



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes, des Sciences De La Nature et de La Vie
Département des Sciences de la Matière

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la matière
Filière : Chimie
Spécialité : Chimie pharmaceutique

Réf. : /

Présenté et soutenu par :

Yagoub kelthoum

Le :10/06/2024

Identification des inhibiteurs naturels de la protéine Neuraminidase du virus de la grippe par Docking moléculaire

Jury :

Ouassaf	Mebarka	M.C.A	Universite Mohammed Khider de BISKRA	Rapporteur
Daoud	Ismail	Prof	Universite Mohammed Khider de BISKRA	Président
Melkmi	Nadjib	Prof	Universite Mohammed Khider de BISKRA	Examineur

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Remercions tout d'abord le Tout-Puissant pour nous avoir accordé la santé et la volonté nécessaires pour mener à bien ce mémoire.

Ce travail n'aurait pu voir le jour sans l'indispensable soutien et l'encadrement du Dr Ouassaf Mebarka , à qui je suis reconnaissant pour son encadrement exceptionnel, sa patience, sa rigueur et sa disponibilité tout au long de la préparation de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont également aux membres du jury, Prof ,Daoud Ismail et Prof, Melkmi Nadjib , pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'évaluer mon travail et de le enrichir de leurs remarques constructives.

Un grand merci à tous les enseignants du département des sciences de la matière pour la qualité et la richesse de leur enseignement, ainsi que pour les efforts considérables qu'ils déploient afin d'offrir aux étudiants une formation actualisée.

je ne saurais oublier de remercier mes parents et mes sœurs , véritables piliers de ma vie, dont les prières et les encouragements m'ont permis de surmonter tous les obstacles sur mon chemin.

Enfin, Je voudrais exprimer ma gratitude à ma famille, en particulier à mon oncle Toufik, qui a été très présent à mes côtés

Dédicace

Du fond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

À mon cher père Kamel Yagoub ,

Je dédie ce travail à mon très cher père pour avoir été à mes côtés en tout temps, pour son travail et sa protection envers nous. Je le remercie pour tout le soutien et l'amour qu'il m'a donné. Tous les mots de gratitude et d'appréciation ne suffisent pas à remercier mon cher père. J'espère que Dieu le protégera et lui accordera une longue vie.

À ma chère mère Gazala Chacheb ,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous m'avez porté 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. Puisse Dieu, le Très-Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

À mes chères sœurs Mouna, Maroua, Dounia, Safa, et et ma petite Nadia

À mes chères amies proches, Dounia, Meriem, Nada,

Rayane, Ikram, Sonia, Layene, Assil, et Mini .

*À tous mes collègues de promotion de 2ème année Master en Chimie
Pharmaceutique,*

À tous mes amis et ma famille.

Yagoub kelthoum

Résumé

La grippe, ou influenza, est une infection virale respiratoire causée par des virus de la famille des Orthomyxoviridae. Les symptômes typiques incluent de la fièvre, des frissons, des maux de tête, des courbatures, une toux sèche, une fatigue intense et des douleurs musculaires

La protéine neuraminidase, une composante clé du virus, joue un rôle crucial dans sa réplication et sa propagation dans l'organisme humain. En conséquence, cette protéine représente une cible majeure pour le développement de médicaments antiviraux visant à lutter contre l'infection.

Pour la découverte de nouveaux traitements potentiels contre le virus la grippe, la méthode de Docking Moléculaire, utilisant le logiciel Schrödinger, a été employée dans cette étude. Cette approche a permis d'appliquer le criblage de 2175 composés naturels en se focalisant sur le site actif de la protéine neuraminidase (4ks2).

Parmi ces composés, seuls 7 composés ont démontré une affinité supérieure à celle du composé de référence (1SJ), avec un score inférieur à -9.047 kcal/mol. Pour évaluer les propriétés DRUG-LIKENESS et pharmacocinétiques (ADME-Tox) des candidats, des serveurs Web tels que SwissADME et pkCSM ont été utilisés. Ces analyses ont suggéré que trois composés (L5, L6, L7) pourraient représenter des candidats prometteurs en tant qu'inhibiteurs potentiels de la protéine neuraminidase ((4ks2) pour le futur.

Mots clés: Protéine neuraminidase, Docking moléculaire, Virus la grippe, DRUG-LIKENESS, ADME-Tox.

Summary

Influenza, or the flu, is a viral respiratory infection caused by viruses from the Orthomyxoviridae family. Typical symptoms include fever, chills, headache, body aches, dry cough, intense fatigue, and muscle pain. The neuraminidase protein, a key component of the virus, plays a crucial role in its replication and spread within the human body. Consequently, this protein represents a major target for the development of antiviral drugs to combat the infection.

For the discovery of potential new treatments against the flu virus, the Molecular Docking method, utilizing Schrödinger software, was employed in this study. This approach enabled the virtual screening of 2175 natural compounds, focusing on the active site of the neuraminidase protein (4ks2). Among these compounds, only 7 demonstrated a higher affinity than the reference compound (1SJ), with a score lower than -9.047 kcal/mol. To assess the DRUG-LIKENESS and pharmacokinetic properties (ADME-Tox) of the candidates, web servers such as SwissADME and pkCSM were used. These analyses suggested that compounds (L5, L6, L7) could represent promising candidates as potential neuraminidase protein inhibitors (4ks2) for the future.

Keywords: Neuraminidase protein, Molecular docking, Influenza virus, DRUG-LIKENESS, ADME-Tox.

ملخص

الإنفلونزا، هي عدوى فيروسية تنفسية تسببها فيروسات من عائلة Orthomyxoviridae. الأعراض النموذجية تشمل الحمى، والرعشة، والصداع، وآلام العضلات، وسعال جاف، وتعب شديد، وآلام عضلية. يعتبر بروتين neuraminidase، مكون رئيسي للفيروس، يلعب دوراً حاسماً في استنساخه وانتشاره في الجسم البشري. ونتيجة لذلك، يُمثل هذا البروتين هدفاً رئيسياً لتطوير أدوية مضادة للفيروسات تستهدف مكافحة العدوى. لاكتشاف علاجات جديدة محتملة ضد فيروس الإنفلونزا، تم استخدام طريقة Docking Moléculaire باستخدام برنامج Schrödinger في هذه الدراسة. سمح هذا النهج بتحديد افتراضي لـ 2175 مركباً طبيعياً مع التركيز على الموقع النشط لبروتين neuraminidase (4ks2) من بين هذه المركبات. أظهر 7 فقط تأثيراً أقوى من المركب المرجع (1SJ)، بدرجة أقل من -9.047 كيلو كالوري/مول. لتقييم خصائص DRUG-LIKENESS والصيدلانية (ADME-Tox) للمرشحين، تم استخدام خوادم الويب مثل SwissADME و pkCSM. أشارت هذه التحاليل إلى أن المركبات (L5, L6, L7) قد تكون مرشحات مُحتملة كمثبطات مستقبل neuraminidase (4ks2) في المستقبل.

الكلمات الرئيسية: بروتين neuraminidase، Docking moléculaire، فيروس الإنفلونزا.

ADME-Tox. DRUG-LIKENESS

Table des matières

Remerciements.....	2
Dédicace.....	1
Introduction Générale.....	1

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

1. Introduction.....	5
2. Historique de virus de la grippe.....	5
3. La structure de Verus la grippe.....	6
4. Caractéristiques et classifications	7
4.1 Caractéristique.....	7
4.2 Classifications.....	7
5. Cycle biologique du virus.....	8
5.1 Entrée du virus dans la cellule hôte.....	8
5.2 Libération des ribonucléoprotéines virales (RN Pv) dans le cytoplasme	8
5.3 Transport des RN Pv dans le noyau cellulaire	8
5.4 Transcription et réplication du génome viral.....	8
5.5 Assemblage, bourgeonnement et libération des particules virales	8
6. Protéine neuraminidase	9
6.1 Définition	9
6.2 Structure.....	9
6.3 L'activité enzymatique de la neuraminidase.....	10
6.4 Inhibition naturellement de l'enzyme neutramidase	11
7. Les médicaments de virus de la grippe	16
7.1 Le zanamivir	16
7.2 L'oseltamivir.....	17
7.3 Le peramivir	18
Références bibliographiques.....	19

CHAPITRE II: Méthodes de criblage virtuel

.1 Introduction	26
2. Cribage virtuel	26
2.1 Definition	26
2.2 But du criblage virtuel	27
2.3 Les stratégies de criblage virtuel.....	28
3. Le Docking moléculaire.....	29

3.1	Principe.....	30
3.2	Les méthodes de Docking moléculaire	31
3.5	Les étapes de Docking moléculaire	34
3.6	Logiciels de Dockings moléculaire	36
4.	Les paramètres de "DRUG-LIKNES"	37
4.1	Règle de LIPINSKI.....	37
4.2	Règle de VEBER	37
5.	Filtres ADME-Tox.....	38
5.1	Absorption	38
5.2	Distribution	39
5.3	MÉTABOLISME	40
5.4	Elimination	41
	Références bibliographiques	45

CHAPITRE III: Matériels et Méthodes

1.	Introduction.....	53
2.	Matériel et outils utilisés.....	53
2.1	Micro-ordinateur.....	53
2.2	Banques de données et logiciels	53
3.	Methodologies des calculs.....	57
3.1	Preparations des ligands.....	58
3.2	Préparation de la protéine.....	58
3.3	Détection de cavité	59
3.4	Simulation de Docking moléculaire	60
3.5	Prédiction les propriétés moléculaires des ligands	60
3.6	Prédictions ADME-Tox propriétés	61
	Références bibliographiques	62

Chapitre IV: Résultats et Discussion

1.	Introduction.....	66
2.	Résultats et discussion	66
2.1	Résultats de Dockings moléculaires.....	66
2.2	Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS)	83
2.3	Résultats des filtres ADME-Tox	85
2.4	La chimie médicinale	91
	Références bibliographiques	91
	CONCLUSION GENERALE.....	93

Liste des tableaux

	Page
CHAPITRE I	
CHAPITRE II	
CHAPITRE III	
Tableau III.1 Donnés cristallographiques	59
CHAPITRE IV	
Tableau IV.1 Scores Les Meilleurs Composés Dans L'étude De Docking Moléculaire.	68
Tableau IV.2 Les différentes interactions ligands-Protéines.	70
Tableau IV.3 Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS)	83
Tableau IV.4 Les résultats de l'Absorption.	86
Tableau IV.5 Les résultats de Distribution.	87
Tableau IV.6 Les résultats de Métabolisme.	89
Tableau IV.7 Les résultats de l'Elimination	89
Tableau IV.8 Les résultats de Toxicité.	90
Tableau IV.9 La chimie médicinale	91

Liste des Figures

Page

CHAPITRE I

Figure I.1: La structure du virus influenza détaillant ses protéines de surface et le génome	6
Figure I.2 Schéma du cycle d'infection des virus influenza de type A	9
Figure I.3 Structure de la neuraminidase	10
Figure I.4 L'interaction entre les résidus du site actif de la NA avec l'acide sialique.	11
Figure I. 5 The vert	12
Figure I. 6 Ginseng	12
Figure I.7 Curcuma	13
Figure I. 8 Propolis	14
Figure I.9 Thymus	14
Figure I.10 Le clou de girofle	15
Figure I.11 La cannelle	15
Figure I.12 Feuilles Verbena officinalis	16
Figure I.13 La structure de <u>Le zanami vir</u>	17
Figure.14 La structure de L'oseltamivi	18
Figure I.15 La structure de Le perami vir	18

CHAPITRE II

Figure II.1 criblage virtuel in silico .	26
Figure II.2 Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand-based » et « structurebased »	28
Figure II.3 Représentation schématique du Docking de deux molécules.	30
Figure II.4 Les interactions de Van der Waals	33
Figure II.5 Les liaisons hydrogène.	33
Figure II.6: Les interactions électrostatiques	34
Figure II.7: Les étapes impliquées dans la mécanique du docking moléculaire	35
Figure II.8 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase d'absorption	39
Figure II.9 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase de distribution	40

CHAPITRE III

Figure III.1 L'interface du site Protein Data Bank	54
Figure III. 2 L'interface du site NPASS	54
Figure III.3 L'interface du logiciel Schrödinger suite.	55
Figure III.4 Interface du logiciel Discovery Studio.	56
Figure III.5 L'interface du site pkCSM.	56
Figure III.6 L'interface du site SwissADME.	57
Figure II.7 La méthodologie de notre travail.	57
Figure III.8 Structure 3D de la protéine 4ks2 préparé.	59
Figure III.9 La cavité choisie de la protéine4ks2.	60

CHAPITRE IV

Figure IV.1 L'interface du site Protein Data Bank	67
Figure IV.2 Interactions entre le ligand de référence et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 2D)	71
Figure IV.3 Interactions entre le ligand de référence et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 3D).	71
Figure IV.4 Interactions entre le ligand L1 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 2D).	73
Figure IV.5 Interactions entre le ligand L2 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 3D).	73
Figure IV.6 Interactions entre le ligand L2 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 2D).	74
Figure IV.7 Interactions entre le ligand L2 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 3D).	75
Figure IV.8 Interactions entre le ligand L3 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 2D).	76
Figure IV.9 Interactions entre le ligand L3 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 3D).	76
Figure IV.10 Interactions entre le ligand L4 et les résidus de enzyme 4ks2 (structure 2D).	77
Figure IV.11 Interactions entre le ligand L4 et les résidus de enzyme 4ks2 (structure 3D).	78
Figure IV.12 Interactions entre le ligand L5 et les résidus de enzyme 4ks2 (structure 2D).	79
Figure IV.13 Interactions entre le ligand L5 et les résidus de enzyme 4ks2 (structure 3D).	79
Figure IV.14 Interactions entre le ligand L6 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 2D).	80
Figure IV.15 Interactions entre le ligand L6 et les résidus de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).	81
Figure IV.16 Interactions entre le ligand L7 et les résidus de l'enzyme 4ks2 e (structure 2D).	82
Figure IV.17 Interactions entre le ligand L7 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).	82

Liste des abréviations

2D : Deux dimensionnelle

3D : Trois dimensionnelle

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisation et Excrétion

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

ASP : Acide Aspartique.

ALA : Alanine.

ARN : Acide ribonucléique

ARG : Arginine

BBB : Blood-Brain Barriere (barrière hémato-encéphalique).

Caco2: Carcinome colorectal humain 2.

CADD: Combined Annotation Dependent Depletion.

ChAd3: Chimpanzee Adenovirus 3.

CYP1A2: Cytochrome P450 1A4.

CYP2C19: Cytochrome P450 2C19.

CYP2C9: Cytochrome P450 2C9.

CYP2D6: Cytochrome P450 2D6.

CYP3A4: Cytochrome P450 3A4.

CYP : L'enzyme CYtochromes P 450.

CYS : Cystéine.

GLN : Glutamine.

GLY : Glycine.

GLU : Acide Glutamique.

HIS: Histidine.

LD50 : La dose létale médiane.

LBVS: Ligand-based virtual screening.

LEU : Leucine.

LYS: Lysine.

Na : Neuraminidase

NV : Nombre de Violation

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

PDB : La banque de données.

P-gp : Glycoprotéine P.

QSAR: Quantitative Structure-Activity Relationship.

RMN: Résonance magnétique nucléaire.

RMSD: Root Mean Square Deviation.

SB : Structure Based.

SER : Sérine.

SNC : Système Nerveux Central.

SP: Standard Precision.

SBVS: Structure-based virtual screening.

SMILE: Simplified Molecular-Input Line-Entry.

THR: Threonine.

TPSA: Topological Polar Surface Area.

UMA: Unité de Masse Atomique.

Vds: Volume de distribution.

VAL : Valine

VDW : Van Der Waals

XP: Extra Precision.

Introduction Générale

La grippe demeure une menace persistante pour la santé publique mondiale, avec la capacité de causer des épidémies saisonnières récurrentes et des pandémies occasionnelles. L'un des principaux agents pathogènes responsables de la grippe est le virus de la grippe, qui présente une variabilité génétique considérable, rendant souvent inefficaces les vaccins et les médicaments antiviraux existants. Dans ce contexte, la recherche de nouveaux agents antiviraux, en particulier ceux ciblant des protéines virales essentielles, revêt une importance cruciale. [1].

La neuraminidase (NA) est une enzyme virale clé présente à la surface du virus de la grippe, jouant un rôle essentiel dans le processus de réplication virale en libérant les virions nouvellement formés des cellules hôtes infectées. En tant que cible thérapeutique, l'inhibition de la neuraminidase offre une approche prometteuse pour le développement de nouveaux médicaments antiviraux. [2]

La quête de nouveaux médicaments antiviraux s'accompagne d'un intérêt croissant pour les composés naturels en raison de leur diversité chimique et de leur historique d'utilisation dans la médecine traditionnelle. Les composés naturels dérivés de plantes, de micro-organismes et d'autres sources biologiques offrent souvent une palette riche en molécules bioactives possédant une variété de mécanismes d'action pharmacologique. De plus, les organismes vivants ont évolué pour synthétiser des composés bioactifs capables de répondre à divers stimuli environnementaux, ce qui en fait une source précieuse de molécules médicamenteuses potentielles. [3]

En particulier, les composés naturels peuvent présenter plusieurs avantages par rapport aux molécules synthétiques, notamment une meilleure biodisponibilité, une réactivité biologique accrue et une toxicité réduite. Leur origine biologique peut également faciliter leur intégration dans les processus de régulation métabolique et d'interaction avec les systèmes biologiques, ce qui peut se traduire par une meilleure tolérance et une réduction des effets indésirables. [4]

Dans cette étude, nous nous sommes concentrée sur l'identification d'inhibiteurs naturels de la neuraminidase du virus de la grippe, en utilisant une approche intégrée combinant le docking moléculaire, l'évaluation ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) et l'analyse de druglikeness. Le Docking moléculaire est une technique informatique puissante qui permet de prédire l'interaction entre une petite molécule (ligand) et une protéine

cible (récepteur), fournissant ainsi des informations précieuses sur le potentiel d'inhibition des composés candidats [5]. L'évaluation ADMET est essentielle pour évaluer la viabilité pharmacocinétique et toxicologique des candidats médicamenteux potentiels, tandis que l'analyse de druglikeness vise à évaluer la similitude des composés avec les caractéristiques des médicaments existants [6].

En combinant ces approches, nous visons à identifier des composés naturels présentant à la fois une forte affinité de liaison avec la neuraminidase, une bonne pharmacocinétique et une faible toxicité, tout en maintenant des propriétés pharmacologiques similaires à celles des médicaments existants. Cette approche rationnelle pourrait conduire à la découverte de nouveaux agents antiviraux prometteurs pour le traitement de la grippe, offrant ainsi de nouvelles perspectives dans la lutte contre cette maladie infectieuse débilitante.

La présentation générale de notre travail est structurée comme suit :

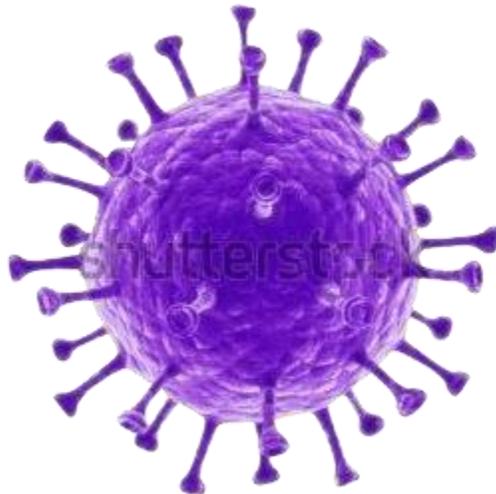
- Introduction générale : nous donnons un aperçu du virus de la grippe et définissons l'objectif de notre étude.
- Chapitre I : nous présentons des informations générales sur le virus de la grippe, y compris sa structure, son mode de répllication virale et les vaccins existants.
- Chapitre II : nous décrivons les différentes méthodes de criblage virtuel, en mettant particulièrement l'accent sur le Docking moléculaire.
- Chapitre III : nous exposons les méthodes et matériels utilisés dans notre étude, en détaillant les méthodologies et les logiciels employés.
- Chapitre IV : nous présentons nos résultats principaux et discutons de leur pertinence et de leur interprétation.
- Conclusion générale : nous synthétisons le travail effectué et exposons nos perspectives pour de futures recherches dans ce domaine.

Références bibliographiques

1. Bailey, E. S.; Choi, J. Y.; Fieldhouse, J. K.; Borkenhagen, L. K.; Zemke, J.; Zhang, D.; Gray, G. C. The Continual Threat of Influenza Virus Infections at the Human–Animal Interface. *Evol Med Public Health* **2018**, *2018* (1), 192–198. <https://doi.org/10.1093/emph/eoy013>.
2. Shtyrya, Y. A.; Mochalova, L. V.; Bovin, N. V. Influenza Virus Neuraminidase: Structure and Function. *Acta Naturae* **2009**, *1* (2), 26–32.
3. Chaachouay, N.; Zidane, L. Plant-Derived Natural Products: A Source for Drug Discovery and Development. *Drugs and Drug Candidates* **2024**, *3* (1), 184–207. <https://doi.org/10.3390/ddc3010011>.
4. Bontempo, P.; De Masi, L.; Rigano, D. Functional Properties of Natural Products and Human Health. *Nutrients* **2023**, *15* (13), 2961. <https://doi.org/10.3390/nu15132961>.
5. Torres, P. H. M.; Sodero, A. C. R.; Jofily, P.; Silva-Jr, F. P. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *Int J Mol Sci* **2019**, *20* (18), 4574. <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>.
6. Dulsat, J.; López-Nieto, B.; Estrada-Tejedor, R.; Borrell, J. I. Evaluation of Free Online ADMET Tools for Academic or Small Biotech Environments. *Molecules* **2023**, *28* (2), 776. <https://doi.org/10.3390/molecules28020776>.

Chapitre I :

Généralités sur la grippe



CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

1. Introduction

La grippe, également connue sous le nom d'influenza, est une maladie virale respiratoire contagieuse qui affecte chaque année des millions de personnes à travers le monde. Son agent pathogène principal est le virus de la grippe, une entité microscopique dotée d'une capacité redoutable à se propager rapidement et à provoquer des épidémies saisonnières [1]. Ce virus présente une grande diversité génétique, ce qui rend son contrôle et son traitement particulièrement complexes [2]. Dans ce chapitre, nous explorerons les caractéristiques essentielles du virus de la grippe, ses différentes souches, son mode de transmission et les défis posés par sa prévention et son traitement [3].

2. Historique de virus de la grippe

Le terme "influenza" (de l'italien "influence") a été utilisé pour la première fois au XIV^e siècle à Florence. Cette expression reflète l'idée d'une influence des astres et du froid, soulignant ainsi le caractère saisonnier de l'affection. Par ailleurs, l'étymologie du mot français "grippe" pourrait provenir de l'allemand "grippen", signifiant saisir brusquement. L'histoire des pandémies grippales a été de mieux en mieux documentée au fil des années. La première pandémie a été enregistrée en 1850, et depuis lors, 31 pandémies ont été répertoriées. [4]. À partir de la fin du XVIII^e siècle, cinq pandémies grippales sont identifiées et documentées comme telles. Par exemple, les pandémies de 1729-1733 et de 1781-1782 sont à mentionner. Le XIX^e siècle a connu trois pandémies, en 1830-1833, 1889-1891, puis une particulièrement grave en 1898-1900. L'activité grippale a ensuite diminué jusqu'à la tristement célèbre "grippe espagnole" en 1918. Au cours du XX^e siècle, les connaissances sur la grippe se sont améliorées : distinction entre épidémies saisonnières et pandémies, identification de l'agent étiologique viral par Richard E. Shope en 1920, puis isolement du virus influenza de type A humain par Wilson Smith, Christopher Andrews et Patrick Laid Law en 1933. Les virus influenza de type B ont été isolés en 1940, de type C en 1947 et de type D plus récemment, en 2011 [5]. Malgré les progrès significatifs dans notre compréhension des virus de la grippe, ils continuent de poser un fardeau humain considérable, ainsi qu'un impact économique significatif. Une étude a estimé qu'en moyenne, chaque saison grippale coûte 87 milliards de dollars aux États-Unis. Ce chiffre englobe les divers coûts médicaux ainsi que les journées d'absence au travail.

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

3. La structure de Verus la grippe

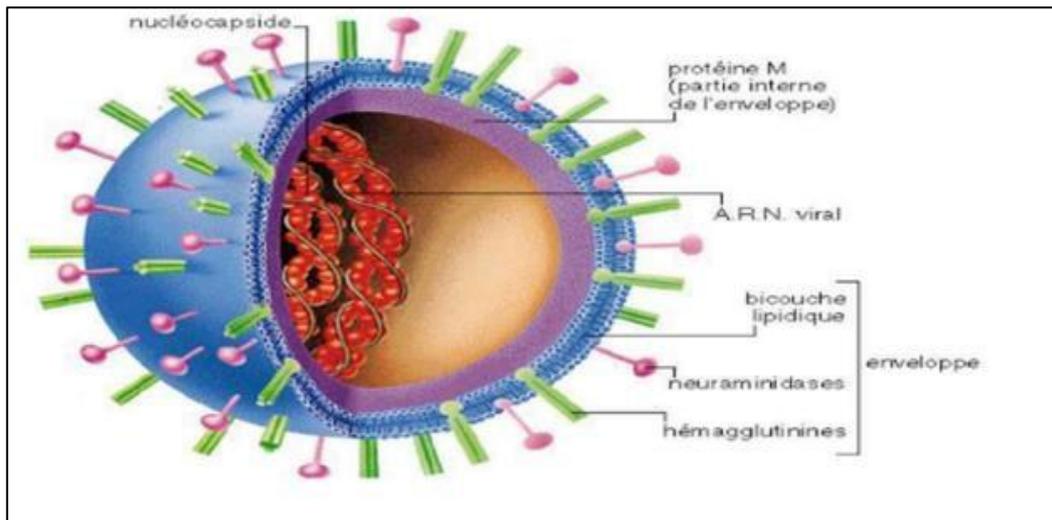


Figure I .1: La structure du virus influenza détaillant ses protéines de surface et le génome segmenté

La structure du virus de la grippe est assez complexe et se compose de plusieurs éléments clés. Voici un aperçu de sa structure :

- **Capside protéique)protiene M(**: Le virus de la grippe est enveloppé dans une capsule protéique, appelée capsid, qui lui confère sa forme caractéristique. Cette capsid protège le matériel génétique du virus [6].
- **Enveloppe lipidique) capside protéique (**: Autour de la capsid, le virus de la grippe est enveloppé dans une membrane lipidique dérivée de la membrane de la cellule hôte lorsqu'il quitte la cellule infectée. Cette enveloppe lipidique contient des protéines virales, telles que l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA), qui jouent un rôle crucial dans l'entrée du virus dans les cellules hôtes et sa libération à partir de celles-ci[7].
- **Hémagglutinine (HA) :** L'hémagglutinine est une protéine présente à la surface du virus de la grippe. Elle est responsable de l'attachement du virus aux récepteurs des cellules hôtes, ce qui lui permet de pénétrer dans ces cellules et de les infecter [8].
- **Neuraminidase (NA) :** La neuraminidase est une autre protéine présente à la surface du virus de la grippe. Elle joue un rôle crucial dans la libération des virus nouvellement formés à partir des cellules infectées en clivant les liaisons entre le virus et les récepteurs de la cellule hôte [9].

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

- **ARN viral** : Le matériel génétique du virus de la grippe est constitué d'ARN (acide ribonucléique) à simple brin, ce qui en fait un virus à ARN. Cet ARN viral contient les instructions nécessaires à la production de nouvelles particules virales à l'intérieur des cellules hôtes infectées [10].

Ensemble, ces composants forment la structure fondamentale du virus de la grippe, lui permettant d'infecter les cellules hôtes, de se répliquer et de se propager dans l'organisme infecté[11].

4. Caractéristiques et classifications

4.1 Caractéristique

Le virus de la grippe transporte un génome à ARN simple-brin de polarité négative, composé de 8 segments variant de 900 à 2 300 bases, avec un génome total atteignant 13 500 bases. Ces segments codent pour 11 protéines [12]. La particule virale contient les 8 ARN encapsidés dans des protéines virales, entourés par une couche de protéines de matrice et enveloppés dans une membrane similaire à celle des cellules, formant une particule virale de 80 à 120 nanomètres de diamètre [13]. L'enveloppe des virus comprend deux types de protéines : l'hémagglutinine (H), qui facilite l'attachement du virion à la cellule hôte, et la neuraminidase, qui facilite le détachement des bourgeons lors de la formation des particules virales. La neuraminidase joue également un rôle dans la lyse du mucus, qui possède des propriétés antivirales [14].

