

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière
Département des Sciences de la Matière
Spécialité : Chimie Physique



**Mémoire de fin d'études
Master**

Présenté par : **M^{elle} DAHMANI Rayene**
Me^{lle} RAMDANI Amira

**Docking moléculaire des composés à base de sulfonamide
en tant qu'inhibiteurs potentiels de l'ACE-2**

Sous la direction de :
D^r. AIMENE Yassine

Juin 2022

Remerciement

Si ce travail a pu voir le jour, c'est certainement en premier lieu grâce au Bon Dieu le tout puissant, et au soutien et l'aide de plusieurs personnes. Nous profitons de cet espace pour les remercier tous.

Nous commencerons à remercier Monsieur AYMEÏNE Yassine qui nous a encadrées et qui nous a accompagnées durant la réalisation de ce travail.

Nous remercions également, tous nos enseignants et les membres de jury qui nous font l'honneur de présider et d'examiner ce modeste travail.

Enfin, nous voudrions remercier chaleureusement et respectivement tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste projet de fin d'études.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

À ma raison de vivre, d'espérer,

À ma source de courage, à ceux que j'ai de plus cher

À mes parents,

*Ma mère qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, la source
d'amour incessible qui m'a bénie par ses prières*

*Mon père, mon support dans la vie, qui m'a supporté et m'a
dirigé vers la gloire,*

*Qui m'ont toujours été d'un grand secours par leur soutien et
leur encouragement pendant les moments difficiles*

Que Dieu me les protège À ma petite sœur Soundous,

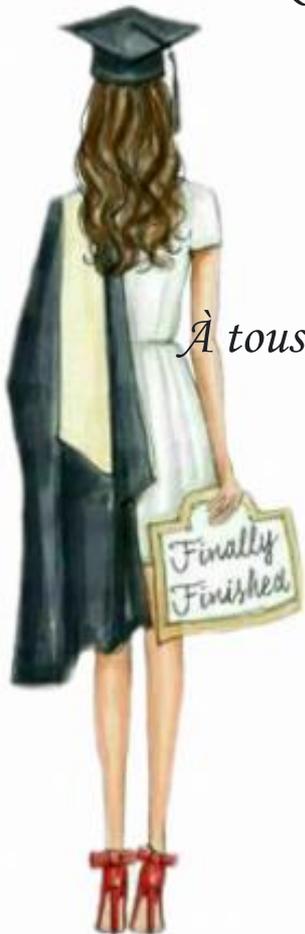
À mon fiancé,

À mon amie Rayene,

À tous les membres de ma famille,

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer
et m'ont aidé à franchir un horizon dans ma vie.*

AMIRA



Dédicace

*Avec joie, fierté et respect, Je dédie ce modeste travail
À mon cher père, mon précieux offre du Dieu, merci pour ta
générosité.*

*À ma chère mère la plus belle femme de ma vie qui a toujours été
là pour moi. Qui m'a soutenu et encouragé durant ces années
d'études.*

*À ma charmante petite sœur Rahaf et mes chers frères Abd el
Djalil et Abd errazak,*

À ma joie de vivre Nesrine et raghda

À ma belle chrifa et mon amie Amira

*À ma grande- mère et mon grand-père, mes oncles et mes tantes
Que Dieu leur accorde une longue vie de joie.*

*Je le dédie à tous mes amis non mentionnés et à tous ceux qui me
connaissent*

RAYENE



Résumé

L'ACE2 est une protéine clé dans la physiologie du COVID-19, permet au virus Sars-CoV-2 de pénétrer dans les cellules hôtes où la réplication du virus a lieu. L'inhibition de l'ACE2 peut empêcher la fixation du virus et ainsi limiter l'infection virale.

Le but de notre étude est l'évaluation *in-silico* de l'activité biologique de trois dérivés, à base de sulfonamide contenant le motif pyridine-triazole (**L0**, **L1**, **L2**), en tant qu'inhibiteurs potentiels de l'ACE2. Cette approche nous permet de développer *in-silico* de nouveaux inhibiteurs potentiellement efficaces contre l'infection par le COVID-19. A cet effet, nous utilisons le programme d'Autodock4.2 pour évaluer la meilleure position pour chaque ligand dans le site catalytique de l'enzyme ACE2.

Les résultats préliminaires montrent que les trois dérivés sulfonamides **L0**, **L1** et **L2** sont bien placés dans le site actif de l'enzyme ACE2. Cependant, **L2** présente des valeurs d'énergie d'interaction ($\Delta G = -9,34$ kcal/mol) et de constante d'inhibition ($K_i = 141$ nM) plus faibles, indiquant une affinité ligand-récepteur plus élevée. En conséquence, le ligand **L2** devrait être plus stable et nécessite une investigation plus approfondie. En bref, les inhibiteurs à base de sulfonamide pourraient être des agents thérapeutiques potentiels vis à vis le Sars-CoV-2

Mots clés : ACE2, Sars-CoV-2, Sulfonamide, Docking Moléculaire.

Abstract

ACE2 is a key protein in the physiology of COVID-19 and allows the Sars-CoV-2 to enter host cells where virus replication takes place. ACE2 inhibition can prevent virus attachment and thus limit viral infection.

The aim of our study is the *in-silico* evaluation of the biological activity of three sulfonamide-based derivatives containing the pyridine-triazole motif (**L0**, **L1**, and **L2**) as potential ACE2 inhibitors. This approach allows us to develop in-silico new inhibitors potentially effective against COVID-19 infection. For this purpose, we use the Autodock4.2 program to evaluate the best position for each ligand in the catalytic site of the ACE2 enzyme.

The preliminary results show that the three sulfonamide derivatives **L0**, **L1**, and **L2** are well placed in the active site of the ACE2 enzyme. However, **L2** exhibits lower values of interaction energy ($\Delta G = -9.34$ kcal/mol) and inhibition constant ($K_i = 141$ nM), indicating higher ligand-receptor affinity. Accordingly, the **L2** ligand should be more stable and requires further investigation. In short, sulfonamide-based inhibitors could be potential therapeutic agents against Sars-CoV-2.

Key words: ACE2, Sars-CoV-2, Sulfonamide, Molecular Docking.

ملخص

ACE2 هو بروتين رئيسي في فسيولوجيا كوفيد-19، ويسمح لفيروس كورونا المستجد بدخول الخلايا المضيفة حيث يحدث تكاثر الفيروس. تثبيط الإنزيم المحول للأنجيوتنسين 2 (ACE2) يمكن أن يمنع ارتباط الفيروس وبالتالي يحد من العدوى الفيروسية.

الهدف من دراستنا هو تقييم (عن طريق المحاكاة النظرية) النشاط البيولوجي لثلاثة مشتقات أساسها السلفوناميد تحتوي على حلقتي البيريدين- تريازول (L1, L2, L3) كمثبطات محتملة للإنزيم ACE2. يتيح لنا هذا النهج النظري تطوير مثبطات جديدة يحتمل أن تكون فعالية ضد عدوى كوفيد-19. لهذا الغرض، نستخدم برنامج Autodock4.2 لتقييم أفضل وضع لكل مثبط في الموقع التحفيزي لإنزيم ACE2 .

تظهر النتائج الأولية أن مشتقات السلفوناميد الثلاثة L0 و L1 و L2 متموضعة بشكل جيد في الموقع النشط لإنزيم ACE2. مع ذلك، يُظهر L2 قيم أقل لطاقة التفاعل ($\Delta G = -9.34 \text{ kcal/mol}$) وثابت التثبيط (141 نانومتر)، مما يشير إلى التقارب القوي بين المستقبل الانزيمي والمثبط L2. وفقاً لذلك، يتعين أن يكون المثبط L2 أكثر استقراراً حيث يتطلب مزيداً من الدراسة. باختصار، يمكن أن تكون المثبطات أساسها السلفوناميد عوامل علاجية محتملة ضد فيروس كورونا المستجد (سارس-كوف-2).

الكلمات المفتاحية: الإنزيم المحول للأنجيوتنسين-2، سارس-كوف-2، السلفوناميد، الإلتحام بالمحاكاة.

Liste des figures

Figure 1: Balance entre vasoconstriction et vasodilatation.	4
Figure 2: Vue génomique pour le gène ACE2.....	5
Figure 3: (Gauche) Structure de l'ACE2 humaine montrant les sous domaines I en rouge et II en bleu. (Droite) Site actif de l'ACE2 humain, où le zinc est coordonné à trois résidus His374, His378, Glu402 et une molécule d'eau.....	6
Figure 4: Structure du virion du SRAS-CoV.....	7
Figure 5: Représentation de l'interaction entre l'ACE2 humaine (représentée en vert) et le motif de liaison au récepteur (RBM, en rouge) du domaine de liaison au récepteur (RBD, couleur cyan) de la glycoprotéine S du SARS-CoV-2.....	8
Figure 6: Mécanisme d'entrée virale du Sars-CoV-2 dans la cellule hôte.....	9
Figure 7: (À gauche) : Représentation filaire de l'alignement de l'ACE2 humain dans son état sans inhibiteur (en bleu clair ; PDB : 1R42) sur l'état lié à l'inhibiteur MLN-4760 (en marron clair ; PDB : 1R4L). Les ions catalytiques Zn ²⁺ sont représentés par des sphères bleu-gris et les ions Cl sont représentés par des sphères vert citron. MLN-4760 est représenté sous forme de tiges d'argent. (Droite) : Déplacement spatial des résidus, de l'ACE2 natif (en bleu clair), responsable de la liaison au Sars-CoV-2, et ceux de l'ACE2 liés à l'inhibiteur (en ; marron). Les distances des déplacements sont représentées par des pointillés jaunes et mesurées en Å.....	10
Figure 8: Représentation schématique des interactions de l'inhibiteur MLN-4760 au site actif de l'ACE2. Le MLN-4760 est représenté en noir. Les résidus dérivés du sous-domaine I sont en rouges et les résidus dérivés du sous-domaine II sont en bleus. Les distances sont mesurées en angströms.	11
Figure 9: Structures des composés pharmaceutiques contenant le motif sulfonamide.....	13
Figure 10: La structure de Prontosil.....	13
Figure 11: Coordination de sulfonamide au zinc dans le site actif d'AC.....	14
Figure 12: Synthèses des ligands hétérocycliques à motif pyridine-triazole.....	15
Figure 13: Le logiciel de docking le plus utilisé.....	18
Figure 14: Principe général de docking moléculaire.....	19
Figure 15: Liaison hydrogène.....	21
Figure 16: Interaction électrostatique.	21
Figure 17: Interaction hydrophobe.....	22
Figure 18: Interaction de ven-der-waals.....	22
Figure 19: Interaction π - π , (1) : « sandwich »,.....	23
Figure 20: Interaction π -sulfure.....	23
Figure 21: Liaison de coordination.....	24
Figure 22: Identification du site actif d'ACE2. (A) Surface structurale d'ACE2 en complexe avec son inhibiteur MLN-4760 ; (B) Structure 3D de l'inhibiteur de MLN-4760 séparé ; (C) Protéine ACE2 avec une cavité de couleur rouge qui représente un site d'interaction libre [7].....	31
Figure 23: structure de l'inhibiteur naturel.....	31
Figure 24: Structure moléculaire, 2D et 3D, des dérivés de sulfonamide (L0, L1, L2).	32
Figure 25: Position de la boîte d'interaction dans le site actif de l'ACE2.....	33
Figure 26: Superposition de la géométrie du ligand naturel MLN-4760 (couleur rouge) et de celle calculée par l'amarrage moléculaire (couleur jaune) dans le site actif de l'ACE2.....	36
Figure 27: Interactions de l'inhibiteur MLN-4760 re-amaré avec les résidus de chaîne latérale de site actif de l'ACE2. Projection 2D et 3D visualisé par « Discovery stydio ».....	38
Figure 28: les interactions de l'inhibiteur naturel MLN-4760 avec les résidus du site actif de l'ACE2 [11]......	38

Figure 29: Alignements des dérivés sulfonamides dans le site actif de l'ACE2. Ligand naturel MLN-4760 est coloré en rouge. L0 en marron, L1 en jaune, L2 en vert (cas exceptionnelle pour L2 en bleu).....	39
Figure 30: Histogramme des interactions des inhibiteurs avec les résidus de site actif de l'ACE2.	40
Figure 31: les valeurs prédites des énergies d'interactions et des constantes d'inhibition des ligands avec l'ACE2.	41
Figure 32: Résidus impliqués dans des contacts protéine-ligands dans le site actif de l'ACE2.....	42
Figure 33: l'interaction entre le ligand (L0) et les acides aminés de l'ACE2. Projection 2D et 3D visualisés par « Discovery stydio ».	43
Figure 34: l'interaction entre le ligand (L1) et les acides aminés de l'ACE2. Projection 2D et 3D visualisé par « Discovery stydio ».	44
Figure 35: l'interaction entre le ligand L2 et les acides aminés de l'ACE2. Projection 2D et 3D visualisés par « Discovery stydio ».	45
Figure 36: l'interaction entre le ligand L2 et les acides aminés de l'ACE2-Lig2(2). Projection 2D et 3D visualisé par « Discovery stydio ».	46

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les résultats de docking moléculaire de l'ACE2 + ligands. (D) donneur, (A) accepteur, et la distances (Å) entre l'ion de zinc et les atomes intervenant en interactions.	37
--	----

Abréviations

AAZ	Acétazolamide
ACE	Angiotensin-converting enzyme
ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2
ADT	AutoDock Tools
AG	Algorithme génétique
Ala	Alanine
Arg	Arginine
ARN	Acide ribonucléique
Asn	Asparagin
ASP	Aspartique
CCDC	Cambridge Crystallographic Data Center
CoV	Coronavirus
CuAAC	cycloaddition alcyne-azide catalysée par le cuivre
Cys	Cystéine
Dlg	Docking log file
Dpf	Docking Paramètre File
DZA	Dorzolamide
Glg	Grid Log file
Glu	Glutamique
Glu	Glutamin
Gpf	Grid Paramètre File
hCA	Anhydrase carbonique humaine
His	Histidine
IC₅₀	Concentration inhibitrice médiane
Ki	Constante d'inhibition
L0	4-(4-(pyridin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)benzenesulfonamide
L1	4-((4-(pyridine-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)benzenesulfonamide
L2	4-(2-(4-(pyridine-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)ethyl)benzenesulfonamide
Met	Métheonine
MLN-4760	(S, S)-2-(1-Carboxy-2-(3-(3,5-dichlorobenzyl)-3H-imidazol-4-yl)-ethylamino)-4-methylpentanoic acid
MM	Mécanique moléculaire
PDB	Protéine Data Bank
Phe	Phénylalanine
Pro	Proline
RBD	Receptor-binding domain
RL	Récepteur-ligand
RMSD	Root Mean Square Déviation
Sars-Cov	Syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus
SDF	Standard Data-base Format
SRAA	Système rénine/angiotensine/aldostérone
Thr / Trp	Théréonine /Tryptophane
Try / Tyr	Tyrosine / Therocine
VDW	Van Der Waals
ZBG	Znc-binding groups
ΔG	Energie d'interaction

Table des matières

Introduction générale	1
Références	3

Partie bibliographique

Chapitre I : L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2)	4
I.1. Définition	4
I.2. Répartition	4
I.3. Le rôle	5
I.4. Structure	5
I.5. ACE2, un récepteur du Sars-CoV-2	7
I.6. Mécanisme de l'infection par Sars-CoV-2	8
I.7. Inhibition de l'ACE2	9
Chapitre II : Les composés sulfonamides	12
II.1. Activité pharmacologique et thérapeutique	12
II.2. Mécanisme d'inhibition des métalloenzymes	14
II.3. Composés sulfonamides contenant le motif pyridine-triazole	14
Chapitre III : Docking moléculaire	17
III.1. Notions générales	17
III.2. Les logiciels de Docking moléculaire	17
III.3. Principe de docking moléculaire	18
III.4. Les outils de docking moléculaire	19
III.5. Les Algorithmes Génétiques (AG)	19
III.6. Fonctions de scores	20
Chapitre IV : Les interactions intermoléculaires Protéine–Inhibiteurs	21
Références bibliographiques	25

Partie computationnelle

Chapitre V : Méthodes et matériels	30
V.1. Les programmes utilisés	30
V.2. Importance de la structure co-cristallisée	30
V.3. Préparation des molécules pour le docking moléculaire	30
V.3.1. Le récepteur	30
V.3.2. Les ligands	31

V.4. La réalisation du docking moléculaire	33
V.4.1. Calcul de la grille d'interaction (calcul AutoGrid4):.....	33
V.4.2. Recherche des solutions de docking (calcul AutoDock4)	34
Chapitre VI : Résultats et discussions	35
VI.1. Validation de la fiabilité du système de docking.....	35
VI.1.1. Ecart quadratique moyen (RMSD)	35
VI.1.2. L'analyse visuelle	35
VI.1.2. Interactions entre le ligand naturel et le récepteur (MLN-4760-ACE2)	36
VI.2. Docking des dérivés sulfonamides	39
VI.2.1. Alignement des dérivés	39
VI.2.2. Interprétation des histogrammes.....	39
VI.2.3. L'interaction Hétéroatome—Zn ²⁺	42
VI.2.3. Interaction L0—ACE2	43
VI.2.4. Interaction L1—ACE2	44
VI.2.5. Interaction L2—ACE2	44
Références	47
Conclusion générale	49

Introduction générale

Introduction générale

Le COVID-19 est causée par un virus appelé Sars-CoV-2. Il affecte principalement le système respiratoire; Cependant, il peut également affecter différents systèmes du corps [1]. Ce virus se sert d'un récepteur présent à la surface des cellules pour entrer dans celles-ci et les infecter. Ce récepteur s'appelle l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ACE2). Une fois rendue à l'intérieur de la cellule cible, le Sars-CoV-2 interagit avec des enzymes cellulaires afin de causer l'infection.

Or, l'ACE2 est impliqué dans la régulation de certaines fonctions cardiovasculaires, pulmonaires et rénales. Il est notamment situé au cœur d'un mécanisme de régulation de la pression artérielle, le système rénine/angiotensine/aldostérone (SRAA).

Récemment, des efforts considérables ont été faits (en utilisant le docking moléculaire) pour développer de nouveaux inhibiteurs pouvant entraver la fixation du Sars-CoV-2 aux récepteurs transmembranaires ACE2. Cela peut empêcher la pénétration du virus et ainsi limiter la réplication virale [2].

Les sulfonamides et leurs dérivés occupent une place importante en biologie et en médecine. Le premier médicament antibactérien sur le marché était un composé à base de sulfonamide appelé Prontosil [3]. Bien que les sulfonamides soient généralement utilisés dans le traitement des infections bactériennes, ils ont été utilisés dans de nombreux domaines tels que le cancer, la maladie d'alzheimer et la lutte contre le VIH [4,5].

Dans une étude récente, une série de molécules à base de sulfonamide contenant le motif pyridine-triazole (**L0**, **L1**, **L2**) ont été utilisées comme inhibiteurs puissants de l'anhydrase carbonique humaine (hCA) [6]. Il convient de noter que les deux enzymes, hCA et ACE2, appartiennent à la même famille de métalloenzymes qui possèdent des sites catalytiques similaires (Zn^{2+}). Cette analogie donne une indication que ces dérivés sulfonamides pourraient être de puissants inhibiteurs contre l'ACE2.

À cette fin, nous nous intéressons à comprendre les mécanismes d'action des composés sulfonamides dans le site actif de l'ACE2, en utilisant des méthodes de docking moléculaire. Le docking moléculaire des complexes protéine-inhibiteurs joue un rôle important dans la compréhension du mécanisme d'inhibition ainsi que dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques contre le Sars-CoV-2.

Introduction générale

Notre travail se divise principalement en deux parties :

Partie bibliographie comprend les concepts généraux sur l'ACE2, son association avec le Sars-CoV-2, ses mécanismes d'inhibition, et l'activité biologique des sulfonamides. Nous avons également vu les méthodes théoriques permettant l'étude de docking moléculaire et les interactions intermoléculaires inhibiteur–protéine

Partie computationnelle est dédiée à la description de la méthodologie de docking utilisée ainsi que les résultats et discussions.

Références

- [1] Miriam Marlene Medina-Enríquez et al. ACE2: the molecular doorway to SARS-CoV-2. *Cell Biosci* (2020) 10:148
- [2] H. Inge, et al. "Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis." *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland* 203.2 (2004): 631-637.
- [3] G. Domagk, "Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen," *Deutsch. Med. WSCHR* 61 (7), 250, 1935
- [4] M. Durgun, et al. "Synthesis of Schiff base derivatives of 4-(2-aminoethyl)-benzenesulfonamide with inhibitory activity against carbonic anhydrase isoforms I, II, IX and XII," *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 25 (11), 2377-2381, 2015.
- [5] A. Kołaczek, I. Fusiarz, J. Ławecka, D. Branowska, "Biological activity and synthesis of Sulfonamide derivatives: a brief review," *Chemik*, 68 (7), 620-628, 2014.
- [6] A. Yassine et al, Synthesis, Crystal Structure, Inhibitory Activity and Molecular Docking of Coumarins/Sulfonamides Containing Triazolyl Pyridine Moiety as Potent Selective Carbonic Anhydrase IX and XII Inhibitors. *Crystals* 2021, 11, 1076.

