



Mémoire de projet de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de master

« Biotechnologie médicale option Biomédicale »

Criblage des molécules inhibitrices du SARS-CoV-2 par une approche *in silico*

Réalisé par :

Eleiwa moussa yahya

Devant le jury :

Pr. Azeddine IBRAHIMI	Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat	Président
Pr. Tarik AANNIZ	Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat	Encadrant
Mr. Mohammed HAKMI	Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat	Examineur

Année universitaire : 2018-2020

DEDICACE

Du fond de mon cœur et avec l'intensité de mes émotions, je dédie ce travail :

A ma chère mère Fatma Abeid ma source inépuisable de tendresse, de patience. Vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Votre prière et votre Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse Dieu tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et Bonheur.

A mon très cher père Yahya Eleiwa Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma reconnaissance et mon profond amour je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A mes frères : Elvadel, Brahim, cheick Ahmed, mohmed moustapha et sidi et à mes sœurs aminetou aichana et Havsa En signe de l'affection et du grand amour que je porte pour vous, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime Je ne pourrais jamais imaginer la vie sans vous, vous comptez énormément pour moi. Je vous aime, Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré, pour toute la spontanéité et votre élan chaleureux, je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection, amour et de mon attachement indéfectible.

A mes oncles tantes cousins et cousines qui ont de près ou de loin contribué à ma formation. et en particulière Amon oncle mohamedvall Eleiwa Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.

A monsieur le colonel moussa Ahmed aicha Je profite de la présente occasion pour vous remercier pour tout le soutien, vous m'accordez, Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Que Dieu le tout puissant vous comble de santé, de bonheur et vous prouve une longue vie pleine de joie.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord je remercie Dieu de m'avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail

Je tiens également à remercier Pr. Azeddine IBRAHIMI ; Directeur du laboratoire de biotechnologie médicale et Responsable du Master Biotechnologie Médicale, à la Faculté Médecine et de Pharmacie, les mots ne sauront jamais traduire toute ma gratitude, je tiens à vous remercier pour votre confiance, soutien, guidance et votre appui permanent non seulement comme un professeur mais plutôt un père qui m'a donné des leçons de vie.

J'ai le devoir et le plaisir de témoigner ma reconnaissance, ma gratitude et mes vifs remerciements à mon cher encadrant de projet de fin d'études, le professeur Tarik Aanniz d'avoir accepté de diriger ce travail. Sa rigueur scientifique, sa disponibilité et ses qualités humaines m'ont profondément touchée, dont ses conseils et sa confiance ont été toujours forts et présent, m'ont guidé tout au long de ce travail, sans jamais compter son temps, tout au long de ces mois. Mille fois merci.

Je remercie autant les professeurs, membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail. Et pour avoir accepté de partager avec nous vos expériences, vos compétences et vos conseils avisés.

Je tiens à remercier l'ensemble des enseignants qui ont contribué à ma formation dès mon premier jour à l'école, vous étiez et vous seriez la lampe qui nous éclaire nos chemins.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à toute l'équipe pédagogique de laboratoire MEDBIOTECH, qui m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires.

RESUME

Depuis le début de la pandémie de COVID-19, causée par le virus SARS-CoV-2, la maladie s'est rapidement propagée dans le monde entier. La recherche de médicaments efficaces capables d'inhiber le SARS-CoV-2 est devenue une quête mondiale. La principale protéase de type (M-pro), qui hydrolyse les polyprotéines virales pour produire des protéines fonctionnelles, est essentielle pour la réplication du coronavirus et considérée comme une cible thérapeutique importante pour les maladies causées par les coronavirus, y compris le COVID-19. De nombreuses molécules inhibitrices ont été proposées et certains nouveaux médicaments candidats ont obtenu du succès dans les études précliniques.

Le présent travail vise à faire un screening virtuel des petites molécules ayant la capacité d'inhiber la principale protéase (M-pro) du SARS-CoV-2 en utilisant une approche de la conception des médicaments basée sur la structure (SBDD).

Les résultats obtenus nous ont permis de sélectionner 9 molécules candidates ayant les meilleures affinités avec la protéine cible (6LU7) dont certaines ont déjà été décrites d'avoir une activité antivirale.

Mots-clés: SARS-CoV-2, COVID-19, Main protease (M-pro), Structure-based drug design SBDD

ABSTRACT

Since the outbreak of infection by SARS-CoV-2 began, which causes coronavirus disease 2019 (COVID-19), the disease has rapidly spread worldwide. The search for effective drugs able to inhibit SARS-CoV-2 has become a global pursuit. The main protease (M-pro), which hydrolyses viral polyproteins to produce functional proteins, is essential for coronavirus replication and it is considered as an important therapeutic target for diseases caused by coronaviruses, including COVID-19. Numerous inhibitor molecules have been proposed and some new drug candidates have achieved success in preclinical studies.

The present work aims to conduct a virtual screening of small molecules with the ability to inhibit the main protease (M-pro) of SARS-CoV-2 using a Structure-Based Drug Design (SBDD).

The obtained results allowed us to select 9 candidate small molecules having the best affinities with the target protein (6LU7), some of them have already been described as antiviral activity.

Keyword: SARS-CoV-2, COVID-19, main protease (M-pro), Structure-based drug design (SBDD)

TABLE DES MATIERES

Introduction.....	1
Partie I : Revue bibliographique	3
I Généralités sur le coronavirus.....	4
I.1 Historique du Covid-19.....	5
I.2 Manifestations cliniques	6
I.3 Transmission.....	7
I.4 Epidémiologie.....	8
I.5 Structure du SARS-CoV-2.....	9
I.6 Physiopathologie	12
I.7 Diagnostic	12
II Traitement.....	13
II.1 Prévention	13
II.2 Cibles de médicaments.....	15
II.3 Recherche des antiviraux	16
III Modélisation moléculaire.....	16
III.1 Docking moléculaire	17
III.2 Les approches disponibles de conception de médicament	18
III.2.1 Approche basée sur la structure	18
III.2.2 Approche basée sur le ligand	19
IV Contexte et Objectifs.....	20
Partie 2 : Matériel et Méthodes	21
I. Matériel	22
I.1 Bases de données.....	22
I.1.1 Banque de données sur les protéines (PDB)	22
I.1.2 PubChem	22
I.1.3 Mcule.....	22
I.2 Logiciel	23
I.2.1 AutoDockTools	23
I.2.2 Autodock Vina	23
I.2.3 PyMOL	23
I.2.4 Discovery Studio	23
II Méthodes.....	23

II.1	Source de la protéine cible	24
II.2	Source des ligands	24
II.3	Préparer les molécules pour le Docking	25
II.3.1	Préparer le ligand	25
II.3.2	Préparer la macromolécule	25
II.3.3	Préparer un fichier de configuration	25
II.4	Docking moléculaire	26
II.5	Évaluation de la toxicité	27
III.	workflow global utilisé pour identifier les inhibiteurs du SARS-CoV-2 M-pro	27
Partie 3: Résultats et Discussion		28
I.	Résultats	29
I.1	Validation de la méthodologie	29
I.2	Dépistage virtuel basé sur la structure	29
I.2.1	Résultats du docking moléculaire.....	29
I.2.2	Visualisation des interactions SARS-CoV-2 M-pro –Ligand	31
II.	Discussion	36
CONCLUSION		38
References bibliographies		39

Liste des abréviations

SARS : Severe Acute Respiratory Syndrome

SARS-CoV : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus

MERS-CoV : syndrome respiratoire du Moyen-Orient Coronavirus

Covid-19 : Coronavirus Disease 2019

SARS-CoV-2 : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

ARN : Acide ribonucléique

HCoV-NL63: Human coronavirus

TGEV: Transmissible gastro-enteritis coronavirus

PEDV : Porcine epidemic diarrhea virus

PrCoV : Porcine respiratory coronavirus

HKU4 : coronavirus de chauve-souris

MHV: Mouse Hepatitis virus

BCoV: Bovine Coronavirus

HCoV-OC43: Human coronavirus

IBV: Infectious bronchitis virus

PDCoV : Porcine deltacoronavirus

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine

HCoV-229E: Coronavirus humain

HCoV-HKU1 : Coronavirus humain

H5N1 : virus de la grippe

NSP: protéines non structurales

ORF: open Reading frames

ADN: Acide desoxyribonucléique

LBDD: Ligand based drug design

SBDD: Structure based drug design

TMPRSS2: Transmembranaire protéase, serine subfamily member

Liste des figures

Figure 1:Coronavirus observés en microscopie électronique. (cliché : Fred Murphy, CDC).[7]	4
Figure 2:schéma du virion du SARS-COV2 et de la structure	10
Figure 3:architecture du génome du sars-cov2 : représentation du génome de référence du sars-cov2 montrant les régions codant pour les protéines et la teneur en GC du génome.	11
Figure 4:la représentation de l'ARNm coiffé en 5' a une séquence de tête(LS), une queue poly-A à l'extrémité 3'et une UTR 5'et3' .il se compose d'ORF1a,ORF1b,spike (s),ORF3a,Enveloppe(E),membrane(M),ORF6,ORF7a,ORF7b,ORF8,Nucleocapside(N)et ORF10.	11
Figure 5:structure 3D de la protéase principale COVID-19(M pro) liée à l'inhibiteur N3.....	24
Figure 6: Config.txt	26
Figure 7:workflow de l'étude	27

Liste des Tableaux

Tableau 1: Liste des meilleures molécules présentant une affinité de liaison élevée et la réponse de ces inhibiteurs aux règles de Lipinski et l'étude de toxicité.	30
Tableau 2: Visualisation des résultats	33
Tableau 3: Activités des molécules	35

Introduction

Les maladies infectieuses sont devenues des menaces majeures pour l'existence humaine depuis des siècles et peuvent dévaster des populations entières. Au cours des 100 dernières années, la race humaine a rencontré plusieurs maladies épidémiques associées principalement à des virus.

Les coronavirus (CoVs) sont des virus de la famille des *Coronaviridae* qui appartiennent à l'ordre des *Nidovirales*, qui regroupe 4 genres : *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* et *Deltacoronavirus*. Ce sont des virus de très grande taille (80 à 160 nm de diamètre), enveloppés et dotés d'une capsidie hélicoïdale symétrique, ce qui leur confère une morphologie de couronne caractéristique, d'où leur nom. Les bêtacoronavirus ont provoqué des épidémies à deux reprises au cours des deux dernières décennies : le SARS (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère) provoqué par le SARS-CoV en 2002-2003 en Chine et le Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient provoqué par le MERS-CoV en 2012-2013 en Arabie saoudite. A la fin de l'année 2019 un nouveau coronavirus identifié à Wuhan dans la province chinoise de Hubei, a entraîné la pandémie que l'on connaît aujourd'hui sous le nom du COVID-19. Le virus mis en cause est le coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère 2 (SARS-CoV2), initialement appelé 2019-nCoV.

Le SARS-CoV-2 est un nouveau coronavirus a un grand génome viral de sens positif (environ 30 000 nucléotides), d'ARN simple brin, le génome du SARS-CoV-2 partage environ 82% d'identité de séquence avec le SARS-CoV et le MERS-CoV et plus de 90% d'identité de séquence pour les enzymes essentielles et les protéines structurales. Structurellement, le SARS-CoV-2 contient quatre protéines structurales, qui comprennent les protéines de Spike (**S**), d'enveloppe (**E**), de membrane (**M**) et de nucléocapsidie (**N**). Ces protéines partagent une similarité de séquence élevée avec la séquence de la protéine correspondante du SARS-CoV et du MERS-CoV [1].

Les symptômes sont la fièvre, un malaise et une toux qui disparaissent en quelques jours dans la plupart des cas; mais ces symptômes peuvent évoluer vers une détresse respiratoire et une insuffisance organique. La transmission se fait par l'infection par des gouttelettes, mais d'autres modes tels que la transmission aéroportée et la transmission oro-fécale sont également spéculés [2].

Selon l'organisation mondiale de la santé, environ 55928327 millions d'individus sont de cas confirmés au COVID-19 avec une mortalité d'environ 1344003 personnes [3]. Le Maroc compte désormais 311554 cas confirmés 257992 guérisons,5090 décès [4].

