



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V – Rabat
Faculté de Médecine et de Pharmacie
RABAT



Année 2022

N° : MM482022

MÉMOIRE DE MASTER

MASTER de « **Biotechnologie Médicale** »

OPTIION « **Biomédicale** »

Intitulé

**Criblage in Silico des Composés Phytochimiques d'origine
Naturelle contre la Protéase Principale (M^{pro}) du SARS-CoV-2**

Soutenu le 29/09/2022 par :

El Mostafa SALMAN

Devant le jury composé de :

Pr. **EL HARTI JAOUAD**, *Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*, **Président**

Pr. **MAURADY Amal**, *Faculté des Sciences et Techniques de Tanger*, **Encadrante**

Pr. **KANDOUSSI Ilham**, *Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*, **Examinatrice**



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V – Rabat
Faculté de Médecine et de Pharmacie
RABAT



Année 2022

N° : MM482022

MÉMOIRE DE MASTER

MASTER de « **Biotechnologie Médicale** »

OPTION « **Biomédicale** »

Intitulé

**Criblage in Silico des Composés Phytochimiques d'origine
Naturelle contre la Protéase Principale (M^{pro}) du SARS-CoV-2**

Soutenu par :

Mr. El Mostafa SALMAN

Encadré par :

Pr. Amal MAURADY

Laboratoire LTI, ENSAT, UAE

Devant le jury composé de :

Pr. EL HARTI Jaouad, *Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*, **Président**

Pr. MAURADY Amal, *Faculté des Sciences et Techniques de Tanger*, **Encadrante**

Pr. KANDOUSSI Ilham, *Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*, **Examinatrice**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Ce travail de recherche a été réalisé dans le Laboratoire des Technologies Innovantes (**LTI**) sous la responsabilité du Pr. **Mohammed Reda Britel** au sein de l'École Nationale des Sciences Appliquées de Tanger ENSAT.



REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Pr. **IBRAHIMI Azeddine** (Directeur du laboratoire de biotechnologie médicale (*MedBiotech*) et Pr. **OUADGHIRI Mouna** (Coordinatrice du master biotechnologie médicale) pour m'avoir fait confiance. Ainsi, le temps, l'attention, l'intérêt que vous avez bien voulu me témoigner n'ont pas été perdus. Ils m'ont donné envie de persévérer dans mes études pour lesquelles vous m'avez donné le plus grand respect. Je possède désormais une expérience qui me donne des pistes pour m'améliorer.

Je pense également à Pr. **Britel Mohammed Reda** (Directeur du Laboratoire des Technologies Innovantes (*LTI*)) qui a cru en mon potentiel et m'a accueilli au sein de cette structure de recherche pluridisciplinaire.

À ce titre, je souhaiterais remercier tout particulièrement Pr. **MAURADY Amal** (Encadrante) qui m'a épaulé, conseillé et qui m'a surtout transmis son expertise dans le domaine du Drug Design. Votre compétence pédagogique incontestable ainsi que vos qualités humaines vous valent l'admiration et le respect de tous. Veuillez, cher Professeur, trouver dans ce modeste travail l'expression de ma haute considération, de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Je n'oublie pas non plus les doctorants M. **BOULAAMANE Yassir**, Mlle. **TOUATI Iman** et M. **SADOQ Badr-Eddine** qui m'ont sans cesse soutenu dans l'élaboration de mon projet et m'ont aidé à chaque étape de ce rapport de stage.

Remerciements spéciaux au membres de Jury Pr. **EL HARTI Jaouad** et Pr. **KANDOUCI Ilham** qui ont contribué, grâce à ses conseils et recommandations, à l'élaboration et au bon déroulé de mon rapport de stage. Vous avez accepté aimablement de juger ce projet. Cet honneur me touche infiniment et je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance. Veuillez accepter, chers professeurs, dans ce travail l'assurance de ma profonde admiration et mon profond respect.

DEDICACES

En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude...

L'amour, le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce travail à **MA FAMILLE**.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterais jamais assez. Puisse Dieu, le Très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais nous ne vous décevions.

À toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai omis de citer...



RÉSUMÉ

Titre : Criblage in Silico des Composés Phytochimiques d'origine Naturelle contre la Protéase Principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2.

Auteur : El Mostafa SALMAN

Mots clés : Composés Naturels ; SARS-CoV-2 M^{Pro} ; Screening Virtuel ; Docking Moléculaire ; Prédiction ADMET.

L'absence de traitements efficaces de la nouvelle maladie à coronavirus (COVID-19) a conduit à la recherche d'antiviraux spécifiques capables d'inhiber la réplication du virus. Plusieurs médicaments tels que le remdesivir, le molnupiravir et le paxlovid ont été inclus dans le schéma thérapeutique et ont montré des résultats efficaces dans plusieurs cas, mais parfois avec des effets secondaires qui sont assez graves. Cependant, pour atténuer la crise actuelle et se préparer aux futures pandémies, il existe un besoin continu d'explorer la diversité des composés naturels pour leur activité antivirale. La protéase principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2 est reconnue comme une cible thérapeutique réussie pour le développement de nouveaux médicaments.

L'objectif de cette étude est d'investiguer les modes d'interactions d'un ensemble de 350 molécules d'origine naturelle récupérés à partir de la chimiothèque AMBINTER SARL afin de pouvoir diriger la conception rationnelle de nouvelles molécules hautement sélectives pour la (M^{Pro}). Le Criblage virtuel et l'amarrage moléculaire deux techniques qui ont été effectués afin d'étudier le mécanisme d'interaction de ces composés avec la (M^{Pro}). L'évaluation prédictive des propriétés physicochimiques et les paramètres pharmacocinétiques de ces molécules est prise en compte afin de prouver leur activité pharmacologique ainsi que, leur interaction médicamenteuse. À l'issue de ce travail, il s'est avéré que les composés **AMB1953578 (A)**, **AMB29566134 (C)** et **AMB18482225 (D)** sont pourvus d'une bonne affinité vis-à-vis la (M^{Pro}) avec des scores de liaisons **-8,2**, **-8,0** et **-8,7** Kcal/mol respectivement, et d'un profil pharmacologique satisfaisant par rapport un ligand de référence (*Masitinib*) considéré comme un inhibiteur non covalent, capable d'inhiber la principale protéase (M^{Pro}) avec un score de liaison **-8,3** Kcal/mol. Ces composés représentent des médicaments promoteurs pour l'avenir.

ABSTRACT

Title : In Silico Screening of Phytochemical Compounds of Natural Origin against the Main Protease (M^{Pro}) of SARS-CoV-2.

Author : El Mostafa SALMAN

Keywords : Natural products ; SARS-CoV-2 M^{Pro} ; Virtual Screening ; Molecular Docking ; ADMET Prediction.

The lack of effective treatments for the new coronavirus disease (COVID-19) has led to the search for specific antivirals capable of inhibiting the replication of the virus. Several drugs such as remdesivir, molnupiravir, and paxlovid have been included in the treatment regimen and have shown effective results in several cases, but sometimes with side effects that are quite serious. However, to mitigate the current crisis and prepare for future pandemics, there is a continued need to explore the diversity of natural compounds for their antiviral activity. The main protease (M^{Pro}) of SARS-CoV-2 is recognized as a successful therapeutic target for the development of new drugs.

Principally, The objective of this study is to investigate the modes of interaction of 350 molecules of natural origin recovered from the AMBINTER SARL in order to be able to direct the rational design of new highly selective molecules for (M^{Pro}). Virtual screening and molecular docking, two techniques that were carried out to study the mechanism of interaction of these compounds with (M^{Pro}). The predictive evaluation of the physicochemical properties and the pharmacokinetic parameters of these molecules is taken into account in order to prove their pharmacological activity as well as their drug interaction. At the end of this work, it turned out that the compounds **AMB1953578 (A)**, **AMB29566134 (C)** and **AMB18482225 (D)** have a good affinity with respect to (M^{Pro}) with scores of bonds **-8.2**, **-8.0** and **-8.7** Kcal/mol respectively, and a satisfactory pharmacological profile compared to a reference ligand (*Masitinib*) considered as a non-covalent inhibitor, capable of inhibiting the main protease (M^{Pro}) with a binding score of **-8.3** Kcal/mol. These compounds represent drug promoters for the future.

ملخص

العنوان : الفحص الافتراضي للمركبات النباتية ذات أصل طبيعي اتجاه انزيم البروتياز الرئيسي (M^{pro}) لفيروس SARS-CoV-2 (M^{pro}).

المؤلف : المصطفى سلمان.

الكلمات المفتاحية : الانزيم الرئيسي (M^{pro}) SARS-CoV-2، فحص افتراضي، الالتحام الجزيئي، النشاط الدوائي.

أدى عدم وجود علاجات فعالة لمرض الفيروس التاجي الجديد (COVID-19) الى البحث عن مضادات فيروسية محددة قادرة على منع تكاثر الفيروس. تم تضمين العديد من الادوية مثل (remdesivir, le molnupiravir et le paxlovid) في نظام العلاج وظهرت نتائج فعالة في العديد من الحالات. ولكن في بعض الأحيان مع اثار جانبية خطيرة للغاية. ومع ذلك للتخفيف من حدة الازمة الحالية والاستعداد للأوبئة في المستقبل. وبالتالي هناك حاجة مستمرة لاستكشاف تنوع المركبات الطبيعية لنشاطها المضاد للفيروسات. يتم التعرف على انزيم البروتياز الرئيسي لفيروس (M^{pro}) كهدف علاجي ناجح لتطوير ادوية جديدة.

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو التحقق من أنماط التفاعل لمجموعة من (350) مركب من أصل طبيعي تم تحميلها من المكتبة الكيميائية (AMBINTER SARL) من اجل توجيه التصميم العقلاني لجزيئات جديدة ذات انتقائية عالية اتجاه (M^{pro}). الفحص الافتراضي والالتحام الجزيئي هما تقنيتان تم توظيفها لدراسة الية تفاعل هذه المركبات مع انزيم (M^{pro}). يؤخذ التقييم التنبئي للخصائص الفيزيائية الكيميائية والخصائص الحركية الدوائية لهذه الجزيئات في الاعتبار من اجل اثبات نشاطها الدوائي وكذلك تفاعلها الدوائي. في نهاية هذا العمل. تبين ان المركبات ($AMB1953578$ (A) - ($AMB29566134$ (C) و ($AMB18482225$ (D) تتميز بانتقائية جيدة اتجاه انزيم (M^{pro}) بمعدلات ترابط (-8,2, -8,7 et -8,0 (Kcal/mol) على التوالي وكذلك على خصائص دوائية مرضية مقارنة بالمركب المرجعي ($Masitinib$) الذي يعتبر مثبطا غير تساهمي قادر على تثبيط انزيم البروتياز الرئيسي (M^{pro}) بمعدل ترابط (-8.3 (Kcal/mol). يمكن اعتبار هذه المركبات كأدوية معتمدة في المستقبل.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A :

AA : Acides Aminés

ACE-2 : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine-2

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité

ARN : Acide Ribo Nucléique

B :

BBB permeability : Blood-Brain Barrier Permeability

C :

CA_t : Cathepsine

CCSB : Center for Computational Structural Biology

COVID-19 : Maladie à CoronaVirus 2019

D :

DMV : Vésicules à Double Membrane

DPP-4 : Dipeptidyl Peptidase-4 humaines

E :

(E) : Enveloppe

EC₅₀ : Concentration Efficace Médiane

H :

H_A : Nombre d'Accepteurs de liaisons Hydrogènes

H_D : Nombre de donneurs de liaisons Hydrogènes

hERG inhibitor : human Ether-à-go-go-Related Gene inhibitor

HPAIV : Virus de la Grippe Aviaire Hautement Pathogène

HR-1 : Heptade Répétée-1

I :

IAH : Intestinal Absorption Human

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice Médiane

ICTV : Comité International sur la Taxonomie des Virus

L :

Log P : Lipophilicité

M :

(M) : Membrane

MERS-CoV : Middle East respiratory syndrome of CoronaVirus

MGL : Molecular Graphics Laboratory

M^{pro} : Main Protease

MST : Masitinib

M_W : Poids Moléculaire

N :

(N) : Nucléocapside

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NHC : β -D-N4-hydroxycytidine (Molnupiravir)

NSPs : Protéines Non Structurelles

O :

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORF : Open Reading Frame

P :

pH : potentiel Hydrogène

PL^{pro} : Papain Like Protease

PMV : Python Molecular Viewer

Pp : Polyprotéine

R :

R_B : Nombre de liaisons Rotatoires

RBD : Receptor Dinding Domain

RdRp : ARN Polymérase Dépendante de l'ARN

RE : Réticulum Endoplasmique

RMSD : Root-Mean-Square Deviation

RTC : Complexe de Réplication et de Transcription

RX : Rayons X

S :

(S) : Spike

SARS-CoV-2 : Coronavirus-2 du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère

SDF : Standard Data File

T :

TMPRSS2 : Protéase Transmembranaire Sérine-2

U :

USPPI : Urgence de Santé Publique de Portée Internationale

V :

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VS : Virtual Screening

P :

PDB : Protein Data Bank

2D : Bidimensionnel

3D : Tridimensionnel

CODE NOMENCLATURE ACIDES AMINÉS

Nom Acide Aminé	Abréviation	
Alanine	ALA	A
Arginine	ARG	R
Asparagine	ASN	N
Acide Aspartique	ASP	D
Cystéine	CYS	C
Glutamine	GLN	Q
Acide Glutamique	GLU	E
Glycine	GLY	G
Histidine	HIS	H
Isoleucine	ILE	I
Leucine	LEU	L
Lysine	LYS	K
Méthionine	MET	M
Phénylalanine	PHE	F
Proline	PRO	P
Sérine	SER	S
Thréonine	THR	T
Tryptophane	TRP	W
Tyrosine	TYR	Y
Valine	VAL	V

LISTE DES FIGURES

Figure_1 : Chronologie des événements clés de l'épidémie de COVID-19.	03
Figure_2 : Structure du SARS-CoV-2.	04
Figure_3 : Organisation génomique du SARS-CoV-2.	05
Figure_4 : Structure Tri-dimensionnelle de la SARS-CoV-2 M ^{Pro} liée avec le Masitinib ligand non covalent (PDB ID : 7JU7) (PyMol).	08
Figure_5 : Cycle de Réplication du SARS-CoV-2 avec quelques inhibiteurs des protéines virales.	10
Figure_6 : Mécanisme d'inhibition de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) par les deux inhibiteurs Remdesivir et Molnupiravir.	11
Figure_7 : Mécanisme d'inhibition de la protéase principale (M ^{Pro}) par les deux inhibiteurs PF-00835231 et Masitinib.	12
Figure_8 : Le principe majeur du docking moléculaire entre deux molécules (cible et son ligand)	14
Figure_8' : Règle des 5 de Lipinski.	15
Figure_9 : Accueil du site web de la Protein Data Bank.	18
Figure_10 : Interface du site web de la PubChem.	19
Figure_11 : Interface du site web de la base Ambinter SARL.	20
Figure_12 : Interface du site web de la base Coconut.	21
Figure_13 : Interface du serveur SwissADME.	22
Figure_14 : Interface du serveur pkCSM-pharmacokinetics.	23
Figure_15 : Interface Utilisateur d'Avogadro.	24
Figure_16 : Interface Utilisateur du Discovery Studio Visualizer.	25
Figure_17 : Interface Utilisateur de PyRx.	26
Figure_18 : Interface Utilisateur du AutoDock Tools.	27
Figure_19 : Interface Utilisateur de PyMOL.	28
Figure_20 : Work-flow à suivre pour le Screening virtuel de la chimiothèque Ambinter SARL avec la (M ^{Pro}) du SARS-CoV-2 (ID PDB : 7JU7).	29
Figure_21 : Les étapes du processus à suivre.	30
Figure_22 : Le complexe (MST – M ^{Pro}) avec les résidus du site actif de la protéase principale (M ^{Pro}) du SARS-CoV-2 (PyMOL).	31

Figure_23 : Superposition des résidus du site actif des deux structures protéiques de la (M ^{pro}).	31
Figure_24 : Ramachandran plot PROCHECK de la structure protéique (7JU7) (91,3 %).	32
Figure_25 : Les étapes à suivre dans le processus du docking moléculaire.	33
Figure_26 : Cordonnées de la Grid Box choisie pour la (M ^{pro}) SARS-CoV-2 (7JU7).	34
Figure_27 : Organigramme du Nombre des molécules obtenues après le filtrage à chaque étape du work-flow à suivre pour le Screening virtuel de la chimiothèque Ambinter SARL.	36
Figure_28 : Superposition du ligand de la référence après le re-docking avec la conformation de la structure co-cristallisée (ID PDB : 7JU7) (PyMol).	42
Figure_29 : Superposition des molécules sélectionnées avec le Masitinib (PyMol).	43
Figure_30 : Profils des Clusters des molécules sélectionnées pour le re-docking moléculaire (AutoDock 4.2.6).	44
Figure_31 : Résumé du profil interactions du ligand de la référence (PubChem CID 10074640) (Discovery Studio).	45
Figure_32 : Résumé du profil interactions des molécules AMB1953578 (A) et AMB29566134 (C) (Discovery Studio).	46
Figure_33 : Résumé du profil interactions des molécules AMB18482225 (D) et AMB18481638 (E) (Discovery Studio).	47
Figure_34 : Résumé du profil interactions des molécules AMB18482894 (F) et AMB17991925 (G) (Discovery Studio).	48
Figure_35 : Résumé du profil interactions des molécules AMB22366827 (H) et AMB18481507 (I) (Discovery Studio).	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau_I : Résumé du profil Lipinski des molécules sélectionnées (pkCSM pharmacokinetics).	38
Tableau_II : Profil des propriétés ADME et Toxicité des molécules sélectionnées (pkCSM pharmacokinetics) et (SwissADME).	40
Tableau_III : Résumé du profil interactions des molécules sélectionnées avec la (M ^{pro}) du SARS-CoV-2 (AutoDock 4.2.6).	41
Tableau_IV : Nomenclature des molécules proposées comme inhibiteurs potentiels contre la (M ^{pro}) du SARS-CoV-2.	51
Tableau_V : La Nomenclature avec la classe des 20 premières molécules après Screening virtuel (Annexe_I).	60
Tableau_VI : La Nomenclature avec la classe des neufs molécules sélectionnées pour le Re-Docking moléculaire (Annexe_II).	66
Tableau_VII : Résumé du profil Lipinski des molécules étudiées (Annexe_III).	69
Tableau_VIII : Les propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des molécules étudiées (pkCSM pharmacokinetics) et (SwissADME) (Annexe_IV).	72

TABLE DES MATIÈRES

Introduction Générale	01
Chapitre 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	02
I_ Historique : Maladie de COVID-19	03
II_ Organisation Structurale et Génomique du SARS-CoV-2	04
1_ Structure du Virus	04
2_ Organisation Génomique	04
III_ Cibles Thérapeutiques	05
1_ Protéine de la Pointe (SPIKE) du SARS-CoV-2	05
2_ Protéines Extracellulaires	05
a_ Enzyme de Conversion de l'Angiotensine-2 (ACE-2)	06
b_ Protéine Transmembranaire de Sérine-2 (TMPRSS2)	06
c_ La Furine	06
3_ Protéines Intracellulaires	07
a_ La Cathepsine	07
4_ ARN Polymérase Dépendante de l'ARN (RdRp)	07
5_ Papaïne comme Protéase (PLpro)	07
6_ Protéase Principale (Mpro ou 3CLpro)	08
IV_ Cycle de Réplication	09
V_ Traitements Antiviraux	10
1_ Inhibiteurs de l'ARN Polymérase Dépendante de l'ARN (RdRp)	10
2_ Inhibiteurs de la Protéase Principale (Mpro)	12
VI_ La Conception des Médicaments Assisté par Ordinateur (CADD)	13
1_ La Modélisation Moléculaire	13
2_ Le Screening Virtuel	13
3_ Le Docking Moléculaire	14
4_ Prédiction in Silico des Propriétés ADMET	14
Chapitre 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES	16
I_ Matériel	17
1_ Les Bases de Données	17
a_ RCSB PDB (Protein Data Bank)	17

b_ PubChem	18
c_ Ambinter SARL (Greenpharma)	19
d_ COCONUT	20
e_ SwissADME	21
f_ pkCSM pharmacokinetics	22
2_ Les Logiciels	23
a_ Avogadro	23
b_ Discovery Studio Visualizer	24
c_ PyRx	25
d_ MGLTools	26
e_ PyMOL	27
II_ Méthodes In Silico	28
1_ Sélection d'un Ligand de Référence	30
2_ Choix de la PDB de la Cible Médicamenteuse	31
3_ Sélection des Biomolécules	32
4_ Paramétrage du Screening Virtuel	32
5_ Prédiction In Silico des Propriétés ADMET	33
6_ Paramétrage du Re-Docking Moléculaire	33
Chapitre 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	35
I_ Résultats	36
1_ Analyse des Résultats du Screening Virtuel	36
2_ Analyse des Résultats de la Prédiction des Propriétés ADMET	37
3_ Analyse des Résultats du Re-Docking Moléculaire	40
II_ Discussion Générale	50
Conclusion et Perspectives	53
Références Bibliographiques	54
Webographie	57
Annexe_I	59
Annexe_II	65
Annexe_III	68
Annexe_IV	71

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La maladie à coronavirus 2019 (*COVID-19*), causée par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère SARS-CoV-2, a provoqué une pandémie en cours avec plus de 609 millions de cas et plus de 6,0 millions de décès (<https://covid19.who.int/>). Actuellement, des vaccins sont appliqués dans de nombreux pays ; cependant, il faut plus de temps pour atteindre des niveaux qui pourraient contrôler cette épidémie mondiale qui deviendrait probablement une maladie saisonnière. Bien que certains médicaments antiviraux aient reçu une autorisation d'urgence par différentes agences de réglementation des médicaments à travers le monde, mais leur utilisation est limitée [1]. Cette situation élève le besoin d'antiviraux spécifiques qui aideraient à réduire la morbidité et la mortalité causées par cette maladie.

À ce jour, différentes cibles médicamenteuses contre le SARS-CoV-2 ont été identifiées pour le développement d'un traitement potentiel, par exemple, l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp), la protéase de type papaine (PL^{pro}) et la protéase principale (M^{pro}). Cette dernière (M^{pro}) a gagné en pertinence car, en plus d'être vital pour le cycle de vie viral, il a été observé que cette enzyme préfère des substrats spécifiques non présents chez l'homme, accélérant l'identification et la conception des nouveaux inhibiteurs covalents et non covalents à haute sélectivité et faible toxicité.

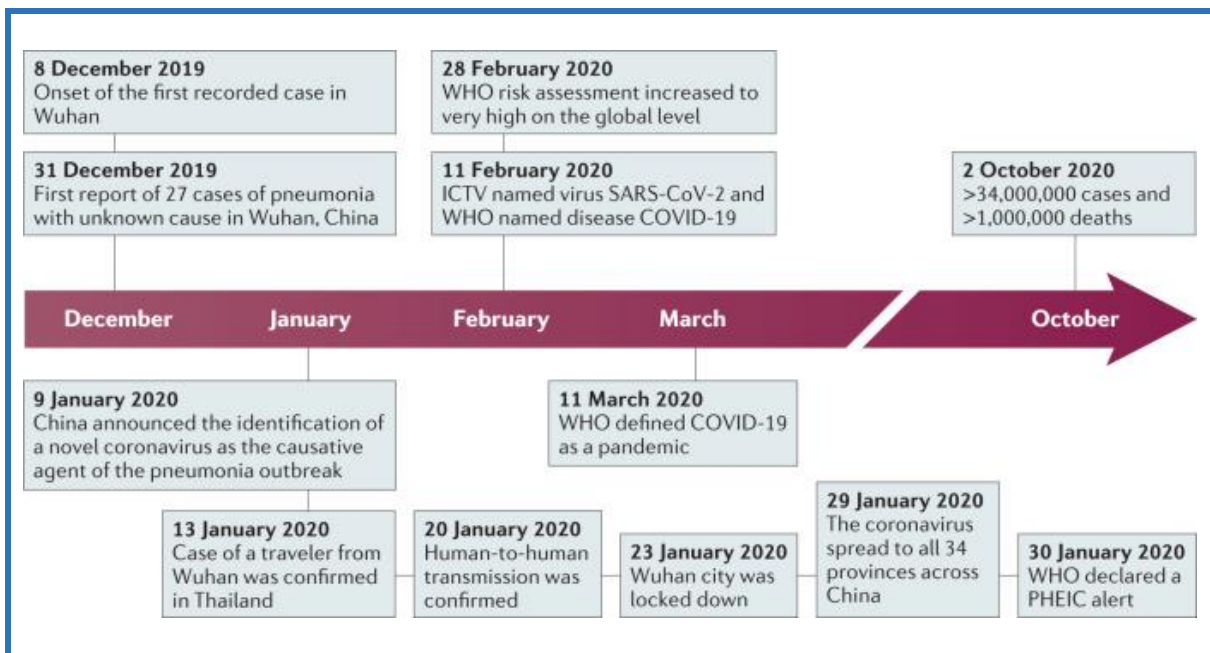
Dans cet effort inlassable pour développer une molécule qui pourrait être une excellente solution au problème causé par le COVID-19. Ce travail avait pour objectif de cribler une chimiothèque des produits naturels (Ambinter SARL by Greenpharma) (<https://www.ambinter.com/>) à l'aide du Screening virtuel et le docking moléculaire, afin d'évaluer le potentiel inhibiteur de certaines molécules sélectionnées à partir de la chimiothèque *AMBINTER SARL* par rapport à celui d'un agent thérapeutique déjà étudié de type non covalent (*Masitinib*) et de déterminer si leurs profils pharmacologiques se conforment aux exigences et aux critères d'un bon candidat médicamenteux, dans le but de diriger la conception rationnelle de nouveaux inhibiteurs sélectifs pour la protéase principale du SARS-CoV-2 (M^{pro}).

CHAPITRE 1.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Historique - Maladie de Covid-19

Fin décembre 2019, plusieurs établissements de santé de Wuhan, dans la province du Hubei en Chine, signalaient des grappes de patients atteints de pneumonie de cause inconnue. Comme pour les patients atteints du SARS et du MERS, ces patients présentaient des symptômes de pneumonie virale, notamment de la fièvre, de la toux et une gêne thoracique, et dans les cas graves une dyspnée et une infiltration pulmonaire bilatérale [2]. Parmi les 27 premiers patients hospitalisés documentés, la plupart des cas étaient épidémiologiquement liés au marché de gros des fruits de mer de Huanan, un marché humide situé au centre-ville de Wuhan, qui vend non seulement des fruits de mer mais aussi des animaux vivants, y compris de la volaille et de la faune. Selon une étude rétrospective, la survenue du premier cas connu remonterait au 8 décembre 2019 [3]. Le 31 décembre, la Commission municipale de la santé de Wuhan a informé le public d'une épidémie de pneumonie de cause non identifiée et a informé l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (*Figure_1*).



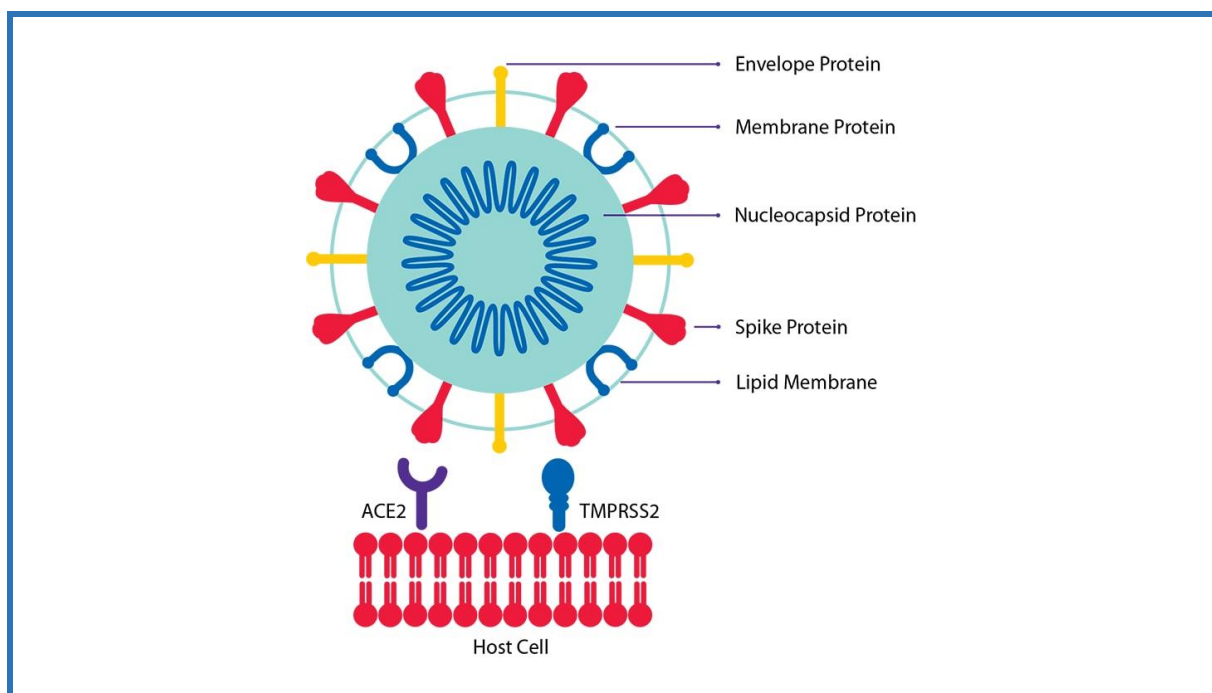
Figure_1 : Chronologie des événements clés de l'épidémie de COVID-19 [3].

