



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والبيئة
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département : Biologie appliquée

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de master LMD

En : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : TOXICOLOGIE

Par

Par : Salhi Fadda

Salhi Zohra

Intitulé :

Potentiel thérapeutique et mécanismes moléculaires
possibles de l'action de nouveaux inhibiteurs contre SARS-
CoV-2 : Amarrage moléculaire, étude de pharmacocinétique
et prédiction de toxicité *in silico*.

Devant le jury :

Mme. Bouadila Soulef	MAA	Université de Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-	Présidente
Mme. Benamara Amel	MAA	Université de Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-	Examinatrice
M. Ben aicha Brahim	MCB	Université de Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-	Rapporteur

Date de soutenance : 05/06/2023

Résumé

Résumé

L'épidémie de coronavirus est une maladie mortelle qui a coûté la vie à de nombreuses personnes. Elle s'est propagée en 2019 par transmission de l'animal à l'homme. Jusqu'à présent, aucun traitement approuvé pour le COVVI-19 causé par ce virus n'a été identifié, ce qui rend nécessaire étudier et développer des traitements médicamenteux et des vaccins efficaces pour la prévention et le traitement.

Notre étude se concentre sur le Docking moléculaire employé pour la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'hélicase NSP13. C'est pourquoi nous avons utilisé cette technologie, Cette étude a été assistée par le logiciel MOE pour comprendre le mode d'interaction de 70 molécules phytochimiques vis-à-vis le récepteur NSP13 impliqué dans le développement du SARS Cov2.

Les résultats de Docking moléculaire montrent que 11 ligands, sont les meilleurs complexes sélectionnés qui donne la plus petite valeur des énergies par rapport au ligand de référence (5RLJ), ce dernies dont le score est égal à -4,6083 kcal/mol. On utilise SwissADME et ProTox-II pour prédire et analysé les propriétés pharmacocinétiques et la toxicité.

Selon les résultats de Docking moléculaire, propriétés d'ADME et la prédiction de toxicité le kampéferol pourrait le meilleur candidat de médicament.

Mots Clés: SARS-CoV-2, hélicase NSP13, Docking moléculaire, ADME, kampéferol.

Abstract

The coronavirus epidemic is a deadly disease that has claimed the lives of many people. It spread in 2019 by animal-to-human transmission. So far, no approved treatment has been identified for the covid-19 caused by this virus, making it necessary to study and develop effective drug treatments and vaccines for prevention and treatment.

Our study focuses on the molecular docking used for the search for new inhibitors of the NSP13 helicase. For this we used this technique. This study was assisted by the MOE software to understand the mode of interaction of 70 phytochemical molecules with the NSP13 receptor involved in the development of SARS Cov2.

Molecular docking results show that 11 ligands are the best selected complexes which give the lowest value of energies compared to the reference ligand (5RLJ), the latter whose score is equal to -4.6083kcal/mol. SwissADME and ProTox-II are used to predict and analyze pharmacokinetic properties and toxicity.

According to the results of Molecular Docking, properties of ADME and the prediction of toxicity Kampeferol could be the best drug candidate.

Keywords: SARS-CoV-2, NSP13 helicase, molecular docking, ADME, kampeferol.

ملخص

وباء الفيروس التاجي مرض قاتل أودى بحياة كثير من الناس. انشر في عام 2019 عن طريق انتقال العدوى من حيوان إلى الإنسان. حتى الآن، لم يتم تحديد أي علاج معتمد لفيروس كورونا-19 الناجم عن هذا الفيروس، مما يجعل من الضروري دراسة وتطوير علاجات دوائية ولقاحات فعالة للوقاية

والعلاج.

تركز دراساتنا على توثيق الإرساء الجزيئي المستخدمة للبحث عن مثبطات جديدة helicase NSP13. لهذا استخدمنا هذه التوثيق بمساعدة برنامج MOE لفهم طريقة تفاعل سبعين جزيئا كيموإيثا^ة زيادًا مع مستهدف NSP13 المشارك في تطوّر SARS-CoV-2.

تظهر نتائج الإرساء الجزيئي أن 11 مجمعًا هي أفضل المجمعات المختارة التي تعطي أصغر قيمة للطاقة المدارية بالرابط المرجعي (RLJ5)، وهذا الأخير الذي تساوي درجته -4.6083 كيلو كالوري/مول. نستخدم SwissADME وProtox-II للتنبؤ وتحليل الخصائص الدوائية والسمية.

ونظرًا لنتائج الإرساء الجزيئي، خصائص ADME والتنبؤ بالسمية يعتبر هو أفضل مرشح كدواء. kampéferol

الكلمات المفتاحية: SARS-CoV-2، NSP13 helicase، الإرساء الجزيئي، ADME،

.kampéferol

Remerciements

C'est avec un grand plaisir que nous réservons ces quelques lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et l'aboutissement de ce travail.

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **Allah** tout puissant, de nous a permis de mener à bien ce mémoire, et de nous a orienté au chemin du savoir.*

*Ensuite, Nous remercions sincèrement Dr. **Ben Aicha Brahim**, Maitre-assistant au sein du département biologie appliqué de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie à L'université de Tébessa, pour son encadrement, son assistance, son soutien, sa disponibilité et ses précieux conseils.*

*Nous tenons aussi à remercier Dr. **Bouadila Soulef**, Maitre-assistant au sein du département biologie appliqué et Dr. **Benamara Amel** Maitre-assistant au sein du département biologie appliqué de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie à L'université de Tébessa, pour l'honneur qu'il nous a accordé en acceptant de juger notre travail.*

Enfin, nous adressons nos chaleureux remerciements à nos Enseignants pour la qualité de l'enseignement qu'ils ont bien voulu nous prodiguer durant nos études afin de nous fournir une formation efficiente.

Merci à toutes et tous.

Dédicace

بِسْمِ هَلَا الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

À MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que Votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Mon père ABD ELHAFID demandé à dieu de bénir et nous rassemble au paradis.

Ma mère NAOUA. Que Dieu, le Très Haut, lui accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne tu déçois.

À MES CHERES ET ADORABLES SOEURS QUE J'AIME
PROFONDEMENT

GHANIA, RIMA, HALIMA.

À MA CHERE NIECE GHOUSSOUNE

À mes cousins et cousines et ses enfants et tous ceux que j'aime

À MES AMIS DE TOUJOURS

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce Travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

SALHI FADDA

Dédicace

بِسْمِ هَلَا الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

À MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Mon père MOUHAMMED, que dieu le protège et prolonge sa vie.

Ma mère KAMLA. Que Dieu, le Très Haut, lui accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne tu déçois.

**À MES CHERES ET ADORABLES SOEURS ET FRERES QUE
J'AIME PROFONDEMENT**

SAMIR, FAICEL, SOULTANE, ADEL, ARJOUNA, SOUADE.

A MES NEVEUX : ISHAK, ISLAM, BAHA

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

SALHI ZOHRA

Liste des abréviations

3D : 3-dimension

A° : Angström (unité de longueur)

AA : Acide aminée

ARN : Acide ribonucléique

ADN: Acide désoxyribonucléique

ACE2: Angiotensine converting enzyme2

BDP: Protéine data banque

BLM: Syndrome de bloom

COV 2: Coronavirus 2

DL50: Dose létale 50

FDA: Administration des aliments et des médicaments

FRET: Transfert d'énergie par résonance de fluorescence

GTP : Guanosine triphosphate

HLA : le système de leucocyte antigène de l'humain

HAS : Haute autorité de santé

HE : Protéine hémagglutinine

IgM : Immunoglobulines M

IgG : Immunoglobulines G

KDa : kilo dalton

Kcal : kilocalorie

Log P : Coefficient de partage eau /octanol

LH: Liaison hydrogène

LBVS: Criblage virtuel basé sur des ligands

MOE : L'environnement d'exploitation moléculaire

MERS : Syndrome respiratoire moyen-orient

MHV : Virus de l'hépatite murin

N_{hn} : Nombre des accepteurs de liaisons H

No_{H,NH} : Nombre des donneurs de liaisons H

N_{rotb} : Nombre des fonctions rotables

OMS : Organisation mondiale de la santé

OFR : cadre de lecture ouvert

CRP : Protéine C réactive

PM : poids moléculaire

PP1a: Protéine phosphatase 1 alpha

PP1b: Protéine phosphatase 1 beta

Protox: Prédiction de Toxicité

QSAR : Relation quantitative structure –activité

RT-BCR : Rétro-réaction en chaîne par polymérase

RT-LAMP : Boucle de transcription inverse-implication isotherme médiatrice

RE : Réticulum endoplasmique

RdRP: RNA-dependent RNA polymérase

RMSD : Déviation racine-moyenne-carrée

REC-Q helicase : enzymes hélicases

SARS: Syndrome respiratoire aigu sévère

SVBS: Dépistage virtuel basé sur la structure

TMA: Amplification médiée par la transcription

TAT: Délai d'exécution

UTR: Region transcrite non traduite

VdW: Vander Weels

Liste des figures

N° de figure	Titre de figure	Page
01	Illustration du coronavirus dans la muqueuse respiratoire.	06
02	Representation schématique d'un coronavirus.	06
03	Classification et taxonomie des coronavirus humains (HCOV).	07
04	Les proteines structurales de SARS-CoV2.	10
05	Présentation schématique de la structure et organisation du génome du SARS-CoV-2.	11
06	La réplication de SARS cov2.	12
07	Pandémie du Covid-19 en 2022.	13
08	Comment les mesures adoptées par les états influencent le décours de l'épidémie de la COVID-19.	13
09	Coupe sagittale des voies aériennes supérieures illustrant les modalités de réalisation d'un prélèvement rhino-pharyngé avec un écouvillon.	15
10	Cinétique des marqueurs diagnostiques en fonction du stade de l'infection.	15
11	Les hélicases d'E. Coli.	21
12	Schéma général de la réplication de l'ADN.	22
13	Représentation schématique du Docking de deux molécules. (A) protéine. (B) Ligand. (C) Complexe moléculaire.	26
14	Les deux grandes stratégies du criblage virtuel (LBVS et SBVS).	27
15	Le docking ligand protéin.	28
16	Interactions de London.	29
17	La liaison ionique.	29
18	La liaison hydrogène.	30
19	Schéma représentatif de l'effet hydrophobe.	30
20	Protocole generale de calcul.	32
21	La fenêtre de logiciel MOE.	33
22	L'interface graphique du site web de base de données PDB.	34
23	L'interface graphique du site web de Pubchem.	34
24	Page d'accueil du serveur SwissADME.	35
25	Page d'accueil de serveur ProTox-II.	35

26	La structure 3D de l'NSP13.	36
27	Les interactions de L'acide chlorogénique dans le site actif.	43
28	Les interactions de L'aloïne dans le site actif.	44
29	Les interactions de Décursinol dans le site actif.	44
30	Les interactions de l'isorhamnetin dans le site actif.	45
31	Les interactions de Kaempférol dans le site actif.	45
32	Les interactions de Nimbolide dans le site actif.	46
33	Les interactions de Quercétine dans le site actif.	46
34	Les interactions de Yuanhuanin dans le site actif.	47
35	Les interactions de Naringine dans le site actif.	47
36	Les interactions de L'acide rosmarinique dans le site actif.	48
37	Les interactions de Chrysophanol dans le site actif.	48

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre du tableau	Page
01	Souches identifiées des coronavirus et leurs récepteurs respectifs	8
02	Les protéines structurales du SARS-CoV-2	9
03	Principaux avantages et inconvénients des méthodes de détection moléculaires du SARS-cov2.	16
04	Liste des vaccins fabriqués contre le SARS-CoV-2.	19
05	Les propriétés physico-chimiques de l'NSP 13	23
06	Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques	33
07	Les soixante-dix ligands préparés	37
08	Les résultats de Docking	41
09	Les résultats de filtrage d'ADME	49
10	Les résultats de prédiction de toxicité	50

Remerciements
Résumé
Abstract
ملخص
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux

Table des matières

Partie bibliographique

Introduction générale

Chapitre I : Le virus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère 2. SARS-Cov-2

1. Généralité.....	05
2. Définition des coronavirus	06
3. Classification des coronavirus.....	07
4. Les récepteurs identifiés des coronavirus.....	07
5. Le SARS-Cov-2.....	08
6. Les protéines structurales du SARS-Cov-2.....	08
7. Aspects génomiques.....	10
8. Réplication et pathogenèse.....	11
9. Épidémiologie	12
10. Diagnostic biologique de l'infection par le SARS-Cov-2.....	14
11. Traitement Covid-19 : protocole et antibiotiques.....	17
12. Vaccination.....	18

Chapitre II : L'enzyme non structurale NSP13 du SARS-Cov-2

1. L'hélicase	21
2. Mode d'action.....	21
3. Cas du virus SARS-Cov-2.....	22
4. Propriétés physico-chimiques de l'NSP13.....	23
5. Les inhibiteurs de l'NSP13.....	23
5.1. Les inhibiteurs naturels	23
5.2. Les inhibiteurs chimiques.....	23

Chapitre III : le Docking moléculaire

1. Docking moléculaire (amarrage).....	26
2. Criblage virtuel.....	26
3. Le processus du Docking... ..	27
3.1. Les récepteurs.....	28
3.2. Les ligands.....	28
3.3. Le Docking ligand-protéine.....	28
4. La reconnaissance moléculaire.....	29
4.1. Les interactions de Van der Waals... ..	29
4.2. Les liaisons ioniques... ..	29
4.3. Les liaisons hydrogènes.....	30
4.4. L'effet hydrophobe.....	30

Partie Pratique

I. Matériels et Méthodes

1. Introduction... ..	32
2. Matériels.....	32
2.1. Microordinateur	33
2.2. Logiciel utilisé	33
3. Méthodologie de calculs.....	36
3.1. Préparation de protéine	36
3.2. Préparation de ligand... ..	36
3.3. Le Docking moléculaire	39

II. Résultats et Discussion

1. Résultat de Docking	41
2. Les interactions de 2D, 3D des ligands dans le site actif	43
2.1. L'acide chlorogénique	43
2.2. Aloïne	44
2.3. Décursinol	44
2.4. Isorhamnetin.....	45
2.5. Kaempférol.....	45
2.6. Nimbolide.....	46
2.7. Quercétine	46

2.8. Yuanhuanin	47
2.9. Naringine	47
2.10. Acide rosmarinique.....	48
2.11. Chrysophanol.....	48
3. Filtrage ADME.....	49
4. Prédiction de toxicité.....	50
Conclusion générale	52
Références	54

Introduction générale

Les coronavirus forment une vaste famille de virus, La plupart des personnes infectées par le virus présentent une maladie respiratoire d'intensité légère à modérée et se rétablissent sans avoir besoin d'un traitement particulier. Certaines, cependant, tombent gravement malades et ont besoin de soins médicaux. Les personnes âgées et celles qui ont un problème médical sous-jacent, tel qu'une maladie cardiovasculaire, un diabète, une maladie respiratoire chronique ou un cancer, ont plus de risques de présenter une forme grave. N'importe qui, à n'importe quel âge, peut contracter la COVID-19 et tomber gravement malade ou en mourir. [1]

Le Sars-CoV-2 est le nom officiel du nouveau coronavirus identifié le 9 janvier 2020 dans la ville de Wuhan, chef-lieu de la province du Hubei en Chine. D'abord appelé coronavirus de Wuhan ou 2019-nCoV, le nom a été proposé par *International Committee on Taxonomy of Viruses*, l'organisme en charge de la classification des virus.

Il est l'agent étiologique de l'épidémie de pneumopathie infectieuse qui s'est répandue en Chine et dans le monde à partir de fin décembre 2019. Cette maladie a été nommée Covid-19 par l'OMS, le 11 février 2020. [2]

Le SARS Cov2 est constitué d'un brin d'ARN de près de 30K bases [3], Le premier tiers d'ARN (orf1a, orf1b) traduit deux polyprotéines (pp1a, pp1b) qui codent pour 16 protéines non structurales, dont nsp8, nsp12 et l'hélicase nsp13. Ces protéines permettent au cycle du SRAS-CoV de se poursuivre car elles sont des composants du complexe transcription et la réplication.

Les hélicases sont des protéines qui se déplacent longitudinalement le long des liaisons phosphodiester de l'acide nucléique, séparant les deux brins antiparallèles de l'acide nucléique (ADN double brin, ARN double brin ou hybride ADN-ARN) en utilisant l'énergie libérée dans l'acide nucléique par l'hydrolyse de l'ATP ou du GTP, [4] Qui permet la réplication de l'ARN. Donc il est un composant nécessaire du cycle de vie du virus et donc une cible potentielle pour empêcher la réplication de SARS Cov en l'inhibant.

Dans notre travail, nous avons utilisé le logiciel MOE, qui nous permet d'étudier par Docking moléculaire entre protéine-ligand, afin de trouver de nouveaux inhibiteurs de l'NSP13.

L'objectif du présent travail consiste à effectuer un Docking moléculaire avec logiciel MOE, afin de sélectionner des molécules stables inhibant le récupérer NSP13.

La présentation générale de notre travail sera la suivante : il y a deux (2) parties, dans la première partie nous avons 3 chapitres et la deuxième partie est pratique.

La première partie :

- Dans le premier chapitre, nous avons présenté une définition du coronavirus, en particulier du SARS-cov-2, de ses composants, de son génome et de sa réplication, ainsi qu'une étude épidémiologique, un diagnostic, des protocoles et des vaccins approuvés.
- Au cours du deuxième chapitre, nous avons donné un aperçu de la définition de l'hélicase en général, de son mode d'action, hélicase dans le cas du SARS-CoV-2(NSP13), de ses propriétés physicochimiques, et de ses inhibiteurs homologués.
- Dans le troisième chapitre, nous donnons un aperçu bibliographique de Docking moléculaire.

Dans la deuxième partie, nous avons présenté les différents matériels et méthodes utilisés dans cette étude aux résultats obtenus et à leurs discussions.

Enfin une conclusion générale résume l'ensemble du travail réalisé.