4.2 Classifications

Il existe quatre types de virus grippaux : A, B, C et D. Les virus grippaux A et B circulent et provoquent des épidémies saisonnières.

- **Les virus de la grippe A** sont classés en sous-types en fonction des combinaisons de leurs protéines de surface. Actuellement, les sous-types A(H1N1) et A(H3N2) circulent chez l'homme. Le virus A(H1N1), également désigné sous la forme A(H1N1) pdm09, a causé la pandémie de 2009 et a remplacé le précédent virus A(H1N1) qui circulait avant 2009. D'après les données disponibles, seuls les virus grippaux de type A ont provoqué des pandémies [15].
- **Les virus grippaux B** ne sont pas classés en sous-types, mais peuvent être divisés en lignées. Ils appartiennent soit à la lignée B/Yamagata, soit à la lignée B/Victoria [16].

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

- **Le virus de la grippe C** est détecté moins fréquemment et les infections qu'il cause sont généralement bénignes. Il ne présente donc pas d'importance particulière pour la santé publique [17].
- **Les virus de la grippe D** affectent principalement les bovins et, selon les informations disponibles, ils ne provoquent ni infection ni maladie chez l'homme [18].

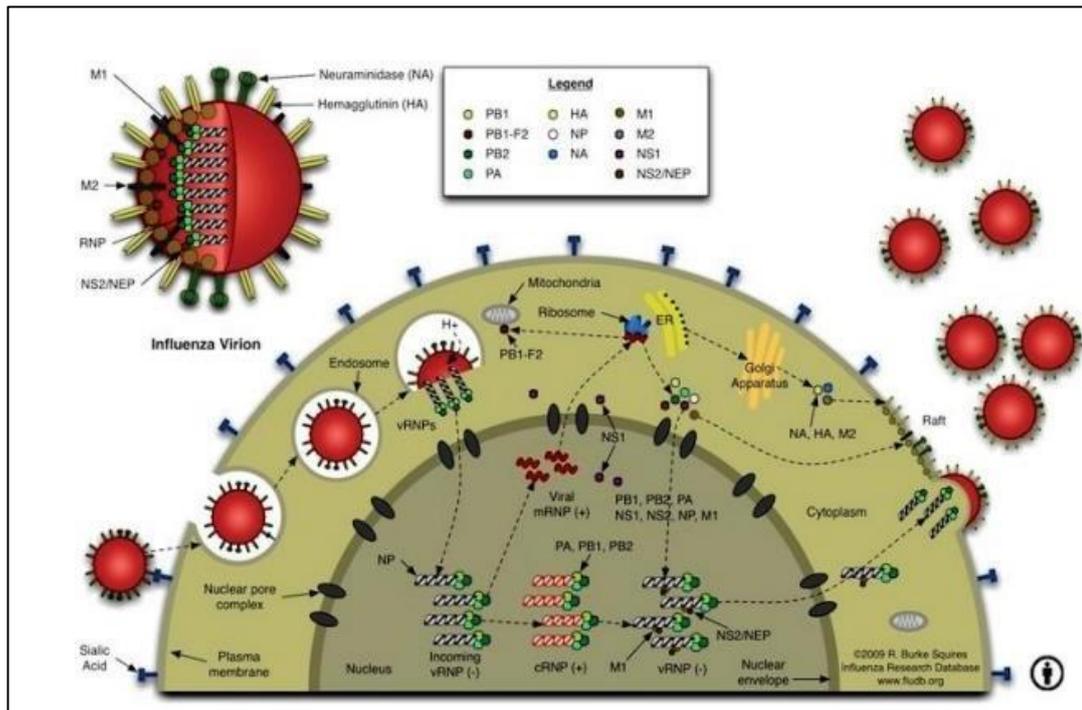
5. Cycle biologique du virus

Le cycle biologique du virus de la grippe peut être résumé en cinq étapes principales :

- **Entrée du virus dans la cellule hôte** : Le virus de la grippe se fixe aux récepteurs de la surface des cellules épithéliales du tractus respiratoire, puis pénètre dans la cellule hôte par endocytose [19].
- **Libération des ribonucléoprotéines virales (RNPv) dans le cytoplasme**: À l'intérieur de la cellule hôte, le virus libère ses RNPv dans le cytoplasme suite à la fusion de la membrane virale avec la membrane endosomale [20].
- **Transport des RNPv dans le noyau cellulaire** : Les RNPv sont transportées dans le noyau cellulaire à travers le pore nucléaire, où elles sont impliquées dans la transcription et la réplication du génome viral [21].
- **Transcription et réplication du génome viral** : Dans le noyau cellulaire, les RNPv sont responsables de la transcription et de la réplication du génome viral, produisant de nouveaux ARN messagers viraux et ARN complémentaires [22].
- **Assemblage, bourgeonnement et libération des particules virales** : Les nouveaux virions sont assemblés à la membrane cytoplasmique de la cellule hôte à l'aide de composants viraux et cellulaires. Une fois assemblés, les particules virales sont libérées de la cellule hôte et peuvent infecter de nouvelles cellules [23]. Ce cycle biologique du virus de la grippe est crucial pour sa propagation et son pouvoir

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

infectieux dans le tractus respiratoire humain.



6. Protéine neuraminidase

6.1 Définition

La neuraminidase est la deuxième glycoprotéine majeure présente à la surface du virion. C'est un homotétramère (environ 240 kDa) sous forme d'un champignon. Chaque monomère est composé de 4 régions : une queue cytoplasmique conservée [24], un domaine transmembranaire [25], une région linéaire nommée « pied », et une région globulaire, nommée « tête ». La tête globulaire (~200 kDa) s'attache au pied qui s'insère sur la membrane virale par sa région transmembranaire proche de l'extrémité N-terminale, [26].

6.2 Structure

Le traitement protéolytique de la molécule neuraminidase (du sous-type N2) permet la libération de sa tête globulaire, dont la structure tridimensionnelle a été déterminée par cristallographie aux rayons X en 1983 [27]. Cette structure est divisée en 6 parties composées principalement de feuillets à antiparallèles. Elle porte 4 sites enzymatiques (un sur chaque monomère), et 7 zones antigéniques. La poche de fixation de l'acide sialique est constituée des résidus conservés communs entre les souches du virus de type A et B (figure 1.9c) [28].

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

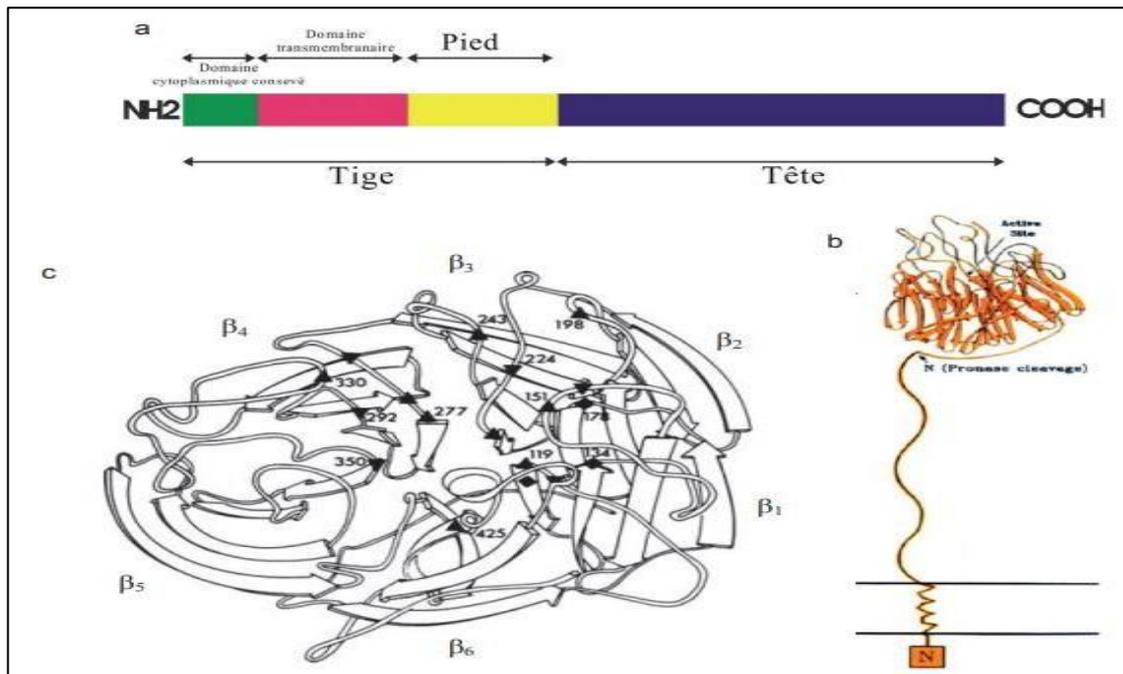


Figure I.3 Structure de la neuraminidase

a) Représentation schématique de la structure secondaire de la NA.

b) La structure monomérique de la NA.

c) Représentation schématique du monomère de la NA (sous-type N2) et ses résidus conservés autour du site actif : Ÿ Glu 119, Asp 151, Asp 198, Glu 227, Asp 243, Glu 276, Glu 277, Asp 330, Glu 425 ; ź Arg 118, Arg 152, Arg 224, His 274, Arg 292, Lys 350 ; Ć Tyr 121 (remplacé par Phe pour les virus de sous-type N1 et de type B), Leu 134, Trp 178. Source : Colman, Varghese et Laver, 1983, Nature ; Wilson et Cox, 1990, Annu Rev Biochem [29].

6.3 L'activité enzymatique de la neuraminidase, aussi appelée sialidase, est montrée par sa capacité à hydrolyser la liaison glucosidique entre l'acide sialique et le galactose voisin. Huit résidus du site actif ont une interaction directement avec le substrat : Arg 292, Glu 276, Glu 277, Glu 119, Asp 151. Son activité enzymatique est cruciale pour la propagation du virus dans l'organisme infecté.

Voici quelques aspects de son activité enzymatique :

- **Clivage des liaisons glycosidiques** : La neuraminidase agit en clivant les liaisons glycosidiques entre l'acide sialique (ou neuraminique) et d'autres molécules, ce qui permet la libération des virions nouvellement formés des cellules infectées. L'acide sialique est un sucre présent à la surface des cellules hôtes et est nécessaire à la fixation initiale du virus [31].

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

- **Prévention de l'agrégation virale :** En plus de sa fonction de libération des virions, la neuraminidase empêche également l'agrégation des particules virales à la surface des cellules infectées. Cela permet une diffusion efficace des virions dans l'environnement extracellulaire, favorisant ainsi la propagation de l'infection [32].
- **Rôle dans l'évasion immunitaire :** La neuraminidase peut également jouer un rôle dans l'évasion du système immunitaire de l'hôte. En modifiant les récepteurs de surface via le clivage de l'acide sialique, elle peut masquer les virions contre la reconnaissance par les anticorps et d'autres composants du système immunitaire, permettant ainsi au virus de se propager plus efficacement dans l'organisme[34].

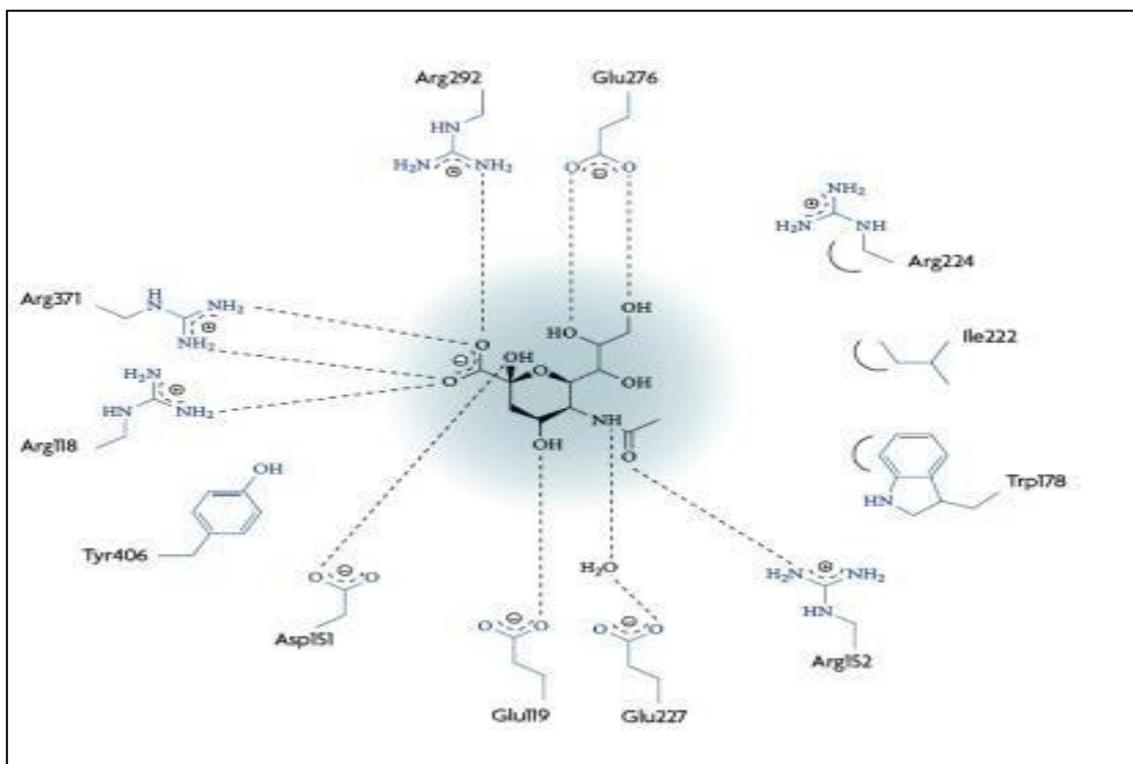


Figure I.4 L'interaction entre les résidus du site actif de la NA avec l'acide sialique.

6.4 Inhibition naturellement de l'enzyme neuraminidase

Il existe plusieurs composés naturels et stratégies qui ont été étudiés pour leur capacité à inhiber l'enzyme neuraminidase. Bien que ces inhibitions naturelles puissent être moins puissantes que les médicaments antiviraux synthétiques, elles peuvent contribuer à renforcer le système immunitaire et à atténuer les symptômes de la grippe. Voici quatre exemples :

- **Thé vert :** Le thé vert contient des catéchines, en particulier l'épigallocatechine gallate (EGCG), qui ont été étudiées pour leurs propriétés antivirales, y compris leur capacité à inhiber la neuraminidase. Des études *in vitro* ont montré que l'EGCG peut

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

réduire l'activité de la neuraminidase du virus de la grippe, ce qui peut contribuer à réduire la propagation virale[35].



Figure I. 5Thé vert

- **Ginseng** : Le ginseng est une plante utilisée en médecine traditionnelle chinoise depuis des siècles pour renforcer le système immunitaire. Des études ont montré que les extraits de ginseng peuvent inhiber l'activité de la neuraminidase du virus de la grippe, réduisant ainsi sa capacité à se propager dans l'organisme[36].



Figure I .6Ginseng

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

- **Curcuma** : La curcumine, un composé trouvé dans le curcuma, a démontré des propriétés antivirales, y compris une activité inhibitrice de la neuraminidase. Des études in vitro ont montré que la curcumine peut réduire l'activité de la neuraminidase du virus de la grippe, ce qui pourrait contribuer à atténuer les symptômes de la grippe[37].



Figure I.7 Curcuma

- **Propolis** : La propolis, une substance produite par les abeilles, est connue pour ses propriétés antimicrobiennes et antivirales. Des études ont montré que certains composés présents dans la propolis peuvent inhiber l'activité de la neuraminidase du virus de la grippe, ce qui peut contribuer à réduire la propagation virale et à atténuer les symptômes de la grippe [38].

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe



Figure. 8 Propolis

➤ Le thym

Il est reconnu pour ses propriétés anti-infectieuses, antiseptiques et détoxifiantes, utilisé sous forme de poudre ou en décoction pour traiter les refroidissements, les troubles gastriques (pancréas, digestion lente, manque d'appétit) et les affections pulmonaires (sinusite, bronchite, toux, grippe). Le *Thymus palleescens* est fréquemment employé dans la médecine populaire algérienne pour ses effets antitussifs, antiseptiques, expectorants, anti-helminthiques et antispasmodiques. *Thymus fontanesii* présente des propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antioxydantes, tandis que *Thymus lanceolatus* Desf agit comme anti-infectieux et antidiabétique, pouvant être utilisé dans le traitement des affections pulmonaires. [39].



Figure I. 9Thymus

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

➤ Le clou de girofle

il possède diverses propriétés bénéfiques, agissant comme antiseptique, carminatif, stomachique, tonocardiaque, diurétique, antibactérien, analgésique, dermocaustique, stimulant, réchauffant, révulsif et antalgique. La décoction des feuilles est utilisée pour traiter les affections urinaires, les problèmes d'estomac, l'asthme, la toux, la bronchite et la grippe par fumigation [40].



Figure I.10 Le clou de girofle

➤ .La cannelle

La cannelle offre une gamme d'activités bénéfiques, telles que ses propriétés anti-infectieuses, antibactériennes, stimulantes douces, anti-inflammatoires et antioxydantes. Elle est principalement utilisée pour atténuer les maux hivernaux tels que le rhume, la grippe, ainsi que pour soulager les problèmes digestifs tels que ballonnements, diarrhée, nausées et vomissements. De plus, la cannelle est reconnue pour son rôle naturel dans le traitement du diabète de type 2 [41].



Figure I.11 La cannelle

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

➤ Verbena officinalis

Elle appartient au genre *Verbena officinalis* et est couramment appelée verveine ou "Luisa" dans le langage vernaculaire. Utilisée dans la médecine traditionnelle, cette plante agit comme un antidépresseur léger, un apaisant, un stimulant digestif, un stomachique et un carminatif. Elle présente également des bienfaits contre les palpitations, la fièvre, les névralgies, les migraines, les vertiges, l'épuisement nerveux, l'insomnie, ainsi que dans la lutte contre les refroidissements et la prévention des gripes [42].



Figure I.12 Feuilles *Verbena officinalis*

7. Les médicaments de virus de la grippe

Les médicaments antiviraux utilisés pour traiter la grippe comprennent les inhibiteurs de la neuraminidase. Ces médicaments agissent en empêchant l'activité de la neuraminidase, une enzyme virale nécessaire à la libération des virions nouvellement formés des cellules infectées. En inhibant la neuraminidase, ces médicaments limitent la propagation du virus dans l'organisme infecté, réduisant ainsi la gravité et la durée des symptômes de la grippe[43].

Les principaux inhibiteurs de la neuraminidase utilisés dans le traitement de la grippe comprennent :

7.1 Le zanamivir

Le zanamivir (Relenza®) est administré sous forme unidose de 5 mg en poudre à inhaler par la bouche à l'aide d'un appareil appelé Diskhaler®. Il est indiqué dans le traitement curatif de la grippe à partir de 5 ans à la dose de deux inhalations (2 x 5 mg) deux fois par jour pendant 5 jours, soit une dose quotidienne totale inhalée de 20 mg [44]. La licence fut déposée par le

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

laboratoire GlaxoSmithKline en 1990. Le zanamivir fut approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) pour la commercialisation aux Etats-Unis en 1999. L'autorisation de mise sur le marché fut obtenue le 26 juillet 1999 en France.

Depuis janvier 2013, le zanamivir administré par perfusion intraveineuse possède une autorisation temporaire d'utilisation (zanamivir 10 mg/ml) réservée à l'usage hospitalier [45]. Il est destiné au traitement de certaines formes graves d'infection par le virus de la grippe pour des patients hospitalisés ne pouvant pas être inclus dans les essais cliniques [46]. Ce traitement est destiné à des patients qui n'ont pas répondu aux antiviraux antigrippaux par voie inhalée ou orale, ou pour lesquels une voie d'administration autre que la voie injectable n'est pas possible, ou à des patients infectés avec un virus de la grippe résistant à d'autres agents antiviraux et pour lesquels un traitement par zanamivir inhalé n'est pas approprié[47]. La posologie usuelle pour les adolescents de plus de 50 kg et pour tous les adultes (âge \geq 18 ans) présentant une fonction rénale normale est de 600 mg deux fois par jour pendant 5 jours. La prolongation du traitement au-delà de 5 jours peut être envisagée [48].

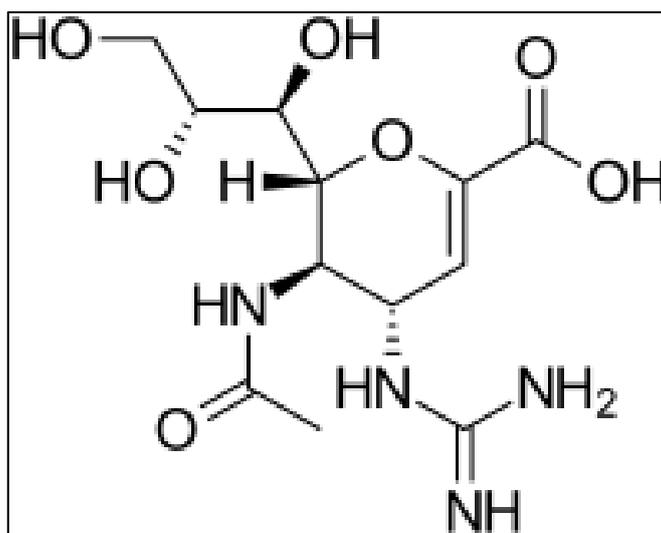


Figure I.13 La structure de Le zanamivir

7.2 L'oseltamivir

L'oseltamivir (Tamiflu®) est administré sous forme de gélule (30 mg, 45 mg et 75 mg) ou de suspension buvable (6 mg/ml et 12 mg/ml) [49]. Il est indiqué dans le traitement curatif de la grippe à partir de 1 an lors des épidémies saisonnières et chez le nourrisson en cas de pandémie grippale. La posologie d'oseltamivir recommandée est de 75 mg deux fois par jour pendant 5 jours par voie orale pour les adolescents (âgés de 13 à 17 ans) et les adultes[50].

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

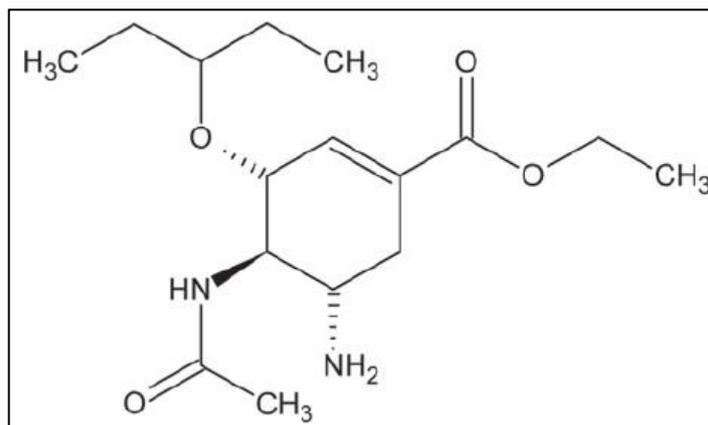


Figure I.14 La structure de L'oseltamivir

7.3 Le peramivir

Le peramivir, administré par perfusion intraveineuse, a été développé par le laboratoire pharmaceutique américain BioCryst Pharmaceuticals. Il n'est pas commercialisé en France. Il a été autorisé aux États-Unis de façon exceptionnelle et temporaire par la FDA le 23 octobre 2009, alors qu'il était toujours en cours d'essai de phase III, dans le contexte de la pandémie grippale A(H1N1)pdm09 [51, 52]. La possibilité de prescription concernait les patients hospitalisés pour une infection avérée ou suspectée de grippe A(H1N1)pdm09, dans le cas où les traitements autorisés s'avéraient inactifs ou impossibles. Cette disposition d'urgence a été

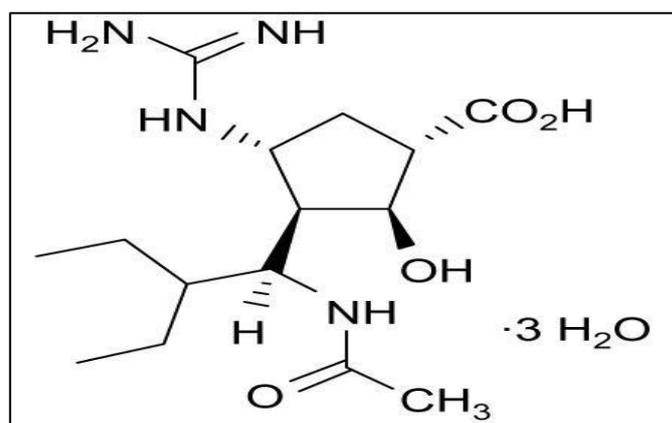


Figure I.15 La structure de Le peramivir

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

Références bibliographiques

1. Salem, E. (2018). *Bronchopneumonies infectieuses des jeunes bovins: de la complexité du microbiome aux particularités évolutives et cliniques de virus respiratoires encore méconnus* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT).
2. Mukwa Fama Tongo, L. (2016). " *Les virus du bananier et plantain (Musa spp.) en République démocratique du Congo: occurrence, identification de nouveaux virus et diversité génétique* (Doctoral dissertation, UCL-Université Catholique de Louvain).
3. Mebouza, Z., Kobida, I., Barbouchi, H., & ABEKHTI, A. (2023). *Recensement et interprétation des cas de culture positif dans les services de bactériologie dans la wilaya d'Adrar 2019-2022* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE AHMED DRAIA-ADRAR).
4. Melle caroline caravIRRIC: 111/10/2011 Profil clinique d'une cohorte de patients avant bénéficie futer encherche de viru (HUNT) 20OFFIU SAD d'un hopital referent a cours References Bibliographiques 32 de la peodémie 2009, [These die doctorat en médecine, université paris dideral pum 71. P.15 .
5. Briançon, S., Guérin, G., & Sandrin-Berthon, B. (2010). Les maladies chroniques. *Doc Fr Adsp*, 72, 11-53.
6. Martineau, M. (2023). *Prévalence, identification et caractérisation des bactéries du genre Mycoplasma détectées dans les affections respiratoires équine*s (Doctoral dissertation, Normandie Université).
7. Daffe, M. (1996). Structure de l'enveloppe de Mycobacterium tuberculosis. *Médecine et maladies infectieuses*, 26(11), 891-897.
8. Zahra, R., & Kiboub Rima, L. H. (2021). Etude de l'inflammation induite par les virus influenza A.
9. Retamal, M. (2016). *Génération d'anticorps monoclonaux neutralisants et dérive antigénique du virus influenza pandémique A (H1N1) 2009* (Doctoral dissertation, Université Laval).
10. Abdelhakim, S., Kaci, H., & Aya, L. (2020). Les mécanismes de l'immunité antivirale et le développement des vaccins antiviraux.