Les premiers cas enregistrés ont été signalés en décembre 2019 à Wuhan, en Chine. Au cours des 10 mois suivants, plus de 30 millions de cas ont été confirmés dans le monde. **COVID-19** : Maladie à Coronavirus 2019 ; **ICTV** : Comité International sur la Taxonomie des Virus ; **USPPI** : Urgence de Santé Publique de Portée Internationale ; **SARS-CoV-2** : Coronavirus 2 du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère ; **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

II. Organisation Structurale et Génomique du SARS-CoV-2

1. Structure du Virus

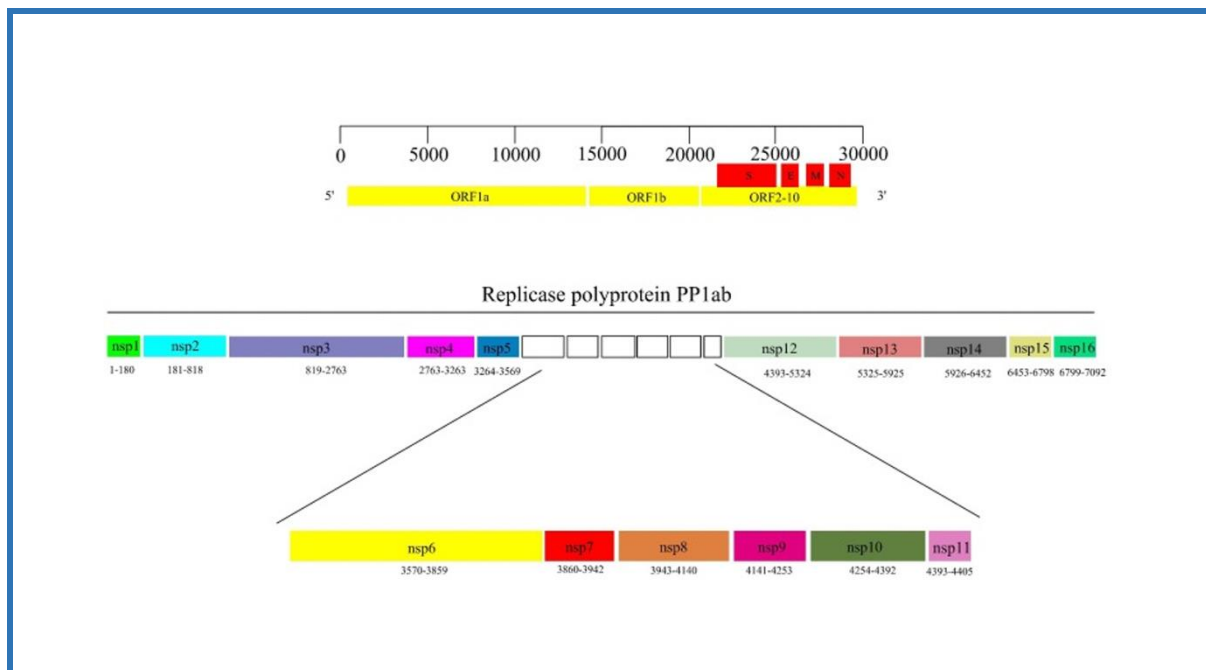
L'agent causal de (COVID-19), le virus SARS-CoV-2 est un virus à (ARN) à brin positif qui mesure 80 à 220 nanomètres de diamètre, et qui provoque un syndrome respiratoire sévère chez l'homme. Le SARS-CoV-2 mature contient 4 protéines structurales : l'enveloppe (E), la membrane (M), la nucléocapside (N) et la protéine Spike (S). Les protéines (E) et (M) aident à l'assemblage viral et la protéine (N) est nécessaire à la synthèse de l' (ARN). De plus, le SARS-CoV-2 utiliserait le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) pour l'entrée dans la cellule hôte avec le facteur de transport nucléaire, connu sous le nom d'importine [4] (Figure_2).



Figure_2 :Structure du SARS-CoV-2 [4].

2. Organisation Génomique

Le génome de l' (ARN) viral du SARS-CoV-2 contient 29 903 bases nucléotidiques et possède 15 cadres de lecture ouverts (ORF). L' (ORF1ab) code pour la grande polyprotéine de réplicase (PP1ab), qui est clivée par la papaine (PL^{pro}) et la 3-chymotrypsine comme protéase principale ($3CL^{pro}$) en protéines non structurales (NSPs) de 1 à 16. Les protéines structurales (S), (N), (E), (M) et les protéines auxiliaires sont codées par (ORF2-10) [5] (Figure_3). Les 15 (ORF) permettent de produire entre 29 et 33 protéines virales après protéolyse. Initialement 29 protéines virales avaient été identifiées. Fin 2020 au moins 4 autres protéines virales supplémentaires ont été proposées (ORF2b, ORF3c, ORF3d et ORF3d-2) [6].



Figure_3 : Organisation génomique du SARS-CoV-2.

III. Cibles Thérapeutiques

1. Protéine de Pointe (Spike) du SARS-CoV-2

L'entrée du SARS-CoV-2 dépend de la liaison de sa protéine de pointe au récepteur de surface cellulaire. La protéine de pointe (S) du SARS-CoV-2 a une longueur de 1273 acides aminés et structurellement constituée de deux domaines, le domaine (S1) N_terminal pour la liaison au récepteur cellulaire et le domaine (S2) C_terminal pour la fusion avec la membrane cellulaire [7]. La sous-unité (S1) (14 à 685 AA) comprend un domaine N_terminal (14 à 305 AA) et un domaine de liaison au récepteur (RBD) (319 à 541 AA). Le (RBD) est constitué de sous-domaines centraux et externes responsables de la formation de particules trimères et de l'interaction avec le récepteur, respectivement. Le sous-domaine (S2) englobe l'heptade répétée 1 (HR1), l'heptade répétée 2 (HR2), le peptide de fusion (FP) et le domaine transmembranaire. Après la liaison du domaine (S1) de la protéine de pointe au récepteur de l'hôte, des changements conformationnels ont lieu dans le domaine (S2). Les domaines répétés heptades, (HR1) et (HR2) interagissent entre eux pour former un noyau de fusion à six hélices entraînant l'association étroite des membranes cellulaires et virales pour la fusion [8].

2. Protéases Extracellulaires

L'entrée et l'invasion des SARS-CoVs dans les cellules hôtes sont facilitées par l'action concertée des protéases membranaires. Ces protéases ont été confirmées comme des cibles thérapeutiques précieuses, et les inhibiteurs ont été identifiés comme des pistes médicamenteuses prometteuses contre le SARS-CoV-2.

a. Enzyme de Conversion de l'Angiotensine-2 (ACE-2)

Les coronavirus utilisent les récepteurs de l'hôte comme porte d'entrée dans la cellule hôte. Les protéines de pointe du (MERS-CoV) utilisent les enzymes dipeptidyl peptidase-4 humaines (DPP-4) comme récepteur pour la fixation, tandis que le SARS-CoV-2 utilise l'enzyme de conversion de l'angiotensine humaine-2 (ACE-2) comme passerelle d'entrée dans la cellule de l'hôte. Cependant, une approche rationnelle consisterait à utiliser une forme recombinante d' (ACE-2) soluble qui peut agir comme un récepteur et se lie aux protéines de pointe du SARS-CoV-2 pour ralentir son entrée dans la cellule hôte ainsi que pour offrir une protection. aux poumons [9].

b. Protéase Transmembranaire de Sérine 2 (TMPRSS2)

Comme décrit précédemment, les protéines de pointe du SARS-CoV-2 se lient au récepteur (ACE-2) afin d'entrer dans la cellule hôte. Cependant, d'autres acteurs sont également associés à l'entrée du virus dans la cellule hôte. La protéase transmembranaire sérine 2 (TMPRSS2) est une protéase cellulaire hôte codée par le gène TMPRSS2. La TMPRSS2 est principalement localisé dans la membrane cellulaire des cellules épithéliales du poumon et aide à amorcer les protéines de pointe, un processus qui entraîne la fusion des membranes virales et cellulaires. Des résultats antérieurs ont montré que l'amorçage des protéines de pointe des SARS-CoVs par la (TMPRSS2) est crucial pour l'entrée du virus dans les cellules hôtes [10]. Récemment, il a été démontré que l'entrée du nouveau SARS-CoV-2 dépend également de l'amorçage de ses protéines de pointe par la (TMPRSS2) qui a été bloquée par un inhibiteur cliniquement connu de la (TMPRSS2), le Camostat. Par conséquent, les thérapies basées sur la (TMPRSS2) pourraient s'avérer être un arsenal utile dans la guerre contre le COVID-19 [11].

c. La Furine

La Furine appartient à la famille des pro-protéines convertases, une enzyme responsable de l'activation des protéines précurseurs telles que les hormones, les facteurs de croissance, les récepteurs de surface cellulaire. La furine clive sélectivement les protéines au niveau des motifs multi-basiques de la séquence (RXK/RR↓). La furine est également connue pour activer les protéines de fusion de virus comme le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), Ebola, le virus de la grippe aviaire hautement pathogène (HPAIV) ainsi que les coronavirus humains comme le (MERS) et le (HCoV-OC43). Cependant, aucune activation de ce type n'est signalée pour le (SARS-CoV-2). Mais récemment, l'analyse de la séquence génétique de la protéine (S) du SARS-CoV-2 a identifié un site de clivage polybasique qui pourrait être accessible aux protéases comme la furine, ce qui le distingue du SARS-CoV-1. La séquence de quatre acides

aminés (RRAR) s'est avérée présente dans le site (S1/S2) de la protéine (S) du SRAS-CoV-2, correspondant ainsi à un site canonique de clivage de la furine. Par conséquent, la furine peut également amorcer les protéines SARS-CoV-2 S et faciliter l'entrée du virus [12].

3. Protéases Intracellulaires

Une fois que le virus est entré dans les cellules hôtes, certains des processus critiques concernant la prolifération endosomale et l'assemblage des protéines virales nécessitent le traitement de ces protéines par des protéases intracellulaires. Ces processus sont essentiels à la prolifération du virus. La perturbation de ces processus par des inhibiteurs de protéases cibles rompt le cycle de prolifération virale, ce qui a été suggérée comme cible des médicaments antiviraux.

a. La Cathepsine L

Les Cathepsines sont des protéases à cystéine qui jouent un rôle crucial dans le catabolisme des protéines dans les endosomes et les lysosomes. La cathepsine L exprimée de manière ubiquitaire joue un rôle fondamental dans l'entrée du SARS-CoV-2 dans les cellules hôtes. Une fois que le virus pénètre dans les endosomes après s'être lié au récepteur (ACE-2), les protéines de pointe du SARS-CoV-2 S sont activées par la cathepsine L dépendante du (pH), ce qui entraîne la fusion du virus et les membranes endosomales libérant le matériel génétique du virus dans le cytoplasme [13]. Ce qui en fait une cible thérapeutique attrayante pour une exploration plus approfondie.

4. ARN Polymérase Dépendante de l'ARN (RdRp)

L'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) est une enzyme responsable de la réplication de l'ARN à partir d'une matrice d'ARN. La (RdRp) est l'une des NSPs (NSP-12) qui joue un rôle essentiel dans le cycle de vie des virus à (ARN) comme le virus de l'hépatite C, le virus Zika et les coronavirus. Dans le SARS-Cov-1, la (RdRp) (NSP-12) fonctionne comme un complexe polymérase avec (NSP-7) et (NSP-8). Les (NSP-7) et (NSP-8) activent et confèrent une processivité à l'activité de synthèse d'ARN de la (NSP-12). Ce complexe de polymérase s'associe en outre à la (NSP-14), ce qui lui confère la fonction d'exonucléase de relecture [14]. Remarquablement, la (RdRp) du SARS-CoV-1 et du SARS-CoV-2 partagent une similarité de séquence de 96 % [15]. Par conséquent, il est très probable que les agents qui ciblent la (RdRp) du SARS-CoV pourraient également cibler la (RdRp) du SARS-CoV-2.

5. Papaïne comme Protéase (PL^{Pro})

La papaïne comme protéase est l'autre enzyme protéolytique qui aide au traitement de la polyprotéine réplacase. La (PL^{Pro}) est connu pour cliver la polyprotéine réplacase en trois sites

libérant les (NSP-1), (NSP-2) et (NSP-3), essentiels à la réplication virale. Outre sa fonction protéolytique, la (PL^{pro}) possède également une propriété de dés-ubiquitination. Elle joue également un rôle central dans la lutte contre la force de la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection virale en fermant des voies cruciales [16]. Cependant, des études informatiques ont été réalisées qui pourraient fournir une direction pour une exploitation plus poussée de la (PL^{pro}).

6. Protéase Principale (M^{pro} ou 3CL^{pro})

La 3-chymotrypsine protéase ou la protéase principale (M^{pro}) est l'une des deux enzymes protéolytiques cruciales qui aident à cliver la polyprotéine réplacase (PP1ab) dans le SARS-CoV-2. La (M^{pro}), également connue sous le nom de protéine (NSP-5), a une longueur de 306 acides aminés, et elle est traduite à partir de l' (ORF-1ab) du génome de l'ARN viral. La (M^{pro}) est connue pour cliver la polyprotéine réplacase en 11 sites spécifiques, les sites de reconnaissance étant Leu-Gln ↓ (Ser, Ala, Gly), pour libérer 12 NSPs (NSP-4, NSP-6 à 16) indispensables à la réplication virale ainsi que assemblage viral. Structuellement, la (M^{pro}) est un homodimère, et chaque monomère a trois domaines - le domaine I, qui comprend les résidus (8 à 101 AA), le domaine II qui comprend les résidus (102 à 184 AA) et le domaine III, qui comprend les résidus (201 à 303 AA). Les domaines II et III sont reliés par la région de la boucle qui comprend (185 à 200 AA). Le site de liaison au substrat contenant la dyade catalytique (Cys145-His41) est situé entre le domaine I et le domaine II [17]. L'importance fonctionnelle de l'enzyme dans le cycle de vie du SARS-CoV-2 et le fait qu'aucune protéase humaine ne possède un site de reconnaissance de clivage similaire font de la (M^{pro}) une cible attrayante pour la découverte de médicaments (*Figure_4*).



Figure_4 :Structure Tri-dimensionnelle de la SARS-CoV-2 M^{pro} liée avec le Masitinib ligand non covalent (PDB ID : 7JU7) (PyMol).

IV. Cycle de Réplication

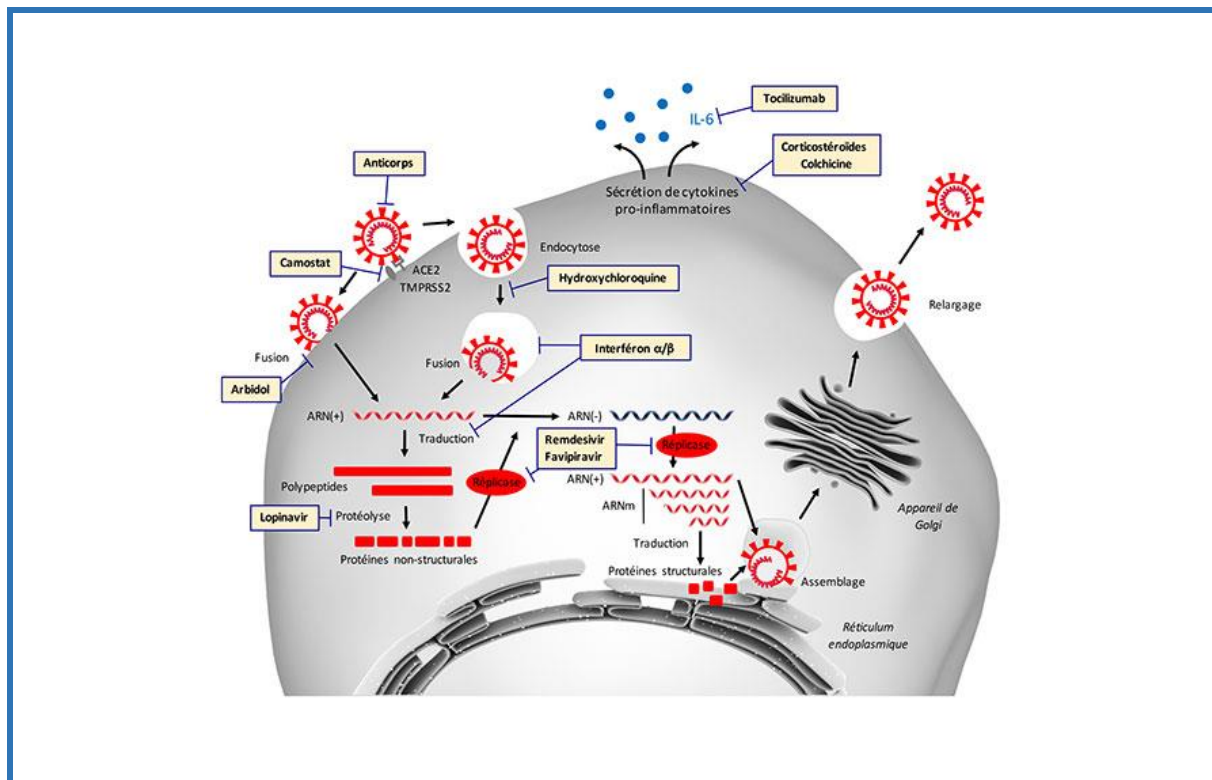
Le cycle du virus dans la cellule hôte se répartit en trois grandes étapes : *L'entrée du virus dans la cellule hôte*, suivie de la *réplication du génome* et ensuite la *libération de nouveaux virions*.

Le cycle de vie du SARS-CoV-2 commence par la liaison du domaine de liaison au récepteur (RBD) de la sous-unité (S1) de la protéine spike à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) qui est exprimée à la surface des cellules épithéliales des voies respiratoires et de l'intestin. Au contact des cellules, le virus pénètre dans les cellules hôtes par fusion directe des membranes de la cellule hôte et l'enveloppe du virus et/ou par endocytose en utilisant la sous-unité (S2) de la protéine spike. La protéine spike est synthétisée sous la forme d'un précurseur inactif et les clivages ultérieurs par les protéases cellulaires provoquent des changements de conformation de la sous-unité (S2), rendant la protéine spike fonctionnellement active et prête pour la fusion membranaire ultérieure. Dans une entrée par fusion directe, la protéine spike est clivée par la protéase transmembranaire sérine 2 (TMPRSS2) à proximité de l' (ACE2) après la formation du complexe spike-ACE2, ce qui déclenche la fusion membranaire avec la cellule hôte et la libération du génome viral dans les cellules hôtes. D'autres protéases telles que la trypsine, la plasmine et le facteur (Xa) peuvent également contribuer à ce processus [18].

Le virus peut également pénétrer dans la cellule hôte par un processus médié par l'endocytose. L'activation de la protéine spike semble avoir lieu dans les endosomes par l'action de la furine et de la cathepsine B/L (Cat B / L) dans les endo-lysosomes, ce qui favorise finalement la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la cellule hôte et la libération de l'ARN viral.

L' (ARN) viral génomique dans le cytoplasme des cellules infectées peut être traduit en deux polyprotéines, (PP1a) et (PP1ab), qui sont traitées par deux protéases virales, la protéase de type 3C (3CL^{pro}), également connue sous le nom de protéase principale (M^{pro}), et la protéase de type papaïne (PL^{pro}), pour générer 16 protéines non structurales (NSPs) matures. Parmi elles, la (NSP-12), également appelée ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp), s'assemble avec plusieurs (NSPs) pour former un complexe de réplication et de transcription (RTC) ancré sur des vésicules à double membrane (DMV), responsable de la réplication et de la transcription du génome viral. Les produits de l' (ARN) viral sont transportés vers le cytosol par un complexe de pores moléculaires à travers la double membrane. Ensuite, les protéines structurales, notamment (S), (E) et (M) sont traduites dans le réticulum endoplasmique (RE) et transportées vers l'appareil de Golgi pour l'assemblage des virions. L' (ARN) génomique viral et la protéine structurale (N) sont biosynthétisés et assemblés dans la nucléocapside dans le cytoplasme, puis

associés aux protéines structurales virales pour produire de nouveaux virions. Enfin, les virions sont libérés de la cellule infectée par exocytose [18] (Figure_5).



Figure_5 : Cycle de Réplication du SARS-CoV-2 avec quelques inhibiteurs des protéines virales [18].

V. Traitements Antiviraux

Il est important de souligner qu'au cours de cette partie (Traitements Antiviraux), nous prenons juste quelques traitements antiviraux qui ciblent les deux protéines principales les plus répondues dans les études in silico pour la conception des nouveaux médicaments, à savoir : l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) et la protéase principale (Mpro) afin d'illustrer les mécanismes majeurs pour l'inhibition du virus SARS-CoV-2.

1. Inhibiteurs de l'ARN Polymérase Dépendante de l'ARN (RdRp)

- Le Remdesivir

Le Remdesivir (GS-5734) est le promédicament monophosphate de l'analogue parent 1'-cyano-substitué de l'adénine C-nucléoside (GS-441524). La présence du groupe phosphate permet un métabolisme plus efficace du promédicament à la forme active du nucléoside triphosphate en contournant l'étape de phosphorylation initiale limitant la vitesse. Le Remdesivir contient un groupe (3'-OH) considéré comme un terminateur de chaîne non obligatoire. Il provoque une terminaison de chaîne retardée en raison d'un conflit stérique avec (S_861) après l'ajout de trois nucléosides de fin. Le fait que la terminaison de la chaîne ne se produise pas en tant que des

triphosphates de nucléoside supplémentaires qui n'ont pas été ajoutés explique probablement comment le remdesivir échappe à l'exonucléase du coronavirus [19].

Le Remdesivir a une activité à large spectre contre plusieurs virus à (ARN) et inhibe le SARS-CoV, le MERS-CoV et le SARS-CoV-2 avec des concentrations efficaces demi-maximales (EC_{50}) généralement inférieures à ($1\mu M$) [20]. Il inhibe les coronavirus dans plusieurs types de cellules, y compris les cellules épithéliales primaires des voies respiratoires humaines, et démontre un faible potentiel de toxicité hors cible dans une variété d'essais cellulaires et biochimiques (*Figure_6*).

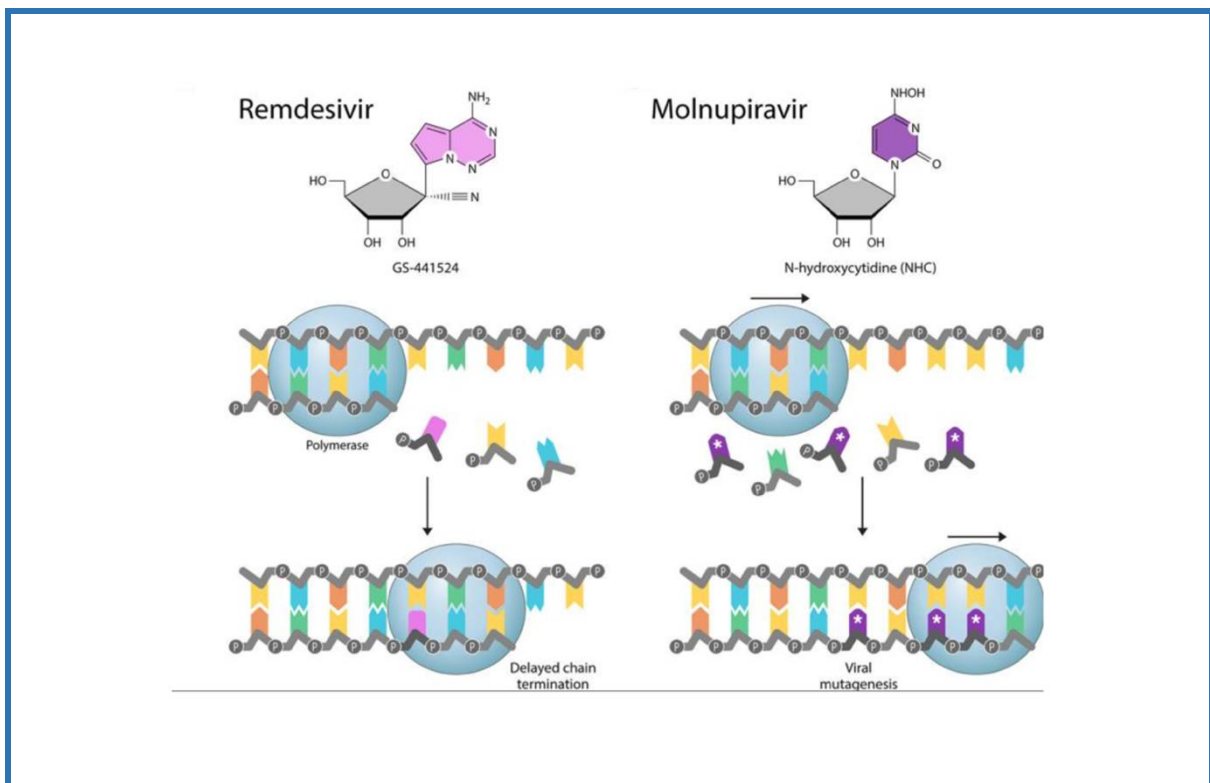


Figure 6 : Mécanisme d'inhibition de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) par les deux inhibiteurs Remdesivir et Molnupiravir [21].

Remdesivir est un promédicament du (GS-441524) qui inhibe la (RdRp) en provoquant une terminaison de chaîne retardée. Le Molnupiravir est un promédicament de la N-hydroxycytidine, qui provoque une mutagenèse virale létale.

- **Le Molnupiravir**

La β -D-N⁴-hydroxycytidine (NHC) est un analogue de la cytosine qui exerce son activité principalement par mutagenèse virale. Il s'intègre dans de nouveaux brins d' (ARN) et entraîne l'introduction de nombreuses mutations lors des cycles de réplication [21]. Le Molnupiravir (Ester de β -D-N⁴-hydroxycytidine-5'-isopropyle) est un promédicament disponible par voie orale, également connu sous les noms de (MK-4482) et (EIDD-2801). Le fait que le Molnupiravir ne soit pas un terminateur de chaîne peut expliquer le mécanisme par lequel il

échappe à la fonction de relecture des exonucléases du coronavirus. Des études biochimiques et de séquençage profond ont confirmé que la mutagenèse virale est le principal mécanisme par lequel le Molnupiravir inhibe les coronavirus.

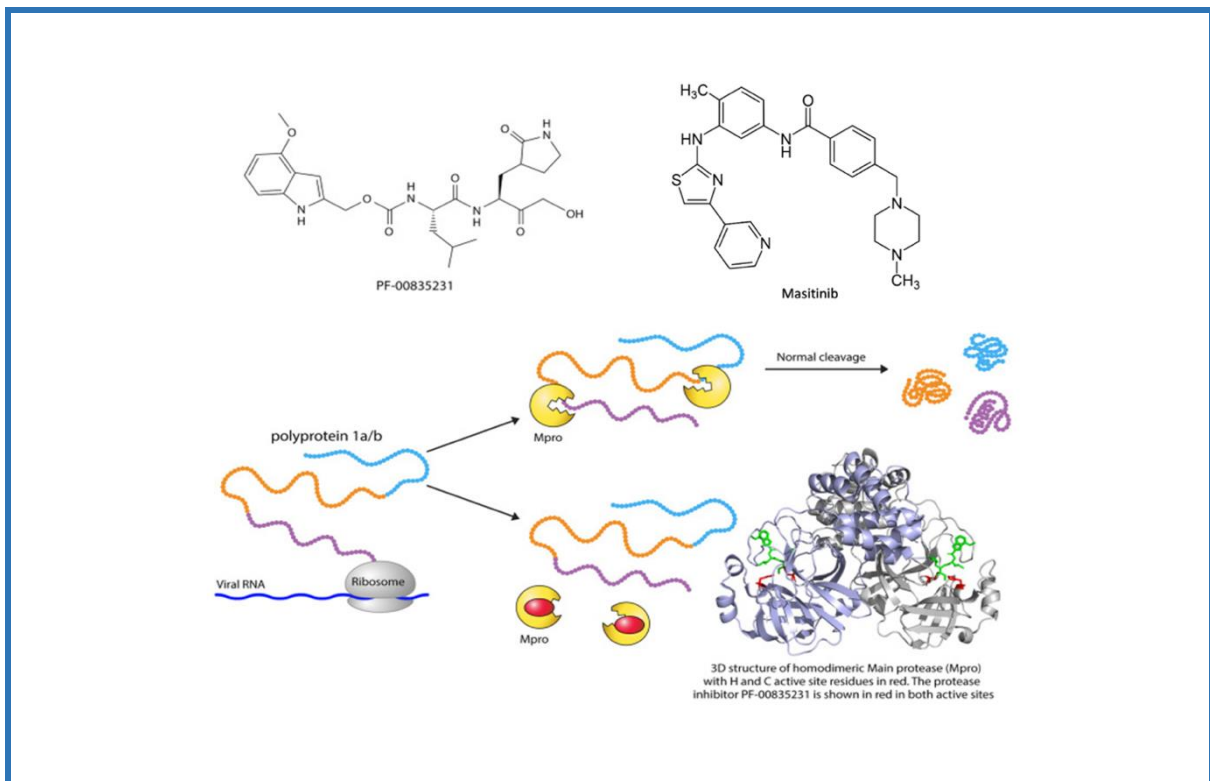
Le Molnupiravir a une activité antivirale à large spectre contre plusieurs virus, y compris le SARS-CoV, le MERS-CoV et le SARS-CoV-2, avec la plupart des (EC_{50}) inférieures à ($1\mu M$) [21] (Figure_6).