Partie bibliographique

Chapitre I :
Le virus du Syndrome
Respiratoire Aigu Sévère 2

1. Généralité

Les coronavirus sont des virus animaux de mammifères, la plupart du temps peu pathogènes pour leur hôte. L'homme a aussi « ses » coronavirus (les virus du coryza, ou rhume), qui se transmettent par voie aérienne, en particulier chez l'enfant. Deux de ces virus humains ont une origine (ancienne) animale, et l'un d'entre eux, originaire de rongeurs, est passé par un hôte intermédiaire bovin avant de s'adapter à l'homme. Pourtant, cet exemple n'a pas été pris en compte dans les travaux tentant de prédire l'émergence de virus pandémiques, qui ont préféré se focaliser sur les virus grippaux plutôt que sur les coronavirus, pas plus que les deux épidémies humaines liées à des coronavirus d'origine animale du début du XXI^e siècle : celle du SARS (virus originaire d'une chauve-souris) et celle du MERS (originaire du chameau). Ces infections humaines se caractérisent pourtant par un syndrome respiratoire aigu, parfois accompagné de pneumonie sévère avec détresse respiratoire. Virus à ARN simple brin, les coronavirus sont enveloppés par une « couronne » de pointes (spikes) pourtant la protéine S, clé de la fixation et de la pénétration du virus dans les cellules humaines. Un court retour sur le SARS et MERS nous permettra de comprendre pourquoi la Covid-19 fut une pandémie non anticipée, prise à la légère à son début par beaucoup d'épidémiologistes et de médecins, alors qu'elle a, à l'heure où j'écris ces lignes, touché plus de 104 millions de personnes, fait plus de 2,2 millions de mortes et qu'elle a eu des conséquences inattendues sur les plans sanitaire, politique, financier, économique et social. [5]

Le SARS, ou syndrome respiratoire aigu sévère, SARS en anglais, affection grave et très contagieuse, apparut brutalement en février 2003, à Hong Kong. Il a parcouru brièvement le monde, pour s'éteindre grâce aux sévères mesures de contrôle mises en place. Ce fut la première pandémie du XXI^e siècle. [5]

Tout commença apparemment à Hong Kong le 22 février 2003, lorsqu'un médecin néphrologue du sud de la Chine continentale, venu rendre visite à son beau-frère et descendu à l'hôtel Métropole, fut hospitalisé pour une pneumonie atypique sévère, dont il décéda. Dans les jours suivants, son beau-frère, plusieurs personnes du même hôtel et son voisin de chambre à l'hôpital furent atteints de la même affection, et contaminèrent à leur tour des infirmières de l'hôpital et divers sujets contacts. Parmi les malades, treize avaient logé à l'hôtel Métropole, dont neuf au neuvième étage, comme le médecin, chinois, qui a été identifié comme le « patient zéro », à l'origine de l'épidémie. C'est à cause des déplacements de ces treize voyageurs que l'épidémie a ensuite diffusé internationalement. [5]

2. Définition des coronavirus

Le nom coronavirus (CoV), du latin signifiant « virus à couronne », est dû à l'apparence des virions sous le microscope électronique, avec une frange de grandes projections bulbeuses qui ressemblent à la couronne solaire [6] [7].

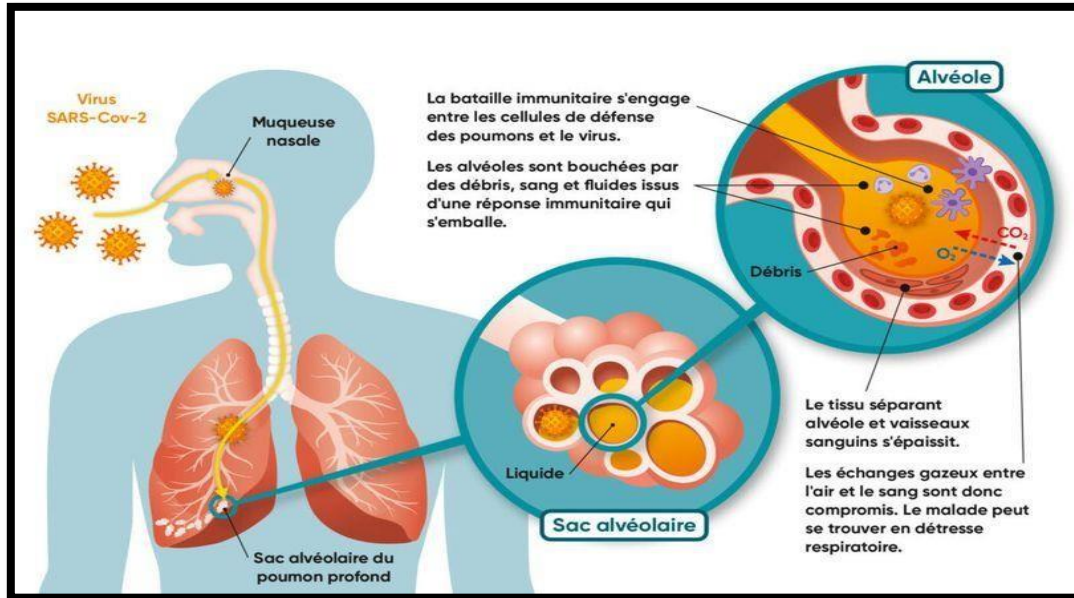


Figure 1 : Illustration du coronavirus dans la muqueuse respiratoire. [6] [7]

Les coronavirus appartiennent à la famille des Coronaviridae. Ce sont des virus enveloppés, à ARN monocaténaire à polarité positive, de forme sphérique ; certains coronavirus font entre 120-160 nm de diamètre avec un cœur interne, parfois icosaédrique, de 65nm, et une nucléocapside en hélice. [6]

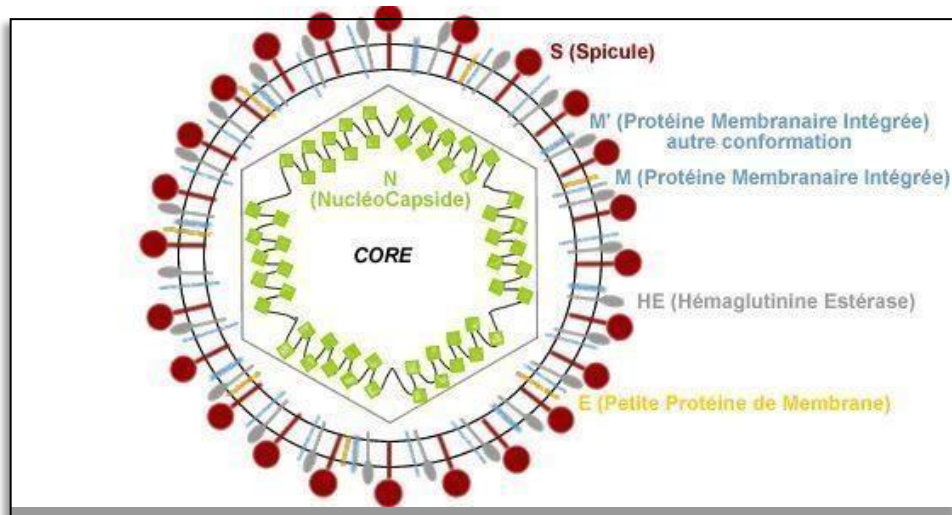


Figure 2 : Représentation schématique d'un coronavirus. [6]

Les coronavirus ont deux larges projections à leurs surfaces formées de glycoprotéines possédant un globule et une portion fine. Les peplomers (trimère de spicule) ont environ 20nm de long. Chez certains coronavirus comme le β CoV et le virus de l'hépatite murin (MHV), une seconde couche de peplomers formée par des protéines Hémagglutinine Estérase (HE) est également observée [8].

3. Classification des coronavirus

La famille des Coronaviridae est regroupée en quatre genres (alphacoronavirus, bêtacoronavirus, gammacoronavirus et deltacoronavirus) qui infectent principalement les oiseaux et les mammifères, y compris les humains et les chauves-souris. Les sept coronavirus connus pour infecter les humains appartiennent aux genres alpha et bêtacoronavirus, tandis que les gammas et deltacoronavirus infectent principalement les oiseaux. [9]

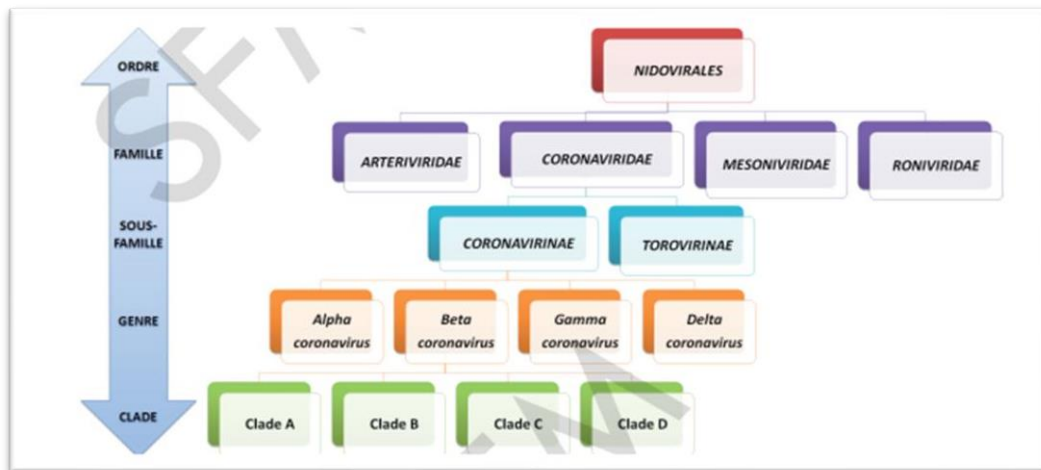


Figure 3 : classification et taxonomie des coronavirus humains (HCOV). [9]

4. Les récepteurs identifiés des coronavirus

Le degré d'atteinte cellulaire induit par une infection à coronavirus varie selon la souche virale et la cellule cible, et va de l'absence totale d'effet cytopathique à la lyse cellulaire. [10, 11]

Tableau 1 : Souches identifiées des coronavirus et leurs récepteurs respectifs [10, 11]

Les souches identifiées	Récepteurs cellulaires
Souche 229 ^E	Aminopeptidase N, métalloprotéase présente à la surface des cellules épithéliales pulmonaires, intestinales, et rénales, des fibroblastes et de certaines cellules du système nerveux central
Souche OC43	Plusieurs candidats retenus : -Récepteurs contenant de l'acide sialique semblables à ceux utilisés par <i>Influenza C</i> -molécules HLA de classe I -antigènes carcino-embryonnaires
Souche SARS-CoV 2	ACE2 : <i>angiotensine-converting enzyme</i> , molécule exprimée dans de nombreux tissus : bronches, poumons, cœur, reins, tractus gastro-intestinal

5. Le SARS-CoV 2

Le virus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SARS-CoV-2) est un nouveau coronavirus (CoV) humain. Il a émergé en Chine fin 2019 et est responsable de la pandémie mondiale de la Covid-19 ; une pneumonie fébrile atypique pouvant évoluer vers une insuffisance respiratoire très sévère, causant à ce jour, plus de quatre millions de décès [7] [10]

L'agent étiologique de la Covid-19 a rapidement été identifié, et dès le 26 janvier 2020, 10 génomes viraux ont été séquencés. La comparaison des séquences génomiques a montré que la séquence du génome du SARS-CoV-2 est proche du SARS-CoV (99 % d'identité) et du MERS-CoV (50 % d'identité), responsables des épidémies humaines précédentes. Il fut donc conclu que le SARS-CoV-2 était un nouvel agent infectieux à transmission interhumaine appartenant à la famille des SARS-CoV, dont le réservoir animal était la chauve-souris [8]

6. Les protéines structurales du SARS-CoV-2

Les orientations des études actuelles montrent que le SARS-CoV-2 possède quatre protéines structurales. [12]

Tableau 2 : les protéines structurales du SARS-CoV-2. [12]

Protéine	Rôle	Précisions et commentaires
Protéine S (spike protein)	Glycoprotéine transmembranaire organisée en homotrimère et dont on peut voir les protubérances à la surface du dont on peut voir les protubérances à la surface du SARS-CoV-2. cette protéine va lier le récepteur de la hôte l'ACE2 et permettre l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule.	La protéine S est composée de deux sous-unités (S1 et S2). La liaison à l'ACE2 se fait via un domaine de liaison nommé SB de la sous-unité S1, Le blocage de la liaison entre le domaine SB et l'ACE-2 à l'aide d'un anticorps neutralisant est une des cibles potentielles pour la vaccination
Protéine N (protéine de la nucléocapside)	Possède plusieurs fonctions, dont la réplication du SARS-CoV-2 et l'enroulement de l'ARN viral.	La séquence de cette protéine est très bien conservée chez les coronavirus. Elle est fortement exprimée lors d'une infection. La protéine N est d'ailleurs une cible pour des anticorps neutralisants.
Protéine E (Enveloppe)	Petite protéine membranaire du SARS-CoV-2 impliquée notamment dans le bourgeonnement du virus vers l'extérieur de la cellule hôte. Elle	Protéine moins abondante que la protéine S, M et N. Elle est ajoutée à la membrane du virion dans le réticulum endoplasmique de la

		stabiliserait l'enveloppe virale	cellule hôte.
Protéine M (protéine membranaire)	Elle joue un rôle central dans l'assemblage du SARS-CoV-2.	Protéine de structure la plus abondante chez le SARS-CoV-2. Elle est primordiale pour assurer la formation de l'enveloppe virale (toutefois, seule, elle ne peut produire une structure viable de virion).	

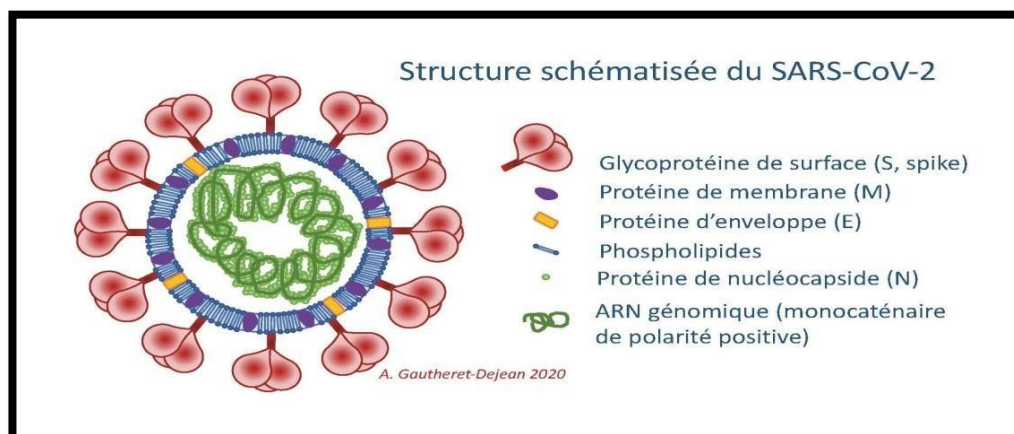


Figure 4 : les protéines structurales de SARS-CoV2. [13]

7. Aspect génomique

Le SARS-Cov2 est classé dans le genre Beta coronavirus de la famille des coronavirale [14]. Il s'agit d'un virus enveloppé dont le génome est constitué d'un acide ribonucléique (ARN) simple brin, d'une longueur d'environ 30 kb [15]. L'ARN de SARS Cov2 constitué d'environ 30000 bases [16]. Le génome comprend deux régions non codantes en 5' et en 3'. La partie codante est divisée en plusieurs sections, un nombre variable de cadres de lecture ouverts (ORF). Les deux tiers de l'ARN viral sont situés principalement dans le premier ORF (ORF1a) (ORF1b), traduisent deux poly protéines, pp1a et pp1b, et codent pour 16 protéines non structurales (NSP), Le dernier tiers du génome code les protéines de structure (S, E, M, N). [17]

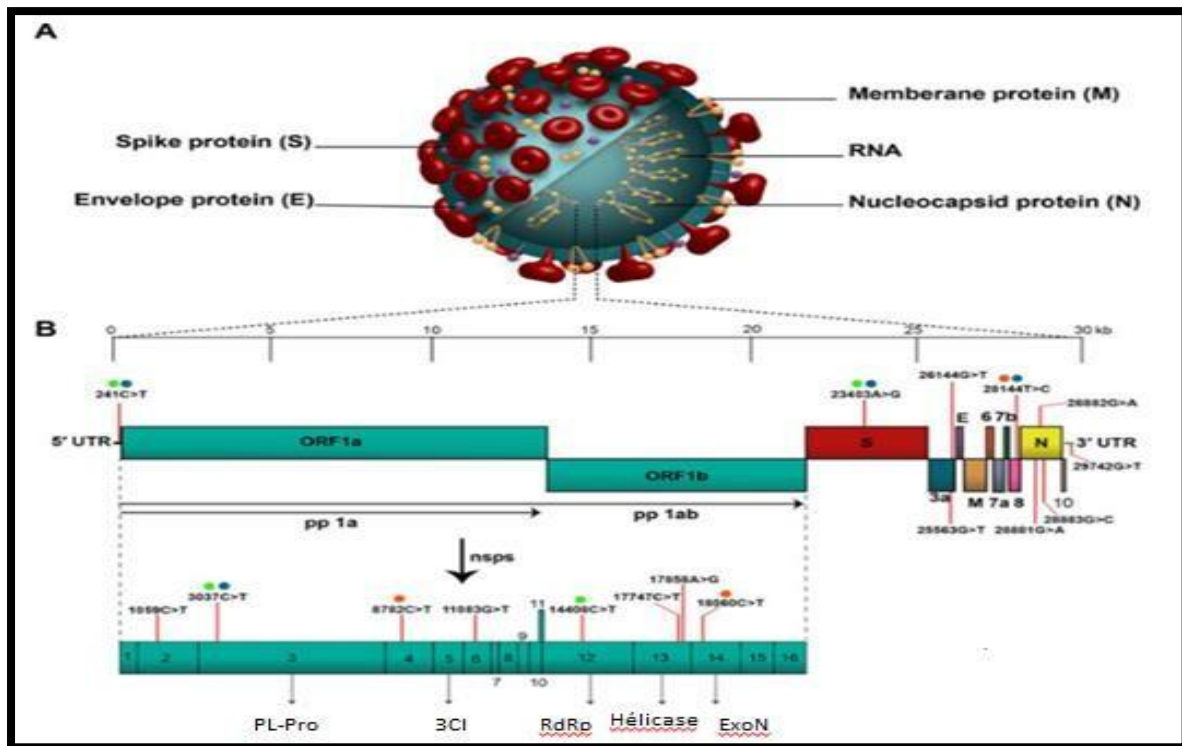


Figure 5 : Présentation schématique de la structure et organisation du génome du SARS-CoV-2, (A) la structure de SARS-Cov2, (B) Le génome du SRAS-CoV-2 (29903 nucléotides) comprend le 5' UTR, ORF1a/b codant 16 nsps pour la réplication, quatre gènes qui codent pour des protéines structurales, notamment les protéines S, E, M et N, six gènes accessoires qui codent pour six protéines accessoires telles que ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8 et ORF10. [17]

7. Réplication et Pathogénèse

Le SARS-CoV-2 est un virus ARN de grande taille. Son génome atteint 30 000 bases. Il code d'une part pour grand transcrit qui sera traduit en 16 protéines coupées par des protéases. Ces protéines serviront à la réplication du virus et à la formation de nouveaux brins d'ARN. Le virus s'attache spécifiquement à la cellule sensible grâce à une interaction de haute affinité entre la protéine S virale et l'Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE 2), récepteur cellulaire de l'hôte. En effet, la protéine S est constituée de deux sous-unités fonctionnelles : la sous-unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous-unité S2 assure la fusion de l'enveloppe virale et la membrane cellulaire. SARS-CoV-2 libère son ARN dans la cellule hôte. L'ARN de son génome est ensuite traduit en protéines qui sont secondairement clivées pour former les protéines structurales et de multiplication virale. Les protéines virales et l'ARN du génome sont ensuite assemblés en virions dans le

Réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi puis bourgeonnent dans la lumière du RE [18] [19].

