

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Présenté et soutenu par :

ARAB ASMAA

BERRIOUGI ABDALKARIM

Le : 26 /06 /2023

Thème

Criblage virtuel des composés phytochimiques dans le but d'identifier de nouveaux composés antiviraux contre le SARS-CoV-2

Soutenue publiquement le : 26 /06 /2023., Devant le jury composé de :

Mme. BOUAZZA Fatma	Grade : MAA	UYFM	Président
Dr. GHERDAOUI Dhehbia	Grade : MCB	UYFM	Examinateur
Dr. BITAM Said	Grade : MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tout, Nous remercions ***Allah*** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Notre mémoire touche à sa fin après un long parcours. Nous tenons à exprimer notre sincère remerciement à tous ceux qui nous ont aidés à rassembler ce modeste travaille.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre respect à notre superviseur Monsieur Bitam Said, pour sa rigueur et son honnêteté scientifique, ses précieuses remarques et conseils et pour sa persévérance dans le suivi de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre mémoire.



Dédicace

Grâce à Dieu tout-puissant, qui m'a donné la volonté, la force et la patience et qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai réussi à réaliser ce modeste travail que je dédie ce travail :

A mes parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, Leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, pour toute Leur assistance et leur présence dans ma vie.

À ma sœur Amina celui qui m'encourage et m'inspire, et à tous mes frères et sœurs.

A Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve

Ici l'expression de ma reconnaissance.

dedicaces

الـحَمْدُ للـهِ الَّذِي بِنِعْمَتِهِ تَتِمُّ الصَّالِـحَاتُ

Avec grand amour, Sincérité et fierté, aux êtres les plus chères aux monde « mes parents » « Abdelkader » et « Mebarka » pour tous les efforts, les conseils, qu'ils ont entrepris afin de me voir réussir.

Je vous dédie ce travail, le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation.

Puisse Dieu, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A Mes Chères Frères : Amer, Omer, Halim, Ibrahim

A Mes Chères Sœurs : Fatima, Fatiha, Razika, Djamila, Souad, Zineb

A Mes Chères nièces et neveux, Vous êtes des êtres spéciaux, uniques et précieux à mes yeux. Je vous aime et je vous souhaite toute la jolie du monde.

A Mes Chères Amies : Oussama, Amer, Houssem, Younes, Mahmoud, Djalal, Imad, et Yassine

A Mes Chères cousins : Saiid et Khalifa

A Mes Chères cousines

A Mes Chères oncles et tantes, je suis profondément reconnaissant de vous avoir dans ma vie.

A toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenu ou encouragé au long de mes études.

Karim

Résumé

La propagation rapide du nouveau coronavirus (SARS-COV-2) comme une menace sérieuse pour la santé publique mondiale a besoin de trouver des agents thérapeutiques potentiels. La protéase principale ($3CL^{pro}$) est l'une des cibles de médicament vitales parmi tous les coronavirus, car la protéine est indispensable pour le virus. Les composés naturels sont largement reconnus comme source de drogues antivirales en raison de leur diversité structurelle et de leur sécurité. Dans cette étude, nous avons utilisé la stratégie de criblage virtuel sur le Docking moléculaire pour étudier les interactions de 1000 composés naturels ayant des propriétés antivirales avec $3CL^{pro}$ ciblée de coronavirus en utilisant le programme MEO, Notre étude a révélé que 3 composés ayant des scores d'affinité les plus élevées par rapport aux autres composés, avec des scores de Docking allant de (-5,443 kcal à -5.218 kcal / mol). Aussi nous avons déterminé les propriétés drug likeness pour les composés sélectionnés. Cette étude entraîne l'identification de trois composés 1, 2 et 3 conformément à la règle de Lipinski ainsi que la règle Veber. Nous avons montré que ces quatre composes présentent un intérêt comme point de départ pour la conception des inhibiteurs de SARS-CoV-2. Ces composés peuvent être évalués pour leurs activités inhibitrices à l'aide des techniques expérimentales.

Mots-clés: SARS-CoV-2; Inhibitor; $3CL^{pro}$; Molecular Docking; Lipinski; Veber.

Abstract

The rapid spread of the novel corona virus (SARS-CoV-2) as a serious threat to the world public health is in dire need of finding potential therapeutic agents. Main protease ($3CL^{pro}$) is one of the vital drug targets amongst all the corona viruses, as the protein is indispensable for virus. Natural compounds are widely recognized as valuable source of antiviral drugs due to their structural diversity and safety. In this study, we used the molecular docking strategy to study the interactions of 1000 natural compounds having antiviral properties with corona virus-targeted $3CL^{pro}$ protein using the MEO our study revealed that 3 molecules having the highest affinity scores compared to with docking scores ranging from (from –5,443 kcal to -5.218 kcal / mol). The drug likeness properties were also determined for the selected compounds. This study results in the identification that three compounds 1, 2, and 3 comply with the rule of Lipinski as well as the Veber rule. These molecules may emerge as a promising ligand against SARS-CoV-2 and thus needs further detailed investigations.

Keywords: SARS-CoV-2; Inhibitor; $3CL^{pro}$; Molecular Docking; Lipinski; Veber.

الملخص

إن الانتشار السريع لفيروس كورونا الجديد (SARS-COV-2) كتهديد خطير للصحة العامة العالمية يحتاج إلى إيجاد عوامل علاجية محتملة. يعتبر البروتياز الرئيسي ($3CL^{pro}$) أحد أهداف الأدوية الحيوية بين جميع فيروسات كورونا ، حيث لا غنى عن البروتين للفيروس. تُعرف المركبات الطبيعية على نطاق واسع بأنها مصدر للأدوية المضادة للفيروسات نظرًا لتنوعها الهيكلي وسلامتها. في هذه الدراسة، استخدمنا استراتيجية الفحص الافتراضي للرسو الجزيئي للتحقيق في تفاعلات 1000 مركب طبيعي بخصائص مضادة للفيروسات (جوز الهند) مع فيروس كورونا المستهدف $3CL^{pro}$ باستخدام برنامج MEO ، كشفت دراستنا أن 3 مركبات لها أعلى درجات تقارب مقارنة بالمركب الآخر، مع درجات الإرساء تتراوح من (5.443- كيلو كالوري إلى 5.218-كيلو كالوري / مول). كما حددنا خصائص تشابه الدواء للمركبات المختارة. تؤدي هذه الدراسة إلى تحديد ثلاث مركبات 1، 2، 3 وفقًا لقاعدة ليبينسكي وكذلك قاعدة فيبر. لقد أظهرنا أن هذه المركبات الأربعة ذات أهمية كنقطة انطلاق لتصميم مثبطات SARS- CoV-2 يمكن تقييم المركبات لأنشطتها المثبطة باستخدام التقنيات التجريبية.

الكلمات الرئيسية : SARS-CoV-2؛ المثبط ; $3\ CL^{pro}$; الالتحام الجزيئي; ليبينسكي; فيبر.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE 1

Chapitre I : GENERALITE LE SURCORONA VIRUS

1. Introduction 3

2. Définitions et classification 3

2.1. Corona virus 3

2.2. COVID-19 4

2.3. Le virus SARS-CoV-2 4

2.4. Classification 4

3. La structure du SARS-CoV-2 5

3.1. Le génome 5

3.2. Les principaux protéines 6

3.2.1.La nucléocapside 6

3.2.2.La protéine de membrane ou M 6

3.2.3.La protéine d'enveloppe (E) 7

3.2.4.La protéine S (Spike protéine) 7

4. La propagation 11

4.1. L'Attachement 11

4.2. La Pénétration 11

4.3. La Biosynthèse 11

4.4. La Maturation 11

4.5. La libération des Variants 12

5. La transmission du SARS COV-2 13

5.1. La transmission animale-homme 13

5.2. Transmission interhumaine 13

6. Les symptômes 14

7. Les Traitements contre le COV-SARS 2 16

8.Les méthodes d'inhibition du virus 16

9.Les efforts pour inhiber le virus 17

10. Le rôle du 3CLpro dans la découverte de médicaments contre la COVID-19 18

Chapitre II : La conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD)

1. Introduction 19
2. La conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) 19
3. Criblage virtuel 19
3.1. Différents types de criblage virtuel 20
3.1.a. Criblage virtuel basé sur les ligands 20
3.1.b. Criblage virtuel basé sur la structure 21
4. Le Docking moléculaire 22
5. Représentations simplifiées des phénomènes de Docking moléculaire 23
6. Interaction protéine-ligand 24
6.1. Interactions électrostatiques 24
6.2. Les forces de Van Der Waals 25
6.3. La liaison hydrogène 25
6.4. Interactions hydrophobes 26
7. Processus de notation (scoring) 26
8. Protocole général de Docking 27
9. Paramètres Drug-Like 28
9.1. Règle de Lipinski 29
9.2. Règle de Veber 29
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION
1. Introduction 30
2.Matériel et outils utilisés. 30
2.1. Micro-ordinateur. 30
2.2. Banques (bases) de données et outils logiciels 31
3. Méthodologie du travail 33
3.1. Préparation de l'Enzyme 33
3.2. Détection des cavités 35
3.3. Préparation des ligands 36
3.4. Simulation Docking moléculaire 43
4. Résultats et Discussion 44
4.1. Docking moléculaire 44
5. Étude des interactions enzyme-ligand 47
CONCLUSION GENERALE 54
Référence 55

LISTE DES FIGURES

N° Figures	Pages
I.1 Classifications du corona virus	5
I.2 Représentation schématique de la Structure d'un coronavirus	6
I.3 Schéma d'un S protéine du SARS-CoV-2	8
I. 4 Représentation structurelle de la protéine S se lie à ACE2 avec RBD ouvert dans la sous-unité S1	9
I.5 Le RBD de la protéine S en état fermé et ouvert	10
I.6 Structure Détaillé d'un SARS COV-2	10
I.7 Cycle de vie du SARS-CoV-2 à l'intérieur d'une cellule hôte	12
I.8 Les différents Modes de transmission interhumaine de SARS-CoV-2	14
I.9 Les différents organes du corps affectés chez un patient atteint de COVID-19 sont confirmés sur la base des caractéristiques cliniques ou d'une biopsie du patient	15
II.1 Position du criblage virtuel dans la conception actuelle des médicaments	20
II.2 Aperçu sur les deux méthodes de criblage virtuel les plus fréquentes	21
II.3 Principe général d'un programme de Docking	22
II.4 Le modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur R	23
II.5 Le modèle d'ajustement induit induced fit pour modéliser la formation d'un Complexe	24
II.6 Interactions électrostatiques	25
II.7 Les interactions de Vander Waals	25
II.8 La liaison hydrogène	26
II.9 Interaction hydrophobe	26
II.10 Protocole général de Docking	28
III.1 Interface du site Protéine Data Bank (PDB)	31
III.2 Interface du logiciel MOE	32
III.3 Interface du logiciel Chemdraw	33
III.4 Méthodologie de Travaille	34
III.5 Structure 3D de l'enzyme 6LU7 simplifié	35
III.6 Cavité 1 de l'enzyme 6lu7	36
III.7 Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE	47

III.8 Interactions entre le ligand 1 et les résidus de site actif de 6LU7 49
III.9 Interactions entre le ligand 2 et les résidus de site actif de 6LU7 50
III.10 Interactions entre le ligand 3 et les résidus de site actif de 6LU7 51

LISTE DES TABLEAUX

N°Tableaux **Pages**

III.1 Caractéristiques des ordinateurs utilisés 31

III.2 Propriétés des cavités de l'enzyme 6LU7 36

III.3 Les Structures des molécules utilisées 37

III.4 Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 6LU7 avec les ligands Etudiés 44

III.5 Les différents intervalles de valeurs RMSD 46

III.6 Résultats de Docking moléculaire et l'analyse des interactions pour les meilleurs complexes 48

III.7 Résultats d'application de la Règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs de SARS-CoV-2 52

III.8 Résultats de l'application de la Règle Veber pour les meilleurs inhibiteurs de SARS COV-2 53

Liste des principales abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ACE2	Angiotensin-Converting Enzyme 2
COVID-19	Corona Virus Infections Disease 2019
ERGIC	Endoplasmic Reticulum-GolgiIntermediate Compartment
kb	Kilo base, unité de mesure de masse moléculaire
kDa	Kilodalton, unité de mesure de masse moléculaire
ICTV	Le comité international de taxonomie des virus
MERS-COV	Middle East Respiratory Syndrome
MOE	Molecular Operating Environment
NRB	Nombre des liaisons rotatives (Rotatable bonds).
OMS	Organisation mondiale de la santé
ON	liaisons hydrogène accepteurs
PDB	Protein Data Bank
PDBe	Protein Data Bank European (banque de donnée protéique European)
PDBj	Protein Data Bank Japan (banque de donnée protéique Japan)
RBD	Receptor binding domain
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SARS-CoV	Sever Acute Respiratory Syndrom Coronavirus
SARS-CoV-2	SRAS = syndrome respiratoire aigu sévère, du au COV-2 coronavirus 2
TPSA	Topological Polar Surface Area
TMPRSS2	TransMembrane Protease Serine 2

Codes des Acides Aminés cités dans ce travail

Asn (N) Asparagine

Asp (D) Acide aspartique (Aspartate)

Cys (C) Cystéine

Gln (Q) Glutamine

Glu (E) Acide glutamique (Glutamate)

Gly (G) Glycine

His (H) Histidine

Ile (1) Isoleucine

Leu (L) Leucine

Met (M) Méthionine

Phe (F) Phenylalanine

Ser (S) Serine

Thr (T) Thréionine.

Trp (W) Tryptophane

Tyr (Y) Tyrosin

INTRODUCTION GENERALE

La maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) est une maladie respiratoire causée par un nouveau *Sarbecovirus*, le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2), qui a émergé de Wuhan, en Chine, fin 2019. La propagation a été sans précédent en termes de vitesse et d'impact, constituant une urgence de santé publique à portée internationale, et contribuant à une perturbation socio-économique généralisée. **(Huang et al., 2020; Prasansuklab et al., 2021)** D'où une alerte épidémiologique a été placée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et la pandémie mondiale du coronavirus-19 (COVID-19) a était déclarer le 11 mars 2020. Il s'est propagé dans tous les régions du monde, avec plus de 760 millions des cas et plus de 7 millions de décès.**(Senthil Kumar et al., 2020)**

Dans le cadre de cet urgence sanitaire et de l'absence de solution de traitement proposable pour les patients affectés par le COVID-19 et au vu des risques mortels pour une partie des patients, les protocoles de recherches conventionnels s'avèrent inadaptés. En effet, le processus qui conduit à la validation d'un médicament de synthèse est très long et, s'il peut s'avérer pertinent en temps normal, il s'avère défaillant en période de pandémie et de crise généralisée. Le métabolisme secondaire complexe des plantes a été la source d'innombrables composés médicinaux et a permis la découverte de médicaments. Il n'est donc pas surprenant que les produits naturels aient été utilisés comme une première ligne de défense contre la COVID-19. (**LAHCENE**, **2021**)

Dans la recherche des antiviraux efficaces pour éviter et traiter l'infection du SARS-CoV-2, comprendre le mécanisme de ce virus pourrait fournir plus d'informations sur la transmission virale et révéler des cibles thérapeutiques.

Les scientifiques ont vérifié la possibilité d'empêcher la protéase virale principale $3CL^{pro}$ (3C-like protéinase), et la protéase comme une papaïne PL^{pro} (papain-like protease), qui sont principaux à sa réplication. Beaucoup de composés qui empêchent ces enzymes ont été décrits et avancent par la voie de développement de médicament.

Notre objectif de travail est d'étudier les interactions existantes entre une série nouvellement synthétisée des molécules UT d'origine naturel de la base données COCON avec l'enzyme Protéase SAR-COV2 (6LU7) en utilisent la méthode de Docking moléculaire.

Le travail de ce mémoire est présenté en trois chapitres :

Le premier chapitre : Description générale sur la corona virus.

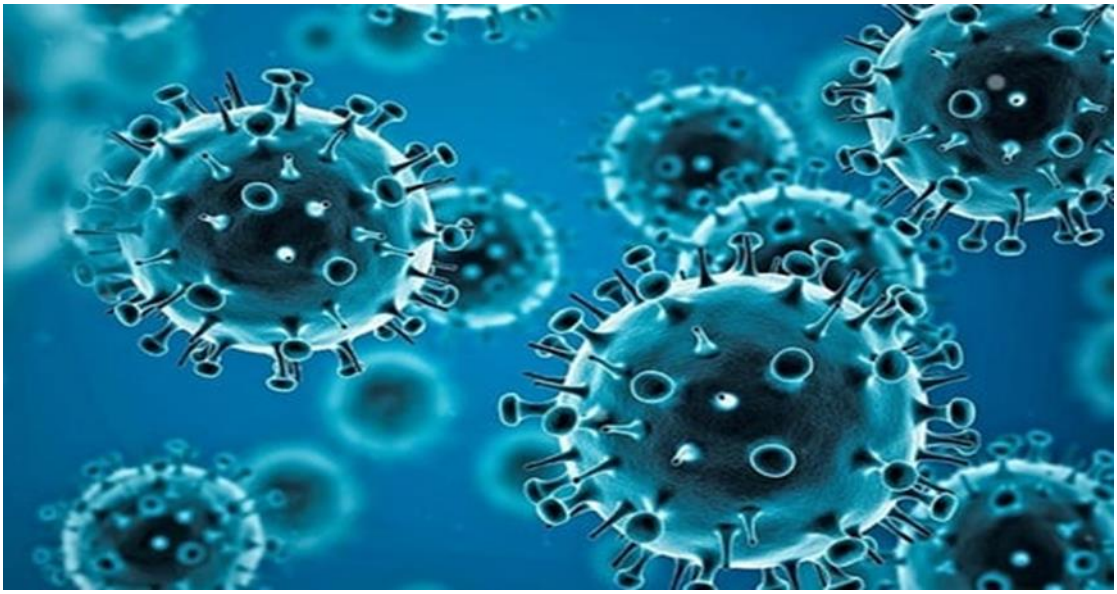
Le deuxième chapitre : expose définition sur Conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) et quelques méthodes utilisées : le Dépistage virtuel (Virtual Screening), la méthode QSAR et quelques notions fondamentales sur le Docking moléculaire

Le troisième chapitre : Nous avons analysé et discuté les résultats obtenus. On montre plus particulièrement les interactions entre les différents inhibiteurs avec l'enzyme Protéase (6LU7) par la méthode du Docking moléculaire en utilisant le logiciel MOE. Apres, on montre comment nous avons sélectionné les quatre meilleurs inhibiteurs.

Conclusion générale : Tirer une conclusion générale à partir des résultats obtenus au cours de ce travail.

.

CHAPITRE I
LE CORONA VIRUS



1. Introduction

Récemment, à la fin de 2019, Wuhan, un centre commercial émergent de Chine, a connu une épidémie d'un nouveau coronavirus qui a tué plus de dix-huit cents et infecté plus de soixante-dix mille personnes au cours de cinquante premiers jours de l'épidémie. Le nouveau virus a été nommé nouveau coronavirus 2019 (2019-nCov) par les chercheurs chinois. Le comité international de taxonomie des virus (ICTV) a nommé le virus comme le SARS-Cov-2 et la maladie comme le COVID-19**. (Afelt, 2022; Ahn, Park, Lee, & Hong, 2020)**

Le 12 janvier 2020, la Commission nationale de la santé de Chine a publié des détails supplémentaires sur l'épidémie, suggérant une pneumonie virale**. (Lapalu, Izaaryene, Honore, & Couchoud, 2021)** Le 30 janvier, l'OMS a annoncé une urgence de santé publique de portée internationale (USPPI) pour l'épidémie de 2019-nCoV. Plus tard, la transmission interhumaine a été confirmée. Le 11 mars, l'OMS a officiellement reconnu le COVID-19 comme une pandémie. Le SRAS-Cov-2 est le troisième coronavirus humain le plus virulent, suivi par le CoV-SRAS et MERS-CoV exprimant le taux de mortalité le plus élevé. **(Lapalu et al., 2021)**Les coronavirus sont de grands virus reconnus comme des virus hautement évolutifs, avec une fréquence élevée de recombinaison génomique et de mutation**. (Zu et al., 2020)**

Le génome des coronavirus est composé d'un simple brin d'acide ribonucléique (ARN) portant l'information pour produire plusieurs protéines qui permettent au virus de se multiplier dans la cellule infectée et de créer de nouvelles particules virales infectieuses. **(Juckel, Dubuisson, & Belouzard, 2020)**

L'infection par SARS-Cov-2 provoque principalement des maladies respiratoires allant d'une maladie bénigne à une maladie grave et à la mort, et certaines personnes infectées par le virus ne développent jamais de symptômes. **(mondiale de la Santé, 2020)** Qu'elles présentent ou non des symptômes, les personnes infectées peuvent être contagieuses et le virus peut se propager d'elles à d'autres personnes. **(Harapan et al., 2020)**

2. Définitions et classification

2.1. Corona virus

Sont une famille de virus à ARN qui infectent de nombreux animaux vertébrés. Ils doivent leur nom à leur enveloppe en forme de couronne (corona) qui est constituée d'une membrane. Chez l'être humain, plusieurs coronavirus peuvent entraîner des infections respiratoires allant du simple rhume à des maladies plus graves comme le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) causé par le SARS-COV1 et le syndrome respiratoire du moyen orient

(MERS). Le dernier coronavirus SARS-COV2 qui a été découvert, est responsable de la maladie à coronavirus 19.

2.2. COVID-19

Maladie infectieuse causée par le dernier coronavirus découvert (SARS-COV 2). Ce nouveau virus et cette maladie étaient inconnus avant l'apparition de la flambée de WUI HAN (Chine) en décembre 2019. **(Feyrouze, 2021)**

2.3. Le virus SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2 est le nom du Coronavirus responsable de la maladie Corona Virus Disease 2019 ou la COVID-19, ce virus classé selon le type de Genus voir la (**Figure I.1**)

2.4. Classification

Les coronavirus sont des grands groupes de virus génétiquement divers qui ont la capacité d'infecter un large éventail d'espèces hôtes, y compris les mammifères et les oiseaux. Ils appartiennent à l'ordre Nidovirales et à la famille *Coronaviridae*. La sous-famille *Coronavirinae* de la famille *Coronaviridae* est divisée en quatre genres : alpha coronavirus (α-CoV), beta coronavirus (β-CoV), gamma coronavirus (γ-CoV) et delta coronavirus (δ- CoV).

En outre, les membres de cette sous-famille peuvent causer des troubles respiratoires, hépatiques, gastro-intestinaux et neurologiques. Jusqu'à présent, six coronavirus capables d'infecter les humains ont été identifiés. Deux d'entre eux sont du genre α-CoV (HCoVsNL63 et HCoVs-229E), et quatre sont du genre β-CoV (HCoVs-OC43, HCoVs-HKU1, SARS-CoV et MERS-CoV) (Wu et al. 2020a). Le nouveau coronavirus, le SARS-CoV-2, qui appartient également au genre β-CoV, est le septième membre des coronavirus causant des maladies chez l'homme.

