



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la
Terre et de l'Univers



Département de Biologie

MEMOIRE

Présenté par

SELMI

NOUR-EL-HOUDA

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biologie moléculaire et cellulaire

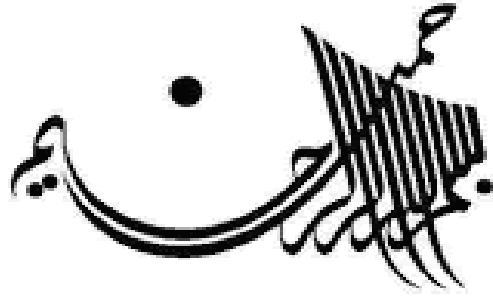
Thème

**La prévention de la liaison du
SARS-CoV-2 sur l'ACE2 humain :
étude in silico**

Soutenu devant le jury composé de :

Examineur 1	Denouni Nouria	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	Dali Majda	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur 2	Cherrak Sabri Ahmed	M.C.A	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020/2021



"سبحانك لا علم لنا إلا
ما علمتنا إنك أنت العليم
الحكيم"

صَبَّحَكَ اللهُ الْعَظِيمَ

Résumé

Le nouveau coronavirus virus SARS-CoV-2 provoque une pneumonie sévère chez l'homme, provoquant de graves épidémies. Vu la non disponibilité du vaccin dans les pays pauvres, les études in silico ont pris une importance primordiale nous avons fait un screening de dérivés de la quinine pour proposer un médicament potentiel qui inhibe la pénétration du SARS CoV-2 dans la cellule.

On a utilisé Logiciel UCSF chimera (ver1.14) contient un sous programme vina, pour préparer la structure 3D de la protéine ACE2 (6VW1) qui comporte un inhibiteur co-cristallisé et faire un docking moléculaire. On a chargées Les cinq meilleures molécules directement l'une après l'autre dans le logiciel Discovery Studio visualizer (DSV), qui permet de visualiser les différents diagrammes d'interaction entre le site actif de l'enzyme et les ligands en 2D. Enfin les caractéristiques pharmacocinétiques ont été étudiés grace au site Swiss ADME.

A la lumière de ce travail, nous pouvons postuler que les composés **Prenyl Quinine** et **N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino]ethyl]phenyl]benzamide** et **Piperidyl-quinine** possèdent avec un bon profil ADME et un pouvoir inhibiteur potentiellement élevé envers la cible, et peuvent par conséquent être proposés comme inhibiteurs potentiels de la ACE2 pour le traitement de CoV-19.

Mots clés : SARS COV-2 - ACE2 – spike S – etude in silico – l'amarrage moléculaire

ملخص :

يتسبب فيروس كورونا الجديد SARS-CoV-2 في حدوث التهاب رئوي حاد في البشر، مما يتسبب في وباء شديد. نظراً لعدم توفر اللقاح في البلدان الفقيرة، اكتسبت دراسات السيليكو أهمية قصوى، فقد قمنا بفحص مشتقات الكينين لتطوير دواء محتمل يمنع تغلغل sars cov-2 في الخلية.

استخدمنا برنامج UCSF chimera (الإصدار 1.14) الذي يحتوي على روتين فرعي، لإعداد الهيكل ثلاثي الأبعاد لبروتين ACE2 (6VW1) الذي يتضمن مثبّطاً متبلوراً مشتركاً وتنفيذ الالتحام الجزيئي وقمنا بتحميل أفضل خمسة جزيئات مباشرة واحداً تلو الآخر في برنامج متخيل (DSV) Discovery Studio، والذي يسمح لك بتصوير مخططات التفاعل المختلفة بين الموقع النشط للإنزيم والروابط في D2. أخيراً، تمت دراسة الخصائص الحركية الدوائية بفضل موقع ADME السويسري.

في ضوء هذا العمل، يمكننا أن نفترض أن المركبين **Prenyl Quinine** و **N-[4-[2-[(7-Methyl-6 و [3-amino, dihydrothieno [2-d] pyrimidin-4-yl) amino, dihydrothieno [3-2-d] pyrimidin-4-yl) amino] ethyl] phenyl] benzamide** و **Piperidyl-quinine** يمتلكان ملف تعريف ADME جيد وقدرة تثبيط عالية نحو الهدف، وبالتالي يمكن اقتراحهم كمثبطات محتملة للانزيم الانجيوتنسين 2 لعلاج CoV-19.

كلمات مفتاحية : سارس CoV-2 - ACE2 - سبايك S - الالتحام الجزيئي - الدراسة في السيليكو.

Abstract

The new SARS-CoV-2 virus coronavirus causes severe pneumonia in humans, causing severe epidemics. In view of the unavailability of the vaccine in poor countries, in silico studies have taken on paramount importance; we have screened quinine derivatives to propose a potential drug that inhibits the penetration of SARS CoV-2 into the cell.

We used UCSF chimera software (ver1.14) contains a vina subroutine, to prepare the 3D structure of the ACE2 protein (6VW1) which comprises a co-crystallized inhibitor and to carry out molecular docking. The top five molecules were loaded directly one after the other into the Discovery Studio visualizer (DSV) software, which visualizes the different interaction diagrams between the active site of the enzyme and the ligands in 2D. Finally, the pharmacokinetic characteristics were studied thanks to the Swiss ADME site.

In the light of this work, we can postulate that the compounds Prenyl Quinine and N- [4- [2 - [(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d] pyrimidin-4-yl) amino] ethyl] phenyl] benzamide and Piperidyl-quinine have a good ADME profile and potentially high inhibitory power towards the target, and can therefore be proposed as potential ACE2 inhibitors for the treatment of CoV-19.

Keywords: SARS COV-2 - ACE2 - spike S - in silico study - molecular docking.

REMERCEMENTS

Nous remercions le Dieu le tout puissant pour nous avoir donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail.

*Nous remercions chaleureusement Mme **Dali.M** professeure à l'université de Tlemcen notre encadreur, qui a guidé judicieusement nos recherches. Nous gardons en mémoire ses qualités d'encadreur et ses conseils bienveillants. Nous tenons à lui exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude. Nous vous remercions pour nous avoir donné la chance de travailler avec vous sur un sujet aussi passionnant, d'être toujours présente et prête à aider vos étudiants, d'être rigoureuse et enthousiaste.*

*Nous exprimons toute notre reconnaissance à Monsieur **Chevak.S** maître de conférences A à l'université de Tlemcen de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travail et qui a guidé judicieusement nos recherches. Nous la remercions également pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements.*

*Nous remercions également Mme **Danouni.N** professeur à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté de faire partie du jury de ce travail. Qu'il soit assuré de notre profonde gratitude.*

Enfin, à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, je leur dit du fond du cœur.

Je vous dis merci.

Dédicace

Je tiens vivement à dédier ce mémoire :

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.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive

*À la lumière de mes yeux et le bonheur de mon existence : ma chère sœur **Zahra**, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi. Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.*

À mes frère **Abd-el-illah et **Zakaria****

Nous avons partagé les meilleurs souvenirs et les plus agréables moments.

Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour je n'oublierai jamais votre encouragement et votre soutien le long de mes études, je vous aime beaucoup B.A.

*À ma cousine et ma sœur, ma milleur amie **Nadjlaa** je veux souhaite une vie plein de joie et de réussite*

À toute ma grande famille chacun avec son nom, aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

*À mes amies de toujours : **Afaf, Aziza, Sarah, Kenza** Qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin. 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.*

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, je vous dis merci.