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

11. Benfria, D., Boutine, S., Djeha, A., & Benseghier, S. E. (2009). *Application de la technologie de l'ADN recombinant dans la lutte contre les maladies infectieuses* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
12. Tu, V. (2017). Évaluation in vitro de l'efficacité du peramivir contre des variants du virus de l'influenza A (H1N1), A (H3N2) et B contenant différentes mutations dans le gène de la neuraminidase.
13. El Mekdad, H. (2014). *Caractérisation de l'interaction entre Gag (NCp7) et la protéine cellulaire RPL7: aspects moléculaire et fonctionnel* (Doctoral dissertation, Strasbourg).
14. Rentier, B. (1981). Etude de l'infection rougeoleuse in vitro et de sa persistance dans les cellules nerveuses en culture. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 79(2).
15. Le Briand, N., Casalegno, J. S., Escuret, V., Gaymard, A., Lina, B., Ottmann, M., & Frobert, E. (2016). La balance HA-NA des virus influenza A (H1N1). *Virologie*, 20(1), 47-60.
16. Schmidt, K., Moussa, M. B., Buckrell, S., Rahal, A., Chestley, T., Bastien, N., & Lee, L. (2023). Rapport annuel national sur la grippe: première épidémie automnale au Canada depuis la saison 2019. *RMTC*, 49, 10.
17. Buisson, Y., Nicand, É., & Saliou, P. (2007). *La grippe en face*. Xavier Montauban SA.
18. Pilet, C., Dauphin, G., & Zientara, S. (2004). Actualités en pathologie comparée: sur quelques maladies animales menaçantes pour l'homme. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 188(5), 823-836.
19. Bougon, J. (2021). *Etude immuno-virologique de la co-infection par les virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin et de l'influenza porcin: mieux comprendre les interactions virales pour mieux contrôler les infections* (Doctoral dissertation, Université de Rennes).
20. Monod, A. (2014). *Etude structurale et fonctionnelle de l'ARN-polymérase du virus de la grippe* (Doctoral dissertation, Grenoble).
21. Boulo, S. (2008). *Études structurales et fonctionnelles de la nucléoprotéine et de la polymérase du virus de la grippe en association avec leur transporteur nucléaire humain* (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

22. Bellessort, F. (2003). *Évaluation de L'immunisation D'un Plasmide Codant Pour les Protéines de la Matrice du Virus de L'influenza Comme Élément Protecteur Chez les Souris*. Institut National de la Recherche Scientifique (Canada).
23. Zalouk, R. (2017). *La machinerie gag du trafic et de l'assemblage du vih-1: mécanismes moléculaires* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
24. Mitnaul, L. J., M. R. Castrucci, K. G. Murti, and Y. Kawaoka. 1996. The cytoplasmic tail of influenza A virus neuraminidase (NA) affects NA incorporation into virions, virion morphology, and virulence in mice but is not essential for virus replication. *Journal of Virology* 70:873-879
25. Barman, S., and D. P. Nayak. 2000. Analysis of the transmembrane domain of influenza virus neuraminidase, a type II transmembrane glycoprotein, for apical sorting and raft association. *Journal of Virology* 74:6538-6545.
26. Bergefall, K., E. Trybala, M. Johansson, T. Uyama, S. Naito, S. Yamada, H. Kitagawa, K. Sugahara, and T. Bergström. 2005. Chondroitin sulfate characterized by the E-disaccharide unit is a potent inhibitor of herpes simplex virus infectivity and provides the virus binding sites on gro2C cells. *Journal of Biological Chemistry* 280:32193-32199.
27. Varghese, J. N., W. G. Laver, and P. M. Colman. 1983. Structure of the influenza virus glycoprotein antigen neuraminidase at 2.9 Å resolution. *Nature* 303:35-40.
28. Colman, P. M., J. N. Varghese, and W. G. Laver. 1983. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase. *Nature* 303:41-44.
29. Wilson, I. A., and N. J. Cox. 1990. Structural basis of immune recognition of influenza virus hemagglutinin. *Annual Review of Immunology* 8:737-787.
30. Myhill, M. K., & Cook, T. M. (1972). Extracellular neuraminidase of *Streptomyces albus*. *Canadian Journal of Microbiology*, 18(7), 1007-1014.
30. Drzeniek, R. 1973. Substrate specificity of neuraminidases. *The Histochemical Journal* 5:271-290.
31. Sencio, V. (2020). *Impact du microbiote intestinal sur les surinfections bactériennes post-grippales* (Doctoral dissertation, Université de Lille) .

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

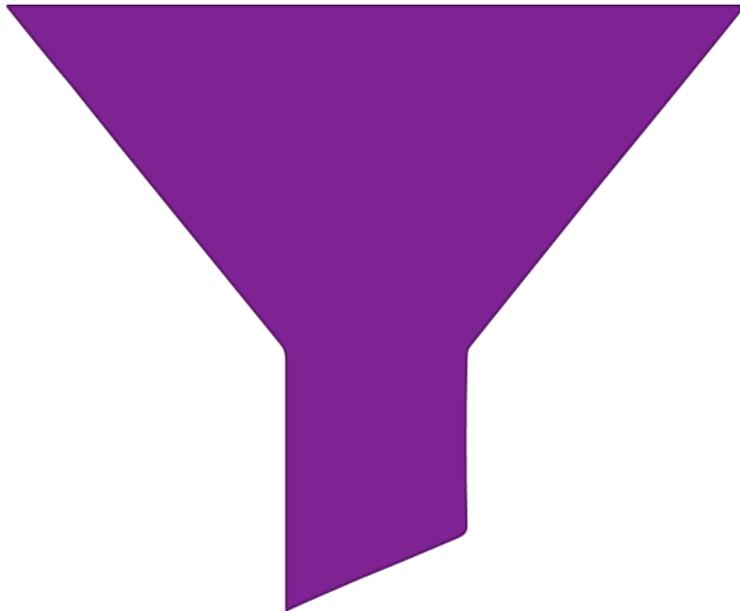
32. Lévêque, N. (2007). *Récepteurs et voies d'entrée d'Echovirus 6: Rôle des quasi-espèces virales* (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
33. Ankavay, M. (2019). *Étude des modifications post-traductionnelles de la protéine de capsid ORF2 du virus de l'hépatite E (HEV)* (Doctoral dissertation, Université de Lille).
34. Ankavay, M. (2019). *Étude des modifications post-traductionnelles de la protéine de capsid ORF2 du virus de l'hépatite E (HEV)* (Doctoral dissertation, Université de Lille).
35. Wahida, B., & Elaggoune Marwa Sekfali, M. N. (2021). Place de la phytothérapie dans le traitement contre le COVID-19.
36. Gui, Q. F., Xu, Z. R., Xu, K. Y., & Yang, Y. M. (2016). The efficacy of ginseng-related therapies in type 2 diabetes mellitus: an updated systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 95(6), e2584.
37. Wahida, B., & Elaggoune Marwa Sekfali, M. N. (2021). Place de la phytothérapie dans le traitement contre le COVID-19.
38. Ouadjir, T. (2021). *Propolis: production, composition, propriétés biologiques et utilisation* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
39. Samira, A., Rahil, A., & Fadoua, B. M. (2021). *Etude ethnobotanique des traitements de la grippe dans la région de Tiaret* (Doctoral dissertation, Faculté Sciences de la Nature et de la
40. TRAIKIA, A., & MANSOURI, M. (1945). Étude des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles du clou de girofle et de l'eucalyptus. *Mémoire de Master. Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière. UNIVERSITE*, 8. (Vie).
41. Cardon, D. (2016). The Dyer's Handbook: Memoirs of an 18th-century master colourist.
42. Miraj, S., & Kiani, S. (2016). Study of pharmacological effect of *Verbena officinalis* Linn: A review. *Der Pharm Let*, 8, 321-325.
43. Kubica, P., Szopa, A., Dominiak, J., Luczkiewicz, M., & Ekiert, H. (2020). *Verbena officinalis* (common vervain)—a review on the investigations of this medicinally important plant species. *Planta medica*, 86(17), 1241-1257.

CHAPITRE I : Généralités sur la grippe

44. Agence Nationale de Sécurité du Médicament (France). Relenza : Résumé des caractéristiques du produit. Saint-Denis: The institute; 2015; Available from: <http://agenceprd.anism.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=62815549&typedoc=R&ref=R0252644.htm>.
45. Direction des médicaments anti-infectieux en hépato-gastroentérologie et dermatologie et maladies métaboliques rares. Protocole d'utilisation thérapeutique et recueil d'informations. Zanamivir 10 mg/ml, solution pour perfusion intraveineuse (IV). Saint-Denis: ANSM; 2013.
46. Trémolières, F. (2020). Le naufrage des «essais cliniques»! Ou comment les méfaits d'un virus ont pu mettre à mal la rigueur et compromettre la réponse à l'urgence. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 50(6), 461.
47. Blanchon, T. (2015). *Utilisation des antiviraux dans le traitement de la grippe* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
48. Lacour, J. P. (2017, December). L'actuel et le futur du traitement de la dermatite atopique de l'adulte. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 144, pp. VS29-VS37). Elsevier Masson.
49. THÉRAPEUTIQUES, R. Médicaments antiviraux contre la grippe saisonnière 2017-2018.
50. Blanchon, T. (2015). *Utilisation des antiviraux dans le traitement de la grippe* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
51. Food and Drug Administration (USA). Emergency use authorization of Peramivir IV : fact sheet for healthcare providers. Silver Spring: The institute; 2009.
52. Birnkrant D, Cox E. The Emergency Use Authorization of peramivir for treatment of 2009 H1N1 influenza. *N Engl J Med*. 2009;361(23):2204-7

Chapitre II:

Méthode de criblage virtuel



CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

1. Introduction

Le criblage virtuel est devenu une approche cruciale dans la découverte de médicaments, offrant une alternative économique et efficace aux méthodes traditionnelles de criblage [1]. Ce chapitre se penchera sur les différentes méthodes utilisées dans le criblage virtuel, lesquelles explorent un vaste ensemble de composés chimiques afin d'identifier les candidats potentiels pour le développement de médicaments [2]. Nous examinerons en détail les techniques informatiques avancées telles que le docking moléculaire, la DFT et ADMET, mettant en lumière leur rôle dans la prédiction de l'interaction ligand-protéine.

2. Criblage virtuel

2.1 Définition

Le criblage virtuel regroupe diverses méthodes informatiques visant à sélectionner, parmi les molécules d'une ou plusieurs chimiothèques (Rognan, al., 2014) [3]. Ce qui lui permet de prendre une importance croissante dans les processus de conception de médicament largement appuyé par les progrès en informatique et en bio-informatique (Leach et al., 2006) [4]. Les méthodes de criblage sont séparées en deux grandes familles : « ligand-based » et « structure-based » [5]., en fonction du type de données sur lesquelles elles reposent. Lorsqu'une structure 3D de la protéine ciblée est disponible [6]., les méthodes « structure-based » permettent d'évaluer le potentiel d'interaction entre les composés criblés et le site d'interaction sélectionné sur la structure (Butkiewicz et al., 2013) [7].

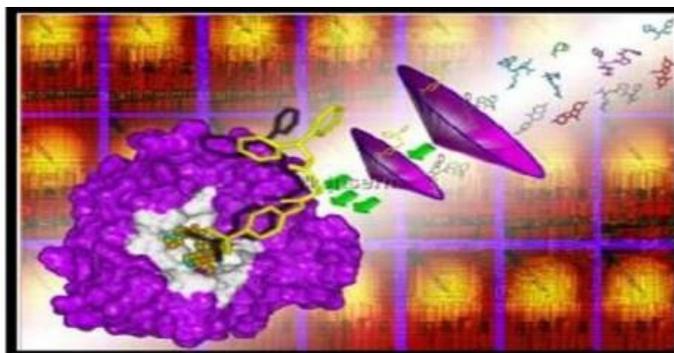


Figure II.1 criblage virtuel in silico (Safa et al., 2021).

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

2.2.1 Cible

Les structures 3D des différentes protéines sont disponibles et accessibles gratuitement dans la banque de données PDB. (« Protein Data Bank », en anglais). Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques (protéines, ADN, ARN ...etc.) avec la mise à disposition de plus de 160000 structures 3D. Elles ont été résolues pour la grande majorité par cristallographie aux rayons X [8].

2.2.2 Ligand

À l'heure actuelle, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné. Le premier moyen est souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimiques. Le second moyen consiste à utiliser des ligands issus de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl ...etc. Il est à souligner que les programmes Titan et ChemDraw ont été utilisés dans le présent travail en vue de construire les ligands d'intérêts [9].

2.2.3 Les programmes de screening virtuel

Sont des outils essentiels dans la découverte de médicaments, offrant une approche efficace pour explorer de vastes bibliothèques de composés chimiques afin d'identifier des candidats potentiels pour le développement de médicaments. Au fil des années, une multitude de programmes de screening virtuel ont été développés, chacun avec ses propres algorithmes et protocoles. Parmi ces programmes figurent des outils renommés tels que DOCK, AutoDock, FlexX, Surflex, OR, ICM, Glide, Cdocker, LigandFit, MCDock, et bien d'autres. Ces programmes s'appuient sur une combinaison de techniques informatiques avancées telles que le docking moléculaire, la simulation de dynamique moléculaire, et d'autres méthodes de modélisation moléculaire pour prédire l'interaction entre les ligands potentiels et les cibles biologiques.

2.2 But du criblage virtuel

Le but du criblage virtuel est de filtrer de manière efficace et économique une grande quantité de composés chimiques afin d'identifier ceux qui ont le plus fort potentiel pour interagir avec une cible biologique spécifique, telle qu'une protéine ou un récepteur. Cette méthode permet de

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

réduire le nombre de composés à tester expérimentalement, ce qui économise du temps et des ressources, tout en augmentant les chances de découvrir de nouveaux médicaments ou composés biologiquement actifs. [11].

2.3 Les stratégies de criblage virtuel

Le terme criblage virtuel regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration de bases de composés à la recherche de molécules d'intérêt. Une analogie souvent utilisée compare ces techniques à des filtres qui permettraient de constituer des ensembles de molécules partageant certaines propriétés, de sélectionner les plus susceptibles d'interagir avec une cible donnée et d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables. Ces différentes méthodes de criblage virtuel peuvent ainsi être utilisées dans les premières phases de R&D de nouveaux médicaments par les chimistes (Figure II.2) [12]. En particulier lors de l'identification de hits. Il a alors pour but de sélectionner au sein de chimiothèques variées des ensembles réduits de molécules dont le potentiel d'activité envers la cible thérapeutique visée est supérieur à celui des autres molécules. Il peut également être utilisé lors de l'optimisation des leads. Dans ce cas, le criblage a pour objectif l'identification de motifs structuraux essentiels dans la liaison ligand-récepteur, et la discrimination des meilleurs composés au sein de chimiothèques orientées comprenant des molécules appartenant à une même série.

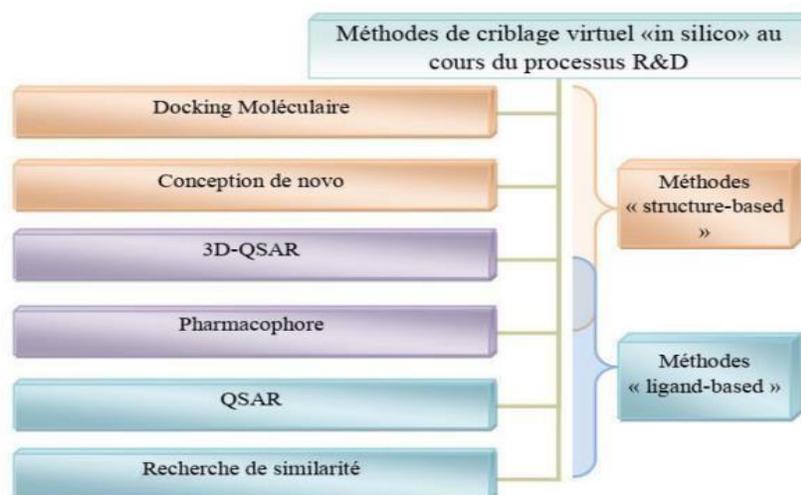


Figure II.2 Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand-based » et « structure-based »

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

Les méthodes *in silico* sont regroupées en deux principales catégories : le criblage virtuel "structure-based" et le criblage virtuel "ligand-based".

2.4.1 Criblage virtuel basé sur la structure de ligand

Les méthodes de criblage « ligand-based » reposent sur la connaissance préalable de ligands ayant une activité sur la cible thérapeutique. Il sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « hits » afin d'identifier d'autres composés similaires, présentant des caractéristiques d'activité communs aux ligands connus de la cible. Différents types de descripteurs moléculaires pourront être calculés pour quantifier la similitude entre composés. Suivant le nombre de ligands connus de la cible thérapeutique, plusieurs méthodes peuvent être employées : la recherche de similarité, le criblage de pharmacophores, ou les approches QSAR [14].

2.4.2 Criblage virtuel basé sur la structure de la cible

Le criblage virtuel « structure-based » est considéré comme un équivalent *in silico* d'un test expérimental étudiant la liaison ligand-cible biomoléculaire⁴⁷. Cependant, ce criblage dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique qui est obtenue, soit par méthodes expérimentales (RX et RMN) dans des bases de données (tel que PDB: Protein Database), soit par des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence [15]. Différentes approches peuvent être employées pour réaliser ce criblage: la construction de modèles pharmacophoriques 3D, l'établissement de modèles 3D-QSAR), la conception de novo « de novo design » et les méthodes de docking moléculaire qui sont les plus populaires .Au cours de ce travail, nous sommes intéressés uniquement aux techniques de criblage virtuel « structure-based » [16]

3. Le Docking moléculaire

Le docking moléculaire est une méthode informatique utilisée en chimie et en biologie pour prédire l'interaction entre une petite molécule, généralement un ligand (tel qu'un médicament potentiel), et une macromolécule biologique, souvent une protéine. Cette méthode simule la manière dont le ligand se lie à la protéine cible dans le site actif, en tenant compte des interactions moléculaires telles que les liaisons hydrogène, les interactions électrostatiques et les

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

interactions hydrophobes. Le docking moléculaire permet de prédire la conformation spatiale la plus favorable du complexe ligand-protéine et fournit des informations sur la force et la nature de l'interaction entre le ligand et la protéine. Cette technique est largement utilisée dans la conception de médicaments et la recherche de nouvelles molécules bioactives. [17].

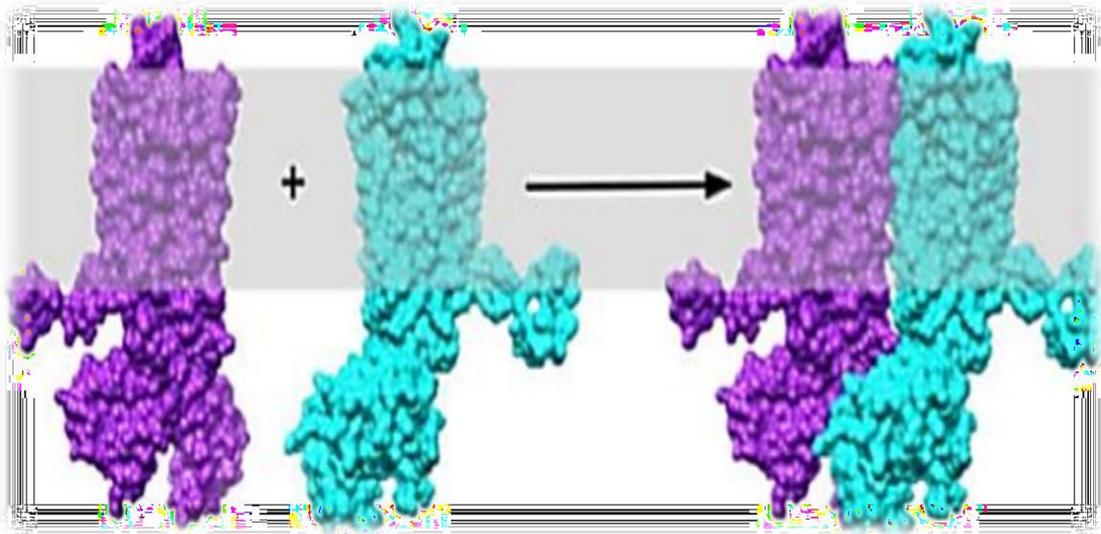


Figure II.3 Représentation schématique du Docking de deux molécules.

3.1 Principe

Le principe du docking moléculaire repose sur la simulation informatique des interactions entre un ligand et une protéine cible. Voici les étapes principales du processus de docking:

- Préparation des structures : Les structures tridimensionnelles de la protéine cible et du ligand sont préparées en utilisant des logiciels de modélisation moléculaire. Des informations sur les sites actifs de la protéine et les conformations possibles du ligand sont généralement prises en compte.
- Recherche de conformations : Le ligand est placé de manière flexible dans le site actif de la protéine, et différentes conformations (poses) sont générées pour explorer les interactions possibles entre le ligand et la protéine.
- Évaluation des poses : Chaque conformation générée est évaluée en fonction de critères tels que l'énergie de liaison, la complémentarité des formes, les interactions hydrophobes, les liaisons hydrogène, etc. Cette évaluation est basée sur des fonctions de scoring qui mesurent la qualité de l'interaction ligand-protéine.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

- Sélection des poses optimales : Les poses les mieux classées, c'est-à-dire celles avec les scores les plus élevés, sont sélectionnées comme les structures les plus probables du complexe ligand-protéine.
- Analyse et interprétation : Les poses sélectionnées sont analysées pour comprendre les interactions spécifiques entre le ligand et la protéine, ce qui permet de prédire l'efficacité du ligand en tant que médicament potentiel ou agent biologiquement actif.

3.2 Les méthodes de Docking moléculaire

- **Avec ligand rigide** : Le ligand et la protéine sont tous les deux considérés comme étant rigides. Seuls les 6 degrés de liberté de translation et rotation sont explorés pour le ligand, le subir des translations et rotations dans chacune des trois dimensions, la recherche conformationnelle commence en énumérant toutes les translations et rotations possible avec au minimum 1 Å et 1.5 Å de RMSD, respectivement, entre chaque changement. Chaque pose sans clash est notée à l'aide d'une fonction de score. Les poses ayant les meilleurs scores sont affinées par le programme, qui teste les rotations et translation proches (RMSD supérieure à 0.5 Å et 0.75 Å, respectivement) [22]. D'autres programmes, tels que DOCK [18] font aussi docking rigide. La précision de ces méthodes peut être améliorée en générant plusieurs conformés pour chaque ligand. Bien que moins précises que les méthodes de docking flexibles, leur rapidité et leur relative efficacité les rendent intéressants pour les protocoles de criblage hiérarchique. Elles peuvent constituer un premier filtre, éliminant de la chimiotèque les molécules trop grandes ou présentant une mauvaise complémentarité avec le site de liaison [23-24]
- **Avec ligand semi-flexible** : Lorsque l'espace conformationnel des ligands est exploré, le nombre de degrés de liberté de l'espace de recherche peut être conséquent dans le cas de molécule très flexible, d'autres algorithmes dit de fragmentation, sont employés pour construire de façon incrémentielle le ligand au sien du site actif de la protéine, l'espace des conformations du ligand est alors restreint au voisinage d'un ensemble initiale d'états simplifiés. Cette stratégie de recherche par construction, qui se présente sous diverses variantes [25], est notamment adoptée par les programmes DOCK [26-27], FLEXX [28] et Hammerhead [29]. Les programmes de docking semi-flexible considéré comme les plus efficaces emploient des méthodes de recherche aléatoires ou stochastique.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

3.3 Avec ligand flexible : Lorsque les méthodes de docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du docking :

- La première étape correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver, parmi les conformations proposées, les conformations bioactives
- la deuxième étape, une fonction de score évalue ces conformations [30]. IL existe plusieurs types d'algorithmes de recherche conformationnelle.

3.4 Les interactions protéine-ligand

Le docking moléculaire permet l'étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation du complexe ligand récepteur. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles :

- **Les interactions de Van Der Waals** Ces interactions ont été étudiées par J.D. van der Waals, physicien hollandais, prix Nobel de physique 1910. Elles reposent sur les interactions entre les dipôles constitués par les molécules. On distingue trois types de ces interactions :
 - Interaction dipôle permanent – dipôle permanent ou effet d'orientation de Keesom : Ce type d'interaction se développe entre deux molécules polaires.
 - Interaction dipôle permanent – dipôle instantané ou effet d'induction de Debye : Ce type d'interaction se développe entre une molécule polaire et une molécule quelconque (polaire ou apolaire).
 - Interaction dipôle instantané – dipôle instantané ou dispersion de London : Ce type d'interaction se développe entre deux molécules quelconques (polaires ou apolaires). Ces interactions sont très faibles mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au totale une force importante. [31]

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

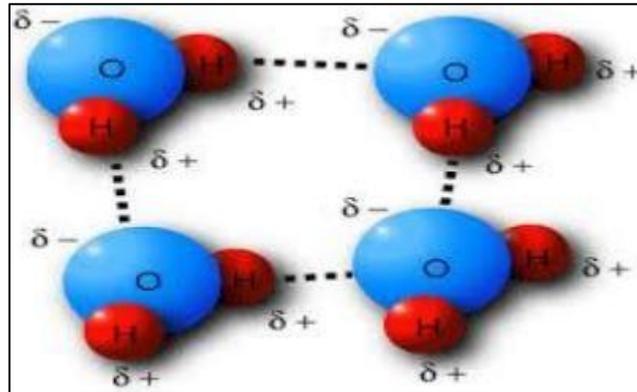


Figure II.4 Les interactions de Van der Waals .

- **Les liaisons hydrogènes** : Les liaisons hydrogène découlent de l'interaction électrostatique entre un atome d'hydrogène (donneur) et un élément très électronégatif portant au moins un doublet non liant (accepteur) comme (oxygène, azote ou fluor)[32]. (Figure II.5) La liaison hydrogène est le responsable de la structure secondaire des protéines car cette dernière est composée par une chaîne (ou séquence) d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques[33].

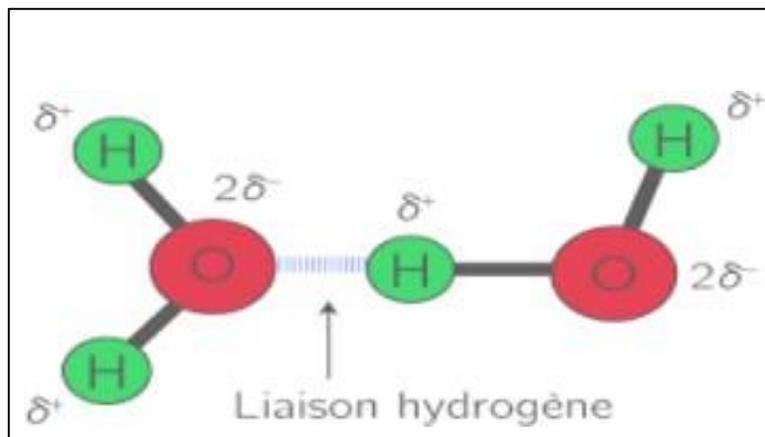


Figure II.5 Les liaisons hydrogène.

- **Les interactions électrostatiques** :

Les interactions électrostatiques, liaisons ioniques résiduelles faibles, proviennent de l'interaction entre deux atomes de charges opposées conduisant à la création d'une force attractive [34]

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

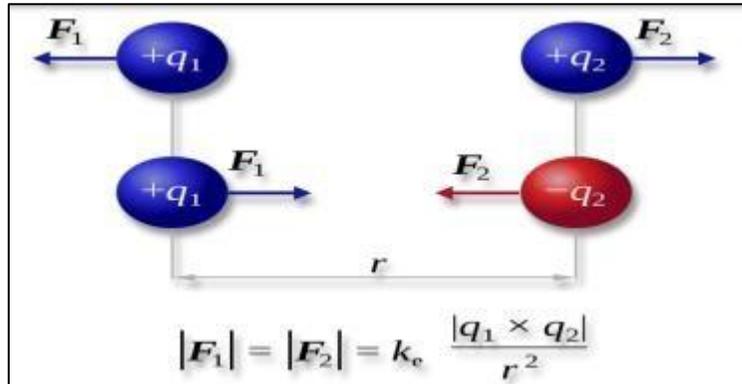


Figure II.6: Les interactions électrostatiques

Certains acides aminés peuvent être chargés positivement ou négativement, ce qui donne lieu à des phénomènes électrostatiques favorisant la formation d'un complexe protéique spécifique.

- **Les interactions hydrophobes**

Les interactions hydrophobes sont des chaînes organiques saturées ou aromatiques non polaires ayant très peu d'affinité pour l'eau. Ils ont tendance à se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'environnement aqueux [35]

3.5 Les étapes de Docking moléculaire

Le processus de docking moléculaire consiste à faire interagir un ligand avec le récepteur (généralement de nature protéique). La technique de docking comprend quatre étapes principales (figII.7):

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

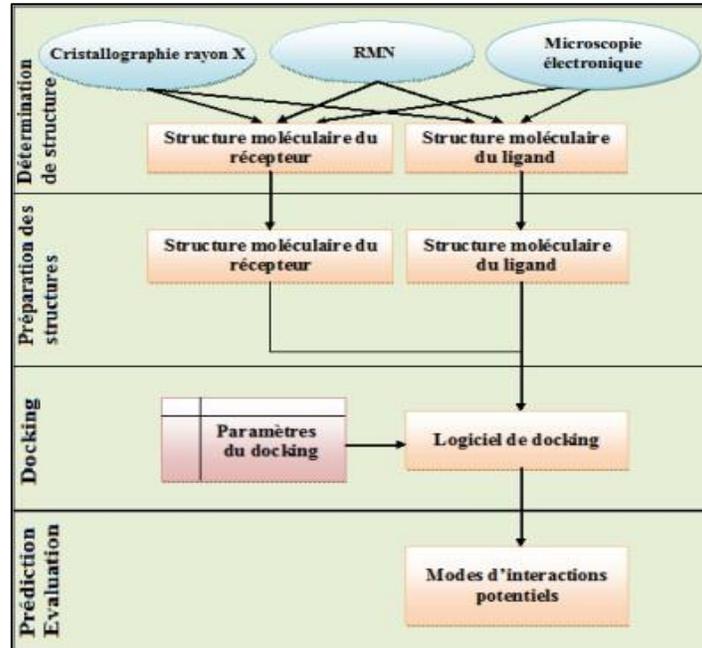


Figure II.7: Les étapes impliquées dans la mécanique du docking moléculaire

Étape I : **Préparation de la protéine** : La structure tridimensionnelle de la protéine doit être récupérée à partir de la banque de données des protéines (PDB) ; ensuite, la structure récupérée doit être prétraitée. Cela comprend la suppression des molécules d'eau de la cavité, la stabilisation des charges, le remplissage des résidus manquants, la génération des chaînes latérales, etc., selon les paramètres disponibles.