Partie

bibliographique

Chapitre I :

L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2

Chapitre I : L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2)

I.1. Définition

L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2, ou ACE2 (de l'anglais Angiotensin Converting Enzyme 2), est une mono carboxypeptidase liée à la membrane plasmique des cellules humaines et exprimée principalement dans les cellules cardiaques, intestinales, rénales et pulmonaires alvéolaires [1].

L'ACE2 est impliqué dans la régulation de certaines fonctions cardiovasculaires, pulmonaires et rénales. Il est notamment situé au cœur d'un mécanisme de régulation de la pression artérielle, le système rénine/angiotensine/aldostérone (SRAA). Il conduit à la production de l'angiotensine 1-7, qui exerce des fonctions opposées à l'angiotensine II (produite quant à elle par une autre enzyme, l'ACE) : la première favorise notamment la dilatation des petits vaisseaux (vasodilatation) tandis que la seconde est plutôt vasoconstrictrice. Ces deux molécules interagissent au sein d'une « balance » physiologiquement équilibrée, mais qui peut pencher d'un côté ou de l'autre dans des conditions pathologiques. Lorsque le virus interagit avec ce récepteur, la balance entre vasoconstriction et vasodilatation serait modifiée (figure 1) [2].

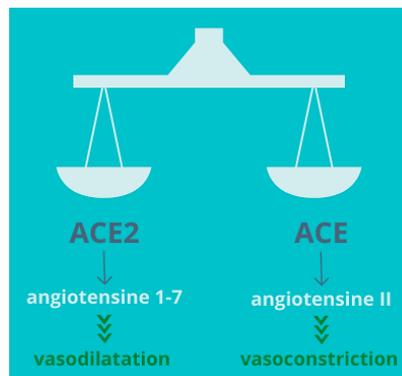


Figure 1: Balance entre vasoconstriction et vasodilatation. [3]

I.2. Répartition

En 2003-2004, des chercheurs ont essayé de comprendre comment un virus apparenté, soit le SRAS-CoV (cause du syndrome respiratoire aigu sévère), réussissait à entrer dans les cellules. Ils ont trouvé que le SRAS-CoV se servait lui aussi de l'ACE2.

L'ACE2 se trouve à la surface de nombreuses sortes de cellules dans différentes parties de l'organisme, y compris les parties suivantes que nous avons regroupées parce qu'elles accomplissent des fonctions apparentées : bouche, nez, gorge et poumons ; estomac et tissus intestinaux, y compris le côlon ; moelle osseuse, ganglions lymphatiques, rate et thymus ; foie ; cerveau ; cellules tapissant les parois des artères, cœur ; testicules. Même si l'ACE2 se trouve à la surface de nombreuses cellules de l'organisme, la recherche a permis de constater des taux particulièrement élevés d'ACE2 sur les tissus des poumons, du système cardiovasculaire, des intestins et des reins. En théorie, ces taux élevés d'ACE2 rendent ces tissus plus vulnérables à l'infection et aux dommages causés par le Sars-CoV-2 [1].

I.3. Le rôle

Le rôle normal de l'ACE2 consiste à convertir l'hormone angiotensine II en angiotensine. Cette conversion de l'angiotensine II aide à réduire le resserrement des vaisseaux sanguins et incite les reins à extraire du sodium du sang afin de réduire la tension artérielle. L'ACE2 joue donc un rôle protecteur pour le système cardiovasculaire et les reins. L'ACE2 possède d'autres qualités protectrices aussi, notamment ses effets anti-inflammatoires et, vraisemblablement, la capacité de réduire le risque de caillots sanguins excessifs. De plus, c'est une cible médicamenteuse importante pour le traitement des maladies pulmonaires, de l'insuffisance cardiaque, de l'hypertension, des maladies rénales et du diabète [4-5].

I.4. Structure

Le gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) est localisé sur le chromosome X (p22.2) humain (Figure 2) [6].

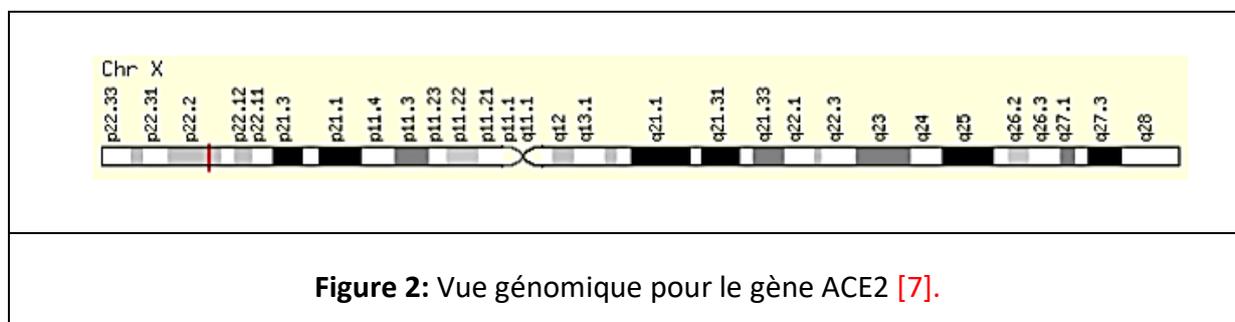


Figure 2: Vue génomique pour le gène ACE2 [7].

La structure secondaire de l'ACE2 contient 20 hélices α et 9 hélices 3_{10} qui totalisent environ 62 % de la structure. Elle contient également 6 feuillets β qui totalisent 3,5 % supplémentaires.

La région extracellulaire de l'ACE2 révèle deux sous-domaines principaux, dans lesquels une grande fente de site actif s'est formée entre eux avec des tailles de 40 Å de longueur, 15 Å de largeur et 25 Å de profondeur [8]. Le petit sous-domaine I comprend le site catalytique contenant du zinc et l'extrémité N-terminale, y compris les résidus de 19 à 102, 290 à 397 et 417 à 430.

- Le plus grand sous-domaine II contenant l'extrémité C-terminale et se compose des acides aminés 103 à 289, 398 à 416 et 431 à 615.
- La région de liaison au zinc est située près du fond et plus précisément sur le premier sous-domaine et à proximité des acides aminés catalytiques de sous domaine II. Le cation de zinc (Zn^{2+}), qui intervient comme cofacteur dans le site actif de l'enzyme, est coordonné aux résidus His³⁷⁴, His³⁷⁸, Glu⁴⁰² et à une molécule d'eau H₂O (à l'état natif). Ces résidus forment la séquence HEXXH + E, où H = histidine, E = glutamate et X = acide aminé indéterminé ; ce motif est conservé dans les métallopeptidases à zinc (Figure 3) [8].

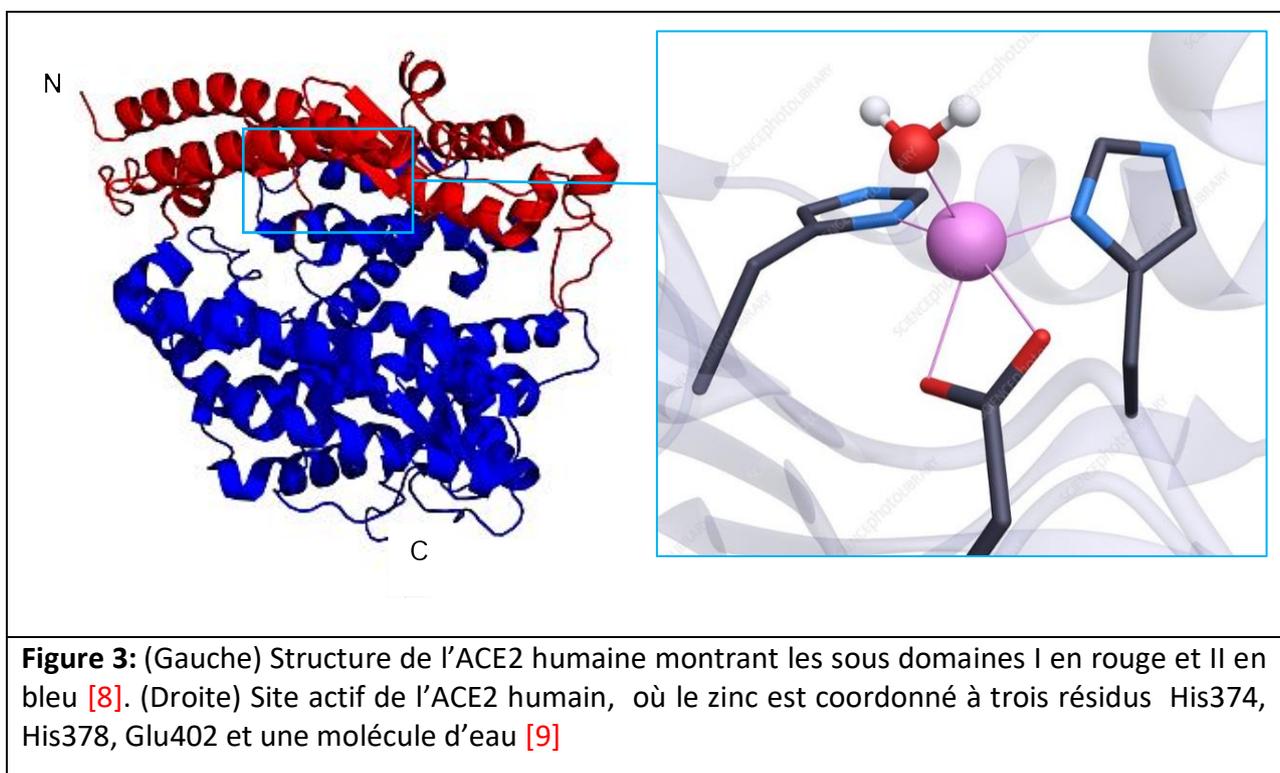


Figure 3: (Gauche) Structure de l'ACE2 humaine montrant les sous domaines I en rouge et II en bleu [8]. (Droite) Site actif de l'ACE2 humain, où le zinc est coordonné à trois résidus His374, His378, Glu402 et une molécule d'eau [9]

Le côté extérieur de sous-domaine I permet aux principaux résidus d'hélice N-terminal (Glutamine 24, Aspartate 30, Glutamate 35, Glutamate 37, Aspartate 38, Tyrosine 41, Glutamine 42, Tyrosine 83, Glutamine 325, Glutamate 329, Asparagine 330, Lysine 353, and Arginine 393) d'être impliqués dans des interactions de type hydrogène/ionique avec le domaine de liaison au récepteur (RBD : receptor-binding domain) de la glycoprotéine de surface du Sars-CoV-2 (également appelée protéine S, Spike ou spicule) (voir la [figure 5](#) dans le paragraphe I.6) .

I.5. ACE2, un récepteur du Sars-CoV-2

Le Sars-CoV-2 est un virus à ARN (simple brin, polarité positive), avec un génome protégé par une enveloppe. Sur cette enveloppe, on retrouve plusieurs protéines de structure: les protéines membranaires (M), d'enveloppe (E) et Spike (S) qui lui donnent l'aspect de couronne ([figure 4](#)) [10,11].

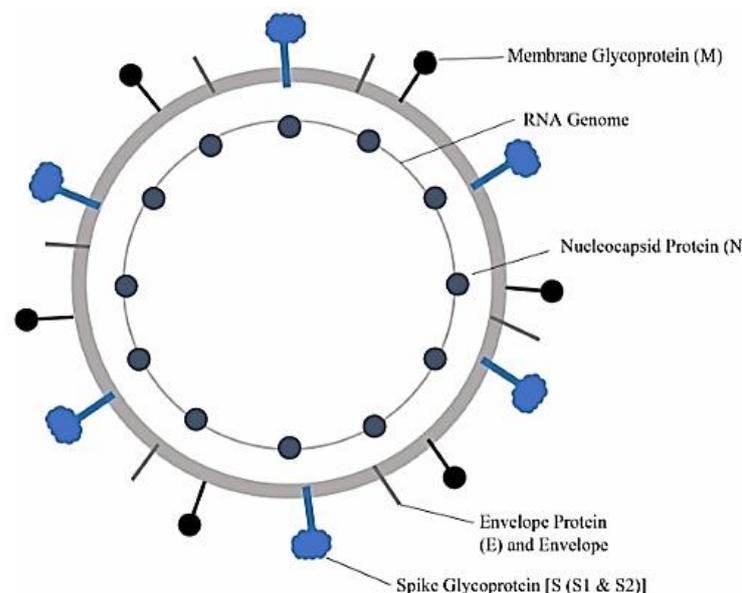


Figure 4: Structure du virion du SRAS-CoV [10].

Une fois que le Sars-CoV-2 a infecté une cellule, il réussit d'une manière ou d'une autre à inciter la cellule à réduire l'expression de l'ACE2 à sa surface. L'infection des cellules du système organique réduit l'expression de l'ACE2 et, par conséquent, les niveaux d'ACE2 ne seront pas suffisants pour protéger les cellules des dommages inflammatoires [11].

Concernant l'infection des tissus pulmonaires par le Sars-CoV-2, les chercheurs estiment que la réduction subséquente de l'expression de l'ACE2 pourrait accroître le risque de lésions pulmonaires causées par l'infection par ce virus et/ou des bactéries.

I.6. Mécanisme de l'infection par Sars-CoV-2

Les virus Sars-CoV-1 et Sars-CoV-2 se lie au même récepteur ACE2, localisé sur la membrane des cellules hôtes [12]. Cependant, l'affinité de liaison entre ACE2 et Sars-CoV-2 est près de 10 à 20 fois plus forte qu'entre ACE2 et Sars-CoV-1 [13]. L'entrée du virus débute avec la liaison de la glycoprotéine de surface S (Spike) du SARS-CoV-2 au récepteur ACE2 [14]. Cette protéine S est constituée de deux sous-unités (S1 et S2), qui ont chacune un rôle bien précis dans l'entrée du virus. La sous-unité S1 contient le domaine de liaison au récepteur, noté RBD (pour receptor-binding domain), susceptible de se lier directement aux résidus d'hélice N-terminal du récepteur ACE2 de la cellule hôte (figure 5).

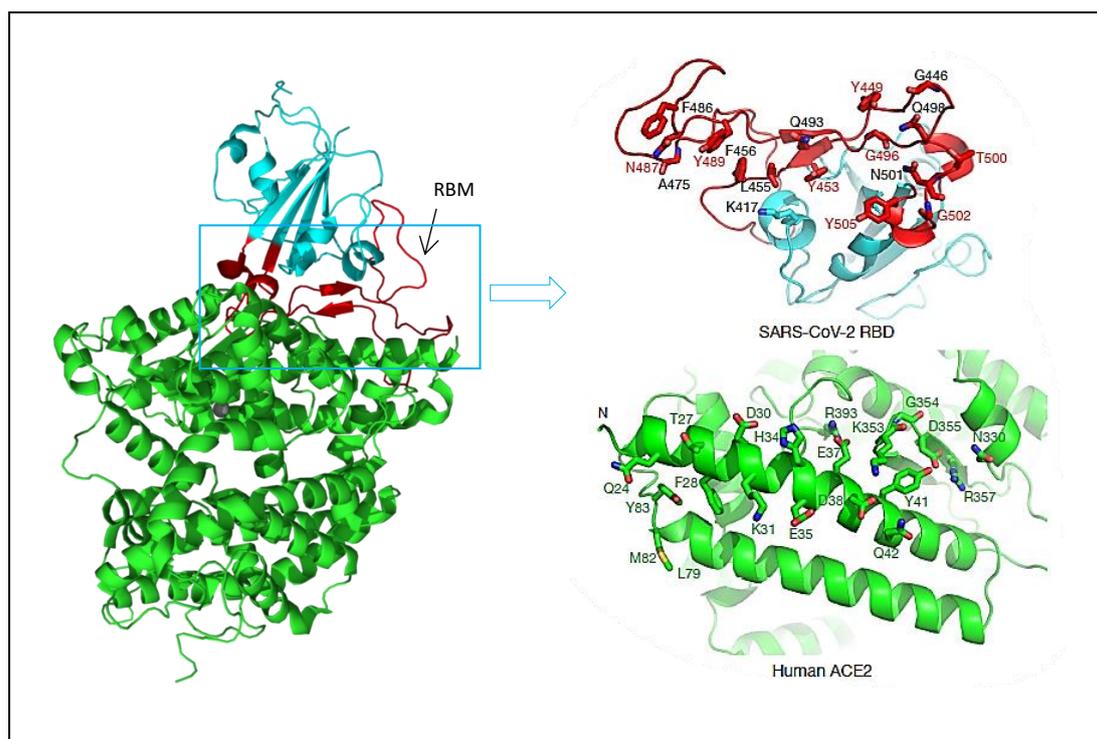
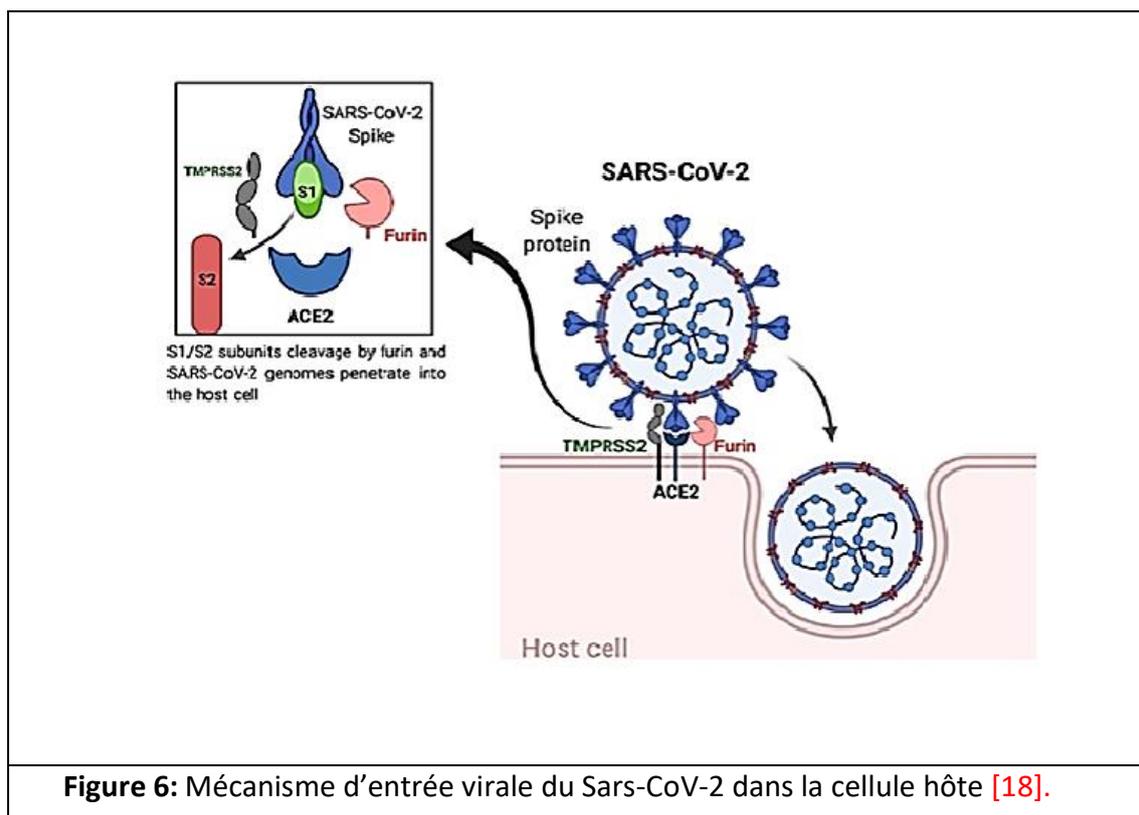


Figure 5: Représentation de l'interaction entre l'ACE2 humaine (représentée en vert) et le motif de liaison au récepteur (RBM, en rouge) du domaine de liaison au récepteur (RBD, couleur cyan) de la glycoprotéine S du SARS-CoV-2 [15]

Cette liaison provoque des changements conformationnels dans la sous-unité S2 qui facilitent la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique de la cellule hôte. La protéine TMPRSS2 (en anglais : Transmembrane Serine Protease 2) [14,16] est également présente à la surface de la cellule hôte. Elle est nécessaire pour cliver et activer la protéine Spike (qui présente deux conformations : ouverte et fermée), permettant ainsi la fusion des membranes de la cellule hôte et du virus (figure 6) [17].



I.7. Inhibition de l'ACE2

Les inhibiteurs de l'ACE2 sont des molécules capables de se lier au site actif du récepteur ACE2, conduisant à la formation d'un complexe protéine-ligand qui empêche le virus de se fixer ou/et de pénétrer la surface cellulaire.

En 2004, le groupe de recherche de Paul Towler [8] a développé un inhibiteur (MLN-4760) puissant et sélectif de l'enzyme ACE2 ($IC_{50} < 1$ nM), qui forme des interactions orientées et fortes avec les atomes constituant le site actif du récepteur l'ACE2.

D'après les données cristallographiques, lorsque l'inhibiteur MLN-4760 se lie au site actif de l'ACE2, la grande fente se referme autour de l'inhibiteur, provoquant la contraction

des deux sous-domaines I et II vers l'intérieur. Ainsi, les résidus polaires d'ACE2 responsables de la liaison avec le domaine de liaison au récepteur (RBD), de la glycoprotéine (S) du Sars-CoV-2, subissent également une déviation spatiale relative de 6 Å à 9 Å (figure 7). Ces changements conformationnels significatifs obstruent raisonnablement l'attachement viral aux surfaces des cellules réceptrices.