Actuellement, les essais contrôlés randomisés n'ont montré aucun traitement antiviral spécifique et efficace contre le COVID-19. Aucun vaccin n'est actuellement disponible. Cependant, de nombreuses formes de traitement spécifique sont jugés, avec des résultats différents, comme avec le remdesivir, lopinavir / ritonavir, le phosphate de chloroquine, le plasma convalescent de patients qui ont guéri de COVID-19, et d'autres.

Ce travail vient dans la continuité des plusieurs projets de recherche réalisés par le laboratoire de biotechnologie médicale à la faculté de médecine et pharmacie de Rabat, afin d'accélérer au plus vite la recherche pour contenir le SARS-CoV-2, et ont été parmi les premiers à mener une étude basée sur la réutilisation des médicaments antiviraux connus et le criblage virtuel à haut débit pour identifier 10 inhibiteurs potentiels de la protéase principale (M-pro) du SARS -CoV-2 [5].

Dans cette étude nous nous sommes basés sur des outils de la modélisation moléculaire dans le but d'identifier des molécules inhibitrices de la protéine M-pro du SARS-CoV-2 en utilisant une approche *in silico*.

Partie I : Revue bibliographique

I Généralités sur le coronavirus

Les coronavirus font partie de l'ordre des Nidovirales, de la famille des Coronaviridae et de la sous-famille des Coronavirinae. Ce sont des virus sphériques enveloppés de très grande taille (80 à 160 nm de diamètre), L'enveloppe porte des pointes en forme de couronne donne cet aspect de couronne en microscopie électronique, d'où son nom de coronavirus (figure 1).[6]

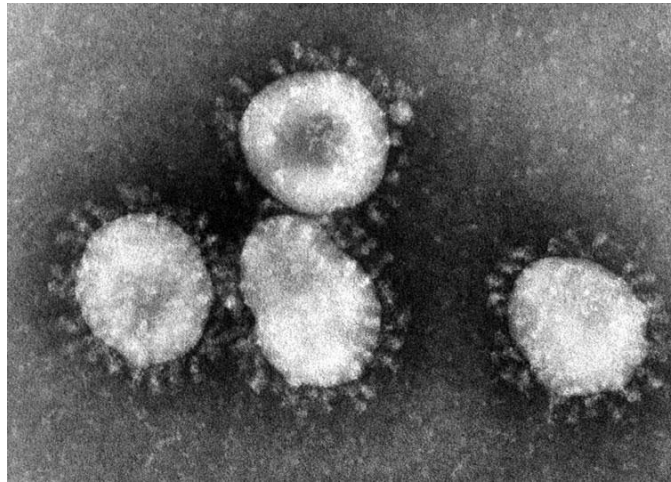


Figure 1: Coronavirus observés en microscopie électronique. (cliché : Fred Murphy, CDC).[7]

Ils sont classés en quatre genres: alphacoronavirus, betacoronavirus, gammacoronavirus et deltacoronavirus. Parmi eux, les alpha et bêtacoronavirus infectent les mammifères, les gammacoronavirus infectent les espèces aviaires et les deltacoronavirus infectent à la fois les espèces mammifères et aviaires. Les alphacoronavirus représentatifs comprennent le coronavirus humain NL63 (HCoV-NL63), le coronavirus de la gastro-entérite transmissible porcine (TGEV), le PEDV et le coronavirus respiratoire porcine (PRCoV). Les bêtacoronavirus représentatifs comprennent le SARS-CoV, le MERS-CoV, le coronavirus de chauve-souris HKU4, le coronavirus de l'hépatite de la souris (MHV), le coronavirus bovin (BCoV) et le coronavirus humain HCoV-OC43. Les gamma et deltacoronavirus représentatifs comprennent respectivement le coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) et le deltacoronavirus porcine (PdCoV).[8]

A la fin de l'année 2019, un nouveau type de bêtacoronavirus appelée SARS-CoV-2 (syndrome respiratoire aigu sévère Coronavirus 2) provoquant une maladie infectieuse appelée COVID-19 a été identifiée pour la première fois à Wuhan, la capitale de la province chinoise du Hubei, en décembre 2019. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a déclaré

que l'épidémie en Chine le 30 janvier 2020 était une urgence de santé publique de portée internationale. En raison de l'augmentation rapide du nombre de patients en dehors de la Chine et du nombre croissant de pays impliqués, le 12 mars 2020, l'OMS a déclaré que le COVID-19 était caractérisé comme une pandémie.[9]

I.1 Historique du Covid-19

En décembre 2019, une commission provinciale de la santé en Chine a signalé un groupe de cas de pneumonie de cause inconnue à Wuhan, dans la province du Hubei. La date d'apparition des symptômes pour le premier patient identifié était le 1er décembre 2019, Selon les responsables de la santé de Wuhan, la pneumonie semblait être de nature virale et les patients ont été placés en isolement, Comme il y avait des preuves très suggestives que l'épidémie était associée à une exposition sur le marché de gros de fruits de mer de Huanan à Wuhan, le marché a été fermé le 1er janvier 2020, Du 31 décembre 2019 au 3 janvier 2020, un total de 44 cas de pneumonie d'étiologie inconnue de Wuhan de la province du Hubei ont été signalés à l'OMS

Le virus a été identifié comme un nouveau type de coronavirus le 7 janvier 2020. La Thaïlande a signalé le premier cas en dehors de la Chine le 13 janvier 2020, Par la suite, des cas ont été signalés dans d'autres provinces de Chine, du Japon et de Corée du Sud. L'épidémie s'est depuis propagée rapidement et de manière exponentielle dans le monde. La première épidémie grave connue en dehors de la Chine continentale s'est produite sur le bateau de croisière «Diamond Princess», où plus de 700 personnes ont été infectées et six sont mortes. Le premier cas à Hong Kong a été confirmé le 22 janvier 2020 chez un patient rentré de Wuhan.[10]

le 12 janvier 2020 L'agent causal de Covid-19 a été provisoirement nommé n-CoV 2019 (nouveau coronavirus 2019) par l'OMS ,Le 11 février 2020, il a été officiellement nommé SRAS-CoV-2 (coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère) par le Comité international de taxonomie des virus .[2]Le 11 mars 2020, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré cette maladie pandémique, Selon l'OMS, le dernier nombre de cas positifs au COVID-19 est de 26 994 442 cas confirmés au 07 septembre 2020 , avec 880 994 décès.[11]

I.2 Manifestations cliniques

Les infections à HCoV-229E, -OC43, -NL63 et -HKU1 sont distribués dans le monde entier. En se propageant par la toux et les éternuements, ils provoquent de légères maladies des voies respiratoires supérieures chez les adultes. Cependant, chez les nourrissons, les jeunes enfants, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées, ils peuvent parfois provoquer une bronchiolite et une pneumonie potentiellement mortelles. Outre les maladies respiratoires, elles peuvent également entraîner des maladies entériques et neurologiques.[12]

Les manifestations cliniques des infections par le SARS-CoV ou MERS-CoV sont plus sévères que les infections par les coronavirus faiblement pathogènes. Les patients infectés par le SARS-CoV présentaient initialement de la fièvre, des myalgies, des maux de tête, des malaises et des frissons, suivis d'une toux non productive, d'une dyspnée, et d'une détresse respiratoire généralement 5 à 7 jours plus tard, pouvant entraîner la mort. D'autres caractéristiques notables dans certains cas comprennent l'infection du tractus gastro-intestinal, du foie, des reins et du cerveau. Des lésions alvéolaires diffuses, une prolifération des cellules épithéliales et une augmentation des macrophages sont observées dans l'infection pulmonaire par le SRAS-CoV. La lymphopénie, l'hémophagocytose pulmonaire, en plus de l'atrophie de la pulpe blanche de la rate observée chez les patients atteints du SARS, sont similaires aux infections mortelles par le virus de la grippe H5N1, La diarrhée est observée dans environ 30 à 40% des infections par SARS. Les manifestations cliniques de l'infection par le MERS-CoV vont de la pneumonie asymptomatique à la pneumonie grave avec détresse respiratoire aiguë, choc septique et insuffisance rénale entraînant la mort Une évolution typique de la maladie commence par de la fièvre, de la toux, des frissons, des maux de gorge, des myalgies et des arthralgies, suivis d'une dyspnée et d'une progression rapide vers la pneumonie Environ un tiers des patients présentent des symptômes gastro-intestinaux, tels que diarrhée et vomissements.[13]

Certaines personnes atteintes d'une infection par le SARS - CoV - 2 restent asymptomatiques, tandis que chez d'autres, l'infection peut provoquer une maladie légère à modérée et une pneumonie à COVID - 19, conduisant certains patients à nécessiter une assistance en soins intensifs et, dans certains cas, au décès, en chez les personnes âgées, les Symptômes sont ressentis par les patients.

Les personnes atteintes de COVID-19 léger peuvent ressentir de la toux, des maux de gorge, une fièvre élevée, de la diarrhée, des maux de tête, des douleurs musculaires ou articulaires,

de la fatigue et une perte de l'odorat et du goût. Les symptômes de la pneumonie COVID-19 comprennent l'essoufflement, la perte d'appétit, la confusion, la douleur ou la pression dans la poitrine et une température élevée (supérieure à 38 ° C).[14]

I.3 Transmission

Pendant longtemps, seules deux espèces de HCoV étaient connues : HCoV-229E et HCoV-OC43, toutes deux isolées au milieu des années 1960. Le HCoV-229E a été récupéré d'étudiants en médecine de Chicago qui présentaient des symptômes cliniques d'infection des voies respiratoires supérieures, Peu de temps après, un CoV distinct a été isolé à l'aide de cultures d'organes trachéaux embryonnaires humains, et appelé OC43 pour la culture d'organe numéro 43, inoculation de volontaires à la Common Cold Unit de Salisbury, au Royaume-Uni, a démontré une relation de cause à effet entre le HCoV-229E et le HCoV Infections - OC43 et symptômes du rhume.[15] Les coronavirus humains isolés plus récemment (HCoV-NL63 et HKU1) ont été décrits dans de nombreux pays. Des cas d'infections par HKU1 en dehors de l'Asie ont été détectés à New Haven aux Etats-Unis chez des enfants, ainsi qu'en Australie, en France, et au Brésil, indiquant une circulation mondiale du virus. HCoV-NL63 a été initialement isolé aux Pays-Bas fin 2004, puis a été isolé dans de nombreux pays.

L'épidémie causée par le SARS-CoV est apparue en novembre 2002 à la province de Guangdong dans le sud de la Chine. Par la suite, le SARS s'est propagé rapidement dans toute l'Asie orientale et dans 28 autres régions du monde.[15] Le SARS-CoV ne circule plus actuellement (Figure 3).

