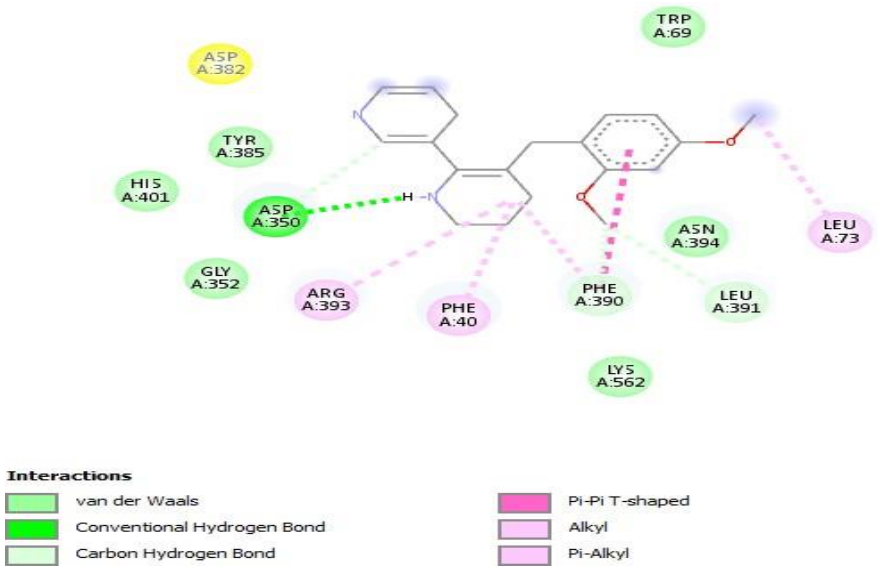


Figure 11 : le site de liaison GTS-21 avec le complexe (ACE-2-spike) en bidimensionnel (2D)

Dans ce travail nous avons montré que la GTS-21 est liée au récepteur ACE 2 par une liaison hydrogène conventionnelle avec l'acide amine **ASP350** et des autres liaisons qui est responsable à la stabilité de complexe. Parmi elles :

1. 2 liaisons alkyle avec les acides aminés ARG 393 et LEU73.
2. 2 liaisons Pi-alkyle avec les acides aminés : PHE 40 et PHE 390.
3. Une liaison Pi-Pi en T forme avec PHE390
4. Des liassions de van der Wall avec les aides amines ASP382, TYR385, HIS401, GLY352, LYS562, ASN394 et TRP69
5. Des liassions Carbone hydrogène avec les acides aminés : ASP350, PHE390 et LEU 391

IV.1.2.2 Site d'interaction de PNU-282987 avec (ACE2-spike) :

La figure suivante représente la conformation tridimensionnelle du complexe ACE2-spike associé au ligand PNU-282987

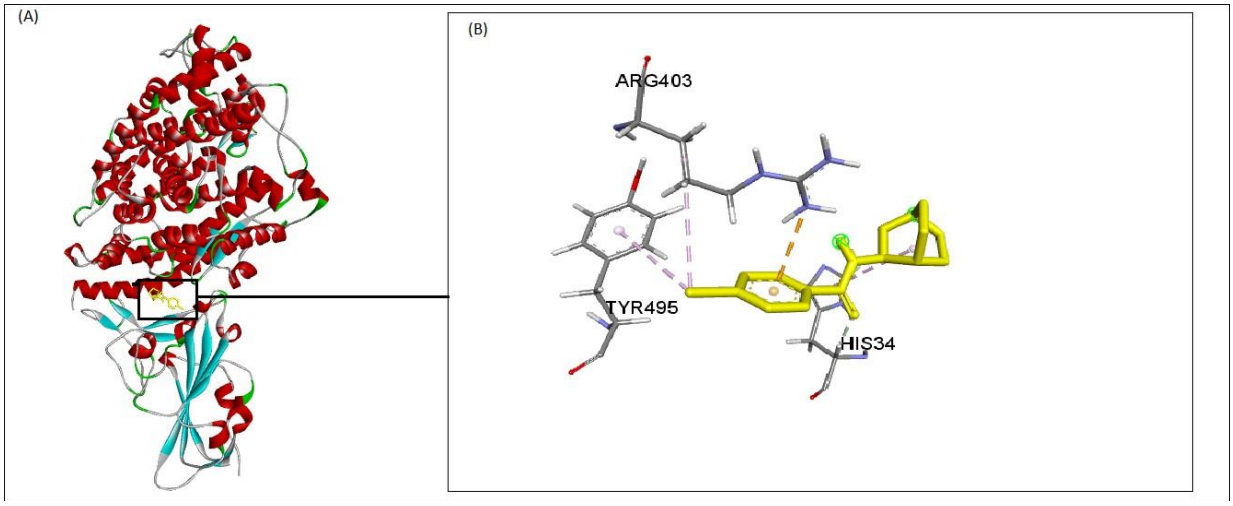


Figure 12 : (A) le positionnement de la PNU-282987 dans le complexe 6M0J (B) la cavité des interactions moléculaires entre PNU-282987 et 6M0J

Le complexe 6M0J : le site de PNU-282987 réagit entre (ACE-2) et (Spike).

IV.1.2.2.1 Les types des liaisons :

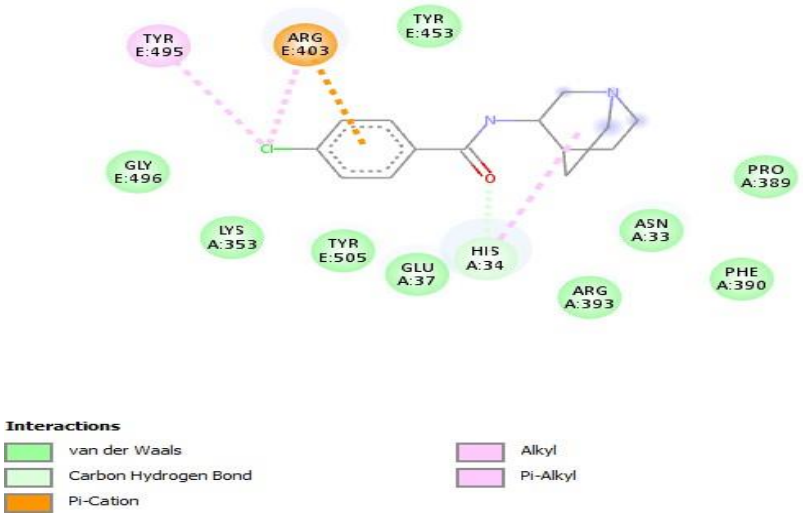


Figure 13 : le site de liaison PNU-282987 avec le complexe (ACE-2-spike) en bidimensionnel (2D)

Nous avons démontré que la PNU-282987 est liée à la ACE2 par 6 forces de van der Waals avec les acides aminés LYS353 ; **GLU37** ; ARG393 ; ASN33 ; PHE390 ; PRO389 et par une liaison carbone-hydrogène et liaison alkyl avec l'acide amine **HIS 34**.

De plus, ce ligand se lie à la protéine virale Spike par trois liaisons de van der Waals avec les acides aminés TYR453, **Tyr505** et GLU496 et par une liaison alkyl et avec une liaison Pi-Cation l'acide amine ARG403 Une liaison Pi-alkyl l'acide amine TYR945.