2. Inhibiteurs de la Protéase Principale (M^{Pro})

Il existe plus d'inhibiteurs candidats de la (M^{Pro}) que d'inhibiteurs de la (PL^{Pro}) en raison des similitudes de cette enzyme avec les protéases d'autres espèces de virus et parce que la (M^{Pro}) est plus petit, moins compliqué et plus facile à produire en grande quantité. Il y a eu plus d'une centaine de structures de la (M^{Pro}) publiées, mais seulement un nombre limité de structures (PL^{Pro}) publiées.

- Le PF-00835231

Le PF-00835231 est l'un des inhibiteurs de la (M^{Pro}) expérimentaux les plus puissants. Il a une (IC_{50}) en dosages enzymatiques de ($0,0003\mu M$) et une (EC_{50}) en culture cellulaire de ($0,2\mu M$) [22]. Il a fait l'objet des études d'innocuité et d'un profilage pharmacocinétique chez le rat, le chien et le singe (Figure_7).



Figure_7 : Mécanisme d'inhibition de la protéase principale (M^{Pro}) par les deux inhibiteurs PF-00835231 et Masitinib [22].

L'enzyme (M^{pro}) est responsable du clivage de la polyprotéine (PP1ab) sur 11 sites. La (M^{pro}) est un homodimère qui fait l'objet de multiples efforts de développement de médicaments. PF-00835231 et Masitinib sont deux inhibiteurs du SARS-CoV-2 M^{pro}.

- **Le Masitinib**

Le Masitinib (MST), un inhibiteur de la tyrosine kinase bien connu, avait une excellente activité inhibitrice sur la (M^{pro}) avec (IC₅₀) de (2,5µM). Le complexe (MST-M^{pro}) a été résolu par cristallographie aux rayons (RX) et déposé dans la Protein Data Bank (PDB) (PDB ID : 7JU7). Le (MST) a également été identifié comme un inhibiteur de (M^{pro}) dans une étude de dépistage à haut débit ultérieure réalisée par un autre groupe de recherche [23]. Bien que le (MST) puisse être un traitement prometteur pour le (COVID-19) (*Figure_7*).

VI. La Conception des Médicaments Assisté par Ordinateur (CADD)

1. La Modélisation Moléculaire

La modélisation moléculaire est un ensemble de techniques pour modéliser ou prédire le comportement des molécules. Elle est utilisée pour reconstruire la structure tridimensionnelle des molécules, en particulier en biologie structurale, à partir de données expérimentales comme la cristallographie aux rayons (X). Elle permet aussi de simuler le comportement dynamique des molécules et leur mouvements internes. On l'utilise pour concevoir de nouveaux médicaments. La modélisation moléculaire s'intéresse enfin au rendu visuel des molécules et des simulations en 3D, c'est le domaine du graphisme moléculaire (https://fr.wikipedia.org/wiki/Mod%C3%A9lisation_mol%C3%A9culaire).

2. Le Screening Virtuel

Le Screening Virtuel ou criblage virtuel (VS) est une technique informatique utilisée dans la découverte des médicaments pour rechercher des bibliothèques de petites molécules afin d'identifier les structures les plus susceptibles de se lier à une cible médicamenteuse, généralement un récepteur protéique ou une enzyme.

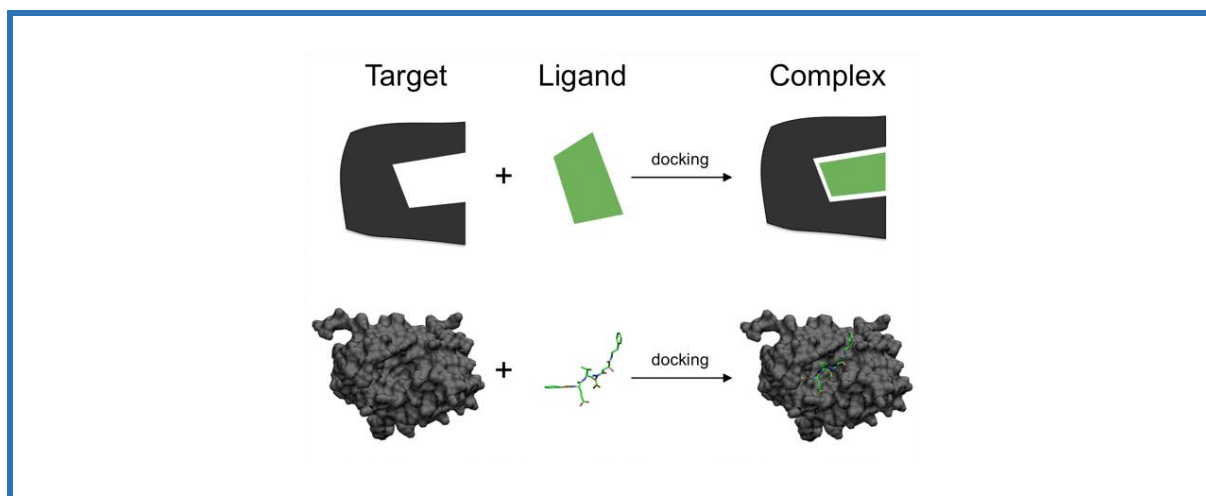
Le Screening virtuel a été défini comme " *l'évaluation automatique de très grandes bibliothèques de composés* " à l'aide des programmes informatiques. Des scénarios (VS) plus pratiques se concentrent sur la conception et l'optimisation des bibliothèques combinatoires ciblées et l'enrichissement de bibliothèques de composés disponibles à partir de référentiels de composés internes ou d'offres de fournisseurs. À mesure que la précision de la méthode a augmenté, le dépistage virtuel est devenu une partie intégrante du processus de découverte de médicaments. Le criblage virtuel peut être utilisé pour sélectionner des composés à partir des bases de données internes pour le criblage, choisir des composés qui peuvent être achetés à

l'extérieur et choisir quel composé doit être synthétisé ensuite (https://en.wikipedia.org/wiki/Virtual_screening).

3. Le Docking Moléculaire

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking est une méthode qui prédit l'orientation préférée d'une molécule à une seconde lorsqu'un ligand et une cible sont liés l'un à l'autre pour former un complexe stable. La connaissance de l'orientation préférée peut à son tour être utilisée pour prédire la force d'association ou l'affinité de liaison entre deux molécules en utilisant, par exemple, des fonctions de notation.

Le docking moléculaire est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées dans la conception de médicaments basée sur la structure, en raison de sa capacité à prédire la conformation de liaison des ligands de petites molécules au site de liaison cible approprié. La caractérisation du comportement de liaison joue un rôle important dans la conception rationnelle des médicaments ainsi que pour élucider les processus biochimiques fondamentaux ([https://en.wikipedia.org/wiki/Docking_\(molecular\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Docking_(molecular))) (Figure_8).



Figure_8 : Le principe majeur du docking moléculaire entre deux molécules (cible et son ligand).

4. Prédiction in Silico des Propriétés ADMET

La pharmacologie in silico (également connue sous le nom de thérapeutique computationnelle, (pharmacologie computationnelle) est un domaine en croissance rapide qui couvre à l'échelle mondiale le développement de techniques d'utilisation des logiciels pour capturer, analyser et intégrer des données biologiques et médicales provenant de nombreuses sources diverses. Plus précisément, il définit l'utilisation de ces informations dans la création des modèles informatiques ou des simulations qui peuvent être utilisés pour faire des prédictions, suggérer

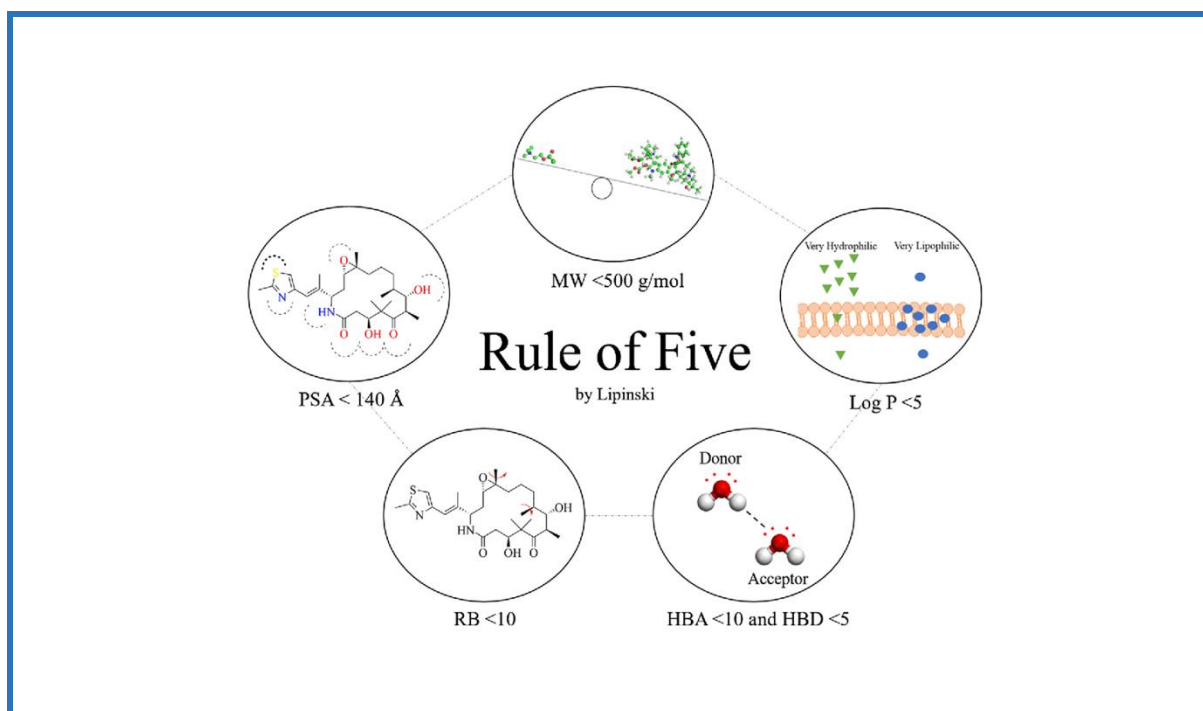
des hypothèses et, en fin de compte, fournir des découvertes ou des avancées en médecine et en thérapeutique [24].

La détermination de la capacité d'un candidat médicament à franchir les barrières physiologiques et à exercer des effets pharmacologiques sur sa cible in vitro fait encore l'objet de nombreuses recherches. En 1997, Lipinski et ses collègues ont développé quatre critères de la règle de 5. Ces règles ont été développées pour établir des généralisations utiles pour les propriétés structurales et physicochimiques influençant la biodisponibilité des composés actifs administrés par voie orale (<https://www.azolifesciences.com/article/What-is-Lipinskis-Rule-of-5.aspx>).

La règle de 5 de Lipinski aide à faire la distinction entre les molécules médicamenteuses et non médicamenteuses. Il prédit une forte probabilité de succès ou d'échec en raison de la similarité médicamenteuse pour les molécules respectant 2 ou plusieurs des règles suivantes :

- Masse moléculaire inférieure à 500 Dalton.
- Haute lipophilie (exprimée en LogP inférieur à 5).
- Moins de 5 donneurs de liaisons hydrogène.
- Moins de 10 accepteurs de liaisons hydrogène.

Ces filtres aident au développement préclinique précoce et pourraient aider à éviter des échecs précliniques et cliniques coûteux à un stade avancé.



Figure_8' : Règle des 5 de Lipinski.

CHAPITRE 2.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le développement d'outils informatiques fiables couplé à la croissance de la puissance informatique a permis la mise en place des techniques de simulation numérique centrées sur la biologie. Par analogie avec les expressions *in vivo* et *in vitro*, le terme « *in Silico* » a été introduit pour qualifier les méthodes numériques mises en œuvre pour traiter de tels systèmes. De par son nom, ce terme fait référence au silicium, matériau principal retrouvé dans les puces informatiques de tous les ordinateurs. Le champ *in silico* regroupe un très large ensemble de méthodes numériques fondées sur les lois de la physique et de la chimie qui, utilisant les approches des mathématiques, permettent de simuler ou de modéliser un phénomène biologique à l'aide de l'outil informatique.

Dans le cadre de cette expertise, notre étude vise à faire « Un Criblage *in silico* des composés phytochimiques d'origine naturelle contre la protéase principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2 »

I. Matériel

Les méthodes *in silico* sont complémentaires avec les études *in vivo* et *in vitro*, surtout dans le domaine de la conception des nouveaux médicaments, car elles apportent des informations sur la nature des interactions chimiques entre les ligands à étudier et leurs récepteurs (cibles médicamenteuses). En d'autres termes, l'utilisation combinée de la théorie et de l'expérience engendre une meilleure compréhension des phénomènes traités dans un domaine de recherche.

1. Les Bases de Données

a. RCSB PDB (Protein Data Bank)

RCSB PDB (RCSB.org) est le centre de données américain pour l'archive mondiale de la banque de données sur les protéines (PDB) des données de structure (3D) pour les grandes molécules biologiques (protéines, ADN et ARN) essentielles pour la recherche et l'éducation en biologie fondamentale, santé, énergie, et la biotechnologie.

L'énorme richesse des données de structure (3D) stockées dans la (PDB) a soutenu des avancées significatives dans notre compréhension de l'architecture des protéines, aboutissant à des percées récentes dans la prédiction de la structure des protéines accélérées par des approches d'intelligence artificielle et des méthodes d'apprentissage profond ou automatique (<https://www.rcsb.org/pages/about-us/index>) (Figure_9).

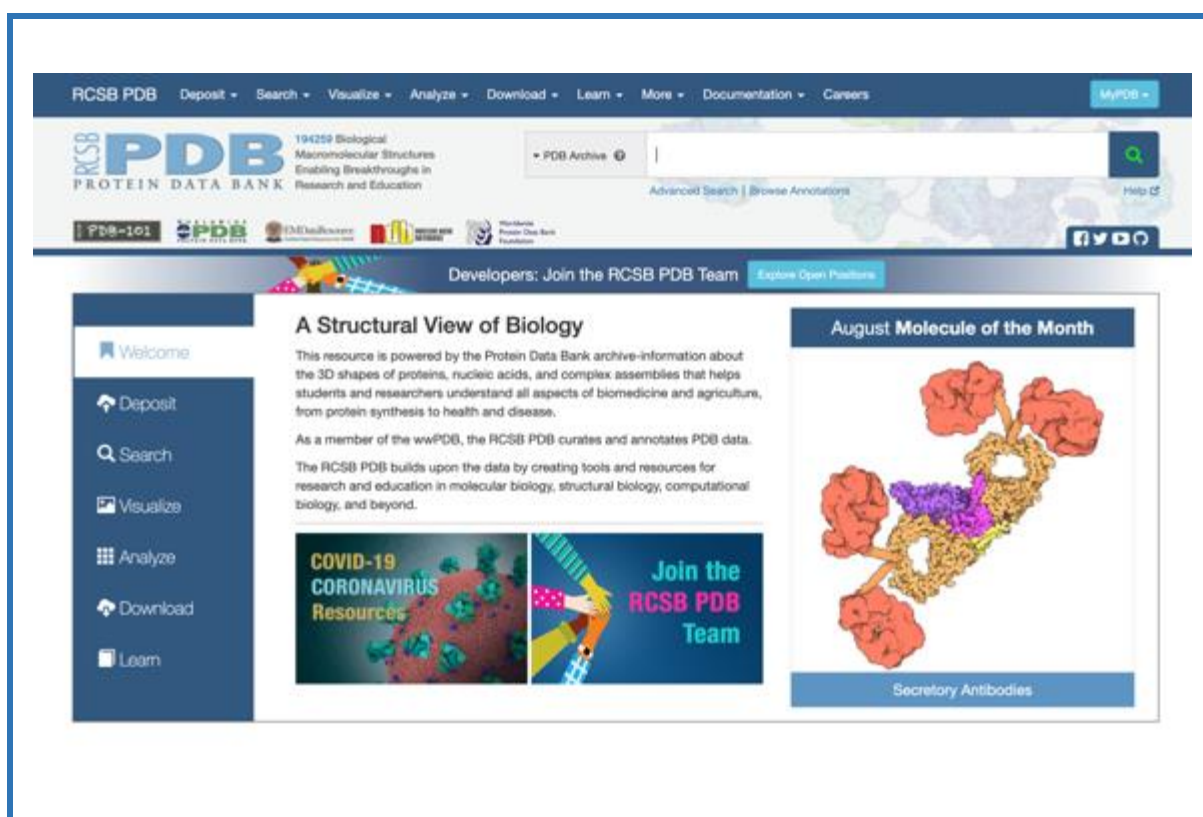
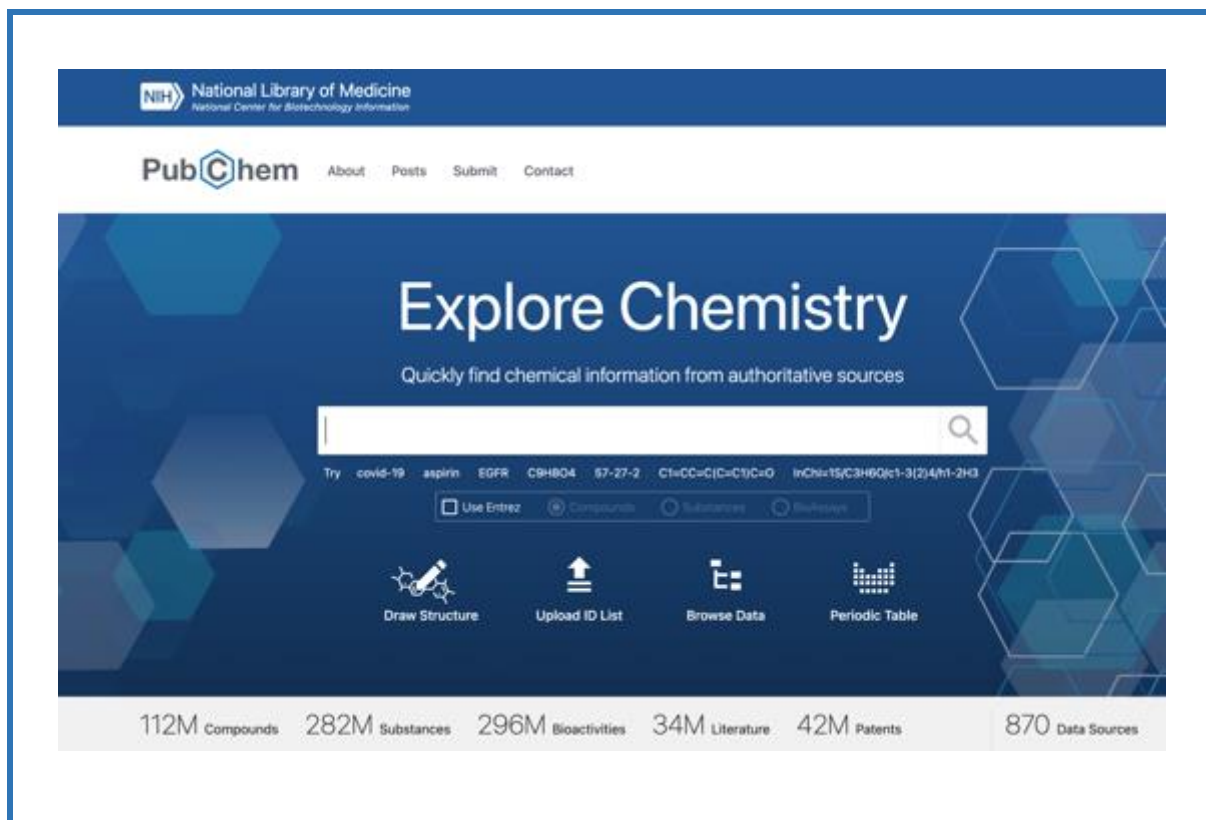


Figure 9 : Accueil du site web de la Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

b. PubChem

PubChem est une base de données de molécules chimiques et de leurs activités par rapport à des tests biologiques. Le système est géré par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), une composante de la *National Library of Medicine*, qui fait partie des *National Institutes of Health* (NIH) des États-Unis. (PubChem) est accessible gratuitement via une interface utilisateur Web. Des millions de structures composées et d'ensembles de données descriptifs peuvent être téléchargés gratuitement via (FTP). (PubChem) contient plusieurs descriptions de substances et de petites molécules avec moins de 100 atomes et 1 000 liaisons. Plus de 80 fournisseurs de bases de données contribuent à la base de données croissante de PubChem (<https://en.wikipedia.org/wiki/PubChem>) (*Figure_10*).



Figure_10 : Interface du site web de la PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

c. Ambinter SARL (Greenpharma)

Ambinter est un fournisseur mondial de produits chimiques avancés pour les applications de découverte de médicaments. Ils ont plus de 25 ans d'expérience. La base de données contient actuellement plus de 38 millions de composés pour le criblage à haut débit, des éléments de base pour la chimie combinatoire, ainsi qu'une large sélection de fragments et de produits naturels. La stratégie d'Ambinter est d'offrir des produits chimiques sophistiqués et rares avec une grande importance pour les activités biologiques (<https://www.ambinter.com/qui-sommes-nous>) (*Figure_11*).

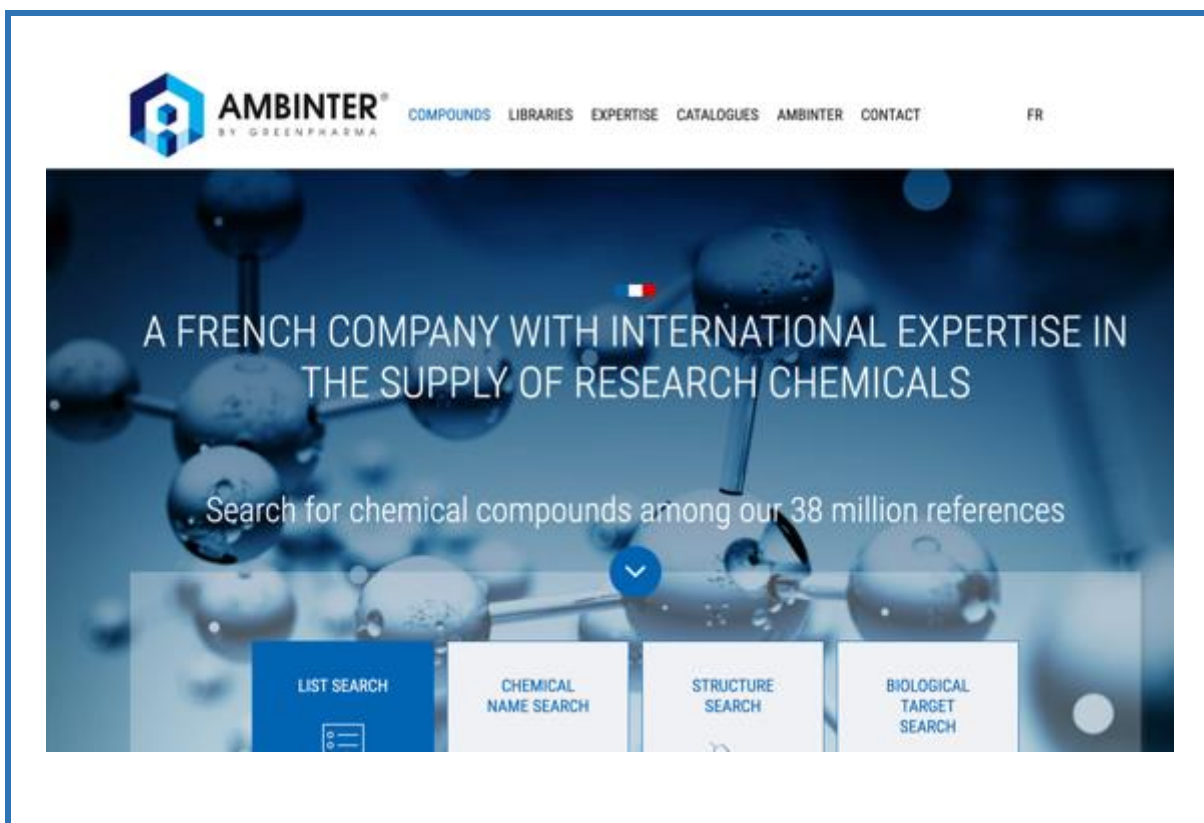


Figure 11 : Interface du site web de la base Ambinter SARL (<https://www.ambinter.com/>).

d. COCONUT

La base de données (COCONUT) est gratuite et ouverte à tous les utilisateurs et aucun identifiant n'est requis pour y accéder. Son interface Web permet diverses recherches simples (par exemple par nom de molécule, InChI, SMILES, structure dessinée, formule moléculaire), une recherche avancée par caractéristiques moléculaires, ainsi que des recherches de sous-structure et de similarité. Les utilisateurs peuvent également télécharger l'ensemble des données ou rechercher des résultats dans différents formats. La base de données peut être interrogée par programmation via une (API-REST), ce qui facilite l'intégration de (COCONUT) dans les workflows. L'interface Web, le back-end et la base de données sont déployés en tant que conteneurs Docker, ce qui le rend facilement portable pour héberger d'autres ensembles de produits naturels et pour être déployé sur des installations locales (<https://coconut.naturalproducts.net/>) (*Figure 12*).