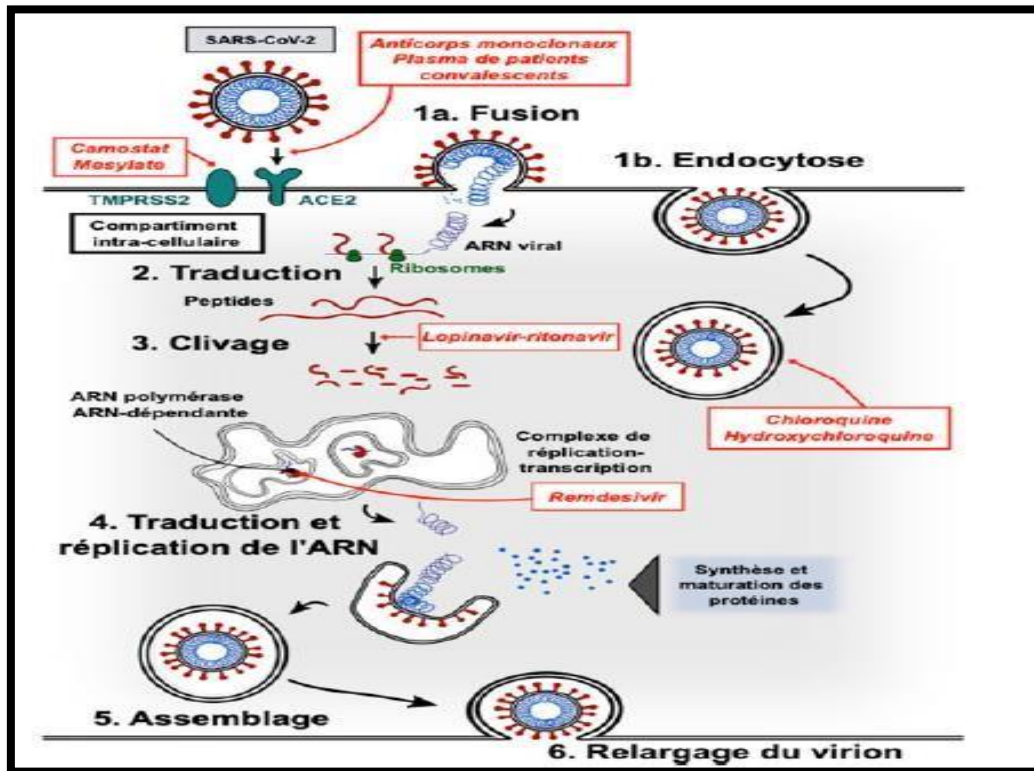


Figure 6 : La réplication de SARS cov2. [18] [19]

8. Epidémiologie

Alerte initiale en janvier 2020, description clinique de la maladie dans le courant du même mois et mise à disposition de la séquence du virus quelques semaines plus tard seulement... la qualité de la recherche scientifique et de l'échange d'informations a permis aux connaissances médicales de prendre un formidable départ lors de l'apparition du SARS-CoV-2. [20]

De nombreux systèmes de surveillance ont été activés ou perfectionnés pour essayer de suivre la pandémie au plus près. Le suivi épidémiologique reste néanmoins handicapé par la faiblesse de certaines surveillances à l'échelle des pays, et des données qui sont parfois difficiles à agréger. Les chiffres en 2022 (408 millions cas et 5,8 millions de décès). Les épidémies de COVID sont assez différentes d'une région ou d'un pays à l'autre, avec des poussées qui se sont succédé de façons très différentes. La couverture vaccinale influence considérablement le nombre de nouveaux cas et les décès. [20]

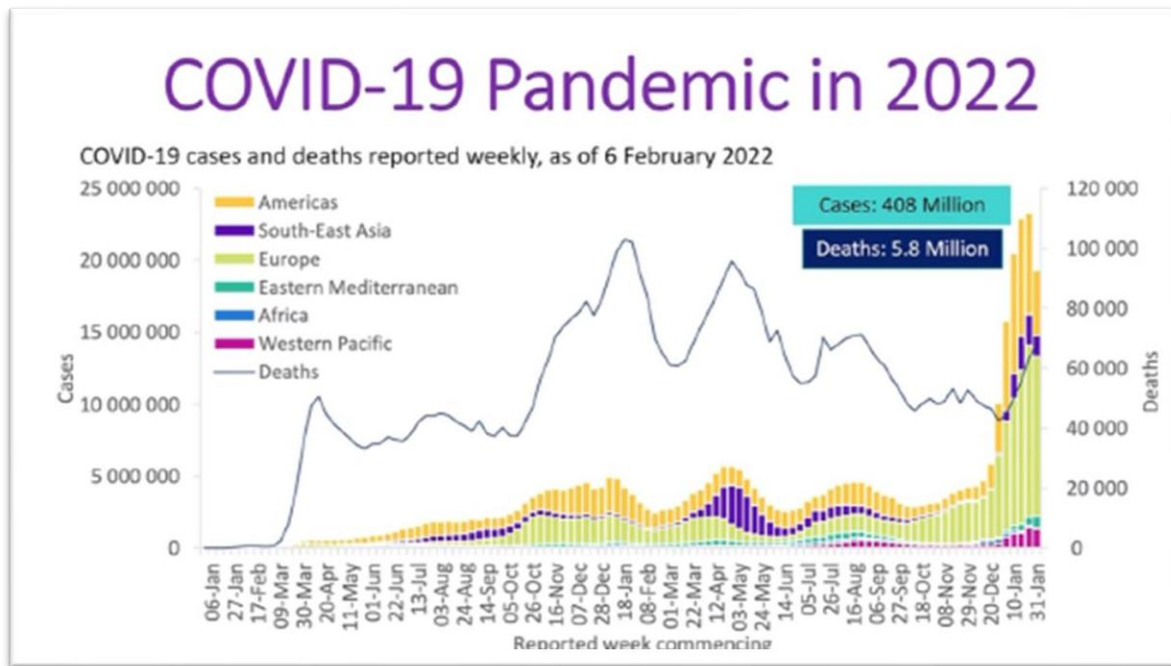


Figure 7 : Pandémie du Covid-19 en 2022. [20]

On peut classer les facteurs qui influencent la transmission en 4 grandes catégories : facteurs liés à l'hôte (immunité populationnelle, démographie, schéma de contacts), facteurs environnementaux (saisonnalité etc.), facteurs liés au virus lui-même (dynamique de Charge virale, transmissibilité, symptômes induits, apparition de nouvelles variantes et facteurs structurels (comme les déterminants sociaux de santé). [20]

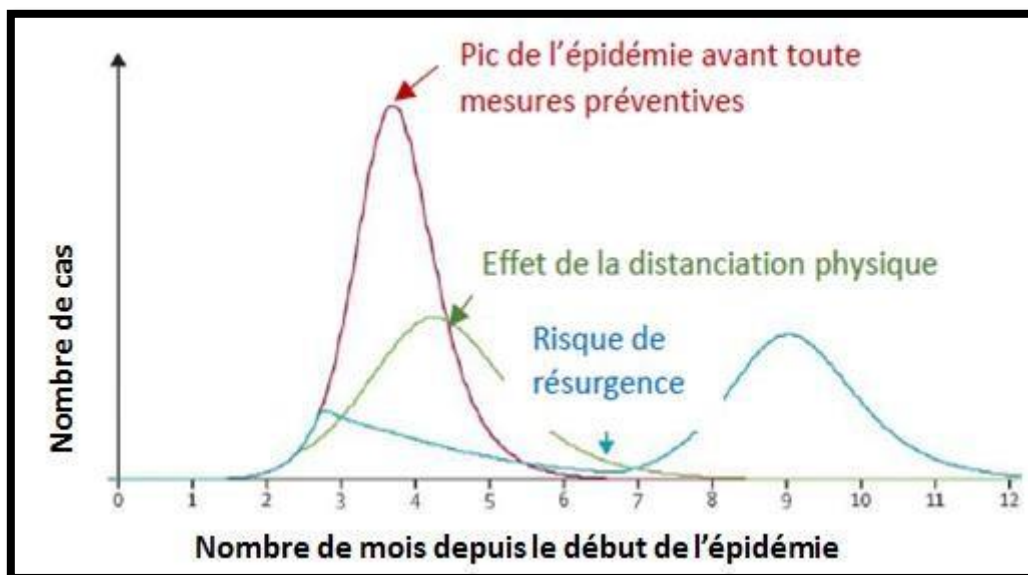


Figure 8 : Comment les mesures adoptées par les états influencent le déroulement de l'épidémie de la COVID-19. [21]

10 R0 ou R zéro est le nombre moyen de personnes que chaque porteur du SARS-CoV-2 peut infecter. Pour ce virus, R0 est entre 2 et 3 en l'absence de mesures préventives. Si R0 est supérieur à 1, le virus va envahir toute la population sensible ; si R0 est inférieur à 1, l'infection virale va s'éteindre. [21]

La transmission homme-homme du Covid19. La courbe rouge indique le pic de l'épidémie. Ce pic apparaît à un moment donné et avec une force et une durée qui dépendent de l'indice de contagion appelé aussi R010 ou nombre moyen de personnes qu'une personne malade va contaminer, qui dépend lui-même de la transmissibilité de la maladie (qui varie avec le lavage des mains, le port du masque), du nombre de contacts directs entre les humains (qui dépend de la distanciation sociale), et de la durée de la période contagieuse (qui dépend des traitements).[21]

La courbe verte montre comment les mesures de distanciation entre individus, notamment le confinement, atténuent le pic de l'épidémie. La courbe bleue indique le risque de résurgence de la maladie (2ème vague) si les mesures barrières sont levées trop tôt, ou mal levées, ou pas à la bonne saison en cas de virus saisonnier. [21]

9. Diagnostic biologique de l'infection par le SARS-cov2

Pour faire face à l'émergence du Sars-CoV-2 responsable d'une pandémie mondiale, il existe deux grands types de tests de diagnostic de l'infection par le SARS-cov2 :

9.1. Les tests de détection directe du virus

➤ Tests d'amplification des acides nucléiques (Taan)

Trois des défis majeurs du diagnostic moléculaire sont (a) de détecter de petites quantités d'ARN viral pour réduire le nombre de faux négatifs, (b) de différencier le signal positif parmi différents pathogènes pour diminuer le nombre de faux positifs et (c) avoir un débit important, (RT-PCR) est le test validé pour le diagnostic précoce chez les patients suspectés d'infection par le Sars-CoV-2 [22]

➤ Quels prélèvements

Le test de référence de dépistage du Sars-CoV-2 repose sur la détection de l'ARN viral par RT-PCR sur prélèvements rhino-pharyngés dont les performances seraient meilleures que sur prélèvements oro-pharyngés, Cependant, la Haute Autorité de santé (HAS) a rendu, le 18 septembre 2020, un avis favorable à l'utilisation et au remboursement des tests salivaires RT-PCR dans le cadre du dépistage de la Covid-19 chez des personnes symptomatiques,

Il devra néanmoins être réservé priorité aux personnes pour lesquelles la pratique du prélèvement nasopharyngé est difficile, voire impossible (chez les jeunes enfants, chez des personnes présentant des troubles psychiatriques...). [22]

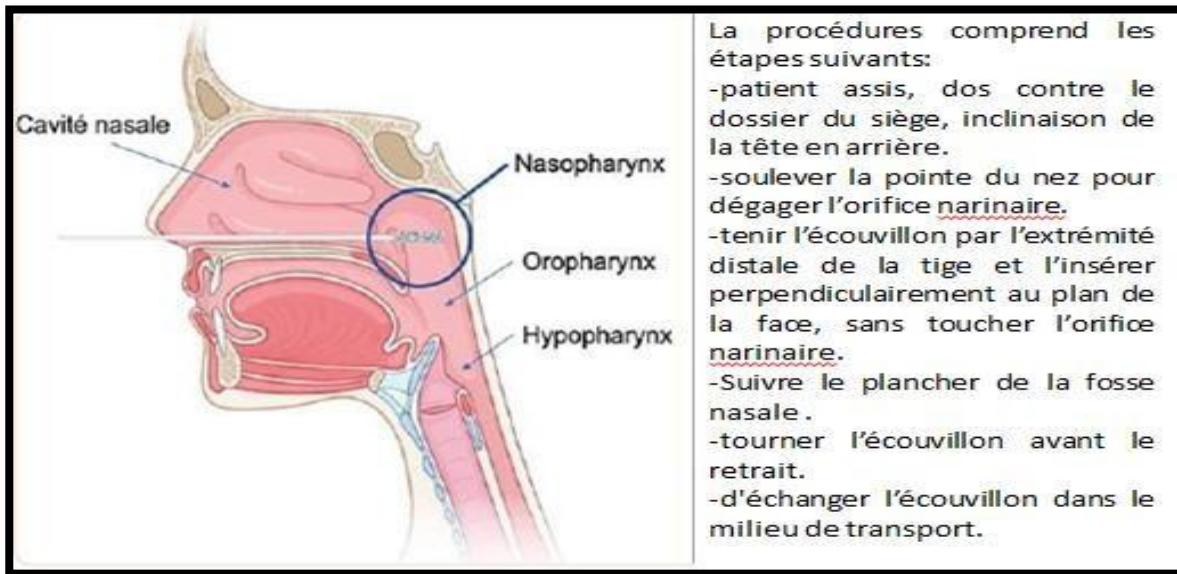


Figure 9 : Coupe sagittale des voies aériennes supérieures illustrant les modalités de réalisation d'un prélèvement rhino-pharyngé avec un écouvillon. [22]

➤ **Quand prélever**

Le prélèvement doit prendre en compte la dynamique de l'excrétion respiratoire. Elle atteints on maximum à la fin de la première semaine après contamination, juste avant et pendant les trois premiers jours qui suivent apparition des symptômes. Elle diminue ensuite lorsque la réponse immunitaire (IgM puis IgG) apparaît. Au-delà de la première semaine, on observe une meilleure détection au niveau des prélèvements profonds et des selles. [22]

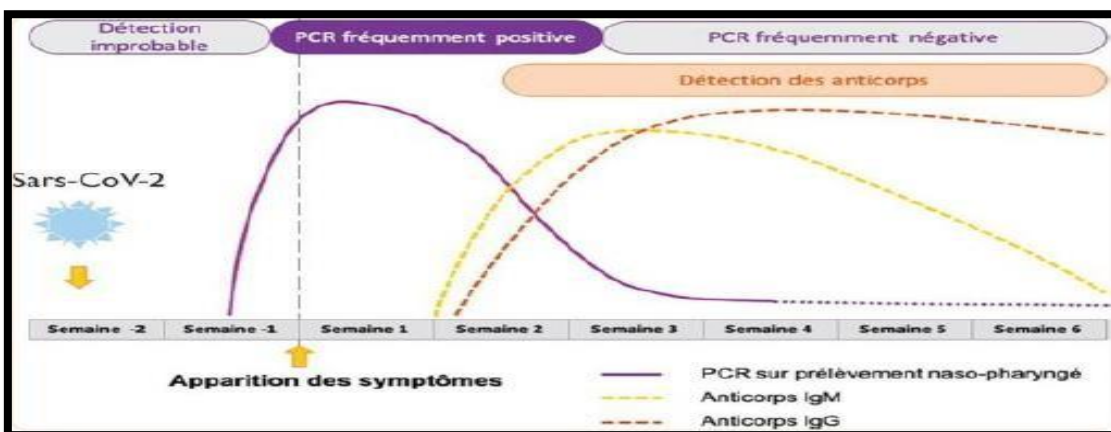


Figure 10 : Cinétique des marqueurs diagnostiques en fonction du stade de l'infection. [22]

➤ Quels tests utiliser

Il existe différentes stratégies de détection des ARN viraux avec des sensibilités et/ou des TAT (*turn-around-time*) variables. À ce jour, plus de 370 tests moléculaires commerciaux sont disponibles sur le marché, ce qui rend le choix du biologiste parfois très délicat ne sachant quel est le niveau de validation de chaque test. La grande majorité est des trousse de qRT-PCR nécessitant une extraction d'acides nucléiques préalables et adaptables sur de nombreux thermo-cycleurs. D'autres systèmes sont plus intégrés et donc plus automatisés. [23]

Parallèlement à la RT-PCR, un test reposant sur une approche moléculaire de type RT-LAMP (amplification isotherme médiée par boucle de transcription inverse) ciblant le gène RdRp a également été validé par la *Food and Drug Administration* (FDA) aux États-Unis permettant d'obtenir des premiers résultats en cinq minutes en cas de positivité et un résultat final en 13 minutes pour les négatifs. [23]

Tableau 3 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes de détection moléculaires du SARS-cov2. [23]

Méthodes	Principaux avantages	Principaux inconvénients
RT-PCR	Méthode de référence, sensibilité et spécificité élevées, Compatibilité avec l'automatisation et les panels multiples.	TAT long, temps technicien élevé sans automatisation.
RT-LAMP	TAT court	Sensibilité plus faible, débit limité.
TMA	Automatisation complète, sensibilité élevée, haut débit.	TAT long.