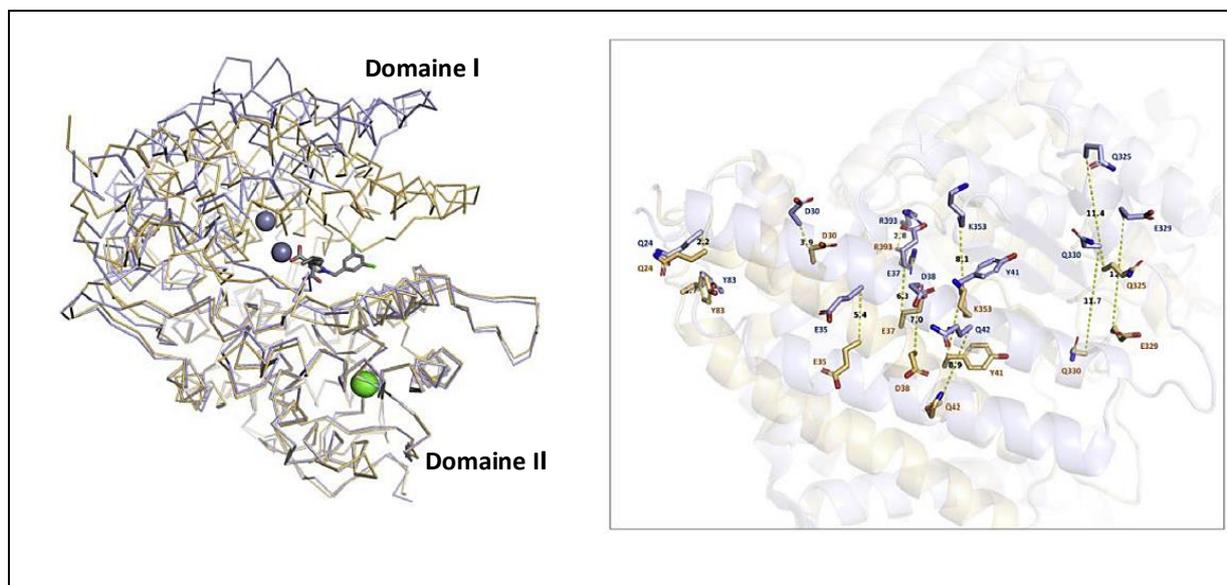


Figure 7: (À gauche) : Représentation filaire de l'alignement de l'ACE2 humain dans son état sans inhibiteur (en bleu clair ; PDB : 1R42) sur l'état lié à l'inhibiteur MLN-4760 (en marron clair ; PDB : 1R4L). Les ions catalytiques Zn^{2+} sont représentés par des sphères bleu-gris et les ions Cl sont représentés par des sphères vert citron. MLN-4760 est représenté sous forme de tiges d'argent. (Droite) : Déplacement spatial des résidus, de l'ACE2 natif (en bleu clair), responsable de la liaison au Sars-CoV-2, et ceux de l'ACE2 liés à l'inhibiteur (en ; marron). Les distances des déplacements sont représentées par des pointillés jaunes et mesurées en Å [19].

La position de l'inhibiteur naturel MLN-4760 à l'intérieur de la cavité ACE2 nous permet d'explorer les interactions établies entre cet inhibiteur et le site actif contenant du zinc. Comme le montre la figure 8, les deux sous-domaines de l'ACE2 sont impliqués dans des interactions avec l'inhibiteur MLN-4760. L'analyse de profil de liaison inhibiteur-protéine a révélé que les acides aminés essentiels impliqués dans les interactions hydrogène avec l'inhibiteur MLN-4760 sont Arg²⁷³, His³⁴⁵, Pro³⁴⁶, Glu³⁷⁵, His⁵⁰⁵ et Tyr⁵¹⁵ ; ils sont essentiels pour identifier le site actif en raison de leur rôle central dans les données expérimentales.

De plus, le groupe carboxyl-terminal (-COOH) de l'inhibiteur MLN-4760 est lié à l'ion Zn^{2+} de manière bidentée par les atomes d'oxygènes du groupement carboxylique. Il

convient de noter que les inhibiteurs les plus courants qui ciblent les métallo-enzymes (dépendantes du zinc) comprennent les phosphonates ($R^1\text{-PO}(\text{OR}^2)(\text{OR}^3)$), les phosphates ($-\text{OPO}(\text{OH})_2$), l'hydroxamate ($-\text{CO-NH}(\text{OH})$), les carboxylates ($-\text{COOH}$) et sulfonamide ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) [20]. Ces fonctions, appelées groupes de liaison au zinc (ZBG) (en anglais: zinc-binding groups), sont connues pour leur capacité à se coordonner avec le zinc (site actif) via un hétéroatome (O, N ou S) en remplaçant la molécule d'eau attachée dans la protéine ACE2 libre [20].

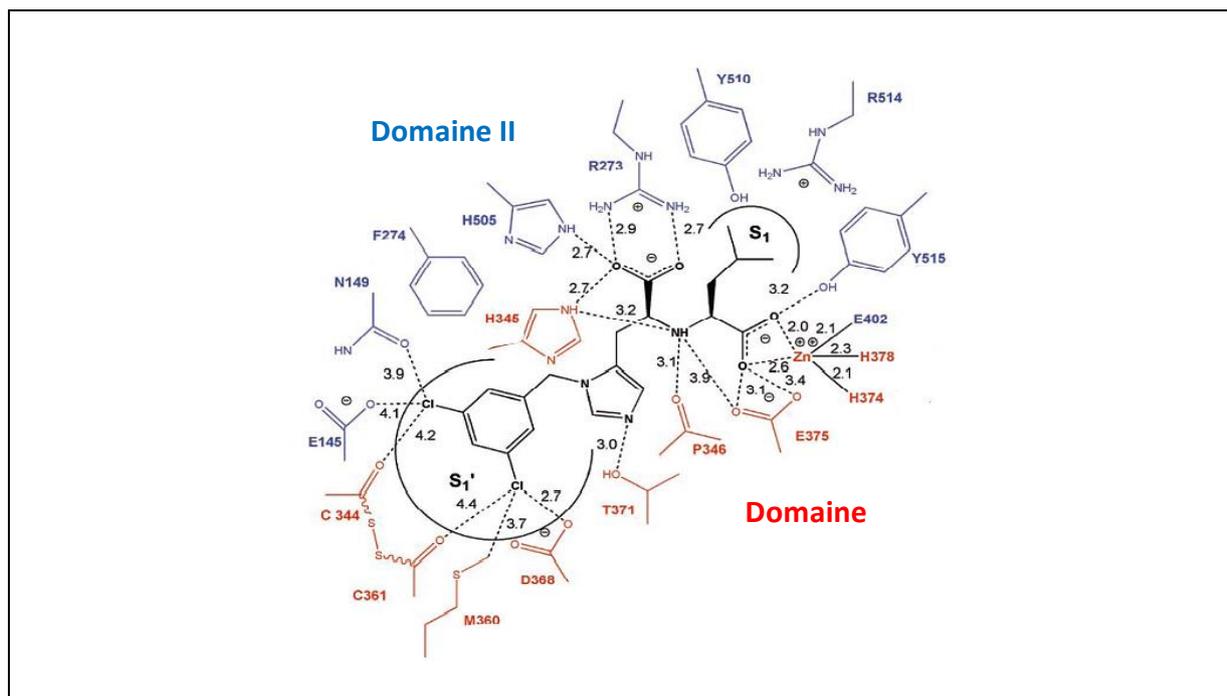


Figure 8: Représentation schématique des interactions de l'inhibiteur MLN-4760 au site actif de l'ACE2. Le MLN-4760 est représenté en noir. Les résidus dérivés du sous-domaine I sont en rouges et les résidus dérivés du sous-domaine II sont en bleus. Les distances sont mesurées en angströms [8].

Les substituants d'inhibiteur MLN-4760 couvrent presque tout le domaine actif, donc son mécanisme de reconnaissance devrait représenter un modèle canonique pour les autres inhibiteurs-ACE2. Sur la base de ce mécanisme, plusieurs composés pharmacologiquement actifs ont été criblés [21].

Le MLN-4760 a été testé sur des patients de colite ulcéreuse (qui est liée à la surexpression de l'ACE2) dans un essai clinique entre 2009 et 2011, mais le développement de ce médicament a été abandonné, en raison de préoccupations concernant la toxicité (disponible sur <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01039597>).

Chapitre II :

Les composés sulfonamides

Chapitre II : Les composés sulfonamides

II.1. Activité pharmacologique et thérapeutique

Les études de relation structure-activité des composés soufrés ont permis de mettre en évidence l'importance de la chimie de soufre qui est devenue un sujet très étudié à l'heure actuelle. Parmi les composés qui contiennent le motif sulfonyle, on trouve les sulfonamides [22-25].

L'introduction de sulfonamides en médecine clinique dans les années trente a marqué le début de la chimiothérapie. Ces composés représentent une classe considérable de médicaments et présentent un large spectre d'activité biologique [26-28]. Ils sont fréquemment employés en tant que :

- Agents diurétiques et hypoglycémiques [29],
- Inhibiteurs d'anhydres carbonique [30],
- Agents anti-bactériens [31],
- Anti-thyroïdes [32],
- Anti-tumoraux [33]
- Anti-cancéreux [34,35].

D'autres activités aux dérivés sulfonamides sont également à signaler comme des agents herbicides [36] et antifongiques pour leurs potentielles applications agricoles [37].

Selon leur mode d'action, ils sont regroupés en plusieurs classes de médicaments utilisés en clinique. On peut citer (figure 9) :

- L'Acétazolamide AAZ (1) (antiglaucome systématique un inhibiteur d'AC) [38] ;
- Le Dorzolamide DZA (2) (anti-glaucome locale) [39] ;
- Le Célécoxib (3) (anti-inflammatoire) [40] ;
- Le Sildénafil (4) (anti-impotence) [41] ;
- Le Zonisamide (5) (antiépileptique) [42] ;
- L'Indisulma (6) (anti-cancéreux) [43] ;
- Le Bendrofluméthiazide (7) (pour traiter l'hypertension artérielle) [44] ;
- Le Tolbutamide (8) (antidiabétique) [45] ;
- Le Furosemide (9) [46] ;
- L'Amprenavir (10) (anti-VIH) [43] ;
- La méthazolamide (11) et la dichlorphénamide (12) (anti-tumeurs) [47,48].

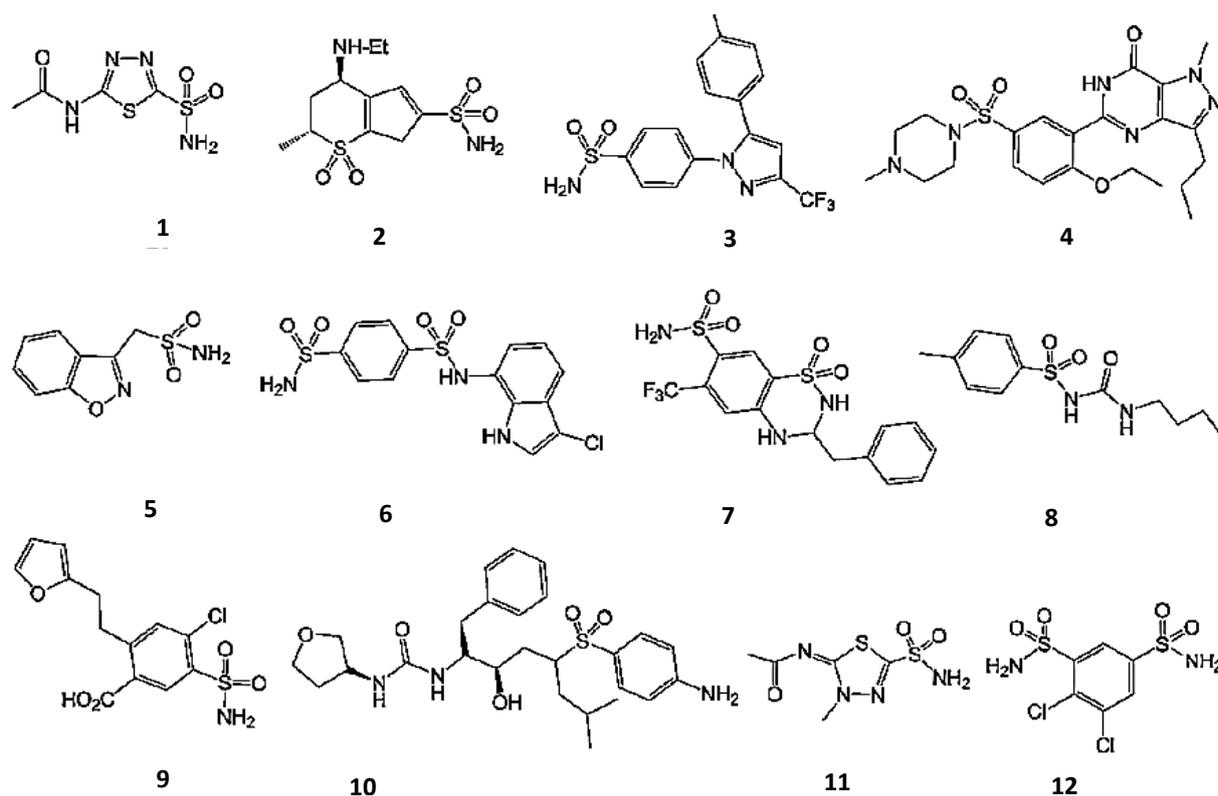


Figure 9: Structures des composés pharmaceutiques contenant le motif sulfonamide [49]

Le premier sulfonamide antibactérien disponible dans le commerce était sous le nom commercial Prontosil (figure 10), qui est une prodrogue [50]. Il a été découvert en 1932 par une équipe de recherche des laboratoires Bayer du conglomerat IG Farben en Allemagne. Il a un effet relativement large contre les cocci à gram positif, mais pas contre les entérobactéries. La découverte et le développement de ce médicament sulfonamide ont ouvert une nouvelle ère en médecine [51].

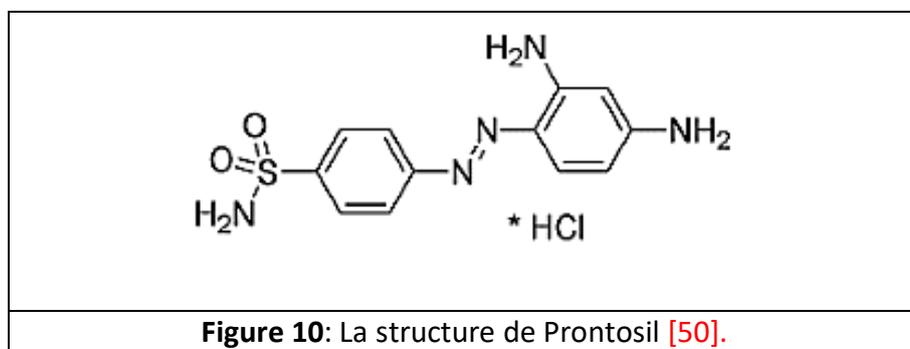
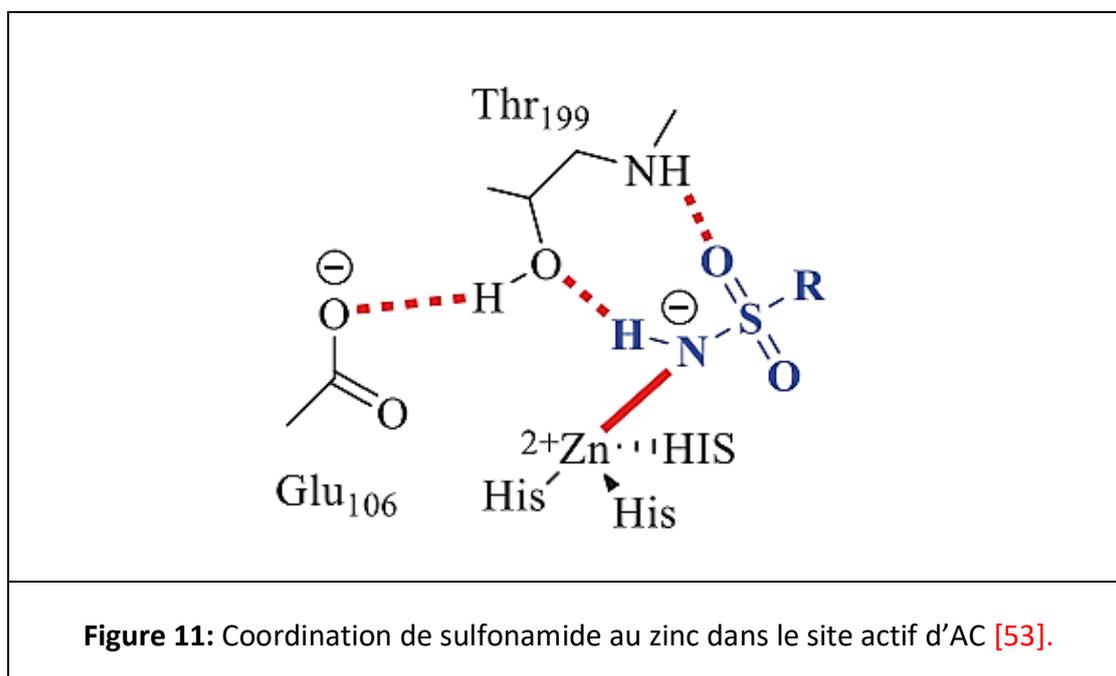


Figure 10: La structure de Prontosil [50].

II.2. Mécanisme d'inhibition des métalloenzymes

Généralement, les sulfonamides aromatiques/hétérocycliques sont les types les plus étudiés d'inhibiteurs organiques des métalloenzymes à zinc, tels que l'anhydrase carbonique. Récemment, des études de cristallographie par rayons X ont permis de comprendre le mode d'action des sulfonamides [52].

Comme le montre la figure 11, l'atome d'azote du groupement sulfonamide (-SO₂NH₂) se lie de manière tétraédrique à l'ion Zn²⁺ de l'enzyme et se substitue à l'ion OH⁻. Cette liaison peut être stabilisée par des liaisons hydrogène avec les résidus Thr¹⁹⁹ et Glu¹⁰⁶ qui permettent d'ancrer l'inhibiteur au cofacteur métallique. Les parties aromatiques ou hétérocycliques des sulfonamides (**R** sur la figure 11) peuvent, selon leur nature, interagir par des liaisons de Van Der Waals avec les zones hydrophiles ou hydrophobes de la poche contenant le site actif. Les différents types d'interactions qu'une molécule est capable d'effectuer sont en relation directe avec son affinité et son pouvoir inhibiteur [52].

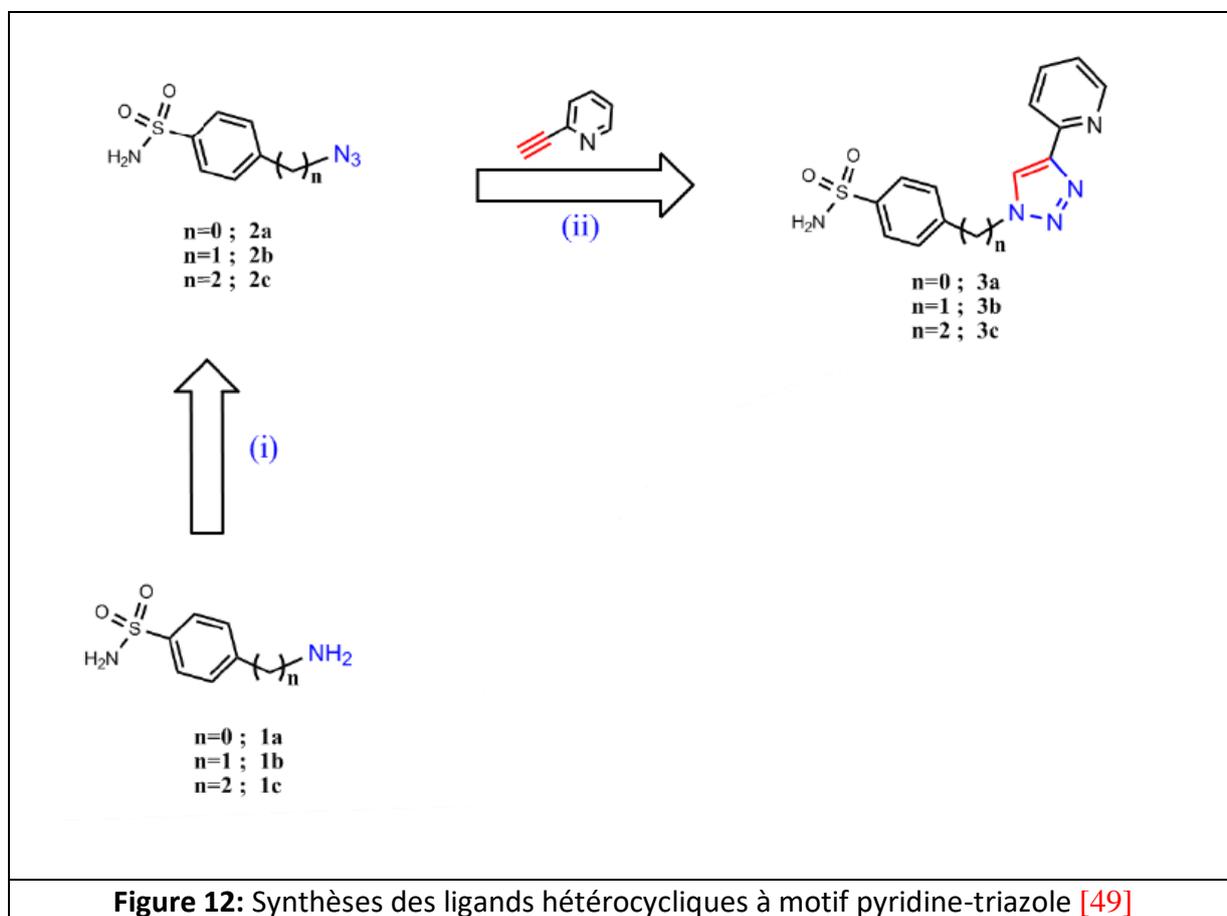


II.3. Composés sulfonamides contenant le motif pyridine-triazole

Grâce à leurs caractéristiques structurales et électroniques intéressantes, les groupes pyridine-triazoles, qui sont formés au cours de la réaction de la chimie click, ont été considérés comme des unités de coordination. Pour cela, des efforts cruciaux sont faits pour

tirer avantage des propriétés intéressantes des hétérocycles [54]. La présence de deux atomes d'azote hybridés en sp^2 (avec des paires d'électrons libres accessibles) au sein de l'unité 1,2,3-triazole signifie qu'ils sont potentiellement capables de coordonner les ions métalliques des métalloenzyme. Cette propriété a conduit à une croissance d'intérêt vers les composés sulfonamides contenant des motifs 1,2,3-triazoles.