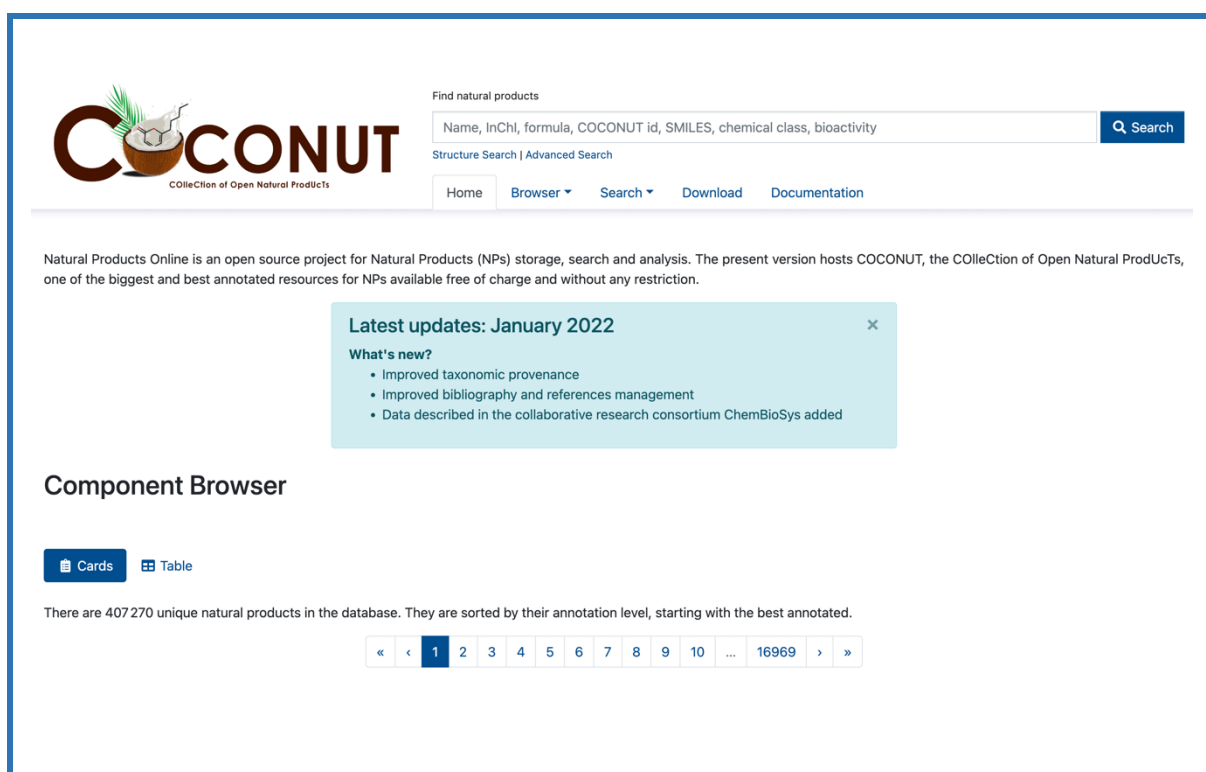
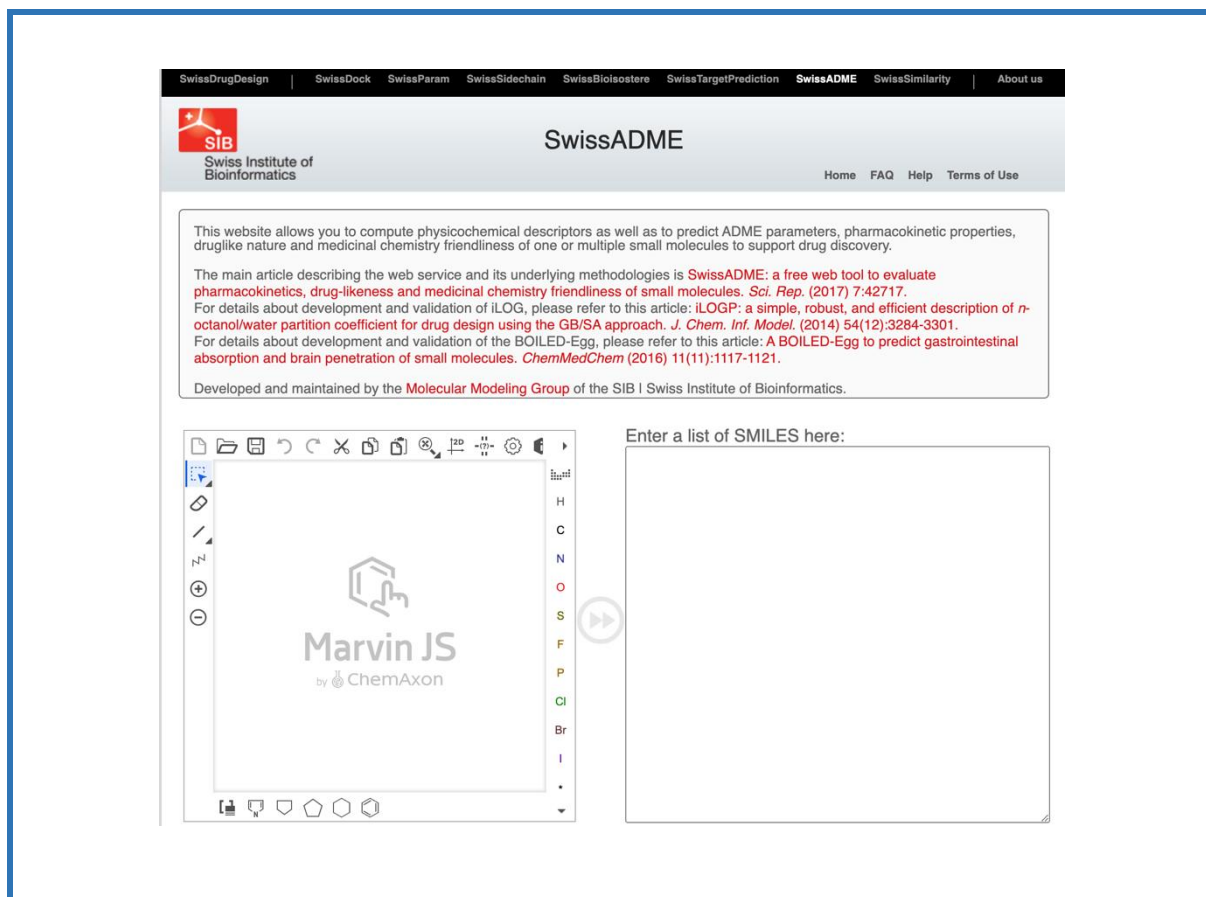


Figure 12 : Interface du site web de la base Coconut (<https://coconut.naturalproducts.net/>).

e. SwissADME

L'outil Web (SwissADME) présenté dans la (*Figure_13*) est librement accessible sur (<http://www.swissadme.ch>) et destiné à une soumission conviviale et à une analyse facile des résultats, également pour les non-experts en (CADD). Les points forts de (SwissADME) sont, de manière non exhaustive : différentes méthodes de saisie, le calcul pour plusieurs molécules, et la possibilité d'afficher, de sauvegarder et de partager les résultats par molécule individuelle ou via des graphiques globaux intuitifs et interactifs. Enfin, (SwissADME) est intégré dans l'espace de travail *SwissDrugDesign*. L'interopérabilité en un clic donne accès à divers outils de la (CADD) développés par le groupe de modélisation moléculaire du (SIB) Institut suisse de bioinformatique, par exemple le criblage virtuel basé sur des ligands (SwissSimilarity), la prédiction de biocibles (SwissTargetPrediction), l'amarrage moléculaire (SwissDock), le design (SwissBioisostere) ou la mécanique moléculaire (SwissParam).



Figure_13 : Interface du serveur SwissADME (<http://www.swissadme.ch>).

f. pkCSM - pharmacokinetics

Le pkCSM-pharmacokinetics est un serveur Web librement accessible (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsml>), qui ne conserve aucune information qui lui est soumise, et qui fournit une plate-forme intégrée pour évaluer rapidement les propriétés pharmacocinétiques et de toxicité pour le développement des médicaments en se basant sur certaines approches informatiques qui pourraient aider à minimiser les risques liés à la pharmacocinétique et la toxicité des molécules étudiées (*Figure_14*).

pkCSM Predict Theory Help Contact Acknowledgements Related Resources License (non-academic)

pkCSM - pharmacokinetics

pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures

Douglas E. V. Pires, Tom L. Blundell, David B. Ascher
Journal of Medicinal Chemistry, 58 (9), p. 4066-4072, 2015.

Abstract

Modern high throughput drug discovery approaches have increased the numbers of lead compounds being identified, and in shorter time frames than traditional medicinal chemistry, however many of these promising compounds often fail because of unsatisfactory ADMET properties. In silico screening approaches help to reduce these risks. Here we propose a novel approach to the prediction of pharmacokinetic properties, called pkCSM, which relies on graph-based signatures. These encode distance patterns between atoms and are used to represent the small molecule and to train predictive models.

The pkCSM signatures were successfully used across five main different pharmacokinetic properties classes to develop predictive regression and classification models. We show that pkCSM performs as well or better across different pharmacokinetic properties than other freely available methods. Here we present a web server to provide an integrated freely available platform to rapidly screen multiple pharmacokinetic properties.

Available Resources

- pkCSM: Small-molecule pharmacokinetics prediction
- License: Server licensing for non-academic use. pkCSM does not require a license for academic studies.

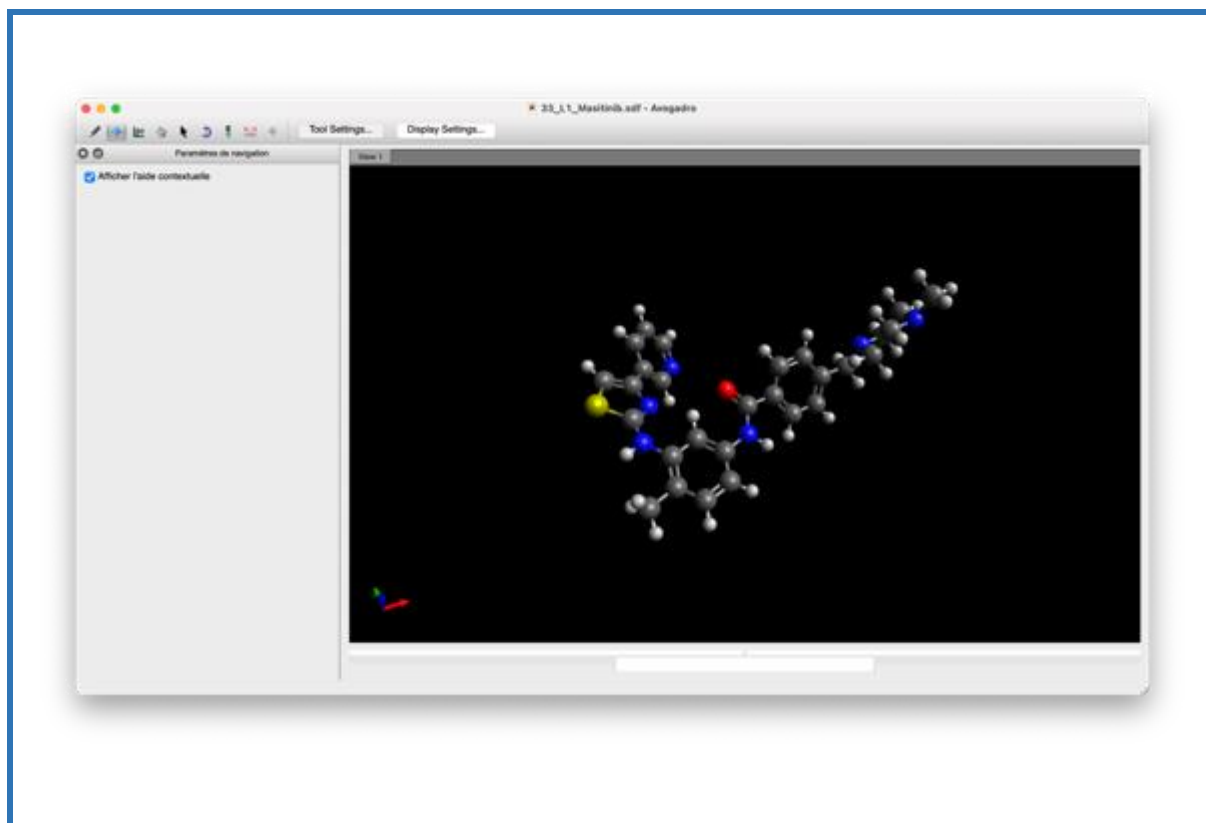
Figure 14 : Interface du serveur pkCSM-pharmacokinetics

(<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsml>).

2. Les Logiciels

a. Avogadro

Avogadro est un « éditeur moléculaire » conçu pour être facile à utiliser pour construire, minimiser et visualiser des molécules et des matériaux en (3D). Il fonctionne sous Windows, Linux et Mac. L'outil d'optimisation automatique optimise en continu la géométrie moléculaire grâce à la mécanique moléculaire. Cet outil fournit une interface interactive, permettant de manipuler une molécule pendant que sa géométrie moléculaire est optimisée (Figure 15).



Figure_15 : Interface Utilisateur d'Avogadro.

Avogadro Download Page : (<https://sourceforge.net/projects/avogadro/files/latest/download>).

b. Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer est un logiciel qui permet la visualisation des molécules. Il est développé et distribué par la marque BIOVA. Permettant aussi, de modifier des structures moléculaires, des séquences et des alignements de séquences et des scripts (Perl) créés avec Discovery Studio et d'autres applications. Il fournit une interface pratique pour les tâches d'analyse de données quotidiennes et vous permet de partager et d'afficher des données avec d'autres collaborateurs (Figure_16).

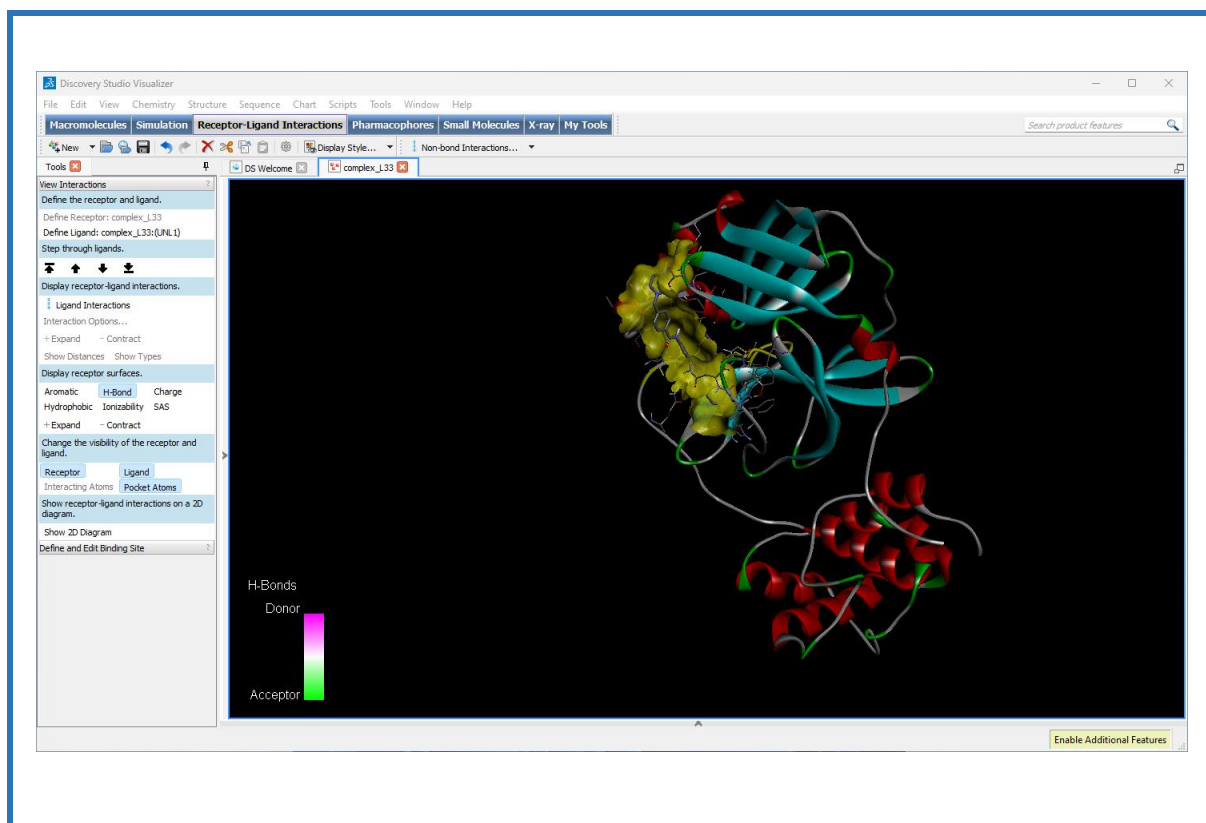
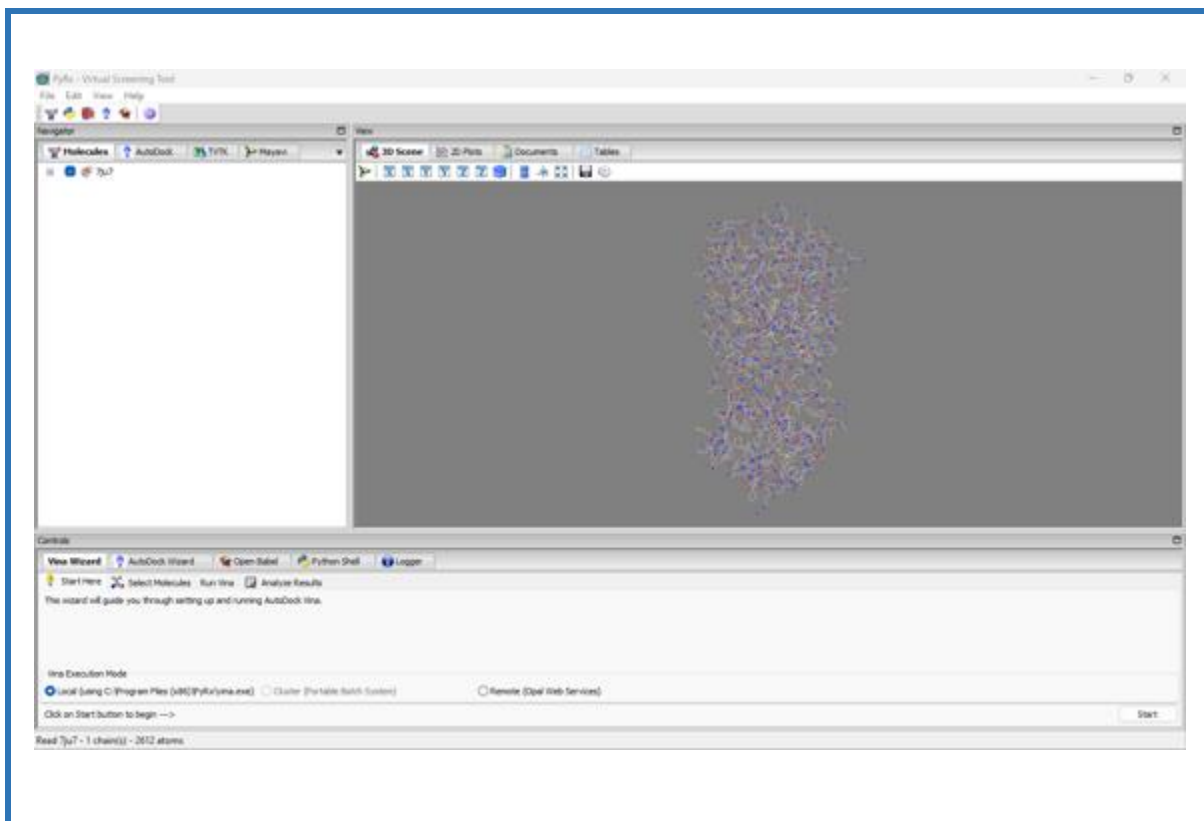


Figure 16 : Interface Utilisateur du Discovery Studio Visualizer.

Discovery Studio Visualizer Download Page : (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>).

c. PyRx

PyRx est un logiciel de criblage virtuel pour la découverte de médicaments par ordinateur qui peut être utilisé pour cribler des bibliothèques de composés par rapport à des cibles médicamenteuses potentielles. (PyRx) permet aux chimistes médicaux d'exécuter le dépistage virtuel à partir de n'importe quelle plate-forme et aide les utilisateurs à chaque étape de ce processus - de la préparation des données à la soumission des travaux et à l'analyse des résultats. S'il est vrai qu'il n'y a pas de bouton magique dans le processus de découverte de médicaments, (PyRx) inclut un assistant d'accueil avec une interface utilisateur facile à utiliser, ce qui en fait un outil précieux pour la conception de médicaments assistée par ordinateur. (PyRx) comprend également une fonctionnalité semblable à une feuille de calcul chimique et un puissant moteur de visualisation qui sont essentiels pour la conception de médicaments basée sur la structure (<https://pyrx.sourceforge.io/>) (Figure 17).

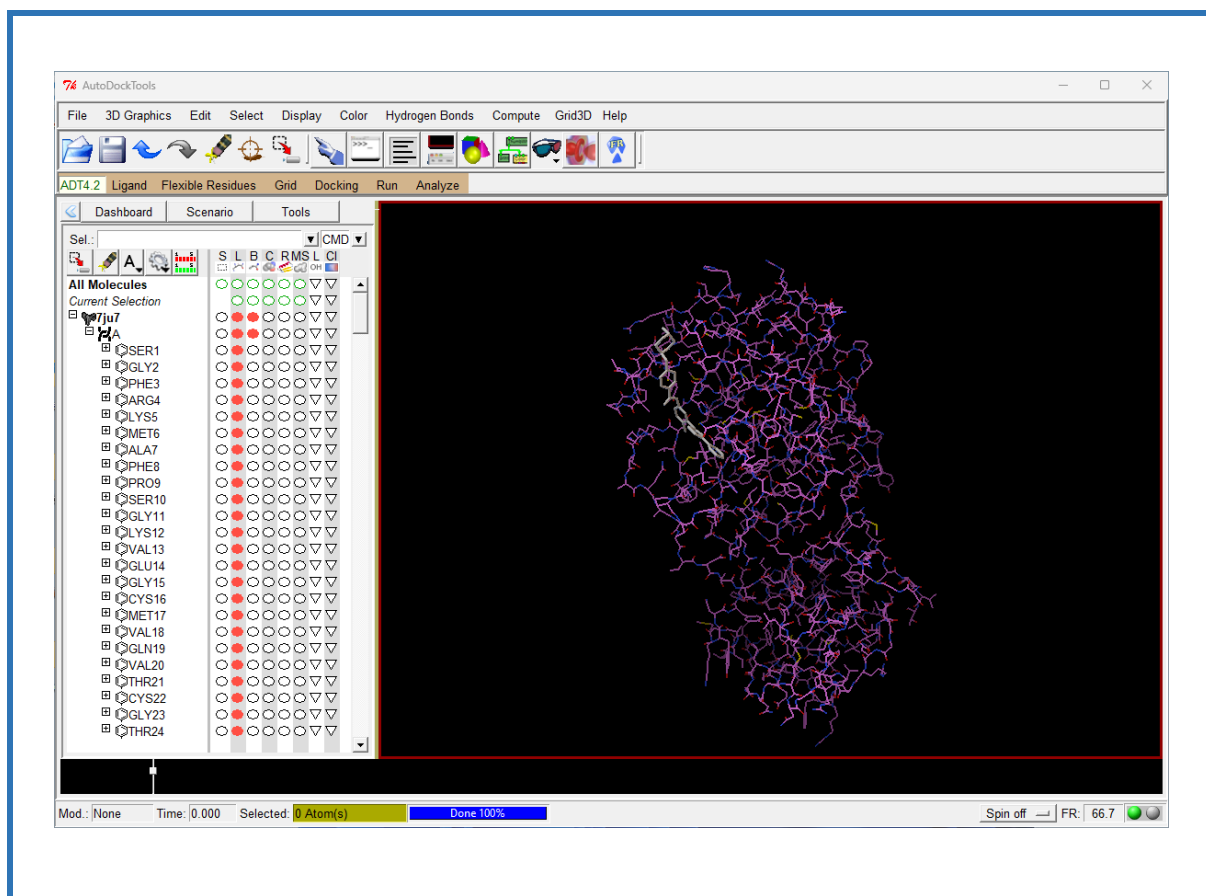


Figure_17 : Interface Utilisateur de PyRx.

PyRx Download Page : (<https://pyrx.sourceforge.io/>).

d. MGLTools

La suite logicielle MGLTools a été développée dans le laboratoire *Sanner du Center for Computational Structural Biology (CCSB)* anciennement connu sous le nom de *Molecular Graphics Laboratory (MGL)* pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires. MGLTools comprend : Le Python Molecular Viewer (PMV), un visualiseur moléculaire à usage général, AutoDockTools (ADT) un ensemble de commandes (PMV) spécialement développées pour prendre en charge les utilisateurs d'AutoDock et Vision, un environnement de programmation visuel (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>) (*Figure_18*).



Figure_18 : Interface Utilisateur du AutoDock Tools.

AutoDock Tools Download Page : (<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/downloads/>).

e. PyMOL

PyMOL est un système de visualisation moléculaire open source mais propriétaire créé par *Warren Lyford DeLano*. Il a été initialement commercialisé par DeLano Scientific (LLC), qui était une société de logiciels privée dédiée à la création d'outils utiles qui deviennent universellement accessibles aux communautés scientifiques et éducatives.

Il est l'un des rares outils de visualisation de modèles principalement open source disponibles pour une utilisation en biologie structurale . La partie (Py) du nom du logiciel fait référence au programme ayant été écrit dans le langage de programmation Python (<https://en.wikipedia.org/wiki/PyMOL>) (*Figure_19*).

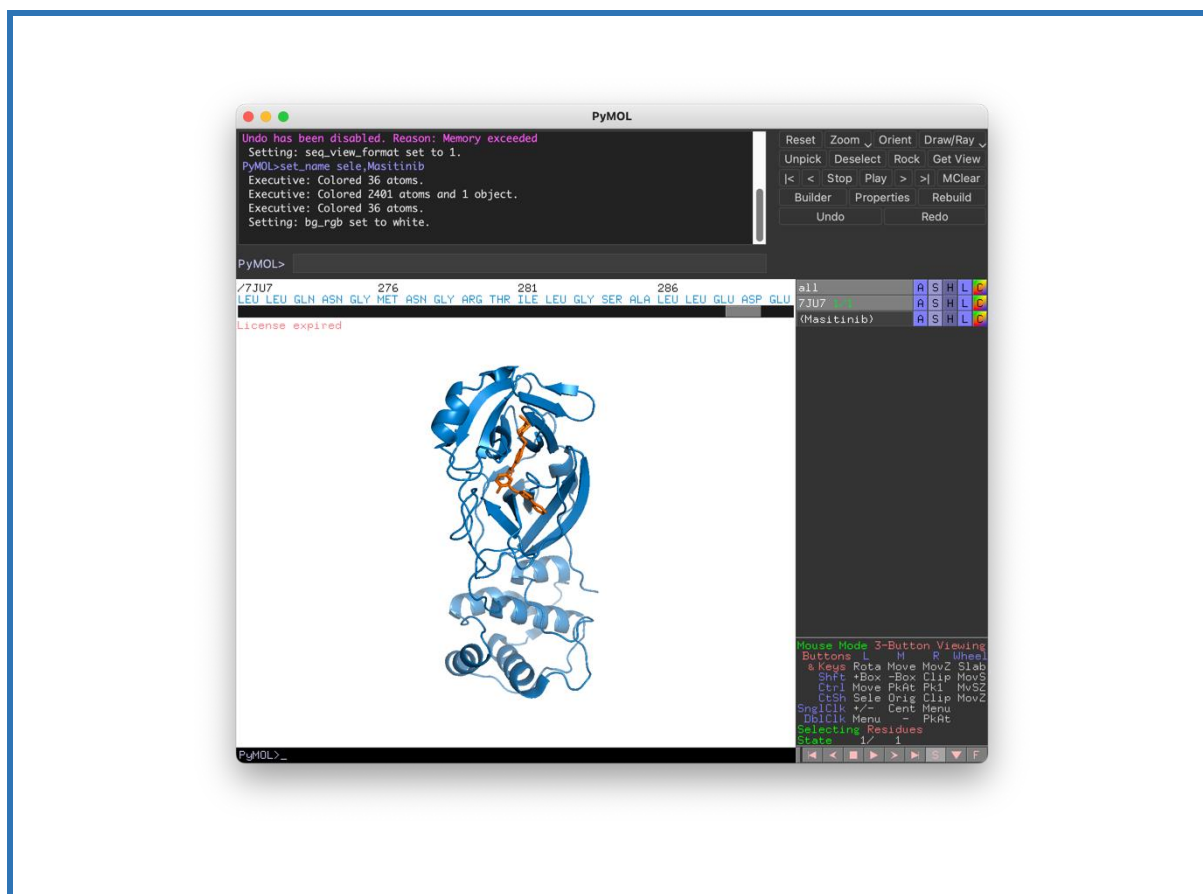
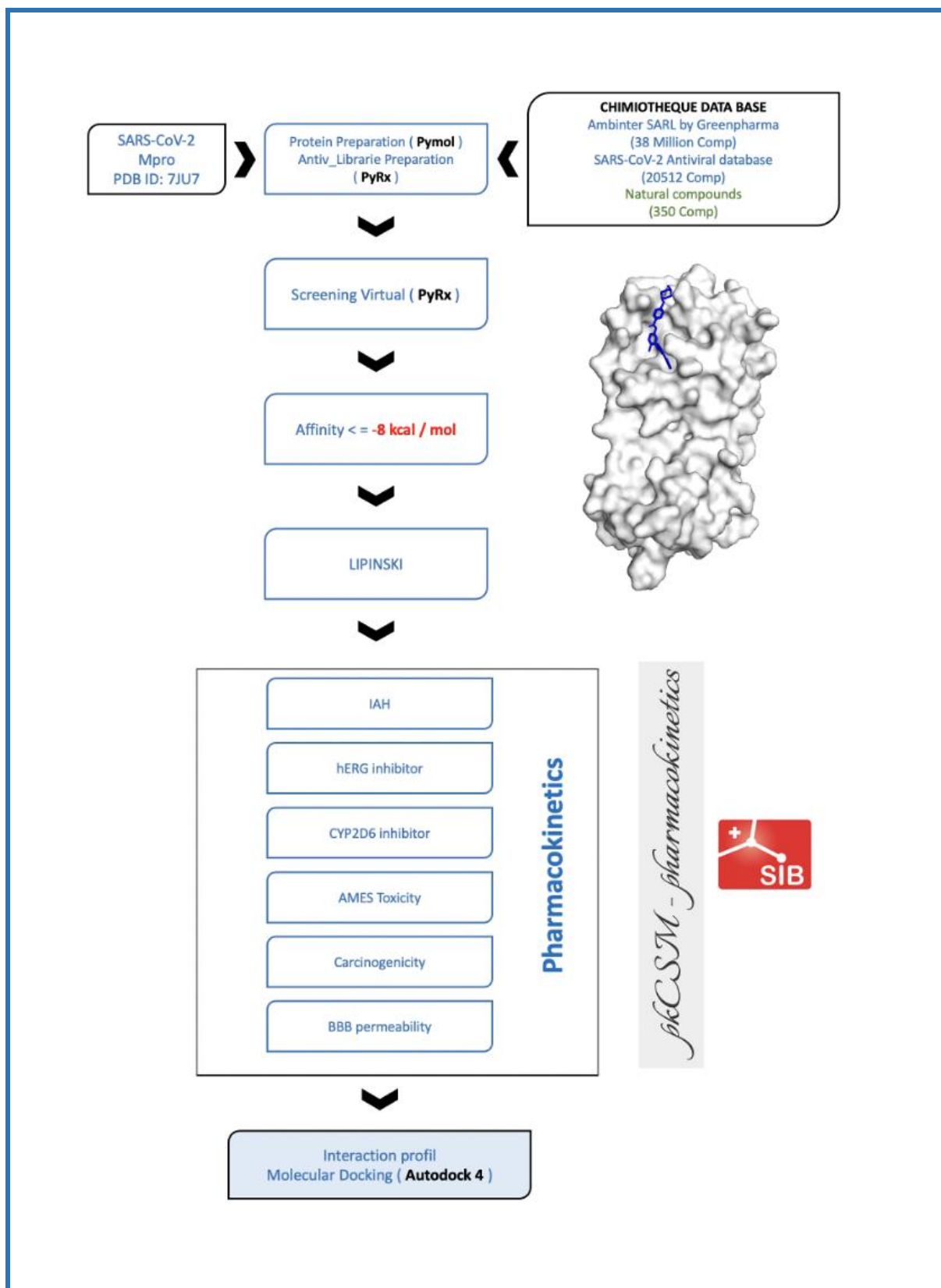


Figure 19 : Interface Utilisateur de PyMOL.

