

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

Université 08 Mai 1945 Guelma

Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière
Département des Sciences de la Matière



Mémoire de fin d'études
Master

Spécialité : Chimie physique

Présenté par :

CHETTIBI Manel

LAHCENE Boutheyna

Recherche de nouveaux inhibiteurs d'origine
naturelle du COVID-19: Etude in silico

Sous la Direction de :

Dr. DJEMIL Rayenne

Dr. CHERIET mouna

Juillet 2021

REMERCIEMENTS

Avant tout, Nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné le courage, la

Patience et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Ce travail est effectué au sein du laboratoire de Chimie Computationnelle et

Nanostructure (LCCN).

Nous tenons tout d'abord à remercier notre encadreur Mme. DJEMIL Rayenne, Pour

Sa disponibilité, son aide, son soutien, ses précieux conseils

et surtout pour sa patience, ainsi que ses nombreuses qualités professionnelles et

Humaines, qui nous a permis de réaliser ce travail dans une atmosphère des plus agréables.

Nous remercions sincèrement Mme Cheriet Mouna pour son aide et ses conseils.

Nous remercions Bencheikh Bouchra pour son aide.

Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances à tous les membres de jury

Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements à tous les enseignants

Pendant toute notre formation Universitaire.

A tous ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce

Travail, Merci à tous.

Je dédie ce mémoire

A la mémoire de mon père, qu'Allah lui fasse miséricorde

A ma mère, que dieu la protège

A ma chère sœur Nassima

les plus proches

personnes pour leurs amour inestimable,

leurs confiance, leurs soutien, leurs

sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont

su m'inculquer.

A toute ma famille

A toutes mes amies.

A ma très chère binôme : Lahcene Boutheyna.

A tous ce qui sacrifié leurs efforts pour moi

Je vous dis :

Merci Beaucoup.

Chettibi Manel

Je dédie ce mémoire

Ames chères parents, ma mère et mon père

Je ne trouverai Jamais l'expression forte pour vous exprimer tout mon amour, ma

reconnaissance et ma profonde gratitude pour vos sacrifices.

A mon frère Mehdi, A ma sœur Wissal pour leurs amours et leurs encouragements.

A toute ma famille sans exception.

A toutes mes amies surtout mes proches Nada et Amel pour leurs encouragements

permanents.

A ma très chère binôme : Chettibi Manel.

A tous ce qui sacrifié leurs efforts pour moi

Je vous dis :

Merci Beaucoup.

Lahcene Boutheyna

Sommaire

Table de matière

Titre	Page
Sommaire	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux.....	iii
Liste des abréviations	vi
Introduction générale.....	1
Chapitre I	
COVID-19 et ses inhibiteurs	
1. Les coronavirus	3
1.1 Généralités	3
1.2 Classification et taxonomie	3
1.3 Types et origine.....	4
2. COVID-19	6
2.1 Historique	6
2.2 Virologie	7
2.2.1 Structure	7
2.2.2 Génome	8
2.2.3 Mode d'action	9
2.2.3. a. Pénétration du virus dans la cellule hôte : Attachement et	9
Reconnaissance	
2.2.3.b. Réplication.....	10
3. Les Récepteurs	10
3.1 L'ACE2.....	10
3.1.1 Définition	10
3.1.2 Mécanisme d'activité	11
3.1.3 Rôle	11
3.2 Les Protéases	12
3.2.1 Définition	12
3.2.2 Rôle	13
4. Les Inhibiteurs	13
4.1 Inhibiteurs synthétiques (Médicaments)	13
4.1.1 La Chloroquine (CQ) et l'hydroxychloroquine (HCQ)	14
4.1.2 Les Anti-HIV	15
4.2. Inhibiteurs d'origine naturelle	15
4.2.1 Les flavonoïdes	15
4.2.2 Les terpènes	16
4.2.3 Les vitamines	16
5. Epidémiologie	18

Sommaire

5.1. Au Monde	18
5.2. En Algérie	19
6. Mode de Prévention	20
Références bibliographiques	21

Chapitre II Docking moléculaire

1. Introduction:	26
2. Définition du Docking moléculaire	26
3. Principe général de Docking	26
4. Algorithmes de docking	27
4.1. Recherche systématique	28
4.2. Recherche stochastique (génétique)	28
4.3. Approches de Simulation	29
5. Fonctions de score	29
5.1. Les fonctions de score basées sur un champ de force	30
5.2. Les fonctions de score empiriques	31
5.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »	31
5.4. Fonctions de score consensus	31
6. Les outils de Docking	32
6.1. Préparation des récepteurs	32
6.2. Préparation des ligands	32
6.3. Les logiciels	32
7. Les interactions protéine-ligand	33
7.1. Les forces de Van Der Waals	33
7.2. Les Liaisons hydrogènes	34
7.3. Les interactions hydrophobes	35
7.4. Les Interactions électrostatiques	35
Références bibliographiques.....	36

Chapitre III Résultats et Discussion

1. Introduction	38
2. Méthodologie du travail	38
2.1. Préparation des récepteurs	38
2.2. Préparations des inhibiteurs	39
2.3. Préparation de la grille.....	44

Sommaire

3. Résultats et Discussion	44
3.1. Interactions M-pro	44
3.1.1. Présentation du récepteur : Site actif.....	44
3.1.2. Etude des interactions du M-Pro (6LU7)	46
3.2. Interactions ACE2.....	50
3.2.1. Présentation du récepteur : Interface S-RBD	50
3.2.2. Etude des interactions de l'ACE2 (6LZG)	52
4. Filtration par la règle de Lipinski et les propriétés ADMET.....	56
4.1. La règle de Lipinski :.....	56
4.2. Prédiction ADMET (absorption, distribution, métabolisme, l'excrétion, et de toxicité) :	58
Références bibliographiques.....	64
Conclusion générale	65

Liste des figures

<i>N</i>	<i>Intitulé des Figures</i>	<i>page</i>
	<i>Chapitre I : COVID-19 et ses inhibiteurs</i>	
Figure I.1	Classification des coronavirus.	4
Figure I.2	Origines animales des coronavirus humains.	5
Figure I.3	Protéines structurales du coronavirus	7
Figure I.4	Le génome du SARS-CoV-2. (A) L'organisation du génome du SARS-CoV-2.	8
Figure I.5	Représentation schématique du SARS-CoV-2 et de ses protéines structurales.	9
Figure I.6	Les mécanismes d'entrée cellulaire et de réplication virale du SARS-CoV-2 et médicaments potentiels ciblant différents stades du cycle de vie du virus.	11
Figure I.7	Illustration des deux bras clés du système rénine-angiotensine.	12
Figure I.8	Structures de la CQ et l'HCQ.	14
Figure I.9	Structures des flavonoids.	16
Figure I.10	Statistique du COVID-19 dans le monde.	19
Figure I.11	Statistique du COVID-19 en Algérie.	20
<i>Chapitre II: Docking Moléculaire</i>		
Figure II.1	Construction incrémentale.	28
Figure II.2	Les interactions de Van der Waals.	34
Figure II.3	Exemples d'une liaison hydrogène.	35
<i>Chapitre III : Résultats et Discussion</i>		
Figure II.1	Mode d'interaction 6LU7-imperatorine 2D, 3D.	47
Figure II.2	Mode d'interaction 6LU7-nelfinavir 2D, 3D.	47
Figure II.3	Mode d'interaction 6LU7-hespéridine 2D, 3D.	48
Figure II.4	Mode d'interaction 6LU7-remdesivir 2D, 3D.	48

Liste des figures

Figure II.5	Mode d'interaction 6LU7-chloroquine 2D, 3D.	49
Figure II.6	Mode d'interaction 6LU7-hydroxychloroquine 2D, 3D.	49
Figure II.7	Mode d'interaction 6LZG-remdesivir 2D, 3D.	52
Figure II.8	Mode d'interaction 6LZG-nelfinavir 2D, 3D.	53
Figure II.9	Mode d'interaction 6LZG- α - tocophérol 2D, 3D.	53
Figure II.10	Mode d'interaction 6LZG-imperatorine 2D, 3D.	54
Figure II.11	Mode d'interaction 6LZG-chloroquine 2D, 3D.	54
Figure II.12	Mode d'interaction 6LZG-hydroxychloroquine 2D, 3D.	55

Liste des tableaux

<i>N</i>	<i>Intitulé des Tableaux</i>	<i>Page</i>
<i>Chapitre I : COVID-19 et ses inhibiteurs</i>		
Tableau I.1	Comparaison épidémiologique entre différents types de coronavirus.	6
Tableau I.2	Propriétés de quelques composés naturels (Flavonoïdes et Terpènes) inhibiteurs des coronavirus.	17
<i>Chapitre III : Résultats et Discussions</i>		
Tableau III.1	Structures des inhibiteurs.	40
Tableau III.2	Structures des médicaments.	43
Tableau III.3	La boîte GRID BOX des protéines.	44
Tableau III.4	Résultats du docking 6LU7-Ligand.	45
Tableau III.5	Résultats du docking 6LZG-Ligand.	51
Tableau III.6	Critères de la règle de Lipinski pour les différents inhibiteurs.	57
Tableau III.7	Résultats des propriétés d'absorption, Distribution des ligands.	59
Tableau III.8	Résultats des propriétés de métabolisme des ligands.	61
Tableau III.9	Résultats des propriétés de Toxicité des ligands.	62

Liste des abréviations

Symbole	Nomenclature
2D	Deux dimensions.
3D	Trois dimensions.
3CLpro	3C-like proteinase.
A	
ACE	Angiotensin Converting Enzyme.
ACE2	Angiotensin Converting Enzyme 2.
ARN	Acide RiboNucléique.
Ang-I	angiotensin I.
Ang-II	angiotensin II.
AM1	Austin Model 1.
AMBER	Assisted Model Building with Energy Refinement.
AT1/AT2	Angiotensin Type-1/ Angiotensin Type-2.
ADV	Adenovirus.
ADME/ Tox	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion/ Toxicologie.
B	
BBB	Blood-Brain Barrie.
C	
CoV	Coronavirus.
COVID-19	Coronavirus Disease 2019.
CQ	Chloroquine.
CNS	Central Nervons System.
CHARMM	Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics.
CYP2C8	Cytochrome P ₄₅₀ 2C8.
D	
DRVYIHP	Angiotensin 1-7.
DRVYIHPFH	Angiotensin 1-9.

Liste des abréviations

F	
FDA	Food and Drug Administration.
G	
Gold	Genetic Optimisation for Ligand Docking.
GROMOS	GRoningen MOlecular Simulation System.
H	
HCoV	Coronavirus Humain.
HCoV-229E	Human coronavirus 229E.
HCoV-OC43	Human coronavirus OC43.
HCoV-NL63	Human coronavirus HCOV-NL63.
H-ACE2	Human angiotensin converting enzyme 2.
HKU1	Hong Kong University 1.
HIV	Human immunodeficiency virus.
HE	Hémagglutinine –esterase.
HCQ	Hydroxychloroquine.
HV	Herpes virus.
HIA	Human Intestinal Absorption.
HERG	Human Ether à go-go- Related Gene.
I	
ISG15	Interferon-stimulated gene 15.
M	
MERS-CoV	Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient.
M-pro	Main protease.
MDCK	Madin-Dabry Canine Kidney.
N	
nCoV	Nouveau coronavirus.
Nsps	Non-Structural Proteins.
NCI	National Institutes of Health.
NCBI	National Center for Biotechnologie Information.

Liste des abréviations

NF-kappa B	Nuclear factor-kappa B.
NS3	Non-Structural 3.
O	
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
ORF	Open Reading Frame.
ORF1a / b	Open Reading Frame a/b.
OPLS	Optimized Potentials for Liquids Simulation.
P	
pp1a	Polyprotéines 1a.
pp1b	Polyprotéines 1b.
PCR	Réaction en chaîne par polymérase.
PH	Homologie de Pleckstrine.
PLpro	papain-like protease.
PDB	Protein Data Bank.
PIF	Péritonite Infectieuse Féline.
PMF	Potential of Mean Force.
PM	Poids Moléculaire.
PPB	Part Per Billion.
R	
RAS	Renin-angiotensin system.
RBD	Receptor Binding Domain.
RdRp	RNA-dependent RNA polymerase.
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire.
RAAS	Système rénine-angiotensine-aldostérone.
RT-PCR	RT-PCR : Reverse Transcriptase PCR.
RT-LAMP	Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal
RMSD	Root Mean Square Deviation.
RTC	Complexe de Réplication-Transcription.

Résumé

Dans le but de contribuer à lutte contre le COVID-19 qui représente jusqu'à ce jour une polémique, nous avons étudié l'inhibition de ce virus par quelques composés naturels utilisant le docking moléculaire.

Dans les systèmes récepteurs-ligands étudiés, les deux récepteurs du SARS-CoV-2 utilisés comme cibles thérapeutiques sont la protéase M-pro (6LU7) et l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 ACE2 (6LZG). Tandis que les ligands utilisés comme inhibiteurs sont une série de flavonoïdes et des coumarines avec quelques médicaments, tels que la CQ et l'HCQ utilisés comme références.

Les résultats de Docking montrent que le pouvoir inhibiteur des composés naturels étudiés avec le M-pro est plus important qu'avec l'ACE2. Les filtres d'ADMET ont retenus la majorité des ligands naturels étudiés avec des propriétés biologiques et pharmacologiques intéressantes, leurs permettre ainsi d'avoir une meilleure biodisponibilité. Par conséquent, ces molécules naturelles s'avèrent des candidats prometteurs dans l'inhibition de COVID-19.

Introduction générale

La maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) est une maladie respiratoire causée par un nouveau *Sarbecovirus*, le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2), qui a émergé de Wuhan, en Chine, fin 2019. La propagation a été sans précédent en termes de vitesse et d'impact, constituant une urgence de santé publique à portée internationale, et contribuant à une perturbation socio-économique généralisée [1]. D'où une alerte épidémiologique a été placée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et la pandémie mondiale du coronavirus-19 (COVID-19) a été déclarée le 11 mars 2020. Il s'est propagé dans tous les régions du monde, avec plus de 178 millions des cas et plus de 3.8 millions de décès [2].

Dans le cadre de cet urgence sanitaire et de l'absence de solution de traitement proposable pour les patients affectés par le COVID-19 et au vu des risques mortels pour une partie des patients, les protocoles de recherches conventionnels s'avèrent inadaptés. En effet, le processus qui conduit à la validation d'un médicament de synthèse est très long et, s'il peut s'avérer pertinent en temps normal, il s'avère défaillant en période de pandémie et de crise généralisée.

Le métabolisme secondaire complexe des plantes a été la source d'innombrables composés médicinaux et a permis la découverte de médicaments. Il n'est donc pas surprenant que les produits naturels aient été utilisés comme une première ligne de défense contre la COVID-19 [3].

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

Commençant par la porte d'entrée de virus, l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE2), un récepteur fonctionnel du SARS-CoV qui peut faciliter l'entrée du virus dans les cellules de l'hôte en se liant à la protéine de pointe (S) du virus. Par conséquent, bloquer cette liaison, semble être une piste prometteuse pour traiter une infection virale, comme le SARS-CoV-2.

Les scientifiques ont aussi vérifié la possibilité d'empêcher la protéase virale principale (M-pro), et la protéase comme une papaïne (PLpro), qui sont principaux à sa réplication. Beaucoup de composés qui empêchent ces enzymes ont été décrits et avancent par la voie de développement de médicament.

Introduction générale

Notre objectif a été la recherche de nouveaux composés d'origine naturelle efficace pour la prévention et le traitement de la pneumonie à COVID-19, avec de meilleures propriétés biologiques et pharmacologiques. Nous avons donc étudié l'inhibition du COVID-19 par une série de molécules d'origine naturelle via le docking moléculaire. Et pour mieux comprendre les mécanismes d'action de ces ligands, une filtration par détermination des paramètres ADME /TOX, s'avérée nécessaire. Nous avons jugé cet utile de filtre qui est basée sur la règle de Lipinski et les propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Toxicité ...). Pour pouvoir identifier le point d'intervention de ces options thérapeutiques, la stratégie suivie dans ce travail consiste à inhiber les récepteurs du COVID se trouvant à l'entrée du virus (ACE2) et la protéase (M-Pro) responsable de la réplication.

Le manuscrit est divisé en trois chapitres :

Le premier chapitre : est dédié à une recherche bibliographique sur le COVID-19.

Le second chapitre : est consacré à la description du docking moléculaire et les différents concepts théoriques sur lesquels se base.

Le dernier chapitre : rassemble l'essentiel de nos résultats et une discussion.

Références bibliographiques :

1. A. Prasansuklab, A. Theerasri, P. Rangsinth , Ch. Sillapachaiyaporn, S. Chuchawankul, T. Tencomnao. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **2021**, p 144-157.
2. K. J. Senthil Kumar, M. G. Vani, C. S. Wang, C. C. Chen, Y. C. Chen, L.P. Lu, C. H. Huang, C. S. Lai, S. Y. Wang. *Plants*, **2020**.
3. N. Tighazza, I.Tifenjar, S. Chadli, Fz. Derbale, Boussebat, I. Ouddane, H. Bouguedra, S. Sadeg C. Bekhtaoui, A. Amrani, S. Mansour, A. Tachma. F. Haouatti. *Journal d'informations en pharmacologie*, **2020**.

1. Les coronavirus :**1.1 Généralités :**

Les Coronavirus (CoV) sont un groupe de virus à ARN qui contiennent les plus grands génomes. Ces virus sont hautement développés que l'on trouve diversement chez l'homme et la faune. Leur dénomination (coronavirus) en 1968 [1], est liée à la couronne que forment certaines protéines à la surface de ces virus. Les coronavirus ont été signalés comme causes d'infections respiratoires légères et modérées depuis plus de 50 ans. Les premiers coronavirus humains (HCoV), HCoV-229E et OC43, reconnus comme étant des pathogènes respiratoires importants, ont été identifiés dans les années 1960 [2, 3]. Même si ce groupe de virus a été isolé à partir de nombreux animaux différents, les chauves-souris sont considérées comme réservoir naturel majeur de coronavirus [4]. Cependant, la première maladie liée au coronavirus enregistrée était à la péritonite infectieuse féline (PIF) en 1912 [5]. Par la suite, les coronavirus détectés : le SARS-CoV (2002-2003), apparu en Chine à l'origine d'un syndrome respiratoire aigu sévère (SARS), le MERS-CoV (2012-2013), coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient, il a été détecté pour la première fois en Arabie saoudite. La troisième épidémie mortelle est celle liée au coronavirus COVID-19 (anciennement appelé 2019-nCoV), apparu en Chine en décembre 2019. Les premiers cas recensés sont des personnes s'étant rendues sur un marché local, à Wuhan, dans la province de Hubei [6].

1.2 Classification et taxonomie :

Selon le Comité international de taxonomie des virus, les CoV sont classés dans l'ordre des Nidovirales, une famille de Coronaviridae et une sous-famille de Coronavirinae [6- 8]. Sur la base de preuves sérologiques antérieures et génomiques récentes, la famille des Coronaviridae comprend deux sous-familles : la sous-famille Orthocoronavirinae et la sous-famille Torovirinae (**Figure 01**) [3, 9]. La sous-famille des Orthocoronavirinae comprend quatre genres : Alpha coronavirus, Beta coronavirus, Gamma coronavirus et Delta coronavirus [3, 8]. Parmi les Nidovirales, seuls les coronavirus comprennent des virus identifiés chez l'homme [10].

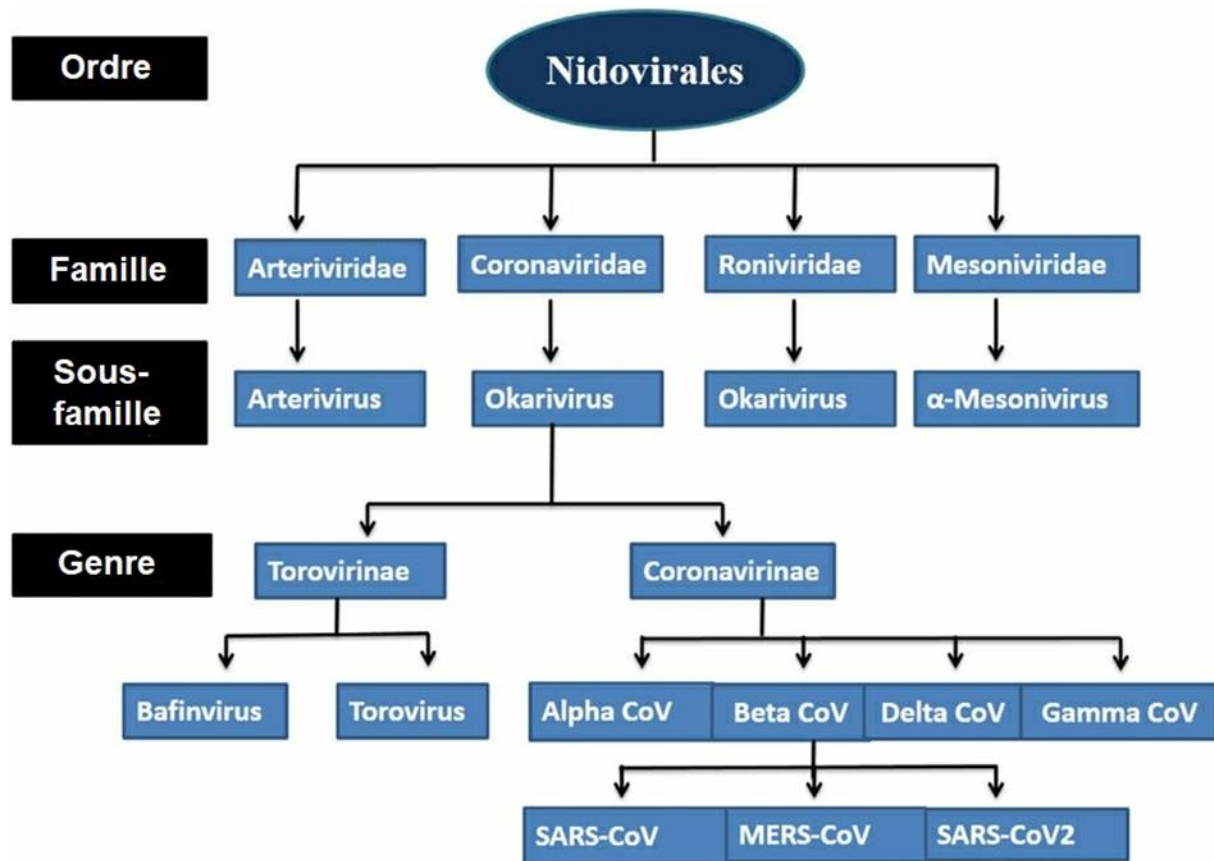


Figure 01 : Classification des coronavirus.