Dans une étude récente, trois dérivés 2-pyridyl-1,2,3-triazole contenant des pharmacophores sulfonamides substitués (**2a-c**) ont été développés en tant qu'inhibiteurs puissants de l'anhydrase carbonique humaine (hCA) [49]. La conception de ces molécules consiste à réaliser la synthèse en deux étapes simple et rapide, c'est la Chimie Click (figure 12). Il s'agit de synthétiser respectivement : (i) des blocs azotures via substitution de dérivés arylsulfonamides par l'azoture de sodium. (ii) on réalise la cycloaddition 1,3-dipolaire entre les azotures et l'éthynylpyridine commercial. La réaction Click se fait dans les conditions standards de la réaction CuAAC (cycloaddition alcyne-azide catalysée par le cuivre) mise au point par Sharpless [55], c'est-à-dire dans un solvant acétonitrile, à température de 45 °C, avec un catalyseur à base de cuivre préparé in situ par réduction du Cu(II) en Cu(I) par l'ascorbate de sodium.



Les essais d'inhibition enzymatique ont révélé des effets positifs intéressants se produisant pour tous les ligands contre l'anhydrase carbonique humain. Les résultats obtenus par le docking moléculaire expliquent la forte affinité des ligands organique vis-à-vis l'anhydrase carbonique par le réseau intense d'interactions supplémentaires fourni grâce à deux azotes libres de l'unité pyridine-triazole.

Il convient de noter que l'ACE2 et hCA appartiennent à la même famille de métalloenzymes, où ils contiennent des sites catalytiques similaires. Cette analogie donne une indication que ces dérivés sulfonamides (**2a-c**) pourraient être de puissants inhibiteurs contre l'ACE2.

Chapitre III :

Docking moléculaire

Chapitre III : Docking moléculaire

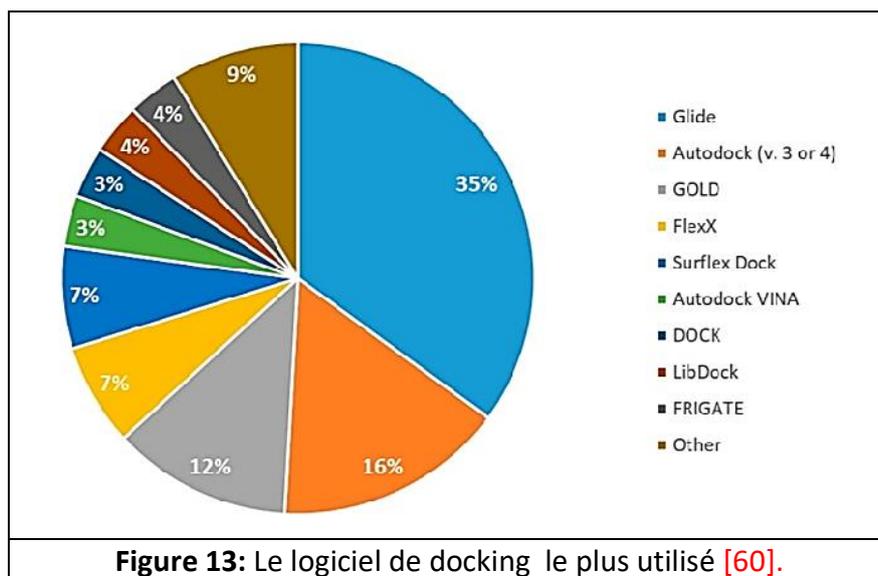
III.1. Notions générales

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking moléculaire est devenu un outil important dans la compréhension des réactions biologiques, ce qui facilite la conception de médicaments. Le docking moléculaire est un processus de simulation qui prédit de la structure et la conformation les plus favorables d'un complexe protéin-ligand. Le récepteur macromoléculaire étant généralement de nature protéique et le ligand est soit une petite molécule soit une autre protéine. Au cours de processus de simulation, le système de docking moléculaire permet prédire la conformation et l'orientation optimales d'un ligand au niveau de site de fixation sur la protéine. La conformation préférée permet alors d'estimer l'affinité de liaison entre ces deux molécules, ainsi que les interactions énergétiquement possibles [56].

III.2. Les logiciels de Docking moléculaire

Plusieurs logiciels ont été utilisés pour étudier les différentes interactions et conformations les plus favorables du ligand au sein de son récepteur. Actuellement, un grand nombre de logiciels de docking moléculaire sont disponibles tels que: GOLD, AUTODOCK, AUTODOCK VINA, FLEXX, SURFLEX, MOLEGRO VIRTUAL DOCKER, UCSF CHIMERA (figure 13) [57,58].

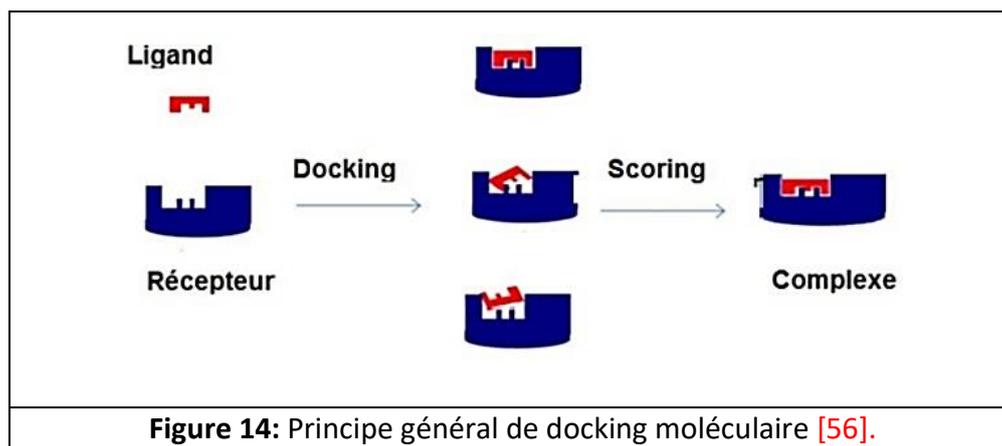
L'AutoDock est l'un de ces programmes utilisé pour évaluer l'affinité entre deux partenaires protéine-ligand. L'AutoDock utilise l'approche semi-flexible, considérant la protéine cible comme un corps rigide tandis que le ligand est flexible. En effet, il représente l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels ou programmes d'amarrage moléculaire. Néanmoins, cela reste approximatif, car le récepteur ne doit pas être considéré comme un corps rigide (au moins la flexibilité du site d'interaction doit être prise en compte). Il est également intéressant de noter que les deux logiciels les plus cités, AutoDock et GOLD, reposent sur une fonction objective basée sur un champ de force combiné avec un algorithme évolutionnaire (génétique). Dans notre étude, nous choisirons un programme d'amarrage moléculaire, AutoDock4.2, qui utilise un algorithme génétique (GA) [59].



III.3. Principe de docking moléculaire

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations et des conformations favorables pour une meilleure fixation d'un ligand à un récepteur. La simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring (figure 14). Ces deux étapes sont respectivement liées aux méthodes d'échantillonnage [56].

- **Le Docking (la première étape) :** est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- **Le Scoring (la deuxième) :** est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées.



III.4. Les outils de docking moléculaire

- **Récepteur :**

Cette étape préliminaire du docking moléculaire est consistée au téléchargement des structures chimiques (enzyme dans notre cas). Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB (Protéine Data Bank, en anglais) (site web: <http://www.rcsb.org/pdb/>). La PDB est la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comprend principalement des protéines et des acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X [61].

- **Ligands :**

Les structures de nos ligands ont été téléchargées depuis le site web PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) et enregistrées dans format SDF. Les fichiers ont été convertis du format SDF au format PDB à l'aide du programme ChemOffice [62].

III.5. Les Algorithmes Génétiques (AG)

Les algorithmes génétiques reprennent des mécanismes et la terminologie de la génétique naturelle et de l'évolution biologique. L'organisation d'un ligand en complexe avec un récepteur peut être définie par un jeu de paramètres décrivant la position, l'orientation et la conformation du ligand par rapport au récepteur. Ces paramètres sont les « variables d'état » et dans un AG, chaque variable d'état correspond à un gène. La valeur de ces variables correspond au génotype et les coordonnées atomiques associées correspondent au phénotype. Chaque état défini du ligand correspond à un individu [63].

Pour l'implémentation de l'AG dans AUTODOCK, le chromosome est composé d'une chaîne de valeur-gènes réelle qui décrit :

- **L'emplacement ligand** : trois coordonnées.
- **L'orientation** : trois coordonnées pour définir l'axe principal de la rotation, et une valeur pour l'angle de rotation du ligand autour de l'axe principal. Ces 4 coordonnées constituent le « quatérion » d'orientation.
- **La conformation** : une valeur pour chaque torsion.

III.6. Fonctions de scores

La procédure de docking permet de générer une liste de complexes représentant les modes d'association favorables entre le ligand et le récepteur. Les méthodes de "scoring" permettent, par la suite, d'évaluer l'énergie de liaison du complexe formé et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking, afin de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire un mode d'association réel. 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 1 [64].



À l'équilibre, cette réaction est déterminée par une constante d'équilibre K_{eq} (équation 2) et aussi par l'énergie libre de liaison ΔG (équation 3).

$$K_{eq} = [RL] / [R] \times [L] \dots\dots(2)$$

$$\Delta G = - RT \ln(K_{eq}) \dots\dots\dots(3)$$

Où R est la constante des gaz parfaits et T est la température (en kelvin).

L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques [59] :

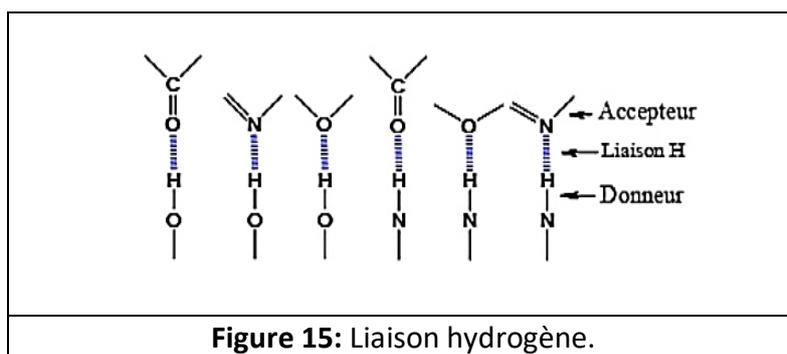
- Les interactions hydrophobes.
- Les interactions électrostatiques.
- Les liaisons hydrogène.
- Les interactions de Van Der Waals.
- Les interactions entre systèmes π .

Chapitre IV :
Les interactions intermoléculaires
Protéine–Inhibiteurs

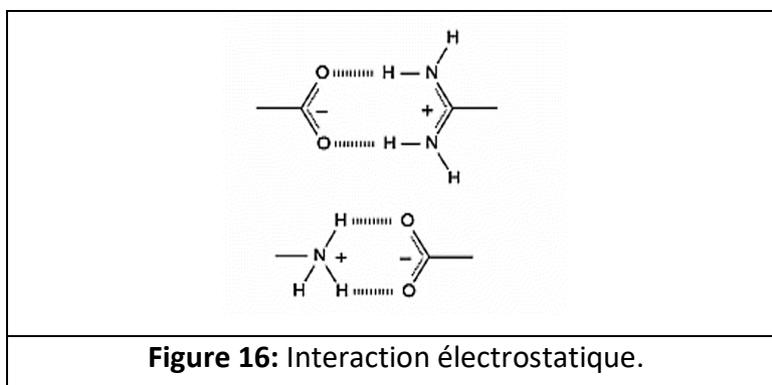
Chapitre IV : Les interactions intermoléculaires Protéine–Inhibiteurs

Au niveau du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles.

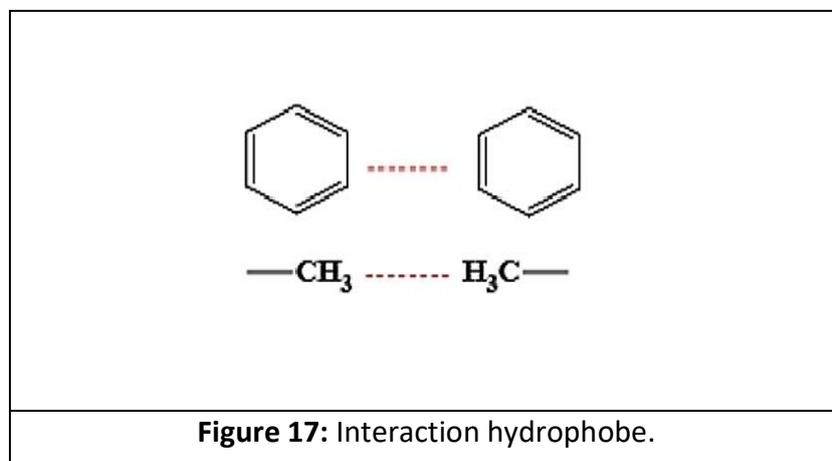
➤ **La liaison hydrogène** : Cette liaison intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur) et elle agit à très courte distance (0,8 à 2,8 Å). Les liaisons hydrogènes sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°). Les liaisons hydrogènes sont définies 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 [65,66].



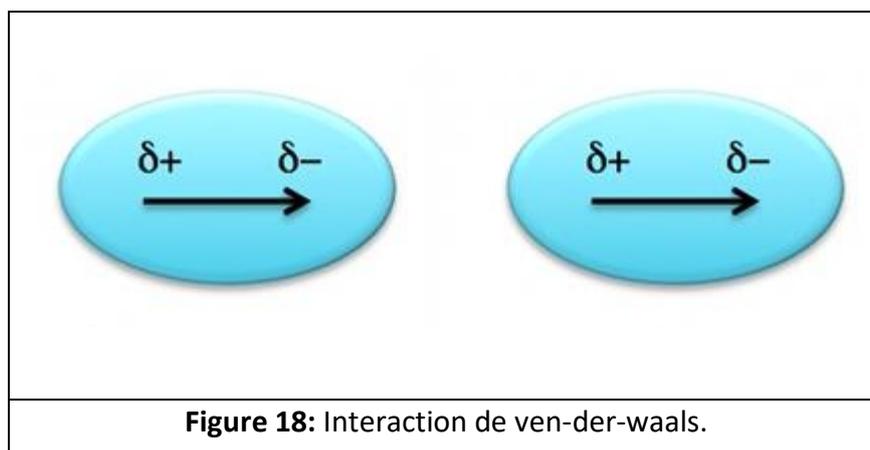
➤ **Les interactions électrostatiques** : Elles agissent à plus grande distance entre les dipôles chargés [67].



➤ **Les interactions hydrophobes** : Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent donc pas s'hydrater ; pour cette raison on les nomme substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance de ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau [68].

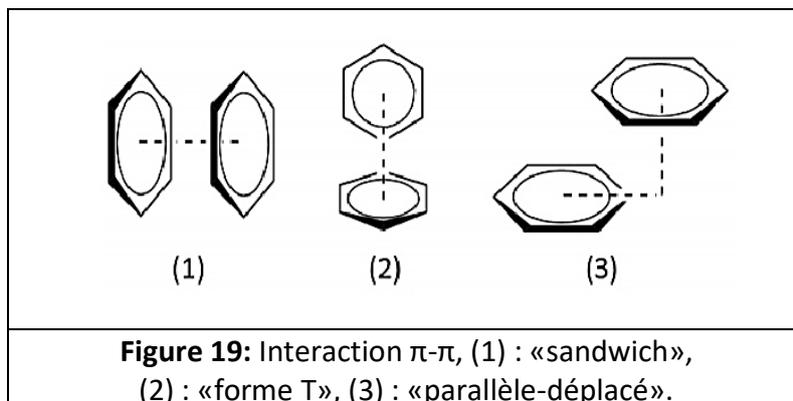


➤ **Interactions de Van Der Waals** : Ce sont des interactions entre atomes, molécules, ou entre une molécule et un cristal. Ces interactions Van Der Waals s'appliquent à très courte distance et ne concernent donc que les atomes de surface. Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice [69].

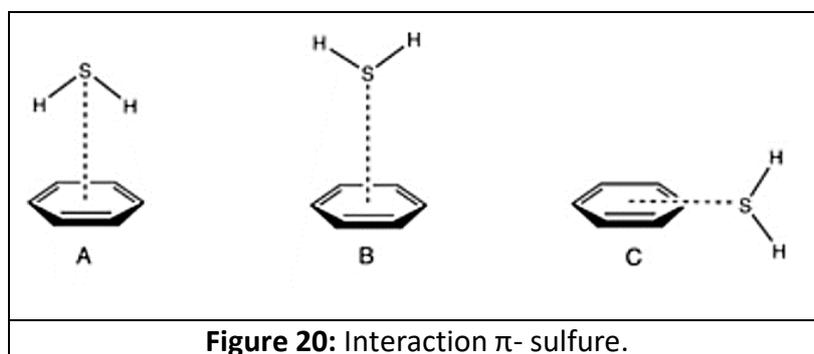


➤ **Les interactions entre systèmes π** : C'est une interaction moléculaire faible. Une entité aromatique peut interagir avec une autre entité aromatique. Cette réaction se compose de 3 formations, dont : le « sandwich » qui est la configuration la plus courante, et elle se compose

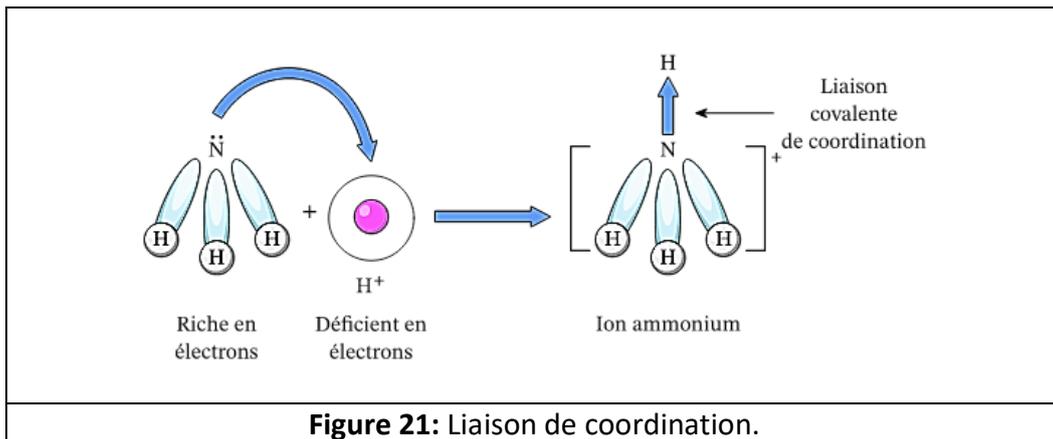
également de deux cycles parallèles dits « parallèle-déplacé », ainsi que ceux qui présentent deux cycles perpendiculaires entre eux et sont appelés une forme « T » [70].



➤ **Les interactions π -Sulfure :** Les interactions π -sulfure se produisent plus fréquemment dans les structures cristallines des protéines que ce à quoi on pourrait s'attendre d'une association aléatoire de la structure. Les interactions π -sulfure sont répandues en biochimie et jouent un rôle important dans le repliement et la stabilisation des protéines [71].



➤ **La liaison de coordination :** Des liaisons covalentes se forment lorsque deux atomes de non-métaux partagent une paire d'électrons. Les liaisons covalentes de coordination sont une classe spéciale de liaisons covalentes qui se forment lorsque la paire d'électrons impliquée dans la liaison est donnée par un seul atome. Elles sont également connues sous le nom de liaisons covalentes datives. L'atome qui fait don de la paire d'électrons libres (ou doublet non liant) est appelé l'atome donneur et est considéré comme une base de Lewis. L'atome qui accepte la paire d'électrons libres (ou doublet non liant) dans une orbitale vide est appelé l'atome accepteur et est un acide de Lewis [72].