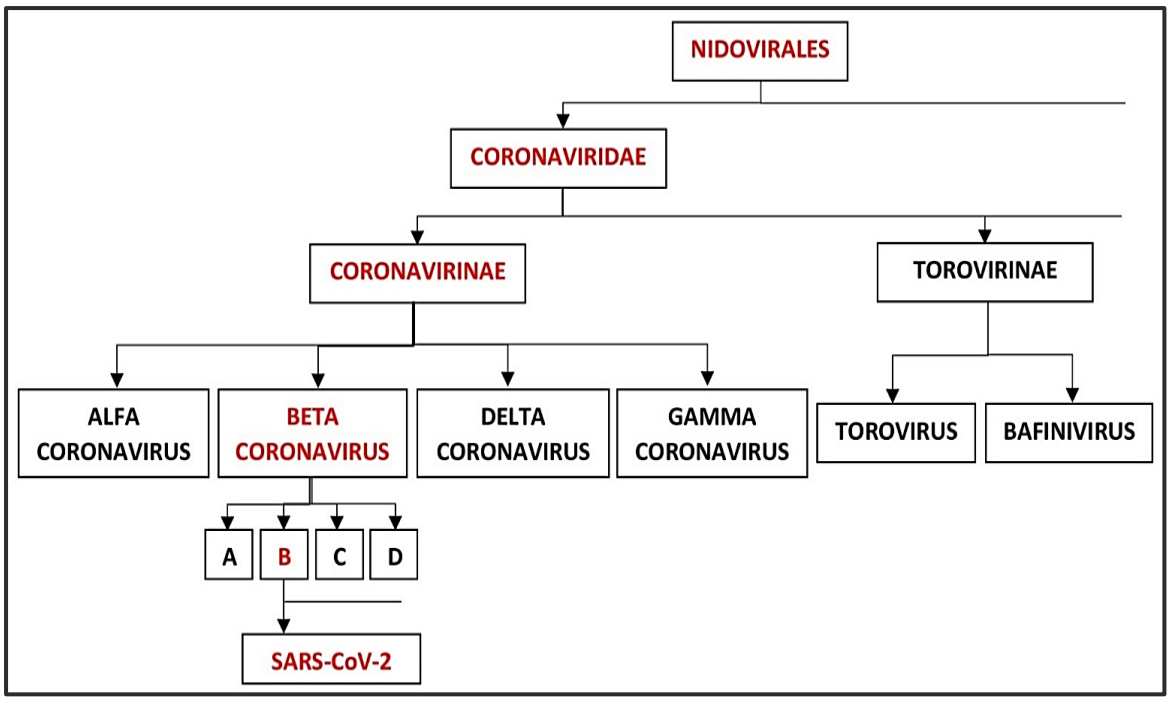


Figure I.1. Classification des Coronavirus

3. La structure du SARS-CoV-2

3.1. Le génome

Le virus SARS-CoV-2 appartient à la famille des coronavirus, qui est un virus enveloppé et non segmenté. Son génome est composé d'un seul brin d'ARN à polarité positive (+ssRNA) qui mesure environ 30 kb. Le virus a une forme sphérique avec des projections en forme de massue sur sa surface, qui ressemblent à une couronne solaire, d'où son nom coronavirus.**(Fehr & Perlman, 2015; Oxnard et al., 2019)**

Les chercheurs ont réussi à isoler le virus, ce qui leur a permis de comprendre son origine et sa capacité à causer des maladies. Cependant, il y a encore beaucoup d'informations inconnues à ce stade. Les études ont révélé que le SARS-CoV-2 partage environ 89,1% de son identité nucléotidique avec un coronavirus de chauve-souris, suggérant que cet animal est son hôte d'origine. **(Perlman, 2020; Wu, Wu, Liu, & Yang, 2020)**

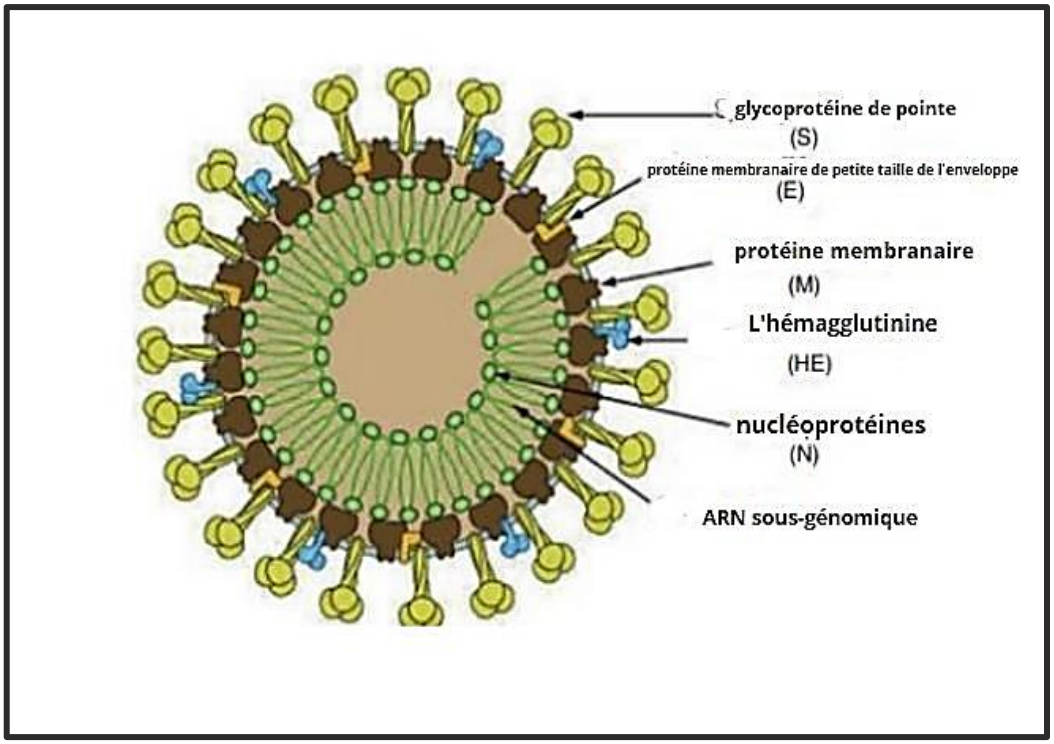


Figure I.2. Représentation schématique de la Structure d'un coronavirus

3.2. Les principales protéines

Quatre protéines principales, appelées protéines structurelles, et d'autres protéines accessoires constituent et définissent la structure visible du nouveau coronavirus. Les protéines structurelles, de l'intérieur vers l'extérieur, comprennent la protéine de nucléocapside (N), la glycoprotéine de membrane (M), la glycoprotéine d'enveloppe (E) et la glycoprotéine de spicule (S) .**(Astuti, 2020)**

3.2.1. La nucléocapside

La protéine N, également appelée protéine nucléocapside, joue un rôle crucial dans le fonctionnement du coronavirus en se liant principalement à l'ARN génomique du virus pour former la nucléocapside **(de Haan & Rottier, 2005)**. Cette protéine se trouve dans la région du réticulum endoplasmique-Golgi, qui est liée à l'acide nucléique du virus. Elle participe à diverses fonctions du génome viral, notamment la réplication du virus et la réponse de l'hôte aux infections virales. De plus, la protéine N est hautement phosphorylée, ce qui peut conduire à des modifications structurelles augmentant son affinité pour l'ARN viral. **(Astuti, 2020)**

3.2.2. La protéine de membrane ou M

C'est la protéine structurelle la mieux structurée et la plus abondante de toutes les protéines structurelles dans le SARS-CoV-2. Elle détermine la forme de l'enveloppe virale. Elle interagit avec d'autres protéines structurelles, mais seule, elle ne peut pas former de virions.

Les interactions avec la protéine N stabilisent la nucléocapside et aident à l'assemblage viral, tandis que l'interaction avec les protéines de pointe et de membrane est essentielle pour la rétention de la protéine de pointe et son incorporation dans de nouveaux virions. Enfin, la protéine M et la protéine E ensemble constituent l'enveloppe virale, et leur interaction conduit à la production et à la libération de VLPs (virus-like particules).

3.2.3. La protéine d'enveloppe (E)

La protéine d'enveloppe est une petite protéine intégrale de la membrane qui contient entre 76 et 109 acides aminés et pèse entre 8,4 et 12 kDa. Elle a une courte terminaison amino hydrophile composée de 7 à 12 acides aminés, suivie d'un grand domaine transmembranaire hydrophobe de 25 acides aminés, et se termine par une longue terminaison carboxylique hydrophile. Cette protéine est essentielle pour la production et la maturation du virus et se trouve principalement sur des sites intracellulaires tels que le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et le complexe réticulum endoplasmique -Golgi. Elle joue un rôle important dans l'assemblage et la libération du virus.

3.2.4. La protéine S (Spike protéine)

La protéine la plus externe des coronavirus, également connue sous le nom de protéine S, est responsable de leur apparence caractéristique et de leur nom. Cette protéine est transmembranaire et a un poids moléculaire d'environ 150 kDa. Elle joue un rôle clé dans l'entrée du virus dans la cellule hôte, ce qui la rend particulièrement intéressante pour les scientifiques. La glycoprotéine S forme des homotrimères qui se projettent vers le haut à partir de la structure virale et favorisent la liaison aux cellules hôtes par attraction et fixation aux récepteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) **.(Astuti, 2020)** Cette protéine est composée de deux sous-unités fonctionnelles - S1 et S2. Elles peuvent être reconnues après clivage de la protéine S par une protéase de type furine de la cellule hôte **(Fehr & Perlman, 2015; Walls et al., 2020).**

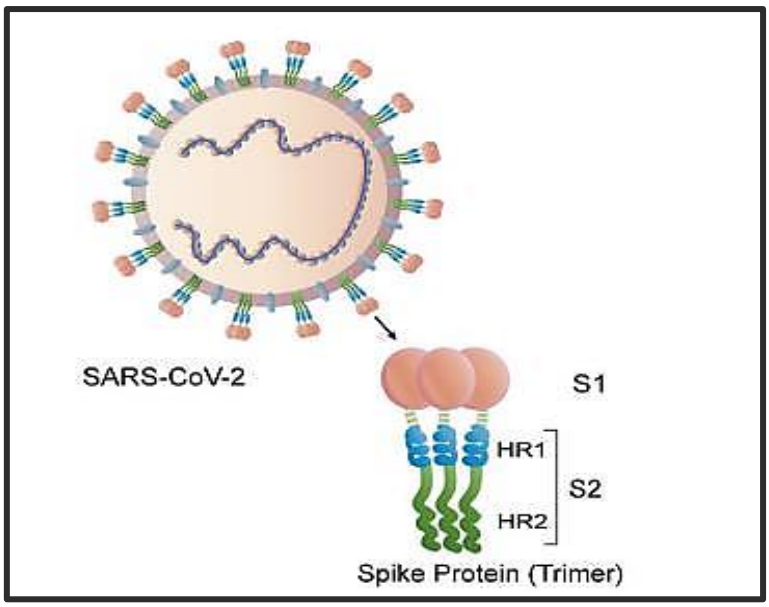


Figure I.3. Schéma d'un S protéine du SARS-CoV-2

- **Les sites actifs**

La sous-unité S1 elle se lie au récepteur de la cellule hôte et détermine ainsi la gamme d'hôtes et les types de cellules qu'un virus peut affecter.

Dans la sous-unité S1, il y a un domaine N-terminal (résidus 14-305) et un domaine de liaison aux :

✓ Les récepteurs (RBD, résidus 319-541)

✓ Le peptide de fusion (FP) (résidus 788-806)

✓ La séquence de répétition heptapeptidique 1 (HR1) (résidus 912-984), HR2 (résidus 1163-1213)

✓ Le domaine TM (résidus 1213-1237)

✓ Le domaine cytoplasmique (résidus 1237-1273)

Le RBD situé dans la sous-unité S1 est important car il se lie au récepteur cellulaire ACE2 et permet au virus d'infecter les cellules. La région RBD est une cible critique pour neutraliser les anticorps.

L'analyse du RBM (motif de liaison aux récepteurs, une partie du RBD entrant en contact direct avec ACE2) du SARS-CoV et du SARS-CoV-2 a révélé que la plupart des résidus essentiels à la liaison à l'ACE2 dans la protéine S du SRAS-CoV sont conservés dans la protéine S du SRAS-CoV-2 . Cependant, certaines études ont montré que les anticorps monoclonaux murins (mAbs) et les anticorps polyclonaux contre le SRAS-RBD sont incapables d'interagir avec le Protéine S du SRAS-CoV-2, révélant des différences d'antigénicité entre le SARS-CoV et le SARS-CoV-2.

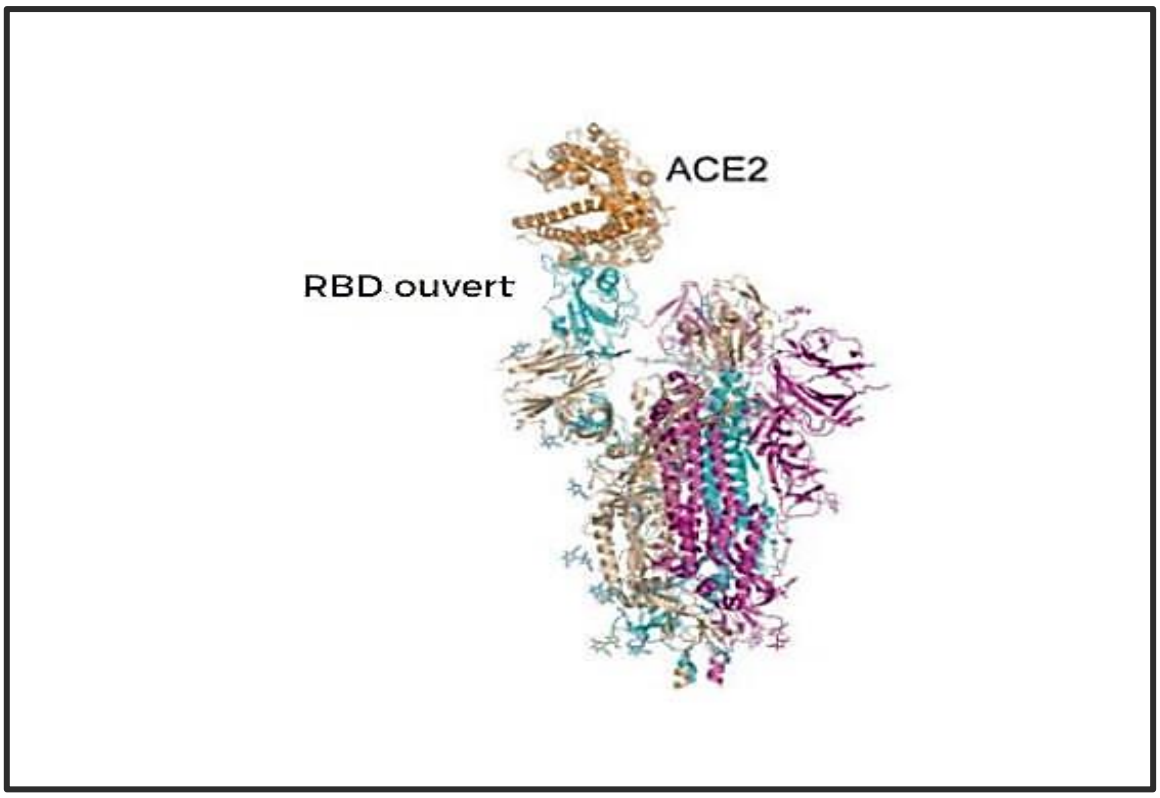


Figure I. 4. Représentation structurelle de la protéine S se lie à ACE2 avec RBD ouvert dans la sous-unité S1

- **La sous-unité S2**

Elle assure la fusion du virus avec la membrane de la cellule hôte. Elle contient différents motifs, dont un appelé « peptide de fusion » qui s'insère dans la membrane cellulaire pour déclencher le phénomène de fusion entre le virus et la cellule infectée.

Ces deux sous-unités restent liées de manière non covalente à l'état de perfusion.**(Walls et al., 2020)**

La sous-unité distale S1 forme les domaines de liaison aux récepteurs (RBD) et stabilise la sous-unité S2 qui possède le mécanisme nécessaire à la fusion à l'état de perfusion **(Gui et al., 2017)**.En outre les homotrimères S contiennent nombreux glycannes N-liés qui sont nécessaires pour atteindre la structure correcte et l'accès aux protéases et aux anticorps neutralisants de l'hôte.**(Walls et al., 2020)**

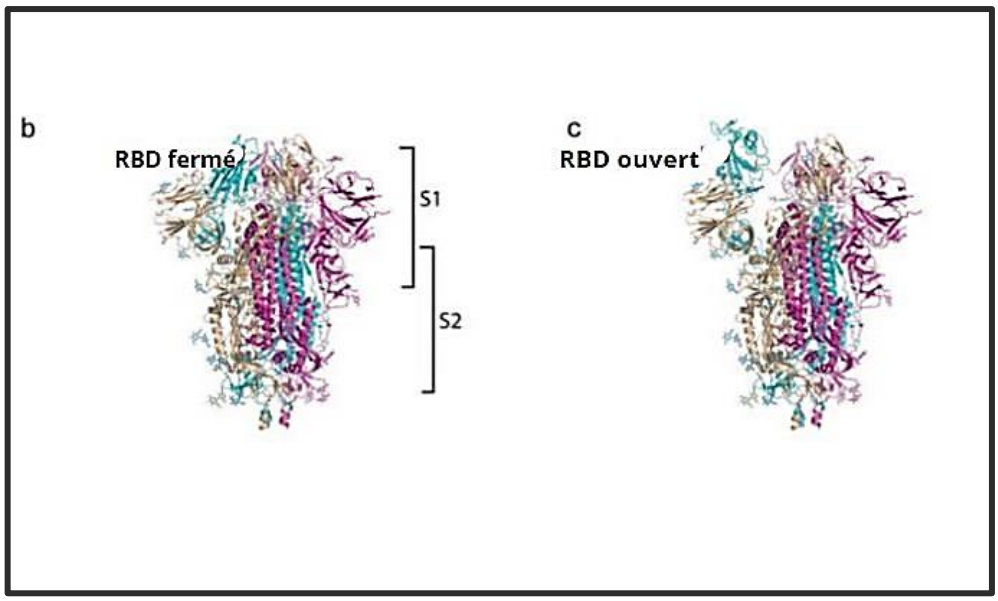


Figure I.5. Le RBD de la protéine S en état fermé et ouvert

Le RBD passe d'un état « fermé » (down) où la liaison avec le récepteur ACE2 est bloquée à un état « ouvert » (up) qui expose le site de liaison au récepteur ACE2 et permet sa fixation à celui-ci. Après fixation au récepteur ACE2 et clivage de la protéine S, la sous- unité S2 subit des changements de conformation qui aboutissent à la libération d'un segment (appelé peptide de fusion) qui, en s'insérant dans la membrane cellulaire, participe à la fusion membranaire entre le virus et la cellule. **(Huang et al., 2020)**

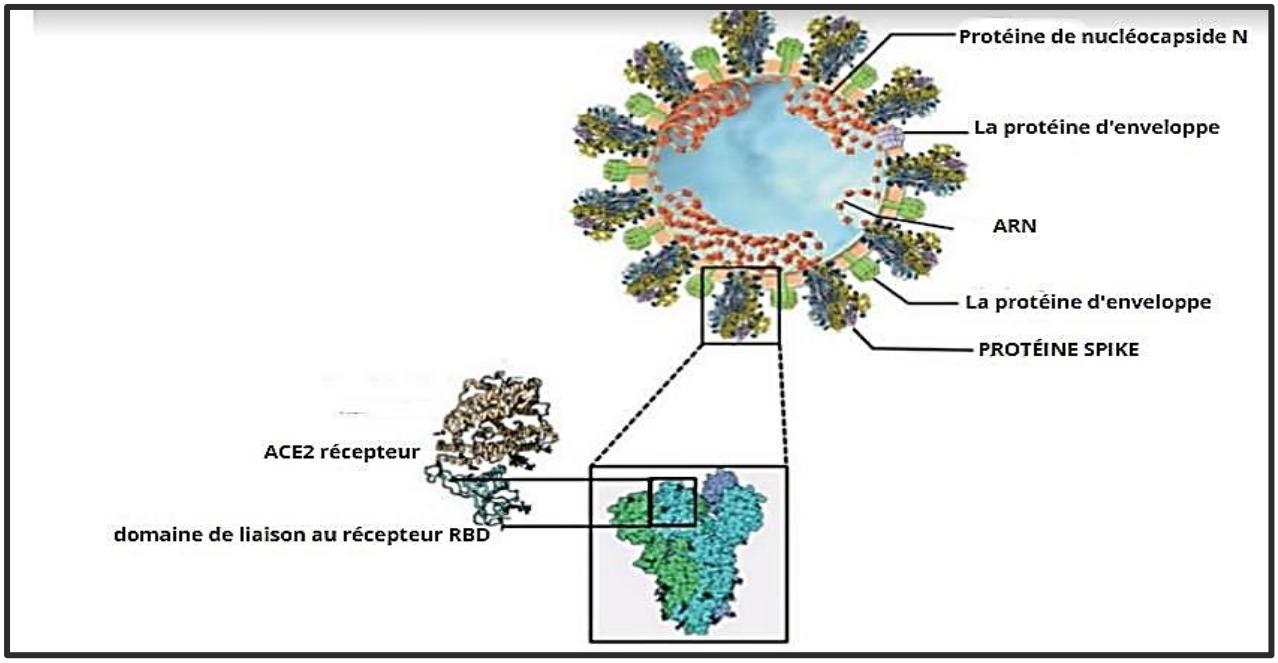


Figure I.6. Structure Détaillé d'un SARS COV-2

4. La propagation

Il y a différentes étapes impliquées dans l'entrée et la propagation du virus à l'intérieur du corps humain, qui sont décrites ci-dessous :

4.1. L'Attachement

Le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) est un récepteur de carboxypeptidase liant le zinc, exprimé à la surface des cellules de différents systèmes d'organes, à savoir les poumons, le cœur, l'iléon, l'intestin grêle, le rein, la vessie et autres **(Payne, 2017; Yao et al., 2020) ,**La protéine Spike du virus SARS-CoV-2 se lie au récepteur ACE2 des cellules humaines via son domaine de liaison au récepteur (RBD), qui contient un noyau et un motif de liaison au récepteur (RBM). Deux points chauds de liaison au virus, Lys31 et Lys353, ont été identifiés dans l'interface ACE2-SARS-CoV-2 et sont essentiels pour la liaison virale. Ce processus détermine la tropisme des cellules et des tissus hôtes et est la première étape de l'infection virale.

4.2. La Pénétration

Le site de clivage furine permet au virus de se propager rapidement et d'affecter différents organes. La protéine S du virus est activée par la protéase TMPRSS2 ou par le clivage furine. Si la protéine S est activée par TMPRSS2, la membrane virale fusionne avec la membrane plasmique, ce qui permet une réplication virale efficace. Si les virions sont capturés dans des endosomes, la cathepsine L active la protéine de spicule, mais cette méthode est moins efficace et peut être bloquée par des agents lysosomotropes.

4.3. La Biosynthèse

Lorsqu'un coronavirus infecte une cellule, il libère son matériel génétique dans le cytoplasme. Les ribosomes de la cellule hôte traduisent le génome viral, qui contient 14 cadres de lecture ouverts codant pour différentes protéines. Les protéines non structurales sont traduites en premier en pp1a et pp1ab grâce à un mécanisme de décalage de cadre ribosomal, puis clivées en nsp1-nsp11 et nsp1-nsp16 par des protéases. Ces protéines jouent un rôle important dans la formation du complexe réplicase-transcriptase (RTC) avec la polymérase ARN-dépendante de l'ARN polymérase (RdRp) dans des vésicules à double membrane (DMV), ce qui conduit à la transcription de l'ARN messager de sens positif.