D'une manière intéressante, nous avons observé l'existence d es attractions de PNU-282987 avec les acide amine « **GLU37 »** par une liassions van der Waals et **« HIS 34 »** par une liaison carbone-hydrogène et liaison alkyl qui sont les résidus d'acides aminés d'ACE2 et avec l'acide amine « **Tyr505 »** par une liaison de van der Waals qui est les résidus d'acides aminés de RBD de protéine S qui considéré comme des points chaud (hot spot). (Veeramachaneni et *al.*, 2021)

IV.1.2.3 Site d'interaction d'Alpha-bungarotoxine avec (ACE2-spike) :

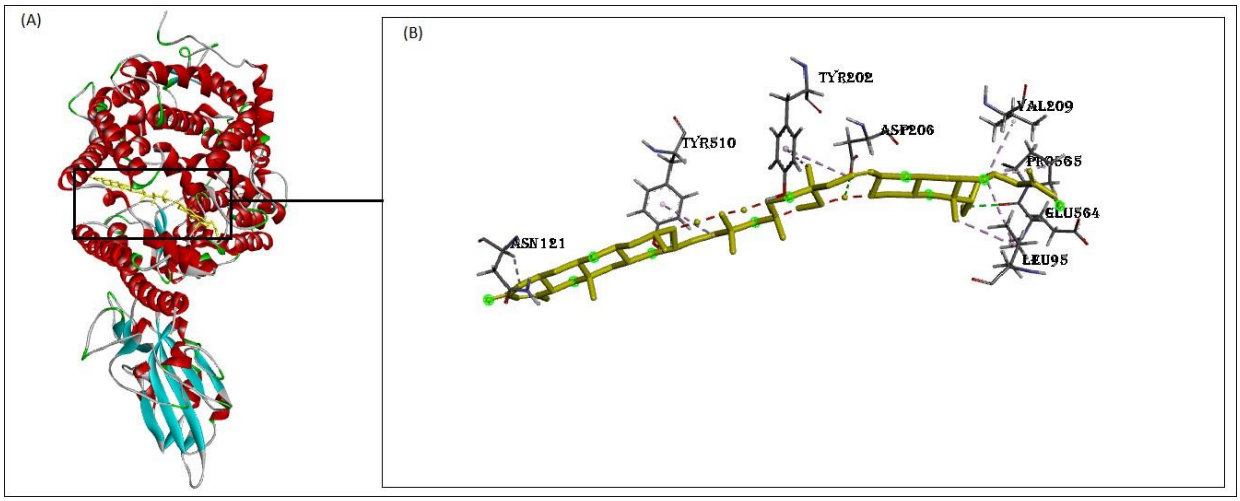


Figure 14 : (A) le positionnement de alpha-bungarotoxine dans le complexe 6M0J (B) la cavité des interactions moléculaires entre alpha-bungarotoxine et 6M0J

Le complexe 6M0J : le site d'alpha-bungarotoxine réagit avec (ACE-2).

IV.1.2.3.1 Les types des liaisons :

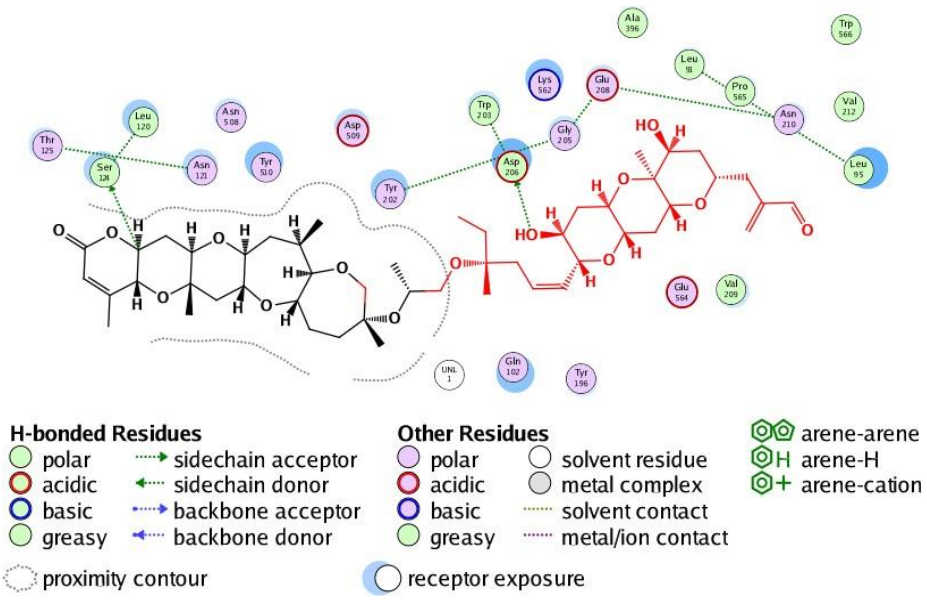


Figure 15 : Le site de liaison alpha-bungarotoxine avec le complexe (ACE-2-spike) en bidimensionnel (2D)

Nous avons observé une interaction entre l'alpha-bungarotoxine et certains acides aminés, tels que l'ASP 206, le GLU 208 et le SER 124. Cependant, nous n'avons pas pu déterminer le type précis de liaison, car l'outil Discovery Studio que nous avons initialement utilisé n'a pas été en mesure d'analyser les données 2D provenant de PubChem . Par conséquent, nous avons adopté une approche alternative en utilisant le logiciel MOE pour obtenir ces informations.

IV.2 Les NSP :

Dans notre travail, nous avons opté a étudié tous les NSP cité sur le portail https://ncovdock2.schanglab.org.cn/index/annotation/index.html

Pour cela, nous avons sélectionné tous les ID cité sur ce site à l'exception du NSP 3 (6W9C) et NSP 5 (6LU7) et le NSP7 qui a été purifié du complexe RdRp (7BV2) par le logiciel DISCOVERY STUDIO chaine C et chaine B respectivement.

Sur les tableaux suivants, nous récapitulons les résultats de l'amarrage moléculaires des ligands étudiés avec l'ensemble des NSPs du virus COVID19

Tableau 8 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines non structurelles avec GTS-21

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
GTS-21	Nsp1	7k7p	-5.8	55	-4, -26 ,8	21, 21,21
	Nsp2	7m7w	-6.6	884	110,110,109	21, 27,21
	Nsp3 (PL-pro)	6w9c	-7.5	4349	-31,12, 30	21, 35, 21
	Nsp4	inconnu	/	/	/	/
	Nsp5(Main protéase)	6lu7	-6.9	257	-14,11 ,72	21,21 ,21
	Nsp6	Nsp6	-6.3	144	54,44,50	21,21 ,21
	Nsp7	7BV2	-4.8	23	100,76,132	21,21 ,21
	Nsp8	7D4F	-7.8	1159	153,136 ,106	21, 21, 21
	Nsp9	7kRI	-7.7	5914	55, -15,11	32, 31, 35
	Nsp10	6ZPE	-6.2	225	8 ,87,19	21, 21, 21
	Nsp11	inconnu	/	/	/	/
	RdRp (NSP7/8/12 complexe)	7BV2	-7.1	626	106,110,100	21, 21, 21
	Nsp13 (helicase)	7NN0	-8.3	9074	-86, -8 ,23	35, 35, 35
	Nsp14	Nsp14	-8.1	463	137,135,157	21, 21, 21
	Nsp15	6w01	-7.8	980	-61, 51, 29	21, 21, 21
	Nsp16	Nsp16	-7.2	631	87, 15, 28	21, 21, 21

Tableau 9 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines non structurelles avec PNU-282987

Le ligand	Protine	Code PDB	Vina score	Cavity volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
	Nsp1	7k7p	-6.1	175	15.-12.4	21.21.21
	Nsp2	7m7w	-6.8	884	110.110.109	21.27.21
	Nsp3(PL-pro)	6w9c	-7.0	4393	-30.12.30	21.35.21
	Nsp4	**inconnu**	/	/	/	/
	Nsp5 Main protease)	6lu7	-6.6	257	-14.11.72	21.21.21
	Nsp6	Nsp6	-6.3	114	54.44.50	21.21.21
	Nsp7	7BV2	-5.0	41	104,70,129	21, 21, 21
	Nsp8	7D4F	-6.7	911	144.148.140	21.21.21
PNU282987	Nsp9	7kRI	-7.3	5953	55.-15.11	32.31.35
	Nsp10	6ZPE	-6.5	225	8.87.19	21.21.21
	Nsp11	**inconnu**	/	/	/	/
	RdRp (NSP7/8/12 complexe)	7BV2	-6.5	626	106.110.100	21.21.21
	Nsp13 (helicase)	7NN0	-7.2	9074	-86, -8, 23	35.35.35
	Nsp14	Nsp14	-7.7	463	137,135,157	21, 21, 21
	Nsp15	6w01	-7.4	624	-61.51.29	21.21.21
	Nsp16	Nsp16	-6.9	631	87, 15, 28	21.21.21

Tableau 10 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines non structurelles avec Alpha-bungarotoxine

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
Alpha-bungarotoxine	Nsp1	7k7p	-8.6	71	12.-22.2	42.42.42
	Nsp2	7msw	-10.6	856	119.127.93	42.42.42
	Nsp3(PL-pro)	6w9c	-12.1	452	-46,15,30	42.42.42
	Nsp4	**inconnu**	/	/	/	/
	Nsp5 (Main protease)	6lu7	-10.5	256	-26, -2, 55	42.42.42
	Nsp6	Nsp6	-9.6	79	73, 52, 63	42.42.42
	Nsp7	7BV2	-7.3	17	110,84,130	42.42.42
	Nsp8	7D4F	-10.6	661	136.131.16	42.42.42
	Nsp9	7kRI	-11.1	752	99.96.104	42.42.42
	Nsp10	6ZPE	-9.1	225	8.87.19	42.42.42
	Nsp11	**inconnu**	/	/	/	/
	RdRp (NSP7/8/12 complexe)	7BV2	-11.1	752	99.96.104	42.42.42
	Nsp13(helicase)	7NN0	-12.1	8088	-132.8.4	42.42.42
	Nsp14	Nsp14	-11.9	463	137,135,157	42.42.42
	Nsp15	6w01	-10.6	586	-43.52.2	42.42.42
	Nsp16	Nsp16	-11.2	231	90, 33, 9	42.42.42

A partir des résultats présentés sur les trois tableaux précédents, nous avons constaté que les trois ligands étudiés possèdent la capacité de se liés à l'ensemble des NSP du virus COVID19. Néanmoins, l'antagoniste du récepteur nicotinique alpha 7 présente les meilleurs scores d'affinité. La comparaison des résultats obtenus pour les deux agonistes du ce récepteur démontre que la GTS-21 exprime une meilleure affinité dans la majorité des cas.