Références bibliographiques

Référence bibliographiques

- [1] Hamming, Inge, et al. "Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis." *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland* 203.2 (2004): 631-637.
- [2] Alifano, Marco, et al. "Renin-angiotensin system at the heart of COVID-19 pandemic." *Biochimie* 174 (2020): 30-33.
- [3] Covid-19 : un récepteur cellulaire au centre de toutes les attentions. 2020. <https://www.inserm.fr/actualite/covid-19-recepteur-cellulaire-centre-toutes-attentions/#>
- [4] COVID, I. "TraitementActualités 239."
- [5] Bhattarai, Apurba, Shristi Pawnikar, and Yinglong Miao. "Mechanism of ligand recognition by human ACE2 receptor." *The journal of physical chemistry letters* 12.20 (2021): 4814-4822.
- [6] Zou, Xin, et al. "Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection." *Frontiers of medicine* 14.2 (2020): 185-192.
- [7] Hussein, Methaq AM, Lamees M. Al-Janabi, and Abdul Hussain A. Algenabi. "Angiotensin converting enzyme (ace) gene polymorphism and the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetes." *Journal of Dental and Medical Sciences* 14.2 (2015): 62-67.
- [8] Towler, Paul, et al. "ACE2 X-ray structures reveal a large hinge-bending motion important for inhibitor binding and catalysis." *Journal of Biological Chemistry* 279.17 (2004): 17996-18007.
- [9] <https://pixels.com/featured/carboxypeptidase-a-enzyme-active-site-structure-greg-williamsscience-photo-library.html?product=acrylic-print>
- [10] Suhail, Shanzay, et al. "Role of oxidative stress on SARS-CoV (SARS) and SARS-CoV-2 (COVID-19) infection: a review." *The protein journal* 39.6 (2020): 644-656.
- [11] Brian, D. A., and R. S. Baric. "Coronavirus genome structure and replication." *Coronavirus replication and reverse genetics* (2005): 1-30.
- [12] Petrosillo, Nicola, et al. "COVID-19, SARS and MERS: are they closely related?" *Clinical microbiology and infection* 26.6 (2020): 729-734.
- [13] Wrapp, Daniel, et al. "Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation." *Science* 367.6483 (2020): 1260-1263.
- [14] Hoffmann, Markus, et al. "SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor." *cell* 181.2 (2020): 271-280.
- [15] Li, Fang, et al. "Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor." *Science* 309.5742 (2005): 1864-1868.
- [16] Wang, Qihui, et al. "Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2." *Cell* 181.4 (2020): 894-904.

- [17] Walls, Alexandra C., et al. "Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein." *Cell* 181.2 (2020): 281-292.
- [18] Giuseppe Lippi, Carl J. Lavie, Brandon M. Henry et Fabian Sanchis-Gomar. Do genetic polymorphisms in angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) gene play a role in coronavirus disease 2019 (COVID-19)? *Clin Chem Lab Med*; 58.9 (2020): 1415–1422.
- [19] Terahı, Kerem, Buket Baddal, and Hayrettin Ozan Gülcan. "Prioritizing potential ACE2 inhibitors in the COVID-19 pandemic: Insights from a molecular mechanics-assisted structure-based virtual screening experiment." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 100 (2020): 107697
- [20] Kawai, Kentaro, and Naoya Nagata. "Metal–ligand interactions: an analysis of zinc binding groups using the Protein Data Bank." *European journal of medicinal chemistry* 51 (2012): 271-276
- [21] Li, Zilun, et al. "Imatinib and methazolamide ameliorate COVID-19-induced metabolic complications via elevating ACE2 enzymatic activity and inhibiting viral entry." *Cell Metabolism* 34.3 (2022): 424-440.
- [22] Nishimori, Isao, et al. "Carbonic anhydrase inhibitors: the β -carbonic anhydrase from *Helicobacter pylori* is a new target for sulfonamide and sulfamate inhibitors." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 17.13 (2007): 3585-3594.
- [23] Ezabadi, Iraj Rahavi, et al. "Sulfonamide-1, 2, 4-triazole derivatives as antifungal and antibacterial agents: Synthesis, biological evaluation, lipophilicity, and conformational studies." *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16.3 (2008): 1150-1161.
- [24] Gitto, Rosaria, et al. "Identification of 3, 4-Dihydroisoquinoline-2 (1 H)-sulfonamides as Potent Carbonic Anhydrase Inhibitors: Synthesis, Biological Evaluation, and Enzyme–Ligand X-ray Studies." *Journal of medicinal chemistry* 53.6 (2010): 2401-2408.
- [25] Güzel, Özlen, et al. "Carbonic anhydrase inhibitors. Interaction of 2-(hydrazinocarbonyl)-3-phenyl-1H-indole-5-sulfonamide with 12 mammalian isoforms: Kinetic and X-ray crystallographic studies." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 18.1 (2008): 152-158.
- [26] Hansch, C., Sammes, P. G., & Taylor, J. B. (1989). *Comprehensive medicinal chemistry: the rational design, mechanistic study & therapeutic applications of chemical compounds* (Vol. 5). Pergamon Pr.
- [27] Connor, Erin E. "Sulfonamide antibiotics." *Primary care update for ob/gyns* 5.1 (1998): 32-35.
- [28] Hanson, Paul R., et al. "Cyclic sulfonamides via the ring-closing metathesis reaction." *Tetrahedron letters* 40.26 (1999): 4761-4764.
- [29] Tu, Hua, et al. "Distinctive molecular inhibition mechanisms for selective inhibitors of human 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1." *Bioorganic & medicinal chemistry* 16.19 (2008): 8922-8931.
- [30] Nishimori, Isao, et al. "Carbonic anhydrase inhibitors: inhibition of the transmembrane isozyme XIV with sulfonamides." *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 15.17 (2005): 3828-3833.
- [31] Misra, V. S., Saxena, V. K. & Srivastava, R. J. (1982). *J. Indian Chem. Soc.* 59, 781–781

- [32] Maren, Thomas H. "Relations between structure and biological activity of sulfonamides." *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 16.1 (1976): 309-327.
- [33] Supuran, Claudiu T., Andrea Scozzafava, and Angela Casini. "Carbonic anhydrase inhibitors." *Medicinal research reviews* 23.2 (2003): 146-189.
- [34] Winum, Jean-Yves, et al. "Inhibition of carbonic anhydrase IX: a new strategy against cancer." *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)* 9.6 (2009): 693-702.
- [35] Jun, Jung Ho, et al. "Synthesis, anti-cancer screening and tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 (Tdp1) inhibition activity of novel piperidinyl sulfamides." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 111 (2018): 337-348.
- [36] Gonzalez, Michael A., et al. "Process development for the sulfonamide herbicide proxsulam." *Organic Process Research & Development* 12.2 (2008): 301-303.
- [37] Zhu, Wei-Juan, et al. "Design, synthesis, and fungicidal activity of macrolactones and macrolactams with a sulfonamide side chain." *Journal of agricultural and food chemistry* 56.15 (2008): 6547-6553.
- [38] Supuran, Claudiu T., and Andrea Scozzafava. "Carbonic anhydrase inhibitors and their therapeutic potential." *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 10.5 (2000): 575-600.
- [39] Sugrue, Michael F. "Pharmacological and ocular hypotensive properties of topical carbonic anhydrase inhibitors." *Progress in retinal and eye research* 19.1 (2000): 87-112.
- [40] Penning, Thomas D., et al. "Synthesis and biological evaluation of the 1, 5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1 H-pyrazol-1-yl] benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib)." *Journal of medicinal chemistry* 40.9 (1997): 1347-1365.
- [41] Webb, David J., et al. "Sildenafil citrate and blood-pressure-lowering drugs: results of drug interaction studies with an organic nitrate and a calcium antagonist." *The American journal of cardiology* 83.5 (1999): 21-28.
- [42] Baulac, Michel. "Introduction to zonisamide." *Epilepsy research* 68 (2006): S3-S9.
- [43] Supuran, Claudiu T. "Indisulam: an anticancer sulfonamide in clinical development." *Expert opinion on investigational drugs* 12.2 (2003): 283-287.
- [44] Pang, Yue Hong, et al. "Interaction of human serum albumin with bendroflumethiazide studied by fluorescence spectroscopy." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 80.2 (2005): 139-144.
- [45] Melander, A. "Oral antidiabetic drugs: an overview." *Diabetic medicine* 13 (1996): 143-147.
- [46] Maren, Thomas H. "Relations between structure and biological activity of sulfonamides." *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 16.1 (1976): 309-327.
- [47] Supuran, Claudiu T. "Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators." *Nature reviews Drug discovery* 7.2 (2008): 168-181.
- [48] Supuran, Claudiu T., Andrea Scozzafava, and Angela Casini. "Carbonic anhydrase inhibitors." *Medicinal research reviews* 23.2 (2003): 146-189.

- [49] These. Aimene Y (2019) Synthèse et étude physico-chimique des complexes de rhénium(I) avec des ligands contenant le pharmacophore sulfonamide : Approche expérimentale et théorique.
- [50] Sumanta Mondal, Sulfonamides. 2017. [https://www.researchgate.net/publication/321938118 Sulfonamides](https://www.researchgate.net/publication/321938118_Sulfonamides)
- [51] <https://alchetron.com/Prontosil>
- [52] Alterio, Vincenzo, et al. "Multiple binding modes of inhibitors to carbonic anhydrases: how to design specific drugs targeting 15 different isoforms?" *Chemical reviews* 112.8 (2012): 4421-4468.
- [53] Swain, Baijayantimala, et al. "Synthesis of a new series of 3-functionalised-1-phenyl-1, 2, 3-triazole sulfamoylbenzamides as carbonic anhydrase I, II, IV and IX inhibitors." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 34.1 (2019): 1199-1209
- [54] Juríček, M., Kouwer, P. H., & Rowan, A. E. (2011). Triazole: a unique building block for the construction of functional materials. *Chemical Communications* 47(31), 8740-8749.
- [55] Himo, Fahmi, et al. "Copper (I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates." *Journal of the American Chemical Society* 127.1 (2005): 210-216.
- [56] Alexandre Beutraut. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat : chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. 2008. 122p.
- [57] Corbeil, Christopher R., and Nicolas Moitessier. "Docking ligands into flexible and solvated macromolecules. 3. Impact of input ligand conformation, protein flexibility, and water molecules on the accuracy of docking programs." *Journal of Chemical Information and Modeling* 49.4 (2009): 997-1009.
- [58] Bitencourt-Ferreira, G. and W. F. de Azevedo. Docking with SwissDock. Docking Screens for Drug Discovery, Springer: (2019) 189-202.
- [59] ZERDAOUI, Sara, and Sara BOUNASLA. *Docking moléculaire de deux flavones naturels contre l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase*. Diss. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA, 2020.
- [60] Timo, Giulia Oliveira, et al. "Predictive power of in Silico approach to evaluate chemicals against M. tuberculosis: A systematic review." *Pharmaceuticals* 12.3 (2019): 135.
- [61] Eddine, BOUTRIF Chams, and Pr BENSEGUENI Abderrahmane. "Nd'ordre: Nde série: En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Option: Biochimie Moléculaire et Santé."
- [62] Omar, Sekiou, et al. "In-silico identification of potent inhibitors of COVID-19 main protease (Mpro) and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) from natural products: Quercetin, hispidulin, and cirsimaritin exhibited better potential inhibition than hydroxy-chloroquine against COVID-19 main protease active site and ACE2." (2020).
- [63] Fortuné, Antoine. *Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance*. Diss. Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2006.

- [64] Mokrani, El-Hassen, and Abdellatif Bensegueni. *Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique*. Diss. Constantine: Université Mentouri Constantine, 2012.
- [65] Barril, Xavier, and Robert Soliva. "Molecular modelling." *Molecular BioSystems* 2.12 (2006): 660-681.
- [66] Karp, Gerald. *Biologie cellulaire et moléculaire: Concepts and experiments*. De Boeck Supérieur, 2010.
- [67] GUIBEDJ, Dounia. *Les complexes métalliques du methoxyphenyl N-sulfamoyloxazolidinone avec Cu (II) et Co (II): Mise en évidence, études par DFT/B3LYP (B2PLYP) et docking moléculaire*. Diss. 2020.
- [68] Salahi, Dehbia. *Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands*. Diss. UMMTO, 2016.
- [69] <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-du-vivant/les-forces-de-van-der-waals-et-le-gecko>
- [70] Schoentgen, Eric. *Morphologie, structure et propriétés thermodynamiques des auto-assemblages nucléolipides/acides nucléiques*. Diss. Bordeaux, 2015.
- [71] Ringer, Ashley L., Anastasia Senenko, and C. David Sherrill. "Models of S/ π interactions in protein structures: Comparison of the H₂S–benzene complex with PDB data." *Protein Science* 16.10 (2007): 2216-2223.
- [72] Fiche explicative de la leçon : Liaisons covalentes de coordination. <https://www.nagwa.com/fr/explainers/235126567926/>

Partie Computationnelle

Chapitre V :

Méthodes et matériels

Chapitre V : Méthodes et matériels

V.1. Les programmes utilisés

L'Autodock est un programme de simulation conçu pour prédire les interactions mises en jeu entre un ligand et son récepteur. Nous choisirons ici la dernière version du programme Autodock 4.2 [1]. L'interface graphique ADT (Autodock Tools) version 1.5.7 [2] a été utilisée pour visualiser l'emplacement exact de l'espace qui sera fait calculer. Nous avons également utilisé le programme ChemOffice [3] pour dessiner et minimiser l'énergie des molécules avant les procédures docking moléculaire. Les résultats des calculs d'amarrage ont été traités par le code de visualisation "Discovery Studio" [4].

V.2. Importance de la structure co-cristallisée

La structure 3-démentationnelle de la cible biologique peut être utilisée pour effectuer un criblage virtuel. Les méthodes de prédiction, telles que les méthodes de docking moléculaire, utilisent la structure 3D de la protéine cible en complexe avec son inhibiteur pour découvrir de nouveaux composés actifs. Ces techniques nécessitent l'identification préalable du site actif.

Pour cela, une solution est possible : obtenir une structure 3D de la protéine co-cristallisée avec un ligand. En consultant la banque PDB (<http://www.rcsb.org/>), il est possible de télécharger le fichier de récepteur-ligand, la protéine ACE2 dans notre cas, dans le format pdb. Nous avons choisi le code **1R4L** (ACE2-XX5), car il s'agit d'une structure correctement définie avec une résolution de 3.00Å° [5].

V.3. Préparation des molécules pour le docking moléculaire

V.3.1. Le récepteur

Avant l'utilisation par d'Autodock, le complexe **1R4L** (protéine-ligand : ACE2-XX5) est séparé de son ligand naturel (code pdb : XX5) pour obtenir un récepteur (ACE2) avec un site actif libre (voir la [figure 22](#)). Le récepteur est ensuite préparé en définissant les charges partielles de ses atomes par l'intermédiaire du sous-programme Autodock-Tools qui attribue des charges de type "Kollman" calculées avec le champ de forces empirique Amber [6]. Il est

aussi nécessaire de rajouter à ce récepteur les hydrogènes dits polaires. Le fichier récepteur préparé est converti au format pdbqt correspondant aux données des charges.

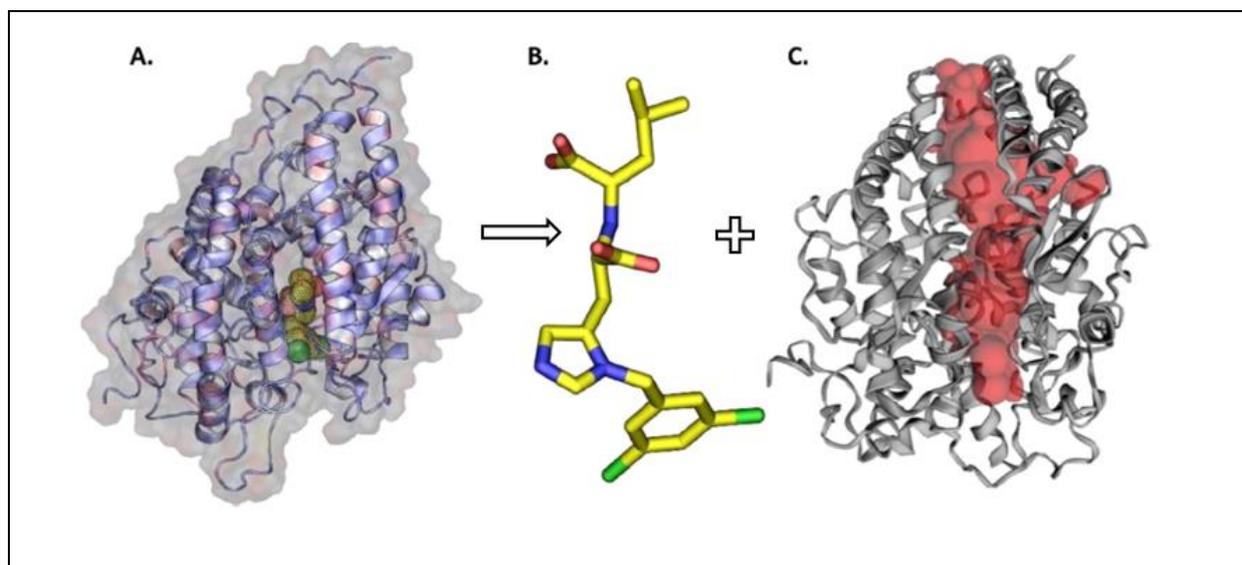


Figure 22: Identification du site actif d'ACE2. (A) Surface structurale d'ACE2 en complexe avec son inhibiteur MLN-4760 ; (B) Structure 3D de l'inhibiteur de MLN-4760 séparé ; (C) Protéine ACE2 avec une cavité de couleur rouge qui représente un site d'interaction libre [7]

V.3.2. Les ligands

Le fichier d'entrée du ligand naturel MLN-4760 (forme pdb id : XX5) (voir la [figure 23](#)) a été préparé de la même manière que nous l'avons fait avec son récepteur. Ce fichier est également converti par Autodock en format pdbqt correspondant aux nouvelles données d'hydrogène et de charge.

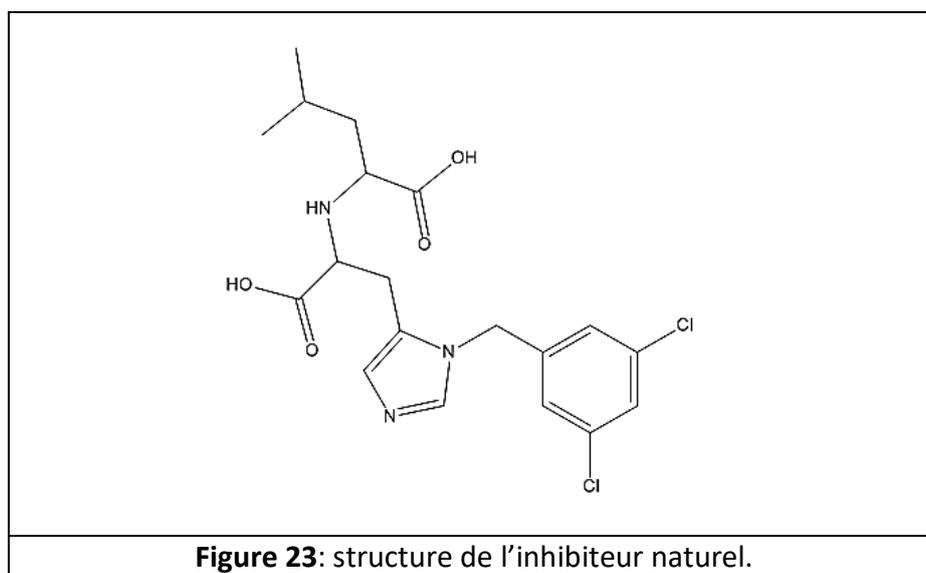


Figure 23: structure de l'inhibiteur naturel.

D'autre part, les structures initiales des molécules organiques contenant le pharmacophore sulfonamide (**L0**, **L1** et **L2**) [8], non disponible dans la base PDB, ont été téléchargées à partir de la base CCDC des données cristallographiques (<https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/>) et visualisés à l'aide du programme ChemOffice. Les géométries initiales des ligands utilisés dans ce travail sont optimisées avec la méthode Mécanique Moléculaire pour minimiser leur énergie (figure 24). Les molécules obtenues sont enregistrées au format pdb. La préparation des ligands est réalisée par le sous-programme AutoTors4. Le rôle de ce programme est de contrôler les mouvements des ligands, en définissant les atomes aromatiques, les liaisons flexibles et les angles de torsion. Les molécules finales sont enregistrées dans le format pdbqt avant leur utilisation par AutoDock 4.2.