4.4. La Maturation

Pendant la biosynthèse, des protéines sous-génomiques sont transformées en protéines structurales (N, M, S, E). Elles sont formées sur des vésicules à paroi lisse dans le réticulum endoplasmique, puis transportées vers l'ERGIC. La protéine N se lie à l'ARN génomique et

s'associe avec la protéine M pour former des bourgeons dans les membranes du réticulum endoplasmique / Golgi. La protéine M produit des courbures de membrane pour l'incorporation dans les membranes, et les protéines S et E sont acquises pendant le bourgeonnement. **(Cure & Cure, 2020; Payne, 2017)**

4.5. La libération des Variants

Les variants synthétisés sont libérés de la cellule hôte par exocytose. L'activité des canaux ioniques de la protéine E est celle d'un viroporine. Elle modifie les voies de sécrétion cellulaire pour accélérer la libération des virions de la cellule. Elle augmente le pH des vésicules de transport. Une fois que ces vésicules fusionnent avec la membrane plasmique, les virions sont libérés pour continuer à infecter d'autres cellules. **(Payne, 2017)**

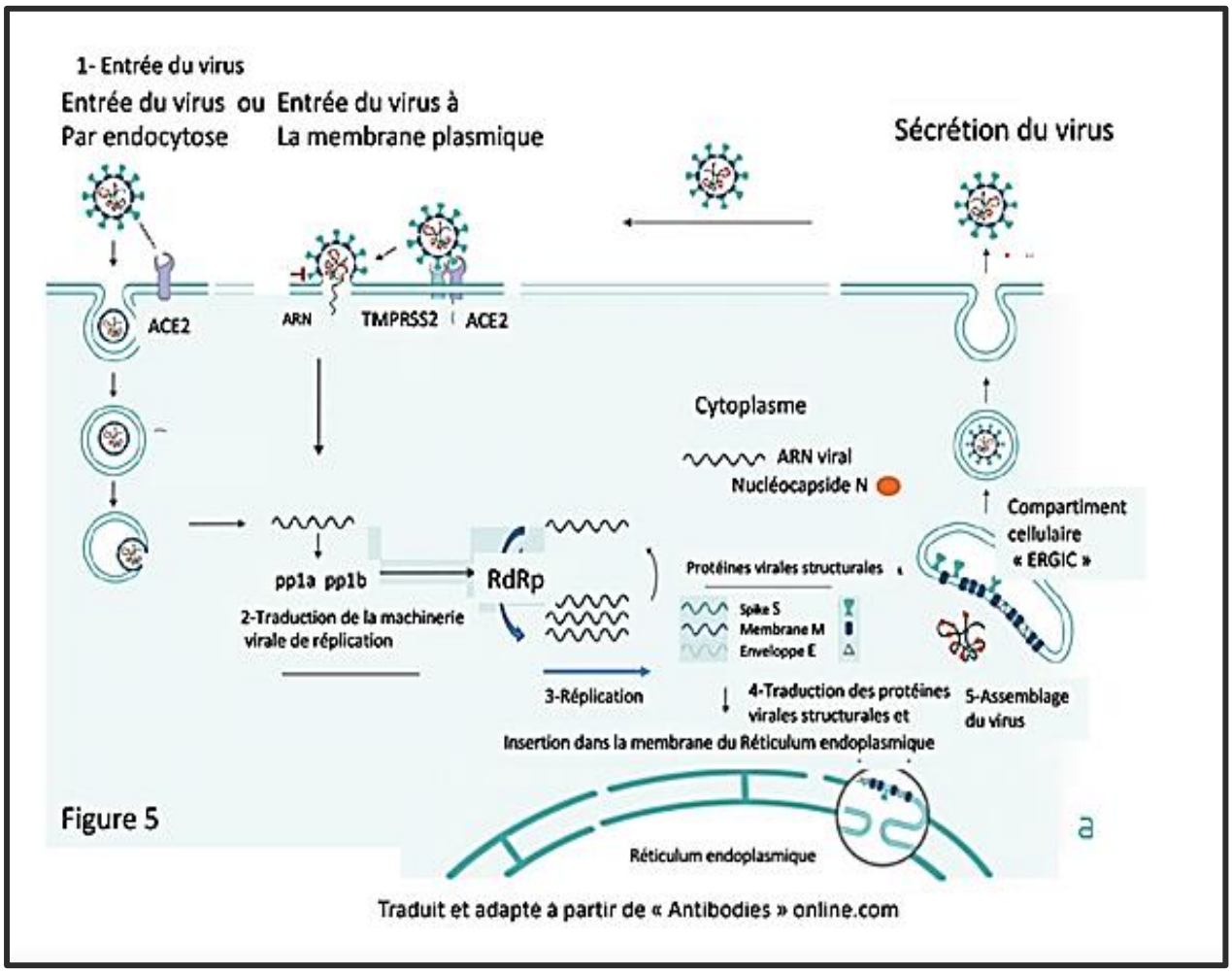


Figure I.7. Cycle de vie du SARS-CoV-2 à l'intérieur d'une cellule hôte

5. La transmission du SARS COV-2

5.1. La transmission animale-homme

Les premiers cas de COVID-19 ont été identifiés parmi les travailleurs du marché de gros de fruits de mer de la mer de Chine méridionale à Wuhan, en Chine. Les analyses phylogénétiques ont indiqué que le SARS-CoV-2 présente la plus grande similarité de séquence génomique avec un coronavirus de chauve-souris, le Bat-CoV-RaTG13 du Rhinolophus affnis **(Hu et al., 2018),** suggérant que le SARS-CoV-2 aurait pu être transmis de chauves-souris à des mammifères sauvages vendus sur le marché de fruits de mer de Wuhan. De plus, le SARS-CoV-2 était étroitement lié au Pangolin-CoV isolé du pangolin malais (Manis javanica) **(Ma et al., 2020)**

5.2. Transmission interhumaine

Comme pour tout pathogène respiratoire, la transmission du SARS-CoV-2 est principalement due aux gouttelettes respiratoires émanant des éternuements et de la toux. En plus de cela, la transmission par aérosols est également très probable pour aider à la propagation du virus, surtout dans les espaces clos. La présence du virus dans les échantillons de selles de patients atteints de COVID-19 indique que le virus peut survivre et se répliquer dans le tractus gastro-intestinal. Cela suggère la possibilité d'une transmission par voie fécale-orale **(Holshue et al., 2020)** De plus, il y a eu des rapports dans les médias d'un nouveau-né de 30 heures qui a été testé positif pour COVID-19, suggérant une possibilité de transmission de la mère au fœtus in utero. **(D'Amore, 2020)**

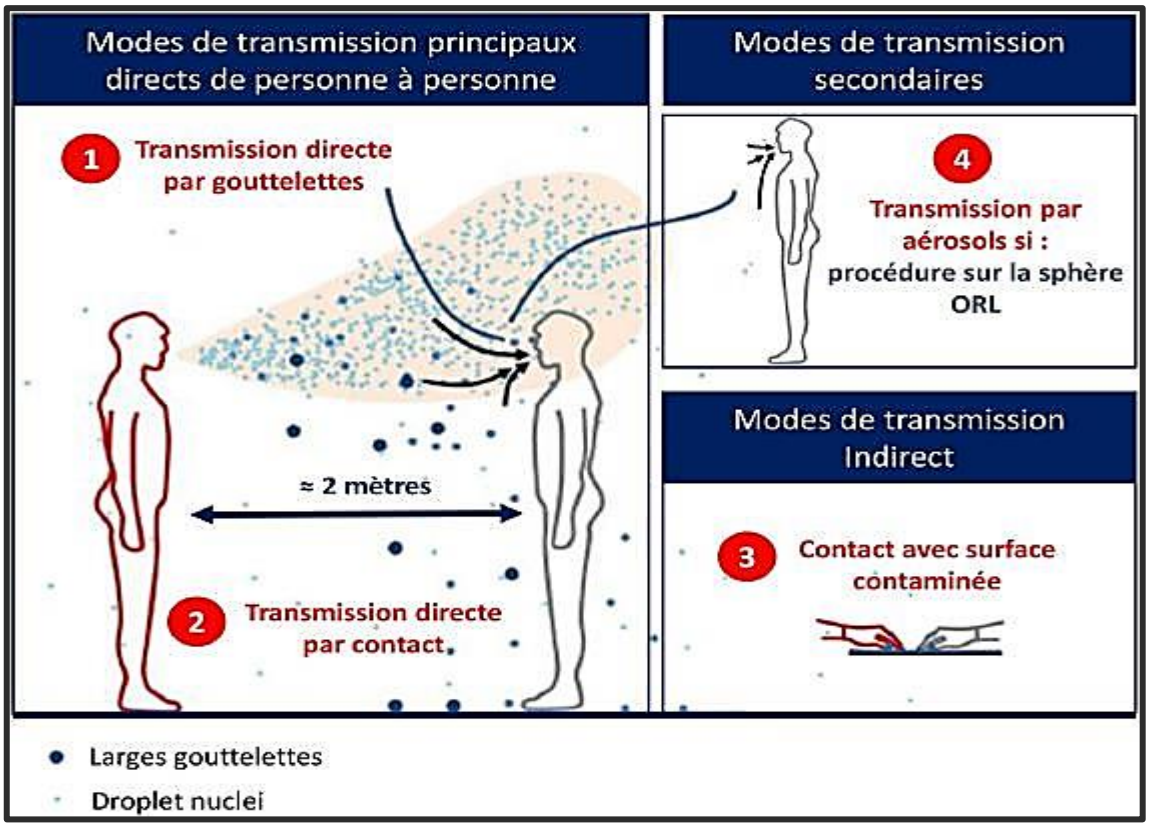


Figure I.8. Les différents Modes de transmission interhumaine de SARS-CoV-2

6. Les symptômes

- **Selon les symptômes cliniques**

Selon **(Wang, Li, Lu, & Huang, 2020)**, les symptômes cliniques du COVID-19 apparaissent après une incubation de 5,2 jours en moyenne. La durée entre les symptômes et la mort varie de 6 à 41 jours (moyenne de 14 jours), et est plus courte chez les patients de plus de 65 ans,

Les personnes ayant des conditions sous-jacentes telles que l'asthme,le diabète, le VIH, l'hypertension, le cancer et les maladies cardiaques, ainsi que celles ayant un système immunitaire affaibli, sont plus à risque de complications graves.

En fonction de la gravité de la maladie COVID-19, les symptômes cliniques peuvent être classés en formes légères, modérées, graves et critiques :

a) Maladie légère

La plupart des patients atteints de COVID-19 ont présenté des symptômes non pneumoniques ou de légères pneumonies tels que toux sèche, mal de gorge, fièvre légère,congestion nasale, fatigue, myalgies ou maux de tête **(Cascella, Rajnik, Aleem, Dulebohn, & Di Napoli, 2022).**

b) Maladie modérée

Les symptômes de la forme modérée de la maladie comprennent une toux, de la fièvre (>37,8 °C), des diarrhées, des nausées, des vomissements et une difficulté à respirer ou Une tachypnée chez les enfants sans symptômes de pneumonie **(Cascella et al., 2022).**

c) Maladie grave

14% des cas signalés au total ont souffert de COVID-19 sévère et ont présenté des symptômes tels que des dyspnées sévères (une respiration courte et difficile) avec une fréquence respiratoire de plus de 30/min, une douleur thoracique, des douleurs abdominales, des lésions rénales aiguës, une hémoptysie, une confusion et une lymphopénie **(Chen, 2020; Ren et al., 2020)**

d) Maladie critique

Seuls 5% des cas confirmés ont souffert de la maladie sous sa forme critique. Ils ont présenté des symptômes tels que l'insuffisance respiratoire, les lésions cardiaques aiguës, lesyndrome de détresse respiratoire aiguë, le choc septique et une dysfonction ou une défaillance de plusieurs organes. **(Cascella et al., 2022)**

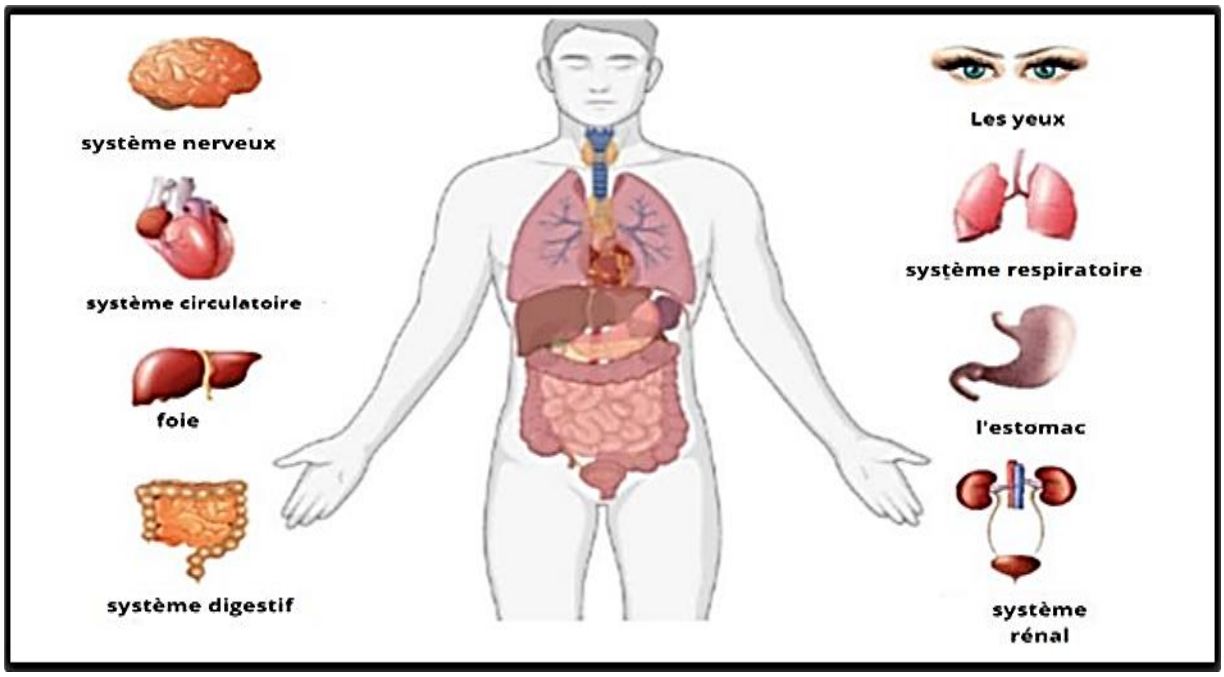


Figure I.9. Les différents organes du corps affectés chez un patient atteint de COVID-19 sont confirmés sur la base des caractéristiques cliniques ou d'une biopsie du patient

- **Selon le diagnostic**

Les patients atteints de la COVID-19 présentent des symptômes cliniques non spécifiques qui ne peuvent pas être utilisés pour un diagnostic précis de la maladie. Selon Guan et al., la plupart des patients en Chine ont eu de la fièvre avant ou après leur hospitalisation **(Guan et al., 2020)**. Beaucoup de ces patients ont également présenté une toux (68 %), une production de crachats (34 %), de la fatigue (38 %) et des difficultés respiratoires (19 %)
(Guan et al., 2020; Kobayashi et al., 2020)

- **Selon les tests standards**

Les patients atteints de COVID-19 ont des niveaux élevés d'enzymes telles que l'ALT, la LDH et l'AST, ainsi que des niveaux élevés de D-dimère, de neutrophiles, d'HS-troponine et de CRP **(Guan et al., 2020; Ren et al., 2020)**.Des études ont également montré que les patients souffrent d'éosinopénie, de lymphopénie, d'un temps de prothrombine prolongé et de thrombocytopénie. L'éosinopénie et la lymphopénie sont les problèmes les plus courants chez les patients atteints de COVID-19, mais l'éosinopénie a une sensibilité et une spécificité faibles malgré son association avec la maladie.

7. Les Traitements contre le COV-SARS 2

Les options de traitement actuelles pour la COVID-19 comprennent des thérapies symptomatiques, des vaccins spécifiques, et des thérapies expérimentales telles que les médicaments antiviraux, le traitement médical chinois, la thérapie d'immunomodulation, la thérapie de plasma de convalescent, le lavage broncho-alvéolaire et la purification sanguine. Le remdesivir et la chloroquine ont montré un certain potentiel dans le contrôle de la COVID-19 in vitro et chez un patient, mais leur efficacité et leur sécurité doivent être établies dans des essais précliniques et cliniques **(Holshue et al., 2020; M. Wang et al., 2020).** Pour les vaccines, L'OMS recommande l'utilisation de Paxlovid pour traiter les formes bénignes et modérées de la COVID-19 chez les patients à haut risque d'hospitalisation. Les pays à revenu faible et intermédiaire rencontrent des défis pour le déploiement, notamment les tests rapides et précis, la disponibilité, les prix et les accords de licence.

8. Les méthodes d'inhibition du virus

- **Inhibition de l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule**

La 1ère stratégie vise à empêcher le virus de pénétrer dans la cellule en jouant sur les mécanismes nécessaires à la fixation du virus à son récepteur, son endocytose ou la fusion membranaire.

- **Inhibiteur de TMPRSS2**

l'inhibition de TMPRSS2 par le camostate, réduit significativement l'infection des cellules par le SARS-CoV-2 in vitro **(Hoffmann et al., 2020)** et fait l'objet de plusieurs essais cliniques.

- **Umifenovir (Arbidol) :** agissant par inhibition de la fusion du virus avec la membrane cellulaire **(Pécheur et al., 2016) ,** l'Arbidol présente une activité contre le SARS-CoV-1 in vitro (**Khamitov et al**., **2008**) . Très utilisée en Chine, cette molécule fait l'objet de plusieurs essais cliniques.
- **Chloroquine et hydroxychloroquine** : en plus de leurs effets antipaludiques et immunomodulateurs, la chloroquine et l'hydroxychloroquine inhibent la réplication de nombreux virus in vitro dont le SARS-CoV-2.Par ailleurs, des données in vitro suggèrent que la chloroquine modifie la glycosylation d'ACE2 et inhibe ainsi la fixation du SARS-CoV-1 (**Vincent et al**., **2005**).

- **Inhibition de la protéase du SARS-CoV-2**

Cette stratégie s'intéresse à cibler les protéases virales indispensables à la réplication. Des traitements développés contre la protéase du VIH ont montré une certaine efficacité in vitro contre le SARS-CoV-1 et le SARS-CoV-2, notamment le lopinavir/ritonavir qui a été utilisé comme traitement du SARS-CoV-1 et associé à une diminution de la mortalité**. (Stockman et al ;2006 , Choy et al 2020)**

- **Inhibition de la synthèse de l'ARN viral**

Dans le cas du SARS-CoV-2, plusieurs molécules se repositionnent comme des candidats prometteurs, notamment le favipiravir (inhibiteur d'ARN polymérase virale), le remdesivir (inhibiteur de réplication virale) et la ribavirine (inhibiteur d'ARN-polymérase de nombreux virus à ARN). Cependant, leur efficacité in vitro contre le SARS-CoV-2 est Limitée. (**Wang et al ;2020)**

9. Les efforts pour inhiber le virus

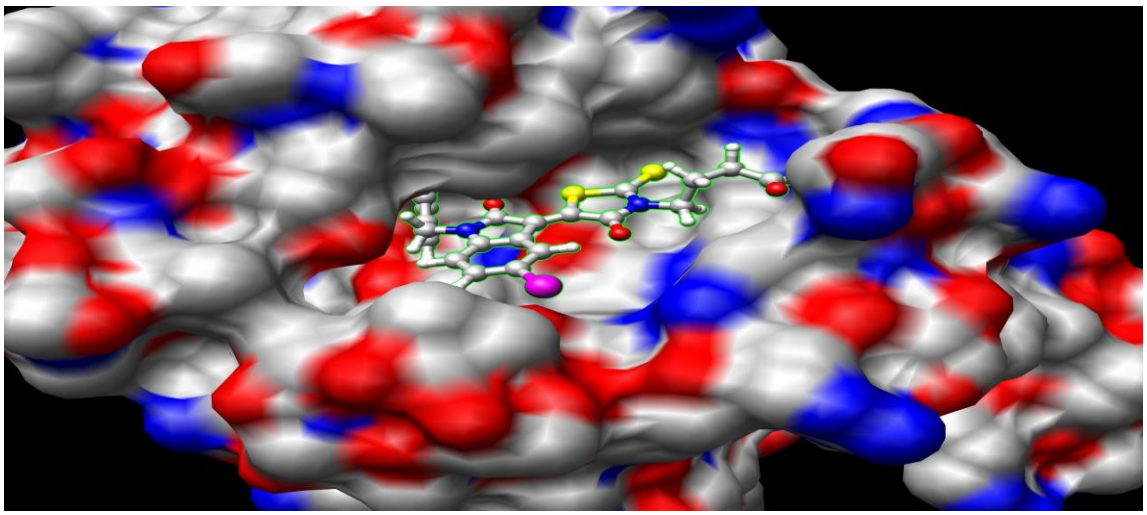
Selon B. Canard (2022), les médicaments antiviraux peuvent cibler des parties peu variables du virus, comme les enzymes (protéase, polymérase, etc.) identiques chez tous les SARS-CoV2 et leurs variants. L'ARN polymérase virale est une protéine centrale dans la multiplication du virus et une cible intéressante pour les traitements. Certains médicaments comme le Favipiravir, le Remdesivir et le Molnupiravir ont des inconvénients, mais l'AT-527 est un analogue de nucléotide qui leurre le complexe ARN polymérase de plusieurs virus pathogènes humains, y compris les coronavirus. Il bloque la synthèse des génomes viraux et sa base guanine naturelle lui confère une absence de potentiel mutagène. La biodisponibilité orale

du AT-527, son absence de toxicité et son double mécanisme d'action sur les sites actifs RdRp et NiRAN en font un médicament prometteur contre la COVID-19 et les coronavirus existants et à venir.

10. Le rôle du $3CL^{pro}$ dans la découverte de médicaments contre la COVID-19

La protéase principale ($3CL^{pro}$) est une cystéine protéase, sa séquence protéique est identique à 96 % à celle des protéases $3CL^{pro}$ des autres coronavirus, qui ont été très étudiées **(Juckel et al., 2020) ,** &La $3CL^{pro}$ clive exclusivement les séquences polypeptidiques virales 11 fois au niveau de motifs Leu Gln-(Ser/Ala/Gly). L'inhibition de l'activité de cette enzyme bloquerait la réplication virale. Elle est positionnante comme une cible médicamenteuse idéale car, aucune protéase de cellule hôte humaine n'est connue avec cette spécificité de substrat(**Zhang et al**., **2020**) , donc $3CL^{pro}$ joue un rôle clé dans le cycle de vie de la réplication et de la maturation du coronavirus.

CHAPITRE II
DOCKING MOLECULAIRE



1. Introduction

L'emploi des outils de l'informatique dans la recherche en biologie, chimie et médecine est devenu incontournable , Pour optimiser un médicament en termes de temps et de précision, l'utilisation de l'intelligence artificielle et ses paradigmes dans les différentes étapes de ce processus, nommée la conception de médicament assistée par ordinateur « CADD », représente un axe de recherche très actif, Le Criblage Virtuel « Virtual Screening » est une technique CADD, Dans ce chapitre, nous allons présenter le criblage virtuel avec ses deux catégories principales et on connait la méthode la plus connue QSAR et quelques notions fondamentales sur le Docking moléculaire.

2. La conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD)

La conception de médicaments assistée par ordinateur (Computer-Aided Drug Design ou CADD en anglais) est un domaine de la recherche pharmaceutique qui utilise des méthodes et des outils informatiques pour faciliter le processus de découverte et de développement de nouveaux médicaments. Il s'agit d'une approche multidisciplinaire qui combine des connaissances en chimie, en biologie, en pharmacologie et en informatique.

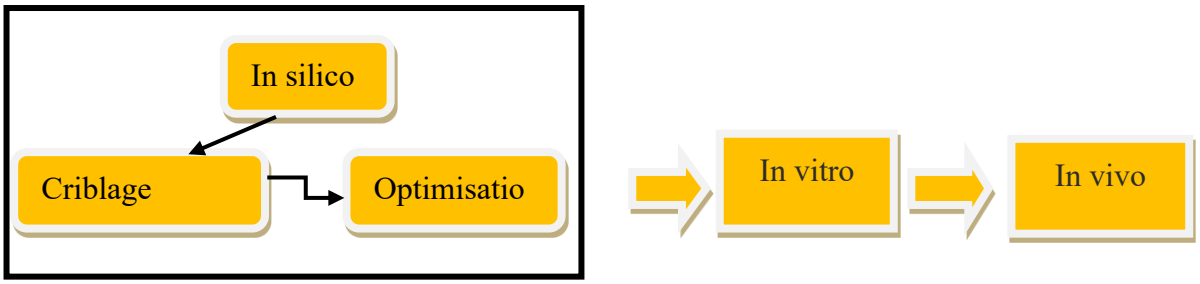
Dans le domaine de la conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) plusieurs méthodes dont :

3. Criblage virtuel

Le criblage virtuel peut schématiquement être ressemblé à un entonnoir dans lequel on verse un grand nombre (généralement entre cent mille et dix millions) de composés, constituant la chimiothèque à cribler, pour obtenir, à l'aide d'un algorithme, un plus faible nombre de composés (médicaments-candidats) qui seront ensuite testés expérimentalement.**(Lagarde, 2014).**

Pratiquement, l'utilisation des bases de données moléculaires « chimiothèques » dans un processus de criblage virtuel exige une méthodologie mathématique et informatique formelle qui doit permettre **(HORVATH & JEANDENANS, 2000)**

- L'énumération des structures des composés contenus dans les bases de données.
- La représentation de chaque structure par un descripteur moléculaire (numérisation des données), soit un vecteur localisant chaque composé dans un point d'un « espace structural » ainsi défini.