RT-PCR: *real-time reverse transcription polymerase chain reaction*

RT-LAMP: *reverse transcription loop-mediated isothermal amplification*

TMA: *transcription mediated amplification*

TAT: *turn-around-time*

➤ Tests rapides de détection d'antigènes

Plusieurs solutions de tests rapides permettant la détection d'antigènes sont apparues sur le marché. Le principe repose en général sur l'immun chromatographie avec une lecture qui peut être soit manuelle soit automatisée. Leur principal avantage est le délai de rendu de résultats (environ 10-15 minutes), bien inférieur à la plus rapide des solutions de PCR.

Cependant, avec une sensibilité de moins de 70 %, les performances de certains tests de détection d'antigène sont inférieures à celles de la PCR. [24]

9.2. Tests sérologiques

Les tests sérologiques permettent de rechercher la présence dans le sang d'anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 (immunoglobulines de type M ou G (IgM/IgG)). Ces tests permettent de déterminer si la personne a été infectée par le virus au cours des semaines précédentes. Ces tests ne permettent pas de faire un diagnostic précoce de l'infection puisque la production d'anticorps spécifiques par le système immunitaire prend un certain temps qui peut varier de quelques jours à quelques semaines. [25]

10. Traitement covid-19 : protocole et antibiotique

De nombreux médicaments et traitements potentiels dans le monde sont à l'étude pour une utilisation contre le Covid-19, il y a deux familles de médicaments qui offrent certain bénéfice contre le covid : les antiviraux et les anticorps monoclonaux. [26]

10.1. Les médicaments antiviraux contre la Covid-19

Ces médicaments visent à bloquer la multiplication de SARS-CoV-2 après contamination. Ils doivent donc être rapidement administrés, dès les premiers symptômes.

- *L'association nirmatrelvir/ritonavir (PAXLOVID)* est recommandée en première intention dans le traitement de la COVID-19 chez les adultes à risque d'évolution vers une forme grave, mais ne nécessitant pas d'oxygénothérapie. Ce médicament se présente sous forme de comprimés et doit impérativement être administré dans les 5 jours suivant l'apparition des symptômes. [15]
- *Le remdésivir (VEKLURY)* peut être utilisé dans le traitement de la COVID-19 en cas de contre-indication à l'utilisation de PAXLOVID, notamment liée aux interactions médicamenteuses. Il s'administre par voie intraveineuse à l'hôpital. [26]
- *Le molnupiravir (LAGVERIO)* Un nouvel antiviral inhibiteur de la protéase du SARS-CoV-2 vient d'obtenir une autorisation de commercialisation de l'agence japonaise du médicament, mais n'est pas encore autorisé par les autorités européennes. [26]

10.2. Les anticorps monoclonaux contre la Covid-19

Ces anticorps, produits par biotechnologie, visent à bloquer l'action de SARS-CoV-2 sur les cellules cibles. Ils sont très sensibles aux mutations du virus et l'apparition d'Omicron les a quasiment tous rendus inefficaces. [26]

- **Le EVUSHELD (tixagévimab/cilgavimab)** est une association de deux anticorps monoclonaux ayant subi des modifications pour augmenter leur durée de vie dans le sang (jusqu'à 70 à 100 jours, Ce médicament est actif sur le variant Delta mais il perd totalement son efficacité contre le sous-variant BQ1 responsable de la vague de COVID-19. [26]
- **Le XEVUDY (sotrovimab)** est un anticorps monoclonal à double action : il empêche le virus d'infecter de nouvelles cellules et il favorise l'élimination des cellules déjà infectées. Il est disponible pour le traitement des adultes et des adolescents (âgés de 12 ans et plus et pesant au moins 40 kg) atteints de la COVID-19, qui ne nécessitent pas de supplémentation en oxygène et qui risquent d'évoluer vers une COVID-19 sévère (patients âgés, immunodéprimés ou à risque très élevé de complications). Il doit être administré, de façon précoce, dans les 5 jours suivant l'apparition des symptômes de la COVID-19. Il peut constituer une alternative au PAXLOVID. [26]

10.3. Les autres médicaments destinés à prévenir le passage en soins intensifs












Certains médicaments sont utilisés à l'hôpital pour réduire le risque d'aggravation.

- **La dexaméthasone**, un médicament de la famille de la cortisone, réduit le pourcentage de personnes hospitalisées nécessitant une admission en service de réanimation.
- **Le tocilizumab (ROACTEMRA)** est indiqué pour le traitement de la COVID-19 chez les adultes recevant de la dexaméthasone et nécessitant une supplémentation en oxygène ou une ventilation mécanique.
- **L'anakinra (KINERET)** est indiqué pour le traitement de la COVID-19 chez le patient adulte s'atteint de pneumonie nécessitant un supplément d'oxygène. [26]


11. Vaccination

Pour stopper la pandémie, les chercheurs et laboratoires du monde entier se mobilisent pour développer des vaccins efficaces contre la Covid-19. il est donc extrêmement encourageant de voir autant de vaccins en phase d'essai et de mise au point. L'OMS travaille sans relâche avec ses partenaires pour développer, fabriquer et déployer des vaccins sûrs et efficaces. [27]

Tableau 4 : Liste des vaccins fabriqués contre le SARS-CoV-2. [27]

Comparaison de certains vaccins du Covid-19				
Société	Type	Doses	Quelle efficacité	Conservation
 Oxford Uni- AstraZeneca	Vecteur viral (virus génétiquement modifié)	x2 	70.4%	2 à 8C (6 mois)
 Moderna	ARN (partie du code génétique du virus)	x2 	94.10%	-25 à 15C (7 mois)
  Pfizer- BioNTech	ARN	x2 	95%	de -80 à -60C (6 mois)
 Gamaleya (Sputnik V)	Vecteur viral	x2 	91.4%*	-18.5C (forme liquide) 2 à 8°C (forme sèche)
 Sinovac (CoronaVac)	Virus inactivé (virus affaibli)	x2 	50.4 - 78%*	2 à 8C

*données préliminaires, non encore examinées par les pairs

Source : Gouvernement britannique, Reuters 

Chapitre II :
L'enzyme non structurale
NSP13du SARS-Cov-2

1. L'hélicase

L'hélicase est une enzyme qui favorise l'ouverture de l'hélice d'ADN, la séparant en deux brins simples de sorte qu'elle puisse se répliquer. L'hélicase brise les liaisons hydrogène entre les bases azotées (purines ou pyrimidines) des deux brins d'ADN, ce qui provoque leur séparation. [4]

Les hélicases sont des protéines qui se déplacent longitudinalement le long des liaisons phosphodiester de l'acide nucléique, séparant les deux brins antiparallèles de l'acide nucléique (ADN double brin, ARN double brin ou hybride ADN-ARN) en utilisant l'énergie libérée dans l'acide nucléique par l'hydrolyse de l'ATP ou du GTP. Ils se déplacent le long de la double chaîne avec une "adressabilité" spécifique et la "processivité" de chaque enzyme particulière. Il y a beaucoup d'hélicases (14 confirmées dans *E. coli* et 24 dans les cellules humaines) en conséquence de la grande variété de processus dans lesquels la séparation des chaînes d'acide nucléique doit être catalysée. [4]

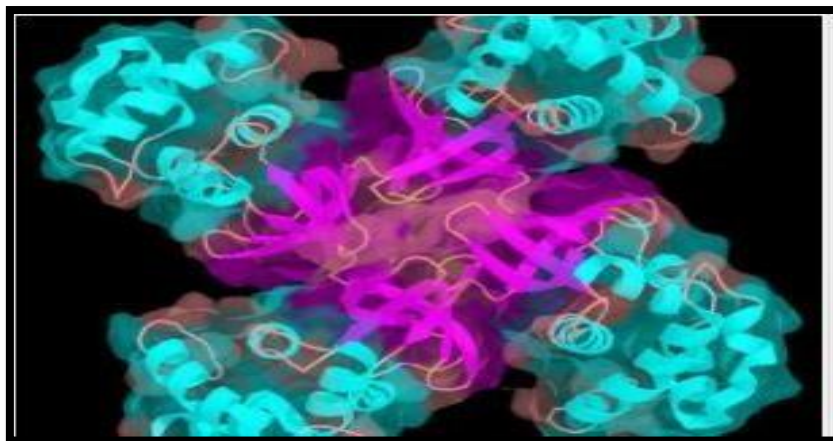


Figure 11 : L'hélicase d'*E. Coli*. [4]

2. Mode d'action

1. L'hélicase "décompresse" l'ADN en rompant les liaisons hydrogène au niveau de la fourche de réplication.
2. L'ADN topoisomérase intervient pour réguler la torsion et l'enroulement des deux brins d'ADN pour les empêcher de s'emmêler.
3. Les protéines de liaison simple brin entrent pour maintenir le brin d'ADN à part.
4. La Primase ajoute une amorce d'ARN au bout 3' du brin d'ADN, créant ainsi le côté 5' sur le nouveau brin d'ADN.
5. L'ADN polymérase III ajoute des nucléotides à l'extrémité 3' du brin d'ADN.
6. Brin principal et brin retard.

7. L'ADN polymérase I élimine entre les amorces amorce d'ARN et ajoute des nucléotides d'ADN complémentaires.
8. La ligase permet de refermer les trous entre les brins d'ADN. [28]

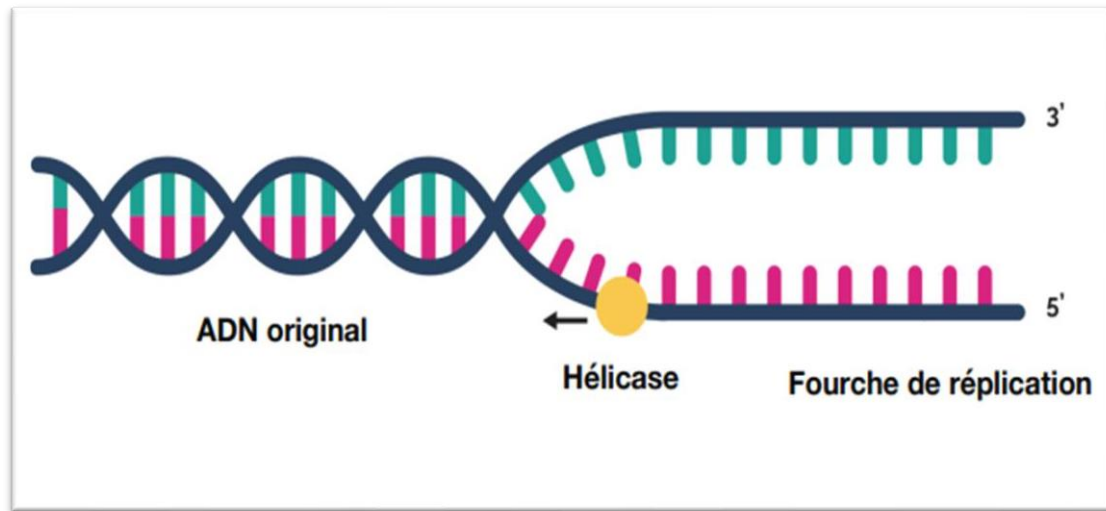


Figure 12 : Schéma général de la réplication de l'ADN. [28]

3. Cas du virus SARS-COV2

Le virus SRAS (SARS-COV, coronavirus syndrome respiratoire aigu sévère) semble avoir une hélicase, connue sous le nom de nsp13 (en dehors de la protéine 13'), qui a le même effet sur l'ARN. Cette hélicase utilise non seulement l'ATP comme source d'énergie, mais également d'autres nucléotides et désoxynucléotides. Nsp13 est impliqué, entre autres choses, au début de l'infection.

Les types sont :

- ADN-B hélicase : c'est une enzyme qui sépare les deux brins lors de la duplication de l'ADN.
- REC-Q helicases : c'est un groupe d'enzymes qui déroule la double spirale de l'ADN

L'absence de ces enzymes (causée par une anomalie génétique) est la cause du syndrome de Werner, où un individu vieillit deux fois plus vite que la normale (progéria adulte). D'autres conditions causées par l'absence de ces enzymes sont :

- Syndrome de bloom : survient lorsque les deux gènes BLM ne fonctionnent pas. La mutation du gène en question survient chez 1 juif sur 120 d'origine est-européenne.
- Syndrome de Rothmund-Thompson (poïkiloderme congénital) : survient lorsque les deux gènes RECQ4 ne fonctionnent pas. C'est un problème de peau, où la peau est mince et

hypersensible à la lumière et a un risque accru de cancer de la peau. Une cataracte (une maladie de l'œil) se développe également à un jeune âge. [4]

4. Propriétés physico-chimiques de NSP 13

Tableau 05 : Les propriétés physico-chimiques de l'NSP 13. [29]

<i>Propriétés physico-chimiques</i>	<i>L'NSP 13 du SARS-COV2</i>
Le poids moléculaire (KDa)	66 ,85
Nombre d'acides aminés	601
Le totale des résidus avec charge positive (Lys +Arg)	64
Le totale des résidus avec charge négative (Glu+ASP)	52
Demi-vie	4H (in vitro) >20H (in vivo)

5. Les inhibiteurs de l'NSP 13

Le caractère essentiel de l'enzyme hélicase Nsp13 dans tous les coronavirus ont permis de cibler cette enzyme pour le développement de médicaments antiviraux. [30]

5.1 Les inhibiteurs naturels

Des études récentes ont identifié la *myricétine* et la *scutellaréine* comme nouveaux inhibiteurs chimiques de l'hélicase nsp 13 du SARS-CoV. Ils ont étudié les effets inhibiteurs de 64 composés naturels purifiés sur l'activité de l'hélicase du SRAS, nsP13, en effectuant un test de déroulement d'ADN double brin basé sur le transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET) ou en utilisant un test d'hydrolyse de l'ATP basé sur la colorimétrie. On a constaté que la *myricétine* et la *scutellaréine* inhibent fortement l'hélicase du SRAS-CoV2 in vitro en affectant l'activité ATPase, mais pas l'activité de déroulement. Une démonstration pour la première fois que certains flavonoïdes naturels, pourraient servir d'inhibiteurs chimiques du SARS-CoV2. [31]

5.2 Les inhibiteurs chimiques

Les différentes approches de l'inhibition de l'activité nsp13 sont ; le ciblage de la liaison à l'ATP ou de l'activité directe de la NTPase, le blocage de la liaison des acides nucléiques à l'hélicase et le blocage de la translocation de l'hélicase. Plusieurs composés ont été rapportés comme inhibiteurs de Nsp13 ; benzotriazole, imidazole, imidazodiazépine,

Phénothiazine, quinoléine, triphénylméthane, pyrrole, acridone, petits peptides et dérivés de la bananine.