IV.3 Les protéines accessoires :

A cette étape de notre étude, nous avons réalisé une série de l'amarrage moléculaire des trois molécules avec l'ensemble des protéines accessoires du virus COVID19.

Les tableaux suivants récapitulent les résultats obtenus :

Tableau 11 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines accessoires avec GTS-21

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
GTS-21	ORF3a	7KJR	-8.2	12786	109.108.113	35.34.34
	ORF3b	/	/	/	/	/
	ORF3c	/	/	/	/	/
	ORF3d	/	/	/	/	/
	ORF6	ORF6	-8.7	167	11.13.-5	21.21.21
	ORF7a	7CI3	-8.0	20138	109,109,113	35, 35, 35
	ORF7b	ORF7b	-5.5	5	24.-15.-6	21.21.21
	ORF8	7JX6	-6.8	248	12.-6.-15	21.21.21
	ORF9b	6Z4U	-6	189	16.-8.-15	21.21.21
	ORF9c	/	/	/	/	/
	ORF10	ORF10	-5.3	9	22.2.-4	21.21.21

Tableau 12 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines accessoires avec PNU-282987

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
PNU-282987	ORF3a	7KJR	-7.7	20138	109.109.113	35.35.35
	ORF3b	/	/	/	/	/
	ORF3c	/	/	/	/	/
	ORF3d	/	/	/	/	/
	ORF6	ORF6	-7.5	167	11.13.-5	21.21.21
	ORF7a	7CI3	-7.7	20138	109,109,113	35.35.35
	ORF7b	ORF7b	-5.3	6	35.-20.1	21.21.21
	ORF8	7JX6	-6.4	171	6.2.-7	21.21.21
	ORF9b	6Z4U	-8.2	377	11.-1.-2	21.21.21
	ORF9c	/	/	/	/	/
	ORF10	ORF10	-5.3	78	17.-1.0	21.21.21

Tableau 13 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines accessoires avec Alpha bungarotoxine

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
Alpha bungarotoxine	ORF3a	7KJR	-10	20138	109.109.113	42.42.42
	ORF3b	/	/	/	/	/
	ORF3c	/	/	/	/	/
	ORF3d	/	/	/	/	/
	ORF6	ORF6	-9.7	380	16.-11.0	42.42.42
	ORF7a	7CI3	-10.2	20138	109,109,113	42.42.42
	ORF7b	ORF7b	-7.6	6	35.-20.1	42.42.42
	ORF8	7JX6	-9.4	171	6.2.-7	42.42.42

	ORF9b	6Z4U	-9.5	189	16.-8.-15	42.42.42
	ORF9c	/	/	/	/	/
	ORF10	ORF10	-7.5	78	17.-1.0	42.42.42

Les mêmes observations précédentes des résultats obtenus avec le l'amarrage des ligands aux molécules NSP ont été rapporté avec les protéines accessoires du virus COVID19. La α bungarotoxine donne de meilleurs scores tandis que la GTS-21 semble avoir une meilleure affinité que celle exprimée par le PNU-282987

IV.4 Les protéines structurelles :

Nous nous sommes aussi intéressés à l'analyse de l'affinité des trois ligands étudiés aux molécules structurelles du virus COVID-19. Nous récapitulons les résultats obtenus sur les trois tableaux suivants :

Tableau 14 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines structurelles avec GTS-21

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
GTS-21	Protéine Membranaire (protéine M)	8CTK	-7.5	3701	105,105,117	21, 21, 31
	Protéine Nucléocapside (protéine N)	8FD5	-7.8	771	44, 39, 21	21, 21, 21
	Protéine Enveloppe (protéine E)	MODEL	-5.3	22	51, 37, 47	21, 21, 21

Tableau 15 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines structurelles avec PNU-282957

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
PNU-282957	Protéine Membranaire (protéine M)	8CTK	-7.0	220	119, 97,109	21, 21, 21
	Protéine Nucléocapside (protéine N)	8FD5	-7.1	3895	55,41,54	32, 21, 21
	Protéine Enveloppe (protéine E)	MODEL	-5.5	39	41,54,51	21, 21, 21

Tableau 16 : résultats d'amarrage moléculaire des protéines structurelles avec alpha bungarotoxine

Le ligand	Protéine	Code PDB	Vina score	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Taille d'amarrage (x, y, z)
alpha bungarotoxine	Protéine Membranaire (protéine M)	8CTK	-9.8	220	119,97,109	42,42,42
	Protéine Nucléocapside (protéine N)	8FD5	-9.4	2535	56,47,37	42,42,42

	Protéine Enveloppe (protéine E)	MODEL	-7.8	45	40,43,53	42,42,42

Encore une fois, le α-bugarotoxine exprime les meilleures affinités et la GTS-21 semble toujours être plus efficace que le PNU282987 sur l'ensemble des protéines structurelles du virus COVID19. Nous avons noté d'une manière intéressante due la protéine membranaire M est la meilleure cible des trois molécules étudiées.

IV.5 Étude les propriétés physico-chimiques des molécules sélectionnés (drug-likeness prediction) :

Au cours des processus de découverte et de développement de médicaments, qui demandent beaucoup de temps et de ressources, un grand nombre de structures moléculaires sont évaluées en fonction de paramètres très divers afin d'orienter la sélection des produits chimiques à synthétiser, à tester et à promouvoir, l'objectif final étant d'identifier ceux qui ont le plus de chances de devenir des médicaments efficaces pour les patients. (Daina et *al.,* 2017)

IV.5.1 Application de la règle de Lipinski aux trois molécules :

L'activité inhibitrice des ligands étant hypothétique, il était nécessaire de compléter son étude en appliquant la règle de Lipinski de 5 aux trois compositions. Les résultats de ce test sont présentés dans le « Tableau 17 » suivant :

Tableau 17 : Les résultats de l'application de la règle des 5 de Lipinski sur les trois ligands

Ligand	PubChem ID	HD	HA	MM	Log P
GTS-21	5310985	0	4	308.38	3.16
PNU 282987	9795278	1	2	264.76	2.46

Alpha bungarotoxine	44264212	1	14	895.10	5.79

HA : Accepteur d'hydrogène (nO,N)(≤ 10).

HD : donneur d'hydrogène (nOH, NH) (≤ 5).

MM : masse moléculaire (≤ 500 g/mol).

LogP: coefficient de partage eau/octanol (-2 ≤ logP ≤ 5).

Les propriétés ont été calculées à l'aide de site web molinspiration

Nous avons noté que les 2 agoniste du récepteur nicotinique alpha 7 étudiés, la GTS-21 et le PNU282987, respectent bien à la règle de Lipinski ce qui les qualifie comme drug-like molécules. Cependant, l'alpha-bungarotoxine semble présentée 3 violations des exigences de Lipinski. Il s'agit du nombre d'accepteur d'hydrogène (nO,N > 10) et de masse moléculaire (> 500 g/mol). Bien que le coefficient de partage eau/octanol logP > 5.

D'après Lipinski, tous les composés ne validant pas au moins trois de ces condition sont susceptibles de poser des problèmes d'absorption par voie orale (Lipinski et *al.*, 2012). Sur ce nous suggérons que l'antagoniste alpha-bungarotoxine ne peut pas être proposé actuellement comme drug-like molécule malgré les scores intéressant qu'il présente par l'amarrage moléculaire.