Introduction :

La pandémie COVID-19 (Coronavirus disease 2019), causée par le SRAS-CoV-2 (coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère), a mis en péril la santé publique à une échelle sans précédent, causant à ce jour la mort de plus de deux millions de personnes dans le monde. [1]

Comme les autres coronavirus, le SRAS-CoV-2 est un ARN positif simple brin, qui partage de nombreuses caractéristiques avec les ARN messagers de la plupart des gènes humains, est un brin unique de 29 903 nucléotides d'ARN. [2]

Le protéome du SRAS-CoV-2 se compose de deux polyprotéines, de quatre protéines structurales et peut-être neuf protéines accessoires. Le site deux polyprotéines sont transformées en 16 protéines non structurales, ce qui nécessite de prendre en compte jusqu'à 29 protéines dans les analyses. Les polyprotéines pp1a et pp1ab sont des produits d'orf1a et d'orf1ab respectivement, qui sont toutes deux produites par la traduction de l'ARN génomique complet. [2]

Les protéines restantes sont produites par la reconnaissance ribosomique traditionnelle de séquences AUG en subgénomique ARN. Un intérêt particulier est la protéine de pointe (S), qui est la cible de la plupart des thérapies basées sur l'immunologie. La protéine S régit l'entrée du virus dans la cellule par l'enzyme l'angiotensine (ACE2). [2]

Le récepteur ACE2, découvert par deux groupes indépendants en l'an 2000, est une glycoprotéine transmembranaire de type I (mono-carboxypeptidase) composée de 805 acides aminés qui utilise un seul domaine catalytique extracellulaire pour éliminer un seul acide aminé de l'octapeptide angiotensine II pour générer l'angiotensine. L'octapeptide angiotensine II pour générer l'angiotensine. Le récepteur ACE2 convertit également l'angiotensine I en angiotensine1, qui est à son tour convertie en angiotensine par l'ACE et la néprilisine. L'efficacité catalytique L'efficacité catalytique de l'ACE2 est 400 fois plus élevée sur l'angiotensine II que sur l'angiotensine I. L'ACE2 présente une identité structurelle de 40 % avec l'ACE, bien que les inhibiteurs de l'ACE ne bloquent pas l'ACE2 en raison de la structure conformationnelle différente du site catalytique. [3]

Si le récepteur ACE2 est fortement exprimé dans l'endothélium vasculaire, il est également dans les cellules épithéliales pulmonaires, plus particulièrement au pôle apical des cellules épithéliales alvéolaires de type II, qui peuvent de plus servir de réservoir viral. Ces cellules pulmonaires produisent un surfactant qui réduit la tension superficielle, empêchant ainsi les alvéoles de s'effondrer, et sont donc essentielles à la fonction d'échange gazeux du poumon. Chez les patients atteints de la maladie COVID-19, l'interaction 5 virus avec ce récepteur pourrait ainsi expliquer la gravité des lésions pulmonaires observées. Enfin, le récepteur de l'ACE2 est exprimé dans plusieurs tissus extra-pulmonaires, comprenant le cœur, les reins, les vaisseaux sanguins et l'intestin. Cette distribution diffuse de l'ACE2 au sein des tissus et des organes peut expliquer la dégradation rapide de l'état des patients telle qu'observée dans les unités de soins intensifs. [1]

Les données sur la biologie de l'enzyme de conversion 2 de l'angiotensine (ACE2) se sont accumulées au cours des 20 dernières années et ont démontré son rôle de régulateur négatif du système rénine-angiotensine couplé à l'aldostérone (SRAA). Ce système enzymatique sous contrôle endocrinien permet de maintenir l'homéostasie hydrosodée (équilibre entre les ions Na⁺ et l'eau). L'ACE1 et l'ACE2 présentent 42% d'homologie de séquence en acides aminés et clivent le peptide de l'angiotensine 1 générant ainsi des peptides hormonaux spécifiques des récepteurs AT1 et AT2 de la famille des récepteurs couplés aux protéines G. L'ACE1 en coupant le dipeptide His-Leu de l'angiotensine 1 génère ainsi l'angiotensine 2, qui provoque une vaso- et une broncho-constriction, une

perméabilité vasculaire accrue, avec pour conséquence une inflammation qui peut être suivie de fibrose. Cela favoriserait ainsi le développement du syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) avec insuffisance pulmonaire chez les patients infectés par le virus SARS-CoV et le virus SARS-CoV-2. [1]

La principale glycoprotéine Spike (S1) se lie à la région N-terminale de l'ACE2. L'entrée du SARS-CoV et du SARS-CoV-2 dans les cellules est facilitée par l'interaction entre le Spike viral et les domaines extracellulaires des protéines ACE2 transmembranaires. L'amorçage des protéines S du coronavirus par les protéases des cellules hôtes est essentiel pour l'entrée virale dans les cellules et englobe le clivage des protéines S aux sites S1 / S2 et S20. Le site de clivage S1 / S2 du SARS-2-S abrite plusieurs résidus d'arginine (multibasique), ce qui indique une capacité de clivage élevée. Cette liaison S1/ACE2 a pour conséquence une invagination du virus qui déstructure la membrane des cellules bronchiques et conduit à leur lise. Cliniquement, cela se traduit par une dépression respiratoire, suivie d'une défaillance multiviscérale liée à une réponse humorale massive. La variation des acides aminés, permettant des interactions hydrophobes plus nombreuses et la formation de ponts salins supplémentaires, semble justifier une affinité de liaison de SARSCoV-2 avec ACE2 plus forte que SARS-CoV. De même, le domaine S1 du Spike développe une forte affinité pour les glycanes membranaires des cellules cibles. Ceci pourrait justifier en partie la plus forte contagiosité du COVID-19 au regard de l'épidémie initiale liée au SARS en 2003. [1]

Les coronavirus ont développé un mécanisme de dépistage génétique pour maintenir de longs génomes ARN. Malgré la faible diversité des séquences SRAS-CoV-2, des mutations dans la protéine de pointe qui interagit avec récepteurs intracellulaires tels que l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) pour médier l'entrée dans les cellules, il a un fort effet à l'échelle de l'hôte, gonflement des tissus et pathogenèse de la maladie. Pendant l'épidémie de SRAS-CoV en 2002-2003, cette mutation a médié l'adaptation à l'infection de la civette hôte intermédiaire, ainsi que la transmission interhumaine. Pour le SARS-CoV-2, analyses de plus de 28 000 séquences génétiques évoluées en mai 2020, il a révélé le remplacement du D614G auparavant rare Mars 2020, mais cela devient de plus en plus fréquent avec la propagation de l'épidémie et le apparaît dans plus de 74 % de toutes les séquences publiées d'ici juin 2020. Le remplacement de D614G était accompagné de trois autres mutations : une mutation C-à-T dans la région 5' non traduite à la position 241, une mutation C-à-T synonyme à la position 3037 et une mutation C-à-T non-synonyme à la position 241mutation en position 14408 dans l'ARN polymérase ARN-dépendante gène. La fréquence de ce groupe de mutations a augmenté non seulement globalement, mais aussi au cours de la circulation combinée au sein des régions individuelles au cours de épidémies. [4]

Le 14 décembre 2020, le Royaume-Uni a signalé une variante préoccupante (VOC) du SRAS-CoV-2, la lignée B.1.1.7, également appelée VOC 202012/01 ou 20I/501Y.V1. Le B.1.1.7 On estime que la variante est apparue en septembre 2020 et est rapidement devenue la variante dominante du SARS-CoV-2 en circulation en Angleterre. B.1.1.7 a été détecté dans plus de 30 pays, dont les États-Unis. Au 13 janvier 2021, environ 76 cas de B.1.1.7 avaient été détectés dans 12 États américains. Plusieurs éléments de preuve indiquent que B.1.1.7 est transmis plus efficacement que les autres variantes du SRAS-CoV-2. La trajectoire modélisée de cette variante aux États-Unis présente une croissance rapide au début de 2021, devenant la variante prédominante en mars. [5]