1.3 Types et origine :

Les CoV sont des virus zoonotique, ce qui signifie qu'il se transmet de l'animal à l'être humain, ils infectent plus de 500 espèces de chiroptères, les oiseaux, le bétail, les civettes de palmiers masquées, les souris, les chiens et les chats [11].

Les alphacoronavirus et les betacoronavirus infectent seulement les mammifères. Les gammacoronavirus et deltacoronavirus infectent les oiseaux, mais certains d'entre eux peuvent également infecter mammifères.

Les Alphacoronavirus et les betacoronavirus causent habituellement une maladie respiratoire chez les humains et une entérite gastro-intestinale chez les animaux. Les deux virus hautement pathogènes, le SARS-CoV et le MERS-CoV causent des problèmes respiratoires graves le syndrome chez les humains tandis que les coronavirus (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 et HKU1) n'induisent que de légères maladies des voies respiratoires supérieures hôtes immunocompétents, bien que certains d'entre eux peut causer des infections graves chez les nourrissons, les jeunes enfants et les personnes âgées [8].

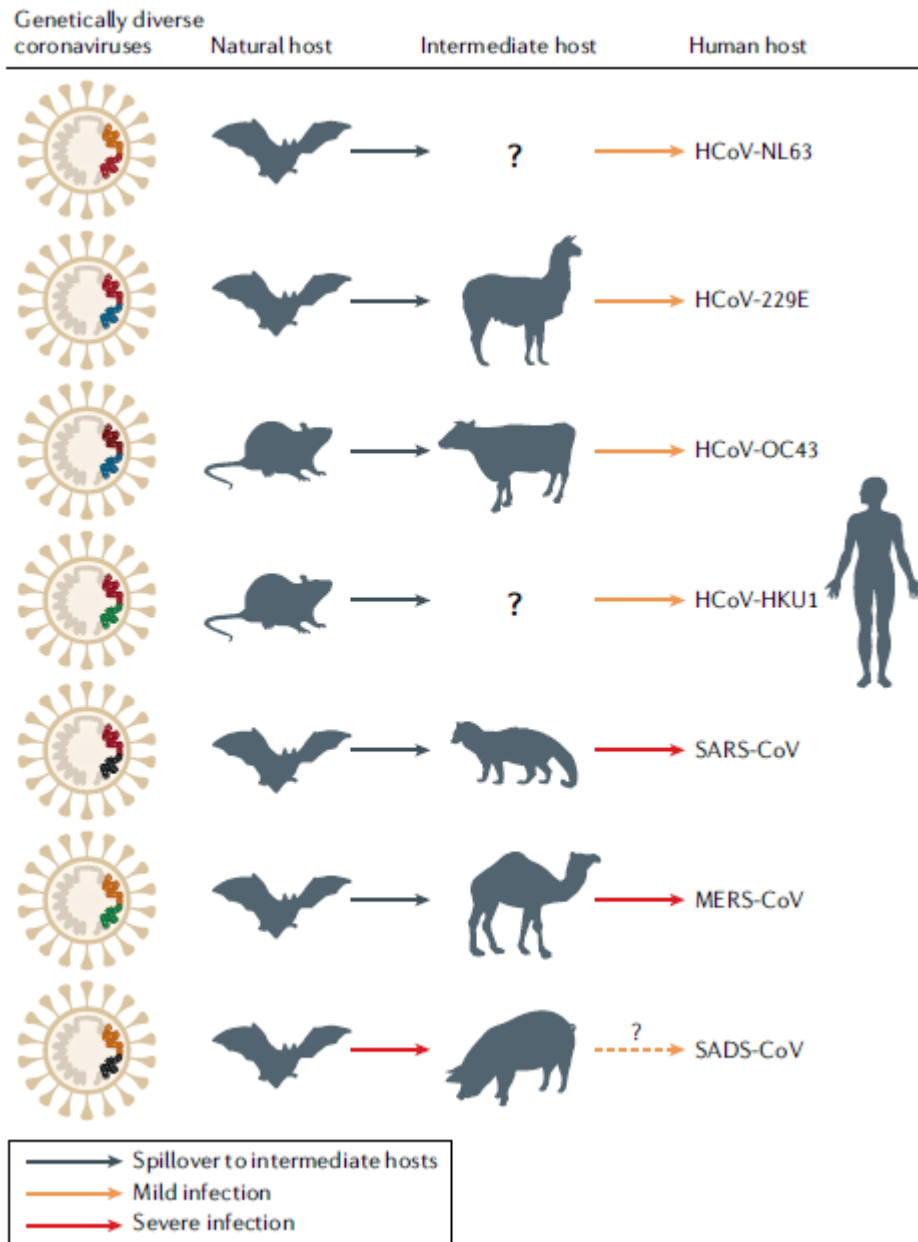
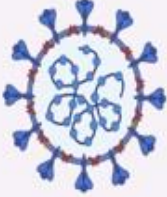
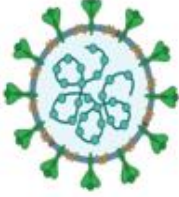



Figure 02 : Origines animales des coronavirus humains [8].

Tableau 01 : Comparaison épidémiologique entre différents types de coronavirus :

Maladie	Maladie à coronavirus 2019 (COVID-19)	Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)	Syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS)
Virus causant la maladie	 SRAS-CoV-2	 SRAS-CoV	 MERS-CoV
Taux de reproduction (R_0)	2 à 5,7 ^a	3	0,3 à 0,8
Taux de létalité	Autour de 1 % ^b	9,6 à 11 %	34,4 %
Temps d'incubation	2 à 14 jours ^c	2 à 7 jours	6 jours
Taux d'hospitalisation	6 à 19 % ^d	La plupart des cas	La plupart des cas
Taux potentiel d'infection communautaire	35 à 80 % ^e	10 à 60 %	4 à 13 %

2. COVID-19 :

2.1 Historique :

La maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) est une urgence de santé publique de portée internationale [12, 13]. Le 31 décembre 2019, plusieurs cas de pneumonie ont été signalés à Wuhan l'épicentre de l'épidémie dans la province du Hubei en Chine. Le nouveau coronavirus a été identifié comme étant aigü sévère coronavirus 2 du syndrome respiratoire (SARS-CoV-2) qui en est la cause pandémie de coronavirus 2019 (COVID-19) à partir de cette date d'émergence jusqu'au début de l'année 2021, le COVID-19 s'est donc un total de plus de 71 millions de cas confirmés avec plus de 1,6 million de décès ont été signalé par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) [14]. Cette maladie est classée parmi la neuvième pandémie mondiale la plus meurtrière, est in trouble respiratoire aigu très infectieux et grave causé par un virus morbifique appelé SARS-CoV-2 qui sont transmis à l'homme par contact avec des personnes infectées [15]. Le nouveau coronavirus a été officiellement nommé 19-nCoV, et par

la suite, le 11 février 2020, cette maladie a été renommée COVID-19 par l'OMS, abréviation de « Corona Virus Disease 2019 » [16, 17].

2.2 Virologie :

2.2.1 Structure :

Le séquençage complet du génome et l'analyse phylogénique ont indiqué que le coronavirus responsable du COVID-19 est un bêtacoronavirus de la même sous-famille que le virus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS) (ainsi que plusieurs coronavirus de chauve-souris). La structure de la région du gène de liaison au récepteur est très similaire à celle du coronavirus du SARS, et il a été démontré que le virus utilise le même récepteur, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2), pour l'entrée cellulaire. Le groupe d'étude sur les coronavirus du Comité international de taxonomie des virus a proposé que ce virus soit désigné coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) [18]. La membrane virale contient la glycoprotéine de pointe (S) qui forme les peplomères à la surface du virion, donnant au virus sa morphologie « corona » - ou en forme de couronne au microscope électronique. La glycoprotéine membranaire (M) et la protéine d'enveloppe (E) fournissent la structure cyclique. A l'intérieur du virion se trouve un nucléocapside hélicoïdale composée de la protéine nucléocapside (N) complexée avec un génome d'ARN à brin positif unique d'environ 30 kb de longueur [19 - 21].

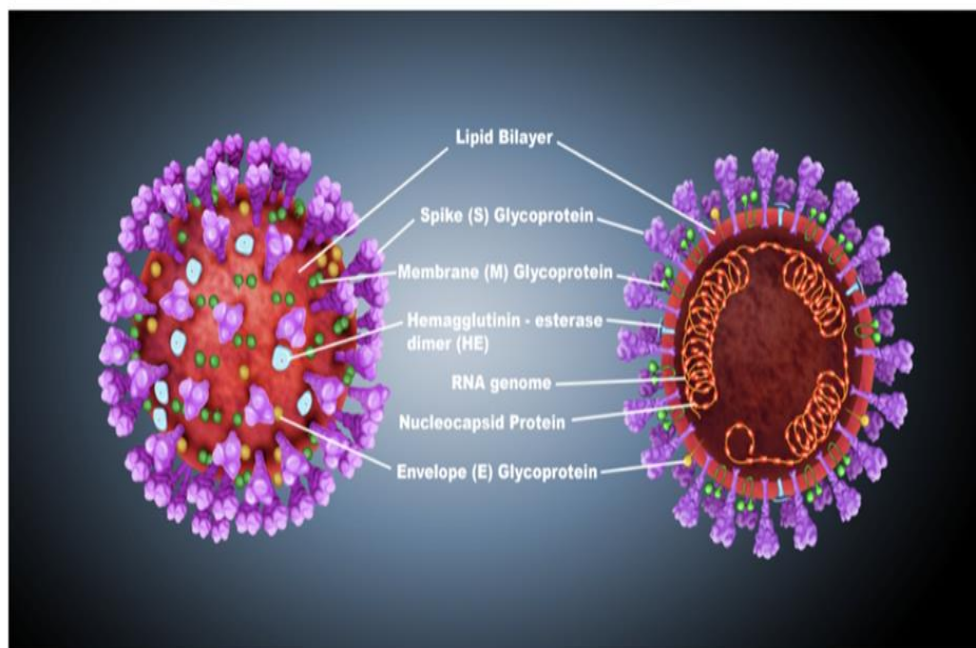


Figure 03 : Protéines structurales du coronavirus [22].

2.2.2 Génome :

Les coronavirus (CoV) sont des virus enveloppés avec un grand génome d'ARN à brin positif avec son génome d'ARN d'une taille de 27 à 32 kb, l'un des plus grands virus à ARN, coiffé et polyadénylé et d'un diamètre de 80 à 160 nm.

Le génome du SARS-CoV-2 comprend environ 30 000 nucléotides organisés en gènes spécifiques codant des protéines non structurales (Nsps), des protéines structurales, et protéines accessoires [22].

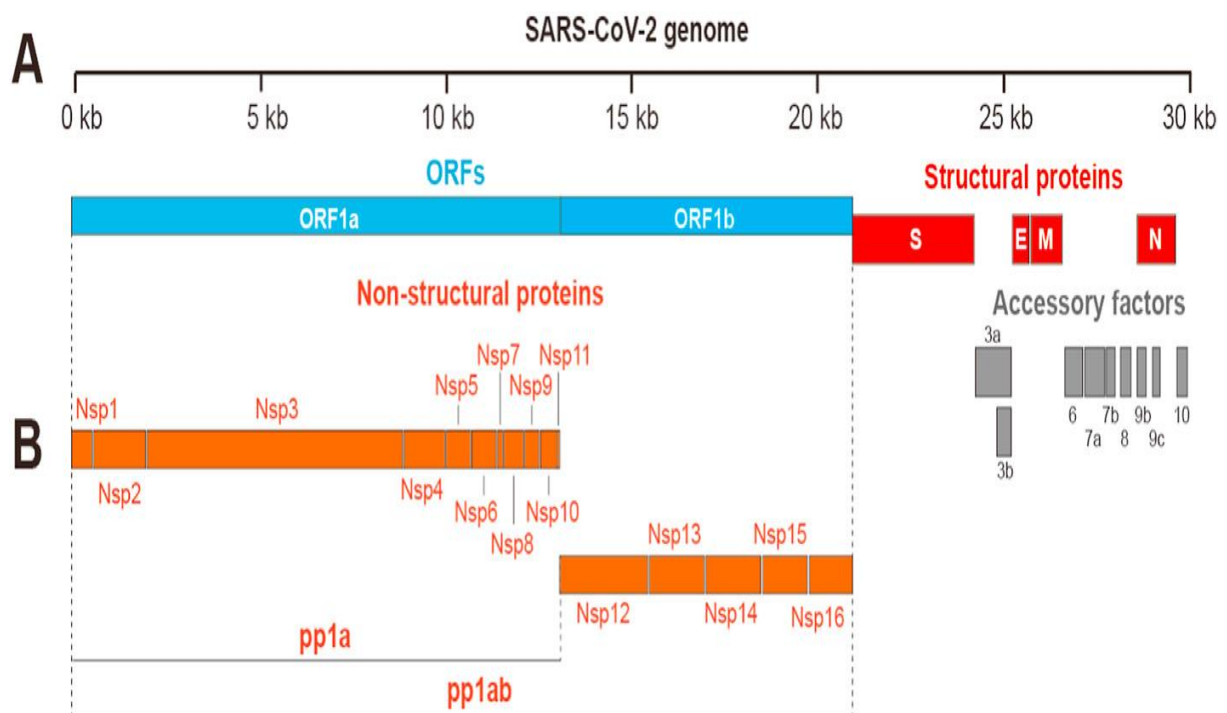


Figure 04 : Le génome du SARS-CoV-2. (A) L'organisation du génome du SARS-CoV-2. (B) Les polyprotéines (pp1a et pp1ab) sont clivées en 16 protéines non structurales (nsp1-16) [23].

La structure génomique des coronavirus contient au moins six cadres de lecture ouverts (ORF). Les premiers ORF (ORF1a / b), environ les deux tiers de la longueur totale du génome codent pour une polyprotéine 1a, b (pp1a, pp1b). Ces polyprotéines sont transformées en 16 protéines non structurales (NSP) pour former un complexe de réplication-transcription (RTC) qui est impliqué dans la transcription et la réplication du génome. Les Protéines non structurales (Nsps), qui sont générés en tant que produits de clivage des polyprotéines virales à cadre de lecture ouvert 1ab (ORF1ab), s'assemblent pour faciliter la réplication et la transcription virales. D'autres ORF codent pour au moins quatre protéines structurales :

- La glycoprotéine de surface (S), responsable de la reconnaissance des récepteurs des cellules hôtes.
- Les Protéines membranaires (M), responsables de la mise en forme des virions.
- Les protéines d'enveloppe (E), responsables de l'assemblage et de la libération des virions.
- Les protéines de la nucléocapside (N) sont impliquées dans l'empaquetage du génome de l'ARN et des virions et jouent un rôle dans la pathogénicité en tant qu'inhibiteur de l'interféron (IFN).

En plus des quatre principales protéines structurales, il existe des protéines structurales et accessoires spécifiques à l'espèce, telles que la protéine HE, la protéine 3a / b et la protéine 4a / b [24-26].

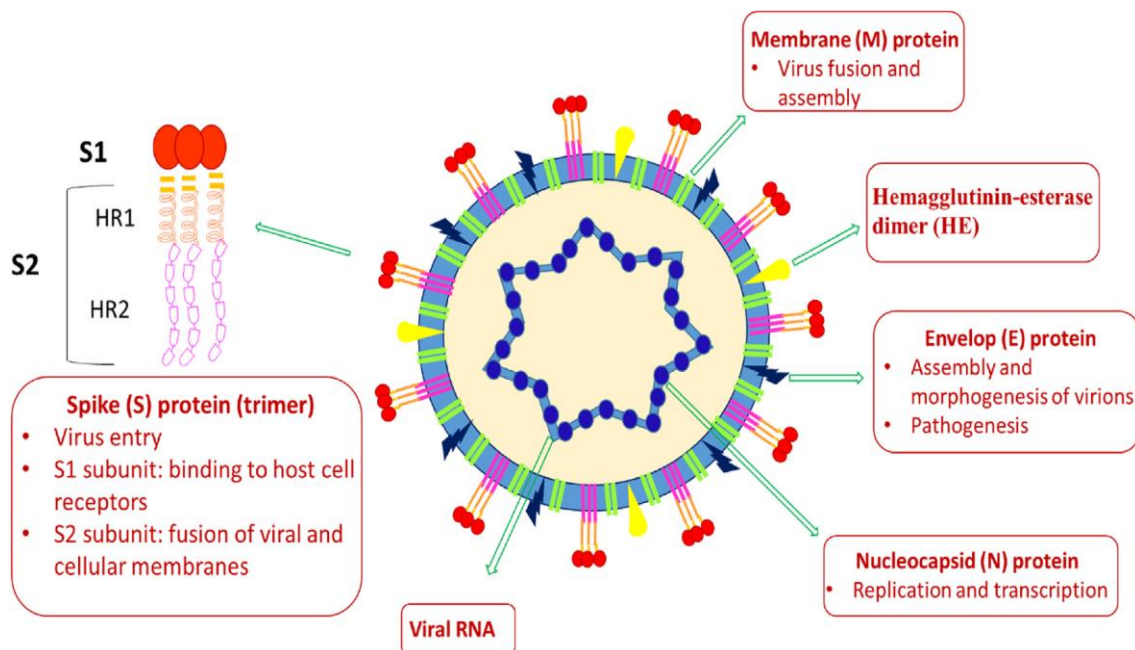


Figure 05 : Représentation schématique du SARS-CoV-2 et de ses protéines structurales [27].

2.2.3 Mode d'action :

a) Pénétration du virus dans la cellule hôte : Attachement et reconnaissance :

Le SARS-CoV-2 infecte principalement les cellules épithéliales bronchiques ciliées et la pneumocystose de type II, où il se lie au récepteur de surface, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2), par l'intermédiaire de la glycoprotéine S située à sa surface. Lorsque la glycoprotéine S se lie à l'ACE2, le clivage de la protéine trimère S est déclenché par la protéase transmembranaire sérine 2 associée à la surface cellulaire (TMPRSS2) et la cathepsine.

La glycoprotéine S comprend deux sous-unités, S1 et S2. La sous-unité S1 détermine la gamme d'hôtes et le tropisme cellulaire et facilite l'attachement viral aux cellules cibles. La sous-unité S2 est une unité qui intervient dans la fusion des membranes virales et cellulaires, assurant l'entrée virale par endocytose. L'affinité entre les protéines de surface du virus et ses récepteurs est une étape cruciale pour l'entrée virale. Comprendre le mécanisme du SARS-CoV-2 pourrait fournir plus d'informations sur la transmission virale et révéler des cibles thérapeutiques. Une étude récente a montré que l'affinité entre la glycoprotéine S du SARS-CoV-2 et l'efficacité de liaison de l'ACE2 est 10 à 20 fois plus élevée que celle du SARS-CoV, ce qui pourrait expliquer la capacité hautement infectieuse du SARS-CoV-2 [28].

b) Réplication :

Après la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol de la cellule hôte et une fois dans le cytoplasme, le génome viral doit être répliqué et traduit afin de produire de nouveaux virions. La première étape de la réplication est la traduction du gène de la réplicase en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab) clivées en nombreuses protéines indispensables au cycle viral (notamment deux protéases virales et une ARN-polymérase ARN-dépendant) (RdRp) s'assemblant en un large complexe de transcription et de réplication (RTC) [29, 30]. Ce complexe permet la réplication et la transcription du génome viral : d'une part il reproduit l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti-sens (-) intermédiaire appelés ARN sous-génomiques, il produit de protéines de structure des nouveaux virions [31]. Finalement les brins d'ARN synthétisés sont combinés avec la protéine N pour former la nucléocapside et l'assemblage avec les glycoprotéines d'enveloppe permet le bourgeonnement de nouvelles particules virales [30, 32].

3. Les Récepteurs :**3.1 L'ACE2 :****3.1.1 Définition :**

La protéine S du SARS-CoV-2 utilise le récepteur cellulaire ACE2, une métalloprotéine transmembranaire de type I composée de 805 acides aminés et possède deux domaines, à savoir les domaines catalytiques amino et carboxy-terminaux. Le domaine catalytique contient un site actif et le cation de zinc Zn^{+2} [33]. Le domaine carboxypeptidase extracellulaire situé au niveau de la membrane cellulaire se trouve dans une variété de cellules épithéliales [34, 35]. Exprimée dans les poumons, le cœur, les reins et l'intestin, principalement associée à des maladies cardiovasculaires [36]. L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) est un régulateur

important du système rénine-angiotensine et a été très récemment identifié comme un récepteur fonctionnel du virus du SARS [37].