IV.5.2 Étude de la biodisponibilité :

Cette étude est basée sur certains paramètres comme la flexibilité, lipophile, la taille, la polarité, instauration et solubilité des molécules. Dans ce travail nous présentons une simple étude sur la toxicité utilisant ces indices. La Figure 16 montre des représentations sur le niveau de biodisponibilité des trois molécules mentionnées précédemment autant que des bons candidats pour le traitement contre covid-19.

IV.5.2.1 Les propriétés physico-chimiques :

Les propriétés moléculaires liées au caractère médicamenteux ont été calculées à l'aide de site web Swiss-ADME et sont présentées dans le (Tableau 18) et (Figure 16).

Lipophile : XLOGP3 entre -0,7 et +5,0,

Taille : Mass moléculaire entre 150 et 500 g/mol

Polarité : TPSA (surface polaire topologique) entre 20 et 130 Å2

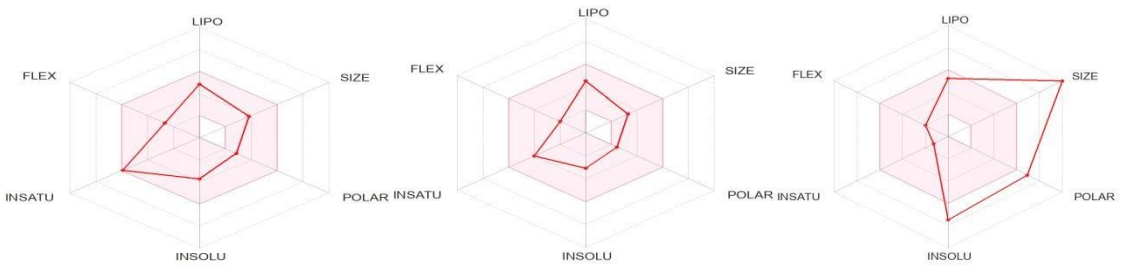
Solubilité : log S Classe de solubilité : échelle log S (insoluble < -10 < peu soluble < -6 < modérément soluble < -4 < soluble < -2 < très soluble < 0 < très soluble)

Saturation : fraction de carbones dans l'hybridation sp3 non inférieure à 0,25

Flexibilité : pas plus de 9 liaisons rotatives. (Daina et *al*., 2017)

Tableau 18 : Propriété physicochimique de base des ligands de test et ligand référence

Propriété physico-chimique	**(A): GTS-21**	**(B) PNU-282987**	**(C) Alpha-bungarotoxine**
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	2.96	2.45	3.6
Log *S* (ESOL)	-3.74	-3.07	-7.50
TPSA	43.71	32.34	155.90
Saturation	0.26	0.50	0.84
Flexibilité	4	3	3



(A) **(B)** **(C)**

Figure 16 : Le radar de biodisponibilité permet d'avoir un premier aperçu de la ressemblance d'une molécule (A) : GTS-21 (B) : PNU 282987 (C) : Alpha-bungarotoxine avec un médicament. La zone rose représente la plage optimale pour chaque propriété

IV.5.2.1.1Interprétation des résultats :

Il est prévu que les deux composent le GTS-21 et PNU 282987 soit biodisponible par voie orale. Par contre il est prévu que l'alpha-bungarotoxine ne soit pas biodisponible par voie orale, car il est très polaire et très insoluble avec une grande masse moleculaire.

IV.5.2.2 Etude de l'absorption des molécules :

Le BOILED-Egg permet une évaluation intuitive de l'absorption gastro-intestinale passive et de la pénétration cérébrale en fonction de la position des molécules dans le WLOGP-versus-TPSA.

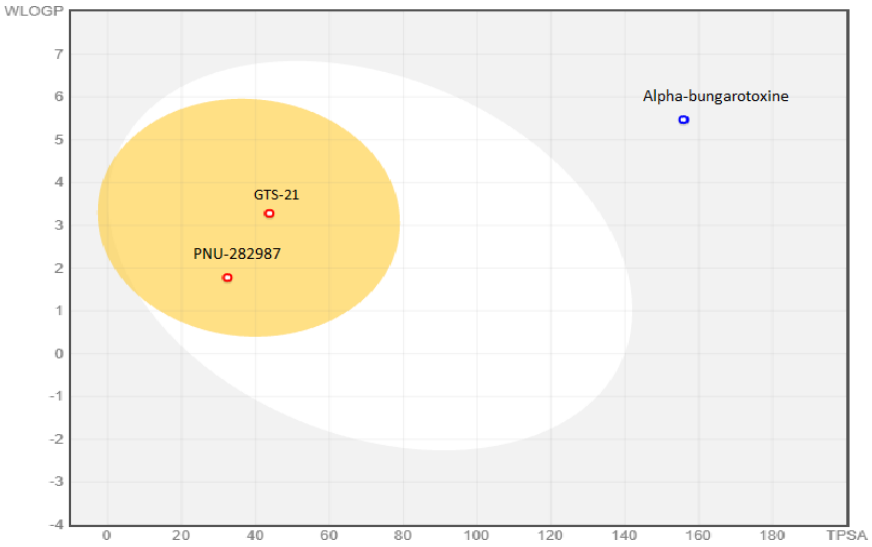


Figure 17 : Le BOILED-Egg de la prédiction intuitive de l'absorption gastro-intestinale passive et pénétration cérébrale en fonction de la position des molécules dans le WLOGP-versus-TPSA.

- La région blanche correspond à une probabilité élevée d'absorption passive par le tractus gastro-intestinal
- La région jaune (jaune) correspond à une probabilité élevée de pénétration dans le cerveau.
- Les points sont colorés en bleu s'ils sont prédits comme activement efflux par la P-gp (PGP+) et en rouge s'ils sont prédits comme non-substrat de la P-gp (PGP−).

IV.5.2.2.1Interprétation des résultats :

Le GTS-21 et le PNU282987 sont prédites comme des molécules absorbées par les tractus gastro-intestinaux et traversant passivement les barrières hématoencéphaliques peut pénétrant dans le cerveau (dans le jaune), et ne sont pas des sujets à un efflux actif (PGP− (point rouge)).

L'Alpha-bungarotoxine est prédit n'été pas absorber et n'accède pas au cerveau (à l'extérieur de l'oeuf) et il est prédits comme activement efflux par la P-gp (PGP+ (point bleu)).

IV.5.3 Efficacité de ligand :

D'après les valeurs, GTS-21, PNU-282987, alpha-bungarotoxine peut inhiber L'attachement de SARS-CoV-2 avec la cible. Les molécules correspondent au meilleur score sont examinés. Pour les quatre protéines nous avons trouvés que le GTS-21, PNU-282987, alpha-bungarotoxine ayant une énergie d'affinités valable et les meilleurs scores sont trouvés pour alpha-bungarotoxine et ait

été suivie par GTS-21 puis dans le PNU-282987 ultérieur, on s'attendait à ce qu'elle soit meilleure à l'amarrage moléculaire.

En règle générale, plus l'énergie est faible, plus il y a d'interaction stable avec la cible mais une énergie de liaison plus élevée peut être trompeuse et ne signifie pas nécessairement une liaison plus efficace. Par conséquent, la mesure de l'efficacité de la corrélation doit être utilisée afin de confirmer les résultats.

L'efficacité du ligand est calculée comme suit : énergie de liaison du ligand par atome, Ou "efficacité du ligand" (Δg) en divisant par le nombre d'atomes "lourds" (c'est-à-dire d'atomes autres que l'hydrogène) (Hopkins et *al.*, 2004) comme dans l'équation (1) .

(1) $$\Delta g = \Delta G / \text{atomes non hydrogénés}$$

Cette équation a été appliquée à une seule phase d'attachement (ACE2-spike) les résultats sont présentés dans le Tableau 19

Tableau 19 : les résultats de l'équation (1)

Ligand	**Protéine**	**Δg (l'affinité du ligand avec le complexe) Kcal/mol / atomes non hydrogénés :**
GTS-21	**ACE2-Spike**	-0.34
PNU-272887	**ACE2-Spike**	-0.38
Alpha-bungarotoxine	**ACE2-Spike**	-0.20

Les valeurs de ΔG, qui représentent l'énergie libre de liaison du ligand au site cible, sont utilisées pour évaluer l'efficacité du ligand.

Dans cette étude, trois ligands, à savoir le PNU-282987, le GTS-21 et l'alpha-bungarotoxine, ont été évalués en termes de ΔG.