Le variant B.1.1.7 porte une mutation dans la protéine S (N501Y) qui affecte la conformation du domaine de liaison au récepteur. Cette variante a 13 autres mutations définissant la lignée B.1.1.7, dont plusieurs sont dans la protéine S, y compris une délétion aux positions 69 et 70 (del69-70) qui a évolué spontanément dans d'autres SARS-CoV-2 variantes et est supposé augmenter la transmissibilité. La suppression aux positions 69 et 70 provoque une défaillance de la cible du gène S (SGTF) dans au

moins un test de diagnostic basé sur la RT-PCR (c'est-à-dire avec le test ThermoFisher TaqPath COVID-19, la variante B.1.1.7 et d'autres variantes avec les del69-70 produisent un résultat négatif pour la cible du gène S et un résultat positif pour les deux autres cibles) ; SGTF a servi de proxy au Royaume-Uni pour identifier les cas B.1.1.7. [5]

La variante SARS-CoV-2 B.1.351 - également connue sous le nom de 501Y.V2 - a également été détectée dans GH clade pour la première fois fin 2020 dans la province de l'Est Le Cap, Afrique du Sud. Depuis, cette alternative est devenue cela augmente la possibilité que la portabilité ait été améliorée. B.1.351 contient neuf mutations dans le gène spinal en plus de la mutation spectrale causé le remplacement du D614G, y compris un groupe de mutations (par exemple les mutations conduisant à $\Delta 242244$ et R246I) dans les ATN, trois substituants (K417N, E484K et N501Y) dans le RBD et les substituants (A701V) sont proches du site de clivage de la furine. Là-bas on craint de plus en plus que ces nouvelles variables puissent affecter l'efficacité traitements ou vaccins actuels par anticorps monoclonaux, comme beaucoup d'entre eux mutations dans les superantigènes dans NTD ou au site de liaison ACE2 (également connu sous le nom de motif de liaison au récepteur (RBM)) est une cible majeure d'anticorps antiviraux neutralisants puissants. [6]

La variante B.1.351 n'est pas seulement résistante à l'équation par la plupart des gens anticorps monoclonaux contre le domaine N-terminal mais aussi par plusieurs individus anticorps monoclonaux contre le motif de liaison au récepteur pour se lier au récepteur, qui est principalement due à une mutation qui a remplacé le E484K. Suite, Comparé au SARS-CoV-2 de type sauvage, le B.1.351 y est nettement plus résistant neutralisation du plasma de convalescent (9,4 fois) et des sérums d'individus qui ont ils ont été vaccinés (10,3-12,4 fois). B.1.351 et variantes émergentes similaires des mutations dans la protéine de pointe présentent de nouveaux défis pour les anticorps monoclonaux des traitements qui menacent l'efficacité préventive des vaccins actuels. Et La variante du SRAS CoV-2 B.1.427/B.1.429 a été signalée pour la première fois au début de 2021 en Californie et à partir de 2021. Mai 2021 détecté dans 34 pays supplémentaires Les souches B.1.427 et B.1.429 (appartenant au clade 20C selon le Cartographie Nextstrain) ils partagent les mêmes mutations (S131 et W152C dans NTD et LA52R dans RBD), mais hébergent des mutations différentes dans d'autres gènes CoV-g du SRAS. L'analyse de l'horloge moléculaire indique que l'ancêtre des deux souches est apparu en mai 2020, divergeant pour donner naissance aux souches B.1.427 et B.1.429 en juin-juillet 2020 L'augmentation rapide du nombre de cas associés à B.L427B.1429 a conduit à sa classification comme COVb par l'American Center for Disease Control. Au 30 avril 2021, 8 441 et 21 072 génomes séquencés étaient représentés. Il a été introduit dans le GISAID pour les souches B.1.427 et B.1.429, respectivement. Ces COV ont été détectés en Californie et dans d'autres États américains, et plus récemment dans 34 autres pays à travers le monde. Le nombre de séquences du génome B.1.427/B.1.429 déposées a augmenté rapidement après décembre 2020, avec des omissions dépassant 50 % en Californie depuis février 2021. Collectivement, cette analyse démontre l'influence accrue des COV B.1.427/B.1.429, et leur propagation géographique progressive de la Californie vers d'autres États américains et d'autres pays, ce qui est cohérent avec une étude récente indiquant un potentiel de transmission accru pour les isolats ancestraux. [6,7]

Dans une étude récente publiée dans Nature, Wang et al.1 ont étudié l'activité de neutralisation des anticorps induits par l'ARNm du COVID-19 vaccins et infection naturelle par le SARS-CoV-2 contre les variantes du SARS-CoV2. L'impact dévastateur de la pandémie actuelle de COVID-19 sur la santé publique, l'économie et la société ont fait du vaccin développement une priorité absolue pour la santé mondiale. Ainsi, le vaccin le développement progresse à un rythme sans précédent en tant que réponse urgente au COVID-19. Actuellement, il existe quatre principaux types de vaccins COVID-19 : acide nucléique (ARNm et ADN), vecteur viral, sous-unité protéique et virus inactivé. Deux vaccins à ARNm COVID-19 (BNT162b2 développé par Pfizer-BioNTech et l'ARNm-1273 par Moderna) ont a été

autorisé par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis et l'Agence européenne des médicaments (EMA). De plus, Ad26.COVS.2 (Johnson & Johnson/Janssen) a été approuvé par la FDA et l'EMA et ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca) a été autorisé par l'EMA, qui est tous deux des vaccins à vecteur viral. [8]

Le BNT162b2 et l'ARNm-1273 sont formulés à partir de nanoparticules lipidiques, vaccins à ARN modifiés nucléosidiques codant pour le pic de préfusion glycoprotéine du SRAS-CoV-2. Les deux se sont montrés favorables efficacité du vaccin (94-95%) dans la prévention du COVID-19 en phase 3 essais cliniques. Cependant, les variantes émergentes du SARS-CoV-2 et de ses expansions mondiales ont suscité des inquiétudes quant à la réduction protection contre les variantes préoccupantes (COV) par le COVID-19 actuel vaccin. Variantes notables abritant de multiples mutations dans le la protéine de pointe ont émergé au Royaume-Uni (B.1.1.7), Afrique du Sud (B.1.351) et Brésil (P.1). B.1.1.7 variante (20I/501Y.V1), le COV le plus répandu dans le monde, a une substitution N501Y dans le domaine de liaison au récepteur (RBD), la délétion H69/V70 dans le domaine Nterminal et la mutation P681H adjacente à la furine site de clivage dans la protéine de pointe. Cette variante a été associée avec une transmissibilité accrue. B.1.351 variante (20H/501Y.V2) contient plusieurs mutations, dont K417N, E484K et N501Y. La variante P.1 (B.1.1.28.1) possède K417T, E484K et N501Y substitution dans le RBD de la protéine de pointe. Ces COV ont également partagent la mutation D614G, qui confère une capacité accrue à propagation virale rapide. [8]

Ces mutations ont entraîné une diminution de l'immunisation et une augmentation de la propagation des virus, et c'est ce qui a rendu l'étude *in silico* d'une importance primordiale, et montre également l'importance d'approfondir l'étude biochimique de l'enzyme ACE2 dans le but de meilleure compréhension du mécanisme de travail et contribution au développement de la nouvelle inhibiteurs à travers de nouvelles approches de modélisation moléculaire. Plus précis fusion moléculaire (souvent connue sous le terme anglo-saxon « docking »). Elle consiste en la prédiction et la reproduction d'interactions protéine-liaison. Cette méthode il est couramment utilisé en chimie pharmaceutique pour obtenir de nouveaux médicaments, car la plupart des ingrédients actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec la cible un agent thérapeutique biologiquement significatif, et en général une protéine (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. [9]

Plus de 30 logiciels de docking sont actuellement disponibles. Les trois les plus fréquemment cités pèsent 53 % du total de citations trouvées dans la littérature sont : AutoDock (27 %), GOLD (15 %), FlexX (11 %). [9]

Le but du présent travail est de proposer des molécules capables d'inhiber la liaison du SARS CoV-2 à son recepteur membrnaire ACE2 à fin de prévenir de linfection.