3.1.2 Mécanisme d'activité :

ACE2 a également servi de cible moléculaire, facilitant l'entrée du SARS-CoV-2, où les pics de glycoprotéine présents sur l'enveloppe externe du virus se lient au récepteur membranaire ACE2, avec les protéases TMPRSS2, qui assurent sa liaison au domaine extracellulaire de ACE2, entraînant la pénétration du virus dans la cellule cible [38].

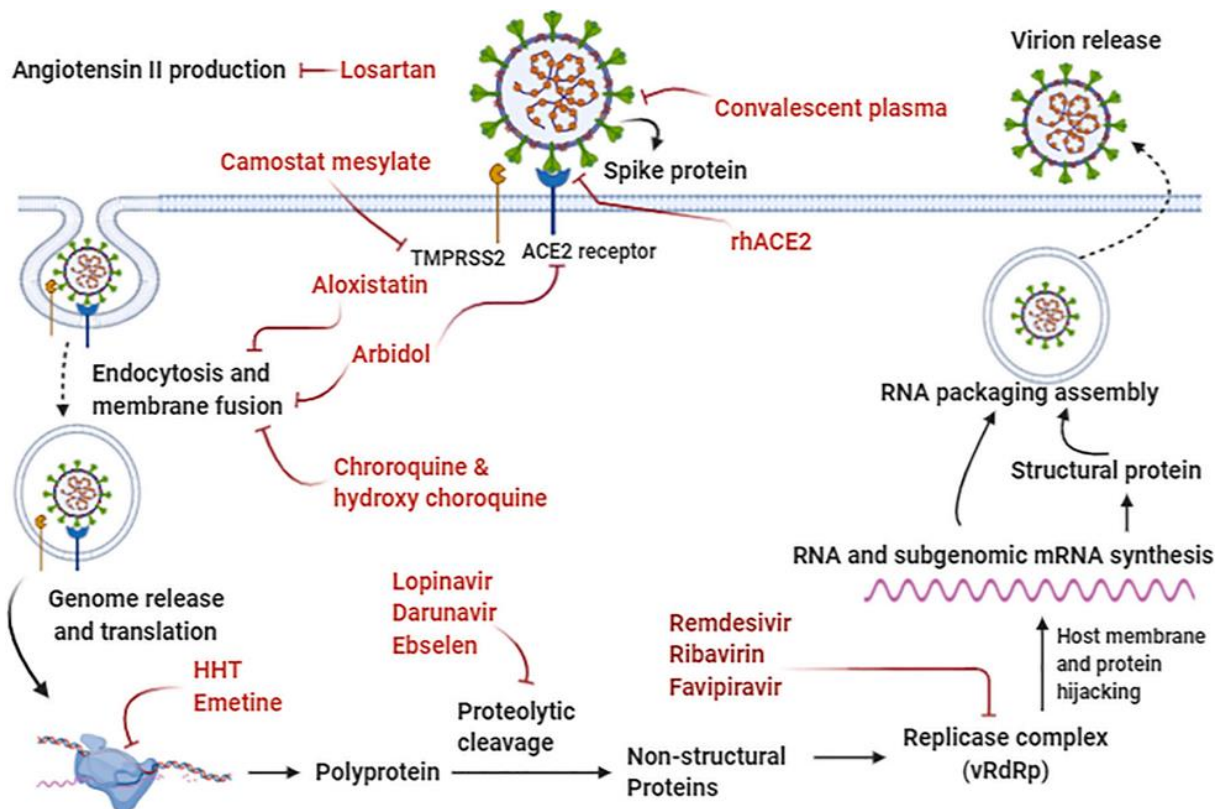


Figure 06 : Les mécanismes d'entrée cellulaire et de réplication virale du SARS-CoV-2 et médicaments potentiels ciblant différents stades du cycle de vie du virus [39].

3.1.3 Rôle :

Le système rénine-angiotensine-aldostérone (RAAS) semble jouer un rôle important dans la pathogenèse du COVID-19 [40]. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE ou ACE1) catalyse la synthèse de l'angiotensine-II (Ang-II) à partir de l'Ang-I. Tandis que l'ACE2 catalyse la conversion de l'angiotensine II en angiotensine 1-7 (DRVYIHP) et l'angiotensine I en angiotensine 1-9 (DRVYIHPFH). ACE2 transforme, à la fois augmentant la vasodilatation et réduisant la pression artérielle [34].

L'Ang-II se lie au récepteur AT1 entraînant la vasoconstriction, la fibrose, l'inflammation, la thrombose, entre autres réponses, tandis que Ang-1-7 se lie au récepteur AT2 avec une vasodilatation accrue et une réduction de la fibrose, de l'inflammation et de la thrombose [41 - 44].

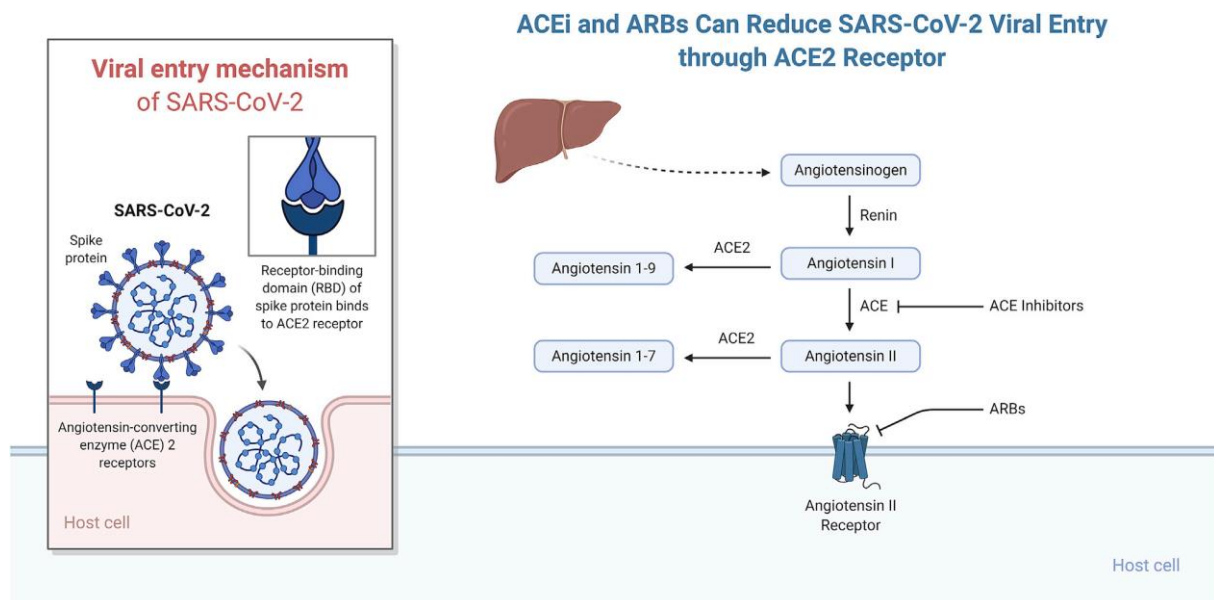


Figure 07 : Illustration des deux bras clés du système rénine-angiotensine [44].

3.2 Les Protéases :

3.2.1 Définition :

Le SARS-CoV-2 possède deux protéases : la protéase de type papaïne (PLpro pour papain-like protease) et la protéase de type 3C (3CLpro pour 3C-like protease). Ces protéases sont des cibles antivirales intéressantes car elles sont essentielles à la réplication des coronavirus [45]. La protéase majeure du SARS-CoV-2, 3CLpro (3C-like proteinase), elle appartient à la famille de la chymotrypsine. Sa séquence protéique est identique à 96 % à celle des protéases 3CLpro des autres coronavirus, qui ont été très étudiées. Elle coupe la polyprotéine virale 11 fois au niveau de motifs Leu-Gln-(Ser/Ala/Gly). La deuxième protéase du SARS-CoV-2, PLpro (papain-like protease), a des propriétés différentes de celles de 3CLpro et sa structure cristalline n'est pas encore connue [46, 47].

3.2.2 Rôle :

Les protéases virales sont essentielles à la production de virions par la cellule infectée car elles participent à une étape de maturation en coupant les poly-protéines virales synthétisées à des sites bien précis. Elles sont spécifiques d'un virus donné et agissent sur les protéines virales, ainsi que sur quelques protéines de la cellule hôte, pour favoriser la réplication virale [48]. C'est pour cela qu'elles suscitent un grand intérêt pour stopper la propagation des épidémies virales. La PLpro est localisé dans la protéine non structurale 3 (NS3) du polypeptide viral. Elle permet l'autoclivage de nsp3 et la libération des protéines nsp1 et nsp2. La PLpro a notamment une activité déubiquitineuse, et elle pourrait intervenir pour altérer la réponse immunitaire innée de l'hôte infecté. Le ciblage de la protéase de type papaïne avec des médicaments antiviraux peut avoir un avantage non seulement en inhibant la réplication virale, mais aussi en inhibant le dérèglement des cascades de signalisation dans les cellules infectées qui peuvent conduire à la mort cellulaire dans les cellules environnantes non infectées. La protéase M-pro est responsable de la libération des protéines de nsp4 à nsp16. Elle joue un rôle essentiel dans le cycle de vie de virus et sa réplication [46, 47].

4. Les Inhibiteurs :**4.1 Inhibiteurs synthétiques (Médicaments) :**

Depuis la déclaration du premier foyer de contagion du coronavirus COVID-2019 en décembre, les scientifiques ont rapporté qu'il n'y avait pas d'agent antiviral prouvé qui puisse contrôler l'épidémie de COVID-19 et inactiver le SARS-CoV-2. Au 29 avril 2020, aucun médicament capable de prévenir la COVID-19 n'a été approuvé par la FDA des États-Unis [49]. Actuellement, les stratégies de gestion des patients atteints de COVID-19 présentant des symptômes légers comprennent la prévention de l'infection par l'utilisation de l'oseltamivir (Tamiflu) associé aux soins de soutien, aux anti-biotiques (l'oseltamivir est un médicament approuvé pour le traitement de la grippe A et B), de plus, ils se sont comptés sur des mesures de soutien clinique pour les patients graves comme l'oxygène et la ventilation mécanique assistée. Étant donné le manque de thérapie antivirale efficace contre la COVID-19, les traitements actuels se sont principalement concentrés sur le support symptomatique et respiratoire selon le diagnostic et traitement de la pneumonie causée par COVID-19 [50]. Certains des médicaments et thérapies qui sont en cours d'étude pour contrôler la COVID-19 sont : l'ivermectine, le nafamostat, le remdesivir, l'hydroxychloroquine et la chloroquine, et la

thérapie par plasma de convalescent qui contient des anticorps extraits du plasma de personnes guéries de COVID-19 [51].

4.1.1 La chloroquine (CQ) et l'hydroxychloroquine (HCQ) :

La chloroquine (CQ) et l'hydroxychloroquine (HCQ) sont deux anti-malariques de la classe des amino-4-quinoléines. Ils ont un grand volume de distribution et sont fortement liés aux protéines plasmatiques. Leur métabolisme est hépatique et leur élimination principalement rénale. La CQ est un substrat du CYP2C8 capable de conduire des interactions médicamenteuses qui doivent être prises en compte [52].

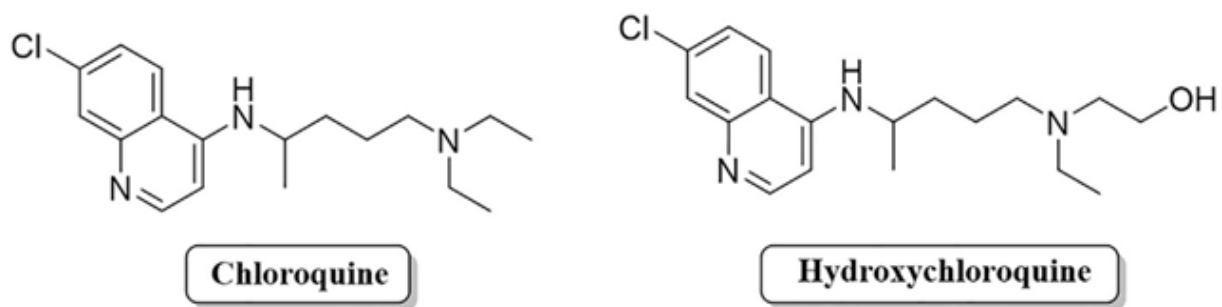


Figure 08 : Structures de la CQ et l'HCQ.

Jadis, utilisé contre le paludisme, la chloroquine ayant également des effets antiviraux à large spectre. Elle joue un rôle dans l'activité antivirale contre le coronavirus HCoV-O43 et les orthomyxovirus. Outre l'activité antivirale, la chloroquine a une activité de modulation immunitaire, qui peut renforcer synergiquement son effet antiviral in vivo [53]. La CQ et l'HCQ sont des bases faibles connues pour élever le pH des organelles intracellulaires acides, telles que les endosomes/lysosomes, essentiels à la fusion des membranes. La cavité interne des endosomes et des lysosomes est maintenue à un pH de 4,5 à 6,5. La CQ et l'HCQ pourraient perturber le processus d'acidification en empêchant la maturation de l'endosome et en empêchant le transport et la libération ultérieurs de virions. Ce mécanisme semble important pour la pathogénie du SARS-CoV [52]. En effet, le professeur Didier Raoult, à Marseille, qui fait partie de l'essai clinique européen Discovery, a empêché ces modifications de pH et enrayé ainsi l'entrée du virus dans la cellule [54].

4.1.2 Les Anti-HIV :

Dans l'urgence, les firmes du monde entier tentent d'identifier des agents antiviraux efficaces pour lutter contre le COVID-19, et s'intéressent, entre autres, à plusieurs molécules déjà utilisées contre le HIV. Ces inhibiteurs de protéase du HIV, sont tous des peptidomimétiques. Ils se fixent sur le site actif de la protéase virale, et l'empêchent de catalyser le clivage des polypeptides du virus. La maturation protéique étant altérée, les virions formés sont inactifs et non infectieux [55]. Parmi ces médicaments qui ont montré une efficacité contre le coronavirus en inhibant la réplication du virus, l'association lopinavir / ritonavir, remdesivir, favipiravir, umifenovir [56].

4.2 Inhibiteurs d'origine naturelle :

Dans une situation d'urgence comme celle de la pandémie actuelle de COVID-19, et en l'absence de traitement conventionnel, la mise au point de médicaments de synthèse efficaces ou d'éventuels vaccins est soumise à la temporalité propre aux protocoles de recherches et de validation par des essais cliniques. Les médicaments à base de plantes et de produits naturels facilement disponibles et dont l'innocuité a déjà été prouvée peuvent faire gagner du temps en tant que première ligne de défense [57].

De tous les ingrédients naturels, les flavonoïdes et les terpènes pour avoir les mécanismes inhibiteurs les plus efficaces sur les molécules 3CLpro. La conclusion de ces ingrédients actifs peut aider à préparer le terrain pour développer les agents anti-COVID-19 nouveaux.

4.2.1 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes [58]. Ils sont connus pour leur activité antivirale, principalement contre le rétrovirus HIV responsable du symptôme d'immunodéficience acquise (SIDA), le virus d'influenza, le virus de l'herpès (HV), l'adénovirus (ADV) et le virus de la grippe A [59]. Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du $O_2^{\bullet-}$ et d'autres espèces réactives de l'oxygène telles que la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, la lipooxygénase, la monooxygénase microsomal, et la glutathion-S-transferase [60]. Des flavonoïdes tels que la

quercétine, l'épigallocatechine gallate, et la galloocatechine gallate (GCG) ont montré de bonnes capacités d'inhibition sur l'enzyme 3CLpro qui est nécessaire à la réplication virale du coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV) [61].

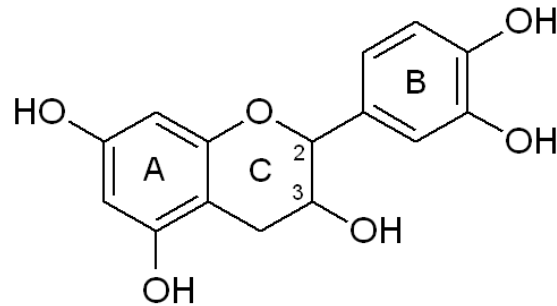


Figure09 : Structures des flavonoïdes.

4.2.2 Les terpènes :

Les terpènes sont largement présents dans la nature. Il s'agit d'une classe importante et variée d'hydrocarbures qui sont produits par une grande variété de plantes et par certains animaux. On les trouve également en abondance dans les fruits, les légumes et les fleurs. Leur concentration est généralement élevée dans les structures de reproduction des plantes et le feuillage pendant et immédiatement après la floraison. Les terpènes sont également un composant majeur des résines végétales [62].

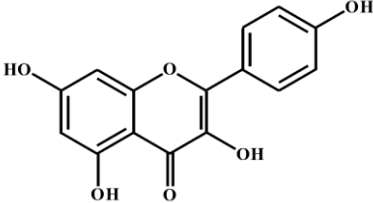
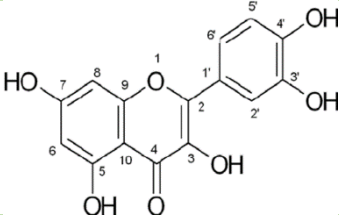
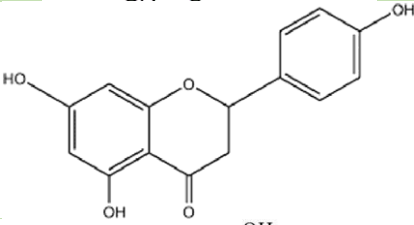
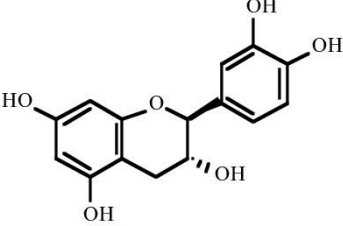
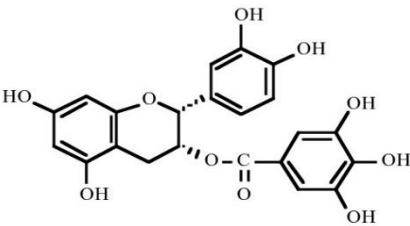
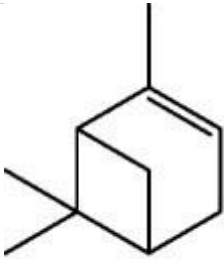
Le potentiel des phytochimiques tels que des terpènes comme des agents antiviraux ont été récemment évalués et ont suscité une importante quantité d'attention, considérant en particulier que ces substances sont abordables, dominantes la nature, et en montrant un profil de toxicité relativement inférieure.

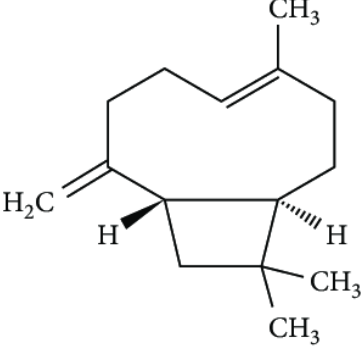
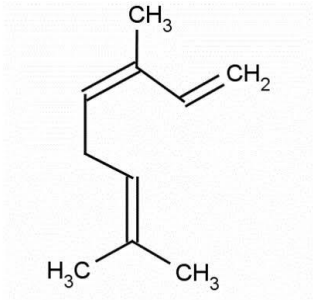
Plusieurs chercheurs ont été évalués l'activité antivirale et le mode de l'action antivirale d'une formulation de propriété industrielle de terpène (le nom de code utilisé dans cette étude était NT-VRL-1) contre HCoV-229E [63].

4.2.3 Les vitamines :

Avec la nouvelle épidémie de coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) qui se propage maintenant à travers le monde, les gens cherchent des moyens de se protéger contre le virus ou d'atténuer ses effets une fois attrapé. Parmi les moyens étudiés on trouve les vitamines C et D. Plusieurs travaux ont montré que ces vitamines améliorent significativement l'état de santé chez les patients symptomatiques non graves infectés par COVID-19 [64].

Tableau 02 : Propriétés de quelques composés naturels (Flavonoïdes et Terpènes) inhibiteurs des coronavirus [61], [65-71].

Inhibiteur	Source	Structure	Effet
Kaempferol	Épinards, Chou		Inhibition de l'activité enzymatique de la protéase 3CL
Quercetine	Fenouil, Oignon, Piment		Inhibition de l'activité enzymatique de la protéase 3CL
Naringenin	Agrumes		Inhibition de l'activité enzymatique de la protéase 3CL et de de ACE2 et la protéase Spike
Catechin	Thé vert		Inhibition de l'activité enzymatique de la protéase 3CL
Epicatechin gallate	Thé vert		Inhibition de l'activité enzymatique de la protéase 3CL
Alpha pinene	Pine, Menthe, lavande, la sauge et le gingembre		Inhibition de ACE2 et la protéase Spike

<p>b-Caryophyllene</p>	<p>Poivre noire</p>		<p>Inhibition de ACE2 et la protéase Spike</p>
<p>Ocimene</p>	<p>Feuilles de basilic</p>		<p>Inhibition de ACE2 et la protéase Spike</p>

5. Epidémiologie :

Actuellement, les patients COVID-19 sont la principale source d'infection et les patients sévères sont considérés comme plus contagieux que les patients bénins. Les personnes infectées de manière asymptomatique ou les patients en incubation qui ne présentent aucun signe ou symptôme d'infection respiratoire dont la dissémination de virus infectieux est prouvée peuvent également être des sources potentielles d'infection. De plus, les échantillons prélevés sur des patients récupérés du COVID-19 montrent en continu un test RT-PCR positif, ce qui n'a jamais été vu dans l'histoire des maladies infectieuses humaines. En d'autres termes, les personnes infectées de manière asymptomatique et les patients en incubation ou récupérés du COVID-19 peuvent poser de sérieux défis pour la prévention et le contrôle de la maladie [36].