Les résultats ont montré que le PNU-282987 présente la valeur la plus négative (-0,38 kcal/mol), suivie par le GTS-21 (-0,34 kcal/mol) et enfin l'alpha-bungarotoxine (-0,20 kcal/mol). Ces valeurs indiquent que l'énergie serait libérée lors de la liaison entre les ligands et les sites cibles, ce qui suggère une forte affinité et une stabilité accrue des complexes ligand-cible. En outre, des valeurs plus négatives de ΔG sont généralement associées à une meilleure efficacité du ligand dans l'interaction avec la cible. Ainsi, ces résultats suggèrent que le PNU-282987 et le GTS-21 pourraient être des ligands prometteurs pour le développement de médicaments ciblant le SARS-CoV-2, grâce à leur forte affinité et à leur efficacité potentielle dans l'inhibition de l'attachement et de la réplication du virus

Chapitre V : Discussion

Dans ce projet de fin d'étude, nous avons fait une investigation In silico de la capacité des ligands de la voie α7 nAChR à se lier aux molécules cibles du virus le SARS-CoV-2. Dans ce travail, nous avons sélectionné deux majeurs agonistes de cette voie anti-inflammatoire déjà documenté d'avoir des vertus thérapeutiques dans plusieurs maladies inflammatoires chroniques (Farsalinos et al., 2020) . Nous avons aussi choisi de tester le comportement de l'antagoniste alpha-bungarotoxine vis-à-vis les protéines cibles du virus COVID19 dans l'optique de la comparer aux agonistes testés.

Le SARS-Cov-2 est une maladie virale hautement contagieuse et mortelle qui a provoqué une pandémie mondiale. Bien qu`il existe des vaccins qui ont montré des résultats positifs, il n'existe toujours pas de médicaments efficaces à 100 %. Le développement de l'utilisation des médicaments est un processus qui nécessite beaucoup de temps, des efforts et de l'argent, mais malgré cela en cette période de pandémie mondiale, la réaffectation des médicaments a montré des résultats acceptables contre le SARS-CoV-2, car dans la plupart des cas, ces médicaments tentent d'empêcher le virus de se répliquer, de traiter et de réduire les symptômes, Mais cela ne réduit pas le taux de mortalité ni n'arrête l'infection.

A noter que les recherches dans ces genres de maladie présentent un sujet d'actualité. Cette maladie qui exténué beaucoup de ressources pour trouver des traitements. Pour cela, les outils de simulations informatiques se présentent comme un bon raccourci vers le développement des nouveaux médicaments sans passé à travers des efforts expérimentaux.

Dans ce travail, nous avons étudié l'interaction des principales protéines du SARS-CoV-2 avec trois molécules : le GTS-21, le PNU282987 et l'alpha-bungarotoxine. Nous avons recherché les scores des complexes formés et évalué leur affinité. Les résultats d'amarrage sont regroupés dans le tableau (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16), ce qui représentent les énergies d'affinité.

Après avoir analysé ces résultats, nous avons constaté que l'alpha-bungarotoxine forme des complexes très stables avec les principales protéines du SARS-CoV-2, avec des énergies d'affinité très favorables. Ensuite, le GTS-21 et le PNU282987 présentent également de bonnes affinités avec ces protéines, mais légèrement inférieures à celles de l'alpha-bungarotoxine.

En ce qui concerne la liaison spécifique du GTS-21 avec le récepteur ACE2, nous avons observé qu'elle se forme par une liaison hydrogène conventionnelle avec l'acide aminé ASP350 et des autres liaisons mentionnées ci-dessus (figure 11) Cela indique que le GTS-21 interagit de manière spécifique avec ce résidu d'acide aminé, favorisant ainsi la stabilité du complexe formé entre le ligand (GTS-21) et la protéine (récepteur ACE2).

Le PNU-282987 interagit avec certains résidus d'acides aminés tels que « **TYR505 »** et « **GLU37 »**, en utilisant les forces de van der Waals et par une liaison carbone-hydrogène et une liaison alkyle avec les acides aminés « **HIS34 »**. Ces acides aminés sont considérés comme des "points chauds" et jouent un rôle important dans l'interaction entre le SRAS-CoV-2 et l'ACE2. Par conséquent, nous pensons que le PNU-282987 peut entraver l'interaction entre le virus et l'ACE2, empêchant ainsi le virus de se lier à l'ACE2 selon la littérature (Veeramachaneni et *al.*, 2021)

Par rapport alpha-bungarotoxine, nous avons constaté une interaction entre l'alpha-bungarotoxine et certains acides aminés, incluant l'ASP 206, le GLU 208 et le SER 124. Cependant, en raison de la limitation des données bidimensionnelles issues de la base de données PubChem, il s'est avéré ardu d'identifier précisément le type de liaisons formées. Les outils d'analyse utilisés ne permettaient pas d'interpréter adéquatement cette représentation en deux dimensions. Ainsi, nous avons dû recourir à une approche alternative pour obtenir des informations plus détaillées et fiables.

Après avoir étudié les propriétés des trois ligands, nous constatons que seuls le GTS-21 et le PNU282987 respectent les cinq règles de Lipinski. Cependant, il est important de noter que les composés qui ne respectent pas au moins trois des critères de Lipinski peuvent présenter des problèmes potentiels d'absorption par voie orale (Lipinski et *al.*, 2001) Ces deux molécules remplissent les critères de Lipinski, ce qui suggère qu'elles pourraient avoir une meilleure capacité d'absorption par voie orale et être considérées comme des molécules "drug-like". En revanche, l'alpha-bungarotoxine présente des violations des critères de Lipinski, ce qui indique qu'elle pourrait poser des problèmes potentiels d'absorption orale et qu'elle ne peut pas être actuellement considérée comme une molécule "drug-likeness". (Lipinski et *al.*, 2001)

L'étude de la biodisponibilité a révélé que le GTS-21 et le PNU282987 sont biodisponibles par voie orale, tandis que l'alpha-bungarotoxine ne l'est pas. Nous avons examiné différents paramètres

tels que la flexibilité, la lipophilie, la taille, la polarité, l'instauration et la solubilité pour évaluer l'effet de ces substances sur les protéines du corps humain.

Les résultats suggèrent que le GTS-21 et le PNU282987 sont biodisponible pour la physiologie humaine et ayant la capacité d'être absorber par la membrane plasmique au niveau du tractus gastro-intestinal et la barrière hémato-encéphalique, leur permettant ainsi d'atteindre le cerveau et ne sont pas des sujets à un efflux actif par la P-gp. Le rôle de cette (PGP) présente dans ces barrières hématoencéphaliques est de limiter la pénétration de substances toxiques. Cependant, l'alpha-bungarotoxine ne peut pas être biodisponible pour la physiologie humaine et ne peut pas franchir ces barrières et il est prédits aussi d'être activement efflux par la P-gp et peut être ainsi rejetée. (Mollazadeh et *al.*, 2018)

Ainsi, l'Alpha-bungarotoxine ne respecte pas les conditions de lipinski avec des caractéristiques de biodisponibilité non adéquate à l'absorption ni au niveau du tractus gastro-intestinal ni au niveau cérébral. Pour cela, il ne peut pas être envisagé comme une molécule à intérêt thérapeutique « drug-like » pour le moment contre SARS-CoV-2 malgré les scores intéressants obtenus par le docking moléculaire. Sur le plan théorique, il envisageable de le manipuler par des méthodes de modélisation chimique afin de modifier et d'améliorer p ces caractéristiques. Le travail nécessite l'intervention de personnel qualifié et des techniques plus développer.

Par la suite, nous avons étudié "efficacité du ligand " (Δg) ce qui nous a permis de conclure que le GTS-21 et le PNU282987 sont assez efficaces pour être considérés comme des médicaments contre SARS-CoV-2. Dans lesquelles ils peuvent inhiber l'attachement et la réplication, l'échappement de virus et même diminué l'inflammation lors de la réponse immunitaire.

Nous avons démontré aussi que le site d'attachement des deux agonistes est différent avec des affinités aussi différentes, il serait intéressant d'envisager une association et de tester leur effet simultané sur les protéines cibles. Théoriquement, leur combinaison pourrait avoir un effet bénéfique plus efficace contre le virus COVID19 néanmoins ceci nécessite des investigations plus approfondie In Silico et In Vitro.