- Selon le programme de Docking utilisé
- Selection de la structure
- Selection du site
- Souvent, il est nécessaire d'ajouter des hydrogènes, certains programmes étant plus sensibles aux positions que d'autres
- Supprimer/inclure les molécules d'eau, les cofacteurs, les métaux
- Avant le Docking, pensez à prendre en compte les résidus ou atomes manquants.

Étape II : **Prédiction du site actif** : Après la préparation de la protéine, le site actif de la protéine doit être prédit. Le récepteur peut posséder de nombreux sites actifs, mais seul celui qui nous

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

intéresse doit être sélectionné. La plupart du temps, les molécules d'eau et les atomes hétéros sont supprimés s'ils sont présents.

Étape III : **Préparation du ligand** : Les ligands peuvent être récupérés à partir de plusieurs bases de données telles que ZINC, PubChem, ou peuvent être dessinés en utilisant l'outil ChemSketch. Lors du choix du ligand, la préparation du ligand implique des considérations similaires, la première étape consistant souvent à l'extraire de la structure de la protéine. Dans le criblage virtuel, les ligands peuvent provenir de sources différentes de la PDB (par exemple, des dépôts publics comme PubChem, la synthèse organique ou des composés virtuels).

Étape IV : **Docking** : Le ligand est docké contre la protéine et les interactions sont analysées. La fonction de score donne un score sur la base du meilleur complexe ligand-docké qui est sélectionné [36-40].

3.6 Logiciels de Dockings moléculaire

Les logiciels de docking moléculaire représentent des outils essentiels dans la recherche de nouveaux médicaments, offrant la possibilité de prédire et d'analyser l'interaction entre une petite molécule (ligand) et une cible biologique spécifique (récepteur). Ces logiciels utilisent des algorithmes sophistiqués pour explorer les différentes conformations spatiales possibles des ligands et évaluer leur capacité à se lier de manière spécifique et stable à la cible d'intérêt. Parmi les logiciels de docking moléculaire les plus couramment utilisés, on trouve AutoDock, AutoDock Vina, DOCK, GOLD, SwissDock, et Maestro de Schrödinger, chacun offrant ses propres fonctionnalités et algorithmes pour prédire les interactions ligand-récepteur. Ces outils permettent aux chercheurs de cribler rapidement de vastes bibliothèques de composés chimiques, facilitant ainsi l'identification de candidats médicamenteux potentiels pour un large éventail de cibles thérapeutiques. Cependant, il convient de noter que les résultats du docking moléculaire doivent être interprétés avec prudence et souvent confirmés par des expériences biologiques in vitro et in vivo pour valider l'efficacité des candidats identifiés[41-47].

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

4. Les paramètres de "DRUG-LIKNES"

4.1 Règle de LIPINSKI

Un contributeur majeur dans le domaine de la caractérisation des composés "ressemblant à des médicaments" est Lipinski avec la "règle des 5". [48]

Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés "ressemblant à des médicaments". [49] Selon cette règle, les composés qui ne répondent pas à au moins deux des critères suivants ont très probablement des problèmes d'absorption ou de perméabilité :

- Masse moléculaire ≤ 500 Da
- $\log P \leq 5$
- Accepteurs de liaison H ≤ 10
- Donneurs de liaison H ≤ 5

La "règle des 5" a été développée à partir de composés administrables par voie orale qui ont réussi les essais cliniques de phase II. Elle n'est donc pas une méthode pour distinguer les composés potentiellement médicamenteux de ceux qui ne le sont pas, mais plutôt une méthode pour identifier les composés ayant une faible absorption ou une faible perméabilité.

4.2. Règle de VEBER

Deux autres critères introduits par Veber, la surface polaire (PSA) et le nombre de liaisons pouvant pivoter ≤ 10 , sont souvent utilisés en complément de la "règle des 5". Ces limites ont été établies à partir de mesures de la biodisponibilité orale des candidats médicamenteux [50].

Il existe deux descripteurs définis pour une biodisponibilité orale idéale :

- Le nombre de liaisons pouvant pivoter est inférieur à 10.
- La surface polaire est inférieure à 140 \AA^2 . La PSA est utilisée pour calculer le pourcentage d'absorption (% ABS) selon l'équation suivante : $\% \text{ ABS} = 109 \pm 0,345 \times \text{PSA}$ [51].

5. Filtres ADME-Tox

Les filtres ADME-Tox sont des outils utilisés dans la recherche pharmaceutique pour évaluer les propriétés pharmacocinétiques et la toxicité potentielle des composés chimiques. ADME est un acronyme pour Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion, tandis que Tox fait référence à la toxicité[52]. Ces filtres sont conçus pour identifier les composés qui présentent des caractéristiques indésirables en termes d'absorption intestinale, de distribution tissulaire, de métabolisme hépatique et d'excrétion rénale, ainsi que des risques potentiels de toxicité pour les organes et systèmes biologiques. En utilisant des critères prédéfinis basés sur les connaissances pharmacologiques et toxicologiques, les filtres ADME-Tox aident à sélectionner les candidats médicamenteux les plus prometteurs, tout en minimisant les risques d'échec lors des étapes ultérieures du développement clinique [53].

5.1 Absorption

Après avoir été ingéré, un médicament commence son parcours à travers le corps par la phase d'absorption, qui consiste en sa pénétration dans l'organisme. Cette phase débute après l'administration orale, où les processus de désagrégation de la forme galénique et de dissolution du principe actif dans les sucs digestifs se produisent. Ensuite, le médicament en solution doit traverser les cellules épithéliales de l'intestin grêle, généralement à travers des mécanismes de transport paracellulaire ou transcellulaire[54]. Ces mécanismes dépendent des propriétés physicochimiques du médicament telles que sa solubilité, sa lipophilie et son pKa. Le pKa, notamment, influe sur l'ionisation de la molécule, affectant ainsi sa solubilité et sa capacité à traverser les membranes cellulaires [55].

Pour évaluer ces phénomènes, des propriétés telles que la fraction absorbée et la biodisponibilité sont utilisées. La fraction absorbée représente le pourcentage de la dose qui traverse les cellules épithéliales pour atteindre la circulation sanguine, tandis que la biodisponibilité reflète la fraction du médicament disponible dans la circulation après absorption et premier passage hépatique. [56]

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

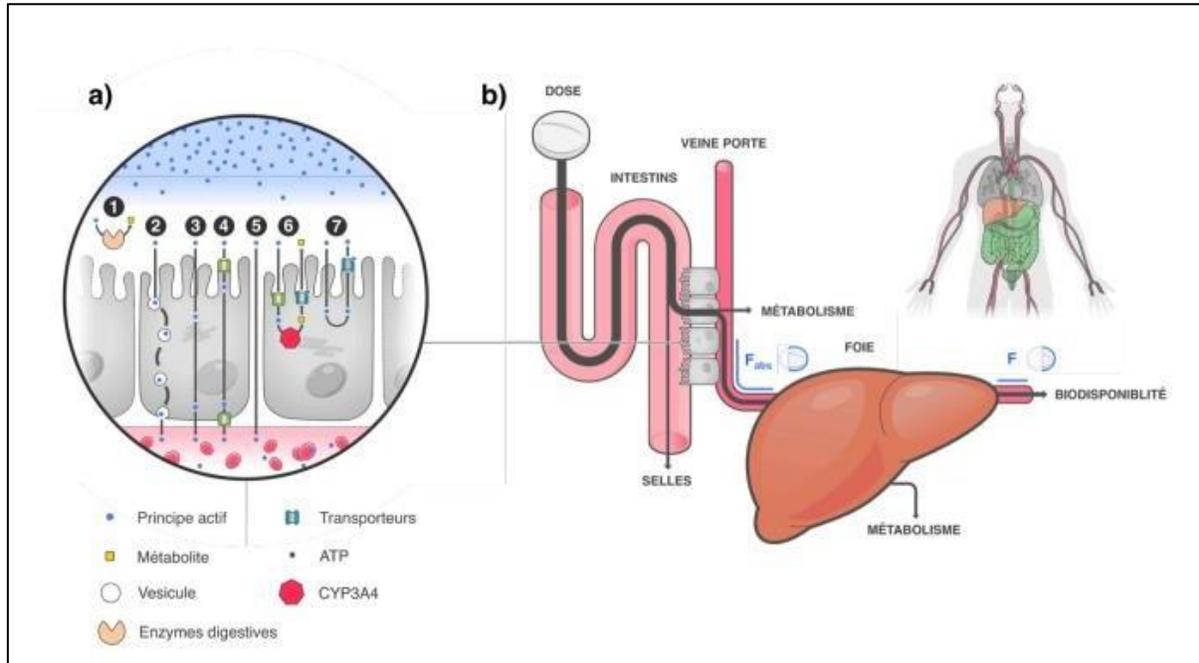


Figure II.8 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase d'absorption.

5.2 Distribution

La phase de distribution d'un médicament comprend son transport à travers la circulation sanguine et sa répartition entre le sang et les différents tissus de l'organisme. Les protéines plasmatiques, comme l'albumine et les α -1-glycoprotéines acides, sont essentielles pour cette distribution. Une fois dans la circulation, le médicament se lie réversiblement aux protéines plasmatiques, déterminant sa disponibilité pour produire un effet thérapeutique[57]. La distribution dans les tissus dépend de la capacité du médicament à traverser les membranes cellulaires, avec une diffusion pouvant aller du volume intravasculaire au volume intracellulaire. Cette spécificité dépend du mode d'action du médicament.

Le volume de distribution (V_d) est utilisé pour évaluer la diffusion tissulaire, représentant le volume nécessaire pour contenir la même concentration de médicament que dans le plasma, calculé en fonction de la dose administrée et de sa concentration plasmatique[58].

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

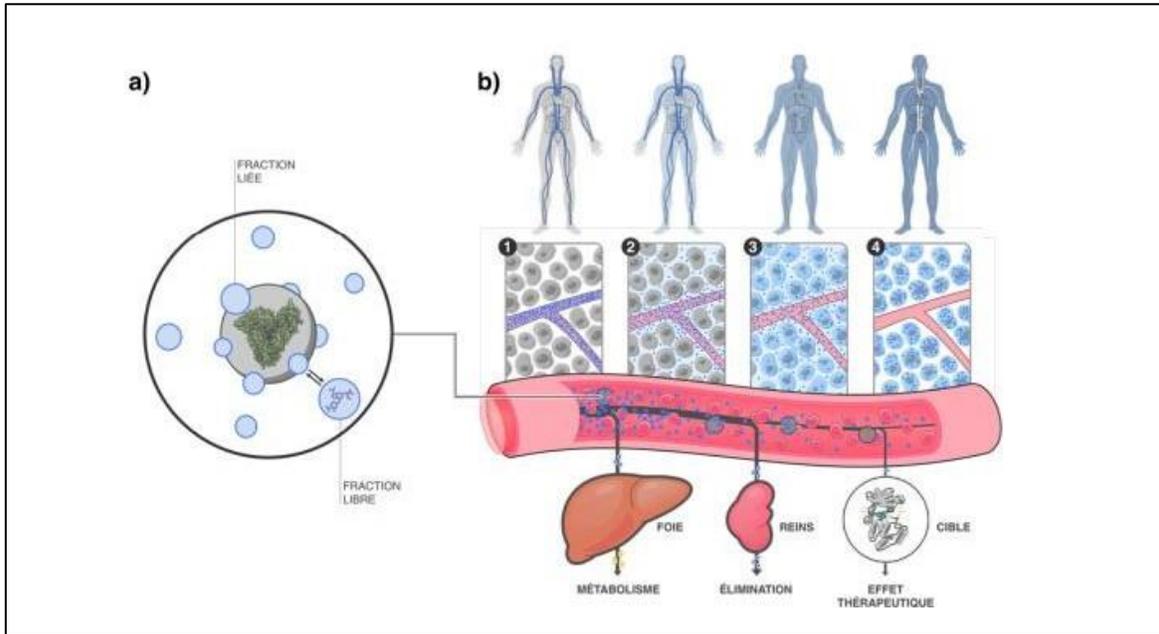


Figure II.9 Vue d'ensemble des phénomènes qui interviennent lors de la phase de distribution.

5.3 MÉTABOLISME

La phase de métabolisme implique généralement des réactions enzymatiques qui débutent dès les premières étapes d'absorption et de distribution du médicament[59]. Les réactions de phase I oxydent la structure moléculaire du médicament, tandis que celles de phase II ajoutent des groupes fonctionnels polaires pour le rendre plus soluble. Ces processus font intervenir diverses enzymes telles que les cytochromes P450, les mono oxygénases, les UDP-glucuronosyl transférase et les N-acétyl-transférase, avec une prédominance des cytochromes P450. Parmi eux, les cytochromes P450 tels que CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 et CYP1A2 sont les principaux responsables du métabolisme des médicaments chez l'homme. Les interactions médicamenteuses peuvent résulter de leur capacité à être substrat, inhibiteur ou inducteur de ces enzymes. La détermination de l'affinité d'une molécule pour un cytochrome P450 spécifique est utilisée pour évaluer son implication dans le métabolisme. Cependant, d'autres facteurs tels que la stabilité métabolique du médicament, évaluée par des propriétés comme la demi-vie et la clairance hépatique, influent également sur la quantité de médicament métabolisée par l'organisme. [60]

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

5.4 Elimination

La phase d'élimination d'un médicament est essentielle pour évacuer le médicament et ses métabolites du corps. Elle implique principalement le foie et les reins. Dans le foie, le médicament est métabolisé par les hépatocytes et excrété dans la bile, puis éliminé via les selles ou réabsorbé dans la circulation sanguine. Dans les reins, le médicament est filtré dans les glomérules, puis sécrété ou réabsorbé dans les tubules rénaux, avant d'être excrété dans l'urine. Des paramètres tels que la clairance totale et le temps de demi-vie permettent d'évaluer l'élimination du médicament Toxicité [61].

La toxicologie est cruciale dans le développement de nouveaux médicaments pour évaluer les risques pour la santé. Elle examine les effets nocifs des molécules sur les organismes vivants, pouvant entraîner des dommages graves voire mortels, souvent liés à un surdosage ou une exposition prolongée. Les tests *in vivo* sur plusieurs espèces animales déterminent des paramètres comme la dose létale (LD50) ou la dose maximale tolérée. La toxicité peut découler de cinq phénomènes biologiques tels que la toxicité hors cible, la modulation de la cible primaire, l'hypersensibilité immunologique, le métabolisme des médicaments et les réactions idiosyncratiques. Des approches *in vitro*, *in vivo* et *in silico*, comme les modèles QSAR, sont utilisées pour évaluer la toxicité, réduisant ainsi le recours aux tests sur les animaux conformément aux principes des 3R. [62].

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

Références bibliographiques

1. Soumia, B., & Roukia, Z. (2017). *Développement d'un outil qui génère des nouveaux médicaments* (Doctoral dissertation, Abdelhafid Boussouf University centre-Mila).
2. Ziane, N. (2015). *Outils microfluidiques pour l'exploration de diagrammes de phase: de la pervaporation à la microdialyse* (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux).
3. Barette, C., Soleilhac, E., Charavay, C., Cochet, C., & Fauvarque, M. O. (2015). Force et spécificité du criblage pour des molécules bioactives au CMBA-Grenoble-Une plate-forme dédiée à la découverte et à l'analyse de molécules bioactives et candidats médicaments. *médecine/sciences*, 31(4), 423-431.
4. Rognan, D., & Bonnet, P. (2014). Les chimiothèques et le criblage virtuel. *médecine/sciences*, 30(12), 1152-1160.
5. Zerroug, E. (2020). *Analyse in silico de plusieurs séries de pharmacomolécules hétérocycliques appliquée à la conception de médicaments* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-BISKRA).
6. Riva, Clemence. "Application de la démarche de drug-design pour la conception de nouveaux médicaments vétérinaires contre le parasite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae)." PhD diss., Normandie, 2017.
7. Cherid, F., & Cheraitia, N. (2022). *Rôle des méthodes in Silico, in Vitro et in Omic dans l'évaluation de la pharmacovigilance des médicaments* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
8. Martin, C. (2021). *Synthèse et étude de nouveaux ligands d'ARN pour le ciblage des systèmes toxine-antitoxine: vers des nouvelles thérapies antibiotiques* (Doctoral dissertation, Université Côte d'Azur).
9. Kahina Djeradi, L. B. Conception des nouveaux dérivés de thiénoypyrimidine à l'activité antibactérienne par les méthodes de modélisation moléculaire.
10. Soumia, B., & Roukia, Z. (2017). *Développement d'un outil qui génère des nouveaux médicaments* (Doctoral dissertation, Abdelhafid Boussouf University centre-Mila).
11. Henriët, E. (2021). *Criblage bioluminescent microARN spécifique d'une librairie d'extraits naturels de plantes pour des applications dans le remodelage cutané* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
12. ABDELLI, K., AGOUDJIL, N., & BOURENANE, A. (2021). Conception in silico de nouveaux inhibiteurs anti-EGFR en vue d'une application anticancéreuse.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

13. Beutraït, A. (2008). *Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK* (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy I).
14. Hassan, A. Y., Sarg, M. T., El Deeb, M. A., Bayoumi, A. H., & El Rabeab, S. I. (2018). Facile synthesis and anticancer activity study of novel series of substituted and fused coumarin derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 55(6), 1426-1443.
15. Caron, C. (2019). *Ligands macrocycliques de sites abasiques en tant qu'inhibiteurs de la réparation de l'ADN: Synthèse, études biochimiques et biologiques* (Doctoral dissertation, Université Paris Saclay (COMUE)).
16. Sellami, A. (2022). *Utilisation des méthodes de criblage virtuel dans un contexte de santé humaine et environnementale: application aux récepteurs nucléaires et aux perturbateurs endocriniens* (Doctoral dissertation, HESAM Université).
17. Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université : microbiologie. Constantine : Université Frères Mentouri. Algérie. 2007.
18. Saoussene, M. L. (2016). *Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone: voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l' α -glucosidase* (Doctoral dissertation, Université de Annaba).
19. Lagarde, N. (2014). *Méthodes de criblage virtuel in silico: importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6* (Doctoral dissertation, Paris, CNAM).
20. Voland, M. (2017). *Algorithmes pour la prédiction in silico d'interactions par similarité entre macromolécules biologiques* (Doctoral dissertation, Université Paris Saclay (COMUE)).
21. Salahi, D. (2016). *Modélisation de la structure d'une protéine impliquée dans le cancer et de ses interactions avec quelques ligands* (Doctoral dissertation, UMMTO).
22. GUIBEDJ, D. (2020). *Les complexes métalliques du methoxyphenyl N- sulfamoyloxazolidinone avec Cu (II) et Co (II): Mise en évidence, études par DFT/B3LYP (B2PLYP) et docking moléculaire* (Doctoral dissertation).
23. Hioual, K. S., & Chikhi, A. (2012). Etude comparative de l'efficacité de deux programmes de docking et application à l'inhibition de la neuraminidase.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

24. Lopes, A. (2008). *Evolution dirigée de deux aminoacyl-ARNt synthétases: Mise en place et applications d'une méthode de 'protein design'* (Doctoral dissertation, Ecole Polytechnique X).
25. Férey, N., Bouyer, G., Martin, C., Drif, A., Bourdot, P., Ammi, M., ... & Autin, L. (2009). Docking de protéines en réalité virtuelle. Une approche hybride et multimodale. *Revue des Sciences et Technologies de l'Information-Série TSI: Technique et Science Informatiques*, 28(8), 983-1015.
26. Chevrollier, N. (2019). *Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple- brin* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
27. Tanguay, J. (2020). Identifications des interactions des inhibiteurs connus des canaux HCNs.
28. Kuntz, ID ; BLANEY, JM; OATLEY, SJ ET AL. A geometric approach to Macromolecule-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, 1982, 161,269-88.
29. Mendez, R.; Leplae, R.; Lensink, M. F.; Wodak, S. J. Assessment of CAPRI predictions in rounds 3-5 shows progress in docking procedures. *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.* 2005, 60 (2), 150-169.
30. HAMZA, A ; ZHAO, X ; TONG, M ET AL. Novel human mPGES-1 inhibitors identified through structure-based virtual screening. *Bioorganic & Medicinal chemistry*, 2007, 15, 6810-8.
31. Brouijmans, N.; Kuntz, I.D. Molecular recognition and docking algorithms. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. struct.* 2003,32,335-373
32. .HARIDI ABIR, N. R. (2019). Etude in silico de l'inhibition de la cyclooxygénase-2.
33. .Moussard, C. (2006). *Biochimie structurale et métabolique*. De Boeck Supérieur.
34. HARIDI ABIR, N. R. (2019). Etude in silico de l'inhibition de la cyclooxygénase-2.
35. .Vessigaud, S. (2007). *Re-mobilisation des hydrocarbures aromatiques polycycliques de terres industrielles de cokerie et mécanismes impliqués dans le " vieillissement " du fluoranthène* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine- INPL).
36. .Schmitt, C. (2000). *Étude de la coacervation complexe entre la bêta-lactoglobuline et la gomme d'acacia en solution aqueuse* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine-INPL).

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

37. Veselovsky, A. V., Ivanov, Y. D., Ivanov, A. S., Archakov, A. I., Lewi, P., & Janssen, P. (2002). Protein–protein interactions: mechanisms and modification by drugs. *Journal of Molecular Recognition*, 15(6), 405-422.
38. BEN MOHAMED Ikhlas, M. H. Synthèse et étude docking moléculaire de quelques dérivés de chalcones.
39. Sonia, T. Etude de l'inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase par les méthodes de la modélisation moléculaire.
40. Zekri, A. (2021). *Une étude computationnelle des relations structureactivité d'un ensemble de composés à visées thérapeutiques* (Doctoral dissertation, Université de mohamed kheider .
41. 41.SENOUCI, F. Z., & SAAD, S. (2022). L'utilisation de la modélisation moléculaire pour la valorisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques: cas de la maladie d'Alzheimer.
42. Cros, J. (2021). *OGG1 et NEIL1, de nouvelles cibles pour la lutte contre le cancer: recherche et caractérisation fonctionnelle et structurale d'inhibiteurs* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
43. Bournez, C. (2019). *Conception d'un logiciel pour la recherche de nouvelles molécules bioactives* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
44. Prieto-Martínez, Fernando D., Marcelino Arciniega, and José L. Medina-Franco. "Molecular docking: current advances and challenges." TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas 21 (2018).
45. Shankar Mani, A Over View On Molecular Docking, American Journal Of Biological And Pharmaceutical Research, 2016; 3(2):83-89
46. Chaudhary, Kamal Kumar, and Nidhi Mishra. "A review on molecular docking: novel tool for drug discovery." databases 3.4 (2016).
47. .Dekyndt, B. (2015). *La libération modifiée de principes actifs, développement de deux approches* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
48. Soumia, B., & Roukia, Z. (2017). *Développement d'un outil qui génère des nouveaux médicaments* (Doctoral dissertation, Abdelhafid Boussouf University centre- Mila).
49. .Monge, A. (2006). *Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche «in silico» de nouveaux composés bioactifs* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

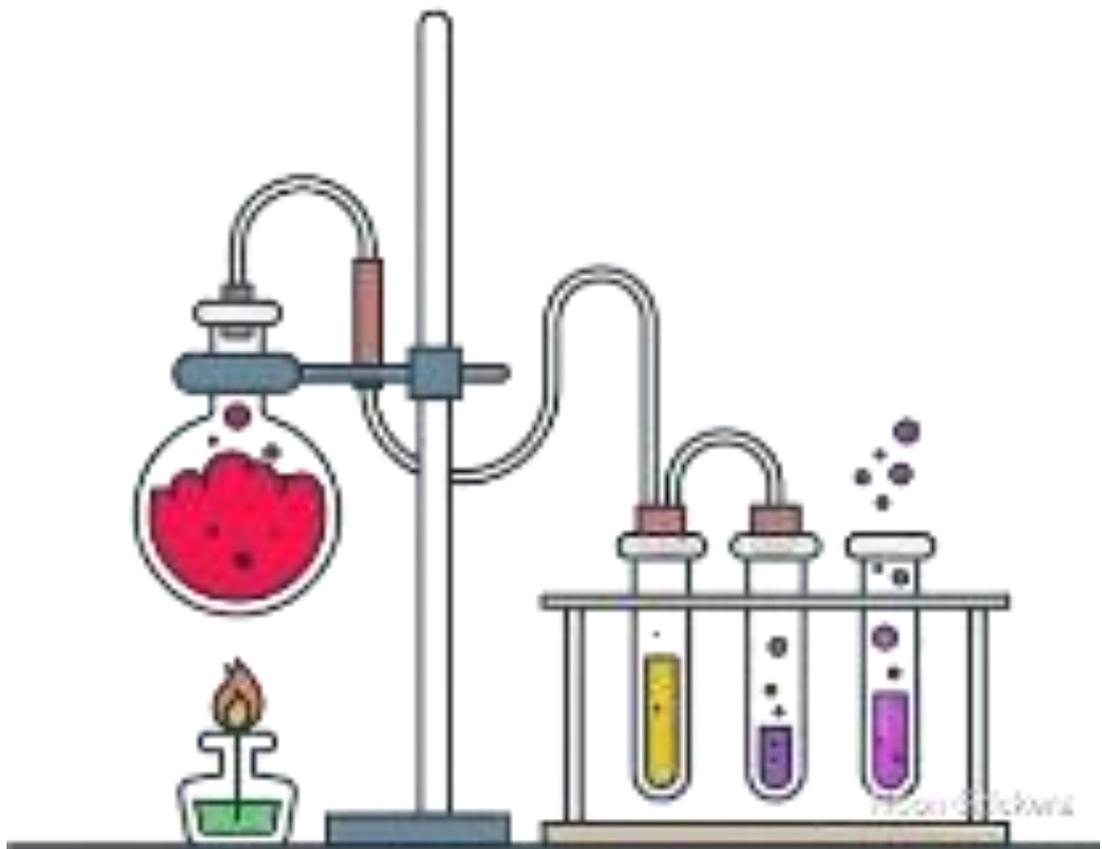
50. Zerroug, E. (2020). *Analyse in silico de plusieurs séries de pharmacomolécules hétérocycliques appliquée à la conception de médicaments* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider–BISKRA).
51. AICHA, C. Modélisation QSAR d'une série d'hétérocycle Anti-Alzheimer pour la découverte des médicaments.
52. OUSOIRE, K. (2022). *onception in silico de nouveaux inhibiteurs pour le traitement de tuberculose* (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).
53. May, P. (2018). *Les effets d'une co-exposition à des PCBs (DL et non DL) et au benzo (a) pyrène sur l'adipogénèse et ses répercussions sur l'inflammation in vitro et in vivo* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).
54. Stora, D. (2013). *Pharmacologie et thérapeutique 2e édition-Editions Lamarre*. Initiatives Sante.
55. Abbas, D. (2010). *Synthèse, étude physico-chimique et préformulation d'un dérivé pyrido [3, 2g] quinoléine triméthyle* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 2).
56. Rondini, L., Dupas, C., Marsset-Bagliéri, A., Berset, C., & Peyrat-Maillard, M. N. (2002). Biodisponibilité des composés phénoliques et de leur métabolites. *NAFAS*, 1(3), 19-57.
57. Arshi, K. (2000). Transport des macromolécules plasmatiques au travers de l'endothélium vasculaire: altérations induites au cours du diabète.
58. Sarraf, M. (2019). *Evaluation non-invasive des Gliomes par Imagerie Résonance Magnétique: Effets des traitements anti-angiogéniques (Avastin) sur la microvascularisation et la microarchitecture tumorale et péritumorale* (Doctoral dissertation, Université Grenoble Alpes (ComUE)).
59. Picard, N. (2005). Etudes in vitro et in vivo du métabolisme du mycophénolate et des interactions métaboliques entre médicaments immunosuppresseurs. *Université de Limoges*.
60. Ferret, C. (2012). *Rôle des Pseudomonas fluorescents dans la biodisponibilité des métaux contaminant les minéraux du sol: application à la phytoremédiation* (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg).
61. Néron, A. (2005). Derrière le miroir de la douleur: Les interactions médicamenteuses, quiétude ou inquiétude?. *Frontières*, 17(2), 42-52.