PyMOL Download Page : (<https://pymol.org/2/>).

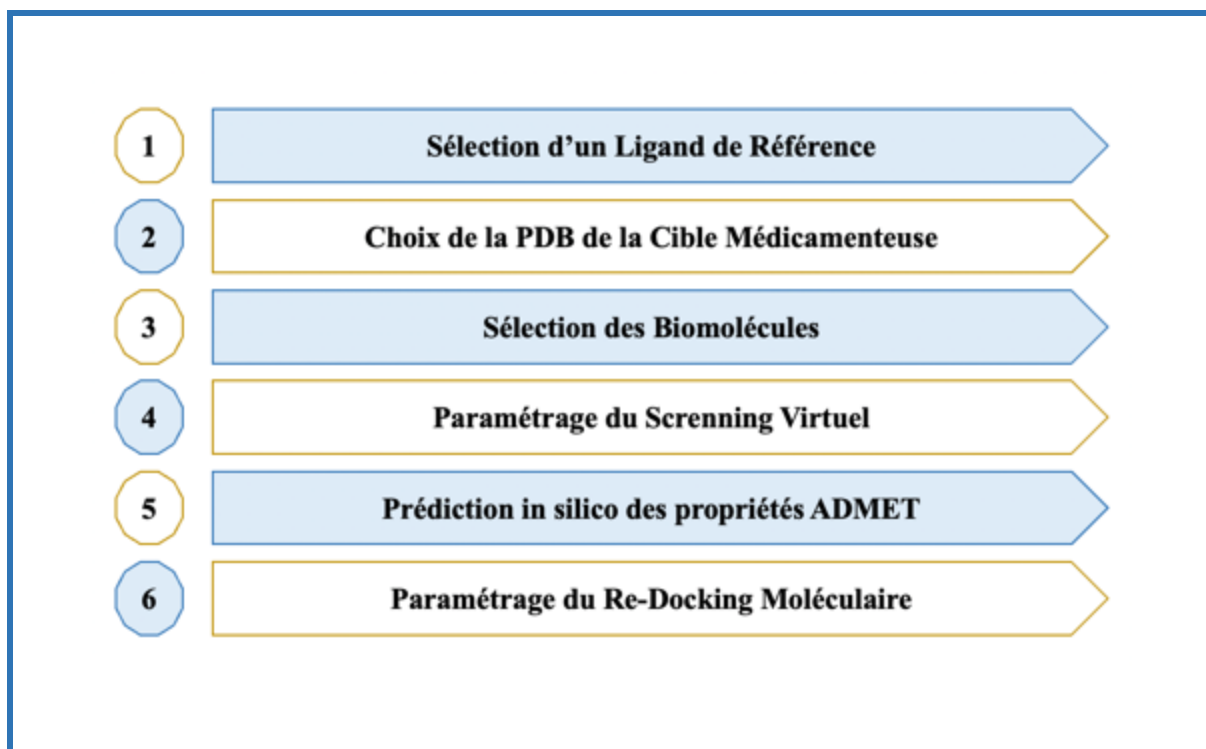
II. Méthodes in Silico

Afin d'arriver à certaines molécules candidates qui présentent une bonne sélectivité vis-à-vis la protéase principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2. 350 molécules phytochimiques d'origine naturelle en total ont été récupérées à partir de la chimiothèque *Ambinter SARL* de la marque *Greenpharma* pour une évaluation in silico par un Screening virtuel. Le filtrage des molécule est fait par le score d'énergie, la validation des règles de Lipinski, les principales propriétés pharmacocinétiques et de toxicité. Les différentes interactions entre les molécules sélectionnées et la (M^{Pro}) sont validées après une évaluation in silico par un re-docking moléculaire avec (Autodock 4.2.6) (*Figure_20 et 21*).



Figure_20 : Work-flow à suivre pour le Screening virtuel de la chimiothèque Ambinter SARL avec la (M^{pro}) du SARS-CoV-2 (ID PDB : 7JU7).

IAH : Intestinal Absorption Human ; *hERG inhibitor* : human Ether-à-go-go-Related Gene inhibitor ; *BBB permeability* : Blood-Brain Barrier Permeability.



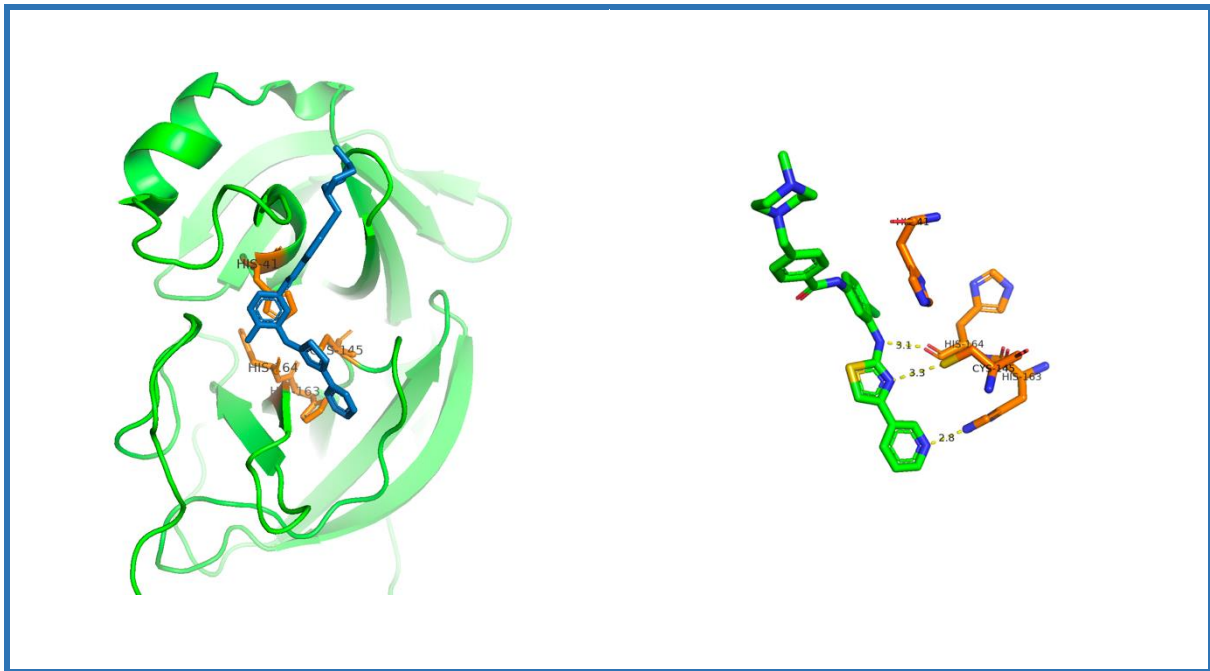
Figure_21 : Les étapes du processus à suivre.

1. Sélection d'un Ligand de Référence

Le Masitinib (MST), un inhibiteur de la tyrosine kinase bien connu, avait une excellente activité inhibitrice contre la (M^{Pro}) ($IC_{50} = 2,5\mu M$). Le complexe ($MST-M^{Pro}$) a été résolu par cristallographie aux rayons (X) et déposé dans la *Protein Data Bank* (PDB ID : 7JU7).

La structure cristalline du complexe ($MST-M^{Pro}$) montre que le (MST) se lie de manière non covalente aux deux sites actifs sur l'homodimère de la (M^{Pro}).

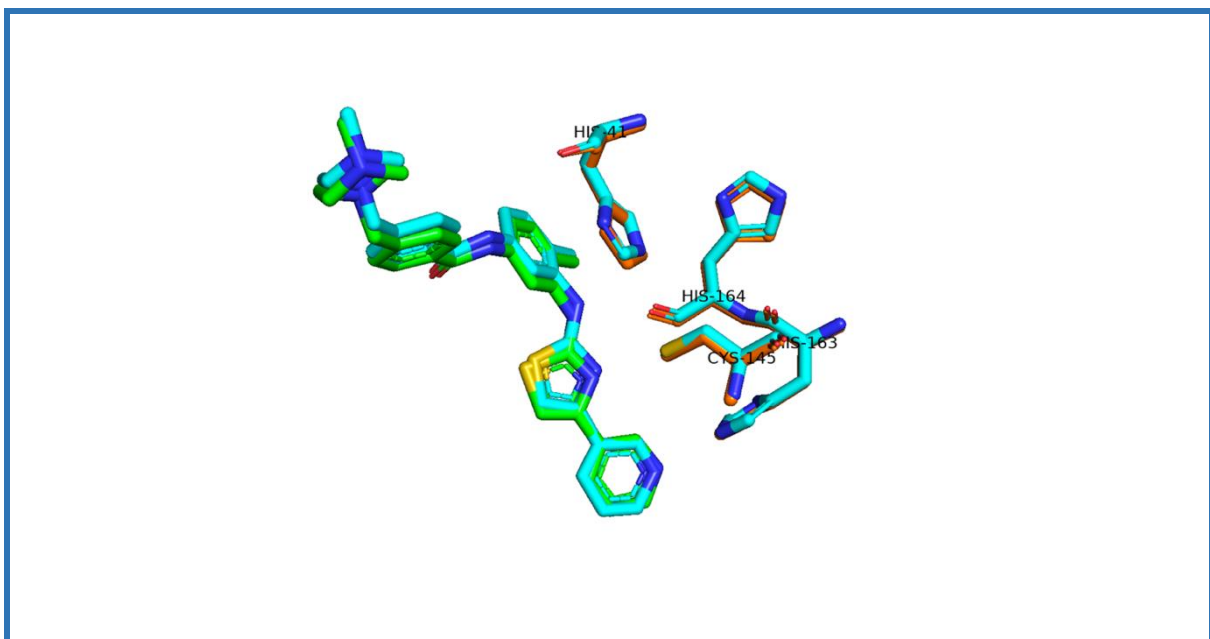
Trois sites d'interaction clés entre les résidus du site actif (MST) et la (M^{Pro}) qui bloquent la reconnaissance des polyprotéines codées par le virus : (1) la liaison hydrogène **pyridine-HIS :163**, (2) la liaison hydrogène **thiazole-CYS :145** et (3) la liaison **toluène- HIS :41** (Empilement $\pi-\pi$) [25]. Les deux dernières interactions répertoriées ont été identifiées comme les plus pertinentes puisqu'elles impliquent les deux résidus catalytiques de l'enzyme. Cependant, en examinant de plus près le complexe, il est possible de conclure que la liaison hydrogène entre le cycle thiazole et la chaîne latérale **CYS :145** ne pourrait pas avoir lieu en raison du faible angle d'interaction formé ($94,7^\circ$). Bien que cette interaction intermoléculaire semble peu probable, nous avons détecté lors de la vérification de la structure qu'une liaison hydrogène pourrait se former entre le groupe amino du cycle aminothiazole et le carbonyle de la chaîne principale de **HIS :164**. Cette liaison hydrogène intermoléculaire a une distance ($3,0 \text{ \AA}$) et un angle ($158,9^\circ$) appropriés pour être considérée comme un point pharmacophorique potentiel (*Figure_22*).



Figure_22 : Le complexe (MST – M^{pro}) avec les résidus du site actif de la protéase principale (M^{pro}) du SARS-CoV-2 (PyMOL).

2. Choix de la PDB de la Cible Médicamenteuse

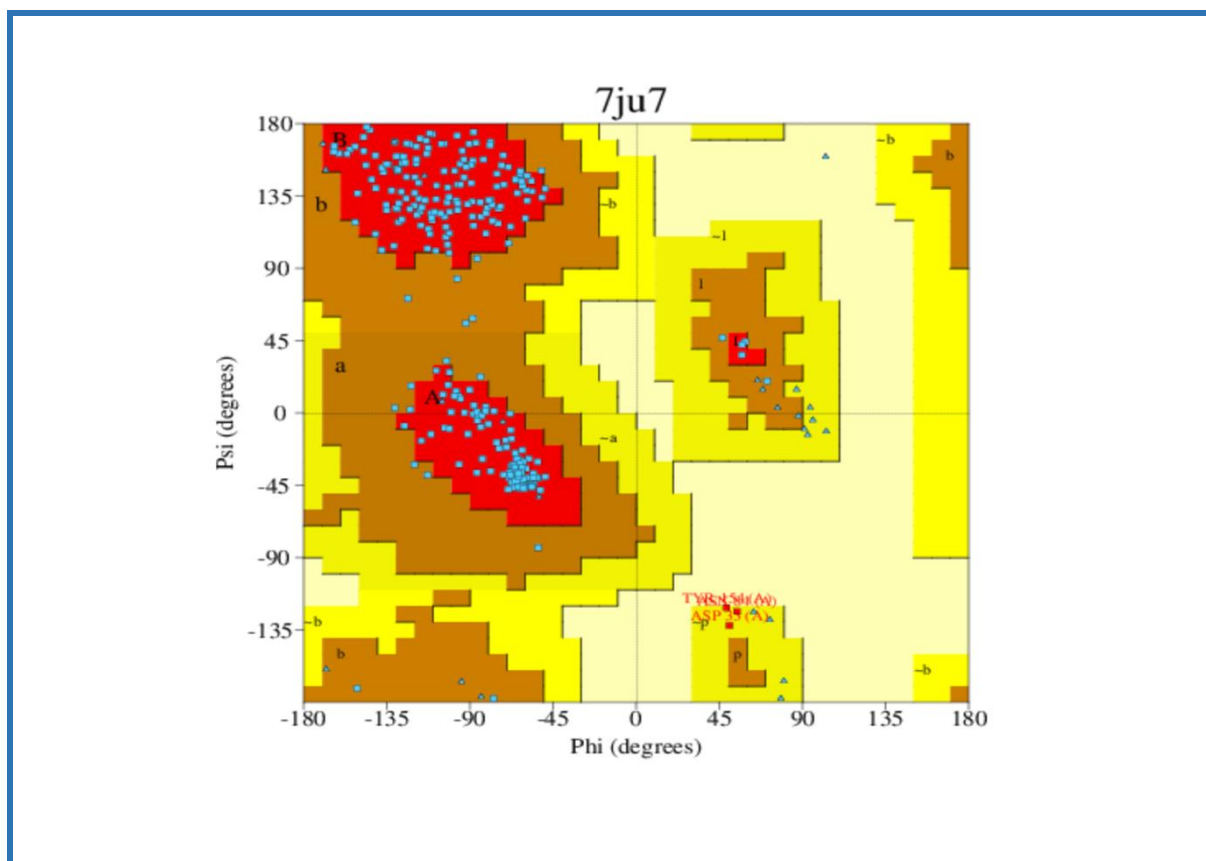
Deux structures cristallographiques de la (M^{pro}) en complexe avec le Masitinib (Code pdb : G65) se trouvent sur la Protein Data Bank, (PDB ID : 7JU7) et (PDB ID : 7TVX), avec des résolutions, respectivement, 1,60 Å et 2,09 Å. Afin de comparer la superposition des résidus du site actif et de calculer le (RMSD) pour valider la similarité entre les deux structures (*Figure_23*).



Figure_23 : Superposition des résidus du site actif des deux structures protéiques de la (M^{pro}).

Le résultat de calcul du (RMSD) montre que les résidus du site actif sont bien conservés entre les deux structures de la (M^{Pr0}) avec une valeur de déviation atomique d'ordre (0,095).

Au cours de notre étude, nous avons opté pour la structure (**PDB ID : 7JU7**) car sa résolution et son diagramme Ramachandran montre une meilleure distribution des régions favorables avec un pourcentage de (91,3 %) (*Figure_24*).



Figure_24 : : Ramachandran plot PROCHECK de la structure protéique (7JU7) (91,3 %).

Site web PROCHECK : (https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=7ju7&template=procheck_summary.html).

3. Sélection des Biomolécules

Dans ce travail, nous avons choisie de tester 350 molécules naturelles à partir de la chimiothèque Ambinter SARL, qui sont connues par leur effet antiviral. Les ligands ont été téléchargés à partir de la chimiothèque sous un format (SDF).

4. Paramétrage du Screening Virtuel

Le résultat de La préparation et la minimisation des 350 molécules est obtenu à l'aide du logiciel PyRx. Les paramètres (Grid Box) utilisés pour configurer le screening sont : (number of points in x-dimension = 20 ; number of points in y-dimension = 20 ; number of points in z-dimension = 24) et (center Grid Box : x-center = 11,292 ; y-center = 5,75 ; z-center = 20,679) avec un spacing (1,000 Angstrom).

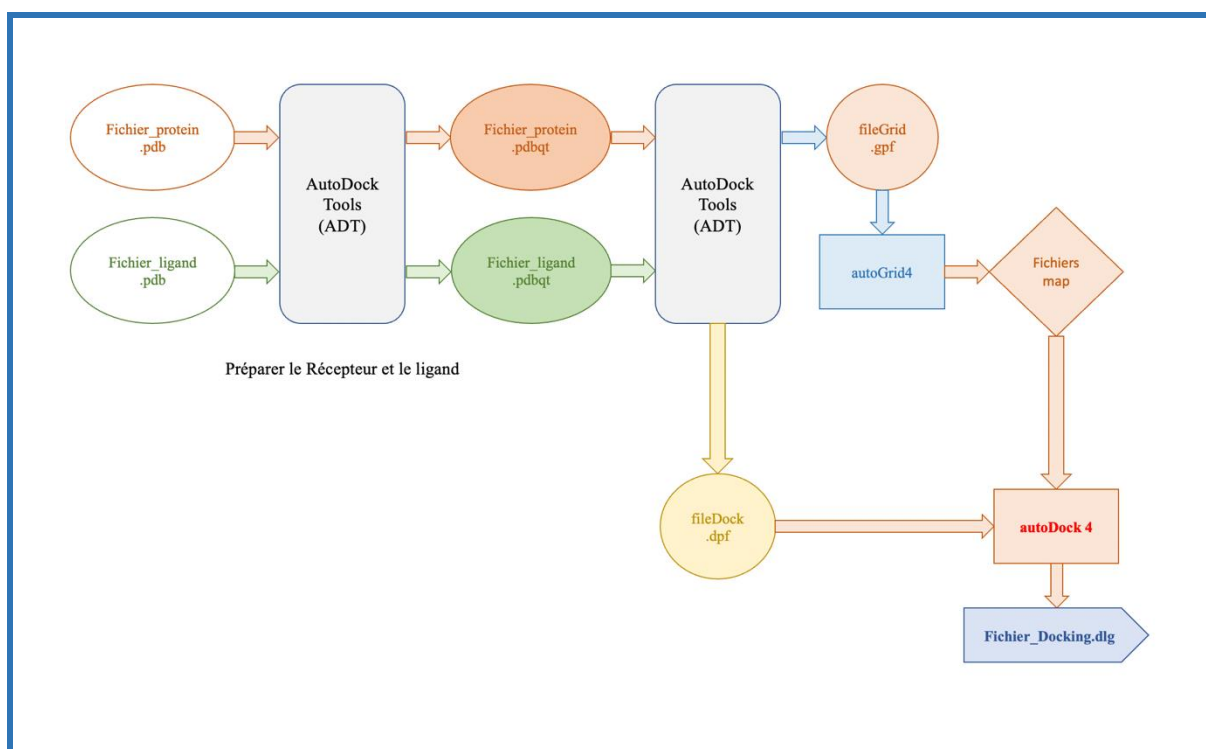
5. Prédiction in Silico des Propriétés ADMET

Sept paramètres ont été pris en considération pour évaluer l'activité pharmacologique des candidats sélectionnés après le screening : Les règles de Lipinski ; L'absorption intestinale Humaine (*IAH*) ; human Ether-à-go-go-Related Gene inhibitor (*hERG inhibitor*) ; L'inhibition du cytochrome CYP2D6 (*CYP2D6 inhibitor*) ; AMES Toxicité ; La Carcinogénicité et La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (*BBB*).

Les résultats de la prédiction des propriétés (ADMET) sont obtenus à l'aide des deux serveurs (SwissADME et pkCSM pharmacokinetics).

6. Paramétrage du Re-Docking Moléculaire

La (*Figure_25*) décrit les étapes du docking, afin de rendre la technique du docking moléculaire assez compréhensive pour les lecteurs et surtout pour les informaticiens.



Figure_25 : Les étapes à suivre dans le processus du docking moléculaire.

Lors du processus du docking moléculaire avec le logiciel (*AutoDock 4.2.6*). Les paramètres (*Grid Box*) utilisés pour configurer le screening sont : (number of points in x-dimension = 55 ; number of points in y-dimension = 55 ; number of points in z-dimension = 64) et (center Grid Box : x-center = 11,527 ; y-center = 5,98 ; z-center = 20,578) avec un spacing (0,375 Angstrom) (*Figure_26*).

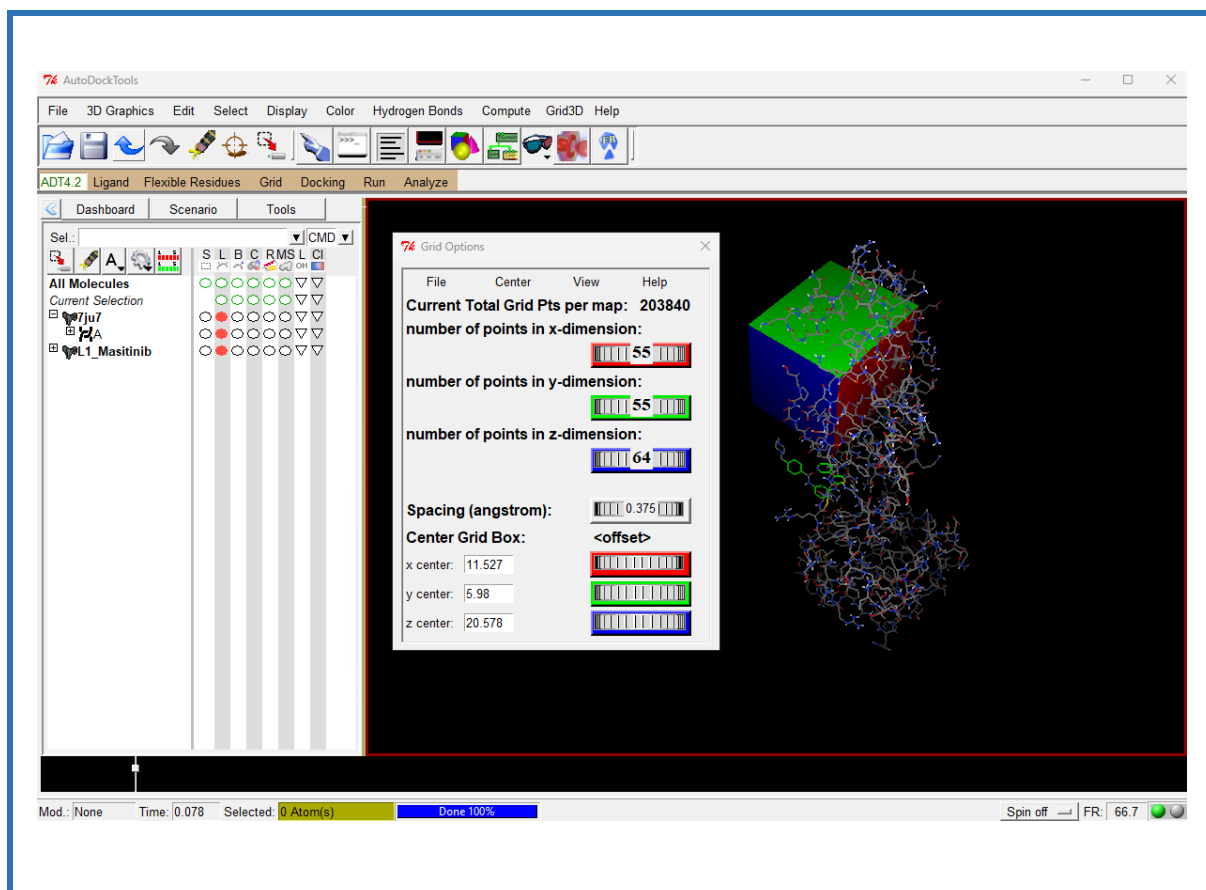


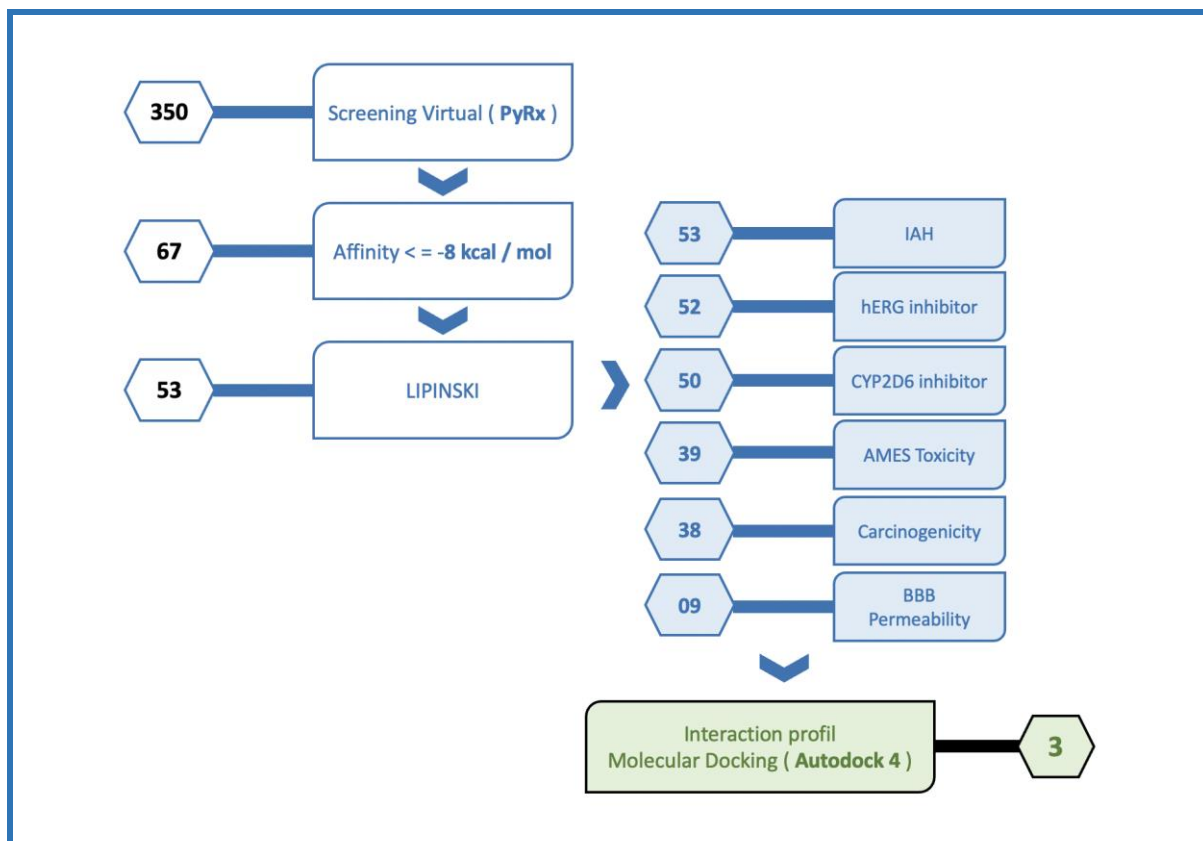
Figure 26 : Cordonnées de la Grid Box choisie pour la (M^{pro}) SARS-CoV-2 (7JU7).

CHAPITRE 3.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats

La (Figure_27) présente le nombre des molécules obtenues après le filtrage à chaque étape du work-flow à suivre pour le Screening virtuel de la chimiothèque *Ambinter SARL* avec la protéase principale (M^{pro}) SARS-CoV-2.



Figure_27 : Organigramme du Nombre des molécules obtenues après le filtrage à chaque étape du work-flow à suivre pour le Screening virtuel de la chimiothèque *Ambinter SARL*.
IAH : *Intestinal Absorption Human* ; **hERG inhibitor** : *human Ether-à-go-go-Related Gene inhibitor* ;
BBB permeability : *Blood-Brain Barrier Permeability*.