Tous constituent de nouveaux agents potentiels pour le traitement du SRAS-CoV-2, Par exemple, les bananines inhibent l'activité de l'ATPase du SARS-Cov2, ce qui entraîne l'inhibition de la réplication virale. [30]

Chapitre III :
Docking moléculaire

1. Docking moléculaire (amarrage moléculaire)

Le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français), *in silico* vise à prédire la structure et l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation d'un complexe moléculaire « ligand-protéine » ou « protéine-protéine », à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*. Le Docking moléculaire permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie. [32]

Le Docking décrit un processus dans lequel une molécule (ligand) est placée dans le site actif d'une protéine cible dans un espace tridimensionnel (3D). Deux aspects sont importants : la prédiction de l'affinité du complexe [ligand- protéine], et la prédiction de la position correcte du ligand dans le site actif de la protéine. La prédiction d'affinité est liée à différents ligands de la collection, certains conviennent mieux que d'autres. La prédiction de position est liée à la même molécule de ligand mais dans des orientations différentes. [33], [34]

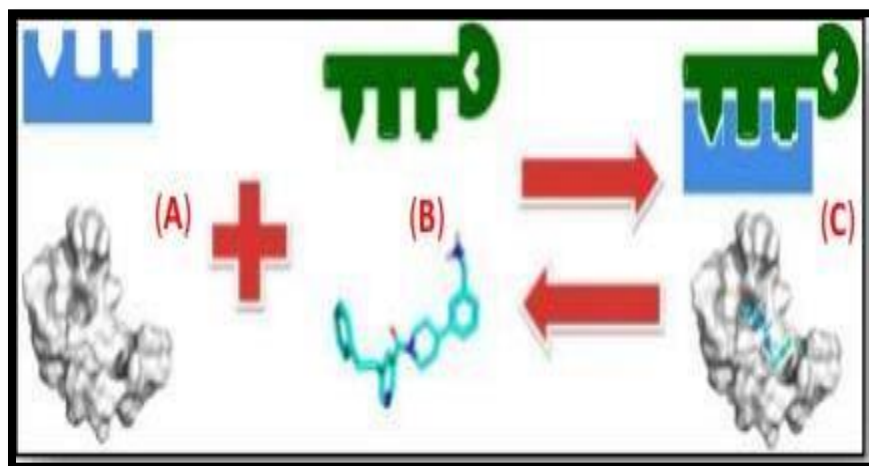


Figure 13 : Représentation schématique du Docking de deux molécules. (A) protéine. (B) Ligand. (C) Complexe moléculaire. [35]

2. Criblage virtuel

Lorsqu'au moins un ligand de la cible étudiée est connu, un criblage virtuel basé sur les ligands ou « ligand-based » peut être mis en œuvre. Le principe de base commun à toutes les

méthodes basées sur les ligands est que des molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activité similaires. [36]

La similarité des molécules peut se mesurer par recherche de propriétés communes, qui seront utilisées comme descripteurs de similarité. En fonction du nombre de ligands de référence pour la cible et du type de descripteurs, différentes méthodes peuvent être employées : la recherche de similarité, le criblage à l'aide de pharmacophore et les méthodes QSAR. [37]

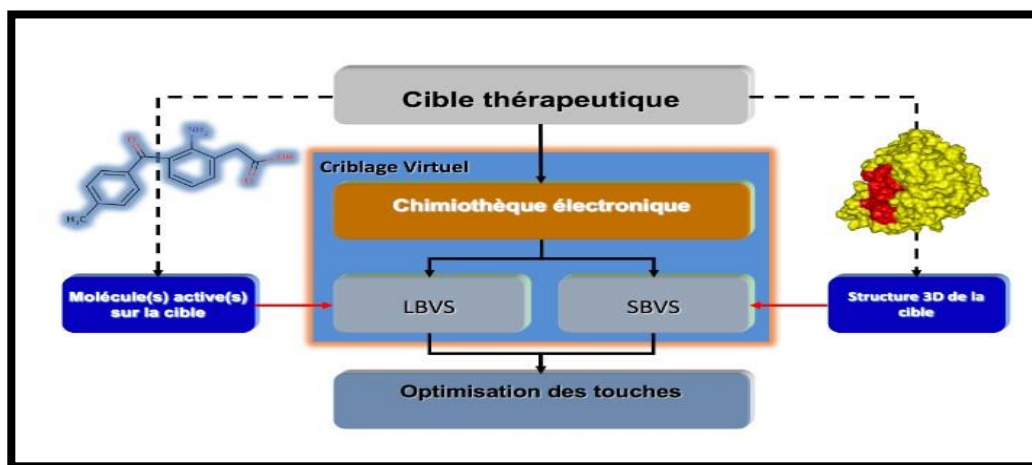


Figure14 : Les deux grandes stratégies du criblage virtuel (LBVS et SBVS). [37]

3. Le processus du Docking

Le processus de Docking consiste à faire interagir une petite molécule organique avec le récepteur, généralement de nature protéique. La technique de Docking comprend 4 étapes principales :

1. Préparer les fichiers pour la protéine.
2. Préparer les fichiers pour le ligand.
3. Préparer les fichiers de paramètres pour la grille.
4. Préparer les fichiers de paramètres pour le Docking. [38]

Les éléments indispensables pour pratiquer un Docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique appelée « cible », une petite molécule appelée ligand et un programme de Docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi. [39]

3.1. Les récepteurs

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB « Protein Data Bank ». [39]

3.2. Les ligands

Ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. [40]

En Docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules. [41]

3.3. Le Docking Ligand-Protéine

Ce Docking nécessite une grande molécule (la protéine est aussi appelée « le récepteur ») et une petite molécule (le ligand) et il est un très utile dans le développement de médicaments.

Ce problème ressemble à la situation de « la clé dans la serrure », quand le ligand est Amarré dans la cavité de la protéine. [42]

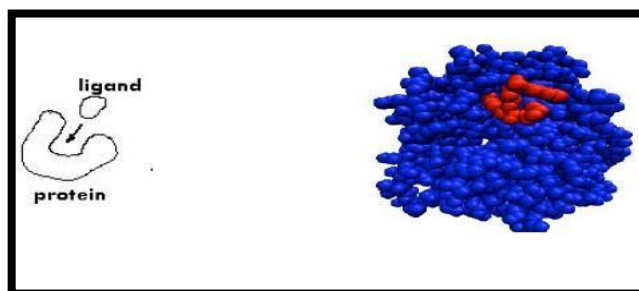


Figure 15 : Le docking ligand protéin. [42]

4. La reconnaissance moléculaire

4.1. Les interactions de Van der Waals

Les interactions de Van der Waals (VdW), également connues sous le nom d'interactions de London ou de forces de dispersion, impliquent des dipôles instantanés. Contrairement aux interactions dipolaires décrites auparavant, les interactions de VdW n'impliquent pas de dipôle permanent. [43]

Les interactions de VdW sont de faible intensité (ordre de grandeur du kcal.mol^{-1}) de distance entre 3 à 4 Å, mais elles sont néanmoins très importantes en pratique à cause de leur très grand nombre, les interactions de VdW sont essentiellement responsables de la complémentarité stérique lors d'un phénomène de liaison. [43]

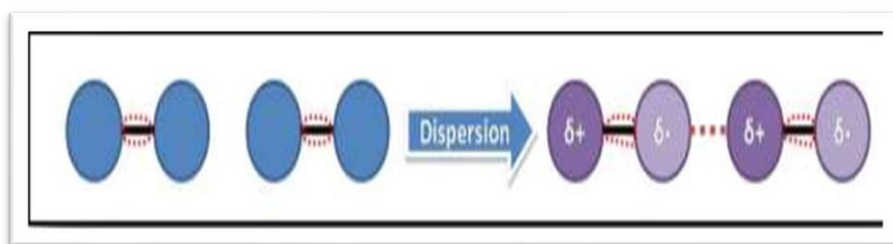


Figure16 : Interactions de London. [35]

4.2. Les liaisons ioniques

Les liaisons ioniques ou ponts salins concernent les fortes interactions électrostatiques attractives entre charges de signe opposé. La distance entre les centres chargés doit être inférieure à 4,0-4,5 Å environ pour que l'on considère l'interaction électrostatique comme une liaison ionique en tant que telle. Bien qu'elle soit plus faible que celle d'une liaison covalente, l'énergie d'une liaison ionique reste très importante pour une interaction non covalente (de l'ordre de 10 kcal.mol^{-1}). [44]

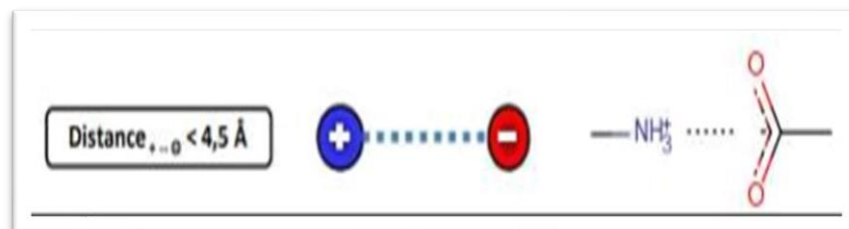


Figure17 : La liaison ionique. [35]

4.2. Les liaisons hydrogènes

Les liaisons hydrogène (LH) sont des interactions d'origine électrostatique entre un atome électronégatif dit "accepteur" (A porteur d'une charge partielle δ^-) et un atome d'hydrogène polaire (H porteur d'une charge partielle δ^+) qui est lié de manière covalente à un atome électronégatif dit "donneur" (D porteur d'une charge partielle δ^-). [45]

Les atomes d'oxygène et d'azote sont les donneurs et accepteurs les plus courants dans notre contexte d'intérêt. Une distance faible entre le donneur et l'accepteur est nécessaire pour qu'une LH soit significative (0,8 à 2,8 Å), et son énergie est maximale (de l'ordre de 5 kcal.mol⁻¹). [46]

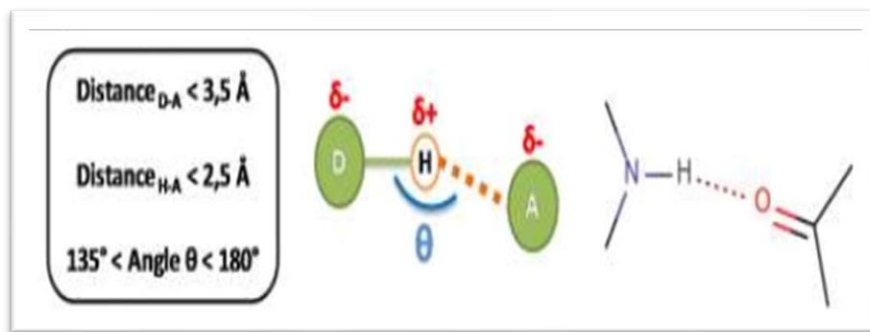


Figure18 : La liaison hydrogène. [35]

4.3. L'effet hydrophobe

Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à se regrouper, ce qui crée une force de liaison hydrophobe. Les groupements vont se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'eau. Les groupements vont donc s'attirer mutuellement par des forces de type dispersion. [43]

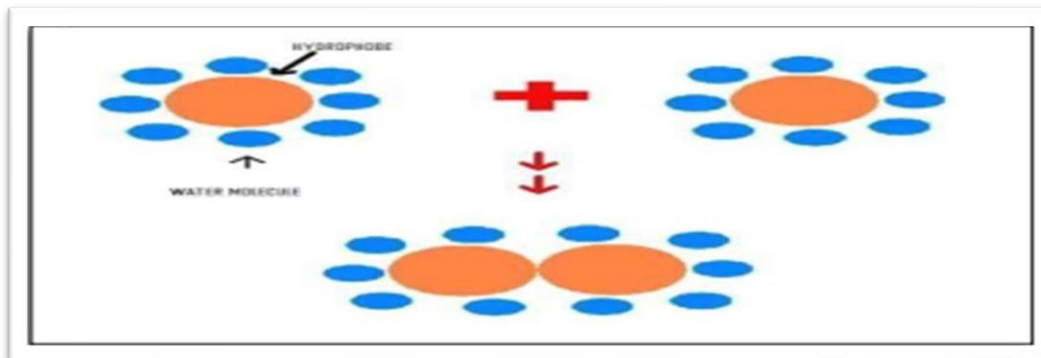


Figure19 : schéma représentatif de l'effet hydrophobe. [43]

Partie pratique :
Matériels et Méthodes

I. Matériels et Méthodes

1. Introduction

Le Docking moléculaire est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable.

Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduire les essais expérimentaux [47]. Le Docking moléculaire se déroule en plusieurs étapes :

- Préparation des ligands.
- Préparation de protéine.
- Positionner le ligand dans le site actif choisi de la protéine.
- Evaluation des interactions entre le ligand et la protéine.

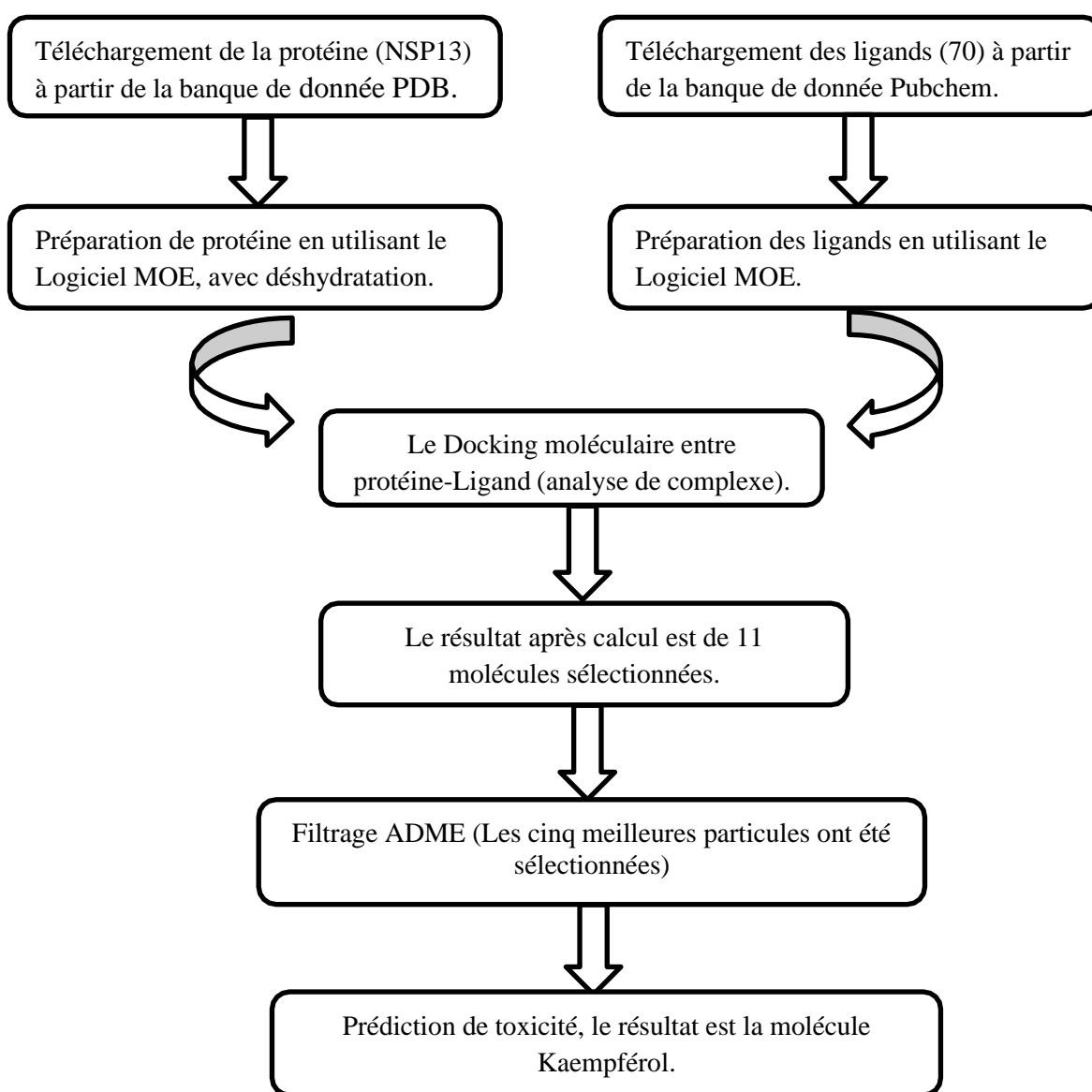


Figure20 : Protocole général de calcul.

2. Matériels

2.1. Microordinateur

Dans cette étude, nous avons utilisé deux types de micro-ordinateurs de marque (Lenovo et Acer), ayant les caractères suivants :

Tableau06 : Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques.

	Micro-ordinateur1			Micro-ordinateur2		
Mémoire (RAM)	8.00 GB			2.00 GB		
Type du système	Système d'exploitation 64 bits			Système d'exploitation 32 bits		
Processeur	Intel(R) Core(TM) i5-6300U CPU @ 2.40 GHz 2.50 GHz			Intel(R) celeron(R) N28302, 16GHz 2. 16GHz		
Système d'exploitation	Microsoft	Windows	10	Microsoft	Windows	7
	Professionnel			professionnel		

2.2. Logiciel utilisé

- **MOE (Molecular Operating Environment)**

L'environnement d'exploitation moléculaire (MOE) est une plate-forme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation et la simulation, ainsi que le développement de méthodes dans un seul package. Il s'agit d'un système logiciel complet développé par le Chemical Computing Group. Les applications scientifiques du MOE sont utilisées par les biologistes, les chimistes médicaux et les chimistes computationnels dans la recherche pharmaceutique, biotechnologique et universitaire. Les principaux domaines d'application de MOE comprennent les applications de chimie médicinale, les applications biologiques, la modélisation des protéines et des anticorps, la modélisation et la simulation moléculaires [48], MOE permet de docker un ou plusieurs ligands dans le site actif d'une protéine.

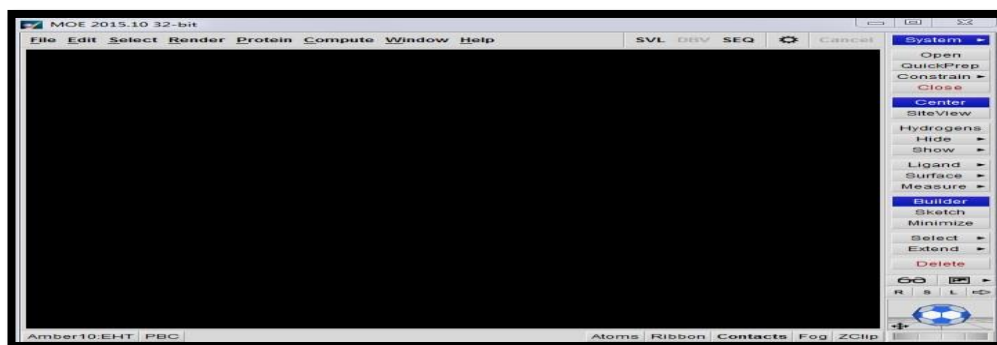


Figure 21 : La fenêtre de logiciel MOE.

- Les banques de données

- La banque de données protéiques PDB (Protein Data Bank)

La Protein Data Bank (PDB ; <http://www.rcsb.org/pdb/>) est la seule archive mondiale de données structurales de macromolécules biologiques. Cet article décrit les objectifs de PDB, les systèmes en place pour le dépôt et l'accès aux données, la manière d'obtenir des informations supplémentaires et les plans à court terme pour le développement futur de la ressource. [49]

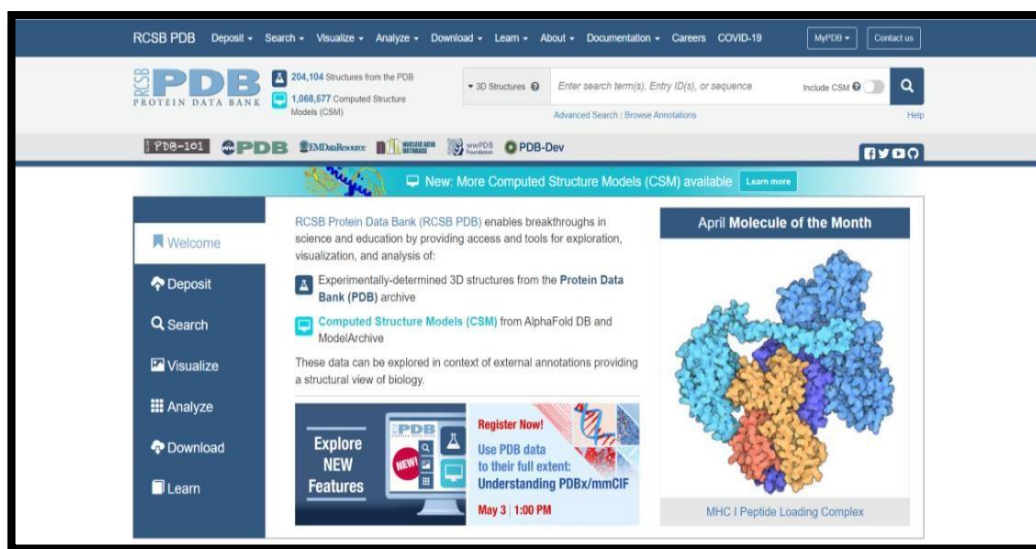


Figure 22 : L'interface graphique du site web de base de données PDB.