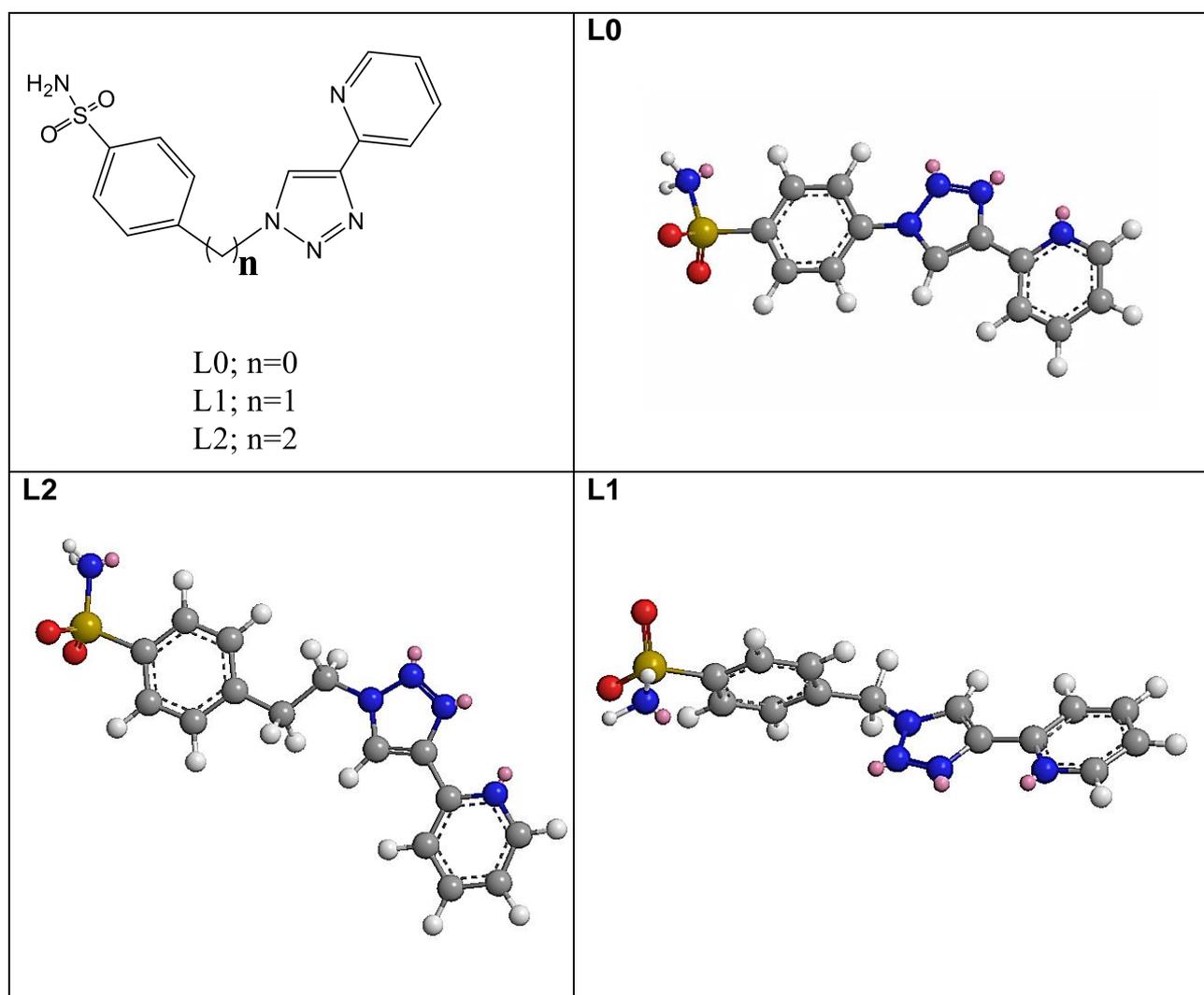


Figure 24: Structure moléculaire, 2D et 3D, des dérivés de sulfonamide (**L0**, **L1**, **L2**).

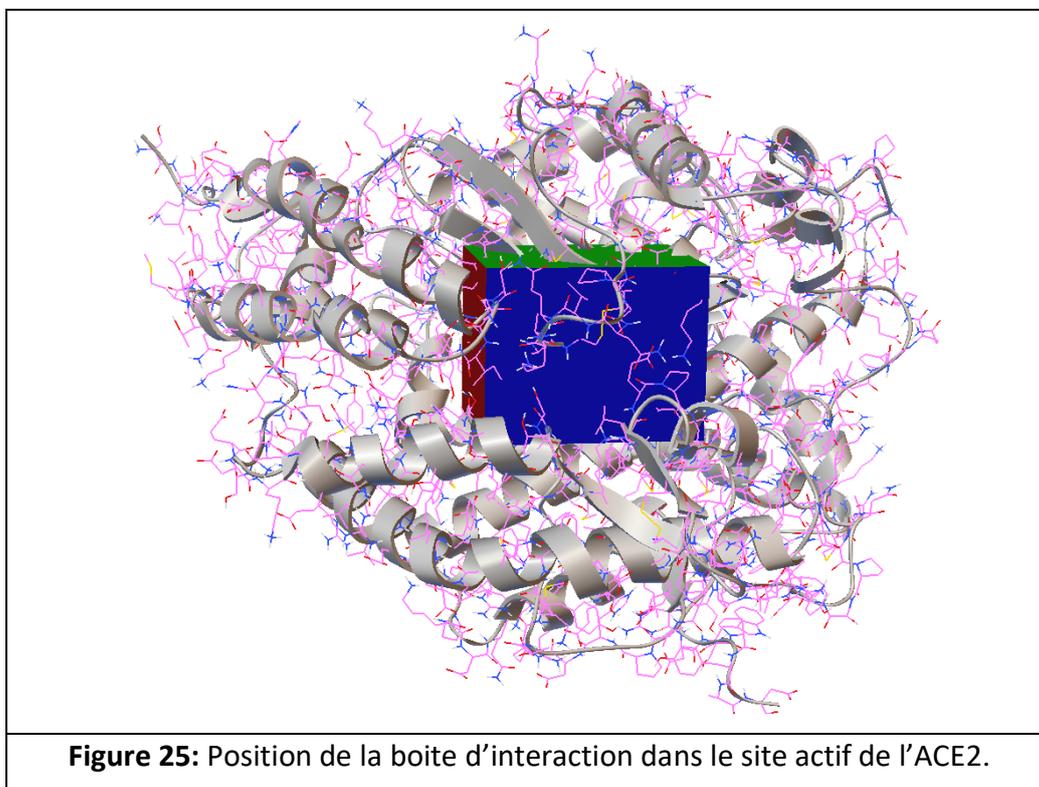
V.4. La réalisation du docking moléculaire

La simulation de docking moléculaire consiste essentiellement en deux étapes : docking et scoring.

- Le processus de **docking** consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine, ne gardons que les positions qui représentent les interactions les plus bénéfiques.
- Le **scoring** est l'étape de classement qui permettra de conserver la meilleure pose parmi toutes celles proposées.

V.4.1. Calcul de la grille d'interaction (calcul AutoGrid4):

Pour augmenter la vitesse d'évaluation énergétique du système, le récepteur ACE2 est intégré dans une grille tridimensionnelle (3D) contenant principalement le site actif de la protéine étudiée et permet au ligand de se tourner librement au sein de ce site. Le centre de cette boîte est définie par les coordonnées $x=40.336 \text{ \AA}$, $y=6.024 \text{ \AA}$ et $z=29.006 \text{ \AA}$ avec les dimensions $50*40*40 \text{ \AA}^3$. L'espacement de la maille de la grille est fixé par défaut à 0.375 \AA . La boîte est centrée sur un ligand avec des dimensions proportionnelles à la taille de tous les dérivés étudiés (voir la [figure 25](#)).



Toutes ces instructions sont enregistrées dans un fichier texte de l'extension GPF (Grid Paramètres File). Ensuite, le programme AutoDock4 consiste à exécuter ces instructions (fichier GPF) grâce au sous-programme AutoGrid4. Il s'agit de calculer l'affinité entre les différents types d'atomes, de la protéine et l'inhibiteur, à l'intérieur de la boîte. Les résultats sont générés dans un autre fichier texte de l'extension GLG (Grid LoG file).

V.4.2. Recherche des solutions de docking (calcul AutoDock4)

Le sous-programme AutoDock4 a été utilisé pour effectuer l'étape de docking moléculaire. Il Selon le Fichier de commande DPF (Docking Paramètres File). Dans notre recherche, nous utilisons l'algorithme AGL avec un nombre de cycles à exécuter est égal à 100, c'est-à-dire le nombre de solutions souhaitées.

Les résultats de docking ont été générés dans un fichier texte de l'extension DLG (Docking Log File). Ce fichier fournit les coordonnées atomiques de 100 meilleures positions, pour chaque ligand, dans le site actif de la protéine ACE2. Le fichier DLG fourni également, pour chaque position, l'énergie d'interaction (ΔG), la constante d'inhibition (K_i) et RMSD entre le ligand naturel et celui re-amarré.

Chapitre VI :

Résultats et discussions

Chapitre VI : Résultats et discussions

VI.1. Validation de la fiabilité du système de docking

Le but de cette partie est de déterminer le mode d'interaction qui représente la position correcte du ligand dans le site actif du récepteur. La capacité d'un programme à réussir ce travail est généralement jugée par l'énergie d'interaction (ΔG) et la RMSD entre la position calculée du ligand et celle de ligand de référence MLN-4760 (ligand id: XX5).

VI.1.1. Ecart quadratique moyen (RMSD)

Les tests de fiabilité du programme AutoDock4.2 ont été réalisés à l'aide du complexe co-cristallisé protéine-ligand « ACE2 –XX5 » (pdb id: 1R4L), pris arbitrairement de la PDB.

Au cours du processus de docking moléculaire, 100 conformations ont été calculées. Nous avons sélectionné les conformations préférées en regardant les clusters avec des énergies de liaison les plus faibles. Nous utilisons également une RMSD scalaire, qui représente la moyenne des différences dans les positions des atomes appartenant à deux conformations différentes. La pose la plus favorable du ligand MLN-4760 re-amarré est inférieure 2 Å en RMSD (0,00 Å). Cette valeur indique que la petite molécule MLN-4760 se lie dans la même zone qu'avant sans changer sa conformation pour s'adapter à la cavité [9]. Le test par RMSD nous permet de conclure, que le logiciel AutoDock peut être utilisé pour prédire les interactions protéine-inhibiteur.

VI.1.2. L'analyse visuelle

Comme indiqué sur la [figure 26](#), les résultats de l'RMSD sont fortement appuyés par l'analyse visuelle qui montre à chaque fois une superposition maximale de la conformation optimale du ligand calculée par AutoDock4.2 avec la géométrie du même ligand MLN-4760 donnée par diffraction des rayons-X

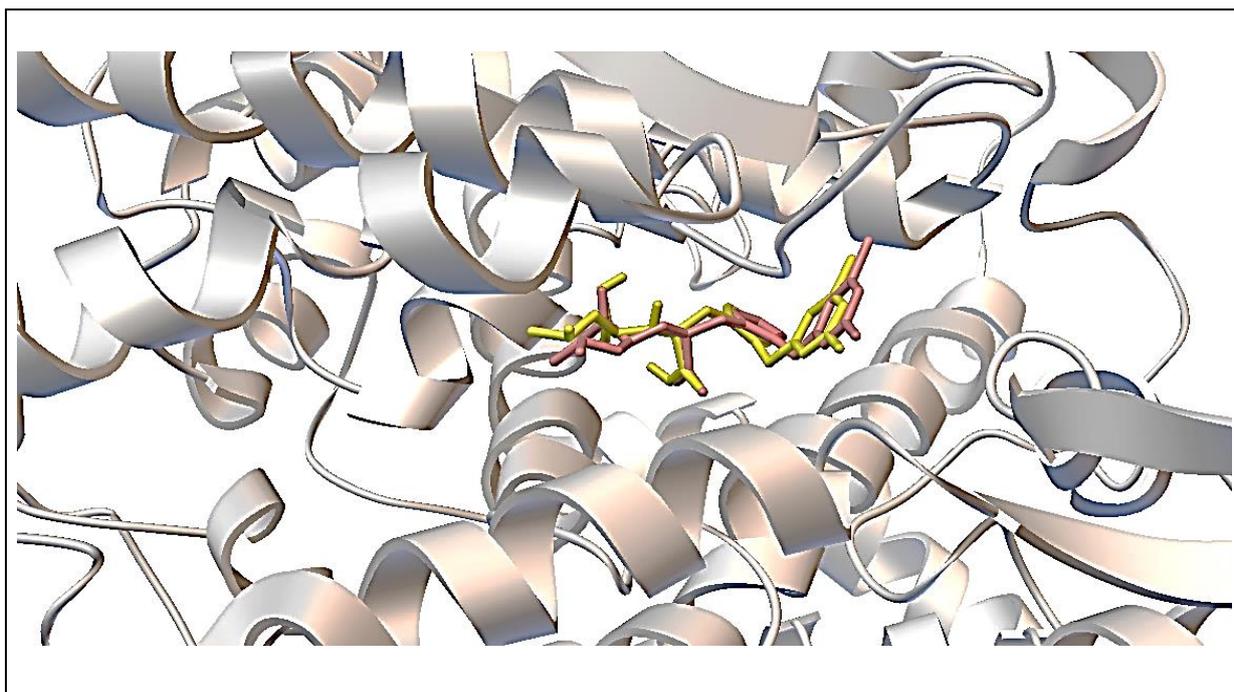


Figure 26: Superposition de la géométrie du ligand naturel MLN-4760 (couleur rouge) et de celle calculée par l'amarrage moléculaire (couleur jaune) dans le site actif de l'ACE2.

VI.1.2. Interactions entre le ligand naturel et le récepteur (MLN-4760-ACE2)

Pour comprendre comment nos dérivés de sulfonamides interagissent avec le site actif de l'ACE2, il nous semble judicieux d'étudier d'abord le mécanisme d'interaction naturel mis en jeu entre l'inhibiteur MLN-4760 et le site actif de l'ACE2, en utilisant toujours le même complexe (pdb id: 1R4L). Les interactions protéine-inhibiteur ont été évaluées à l'aide du programme "AutoDock 4.2" puis visualisées par le code "Discovery Studio". Ce dernier peut détecter les différents contacts impliqués dans les interactions d'amarrage tels que les liaisons Van-der-Waals, hydrogène, électrostatiques, hydrophobes, etc.

D'après la [figure 27](#), le groupe carboxylate terminal de l'inhibiteur réaméré MLN-4760 se lie à l'ion zinc de manière bidentée. Cette fonctionnalité (-COOH) est connue pour sa capacité à se coordonner au niveau du site catalytique (ion Zn^{2+}) via un hétéroatome (O, N ou S) en remplaçant la molécule d'eau attaché au zinc, dans le cas de la protéine ACE2 libre [\[10\]](#).

L'analyse visuelle a indiqué que l'inhibiteur MLN-4760 forme sept liaisons hydrogène avec les résidus de chaîne latérale Arg²⁷³, His³⁴⁵, Pro³⁴⁶, Glu³⁷⁵, His⁵⁰⁵, Tyr⁵¹⁵ (voir le [tableau 1](#)).

Tableau 1 : Les résultats de docking moléculaire de l'ACE2 + ligands. (D) donneur, (A) accepteur, et la distances (Å) entre l'ion de zinc et les atomes intervenant en interactions.

	Distance Zn...N	Distance Zn...O	Les liaisons hydrogène		
			Residues	Ligands	Distances (Å)
MLN-4760	-	1.833 O ⁽¹⁾ 1.793 O ⁽²⁾	Arg ²⁷³ :H (D)	-O (A)	1.79
			Arg ²⁷³ :H (D)	=O (A)	2.09
			His ³⁴⁵ :H (D)	=O (A)	1.85
			His ⁵⁰⁵ :H (D)	=O (A)	2.09
			Tyr ⁵¹⁵ :H (D)	-O (A)	2.29
			Glu ³⁷⁵ : O (A)	O:H (D)	2.01
			Pro ³⁴⁶ : O (A)	N:H (D)	2.30
L0	2.013 (N ^{triazol})	-	H ₂ O: O (A)	-SO ₂ NH ₂ : H1(D)	2.17
			Tyr ⁵¹⁵ :H(D)	Triazol : N (A)	2.29
			Ala ³⁴⁸ : O (A)	-SO ₂ NH ₂ : H2 (D)	2.29
			Glu ³⁷⁵ : O (A)	Triazol : CH (D)	3.15
L1	3.355 (SO ₂ NH ₂)	2.041	His ³⁴⁵ :H (D)	Pyridine : N (A)	2.17
			Glu ³⁷⁵ : O (A)	-SO ₂ NH ₂ : H1 (D)	1.85
			Pro ³⁴⁶ : O (A)	-SO ₂ NH ₂ : H2 (D)	2.16
L2	3.339 (SO ₂ NH ₂)	2.094	His ³⁴⁵ : H (D)	Pyridine : N (A)	1.74
			Glu ³⁷⁵ : O (A)	-SO ₂ NH ₂ : H1(D)	1.80
			Pro ³⁴⁶ : O (A)	-SO ₂ NH ₂ : H2(D)	2.14

L'inhibiteur MLN-4760 est également stabilisé par plusieurs interactions faibles, notamment (voir la [figure 27](#)) :

- une interaction π — σ entre l'acide aminé Tyr⁵¹⁰ et le radical méthyle du ligand ;
- des interactions π — π et π —Alkyl entre les trois résidus Phe²⁷⁴, His³⁷⁴, His³⁴⁵ et groupe 3,5-dichlorobenzylimidazole du ligand ;
- des interactions Alkyles avec les acides aminés Pro³⁴⁶, Met³⁶⁰ et Tyr⁵¹⁰ ;
- une interaction π —cation entre le cycle imidazole et le résidu Arg²⁷³ ;
- des interactions VDW avec les résidus Thr³⁷¹, Asp³⁶⁸, Arg⁵¹⁴, Thr³⁴⁷, Phe⁵⁰⁴, His³⁷⁸, Glu⁴⁰².

L'énergie de docking prédite par AutoDock était $\Delta G = -13.27$ Kcal/mol pour la meilleure Conformation. Ce mode d'interaction est presque similaire à celui du complexe co-cristallisé ACE2-MLN-4760 (voir la [figure 28](#)). On peut conclure, Le programme Autodock reproduit correctement le mode de liaison naturel.

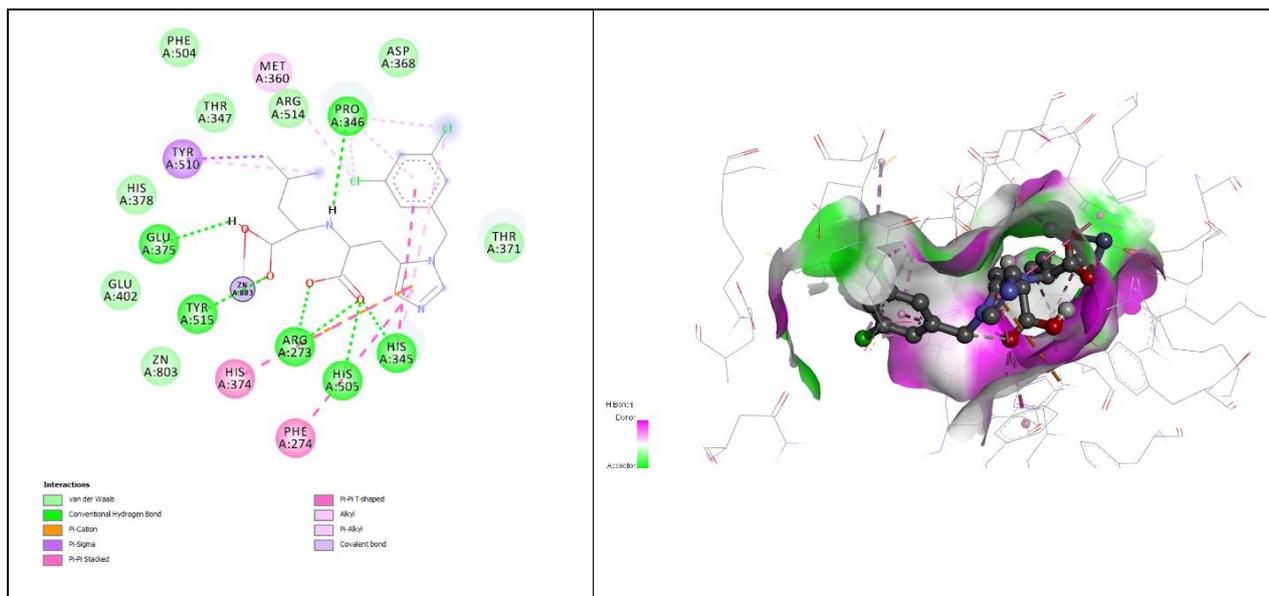


Figure 27: Interactions de l'inhibiteur MLN-4760 re-amaré avec les résidus de chaîne latérale de site actif de l'ACE2. Projection 2D et 3D visualisé par « Discovery studio ».