1. Analyse des Résultats du Screening Virtuel

Après validation de la nature des molécules téléchargées à partir de la chimiothèque *Ambinter SARL*, un screening virtuel de 350 ligands a été effectué avec les paramètres de la box de notre cible (M^{pro}) mentionnés dans la partie précédente (méthodes in silico). Cet screening a généré 67 molécules qui ont une affinité vis-à-vis la protéase principale (M^{pro}) inférieure ou égal -8,0 kcal/mol.

Les vingt premières molécules sont classées par ordre d'énergie dans (*Tableau_V : Annexe_I*). la plupart de ces vingt molécules appartiennent à la classe des Flavonoïdes, Coumarines et leurs dérivés.

L'évaluation analytique des résultats de la pharmacocinétique et du re-docking moléculaire de ces 67 molécules, va nous permettre de surveiller et prédira la capacité de ces classes des biomolécules d'être des inhibiteurs promoteurs de la (M^{Pr^o}) SARS-CoV-2.

Les neuf molécules sélectionnées pour le re-docking sont classées par ordre d'énergie avec leurs classes dans (*Tableau_VI : Annexe_II*).

2. Analyse des Résultats de la Prédiction des Propriétés ADMET

La règle de cinq de Lipinski, également connue sous le nom de règle de cinq de Pfizer ou simplement la règle de cinq (*RO5*), est une règle empirique pour évaluer la ressemblance à un médicament ou déterminer si un composé chimique ayant une certaine activité pharmacologique ou biologique a des propriétés chimiques et des propriétés physiques qui en ferait un médicament probablement actif par voie orale chez l'homme. La règle a été formulée par *Christopher A. Lipinski* en 1997, sur la base de l'observation que la plupart des médicaments administrés par voie orale sont relativement petits et modérément des molécules lipophiles.

La règle décrit les propriétés moléculaires importantes pour la pharmacocinétique d'un médicament dans le corps humain, y compris son absorption, sa distribution, son métabolisme et son excrétion (*ADME*). Cependant, la règle ne prédit pas si un composé est pharmacologiquement actif.

Dans cette étude, 53 molécules parmi les 67 valident les cinq règles de lipinski (*Tableau_VII : Annexe_III*). Toute molécule qui ne dépasse pas une seule violation (≤ 1) est considérée comme valable pour la validation par la règle de cinq de Lipinski. Le (*Tableau_I*) présente le résumé du profil lipinski des neuf molécules sélectionnées.

Tableau I : Résumé du profil Lipinski des neufs molécules sélectionnées (*pkCSM pharmacokinetics*).

AMBINTER ID	M_W	Log P	R_B	H_A	H_D	Lipinski_V
	< 500	<= 5	<= 10	< 10	< 5	<= 1
AMB1953578 (A)	482.441	0,236	4	10	5	0
PubChem CID 10074640 (B)	498.656	5,257	7	7	2	0
AMB29566134 (C)	475.53	0,270	7	6	2	0
AMB18482225 (D)	472.449	0,460	5	8	3	0
AMB18481638 (E)	457.483	2,415	9	6	4	0
AMB18482894 (F)	451.475	0,355	7	6	3	0
AMB17991925 (G)	478.501	0,351	10	6	4	0
AMB22366827 (H)	432.381	0,000	4	10	6	1
AMB18481507 (I)	463.486	3,915	7	6	3	0

M_W : Poids moléculaire (g/mol) ; *Log P* : Lipophilicité ; *R_B* : Nombre de liaisons rotatoires *H_A* : Nombre d'accepteurs des liaisons Hydrogènes ; *H_D* : Nombre de donneurs de liaisons Hydrogènes ; *Lipinski_V* : Nombre de Violations.

Pour être efficace en tant que médicament, une molécule puissante doit atteindre sa cible dans le corps à une concentration suffisante et y rester sous une forme bioactive suffisamment longtemps pour que les événements biologiques attendus se produisent.

A côté de la règle 5 de Lipinski, Six paramètres pharmacocinétiques ont été pris en considération pour évaluer l'activité pharmacologique des candidats sélectionnés (*Tableau II*) :

L'Absorption Intestinale Humaine (*IAH*), car l'intestin est normalement le principal site d'absorption d'un médicament à partir d'une solution administrée par voie orale. Ce paramètre est conçu pour prédire la proportion des composés qui ont été absorbés par l'intestin grêle humain. Une molécule dont l'absorbance est inférieure à 30% est considérée comme mal absorbée. Les neufs molécules sélectionnées ont une bonne absorption intestinale qui varie entre 43,7% et 93,9%.

La Perméabilité de la Barrière Hémato-Encéphalique (*BBB*), car le Cerveau est protégé contre les composés exogènes par la présence de cette barrière hémato-encéphalique. La capacité d'un médicament à pénétrer dans le cerveau est un paramètre important à prendre en compte pour aider à réduire les effets secondaires et les toxicités, ou bien, pour améliorer l'efficacité des médicaments dont l'activité pharmacologique se situe dans le cerveau. Pour un composé donné, la (*BBB perm*) > 0,3 est considérée comme traversant facilement la barrière hémato-encéphalique, tandis que les molécules avec une (*BBB perm*) < -1 sont mal distribuées au cerveau. Par conséquent les neuf molécules sélectionnées ont des valeurs inférieure à -1, ce qui les rends comme non traversants la barrière hémato-encéphalique.

L'Inhibition du Cytochrome CYP2D6 (*CYP2D6 inhibitor*). En général, les cytochromes (*P450*) sont responsables du métabolisme de nombreux médicaments. Cependant, les inhibiteurs des (*P450*) peuvent modifier considérablement la pharmacocinétique de ces molécules. Il est donc important d'évaluer si un composé donné est susceptible d'être un inhibiteur du cytochrome (*P450*). Le principal isoforme responsable du métabolisme des médicaments est le (*CYP2D6*). Alors que les molécules sélectionnées dans cette étude sont toutes des candidats non inhibiteurs pour le CYP2D6.

Human Ether-à-Go.Go-Related Gene inhibitor (*hERG inhibitor*). L'inhibition des canaux potassiques codés par (*hERG*) (gène human ether-a-go-go) sont les principales causes du développement du syndrome du QT long acquis, conduisant à une arythmie ventriculaire mortelle. Cependant les neuf molécules sélectionnées sont toutes non inhibiteurs pour les canaux potassiques.

Le test d'*AMES* qui est une méthode largement utilisé pour évaluer le potentiel mutagène d'un composé à l'aide des bactéries. Un test positif indique que le composé est mutagène et peut donc agir comme cancérogène. Concernant notre étude, la totalité des molécules sélectionnées ne présentent aucun effet mutagène.

La Carcinogénicité est un paramètre important car il fait référence à un point final hautement toxique des composés chimiques dans le processus de développement des médicaments. Dans notre cas, les composés sélectionnés ont des valeurs optimales comprisent entre 0,3 et 0,7, ce qui rend ces molécules non carcinogènes.

En gros, les 9 molécules sélectionnées dans cette étude (*Tableau_II*) présentent un bon profil pharmacocinétique pour les différents paramètres mentionnés dans cet écrit, ce qui rend ces molécules des bons candidats pour l'inhibition de la (M^{pro}) du SARS-CoV-2.

Tableau_II : Profil des propriétés ADME et Toxicité des molécules sélectionnées (*pkCSM pharmacokinetics*) et (*SwissADME*).

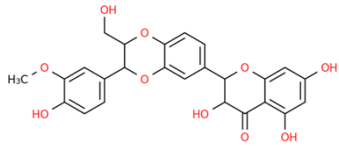
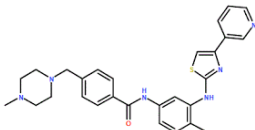
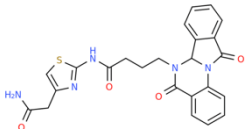
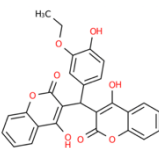
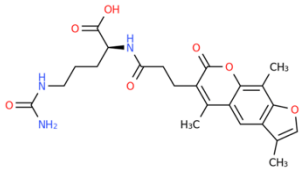
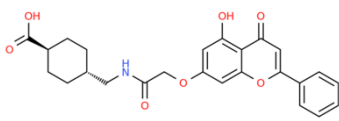
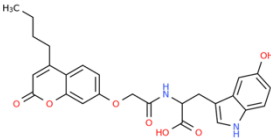
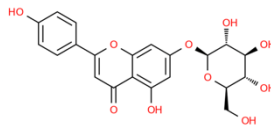
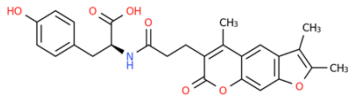
AMBINTER ID	ADME			Toxicité		
	IAH > 30 %	BBB perm < -1	CYP2D6 inh (NO)	hERG inh (NO)	AMES tox (NO)	Carcinogenicity [0, 0.7]
AMB1953578 (A)	66.913	-1.332	No	No	No	0.334
PubChem CID 10074640 (B)	91.71	-1.344	No	No	No	0.051
AMB29566134 (C)	93.515	-1.115	No	No	No	0.047
AMB18482225 (D)	93.907	-1.122	No	No	No	0.147
AMB18481638 (E)	43.765	-1.295	No	No	No	0.481
AMB18482894 (F)	69.246	-1.174	No	No	No	0.317
AMB17991925 (G)	58.96	-1.314	No	No	No	0.307
AMB22366827 (H)	51.289	-1.359	No	No	No	0.484
AMB18481507 (I)	62.236	-1.015	No	No	No	0.175

IAH : Intestinal Absorption Human ; *BBB perm* : Blood-Brain Barrier Permeability ; *CYP2D6 inh* : CYP2D6 Inhibitor ; *hERG inh* : human Ether-à-go-go-Related Gene inhibitor.

3. Analyse des Résultats du Re-Docking Moléculaire

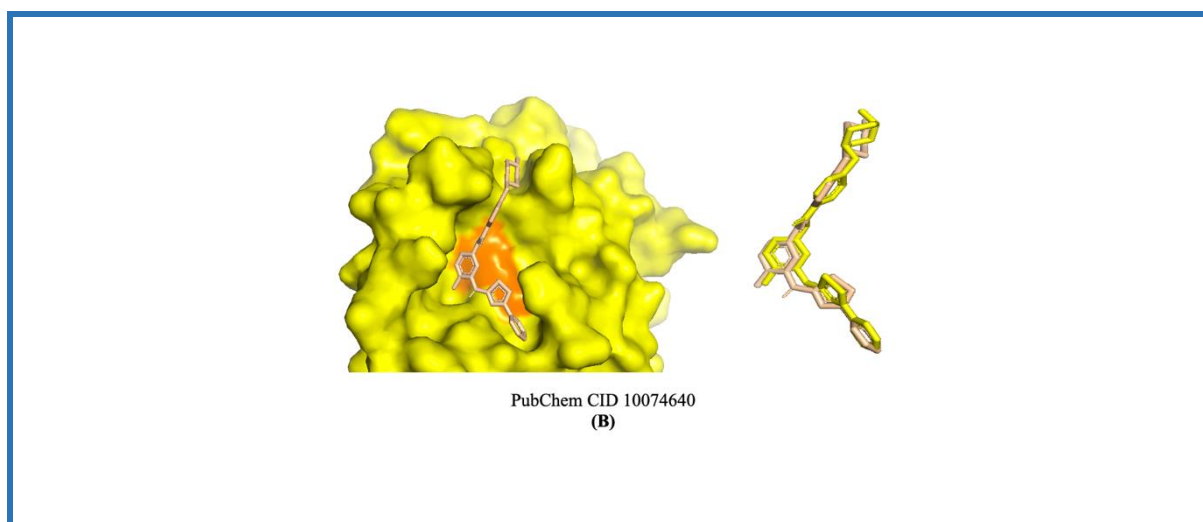
Huit molécules et le ligand de référence (*Masitinib*) (*PubChem CID 10074640 (B)*) ont été testées à l'aide du logiciel (*AutoDock 4.2.6*) pour générer un nombre important de conformations et pour évaluer leur affinité contre la protéase principale (M^{pro}) notre cible d'intérêt. Les résultats du re-docking moléculaire ont montré que ces molécules testées présentaient une affinité comprise entre -8,64 et -6,18 Kcal/mol (*Tableaux_III*).

Tableau III : Résumé du profil interactions des molécules sélectionnées avec la (M^{Pro}) du SARS-CoV-2 (*AutoDock 4.2.6*).

AMBINTER ID	Structure 2D	Affinité (kcal/mol)	Liaisons Hydrogènes	Interactions Hydrophobes
AMB1953578 (A)		-8,64	THR:25 HIS:41 LEU:141 SER:144 CYS:145 ASP:187	HIS:41 MET:49 CYS:145
PubChem CID 10074640 (B)		-8,52	SER:144 HIS:163 GLU:166	HIS:41 MET:49 CYS:145 MET:165
AMB29566134 (C)		-8,31	THR:25 SER:144 CYS:145	LEU:27 HIS:41 CYS:44 MET:49
AMB18482225 (D)		-8,14	ASN:142 CYS:145 HIS:164	LEU:27 HIS:41 CYS:145 MET:165 GLU:166
AMB18481638 (E)		-7,65	THR:26 HIS:41 CYS:44 GLY:143 CYS:145 GLU:166	HIS:41 MET:49
AMB18482894 (F)		-7,37	THR:25 GLY:143 CYS:145	LEU:27 HIS:41 MET:49 CYS:145
AMB17991925 (G)		-7,28	THR:24 THR:25 THR:26	HIS:41 MET:165
AMB22366827 (H)		-7,04	THR:26 ASN:142 GLY:143 GLU:166 ASP:187	HIS:41 MET:49
AMB18481507 (I)		-6,18	HIS:41 CYS:145 HIS:163 ASP:187	HIS:41 ; CYS:44 MET:49 CYS:145 HIS:172

L'évaluation de la fiabilité du programme du re-docking moléculaire par (*AutoDock 4.2.6*) est une étape très importante pour prédire sa capacité à reproduire les résultats. La superposition permet de prédire à quel niveau les poses générées par le programme du docking moléculaire se rapproche de la structure co-cristallisée de notre cible avec le ligand de référence.

Le résultat de la superposition du ligand de la référence avant et après re-docking montre un meilleur positionnement dans le site actif avec un RMSD de 1,02 Å (*Figure_28*). D'après la littérature, une valeur RMSD qui ne dépasse pas 2 Å est une preuve de la fiabilité du programme du docking.

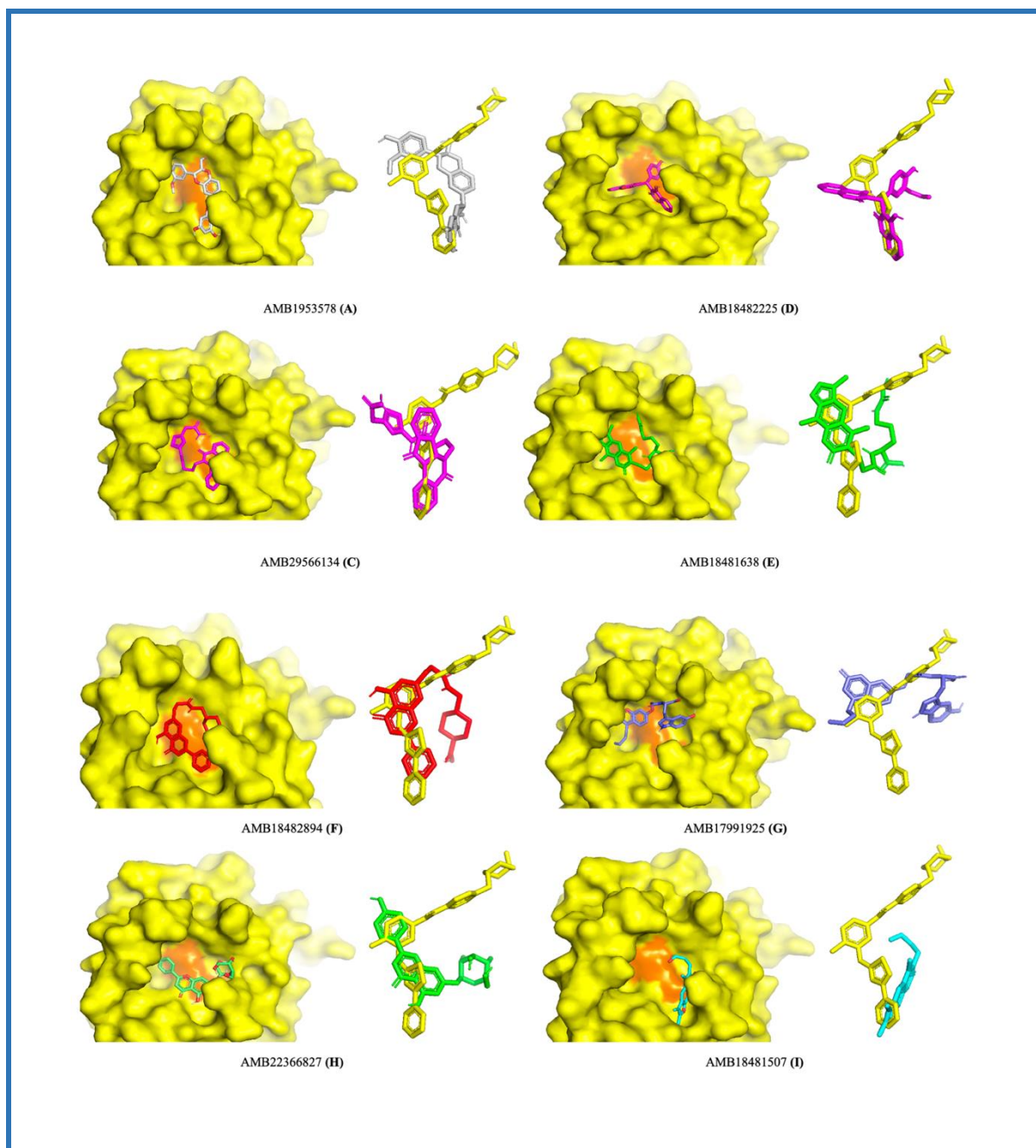


Figure_28 : Superposition du ligand de la référence après le re-docking avec la conformation de la structure co-cristallisée (**ID PDB : 7JU7**) (PyMol).

Le ligand de référence (Masitinib) est indiqué avec la couleur jaune. Les résidus du site actif sont colorés en orange.

De la même manière, la superposition des autres ligands avec la référence a été effectuée afin de visualiser les meilleurs positions de ces inhibiteurs dans la poche de liaison de la (M^{pro}).

La majorité des molécules sélectionnées présentent un bon positionnement vis-à-vis le site actif de notre protéine, sauf les trois dernières molécules *AMB17991925 (G)*, *AMB22366827 (H)* et *AMB18481507 (I)* qui sont positionnées aux extrémités de la poche de liaison de la (M^{pro}) (*Figure_29*).

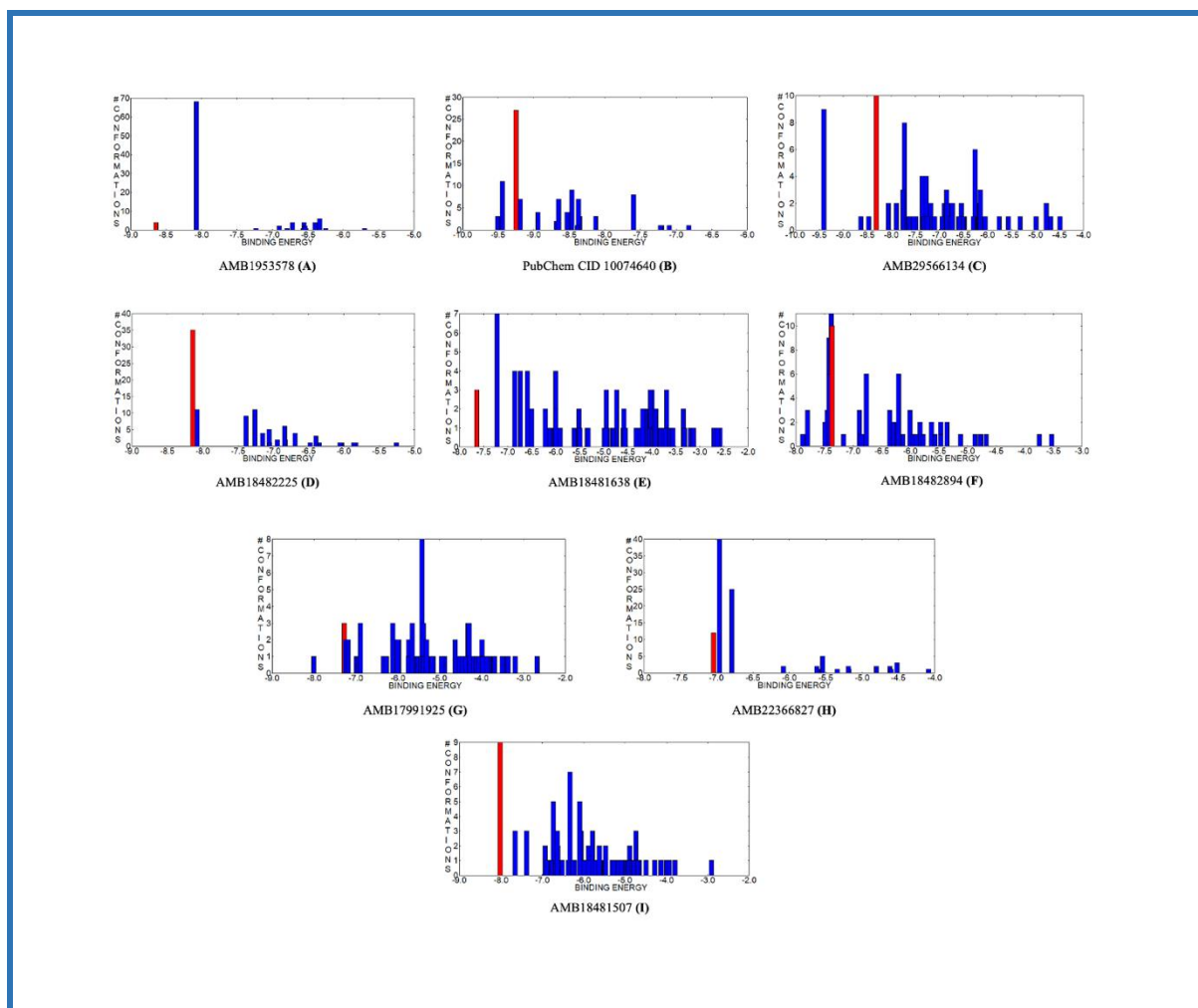


Figure_29 : Superposition des molécules sélectionnées avec le Masitinib (PyMol).

Le ligand de référence (Masitinib) est indiqué avec la couleur jaune. . Les résidus du site actif sont colorés en orange.

La (Figure_30) montre le profil de différents clusters des molécules sélectionnées après le redocking moléculaire avec le logiciel (AutoDock 4.2.6).

Les molécules *AMB1953578* (A), *PubChem CID 10074640* (B), *AMB29566134* (C), *AMB18482225* (D) et *AMB22366827* (H) présentent un bon profil de clusters, tandis que le reste des molécules ont des profils plus dispersés.

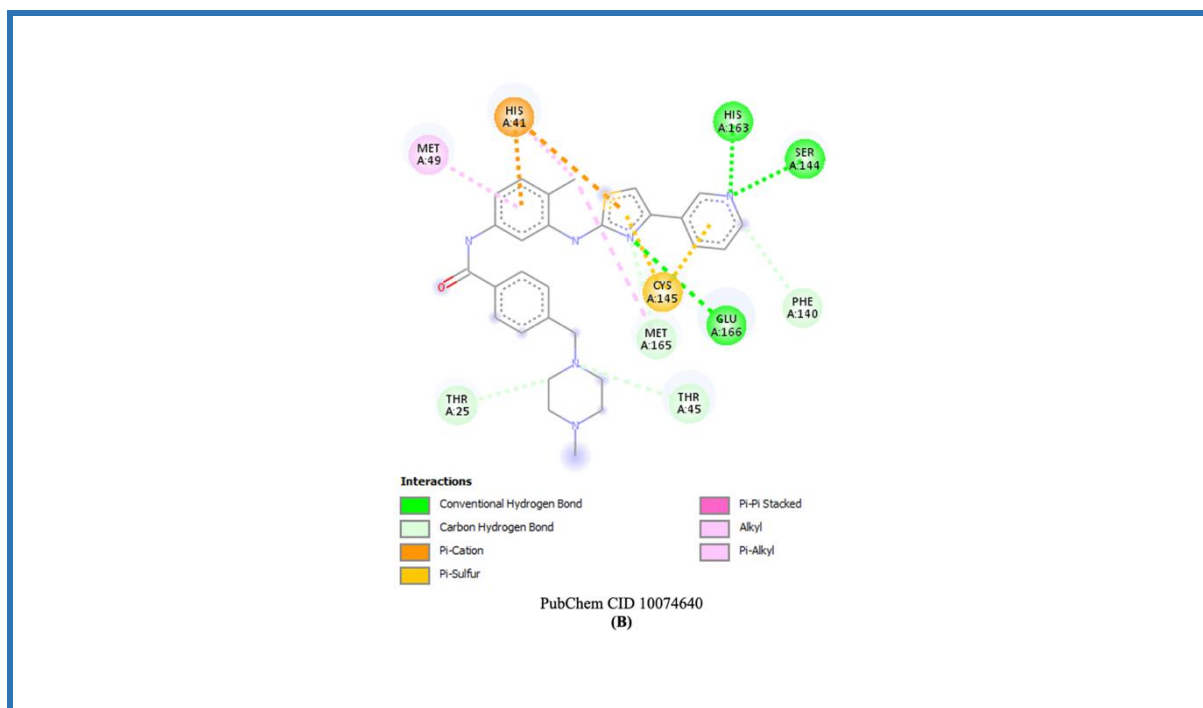


Figure_30 : Profils des Clusters des molécules sélectionnées pour le re-docking moléculaire (AutoDock 4.2.6).

L'étude des interactions ligand / récepteur nous a renseigné sur le mode de positionnement des ligands amarrés au sein du site de liaison de la protéase principale (M^{Pr0}) SARS-CoV-2.

Concernant le ligand de référence *PubChem CID 10074640*, il établit trois liaisons de types hydrogènes avec les résidus *SER-144*, *HIS-163* et *GIU-166*. Le *CYS-145* établit deux liaisons de type Pi-Sulfur avec le pyridine et le thiazole, tandis que l'autre résidu clé *HIS-41* forme deux liaisons hydrophobes de type Pi-Cation et Pi-Sulfur avec le thiazole du masitinib. Une autre liaison hydrophobe de type Pi-Alkyl est formée entre le cycle benzoïque et la *MET-49* qui a rôle stabilisant très important. De plus, on constate la formation de certaines liaisons faibles de type Carbon-Hydrogen bond avec les résidus *THR-25*, *THR-45*, *PHE-140* et *MET-165*.

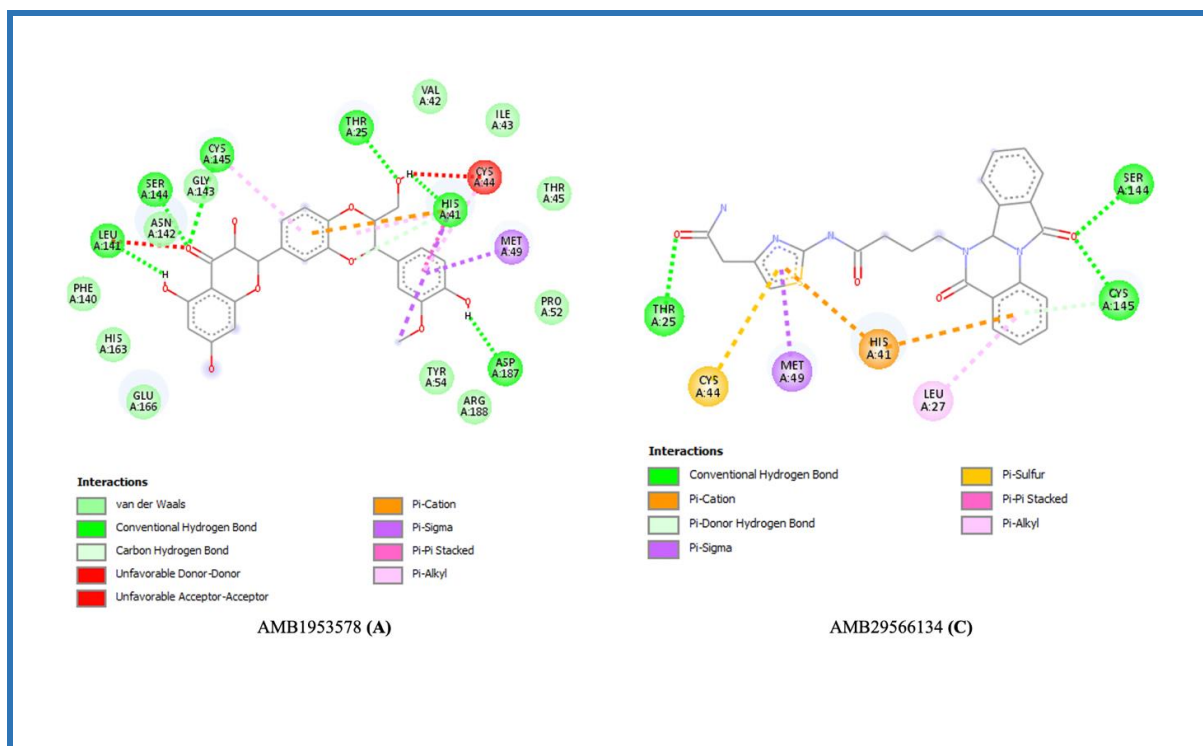
la liaison hydrogène entre le cycle thiazole et la chaîne latérale *CYS-145* ne pourrait pas avoir lieu en raison du faible angle d'interaction formé ($94,7^\circ$) (*Figure_31*).