1. Matériels et méthodes :

1.1. Préparation de la protéine :

Les structures cristallographiques tridimensionnelles des protéines ont été téléchargées à partir de Research Collaborative for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB) (<http://www.rcsb.org/>). Nous avons concentré notre analyse sur structures du domaine de liaison au récepteur de pointe du SARS-COV-2 (RBD)/Complexes ACE2 6VW1.

Logiciel UCSF chimera contient un sous programme UCSF (ver1.14), a été utilisé pour préparer la structure 3D qui comporte un inhibiteur co-crystallisé avant de commencer le processus d'amarrage moléculaire. qui permet de supprimer le ligand d'origine liés a la cible (la chaine E) mais également les molécules d'eau. La structure 3D préparée de 6VW1 a été enregistrée au format de fichier PDB.

1.2. Téléchargement des ligands « inhibiteurs » :

Les structures tridimensionnelles des Quinines ont été extraites de la base de données PubChem en format sdf (<https://pubChem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Une banque de molécules a été constituée, contenant des molécules dont la structure de base est celle de la quinine.

1.3. L'amarrage moléculaire :

Afin d'effectuer un Docking moléculaire, la protéase 6VW1 doit être préparée par l'outil Dock prep du programme Chimera (Vina). Cet outil permet d'ajouter des atomes d'hydrogène, des charges et d'appliquer une énergie minimale Δg , car la cible extraite du RCSB PDB ne contenait aucune charge.

En outre, les trente molécules ont été ajoutées l'une après l'autre, pour la préparation de l'amarrage moléculaire, à savoir la détermination du degré d'affinités de liaison des différents ligands avec la protéase principale.

Pour tester l'effet inhibiteur de ces molécules sur la protéase principale du SARS-CoV-2, l'interaction de liaison réelle a été confirmée par l'amarrage moléculaire à l'aide du logiciel Auto dock Vina, tandis que les meilleurs conformères ont été représentés avec la plus faible énergie de liaison (kcal/mol) sur le site actif.

1.4. Identification des interactions :

Les cinq meilleures molécules sont chargées directement l'une après l'autre dans le logiciel Discovery Studio visualize (DSV), qui permet de visualiser les différents diagrammes d'interaction entre le site actif de l'enzyme et les ligands en 2D. Il permet ainsi de déterminer les liaisons hydrogène et les liaisons hydrophobes contractées entre les acides aminés du site actif de la cible 6VW1 et les quinines.

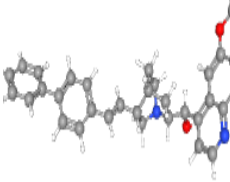
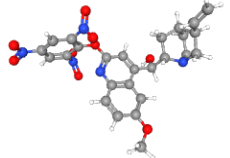
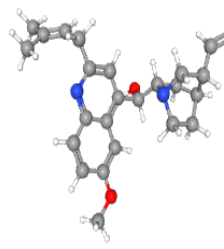
1.5. Détermination des paramètres pharmacocinétique :

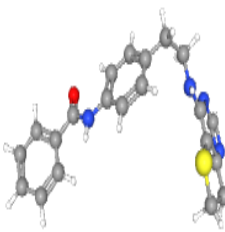
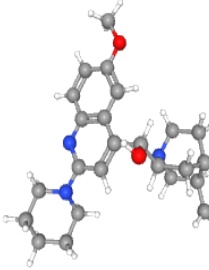
Les descripteurs physico-chimiques, ainsi que les prédictions des paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétique, les règles de lipinski des différentes quinines ont été analysées à partir du site Web Swiss ADME <http://www.swissadme.ch/>.

2. Resultas et discussion :

Le docking moléculaire de ces composés envers le site actif de la cible nous avons classés les Cinq meilleurs composés: 11-Biphenyl-Quinine, Quinine Picrate, Prenyl Quinine, N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d] pyrimidin-4-yl) amino]ethyl] phenyl] benzamide, Piperidyl-quinine comme des meilleurs inhibiteurs potentiels de l'enzyme ACE2 (6VW1) avec des scores entre -7.0 à -6.6 Keal/mole.

Tableau I : les 5 meilleurs inhibiteurs de l'ACE2 avec l'énergies d'interactions et le style Ball & stick du PubChem

Nom	Formule	Poids moléculaire	Δg	Interactions	Structure 3D
11-Biphenyl-Quinine Code : 70687788	<chem>C32H32N2O2</chem>	476.6g/mol	-7.0	Ser494 : Liaison Hydrogène Conventional Tyr449 : Liaison Pi-Pi Stacked Tyr449 : Liaison Carbon Hydrogène Phe490 : Liaison Pi-Pi Stacked Phe490 : Pi-Alkyl	
Quinine Picrate Code : 129641851	<chem>C26H25N5O9</chem>	551.5g/mol	-6.9	Arg408 ; Lys403 ; Tyr453 ; Val417 : Liaison Hydrogène Conventional Gly416 ; Ser494 : Liaison Carbon Hydrogène Try495 ; Try505 ; Phe497 ; Leu455 : Alkyl Try495 ; Try505 ; Phe497 ; Leu455 : Pi-Alkyl Asp406 : Pi-Anion	
Prenyl Quinine Code : 129715923	<chem>C25H32N2O2</chem>	392.5g/mol	-6.8	Tyr505 : Pi-Alkyl Gly496 : Liaison Hydrogène Conventional	

<p>N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino]ethyl]phenyl]benzamide</p> <p>Code : 70966150</p>	<p><u>C₂₂H₂₂N₄OS</u></p>	<p>390.5g/mol</p>	<p>-6.7</p>	<p>Asn501 ; Tyr453 : Liaison Hydrogène Conventional Tyr505 ; Tyr453 : Pi- Pi T-Stacked Tyr505 ; Tyr453 : Pi- Pi T-Shaped Try505 ; Val417 : Pi- Alkyl</p>	
<p>Piperidyl-quinine</p> <p>Code : 129848797</p>	<p><u>C₂₅H₃₃N₃O₂</u></p>	<p>407.5g/mol</p>	<p>-6.6</p>	<p>Tyr505 : Pi-Sigma Tyr505 : Pi-Alkyl</p>	

L'énergie d'interaction à été calculée par Autodock vina pour les cinq ligands, et ont été classées par ordre croissant, la première d'entre elles étant la 11-Biphenyl-Quinine avec un Δg (-7.0 Keal/mole) suivi par Quinine Picrate avec un Δg (-6.9 Keal/mole) , Prenyl Quinine (-6.8 Keal/mole), N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d] pyrimidin-4-yl) amino]ethyl] phenyl] benzamide (-6.7 Keal/mole), Piperidyl-quinine (-6.6 Keal/mole). (**Tableau1**)

Les analyses visuelles réalisée par DSV montre que ces inhibiteurs sont bien placés dans le site actif de la 6VW1 ou ils sont stabilisés par de nombreuses liaisons, comme le **11-Biphenyl-Quinine** qui est attaché au site actif grâce aux 3 acides aminés suivant: Ser494, Phe490, Tyr449 une liaison hydrogène avec le Ser494, 2 liaisons pi-pi stacked avec Tyr449 et Phe490, et une liaison carbon hydrogène avec Tyr449, et Pi-Alkyl avec Phe490. (**Tableau1**) (**Figure 1**)

La **Quinine Picrate** est attaché au site actif grâce à 11 acides aminés suivant : Arg408, Lys403, Tyr453, Val417, Gly416, Ser494, Try495, Try505, Phe497, Leu455, Asp406. 4 liaisons hydrogènes avec Arg408 et Lys403 et Tyr453 et Val417, 4 liaisons Alkyl avec Try495 et Try505 et Phe497 et Leu455, 4 liaisons Pi-Alkyl avec Try495 et Try505 et Phe497 et Leu455, 2 liaisons carbon hydrogène Gly416 et Ser494, et une liaison de Pi-Anion avec Asp406. (**Tableau1**) (**Figure 2**)

La **Prenyl Quinine** est attaché au site actif grâce à 2 acides aminés suivant : Tyr505, Gly496 une liaison Pi-Alkyl avec Tyr505 et une liaison hydrogène avec Gly496. (**Tableau1**) (**Figure 3**)