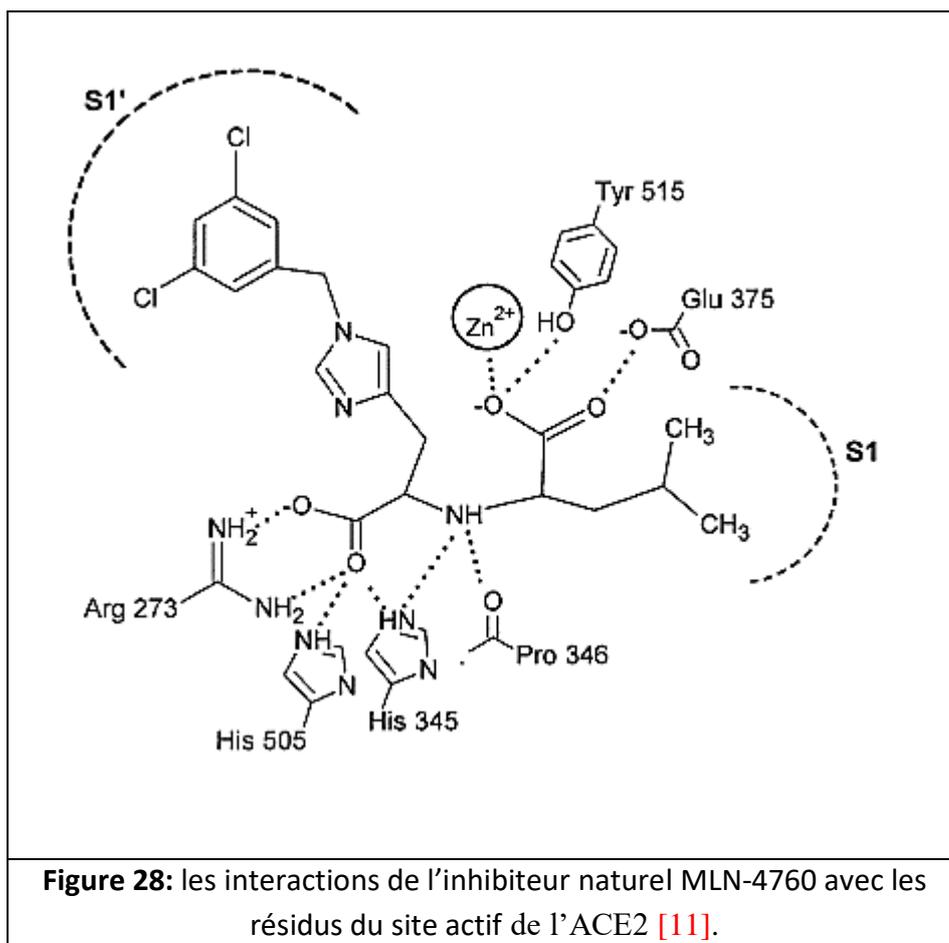


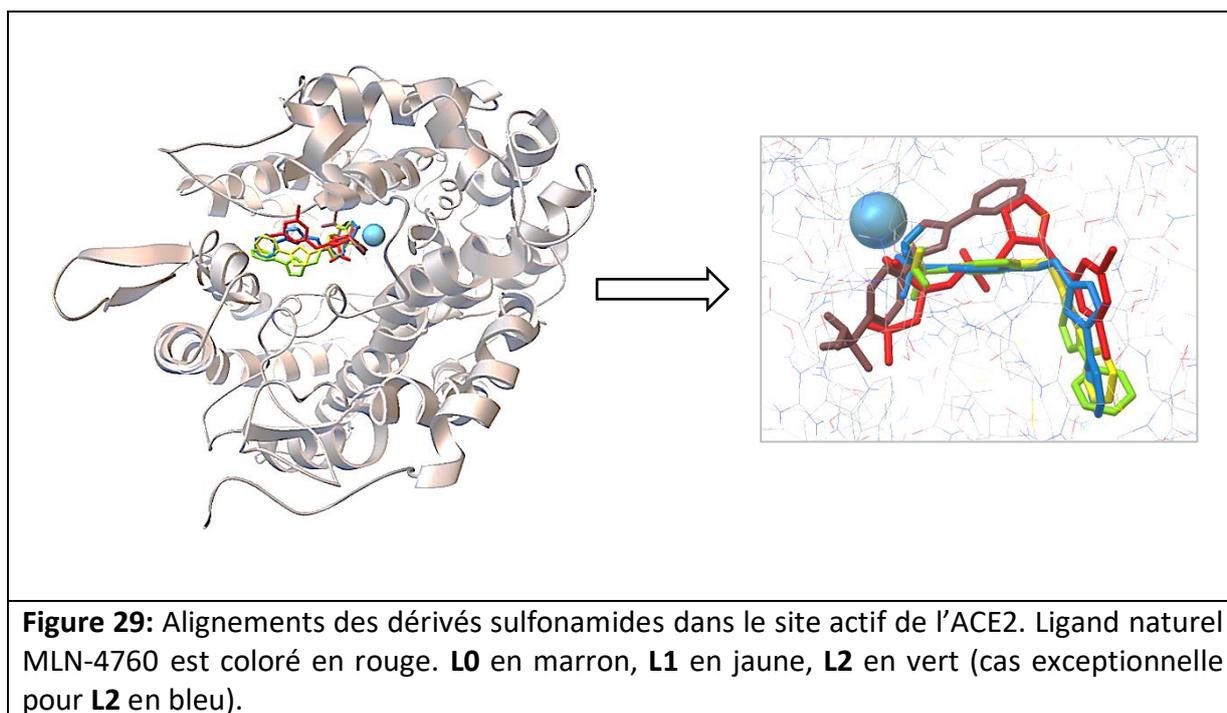
Figure 28: les interactions de l'inhibiteur naturel MLN-4760 avec les résidus du site actif de l'ACE2 [11].

VI.2. Docking des dérivés sulfonamides

A la lumière des résultats obtenus avec le ligand MLN-4760 re-amarré, nous pouvons conclure que le programme Autodock4.2 est performant et qu'on peut l'utiliser sans trop de risque d'erreurs pour générer (par docking moléculaire) d'autres inhibiteurs et de prédire leur mode d'interaction. À cet effet, nous avons amarré nos dérivés sulfonamides (**L0**, **L1** et **L2**) dans la même cavité occupée par le ligand naturel MLN-4760. En utilisant toujours la protéine ACE2 (code pdb : 1R4L) avec les mêmes conditions de calcul.

VI.2.1. Alignement des dérivés

A travers les résultats obtenus, comme nous le montre la [figure 29](#), les meilleures conformations pour tous les dérivés sont bien placées dans le site actif de l'ACE2 ou ils sont alignés avec l'inhibiteur naturel MLN-4760.



VI.2.2. Interprétation des histogrammes

L'histogramme de la [figure 30](#) montre que les trois composés sulfonamides sont généralement impliqués dans plusieurs types d'interactions, avec les acides aminés du site actif, notamment : les interactions hydrogènes, van-der-waals, hydrophobes, et électrostatiques. Une interaction spécifique de type π -sulfure, a été observée dans les deux dérivés **L1** et **L2** ([figure 30](#)).

Avec très peu de données publiées dans ce contexte, il nous a semblé intéressant de déterminer théoriquement, certains paramètres décrivant l'activité inhibitrice, le K_i et l'énergie d'interaction ΔG notamment.

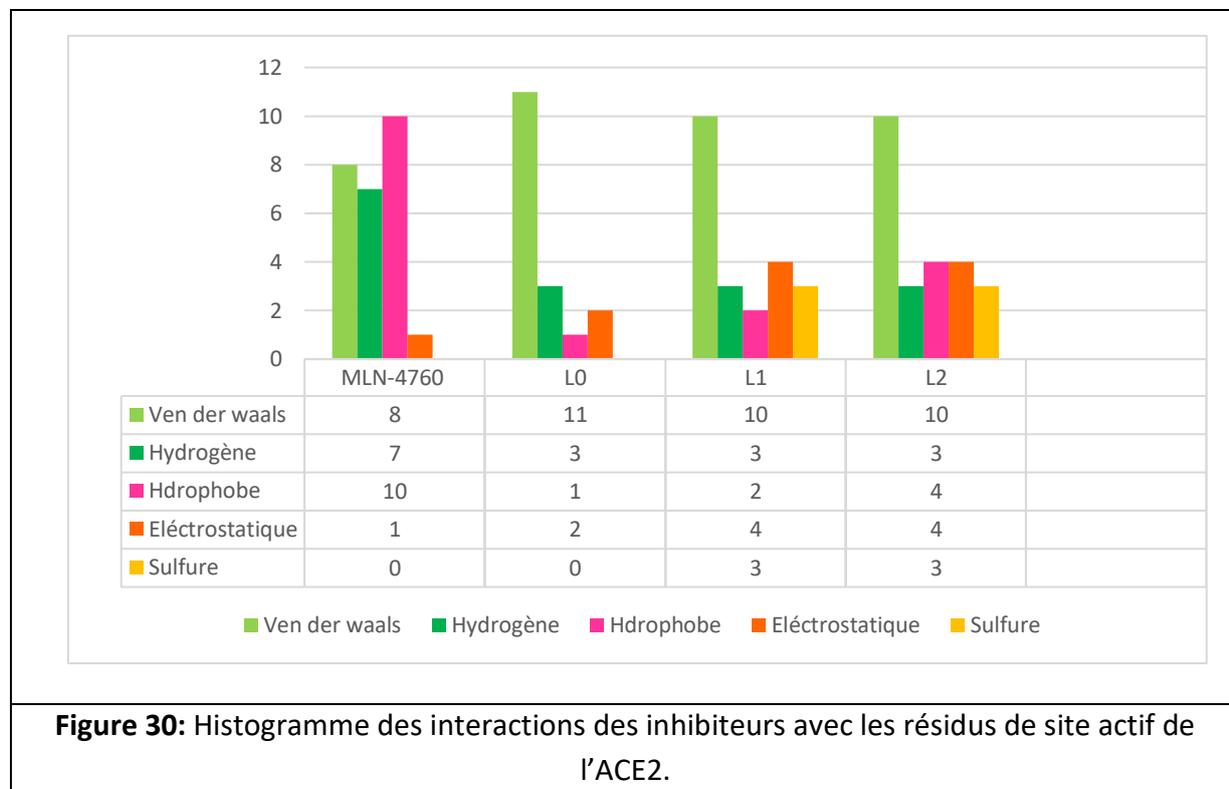


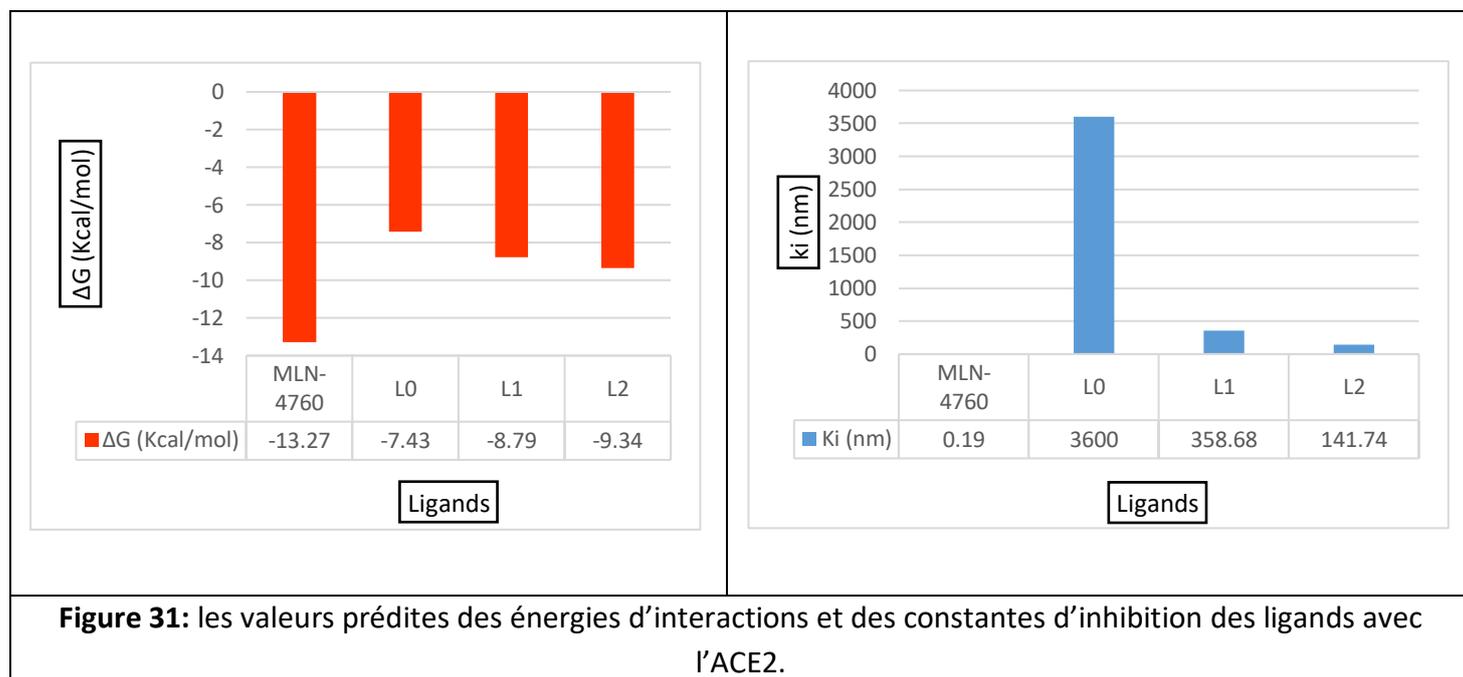
Figure 30: Histogramme des interactions des inhibiteurs avec les résidus de site actif de l'ACE2.

Comme la montre l'histogramme de la [figure 31](#), la prédiction des énergies d'interactions (ΔG) entre les ligands sulfonamides et le site actif de l'ACE2 donne des scores négatives variant entre -7,43 et -9,34 kcal/mol. Une valeur négative de l'énergie signifie que le ligand s'est effectivement lié à la protéine [12]. Tandis qu'une valeur positive indique que le complexe de liaison aux protéines ne s'est pas formé, cela signifie que le système protéine-ligand n'a pas indiqué aucune interaction. Généralement, les valeurs d'énergie sont proches à celle du ligand MLN-4760 ré-amarré ($\Delta G = -13,27$ Kcal/mol).

Parmi les trois molécules sulfonamides, nous avons trouvé que le ligand **L2** a une énergie de liaison plus faible de -9,34 kcal/mol, ce qui indique une affinité ligand-récepteur plus élevée [13]. En conséquence, le ligand **L2** devrait être plus stable et nécessite une investigation plus approfondie.

La détermination théorique de la constante d'inhibition K_i donne des valeurs dans la gamme nanomolaire supérieur (entre 0,19 et 3600 nM) (voir [figure 31](#)). Le dérivé **L2**

présente une valeur K_i plus faible (141.74 nM), ce qui indique qu'une activité inhibitrice relativement forte par rapport aux deux autres ligands amarrés **L0** et **L1**.



L'histogramme de la [figure 32](#) montrent que la plupart des acides aminés, situé autour de la poche catalytique de ACE2, intervient dans les contacts protéine-ligand avec tous les dérivés sulfonamides ancrés, y compris le ligand naturel MLN-4760 re-amarré. Ces résidus révèlent plusieurs types d'interactions telles que : les liaisons hydrogènes, hydrophobes, VDW, π -sulfure, électrostatiques, etc. ([figure 32](#)). Parmi tous les résidus du site actif, deux acides aminés (His³⁴⁵ et Pro³⁴⁶) ont été favorisés par le système d'amarrage pour être impliqués dans le plus grand nombre d'interactions. Les trois résidus Arg²⁷³, Glu³⁷⁵ et Tyr⁵¹⁵ sont impliqués dans les différents contacts mais avec peu d'interactions par rapport aux résidus His³⁴⁵ et Pro³⁴⁶. Ces résidus sont essentiels pour identifier le site actif en raison de leur rôle central dans les données expérimentales (voir la [figure 28](#)).

Les liaisons hydrogène sont les plus importantes parmi les liaisons faibles, et elles ont un effet plus puissant sur la valeur de l'énergie de liaison [14]. Ils jouent également un rôle important dans la stabilité biologique des complexes protéine-ligand, en raison de leur forte influence sur la spécificité, l'adaptation et l'adsorption des inhibiteurs, ce qui ouvre la voie à la conception de nouveaux médicaments.

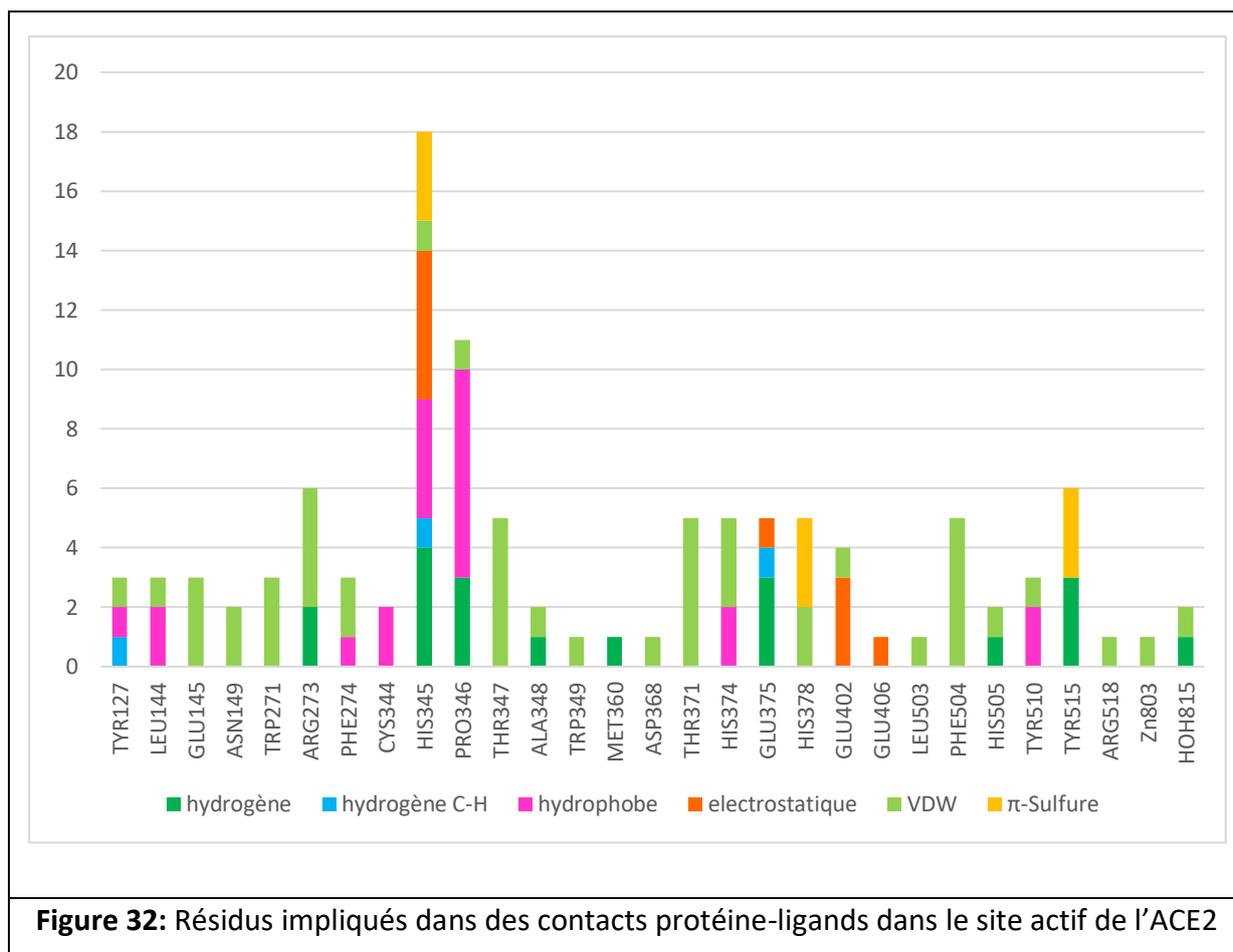


Figure 32: Résidus impliqués dans des contacts protéine-ligands dans le site actif de l'ACE2

VI.2.3. L'interaction Hétéroatome—Zn²⁺

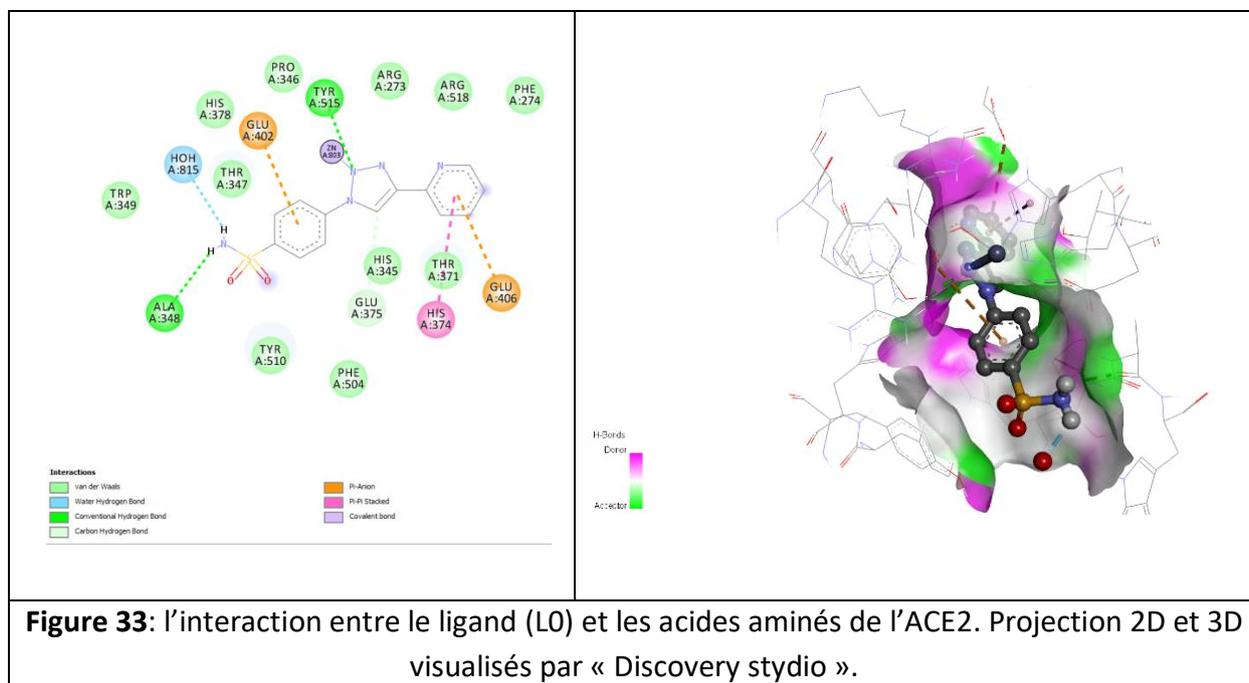
On peut voir sur le [tableau 1](#), contrairement au ligand de référence, que les ligands sulfonamides **L1** et **L2** sont coordonnés de manière monodentée au site actif de l'ion zinc à travers l'atome d'oxygène porté par le groupement sulfonamide (-SO₂NH₂), tandis que le ligand **L0** intervient par l'azote de motif triazolyle. Les hétéroatomes liés au zinc sont situés à une distance favorable permettant de former une liaison de coordination entre la base de Lewis (donneur d'électrons: O ou N) et un acide de Lewis (accepteur d'électrons: Zn²⁺). Une fois les liaisons formées par ce biais, sa force et sa description n'est pas différente des autres liaisons polaires. La distance de cette liaison varie de 2.01 Å à 2.09 Å, pour tous les ligands sulfonamides. Cette de liaison courte reflète la forte affinité des hétéroatomes vis-à-vis l'ion métallique (Zn²⁺) de l'ACE2.