- Pubchem

Banque de données américaine des molécules chimiques, elle est gérée par NCBI (le National Center for Biotechnology Information). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux du ligand utilisé dans cette étude. [50]

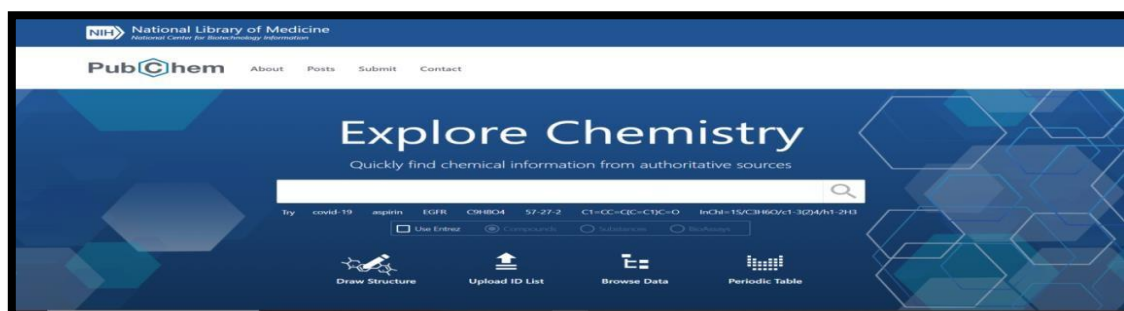


Figure 23 : L'interface graphique du site web de Pubchem.

- Les Serveurs en ligne

- Suisse ADME

Ce site Web vous permet de calculer des descripteurs physicochimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la compatibilité avec la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments. [51]

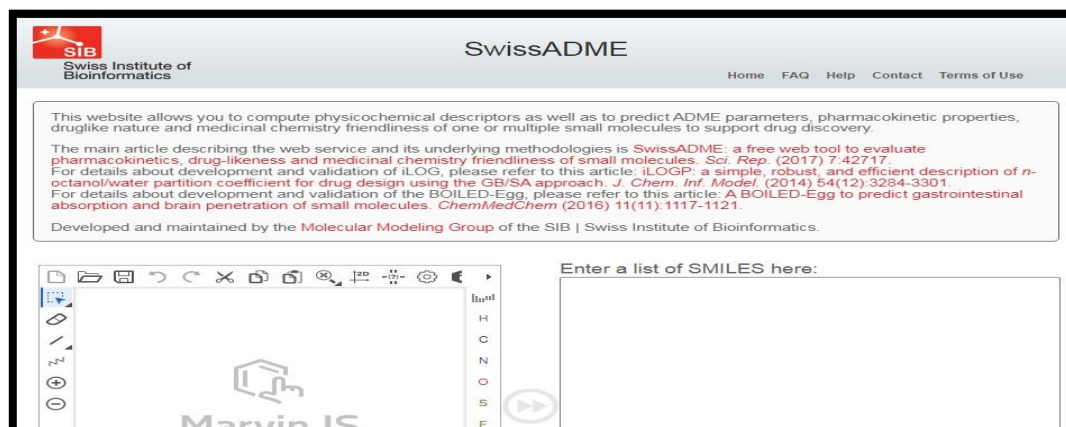


Figure 24 : Page d'accueil du serveur SwissADME.

- ProTox-II

ProTox-II, un laboratoire virtuel pour la prédiction des toxicités des petites molécules. La prédiction des toxicités des composés est une partie importante du processus de développement de la conception des médicaments. Les estimations computationnelles de la toxicité sont non seulement plus rapides que la détermination des doses toxiques chez les animaux, mais peuvent également aider à réduire le nombre d'expérimentations animales. [52]

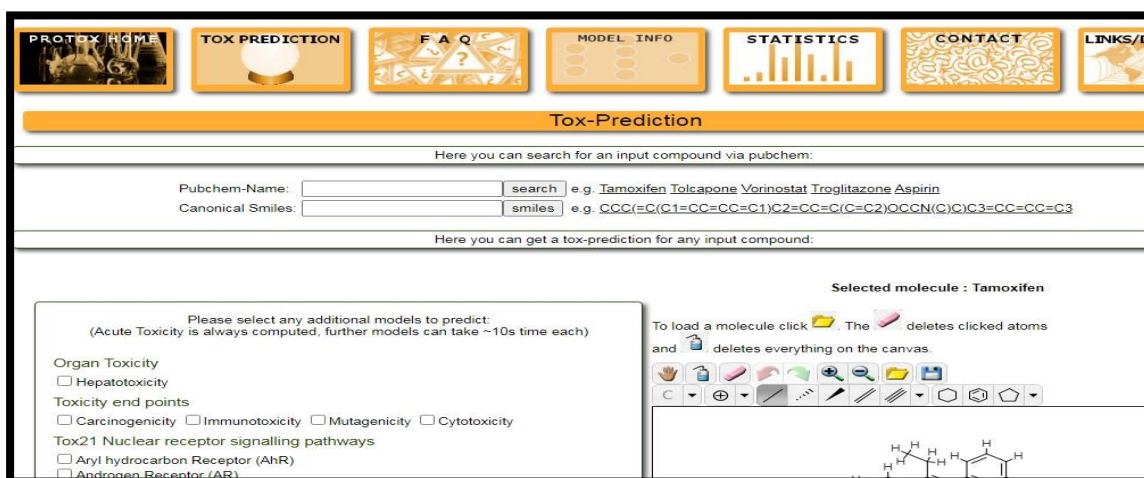


Figure 25 : Page d'accueil de serveur ProTox-II.

3. Méthodologie de calculs

3.1. Préparation de protéine

La protéine est le récepteur auquel le ligand va se lier et effectuer le processus de Docking. Dans notre travail, nous avons utilisé la protéine NSP13, que nous avons téléchargée à partir de la base de données PDB (Protein Data Bank) sous le code 5RLJ, nous avons ouvert la protéine dans le programme MOE, Les étapes de préparation de protéine sont les suivantes :

- On annule la chaîne A et on laisse la chaîne B attachée à la molécule de référence VW4.
- Eliminer les molécules d'eau (Déshydratation) et les cofacteurs,
- Ajouter les molécules d'hydrogène
- Minimiser son énergie

Après avoir terminé la préparation de protéine, on a séparé le site actif de Docking (ligand Pocket).

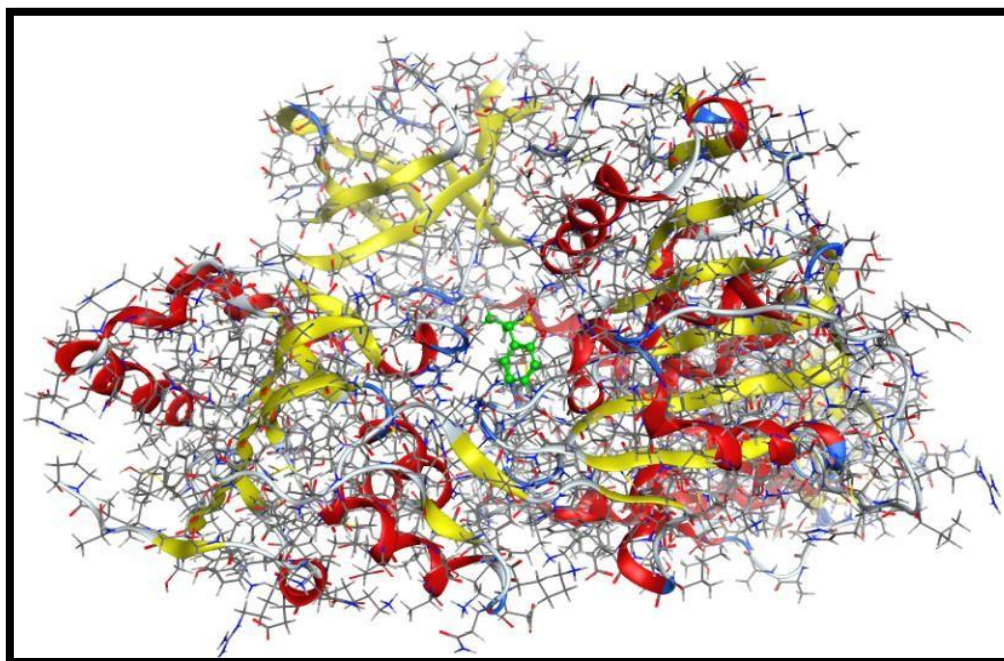


Figure 26 : La structure 3D de l'NSP13.

3.2. Préparation de ligands

Pour notre étude nous avons sélectionné l'hélicase "nsp13" comme cible, Soixante-dix composés bioactifs provenant de différentes sources végétales rassemblés à partir d'une base de données publique et d'articles de recherche. [53, 54, 55] Les étapes de préparation des ligands sont les suivantes :

- Ajouter les molécules d'hydrogène
- Correction de la charge partielle des atomes constituée le récepteur
- Minimisations d'énergie

Donc, après la préparation, les ligands sont prêts pour le processus de Docking.

Tableau 07 : Les soixante-dix ligands préparés.

N° des ligands	Ligands	N° des ligands	Ligands
1	6-Shogaol	15	Cyanidine
2	α -Zingiberène	16	Aloïne
3	Apigénine	17	Décursinol
4	Acide basique	18	L'acide ellagique
5	Zingibérène	19	Émodine
6	L'acide linoléique	20	Épicatéchine
7	Berbérine	21	Épigallocatechine
8	L'acide chlorogénique	22	Ériodyctiol
9	Chrysine	23	Étoposide
10	Colchicine	24	Eugénol
11	Corydine	25	Fiséatine
12	Crocétine	26	Genkwanin
13	Curcumine	27	Ginkgetin
14	Curdione	28	Isorhamnetin
29	Kaempférol	50	Hécogénine
30	Licochalcone A	51	Acide gallique
31	Lutéoline	52	Catéchine

32	Hispiduline	53	Naringine
33	Nectandrine B	54	Capsaïcine
34	Niaziminine	55	Psychotrine
35	Nimbolide	56	Acide sarginique
36	Acide oléanolique	57	Plicamine
37	Panaxadiol	58	Narciclasine
38	Panaxatriol	59	Hydroxyjasmonic acid
39	Plumbagin	60	Lycoricidine
40	Podophyllotoxine	61	acide caféique
41	Quercétine	62	Cordioside
42	Salvicine	63	acide coumarique
43	Silibinine	64	Acide caftarique
44	Tétrandrine	65	Menthol
45	Théaflavine	66	acide férulique
46	Tylophorine	67	acide rosmarinique
47	Acide ursolique	68	acide sinapique
48	Withaférine A	69	Acide caféique
49	Yuanhuanin	70	Chrysophanol

3.3. Le Docking Moléculaire

Le processus de Docking est l'une des choses les plus courantes dans la fabrication de médicaments il facilite les essais expérimentaux, Le Docking moléculaire a été réalisé en utilisant le logiciel MOE qui permet d'avoir la meilleure position de chaque ligand dans le site actif étudié classés par leur score d'affinité, RMSD et les acides aminés clés associés à la cible, il y a 2 étapes de Docking :

- Nous devons d'abord docker la molécule de référence pour la prendre comme référence.
- Docker les 70 ligands dans le site actif (ligand Pocket) : le Docking moléculaire, nous permet de générer la meilleure position de chaque ligand étudié au sein du site actif, selon leur (RMSD, score, et les interactions avec acides aminés clés). Une fois que le complexe ligand- récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est-à-dire avec le niveau énergétique le plus faible. Les résultats dans le tableau 8.

Résultats et discussion

I. Résultats et discussion

1. Résultat de Docking

Par le procédé de Docking parmi 70 molécules, nous avons sélectionné 11 molécules qui sont les meilleurs sur les trois conditions (Score, RMSD, les interactions avec les acides aminés clés).

Tableau 08 : Les résultats de Docking.

N°	Ligands	Score	RMSD
1	6-Shogaol	-5.87	0.98
2	α -Zingiberène	-5.39	1.18
3	Apigénine	-5.11	1.9
4	Acide basique	-7.1	1.36
5	Zingibérène	-5.27	1.21
6	L'acide linoléique	-6.75	2.12
7	Berbérine	-5.47	1.19
8	chlorogénique L'acide	-6.36	2.62
9	Chrysine	-5.19	3.01
10	Colchicine	-6.48	1.55
11	Corydine	-5.66	1.52
12	Crocétine	-6.42	2.66
13	Curcumine	-7.03	1.39
14	Curdione	-5.17	1.31
15	Cyanidine	-5.69	4.06
16	Aloïne	-6.59	1.48
17	Décursinol	-5.01	1.09
18	L'acide ellagique	-5.71	1.46
19	Émodine	-5.25	1.03
20	Epicatéchine	-5.38	1.2
21	Épigallocatechine	-5.46	1.08
22	Ériodyctiol	-5.31	2.03
23	Étoposide	-7.24	1.46
24	Eugénol	-4.36	1.5
25	Fisétine	-5.43	0.91

26	Genkwanin	-5.2492	1.49
27	Ginkgetin	-7.28	2.14
28	Isorhamnetin	-5.46	2.02
29	Kaempférol	-5.76	1.9
30	Licochalcone A	-6.13	1.69
31	Lutéoline	-5.3437	1.48
32	Hispiduline	-6.16	3.11
33	Nectandrine B	-6.33	0.91
34	Niaziminine	-7.0188	1.78
35	Nimbolide	-6,28	1.33
36	Acide oléanolique	-6.6679	0.9603
37	Panaxadiol	-6.4121	1.0381
38	Panaxatriol	-6.336	2.2839
39	Plumbagin	-5.2104	1.3614
40	Podophyllotoxine	-6.5141	1.3092
41	Quercétine	-5.9195	1.3529
42	Salvicine	-6.015	1.5498
43	Silibinine	-7.1324	2.7976
44	Tétrandrine	-6.9014	1.9995
45	Théaflavine	-7.7757	1.2988
46	Tylophorine	-5.9883	0.8533
47	Acide ursolique	-6.3654	1.2022
48	Withaférine A	-7.0104	1.0083
49	Yuanhuanin	-7.0748	2.7962
50	Hécogénine	-6.6436	1.6953
51	Acide gallique	-5.0788	1.445
52	Catéchine	-5.5339	1.7511
53	Naringine	-8.0807	1.2134
54	Capsaïcine	-6.0947	1.3271
55	Psychotrine	-6.6272	1.4850
56	Acide sarginique	-5.6746	2,5733
57	Plicamine	-6.8907	1.2683
58	Narciclasine	-6.1617	0.9049

59	Hydroxyjasmonic acid	-4.2341	1.9854
60	Lycoricidine	-5.1702	1.3689
61	acide caféique	-4.5624	0.8731
62	Cordioside	-6.0723	1.1706
63	acide coumarique	-5.0697	2.1706
64	Acide caftarique	-4.6783	0.7464
65	Menthol	-4.5819	0.8835
66	acide férulique	-5.2102	1.0729
67	acide rosmarinique	-6.2289	1.8278
68	acide sinapique	-5.2845	0.9187
69	Acide caféique	-4.8695	1.4533
70	Chrysophnol	-5.1327	1.7050

Nous avons sélectionné 11 molécules qui présentent l'énergie de score et la valeur RMSD les plus bas par rapport aux autres ligands et le ligand de référence, avec interactions aux les acides aminés clés (His 290, Lys 320), ceci montre que ces complexes sont plus stables.

2. Les interactions de 2D, 3D des ligans dans le site actif

2.1.L'acide chlorogénique :

Numéro 8, Score : -6.36, RMSD : 2,62

Interaction de ligand : his 290, lys320, arg443, gly285, lys288, gly287, ser289

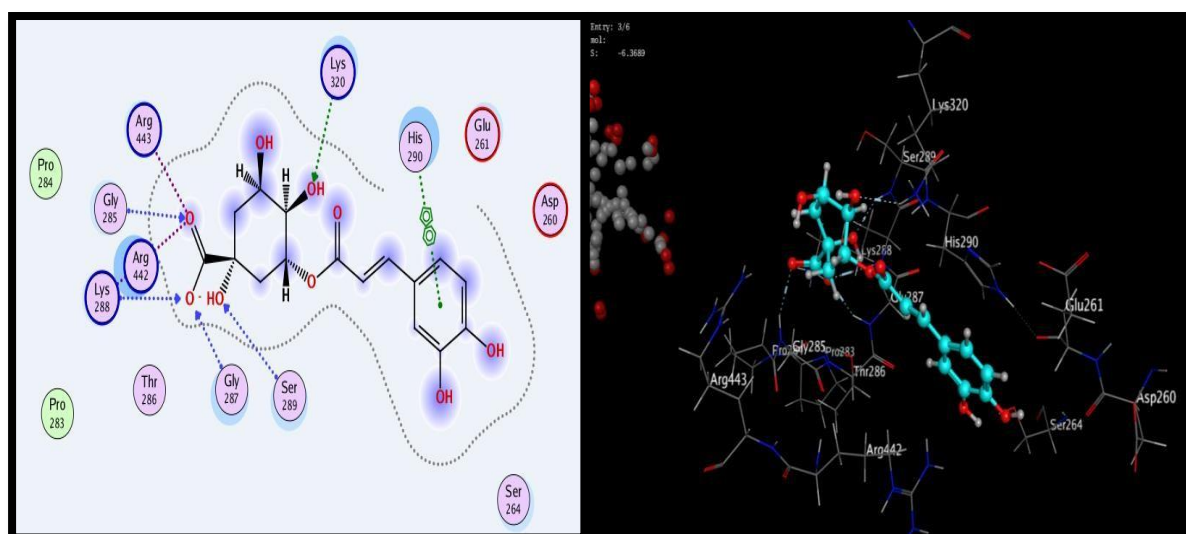


Figure 27 : Les interactions de L'acide chlorogénique dans le site actif.