Les pays de la péninsule arabique ont été reconnus comme endémiques au MERS-CoV qui a été signalé pour la première fois en Arabie saoudite en 2012, Le premier groupe d'infections au MERS-CoV a eu lieu en novembre 2012 lorsqu'une famille a contracté le virus à Riyad, en Arabie Saoudite. Au total, 24 membres de la famille qui avaient été en contact avec le cas index ou avec des agents de santé ont développé la maladie et deux des malades sont décédés, Le deuxième cluster a été signalé rétroactivement en Jordanie en 2012 et était lié aux deux premiers cas mortels confirmés (sept sujets dont six agents de santé) Du 1er avril au 23 mai 2013, un total de 23 cas d'infections à MERS-CoV ont été signalés dans le gouvernorat d'Al-Hasa, dans la province orientale d'Arabie Saoudite, Un patient infecté par le MERS-CoV avec des antécédents de voyage aux EAU a été signalé en France en mai 2013. Ce patient partageait une chambre à l'hôpital avec un autre patient qui a été infecté. Le cas index est décédé et le deuxième patient s'est rétabli. Les infections à MERS-CoV ont rapidement

augmenté en Arabie saoudite et aux Émirats arabes unis en mars et avril 2014 , Le premier cas aux États-Unis a été signalé chez un travailleur de la santé américain travaillant à Riyad, en Arabie Saoudite. Il s'est rendu dans l'Indiana en avril 2014 et a été admis à l'unité de soins intensifs de l'hôpital. Le deuxième cas signalé aux États-Unis a été diagnostiqué positif au MERS-CoV en mai 2014 en Floride chez un citoyen américain qui était rapidement revenu de l'Arabie Saoudite ,La plus grande épidémie en Corée du Sud a débuté en mai 2015,Le premier cas a été signalé chez un homme en voyage à Bahreïn, aux Émirats arabes unis, en Arabie Saoudite et au Qatar, Depuis mai 2015, plus de 180 cas associés ont été signalés, dont 36 décès de membres de la famille et de visiteurs hospitaliers ,Pendant ce temps, le premier cas de MERS-CoV signalé en Chine concernait un Chinois qui avait voyagé de la Corée du Sud[16]

L'épidémie la plus récente de maladie COVID-19 ,qui peut provoquer une maladie respiratoire grave chez l'homme, a été une menace potentielle pour la santé humaine attirant l'attention du monde entier après la pandémie de 2003 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS) ,suivi du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS) de 2012 ,Il était originaire de la ville de Wuhan, capitale de la province chinoise du Hubei, le 29 décembre 2019 ,En dehors de la Chine, le premier cas de la maladie en Thaïlande ,et au Japon a été confirmée les 13 et 16 janvier respectivement. Afin de réduire sa propagation en dehors de la Chine, Wuhan et d'autres villes de la région ont été placées en lock-out le 23 janvier .Le virus responsable de la maladie s'est depuis propagé à d'autres régions d'Asie, d'Europe, d'Amérique du Nord, d'Amérique du Sud, d'Afrique et d'Océanie, devenant une pandémie mondiale de COVID-19 d'ici mars .[17]

I.4 Epidémiologie

Les nombres de personnes infectées par les coronavirus HCoV-NL63, HCoV-HKU1, HCoVOC43 et HCoV-229 reste méconnue à cause de faible pathogénicité, En 2002 un premier coronavirus hautement pathogène émergea dans la population humaine Malgré des mesures de quarantaine efficaces qui permirent de contenir l'épidémie, environ 8000 personnes furent infectées avec un taux de mortalité de 10% environ (WHO, 2004).De nouveau en 2012, un coronavirus fut isolé chez un patient atteint d'une pneumonie sévère, Ce betacoronavirus, apparu en Arabie Saoudite, fut nommé Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV). A ce jour, le MERS-CoV est responsable d'une épidémie qui est

toujours en cours, mais restreinte à la péninsule arabique, avec un nombre total de plus de 2000 cas recensés et un taux de mortalité d'environ 35% (OMS, 2018).

Les CoV nouvellement évolués constituent une menace élevée pour la santé publique mondiale. L'émergence actuelle du COVID-19 est la troisième épidémie de CoV chez l'homme au cours des 2 dernières décennies, Le COVID-19 est apparu en Chine et s'est répandu rapidement dans tout le pays, l'OMS a déclaré une urgence sanitaire mondiale le 31 janvier 2020; par la suite, le 11 mars 2020, ils l'ont déclaré en situation de pandémie. À l'heure actuelle le dernier nombre de cas positifs au COVID-19 est de 38 002 699 millions de cas confirmés au 14 octobre 2020, avec 1 083 234 décès selon l'OMS.[18]

I.5 Structure du SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2, le coronavirus bêta sphérique ou pléomorphe, Structurellement, le SARS-CoV-2 possède quatre protéines structurelles principales, notamment la glycoprotéine de pointe (S), la glycoprotéine de petite enveloppe (E), la glycoprotéine membranaire (M) et la protéine de nucléocapside (N), ainsi que plusieurs protéines accessoires.

La glycoprotéine (S) de pointe : est une protéine transmembranaire avec un poids moléculaire d'environ 150 kDa trouvé dans la partie externe du virus. La protéine S forme des homotrimères faisant saillie dans la surface virale et facilite la liaison des virus d'enveloppe aux cellules hôtes par attraction avec l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) exprimée dans les cellules des voies respiratoires inférieures. Cette glycoprotéine est clivée par la protéase de type furine de la cellule hôte en 2 sous-unités à savoir S1 et S2. La partie S1 est responsable de la détermination de la gamme de virus de l'hôte et du tropisme cellulaire avec la composition du domaine de liaison au récepteur, tandis que S2 sert à médier la fusion du virus dans les cellules hôtes de transmission

La nucléocapside connue sous le nom de protéine N est le composant structurel du CoV se localisant dans la région du réticulum endoplasmique-Golgi qui est structurellement lié au matériel d'acide nucléique du virus. Parce que la protéine est liée à l'ARN, la protéine est impliquée dans des processus liés au génome viral, au cycle de réplication virale et à la réponse cellulaire des cellules hôtes aux infections virales, La protéine N est également fortement phosphorylée et suggérée pour conduire à des changements structurels améliorant l'affinité pour l'ARN viral.[19]

La protéine membranaire (M) est la protéine la plus abondante présente dans le coronavirus. Il possède une bicouche triple hélice avec un domaine terminal NH₂ court dans la région extracellulaire et un terminal COOH dans la région cytoplasmique intracellulaire.

La fonction principale de la protéine est le développement d'une réponse humorale spécifique du virus. Il agit comme la protéine structurelle la plus abondante capable de neutraliser les anticorps développés chez les patients atteints du SARS. En outre, le domaine transmembranaire de la protéine M peut contenir un groupe d'épitopes de cellules T, qui détient une immunogénicité cellulaire dominante.

La protéine d'enveloppe (E) est une protéine transmembranaire qui fonctionne comme un canal ionique, permettant à la protéase humaine de libérer le matériel génomique viral vers la cellule hôte, La protéine, bien que non nécessaire pour la réplication virale, permet la pathogenèse via l'assemblage et la libération du virus.[20]

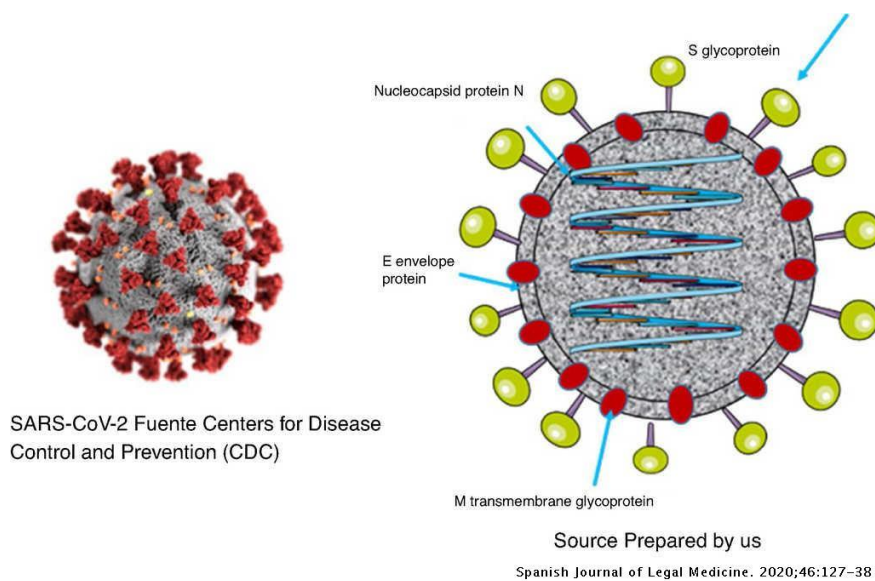


Figure 2:schéma du virion du SARS-COV2 et de la structure

Le génome du SARS-CoV-2 est composé d'un ARN simple brin de sens positif, Le génome nouvellement séquencé du SARS-CoV-2 a été soumis dans la base de données génomique du NCBI d'une taille d'environ 29,9 Kb, La composition génétique du SARS-CoV-2 est composée de 13 à 15 cadres de lecture ouverts (ORF) (12 fonctionnels) contenant environ 30000 nucléotides, Le génome contient 38% de la teneur en GC et 11 gènes codant pour les protéines, avec 12 protéines exprimées, La disposition génétique des ORF ressemble beaucoup au SARS-CoV et au MERS-CoV, Les ORF sont organisés en réplicase et protéase (1a – 1b) et en protéines majeures Spike (S), d'enveloppe (E), de membrane (M) et de

nucléocapside (N), qui suivent un ordre d'apparition typique de 5'-3' et sont considérées comme des cibles médicamenteuses / vaccinales majeures. Ces produits géniques jouent un rôle important dans l'entrée virale, la fusion et la survie dans les cellules. L'organisation génomique du SARS-CoV-2 partage environ 89% d'identité de séquence avec d'autres CoV. Les séquences traduites des protéines SARS-CoV-2 ont été extraites de la GenBank[([numéro d'accès : NC_045512.2](#))]. Le génome entier du SARS-CoV-2 code pour environ 7096 résidus de polyprotéine longue qui se compose de nombreuses protéines structurales et non structurales (NSP). Le contenu nucléotidique du génome viral est principalement détenu par deux protéines non structurales ORF1a et ORF1b suivies par des protéines structurales. Les polyprotéines pp1a et pp1ab sont codées par les ORF 1a et 1b, où la polyprotéine pp1ab est codée par le mécanisme de décalage de cadre ribosomal du gène 1b. Ces polyprotéines sont ensuite traitées par des protéinases virales codées et produisent 16 protéines, qui sont bien conservées dans tous les CoV appartenant à la même famille.[1]

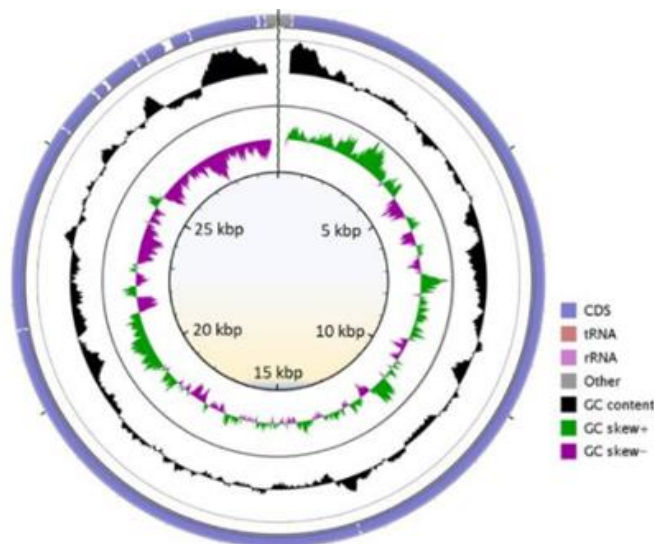


Figure 3: architecture du génome du sars-cov2 : représentation du génome de référence du sars-cov2 montrant les régions codant pour les protéines et la teneur en GC du génome.



Figure 4: la représentation de l'ARNm coiffé en 5' a une séquence de tête (LS), une queue poly-A à l'extrémité 3' et une UTR 5' et 3'. Il se compose d'ORF1a, ORF1b, spike (S), ORF3a, Enveloppe (E), membrane (M), ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, Nucleocapside (N) et ORF10

I.6 Physiopathologie

Le SARS-CoV-2 pénètre dans les cellules hôtes sensibles via la protéine de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE)2 comme son récepteur. L'ACE2 est abondamment exprimé dans l'épithélium alvéolaire de type II des voies respiratoires inférieures mais est également exprimé dans les voies respiratoires supérieures, le pharynx et le tractus gastro-intestinal, en particulier l'intestin grêle, Les virus atteignent les muqueuses à travers des gouttelettes ou via les doigts qui touchent la surface des objets contaminés et infectent les cellules sensibles, Une voie d'infection indépendante de l'ACE2 via la dipipétyl peptidase 4 (DPP4) et / ou la protéine 78 régulée par le glucose (GPR78) peut également exister dans diverses cellules, y compris les lymphocytes, ce qui induit une immunodéficience transitoire; cependant, les détails de ce processus sont inconnus, La virémie n'est pas fréquemment observée, mais nous ne pouvons pas exclure la dissémination sanguine du SARS-CoV-2 dans divers organes, Contrairement aux enfants et aux jeunes personnes moins sensibles au COVID-19, les adultes plus âgés et ceux qui ont des complications telles que le diabète sucré et l'hypertension ont les taux de mortalité les plus élevés, Bien que la majorité des personnes infectées sont asymptomatiques ou présentent que des symptômes bénins, ils peuvent répandre le virus par la toux, la salive et les selles, Après des périodes d'incubation allant jusqu'à 14 jours, des symptômes tels que fièvre, toux et malaise peuvent apparaître, L'état de porteur asymptomatique est important car ils propagent également le virus dans l'air et les environs.[26]

I.7 Diagnostic

À l'heure actuelle, le diagnostic de COVID-19 repose en grande partie sur l'accord des lignes directrices qui comprend des tests de laboratoire et une technique d'imagerie par tomodensitométrie thoracique. Le test PCR des contacts asymptomatiques ou légèrement symptomatiques peut être utilisé dans l'évaluation des personnes qui ont été en contact avec un cas de COVID-19, et l'OMS n'a pas accepté les résultats d'un scanner thoracique sans confirmation RT-PCR dans le diagnostic de COVID-19.