5.1 Au Monde :

A partir de 20-06-2021 il y a environ 178 millions de cas confirmés dans le monde et en augmentation dans les pays américains, européens et d'Asie du Sud-Est (OMS 2021), avec plus de 3.8 millions de décès ont été signalé par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) [72].



Figure 10 : Statistique du COVID-19 dans le monde [72].

5.2 En Algérie :

En mars 2020, le premier cas de maladie à coronavirus confirmée (COVID-19) a été enregistré à l'institut Pasteur, le patient qui a présenté une pneumonie aiguë était un cas importé d'Europe. Depuis lors et jusqu'à maintenant, un total de 135 586 cas confirmés en laboratoire d'infection par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) ont été signalés dans les différentes régions du pays dont 3 624 décès [72].

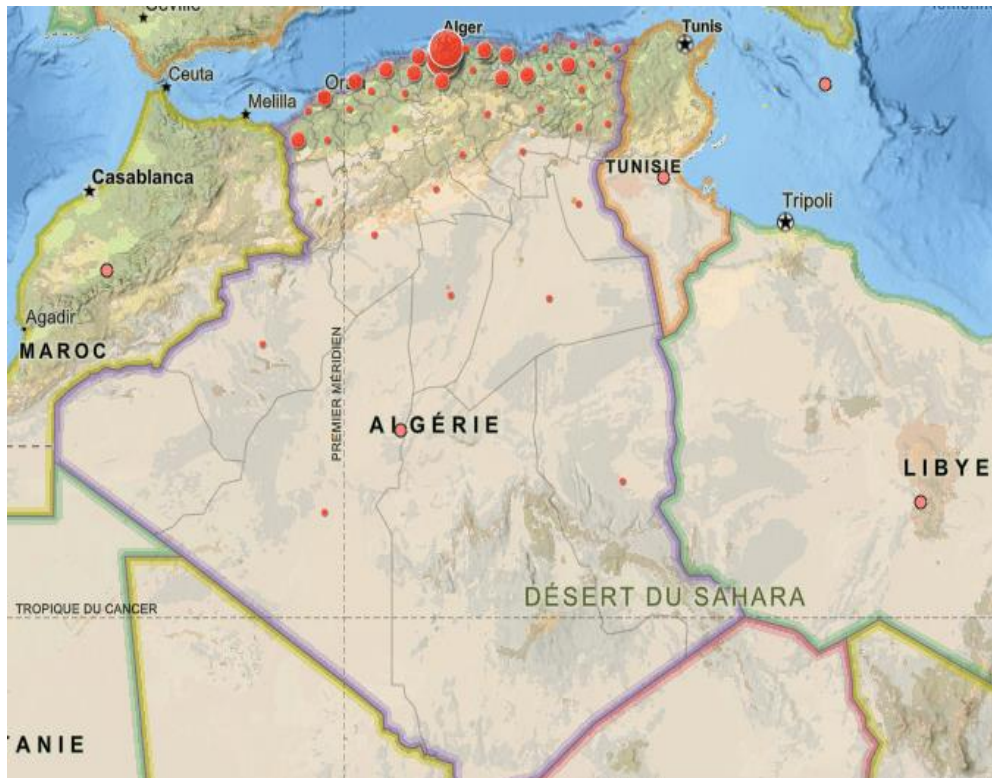


Figure 11 : Statistique du COVID-19 en Algérie.

6. Mode de Prévention :

Selon l'OMS, les moyens de prévention efficaces pour ne pas contracter le COVID-19, mais aussi pour éviter sa propagation, sont : [73]

1. Se laver les mains régulièrement avec un savon ou un désinfectant à base d'alcool ou quotidiennement avec des savons.
2. Évitez de toucher fréquemment les yeux, le nez et la bouche car ils sont le site le plus exposé pour attraper l'infection.
3. Maintenir une distance sociale d'environ 1 mètre entre les personnes qui toussent ou éternuent.
4. Maintenir l'hygiène respiratoire comme se couvrir la bouche et le nez tout en éternuant et en toussant.
5. Porter un masque médical
6. Nettoyage et désinfection de la maison et des lieux de travail.

Références bibliographiques :

1. H. Hozhabri, F. Piceci Sparascio, H. Sohrabi, L. Mousavifar, R. Roy, D. Scribano, A. De Luca, C. Ambrosi, and M. Sarshar. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **2020**.
2. S.H. myint, *Livre: the viruses*, **1995**, p 389-401.
3. P.C.Y. Woo, Y. Huang, Susanna K. P. Lau, and K.Y. Yuen. *Exp Biol Med*, **2009**, p 1117-1127.
4. C. BULUT, Y. KATO, *Turkish Journal of Medical Sciences*, **2020**, p 563-570.
5. F.W. SCOTT, F.W. Scott. *Current Veterinary Therapy IX*, **1986**, p 1059-1062.
6. P.I. Kabaka, La gestion internationale de l'épidémie du coronavirus COVID-19 en **2020**, Analyse des conséquences socio-économiques et juridiques d'une atteinte à la santé publique mondiale, **2020**, p1.
7. A. R. Fehr and S. Perlman. *Methods in molecular biology*, **2015**, p 1-23.
8. J. Cui, F. Li and Z. Shi, *Nature Reviews Microbiology*, **2019**.
9. H.M. Ashour, W.F. Elkhatab, Md. Masudur Rahman and H.A. Elshabrawy. *Journal/pathogens*, **2020**.
10. A. Vabret, J. Dina a, E. Brison a, J. Brouard b, F. Freymuth, *Pathologie Biologie*, **2009**, p 149-160.
11. E. Sallard, J. Halloy, D. Casane, J. v Helden, E. Decroly. *Médecine/sciences, EDP Sciences*, **2020**, p 783-796.
12. I. L. Paraiso, J. S. Revel and J. F. Stevens. *Current Opinion in Food Science*, **2020**, p 149-155.
13. M.d. A. Chayan, A. Jannati Nur, Mst. Sh. Khatun, R. Dash, Md R. Mafizur, M. Minnatul Karim. *Journal Adv Biotechnol Exp Ther*, **2020**, p 57-67.
14. A. Prasansuklab, A. Theerasri, P. Rangsinth , Ch. Sillapachaiyaporn, S. Chuchawankul, T. Tencomnao. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **2021**, p 144-157.
15. J. OlaleyeOladelea, O. M. Oyeleke, O. T. Oladele, A. T. Oladiji. *New Journal and we have not received input yet*, **2021**.
16. X. Jiabao, Z. Shizhe, T. Tieshan, A. Abualgasim, Z. Wan, X. Longxiang, W. Yunlong, G. Xiangqian. *The Viruses*, **2020**, p 244.
17. R. Ait Addi, A. Benksim, M. Amine, M. Cherkaoui. *Electronic Journal of General Medicine*, **2020**.
18. K. McIntosh, M.S. Hirsch, A. Bloom, *Coronavirus disease 2019 (COVID-19)*, **2020**.

19. L. E. Gralinski and V. D. Menachery. *Viruses* **2020**, p 135.
20. S. Kannan, P. S. S. Ali, A. Sheeza, K. Hemalatha. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **2020**, p 2006-2011.
21. Y. Toyoshima, K. Nemoto, S. Matsumoto, Y. Nakamura, K. Kiyotani. *Journal of Human Genetics*, **2020**, p 1075-1082.
22. A. Hussain, J. Kaler, E. Tabrez, S. Tabrez, Sh. S.M. Tabrez. *Cureus*, **2020**.
23. M. Mohamadian, H. Chiti, A. Shoghli, S. Biglari, N. Parsamanesh, A. Esmaeilzadeh. *Journal Gene Med*, **2021**.
24. YR. Guo, QD. Cao, ZS. Hong, YY. Tan, Sh. D. Chen, HJ. Jin, KS. Tan, DY. Wang and Y Yan. *Military Medical Research*, **2020**.
25. P. Antony, R. Vijayan. *Biomedical Journal*, **2021**.
26. K. Ghosh, Sk. Abdul Amin, S. Gayen, T. Jha. *Journal of Molecular Structure*, **2020**.
27. Shagufta, A. Irshad. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2021**.
28. L. Alanagreh, F. Alzoughool, and M. Atoum. *Journal List Pathogens*, **2020**.
29. A. H. de Wilde, E. J. Snijder, M. Kikkert and M. J. van Hemert. *Current topics in microbiology and immunology*, **2017**.
30. E. de Wit, N. van Doremalen, D. Falzarano, V. J. Munster. *Nature Reviews / Microbiology*, **2016**.
31. A. R. Fehr and S. Perlman. *Methods in Molecular Biology*, **2015**.
32. V. Bonny, A. Maillard, C. Mousseaux, L. Placais, Q. Richier. *La Revue de médecine interne*, **2020**, p 375-389.
33. M. Liu, T. Wang, Y Zhou, Y. Zhao, Y. Zhang, L. Jianping. *Journal of translational internal medicine*, **2020**.
34. L. Z.F. Gross, M. Sacerdoti, A. Piiper, S. Zeuzem, A. E. Leroux, and R. M. Biondi. *Chemical Biology of Regulatory Mechanisms*, **2020**.
35. M. Gheblawi, K. Wang, A. Viveiros, Q. Nguyen, J. Zhong, A. J. Turner, M. K. Raizada, M. B. Grant, Gavin Y. Oudit. American Heart Association, Inc, **2020**.
36. J. Yuefei, Y. Haiyan, J. Wangquan, W. Weidong, Ch. Shuaiyin, Z. Weiguo and D. Guangcai. *Viruses*, **2020**.
37. P. Prabakaran, X. Xiao, and D. S. Dimitrov. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2004**, p 235-241.
38. T. Behl, I. Kaur, S. Bungau, A. Kumar, Md Sahab Uddin, Ch. Kumar, G. Pal, Sahil, K. Shrivastava, Gokhan Zengin. *Life Sciences*, **2020**.

39. B. Bakhshandeh, S. G. Sorboni, AR. Javanmard, S. S. Mottaghi, M. R. Mehrabi, F. Sorouri, A. Abbasi. *Infection, Genetics and Evolution*, **2021**.
40. N. E. Ingraham, A. G. Barakat, R. Reilkoff, T. Bezdicek, T. Schacker, J. G. Chipman, C. J. Tignanelli, M. A. Puskarich. *Flagship Scientific Journal of ERS*, **2020**.
41. Y. Imai, K. Kuba, Sh. Rao, Yi Huan, F. Guo, B. Guan, P. Yang, R. Sarao , T. Wada, H. Leong-Poi, M. A. Crackower, A. Fukamizu, Ch. Hui , L. Hein, S. Uhlig, A. S. Slutsky, Ch. Jiang, J. M. Penninger. *NATURE*, Vol 436, July **2005**.
42. B. Linlin, W. Deng, H. Baoying, G. Hong, L. Jiangning, L. Ren , W. Qiang, Y. Pin, X. Yanfeng, Q. Feifei, Q. Yajin, L. Fengdi, L. Qi, W. Wenling, X. Jing, G. Shuran, L. Mingya, W. Guanpeng, W. Shunyi, S. Zhiqi, Z. Linna, L. Peipei, L. Zhao, Y. Fei ,W. Huijuan, Z. Weimin, N. Zhu, W. Zhen, Y. Haisheng, Z. Xiaojuan, L. Guo, L. Chen, W. Conghui, W. Ying, W. Xinming, X. Yan, S. Qiangming, L. Hongqi, Z. Fanli, M. Chunxia, Y. Lingmei, Y. Mengli, H. Jun, X. Wenbo, T. Wenjie, P. Xiaozhong, Q. Jin, W. Guizhen, Q. Chuan. *Nature* 583, **2020**.
43. J. Gómez, G. M. Albaiceta, M. García-Clemente, C. López-Larrea, L. Amado-Rodríguez, I. Lopez-Alonso, T. Hermida, A. I. Enriquez, P. Herrero, S. Melón, M. E. Alvarez-Argüelles, J. A. Boga, S Rojo-Alba, E. Cuesta-Llavona, V. Alvarez, R. Lorca, E. Coto. *Gene* 762, **2020**.
44. M. Bosso, T. Alphonse Thanaraj, M. Abu-Farha, M. Alanbaei, J. Abubaker and F. Al-Mulla. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development* 18, **2020**.
45. R. Hilgenfeld. *FEBS Journal* 281, **2014**, p 4085-4096.
46. K. Anand, J. Ziebuhr, P. Wadhwani, J. R. Mesters, R. Hilgenfeld. *Science* 300, 2003.
47. D. Juckel, J. Dubuisson, S. Belouzard. *Médecine/sciences*, **2020**, p 633-41.
48. S. Jager, P. Cimermancic, N. Gulbahce, J. R. Johnson, K. E. McGovern, S. C. Clarke, M. Shales, G. Mercenne, L. Pache, K. Li, H. Hernandez, G. M. Jang, S. L. Roth, E. Akiva, J. Marlett, M. Stephens, I. D’Orso, J. Fernandes, M. Fahey, C. Mahon, A. J. O’Donoghue, A. Todorovic, J. H. Morris, D. A. Maltby, Tom Alber, Gerard Cagney, Frederic D. Bushman, John A. Young, Sumit K. Chanda, Wesley I. Sundquist, T. Kortemme, R. D. Hernandez, Ch. S. Craik, A. Burlingame, A. Sali, A. D. Frankel, N. J. Krogan. *Nature*, **2011**, p 365-370.
49. X. Li, Y. Song, G. Wong et J. Cui, *Life Sciences*, **2020**.
50. T.S. Brandon Ng, K. Leblan, D.F. Yeung, T.S.M. Tsang. *Canadian Family Physician / Le Médecin de famille canadien*, **2021**.

51. M. Kumar, A. Kumar Patel, A. V Shah, J. Raval, N. Rajpara, M. Joshi, C. G Joshi. *Science of the Total Environment*, **2020**.
52. C. Samer, F. Curtin, KR Ing-Lorenzini, P. Vetter. *Département de Médecine Aiguë, Service de Pharmacologie et Toxicologie Cliniques*, **2020**.
53. B. Traore, G. Tsoumbou Bakana, S. Nani, S. Hassoune. *Revue Marocaine de santé publique*, **2020**.
54. J. Fuhier, F. Cova. *Judgment and decision Making*. Vol. 15, **6 November 2020**, p 889-908.
55. É. Bursaux. *Médecine/sciences*, **1996**.
56. A. Benchikh, H. Benzaaza. Mémoire de master. *Université Mohamed El bachir El Ibrahimi B.B.A*, **2020**, p 13.
57. R.A. Khamitov, S.I. Loginova, V.N. Shchukina, S.V. Borisevich, V.A. Maksimov, AM. Shuster. *Vopr Virusol*, **2008**, p 9-13.
58. L. Belilet, L. Boulebtina, R. Boumendjel. Mémoire de master. *Université de Djijel*, **2020**, p 11.
59. G. Spedding, A. Ratty, E.Middleton. Department of Medicine. *State University of New York at Buffalo, Buffalo General Hospital, Buffalo, U.S.A*, **1989**.
60. P.G. Pietta. *Institute of Advanced Biomedical Technologies, National Council of Research via F.lli Cervi, Italy*, **2005**.
61. T. T. H. Nguyen, H.J. Woo, H.K. Kang, V.D. Nguyen, Y.M. Kim, D.W. Kim, S. A.Ahn, Y. Xia, D. Kim. *Biotechnol Lett*, **2012**.
62. R. Paduch, M. Kandefer–Szerszeń, M. Trytek, J. Fiedurek. *Arch, Immunol. Ther. Exp*, **2007**, p 315-327.
63. L. Chatow, A. Nudel, I. Neshet, D. Hayo Hemo, P. Rozenberg, H. Voropaev, I. Winkler, R. Levy, Z. Kerem, Z. Yaniv, N. Eyal. *Journal life*, **2021**.
64. M. Castillo. *Clinicaltrials*, **2020**.
65. R. Y. Utomo, M. Ikawati, E. Meiyanto. *Preprints*, **2020**.
66. T. E. Tallei, S. G. Tumilaar, N J. Niode, Fatimawali, B. J. Kepel, R. Idroes, Y. Effendi. *Preprints*, **2020**.
67. G. S. Kumar, R. Manivannan, B. Nivetha. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, **2021**.
68. S. Khaerunnisa, H. Kurniawan, R. Awaluddin, S.Suhartati, S. Soetjipto. *Preprints*, **2020**.

69. K. J. Senthil Kumar, M. G. Vani, C. S. Wang, C. C. Chen, Y. C. Chen, L.P. Lu, C. H. Huang, C. S. Lai, S. Y. Wang. *Plants*, **2020**.
70. R. S. Cheke, R. R. Narkhede, S. D. Shinde, J. P. Ambhore, P.G. Jain. *Platinum Open Access Journal*, **2020**.
71. S. Hamimed, N. Jebli, R. Hamimed, A. Landoulsi, A. Chatti. *IBM journal*, **2021**.
72. [COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center \(jhu.edu\)](https://www.jhu.edu/coronavirus).
73. M.A. Jahangir, A. Muheem and M.F. Rizvi. *International Journal of Pharmaceutics - Pharmacology*, **2020**.

1. Introduction :

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre deux molécules. De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires, regroupées sous le nom de "amarrage" ou "Docking" moléculaire ont été développées.

Le Docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*. Les logiciels de Docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, où la plupart des principes actifs sont de petites molécules appelés ligand qui interagissent avec une cible biologique macromoléculaire d'intérêt thérapeutique, généralement un acide nucléique ou une protéique désigné par le terme récepteur.

2. Définition du Docking moléculaire :

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable [1]. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules.

L'utilisation de la technique de « Docking » apparaît comme une alternative très intéressante quand on n'a pas une réelle connaissance sur le site actif. Le problème le plus important pour l'étape de docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel c'est-à-dire l'échantillonnage de l'espace des configurations du complexe ligand-récepteur.

3. Principe général de Docking :

Le rôle principal de cette technique est étudié puis prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure de récepteur (protéine). Le docking moléculaire se déroule en deux étapes distinctes :

- La première « Docking » est l'étape de sélection, qui consiste à positionner le ligand dans le site choisi (site actif) de la protéine et à échantillonner les conformations,

positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.

- La seconde dite « Scoring » est l'étape de classement, cette méthode permet l'évaluation des interactions énergétiques potentielles (l'affinité) entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées. Ces deux étapes se différencient par le programme de docking utilisé [2].

4. Algorithmes de docking :

Chaque programme de docking diffère par rapport aux autres par leurs algorithmes d'échantillonnage, par leur manière de manipuler la flexibilité du ligand et de la protéine et par leurs fonctions d'évaluation des complexes. Les algorithmes de docking peuvent être séparés en deux grandes classes :

- Ceux qui ne tiennent pas compte de la flexibilité de la protéine, en traitant celle-ci comme un corps rigide,
- Et ceux qui sont capables de prendre en compte, partiellement la flexibilité du récepteur. Des études ont montré que certains algorithmes de docking sont plus fiables que d'autres pour reproduire le mode de fixation expérimentale des ligands [3].

Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent être classés en différents groupes selon la méthodologie utilisée : les algorithmes de recherche systématique, stochastique et les approches de simulation.

4.1 Recherche systématique :

Le principe général est de couper le ligand en fragments rigides et flexibles (**Figure 01**). Dans un premier lieu, un ou plusieurs fragments qui doivent être rigides sont placés au sein du site actif et donc mis en interaction avec la cible, puis le ligand est reconstruit en plaçant les fragments flexibles d'une manière successive tout en exploitant les angles de torsion [4]. Des programmes comme FlexX, Surflex et Dock utilisent cette approche qui permet notamment un criblage rapide de vastes chimiothèques de molécules [5].

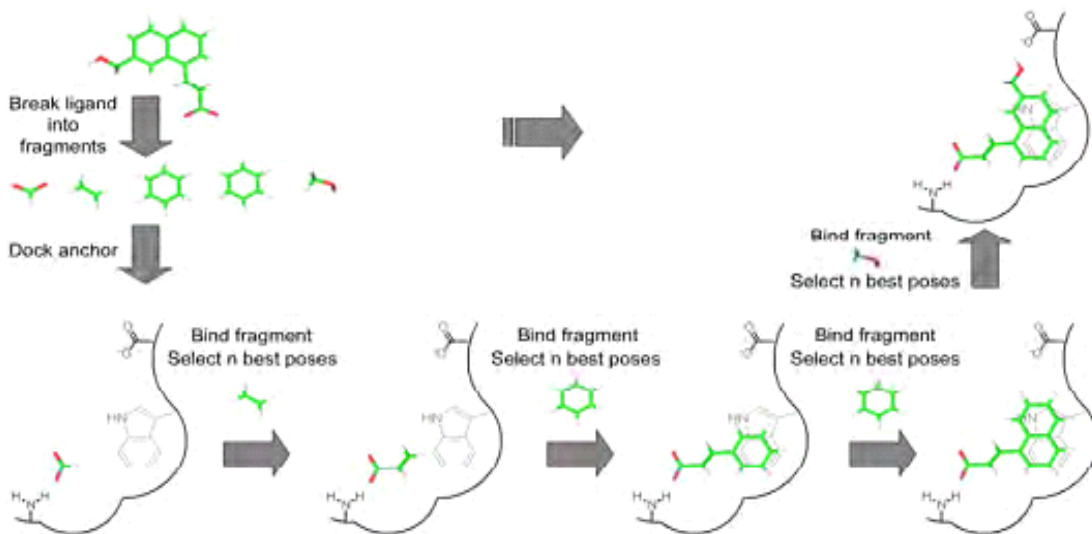


Figure 01 : Construction incrémentale.