2.2. Aloïne

Numéro 16

Score : -6,59

RMSD : 1,48

Interaction de ligand : his290, lys320, asn265, ser264, thr286

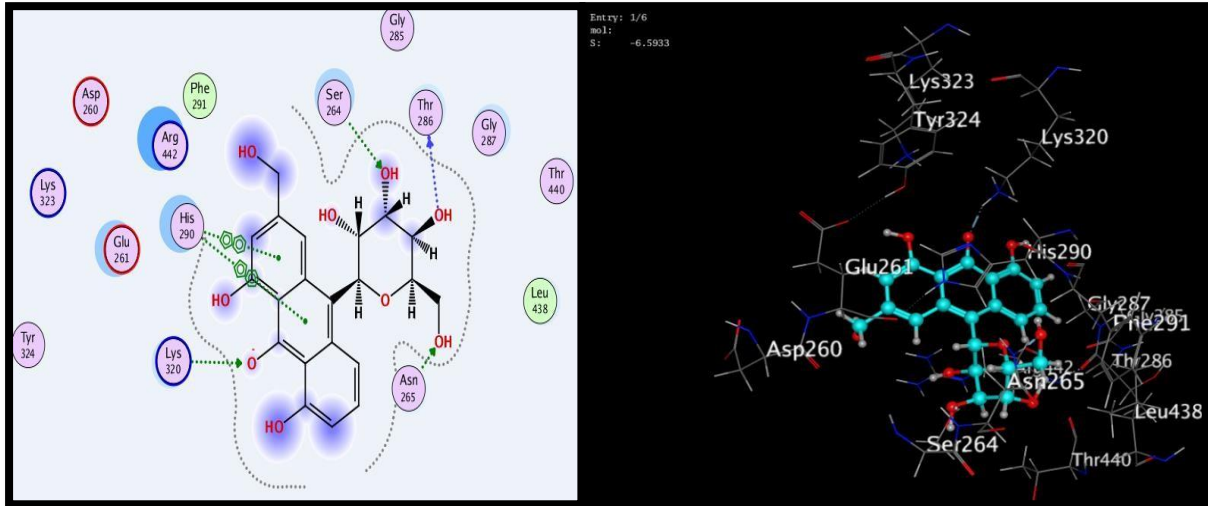


Figure 28 : Les interactions de L'aloïne dans le site actif.

2.3. Décursinol

Numéro 17,

Score : -5,01,

RMSD : 1,09

Interaction de ligand : his290, lys320, ser264, lys323

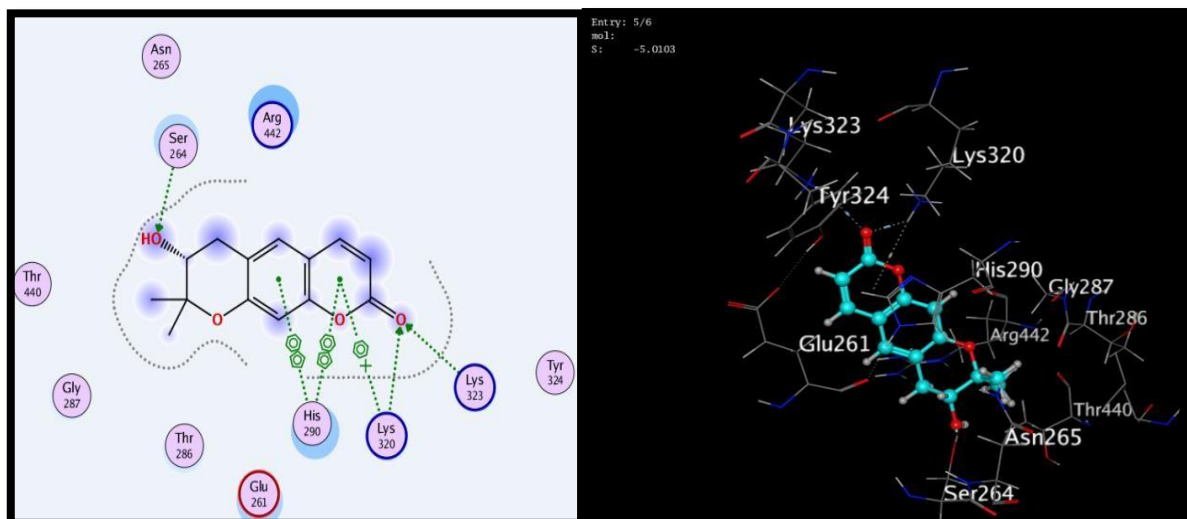


Figure 29 : Les interactions de Décursinol dans le site actif.

2.4. Isorhamnetin

Numéro 28

Score : -5,46

RMSD : 2,02

Interactions de ligand : His 290, lys 320

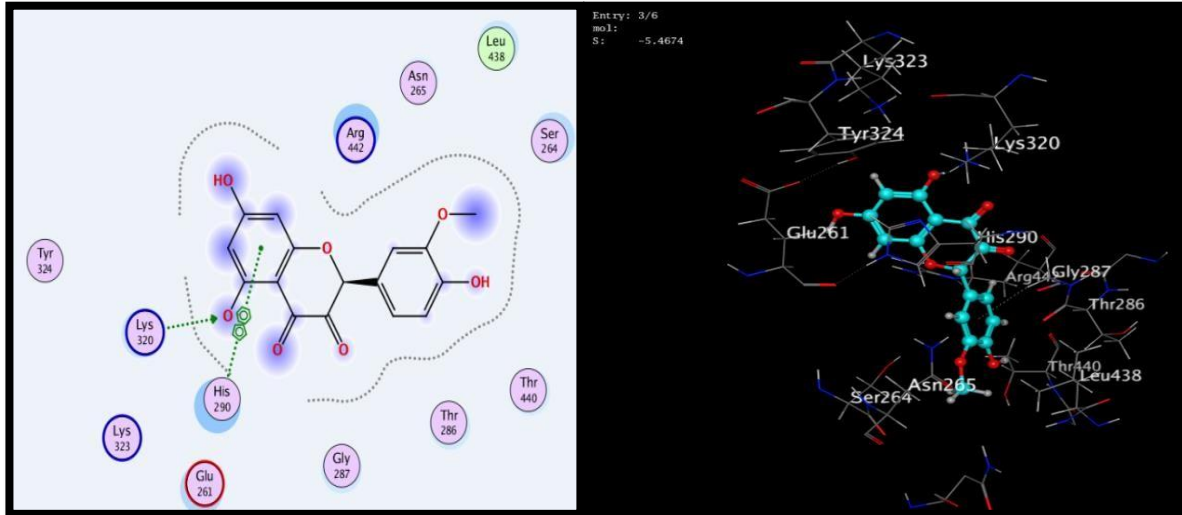


Figure 30 : Interaction de l'isorhamnetin dans le site actif.

2.5. Kaempférol

Numéro 29

Score : -5,76

RMSD : 1,9

Interaction de ligand : his290, lys 320, ser289, gly287, lys288, gly538

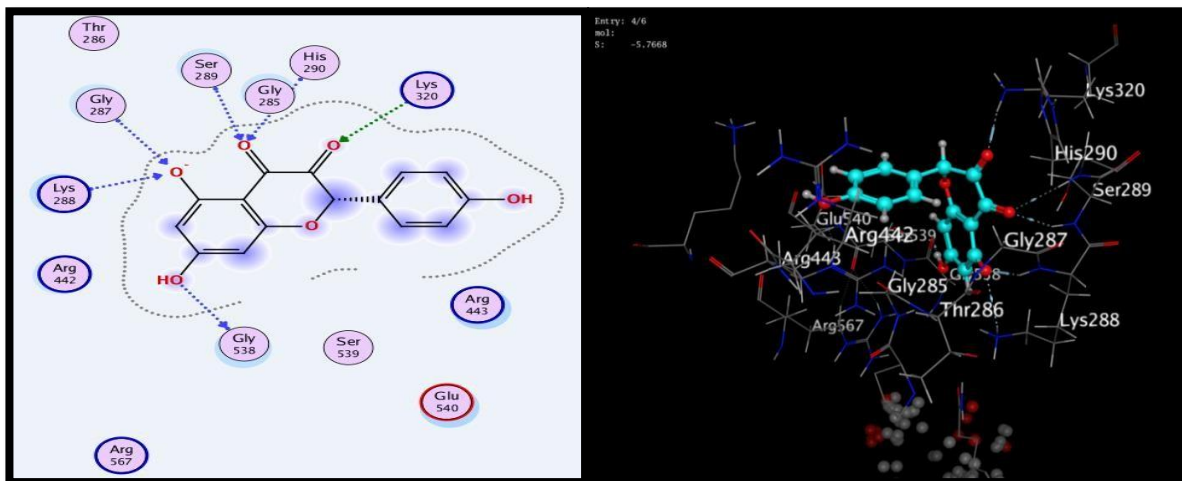


Figure 31 : Interaction de Kaempférol dans le site actif.

2.6. Nimbolide

Numéro 35

Score : -7,0188

RMSD: 1,33

Interaction de ligand : his290, lys320, arg442

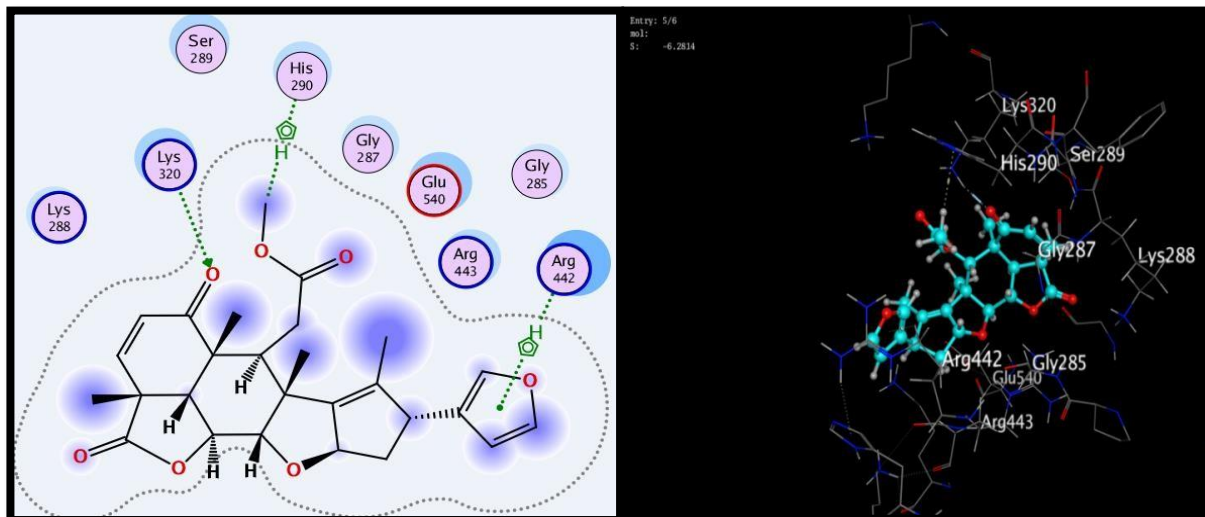


Figure32 : Interaction de Nimbolide dans le site actif.

2.7. Quercétine

Numéro 41

Score : -5,9195

RMSD : 1,35

Interaction de ligand : his290, lys320, lys288, gly287, gly538, ser289, ser539, glu540

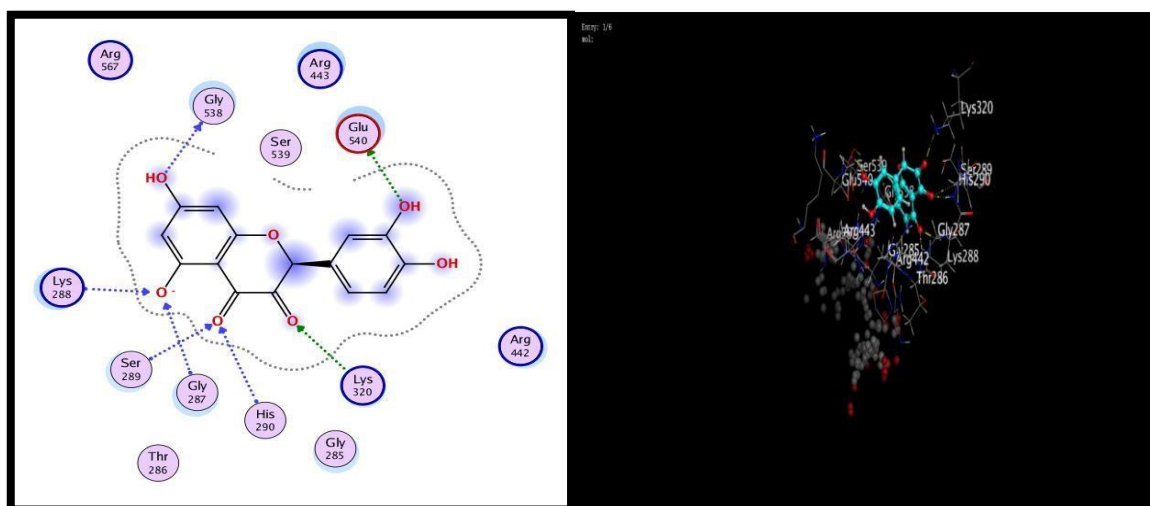


Figure33 : Les interactions de Quercétine dans le site actif.

2.8. Yuanhuanin

Numéro 49

Score : -7,07

RMSD : 2,79

Interaction de ligand : his290, lys320, gly287

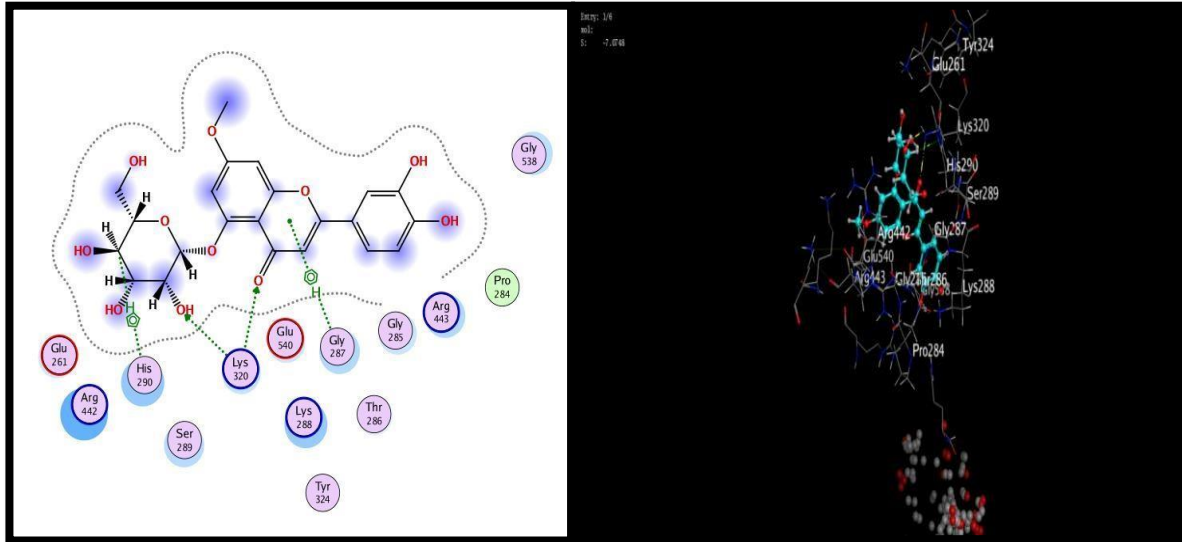


Figure34 : Les interactions de Yuanhuanin dans le site actif.

2.9. Naringine

Numéro 53

Score : -8,08

RMSD : 1,21

Interaction de ligand : his290, lys320, arg443, thr286, asn265

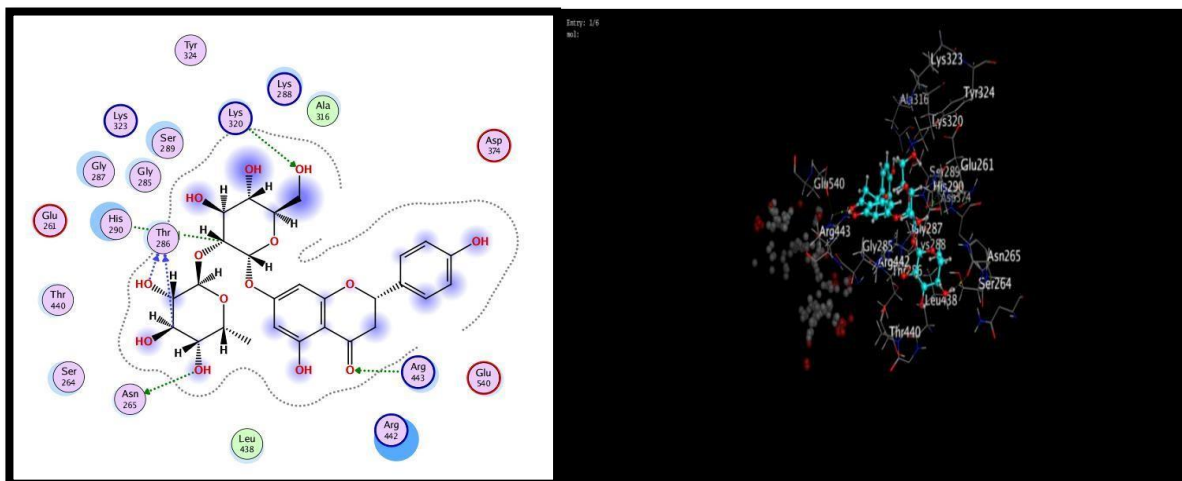


Figure 35 : Les interactions de Naringine dans le site actif.