Pour détecter les acides nucléiques viraux, la PCR en temps réel est la méthode les plus courante et les plus sensibles pour les échantillons cliniques, mais il prend du temps, et nécessitant des efforts considérables et a un taux de faux négatifs élevé, La sensibilité et la spécificité de la tomodensitométrie sont bonnes, mais, la tomodensitométrie ne peut pas distinguer le COVID-19 des autres pneumonies virales.[21]

Les tests sérologiques détectent la présence d'IgG, d'IgM ou des deux. Une élucidation positive a été définie comme un IgM positif, Les IgG et IgM du SARS-CoV-2 sont détectées dans le sang total, le plasma, le sérum ou les échantillons. Les anticorps augmentent tardivement au cours de la maladie; la durée moyenne de détection des anticorps anti-SARS-CoV-2 IgM était de 5 jours, alors que la détection des IgG environ 2 semaines après l'apparition des symptômes, Le test sérologique est très simple, rapide ne nécessite aucune instrumentation et peut fournir des résultats en seulement 15 min.[22]

II Traitement

Il n'y a pas de traitement spécifique disponible pour le SARS-CoV-2 et le traitement actuel repose sur des soins de soutien des patients infectés, Cependant, certaines preuves suggèrent l'utilisation de médicaments réutilisables comme choix thérapeutique actuel. Il a été démontré que le remdesivir, un médicament à base d'analogues nucléosidiques actuellement en essai clinique pour le traitement de l'infection par le virus Ebola, bloque l'infection par le SARS-CoV-2 in vitro .De plus, le favipiravir, un type d'inhibiteur de l'ARN polymérase dépendant de l'ARN qui a été conçu pour traiter l'infection par le virus de la grippe, s'est avéré avoir une activité antivirale contre le SARS-CoV-2 .L'utilisation de la chloroquine, en particulier de l'hydroxychloroquine, s'est avérée efficace contre le SARS-CoV-2 in vitro, qui interfère avec la glycosylation des récepteurs cellulaires .Outre les inhibiteurs de l'attachement, les inhibiteurs de protéase TMPRSS2 se sont également avérés bloquer l'infection par le SARS-CoV-2 dans les cellules pulmonaires.

II.1 Prévention

Les stratégies de prévention actuelles de l'infection par le SARS-CoV-2 reposent sur des mesures de protection individuelle telles que la couverture du nez / de la bouche en cas de toux ou d'éternuement, l'utilisation d'un masque FFP3 ou N95, l'utilisation de tissus pour contenir les sécrétions respiratoires et les jeter dans la poubelle la plus proche. Et l'hygiène des mains après un contact avec des objets / matériaux contaminés ou des sécrétions respiratoires. Les professionnels de la santé sont les plus à risque de contracter une infection par le SARS-CoV-2 de la part de patients infectés et, par conséquent, des précautions extrêmes doivent être prises lors de la manipulation des patients COVID-19. Les voyageurs internationaux présentant des symptômes du SARS-CoV-2 doit être isolé et mis en quarantaine pour prévenir d'autres infections.[23]

L'OMS et d'autres organisations ont émis les recommandations générales suivantes:

- Évitez tout contact étroit avec des sujets souffrant d'infections respiratoires aiguës.
- Lavez-vous les mains fréquemment, surtout après un contact avec des personnes infectées ou leur environnement.
- Évitez tout contact non protégé avec des animaux de la ferme ou des animaux sauvages.
- Les personnes présentant des symptômes d'infection aiguë des voies respiratoires doivent garder leurs distances, couvrir la toux ou les éternuements avec des mouchoirs ou des vêtements jetables et se laver les mains.
- Renforcer, en particulier, dans les services de médecine d'urgence, l'application de mesures d'hygiène strictes pour la prévention et le contrôle des infections.
- Les personnes immunodéprimées devraient éviter les rassemblements publics.[24]

En dehors de ces mesures de protection individuelle, le développement d'un vaccin efficace est le moyen ultime de contrôler l'infection par le SARS-CoV-2.

À l'heure actuelle, il n'existe aucun vaccin approuvé contre le SARS-CoV-2, mais de nombreux candidats sont en cours de développement. Cependant, le processus de développement est en cours de rationalisation, Des tentatives sont en cours pour le développement de stratégies prophylactiques sûres et efficaces.

La première possibilité est le sérum de convalescence des personnes qui se sont remises de l'attaque COVID-19, qui peut être utilisé comme thérapie immédiate. À la recherche d'un vaccin approprié contre le SARS-CoV-2, un vaccin à base d'ARNm (ARNm-1273) de Moderna , et des vaccins d'autres sociétés telles que CanSino Biologics, Sinovac Biotech, entre autres sont en cours de développement et ont atteint les dernières étapes des essais cliniques .De plus, un effort conjoint est fait par l'Université d'Oxford et les Rocky Mountain Laboratories pour développer un vaccin à vecteur d'adénovirus chimpanzé (ChAdOx1). Il y a 29 candidats vaccins en cours d'évaluation clinique et 138 en évaluation préclinique au 13 août 2020.Le vaccin antigène codé ChAdOx1 contre le SARS-CoV-2 avec un virus non répliquable peut déclencher une réponse immunitaire robuste contre le virus avec l'avantage supplémentaire d'une immunisation sûre des personnes âgées, des enfants et des personnes présentant des comorbidités, Un rapport préliminaire d'un essai contrôlé randomisé en simple

aveugle de phase 1/2 pour évaluer l'innocuité et l'immunogénicité du vaccin ChAdOx1 nCoV-19 contre le SARS-CoV-2 a montré un profil d'innocuité acceptable et une augmentation homologue de la réponse des anticorps. Ces résultats, ainsi que l'induction de réponses immunitaires humorales et cellulaires, soutiennent l'évaluation à grande échelle de ce candidat vaccin dans un programme de phase 3 en cours. Un vaccin fabriqué par Moderna Therapeutics en collaboration avec le NIAID a également terminé des essais cliniques. De plus, un candidat vaccin exprimant la protéine S du SARS-CoV-2 à l'aide de la technologie de plate-forme de vaccin à ARNm est également en phase finale. Un vaccin à base de plasmide d'ADN ciblant la protéine S du SARS-CoV-2 (INO-4800) a été développé par INOVIO Pharmaceuticals et il a été rapporté qu'il induisait l'activation des cellules immunitaires par inoculation intradermique.[25]

Les autres modes de développement de vaccins sont l'utilisation du virus lui-même ou de sa partie pour développer des vaccins à base d'organismes entiers ou des vaccins sous-unitaires. Ceux-ci incluent des vaccins atténués ou inactivés utilisant le SARS-CoV-2 cultivé qui peuvent être atténués par passage ou inactivés par des méthodes physiques et chimiques telles que la lumière UV, le formaldéhyde et la β -propiolactone.[26]

II.2 Cibles de médicaments

Les médicaments antiviraux ciblant le SARS-CoV-2 peuvent être classés en deux grandes classes, le premier groupe ciblant les interactions virus-hôte ou inhibant l'assemblage viral, L'autre approche inclurait des médicaments qui modulent les réponses immunitaires innées de l'hôte à large spectre ou interfèrent avec les voies de signalisation impliquées dans la réplication virale.

Ces médicaments peuvent être capables de récepteurs de l'hôte d'engagement ou de protéases utilisées pour l'entrée virale ou peuvent influencer sur la voie d'endocytose. Essentiellement trois approches générales peuvent être utilisées pour le criblage de composés antiviraux capables d'inhiber l'infection COVID-19:

- ✓ La première approche consiste à vérifier les composés et molécules antiviraux existants et à estimer leur effet sur la réplication et le conditionnement viraux. Les molécules telles que l'interféron alpha, bêta et gamma, la ribavirine et les inhibiteurs chimiques de la cyclophiline 8 peut être évalué pour leur activité antivirale. Ces antiviraux connus présentent un avantage stratégique car ils sont en utilisation clinique

active et leurs propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques sont bien étudiées. D'un autre côté, ces médicaments peuvent manquer de spécificité contre le SARS-CoV-2 et peuvent donc avoir des effets indésirables graves.

- ✓ La seconde approche implique le criblage de bibliothèques chimiques qui constituent des composés ciblant la machinerie transcriptionnelle de diverses lignées cellulaires.
- ✓ La troisième approche pourrait impliquer le développement de nouveaux agents spécifiques résultant d'une recherche fondamentale approfondie autour de la compréhension génomique et biophysique du cycle de vie du SARS-CoV-2.[27]

II.3 Recherche des antiviraux

Le besoin de traitements éprouvés spécifiques à la maladie pour le nouveau coronavirus SARS-CoV-2 nécessite une recherche mondiale d'options thérapeutiques. Étant donné que le virus SARS-CoV-2 partage une homologie étendue avec le SARS-CoV et le MERS-CoV, des thérapies efficaces contre le SARS-CoV et le MERS-CoV peuvent également avoir un potentiel thérapeutique pour l'épidémie actuelle de COVID-19. Les analyses mécanistes et in vitro suggèrent de multiples options thérapeutiques prometteuses avec un potentiel de réutilisation pour traiter les patients atteints de COVID-19. Les agents thérapeutiques présentant une efficacité potentielle particulièrement élevée pour la réutilisation comprennent le mésylate de camostat, le remdesivir, le favipiravir, le tocilizumab, le baricitinib, le plasma de convalescence et les anticorps monoclonaux humanisés. Le mésylate de camostat a montré un potentiel thérapeutique, probablement en empêchant l'entrée virale dans les cellules épithéliales. Dans les premières recherches, les antiviraux ciblés remdesivir et favipiravir semblent bénéficier aux patients en diminuant la réplication virale; les essais cliniques suggèrent que le remdesivir accélère la guérison du COVID-19. Le tocilizumab et le baricitinib semblent améliorer la mortalité en empêchant une grave tempête de cytokines. Le plasma convalescent et les anticorps monoclonaux humanisés offrent une immunité passive et un temps de récupération réduit.[28]

III Modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est un ensemble de techniques de simulation du comportement de molécules. Elle permet de reconstruire la structure tridimensionnelle de molécules, notamment en biologie structurale, à partir de données expérimentales telles que la cristallographie aux rayons X; elle permet également de simuler le comportement dynamique

des molécules et leurs mouvements internes. Enfin, elle est utilisée pour concevoir de nouveaux médicaments.[29]

III.1 Docking moléculaire

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales mentionnées ci-dessus. Les logiciels de docking moléculaire sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'inhiber le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. Tous les programmes "docking" peuvent être divisés en deux étapes, la partie de la recherche de correspondances potentielles pour un lien et de la partie d'évaluation de cette fonction de correspondance ou de notation. Cela devrait permettre de déterminer expérimentalement la meilleure affectation de la complexité la plus réaliste. Pour faire ce choix, la fonction degré s'est classiquement appuyée sur l'intégration exceptionnelle de fonctions et groupes chimiques. Il existe de nombreuses fonctions d'enregistrement, mais il n'est pas pratique de considérer tous les paramètres physiques et chimiques impliqués dans les interactions intermoléculaires pour le moment.[30]