4.2 Recherche stochastique (génétique) :

L'approche stochastique est plus précise, à partir d'une position initiale aléatoire, à l'extérieur du site actif, le ligand considéré dans son entier explore le site actif étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur. Ces techniques sont plus lentes que la méthode systématique mais prennent mieux en considération la flexibilité du ligand et permettent l'exploration des régions plus vastes. Dans cette catégorie, nous pouvons citer GOLD et Auto Dock [6].

4.3 Approches de Simulation :

Les méthodes de simulation sont basées sur la résolution des équations du mouvement de Newton. Elles comprennent notamment les techniques de dynamique moléculaire et des algorithmes de minimisation. Les premières ne sont jamais utilisées pour générer de la flexibilité sur le ligand car elles demandent un temps de calcul non compatible avec la gestion de bases de molécules. Les secondes en revanche sont parfois utilisées dans les programmes de docking, en complément d'un autre algorithme de recherche, afin d'atteindre une conformation de basse énergie [7].

5. Fonctions de score :

Les fonctions de score sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de docking correctes de celles incorrectes. Le score permettra non seulement de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux.

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. L'évaluation de ces complexes permet de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel. L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques : les interactions hydrophobes, les interactions électrostatiques, les liaisons hydrogène, les effets de solvation et les effets d'entropie.

Le principe thermodynamique est le suivant [8]:

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}} \quad (1)$$

Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité.

L'association non covalente et réversible d'un récepteur (R) et d'un ligand (L) pour former un complexe récepteur-ligand (RL), dans un milieu aqueux contenant des électrolytes peut être décrite par l'équation 2 :



À l'équilibre, cette réaction est déterminée par un constant d'équilibre K (équation 3) et aussi par l'énergie libre de liaison ΔG° (équation 4).

$$K = \frac{[RL]}{[R] \times [L]} \quad (3)$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (4)$$

Où R est la constante des gaz parfaits et T est la température (en kelvin) [9,10].

Théoriquement, le complexe est favorable si la variation d'énergie libre globale de complexation est négative ($\Delta G < 0$). En pratique, l'évaluation de l'énergie libre des complexes est une tâche souvent coûteuse. De ce fait, des méthodes approximatives ont été développées pour distinguer (évaluer et classer) les meilleurs complexes parmi ceux générés par une procédure de docking.

Dans les programmes de docking, on trouve différents types de fonction de score :

5.1 Les fonctions de score basées sur un champ de force :

Les champs de force dans leur forme standard évaluent la somme de deux énergies issues de la mécanique moléculaire : l'énergie entre atomes liés au sein d'une molécule donnée et l'énergie entre atomes non liés. Ce deuxième terme correspond au terme principal de l'énergie d'interaction protéine-ligand dans le cas d'une application à un problème de Docking.

L'affinité d'un ligand donné pour le site actif, mesuré en tant qu'énergie d'interaction, correspond à la somme des énergies d'interaction de van der Waals et électrostatiques : le terme de type van der Waals, en général par un potentiel de Lennard-Jones, et le terme électrostatique coulombien assorti d'une fonction diélectrique dépendante de la distance qui permet d'atténuer les contributions des interactions charge-charge. On peut ajouter à la fonction de score un terme d'énergie interne du ligand. Seule la contribution enthalpique de l'énergie libre d'interaction est ainsi prise en compte [11].

Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force les plus rigoureux comme AMBER [12, 13], CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics) [14, 15], GROMOS (GRONingen MOlecular Simulation System) [16] et OPLS (Optimized Potentials for Liquids Simulation) [17].

5.2 Les fonctions de score empiriques :

Ce type de fonction de score approxime l'énergie libre de liaison en sommant de façon pondérée différents termes d'interaction dérivés de paramètres structuraux. Les différents poids de la fonction de score sont ajustés pour reproduire en priorité des données expérimentales, telles que les constantes de liaison tirées d'un jeu d'entraînement de complexes protéine-ligand. La plupart des programmes de docking implémentent ce type de fonction de score témoignant de leur efficacité (en termes de rapport précision/rapidité). Cependant, le principal inconvénient de ces fonctions empiriques est leur forte dépendance aux données utilisées pour les calibrer qui, en cas de mauvaise paramétrisation, peut limiter leur transférabilité sur des systèmes différents [11]. Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage notamment FlexX [18], Chemscore et LUDI [19, 20].

5.3 Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based » :

Ces fonctions proviennent de l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés expérimentalement afin de reproduire ces données expérimentales obtenues à partir des structures, sans tenir compte de l'énergie des liaisons. Des règles définissant la géométrie préférentielle des interactions sont déduites de ces structures grâce à des moyens statistiques [21, 22].

Ces fonctions statistiques, dépendent de leurs groupes d'apprentissage (expérience), elles ne peuvent modéliser que les interactions qui existent dans leurs bases de données expérimentales. Par conséquent, ce type de fonctions permet d'établir une corrélation entre l'état thermodynamique du complexe protéine-ligand qui forme un système et la probabilité de trouver ce complexe dans un état microscopique donné [23]. Ainsi les fréquences sont converties en enthalpie libre (énergie) grâce à une distribution de Boltzmann, les potentiels sont donc nommés potentiels de force moyenne (Potential of Mean Force : PMF).

5.4 Fonctions de score consensus :

L'idée principale de ces fonctions hybrides est de combinée les informations obtenues à partir des différents scores obtenus afin de compenser les erreurs des fonctions de score individuelles [24]. Plusieurs études ont montré que les énergies libres des complexes sont performées par ces fonctions, ainsi les interactions protéine-ligand sont mieux que les fonctions individuelles [25, 26]. Un exemple de fonction de score consensus est X-CSCORE [27] qui combine un PMF [28, 29], et ChemScore [30].

6. Les outils de Docking :**6.1 Préparation des récepteurs :**

De nombreuses informations associées à chaque structure sont accessibles à l'ensemble de la communauté scientifique via la PDB par un serveur internet (<https://www.rcsb.org/>). Le fichier pdb contient diverses informations sur la macromolécule telle que le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette banque de donnée et si cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, il devient alors possible de construire la structure 3D de la cible souhaitée, en utilisant la modélisation par homologie [31, 32].

6.2 Préparation des ligands :

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules [33]. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné :

- Le premier souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques [34].
- Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, etc.).

6.3 Les logiciels :

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de Docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont : AutoDock, AutoDock Vina, GOLD, FlexX, DOCK et Molegro Virtuel Docker (MVD).

AutoDock Vina :

AutoDock Vina est un programme de Docking dérivé d'AutoDock comme son nom l'indique, qui a également été développé par le groupe de Arthur J. Olson au "Scripps Research Institute" (<http://autodock.scripps.edu/>) [35]. AutoDock Vina utilise une méthode de gradient d'optimisation sophistiquée dans sa procédure d'optimisation locale.

L'algorithme de positionnement des ligands dans AutoDock Vina est une application globale d'une recherche de type itérative locale "Iterated Local Search global optimizer" [36,37]. Ce type d'algorithme est utilisé pour sortir des minimas locaux qui ne permettent plus d'améliorer la conformation. Pour ce faire, l'algorithme est relancé à partir d'une structure géométrique légèrement différente.

7. Les interactions protéine-ligand :

Les interactions entre une protéine et un ligand sont en général de nature non covalente et génèrent une énergie appelée énergie libre de Gibbs. Les molécules organiques sont capables de s'auto-associer les unes aux autres grâce à plusieurs types de liaisons faibles, dont les forces électrostatiques, les forces de van der Waals, les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes. Les associations sont dues aux propriétés chimiques, électroniques, et géométriques des molécules. À l'inverse des liaisons covalentes, les liaisons faibles permettent une grande flexibilité et plasticité des macromolécules (protéine, enzymes, complexes protéine-ligand ou protéine-protéine). Les interactions qui stabilisent les structures tridimensionnelles des macromolécules sont [38].

7.1 Les forces de Van Der Waals :

Ces interactions ont été étudiées par J.D. van der Waals, physicien hollandais, prix Nobel de physique 1910. Elles reposent sur les interactions entre les dipôles constitués par les molécules non permanentes de faible rayon d'action (**Figure 02**).

Pour des atomes distants de 3-4 Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice [39-41].

On distingue trois types de ces interactions :

- Interaction dipôle permanent – dipôle permanent ou effet d'orientation de Keesom : Ce type d'interaction se développe entre deux molécules polaires.
- Interaction dipôle permanent – dipôle instantané ou effet d'induction de Debye : Ce type d'interaction se développe entre une molécule polaire et une molécule quelconque (polaire ou apolaire).
- Interaction dipôle instantané–dipôle instantané ou dispersion de London : Ce type d'interaction se développe entre deux molécules quelconques (polaires ou apolaires). Ces interactions sont très faibles mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au totale une force importante [42].

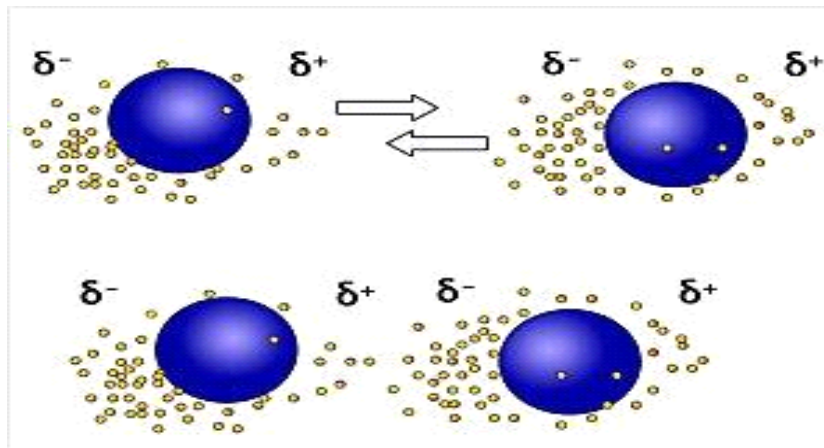


Figure 02 : Les interactions de Van der Waals.

7.2 Les Liaison hydrogène :

Cette liaison, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électro-négatif (le donneur D) est attiré par un autre atome électro-négatif (l'accepteur A). Le nuage électronique de l'hydrogène est attiré par l'atome donneur qui est relativement plus électro-négatif que l'atome d'hydrogène créant ainsi une charge partielle positive sur l'hydrogène. Cette charge positive est attirée par la charge partielle négative portée par l'atome accepteur donnant ainsi naissance à une interaction désignée par pont hydrogène, avec une force de l'ordre de 2 à 4 Kcal/mol agissent dans les systèmes biologiques, à très courte distance (0.8 à 2.8 Å). Ils sont peu nombreux et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°). Elle est définie par la distance entre les deux atomes qui forment la liaison covalente D-H de type δ , la longueur de l'interaction H...A et l'angle D-H...A, **Figure 03**.

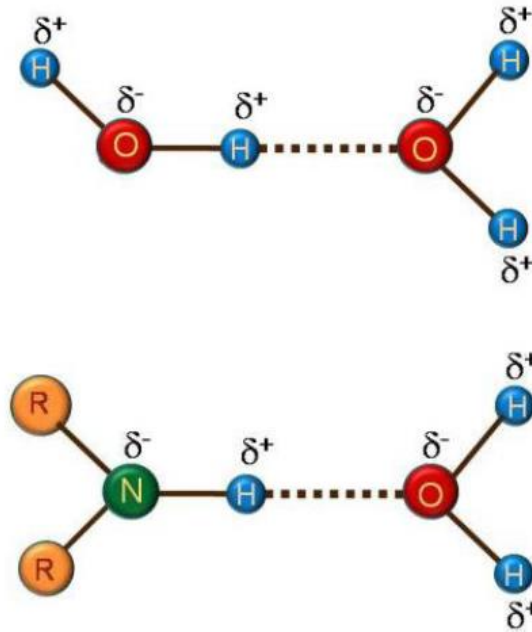


Figure 03 : Exemples d'une liaison hydrogène.

7.3 Les interactions hydrophobes :

Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent donc pas s'hydrater, on les nomme pour cette raison substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau [42]. La force des liaisons hydrophobes est de l'ordre de 20 à 30 kJ/mol [39, 40].

7.4 Les Interactions électrostatiques :

Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés. La distance pour une liaison saline, par exemple, est de 3.7 à 4.5 Å, et sa force est de l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau [43].

Références bibliographiques

1. T. Lengauer, M.J. Rarey. *Current Opinion in structural Biology*, **1996**, p 402-406.
2. M. François. Thèse de doctorat. *Université paris*, **2007**.
3. E. Chaib, S. Guemmor. Mémoire présenté du Diplôme de Master, **2015**.
4. H. Bouchrit. Thèse de magister. *Université Mentouri. Algérie*, **2012**, p 70.
5. M.A. Bessadok. Thèse de doctorat. *Université Pierre et Marie Curie. France*. **2011**. p189.
6. M. Brut. Thèse de doctorat. *Université pierre et marie curie. France*, **2009**, p 123.
7. M. Vieth, J.D. Hirst, A. Kolinski, C.L. Brooks. *Journal of computational chemistry*, **1998**, p 1612.
8. A. Arrault. Thèse de doctorat. *Université d'Orleans. France*, **2007**, p 176.
9. A. Grosdidier. Thèse de doctorat. *Université Joseph Fourier. France*, **2007**, p 90.
10. M. Brut. Thèse de doctorat. *Université Toulouse III - Paul Sabatier. France*, **2009**, p 170.
11. A. Arrault. Thèse de doctorat. *Université d'Orleans. France*, **2007**, p 50.
12. P.K. Weiner, P.A. Kollman. *Journal of Computational Chemistry*, **1981**, p 287.
13. S.J. Weiner, P.A. Kollman, D.T. Nguyen, D.A. Case. *Journal of Computational Chemistry*, **1986**, p230.
14. B.R. Brooks, R.E. Bruccoleri, B.D. Olafson, D.J. States, S. Swaminathan, M. Karplus. *Journal of Computational Chemistry*, **1983**, p 187.
15. L. Nilsson, M. Karplus. *Journal of Computational Chemistry*, **1986**, p 591.
16. W.F. Van Gunsteren, H.C. Berendsen. *Angrw. Chem. Int. Ed. Engl*, **1990**, p 992.
17. W.L. Jorgensen, J. Tirado-Rives. *Journal of American chemical society*, **1988**, p 1657.
18. M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer. *Journal of molecule biology*, **1996**, p 470.
19. D.B. Kitchen, H. Decornez, J.R. Furr, J. Bajorath. *Drug discovery*, **2004**, p 935.
20. A.S. Reddy, S.P. Pati, P.P. Kumar, H.N. Pradeep, G.N. Sastry. *Current Protein and Peptide Science*, **2007**, p 329.
21. H.J. Boehm. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, **1994**, p 243-256.
22. I. Muegge. *Perspectives in Drug Discovery and Design*, **2000**, p 20- 99-114.
23. C. Perez, M. Pastor, A.R. Ortiz, F.J. Gago. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1998**, p 41- 836-852.
24. P.S. Charifson, J.J. Corkery, M.A. Murcko, W.P. Walters. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1999**, p 42.
25. C. Bissantz, G. Folkers, D. Rognan. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2000**, p 43.

26. Terp GE, Johansen BN, Christensen IT, Jørgensen FS. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2001**, p 44.
27. RX. Wang, LH. Lai, SM. Wang. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, **2002**, p 16- 11 -26.
28. I. Muegge. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2006**, p 49.
29. I. Muegge. *Journal of Computational Chemistry*, **2001**, p 22.
30. MD. Eldridge, CW. Murray, TR. Auton, GV. Paolini, RP. Mee. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, **1997**, p 11.
31. L. Martin. Thèse de doctorat. *Université Montpellier 2. France*, **2006**, p 149.
32. RCSB PDB. RCSB PDB statistics. [En ligne] http://www.pdb.org/pdb/static.do?p=general_information/pdb_statistics/index.html, **17-04-2011**.
33. A. Monge. Thèse de doctorat. *Université d'Orléans. France*, **2006**, P 154.
34. O. Trott, AJ. Olson. AutoDockVina. *Journal of Computational Chemistry*, **2010**, p 455 - 461.
35. J. Baxter. *Journal of the Operational Research Society*, **1981**, p 815-819.
36. HR. Lourenço, OC. Martin, T. Stützle. "Iterated local search: Framework and applications, in Handbook of Metaheuristics". *Springer*, **2010**, p 363-397.
37. W. Guerfi, M. Cherifi. Mémoire présenté du Diplôme de Master, **2016**.
38. <http://adherence-gecko.e-monsite.com/pages/ii-comment-expliquer-le-fait-que-ces-geckos-puissent-adherer-a-des-surfaces-lisses-verticales/d-forces-de-van-der-waals.html> .consulté le 20/04/2017.
39. G. Karp G, " Biologie moléculaire et cellulaire",3éme édition, France : De Boeck, **2004**, p 850.
40. D. Voet, J.G. Voet. "Biochimie", 2éme édition,France : De Boeck, **2005**, p 1600.
41. A. GauchardP. "Les interactions de faible énergie",http://www.umvf.biomedicale.univ-paris5.fr/.../gauchard_pierre_alexis_05.pdf.
42. JN. Israelachvili. "Intermolecular and surface forces. Academic Press", 2e édition, Londres, **1997**.
43. M.L. Abdallah Chaouche. Mémoire Présenté du Diplôme de Master, **2014**.

1. Introduction :

Dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules naturelles efficaces contre le COVID-19, et afin de trouver de nouveaux inhibiteurs de ce virus, nous avons étudié par docking moléculaire l'inhibition d'une série de molécules d'origine naturelle et quelques médicaments avec deux récepteurs du COVID-19 : ACE2 et M-Pro. Les recherches dans ce domaine ont montré que ces deux récepteurs sont des cibles antivirales intéressantes.

L'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE2) est un récepteur fonctionnel du SARS-CoV-2 qui peut faciliter l'entrée du virus dans les cellules de l'hôte en se liant à la protéine de pointe (S) du virus.

La protéase virale principale (M-pro) est essentielle à la réplication des coronavirus.

Les ligands utilisés dans notre étude appartenant à la famille des flavonoïdes, des furanocoumarines et des vitamines, on les trouve dans plusieurs sources naturelles telles que : les agrumes (citron, orange pamplemousse), le poivron, le maïs, les épinards ainsi que plusieurs fruits et légumes.

2. Méthodologie du travail:

Dans ce travail nous avons suivi les étapes suivantes :

2.1 Préparation des récepteurs :

Cette étape préliminaire du docking moléculaire, consiste au téléchargement des structures chimiques. La plupart des structures sont disponibles via la « Protein Data Bank » et téléchargées sous forme PDB (<http://www.pdb.org>). C'est une banque de données concernant les structures protéiques ou nucléiques (ou les deux) obtenues par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN.

Parmi plusieurs protéines proposées par la PDB, nous avons choisi les codes 6LU7 et 6LZG définit comme suit :

- 6LU7 : Ce code représente la structure 3D de M-pro constituée d'une seule chaîne (A), dans laquelle se trouve un seul ligand, avec une résolution de 2.16 Å.
- 6LZG : ce code représentant la structure 3D d'ACE2 constituée de deux chaînes (A et B) le ligand naturel se trouve dans la chaîne (B) avec une résolution de 2.5 Å.

Il s'agit des structures correctement définies avec une bonne résolution. Avant l'utilisation par AutoDock Vina [1], chaque complexe est séparé de son ligand afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre et par suite on élimine les molécules d'eau et on ajoute les hydrogènes. La protéine préparée est convertie au format pdbqt.

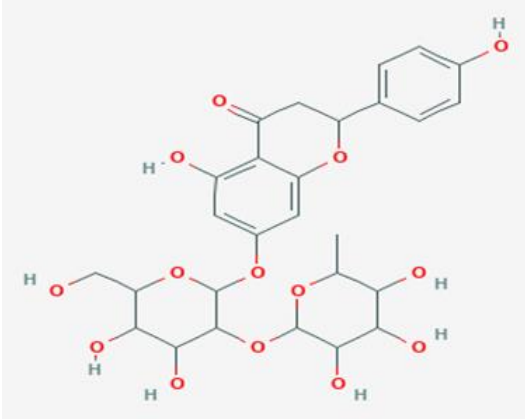
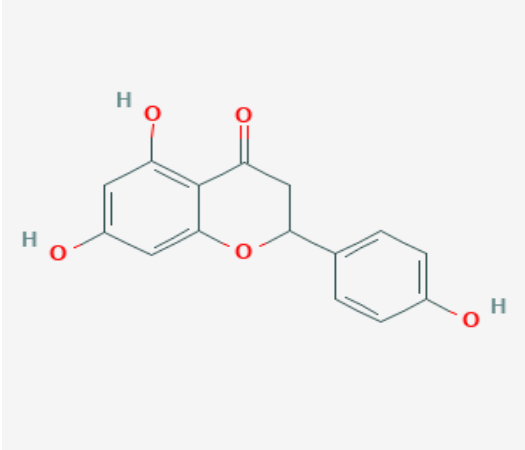
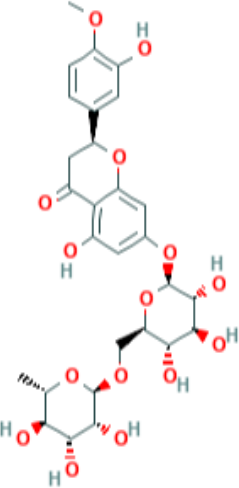
2.2 Préparations des inhibiteurs :

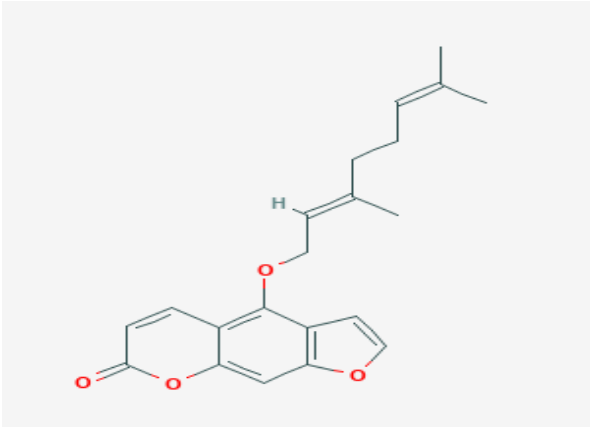
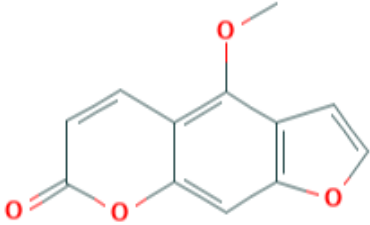
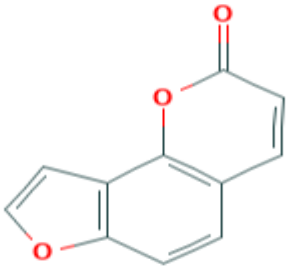
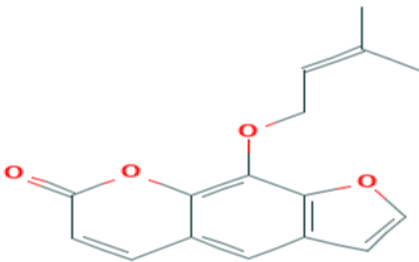
Les ligands étudiés ont été téléchargés via la chimiothèque PUBCHEM (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). C'est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis, sous l'autorité de la National Institutes of Health (NCI). Dans ce travail nous avons étudié dix inhibiteurs d'origine naturelle trois flavonoïdes, cinq furanocoumarines et deux vitamines, ainsi que quatre inhibiteurs médicamenteux deux anti-HIV (Inhibiteurs de la protéase du SIDA) et deux anti-malariques utilisés comme références, les structures 2D sont récapitulées dans **les tableaux 01 et 02**.