La **N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d] pyrimidin-4-yl)amino]ethyl]phenyl]benzamide** est attaché au site actif grâce à 4 acides aminés suivant : Asn501, Tyr453, Tyr505, Val417 2 liaisons hydrogène avec Asn501 et Tyr453, 2 liaisons Pi-Pi T-Stacked avec Tyr505 et Tyr453 et 2 liaisons Pi-Pi T-Shaped avec Tyr505 et Tyr453, 2 liaisons Pi-Alkyl avec Try505 et Val417. (**Tableau1**) (**Figure 4**)

Piperidyl-quinine est attaché au site actif grâce à un acide aminé Tyr505 avec 2 liaisons Pi-Sigma et Pi-Alkyl. (**Tableau1**) (**Figure 5**)

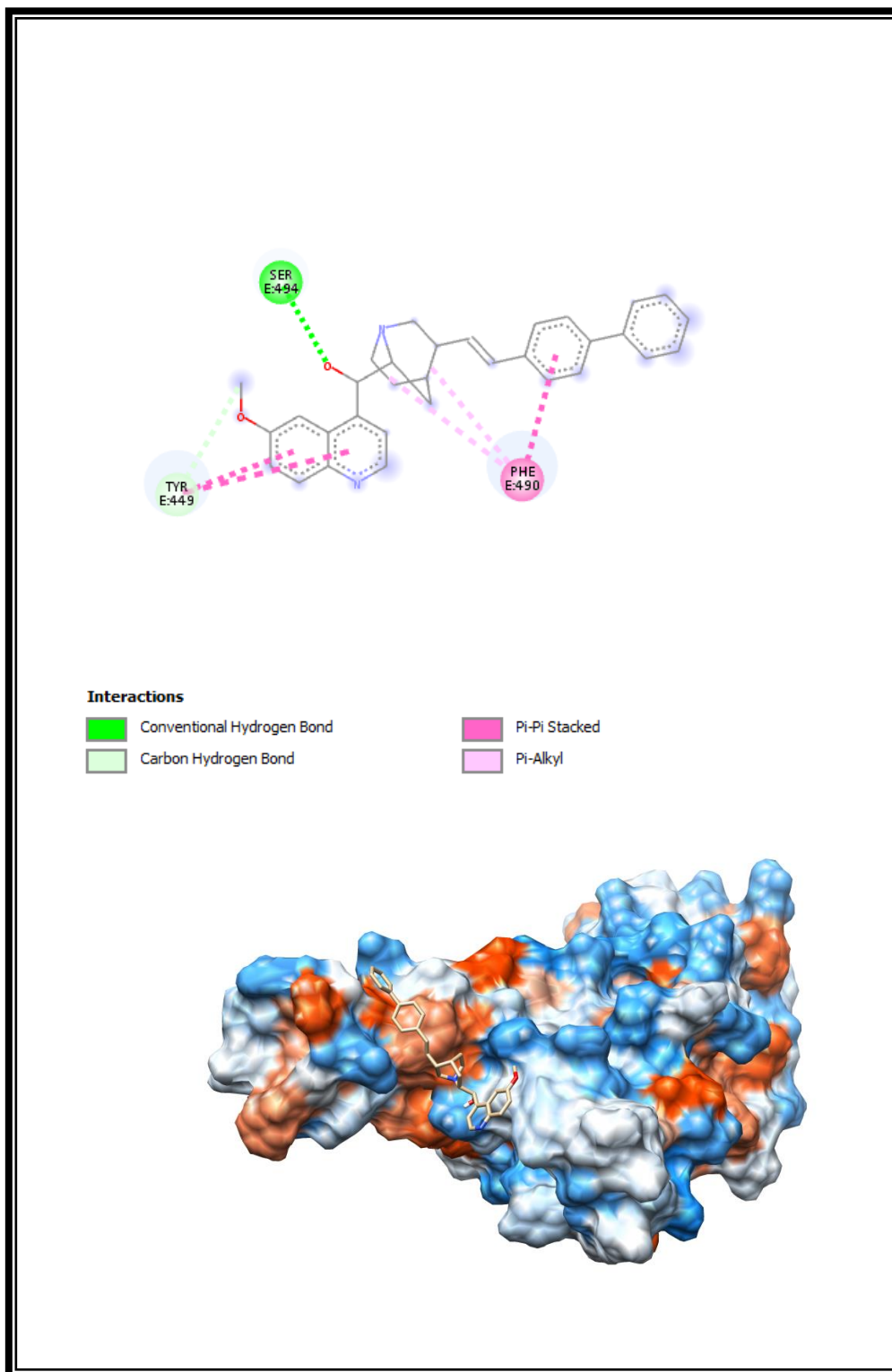


Figure 1 : Représentation d'interaction du 11-Biphenyl-Quinine dans le site actif de 6VW1 par UCFS Chimera et les interactions par DSV.

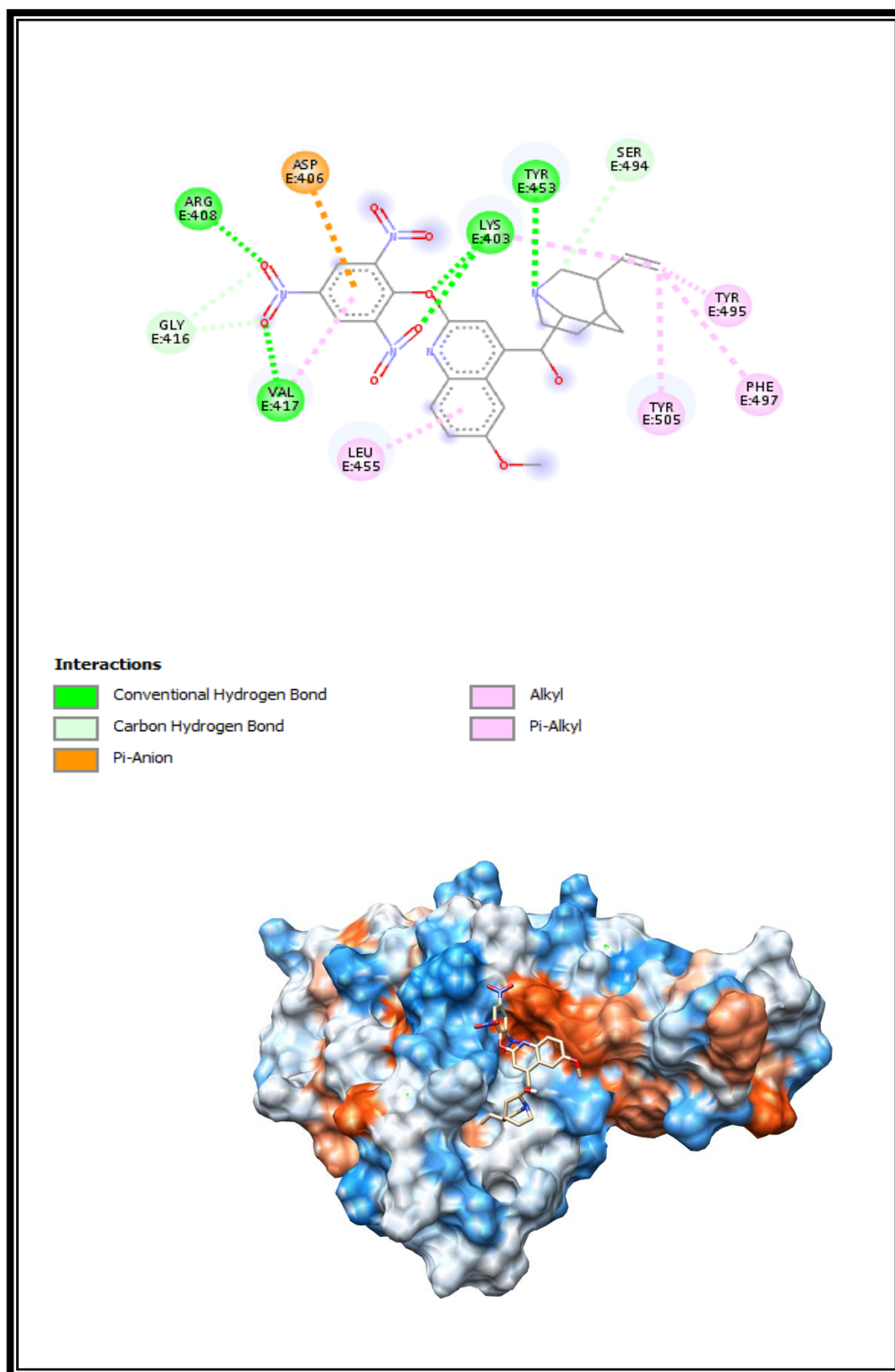


Figure 2 : Représentation d'interaction du Quinine Picrate dans le site actif de 6VW1 par UCFS Chimera et les interactions par DSV .