Le docking moléculaire est une méthode établie *in silico* basée sur la structure largement utilisée dans la découverte de médicaments. Le docking permet d'identifier de nouveaux composés d'intérêt thérapeutique, de prédire les interactions ligand-cible au niveau moléculaire cibles. Le docking est évolué depuis sa première apparition. En fait, bien qu'il ait d'abord été développé pour étudier la reconnaissance moléculaire entre grandes et petites molécules, il est maintenant utilisé pour aider à différentes tâches de découverte de médicaments, telles que l'identification et l'optimisation des hits, le repositionnement de médicaments, l'identification *a posteriori de* cibles (dépistage inverse), conception de ligands multi-cibles et repositionnement. De plus, l'amarrage permet de comprendre les relations entre les différentes cibles moléculaires impliquées dans une maladie donnée, ce qui est également d'une grande importance pour la polypharmacologie, et la découverte de médicaments modernes en général.[31]

III.2 Les approches disponibles de conception de médicament

La conception de médicaments assistée par ordinateur (CADD) est un outil très utile dans la conception rationnelle de médicaments pour minimiser le temps d'identification, de caractérisation et d'optimisation de la structure des nouveaux médicaments candidats. CADD peut également être utile pour la conception rationnelle de promédicaments. Les promédicaments sont généralement conçus pour augmenter la spécificité ou la biodisponibilité des molécules médicamenteuses d'origine. La conception de médicaments à base de ligands est une approche indirecte visant à faciliter le développement de composés pharmacologiquement actifs en étudiant des molécules qui interagissent avec la cible biologique d'intérêt [9]. En revanche, les méthodes de conception de médicaments basées sur la structure utilisent directement la connaissance de la structure 3D de la molécule cible pour identifier ou optimiser les candidats médicaments. Les méthodes CADD peuvent être appliquées à la conception de médicaments à base de ligand et à base de structure. Les méthodes de conception de médicaments à base de ligands sont utiles en l'absence d'une structure 3D expérimentale. En raison de l'absence de structure expérimentale, les molécules de ligand connues qui se lient à la cible médicamenteuse sont étudiées pour comprendre les propriétés structurales et physico-chimiques des ligands qui sont en corrélation avec l'activité pharmacologique souhaitée de ces ligands.[32]

III.2.1 Approche basée sur la structure

Si la structure tridimensionnelle d'une cible médicamenteuse liée à une maladie est connue, les techniques CADD les plus couramment utilisées sont basées sur la structure. Dans SBDD, les thérapies sont conçues sur la base de la connaissance de la structure cible. Deux méthodes couramment utilisées dans la SBDD sont les approches d'amarrage moléculaire et la conception de ligand de novo (antagonistes, agonistes, inhibiteurs, etc. d'une cible). Les simulations de dynamique moléculaire (MD) sont fréquemment utilisées dans la SBDD pour donner un aperçu non seulement de la manière dont les ligands se lient aux protéines cibles, mais également des voies d'interaction et pour tenir compte de la flexibilité de la cible. Ceci est particulièrement important lorsque les médicaments cibles sont des protéines membranaires où la perméabilité membranaire est considérée comme importante pour que les médicaments soient utiles. Toutes les méthodes basées sur la structure reposent sur la structure cible tridimensionnelle. La manière la plus courante de déterminer une structure protéique est la cristallographie aux rayons X et la spectroscopie RMN.

III.2.2 Approche basée sur le ligand

Dans le cas où la structure potentielle du médicament cible est inconnue et la prédiction de cette structure à l'aide de méthodes telles que la modélisation d'homologie ou la prédiction de la structure ab initio est difficile ou indésirable, le protocole alternatif à utiliser est la conception de médicaments basée sur le ligand. Mais surtout, cette méthode repose sur la connaissance de petites molécules qui se lient à la cible d'intérêt. La modélisation des pharmacophores, les approches de similarité moléculaire et la modélisation QSAR (relation quantitative structure – activité) sont des approches LBDD populaires. Dans les méthodes de similarité moléculaire, l'empreinte moléculaire de ligands connus qui se lient à une cible est utilisée pour trouver des molécules avec des empreintes digitales similaires en criblant des bibliothèques moléculaires. Dans la modélisation pharmacophore basée sur les ligands, les caractéristiques structurelles communes des ligands qui se lient à une cible sont utilisées pour effectuer le criblage. QSAR est une méthode de calcul qui modélise la relation entre les caractéristiques structurelles des ligands qui se lient à une cible et l'effet d'activité biologique correspondant.[33]

IV Contexte et Objectifs

Dans le domaine d'analyse de génome du SARS-COV2 le laboratoire de biotechnologie a analysé les séquences de 30983 génomes complets provenant de 80 pays situés dans six zones géographiques (Afrique, Asie, Europe, Amérique du Nord et du Sud et Océanie) isolées du 24 décembre 2019 au 13 mai 2020, et les a comparés au génome de référence. Cette analyse approfondie a révélé la présence de 3 206 sites variants par rapport au génome de référence Wuhan, avec une distribution largement uniforme sur tous les continents. Fait remarquable, une faible fréquence de mutations récurrentes a été observée.[34]

Parmi les premiers travaux ayant été mené, une étude basée sur le criblage virtuel à haut débit a permis de repositionner 10 médicaments antiviraux approuvés par la FDA, inhibant la protéase principale (Mpro) du SARS -CoV-2.[5] En outre, 4 composés phytochimiques (polyphénols) qui pourraient potentiellement inhiber l'interaction de la protéine Spike SARS-CoV-2 avec GRP78, en plus de 5 peptides (satpdb18674, satpdb18446, satpdb12488, satpdb14438 et satpdb28899) qui ciblent simultanément la protéine Spike et sa région de liaison dans GRP78 ont été identifiés. Le satpdb18674 et l'EGCG ont donné les meilleurs résultats pour tous les sites ciblés pour les 2 protéines.[35]

Cette étude vient dans la continuité des travaux des recherches réalisés au sein du laboratoire de biotechnologie à la faculté de médecine et pharmacie de Rabat afin de trouver des traitements potentiels du covid-19. L'objectif principal de notre projet de fin d'études de master est l'utilisation d'une approche *in silico* pour proposer des molécules inhibitrices la protéase principale du SARS-COV-2 (Mpro).

Partie 2 : Matériel et Méthodes

I. Matériel

Afin de proposer des inhibiteurs potentiels du SARS-CoV-2 M-pro, des criblages virtuels basés sur les ligands et basés sur la structure ont été réalisés. De nombreux médicaments antiviraux ont été réutilisés contre la cible sélectionnée et de nombreuses petites molécules ont été nouvellement proposées.

I.1 Bases de données

I.1.1 Banque de données sur les protéines (PDB)

PDB est une banque de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques. Cette banque de données contenait 171313 structures 3D[36]. Les données, généralement obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN ou, de plus en plus, microscopie cryoélectronique[37] Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question telle que le nom de la macromolécule, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale. Aussi on y trouve des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes (ligand, métaux, résidus modifiés... etc.), la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y, Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée sont disponibles. Et la dernière section du fichier fournit des informations sur les conditions chimiques entre les atomes.

I.1.2 PubChem

La base de données PubChem a été utilisée pour récupérer les structures 3D des composés utilisés dans cette étude. Il contient principalement de petites molécules, mais aussi des molécules plus grosses telles que des nucléotides, des glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules chimiquement modifiées. PubChem recueille des informations sur les structures chimiques, les identifiants, les propriétés chimiques et physiques, les activités biologiques, les brevets, la santé, la sécurité, les données de toxicité et bien d'autres.[38]

I.1.3 Molecule

Molecule est une plateforme de découverte de médicaments en ligne qui propose des outils de modélisation moléculaire pour l'identification des hits, et l'optimisation des leads, Il offre une solution unique aux entreprises pharmaceutiques et biotechnologiques en fournissant la base de données de composés acheteables de la plus haute qualité et des outils de modélisation moléculaire.[39]

I.2 Logiciel

I.2.1 AutoDockTools

AutoDockTools, ou ADT, est l'interface graphique gratuite pour AutoDock développée par le même laboratoire qui développe AutoDock. Vous pouvez l'utiliser pour configurer, exécuter et analyser les ancrages AutoDock et les cartes d'affinité AutoGrid isocontour, ainsi que pour calculer des surfaces moléculaires, afficher des rubans de structure secondaire, calculer des liaisons hydrogène et faire bien d'autres choses utiles.[39]

I.2.2 Autodock Vina

AutoDock Vina est une nouvelle génération de logiciel d'accueil du Molecular Graphics Lab. Il permet des améliorations significatives de la précision moyenne des prédictions du mode de liaison, tout en étant jusqu'à deux ordres de grandeur plus rapide qu'AutoDock.[41]

I.2.3 PyMOL

PyMOL est un système de visualisation moléculaire open source, capable de produire des images 3D de haute qualité de petites molécules et de macromolécules biologiques, telles que des protéines.[42]

I.2.4 Discovery Studio

Discovery Studio est une suite de logiciels pour stimuler les systèmes de petites molécules et macromolécules. Il couvre les domaines suivants: simulations, conception de ligands, modélisation de pharmacophore, conception basée sur la structure, QSAR et ADMET.[43]

II Méthodes

Pour entreprendre notre dépistage virtuel, les étapes suivantes ont été effectuées:

- ✓ Sélection et préparation de la cible
- ✓ Sélection et préparation du ligand
- ✓ Docking moléculaire
- ✓ Analyse post-docking
- ✓ Évaluation de toxicité.

II.1 Source de la protéine cible

La structure cristallographique de la protéase principale COVID-19(M^{pro}) en complexe avec un inhibiteur N3 a été obtenue au format PDB auprès de la banque de données protéiques **Protein Data Bank** (www.rcsb.org/pdb). Avec le code PDB : 6LU7. La structure 3D de la protéine a été résolue par cristallographie au rayon X avec une résolution de 2,16 Å.[44]

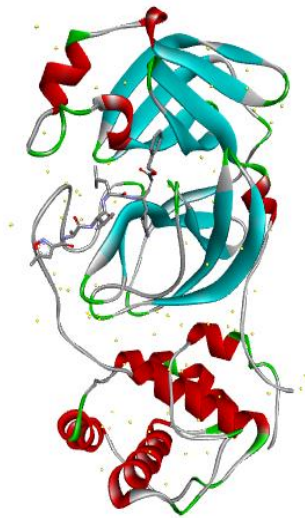


Figure 5: structure 3D de la protéase principale COVID-19(M pro) liée à l'inhibiteur N3.

II.2 Source des ligands

Les projets de criblage visant à identifier de nouveaux inhibiteurs sélectifs et puissants d'une protéine cible utilisent généralement des banques de composés à grande échelle contenant plusieurs milliers, voire des millions, de petites molécules pour lancer le processus de filtrage. Les projets de criblage visant à identifier de nouveaux inhibiteurs sélectifs et puissants d'une protéine cible choisie utilisent généralement des banques de composés à grande échelle contenant plusieurs milliers, voire des millions, de petites molécules pour lancer le processus de filtrage. En fonction du but et du type d'étude. Dans cette étude nous avons utilisé la plateforme Mcule (<https://mcule.com>) comme source de ligands pour le criblage virtuel. Cette plateforme fournit une base de données de composés et des outils de modélisation moléculaire de grande qualité. Nous avons rempli les cases de l'output par les coordonnées de site actif (X= -11.821; Y= 14.735; Z=74.152) puis on a fait le Virtual Screening en ligne et la

base de données fournit au final 100 ligands potentiels ayant montré les énergies de liaisons les plus faibles.

II.3 Préparer les molécules pour le Docking

En utilisant Autodock tools , nous avons pu examiner la structure de la protéine (6LU7) et aussi de préparer la structure du récepteur pour l'amarrage. Cela implique la suppression des molécules de ligands et de solvants, l'élimination des emplacements alternatifs des résidus, l'ajout d'atomes d'hydrogène et l'attribution de charges aux atomes de protéines. Les ligands ont été préparés en ajoutant des atomes d'hydrogène (valeurs par défaut), et en assignant des charges à l'aide de l'autodock Tools.