Puis nous avons utilisés le logiciel GUASSIAN 09W [2], pour l'optimisation des ligands par la méthode semi empirique AM1 afin de trouver les conformations les plus stables. Les molécules ainsi obtenues sont enregistrées en format pdb, par l'utilisation du logiciel Discovery [3].

La phase finale de préparation du ligand a été réalisée par le sous-programme vina. Ce dernier a pour rôle de contrôler les mouvements du ligand, en définissant les atomes aromatiques, les liaisons flexibles et les angles de torsion. La molécule finale est enregistrée en format pdbqt avant son utilisation par AutoDock.

Tableau 01 : Structures des inhibiteurs.

Ligand	2D
	<p data-bbox="783 331 986 365">Les flavonoids</p>
<p data-bbox="411 607 552 640">Naringine</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Naringin, a flavone glycoside. It consists of a flavone aglycone core (naringenin) linked to a naringinose sugar moiety. The aglycone has a 4-hydroxyphenyl group at the 7-position and a 4-hydroxyphenyl group at the 4-position. The sugar moiety is a disaccharide of galactose and glucose.</p>
<p data-bbox="395 1122 568 1155">Naringinine</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Naringinone, a flavone glycoside. It consists of a flavone aglycone core (naringinone) linked to a naringinose sugar moiety. The aglycone has a 4-hydroxyphenyl group at the 7-position and a 4-hydroxyphenyl group at the 4-position. The sugar moiety is a disaccharide of galactose and glucose.</p>
<p data-bbox="395 1682 568 1715">Hespéridine</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Hesperidin, a flavone glycoside. It consists of a flavone aglycone core (hesperetin) linked to a hesperidinose sugar moiety. The aglycone has a 4-methoxyphenyl group at the 7-position and a 4-hydroxyphenyl group at the 4-position. The sugar moiety is a disaccharide of galactose and glucose.</p>

	Furanocoumarines
<p>Bergamottine</p>	 <p>The structure of Bergamottine is a furanocoumarin derivative. It features a central coumarin core with a furan ring fused to the 3-position. At the 7-position, there is a prenyl chain consisting of a methylene group attached to an isoprenoid side chain. The side chain is shown in a zig-zag conformation with a terminal methyl group and a hydrogen atom explicitly labeled on the double bond.</p>
<p>Bergaptene</p>	 <p>The structure of Bergaptene is a furanocoumarin derivative. It features a central coumarin core with a furan ring fused to the 3-position. At the 7-position, there is a methoxy group (-OCH₃).</p>
<p>Angélicine</p>	 <p>The structure of Angélicine is a furanocoumarin derivative. It features a central coumarin core with a furan ring fused to the 3-position. At the 7-position, there is a coumarin-2(1H)-one moiety attached via an oxygen atom.</p>
<p>Impératorine</p>	 <p>The structure of Impératorine is a furanocoumarin derivative. It features a central coumarin core with a furan ring fused to the 3-position. At the 7-position, there is a prenyl chain consisting of a methylene group attached to an isoprenoid side chain.</p>

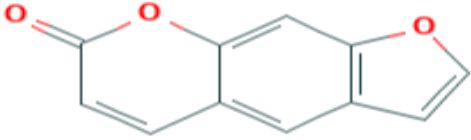
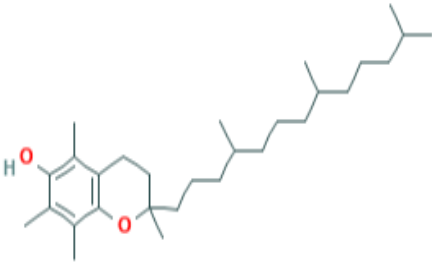
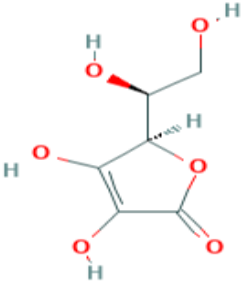
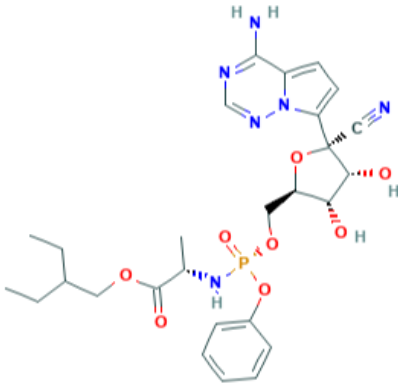
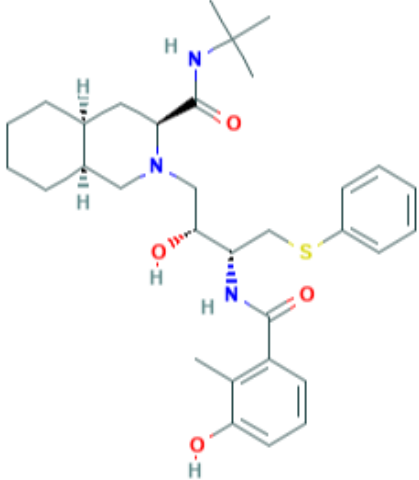
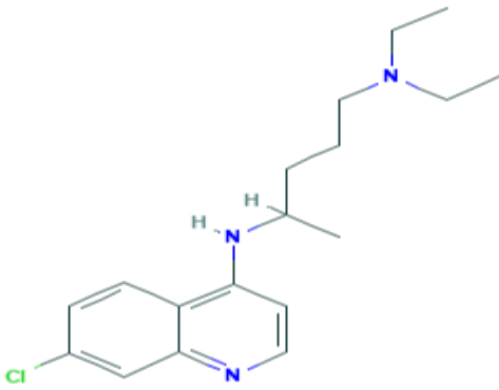
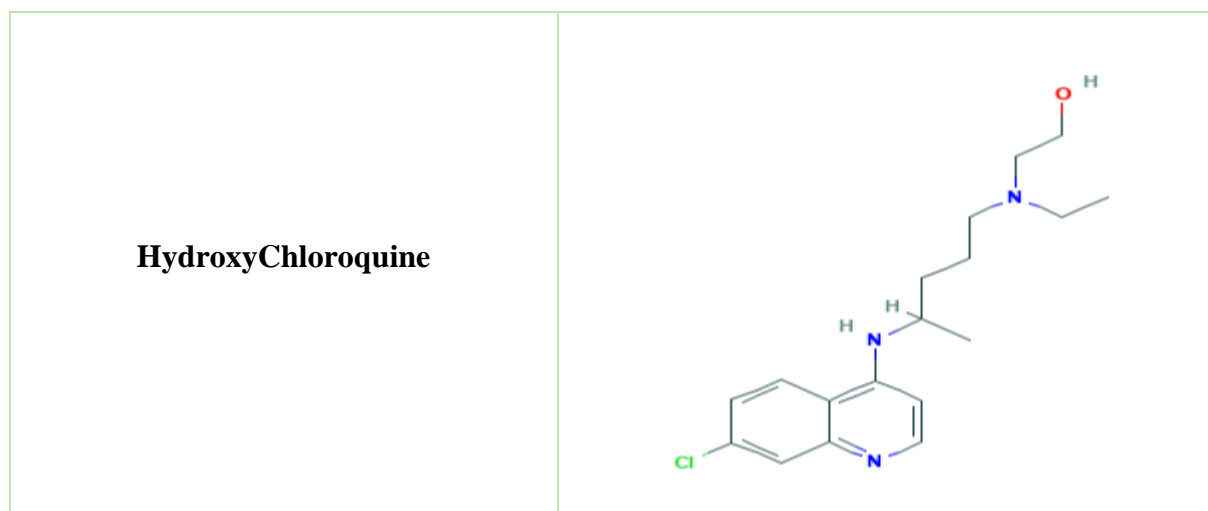
<p>psoralene</p>	
	<p>Vitamines</p>
<p>α-Tocophérol (vitamine E)</p>	
<p>Acide ascorbique (vitamine C)</p>	

Tableau 02 : Structures des médicaments.

Ligand	2D
Remdisivir	<p data-bbox="1038 331 1102 365">HIV</p>  <p>The image shows the chemical structure of Remdesivir, an antiviral drug. It features a central ribose sugar ring with a cyano group (C≡N) at the 2' position and a phosphonate group at the 3' position. The phosphonate group is linked to a side chain containing a benzene ring and a nitrogen atom. The nitrogen atom is further substituted with a propyl group and a methyl group.</p>
Nelfinavir	 <p>The image shows the chemical structure of Nelfinavir, an HIV protease inhibitor. It consists of a piperidine ring system with a tert-butyl amide group and a side chain containing a sulfur atom and a phenyl ring. The side chain also includes a methyl group and a hydroxyl group.</p>
	<p data-bbox="959 1462 1182 1496">Anti malariques</p>
Chloroquine	 <p>The image shows the chemical structure of Chloroquine, an antimalarial drug. It features a quinoline ring system with a chlorine atom at the 7-position and a side chain containing a nitrogen atom and a propyl group.</p>



2.3 Préparation de la grille :

Pour augmenter la vitesse d'évaluation de l'énergie du système, les récepteurs 6LU7 et 6LZG sont plongés dans une grille tridimensionnelle englobant largement le site actif de la protéine étudié et permettant la libre rotation du ligand dans ce site. La boîte est alors centrée sur le ligand et ses dimensions sont proportionnelles à la taille de tous les ligands étudiés.

Tableau 03 : La boîte GRID BOX des protéines.

Récepteurs	X	Y	Z	Dimension A ⁰³	Resolution
6LU7	-9.732	11.403	68.925	60x60x60	2.16
6LZG	-32.201	28.937	6.225	54x54x54	2.5

3. Résultats et discussion :

3.1 Interactions M-pro :

3.1.1 Présentation du récepteur : Site actif :

Le site actif de l'enzyme est formé par His41, Met 49, Phe140, Lue141, Asn142, Gly143, His163, His164, Met165, Glu166, Leu167, Pro168, His172, Gln189, Thr190 et Ala191. Les résidus d'acides aminés His41 et Cys145 représentent une dyade catalytique dans le site actif, situé entre le domaine I et II [4], His164 est essentiel pour l'activité enzymatique. D'après yang et al. His163, His172 et Glu166 fournissent la porte d'ouverture pour le substrat à l'état actif [5].

Tableau 04 : Résultats du docking 6LU7-Ligand.

Inhibiteur	Affinité (kcal/mol)	Liaison hydrogène	Liaison hydrophobe	Liaison électrostatique
hespéridine	-10.1	GLU166, GLN189 THR26, CYS145 SER144, LEU141 GLY143	//////	//////
naringine	-9.9	THR199, ASP289	LEU287	
remdesivir	-9.2	HIS164, HIS163 CYS145 , GLU166 ASN142	//////	//////
bergamottine	-8.0	CYS145	PRO168	//////
α -tocophérol vitamine E	-8.0	ARG131	LEU286, TYR237	//////
impératorine	-8.0	GLU166	MET49, CYS145	HIS41
nelfinavir	-7.5	GLU166	HIS41 , CYS145 LEU27	HIS41 , GLU166
naringénine	-7.1	CYS145 , GLI143	MET49	//////
hydroxychloroquine	-7.0	GLN189, CYS145	HIS41 , HIS163 HIS172, LEU27	HIS163
psoralène	-6.4	THR111, GLN110	VAL104	//////
acide ascorbique	-6.3	CYS145 , SER144 LEU141	//////	//////
chloroquine	-6.2	GLY 143	CYS 145	//////
angélicine	-6.2	SER158, THR111 GLN110	VAL104	//////
bergaptene	-6.0	//////	MET165, HIS41	//////

3.1.2 Etude des interactions du M-Pro (6LU7) :

Les résultats obtenus montrent que les deux ligands l'impératorine et le nelfinavir interagissent avec la dyade catalytique HIS41 et CYS145, avec un score de docking -8.0kcal/mol et -7.5 kcal/mol respectivement. Dans laquelle, l'impératorine forme une interaction électrostatique avec HIS41 et une interaction hydrophobe avec le résidu CYS145. En outre, l'analyse d'interaction a révélé que le composé forme une interaction hydrogène avec GLU166 et une interaction hydrophobe avec le résidu MET49 (**Figure 01**). D'autre part le nelfinavir forme trois interactions hydrophobes avec les résidus HIS41, CYS145 et LEU27 et deux interactions électrostatiques avec les résidus HIS41 et GLU166 (**Figure 02**).

Le ligand hespéridine a montré sept interactions d'hydrogène avec les résidus **CYS145**, GLU166, GLN189, THR26, SER144, LEU141 et GLY143, avec un score de docking -10.1 kcal/mol. Ce composé ne forme aucune interaction hydrophobe lors de son interaction avec le site actif de la 6LU7 (**Figure 03**).

De nombreuses interactions hydrogène avec les résidus HIS164, HIS163, **CYS145**, GLU166 et ASN142 (**Figure 04**) assurent la stabilité du ligand remdesivir, avec un score de docking -9.2 kcal/mol.

Le ligand bergamottine est stabilisé par une interaction hydrogène formée avec le résidu **CYS145**, et une interaction hydrophobe PRO168, avec un score de docking égale à -8.0 kcal/mol.

Le ligand naringénine est stabilisé par trois interactions : deux interactions hydrogènes avec les résidus **CYS145** et GLI143 et une interaction hydrophobe avec le résidu MET49, avec un score de docking égale à -7.1 kcal/mol.

Le ligand acide ascorbique est stabilisé par trois interactions hydrogènes formées avec les résidus **CYS145**, SER144 et LEU141, avec un score de docking égale à -6.3 kcal/mol.

Le ligand bergaptene est stabilisé grâce aux interactions hydrophobiques formées avec les résidus MET165 et **HIS41** ce dernier le HIS41 est l'un des résidus de dyade catalytique, avec un score de docking -6.0 kcal/mol.

Les cinq ligands (hespéridine, remdesivir, bergamottine, acide ascorbique et naringénine) ont établi des interactions avec le CYS145 qui est un des résidus de dyade catalytique.

On remarque que pour les trois ligands l'impératorine, le nelfinavir et l'HCQ, les deux résidus du dyade catalytique **CYS145** et **HIS41** sont impliqués dans les différentes interactions (liaisons hydrophobes et électrostatiques ainsi qu'une liaison H).

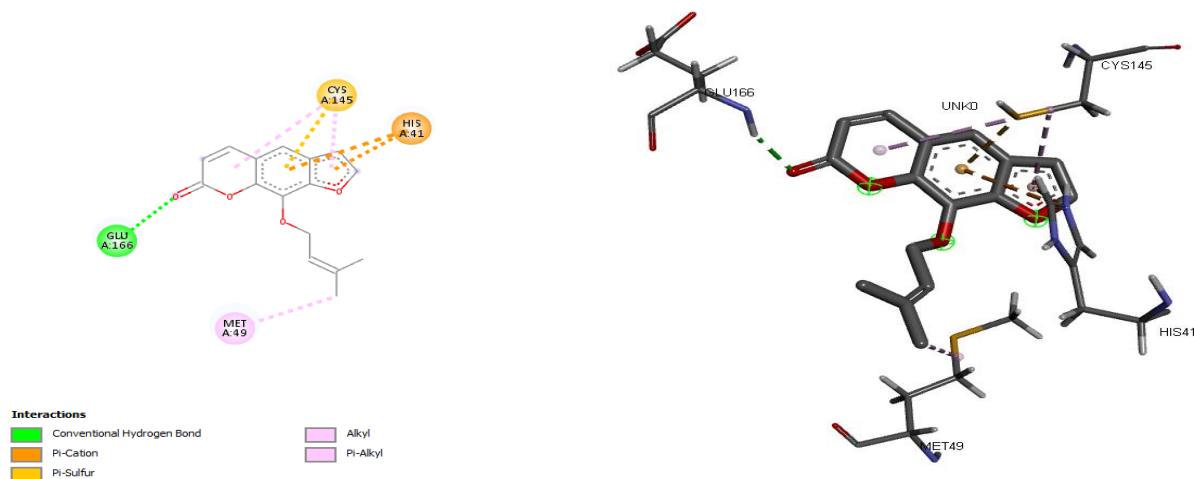


Figure 01 : Mode d'interaction 6LU7-impératorine 2D, 3D.

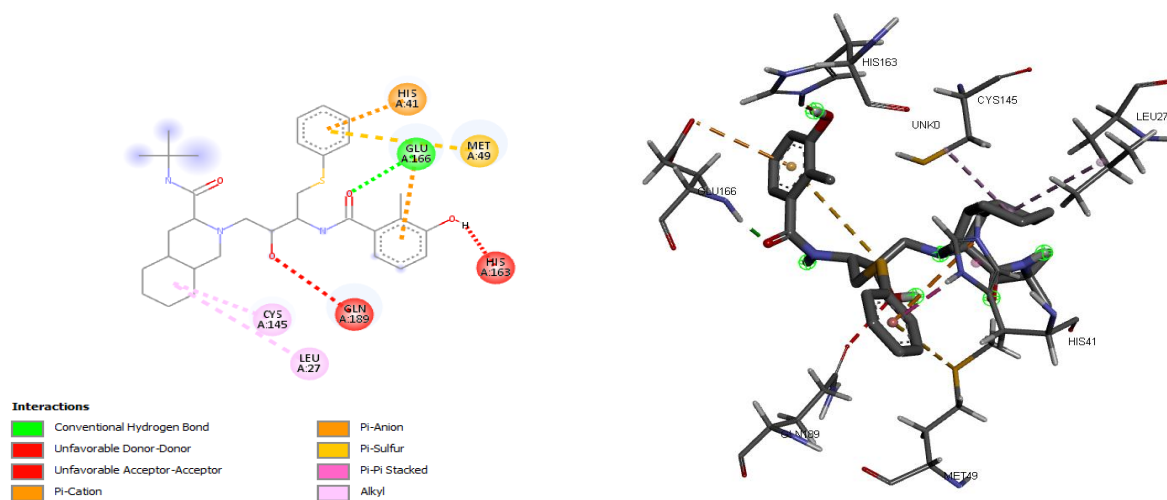


Figure 02 : Mode d'interaction 6LU7-nelfinavir 2D, 3D.

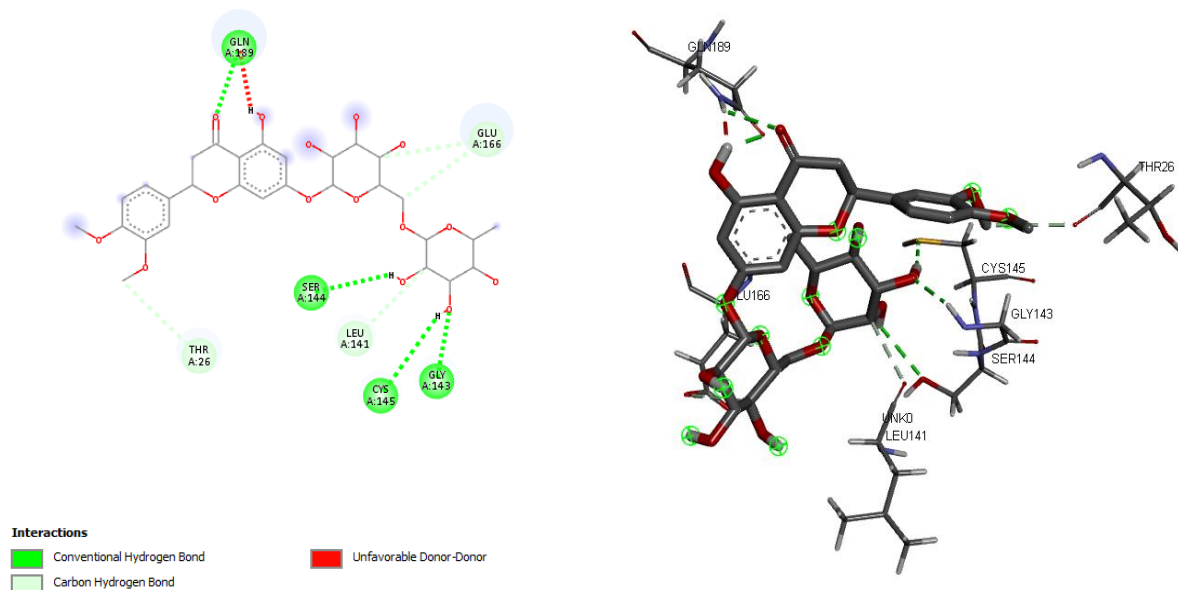


Figure 03 : Mode d'interaction 6LU7-hesperidine 2D, 3D.