CHAPITRE II : Méthodes de criblage virtuel

62. Salma, A., & Belgasemi, M. (2021). *étude des effets toxiques du pesticides deltaméthrine sur les grandes fonctions dans l'organisme* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

Chapitre III :

Matériels et Méthode



1. Introduction

Ce chapitre est dédié à la présentation des matériaux utilisés et des méthodes employées dans le cadre de cette étude. Une compréhension approfondie de ces éléments est essentielle pour interpréter les résultats obtenus et évaluer la validité de nos conclusions. Dans cette section, nous décrivons en détail les matériaux utilisés dans notre recherche, y compris les équipements. De plus, nous exposons les procédures et les méthodes expérimentales employées pour collecter les données, effectuer les analyses et parvenir à nos résultats.

2. Matériel et outils utilisés

2.1 Micro-ordinateur

Dans notre étude nous avons utilisé un micro-ordinateur avec une mémoire de 8GB, un processeur (Intel(R) Core(TM) i5-8250U CPU @ 1.60GHz 1.80 GHz) et un système d'exploitation Windows 10 Version 22H2.

2.2 Banques de données et logiciels

2.2.1 Protéine Data Bank (PDB)»

Protéine Data Bank c'est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques : protéines essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN, La PDB est la principale source de données de structures 3D de macromolécules biologiques [1] La structure 3D de notre enzyme d'intérêt ainsi que les complexes cristallographiques utilisés pour réaliser le test RMSD proviennent de cette banque [2].

CHAPITRE III : Matériels et Méthode

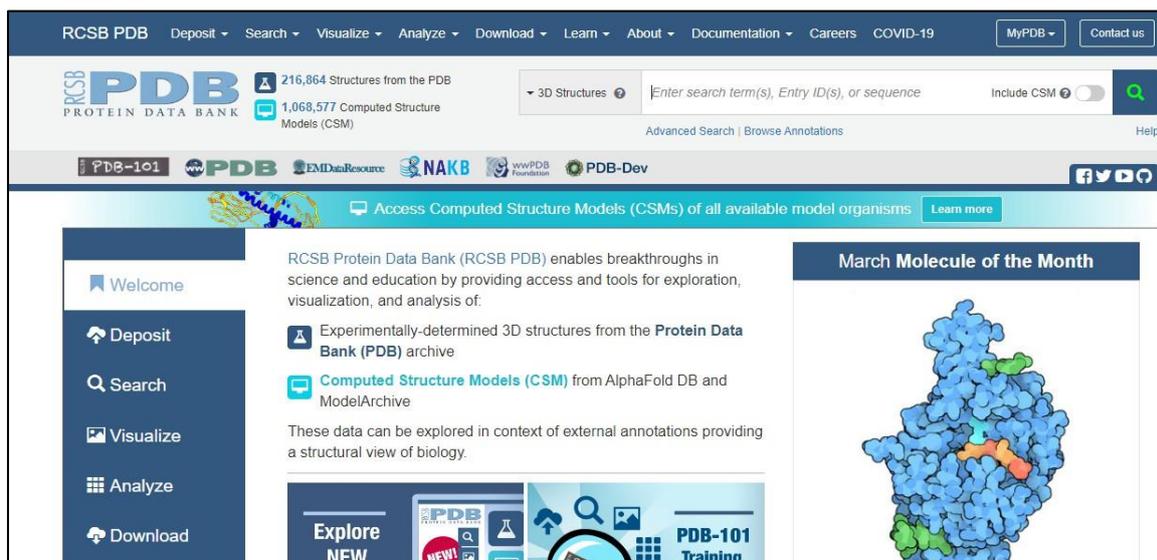


Figure III.1 L'interface du site Protein Data Bank

2.2.2 La banque de données NPASS (Natural Product Activity and Species Source)

Pour notre recherche d'inhibiteurs de neuraminidase, nous avons exploité la version 2.0 de NPASS (Natural Product Activity and Species Source). NPASS est une base de données regroupant une collection de 2175 composés chimiques issus de produits naturels. Elle est librement accessible via le site web <http://bidd2.nus.edu.sg/NPASS/>. L'utilisation de NPASS nous a donné accès à une large diversité de produits naturels, offrant ainsi une grande variété de structures chimiques à explorer dans notre quête d'inhibiteurs [3].

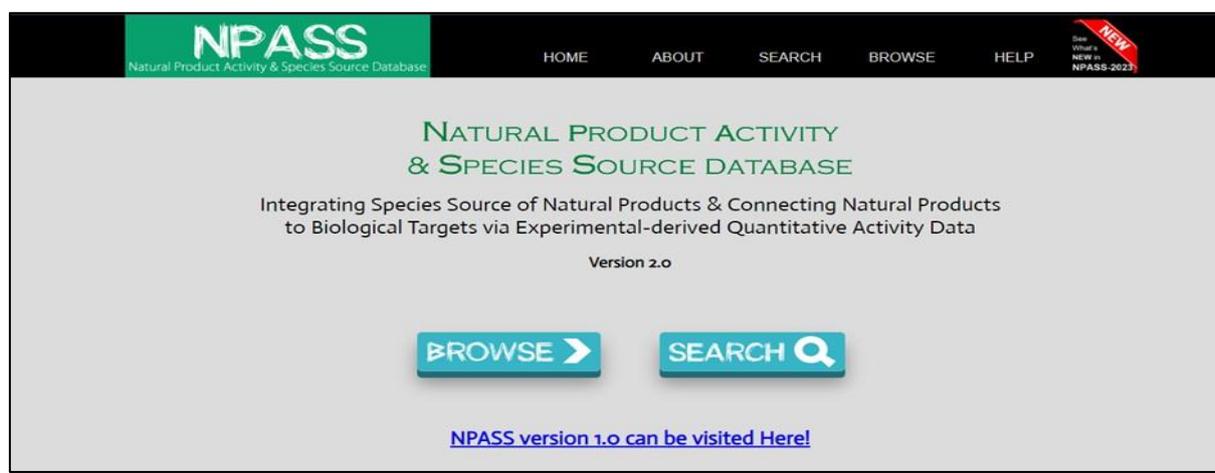


Figure III.2 L'interface du site NPASS

2.2.3 Schrödinger suite

Le logiciel Maestro 11.8 offre de nombreuses options de visualisation pour répondre aux besoins variés des différentes applications. Il apporte de la clarté à une large gamme de systèmes modélisés [4]. Nous avons utilisé Maestro pour la visualisation des complexes et des interactions établies entre le site actif de l'enzyme et les inhibiteurs. Ce logiciel, géré et distribué par Schrödinger, a été utilisé aussi pour créer des images de haute qualité des complexes étudiés.

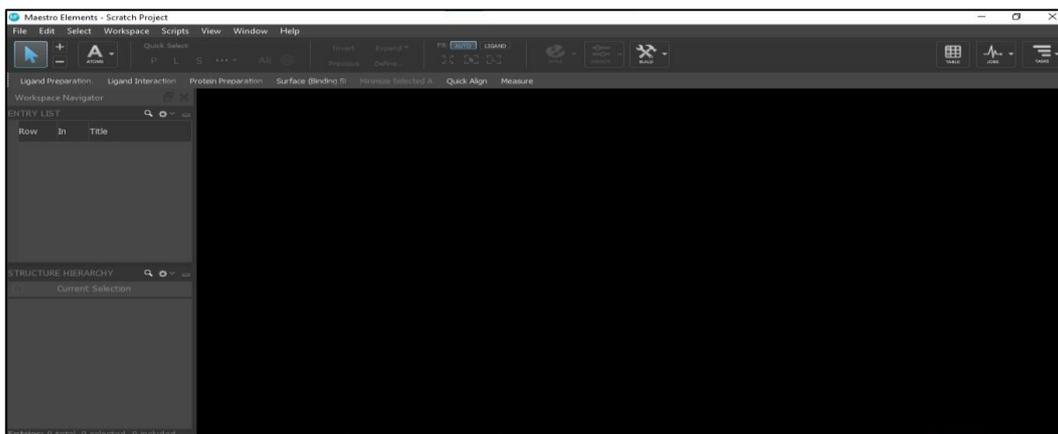


Figure III.3 L'interface du logiciel Schrödinger suite.

2.2.4 Discovery Studio®

Discovery Studio est une suite de logiciels développée et distribuée par Dassault Systèmes BIOVIA permettant de simuler des systèmes à petites molécules et macromolécules [5]. Il a été utilisé pour générer les diagrammes 2D des interactions de chaque ligand avec la cible enzymatique 4ks2 simplifiant l'analyse visuelle.

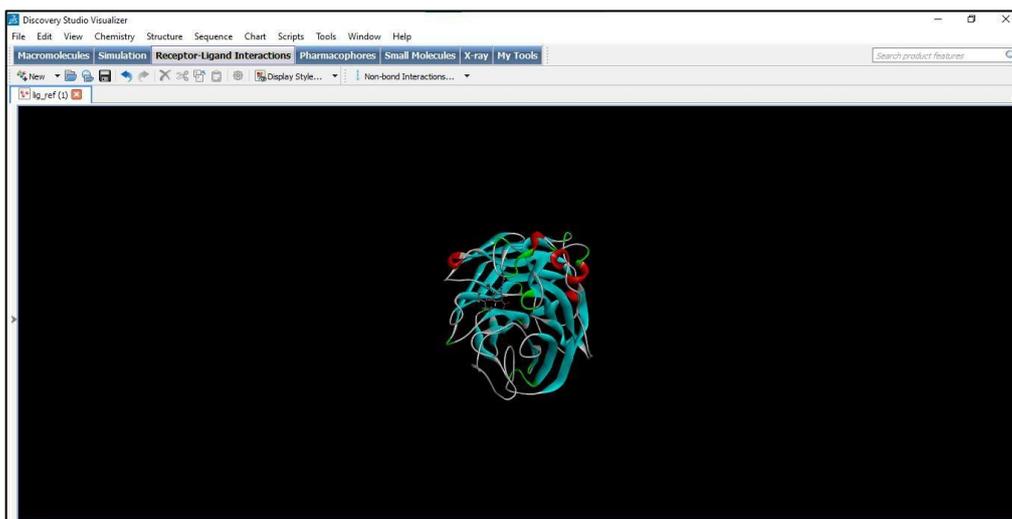


Figure III4 Interface du logiciel Discovery Studio.

2.2.5 PKCSM

pkCSM(<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/>) utilise des signatures structurales basées sur des graphes pour explorer et anticiper diverses propriétés ADME-Tox de nouvelles entités chimiques. Cette méthode offre une plateforme permettant l'analyse et l'amélioration des caractéristiques pharmacocinétiques et de toxicité, présentées dans une interface Web intuitive et accessible gratuitement. Cet outil se révèle précieux pour les chimistes médicaux, les aidant à équilibrer la puissance, la sécurité et les caractéristiques pharmacocinétiques des composés[6].

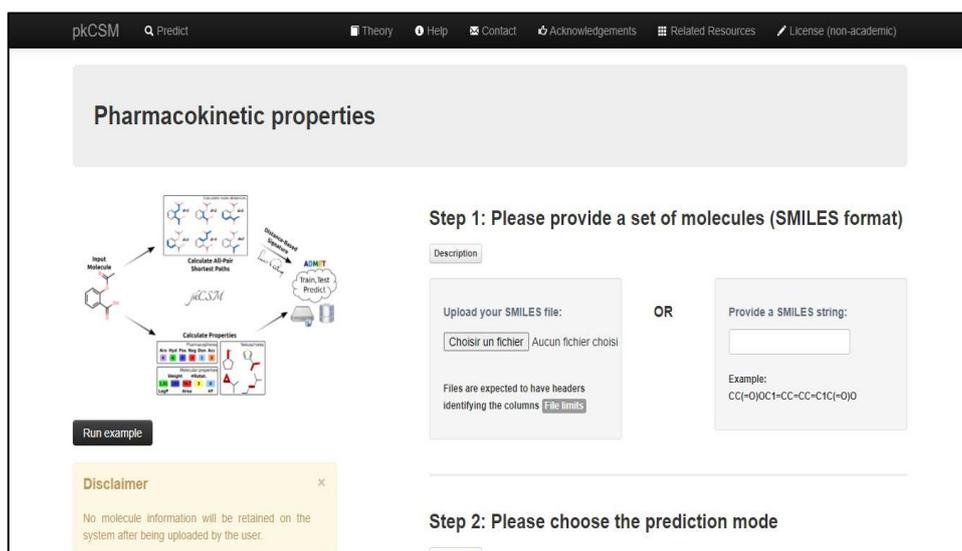
The image shows the web interface of the pkCSM tool. The header includes the site name 'pkCSM', a search bar, and navigation links for Theory, Help, Contact, Acknowledgements, Related Resources, and License (non-academic). The main content area is titled 'Pharmacokinetic properties' and features a flowchart on the left illustrating the process: 'Input Molecules' leads to 'Calculate All-Pair Shortest Paths', which then leads to 'Calculate Properties' and finally 'ADMET Train, Test, Predict'. Below the flowchart is a 'Run example' button. A 'Disclaimer' box states: 'No molecule information will be retained on the system after being uploaded by the user.' The right side of the interface is divided into two steps. 'Step 1: Please provide a set of molecules (SMILES format)' offers two options: 'Upload your SMILES file:' with a file selection button and 'Provide a SMILES string:' with a text input field. An example SMILES string is provided: CC(=O)OC1=CC=CC=C1C(=O)O. 'Step 2: Please choose the prediction mode' is partially visible at the bottom.

Figure III5 L'interface du site pkCSM.

CHAPITRE III : Matériels et Méthode

2.2.6 SwissADME

Ce serveur permet le calcul de descripteurs physico-chimiques et de propriétés pharmacocinétiques des composés. Vous pouvez consulter ce serveur via le lien suivant[7] :

<http://www.swissadme.ch/>

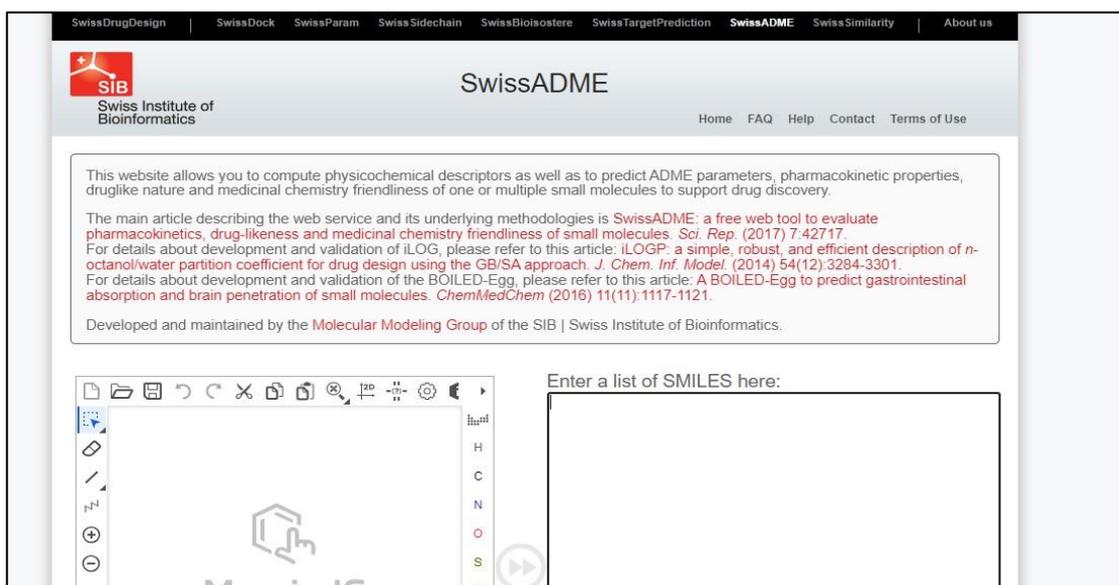


Figure III.6 L'interface du site SwissADME.

3. Methodologies des calculs

Dans notre étude nous avons basés sur les interactions entre le site actif de la protéine Neuraminidase et les ligands pour former des complexes stables à l'aide du programme Schrödinger suite [8]. Le protocole général de Docking moléculaire utilisée dans notre travail est schématisé dans la Figure 7.



Figure II.7 La méthodologie de notre travail.

3.1 Preparations des ligands

La première étape du processus de Docking moléculaire implique la préparation des ligands qui seront utilisés dans l'étude. Dans notre recherche, nous avons privilégié l'utilisation de composés naturels en tant que ligands. Les composés naturels constituent une vaste et variée classe de composés organiques présents dans la nature. Ces composés ont été obtenus à partir de la base de données NPASS sous forme de fichiers "sdf" et leurs géométries ont été optimisées à l'aide du logiciel LigPrep de la suite Schrödinger 2018. Pour chaque ligand, cette préparation a généré un ensemble de structures (jusqu'à 32), incluant différents énantiomères, et leurs états d'ionisation et de tautomérisation ont été prédits par Epik2.2 à un pH de $7,0 \pm 2$.

3.2 Préparation de la protéine

La structure de la protéine Neuraminidase une cible majeure dans le traitement de la grippe, a été obtenue en la téléchargeant depuis la base de données Protéine Data Bank à l'adresse www.rcsb.org/pdb, sous forme de fichier PDB avec le code d'accès 4ks2. Cette structure tridimensionnelle a été résolue par diffraction de rayons X, avec une résolution de 2.60 Å, comme illustré dans la Figure III.8. Les caractéristiques cristallographiques de la protéine 4ks2 sont résumées dans le Tableau III.3. Dans notre travail, le composé (3S,4R,5R)-4-(acétylamino)-3-carbamimidamido-5-(pentan-3-yloxy)cyclohex-1-ène-1-carboxylique (1js), Co cristallisé avec la protéine, sera considéré comme le composé de référence. Cette décision a été prise après avoir examiné attentivement les informations disponibles et les études antérieures. La structure PDB présente des lacunes en termes de connectivité et de charges formelles. Lors de l'importation de la structure protéique depuis PDB vers Maestro, via l'assistant de préparation de protéines, certaines étapes ont été entreprises pour simplifier la structure. La chaîne B ainsi que les molécules d'eau ont été éliminées. Ensuite, des atomes d'hydrogène ont été ajoutés et les liaisons hydrogène ont été optimisées. De plus, les états de protonation de HIS, GLN et ASN ont été vérifiés. Pour minimiser l'énergie, une contrainte RMSD de 0,3 Å et le champ de force OPLS 2005 ont été utilisés.

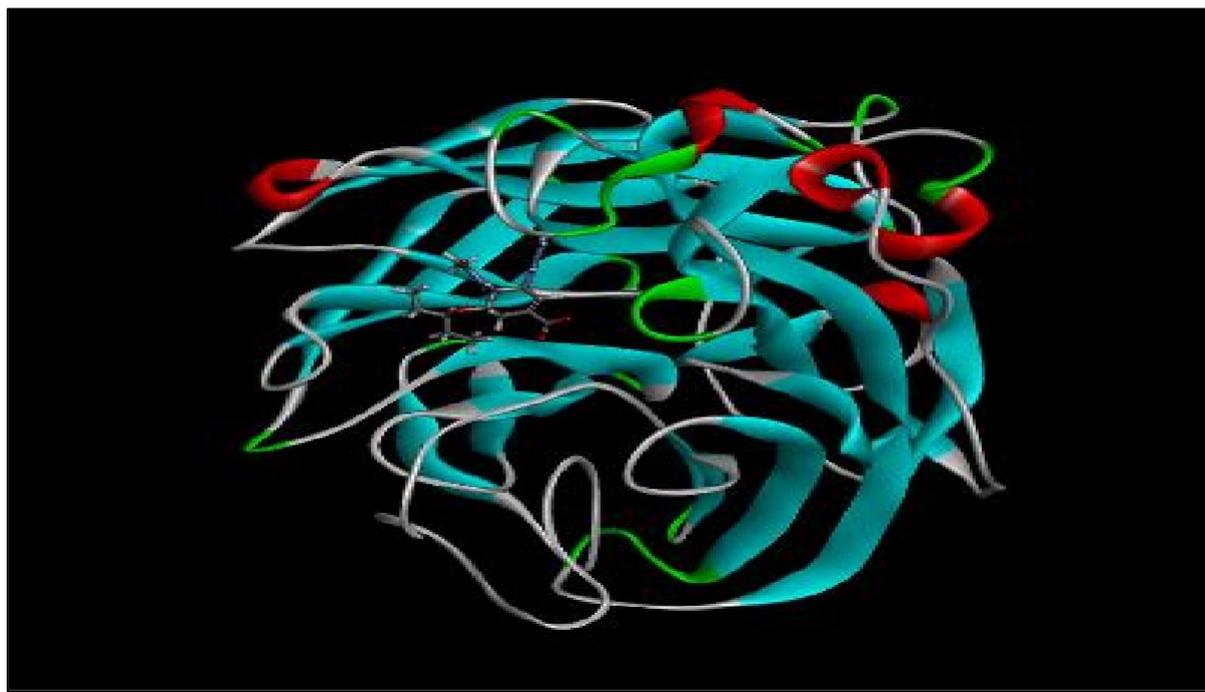


Figure III.8 Structure 3D de la protéine 4ks2 préparé.

Tableau III.2 Données cristallographiques.

Protéine	Classification	Chaîne	Résolution	Résidus	Atomes
4ks2	Hydrolase/ hydrase inhibiteur	A	2.60 Å	390	2175

3.3 Détection de cavité

Les cavités dans les protéines équilibrent stabilité et flexibilité thermodynamique [9]. Elles sont cruciales pour la fonction des protéines, notamment dans les sites actifs des enzymes, où elles fixent spécifiquement les substrats. Les cavités enzymatiques sont donc fréquemment étudiées pour comprendre leur rôle fonctionnel et structurel. En outre, même les cavités moins spécifiques peuvent influencer de manière subtile mais significative la fonction des protéines [10,11]. La boîte de grille peut généralement être générée en utilisant "the receptor grid generation". La génération de grille de récepteurs nécessite une structure protéique préparée avec un ordre de liaison approprié et des charges formelles. Le site actif est défini comme un rectangle, situé aux coordonnées ($x = -23,4893 \text{ \AA}$, $y = 20,7720 \text{ \AA}$, et $z = -9,6124 \text{ \AA}$), et la taille de la grille est $x = 26,4819 \text{ \AA}$, $y = 25,6602 \text{ \AA}$, et $z = 24,2547 \text{ \AA}$. La Figure III.9 présente

la cavité choisie de la protéine avec le co-cristallisé 1sj.

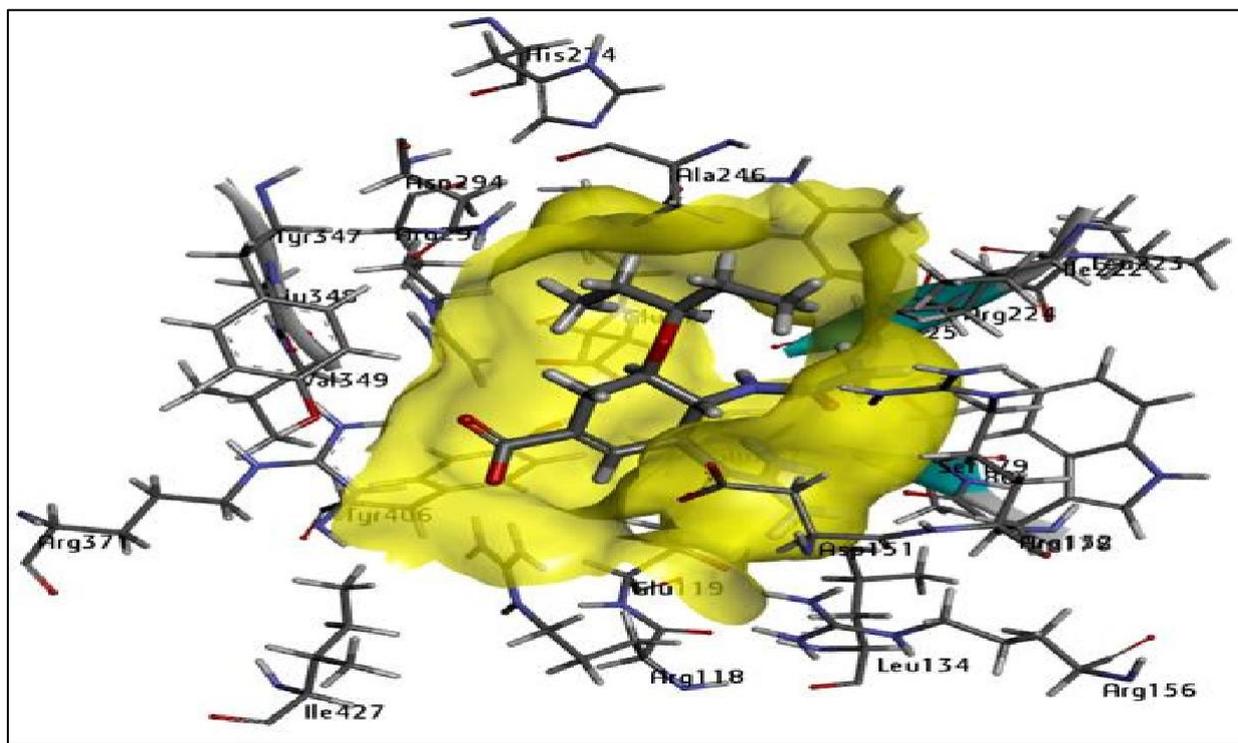


Figure III.9 La cavité choisie de la protéine 4ks2.

3.4 Simulation de Docking moléculaire

Le protocole GLIDE de la suite Schrodinger a été utilisé pour ancrer les ligands dans la grille de récepteurs générée, permettant d'évaluer les interactions ligand-protéine et de sélectionner les ligands les plus prometteurs. Tous les composés ont d'abord été soumis au Docking SP (Standard Precision) pour prédire leur conformation et interaction dans le site actif de la protéine cible. Les composés ayant obtenu les meilleurs scores en SP ont ensuite été ancrés en utilisant le Docking XP (Extra Precision), une méthode plus avancée et précise, pour affiner les prédictions de liaison et estimer plus précisément l'affinité et la stabilité des complexes ligand-protéine. Cela permet de sélectionner les composés les plus susceptibles de se lier avec une haute affinité à la protéine.

3.5 Prédiction les propriétés moléculaires des ligands

Nous avons utilisé l'outil serveur ADME_ SWISS pour étudier la règle de Lipinski et Veber dans cette étape de notre travail.

3.6 Prédications ADME-Tox propriétés

Afin d'étudier les propriétés cruciales des composés candidats médicament, nous avons exploré les caractéristiques de l'absorption, de la distribution, du métabolisme, de l'excrétion et de la toxicité (ADME-Tox). Pour ce faire, nous avons utilisé l'outil pkCSM disponible à l'adresse suivante : <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>. En entrant les SMILES de chaque composé dans l'outil, nous avons obtenu les résultats nécessaires. [12]

CHAPITRE III : Matériels et Méthode

Références bibliographiques

1. Suenderhauf, C., Hammann, F., & Huwyler, J. (2012). Computational prediction of blood-brain barrier permeability using decision tree induction. *Molecules*, 17(9), 10429-10445.
2. Imene, T. L. I. L. I. Simulation par docking moléculaire des interactions enzyme-inhibiteur: cas de la Lanosterole 14 alpha-déméthylase
3. Bernard, F. (2020). Mise au point d'un modèle in vitro de la barrière hémato-encéphalique pour l'étude de la perméabilité de médicaments.
4. Ndombera, F., Maiyoh, G., & Tuei, V. (2019). Pharmacokinetic, physicochemical and medicinal properties of n-glycoside anti-cancer agent more potent than 2-deoxy-d-glucose in lung cancer cells.
5. BIOVIA, « Discovery Studio Visualizer ». <https://discover.3ds.com/discovery-studiovisualizer-download> (consulté le mai 12, 2020).
6. Fatoki, T. H., Ajiboye, B. O., & Aremu, A. O. (2023). In Silico Evaluation of the Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Dermatocosmetic Activities of Phytoconstituents in Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Cosmetics*, 10(3), 69.
7. Kerboub Narimane, K. R. I. D. Etude in silico de l'activité inhibitrice de la xanthine oxydase par les anthocyanes isolés de la plante Myrtille.
8. OURDJINI, Z. (2024). *Nouveaux complexes de rhénium (I) tricarbonyles contenant des ligands monovalents et bivalents de benzènesulfonamide et de coumarine comme inhibiteurs sélectifs de l'anhydrase carbonique humaine IX et XII: Structures, DFT et docking moléculaire* (Doctoral dissertation).