II.3.1 Préparer le ligand

Les ligands ont été téléchargés à partir de la base de données PubChem dans un format de fichier SDF, puis convertis en format de fichier pdb à l'aide du logiciel PyMol. Les fichiers de ligand pour AutoDock Vina doivent être au format pdbqt et contenir des types d'atomes pris en charge par AutoDock ainsi que des enregistrements supplémentaires qui spécifient des liaisons rotatables.

II.3.2 Préparer la macromolécule

La protéine sélectionnée pour cette étude est La structure cristalline de la protéase principale COVID-19 en complexe avec un inhibiteur N3. La protéine est téléchargée à partir de la Banque de données sur les protéines au format de fichier pdb (6LU7.pdb).

II.3.3 Préparer un fichier de configuration

AutoDock Vina nécessite un fichier de configuration d'entrée qui contient toutes les informations des paramètres utilisés pour configurer l'amarrage, y compris le nom de la protéine et le ligand. Vina dispose d'un paramètre appelé "exhaustiveness" qui contrôle la durée de sa recherche. Un autre paramètre est la plage d'énergie représente la différence d'énergie entre le score le plus élevé et le plus bas, par défaut, il est fixé à 4. La configuration est la suivante :

```
receptor = 6lu7.pdbqt
ligand = lig.pdbqt

center_x = -11.821
center_y = 14.735
center_z = 74.152

size_x = 40
size_y = 40
size_z = 40

energy_range = 4

exhaustiveness = 8
```

Figure 6: Config.txt

À partir du fichier « grid.txt », nous avons écrit les coordonnées center x, y et z, ainsi que les sizes x, y et z de la boîte de grille. Enregistrez ce fichier sous le nom de « conf.txt ».

II.4 Docking moléculaire

Après avoir mis les fichiers suivants dans le même dossier :

- ❖ 6LU7.pdbqt
- ❖ Lig.pdbt
- ❖ Config.txt
- ❖ Tous les fichiers d'installation MGL_Tools, Autodock Tools et Autodock Vina.

Nous ouvrons l'invite de commandes et entrons dans le dossier où tous les fichiers d'amarrage sont des lieux. Et puis nous tapez la commande suivante:

```
"C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute\Vina\vina.exe" --receptor
6lu7.pdbqt --ligand lig.pdbqt --config confi.txt --log log.txt --out result.pdbqt
```

NB : Le mot ligand dans la commande est modifié avec le nom exact de chaque ligand est défini pour chaque Docking.

II.5 Évaluation de la toxicité

L'évaluation de la toxicité des molécules utilisées dans cette étude a été réalisée à l'aide du Mcule Toxicity Checker. Sur la base de cette évaluation, plusieurs molécules ont été choisies comme inhibiteurs potentiels de la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2. et Pour étudier la réponse de ces inhibiteurs aux règles de Lipinski les paramètres suivants ont été calculés :

- ❖ Nombres des donneurs d'hydrogènes < 5
- ❖ Nombres des accepteurs d'hydrogènes < 10
- ❖ Le coefficient de partage Log P < 5
- ❖ Le poids moléculaire < 500
- ❖ Nombres d'angle de rotation ≤ 5

III. workflow global utilisé pour identifier les inhibiteurs du SARS-CoV-2 M-pro

Le workflow global représentant les principales étapes, bases de données et logiciels utilisés dans cette étude pour identifier les inhibiteurs potentiels de la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2. Est résumé dans la figure suivante.

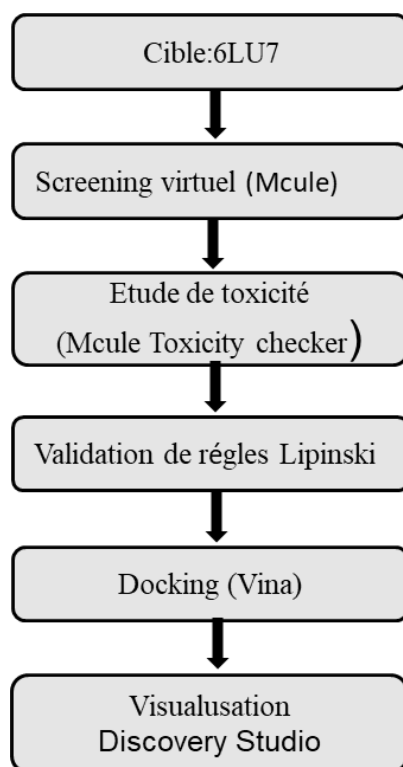


Figure 7:workflow de l'étude

Partie 3: Résultats et Discussion

I. Résultats

Dans cette étude nous avons utilisé la plateforme Mcule comme source de ligands pour le criblage virtuel. Pour identifier de nouveaux inhibiteurs de la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2. Cette plateforme fournit une base de données de composés et des outils de modélisation moléculaire de grande qualité. Qui contient des composés synthétiques et naturels provenant de bases de données ont été soumis à une approche de criblage virtuel, ce qui a permis de donner 100 ligands avec un score entre -8.9 jusqu'à -7.2. Ces molécules ont subi une étude de toxicité par Mcule Toxicity Checker. Ce qui nous a permis de retenir 44 molécules. Ensuite, nous avons procédé à la validation de règles de Lipinski ce qui nous a donné au final 9 molécules candidates. Le logiciel Autodock Vina a été utilisé dans toutes les expériences de docking, avec la structure de la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2 (PDB ID:6LU7) avec une grille (40 Å × 40 Å × 40 Å) centrée sur (-11.821, 14.735, 74.152). Le Discovery Studio ont été utilisés pour visualiser les interactions du ligand avec le site actif.

I.1 Validation de la méthodologie

Notre étude a révélé que les résultats du docking moléculaire ont présenté de bonnes affinités pour la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2. Ces valeurs sont proches de celles obtenues dans la plateforme Mcule, Ces résultats valident notre approche méthodologique.

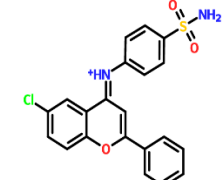
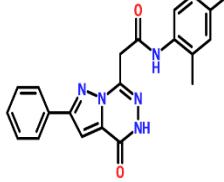
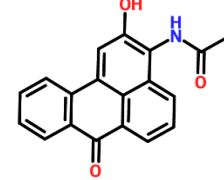
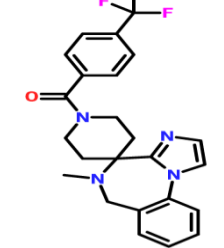
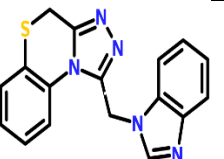
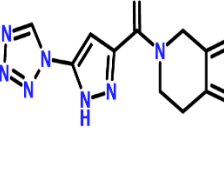
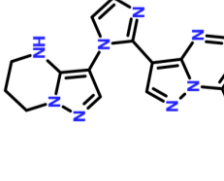
I.2 Dépistage virtuel basé sur la structure

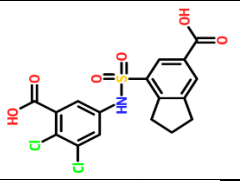
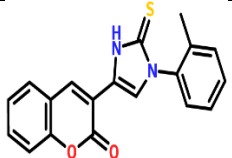
I.2.1 Résultats du docking moléculaire

Une approche de criblage virtuel basée sur la structure a été utilisée pour identifier de petites molécules ayant une forte affinité pour la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2. Pour cela, nous avons utilisé la plateforme Mcule pour obtenir 100 composés avec une affinité d'au moins -7,2 kcal / mol. À partir d'eux, nous avons récupéré ceux qui ont le meilleur profil, sur la base des règles de Lipinski et de l'évaluation de la toxicité. Ensuite, nous avons effectué le docking à l'aide d'Autodock Vina pour confirmer et valider les résultats obtenus. Sur la base de l'affinité, 9 molécules avec la meilleure affinité de liaison allant de -8,9 kcal / mol à -7.2 kcal / mol ont été sélectionnées (**tableau 1**). Le ligand 1 (MCULE-5935141746-0-3) était le plus important -8.9 kcal / mol. De plus, le ligand 2 (MCULE-1072471071-0-1) présentait -8.7 kcal / mol, le ligand 3 (MCULE-2311910160-0-3) présentait -7.9 kcal / mol, le ligand 4 (MCULE-5696882259-0-1) présentait -7.8 kcal / mol, le ligand 5 (MCULE-4381582535-0-2) présentait -7.8 kcal / mol, le ligand 6 (MCULE-1683348323-0-1), ligand 7 (MCULE-

9696737701-0-1) et ligand 8 (MCULE-3051795213-0-2) ont tous présenté -7.4 kcal / mol et enfin le ligand 9 (MCULE-6871546770-0-2) présentait -7.2 kcal / mol. Les structures des ligands sélectionnés sont présentées au **tableau 1**.

Tableau 1: Liste des meilleures molécules présentant une affinité de liaison élevée et la réponse de ces inhibiteurs aux règles de Lipinski et l'étude de toxicité.

	ID Mcule	nom Iupac	Structure	Affinité (kcal / mol)	Toxicité
1	MCULE-5935141746-0-3	(6-chloro-2-phénylchromène-4-ylidène) - (4-sulfamoylphényl) azanium		-8.9	Non toxique
2	MCULE-1072471071-0-1	N- (2,4-diméthylphényl) -2-(4-oxo-2-phényl-5H-pyrazolo [1,5-d] [1,2,4] triazin-7-yl) acétamide		-8.7	Non toxique
3	MCULE-2311910160-0-3	N- (2-hydroxy-7-oxobenzo [a] phénalén-3-yl) acétamide		-7.9	Non toxique
4	MCULE-5696882259-0-1	5-Méthyl-1'-[4-(trifluorométhyl)benzoyl]-5,6-dihydrospiro[imidazo[1,2-{a}][1,4]benzodiazepine-4,4'-piperidine]		-7.8	Non toxique
5	MCULE-4381582535-0-2	1- (benzimidazol-1-ylméthyl) -4H- [1,2,4] triazolo [3,4-c] [1,4] benzothiazine		-7.7	Non toxique
6	MCULE-1683348323-0-1	6,7-dihydro-4H- [1,2] oxazolo [4,3-c] pyridin-5-yl- [3-(tétrazol-1-yl) -1H-pyrazol-5-yl] méthanone		-7.4	Non toxique
7	MCULE-9696737701-0-1	5,7-diméthyl-3- [1-(4,5,6,7-tétrahydropyrazolo [1,5-a] pyrimidin-3-yl) imidazol-2-yl] pyrazolo [1,5-a] pyrimidine		-7.4	Non toxique

8	MCULE-3051795213-0-2	acide 7 - [(3-carboxy-4,5-dichlorophényl) sulfamoyl] -2,3-dihydro-1H-indène-5-carboxylique		-7.4	Non toxique
9	MCULE-6871546770-0-2	3- [3- (2-méthylphényl) -2-sulfanylidène-1H-imidazol-5-yl] chromen-2-one		-7.2	Non toxique

I.2.2 Visualisation des interactions SARS-CoV-2 M-pro –Ligand

De nombreux produits chimiques avec de puissantes activités anti-M-pro du SARS-CoV-2 et en fonction de leur affinité pour le site de liaison, nous avons étudié leurs interactions ligand-protéine visualisées en 2D et 3D en utilisant le logiciel Discovery Studio Visualiser.