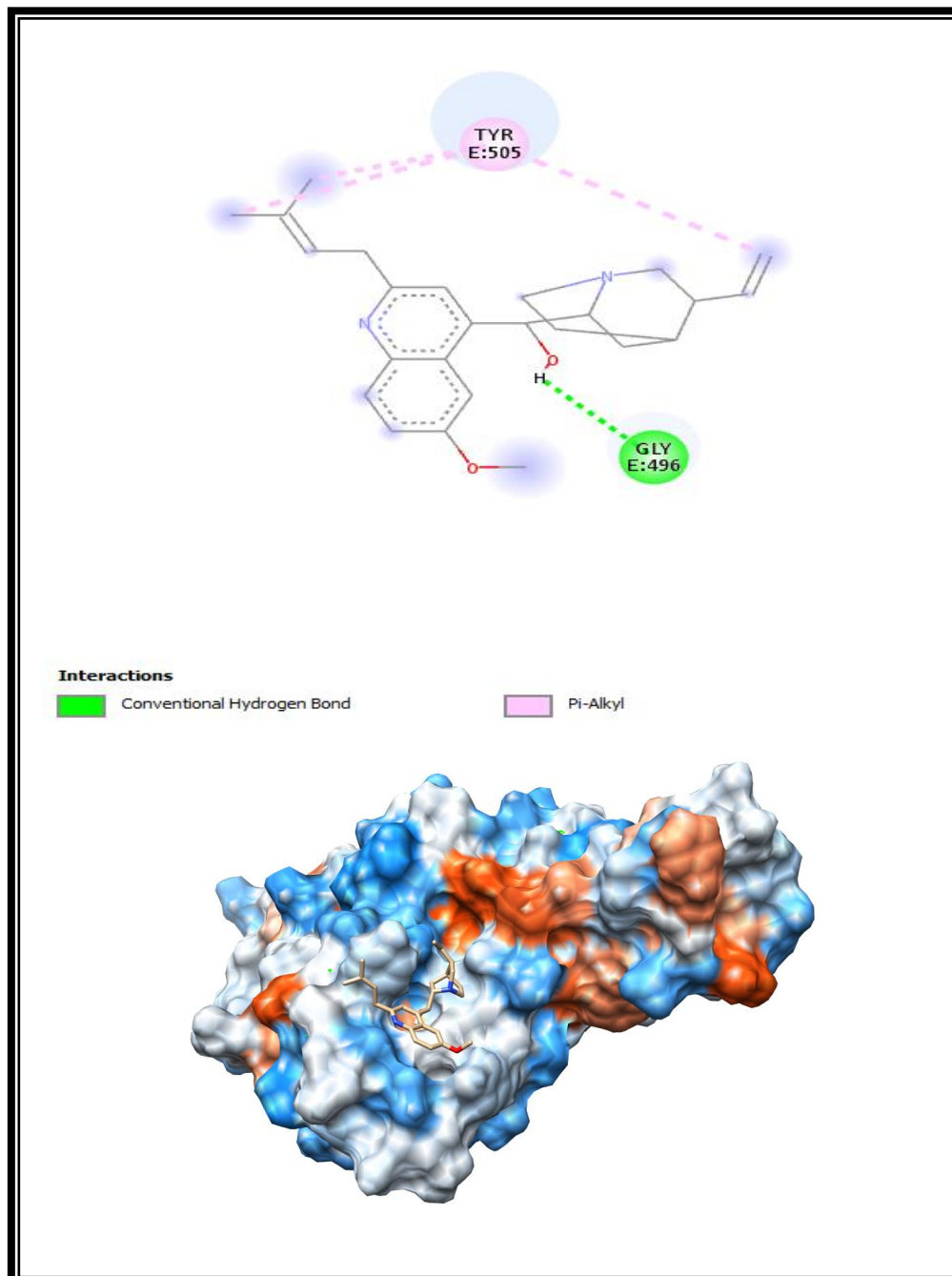


Figure 3 : Représentation d'interaction du Prenyl Quinine dans le site actif de 6VW1 par UCFS Chimera et les interactions par DSV.

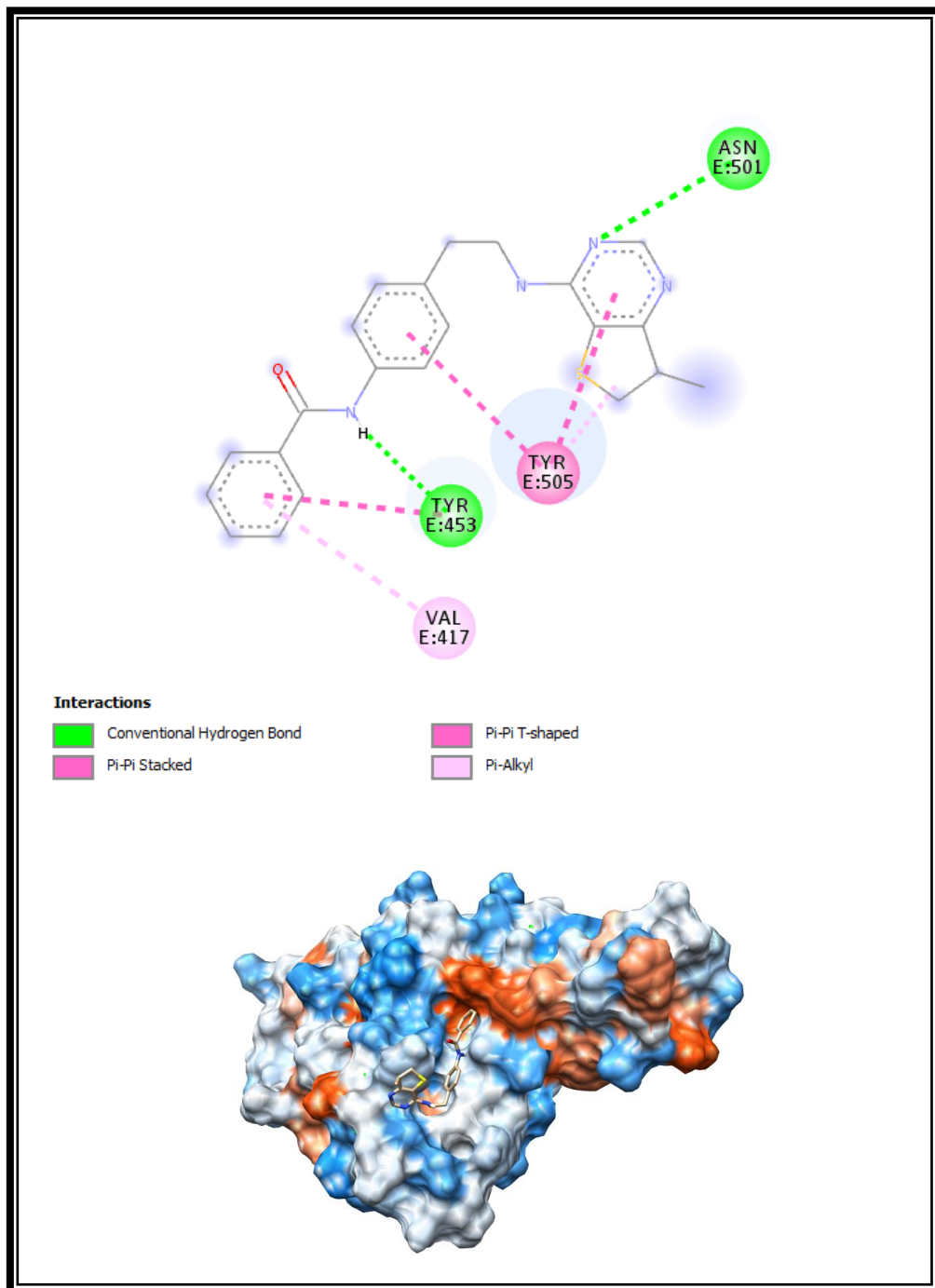


Figure 4 : Représentation d'interaction du N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino]ethyl]phenyl]benzamide dans le site actif de 6VW1 par UCFS Chimera et les interaction par DSV.