9. Eriksson, A. E., Baase, W. A., Zhang, X. J., Heinz, D. W., Blaber, M. P. B. E., Baldwin, E. P., & Matthews, B. W. (1992). Response of a protein structure to cavity-creating mutations and its relation to the hydrophobic effect. *Science*, 255(5041), 178-183.
10. Tilton Jr, R. F., Kuntz Jr, I. D., & Petsko, G. A. (1984). Cavities in proteins: structure of a metmyoglobin xenon complex solved to 1.9. *ANG. Biochemistry*, 23(13), 2849-2857.
11. Elber, R., & Karplus, M. (1990). Enhanced sampling in molecular dynamics: use of the time- dependent Hartree approximation for a simulation of carbon monoxide diffusion through myoglobin. *Journal of the American Chemical Society*, 112(25), 9161-9175.
12. Tetko, I. V., Bruneau, P., Mewes, H. W., Rohrer, D. C., & Poda, G. I. (2006). Can we estimate the accuracy of ADME-Tox predictions?. *Drug discovery today*, 11(15-16), 700-707.

Chapitre IV

Résultats et Discussion



CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

1. Introduction

Le développement d'un nouveau médicament est un processus complexe et coûteux, allant de la découverte d'une cible thérapeutique à son administration chez le patient. Parmi les étapes clés, les essais cliniques, suivant la phase de développement préclinique, sont essentiels pour identifier et optimiser les molécules biologiquement actives [1]. Dans ce contexte, la modélisation moléculaire, notamment le Docking moléculaire, joue un rôle crucial en permettant de prédire les interactions entre une protéine cible et un ligand potentiel, facilitant ainsi la conception de nouveaux médicaments [2]. Ce chapitre se concentre spécifiquement sur la recherche de nouveaux médicaments antiviraux à partir de composés naturels, avec un intérêt particulier pour les inhibiteurs du virus de la grippe. L'objectif principal est d'analyser les interactions entre ces composés et la protéine Neuraminidase du virus de la grippe, une cible thérapeutique cruciale pour le développement d'agents antiviraux efficaces [3]. En utilisant la technique de docking moléculaire, notre objectif est de prédire comment ces composés se lient à la protéine cible, ce qui pourrait conduire à la découverte de nouveaux agents antiviraux prometteurs [4].

2. Résultats et discussion

Après avoir expliqué les méthodes de calcul et leurs approches dans le chapitre précédent, nous aborderons maintenant les résultats obtenus.

2.1 Résultats de Dockings moléculaires

Notre étude de docking moléculaire est divisée en trois parties : la validation du docking, l'application du docking et la compréhension des interactions.

2.1.1 Validation du Docking par la RMSD

La méthode de validation utilisant la RMSD est cruciale pour évaluer la qualité des résultats du Docking, et le site Web <https://zhanggroup.org/DockRMSD/> fournit un outil précieux à cet effet. En général, une RMSD inférieure à 2 Å est considérée comme très bonne pour le Docking, indiquant une bonne superposition entre les conformations du ligand avant et après le Docking. Cependant, il est important de noter que cette valeur peut varier en fonction du système étudié et des protocoles spécifiques utilisés dans l'analyse. Il est donc nécessaire de prendre en compte ces facteurs lors de l'interprétation des valeurs de RMSD.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

La valeur spécifique de la RMSD que nous avons obtenue, soit 0.699, démontre une similarité structurale relativement élevée entre le ligand de référence accompagnant la protéine, tel que trouvé dans la base de données de protéines, et le ligand de référence après le Docking.

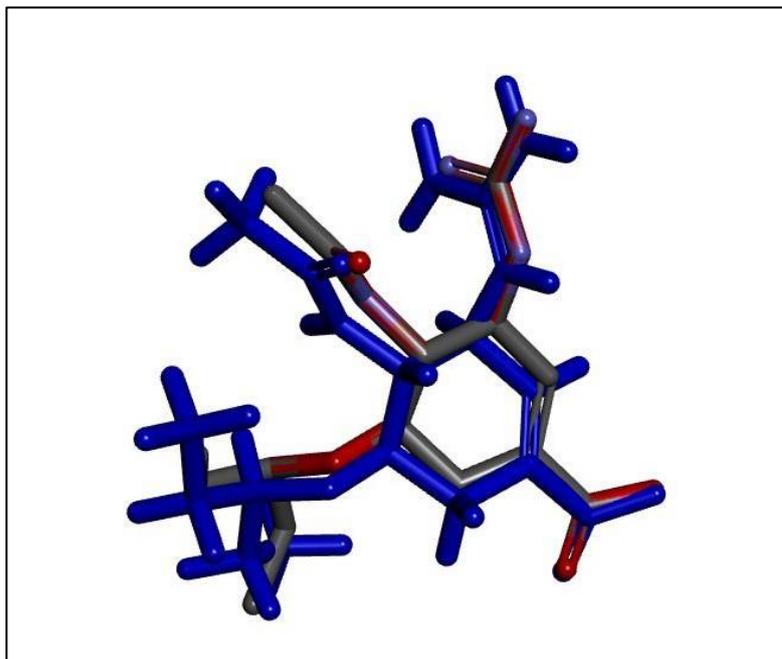


Figure IV.1: superposition entre les conformations du ligand **1SJ** avant et après le Docking

Cette similarité suggère que le ligand de référence reste bien lié à la protéine même après le processus de Docking. Cela confirme la validité du Docking, nous permettant ainsi de commencer notre étude.

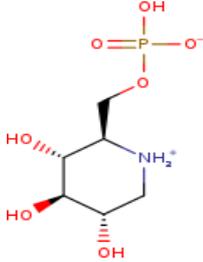
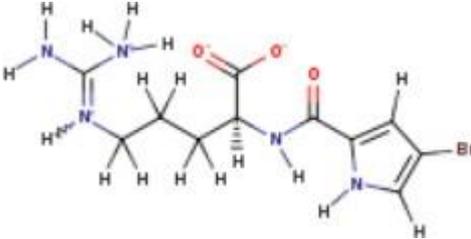
2.2.2 Discussion des résultats de Docking moléculaire

Comme mentionné dans le chapitre précédent, nous avons débuté notre étude avec 2175 composés d'origine naturelle dans le but de déterminer de potentiels inhibiteurs de l'enzyme neuraminidase. Nous avons exploré la conformation la plus stable du complexe protéine-ligand, correspondant au niveau d'énergie le plus bas. Nous avons focalisé notre attention sur sept ligands, désignés par L1, L2, L3, L4, L5, et L7, ayant les scores d'énergie les plus bas (**Tableau IV.2**). Notre objectif est d'identifier les composés présentant une meilleure affinité et interaction avec la protéine cible (code 4ks2) par rapport au ligand de référence (3S,4R,5R)-4-(acetylamino)-3-carbamimidamido-5-(pentan-3-yloxy)cyclohex-1-ene-1-carboxylic acid, abrégé en 1sj, qui a un score de -9.047 kcal/mol. Les résultats des interactions entre ces ligands et la protéine sont résumés dans le **Tableau IV.2**. Les structures 2D et 3D des interactions protéine-ligand ont été visualisées à l'aide du logiciel Discovery Studio, mettant

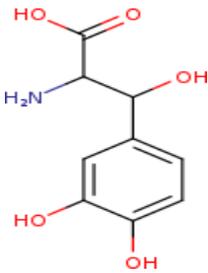
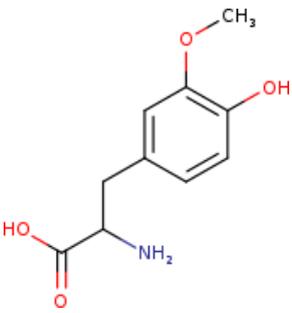
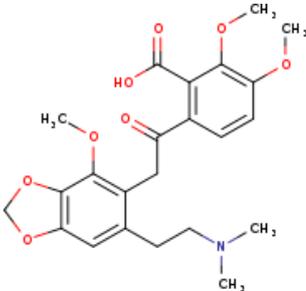
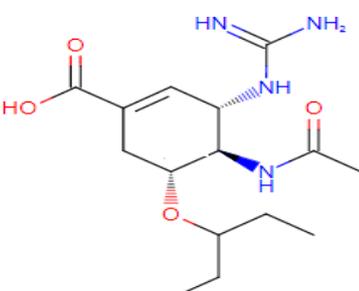
CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

en évidence les interactions avec les résidus d'acides aminés du site actif, notamment par le biais de liaisons hydrogène et d'interactions hydrophobes.

Tableau IV. 1 Scores Les meilleurs Composés dans L'étude de docking moléculaire

ligands	Structure	Xp score Kcal/mol
01	 <chem>NC1CC(O)C(O)C1OP(=O)(O)O</chem>	-12.706
02	 <chem>NC1=NC=NC=C1CCCCCNC(=O)C(=O)c2c[nH]c3ccccc23</chem>	-10.485
03	 <chem>BrC1=CN(C(=O)N2CCCCN2)C=C1</chem>	-9.688
04	 <chem>BrC1=CN(C(=O)N2CCCCN2)C=C1</chem>	-9.504

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

05		-9.668
06		-9.645
07		-9.278
1SJ		-9.047

- **Ligand de référence 1SJ**

La re-Docking du ligand de référence consiste à repositionner ce dernier dans le site de liaison d'une cible protéique. Son objectif est de vérifier la capacité précise du logiciel de Docking à prédire la pose du ligand de référence dans ce site, en se basant sur les informations structurales de la cible. Des rapports précédents ont déjà identifié plusieurs résidus critiques qui forment le site actif et la structure environnante de l'enzyme NA. Ces résidus comprennent ARG 118, GLU 119, ASP 151, ARG 152, ASP 198, ILE 222, ARG 224, GLU 227, ASP 243, HIS 274, GLU 276, GLU 277, ARG 292 ET ASP 330, ARG 371.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

Cette re-Docking du ligand de référence (1SJ) a été effectuée en utilisant le logiciel Schrödinger. Les résultats ont révélé un score de -9,047 kcal/mol. Il a été observé que le ligand de référence a établi 17 interactions distinctes avec le récepteur 4ks2.

Tableau IV.2 Les différentes interactions ligands-Protéines.

ligands	Résidus d'acides aminés	Nombre de liaisons hydrogène	Distance de liaison hydrogène (Å)	Nombre de liaisons hydrophobe	Nombre de liaisons Électrostatique
<u>L1</u>	ARG118, GLU277, TRP178, TYR406, ASP151.	8	1.66_3.92	0	10
<u>L2</u>	ARG118, GLU119, ASP151, VAL149, PRO431,	8	1.66_3.01	0	13
<u>L3</u>	GLU277, TRP178, TYR406, ARG224, ASP151	12	1.93_2.75	0	5
<u>L4</u>	GLU119, ARG292, TRP178, VAL149,	5	1.78-2.87	2	13
<u>L5</u>	GLU119, ARG371, ASP178, TYR406, TRP178.	7	2.00-2.64	0	9
<u>L6</u>	ARG292, GLU277, TRP178, TYR406, ASP151, ILE222	5	1.70-2.52	1	8
<u>L7</u>	ARG371, GLU277, TRP178, ASP151, ALA246, ILE222	8	1.75-2.80	2	9
<u>1sj</u>	ARG152, GLU119, ASP151, TRP178, ALA246	5	1.62-2.88	1	13

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

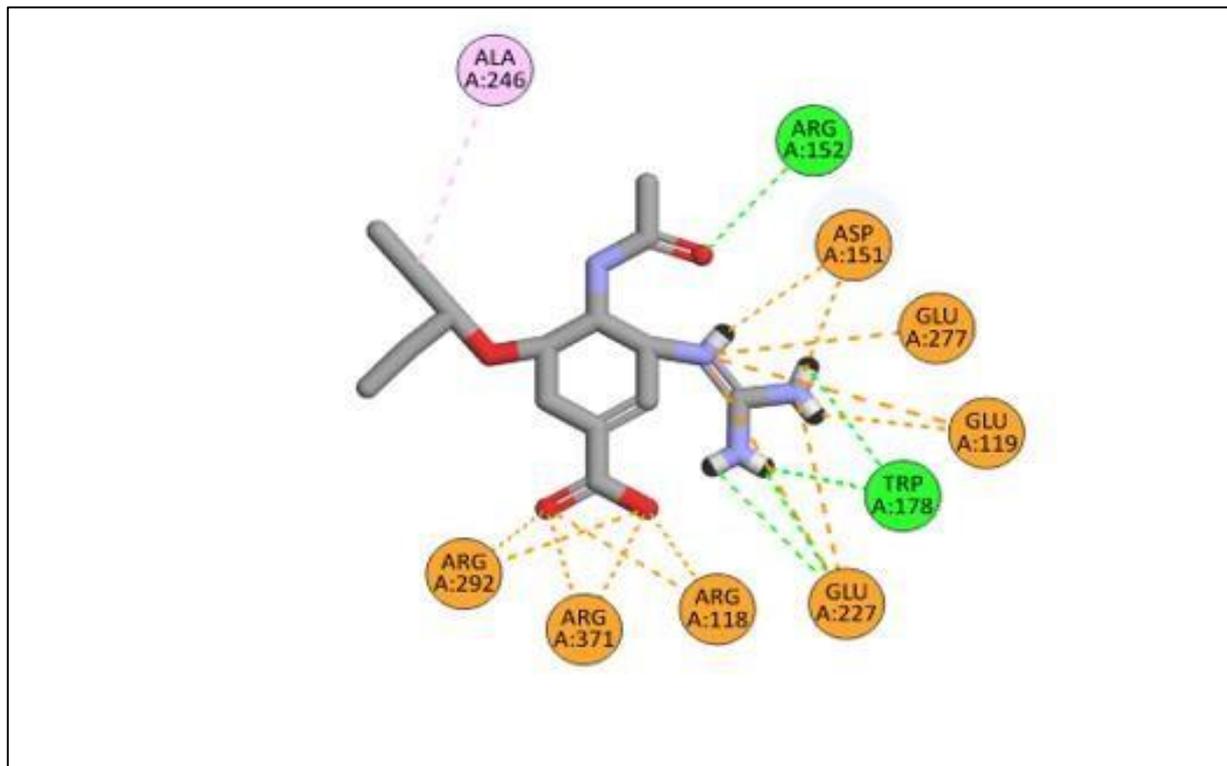


Figure IV.2 Interactions entre le ligand de référence et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 2D).

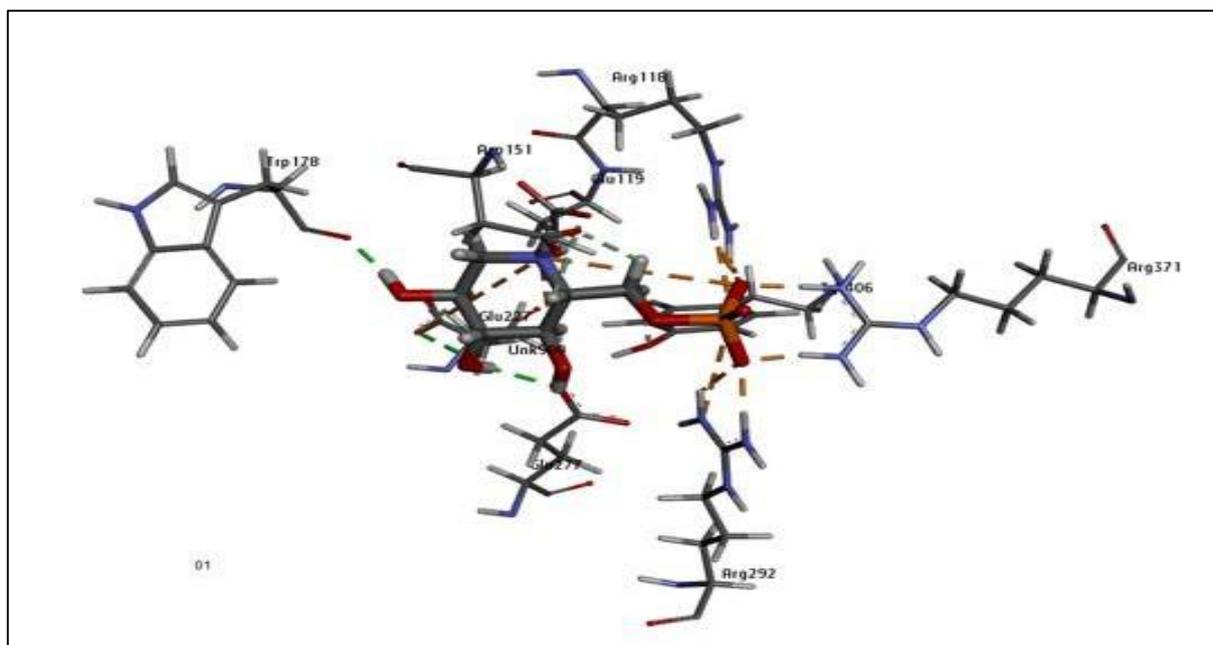


Figure IV.3 Interactions entre le ligand de référence et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

Quatre liaisons hydrogène ont été établies entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU227 et TRP178 de la protéine. De plus, le ligand de référence a formé une liaison hydrogène entre l'atome d'oxygène du ligand et le résidu ARG152 de la protéine. Une liaison hydrophobe a également été formée entre le cycle benzénique du ligand de référence et le résidu ALA246 de la protéine. En outre, six liaisons électrostatiques ont été établies entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus ARG292, ARG371 et AG118 de la protéine. Quatre liaisons électrostatiques ont été établies entre les atomes de carbone du ligand et les atomes d'oxygène des résidus ASP151 et GLU119 de la protéine. Enfin, trois liaisons électrostatiques ont été établies entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU277, GLU119, GLU277 de la protéine.

➤ Les interactions protéine-L1

La complexe L1_4ks2 présente un score de Docking moléculaire faible de -12,706 kcal/mol, indiquant ainsi une forte affinité entre le composé et la protéine. De plus, ce composé est le meilleur inhibiteur identifié lors de notre criblage virtuel en termes de score. Dans cette conformation, il forme 17 interactions avec la protéine, comprenant des liaisons hydrogène et des liaisons électrostatiques avec différents résidus d'acides aminés de la protéine. Nous avons observé 8 liaisons hydrogène différentes dans le complexe étudié. Sept d'entre elles se sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU277, TRP178, TYR406 et ASP151. Pour le résidu GLU277, 5 liaisons ont été détectées à des distances de 2.22 Å, 2.92 Å, 2.03 Å, 2.38 Å et 2.56 Å, tandis que pour le résidu TRP178, les liaisons ont été mesurées à des distances de 1.67 Å, et une autre impliquant le résidu THR406 avec une distance de 2.44 Å, ainsi que le résidu ASP151 avec des distances de 2.52 Å et 2.51 Å. Nous avons également observé 10 liaisons électrostatiques différentes dans le complexe étudié. Deux d'entre elles se sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU277, TRP178, TYR406 et ASP151. Nous avons également identifié deux liaisons formées entre les atomes d'oxygène du ligand et les atomes d'hydrogène du résidu ASP151, GLU119, avec des distances de 2.08 Å pour ASP151 et 1.58 Å pour GLU119. De plus, deux liaisons ont été observées entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome de carbone du résidu GLU277, à une distance de 5.53 Å et 5.15 Å. Enfin, six liaisons ont été observées entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'oxygène du résidu ARG118, ARG292, ARG371, à des distances de 2.78 Å, 1.79 Å, 1.77 Å, 2.10 Å, 1.56 Å et 1.55 Å.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

À partir des résultats des interactions, nous avons remarqué que le nombre de liaisons électrostatiques dans ce complexe est plus élevé que dans le composé de référence, ce qui pourrait expliquer la stabilité accrue du complexe.

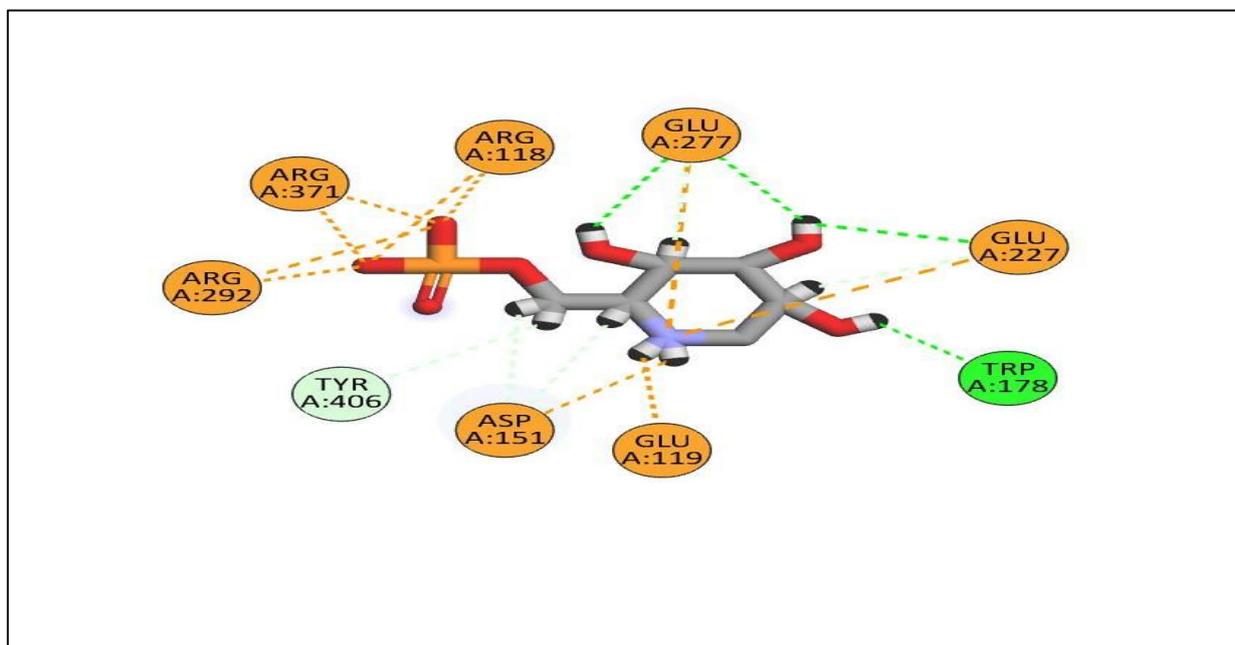


Figure IV.4. Interactions entre le ligand L1 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 2D).

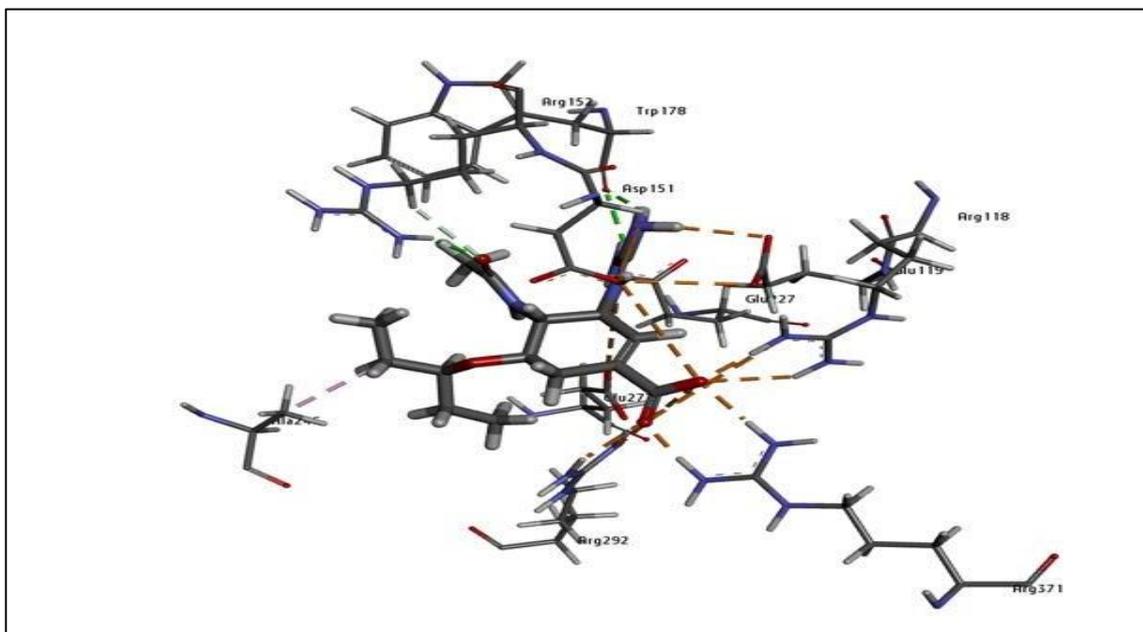


Figure IV.5 Interactions entre le ligand L2 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

➤ Les interactions protéine-L2

Le score de Docking moléculaire du complexe est de -10,485 kcal/mol, ce qui est considéré comme un score faible, indiquant une forte interaction entre le ligand et la protéine. Le complexe forme un total de 21 liaisons, ce qui suggère une forte affinité entre le ligand et le site actif de la protéine.

Ce complexe présente 8 liaisons de type hydrogène : 2 liaisons sont formées entre les atomes d'oxygène du ligand et les atomes d'hydrogène des résidus ARG371 et ARG291, avec des distances de 1,77 Å et 2,03 Å. De plus, 6 liaisons sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU277, GLU277, VAL149, ASP151 et ARG371, ARG292, avec des distances de 1,66 Å, 2,01 Å, 3,01 Å, 2,76 Å, 2,13 Å, 1,65 Å, 1,77 Å et 2,10 Å. Le ligand forme également 13 liaisons de type électrostatique. Deux liaisons sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU119, GLU227, avec des distances de 1,81 Å et 2,07 Å. Huit liaisons sont formées entre les atomes de carbone du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU119, GLU227, GLU227, ASP151, ARG118, dont deux liaisons pour ARG118 (2,07 Å et 3,01 Å), deux pour GLU227 (4,27 Å et 4,52 Å), et 2 pour GLU119, ASP151 (3,45 Å et 3,96 Å respectivement). Enfin, deux liaisons de type hydrophobe sont observées entre le carbone du ligand et le résidu PRO431, avec des distances de 4,36 Å et 5,44 Å, et une pour VAL149 (5,30 Å). Ce qui distingue ce complexe du premier, c'est la présence de liaisons hydrophobes qui ont également contribué à la stabilité du complexe.

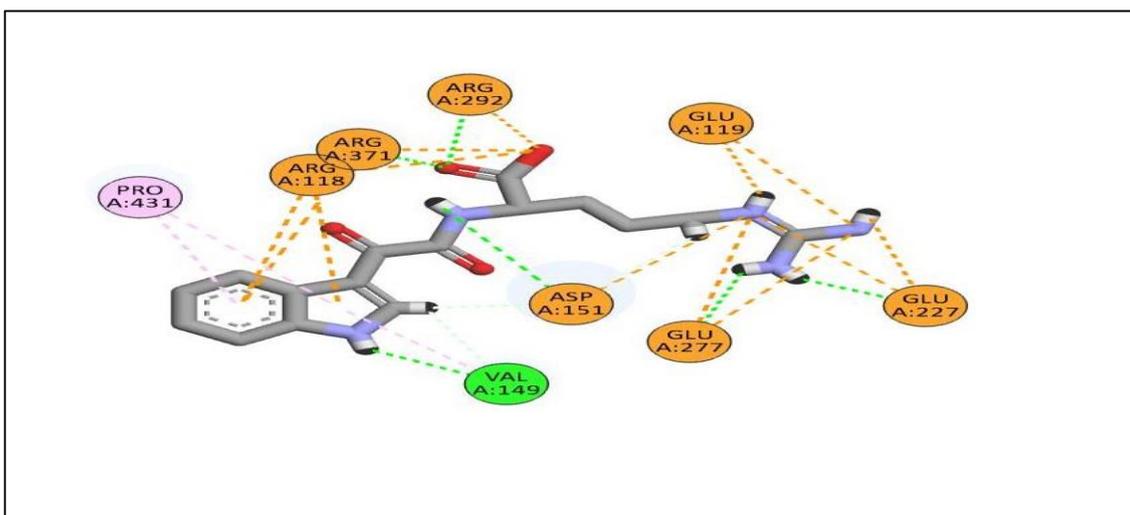


Figure IV.6 Interactions entre le ligand L2 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 2D).