Figure_31 : Résumé du profil interactions du ligand de la référence (PubChem CID 10074640) (Discovery Studio).

L'analyse visuelle de l'interaction de la molécule *AMB1953578 (A)* avec la (M^{Pro}) a révélé la formation de six liaisons hydrogènes entre les groupements alcools et cétones du ligand et les résidus *THR-25*, *HIS-41*, *LEU-141*, *SER-144*, *CYS-145* et *ASP-187*. Le résidu *HIS-41* forme deux liaisons hydrophobes de type Pi-Cation, Pi-Sigma et Pi-Alkyl avec le noyau bicyclique au milieu de la molécule. Une autre liaison Pi-Sigma aura lieu entre le cycle benzoïque et la *MET-49*. De plus, on constate la formation de certaines liaisons faibles de type Carbon-Hydrogen bond avec les résidus *VAL-41*, *ILE-43*, *THR-45*, *PRO-52*, *TYR-54*, *PHE-140*, *ASN-142*, *GLY-143*, *HIS-163*, *GLU-166* et *ARG-188 (Figure_32)*.

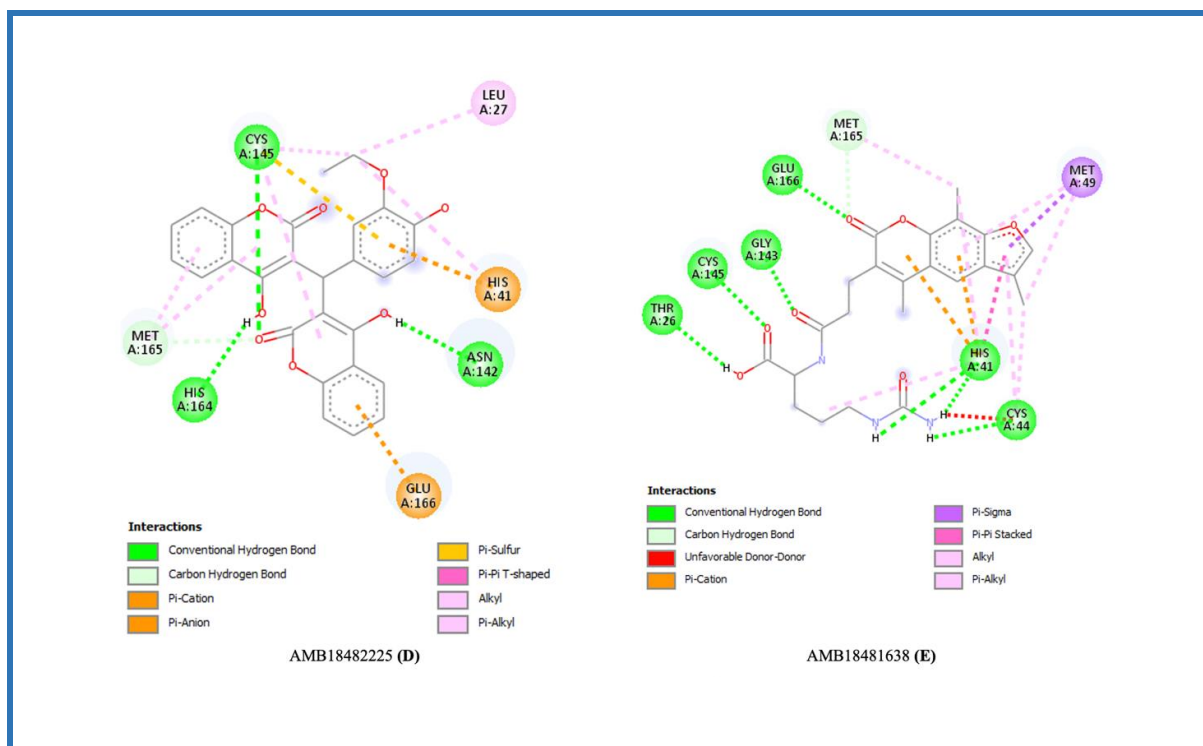
Concernant le ligand *AMB29566134 (C)*. Il établit trois liaisons hydrogènes, deux liaisons entre le cétone de la partie cyclique et les résidus *SER-144* et *CYS-145*, la troisième liaison hydrogène est formé entre l'extrémité amide du ligand et le résidu *THR-25*. Les autres résidus *LEU-27*, *HIS-41*, *CYS-44* et *MET-49* forment plusieurs liaisons hydrophobes de type Pi-Sulfur, Pi-Sigma et Pi-Alkyl avec le cycle thiazole et la partie cyclique de la molécule (*Figure_32*).



Figure_32 : Résumé du profil interactions des molécules AMB1953578 (A) et AMB29566134 (C) (Discovery Studio).

Le profil d'interaction de la molécule *AMB18482225 (D)* montre la formation de trois liaisons hydrogènes entre les groupements alcools et cétones et les résidus *ASN-142*, *CYS-145* et *HIS-164*. Les autres résidus *HIS-41*, *GLU-166* forment des liaisons Pi-Sulfur avec les cycles aromatiques de la molécule (*Figure_33*).

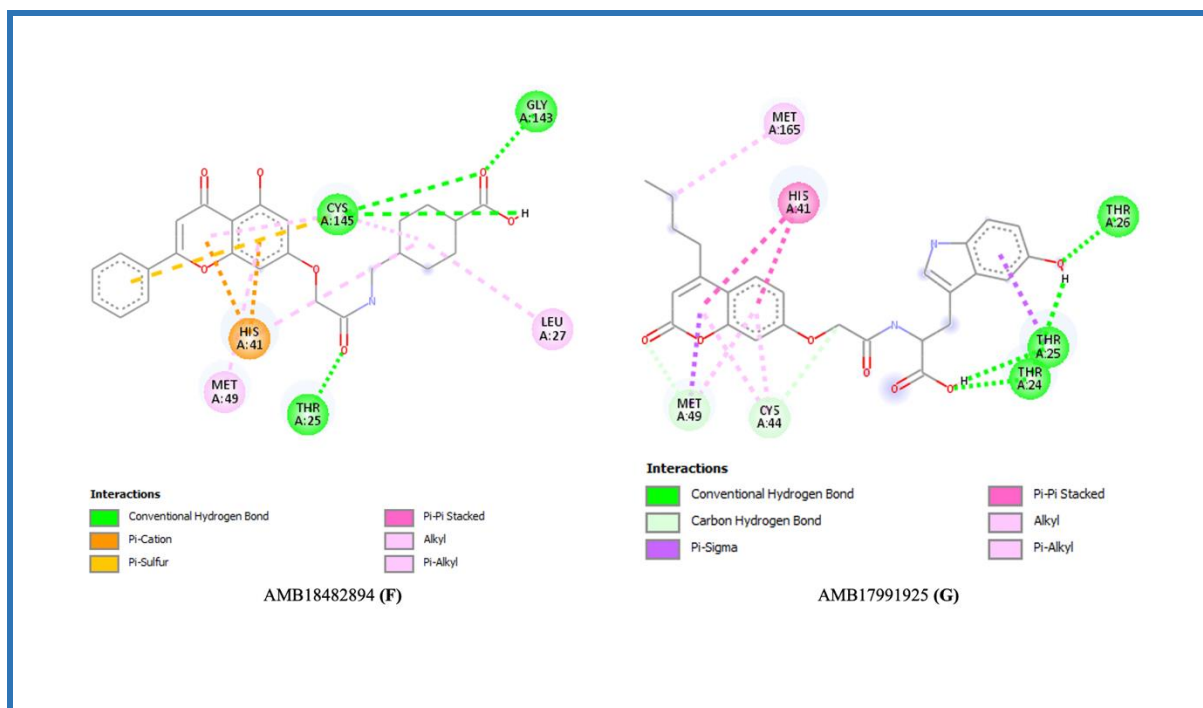
Concernant le ligand *AMB18481638 (E)*, il établit six liaisons hydrogènes entre les parties amides, cétones et carboxyliques du ligand et les résidus *THR-26*, *HIS-41*, *CYS-44*, *GLY-143*, *CYS-145* et *GLU-166*. Les deux résidus *HIS-41* et *MET-49* forment plusieurs liaisons hydrophobes de type Pi-Alkyl, Pi-Sigma et Pi-Pi-Stacked, cette dernière a un rôle important dans la stabilisation de la protéine avec la partie cyclique de la molécule (*Figure_33*).



Figure_33 : Résumé du profil interactions des molécules AMB18482225 (D) et AMB18481638 (E) (Discovery Studio).

L'analyse visuelle de l'interaction de la molécule *AMB18482894 (F)* avec la (M^{pr^o}) a révélé la formation de trois liaisons hydrogènes entre la partie carboxylique et amide avec les résidus *THR-45*, *GLY-143*, *CYS-145*, tandis que l'autre résidu clé *HIS-41* forme trois liaisons hydrophobes de type Pi-Cation et Pi-Alkyl avec le noyau bicyclique. De la même manière les deux résidus *LEU-27* et *MET-49* forment des liaisons Pi-Alkyl avec le cycle benzène qui porte le groupement carboxylique du ligand (*Figure_34*).

Le profil d'interaction de la molécule *AMB17991925 (G)* montre la formation de trois liaisons hydrogènes entre le groupement alcool et carboxylique avec les résidus *THR-24*, *THR-25* et *THR-26*. Les autres résidus *HIS-41*, *CYS-44* et *MET-49* forment des liaisons hydrophobes de type Pi-Alkyl et PI-Pi-Stacked avec le double cycle naphthalène. À l'extrémité le résidu *MET-165* forme une liaison Alkyl avec le bras acyclique du cycle naphthalène (*Figure_34*).



Figure_34 : Résumé du profil interactions des molécules AMB18482894 (F) et AMB17991925 (G) (Discovery Studio).

Concernant le ligand [AMB22366827 \(H\)](#), il établit cinq liaisons de type hydrogènes : quatre liaisons entre les résidus *THR-26*, *ASN-142*, *GLY-143*, *GLU-166* et *ASP-187* et les groupements hydroxyles des deux cycles aux extrémités de la molécule, la cinquième liaison entre le cétone du groupement bicyclique et le résidu *GLU-166*. Les autres résidus *HIS-41* et *MET-49* forment des liaisons hydrophobes de type Pi-Pi-Stacked, Pi-Cation et Pi-Alkyl avec les cycles aromatiques. De plus, on constate la formation de certaines liaisons faibles de type Carbon-Hydrogen bond avec les résidus *CYS-145* et *MET-165* (*Figure_35*).

Le profil d'interaction de la molécule [AMB18481507 \(I\)](#) montre la formation de quatre liaisons hydrogènes : deux liaisons entre les atomes d'oxygènes du groupement polycyclique et les résidus *CYS-145* et *HIS-163*, la troisième et la quatrième liaisons sont formées entre le groupement cétone, l'hydroxyle de la tyrosine et les résidus *HIS-41* et *ASP-187*. Tandis que les résidus *CYS-44*, *MET-49* et *HIS-172* forment des liaisons hydrophobes de type Pi-Sulfur, Pi-Sigma et Pi-Alkyl avec les résidus *CYS-44*, *MET-49* et *HIS-172*. Ainsi que, le résidu *GLY-143* forme deux liaisons faibles de type Pi-donor hydrogen bond avec le groupement polycyclique de la molécule (*Figure_35*).

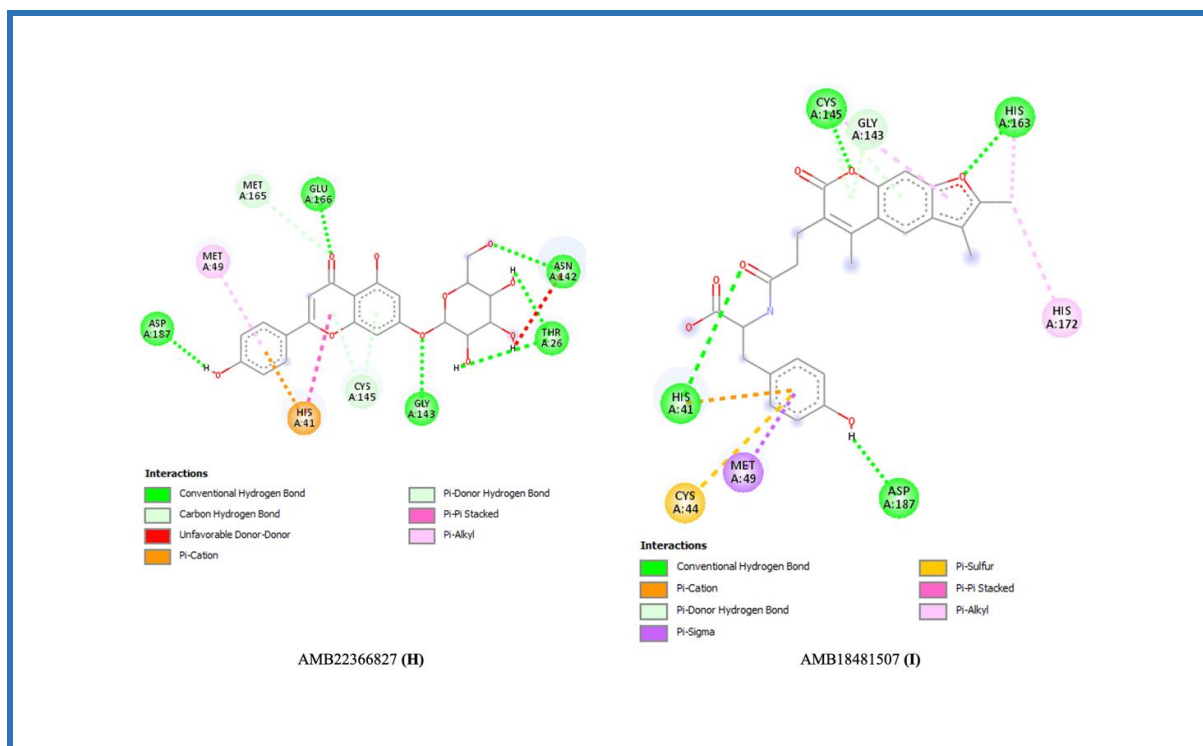


Figure 35 : Résumé du profil interactions des molécules AMB22366827 (H) et AMB18481507 (I) (Discovery Studio).

Sélection finale :

Cette sélection a pour objectif de trouver les molécules à visée thérapeutique qui présentent un mode d'interaction similaire au Masitinib (ligand de référence dans cette étude), ainsi qu'un profil pharmacologique satisfaisant. En se basant sur des critères bien déterminés à savoir : l'énergie de liaison (affinité), le Profil ADMET, la superposition des ligands avec la référence et les profils d'interactions associées à ces biomolécules étudiées. Il apparaît que les composés *AMB1953578 (A)*, *AMB29566134 (C)* et *AMB18482225 (D)* représentent des candidats promoteurs pour de potentielles études in vivo.

II. Discussion Générale

Une course contre la montre est actuellement en cours pour développer des antiviraux sûrs et efficaces contre le SRAS-CoV-2. La réorientation des médicaments et le dépistage virtuel sont deux stratégies simples lorsque le temps est un facteur critique, comme dans cette pandémie de COVID-19.

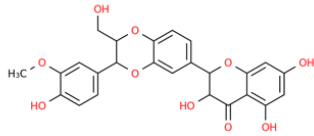
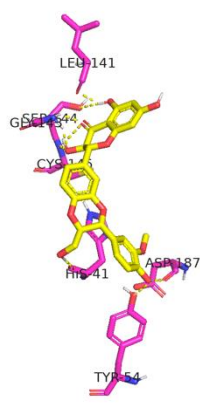
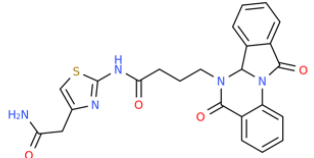
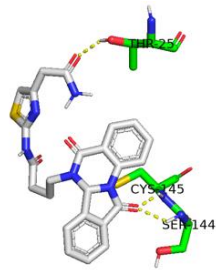
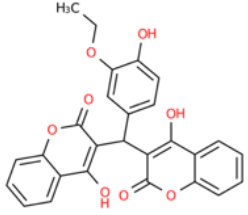
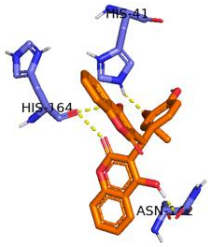
Ce travail avait un objectif de cribler la chimiothèque des produits naturels (Ambinter SARL by Greenpharma) à l'aide du Screening virtuel et le docking moléculaire, dans le but de diriger la conception rationnelle de nouveaux inhibiteurs sélectifs pour la protéase principale du SARS-CoV-2 (M^{Pro}) et de trouver des alternatifs, naturels ou semi-synthétiques, qui se positionnent de la même manière dans le site de fixation que le (*Masitinib*) en interagissant avec les mêmes acides aminés identifiés.

Lors de l'analyse des résultats d'amarrage moléculaire, la plupart des molécules interagissent avec les acides aminés impliqués dans l'activité catalytique, à savoir *HIS-41*, *CYS-145* et *HIS-163* et *HIS-164*. L'interaction hydrophobe du résidu *CYS-145* s'est avérée la plus favorable. De plus, la plupart des composés sélectionnés ont une affinité significative de liaison avec la protéase principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2 en comparaison avec notre inhibiteur non covalent de référence (*Masitinib*). Les meilleurs profils d'interactions avec les énergies sont observées chez les trois molécules : *AMB1953578 (A)*, *AMB29566134 (C)* et *AMB18482225 (D)*. Ces molécules pourraient avoir plus de potentiel pour l'inhibition de la (M^{Pro}) SARS-CoV-2 (*Tableau_IV*).

Les molécules sélectionnées pour les études d'amarrage moléculaire, qui appartiennent aux classes des flavonoïdes et les coumarines présentent les meilleurs scores énergétiques en comparaison avec les autres familles de composés phytochimiques. Cette grande affinité semblait en adéquation avec les résultats rapportés dans la littérature.

Jusqu'à présent, les études in silico des deux classes des flavonoïdes et coumarines présentent un potentiel d'inhibition majeur contre : la méthyltransférase virale (*complexe NSPs 16/10*), le domaine de liaison de reconnaissance virale (*RBD*) de la protéine S, et l'enzyme de conversion de l'angiotensine humaine 2 (*ACE2*).

Tableau_IV : Nomenclature des molécules proposées comme inhibiteurs potentiels contre la (M^{Pro}) du SARS-CoV-2.

AMBINTER ID	Structure 2D	Interactions_PyMOL	Classe
AMB1953578 (A)			Flavonolignanes
AMB29566134 (C)			Diazanaphthalènes
AMB18482225 (D)			Coumarines

Le composé **AMB1953578 (A)** : La silibinine, aussi connue sous le nom de silybine, est le principal constituant actif de la silymarine, un mélange de flavonolignanes extraits du chardon-Marie (*Silybum marianum*). Il est utilisé dans le traitement et la prévention des maladies du foie grâce à ses propriétés anti-hépatotoxiques. Un essai clinique multicentrique randomisé, ouvert et de phase II (*PMID*: 32517353) évaluera l'efficacité thérapeutique de la silibinine dans la prévention du syndrome de détresse respiratoire aiguë chez les patients onco-hématologiques positifs au COVID-19 modérés à sévères au Catalan Institut d'oncologie de Catalogne, Espagne.

La double capacité de la silibinine à cibler à la fois la tempête de cytokines hôtes et la machinerie de réplication du virus. À côté de la double capacité de la silibinine à cibler à la fois les cytokines hôtes et la machinerie de réplication du virus mentionnée dans cet essai, il est bien démontré aussi dans notre étude la capacité de la silibinine d'inhiber efficacement la protéase principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2. Ces résultats fournissent une justification solide pour les tests cliniques de la silibinine de cette urgence de la santé publique mondiale contre la nouvelle pandémie COVID-19.

Le composé [AMB29566134 \(C\)](#) : N-[4-(carbamoylméthyl)-1,3-thiazol-2-yl]-4-{5,11-dioxo-5H,6H,6aH,11H-isoindolo[2,1-a]quinazolin-6-yl}butanamide, appartient à la classe des alcaloïdes indoloquinazolines des Diazanaphthalènes. Les alcaloïdes contiennent des atomes d'azote dans un état d'oxydation négatif au niveau de leurs structures, ceci est responsable de leurs propriétés alcalines associées à des effets thérapeutiques.

Le composé [AMB18482225 \(D\)](#) : 3-[(3-ethoxy-4-hydroxyphenyl)(4-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)méthyl]-4-hydroxy-2H-chromen-2-one, appartient à la classe des coumarines et plus précisément aux hydroxy-pyranocoumarines composés hétérocycliques naturels, dérivés de la lactone. Les coumarines se caractérisent par le fait qu'elles sont des composés largement distribués, stables et solubles, avec la possibilité d'une modification chimique pour produire de nouveaux dérivés semi-synthétiques, et elles ont suscité un grand intérêt dans le domaine de la chimie médicinale. Les coumarines ont reçu une attention considérable en tant que candidats les plus prometteurs pour les médicaments antiviraux, jouant un rôle dans le ciblage de diverses voies cellulaires qui inhibent la croissance et la réplication des virus.

Concernant, le ligand de référence (*Masitinib*). Les efforts futurs devraient évaluer l'efficacité du Masitinib dans le traitement des patients atteints de COVID-19. Bien qu'un essai clinique de phase 2 ait été enregistré auprès de ClinicalTrials.gov (Identifiant : *NCT04622865*) pour tester l'effet d'un traitement combiné de Masitinib et d'Isoquercétine sur des patients hospitalisés. De plus, le développement futur d'analogues du Masitinib avec une activité anti-tyrosine kinase plus faible serait bénéfique pour réduire ses effets secondaires rapportés. Le Masitinib est également intéressant car il est puissant contre plusieurs corona et picornavirus in vitro et peut avoir un potentiel pour le traitement d'autres maladies virales.

Conclusion et Perspectives

Le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) a causé une perte colossale pour la santé et les vies humaines et a profondément impacté la croissance socio-économique. Des efforts remarquables ont été déployés par la communauté scientifique pour contenir le virus grâce au développement réussi des vaccins et des kits de diagnostic. Des initiatives de réorientation et de découverte des médicaments ont également été entreprises.

Plusieurs médicaments tels que le remdesivir, le molnupiravir et le paxlovid ont été inclus dans le schéma thérapeutique et ont montré des résultats efficaces dans plusieurs cas. Cependant, pour atténuer la crise actuelle et se préparer aux futures pandémies, il existe un besoin continu d'explorer la diversité des composés naturels pour leur activité antivirale.

Dans cette étude, nous avons extrait les informations disponibles dans la littérature sur le type d'interactions que les composés naturels antiviraux possèdent, afin d'évaluer le potentiel d'interaction et d'inhibition des trois composés sélectionnés lors du criblage virtuel *AMB1953578 (A)*, *AMB29566134 (C)* et *AMB18482225 (D)*, et qui pourraient avoir plus de potentiel pour l'inhibition de la (M^{pro}) du virus SARS-CoV-2. De plus, nous avons identifié les résidus « clés » (*HIS-41* et *CYS-145*) nécessaires afin d'avoir une inhibition optimale ainsi que les résidus (*HIS-163* et *HIS-164*) qui pourraient jouer un rôle important dans le mécanisme de sélectivité contre la (M^{pro}) du SARS-CoV-2, et qui pourraient considérer comme des points pharmacophoriques potentiels.

Sur la base de ces résultats encourageants, nous pensons que ces composés pourraient être testés expérimentalement pour leur effet inhibiteur sur le virus SARS-CoV-2 (M^{pro}) pour leurs perspectives dans la découverte de médicaments antiviraux.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] : WHO Solidarity Trial Consortium, N. Engl. J. Med. 2021, 384, 497–511
- [2] : Zhu N, et al. A Novel Coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N. Engl. J. Med. 2020;382:727–733.
- [3] : Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. JAMA. 2020;323:1239–1242.
- [4] : Accueil de l'organisation Merck Recherche. Développement. Production Pharmaceutiques.
- [5] : Wu C., Liu Y., Yang Y., Zhang P., Zhong W., Wang Y., Wang Q., Xu Y., Li M., Li X., Zheng M., Chen L., Li H. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. Acta Pharm. Sin. B. 2020 doi: 10.1016/j.apsb.2020.02.008.
- [6] : Irwin Jungreis. Conflicting and ambiguous names of overlapping ORFs in the SARS-CoV-2 genome: A homology-based resolution, Virology, 202.
- [7] : D. Wrapp, N. Wang, K.S. Corbett, J.A. Goldsmith, C.L. Hsieh, O. Abiona, B.S. Graham, J.S. McLellan, Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation, Science (80-). 367 (2020) 1260–1263. doi:10.1126/science.aax0902.
- [8] : Xia S., Zhu Y., Liu M., Lan Q., Xu W., Wu Y., Ying T., Liu S., Shi Z., Jiang S., Lu L. Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. Cell. Mol. Immunol. 2020:1–3. doi: 10.1038/s41423-020-0374-2.
- [9] : Zhang H., Penninger J.M., Li Y., Zhong N., Slutsky A.S. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. Intensive Care Med. 2020;2 doi: 10.1007/s00134-020-05985-9.
- [10] : Matsuyama S., Nagata N., Shirato K., Kawase M., Takeda M., Taguchi F. Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2. J. Virol. 2010;84:12658–12664. doi: 10.1128/jvi.01542-10.
- [11] : Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.-H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Cell. 2020:1–10. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- [12] : D. Bestle, M.R. Heindl, H. Limburg, T.V.L. Van, O. Pilgram, H. Moulton, D.A. Stein, K. Hards, M. Eickmann, O. Dolnik, C. Rohde, S. Becker, H.-D. Klenk, W. Garten, T. Steinmetzer, E. Böttcher-Friebertshäuser, TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation and spread of SARS-CoV-2 in human airway epithelial cells and provide promising drug targets, BioRxiv. (2020) 2020.04.15.042085. doi:10.1101/2020.04.15.042085.
- [13] : Simmons G., Zmora P., Gierer S., Heurich A., Pöhlmann S. Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: Cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. Antiviral Res. 2013;100:605–614. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.09.028.
- [14] : Subissi L., Posthuma C.C., Collet A., Zevenhoven-Dobbe J.C., Gorbalenya A.E., Decroly E., Snijder E.J., Canard B., Imbert I. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014;111:E3900–E3909. doi: 10.1073/pnas.1323705111.