Ce travail constitue une première étape dans un projet plus approfondie qui vise à identifier et caractériser la possibilité d'utiliser ces agonistes comme molécules anti-infectieuse dans le COVID19. Les études cliniques confirment que ces deux agonistes sont assez tolérés par les sujets

sains ainsi que les patients atteints de maladies neurodégénératives, stade II dans les études cliniques de l'Alzheimer (Kem, n.d.) (Vicens et *al.*, 2017). De plus, plusieurs travaux ont confirmé qu'ils possèdent un intéressant effet anti-inflammatoire via l'inhibition des cytokine pro-inflammatoires (Hoover, 2017) . Ainsi, notre travail ouvre une nouvelle perspective de combiner une molécule qui pourrait avoir un effet immunomodulateur voir inhibiteur de la tempête cytokinique et de bloquer simultanément le cycle viral lors de l'infection COVID19. Enfin la technique d'amarrage moléculaire est une solution optimale pour la détermination d'intérêt de tester un médicament avant de passer à la validation expérimentale In vitro et In vivo.

La figure suivante représente un récapitulatif des principaux résultats obtenus dans notre étude

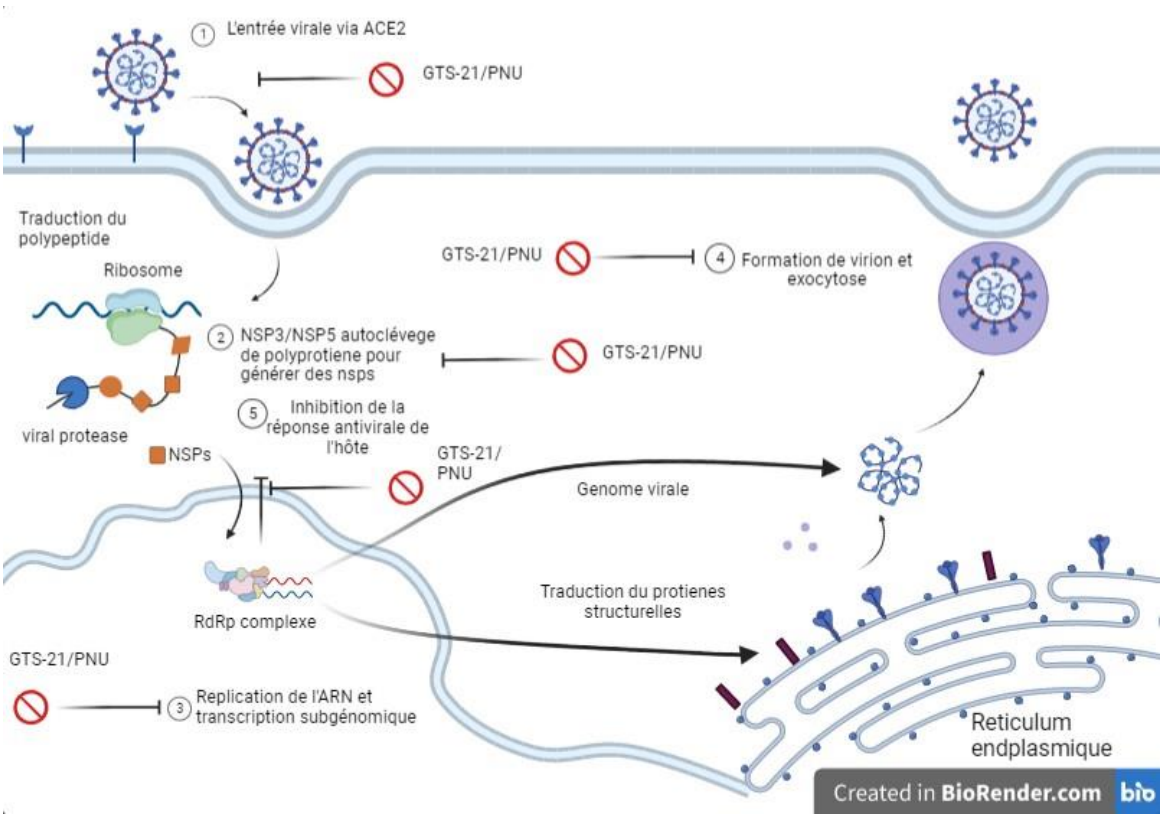


Figure 18: Schéma récapitulatif de la production in Silico des sites d'actions du récepteurs alpha 7 sur le cycle viral du COVID-19.Adapté de (Latifi-Pupovci, 2022)

Conclusion Générale

Le SARS-CoV-2 est un virus mortel et hautement contagieux qui a déclenché une pandémie mondiale, affectant profondément la sécurité sanitaire. Malgré l'augmentation des taux de vaccination, la propagation rapide de ce virus et l'incertitude quant aux effets secondaires des vaccins soulignent la nécessité continue de trouver des traitements efficaces pour lutter contre cette maladie. Ce projet de fin d'étude a exploré in silico la capacité des agonistes et les antagonistes de récepteur nicotinique l'acétylcholine de type 7 (GTS-21 – PNU-282987 – alpha-bungarotoxine) contre le SARS-CoV-2, dans l'espoir de contribuer au développement de médicaments plus efficaces pour contenir la propagation du virus et faire face aux processus immunopathologique associés à la sévérité de cette infection et donc réduire son impact sur la santé publique.

L'objectif de cette étude est d'inhiber l'attachement, la réplication, la transcription et l'échappement du SARS-CoV-2 en utilisant les molécules mentionnées précédemment, et par l'aide de l'amarrage moléculaire où prédit la configuration et la position optimales qu'une molécule adopterait lorsqu'elle se lie à une autre molécule. Il évalue également la force de l'interaction en lui attribuant un score. Un score négatif indique que de l'énergie serait libérée lors de la formation de la liaison entre les deux molécules. Plus le score est faible, plus l'énergie est libérée et plus la liaison stable. Nos résultats ont démontré que l'antagoniste de récepteur α-7 alpha-bungarotoxine présentait des résultats d'affinités meilleurs par rapport aux deux agonistes GTS-21 et PNU282987 mais ceci ne suffit pas pour autant le proposer comme drug-like. Les données de l'analyse des caractéristiques physico-chimiques confirment que seuls les deux agonistes sont conformes aux conditions de biodisponibilités et d'absorption.

Cette étude ouvre la voie à de nouvelles recherches en laboratoire et en clinique sur les molécules prometteuses dans la lutte contre le virus SARS-CoV-2. Les résultats obtenus suggèrent que ces agonistes de récepteur nAChR a7 présentent des propriétés de liaison qui les positionnent comme des candidats potentiels en tant qu'inhibiteurs du SARS-CoV-2. Ces découvertes encouragent la poursuite des investigations pour évaluer l'efficacité de ces molécules dans le développement de traitements contre le virus.

À l'avenir, il serait pertinent d'approfondir l'étude de ces molécules en utilisant des techniques de dynamique moléculaire. La dynamique moléculaire permet de simuler les mouvements physiques

Des molécules dans le temps. Par conséquent, l'utilisation de la dynamique moléculaire pourrait être une approche complémentaire pour évaluer plus en détail l'interaction entre ces molécules et la protéine cible.

Bibliographies

Abola, E.E., Manning, N.O., Prilusky, J., Stampf, D.R., Sussman, J.L., 1996. The Protein Data Bank: Current status and future challenges. J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol. 101, 231. https://doi.org/10.6028/jres.101.025

Azkur, A.K., Akdis, M., Azkur, D., Sokolowska, M., Veen, W., Brüggen, M., O'Mahony, L., Gao, Y., Nadeau, K., Akdis, C.A., 2020. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathologicalchanges in COVID-19. Allergy 75, 1564–1581. https://doi.org/10.1111/all.14364

Bai, C., Zhong, Q., Gao, G.F., 2022. Overview of SARS-CoV-2 genome-encoded proteins. Sci. China Life Sci. 65, 280–294. https://doi.org/10.1007/s11427-021-1964-4

Campana, P., Parisi, V., Leosco, D., Bencivenga, D., Della Ragione, F., Borriello, A., 2020a. Dendritic Cells and SARS-CoV-2 Infection: Still an Unclarified Connection. Cells 9, 2046. https://doi.org/10.3390/cells9092046

Campana, P., Parisi, V., Leosco, D., Bencivenga, D., Della Ragione, F., Borriello, A., 2020b. Dendritic Cells and SARS-CoV-2 Infection: Still an Unclarified Connection. Cells 9, 2046. https://doi.org/10.3390/cells9092046

Chitsike, L., Duerksen-Hughes, P., 2021. Keep out! SARS-CoV-2 entry inhibitors: their role and utility as COVID-19 therapeutics. Virol. J. 18, 154. https://doi.org/10.1186/s12985-021-01624-x

Cole, J.C., Murray, C.W., Nissink, J.W.M., Taylor, R.D., Taylor, R., 2005. Comparing protein-ligand docking programs is difficult. Proteins Struct. Funct. Bioinforma. 60, 325–332. https://doi.org/10.1002/prot.20497