Le premier composé (Ligand 1), a montré de nombreuses interactions avec la cible, y compris une liaison hydrogène conventionnelle avec THR-26, une liaison pi-soufre avec CYS-145, une liaison pi-alkyl avec MET-49, deux liaisons alkyle avec (MET-165 et CYS-145). (Tableau 2)

la plupart des interactions du composé (Ligand 2), avec la protéine sont deux liaisons hydrogène conventionnelle avec (LEU-141 et GLY-143), une liaison pi-soufre avec MET-165 et d'un pi-alkyle avec MET-49, une interaction Pi-Pi stacked avec HIS-41 et en fin une interaction pi-donneur Liaison hydrogène avec (CYS-145). (Tableau 2)

Le ligand 3 a formé quatre liaison hydrogènes conventionnelle avec (GLN-189, CYS145, GLY-143 et SER-144), deux liaisons pi-alkyl (MET-49 et LEU-27), une pi-cation avec (HIS-41) et une interaction pi-donneur de Liaison hydrogène et pi-alkyle avec CYS-145. (tableau 2)

Le Ligand 4 a montré de nombreuses interactions avec la cible y compris, une liaisons hydrogènes conventionnelle et alkyl avec CYS-145 et une liaison hydrogènes conventionnelle HIS-41 en plus une liaison hydrogène carbone et pi-anion avec GLU-166 et une liaison hydrogène carbone PHE-140, et en fin une liaison pi-soufre (MET-49). (Tableau 2)

Ligand 5 a forme de nombreuses interactions avec la cible y compris une liaison hydrogène conventionnelle avec HIS-163, une liaisons Van Der Waals HIS-164, une liaison pi-pi T-shaped avec LEU-141, une liaison amide-pi stacked avec HIS-41, une liaison pi-soufre et alkyl

avec CYS-145 une liaison pi-alkyle avec MET-49 et une liaison alkyle avec MET-165. (Tableau 2)

Le ligand 6 a formé cinq liaisons hydrogènes conventionnelles avec (HIS-41, CYS-145, GLY-143, LEU-141, SER-144) et une liaison p-soufre avec CYS-145. (Tableau 2)

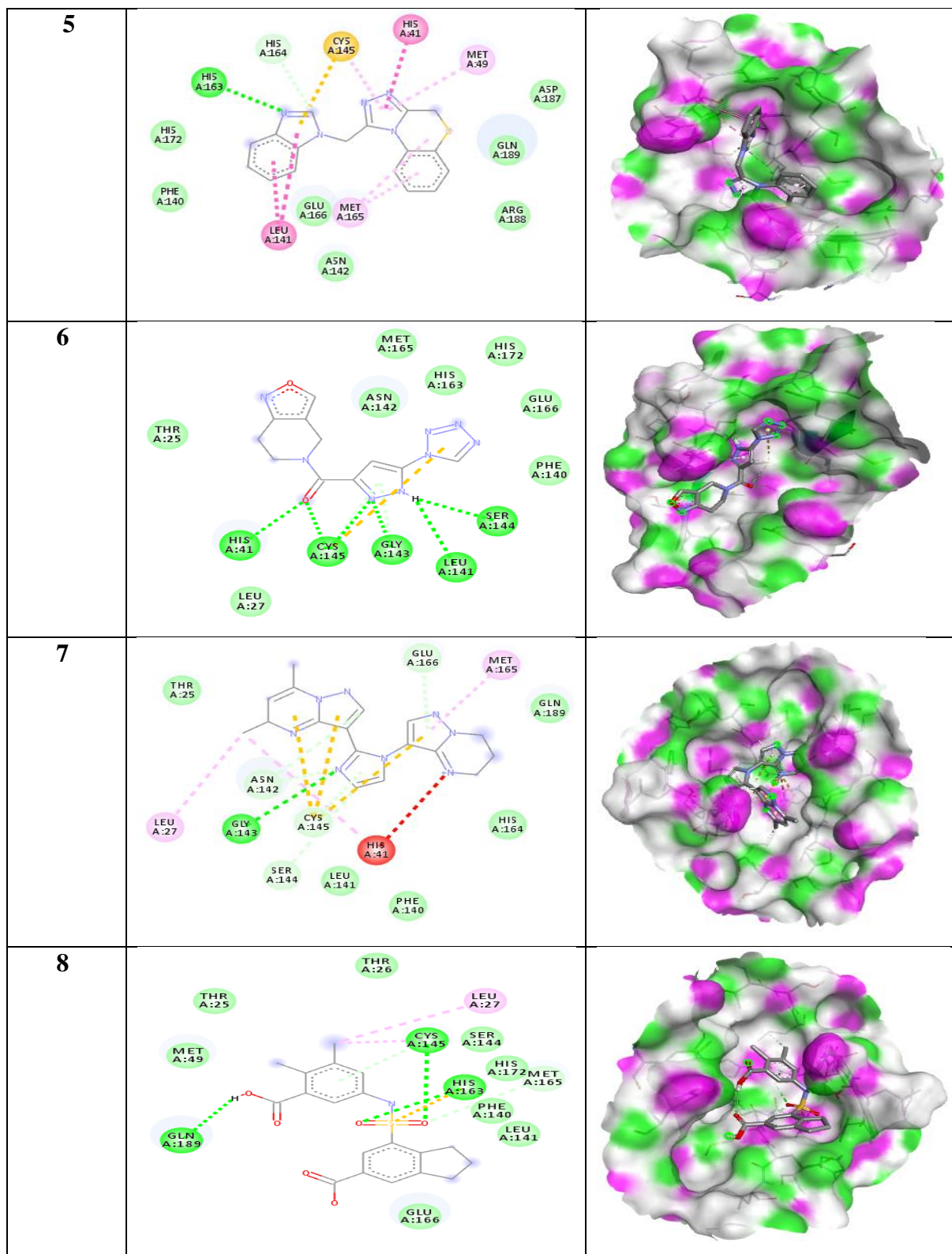
De plus, le ligand 7 s'est formée avec la cible une liaison hydrogène conventionnelle avec GLY-143, une liaison Van Der Waals avec GLU-166 et cinq interactions hydrogène carbone (ASN-142, CYS-145 et SER-144) et trois liaisons alkyl (LEU-27, MET-165 et HIS-41) et une liaison alkyl et Donateur-donateur défavorable avec HIS-41. (Tableau 2)

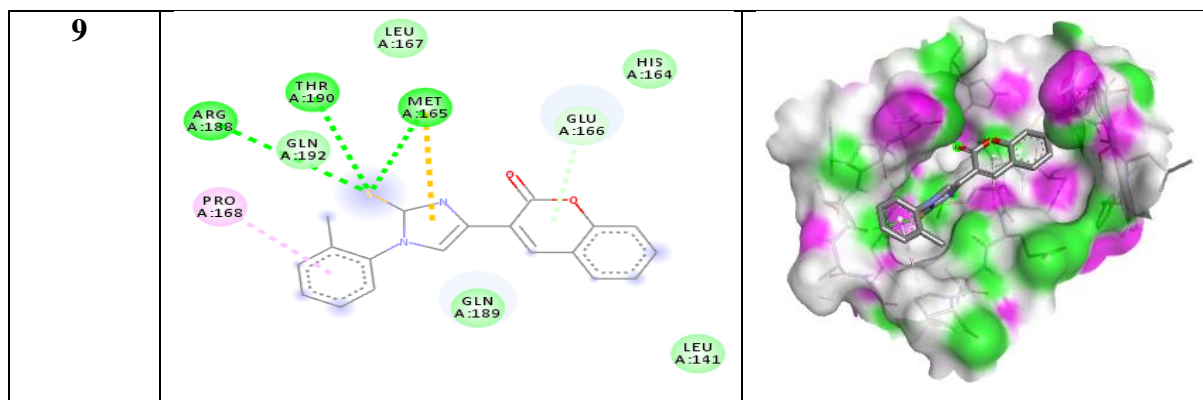
Trois liaisons hydrogènes conventionnelles (GLN-189, CYS-145, HIS-163) ont été formées entre la cible et le ligand 8, une liaison hydrogène carbone avec MET-165, une liaison pi-soufre avec HIS-163 et deux liaisons alkyle avec (LEU-27 et CYS-145) et en fin un donneur de liaison hydrogène avec CYS-145. (Tableau 2)

Quant au dernier composé (Ligand 9), il a été remarqué qu'il avait établi diverses interactions avec le site de liaison dont, trois liaisons hydrogènes conventionnelles (ARG-188, THR-190 et MET-165), une liaison pi-soufre avec MET-165, une interaction pi-alkyle avec PRO-168, et enfin un donneur de liaison hydrogène avec GLU-166. (Tableau 2)

Tableau 2: Visualisation des résultats

Ligand	Visualisation 2D	Visualisation 3D
1	<p>2D visualization of ligand 1 showing interactions with residues: MET A:165, CYS A:145, HIS A:164, MET A:49, ARG A:188, PRO A:52, TYR A:54, ASP A:187, LEU A:27, THR A:26, ASN A:142, THR A:25, and THR A:24.</p>	<p>3D visualization of ligand 1 bound in a protein pocket, showing interactions with residues: MET A:165, CYS A:145, HIS A:164, MET A:49, ARG A:188, PRO A:52, TYR A:54, ASP A:187, LEU A:27, THR A:26, ASN A:142, THR A:25, and THR A:24.</p>
2	<p>2D visualization of ligand 2 showing interactions with residues: GLU A:166, GLN A:189, MET A:165, HIS A:41, MET A:49, ASP A:187, HIS A:164, ARG A:188, TYR A:54, LEU A:141, and GLY A:143.</p>	<p>3D visualization of ligand 2 bound in a protein pocket, showing interactions with residues: GLU A:166, GLN A:189, MET A:165, HIS A:41, MET A:49, ASP A:187, HIS A:164, ARG A:188, TYR A:54, LEU A:141, and GLY A:143.</p>
3	<p>2D visualization of ligand 3 showing interactions with residues: THR A:25, MET A:49, LEU A:27, HIS A:41, THR A:26, CYS A:145, GLY A:143, LEU A:141, ASP A:187, MET A:165, HIS A:164, SER A:144, ASN A:142, ARG A:188, and HIS A:163.</p>	<p>3D visualization of ligand 3 bound in a protein pocket, showing interactions with residues: THR A:25, MET A:49, LEU A:27, HIS A:41, THR A:26, CYS A:145, GLY A:143, LEU A:141, ASP A:187, MET A:165, HIS A:164, SER A:144, ASN A:142, ARG A:188, and HIS A:163.</p>
4	<p>2D visualization of ligand 4 showing interactions with residues: HIS A:41, MET A:49, CYS A:145, MET A:165, GLY A:143, HIS A:164, PHE A:140, HIS A:172, and GLU A:166.</p>	<p>3D visualization of ligand 4 bound in a protein pocket, showing interactions with residues: HIS A:41, MET A:49, CYS A:145, MET A:165, GLY A:143, HIS A:164, PHE A:140, HIS A:172, and GLU A:166.</p>





Voici les interactions qu'ils existent entre les ligands et la cible :

- | | | |
|----------------------------|--------------------------|------------------|
| Van der Waals | Unfavourable donor-donor | Pi-Cation |
| Conventional hydrogen bond | Pi-Pi T-shaped | Amide-pi stacked |
| Pi-donor hydrogen bond | carbon hydrogen bond | Pi-Pi Stacked |
| Pi-sulfur | Alkyl | |
| Pi-Alkyl | Pi-Anion | |

Nous avons ensuite cherché les activités de nos molécules dans la littérature (Tableau 3)

Tableau 3: Activités des molécules

Molécules	Activités
1et 9	anticoagulantes, anti-inflammatoires, antivirales, anticancéreuses et antiarythmiques
2, 6 et 7	antitumoraux, antibactériens et antifongiques, antiviraux, antiparasitaires, antituberculeux et insecticides. anti-inflammatoires, antidiabétiques, anesthésiques et analgésiques
4et 5	anxiolytique, sédatrice, amnésiante, myorelaxante et anti-convulsivante
3et8	Inconnue

II. Discussion

La recherche de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement du covid19 a attiré l'attention sur la principale protéase (M-pro) en raison de son rôle essentiel dans le traitement des polyprotéines qui sont traduites à partir de l'ARN viral , Dans cette étude nous avons utilisée des structure synthétiques qui sont des alcaloïdes, métabolites secondaires, à base azotée, et souvent hétérocycliques.

Nous avons également effectué un criblage virtuel basé sur la structure pour identifier de nouveaux inhibiteurs de la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2. Pour cela, nous avons utilisé la base de données Mcule. Sur un total de 100 molécules proposées par Mcule contre la cible, 9 molécules ont été conservées après évaluation de la toxicité et des règles de Lipinski. Ensuite, nous avons effectué un deuxième docking à l'aide d'Autodock Vina pour confirmer le résultat fiable obtenu. Au total, 9 molécules avec des valeurs de score du docking prometteuses, allant de -8.9 à -7,2 kcal / mol ont été sélectionnées. La visualisation tridimensionnelle a montré que les 9 ligands étaient bien ajustés à l'intérieur de la poche de liaison de la protéase principale(Mpro). Le ligand MCULE-5935141746-0-3 était le meilleur et présentait -8.9 kcal / mol comme énergie d'affinité.