❖In silico : un essai effectué au moyen de calculs complexes informatisés ou de modèles informatiques.

❖ In vitro : une activité expérimentale réalisée sur micro-organismes, organes ou cellules en dehors de leur contexte naturel.

❖ In vivo : examens pratiqués sur un organisme vivant.

Figure II.1. Position du criblage virtuel dans la conception actuelle des médicaments

- La définition d'une métrique de (dis) similarité entre deux composés, représentant la « Distance » entre les vecteurs descripteurs de ces molécules dans l'espace structural.

3.1. Différents types de criblage virtuel

Généralement, il existe deux catégories principales dans le criblage virtuel (**Kucera, 2016**):

- Les méthodes basées sur les ligands.
- Les méthodes basées sur la structure.

Entre les deux, il existe des méthodes dites hybrides (**Figure 1.2**).

3.1.a. Criblage virtuel basé sur les ligands

Les méthodes de criblage virtuel basées sur les ligands « Ligand Based Virtuel Screening » sont utilisées lorsque les informations sur la cible sont introuvables, c'est-à-dire l'absence de la structure 3D de la cible, elles exploitent les propriétés moléculaires non-structurelles des ligands pour modéliser les interactions avec la cible. **(Rifaioglu et al., 2019)**

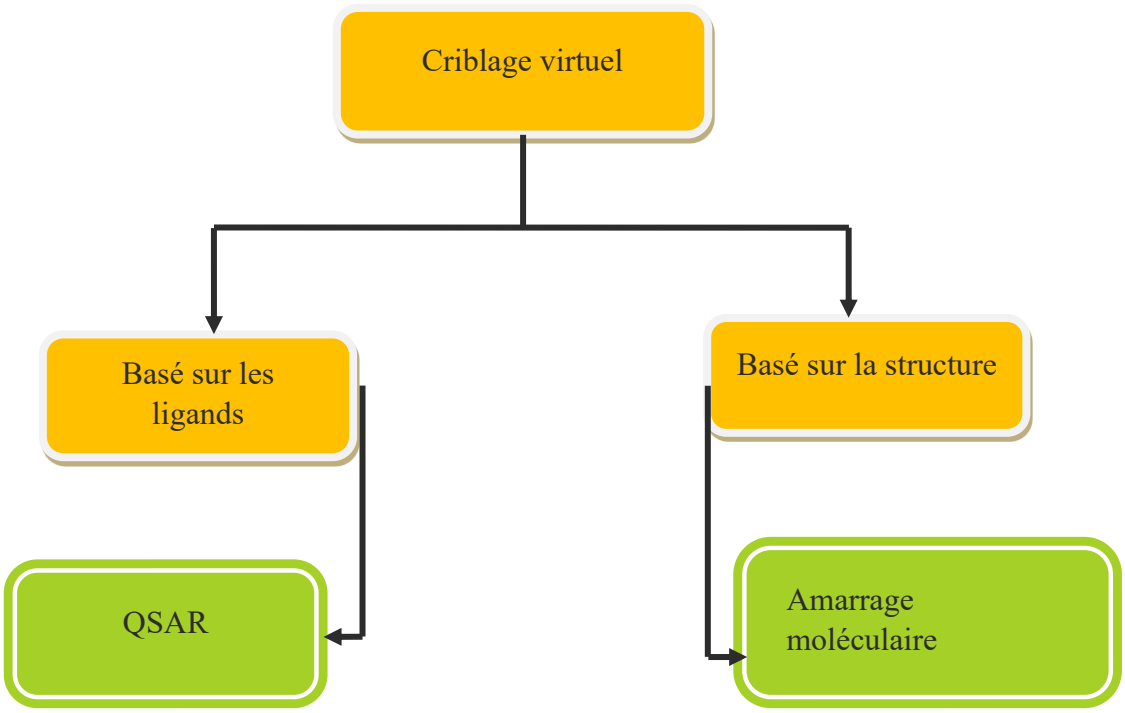


Figure II.2. Aperçu sur les deux méthodes de criblage virtuel les plus fréquentes

❖ **La méthode QSAR**

La méthode QSAR « Quantitative Structure-Activity Relationship » vise à de trouver une corrélation entre la structure de la molécule et l'activité. Elle permet de décrire mathématiquement la relation entre les caractéristiques (descripteurs) structurelles d'un ensemble de composés (ligands) et leur réponse cible. **(Kotla et al., 2020)**

3.1.b. Criblage virtuel basé sur la structure

Ce type de criblage virtuel est utilisé lorsque la structure 3D des deux, cible et composés, sont disponibles pour modéliser l'interaction ligand-cible.

❖ **Le Docking moléculaire**

Le Docking moléculaire a pour but de prédire la conformation et l'orientation d'un ligand dans le site actif de la protéine, ainsi que la détermination de mode d'interaction des liaisons probables, et énergétiquement, en prédisant l'affinité de liaison **(Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019; Duhovny, Nussinov, & Wolfson, 2002)** .Le processus Docking moléculaire implique deux étapes fondamentales qui sont le Docking et le Scoring **(Figure II.2).**

- ✓ Le Docking est l'étape des algorithmes utilisés pour la prédiction de la conformation du ligand ainsi que sa position et son orientation dans le site actif de la protéine (généralement appelés pose).

- ✓ Le Score est l'étape de l'évaluation de l'affinité de liaison entre le ligand et le récepteur et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking. Deux étapes sont respectivement liées aux méthodes d'échantillonnage. **(Kitchen, Decornez, Furr, & Bajorath, 2004; Morris & Lim-Wilby, 2008)**

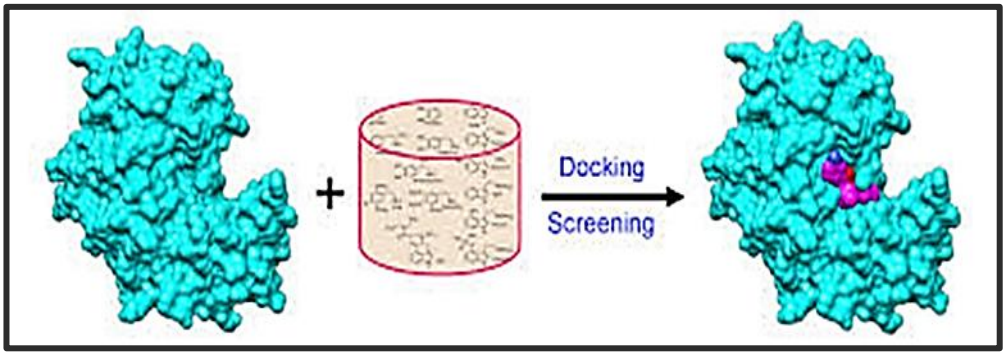


Figure II.3. Principe général d'un programme de docking

4. Le Docking moléculaire

4.1. Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux**.** Le choix du ligand est une étape très importante dans le Docking moléculaire, il doit être sous forme 3D Pour y obtenir, il existe deux moyens : la première souvent d'aspect commercial ; est constituée de bases de données de structures chimiques appelés : chimio thèques Le second moyen consiste à utiliser ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou SybylX… **(Aurélien, 2006).** Un ligand peut être :

- ➢ **Un substrat :** molécule qui se fixe au site actif de la protéine ou de l'enzyme pour subir une action : (décarboxylation, hydrolyse, déshydrogénation …).
- ➢ **Coenzyme :** molécule qui complète l'action de certaines enzymes.
- ➢ **Activateur :** composé chimique qui entraine un changement de conformation du site actif de l'enzyme pour augmenter son affinité pour le substrat.
- ➢ **Inhibiteur :** contrairement à l'activateur, ce type de ligand modifie la structure électronique du site actif diminuant l'affinité de l'enzyme pour son substrat **(Renvez, 2010)**.

4.2. Récepteur

Récepteur est macromoléculaire étant le plus souvent une protéine **(El Hadji Said, 2016)**. Pour l'obtention des récepteurs, on utilise les structures 3D des protéines qui sont accessibles gratuitement dans la banque de donnée PDB (http://www.rcsb.org/pdb/). Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN). Les données structurales sont obtenues par cristallographie aux rayons X,spectroscopie RMN et sont accessibles gratuitement sur internet via des sites Web définis de ses organisations membres dont : RCSB PDB, PDBj, PDBe,…etc., la PDB compte plus de 141616 structures de bio-macromolécules. Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de Docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolue la structure, la méthode expérimentale, …etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée **(Douguet, 2007; L. Martin, 2006)**.

5. Représentations simplifiées des phénomènes de Docking moléculaire

Les processus de reconnaissance moléculaire sont généralement représentés de manière simplifiée sous la forme du modèle clé-serrure voir la (**Figure II.3**) qui a été proposé par Hermann Emil Fischer dès 1894. Ce modèle fait apparaître la notion de complémentarité de forme entre une molécule et sa cible, et le complexe résultant est stabilisé par des interactions favorables entre les deux entités.

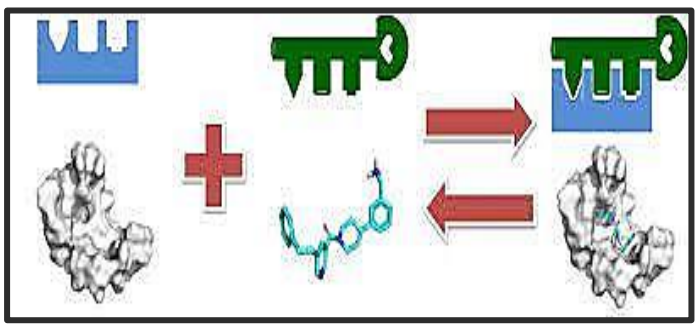


Figure II.4: Le modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur R

Cependant, une serrure et une clé sont des entités rigides contrairement aux molécules qui peuvent souvent adopter un ensemble de conformations stables, d'où la limite de ce modèle, certes très intuitif mais trop simpliste. La remise en cause de cette vision statique des choses a donné naissance à une forme alternative de représentation, à savoir le modèle main-gant ou d'ajustement induit (“induced fit”) proposé par Daniel Kos land en 1958.

Dans ce dernier, la main représente le ligand qui peut à la fois changer de conformation etinduire une modification de la forme du gant qui symbolise le récepteur. **(Horvath et al., 2009; Parent, Kökösy, & Horvath, 2007)**

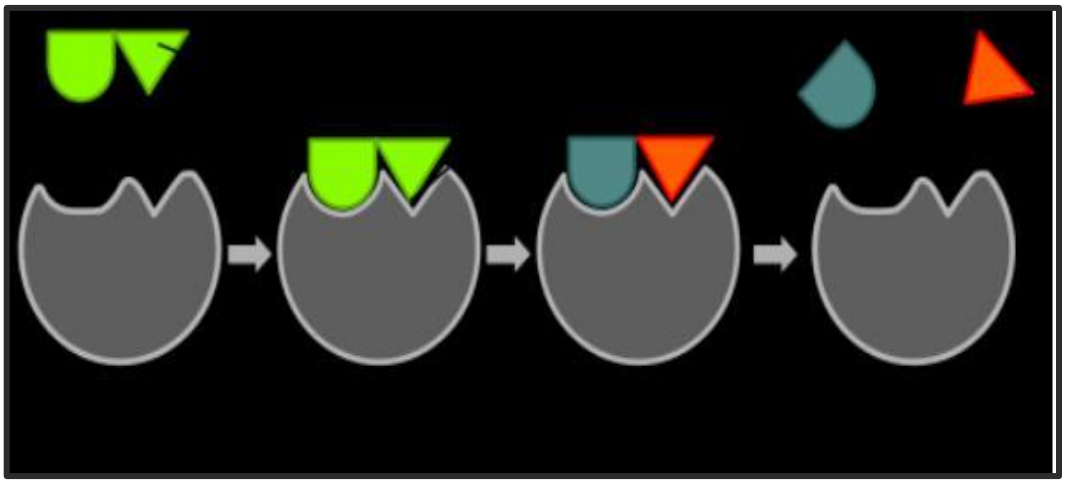


Figure II.5 : Le modèle d'ajustement induit pour modéliser la formation d'un Complexe

6. Interaction protéine-ligand

Le Docking moléculaire permet l’étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation du complexe ligand récepteur. Cette association est assurée grâce à Plusieurs types de liaisons faibles :

6.1. Interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques elles se forment lorsque deux groupements chimiques porteurs de charges opposées, se trouvent à une distance l'une de l'autre suffisamment proche pour créer une force d'attraction électrostatique entre elles (**Figure II.5**). Les molécules endogènes, notamment les protéines, et beaucoup de médicaments sont ionisés dans les milieux biologiques. Il existe donc entre ces molécules des forces d'attraction et de répulsion. Ce type de liaison est aussi appelé interaction ionique. **(Toumi, 2008).**

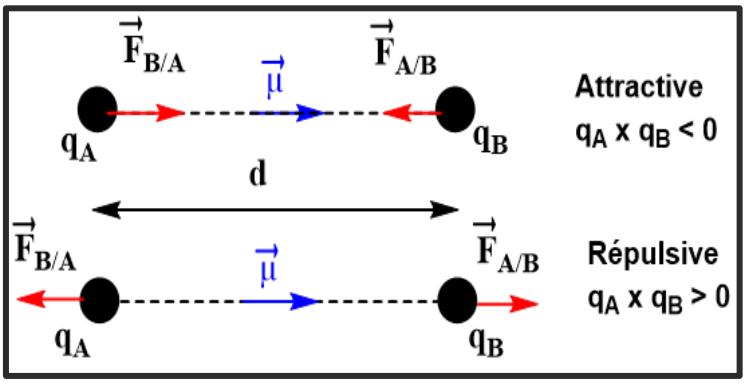


Figure II.6. Interactions électrostatiques

6.2. Les forces de Van Der Waals

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres (**Figure II.6**) Pour des atomes distants de 3-4 Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Les interactions de Van der Waals sont très faibles.**(Boudouira & Zidoune, 2017; Fournier et al., 2004)**

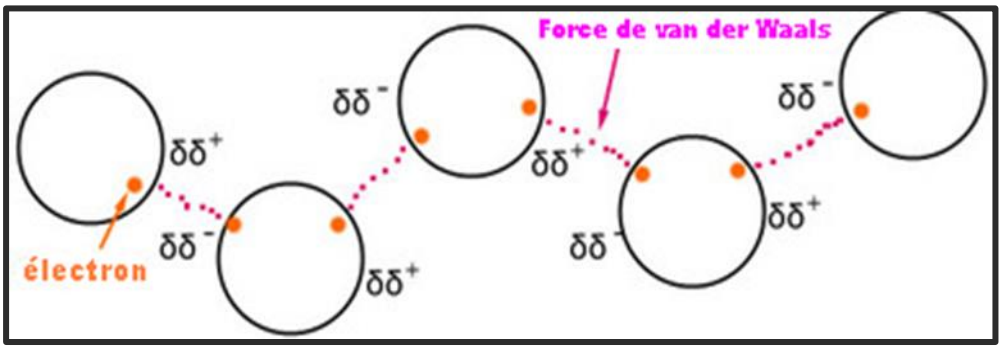


Figure II.7. Les interactions de Vander Waals

6.3. La liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes impliquant un atome d'hydrogène. C'est une liaison physique qui se situe entre la liaison covalente et l'interaction électrostatique. Le caractère covalent de la liaison hydrogène a été démontré à la fin des années 1990, mais la force d'interaction prédominante reste électrostatique **(Isaacs et al., 1999)**. Cette liaison ne s'effectue pas avec n'importe quel atome. Il faut un donneur et un accepteur (sous-entendu de proton) :

- Le donneur est l'atome d'hydrogène lié de manière covalente à un atome électronégatif ; typiquement azote, oxygène, fluor.

- L'accepteur est un autre atome électronégatif, uniquement azote, oxygène ou fluor. La liaison hydrogène est donc le résultat d'une interaction dipôle-dipôle (**Figure II.7**).
- Les liaisons hydrogène sont souvent décrites par deux paramètres : la longueur de la liaison et l'angle formé par les trois atomes. Les valeurs des angles et des distances varient respectivement de 90 à 180 degrés et de 1.2 à 4.0 Å **(Hioual & Chikhi, 2017)**.

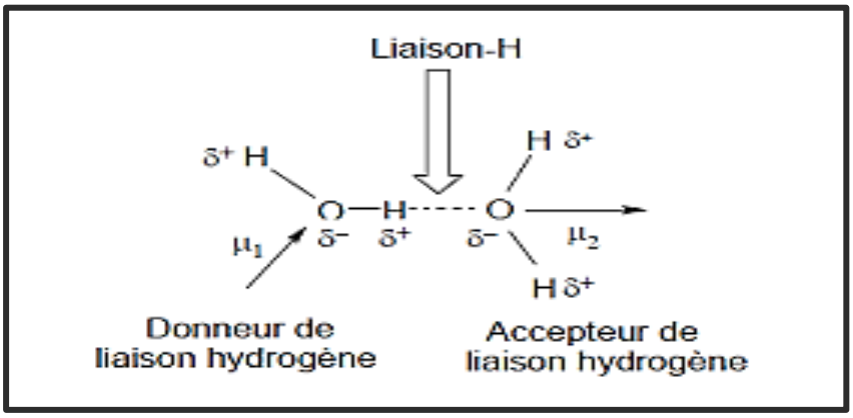


Figure II.8. La liaison hydrogène

6.4. Interactions hydrophobes

Les acides aminés dont le radical est hydrophobe et apolaire ont la propriété d'empêcher la formation des liaisons hydrogène entre les molécules d'eau (**Figure II.8**). Ils forment dans la structure des protéines des zones hydrophobes où les molécules d'eau ne peuvent échanger aucune liaison avec les radicaux d'acides aminés **(Salahi, 2016).**

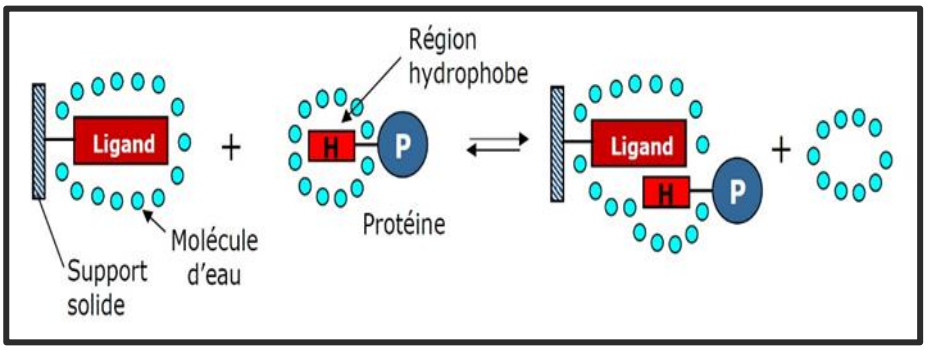


Figure II.9. Interaction hydrophobe

7. Processus de notation (scoring)

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du

passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme décomplexe. Le principe thermodynamique est le suivant :

$$\Delta G = \left|\Delta G_{complex}\right| - \left|\Delta G_{ligand}\right| - \left|\Delta G_{protéine}\right|$$

L'utilisation des fonctions de Scoring est double. Tout d'abord, elles permettent de déterminer la conformation qui représentera au mieux le ligand concerné. Cette conformation est appelée « première pose ». L'autre utilisation des scores est de pouvoir classer les premières poses déchoque ligand afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses.

Malgré tout, il subsiste encore beaucoup d'inconnues dans le mécanisme de reconnaissance lors de la formation des complexes tels que la formation de liaisons hydrogène, les termes entropiques ainsi que le rôle à jouer des molécules d'eau dans le processus de solvatation dé solvatation. Nous avons montré que le Docking est accompagné d'une multitude d'approximations. Il en va de même pour les fonctions de Scoring pour lesquelles il est impossible d'évaluer toutes les interactions intra et interatomiques. Bien que ces approximations existent, ces méthodes sont utiles pour nos applications de criblage virtuel. **(Parmar et al., 2022)**

8. Protocole général de Docking

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées parades outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives (**Figure II.9**) :

- Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.).
- Exploration conformation elle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou Flexible position/orientation/forme du ligand),
- Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de Score) des conformations issues de l'exploration,
- Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score, accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque la scorpène ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.

- Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire. Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison.

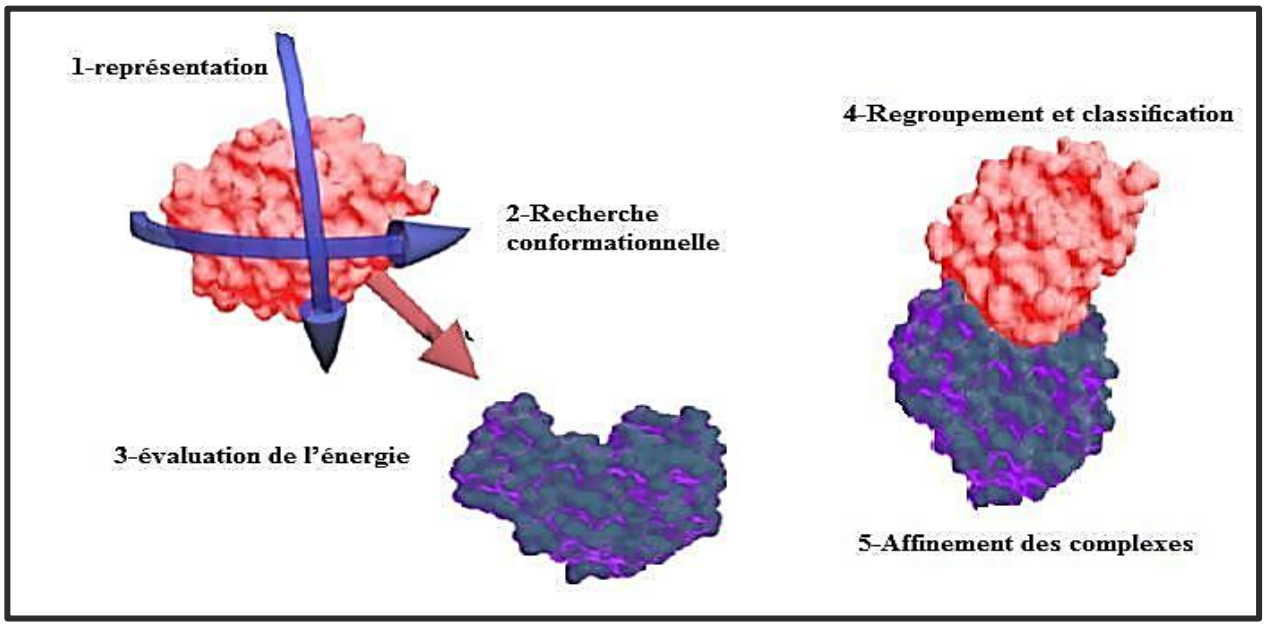


Figure II.10. Protocole général de Docking

9. Paramètres Drug-Like

La similarité médicamenteuse ou « Drug likeness » est un concept qualitatif utilisé en Drug Design pour estimer combien une molécule et « Drug-Like » en ce qui concerne des facteurs comme la biodisponibilité. Il est estimé à partir de la structure moléculaire avant même que la substance soit synthétisée et testée. Drug likeness peut être défini aussi comme un équilibre complexe de diverses propriétés moléculaires et caractéristiques de structure qui détermine si une molécule particulière est similaire aux médicaments connus. Ces propriétés, principalement l'hydrophobicité, la distribution électronique, les caractéristiques de liaison hydrogène, la taille et la flexibilité des molécules et la présence de diverses caractéristiques pharmacophoriques influent sur le comportement de la molécule dans un organisme vivant, notamment sa biodisponibilité, ses propriétés de transport, sa réactivité, sa toxicité la stabilité et beaucoup d'autres définir l'espace chimique de la ressemblance avec les médicaments. Les critères les plus utilisés pour l'espace chimique de type médicamenteux sont la règle de Lipinski et Veber. **(E. J. Martin & Critchlow, 1999).**

9.1. Règle de Lipinski

Un contributeur majeur dans le domaine de la caractérisation de composés « Drug-like » est Lipinski avec la « règle des 5 » **(Lipinski, Lombardo, Dominy, & Feeney, 1997)**. Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés « Drug-like »**(Ranjani & Hemalatha, 2021)** . D'après cette règle, les composés ne validant pas au moins deux des critères suivants ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité. Chaque médicament potentiel doit se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologique d'absorption, de distribution, métabolisme, d'excrétion et de toxicitéqui est basée sur la règle de 5.Cette règle décrit un ensemble de critères, permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D) **(Boucherit et al., 2013)** « règles de Lipinski » ou «la règle de 5», comportent cinq critères physico-chimiques qui décrivent la molécule :

- Masse moléculaire ≤ 500 Da
- Log P ≤ 5
- Accepteurs de liaisons H ≤ 10
- Donneurs de liaisons H ≤ 5
- Nombre total d'atomes de carbone (numéro de Lipinski) : Le nombre total d'atomes de carbone dans la molécule ne doit pas dépasser 50. Cela sert à exclure les molécules très grandes et complexes.