2.10. Acide rosmarinique

Numéro 67

Score : -6,22

RMSD : 1,82

Interaction de ligand : lys320

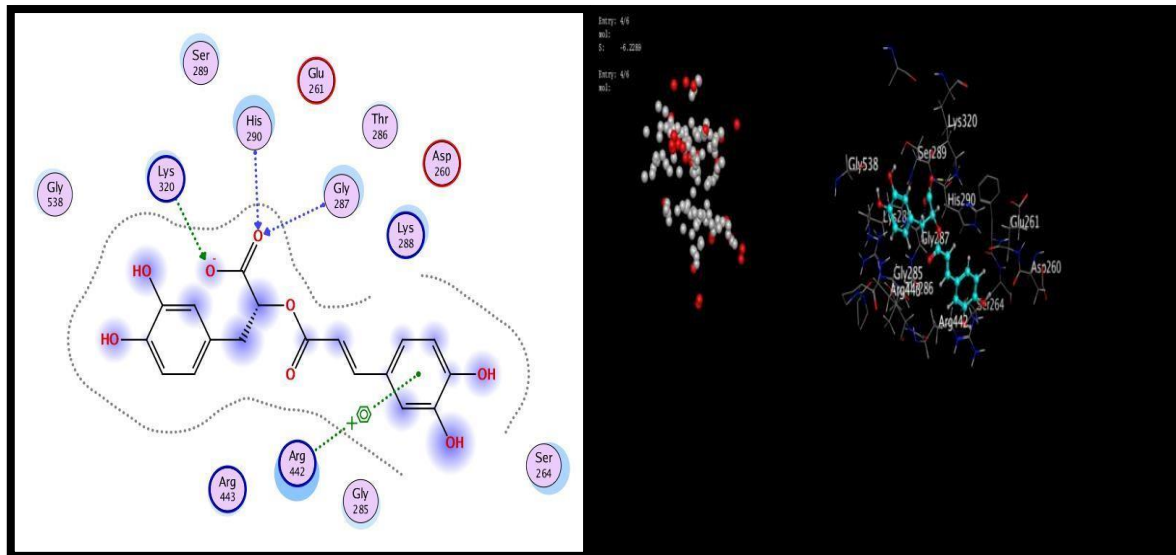


Figure 36 : Les interactions de L'acide rosmarinique dans le site actif.

2.11. Chrysophanol

Numéro 70

Score : -5,13

RMSD : 1,70

Interaction de ligand : his290, lys320, lys323, arg442

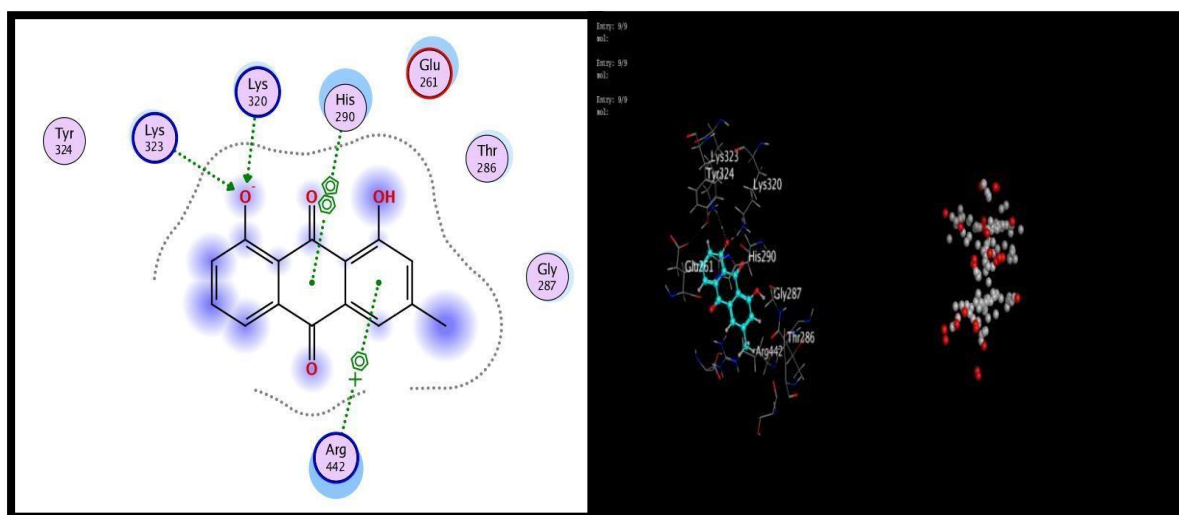


Figure37 : Les interactions de Chrysophanol dans le site actif.

3. Filtrage ADME

Chaque médicament est caractérisé par différents critères tels que (la stabilité, la solubilité....) mais les plus importants d'entre eux sont les propriétés pharmacologiques (Absorption, distribution, métabolisme, excrétion) et chacune de ces caractéristiques est soumise à la règle de 5, nous avons inséré les 11 molécules obtenues à partir du résultat de docking dans le serveur en ligne SwisseADME, et le résultat du calcul était de 5 molécules ou bien ligand sur 11, ou chaque ligand maintient au moins 3 conditions de la règle de Lipinski représentées dans :

- Un poids moléculaire maximum de 500g/mol
- Un coefficient de partition (logP) ou une lipophile ≤ 5
- Le nombre de donneur de liaisons Hydrogène un maximum ≤ 5
- Le nombre d'accepteur de liaisons Hydrogène un maximum ≤ 10
- Nombre de fonctions rotatives (flexible et linéaire) ≤ 15

Tableau 09 : Les résultats de filtrage d'ADME.

Numéro de ligand	Ligand	Score	PM(g/mol) (<500)	LogP (<5)	NOH.NH (<5)	nH.N (<10)	Nrotb (<15)
8	Chlorogenic acid	-6,3689	354,31	0,87	6	9	5
16	Aloin	-6,5933	418,39	1,40	7	9	3
17	Decursinol	-5,0103	246,26	2,36	1	4	0
28	Isorhamnetin	-5,4674	316,26	2,35	4	7	2
29	Kaempferol	-5,7668	286,24	1,70	4	6	1
35	Nimbolide	-6,2814	466,52	3,51	0	7	4
41	Quercetin	-5.9195	302.24	1.63	5	7	1
49	Yuanhuanin	-7.0748	462.40	2.25	6	11	5
53	Naringin	-8.0807	580.53	1.96	8	14	6
67	Rosmarinic ac	-6.2289	360.31	1.17	5	8	7
70	Chrysophanol	-5.1327	254.24	2.22	2	4	0

3. Prédiction de toxicité

Après avoir la prédiction de la toxicité pour 5 molécules qui ont été sélectionnées après le test ADME, nous avons choisi la molécule numéro 29 Kaempférol, et c'est parce que la DL50 de cette molécule par rapport à la molécule de référence est élevée, qui est de 3919, et comme on sait que plus la DL50 est élevée moins il y a de toxicité et inversement, deuxièmement, cette molécule ne provoque aucune sorte de toxicité (Hépatotoxicité, Cancérogénicité, Immunotoxicité, Mutagénicité, Cytotoxicité).

Tableau 10 : Les résultats de prédiction de toxicité.

N°	Ligand	DL ₅₀	Classe	Hépatotoxicité	Cancérogénicité	Immunotoxicité	Mutagénicité	Cytotoxicité
17	Décursinol	1213	4	Inactive	Inactive	Inactive	Active	Inactive
28	Isorhamnetin	5000	5	Inactive	Inactive	Active	Inactive	Inactive
29	Kaempférol	3919	5	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
35	Nimbolide	1000	4	Inactive	Active	Active	Inactive	Inactive
70	Chrysophanol	5000	5	Inactive	Inactive	Active	Active	Inactive
MR	(VW4)	590	4	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive

MR : molécule de référence

DL₅₀ en mg/kg

Conclusion et perspective

La pandémie de Coronavirus (COV19) est l'une des épidémies qui n'a pas encore été complètement résolue, car des études sont toujours en place et les efforts des chercheurs se poursuivent pour trouver des traitements possibles et développer un vaccin efficace contre cette dernière.

Dans notre étude *in silico*, nous avons fait plusieurs applications sur la protéine de coronavirus et ceci en simulant le programme MOE pour renseigner sur la possibilité d'inhiber nsp13, et notre but est de développer de nouveaux inhibiteurs à partir de produits phytochimique du récepteur NSP13 responsable de l'infection de la cellule cible par le coronavirus et la sélection du complexe plus stable que la complexe de références.

Dans un premier temps, nous avons réalisé le Docking moléculaire par 70 ligands en utilisant le logiciel MOE. Les résultats obtenus nous ont permis de déterminer la meilleure molécule stable formée en appliquant des critères de sélection spécifiques tels que le meilleur score, RMSD et l'interaction avec les acides aminés clés dans le site actif. Les résultats indiquent que onze ligands remplissent les conditions requises en termes de score, de RMSD et d'interaction avec les acides aminés clés.

Dans un deuxième temps, l'application de la règle de Lipinski et le test de prédiction de toxicité nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADMET et du Kaempférol qui se présente comme un nouvel inhibiteur plus affin et plus sélectif vis-à-vis la NSP13.

Pour l'avenir et comme perspectives, il conviendrait dans le prolongement de cette étude, de tester l'activité biologique du Kaempférol inhibiteur nouvellement proposé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* pour confirmer les résultats théoriques réalisés *in silico*.

Références

Webographie

- [1] https://www.who.int/fr/health-topics/coronavirus/coronavirus#tab=tab_1
- [2] <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/coronavirus-sars-cov-2-18559/>
- [3] <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/accompagnement-pedagogique/accompagnement-au-lycee/covid-19/replication-et-expression-de-linformation-genetique>
- [4] <https://www.aquaportail.com/definition-11842-helicase.html>
- [13] <https://www.eurofins-biomnis.com/fr-int/covid/parametres-biologiques/recherche-dosage-anticorps-anti-s-rbd/#>
- [17] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0888754320308764>
- [20] <https://vih.org/20220216/comprendre-lepidemiologie-du-covid-19>
- [21] https://www.chu-nantes.fr/medias/fichier/booklet-coronavirus-chap-1-v14_1617966879169-pdf?ID_FICHE=30513&INLINE=FALSE
- [22] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7604167/>
- [25] <https://www.pasteur.fr/fr/espace-presse/documents-presse/tests-diagnostic-infections-sars-cov-2>
- [26] <https://www.vidal.fr/maladies/voies-respiratoires/coronavirus-covid-19/traitements.html>
- [27] Vaccins contre la COVID-19.” <https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines> (accessed **Jul. 18, 2021**).
- [28] https://static.igem.org/mediawiki/2019/d/d0/T--Washington--French_DNA_Replication.pdf
- [30] <https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.abj4526>
- [38] https://www.memoireonline.com/04/15/9022/m_Developpement-d-un-portail-web-pour-le-criblage-virtuel-sur-la-grille-de-calcul7.html
- [43] http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2009_Strasbourg_Pigault_ForcesIntermoleculaires/co/13_Contentu_FI.html
- [48] <https://www.computabio.com/applications-of-molecular-operating-environment-moe-software.html>
- [51] <http://www.swissadme.ch/>
- [52] https://tox-new.charite.de/protox_II/index.php?site=compound_input

Bibliographie

- [5] Jean-Pierre Dedet, Les épidémies de la peste noire à la Covid-19, Dunod,2010,2021 pour cette édition augmentée 11 rue Paul Bert, 92240Malakoff.ISBN 987-2-10- 082192-1. **Avril 2021**.
Page 227-228
- [6] E. Hartenian, D. Nandakumar, A. Lari, M. Ly, J. M. Tucker, and B. A. Glaunsinger, “The molecular virology of coronaviruses,” *J. Biol. Chem.*, vol. 295, no. 37, pp.12910–12934, **2020**, doi: 10.1074/jbc.REV120.013930.
- [7] A. Vabret, J. Dina, E. Brison, J. Brouard, and F. Freymuth, “Coronavirus humains (HCoV),” *Pathol. Biol.*, vol. 57, no. 2, pp. 149–160, 2009, doi:10.1016/j.patbio.**2008.02.018**.
- [8] D. A. B. R. S. Baric, “Coronavirus Genome Structure and Replication,” vol. 1, pp. 1–30, **2005**.
- [9] O. Nidovirales, “Astrid Vabret - Meriadeg Ar Gouilh,” p. 2012, **2012**.
- [10] Drouin, R. L. Hospitalier, J. P. Gillet, and M. Guittet, “Caractérisation d’une nouvellesouche de coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire,” pp. 323–335, **1985**.
- [11] M. Baay et al., “SARS-CoV-2: Virology, epidemiology, immunology and vaccine development,” *Biologicals*, vol. 66, no. June, pp. 35–40, **2020**, doi: 10.1016/j.biologicals.2020.06.005.
- [12] D. Schoeman and B. C. Fielding, “Coronavirus envelope protein: current knowledge,” vol. 0, pp.1–22, **2019**.
- [14] International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV); 2020 (<https://talk.ictvonline.org/>, accessed **27 July 2020**).
- [15] Gorbalenya ABS, Baric R, de Groot R, Drosten C, Gulyaeva A, Haagmans B, et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019- nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* **2020**; 5:536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- [16] Dr. Samir N. Patel, Ph. D. FCCM (D)ABMM Alex Marchand-Austin, M. Sc,La génomique du SRAS-CoV-2 aux fins de surveillance en santé publique, Formation SPO, un article publiée,**31 août 2021**
- [18] Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veelsler D. Structure,Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2Spike Glycoprotein. *Cell.* **6 mars 2020**.
- [19] Weiss SR. Forty years with coronaviruses. *J Exp Med* [Internet]. **30 mars 2020** [cité **9 avr 2020**] ;217(5). Disponible sur :
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7103766/>
- [23] Wolters F., van de Bovenkamp J., van den Bosch B. Multi-cen-ter evaluation ofcepheid xpert® xpress Sars-CoV-2point-of-care test during the Sars-CoV-2 pandemic. *J Clin Virol.***2020**
- [24] Lambert-Niclot S., Cuffel A., Le Pape S. Evaluation of a Rapid Diagnostic Assay for Detection of Sars-CoV-2 Antigen inNasopharyngeal Swabs.

Références

- J Clin Microbiol.2020 ;58(8): e00977–e00980. [Article PMC gratuit] [PubMed][Google Scholar]
- [29] K.-J. Jang, S. Jeong, D. Y. Kang, N. Sp, Y. M. Yang, and D.-E. Kim, “A high Atp concentration enhances the cooperative translocation of the SARS coronavirus helicasesP13 in the unwinding of duplex RnA,” doi: 10.1038/s41598-020-61432-1.
- [31] M. S. Yu et al., “Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13,” *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 22, no. 12, pp. 4049–4054, 2012, doi: 10.1016/j.bmcl.2012.04.081.
- [32] Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat : chimie informatique et théorique. Nancy : Université de Nancy. France. **2008**. 122p.
- [33] T. Schulz-Gasch, M. Stahl, « Scoring Functions for Protein-ligand Interactions: A Critical Perspective », *Drug Discovery Today: Technologies*, **2004**, 1, 231-239.
- [34] R. Wang, Y. Lu, X. Fang, S. Wang, « An Extensive Test of 14 Scoring Functions Using the PDBbind Refined Set of 800 Protein-ligand Complexes », *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, **2004**, 44, 2114-2125.
- [35] Laurent HOFFER, Docteur de l’Université de Strasbourg, Chémoinformatique, **2013**.
- [36] Johnson, M.A.; Maggiora, G.M. *Concepts and Applications of Molecular Similarity*. Wiley ed. **1990**.
- [37] Koeppen, H. ; Kriegl, J. ; Lessel, U. ; et al. *Ligand-Based Virtual Screening, in Virtual Screening Principles, Challenges and Pratical Guidelines*, C. Sottriffer, Editor. **2011**, p. 536.
- [39] Martin L. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Montpellier: Université Montpellier 2. France. (**2006**). 149p.
- [40] Shibata, D., Slusarenko, A., Casey, R., Hildebrand, D., Bell, E. *Lipoxygenases*. *Plant Molecular Biology Reporter*. (**1994**); 12 .41p.
- [41] Monge A. Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silico » de nouveaux composés bioactifs. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Orléans : Université d'Orléans. France. (**2006**). 154p.
- [42] Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma, Alban ARRAULT
- [44] Lahana, R. How many leads from HTS? *Drug Discov. Today* **1999**, 447-448.
- [45] Munos, B. Lessons from 60 years of pharmaceutical innovation. *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2009**, 959-968.
- [46] Hajduk, P. J.; Galloway, W. R.; Spring, D. R. Drug discovery: A question of library design. *Nature*, **2011**, 470 (7332), 42-43.

Références

- [47] Karim MezhoudCNSTN Docking Principes et méthodes
- [49] Nucleic Acids Res. **2000 Jan 1**; 28(1): 235–242.
- [50] Pubcem. Quercetin: 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one. Create
2004-09-16. Modify **2021-08-21**. Disponible sur : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- [53] S. Hemalatha, Molecular Docking of Phytochemicals Targeting GFRs as Therapeutic Sites for Cancer: An *in-Silico* Study, **6 January 2022**, page 218.
- [54] N. Latha, University of Delhi, In silico studies reveal potential antiviral activity of phytochemicals from medicinal plants for the treatment of COVID-19 infection, **14 april 2020**, page 29.
- [55] Ayat Ahmed Alrasheid, Mazin Yousif Babiker, Talal Ahmed Awad, Evaluation of certain medicinal plants compounds as new potential inhibitors of novel corona virus (COVID-19) using molecular docking analysis, **18 December 2021**, page 2.