Notre étude bibliographique montre que Les molécules 1et 9 figurants dans le tableau 1 avec respectivement les ID MCULE-5935141746-0-3et MCULE-6871546770-0-2 contenant les noyaux chromone et la coumarine qui ont des activités anticoagulantes, anti-inflammatoires, antivirales, anticancéreuses, et antiarythmiques.[45]

les molécules 2,6 et 7contenant respectivement les ID MCULE-1072471071-0-1 , MCULE-1683348323-0-1 et MCULE-9696737701-0-1qui ont un noyau pyrazoles qui possèdent une activité antitumoraux, antibactériens et antifongiques, antiviraux, antiparasitaires, antituberculeux insecticides, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anesthésiques et analgésiques.[46]

En outre, la molécule 4 ayant MCULE ID MCULE-5696882259-0-1 contient en noyau benzodiazépine qui est une substance anxiolytique le plus utilisée, en raison de leur efficacité symptomatique rapide et de leur faible toxicité. Le benzodiazépine est rapidement absorbées dans le tube digestif et métabolisées principalement au niveau hépatique.. Elle possède des

propriétés pharmacologiques communes : anxiolytique, sédatrice, amnésiante, myorelaxante, anticonvulsivante.[47]

la molécule 5 avec MCULE ID MCULE-4381582535-0-2 contient un noyau benzothiazole qui a une activité Antibactérien.[48], et les molécules 3 et 8 ne possèdent aucune activité connue.

CONCLUSION

L'épidémie de COVID-19 représente le principal problème de santé publique de nos jours, il est urgent de comprendre la situation actuelle et de développer des stratégies pour contenir la propagation du virus. Actuellement, plusieurs thérapies réutilisables pour le COVID-19 se sont révélées cliniquement efficaces. En outre, des institutions et des entreprises mondiales ont commencé à développer des vaccins pour la prévention du COVID-19. Le repositionnement des médicaments est une stratégie efficace et rapide pour fournir des solutions thérapeutiques au COVID-19. Les approches *in silico* peuvent être très utiles pour identifier de nouvelles indications pour des médicaments approuvés dont les données pharmacocinétiques sont déjà connues, leur permettant de passer rapidement aux phases finales des essais cliniques.[35]

Dans cette étude et à travers une approche *in silico* le docking et le criblage virtuel ont été utilisés pour la découverte des nouveaux inhibiteurs de la de la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2.

Le criblage virtuel basé sur la structure de ligand nous a permis de récupérer à partir de la plateforme Mcule, 100 molécules susceptibles de se lier à la protéase principale (M-pro) du SARS-CoV-2. Après avoir effectué le docking moléculaire, et la validation des règles de Lipinski et l'évaluation de la toxicité, ce qui nous a donné au final 9 molécules candidates. Ces molécules pourraient être proposées comme inhibiteurs potentiels du protéase principale du SARS-CoV-2.

A la lumière des résultats obtenus ces molécules peuvent faire l'objet d'étude approfondies pour confirmer l'activité anti SARS-COV2.

References bibliographies

- [1] « Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7293463/> (consulté le oct. 03, 2020).
- [2] S. Nikhat et M. Fazil, « Overview of Covid-19; its prevention and management in the light of Unani medicine », *Sci. Total Environ.*, vol. 728, p. 138859, août 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138859.
- [3] « WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard ». <https://covid19.who.int> (consulté le nov. 20, 2020).
- [4] « BQ_COVID_19-11-20.pdf ». Consulté le: nov. 20, 2020. [En ligne]. Disponible sur: http://www.covidmaroc.ma/Documents/BULLETIN/BQ_COVID_19-11-20.pdf.
- [5] M. Hakmi, E. M. Bouricha, I. Kandoussi, J. E. Harti, et A. Ibrahim, « Repurposing of known anti-virals as potential inhibitors for SARS-CoV-2 main protease using molecular docking analysis », *Bioinformation*, vol. 16, n° 4, p. 301, 2020, doi: 10.6026/97320630016301.
- [6] « these du sars cov 2018.pdf ». .
- [7] « Figure 24 : Coronavirus observés en microscopie électronique. (cliché :... », *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/figure/Coronavirus-observees-en-microscopie-electronique-cliche-Fred-Murphy-CDC_fig22_321481150 (consulté le nov. 20, 2020).
- [8] F. Li, « Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins », *Annu. Rev. Virol.*, vol. 3, n° 1, p. 237-261, sept. 2016, doi: 10.1146/annurev-virology-110615-042301.
- [9] « Statins and the COVID-19 main protease: in silico evidence on direct interaction ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7212226/> (consulté le oct. 14, 2020).
- [10] K. L. Hon *et al.*, « Overview: The history and pediatric perspectives of severe acute respiratory syndromes: Novel or just like SARS », *Pediatr. Pulmonol.*, vol. 55, n° 7, p. 1584-1591, juill. 2020, doi: 10.1002/ppul.24810.
- [11] « WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard ». <https://covid19.who.int> (consulté le oct. 14, 2020).
- [12] D. X. Liu, J. Q. Liang, et T. S. Fung, « Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 », *Ref. Module Life Sci.*, 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.21501-X.
- [13] S. Su *et al.*, « Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses », *Trends Microbiol.*, vol. 24, n° 6, p. 490-502, juin 2016, doi: 10.1016/j.tim.2016.03.003.
- [14] T. Struyf *et al.*, « Signs and symptoms to determine if a patient presenting in primary care or hospital outpatient settings has COVID-19 disease », *Cochrane Database Syst. Rev.*, vol. 2020, n° 7, juill. 2020, doi: 10.1002/14651858.CD013665.
- [15] B. A. Wevers et L. van der Hoek, « Recently Discovered Human Coronaviruses », *Clin. Lab. Med.*, vol. 29, n° 4, p. 715-724, déc. 2009, doi: 10.1016/j.cll.2009.07.007.
- [16] A. Mostafa *et al.*, « Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV): State of the Science », *Microorganisms*, vol. 8, n° 7, juill. 2020, doi: 10.3390/microorganisms8070991.
- [17] « Evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A global health emergency ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7190497/> (consulté le oct. 14, 2020).
- [18] « WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard ». <https://covid19.who.int> (consulté le oct. 14, 2020).

- [19] I. Astuti et Ysrafil, « Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response », *Diabetes Metab. Syndr.*, vol. 14, n° 4, p. 407-412, 2020, doi: 10.1016/j.dsx.2020.04.020.
- [20] R. Poduri, G. Joshi, et G. Jagadeesh, « Drugs targeting various stages of the SARS-CoV-2 life cycle: Exploring promising drugs for the treatment of Covid-19 », *Cell. Signal.*, vol. 74, p. 109721, oct. 2020, doi: 10.1016/j.cellsig.2020.109721.
- [21] S. Hayakawa, S. Komine-Aizawa, et G. G. Mor, « Covid-19 pandemic and pregnancy », *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, août 2020, doi: 10.1111/jog.14384.
- [22] « Genetic and pathogenic characterization of SARS-CoV-2: a review ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7451412/#B95> (consulté le oct. 14, 2020).
- [23] S. K. Saxena, S. Kumar, V. K. Maurya, R. Sharma, H. R. Dandu, et M. L. B. Bhatt, « Current Insight into the Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) », *Coronavirus Dis. 2019 COVID-19*, p. 1-8, avr. 2020, doi: 10.1007/978-981-15-4814-7_1.
- [24] M. Cascella, M. Rajnik, A. Cuomo, S. C. Dulebohn, et R. Di Napoli, « Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) », in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
- [25] « SARS-CoV-2/COVID-19 and advances in developing potential therapeutics and vaccines to counter this emerging pandemic ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7464065/> (consulté le oct. 14, 2020).
- [26] W. Shang, Y. Yang, Y. Rao, et X. Rao, « The outbreak of SARS-CoV-2 pneumonia calls for viral vaccines », *NPJ Vaccines*, vol. 5, mars 2020, doi: 10.1038/s41541-020-0170-0.
- [27] A. Saxena, « Drug targets for COVID-19 therapeutics: Ongoing global efforts », *J. Biosci.*, vol. 45, n° 1, 2020, doi: 10.1007/s12038-020-00067-w.
- [28] J. Santos, S. Brierley, M. J. Gandhi, M. A. Cohen, P. C. Moschella, et A. B. L. Declan, « Repurposing Therapeutics for Potential Treatment of SARS-CoV-2: A Review », *Viruses*, vol. 12, n° 7, juin 2020, doi: 10.3390/v12070705.
- [29] « Modélisation moléculaire — Wikipédia ». https://fr.wikipedia.org/wiki/Mod%C3%A9lisation_mol%C3%A9culaire (consulté le oct. 14, 2020).
- [30] L. B.-B. Hacene et U. A. B. Belkaid, « Etude par modélisation moléculaire des mécanismes de complexation. », p. 110.
- [31] « Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6769923/> (consulté le oct. 14, 2020).
- [32] « Recent Advances in Ligand-Based Drug Design: Relevance and Utility of the Conformationally Sampled Pharmacophore Approach ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2975775/> (consulté le oct. 14, 2020).
- [33] « Computational methods in drug discovery ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5238551/> (consulté le oct. 14, 2020).
- [34] T. Alouane *et al.*, « Genomic diversity and hotspot mutations in 30,983 SARS-CoV-2 genomes: moving toward a universal vaccine for the “confined virus”? », *bioRxiv*, p. 2020.06.20.163188, juin 2020, doi: 10.1101/2020.06.20.163188.
- [35] L. Allam *et al.*, « Targeting the GRP78-Dependant SARS-CoV-2 Cell Entry by Peptides and Small Molecules », *Bioinforma. Biol. Insights*, oct. 2020, doi: 10.1177/1177932220965505.
- [36] R. P. D. Bank, « RCSB PDB: Homepage ». <https://www.rcsb.org/> (consulté le nov. 19, 2020).

- [37] « Protein Data Bank », *Wikipedia*. nov. 13, 2020, Consulté le: nov. 19, 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Protein_Data_Bank&oldid=988422699.
- [38] « About PubChem ». <https://pubchemdocs.ncbi.nlm.nih.gov/about> (consulté le nov. 19, 2020).
- [39] « Tableau de bord ». <https://mcule.com/dashboard/> (consulté le nov. 19, 2020).
- [40] « ADT / AutoDockTools — AutoDock ». <http://autodock.scripps.edu/resources/adt> (consulté le nov. 19, 2020).
- [41] « AutoDock - AutoDock ». <http://autodock.scripps.edu/> (consulté le nov. 19, 2020).
- [42] « PyMOL », *Wikipedia*. oct. 07, 2020, Consulté le: nov. 19, 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=PyMOL&oldid=982282892>.
- [43] « Discovery Studio », *Wikipedia*. sept. 11, 2019, Consulté le: nov. 19, 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Discovery_Studio&oldid=915151245.
- [44] « Structure of M pro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors | Nature ». <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2223-y> (consulté le nov. 19, 2020).
- [45] J. Nawrot-Modranka, E. Nawrot, et J. Graczyk, « In vivo antitumor, in vitro antibacterial activity and alkylating properties of phosphorohydrazine derivatives of coumarin and chromone », *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 41, n° 11, p. 1301-1309, nov. 2006, doi: 10.1016/j.ejmech.2006.06.004.
- [46] E. M. Sharshira et N. M. M. Hamada, « Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Some Pyrazole Derivatives », *Molecules*, vol. 17, n° 5, p. 4962-4971, avr. 2012, doi: 10.3390/molecules17054962.
- [47] « Benzodiazépines ». <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/benzodiazepines> (consulté le nov. 19, 2020).
- [48] M. Gjorgjieva, T. Tomašič, D. Kikelj, et L. P. Mašič, « Benzothiazole-based Compounds in Antibacterial Drug Discovery », *Curr. Med. Chem.*, vol. 25, n° 38, p. 5218-5236, 2018, doi: 10.2174/0929867324666171009103327.