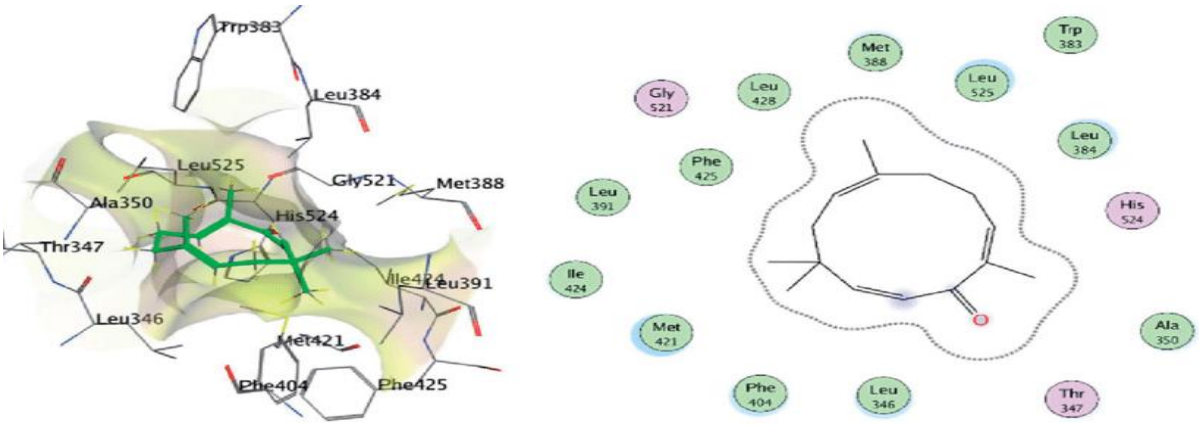
9.2. Règle de Veber

Les règles Veber suggèrent que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale **(Azam, Madi, & Ali, 2012)**. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale. **(Remko, Swart, & Bickelhaupt, 2006)**

Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par Veber et al **(D. Segall, 2012)** :

- Le nombre des liaisons rotatives ≤ 10
- La surface polaire (PSA) ≤140 Å²

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION



1. Introduction

Dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules naturelles efficaces contre le SARS COVID-19, et afin de trouver de nouveaux inhibiteurs de ce virus, nous avons étudié par docking moléculaire l'inhibition d'une série de molécules d'origine naturelle avec un récepteur du SARS COVID-19 : $3CL^{pro}$, Les recherches dans ce domaine ont montré qu'un récepteur est la cible antivirale intéressante.

Les logiciels de Docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur).**(DU TITRE, 2007)**

Ce chapitre est divisé en deux parties, la partie 01présente, les moyens utilises, la méthodologie de travaille et à la fin traitement des données.dans la partie 02 présente les résultats de notre étude des interactions entre différents inhibiteurs avec l'enzyme (6LU7) par la méthode Docking moléculaire à l'aide du logiciel MOE, Le Docking peut se décliner en deux étapes successives (bien qu'elles soient souvent corrélées) :premièrement, l'échantillonnage des positions, orientations et conformations (ou plus simplement poses) d'un ligand à la surface d'un récepteur ; ensuite, le tri de ces poses grâce à une fonction de score qui leur associe une énergie d'interaction estimée .

2. Matériel et outils utilisés

Avant de présenter les détails de notre méthodologie que nous avons suivi afin d'accompli ce travail, nous présentons dans cette section le matériel et outils sur lesquels nous sommes appuyés pour réaliser ce travail.

2.1. Micro-ordinateur.

Notre travail a été effectué en utilisant un micro-ordinateur dont les caractéristiques sont présentées dans le (**Tableau III.1**).

Tableau III.1 Caractéristiques d'ordinateur utilisés :

Caractéristiques	Ordinateur
Mémoire (RAM)	32GO
Processeur	Intel(R) Core (TM) i5-4310U CPU @ 2,0 0GHz 2,60 GHz
Système D'éxploitation	Windows 10 Professionnel
Type de système	64 bits

2.2. Banques (bases) de données et outils logiciels

- **Protéine Data Bank (PDB) :**

Est la seule archive mondiale de données structurelles sur les macromolécules biologiques (**Figure III.1**). Il comprend des données obtenues par cristallographie aux rayons X et résonance magnétique nucléaire (RMN) spectrométrie soumise par des biologistes et biochimistes du monde entier.

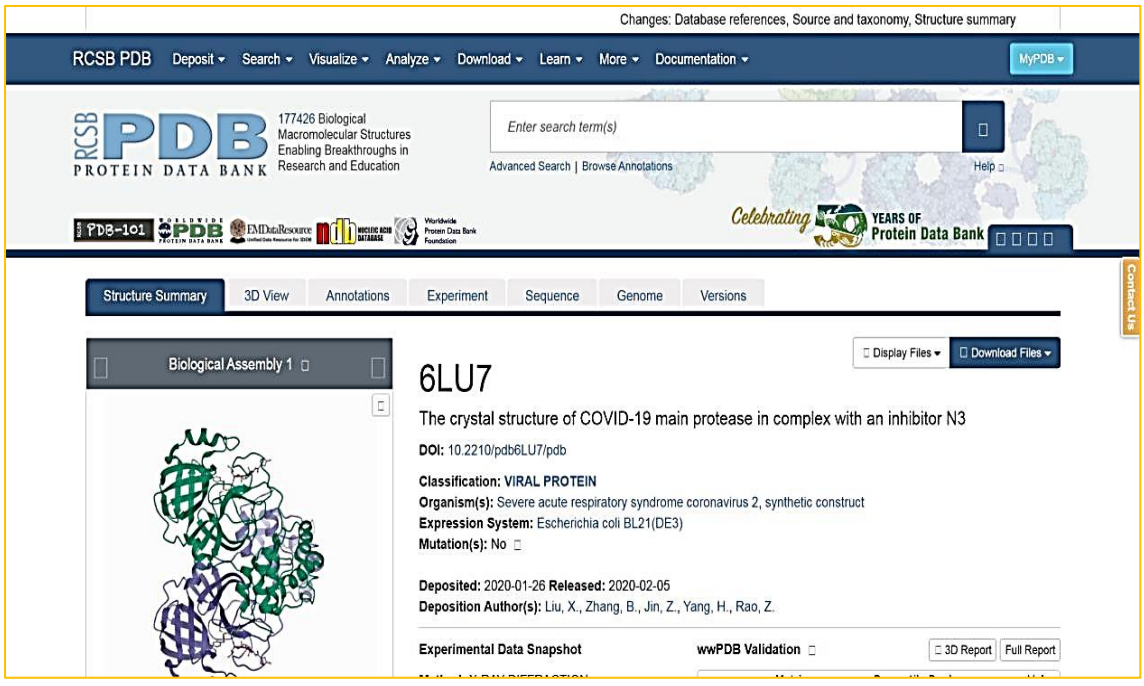


Figure III.1. Interface du site Protéine Data Bank (PDB)

- **MOE (Moléculaire Operating Environnement) :**

Est une plateforme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation, et les simulations. Le MOE est capable de suivre les idées de conception et les modifications des ligands avec des modèles de propriété, de produire des graphiques de corrélation pour visualiser la structure, la propriété, les relations d'activité et de visualiser la surface des protéines hydrophobes et chargées pour étudier les régions sujettes à l'agrégation (Vilar, Cozza, & Moro, 2008). La (**Figure III.2**) montre l'interface graphique du logiciel MOE.

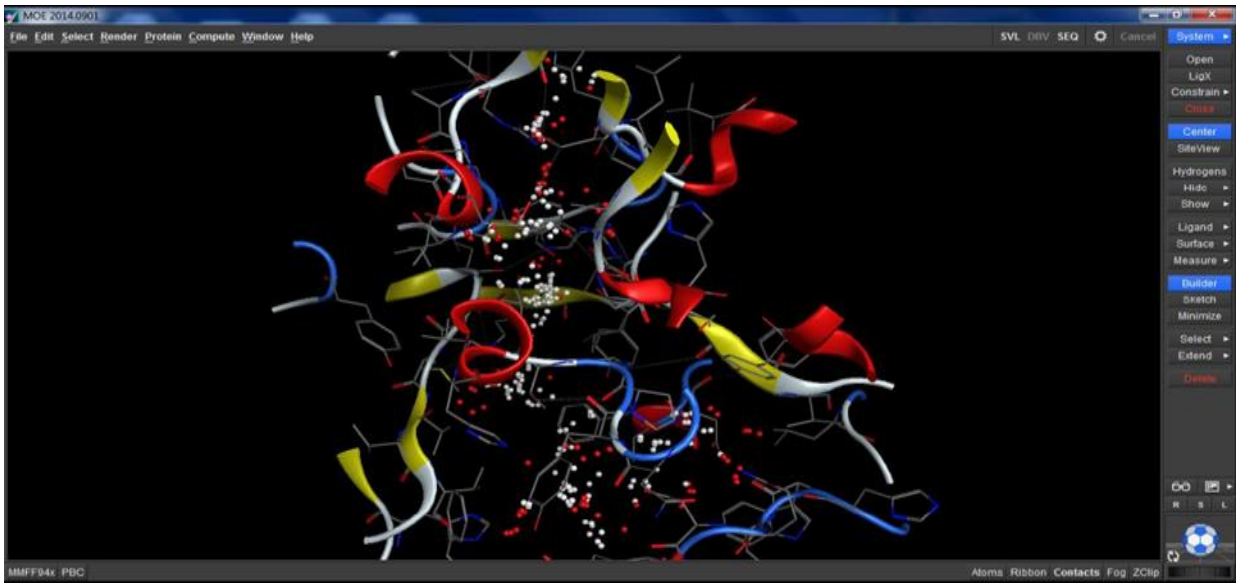


Figure III.2. Interface du logiciel MOE

- **ChemDraw Prime :**

Est la version comprenant les fonctionnalités essentielles. En plus de fournir les éléments usuels tels que les cycles, liaisons, chaînes, atomes et les groupes fonctionnels, ChemDraw Prime comprend des calculateurs de propriétés, des modèles d'équipements chimiques et de laboratoire ainsi que des outils de dessin de plaque CCM et gel d'électrophorèse. La (**Figure III.3**) montre l'interface graphique du logiciel ChemDraw.

Les fonctionnalités de ChemDraw Prime :

1. Dessin de molécules,
2. Calcul des données stœchiométriques.

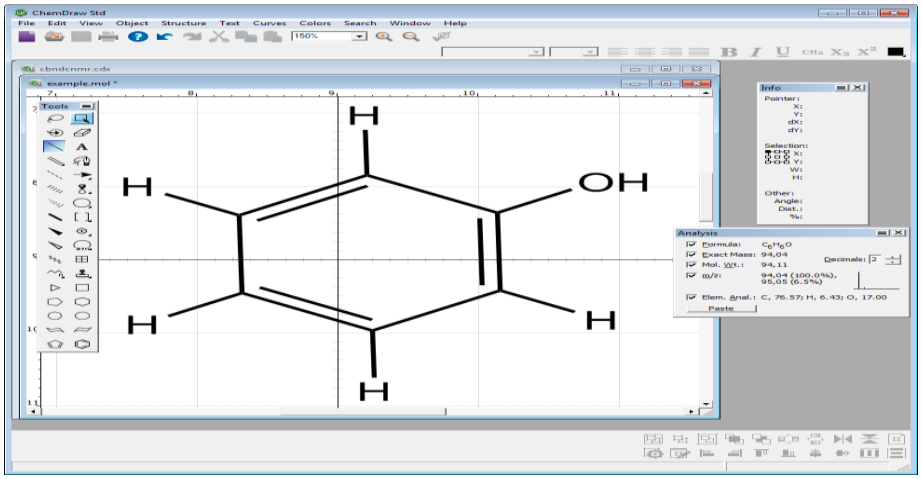


Figure III.3. Interface du logiciel Chemdraw

3. Méthodologie du travail

Le Docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable .(K Verma & K Jain, 2017) Notre étude portera sur l'interaction entre le site actif de l'enzyme et les inhibiteurs pour former un complexe stable est réalisée à l'aide du logiciel "MOE" Alors nous avons, schématisé un protocole de calcul (voir la **Figure III.1**) .

3.1. Préparation de l'Enzyme

Le téléchargement de l'enzyme de protéine protéase SARs-covid2 a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank (http://www.pdb.org) C'est une banque de données concernant les structures protéiques ou nucléiques (ou les deux) obtenues par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN.

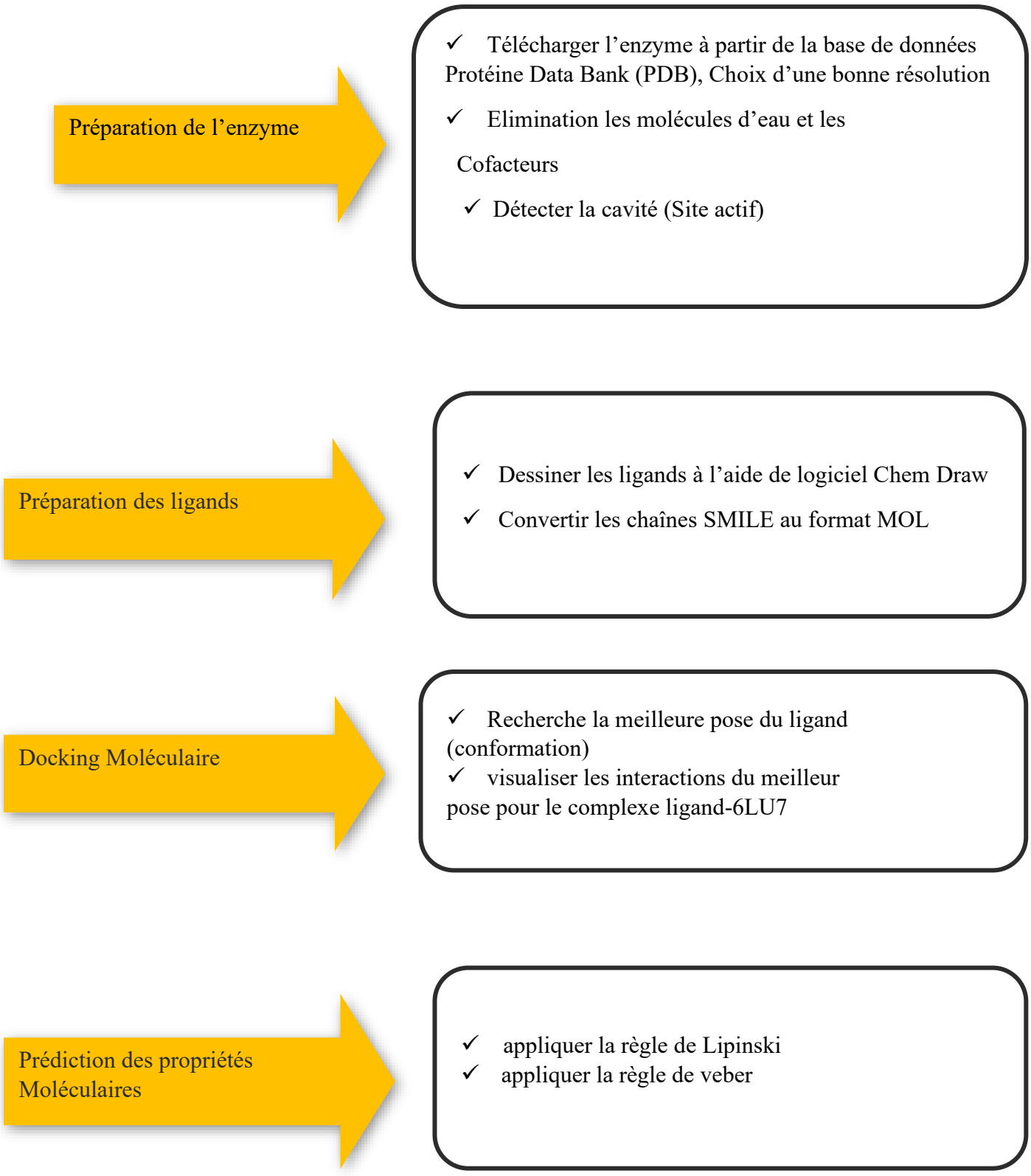


Figure III.4. Méthodologie de Travaille

Parmi plusieurs protéines proposées par la PDB, nous avons choisi le protéine 6LU7 définit comme suit :

- **6LU7** : Ce code représente la structure 3D de $3CL^{pro}$ constituée d'une seule chaine (A), dans laquelle se trouve un seul ligand, avec une résolution de 2.16 Å.

On a éliminé les molécules d'eau et les cofacteurs pour obtenir un modèle simple de l'enzyme.

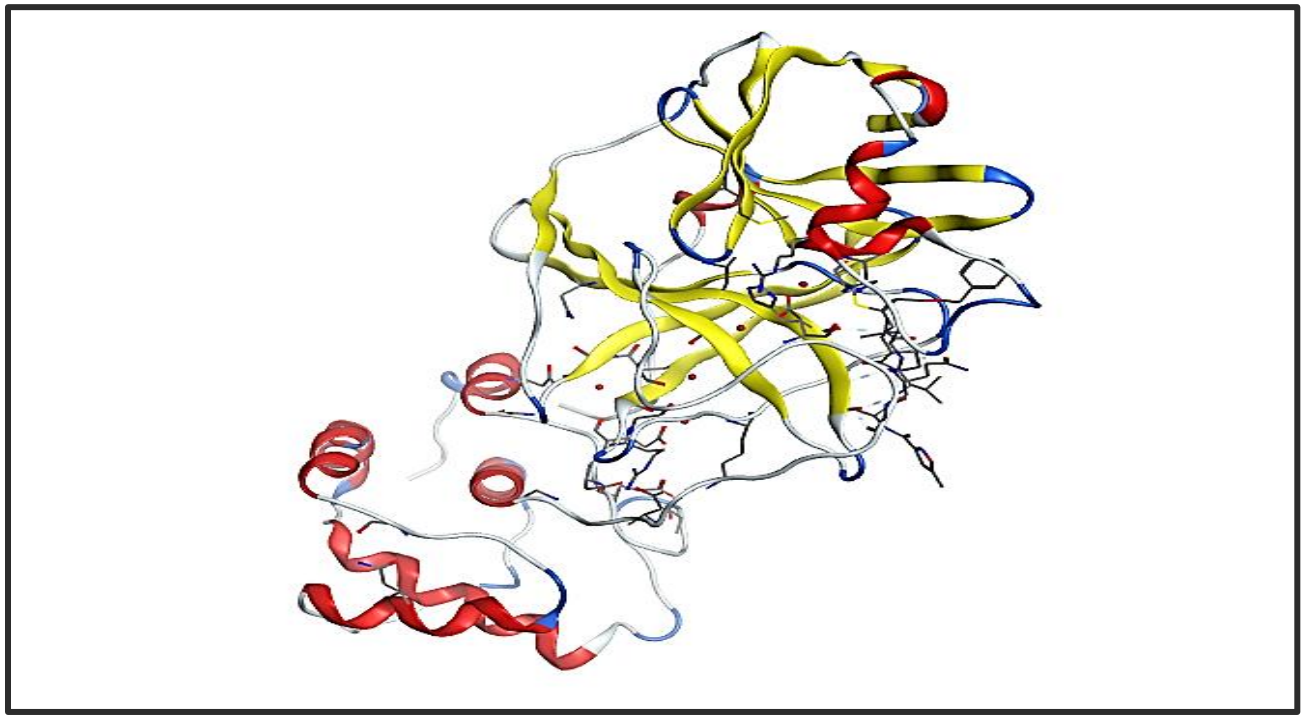


Figure III.5. Structure 3D de l'enzyme 6LU7 simplifié

3.2. Détection des cavités.

La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité **(Figure III.9**). Les molécules sur lesquelles agit une enzyme sont définies comme les substrats de la réaction enzymatique. Chaque enzyme reconnaît spécifiquement une ou plusieurs molécules de substrat selon un principe de complémentarité, grâce à des sites de reconnaissance et de fixation situés à sa surface. Le site actif est constitué de deux parties. (**Benarous**, 2006).

- Site de reconnaissance (ou site de liaison au substrat), permettant de fixer le substrat grâce à certains acides aminés.

- Site catalytique (ou a lieu la transformation du substrat), permettant de transformer le substrat grâce à des acides aminés qui interagissent avec le substrat

.

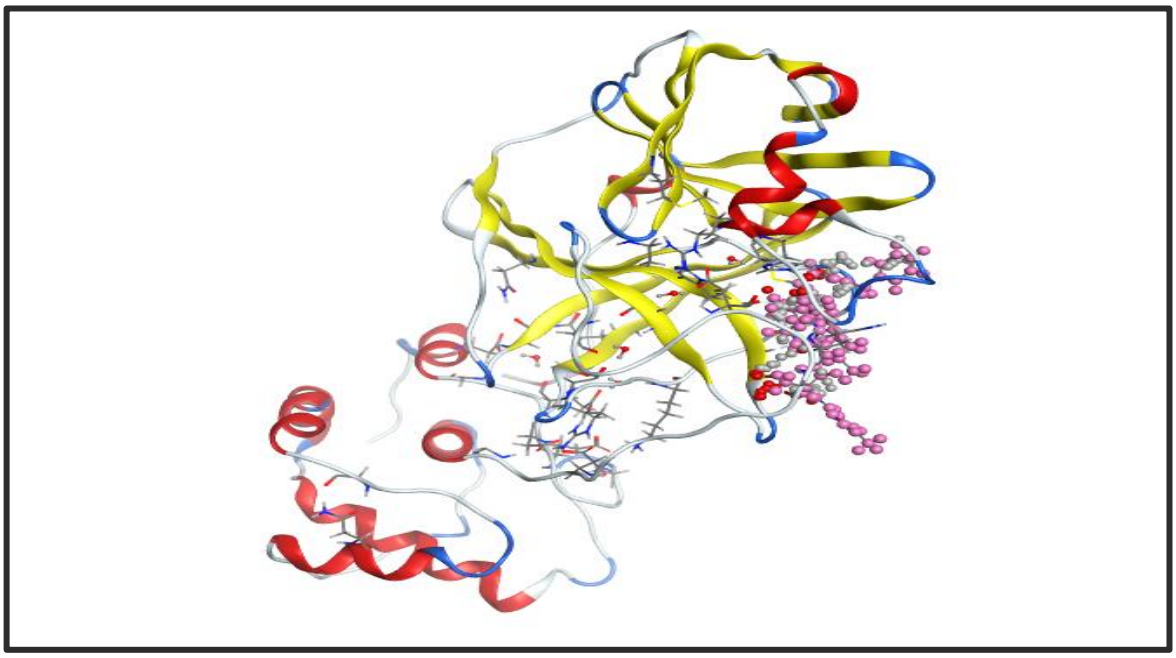


Figure III.6. Cavité 1 de l'enzyme 6lu7

Dans notre étude 15 cavités ont été détectées dans l'enzyme 6LU7 par le logiciel MOE (**Tableau III.2**). Nous avons choisi la cavité 1 qui a un volume grand.