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

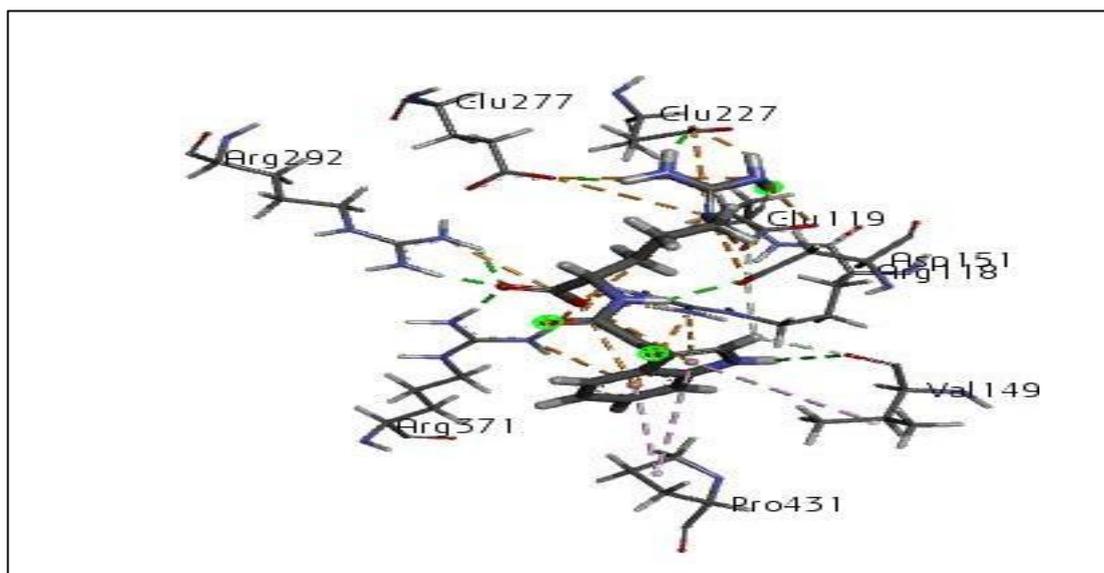


Figure IV.7 Interactions entre le ligand L2 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).

➤ Les interactions protéine-L3

Ce complexe présente un total de 17 liaisons et affiche un score énergétique de -9,688 kcal/mol.

Le ligand forme 12 liaisons de type hydrogène. Huit liaisons sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU227, GLU227, GLU119, TYR178, TYR406, TRP178, ASP151, dont quatre liaisons pour GLU227 (2,51 Å, 2,54 Å, 2,57 Å, 2,68 Å), une pour GLU119 (1,9 Å), et quatre pour TYR178, TYR406, TRP178, ASP151 (2,52 Å, 2,04 Å, 2,34 Å, 2,47 Å respectivement). De plus, il y a une liaison formée entre les atomes d'oxygène du ligand et les atomes d'hydrogène du résidu (1,75 Å).

Enfin, cinq liaisons de type électrostatique sont observées, avec deux liaisons formées entre les atomes de carbone du ligand et les atomes d'oxygène des résidus GLU227, GLU119 (2,02 Å, 1,80 Å respectivement), et trois liaisons formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus ASP151, GLU227, GLU119 (1,58 Å, 4,66 Å, 3,61 Å).

Les mêmes acides aminés présents dans le composé de référence ont été associés à ce composé, et il y avait un équilibre dans les liaisons électrostatiques et hydrogéniques.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

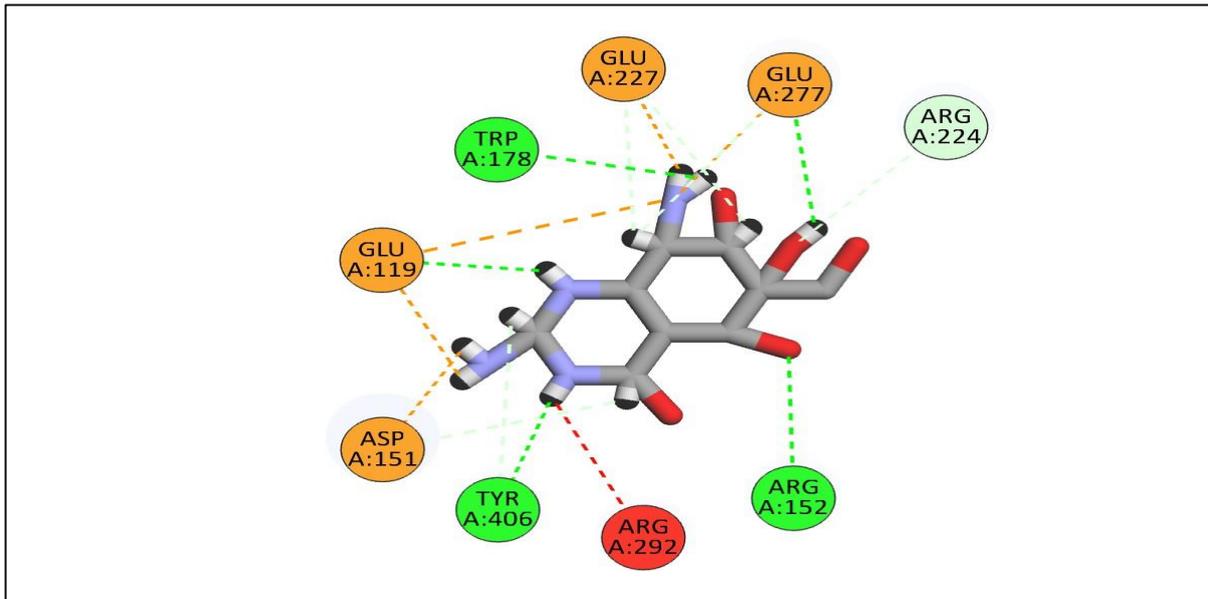


Figure IV 8 Interactions entre le ligand L3 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 2D).

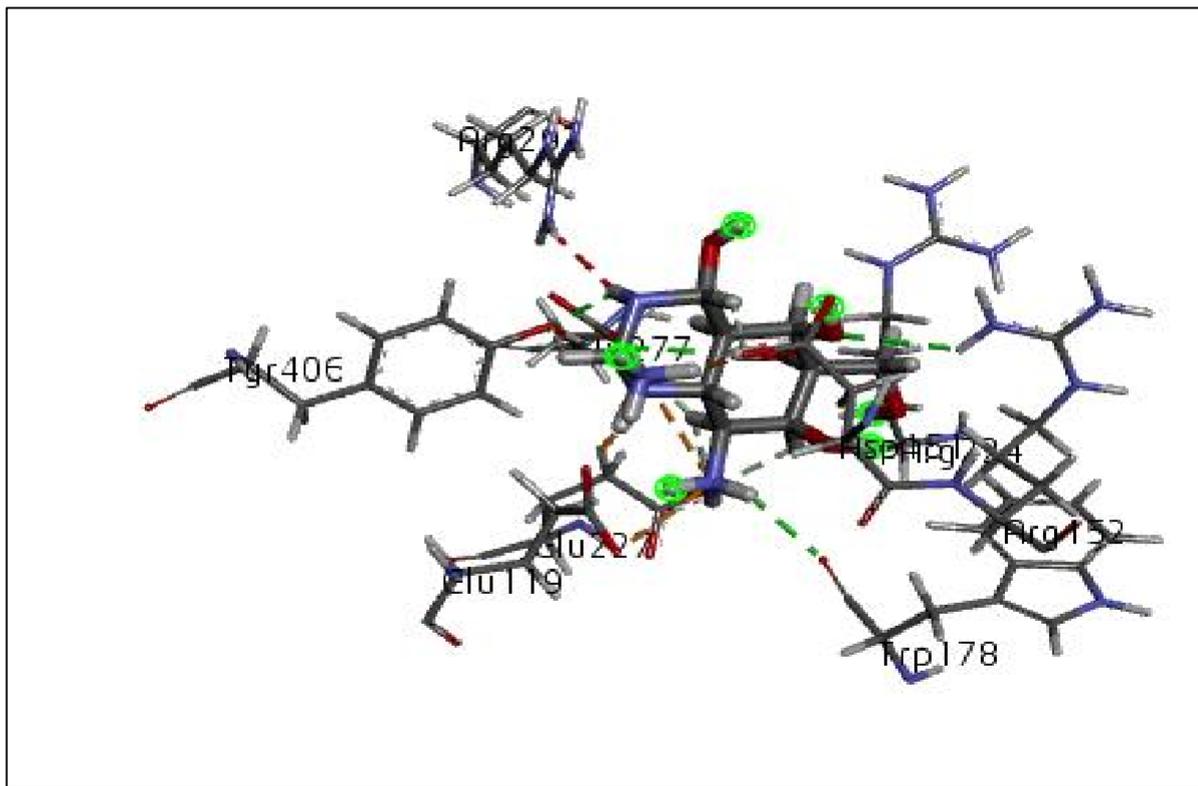


Figure IV. 9 Interactions entre le ligand L3 et les résidus de la poche d'enzyme 4ks2 (structure 3D).

➤ Les interactions protéine-L4

Le ligand forme 5 liaisons de type hydrogène. Il y a 5 liaisons formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus VAL149, ASP151, GLU277,

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

TRP178, dont 2 liaisons pour ASP151 (1,78 Å, 2,17 Å), et des liaisons pour VAL149, GLU277, TRP178 (2,87 Å, 2,14 Å, 2,62 Å respectivement).

Le complexe présente 13 liaisons électrostatiques, dont 3 impliquent les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus ASP151, GLU119, GLU227 (3,24 Å, 4,93 Å, 3,07 Å respectivement). De plus, il y a 6 liaisons entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu ARG118, ARG292, ARG371. Les distances des deux liaisons de ARG118 sont de 3,00 Å et 1,77 Å, et avec ARG292 (1,88 Å, 2,23 Å), et aussi avec ARG371 (1,80 Å, 1,77 Å). Il y a également 2 liaisons de type hydrophobe formées entre les atomes de carbone du ligand et le résidu VAL149 avec des distances de 4,03 Å et 5,16 Å.

Malgré la présence d'une chaîne alkyle dans le composé, nous notons l'absence de liaisons hydrophobes. Cela est dû à la nature spécifique du site actif de l'enzyme, où la plupart des interactions se forment par des liaisons électrostatiques et hydrogéniques. Les acides aminés de la protéine cible, bien qu'ils puissent former des liaisons hydrophobes avec des ligands appropriés, privilégient ici d'autres types d'interactions en raison de leur disposition et orientation dans la poche de liaison. Ainsi, cette observation souligne l'importance d'une analyse détaillée de la structure moléculaire et des interactions spécifiques au sein de la poche de liaison pour comprendre pleinement les mécanismes de reconnaissance ligand-enzyme.

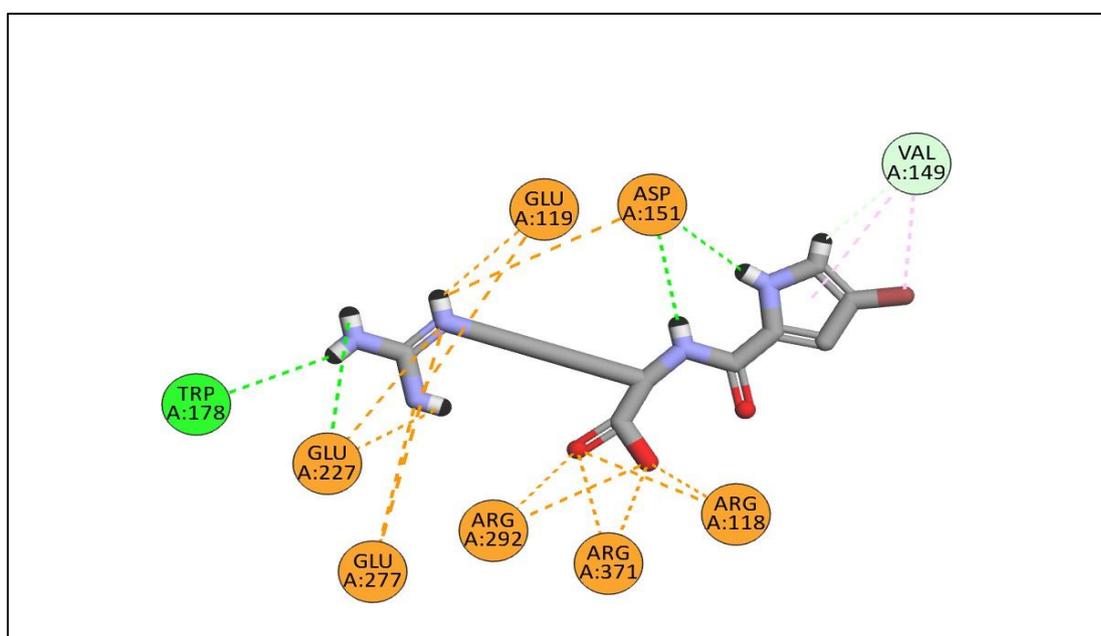


Figure IV.10 Interactions entre le ligand L4 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 2D).

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

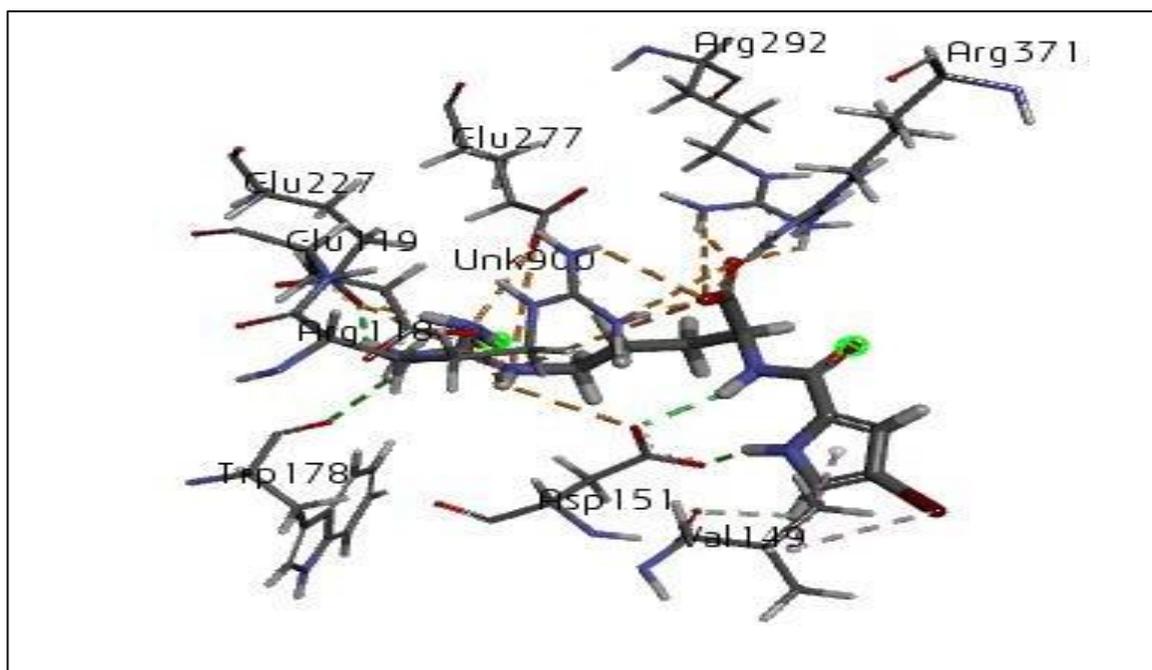


Figure IV.11 Interactions entre le ligand L4 et les résidus d'enzyme 4ks2 (structure 3D).

➤ Les interactions protéine-L5

Le complexe présent affiche un score de -9,645 Kcal/mol, qui est attribué à la formation de 7 liaisons de type hydrogène. Les atomes d'hydrogène du ligand se lient aux atomes d'oxygène des résidus TRP178, TYR406, ASP 151, GLU277 pour former cinq liaisons distinctes. Le résidu TRP178 forme deux liaisons, dont les distances sont de 1.89 Å et 2.23 Å, tandis que les résidus TYR406, ASP 151, GLU277 forment également 3 liaisons, avec des distances de 2.24 Å, 2.35 Å, 2.64 Å. Une liaison est formée entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu ARG292, ARG371, à des distances de 2.30, 2.93 Å. Et aussi 9 liaisons électrostatiques, dont 2 impliquent les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène de résidu, GLU119, (2.71 Å, 2.89 Å). De plus, il y a 3 liaisons entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu, ARG118, ARG292, ARG371, dont les distances sont de 1.99 Å et 2.92 Å, 1.85 Å. Généralement, une liaison hydrogène forte a une longueur comprise entre 1,5 et 2,5 angströms (Å). Dans cette plage, les liaisons hydrogène présentent une force et une stabilité accrues, ce qui contribue de manière significative à la stabilité structurelle globale du complexe et à ses interactions moléculaires.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

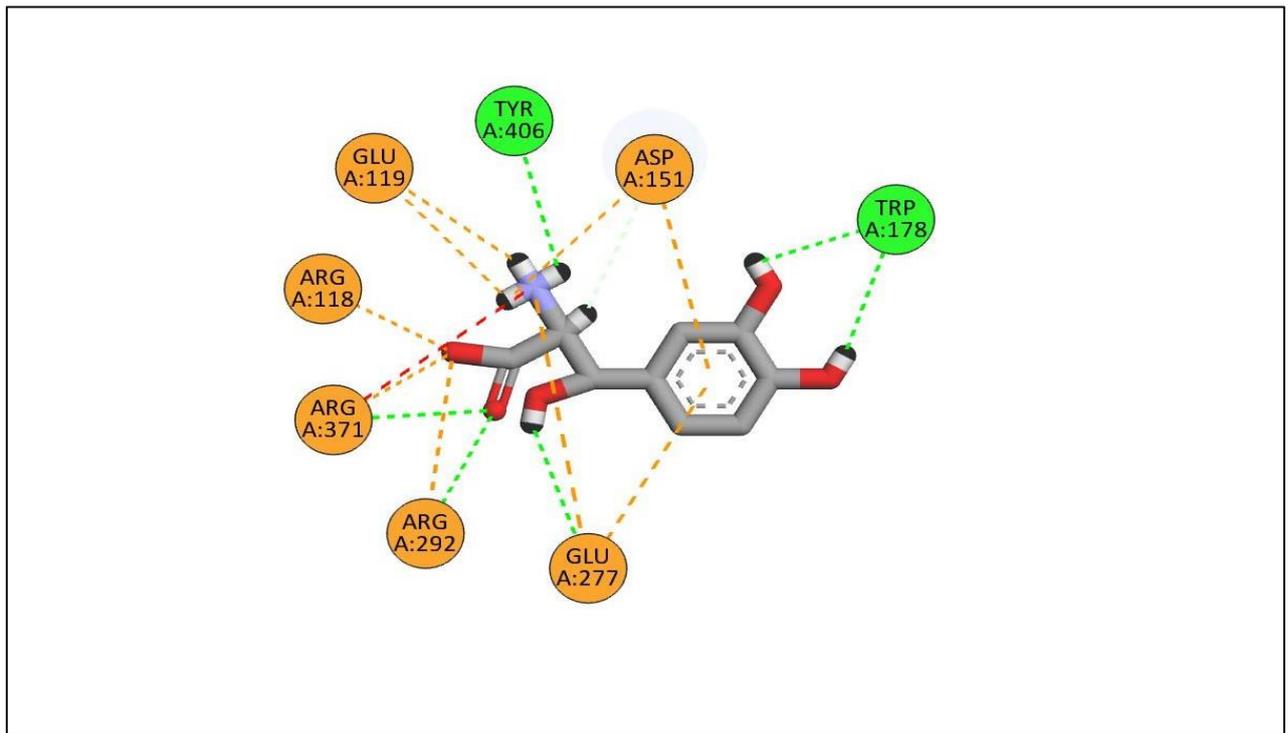


Figure IV.12 Interactions entre le ligand L5 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 2D).

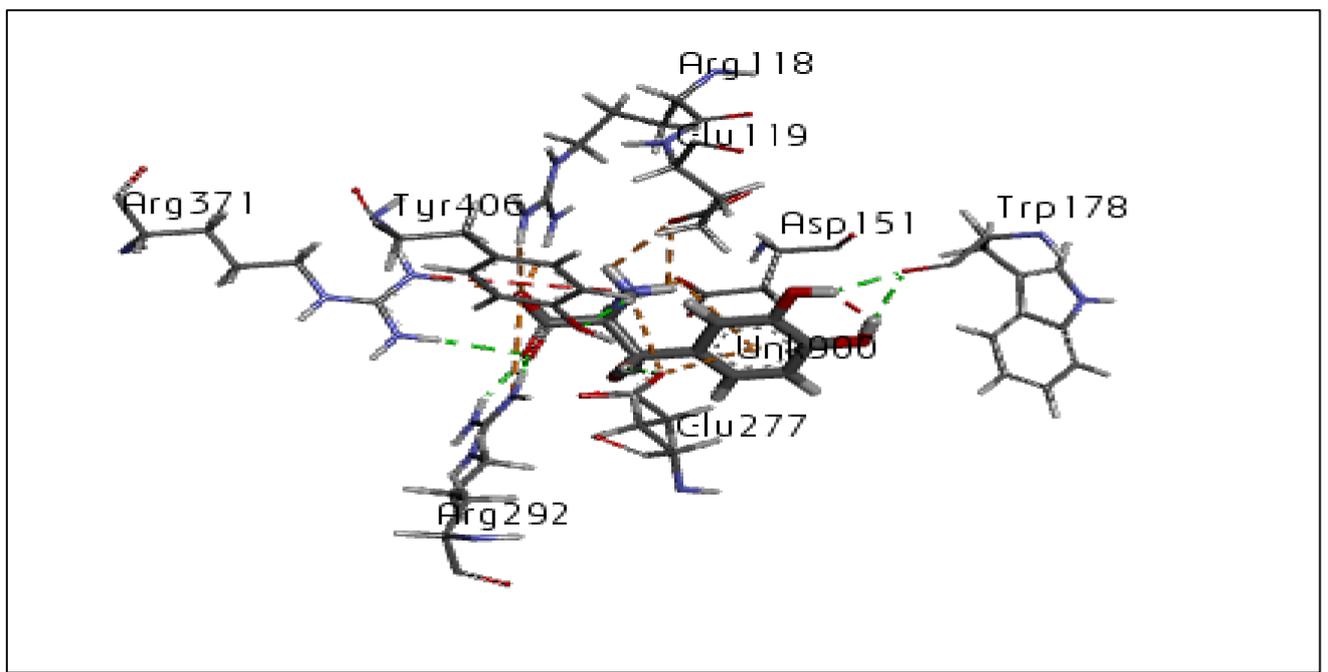


Figure IV.13 Interactions entre le ligand L5 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

➤ Les interactions protéine-L6

Le score de ce complexe est de -9.668 Kcal/mol, avec formation de 10 liaisons: Il y a 5 liaisons de type hydrogène dans ce complexe, dont 2 sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus TRP178, TYR406 sont de distances 1.97, 2.05 Å et 2.18 Å. De plus, 3 liaisons sont formées entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu, ARG118, ARG153, ARG371 avec des distances de 1.70, 2.52, 1.97 Å. En outre, ce complexe présente 8 liaisons de type électrostatique, dont 3 impliquent les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène de résidu, GLU119, ASP151 (2.38 Å, 2.56 Å), ASP151 (4.12 Å). De plus, il y a 3 liaisons entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu, ARG118, ARG292, ARG371, dont les distances sont de 4.56 Å et 2.53 Å, 2.12 Å, en fin 2 liaisons entre l'atome carbone du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu, GLU277, ASP151, dont les distances sont de 4.56, 4.12 Å et 2.53 Å, 2.12 Å respectivement. Ces complexes présentent 1 seule liaison de type hydrophobe entre l'atome carbone du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu, ILE222 avec une distance de 4.13 Å.

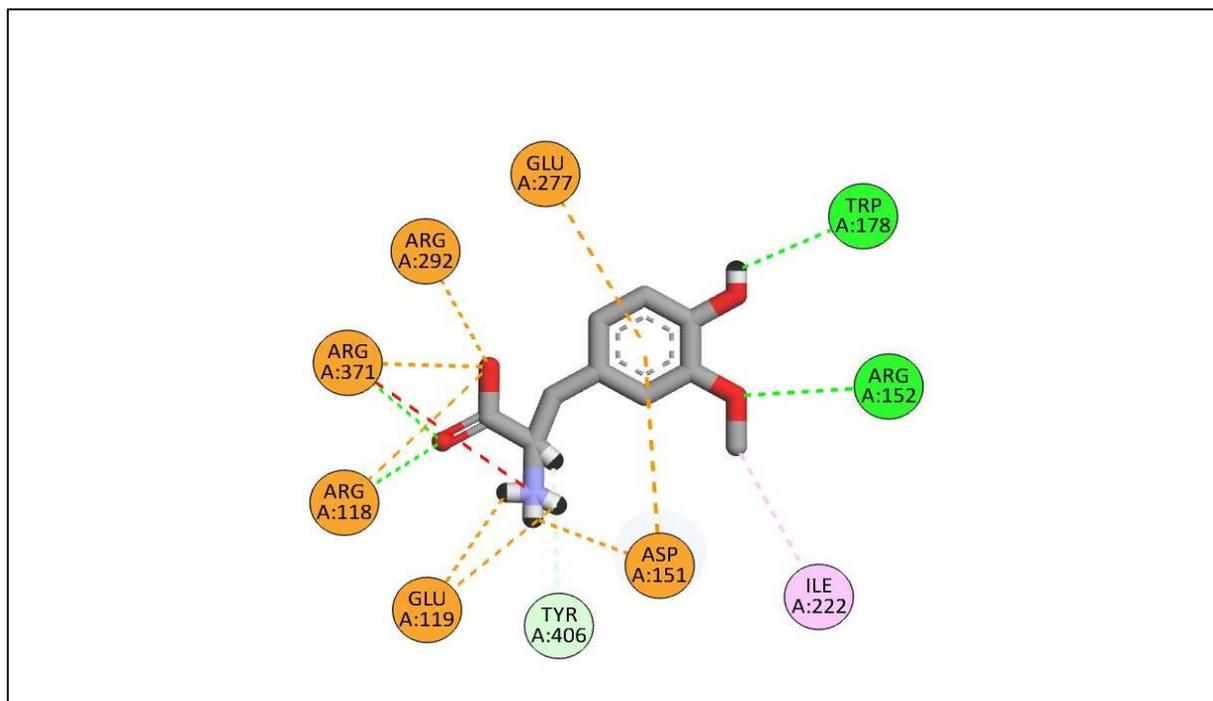


Figure IV.14 Interactions entre le ligand L6 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 2D).

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

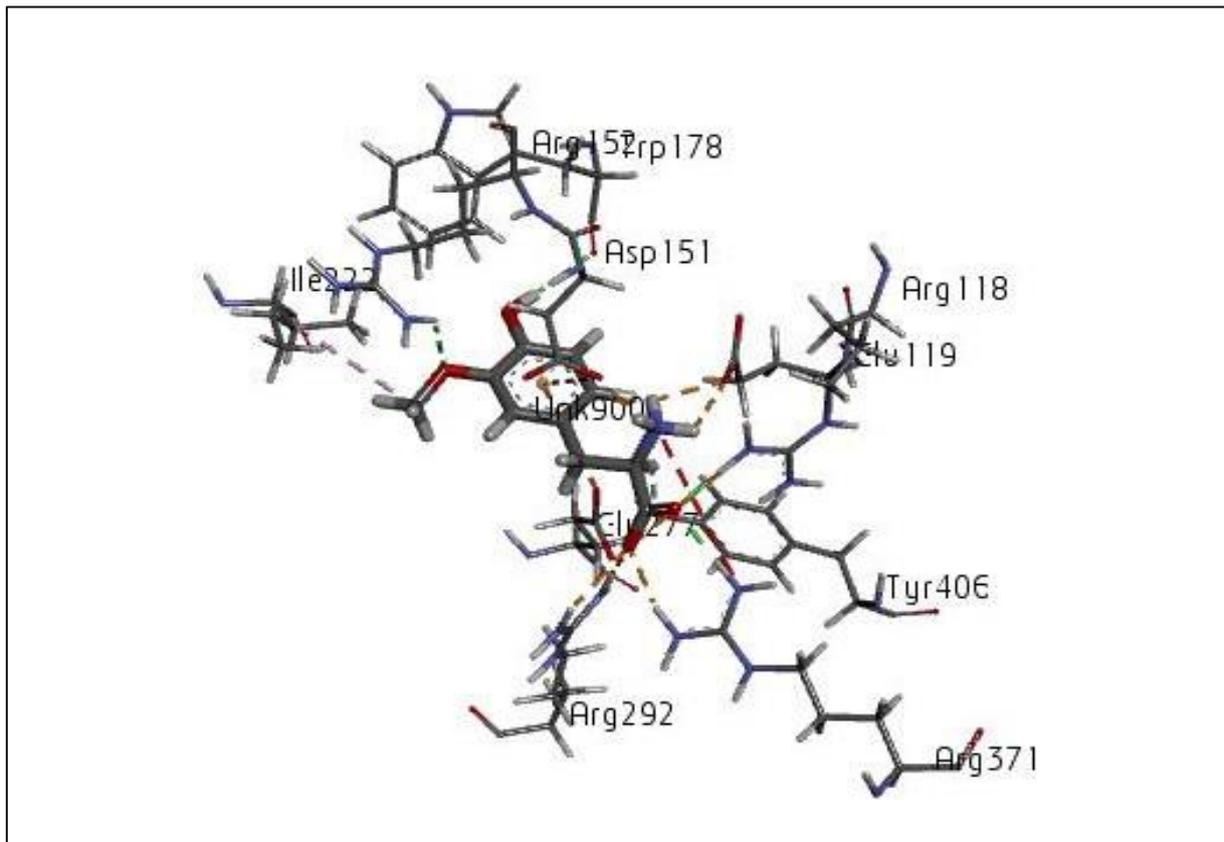


Figure IV.15 Interactions entre le ligand L6 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).