VI.2.3. Interaction L0—ACE2

La [figure 33](#) a montré que le complexe ACE2-L0 est essentiellement stabilisé par trois liaisons hydrogène. Deux liaisons-H ont été établies entre les deux hydrogènes de l'azote portés par l'extrémité sulfonamide ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) et une molécule d'eau et un résidu Ala³⁴⁸ ($\text{NH}^{(1)}\cdots\text{O}-\text{H}_2\text{O}$; $d=2.17\text{\AA}$, $\text{NH}^{(2)}\cdots\text{O}-\text{Ala}^{348}$; $d=2.29\text{\AA}$). La troisième liaison-H était entre l'atome d'azote du motif triazole et le résidu Tyr⁵¹⁵ ($\text{N}\cdots\text{H}-\text{Tyr}^{515}$; $d=2.29\text{\AA}$). Une autre liaison-H plus faible a été établie entre la fonction CH-triazole et l'acide aminé Glu³⁴⁵ ($\text{CH}\cdots\text{O}-\text{Glu}^{345}$; $d=3.15\text{\AA}$).

La projection 2D (voir [figure 33](#)) montre une liaison hydrophobe ($\pi-\pi$) entre His³⁷⁴ et la pyridine, tandis que les acides aminés Glu⁴⁰² et Glu⁴⁰⁶ créent respectivement deux interactions électrostatiques de type π -cation avec le cycle aromatique et la pyridine ($\text{Ar}\cdots\text{Glu}^{402}$; $d=4.88\text{\AA}$, $\text{Py}\cdots\text{Glu}^{406}$; $d=4.80\text{\AA}$).

L'analyse visuelle montre également que le complexe ACE2-L0 est stabilisé par de nombreuses interactions de type van-der-waals avec résidus Arg²⁷³, Phe²⁷⁴, His³⁴⁵, Pro³⁴⁶, Thr³⁴⁷, Trp³⁴⁹, Thr³⁷¹, His³⁷⁸, Phe⁵⁰⁴, Tyr⁵¹⁰, Arg⁵¹⁸.

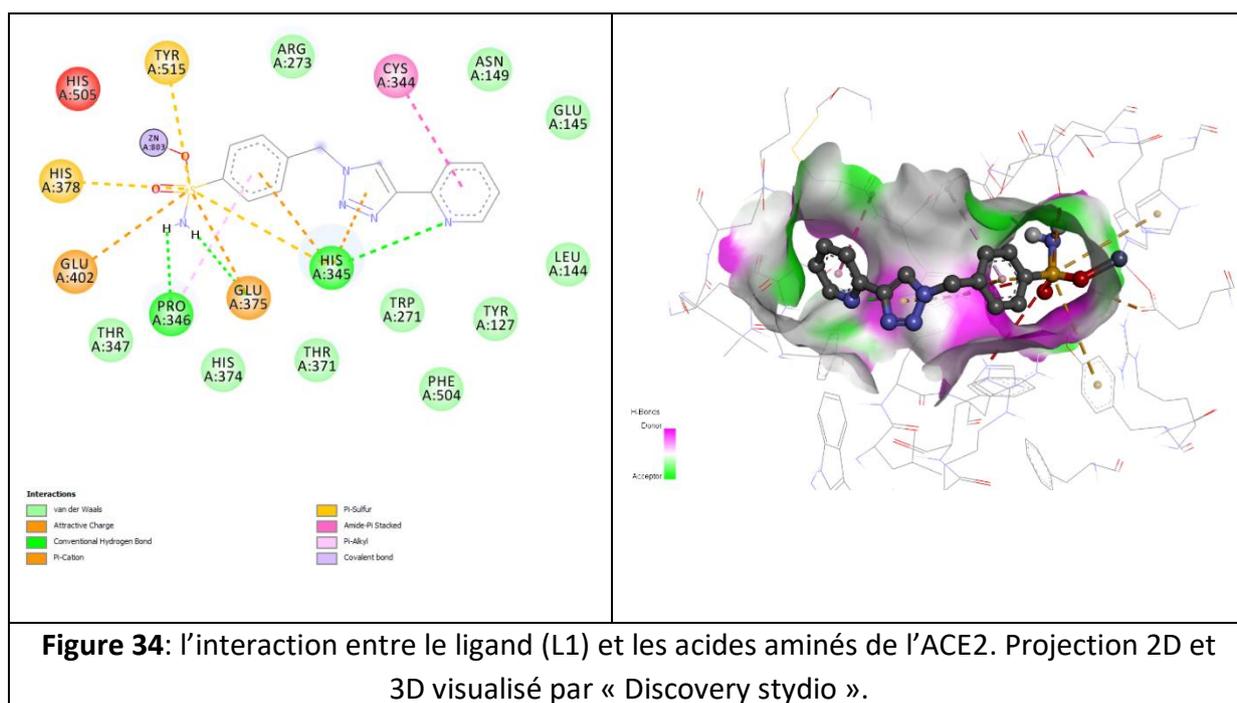


VI.2.4. Interaction L1—ACE2

Grâce à la contribution du pharmacophore benzène-sulfonamide, le ligand **L1** a pu établir deux liaisons hydrogène avec les résidus Pro³⁴⁶ et Glu³⁷⁵, et quatre interactions électrostatiques (de type π -cation et π -soufre) avec les acides aminés Cys³⁴⁴, His³⁴⁵ et Pro³⁴⁶ (voir la [figure 34](#)).

On peut observer plus d'interactions autour de la région triazole-pyridyle, où l'atome d'azote de la pyridine établit encore une liaison hydrogène avec le résidu His³⁴⁵ et une interaction hydrophobe (π -amide) avec le résidu Cys³⁴⁴, ainsi qu'une interaction électrostatique (π -cation) entre le cycle triazole et His³⁴⁵.

Le programme Autodock permet de prédire son énergie d'interaction avec ACE2 qui est évaluée à -8.79 kcal/mol. Cette énergie d'interaction correspond à une constante d'inhibition théorique (k_i) de 358.68 nM.

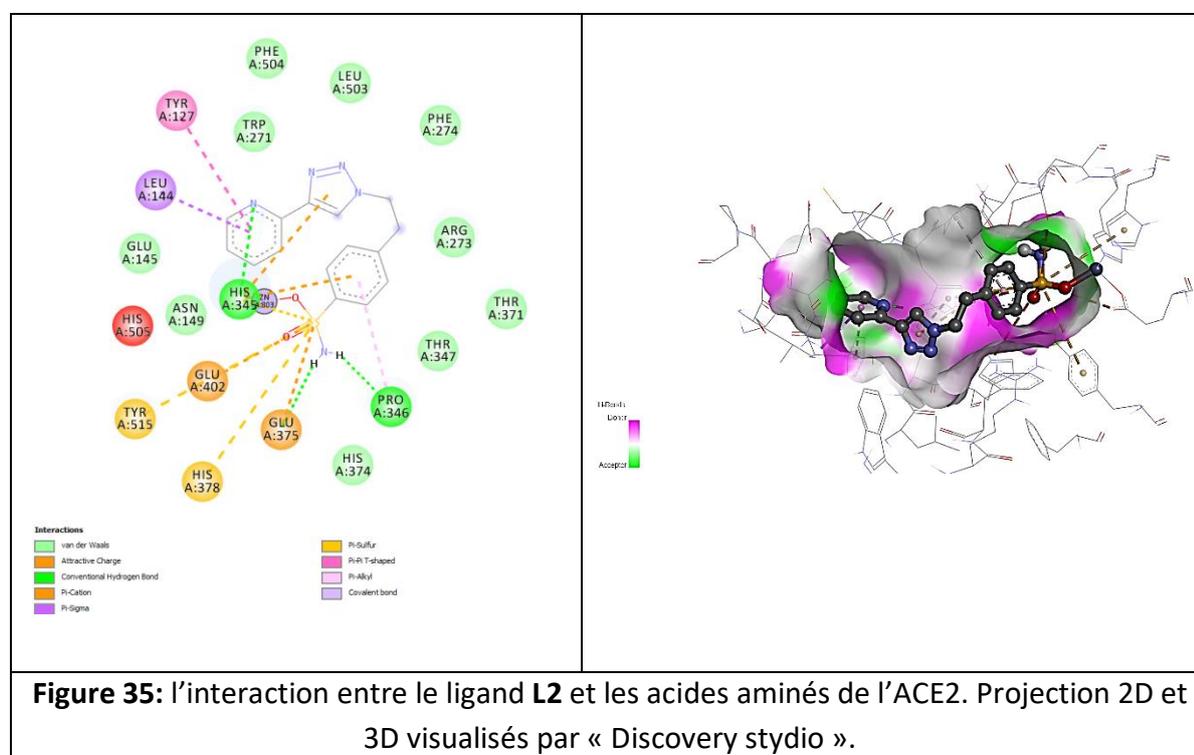


VI.2.5. Interaction L2—ACE2

Le composé **L2** est le dernier dérivé étudié dans cette classe d'inhibiteurs. La visualisation des résultats du docking, mentionnée dans la [figure 35](#), montre que le composé organique **L2** forme un profil d'interaction similaire à celui du ligand **L1**. Cependant, les interactions fournis dans la figure 35 révèlent que le ligand **L2** a été stabilisé non seulement

par des liaisons hydrogène avec les résidus His³⁴⁵, Pro³⁴⁶ et Glu³⁷⁵ (His³⁴⁵-H...N-Pyridine; d=1.74 Å, -SO₂NH⁽¹⁾...O-Glu³⁷⁵; d=1.80 Å, -SO₂NH⁽²⁾...O-Pro³⁴⁶; d=2.14 Å), mais aussi par plusieurs interactions de électrostatique/hydrophobe entre la partie benzène-sulfonamide et les résidus latéraux His³⁴⁵, Pro³⁴⁶, Glu³⁷⁵, His³⁷⁸, Glu⁴⁰² et Tyr⁵¹⁵.

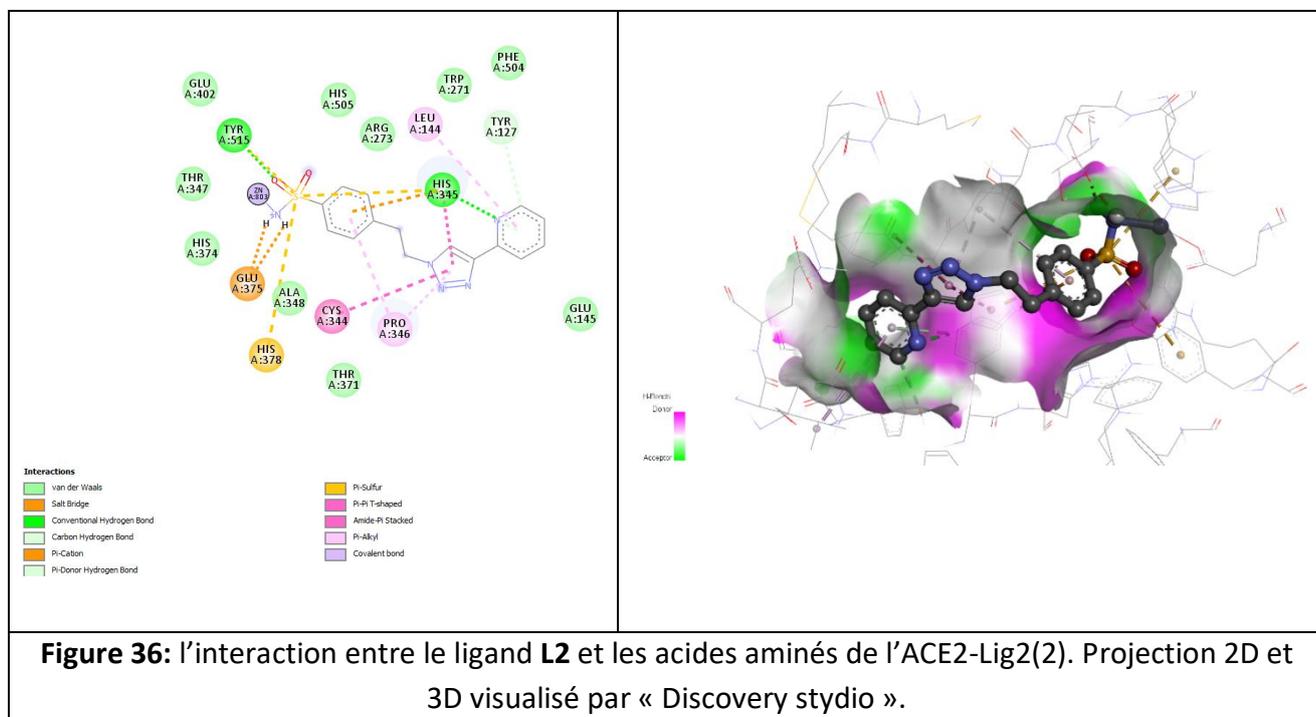
Ce réseau d'interaction intense fourni par la molécule **L2** reflète les valeurs ΔG et k_i théorique les plus petites. L'affinité importante du composé **L2** pour le site actif de la protéine ACE2 ($\Delta G = -9.34$ kcal/mol ; $K_i = 141.74$) par rapport aux autres dérivés, peut également s'expliquer par la contribution du bras carbonique (-CH₂)₂ qui a un effet direct sur l'orientation de la fraction sulfonamide vers le zinc et d'interagir efficacement avec les acides aminés du site actif.



Cas exceptionnelle :

Le ligand **L2** présente une autre conformation exceptionnelle (voir la [figure 36](#)), où l'atome d'azote du groupe sulfonamide est situé à proximité de l'atome de zinc avec une distance plus courte (Zn-N; d=2,12 Å), par rapport à l'atome d'oxygène voisin qui favorise le résidu Tyr⁵¹⁵ pour former une liaison hydrogène. Cette distance permet la formation d'une liaison de coordination covalente entre l'ion zinc et l'atome d'azote à la place de l'atome d'oxygène.

Le programme AutoDock nous a permis de prédire son énergie d'interaction avec l'ACE2 qui s'évalue à -8.4 Kcal/mol. Cette énergie d'interaction correspond une constante d'inhibition théorique (K_i) de l'ordre de 0.695 μM . Ces valeurs théoriques reflètent la contribution importante de différentes interactions à la stabilité du système protéine-ligand.



Références

Références

- [1] Morris, Garrett M., et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of computational chemistry* 19.14 (1998): 1639-1662.
- [2] Morris, Garrett M., et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry* 30.16 (2009): 2785-2791.
- [3] Zhenli, Zhong Zengpei Huang. The Computation Basis of Software CS Chem3D and its Application in Organic Chemistry. *Guang Zhou Chemical Industry and Technology* 2 (2002).
- [4] BIOVIA, D. S., Discovery Studio Modeling Environment, Version 2.5. BIOVIA Workbook, Release 2017; BIOVIA Pipeline Pilot, Release 2017, 2007.
- [5] Towler, Paul, et al. "ACE2 X-ray structures reveal a large hinge-bending motion important for inhibitor binding and catalysis." *Journal of Biological Chemistry* 279.17 (2004): 17996-18007.
- [6] Weiner, Paul K., and Peter A. Kollman. AMBER: Assisted model building with energy refinement. A general program for modeling molecules and their interactions. *Journal of Computational Chemistry* 2.3 (1981): 287-303.
- [7] Ayyamperumal, Selvaraj, et al. "In silico screening of FDA approved drugs against ACE2 receptor: potential therapeutics to inhibit the entry of SARS-CoV-2 to human cells." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* (2021): 1-12.
- [8] Y. Aimene et al. Novel Re(I) tricarbonyl coordination compounds based on 2-pyridyl-1,2,3-triazole derivatives bearing a 4-amino-substituted benzenesulfonamide arm: synthesis, crystal structure, computational studies and inhibitory activity against carbonic anhydrase I, II, and IX isoforms†. *JOURNAL OF ENZYME INHIBITION AND MEDICINAL CHEMISTRY VOL. 34 (1) (2019): 773–782.*
- [9] Mukesh, Bachwani, and Kumar Rakesh. "Molecular docking: a review." *Int J Res Ayurveda Pharm* 2.6 (2011): 1746-51.
- [10] Kawai, Kentaro, and Naoya Nagata. "Metal–ligand interactions: an analysis of zinc binding groups using the Protein Data Bank." *European journal of medicinal chemistry* 51 (2012): 271-276.
- [11] Jodie L. Guy et al, Identification of critical active-site residues in angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2) by site-directed mutagenesis. *FEBS Journal* 272 (2005) 3512–3520.
- [12] Kitchen, Douglas B., et al. "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications." *Nature reviews Drug discovery* 3.11 (2004): 935-949.
- [13] Du, Xing, et al. "Insights into protein–ligand interactions: mechanisms, models, and methods." *International journal of molecular sciences* 17.2 (2016): 144.

[14] Arora, Rohit, and Luba Tchertanov. *The HIV-1 Integrase: Modeling and Beyond*. INTECH, 2012.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif primordial de ce travail est d'acquérir des compétences en simulation informatique, en particulier le docking moléculaire à l'aide du programme AutoDock4.2, afin d'étudier les interactions mises en jeu entre les récepteurs protéiques et leurs inhibiteurs.

Notre travail porte sur l'identification et l'inhibition *in-silico* (par AutoDock4.2) du site actif de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ACE2) qui agit en tant que récepteur d'entrée du virus Sars-CoV-2 dans les cellules. Cela nous permet de comprendre le mécanisme d'action des inhibiteurs et aussi de rechercher de nouveaux agents thérapeutiques pouvant empêcher l'attachement du virus à la surface cellulaire et ainsi limiter le cycle de vie viral.

Lors de la simulation moléculaire, nous avons testé la performance du programme AutoDock4.2, en déterminant l'énergie d'interaction ($\Delta G \leq 0$) et la déviation (RMSD $\leq 2\text{\AA}$) entre la position du ligand MLN-4760 calculée par AutoDock et celle déterminée expérimentalement (PDB id : 1R4L). Ces tests nous apportent la preuve que le programme AutoDock4.2 est hautement performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions d'autres inhibiteurs comme les sulfonamides, objet de notre présent travail.

Afin de développer de nouveaux inhibiteurs plus affins et plus sélectifs de l'ACE2, nous avons réutilisé trois dérivés à base de sulfonamide contenant le motif pyridine-triazole (**L0**, **L1**, **L2**). Ces molécules ont déjà été utilisées comme inhibiteurs puissants de l'anhydrase carbonique humaine (hCA) qui possède un site actif (Zn^{2+}) similaire à celui de l'ACE2.

Les résultats préliminaires montrent que les trois dérivés sulfonamides **L0**, **L1** et **L2** sont bien placés dans le site actif de l'enzyme ACE2. De plus, l'oxygène du groupe sulfonamide était dans la distance favorable d'interaction avec l'ion zinc, pour les deux cas **L1** et **L2**. Cependant, **L2** présente des valeurs d'énergie d'interaction ($\Delta G = -9,34$ kcal/mol) et de constante d'inhibition ($K_i = 141$ nM) plus faibles, indiquant une affinité ligand-récepteur plus élevée. La forte affinité de ligand **L2** peut s'expliquer par la contribution du bras carbonique ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$) qui a un effet direct sur l'orientation du groupement sulfonamide en direction du site actif de la protéine. En conséquence, le ligand **L2** devrait être plus stable et nécessite une investigation plus approfondie.

En bref, les inhibiteurs à base de sulfonamide pourraient être des agents thérapeutiques potentiels vis à vis le Sars-CoV-2.