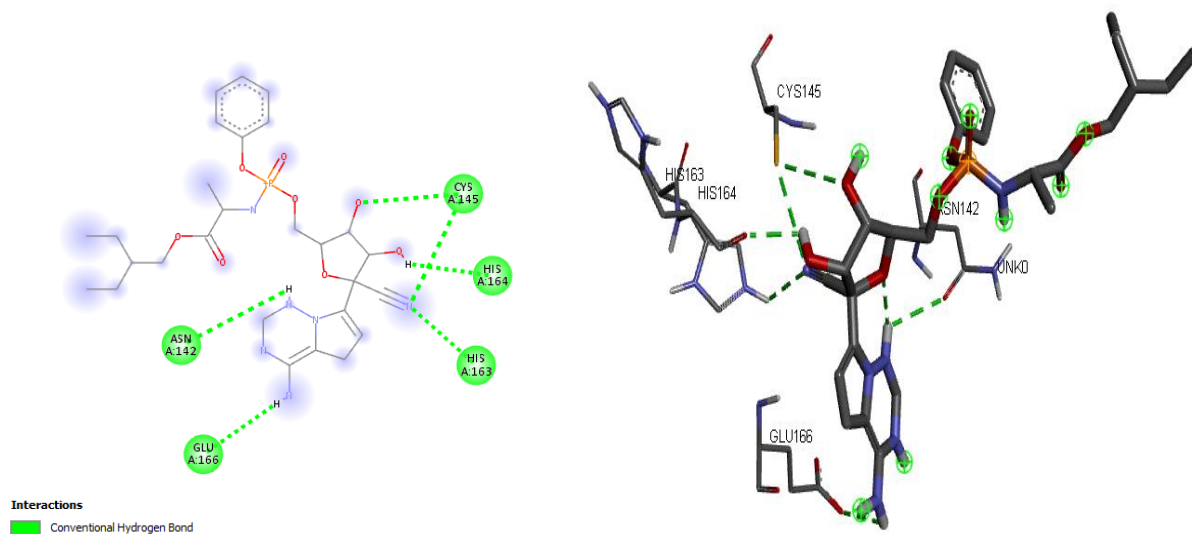


Figure 04 : Mode d'interaction 6LU7-remdesivir 2D, 3D.

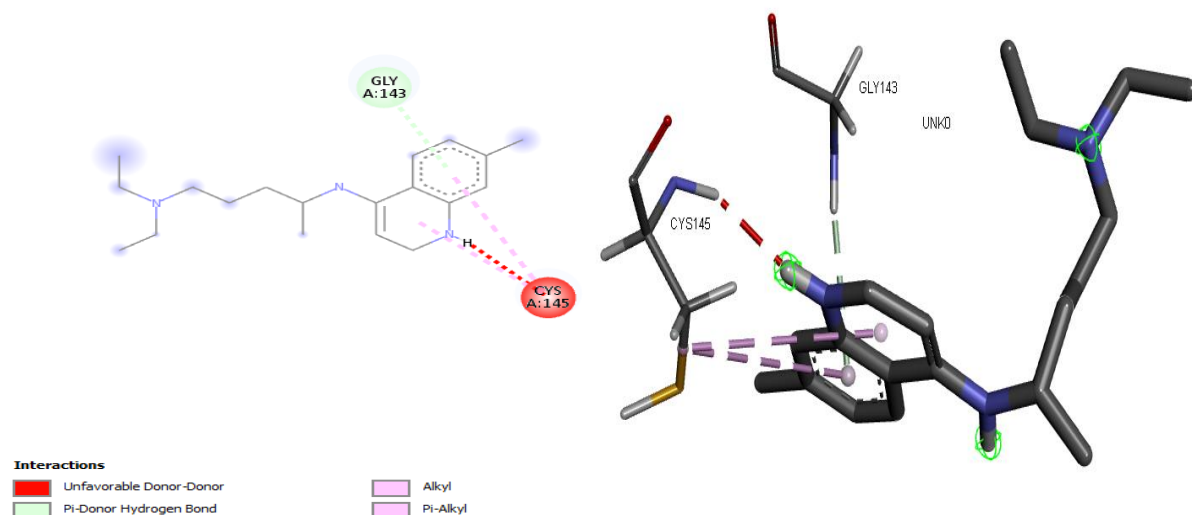


Figure 05 : Mode d'interaction 6LU7-chloroquine 2D, 3D.

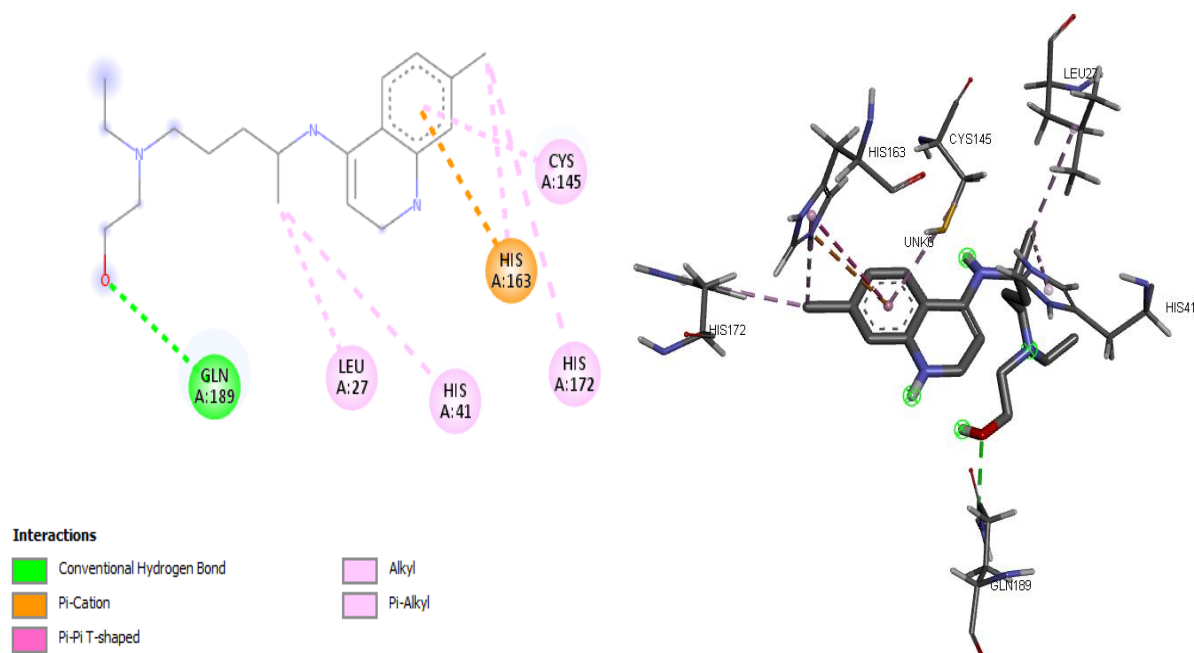


Figure 06 : Mode d'interaction 6LU7-hydroxychloroquine 2D, 3D.

D'après ces résultats, on remarque que :

- La majorité des ligands naturels étudiés ont présenté une affinité (un meilleur score) avec M-pro plus importante que celle de la CQ et de l'HCQ sauf l'angélicine et le Bergaptene. L'acide ascorbique a une énergie d'interaction voisine de celle de la CQ.
- La plus faible énergie d'interaction a été trouvée entre l'hésperidine et l'enzyme M-Pro par rapport à aux autres ligands.

- L'hésperidine (naturel) et le remdesivir (Anti-HIV) possèdent les meilleures affinités vis-à-vis au récepteur M-Pro avec l'établissement d'un nombre important de liaisons H (5 à 7) par rapport aux autres inhibiteurs et en absence d'autres types d'interactions.
- Les autres ligands ont présenté en majorité de un à trois liaisons H et certaines interactions de type hydrophobe ou électrostatique (de 1 à 3 au maximum).
- Malgré les valeurs importantes de l'affinité de la naringénine et du α -tocophérol, ces composés ont établies des liaisons avec des résidus qui n'appartiennent pas au site actif
Donc on constate que :
- Nous pouvons classer l'hésperidine comme le bon inhibiteur de l'enzyme M-Pro par rapport à l'ensemble des ligands étudiés.
- La stabilité de ces complexes inhibiteurs M-Pro est assurée par les liaisons H.
- La CQ et HCQ utilisées comme références nous a permis de prédire les bons inhibiteurs naturels du récepteur M-Pro, en effet parmi les dix ligands naturels étudiés six ont présenté une meilleure inhibition par rapport à celle de la CQ et l'HCQ.

Le pouvoir inhibiteur des autres ligands a été très proche à celui de ces médicaments. Par conséquent ces composés sont des inhibiteurs promoteurs du COVID-19.

3.2 Interactions ACE2 :

3.2.1 Présentation du récepteur : Interface S-RBD :

Afin de mieux comprendre l'interaction entre HACE2 et SARS-CoV-2 S-RBD, Nous avons d'abord analysé l'interface du complexe S-RBD et H-ACE2. Les résultats ont montré que l'interface globale est arbitrée essentiellement par plusieurs interactions. Dans l'ensemble, 14 résidus de S-RBD (Phe486, Asn487, Ala475, Glu484, Tyr489, Leu455, Gln493, Tyr453, Ser494, Tyr449, Gln498, Gly496, Gly446 et Asn501) ont été identifiés.

Le domaine RBD se lie à la protéine du récepteur ACE2 via ces résidus importants de l'interface : Gly502, Gly496, Thr500, Gln498, Tyr449, Ala475, Asn487, Lys417, Tyr489, Phe486, Glu484, Gln493, Ser494, Leu455 et Phe486, dont la majorité appartiennent au domaine S-RBD.

Parmi ces résidus, Lys417, Tyr489 et Leu455 sont importants dans la liaison avec le récepteur ACE2 [6].

Tableau 05 : Résultats du docking 6LZG-Ligand.

Inhibiteur	Affinité (kcal/mol)	Liaison hydrogène	Liaison hydrophobe	Liaison électrostatique
remdisivir	-10	GLY496, SER494 TYR453, GLU406	LYS417	////////
naringine	-9.4	GLU340, ASN450 ARG346	ALA348	////////
hespéridine	-9.1	ASP442, LEU441	LYS444, PRO499	////////
bergamottine	-7.2	ARG355	PRO426, PHE464	////////
nelfinavir	-7.1	GLN498, GLN493 ASN501, GLY496	TYR505, TYR449	////////
α -tocophérols Vitamine E	-7.1	GLY496	TYR505	////////
impératorine	-6.6	GLN498, GLY496 SER494	TYR449	////////
naringénine	-6.5	////////	TYR505	////////
Hydroxy- chloroquine	-6.5	GLY496	TYR453	////////
acide ascorbique	-6.4	ASP467, LYS458 GLU471, ARG454	////////	////////
chloroquine	-6.3	////////	TYR505	////////
angélicine	-6.3	SER469, GLU471 ARG454	LYS458, ARG457	GLU471, ARG454
psoralène	-6.3	SER469, GLU471 ARG454	LYS458, ARG457	GLU471, ASP467
bergaptene	-5.9	SER399	ALA344, ALA348	////////

3.2.2 Etude des interactions de l'ACE2 (6LZG) :

Les modes d'interaction qui réagissent la formation de complexe 6LZG-Remdesivir (**Figure 07**) présentent cinq liaisons : quatre liaisons hydrogènes avec les résidus GLY496, SER494, TYR453, GLU406 et une liaison hydrophobe avec le résidu LYS417, avec une énergie d'interaction égale à -10.0 kcal/mol.

L'analyse visuelle du complexe 6LZG-Nelfinavir (**Figure 08**) indique la présence des quatre liaisons hydrogènes GLN498, GLN493, ASN501, GLY496 et deux liaisons hydrophobes TYR505, TYR449, avec une énergie d'interaction égale à -7.1 kcal/mol.

L'analyse visuelle du complexe 6LZG- α -Tocophérol (**Figure 09**) indique la présence d'une liaison hydrogène avec GLY496 qui est un important résidu d'interaction et une liaison hydrophobe avec le résidu TYR505, son énergie d'interaction est égale à -7.1 kcal/mol.

Le complexe 6LZG-Impératorine (**Figure 10**) est stabilisé par trois liaisons hydrogènes GLN498, GLN496, SER494 et une liaison hydrophobe formé avec le résidu TYR449, avec une énergie d'interaction égale à -6.6 kcal/mol.

Les quatre ligands (remdesivir, nelfinavir, α -tocophérol, impératorine) sont liés aux résidus importants de S-RBD et de l'interface.

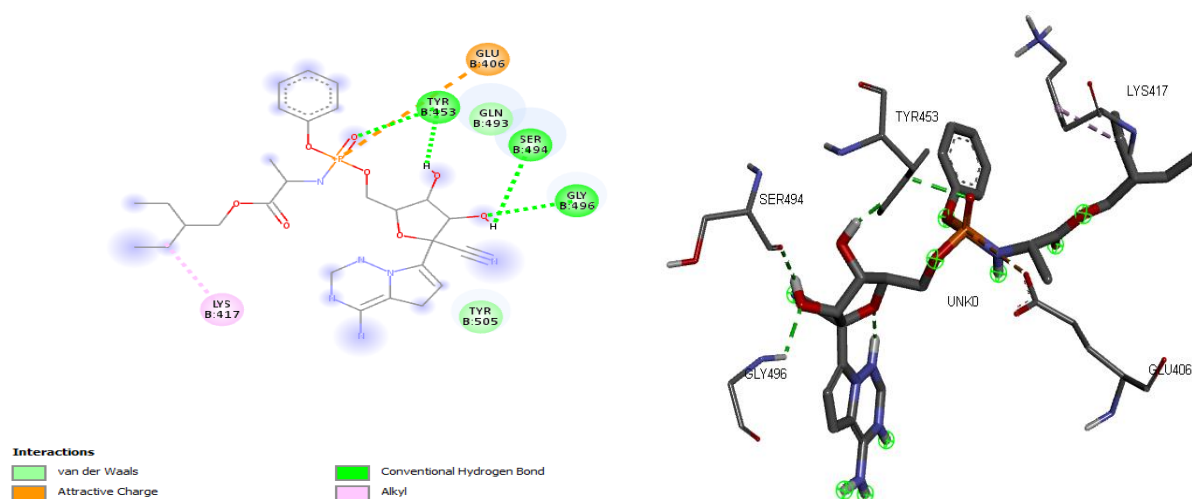


Figure 07 : Mode d'interaction 6LZG-remdesivir 2D, 3D.

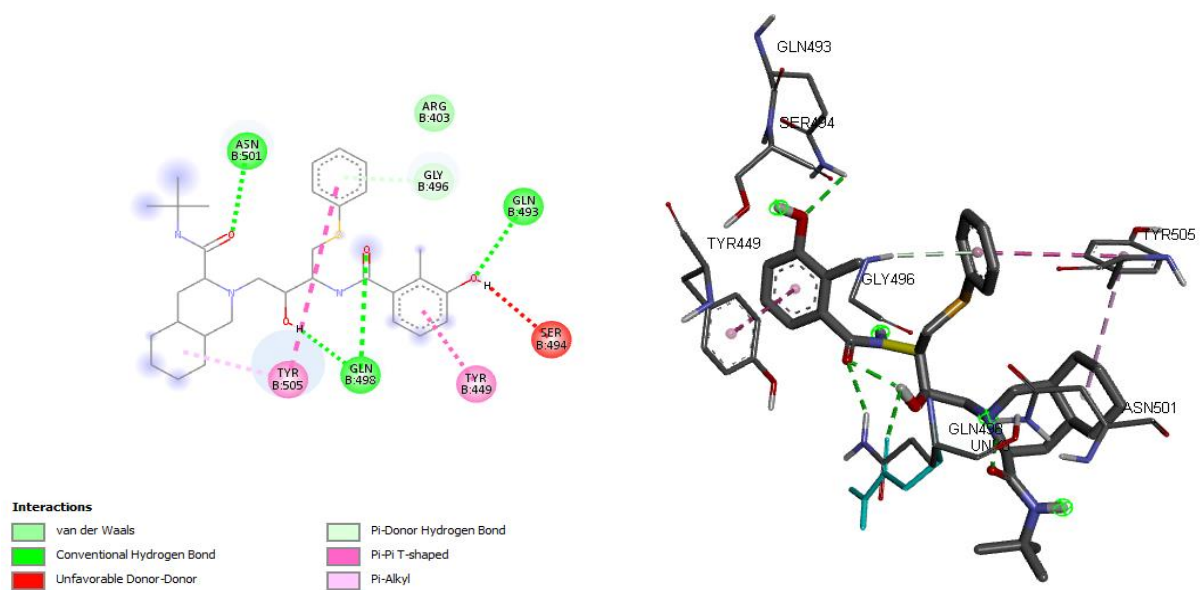


Figure 08 : Mode d'interaction 6LZG-nelfinavir 2D, 3D.

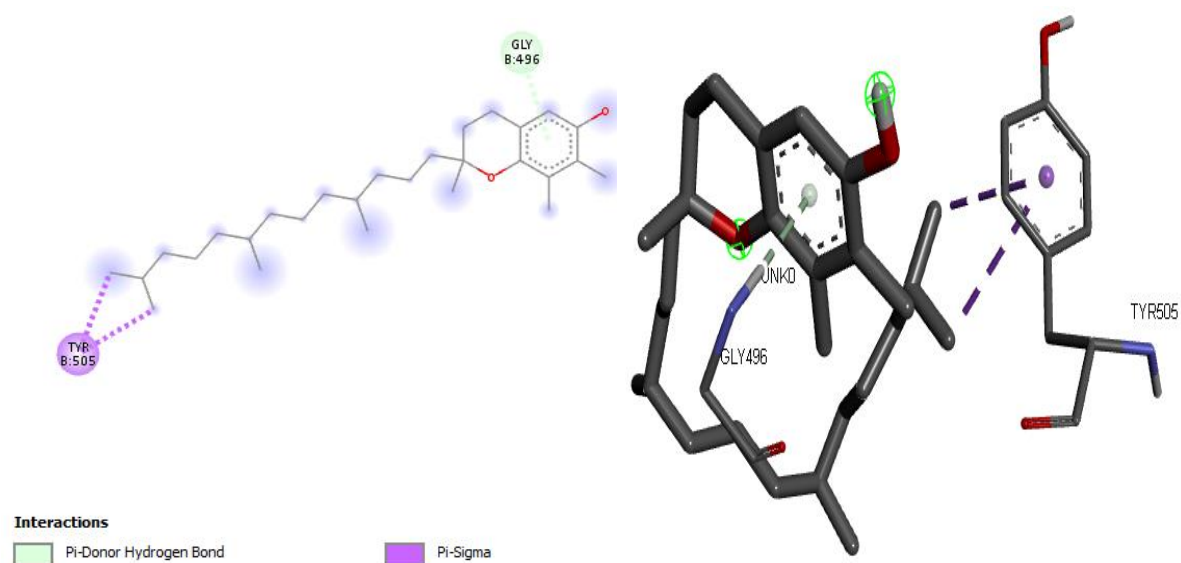


Figure 09 : Mode d'interaction 6LZG- α - tocophérol 2D, 3D.

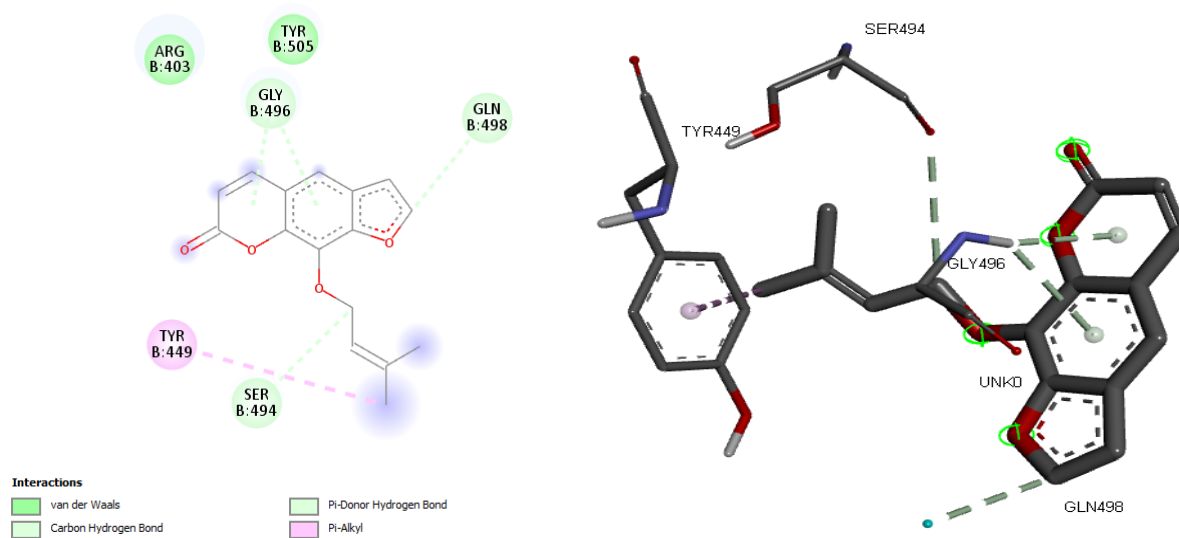


Figure 10 : Mode d'interaction 6LZG-imperatorine 2D, 3D.