Tableau III.2. Propriétés des cavités de l'enzyme 6LU7.

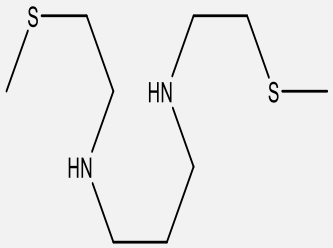
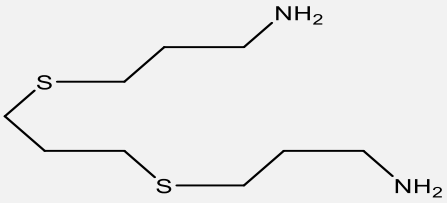
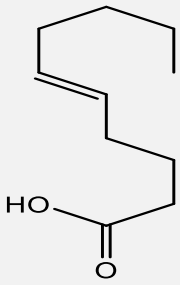
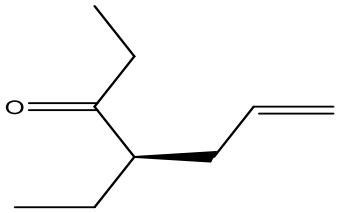
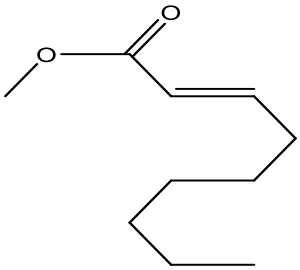
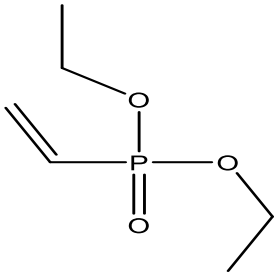
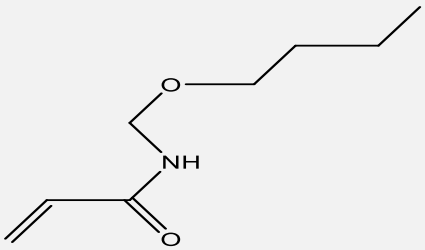
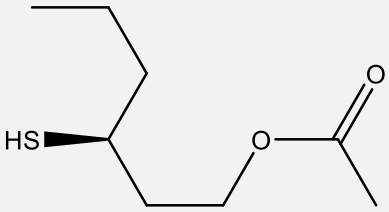
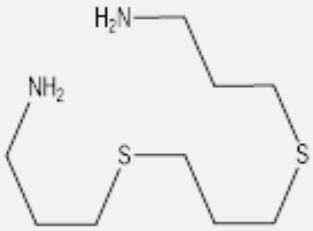
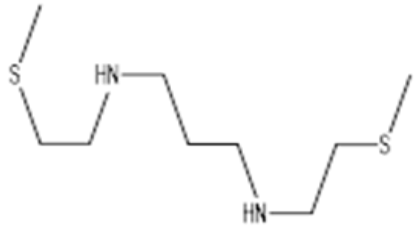
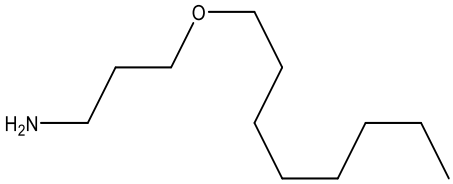
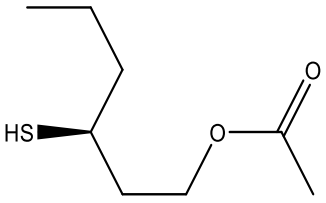
Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	**109**	**3.05**	**21**	**60**	**1:(THR24 THR25 THR26 LEU27 HIS41 CYS44 THR45 SER46 MET49 PRO52 TYR54 PHE140 LEU141 ASN142 GLY143 SER144 CYS145 HIS163 HIS164 MET165 GLU166 LEU167 PRO168 HIS172 ASP187 ARG188 GLN189 THR190 GLN192)**

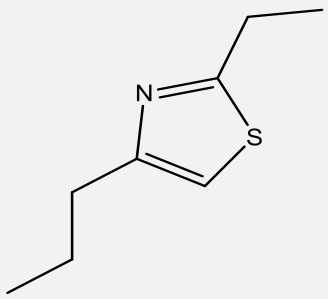
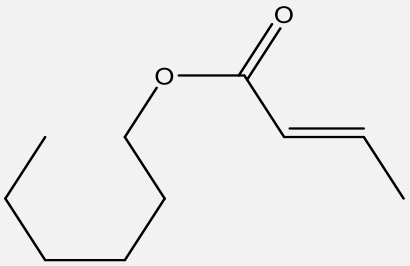
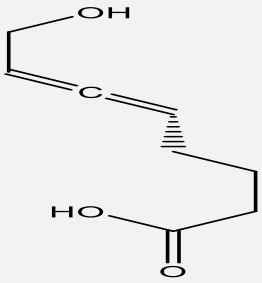
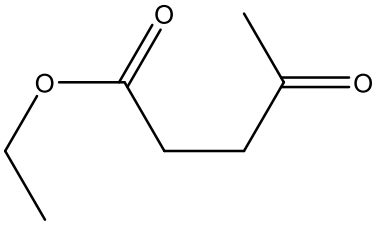
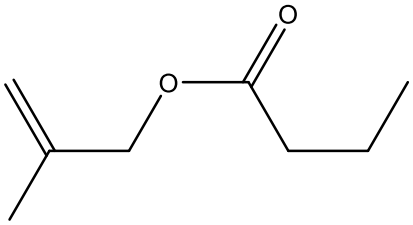
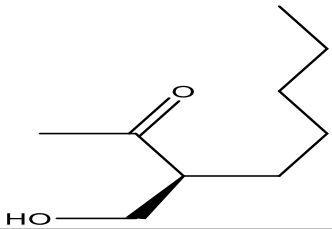
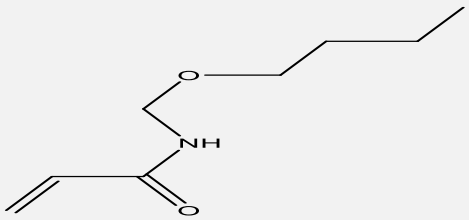
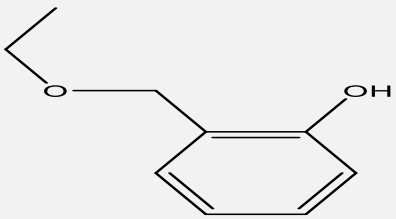
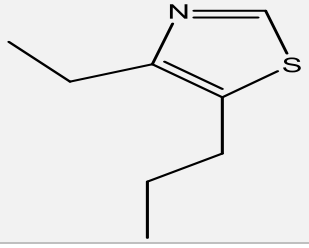
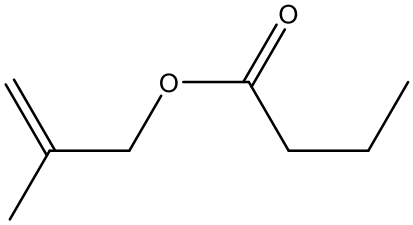
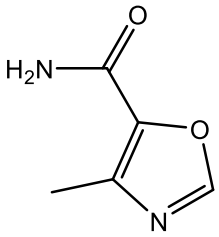
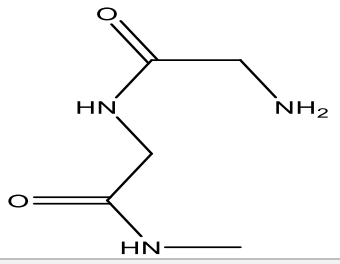
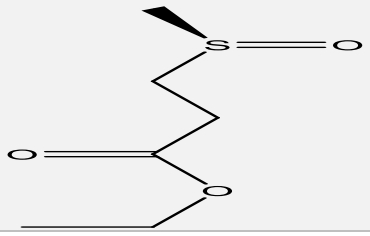
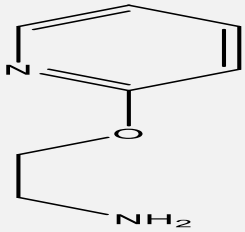
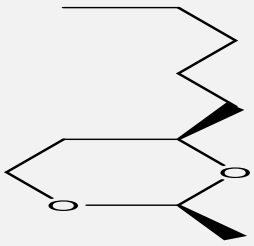
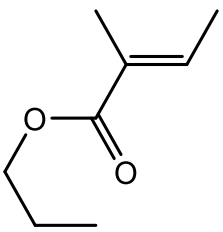
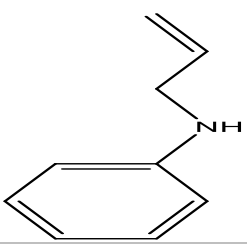
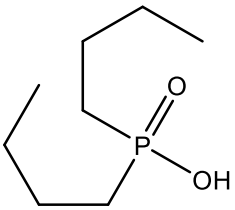
3.3. Préparation des ligands

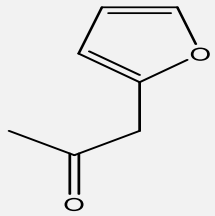
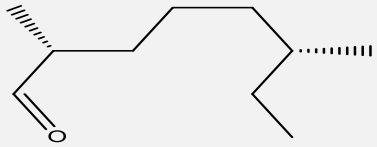
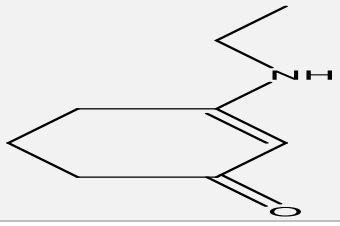
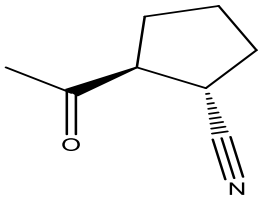
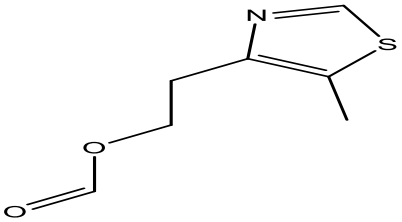
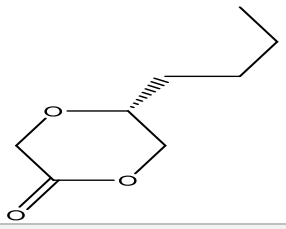
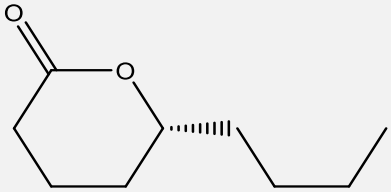
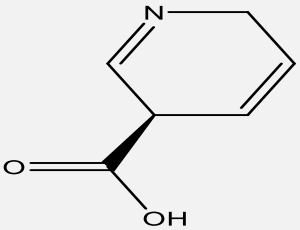
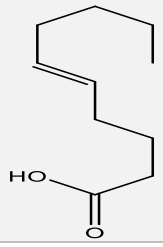
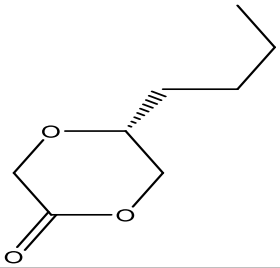
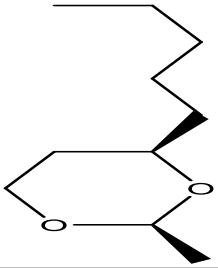
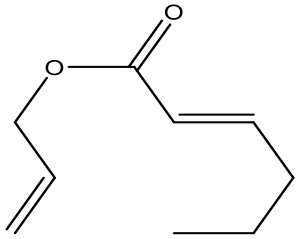
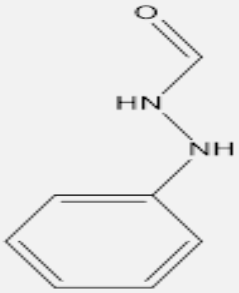
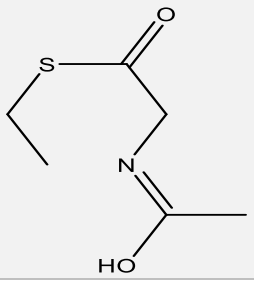
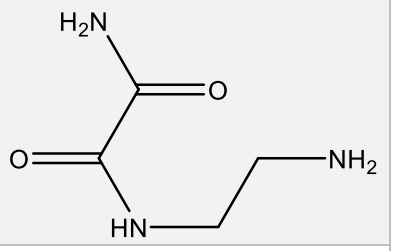
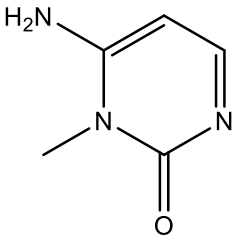
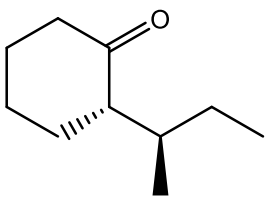
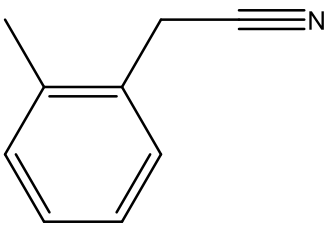
Les ligands que nous avons étudiés sont pris de la base de données COCONUT , que nous proposons comme inhibiteurs de l'enzyme protéase SARS-COV2. Ces inhibiteurs sont dessinés à l'aide de ChemDraw, Ensuite, l'optimisation de la géométrie des ligands a été réalisée par le

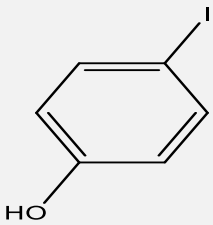
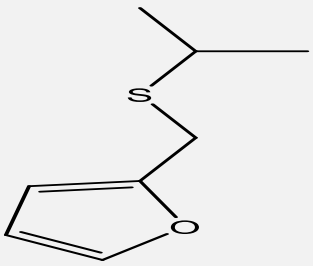
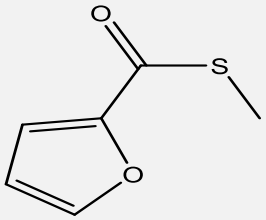
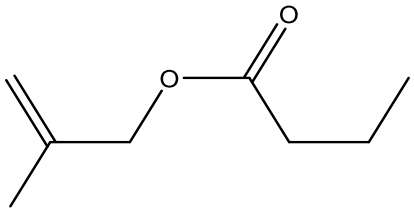
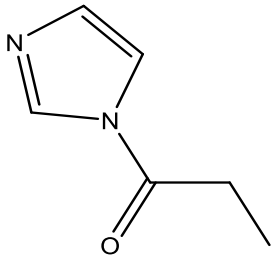
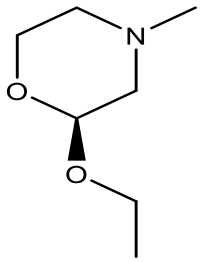
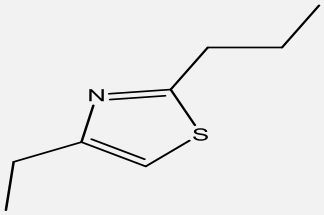
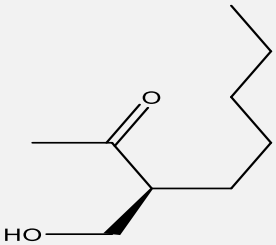
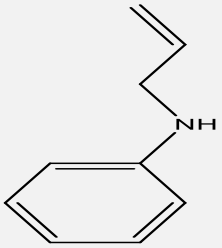
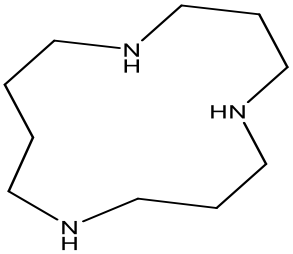
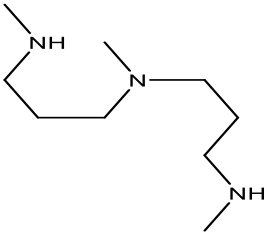
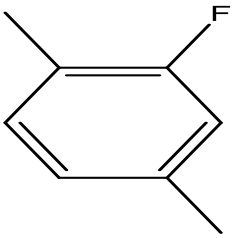
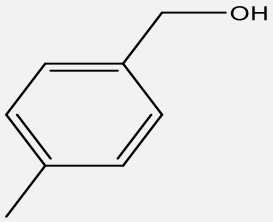
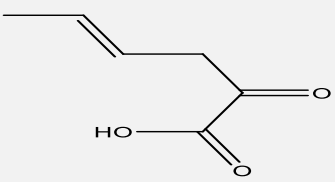
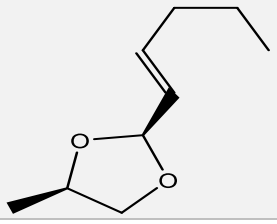
logiciel MOE à l'aide d'un champ de force MMFF94x, et les structures des ligands sont illustrées à la (**Tableau III.3**)

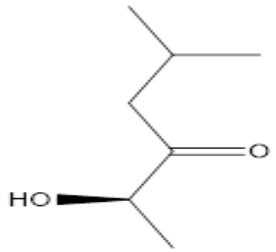
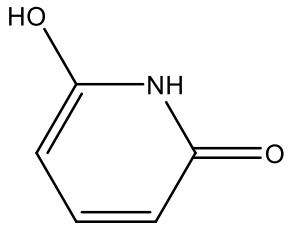
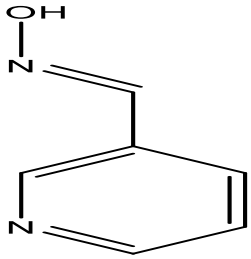
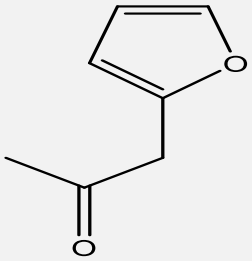
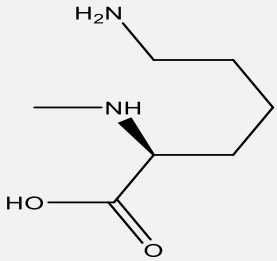
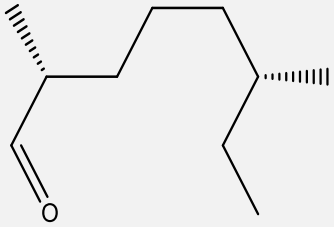
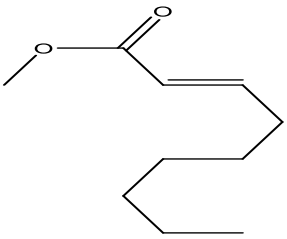
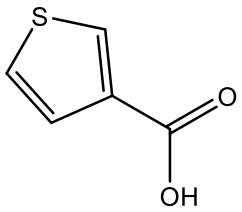
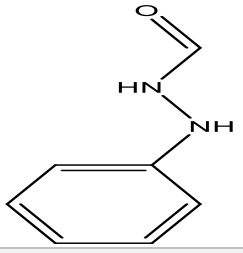
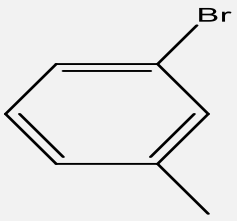
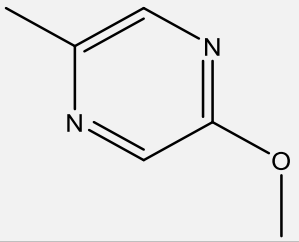
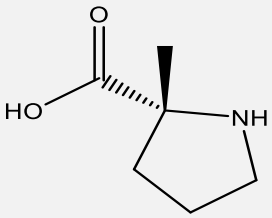
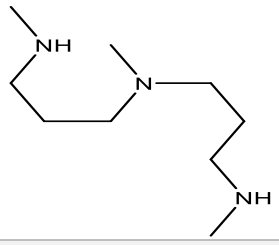
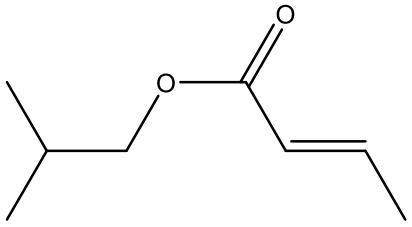
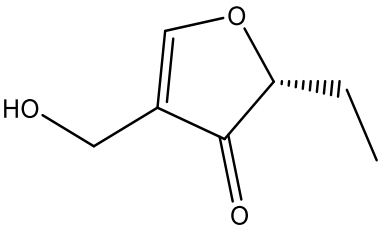
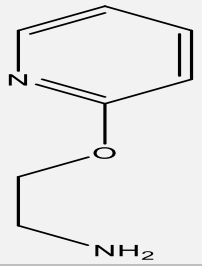
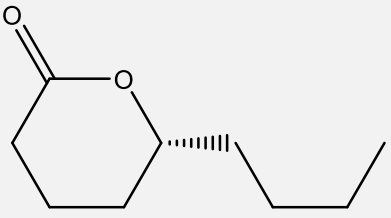
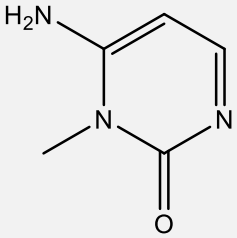
Tableau III.3. Les Structures des molécules utilisées

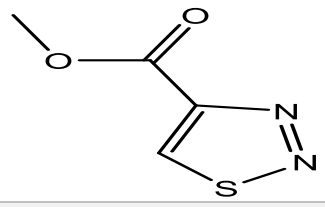
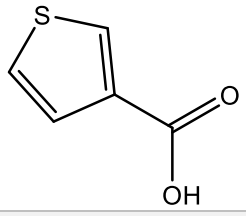
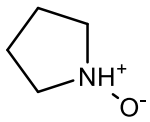
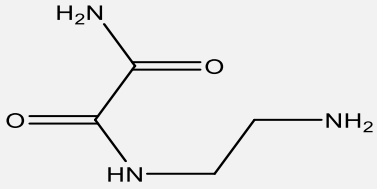
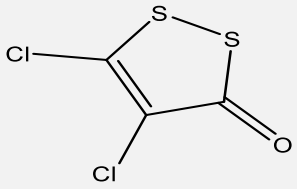
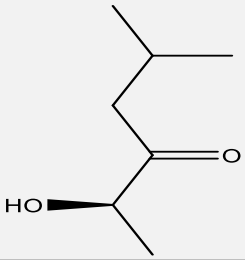
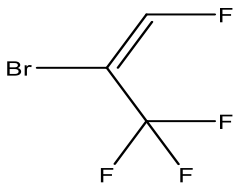
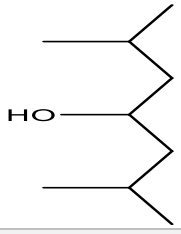
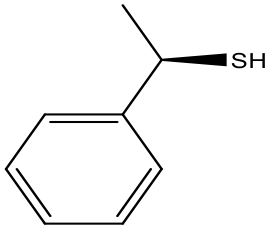
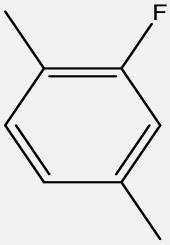
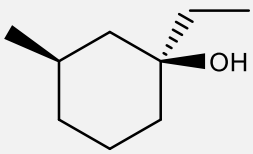
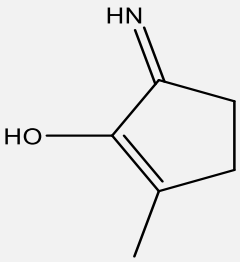
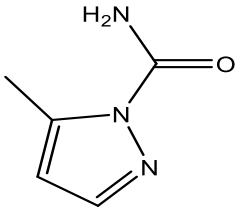
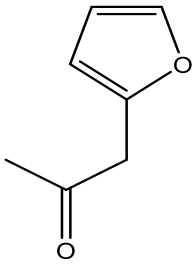
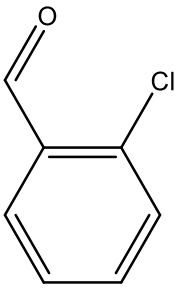
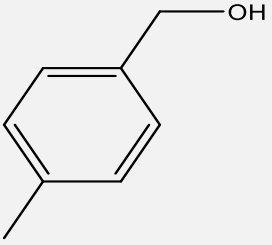
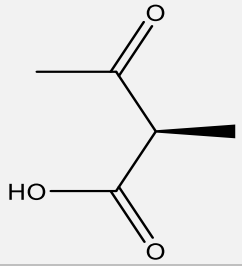
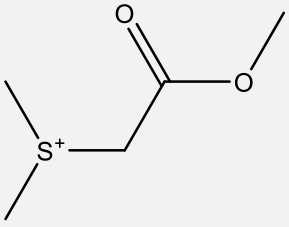
Structure 2D	Structure 2D	Structure 2D
L1 	L2 	L3 
L4 	L5 	L6 
L7 	L8 	L9 
L10 	L11 	L12 

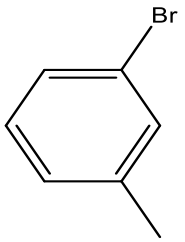
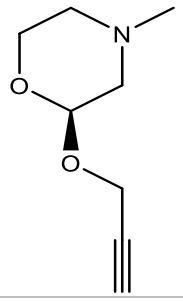
L13 	L14 	L15 
L16 	L17 	L18 
L19 	L20 	L21 
L21 	L22 	L23 
L24 	L25 	L26 
L27 	L28 	L29 

L30 	L31 	L32 
L33 	L34 	L35 
L36 	L37 	L38 
L39 	L40 	L41 
L42 	L43 	L44 
L45 	L46 	L47 

L48 	L49 	L50 
L51 	L52 	L53 
L54 	L55 	L56 
L57 	L58 	L59 
L60 	L61 	L62 

L63 	L64 	L65 
L66 	L67 	L68 
L69 	L70 	L71 
L72 	L73 	L74 
L75 	L76 	L77 
L78 	L79 	L80 

L81 	L82 	L83 
L84 	L85 	L86 
L87 	L88 	L89 
L90 	L91 	L92 
L93 	L94 	L95 
L96 	L97 	L98 

L99 	L100 	

3.4. Simulation Docking moléculaire

Dans la mise au point de nouveaux médicaments, l'amarrage (Docking) sert souvent à déterminer l'orientation des petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité a l'aide d'un logiciel MOE.