- [15] : Morse J.S., Lalonde T., Xu S., Liu W.R. Learning from the past: possible urgent prevention and treatment options for severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV. *ChemBioChem*. 2020;21:730–738. doi: 10.1002/cbic.202000047.
- [16] : Chen X., Yang X., Zheng Y., Yang Y., Xing Y., Chen Z. SARS coronavirus papain-like protease inhibits the type I interferon signaling pathway through interaction with the STING-TRAF3-TBK1 complex. *Protein Cell*. 2014;5:369–381. doi: 10.1007/s13238-014-0026-3.
- [17] : Jin Z., Du X., Xu Y., Deng Y., Liu M., Zhao Y., Zhang B., Li X., Zhang L., Peng C., Duan Y., Yu J., Wang L., Yang K., Liu F., Jiang R., Yang X., You T., Liu X., Yang X., Bai F., Liu H., Liu X., Guddat L.W., Xu W., Xiao G., Qin C., Shi Z., Jiang H., Rao Z., Yang H. Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *Nature*. 2020 doi: 10.1038/s41586-020-2223y.
- [18] : Shereen MA, Khan S., Kazmi A., Bashir N., Siddique R. Infection au COVID-19 : Origine, transmission et caractéristiques des coronavirus humains. *J. Adv. Rés.* 2020 ; 24 :91–98. doi : 10.1016/j.jare.2020.03.005.
- [19] : Siegel D, Hui HC, Doerffler E, Clarke MO, Chun K, Zhang L, Neville S, Carra E, Lew W, Ross B, Wang Q, Wolfe L, Jordan R, Soloveva V, Knox J, Perry J, Perron M, Stray KM, Barauskas O, Feng JY, Xu Y, Lee G, Rheingold AL, Ray AS, Bannister R, Strickley R, Swaminathan S, Lee WA, Bavari S, Cihlar T, Lo MK, Warren TK, Mackman RL. 2017. Discovery and synthesis of a phosphoramidate prodrug of a pyrrolo[2,1-f][triazin-4-amino] adenine C-nucleoside (GS-5734) for the treatment of Ebola and emerging viruses. *J Med Chem* 60:1648–1661. 10.1021/acs.jmedchem.6b01594.
- [20] : Sheahan TP, Sims AC, Graham RL, Menachery VD, Gralinski LE, Case JB, Leist SR, Pirc K, Feng JY, Trantcheva I, Bannister R, Park Y, Babusis D, Clarke MO, Mackman RL, Spahn JE, Palmiotti CA, Siegel D, Ray AS, Cihlar T, Jordan R, Denison MR, Baric RS. 2017. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci Transl Med* 9:eal3653. 10.1126/scitranslmed.aal3653.
- [21] : Sheahan TP, Sims AC, Zhou S, Graham RL, Pruijssers AJ, Agostini ML, Leist SR, Schäfer A, Dinnon KH, Stevens LJ, Chappell JD, Lu X, Hughes TM, George AS, Hill CS, Montgomery SA, Brown AJ, Bluemling GR, Natchus MG, Saindane M, Kolykhalov AA, Painter G, Harcourt J, Tamin A, Thornburg NJ, Swanstrom R, Denison MR, Baric RS. 2020. An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 in human airway epithelial cell cultures and multiple coronaviruses in mice. *Sci Transl Med* 12:eabb5883. 10.1126/scitranslmed.abb5883.
- [22] : Hoffman RL, Kania RS, Brothers MA, Davies JF, Ferre RA, Gajiwala KS, He M, Hogan RJ, Kozminski K, Li LY, Lockner JW, Lou J, Marra MT, Mitchell LJ, Murray BW, Nieman JA, Noell S, Planken SP, Rowe T, Ryan K, Smith GJ, Solowiej JE, Stepan CM, Taggart B. 2020. Discovery of ketone-based covalent inhibitors of coronavirus 3CL proteases for the potential therapeutic treatment of COVID-19. *J Med Chem* 63:12725–12747. 10.1021/acs.jmedchem.0c01063.
- [23] : Luo Y., Yu F., Zhou M., Liu Y., Xia B., Zhang X., Liu J., Zhang J., Du Y., Li R., et al., *mBio* 2021,12,1–14.
- [24] : Swaan PW, Ekins S. Reengineering the pharmaceutical industry by crash-testing molecules. *Drug Disc Today*. 2005;10:1191–1200.
- [25] : Drayman N., Jones K. A., Azizi S.-A., Froggatt H. M., Tan K., Maltseva N. I., Chen S., Nicolaescu V., Dvorkin S., Furlong K., et al., *bioRxiv Prepr. Serv. Biol.* 2020, 1–32.

WEBOGRAPHIE

(<https://covid19.who.int/>). (Date de visite : 20 / 9 / 2022)

(<https://www.ambinter.com/>). (Date de visite : 15 / 7 / 2022)

(https://www.sigmaaldrich.com/MA/fr/technicaldocuments/protocol/researchanddiseaseareas/immunologyresearch/ncovcoronavirusproteins?gclid=CjwKCAjw6fyXBhBgEiwAhhiZsipaquJr6NvJq33sITAJbPu6Q6mFGKJTifwbper0AYJHQ65oC8ngRoCdckQAvD_BwE). (Date de visite : 20 / 5 / 2022)

(https://fr.wikipedia.org/wiki/Mod%C3%A9lisation_mol%C3%A9culaire). (Date de visite : 23 / 4 / 2022)

(https://en.wikipedia.org/wiki/Virtual_screening). (Date de visite : 23 / 4 / 2022)

([https://en.wikipedia.org/wiki/Docking_\(molecular\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Docking_(molecular))). (Date de visite : 23 / 4 / 2022)

(<https://www.azolifesciences.com/article/What-is-Lipinkis-Rule-of-5.aspx>). (Date de visite 20 / 10 / 2022)

(<https://www.rcsb.org/pages/about-us/index>). (Date de visite : 25 / 5 / 2022)

(<https://www.rcsb.org/>). (Date. De visite : 27 / 5 / 2022)

(<https://en.wikipedia.org/wiki/PubChem>). (Date de visite : 27 / 5 / 2022)

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). (Date de visite : 10 / 8 / 2022)

(<https://www.ambinter.com/qui-sommes-nous>). (Date de visite : 19 / 8 / 2022)

(<https://coconut.naturalproducts.net/>). (Date de visite : 19 / 8 / 2022)

(<http://www.swissadme.ch>). (Date de visite : 10 / 8 / 2022)

(<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsml>). (Date de visite : 10 / 8 / 2022)

(<https://sourceforge.net/projects/avogadro/files/latest/download>). (Date de visite : 20 / 3 / 2022)

(<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>). (Date de visite : 20 / 3 / 2022)

(<https://pyrx.sourceforge.io/>). (Date de visite : 8 / 7 / 2022)

(<https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>). (Date de visite : 20 / 3 / 2022)

(<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>). (Date de visite : 20 / 3 / 2022)

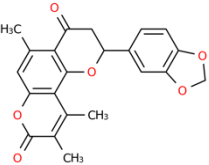
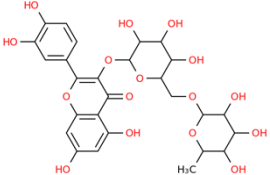
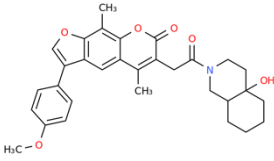
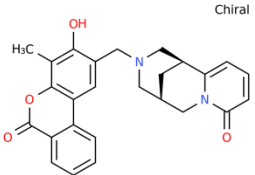
(<https://en.wikipedia.org/wiki/PyMOL>). (Date de visite : 19 / 8 / 2022)

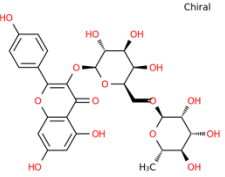
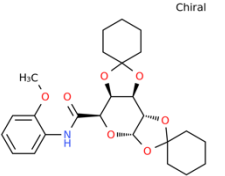
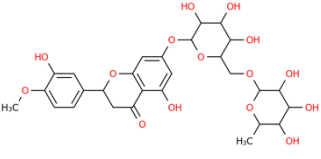
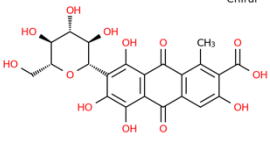
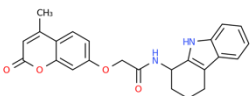
(<https://pymol.org/2/>). (Date de visite : 20 / 3 / 2022)

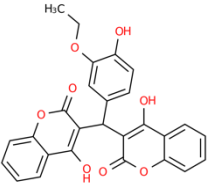
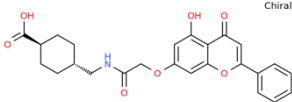
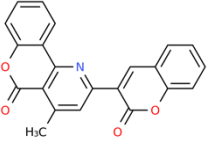
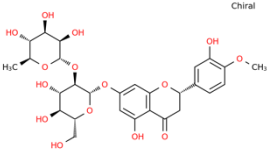
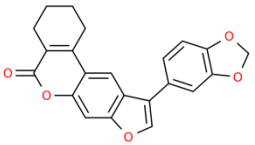
(https://www.ebi.ac.uk/thorntonsrv/databases/cgibin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=7ju7&template=procheck_summary.html). (Date de visite : 8 / 7 / 2022)

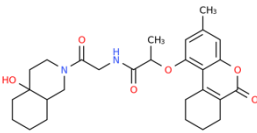
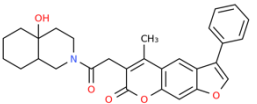
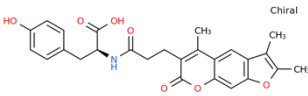
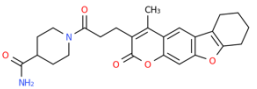
ANNEXE_I

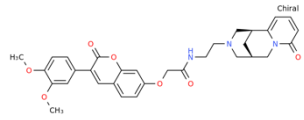
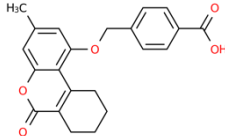
Tableau_V : La Nomenclature avec la classe des 20 premières molécules après Screening virtuel.

ID	AMBINTER ID	Binding Affinity (Kcal/mol)	Structure 2D	Name of Compound	Class
1	AMB18480006	-9.5		2-(2H-1,3-benzodioxol-5-yl)-5,9,10-trimethyl-2H,3H,4H,8H-pyrano[2,3-f]chromene-4,8-dione	Flavonoïdes
2	AMB19133854	-9.3		Rutin 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-[[[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]methyl]oxan-2-yl)oxy]-4H-chromen-4-one	Flavonoïdes
3	AMB17976019	-9.1		6-[2-(4a-hydroxy-decahydroisoquinolin-2-yl)-2-oxoethyl]-3-(4-methoxyphenyl)-5,9-dimethyl-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one	Benzofuranes
4	AMB28523762	-9.0		11-({3-hydroxy-4-methyl-6-oxo-6H-benzo[c]chromen-2-yl}methyl)-7,11-diazatricyclo[7.3.1.0 ^{2,7}]trideca-2,4-dien-6-one	Alcaloïdes de Lupin

5	AMB33724222	-9.0		<p>Nicotiflorin</p> <p>5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]methyl)oxan-2-yl)oxy]-4H-chromen-4-one</p>	Flavonoïdes
7	AMB18003733	-8.9		<p>N-(2-methoxyphenyl)dispiro[cyclohexane-1,4'-[3,5,7,10,12]pentaoxatricyclo[7.3.0.0^{2,6}]dodecane-11',1''-cyclohexane]-8'-carboxamide</p>	Dioxolopyranes
8	AMB2715418	-8.9		<p>Ciratin</p> <p>5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-7-[(3,4,5-trihydroxy-6-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]methyl)oxan-2-yl)oxy]-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-4-one</p>	Flavonoïdes
9	AMB16192674	-8.8		<p>3,5,6,8-tetrahydroxy-1-methyl-9,10-dioxo-7-[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]-9,10-dihydroanthracene-2-carboxylic acid</p>	Anthracènes
10	AMB22503567	-8.8		<p>2-[(4-methyl-2-oxo-2H-chromen-7-yl)oxy]-N-(2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-yl)acetamide</p>	Indoles et Dérivés

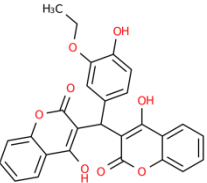
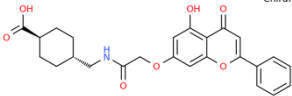
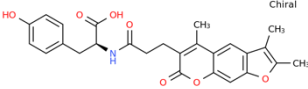
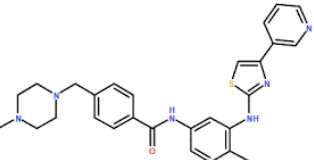
11	AMB18482225	-8.7		3-[(3-ethoxy-4-hydroxyphenyl)(4-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)methyl]-4-hydroxy-2H-chromen-2-one	Coumarines et Dérivés
12	AMB18482894	-8.7		4-({2-[(5-hydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-chromen-7-yl)oxy]acetamido}methyl)cyclohexane-1-carboxylic acid	Flavonoïdes
13	AMB18524209	-8.7		4-methyl-2-(2-oxo-2H-chromen-3-yl)-5H-chromeno[4,3-b]pyridin-5-one	Benzopyranes
14	AMB22349910	-8.7		Neohesperidin 7-[[4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy]oxan-2-yl]oxy]-5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-4-one	Flavonoïdes
15	AMB17974855	-8.6		15-(2H-1,3-benzodioxol-5-yl)-9,13-dioxatetracyclo[8.7.0.0 ^{2,7} .0 ^{12,16}]heptadeca-1(17),2(7),10,12(16),14-pentaen-8-one	Coumarines et Dérivés

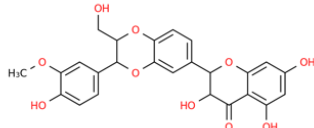
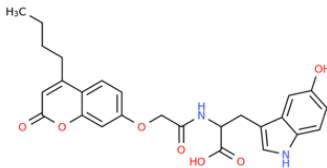
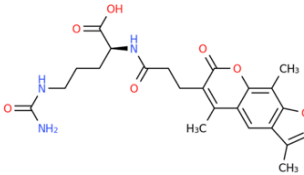
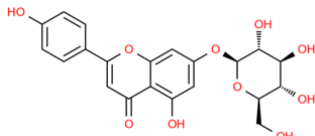
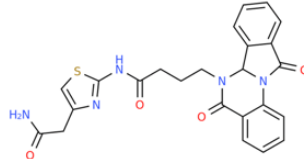
16	AMB18479147	-8.6		N-[2-(4a-hydroxy-decahydroisoquinolin-2-yl)-2-oxoethyl]-2-({3-methyl-6-oxo-6H,7H,8H,9H,10H-cyclohexa[c]chromen-1-yl}oxy)propanamide	Acides Carboxyliques et Dérivés
17	AMB18479167	-8.6		6-[2-(4a-hydroxy-decahydroisoquinolin-2-yl)-2-oxoethyl]-5-methyl-3-phenyl-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one	Benzofuranes
18	AMB18481507	-8.6		3-(4-hydroxyphenyl)-2-(3-(2,3,5-trimethyl-7-oxo-7H-furo[3,2-g]chromen-6-yl)propanamido)propanoic acid	Acides Carboxyliques et Dérivés
19	AMB18481150	-8.5		-(3-(7-methyl-5-oxo-4,17-dioxatetracyclo[8.7.0.0 ³ , ⁸ .0 ¹¹ , ¹⁶]heptadeca-1,3(8),6,9,11(16)-pentaen-6-yl)propanoyl)piperidine-4-carboxamide	Coumarines et Dérivés

21	AMB28524537	-8,5		<p>2-[[3-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-oxo-2H-chromen-7-yl]oxy]-N-(2-{6-oxo-7,11-diazatricyclo[7.3.1.0²,⁷]trideca-2,4-dien-11-yl}ethyl)acetamide</p> <p>Isoflavonoïdes</p>
22	AMB18008030	.8,4		<p>4-[(3-methyl-6-oxo-6H,7H,8H,9H,10H-cyclohexa[c]chromen-1-yl)oxy)methyl]benzoic acid</p> <p>Coumarines et Dérivés</p>

ANNEXE II

Tableau_VI : La Nomenclature avec la classe des neufs molécules sélectionnées pour le Re-Docking moléculaire.

AMBINTER ID	Binding Affinity (Kcal/mol)	Structure 2D	Name of Compound	Class
AMB18482225 (D)	-8.7		3-[(3-ethoxy-4-hydroxyphenyl)(4-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)methyl]-4-hydroxy-2H-chromen-2-one	Coumarines et Dérivés
AMB18482894 (F)	-8.7		4-({2-[(5-hydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-chromen-7-yl)oxy]acetamido}methyl)cyclohexane-1-carboxylic acid	Flavonoïdes
AMB18481507 (I)	-8.6		3-(4-hydroxyphenyl)-2-(3-{2,3,5-trimethyl-7-oxo-7H-furo[3,2-g]chromen-6-yl}propanamido)propanoic acid	Acides Carboxyliques et Dérivés
PubChem CID 10074640 (B)	-8,3		Masitinib	---

AMB1953578 (A)	-8,2		3,5,7-trihydroxy-2-[3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl]-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-4-one	Flavonolignanes
AMB17991925 (G)	-8,0		2-{2-[(4-butyl-2-oxo-2H-chromen-7-yl)oxy]acetamido}-3-(5-hydroxy-1H-indol-3-yl)propanoic acid	Indoles et Dérivés
AMB18481638 (E)	-8,0		5-(carbamoylamino)-2-(3-{3,5,9-trimethyl-7-oxo-7H-furo[3,2-g]chromen-6-yl}propanamido)pentanoic acid	Coumarines et Dérivés
AMB22366827 (H)	-8,0		5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-{[3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy}-4H-chromen-4-one	Flavonoïdes
AMB29566134 (C)	-8,0		N-[4-(carbamoylmethyl)-1,3-thiazol-2-yl]-4-{5,11-dioxo-5H,6H,6aH,11H-isoindolo[2,1-a]quinazolin-6-yl}butanamide	Diazanaphtalènes

ANNEXE III

Tableau_VII : Résumé du profil Lipinski des molécules étudiées (*pkCSM pharmacokinetics*).

AMBINTER ID	M_W	Log P	R_B	H_A	H_D	Lipinski_V
	<i>< 500</i>	<i>< = 5</i>	<i>< = 10</i>	<i>< 10</i>	<i>< 5</i>	<i>< = 1</i>
PubChem CID 10074640	498.656	5,257	7	7	2	0
AMB18480006	378.38	4,153	1	6	0	0
AMB17976019	515.606	5,528	4	6	1	1
AMB28523762	428.488	3,741	2	6	1	0
AMB18003733	459.539	0,388	3	7	1	0
AMB22503567	402.45	4,155	4	4	2	0
AMB18482225	472.449	0,460	5	8	3	0
AMB18482894	451.475	0,355	7	6	3	0
AMB18524209	355.349	4,423	1	5	0	0
AMB17974855	360.365	0,481	1	5	0	0
AMB18479147	496.604	3,017	5	6	2	0
AMB18479167	445.515	4,497	3	5	1	0
AMB18481507	463.486	3,915	7	6	3	0
AMB18481150	436.508	3,383	4	5	1	0
AMB18483067	444.487	4,866	4	5	2	0
AMB28524537	571.63	0,325	9	9	1	1
AMB18008030	364.397	4,257	4	4	1	0
AMB18481869	356.333	0,443	1	5	1	0
AMB19811944	493.567	3,352	8	7	2	0
AMB21666987	392.846	0,312	2	4	1	0
AMB6601043	400.482	0,357	4	2	2	0
AMB18482979	404.422	3,463	2	7	2	0
AMB18482980	434.492	4,142	4	7	2	0
AMB24050912	475.545	4,302	5	7	0	0
AMB28522981	468.553	4,179	4	6	1	0
AMB28523976	474.645	5,403	6	5	1	0
AMB6600914	374.444	0,282	2	2	2	0
AMB18481874	454.434	0,049	5	7	0	0
AMB1953578	482.441	0,236	4	10	5	0

AMB19811943	493.567	3,871	7	7	2	0
AMB19934712	493.567	3,352	8	7	2	0
AMB19946745	417.461	0,450	3	6	1	0
AMB21920592	362.385	3,909	4	4	2	0
AMB21921545	417.509	0,412	7	4	2	0
AMB22744199	399.406	0,315	3	4	2	0
AMB22902095	427.589	0,290	7	3	2	0
AMB17974815	342.35	0,054	2	4	0	0
AMB17976307	417.461	0,450	3	6	1	0
AMB17976412	442.468	2,430	8	6	3	0
AMB17991925	478.501	0,351	10	6	4	0
AMB18004948	417.461	0,044	5	6	0	0
AMB18475611	378.38	4,459	4	5	1	0
AMB18479002	373.405	2,337	5	5	2	0
AMB18481208	425.481	3,884	6	5	2	0
AMB18481259	451.475	3,526	6	6	2	0
AMB18481638	457.483	2,415	9	6	4	0
AMB19133888	482.441	0,236	4	10	5	0
AMB22012442	471.553	4,973	6	6	1	0
AMB22366827	432.381	0,000	4	10	6	1
AMB22800233	482.441	0,236	4	10	5	0
AMB29566134	475.53	0,270	7	6	2	0
AMB6601274	414.509	0,396	5	2	2	0
AMB28523480	502.998	4,832	4	6	1	1

M_W : Poids moléculaire (g/mol) ; *Log P* : Lipophilicité ; *R_B* : Nombre de liaisons rotatoires *H_A* : Nombre d'accepteurs des liaisons Hydrogènes ; *H_D* : Nombre de donneurs de liaisons Hydrogènes ; *Lipinski_V* : Nombre de Violations.

ANNEXE_IV

Tableau_VIII : Les propriétés pharmacocinétiques (ADMET) des molécules étudiées (*pkCSM pharmacokinetics*) et (*SwissADME*).

ID	AMBINTER ID	Absorption		Distribution	Métabolisme	Excrétion	Toxicité				
		Log S (Mol/L)	(IAH)	Caco2 permeability	BBB permeability	CYP2D6 inhibitor	CL	hERG I inhibitor	AMES toxicity	Hepatotoxicity	Carcinogenicity
		<i>[-4, 0.5]</i>	<i>> 30 %</i>	<i>> 0.90</i>	<i>< -1</i>	<i>(NO)</i>	<i>>= 5</i>	<i>(NO)</i>	<i>(NO)</i>	<i>(NO)</i>	<i>[0, 0.7]</i>
33	PubChem CID 10074640	-3.149	91.71	1.009	-1.344	No	7.982	No	No	Yes	0.051
1	AMB18480006	-4.327	99.301	1.217	-0.586	No	8.892	No	No	No	0.912
3	AMB17976019	-5.284	100	0.619	-0.628	No	9.525	No	Yes	Yes	0.256
4	AMB28523762	-3.816	97.311	1.037	0.252	No	5.329	No	No	Yes	0.914
7	AMB18003733	-4.155	93.389	1.515	-0.744	No	13.489	No	No	No	0.086
10	AMB22503567	-4.69	93.31	0.764	-0.08	No	4.568	No	No	Yes	0.901
11	AMB18482225	-3.059	93.907	-0.042	-1.122	No	0.635	No	No	Yes	0.147
12	AMB18482894	-4.964	69.246	0.473	-1.174	No	1.356	No	No	No	0.317
13	AMB18524209	-4.16	98.584	1.158	-0.522	No	1.476	No	No	Yes	0.644
15	AMB17974855	-6.017	96.856	0.969	0.009	No	7.786	No	Yes	Yes	0.768
16	AMB18479147	-4.487	81.354	0.834	-0.64	No	2.782	No	No	Yes	0.027
17	AMB18479167	-4.641	94.67	0.804	-0.394	No	8.055	No	No	Yes	0.147
18	AMB18481507	-3.397	62.236	0.117	-1.015	No	1.586	No	No	No	0.175
19	AMB18481150	-4.751	95.921	0.695	-0.609	No	2.666	No	Yes	Yes	0.099
20	AMB18483067	-4.75	99.693	0.217	-0.182	No	1.225	No	Yes	Yes	0.087
21	AMB28524537	-4.586	97.321	0.495	-1.336	No	6.347	No	No	Yes	0.748
22	AMB18008030	-3.494	100	1.171	-0.353	No	0.99	No	No	No	0.288
23	AMB18481869	-6.605	96.649	0.463	-0.544	No	4.301	No	Yes	Yes	0.781

24	AMB19811944	-4.445	85.624	0.928	-0.381	No	7.051	No	Yes	Yes	0.918
25	AMB21666987	-4.179	95.13	0.97	-0.465	No	4.432	No	No	Yes	0.46
26	AMB6601043	-3.655	89.631	0.869	-0.73	No	4.323	No	No	Yes	0.135
27	AMB18482979	-4.059	100	1.103	-0.159	No	1.368	No	Yes	Yes	0.945
28	AMB18482980	-4.67	98.335	0.765	-0.128	No	1.513	No	No	Yes	0.246
29	AMB24050912	-3.122	92.942	1.364	-0.93	No	6.365	No	No	Yes	0.853
30	AMB28522981	-4.044	95.895	0.925	0.176	Yes	7.679	No	Yes	Yes	0.829
31	AMB28523976	-4.728	93.85	1.151	-0.179	Yes	11.059	No	No	Yes	0.166
32	AMB6600914	-3.986	93.554	0.978	-0.595	No	3.681	No	No	Yes	0.024
35	AMB18481874	-3.858	100	0.603	-1.051	No	4.323	No	No	Yes	0.758
36	AMB1953578	-3.978	66.913	0.25	-1.332	No	5.144	No	No	No	0.334
39	AMB19811943	-4.269	87.907	1.045	-0.337	No	4.226	No	No	Yes	0.904
40	AMB19934712	-3.884	86.708	1.221	-0.369	No	7.051	No	No	Yes	0.918
41	AMB19946745	-4.024	96.579	0.973	-0.119	No	7.791	No	Yes	Yes	0.497
42	AMB21920592	-4.131	93.184	0.949	-0.272	No	10.961	No	No	Yes	0.843
43	AMB21921545	-4.621	93.454	1.255	-0.013	No	6.002	No	No	Yes	0.53
44	AMB22744199	-4.497	90.523	0.988	-0.793	No	1.315	No	No	Yes	0.03
45	AMB22902095	-4.949	79.08	0.763	-0.309	No	4.048	No	No	Yes	0.042
47	AMB17974815	-5.337	98.3	1.055	0.115	No	4.655	No	Yes	Yes	0.642
48	AMB17976307	-3.994	96.817	0.967	-0.119	No	8.452	No	Yes	Yes	0.599
49	AMB17976412	-3.441	49.575	-0.247	-1.367	No	1.255	No	No	Yes	0.071
50	AMB17991925	-2.914	58.96	-0.614	-1.314	No	5.481	No	No	Yes	0.307
51	AMB18004948	-4.613	94.702	0.929	-0.157	No	11.255	Yes	Yes	Yes	0.604
52	AMB18475611	-4.112	97.543	0.857	-0.673	No	3.25	No	No	No	0.323
53	AMB18479002	-3.673	58.058	1.115	-0.414	No	1.274	No	No	Yes	0.029

55	AMB18481208	-3.894	65.522	0.673	-0.657	No	1.121	No	No	No	0.059
56	AMB18481259	-4.319	65.77	0.788	-0.495	No	2.456	No	No	Yes	0.114
57	AMB18481638	-3.117	43.765	-0.325	-1.295	No	2.675	No	No	Yes	0.481
58	AMB19133888	-3.432	67.599	0.231	-1.463	No	9.534	No	No	No	0.503
60	AMB22012442	-4.569	94.72	0.998	0.258	Yes	11.854	No	Yes	Yes	0.09
61	AMB22366827	-3.673	51.289	0.523	-1.359	No	2.901	No	No	No	0.484
63	AMB22800233	-3.432	67.599	0.231	-1.463	No	6.991	No	No	No	0.492
64	AMB29566134	-4.571	93.515	0.608	-1.115	No	1.549	No	No	Yes	0.047
65	AMB6601274	-3.727	91.034	0.848	-0.752	No	4.289	No	Yes	Yes	0.11
67	AMB28523480	-4.134	94.699	0.904	-0.031	No	5.822	No	No	Yes	0.752

IAH : Intestinal Absorption Human ; BBB perm : Blood-Brain Barrier Permeability ; CYP2D6 inh : CYP2D6 Inhibitor ; CL : Clairance ; hERG inh : human Ether-à-go-go-Related Gene inhibitor.

Résumé

TITRE : Criblage in Silico des Composés Phytochimiques d'origine Naturelle contre la Protéase Principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2.

AUTEUR : El Mostafa SALMAN.

MOTS CLÉS : Composés Naturels ; SARS-CoV-2 M^{Pro} ; Screening Virtuel ; Docking Moléculaire ; Prédiction ADMET.

L'absence de traitements efficaces de la nouvelle maladie à coronavirus (COVID-19) a conduit à la recherche d'antiviraux spécifiques capables d'inhiber la réplication du virus. Plusieurs médicaments tels que le remdesivir, le molnupiravir et le paxlovid ont été inclus dans le schéma thérapeutique et ont montré des résultats efficaces dans plusieurs cas, mais parfois avec des effets secondaires qui sont assez graves. Cependant, pour atténuer la crise actuelle et se préparer aux futures pandémies, il existe un besoin continu d'explorer la diversité des composés naturels pour leur activité antivirale. La protéase principale (M^{Pro}) du SARS-CoV-2 est reconnue comme une cible thérapeutique réussie pour le développement de nouveaux médicaments.

L'objectif de cette étude est d'investiguer les modes d'interactions d'un ensemble de 350 molécules d'origine naturelle récupérés à partir de la chimiothèque *AMBINTER SARL* afin de pouvoir diriger la conception rationnelle de nouvelles molécules hautement sélectives pour la (M^{Pro}). Le Criblage virtuel et l'amarrage moléculaire deux techniques qui ont été effectués afin d'étudier le mécanisme d'interaction de ces composés avec la (M^{Pro}). L'évaluation prédictive des propriétés physicochimiques et les paramètres pharmacocinétiques de ces molécules est prise en compte afin de prouver leur activité pharmacologique ainsi que, leur interaction médicamenteuse. À l'issue de ce travail, il s'est avéré que les composés *AMB1953578 (A)*, *AMB29566134 (C)* et *AMB18482225 (D)* sont pourvus d'une bonne affinité vis-à-vis la (M^{Pro}) avec des scores de liaisons -8,2, -8,0 et -8,7 Kcal/mol respectivement, et d'un profil pharmacologique satisfaisant par rapport un ligand de référence (*Masitinib*) considéré comme un inhibiteur non covalent, capable d'inhiber la principale protéase (M^{Pro}) avec un score de liaison -8,3 Kcal/mol. Ces composés représentent des médicaments promoteurs pour l'avenir.