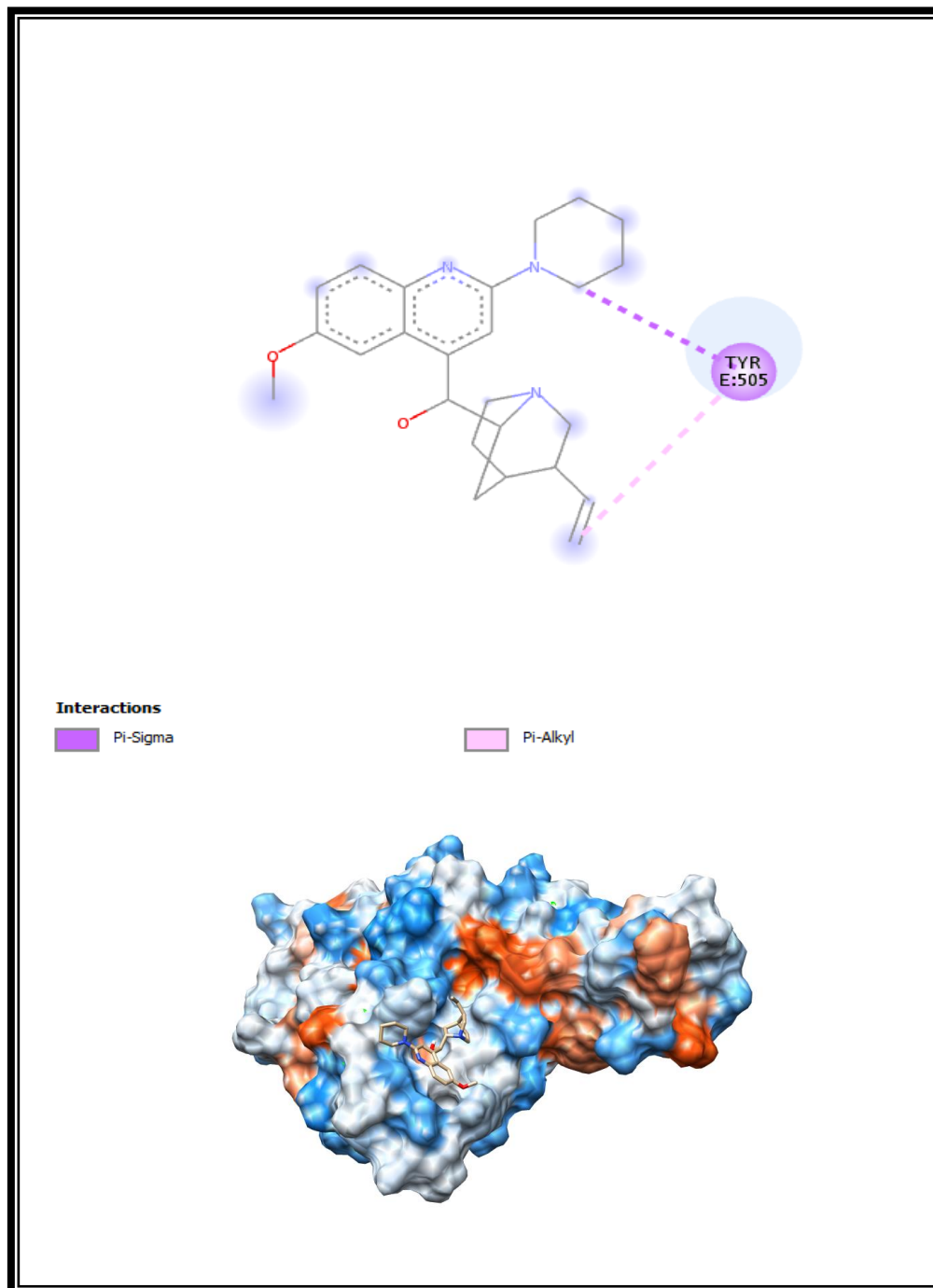


Figure 5 : Représentation d’interaction du Piperidyl-quinine dans le site actif de 6VW1 par UCFS Chimera et les interactions par DSV.

Avant d’entamer l’étude des interactions entre l’enzyme ACE2 et les 5 composés, il est nécessaire d’évaluer les paramètres permettant leur validation comme médicament.

Chaque médicament potentiel doit se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologique d’absorption, de distribution, métabolisme, d’excrétion et de toxicité (filtre ADME/Tox) (Miteva et al., 2006). [10]

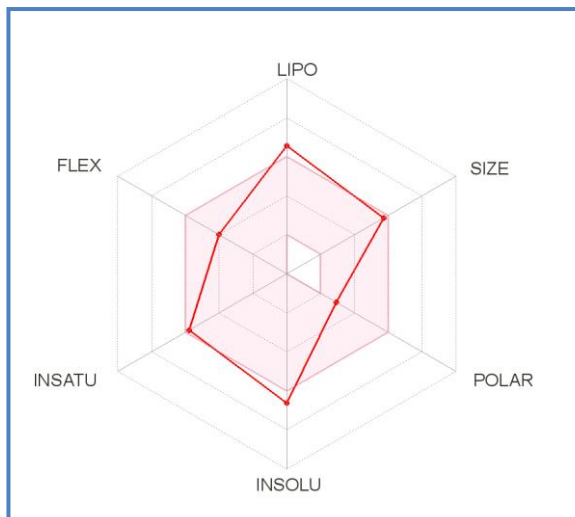
L'étude a été complétée par l'application de la règle de 5 de lipinski énoncée en 1997 par Christopher Lipinski, sur la nouvelle molécule. Cette règle décrit les propriétés physico chimiques dun composé, doit se conformer des barèmes associer à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité[77] repose sur cinq propriétés physico-chimiques qui sont :

- Pas plus de 5 obligations d'hydrogene donateurs (groupes de l'OHet de NH) (n.OH/NH).
- Pas plus de 10 accepteurs d'obligation d'hydrogene (notamment N et O). (n.ON).
- Un poids moléculaire au-dessous de 500 (PM).
- Le coefficient de partition octanol/eau (LogP) au-dessous de 5.
- Le nombre de liaisons rentables est inférieur à 15 (n.LF). [11]

TableauII : le profil ADMET relative des 5 compés candidats obtenus a partir de serveur SwissADMEet leur scores