MOE est basé sur un type de Docking semi-flexible et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand, le ligand étant considéré comme flexible et la chaîne principale de l'enzyme a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles. Il utilise le champ de force MMFF94x pour optimiser les conformations au cours de calcule.**(Murcko, 1995).**

L'étude de l'interaction entre les résidus de site actif de la protéine 6LU7 et les ligands pour former des complexes stables est réalisée à l'aide du logiciel MOE, Le Docking comprend essentiellement deux sections complémentaires : le Docking et le Scoring. La première section (le Docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables. La deuxième section (le scoring) utilisées pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison entre deux molécules après avoir été passées par l'étape de Docking. C'est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposée. Le meilleur résultat pour le Docking et le complexe protéine-ligand avec la plus faible énergie.**(B Vepuri, C Devarajegowda, Anbazhagan, & Rajendra Prasad, 2012)**

4. Résultats et Discussion

4.1. Le Docking moléculaire

Avant de détailler les résultats de l'étude des interactions enzyme-ligand, nous allons tout d'abord présenter les résultats de scores (kcal/mol) et du RMSD de meilleure pose pour chaque ligand (**Tableau III.4**). Sachant que :

Le scores : représente les interactions liées à l'électrostatique (comme les liaisons hydrogène et les interactions de VdW), les effets de solvatation et de désolvatation et l'énergie nécessaire pour déformer le ligand. Le score devrait correspondre directement à l'affinité de liaison en du ligand pour la protéine, de sorte que les ligands présentant le meilleur score soient les meilleurs liants **(BEN YAHOUB MOUFIDA).**

En général, une pose de ligand est finalement sélectionnée en fonction d'un score d'amarrage**(Gupta, Sharma, & Kumar, 2018).** C'est-à-dire, le choix de la pose est correspondu à la structure qui a l'énergie la plus basse.

RMSD (Root Mean Square Deviation) : Correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (le ligand de référence). Les performances d'un programme de Docking sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. Le mieux possible signifie que la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est le plus petit possible. Le positionnement, C'est-à dire l'identification correcte du site de liaison sur la protéine, l'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD.**(Bilgraer, 2014)**.

Le **Tableau III.5** explique les différents intervalles de valeurs RMSD données par le logiciel MOE.

Nous avons effectué le Docking sur 1000 molécules et sélectionné 100 composés qui possèdent les plus petites énergies du Score par rapport aux autres ligands.

Tableau III.4: Résultats de RMSD et SCORE de l'enzyme 6LU7 avec les ligands Etudiés

Composé N °	S- score(kcal/mol)	RMSD	Composé N °	S score(kcal/mol)	RMSD
1	**-5.443**	**1.632**	51	-4.112	3.947
2	**-5.371**	**1.672**	52	-4.108	1.837
3	**-5.218**	**0.845**	53	-4.106	1.796
4	-4.947	1.043	54	-4.100	1.124

5	-4.826	2.561	55	-4.098	3.819
6	-4.706	2.211	56	-4.098	2.038
7	-4.650	2.120	57	-4.094	1.355
8	-4.626	1.4972	58	-4.084	2.724
9	-4.624	3.301	59	-4.079	0.958
10	-4.539	0.909	60	-4.052	5.566
11	-4.497	3.959	61	-4.047	2.904
12	-4.485	1.222	62	-4.037	3.284
13	-4.474	2.177	63	-4.034	0.611
14	-4.471	1.307	64	-4.021	0.978
15	-4.468	1.640	65	-3.999	2.164
16	-4.458	2.249	66	-3.996	2.088
17	-4.457	2.181	67	-3.992	0.767
18	-4.446	2.167	68	-3.990	0.967
19	-4.442	2.376	69	-3.959	0.659
20	-4.421	3.608	70	-3.945	2.804
21	-4.411	1.507	71	-3.938	3.705
22	-4.404	1.540	72	-3.934	4.357
23	-4.391	0.508	73	-3.923	0.661
24	-4.384	1.228	74	-3.922	0.665
25	-4.375	1.277	75	-3.909	2.926
26	-4.374	1.270	76	-3.888	1.825
27	-4.367	1.796	77	-3.869	1.995
28	-4.354	1.288	78	-3.862	1.191
29	-4.324	3.733	79	-3.861	2.832
30	-4.300	1.783	80	-3.858	2.683
31	-4.298	1.404	81	-3.857	3.699
32	-4.2968	2.155	82	-3.854	1.193
33	-4.288	1.694	83	-3.830	0.712
34	-4.282	2.194	84	-3.823	1.127

35	-4.260	0.898	85	-3.805	2.663
36	-4.260	3.811	86	-3.796	0.960
37	-4.239	1.692	87	-3.785	2.349
38	-4.236	0.537	88	-3.775	1.721
39	-4.226	1.692	89	-3.771	1.727
40	-4.216	0.537	90	-3.759	2.450
41	-4.215	1.829	91	-3.743	1.663
42	-4.209	1.772	92	-3.717	3.142
43	-4.192	3.086	93	-3.682	3.553
44	-4.184	2.294	94	-3.678	1.701
45	-4.174	2.563	95	-3.672	1.527
46	-4.166	2.555	96	-3.670	2.075
47	-4.139	1.111	97	-3.668	1.587
48	-4.123	2.597	98	-3.645	1.246
49	-4.115	0.661	99	-3.634	4.507
50	-4.115	2.824	100	-3.596	2.104

Les composés sélectionnés en gras représentent les meilleurs ligands, qu'on va étudier leurs interactions.

L'orientation et la conformation du ligand influent sur la valeur du RMSD .**(Bilgraer, 2014)**

Tableau III.5. Les différents intervalles de valeurs RMSD.

RMSD	**RMSD <1.5**	**1.5<RMSD <3.5**	**3.5<RMSD <6**	**RMSD <6**
Structure	Parfait	Acceptable	Inadéquat	Inacceptable

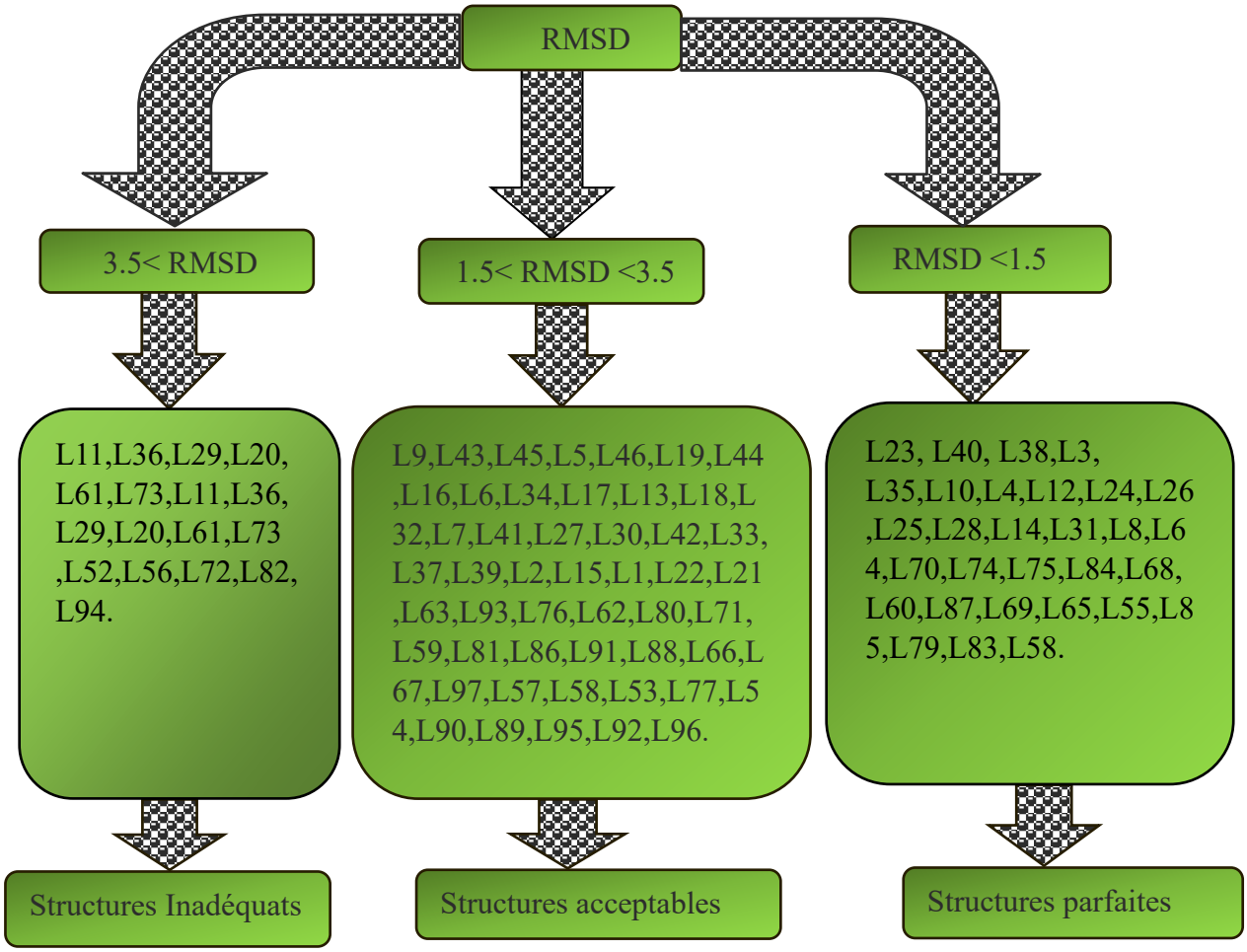


Figure III.7. Valeurs de RMSD données par le logiciel MOE

5. Étude des interactions enzyme-ligand

Dans l'objectif de proposer de nouveaux inhibiteurs de la 6LU7, on à étudier, les six meilleurs ligands voire les valeurs en gras dans le **Tableau III.6**. Les structures 2D ,3D des interactions protéine-ligand ont été visualisées par des programmes de MOE. Les résidus de liaison et leurs chaînes ont été identifiés à partir du complexe protéine-ligand comme indiqué dans les figures suivantes : Dans cette analyse, les composés les plus actifs de la base de données phytochimiques ont interagi avec les résidus d'acides aminés du site actif par le biais de forces d'interaction telles que la liaison hydrogène et l'interaction hydrophobe.

Tableau III.6 résultats de Docking moléculaire et l'analyse des interactions pour les meilleurs complexes

Complexe	Ligand	Récepteur	Interaction	Distance	E(kcal/ml)
6LU7-L1	S	THR 190	H-donneur	3.63 3.38	-0.7
	S	HIS 163	H-accepteur	4.19	-1.3
	S	GLN 189	H-accepteur		-0.7
6LU7-L2	N	HIS 163	H-accepteur	2.92	-4.0
6LU7-L3	O	MET 165	H-donneur	3.64	-0.6

1) Interactions 6LU7 – L1 (Figure III.8)

L'interaction du ligand 1 avec le site actif de l'enzyme donne le score 5,455-kcal/mol. Cependant ce ligand forme trois liaisons, sachant que : première liaison sont de type H-donneur et sont formée entre l'atome de s du ligand et le résidu THR 190, la deuxième liaison est de type H-accepteur et sont formée entre l'atome de s du ligand et les résidus HIS 163 GLN 189, avec les distances respectives 3.63 ,3.38 ,4.19.

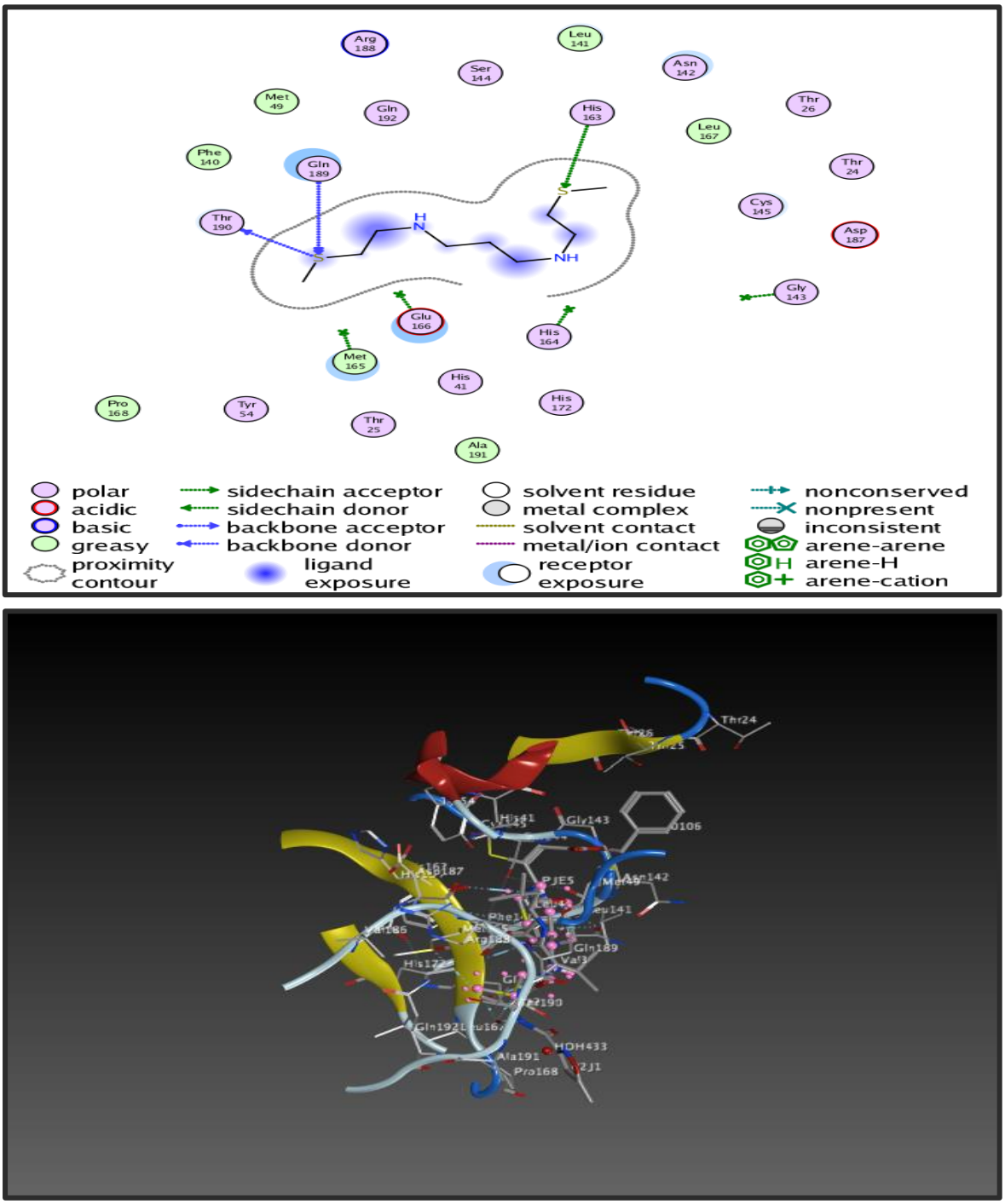


Figure III.8. Interactions entre le ligand 1 et les résidus de site actif de 6LU7

2) Interactions 6LU7 – L2 (Figure III.9)

L'interaction du ligand 2 avec le site actif de l'enzyme donne le score -5 ,371 kcal/mol. Cependant ce ligand forme une liaison, sachant que : cette liaison sont de type H- accepteur et sont formée entre l'atome N du ligand et le résidu HIS 163, avec la distance 2.92.

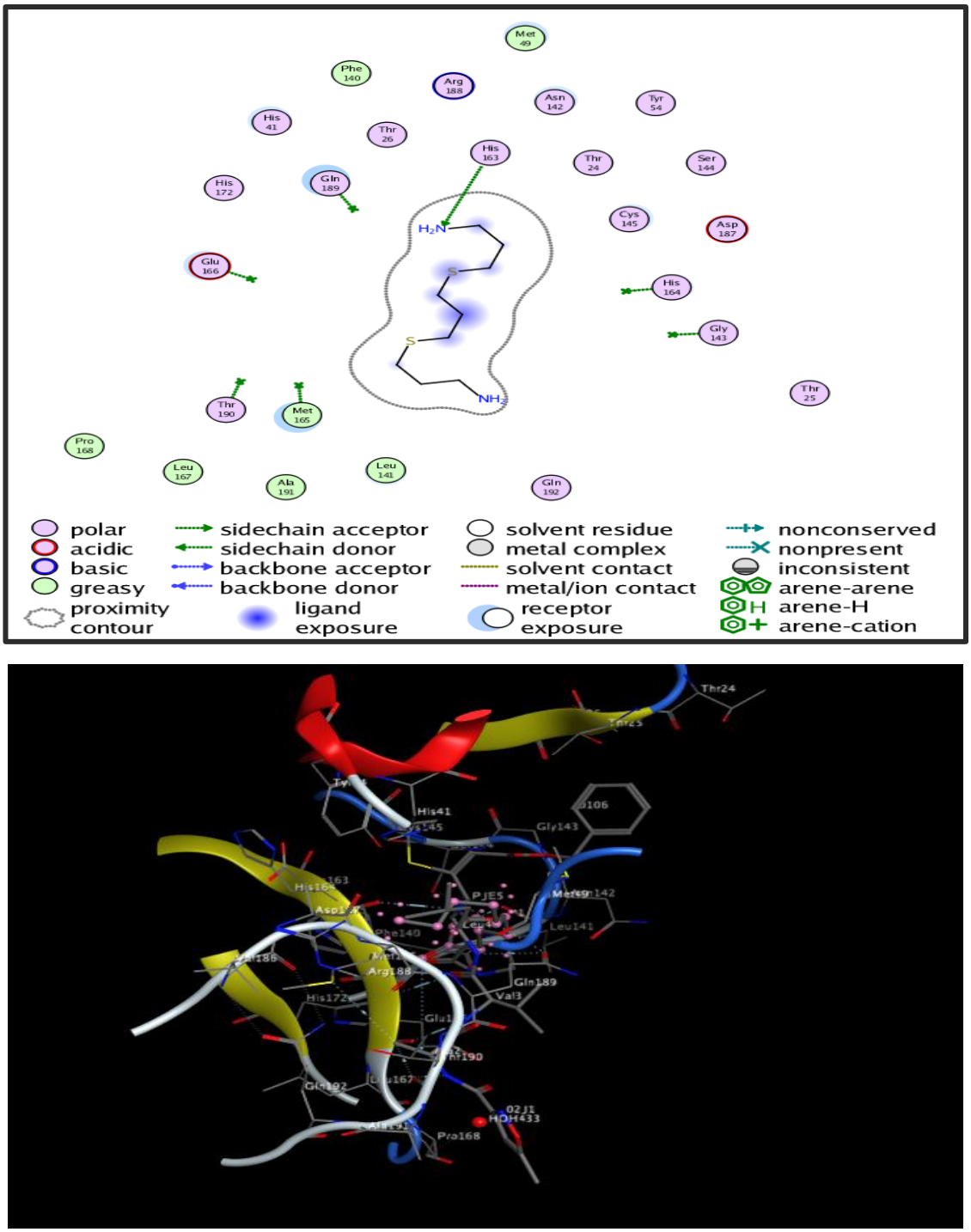
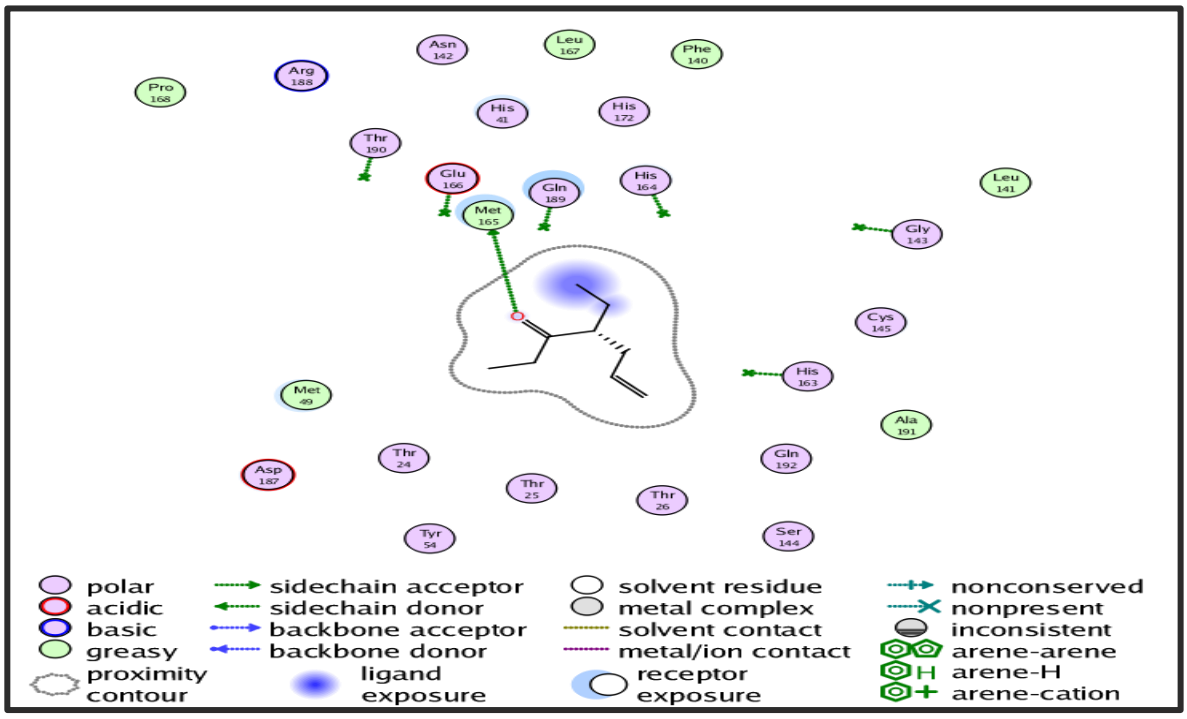


Figure III.9. Interactions entre le ligand 2 et les résidus de site actif de 6LU7

3) Interactions 6LU7 – L3 (Figure III.10)

L'interaction du ligand 3 avec le site actif de l'enzyme donne le score -5,218 kcal/mol. Cependant ce ligand forme une liaison, sachant que : cette liaison sont de type H-donneur et sont formée entre l'atome d'O du ligand et le résidu MET 165, avec la distance 3.64.