Daina, A., Michielin, O., Zoete, V., 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci. Rep. 7, 42717. https://doi.org/10.1038/srep42717

de Candia, P., Prattichizzo, F., Garavelli, S., Matarese, G., 2021. T Cells: Warriors of SARS-CoV-2 Infection. Trends Immunol. 42, 18–30. https://doi.org/10.1016/j.it.2020.11.002

Diamond, M.S., Kanneganti, T.-D., 2022. Innate immunity: the first line of defense against SARS-CoV-2. Nat. Immunol. 23, 165–176. https://doi.org/10.1038/s41590-021-01091-0

Dnyandev, K.M., Babasaheb, G.V., Chandrashekhar, K.V., Chandrakant, M.A., Vasant, O.K., 2021. A Review on Molecular Docking. Int. Res. J. Pure Appl. Chem. 60–68. https://doi.org/10.9734/irjpac/2021/v22i330396

Emery, S.L., Erdman, D.D., Bowen, M.D., Newton, B.R., Winchell, J.M., Meyer, R.F., Tong, S., Cook, B.T., Holloway, B.P., McCaustland, K.A., Rota, P.A., Bankamp, B., Lowe, L.E., Ksiazek, T.G., Bellini, W.J.,Anderson, L.J., 2004. Real-Time Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction Assay for SARS-associated Coronavirus. Emerg. Infect. Dis. 10, 311–316. https://doi.org/10.3201/eid1002.030759

Fan, H., Ooi, A., Tan, Y.W., Wang, S., Fang, S., Liu, D.X., Lescar, J., 2005. The Nucleocapsid Protein of Coronavirus Infectious Bronchitis Virus: Crystal Structure of Its N-Terminal Domain and Multimerization Properties. Structure 13, 1859–1868. https://doi.org/10.1016/j.str.2005.08.021

Farsalinos, K., Angelopoulou, A., Alexandris, N., Poulas, K., 2020. COVID-19 and the nicotinic cholinergic system. Eur. Respir. J. 56, 2001589. https://doi.org/10.1183/13993003.01589-2020

Garg, B.K., Loring, R.H., 2019. GTS-21 has cell-specific anti-inflammatory effects independent of α7 nicotinic acetylcholine receptors. PLOS ONE 14, e0214942. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214942

Guan, W., Ni, Z., Hu, Yu, Liang, W., Ou, C., He, J., Liu, L., Shan, H., Lei, C., Hui, D.S.C., Du, B., Li, L., Zeng, G., Yuen, K.-Y., Chen, R., Tang, C., Wang, T., Chen, P., Xiang, J., Li, S., Wang, Jin-lin, Liang, Z., Peng, Y., Wei, L., Liu, Y., Hu, Ya-hua, Peng, P., Wang, Jian-ming, Liu, J., Chen, Z., Li, G., Zheng, Z.,

Qiu, S., Luo, J., Ye, C., Zhu, S., Zhong, N., 2020. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease2019 in China. N. Engl. J. Med. 382, 1708–1720. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032

Gusev, E., Sarapultsev, A., Solomatina, L., Chereshnev, V., 2022. SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19. Int. J. Mol. Sci. 23, 1716. https://doi.org/10.3390/ijms23031716

Hoover, D.B., 2017. Cholinergic modulation of the immune system presents new approaches for treating inflammation. Pharmacol. Ther. 179, 1–16. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.05.002

Hopkins, A.L., Groom, C.R., Alex, A., 2004. Ligand efficiency: a useful metric for lead selection. Drug Discov. Today 9, 430–431. https://doi.org/10.1016/S1359-6446(04)03069-7

Horby, P.W., Mafham, M., Bell, J.L., Linsell, L., Staplin, N., Emberson, J., Palfreeman, A., Raw, J., Elmahi, E., Prudon, B., Green, C., Carley, S., Chadwick, D., Davies, M., Wise, M.P., Baillie, J.K., Chappell,
L.C., Faust, S.N., Jaki, T., Jefferey, K., Lim, W.S., Montgomery, A., Rowan, K., Juszczak, E., Haynes,R., Landray, M.J., 2020. Lopinavir–ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. The Lancet 396, 1345–1352. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32013-4

Hosseiny, M., Kooraki, S., Gholamrezanezhad, A., Reddy, S., Myers, L., 2020. Radiology Perspective of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Lessons From Severe Acute Respiratory Syndrome and Middle East Respiratory Syndrome. Am. J. Roentgenol. 214, 1078–1082. https://doi.org/10.2214/AJR.20.22969

Hu, B., Guo, H., Zhou, P., Shi, Z.-L., 2021. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nat. Rev. Microbiol. 19, 141–154. https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7

J. Rigden, D. (Ed.), 2017. From Protein Structure to Function with Bioinformatics. Springer Netherlands, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-024-1069-3

Jackson, C.B., Farzan, M., Chen, B., Choe, H., 2022. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 23, 3–20. https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x

Jh, L., Cs, L., n.d. Can J Respir Ther Vol 51 No 4 Autumn 2015.

Jorgensen, S.C.J., Kebriaei, R., Dresser, L.D., 2020. Remdesivir: Review of Pharmacology, Pre-clinical Data, and Emerging Clinical Experience for COVID-19. Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. DrugTher. 40, 659–671. https://doi.org/10.1002/phar.2429

Jung, M.K., Shin, E.-C., 2021. Phenotypes and Functions of SARS-CoV-2-Reactive T Cells. Mol. Cells 44, 401–407. https://doi.org/10.14348/molcells.2021.0079

Kem, W.R., n.d. The brain a7 nicotinic receptor may be an important therapeutic target for the treatment of Alzheimer's disease: studies with.

Kirtipal, N., Bharadwaj, S., Kang, S.G., 2020a. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. Infect. Genet. Evol. 85, 104502. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104502

Kirtipal, N., Bharadwaj, S., Kang, S.G., 2020b. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. Infect. Genet. Evol. 85, 104502. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104502

Kyriakidis, N.C., López-Cortés, A., González, E.V., Grimaldos, A.B., Prado, E.O., 2021. SARS-CoV-2 vaccinesstrategies: a comprehensive review of phase 3 candidates. Npj Vaccines 6, 28. https://doi.org/10.1038/s41541-021-00292-w

Latifi-Pupovci, H., 2022a. Molecular mechanisms involved in pathogenicity of SARS-CoV-2: Immune evasion and implications for therapeutic strategies. Biomed. Pharmacother. 153, 113368. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113368

Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J., 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv. Drug Deliv. Rev. 64, 4–17. https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019

Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J., 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings 1PII of original article: S0169-409X(96)00423-1. The article was originally published in Advanced Drug Delivery Reviews 23 (1997) 3–25. 1. Adv. Drug Deliv. Rev. 46, 3–26. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0

Malone, B., Urakova, N., Snijder, E.J., Campbell, E.A., 2022a. Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 23, 21–39. https://doi.org/10.1038/s41580-021-00432-z

Malone, B., Urakova, N., Snijder, E.J., Campbell, E.A., 2022b. Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 23, 21–39. https://doi.org/10.1038/s41580-021-00432-z

Mollazadeh, S., Sahebkar, A., Hadizadeh, F., Behravan, J., Arabzadeh, S., 2018. Structural and functional aspects of P-glycoprotein and its inhibitors. Life Sci. 214, 118–123. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.10.048

morris2008.pdf, n.d.