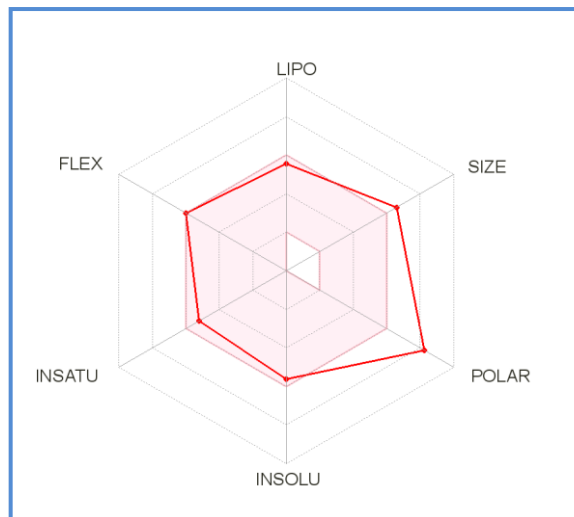
Ligand	PM g/mol	Xlog P3	Log S	GI Absorbtion	Nombre H bond accepter	Fraction CSP3	TPSA (Å)
70687788	476,6	6,00	-6,63	Elvée	4	0,28	45,59
129641851	551,5	4,23	-5,63	Faible	11	0,35	192,28
129715923	392,5	4,84	-5,18	Elvée	4	0,48	45,59
70966150	390,5	4,22	-4,93	Elvée	3	0,23	92,21
129848797	407,5	4,18	-4,92	Elvée	4	0,56	48,83

Le tableau montre que parmi les cinq conditions de la règle de lipianski, deux ne respectent pas la règle. Ils s'agit de la Quinine Picrate l'accepteur hydrogène dont le nombre est égal à 11 alors que le maximum est fixé à 10 et logP chez 11-Biphenyl-Quinine est égal à 6 alors que le maximum est fixe à 5. Et Prenyl Quinine ; N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino]ethyl]phenyl] benzamide ; Piperidyl-quinine répondent aux règles de Lipinski, ce qui indique que ces composés peuvent être administrés par vois orale sans poser de problème. Cependant nous avons noté une forte solubilité de ces composés dans l'eau ainsi qu'un LogP inferieur a 5 ceci démontre le caractère hydrophile de nos composés.



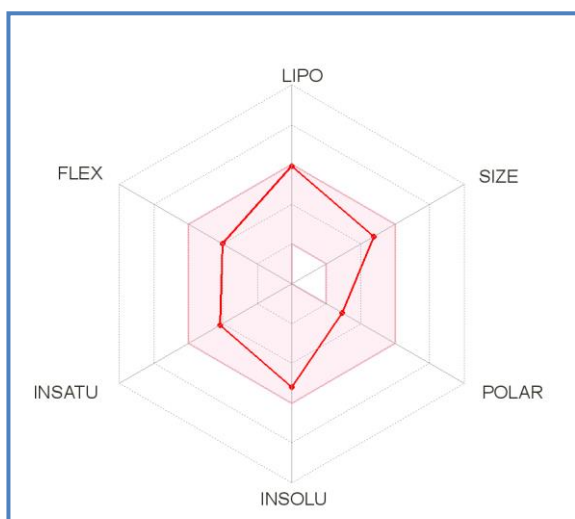
11-Biphenyl-Quinin

Code : 70687788



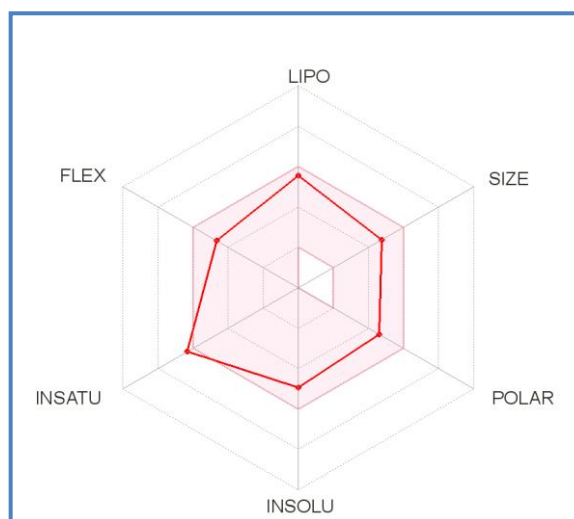
Quinine Picrate

Code : 129641851



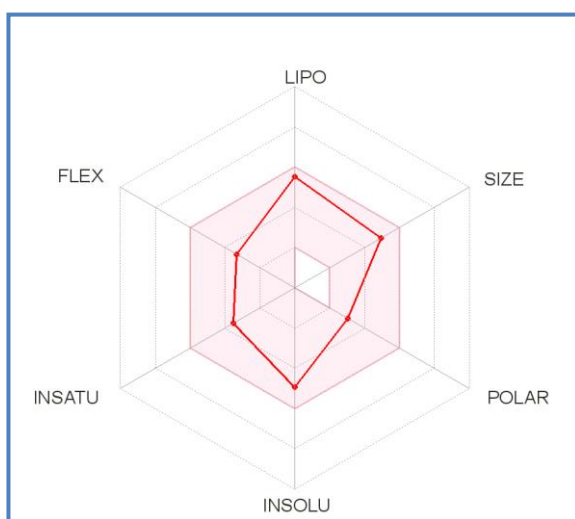
Prenly Quinine

Code : 129715923



**N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno
[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino]ethyl]phenyl]benzamide**

Code : 70966150



Piperidyl-quinine

Code : 129848797

Figure 06 : Diagrammes des 5 meilleurs composés selon la règle de Lipinski (à partir du serveur Swiss ADME)

3. Conclusion :

Un bon candidat médicament doit être rapidement et complètement absorbé par voie gastro-intestinale, distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps, métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages

Dans notre travail, à l'aide du serveur SwissADME, Nous avons trouvé que parmi les 5 Inhibiteurs il y a 3 qui portent un GI absorption très élevés. Ce qui indique que ces composés sont capables de traverser la barrière gastro-intestinale pour accéder au sang.

A la lumière de ce travail, nous pouvons postuler que les composés **Prenyl Quinine ; N-[4-[2-[(7-Methyl-6,7-dihydrothieno [3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino]ethyl]phenyl]benzamide ; Piperidyl-quinine** possèdent avec un bon bon un profil ADME et un pouvoir inhibiteur potentiellement élevé envers la cible, et peuvent par conséquent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de l'ACE2 pour le traitement de CoV-19.

Références bibliographiques :

- [1] Siatka, Christian, and Philippe Berta. "Le virus SARS-CoV-2 et la maladie Covid-19: données moléculaires." *Salles Propres* (2020).
- [2] Fernandes, Jason D., et al. "The UCSC SARS-CoV-2 genome browser." *Nature genetics* 52.10 (2020): 991-998.
- [3] Verdecchia, Paolo, et al. "The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection." *European journal of internal medicine* 76 (2020): 14-20.
- [4] Plante, Jessica A., et al. "Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness." *Nature* 592.7852 (2021): 116-121.
- [5] Galloway, Summer E., et al. "Emergence of SARS-CoV-2 b. 1.1. 7 lineage—united states, december 29, 2020–january 12, 2021." *Morbidity and Mortality Weekly Report* 70.3 (2021): 95.
- [6] Wang, Pengfei, et al. "Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B. 1.351 and B. 1.1. 7." *Nature* 593.7857 (2021): 130-135.
- [7] McCallum, Matthew, et al. "SARS-CoV-2 immune evasion by the B. 1.427/B. 1.429 variant of concern." *Science* (2021).
- [8] Noh, Ji Yun, Hye Won Jeong, and Eui-Cheol Shin. "SARS-CoV-2 mutations, vaccines, and immunity: implication of variants of concern." *Signal Transduction and Targeted Therapy* 6.1 (2021): 1-2.
- [9] Merzoug, Amina. "Etude in silico de l'inhibition de la peptide déformylase." (2012).
- [10] BOUCHERIT, H., et al. "L'AMARRAGE MOLECULAIRE: UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LUTTER CONTRE LE DEVELOPPEMENT DE LA TUBERCULOSE." *Review of Industrial Microbiology Sanitary and Environnemental* 7.2 (2013): 133-149.
- [11] Larbi, Abdallah Chaouche Med. "Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des alcaloïdes dans l'inhibition de la télomérase par docking moléculaire."