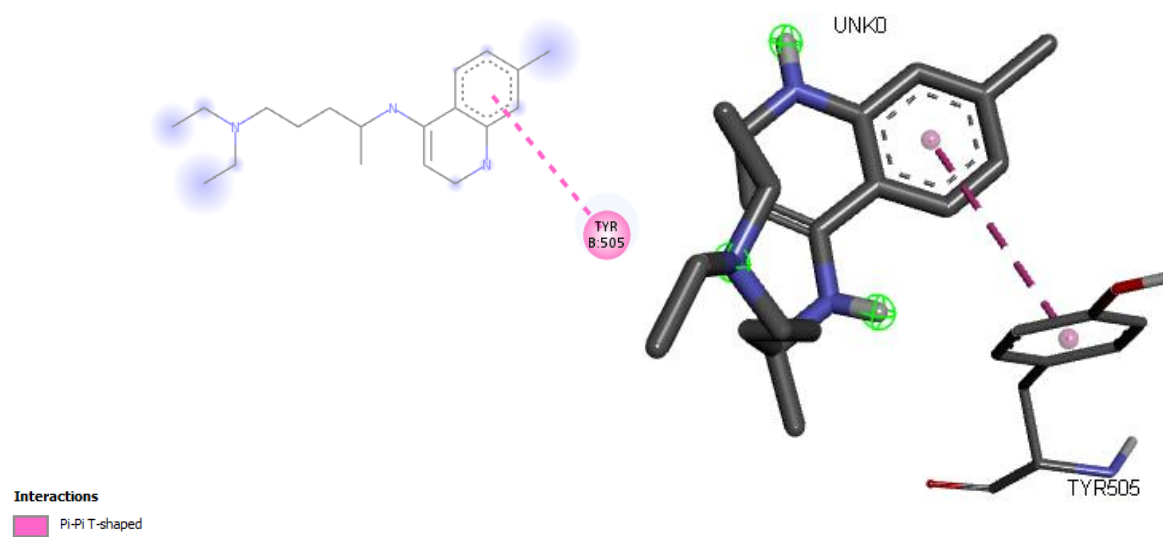


Figure 11 : Mode d'interaction 6LZG-chloroquine 2D, 3D.

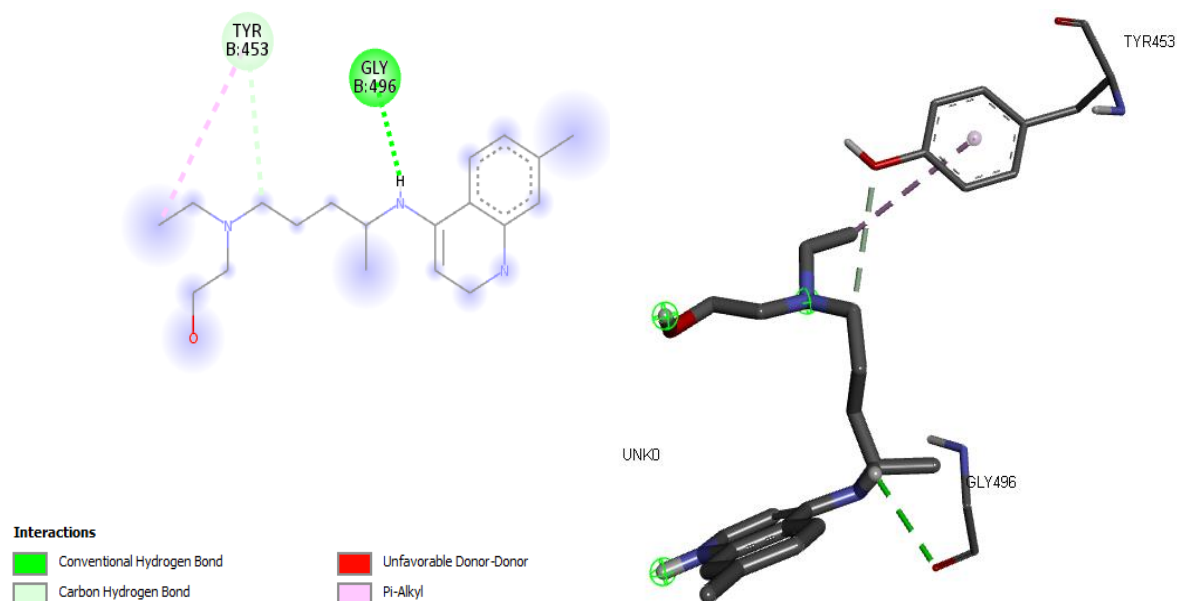


Figure 12 : Mode d'interaction 6LZG-hydroxychloroquine 2D, 3D.

D'après les résultats de docking des inhibiteurs avec l'ACE2, on remarque que :

- Les inhibiteurs d'origine naturelle présentent des interactions de type hydrogène ou hydrophobe avec des résidus non impliqués à l'interface S-RBD à l'exception de l'impératorine et le tocophérol. Contrairement aux médicaments, les Anti-HIV remdesivir et nelfinavir ont établi des liaisons avec les acides aminés de l'interface.
- Le meilleur score a été observé avec le médicament remdesivir.
- De point de vue énergétique, les ligands naturels ont présenté des valeurs supérieures ou égales à celles de la CQ et l'HCQ.

Donc, on peut constater que :

- L'anti- HIV remdesivir présente le meilleur pouvoir inhibiteur du récepteur ACE2 par rapport aux autres ligands étudiés.
- Malgré les valeurs de l'énergie trouvée avec les inhibiteurs naturels, les interactions mis en jeu avec le récepteur ont été moins importantes.

Par comparaison des résultats de docking de la même série des inhibiteurs d'origine naturelle et quelques médicaments utilisés comme référence avec le M-pro et l'ACE2 (S-RBD), on constate que :

- La meilleure affinité (-10 kcal/mol) a été obtenue avec le M-pro et un composé d'origine naturel (hespéridine) tandis que l'ACE2 avec un médicament (remdesivir).

Ces deux inhibiteurs de différente nature présentent avec les deux récepteurs les plus faibles énergies d'interaction.

- Les inhibiteurs d'origine naturelle présentent une bonne affinité vis-à-vis à M-pro par rapport celle avec l'ACE2.

Donc, on peut conclure que :

- Le pouvoir inhibiteur de ces composés naturels étudiés avec le M-pro est plus important qu'avec l'ACE2.
- De point de vue énergétique la stabilité des complexes avec M-Pro est attribuée aux liaisons hydrogènes. Tandis que les interactions hydrophobiques contribuent aussi à la stabilité des complexes avec l'ACE2.

Cette série des molécules naturelles s'avèrent des candidats prometteurs dans l'inhibition du COVID-19.

4. Filtration par la règle de Lipinski et les propriétés ADMET :

4.1 La règle de Lipinski :

Chaque médicament potentiel doit se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, métabolisme, d'excrétion et de toxicité (filtre ADME/Tox) [7] qui est basée sur la règle de 5 formulée par Lipinski et al [8]. Cette règle décrit un ensemble de critères, permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D) [9].

Les conditions essentielles de la règle de 5 :

- PM : Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- LogP : Le coefficient de partition doit être ≤ 5 .
- nOH, NH : Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 5 .
- nO, N : Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être ≤ 10 .

Tableau 06 : Critères de la règle de Lipinski pour les différents inhibiteurs.

Composé	Masse moléculaire	Log p	Donneur d'H (OH et NH)	Accepteur d'H (O et N)	nviolation
hespéridine	624	-0.853601	7	15	3
naringine	580	-1.165200	8	14	3
remdesivir	602	2.312181	5	13	2
bergamottine	338	5.436500	0	4	1
α -tocophérols	416	8.531844	1	2	1
impératorine	270	3.709998	0	4	0
nelfinavir	567	4.747620	4	7	1
naringénine	272	2.509899	3	5	0
hydroxychloroquine	335.50	3.011079	2	4	0
psoralène	186	2.365000	0	3	0
acide ascorbique	176	-1.407400	4	6	0
chloroquine	319.50	4.038679	1	3	0
angélicine	186	2.365000	0	3	0
bergaptene	216	2.373600	0	4	0

On peut avoir à travers le (Tableau 06) que tous les ligands ont des nombres accepteurs d'hydrogène inférieurs à 10 et nombres donneurs d'hydrogène inférieurs à 5 à l'exception les ligands **hespéridine et naringine** ont des nombres donneurs d'hydrogène supérieurs à 5 et des nombres accepteurs d'hydrogène supérieurs à 10. En plus du **remdesivir** qui possède un nombre accepteur de H égale à 13(> à 10).

Le poids moléculaire de tous les ligands sont inférieurs à 500 Da, ainsi ils peuvent facilement passer à travers la membrane cellulaire, sauf les ligands (**hespéridine, naringine, remdesivir et nelfinavir**) est supérieur à 500 Da. Le poids de l'hespéridine et le remdesivir dépasse le 600 Da.

Tous les ligands ayant les valeurs de la $Mi \log P$ inférieure à 5 (**Tableau 06**). Donc ils ont une bonne solubilité dans l'eau, une meilleure tolérance gastrique et une élimination efficace par les reins et une bonne perméabilité à travers la membrane cellulaire, à l'exception le ligand **α -tocophérol** la valeur de la $Mi \log P$ est supérieure à 5 tandis que la valeur de la lipophile de **la bergamonttine** dépasse légèrement 5 (**5.43**).

Ensuite, quand la valeur de nombre de violations est égale $n=1$ ou $n<0$ signifie les ligands facilement lier au récepteur.

Les résultats de calcul qui se représente dans le (**Tableau 06**) montrent que la plupart des composés (les coumarines et les vitamines) sauf les deux flavonoïdes (**hespéridine** et **naringine**) sont en accord avec la règle de Lipinski, ce qui suggère que ces composés théoriquement n'auraient pas des problèmes avec la biodisponibilité orale.

4.2 Prédiction ADMET (absorption, distribution, métabolisme, l'excrétion, et de toxicité) :

Les propriétés d'ADME/Tox (absorption, Distribution, métabolisme, excrétion/toxicologie) des composés principaux ont été calculées utilisant le serveur en ligne PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>). Ce serveur calcule les propriétés pharmacocinétiques comme : Humain Absorption intestinale (HIA), perméabilité à cellules, Caco-2 in vitro (PCaCO2), perméabilité à cellules de Maden Darby rein rénal (PMDCK)), perméabilité (PSkin), attache de protéine de plasma (PPB) et la pénétration de l'hématoméningé [10] ont été résumées dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Résultats des propriétés d'absorption, Distribution des ligands.

ligands	Absorption			Distribution	
	HIA (%)	Caco-2 cell (nm sec-1)	MDCK	Perméabilité de la peau	BBB
hespéridine	9.882858	5.92162	0.0815451	-4.62024	0.0300337
naringine	11.746560	7.89381	0.0517257	-4.54485	0.0303767
remdesivir	53.505979	3.26479	0.0467603	-2.67127*	0.0456445
bergamottine	97.399831	49.822	0.128808	-2.4985	0.362074
α -tocophérol	97.832442	29.1191	38.9051*	-0.515999*	19.9021*
impératorine	97.728639	56.1038	228.711	-3.16911	2.70543
nelfinavir	92.670060	40.1713	0.0434229	-2.58996	1.63507
naringénine	87.318069	10.5211	44.6354	-4.18021	0.59697
hydroxychloroquine	94.660945	46.0839	45.1085	-3.08546	2.28794
psoralène	98.428940	37.7452	67.4677	-3.51965	2.37135
acide ascorbique	33.157259	2.48366	0.881902	-5.14959	0.11727
chloroquine	98.056241	56.6153	0.297955	-2.53546	7.73354
angélicine	98.428940	37.7453	58.147	-3.5272	2.37135
bergaptene	98.168303	43.4713	52.9196	-3.70772	2.07653

Pour prévoir les paramètres d'absorption et de distribution. Le paramètre des cellules Caco-2 employé pour déterminer la perméabilité du composé, des paramètres des cellules Caco-2 ont été étendus 4-70 nm/sec comprenant perméabilité moyenne, l'absorption intestinale humaine (HIA) peut prévoir les pour cent d'absorption l'intestin humain (% de HIA) et l'attache de protéine de plasma (%PPB) est employé pour déterminer la valeur d'une drogue est disponible lié pour la diffusion ou le transport à travers les cellules de membrane et % de valeur de PPB moins de 90% y compris le produit chimique faiblement lié [10].

A travers ces informations et valeurs de (**Tableau 07**) donc tous les ligands ont des meilleurs scores d'absorption intestinale humaine (HIA) à l'exception de la **naringine et hespéridine**. Une plus grande valeur de HIA indique le composé pourrait être mieux absorbé de la région intestinale sur l'administration par voie orale, ensuite les valeurs Caco-2 s'accordé avec les valeurs obtenues (valeur entre 4 et 70 nm/sec). Ainsi, il est a noté que tous les ligands ont montré une moyenne perméabilité sauf l'**hespéridine** et le **remdesivir**.

Pour les valeurs de BBB (CBrain/CBlood), les composés qui ont des valeurs plus grandes que 1 (CBrain/CBlood > 1) sont considérés actifs dans le CNS peut causer des effets collatéraux et des composés ayant des valeurs moins de 1 (CBrain/CBlood < 1) sont classifiés comme inactifs dans le CNS.

Par conséquent les ligands, **impératorine, nelfinavir, psoralène, HCQ, CQ, angélicine et bergaptene** ont présenté plus hautes valeurs que 1 (CBrain/CBlood > 1), étant considérés actifs et peuvent causer des effets collatéraux, la valeur la plus élevée a été observée chez le **α -tocophérol**. Les ligands **hespéridine, naringine, remdesivir, acide ascorbique et naringénine** ayant des valeurs moins de 1 (CBrain/CBlood < 1) étant considérés inactifs dans le CNS.

Tableau 08 : Résultats des propriétés de métabolisme des ligands.

Métabolisme						
ligands	Cyp-2C19-inhibition	Cyp-2C9-inhibition	Cyp-2D6-inhibition	Cyp-2D6-substrat	Cyp-3A4-inhibition	Cyp-3A4-substrat
hespéridine	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Faiblement
naringine	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Faiblement
remdesivir	Non	Non	Non	Non	Inhibiteur	Faiblement
bergamottine	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Substrat
α -tocophérol	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Substrat
impératorine	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Faiblement
nelfinavir	Non	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Inhibiteur	Substrat
naringénine	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Non
hydroxychloroquine	Non	Non	Inhibiteur	Substrat	Non	Substrat
psoralène	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Non
acide ascorbique	Non	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Faiblement
chloroquine	Non	Non	Inhibiteur	Substrat	Non	Substrat
angélicine	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Non
bergaptene	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Non

Les résultats ont montré que tous les composés n'étaient pas des inhibiteurs du CYP2D6 et non substrats pour tous les paramètres cinétiques sauf le **nelfinavir** (inhibiteur), la **CQ** et l'**HCQ** (Inhibiteurs et substrats) (**Tableau 08**).

Cependant, il a également été noté que tous les ligands inhibaient l'enzyme CYP3A4 (**Tableau 08**). Tandis que la **CQ** et l'**HCQ** étaient non-inhibiteurs aux CYP3A4. Les dérivés **nelfinavir**, **bergamonttine** et **α -tocophérol** ainsi que la **CQ** et l'**HCQ** étaient des substrats au CYP3A4. Cela s'explique par le fait qu'en raison de la complexité des interactions modulatrices avec le cytochrome P₄₅₀ 3A4 qui les faire fonctionner comme des combinaisons de substrat et d'inhibiteur.

Tableau 09 : Résultats des propriétés de Toxicité des ligands.

Toxicité				
Ligands	Mutagenicité (Ames test)	Cancérogénicité		HERG inhibition
		Mouse	Rat	
hespéridine	Non-mutagène	Négative	Négative	Risque élevé
naringine	Non-mutagène	Négative	Négative	Risque élevé
remdesivir	Non-mutagène	Positive	Négative	ambigu
bergamottine	Mutagène	Positive	Négative	Risque moyen
α-tocophérol	Non-mutagène	Négative	Négative	Faible risque
impératorine	Mutagène	Négative	Négative	Risque moyen
nelfinavir	Non-mutagène	Négative	Négative	ambigu
naringénine	mutagène	Négative	Positive	Risque moyen
hydroxychloroquine	mutagène	Négative	Négative	Risque moyen
psoralène	mutagène	Négative	Positive	Risque moyen
acide ascorbique	mutagène	Négative	Négative	Faible risque
chloroquine	mutagène	Négative	Positive	Risque moyen
angélicine	mutagène	Négative	Positive	Risque moyen
bergaptene	mutagène	Négative	Positive	Risque moyen

Le test de toxicité AMES est employé pour savoir si un composé est mutagène, la majorité des ligands de test affichés sont mutagène sauf **l'héspéridine, naringine, remdesivir, α -tocophérol et le nelfinavir**. La prévision de négatif de cancérogénicité indique qu'il y a des preuves d'activité cancérogène tandis que le positif signifie que le composé examiné ne montre pas cancérogène activité. De plus, l'inhibition du HERG pour les ligands (**α -tocophérol et acide ascorbique**) présente un faible risque -(low-risque).

D'après les résultats d'ADMET, on constate que les propriétés biologiques et pharmacologiques des ligands appartenant en majorité à la famille des furanocoumarines en plus de la **naringénine** qui est un flavonoïde et les vitamines E et C sont meilleures que celles des deux autres flavonoïdes **l'héspéridine** et le **naringine**.

On peut conclure que les propriétés biologiques et pharmacologiques des ligands naturels sont plausibles, leurs permettre d'avoir une biodisponibilité acceptable et par conséquent d'être des candidats prometteurs dans la lutte contre le COVID-19.

Références bibliographiques :

1. O. Trott, A. J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, **2010**, p 455-461.
2. F.M.T.G.S.H.S.G.R.M.C.J.S.G.B.V.M.B.P.G.N.H.C.M.L. X. H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery, J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P.S. alvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, A.D. Daniels, O. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, D.J. Fox. Gaussian 09, *Gaussian Inc., Wallingford CT*, **2009**.
3. D. B. Kitchen, H. Decornez, J.R. Furr, J. Bajorath. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Drug discovery*, **2004**, p 935.
4. MT. Ul. Qamar, S. M. Alqahtani, M.A. Alamri, LL. Chen. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **2020**, p 313-319.
5. A. Speciale, C. Muscarà, M.S. Molonia, F. Cimino, A. Saija, S.V.Giofrè. *Wileyonline library.com/journal/ptr*, **2021**.
6. Z.T. Muhseen, A.R. Hameed, H.M.H. Al-Hasani, M.T. ul Qamar, G. Li. *Journal of Molecular Liquids*, **2020**.
7. M. A. Miteva, S. Violas, and M. Montes, Gomez D, et B. O. Villoutreix. FAFDrugs: free ADME/tox filtering of compound collections. *Nucleic Acids Research*, **2006**.
8. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2001**, p 3-26.
9. H. Boucherit, A. Chikhi, A. Bensegueni, A. Merzoug, K. S. Hioual, EL H. Mokrani. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 7, N°2*, **2013**, p 133-149.
10. k. Makhloufi, I. Lazreg, mémoire de master, *Université Mohamed Khider de Biskra*, **2019**.

Conclusion générale

Afin de lutter contre le COVID-19, les chercheurs ont réalisé de nombreuses expériences, notamment en essayant d'inhiber l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE2), un récepteur qui facilite l'entrée du virus dans les cellules de l'hôte, ainsi que l'inhibition des protéases essentielles au cycle de vie du virus, par des médicaments et des composés naturels.

Dans ce travail, nous avons donc étudié par docking moléculaire l'inhibition de COVID-19 par quelques composés naturels, dont le principal objectif est la recherche de nouvelles molécules susceptibles d'inhiber ce virus.

Afin d'atteindre ce but, nous avons réalisé le docking de deux récepteurs du SARS-CoV, la protéase M-pro (6LU7) et l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 ACE2 (6LZG) avec une série de flavonoïdes et des coumarines en comparaison avec quelques médicaments en l'occurrence la CQ et l'HCQ.

L'étude de leurs interactions avec ces enzymes (ACE2 et M-Pro), suivie par une filtration en utilisant la règle de Lipinski et les propriétés ADMET s'avérée incontournable.

Le docking moléculaire a été réalisée par Auto Dock Vina, un logiciel d'amarrage moléculaire très répandu et connu par sa fiabilité et sa performance. Le logiciel Discovery Studio nous a permis la visualisation de ces interactions. Les ligands ont été classés sur la base de leurs affinités.

Les résultats de Docking ont montré que le pouvoir inhibiteur des composés naturels étudiés avec le M-pro est plus important qu'avec l'ACE2.

De point de vue énergétique la stabilité des complexes avec M-pro est attribuée aux liaisons hydrogènes. Tandis que les interactions hydrophobiques contribuent aussi à la stabilité des complexes avec l'ACE2.

D'après les résultats d'ADMET, on peut conclure que la majorité des ligands naturels étudiés possèdent des propriétés biologiques et pharmacologiques intéressantes, leurs permettre d'avoir une meilleure biodisponibilité.

Par conséquent, ces molécules naturelles s'avèrent des candidats prometteurs dans l'inhibition de COVID-19.