Neuman, B.W., Kiss, G., Kunding, A.H., Bhella, D., Baksh, M.F., Connelly, S., Droese, B., Klaus, J.P., Makino, S., Sawicki, S.G., Siddell, S.G., Stamou, D.G., Wilson, I.A., Kuhn, P., Buchmeier, M.J., 2011. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. J. Struct. Biol.174, 11–22. https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021

Nieto-Torres, J.L., DeDiego, M.L., Verdiá-Báguena, C., Jimenez-Guardeño, J.M., Regla-Nava, J.A., Fernandez-Delgado, R., Castaño-Rodriguez, C., Alcaraz, A., Torres, J., Aguilella, V.M., Enjuanes, L., 2014. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Ion Channel ActivityPromotes Virus Fitness and Pathogenesis. PLoS Pathog. 10, e1004077. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004077

Nugent, M.A., 2022. The Future of the COVID-19 Pandemic: How Good (or Bad) Can the SARS-CoV2 Spike Protein Get? Cells 11, 855. https://doi.org/10.3390/cells11050855

on behalf of the COVID-19 Commission of Accademia Nazionale dei Lincei, Rome, Forni, G., Mantovani, A., 2021. COVID-19 vaccines: where we stand and challenges ahead. Cell Death Differ. 28, 626–639. https://doi.org/10.1038/s41418-020-00720-9

Ong, D.S.Y., Fragkou, P.C., Schweitzer, V.A., Chemaly, R.F., Moschopoulos, C.D., Skevaki, C., 2021. How tointerpret and use COVID-19 serology and immunology tests. Clin. Microbiol. Infect. 27, 981–986. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.05.001

Oztas, D., 2021. Drug Repurposing for COVID-19 Using Molecular Docking Tools (Master of Science). Chapman University, Orange, CA. https://doi.org/10.36837/chapman.000286

Pagadala, N.S., Syed, K., Tuszynski, J., 2017. Software for molecular docking: a review. Biophys. Rev. 9, 91–102. https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1

Pelaia, C., Tinello, C., Vatrella, A., De Sarro, G., Pelaia, G., 2020. Lung under attack by COVID-19-induced cytokine storm: pathogenic mechanisms and therapeutic implications. Ther. Adv. Respir. Dis. 14, 175346662093350. https://doi.org/10.1177/1753466620933508

Prabakaran, P., Xiao, X., Dimitrov, D.S., 2004. A model of the ACE2 structure and function as a SARS-CoVreceptor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 314, 235–241. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.12.081

Rahbar Saadat, Y., Hosseiniyan Khatibi, S.M., Zununi Vahed, S., Ardalan, M., 2021. Host Serine Proteases:A Potential Targeted Therapy for COVID-19 and Influenza. Front. Mol. Biosci. 8, 725528. https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.725528

Raval, K., Ganatra, T., 2022a. Basics, types and applications of molecular docking : A review. IP Int. J. Compr. Adv. Pharmacol. 7, 12–16. https://doi.org/10.18231/j.ijcaap.2022.003

Raval, K., Ganatra, T., 2022b. Basics, types and applications of molecular docking: A review. IP Int. J. Compr. Adv. Pharmacol. 7, 12–16. https://doi.org/10.18231/j.ijcaap.2022.003

Redondo, N., Zaldívar-López, S., Garrido, J.J., Montoya, M., 2021. SARS-CoV-2 Accessory Proteins in Viral Pathogenesis: Knowns and Unknowns. Front. Immunol. 12, 708264. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.708264

Samudrala, P.K., Kumar, P., Choudhary, K., Thakur, N., Wadekar, G.S., Dayaramani, R., Agrawal, M., Alexander, A., 2020. Virology, pathogenesis, diagnosis and in-line treatment of COVID-19. Eur. J.Pharmacol. 883, 173375. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173375

Schoeman, D., Fielding, B.C., 2019. Coronavirus envelope protein: current knowledge. Virol. J. 16, 69.https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0

Song, P., Li, W., Xie, J., Hou, Y., You, C., 2020. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2. Clin. Chim. Acta 509, 280–287. https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.017

Standl, F., Jöckel, K.-H., Brune, B., Schmidt, B., Stang, A., 2021. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. Lancet Infect. Dis. 21, e77. https://doi.org/10.1016/S1473- 3099(20)30648-4

Taylor, R.D., Jewsbury, P.J., Essex, J.W., n.d. A review of protein-small molecule docking methods.

Upreti, S., Samant, M., 2022. A Review on Immunological Responses to SARS-CoV-2 and Various COVID-
19 Vaccine Regimens. Pharm. Res. 39, 2119–2134. https://doi.org/10.1007/s11095-022-03323-w

Vályi-Nagy, I., Uher, F., Rákóczi, É., Szekanecz, Z., 2022. Adaptive Immunity to Viruses: What Did We Learn from SARS-CoV-2 Infection? Int. J. Mol. Sci. 23, 13951. https://doi.org/10.3390/ijms232213951

Veeramachaneni, G.K., Thunuguntla, V.B.S.C., Bobbillapati, J., Bondili, J.S., 2021. Structural and simulation analysis of hotspot residues interactions of SARS-CoV 2 with human ACE2 receptor. J.Biomol. Struct. Dyn. 39, 4015–4025. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1773318

Venkatagopalan, P., Daskalova, S.M., Lopez, L.A., Dolezal, K.A., Hogue, B.G., 2015. Coronavirus envelope (E) protein remains at the site of assembly. Virology 478, 75–85. https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.005

Vicens, P., Heredia, L., Torrente, M., Domingo, J.L., 2017. Behavioural effects of PNU-282987 and stress in an animal model of Alzheimer's disease: Stress and PNU effects on Tg mice. Psychogeriatrics 17, 33–42. https://doi.org/10.1111/psyg.12189

Vieira-Alves, I., Coimbra-Campos, L.M.C., Sancho, M., da Silva, R.F., Cortes, S.F., Lemos, V.S., 2020. Role of the α7 Nicotinic Acetylcholine Receptor in the Pathophysiology of Atherosclerosis. Front. Physiol. 11, 621769. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.621769

V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., Thiel, V., 2021. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. Nat. Rev. Microbiol. 19, 155–170. https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6

Wong, N.A., Saier, M.H., 2021. The SARS-Coronavirus Infection Cycle: A Survey of Viral Membrane Proteins, Their Functional Interactions and Pathogenesis. Int. J. Mol. Sci. 22, 1308. https://doi.org/10.3390/ijms22031308

Yadav, R., Chaudhary, J.K., Jain, N., Chaudhary, P.K., Khanra, S., Dhamija, P., Sharma, A., Kumar, A., Handu, S., 2021a. Role of Structural and Non-Structural Proteins and Therapeutic Targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. Cells 10, 821. https://doi.org/10.3390/cells10040821

Yadav, R., Chaudhary, J.K., Jain, N., Chaudhary, P.K., Khanra, S., Dhamija, P., Sharma, A., Kumar, A., Handu, S., 2021b. Role of Structural and Non-Structural Proteins and Therapeutic Targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. Cells 10, 821. https://doi.org/10.3390/cells10040821

Yan, W., Zheng, Y., Zeng, X., He, B., Cheng, W., 2022. Structural biology of SARS-CoV-2: open the door for novel therapies. Signal Transduct. Target. Ther. 7, 26. https://doi.org/10.1038/s41392-022- 00884-5

Yang, C., Chen, E.A., Zhang, Y., 2022. Protein–Ligand Docking in the Machine-Learning Era. Molecules 27,4568. https://doi.org/10.3390/molecules27144568

Ye, Z.-W., Yuan, S., Yuen, K.-S., Fung, S.-Y., Chan, C.-P., Jin, D.-Y., 2020. Zoonotic origins of human coronaviruses. Int. J. Biol. Sci. 16, 1686–1697. https://doi.org/10.7150/ijbs.45472

Young, H.S., Herbette, L.G., Skita, V., 2003. α-Bungarotoxin Binding to Acetylcholine ReceptorMembranes Studied by Low Angle X-Ray Diffraction. Biophys. J. 85, 943–953. https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)74533-0

Yousefi, B., Eslami, M., 2022. Genetic and structure of novel coronavirus COVID-19 and molecular mechanisms in the pathogenicity of coronaviruses. Rev. Med. Microbiol. 33, e180–e188. https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000265

Yu, W., MacKerell, A.D., 2017. Computer-Aided Drug Design Methods, in: Sass, P. (Ed.), Antibiotics, Methods in Molecular Biology. Springer New York, New York, NY, pp. 85–106. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6634-9_5

Zanza, C., Romenskaya, T., Manetti, A.C., Franceschi, F., La Russa, R., Bertozzi, G., Maiese, A., Savioli, G., Volonnino, G., Longhitano, Y., 2022. Cytokine Storm in COVID-19: Immunopathogenesis and Therapy. Medicina (Mex.) 58, 144. https://doi.org/10.3390/medicina58020144

Zhang, Q., Xiang, R., Huo, S., Zhou, Y., Jiang, S., Wang, Q., Yu, F., 2021a. Molecular mechanism of interaction between SARS-CoV-2 and host cells and interventional therapy. Signal Transduct. Target. Ther. 6, 233. https://doi.org/10.1038/s41392-021-00653-w

Zúñiga, S., Cruz, J.L.G., Sola, I., Mateos-Gómez, P.A., Palacio, L., Enjuanes, L., 2010. Coronavirus Nucleocapsid Protein Facilitates Template Switching and Is Required for Efficient Transcription.J. Virol. 84, 2169–2175. https://doi.org/10.1128/JVI.02011-09