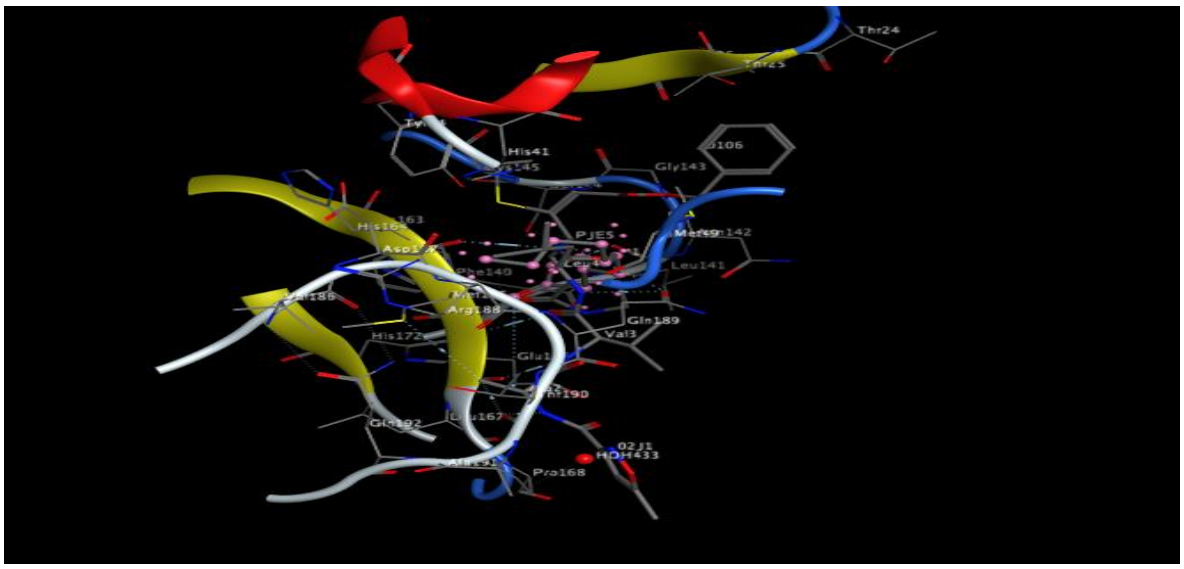


Figure III.10. Interactions entre le ligand 3 et les résidus de site actif de 6LU7

Tableau III.7: Résultats d'application de la Règle de Lipinski pour les meilleurs inhibiteurs de SARs-COV 2

Composé N°	N°ON	N°OHNH	N°de la violation	logP	Masse (UMA)
1	**2**	**2**	**1**	**1.05**	**222.42**
2	**2**	**4**	**1**	**0.89**	**222.42**
3	**2**	**1**	**1**	**5.54**	**170.25**

N°ON : Liaisons hydrogène accepteurs

N°OHNH : Liaisons hydrogène donneurs

LogP : Le coefficient de partition calculé

Interprétation :

➢Le poids moléculaire de tous les ligands sont inférieurs à 500 Da, par conséquent les Ligands sont facilement passer à travers la membrane cellulaire

➢ Tous les ligands ayant les valeurs de logP inférieure à 5, Donc ils sont une bonne solubilité dans l'eau, une meilleure tolérance gastrique et une élimination efficace par les reins et une bonne perméabilité à travers la membrane cellulaire.

➢Tous les ligands ayant le nombre donneur d'hydrogène inférieur à 5 ce qui conduit à une meilleure perméabilité.

➢Tous les ligands ayant le nombre accepteur d'hydrogène inférieur à 10 ce qui conduit à une meilleure perméabilité.

➢Tous les ligands la valeur de nombre de violations est égale n=1, cela indique que les ligands facilement lier au récepteur.

De cela, nous pouvons conclure que : les composés L1, L2 et L3 répondent aux règles de Lipinski

Tableau III.8: Résultats de l'application de la Règle Veber pour les meilleurs inhibiteurs de SARsCOV2 :

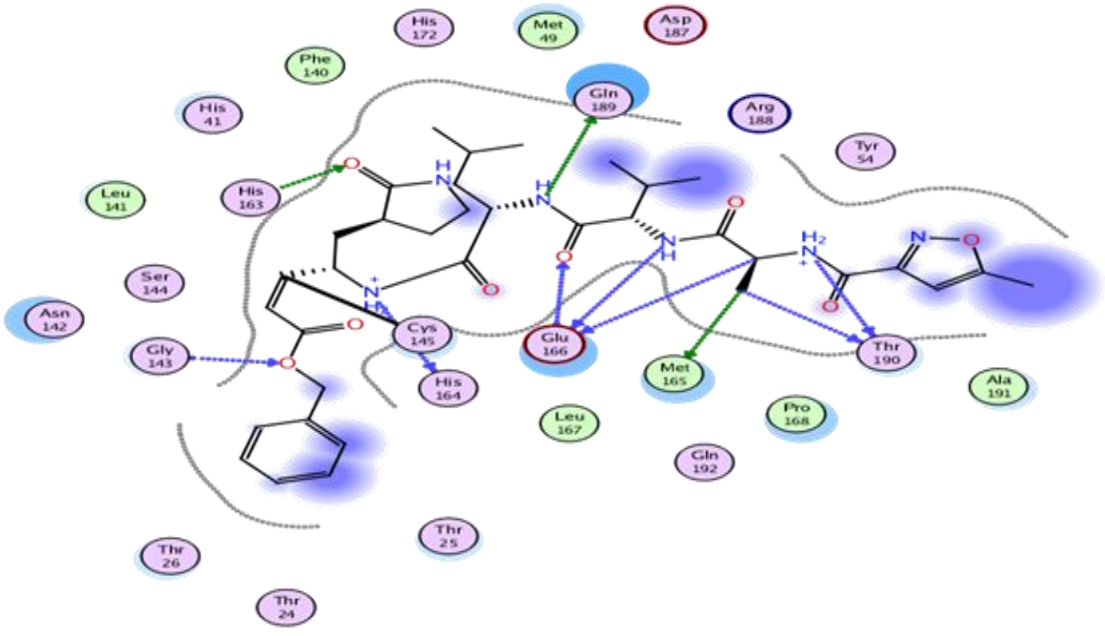
Composé N°	N° rotb	TPSA (Å²)
1	**10**	**24.05**
2	**10**	**52.04**
3	**7**	**37.29**

D'après les résultats du tableau en remarquant que :

➢ Pour les NRB : Les composés étudiés contiennent des valeurs de liaisons rotatives inférieures ou égal à 10. Un faible nombre des liaisons rotatives donc une flexibilité réduite pour tous les composés ce qui indique que ces ligands lors de la liaison à une protéine ne changent que légèrement leur conformation.

➢ Pour la surface polaire (TPSA) : Les composés étudiés contiennent des valeurs de TPSA inférieures à 140 Å² ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et du transport à travers les membranes biologiques.

CONCLUSION GENERALE



Les travaux présentés dans cette mémoire concernent principalement l'utilisation de la méthode Docking moléculaire dans le cadre de la découverte de nouveaux médicaments.

L'objectif principal est d'élucider les interactions actuelles entre une nouvelle classe de molécules antivirales d'origine naturelle avec l'enzyme protéase (6LU7) impliquée dans de le traitement de SARS-CoV-2.

Premièrement, nous avons présenté la maladie SARS-CoV-2 en général, et dans la deuxième chapitre ,nous avons identifié la Conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) et quelques méthodes utilisées :le criblage virtuel (Virtual Screening), la méthode QSAR et nous avons abordé les principes de base de la méthode Docking moléculaire ainsi que différents concepts de filtration qui nous aident à approfondir l'étude des composés proposés dans cette étude tels que les propriétés drug-likeness. Dans le troisième chapitre, nous avons présenté la partie la plus importante de ce travail qui est le développement du protocole de Docking moléculaire par le logiciel MOE (version 2014) pour les inhibiteurs proposés. L'amarrage moléculaire a été réalisé sur une série de 100 composés pour prédire l'affinité de chaque composé avec la cible 6LU7. Par conséquent, trois composés ont été décrits comme de meilleurs inhibiteurs car ils ont des valeurs de score inférieur (de -5,443Kcal à -5.218 kcal/mol) et cela qualifie ces composés d'être plus stable et avoir une affinité plus élevée pour l'enzyme 6LU7 par rapport aux outres composés. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse des interactions Ligand-Protéine.

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que les trois composés sont les meilleurs inhibiteurs pour ralentir la progression du Sars-Cov2 et peuvent être proposés comme nouveaux médicaments.

Références

Afelt, A. (2022). Pandémie de Covid-19 dans une perspective des sciences de la nature. La pandémie de SARS-CoV-2 nous at-elle pris par surprise? Mécanismes socio-écosystémiques d'induction du risque épidémiologique, exemple SARS-CoV-2.

Ahn, N. Y., Park, J. E., Lee, D. H., & Hong, P. C. (2020). Balancing personal privacy and public safety during COVID-19: The case of South Korea. *Ieee Access, 8*, 171325-171333.

Astuti, I. (2020). Ysrafil (2020). *Severe acute respiratory syndrome coronavirus, 2*.

Aurélien, M. (2006). *Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche «in silico» de nouveaux composés bioactifs.* Thèse de Doctorat. Universitéd'ORLEANS,

Azam, F., Madi, A. M., & Ali, H. I. (2012). Molecular docking and prediction of pharmacokinetic properties of dual mechanism drugs that block MAO-B and adenosine A2A receptors for the treatment of Parkinson's disease. *Journal of Young Pharmacists, 4*(3), 184-192.

B Vepuri, S., C Devarajegowda, H., Anbazhagan, S., & Rajendra Prasad, Y. (2012). Induced Fit Docking (IFD) Study of the Solid State Structure of (2E)-1-(5-bromothiophen-2-yl)-3-[4-(dimethylamino) phenyl] prop-2-en-1-one-Fragment Based Design Approach for Human Aldose Reductase Inhibition. *Letters in Drug Design & Discovery, 9*(8), 789-796.

BEN YAHOUB MOUFIDA, H. N. Conception In Silico De Nouveaux Composés Antiviraux.

Benarous, K. (2006). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes alpha amylase, trypsine et lipase. *Mémoire d'Ingénieur d'état*.

Bilgraer, R. (2014). *Déchiffrer le code histone: épigénétique et toxicologie placentaire.* Université René Descartes-Paris V,

Bitencourt-Ferreira, G., & de Azevedo, W. F. (2019). Docking with SwissDock. *Docking screens for drug discovery*, 189-202.

Boucherit, H., Chikhi, A., Bensegueni, A., Merzoug, A., Hioual, K., & MOKRANI, E. (2013). L'amarrage moleculaire: une nouvelle approche pour lutter contre le developpement de la tuberculose. *Review of Industrial Microbiologiy Sanitary and Environnemental, 7*, 133-149.

Boudouira, N., & Zidoune, M. N. (2017). Mise au Point D'une Méthode D'approche des Interactions Impliquées dans la Constitution D'agglomérats de Couscous.

Cascella, M., Rajnik, M., Aleem, A., Dulebohn, S. C., & Di Napoli, R. (2022). Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19). *Statpearls [internet]*.

Chen, J. (2020). Pathogenicity and transmissibility of 2019-nCoV—a quick overview and comparison with other emerging viruses. *Microbes and infection, 22*(2), 69-71.

Cure, E., & Cure, M. C. (2020). Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers may be harmful in patients with diabetes during COVID-19 pandemic. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 14*(4), 349-350.

D. Segall, M. (2012). Multi-parameter optimization: identifying high quality compounds with a balance of properties. *Current pharmaceutical design, 18*(9), 1292.

D'Amore, R. (2020). Can coronavirus pass from mother to baby. *Maybe, but experts need more research. Global News, 2020*.

de Haan, C. A., & Rottier, P. J. (2005). Molecular interactions in the assembly of coronaviruses. *Advances in virus research, 64*, 165-230.

Douguet, D. (2007). *Etude des interactions protéine-protéine et protéine-ligand par bio-et chimie-informatique structurale: Identification de petites molécules bio-actives.* Université Nice Sophia Antipolis,

DU TITRE, P. P. L. O. (2007). *Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives.* UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER,

Duhovny, D., Nussinov, R., & Wolfson, H. J. (2002). *Efficient unbound docking of rigid molecules.* Paper presented at the Algorithms in Bioinformatics: Second International Workshop, WABI 2002 Rome, Italy, September 17–21, 2002 Proceedings 2.

El Hadji Said, K. (2016). *Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des tripodes pyrazoliquespar modélisation moléculaire.* thèse de master d'université de tlemcen faculté des sciences département de …,

Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Coronaviruses: methods and protocols*, 1-23.

Feyrouze, M. (2021). *Impact de la pandémie du Coronavirus (COVID-19) sur la qualité de l'air en Algérie.* university center of abdalhafid boussouf-MILA,

Fournier, M., Lalancette, A., Ménard, L., Christin-Piché, M.-S., De Guise, S., & Brousseau, P. (2004). Biomarqueurs immunologiques appliqués à l'écotoxicologie. *Ecotoxicologie moléculaire: Principes fondamentaux et perspectives de développement, Presses de l'Université du Québec*, 401-403.

Guan, W.-j., Ni, Z.-y., Hu, Y., Liang, W.-h., Ou, C.-q., He, J.-x., . . . Hui, D. S. (2020). Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *MedRxiv*.

Gui, M., Song, W., Zhou, H., Xu, J., Chen, S., Xiang, Y., & Wang, X. (2017). Cryo-electron microscopy structures of the SARS-CoV spike glycoprotein reveal a prerequisite conformational state for receptor binding. *Cell research, 27*(1), 119-129.

Gupta, M., Sharma, R., & Kumar, A. (2018). Docking techniques in pharmacology: How much promising? *Computational biology and chemistry, 76*, 210-217.

Harapan, H., Itoh, N., Yufika, A., Winardi, W., Keam, S., Te, H., . . . Mudatsir, M. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A literature review. *Journal of infection and public health, 13*(5), 667-673.

Hioual, K. S., & Chikhi, A. (2017). Etude comparative de l'efficacité de deux programmes de docking et application à l'inhibition de la neuraminidase.

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., . . . Nitsche, A. (2020). SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell, 181*(2), 271-280. e278.

Holshue, M. L., DeBolt, C., Lindquist, S., Lofy, K. H., Wiesman, J., Bruce, H., . . . Tural, A. (2020). First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *New England journal of medicine*.

Horvath, D., Brillet, L., Roy, S., Conilleau, S., Tantar, A.-A., Boisson, J.-C., . . . Talbi, E.-G. (2009). *Local vs. Global search strategies in evolutionary grid-based conformational sampling & docking.* Paper presented at the 2009 IEEE Congress on Evolutionary Computation.

HORVATH, D., & JEANDENANS, C. (2000). Similarité moléculaire et criblage virtuel: Méthodes de recherche in silico d'analogues actifs pour la découverte de composés thérapeutiques. *L'Actualité chimique (Paris. 1973)*(9), 64-67.

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., . . . Gu, X. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The lancet, 395*(10223), 497-506.

Isaacs, E., Shukla, A., Platzman, P., Hamann, D., Barbiellini, B., & Tulk, C. (1999). Covalency of the hydrogen bond in ice: A direct X-ray measurement. *Physical Review Letters, 82*(3), 600.

Juckel, D., Dubuisson, J., & Belouzard, S. (2020). Les coronavirus, ennemis incertains. *médecine/sciences, 36*(6-7), 633-641.

K Verma, S., & K Jain, A. (2017). Molecular docking simulations as a prominent tool to envisage the preformulation perspectives of oral hypoglycaemic agents with β-cyclodextrin. *Letters in Drug Design & Discovery, 14*(11), 1283-1290.

Khamitov, R., SIa, L., Shchukina, V., Borisevich, S., Maksimov, V., & Shuster, A. (2008). Antiviral activity of arbidol and its derivatives against the pathogen of severe acute respiratory syndrome in the cell cultures. *Voprosy virusologii, 53*(4), 9-13.

Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery, 3*(11), 935-949.

Kobayashi, T., Jung, S.-m., Linton, N. M., Kinoshita, R., Hayashi, K., Miyama, T., . . . Akhmetzhanov, A. R. (2020). Communicating the risk of death from novel coronavirus disease (COVID-19). In (Vol. 9, pp. 580): MDPI.

Kotla, N. K., Kamila, S., Patel, S., Kothapally, J., Kongara, A., & Madhav, S. (2020). Nootropic herbal formulations for the treatment of Alzheimer's disease: In vivo pharmacological assay and molecular docking studies. *Journal of the Faculty of Pharmacy of Istanbul University, 50*(2), 116-125.

Kucera, T. (2016). VIRTUAL SCREENING IN DRUG DESIGN–OVERVIEW OF MOST FREQUENT TECHNIQUES. *Military Medical Science Letters, 85*(2), 75-79.

Lagarde, N. (2014). *Méthodes de criblage virtuel in silico: importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6.* Paris, CNAM,

LAHCENE, B. (2021). Recherche de nouveaux inhibiteurs d'origine naturelle du COVID-19: Etude in silico.

Lapalu, S., Izaaryene, G., Honore, N., & Couchoud, C. (2021). Role of the French national registry REIN in the health monitoring of patients with end-stage chronic renal failure infected with SARS-CoV-2: Organization and initial data. *Néphrologie & Thérapeutique, 17*(4), 218-225.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews, 23*(1-3), 3-25.

Ma, C., Gu, J., Hou, P., Zhang, L., Bai, Y., Guo, Z., . . . Zhao, X. (2020). Incidence, clinical characteristics and prognostic factor of patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *MedRxiv*, 2020.2003. 2017.20037572.

Martin, E. J., & Critchlow, R. E. (1999). Beyond mere diversity: tailoring combinatorial libraries for drug discovery. *Journal of combinatorial chemistry, 1*(1), 32-45.

Martin, L. (2006). *Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif: une application sur la protéine kinase FAK.* Montpellier 2,

mondiale de la Santé, O. (2020). *Transmission du SARS-CoV-2: implications pour les précautions visant à prévenir l'infection: document d'information scientifique, 9 juillet 2020*. Retrieved from

Morris, G. M., & Lim-Wilby, M. (2008). Molecular docking. *Molecular modeling of proteins*, 365-382.

Murcko, M. A. (1995). Computational methods to predict binding free energy in ligand-receptor complexes. *Journal of medicinal chemistry, 38*(26), 4953-4967.

Oxnard, G. R., Klein, E. A., Seiden, M., Hubbell, E., Venn, O., Jamshidi, A., . . . Kurtzman, K. N. (2019). Simultaneous multi-cancer detection and tissue of origin (TOO) localization using targeted bisulfite sequencing of plasma cell-free DNA (cfDNA). *Annals of Oncology, 30*, v912.

Parent, B., Kökösy, A., & Horvath, D. (2007). Optimized evolutionary strategies in conformational sampling. *Soft Computing, 11*, 63-79.

Parmar, P., Rao, P., Sharma, A., Shukla, A., Rawal, R. M., Saraf, M., . . . Goswami, D. (2022). Meticulous assessment of natural compounds from NPASS database for identifying analogue of GRL0617, the only known inhibitor for SARS-CoV2 papain-like protease (PLpro) using rigorous computational workflow. *Molecular diversity, 26*(1), 389-407.

Payne, S. (2017). Chapter 17-Family Coronaviridae. Viruses. In: Academic Press.

Pécheur, E.-I., Borisevich, V., Halfmann, P., Morrey, J. D., Smee, D. F., Prichard, M., . . . Polyak, S. J. (2016). The synthetic antiviral drug arbidol inhibits globally prevalent pathogenic viruses. *Journal of virology, 90*(6), 3086-3092.

Perlman, S. (2020). Another decade, another coronavirus. In (Vol. 382, pp. 760-762): Mass Medical Soc.

Prasansuklab, A., Theerasri, A., Rangsinth, P., Sillapachaiyaporn, C., Chuchawankul, S., & Tencomnao, T. (2021). Anti-COVID-19 drug candidates: A review on potential biological activities of natural products in the management of new coronavirus infection. *Journal of Traditional and Complementary Medicine, 11*(2), 144-157.

Ranjani, S., & Hemalatha, S. (2021). Green Nanoparticles Synthesized From Endophytic Fungi (Colletotrichum Gloeosporioides) Break Antibiotic Resistance in Pathogenic E. Coli.

Remko, M., Swart, M., & Bickelhaupt, F. M. (2006). Theoretical study of structure, pKa, lipophilicity, solubility, absorption, and polar surface area of some centrally acting antihypertensives. *Bioorganic & medicinal chemistry, 14*(6), 1715-1728.

Ren, L.-L., Wang, Y.-M., Wu, Z.-Q., Xiang, Z.-C., Guo, L., Xu, T., . . . Li, X.-W. (2020). Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chinese medical journal, 133*(09), 1015-1024.

Renvez, G. (2010). *Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines: vers un processus de docking.* Université Paul Sabatier-Toulouse III,

Rifaioglu, A. S., Atas, H., Martin, M. J., Cetin-Atalay, R., Atalay, V., & Doğan, T. (2019). Recent applications of deep learning and machine intelligence on in silico drug discovery: methods, tools and databases. *Briefings in bioinformatics, 20*(5), 1878-1912.

Salahi, D. (2016). *Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands.* UMMTO,

Senthil Kumar, K., Gokila Vani, M., Wang, C.-S., Chen, C.-C., Chen, Y.-C., Lu, L.-P., . . . Wang, S.-Y. (2020). Geranium and lemon essential oils and their active compounds downregulate angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), a SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain, in epithelial cells. *Plants, 9*(6), 770.

Toumi, A. (2008). *Contribution à l'étude théorique d'une série d'antagonistes du récepteur CCK1 de la cholécystokinine. Conformation, structure et réactivite par docking moléculaire.*

Vilar, S., Cozza, G., & Moro, S. (2008). Medicinal chemistry and the molecular operating environment (MOE): application of QSAR and molecular docking to drug discovery. *Current topics in medicinal chemistry, 8*(18), 1555-1572.

Vincent, M. J., Bergeron, E., Benjannet, S., Erickson, B. R., Rollin, P. E., Ksiazek, T. G., . . . Nichol, S. T. (2005). Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virology journal, 2*(1), 1-10.

Walls, A. C., Park, Y.-J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veesler, D. (2020). Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell, 181*(2), 281-292. e286.

Wang, B., Li, R., Lu, Z., & Huang, Y. (2020). Does comorbidity increase the risk of patients with COVID-19: evidence from meta-analysis. *Aging (albany NY), 12*(7), 6049.

Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., . . . Xiao, G. (2020). Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell research, 30*(3), 269-271.

Wu, D., Wu, T., Liu, Q., & Yang, Z. (2020). The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *International journal of infectious diseases, 94*, 44-48.

Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P., . . . Song, C. (2020). In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical infectious diseases, 71*(15), 732-739.

Zhang, L., Lin, D., Sun, X., Curth, U., Drosten, C., Sauerhering, L., . . . Hilgenfeld, R. (2020). Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α-ketoamide inhibitors. *Science, 368*(6489), 409-412.

Zu, Z. Y., Jiang, M. D., Xu, P. P., Chen, W., Ni, Q. Q., Lu, G. M., & Zhang, L. J. (2020). Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a perspective from China. *Radiology, 296*(2), E15-E25.