➤ Les interactions protéine-L7

Le score de ce complexe est de -9.278 Kcal/mol, avec formation de 10 liaisons : Il y a 8 liaisons de type hydrogène dans ce complexe, dont 7 sont formées entre les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène des résidus ASP151, ARG371, TRP178, GLU277, sont de distances de GLU277 1.97 (2.66 Å, 2.34 Å, 2.33 Å) et de ASP151, ARG371, TRP178, (2.08 Å, 2.21 Å, 2.37 Å) respectivement. De plus, 2 liaisons est formées entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène des résidus, ARG292, ARG371 avec des distances de ARG292 (1.75 Å, 2.23Å) et, ARG371 (2.21Å) En outre, ce Complexe présente 9 liaisons de type électrostatique, dont 2 impliquent les atomes d'hydrogène du ligand et les atomes d'oxygène de résidu GLU227, (2.22 Å, 3.12 Å). De plus, il y a 3 liaisons entre l'atome d'oxygène du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu ARG292, ARG371, dont les distances sont de ARG292(5.14 Å) ARG371 (1.95 Å, 3.12 Å). En fin 4 liaisons entre l'atome carbone du ligand et l'atome d'hydrogène du résidu, GLU119 , ASP151, dont les distances sont de GLU119 (4.48Å) ASP151 (3.40 Å, 4.61 Å, 5.52 Å).

Le site actif de la neuraminidase, principalement composé de résidus d'arginine, d'aspartate et de glutamate, interagit avec les groupements acides sialiques chargés sur les glycoprotéines.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

Cette polarité du site actif est essentielle pour cliver les groupements acides sialiques, ce qui suggère que les inhibiteurs proposés devraient cibler ces résidus chargés par des interactions électrostatiques pour perturber l'activité enzymatique, et c'est ce que nos composés ont accompli.

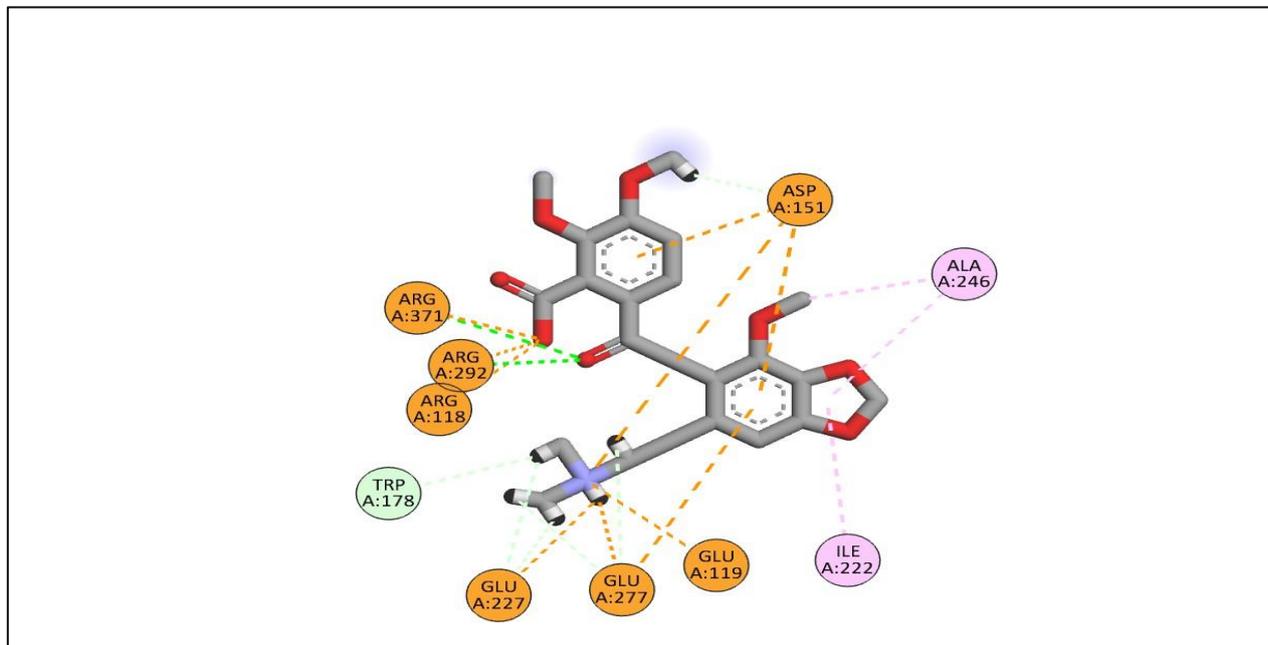


Figure IV.16 Interactions entre le ligand L7 et les résidus de la poche de l'enzyme (structure 2D).

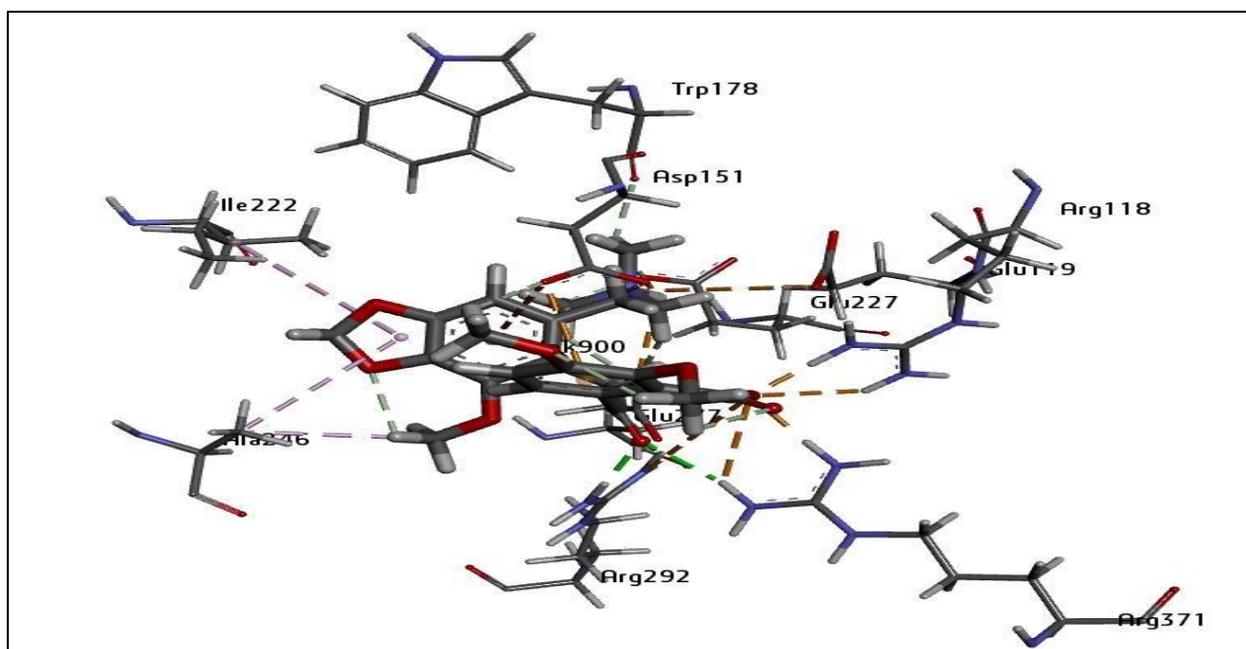


Figure IV.17 Interactions entre le ligand L7 et les résidus de la poche de l'enzyme 4ks2 (structure 3D).

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

2.2 Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS)

Tableau IV.3 Résultats des propriétés moléculaires (DRUG LIKNESS)

	Règle de VEBER			Règle de LIPINSKI				
	Les liaisons rotatives	TPSA (Å ²)	Nombre de violation	Masse moléculaire (g/mol)	Log P	Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène	Nombre de donneurs de liaisons hydrogène	Nombre de violation
L1	3	156.70	Non; 1 violation: TPSA>140	243.15	-3.82	7	5	oui ; 0 violation
L2	9	165.27	Non; 1 violation: TPSA>140	346.36	-1.95	4	6	oui; 1 violation: NHouOH>5
L3	9	142.10	Non; 1 violation: TPSA>140	326.39	-2.82	4	4	oui; 0 violation
L4	9	144.09	Non ; 1 violation: TPSA>140	346.18	0.22	4	6	oui; 1 violation: NHouOH>5
L5	3	124.01	oui	213.19	-0.78	6	5	oui
L6	4	92.78	oui	211.21	0.36	5	3	oui
L7	10	103.76	oui	445.46	2.67	9	1	oui
1S J	9	137.53	oui	326.39	0.33	5	5	oui

A. Application de la règle de LIPINSKI

➤ Les valeurs des poids moléculaire:

Les ligands ayant un poids moléculaire inférieur à 500 UMA, tels que nos composés et 1SJ (voir le **Tableau IV.3**), sont généralement mieux absorbés par le corps. Leur petite taille facilite leur passage à travers les membranes cellulaires, ce qui favorise une absorption plus efficace après leur administration.

➤ Les valeurs de log p:

Les ligands (L4,L6, L7) ainsi que 1SJ présentent des valeurs de log P positives, inférieures à 5, ce qui suggère leur caractère lipophile. Ces composés démontrent une bonne perméabilité à travers la membrane cellulaire, une forte affinité pour les protéines plasmatiques et une métabolisation hépatique. Néanmoins, ils affichent une faible solubilité et une tolérance gastrique limitée. En contrepartie, les ligands (L1,L2,L3, L5) possèdent des valeurs de log P

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

négatives, signalant leur caractère hydrophile. Ces composés présentent une bonne solubilité dans l'eau, une tolérance gastrique améliorée et une élimination efficace par les reins. Cependant, leur perméabilité à travers la membrane cellulaire est réduite et leur affinité pour les protéines plasmatiques est faible.

➤ Nombre des liaisons d'hydrogène accepteur:

Tous les ligands ainsi que la 1SJ présentent un nombre d'accepteurs d'hydrogène inférieur à 10. Une molécule possédant moins de 10 liaisons hydrogène accepteur peut démontrer une plus grande sélectivité dans son interaction avec les récepteurs cibles. Ceci peut aider à minimiser les effets indésirables en réduisant les interactions non spécifiques avec d'autres composants du corps. Une molécule avec un nombre restreint de liaisons hydrogène accepteur peut également afficher une meilleure activité pharmacologique, en se liant de manière plus spécifique à sa cible thérapeutique. Ce phénomène peut améliorer l'efficacité du médicament et réduire les doses nécessaires pour obtenir l'effet désiré.

➤ Nombre des liaisons d'hydrogène donneur:

Les ligands (L1,L3,L5,L6, L7) ainsi que la 1SJ présentent un nombre de donneurs d'hydrogène inférieur ou égal à 5, ce qui améliore leurs propriétés physico-chimiques, favorisant notamment une meilleure solubilité et une plus grande perméabilité à travers les membranes biologiques. Cette caractéristique facilite l'absorption, la distribution et la biodisponibilité du médicament dans l'organisme.

En contraste, les ligands (L2,L4) présentent un nombre de donneurs d'hydrogène supérieur à 5, ce qui diminue leur perméabilité à travers la bicouche lipidique, limitant ainsi leur capacité à traverser les membranes biologiques.

➤ Le nombre de violation:

Tous les ligands étudiés, y compris 1SJ, respectent la règle de Lipinski avec un nombre de violations inférieur ou égal à 1. Par conséquent, on peut conclure que ces composés sont conformes à la règle de Lipinski, ce qui suggère théoriquement qu'ils ne devraient pas rencontrer de problèmes de biodisponibilité orale.

B. Application de la Règle de VEBER

Une fois que nous avons vérifié la conformité avec la règle de Lipinski et confirmé des résultats positifs, nous pouvons ensuite examiner si la molécule respecte également la règle de

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

Veber pour garantir sa conformité. Cette règle se focalise sur le nombre de liaisons libres dans la molécule et évalue sa mobilité potentielle [13].

➤ Les valeurs des liaisons rotatives :

Nos composés affichent généralement des valeurs de liaisons rotatives inférieures ou égal à 10, ce qui suggère une faible flexibilité moléculaire lors de leur interaction avec une protéine, et donc des changements de conformation minimes.

➤ Les valeurs des TPSA:

Les composés (L5,L6,L7) ainsi que la 1SJ présentent des valeurs de surface moléculaire polaire inférieures à 140 \AA^2 , ce qui suggère une faible polarité moléculaire. Les molécules avec une faible surface polaire ont tendance à être moins solubles dans les milieux aqueux, limitant ainsi leur dissolution et leur biodisponibilité dans le corps, ce qui peut affecter leur efficacité.

En revanche, les composés (L1,L2,L3,L4) présentent des valeurs de surface moléculaire supérieures à 140 \AA^2 , indiquant une capacité de transport limitée à travers les membranes. D'après les résultats de l'étude des propriétés moléculaires (DRUG LIKENESS), seuls les composés (L5, L6, L7) et 1SJ respectent les règles de Veber et de Lipinski. Le respect de ces règles est une étape cruciale dans la sélection de composés potentiels en tant que médicaments. Nous examinerons maintenant les propriétés ADMETox de ces composés.

2.3 Résultats des filtres ADME-Tox

L'analyse du profil ADME-Tox des trois composés revêt une importance capitale afin de saisir leur capacité à générer l'effet thérapeutique recherché tout en prévenant la survenue d'effets secondaires indésirables. De plus, l'utilisation de la prédiction ADME-Tox comme critère de sélection facilite l'identification du composé le plus prometteur parmi ceux examinés.

2.3.1 Absorption

Cette étape vise à évaluer la capacité du composé à être absorbé par le système biologique après son administration.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

Tableau IV.4 Les résultats de l'Absorption.

Ligands	Solubilité dans l'eau (Log. Mol/L)	Perméabilité Caco2 (Log Papp an 10-6 cm/s)	Absorption intestinale (humain Absorbé %)	Perméabilité cutanée (Log.kp)	Glycoprotéine P de la Substrat
L5	-2.891	-0.258	37.358	-2.735	oui
L6	-2.89	-0.1	46.56	-2.735	oui
L7	-2.722	-0.837	58.046	-2.735	oui
1SJ	-2.637	-0.349	35.291	-2.735	non

➤ **Solubilité dans l'eau:**

C'est une caractéristique cruciale pour l'absorption. Selon le **Tableau IV.4**, tous les composés, ainsi que la 1SJ, présentent des valeurs inférieures à -2, ce qui les classe comme des molécules solubles dans l'eau. La solubilité dans l'eau facilite l'administration des médicaments, car de nombreuses formes de médicaments sont administrées sous forme de solutions orales ou injectables. Un composé soluble dans l'eau peut être formulé plus aisément dans ces formulations et permet une administration plus pratique au patient.

➤ **Perméabilité caco2:**

Les lignées cellulaires Caco2 ou d'adénocarcinome colorectal épithélial humain sont communément utilisées comme modèles in vitro pour évaluer l'absorption d'un médicament administré par voie orale à travers la muqueuse intestinale humaine. Selon nos résultats, les valeurs prédites de tous les composés dépassent 0,9, ce qui indique une perméabilité élevée pour le Caco2. Une perméabilité réduite pour les cellules Caco-2 peut signifier que le composé éprouve des difficultés à franchir la barrière intestinale et à être absorbé efficacement dans la circulation sanguine. Cette situation peut entraîner une biodisponibilité réduite du médicament, ce qui signifie qu'une quantité limitée de celui-ci atteint la circulation systémique.

➤ **Absorption intestinale :**

En raison de sa grande surface, l'intestin représente le principal lieu d'absorption pour un médicament administré par voie orale. Lorsque la valeur de l'absorbance d'une molécule est inférieure à 30 %, on considère qu'elle est mal absorbée. Ainsi, selon notre analyse, tous les trois composés (L5, L6, L7) ainsi que 1SJ présentent une bonne absorption dans les intestins humains.

➤ **Perméabilité cutanée:**

Le développement de systèmes d'administration de médicaments transdermiques et d'autres formulations topiques est fortement influencé par la perméabilité cutanée. Une pénétration

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

cutanée satisfaisante est anticipée lorsque le log Kp est supérieur à -2,5. Cependant, selon nos résultats, les valeurs de log Kp de tous les composés sont inférieures à -2,5, ce qui suggère généralement une capacité limitée à traverser la peau.

➤ Substrat P-glycoprotéine:

Les résultats démontrent que tous les composés sont des substrats de la glycoprotéine P (P-gp), sauf le ligand de référence 1SJ. La glycoprotéine P (P-gp) agit comme une pompe de transport active, jouant ainsi un rôle dans l'efflux des médicaments hors des cellules, notamment des cellules de la peau. Par conséquent, nos composés pourraient offrir des avantages par rapport au ligand de référence 1SJ en termes de meilleure rétention intracellulaire et potentiellement une plus grande efficacité thérapeutique.

2.3.2 Distribution.

Les paramètres de distribution des inhibiteurs les plus efficaces ont été évalués lors du processus de développement du médicament. Les résultats détaillés sont présentés dans le Tableau ci-dessous.

Tableau IV.5 Les résultats de Distribution.

Ligands	Vds (humain)	Perméabilité BBB	Perméabilité du SNC
L5	-0.016	-1.029	-3.518
L6	-0.208	-0.897	-3.041
L7	-0.849	-0.898	-3.336
1SJ	-0.62	-1.296	-3.659

➤ Le volume de distribution:

Le volume de distribution, un paramètre essentiel de la pharmacocinétique, est crucial pour évaluer la distribution d'un médicament dans les tissus corporels, ce qui est indispensable pour élaborer une posologie adaptée à chaque médicament [5]. Il représente le volume de plasma ou de sang où le composé est supposé être dissous à l'état stable ou à l'équilibre [6].

Un volume de distribution inférieur à 0,15 est qualifié de faible, tandis qu'une valeur dépassant 0,45 est considérée comme élevée. D'après notre analyse, tous les composés ainsi que le composé 1SJ présentent des valeurs de volume de distribution faibles. Cette observation peut être attribuée à un effet d'efflux de la glycoprotéine P (P-gp).

➤ Perméabilité BBB:

La "perméabilité de la BBB" ou "perméabilité du cerveau" se réfère à la capacité d'une substance ou d'un médicament spécifique à traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB),

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

qui est la barrière qui sépare le sang des tissus cérébraux. La perméabilité de la BBB est cruciale pour déterminer la capacité d'un médicament à atteindre le cerveau, car le médicament doit franchir cette barrière pour être efficace dans le traitement de diverses affections du système nerveux central. Les molécules avec un "log BBB" supérieur à 0,3 ont tendance à traverser aisément la barrière hématoencéphalique, tandis que celles ayant un "log BBB" inférieur à -1 ont généralement une faible distribution dans le cerveau. Par conséquent, les valeurs de "log BBB" le composé L5 ainsi que la 1sj étant inférieures à -1, cela suggère une faible distribution dans le cerveau pour ces composés. Comme nos composés ciblent l'enzyme de la Neuraminidase, et n'ont donc pas besoin de traverser la barrière hématoencéphalique, le résultat prévu est considéré comme positif pour les composés proposés.

➤ Perméabilité de SNC:

La mesure de la perméabilité du système nerveux central (SNC) est considérée comme plus directe que celle de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB), car elle repose sur des perfusions cérébrales in situ où le composé est injecté directement dans l'artère carotide. Contrairement à la mesure de la perméabilité BBB, cette méthode est moins sensible aux effets de distribution systémique, qui pourraient altérer la pénétration du composé dans le cerveau [7]. Les composés dont le coefficient de perméabilité à travers la barrière hématoencéphalique (PS) est supérieur à -2 peuvent accéder au système nerveux central (SNC), tandis que ceux avec un PS inférieur à -3 sont incapables de franchir cette barrière pour atteindre le SNC. Selon l'analyse, tous les composés présentent des valeurs de PS inférieures à -3, ce qui indique leur incapacité à traverser la barrière hématoencéphalique et à atteindre le système nerveux central. Par conséquent, ces composés ne peuvent pas manifester d'activité pharmacologique dans le SNC ni induire d'effets secondaires dans cette région du corps.

2.3.2 Métabolisme

Les modèles de type "Oui" ou "Non" renseignent sur la probabilité accrue qu'une molécule donnée soit un inhibiteur ou un non-inhibiteur d'un cytochrome P450 (CYP) spécifique. Dans le métabolisme, deux types de réactions sont distingués : la phase I et la phase II. Les cytochromes P450 sont les enzymes les plus fréquemment impliquées dans la phase I, se déroulant dans le foie, où elles sont responsables de l'oxydation, de la réduction et de

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

l'hydrolyse des composés lipophiles. Si une molécule ne réagit pas avec ces enzymes, elle ne subira pas ces réactions et ne sera pas métabolisée lors de la phase I.

Tableau IV.6 Les résultats de Métabolisme.

Ligands	Inhibiteur du CYP1A2	Inhibiteur du CYP2C19	Inhibiteur du CYP2C9	Inhibiteur du CYP2D6	Inhibiteur du CYP3A4
L5	non	non	non	non	non
L6	non	non	non	non	non
L7	non	non	non	non	non
1SJ	non	non	non	non	non

Les résultats de l'analyse (**Tableau IV.6**) ont révélé que nos composés ne réagissent pas avec les enzymes de la phase I, ce qui implique qu'ils ne subiront pas les réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse au cours de cette phase du métabolisme. Cependant, s'ils sont des inhibiteurs du CYP, ils peuvent encore être soumis à d'autres réactions de métabolisme de phase II, telles que la *glucuronidation*, la *sulfatation* ou la *méthylation*. Malgré cela, cette constatation suggère que le risque d'interaction avec d'autres médicaments est probablement faible.

2.34 Élimination

La phase ultime du cycle de vie d'un médicament est son élimination de l'organisme, ou excrétion. Cette étape revêt une grande importance pour le corps. Les principaux paramètres liés à cette phase sont répertoriés dans le **Tableau IV.7**.

Tableau IV.7 Les résultats de l'Élimination.

Ligand	Clearance totale (Log ml/min/kg)	Substrat OCT2 rénal
L5	0.295	non
L6	0.496	non
L7	0.771	non
1SJ	0.556	non

➤ La clairance totale:

La clairance totale d'un médicament résulte de la combinaison de sa clairance hépatique et de sa clairance rénale, et elle est étroitement liée à sa biodisponibilité. Déterminer les doses nécessaires pour atteindre des concentrations à l'état d'équilibre est crucial. Nous notons que

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

tous les composés présentent des valeurs de clairance totale élevées, ce qui suggère qu'ils sont éliminés plus rapidement de l'organisme.

➤ Le transporteur rénal de cations organiques 2 (OCT2):

Le transporteur de cations organiques 2 rénal (OCT2) est un acteur clé dans l'élimination rénale des médicaments cationiques. Cela implique un risque potentiel d'interactions médicamenteuses, notamment pour les composés qui inhibent l'OCT2, réduisant ainsi la clairance du substrat OCT2[8]. Cependant, les résultats obtenus ont montré qu'aucun des composés n'était considéré comme un substrat rénal de l'OCT2.

2.35 Toxicité

L'étude de la toxicité *in silico* d'une substance implique la réalisation de simulations pharmacologiques visant à déterminer son niveau de dangerosité et/ou de nocivité, afin de réglementer son utilisation. L'évaluation de l'action d'une substance toxique se base sur plusieurs paramètres, notamment son mode d'administration [9]. Le **Tableau IV.8** présente les différents paramètres de toxicité étudiés.

Tableau IV.8 Les résultats de Toxicité.

Ligands	Toxicité AMES	Toxicité aiguë (LD50) « Mol/kg »	Sensibilisation cutanée
L5	Non	2.264	Non
L6	Non	2.267	Non
L7	Non	2.353	Non
1SJ	Oui	2.482	Non

➤ AMES toxicité:

Le test d'Ames est une méthode largement utilisée pour évaluer le potentiel mutagène d'un composé en utilisant des bactéries. Un résultat positif suggère que le composé est mutagène et pourrait ainsi agir comme un agent cancérigène. Dans le cas présent, avec une prévision *in silico*, tous nos composés ont donné des résultats négatifs lors du test d'Ames, ce qui indique qu'ils n'ont pas montré d'activité mutagène. Cela est encourageant en termes de sécurité et de tolérance de ces composés [10]. Cette caractéristique différencie nos composés proposés du ligand de référence.

➤ La dose létale médiane ou (LD50):

La LD50 (Dose Létale Médiane) est une mesure utilisée pour évaluer la toxicité aiguë d'une substance [11]. Elle représente la dose à laquelle la moitié des individus d'une population

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

exposée est susceptible de décéder, ce qui indique la capacité de la substance à entraîner la mort chez un pourcentage donné de sujets. En général, plus la valeur de la LD50 est faible, plus le composé est considéré comme étant toxique et potentiellement mortel. D'après les résultats, tous les composés ont des valeurs de LD50 élevées, ce qui indique qu'ils sont moins toxiques et moins létaux.

➤ La sensibilisation cutanée:

La dermatite de contact allergique, un effet secondaire des médicaments, peut entraîner des problèmes de santé potentiellement mortels [12]. Cependant, les résultats de notre étude in silico ont montré qu'aucun des composés étudiés n'était susceptible de causer une allergie cutanée. Cette constatation est encourageante en termes de sécurité et de tolérance cutanée de ces composés.

2.4 La chimie médicinale

En utilisant le site swissADME, nous avons étudié les propriétés de chimie médicinale des trois composés. Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV.9 Les propriétés chimiques médicinales des principaux composés.

ligands	Pains	Accessibilité synthétique
L5	1 Alerte	2.32
L6	0 Alerte	2.01
L7	0 Alerte	3.76
1 S J	0 Alerte	4.55

➤ Pains

Les "PAINS" (Pan-Assay INterference compound) sont des substances chimiques qui interfèrent de manière non spécifique avec divers tests biologiques, pouvant ainsi engendrer des résultats faussement positifs ou négatifs. [14].

Selon les résultats de l'étude **tableau IV.9**, les composés L6, L7 ainsi que le ligand de référence 1sj ne montrent aucune alerte de PAINS, ce qui indique qu'ils ne présentent pas de caractéristiques susceptibles de causer des interférences non spécifiques dans les tests biologiques ou les essais à haut débit. Cela est encourageant car ils devraient être relativement sûrs à utiliser dans des études de chimie médicinale. Cependant, le composé L5 possède une alerte PAINS, due à la présence d'une structure catéchol, ce qui signifie qu'il pourrait

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

présenter des interférences potentielles dans les tests biologiques, nécessitant une prudence particulière et des tests supplémentaires pour confirmer son utilité et sa spécificité..

➤ **Accessibilité synthétique**

"Accessibilité synthétique" se réfère à la capacité des scientifiques à synthétiser un composé chimique de manière aisée et efficace à travers les méthodes synthétiques disponibles [15].

Dans le contexte donné, les valeurs positives de l'accessibilité synthétique, inférieures à 5, indiquent que les composés L5, L6, L7 et 1SJ peuvent être facilement synthétisés. Ceci suggère que ces composés peuvent être produits de manière efficace et rentable à l'aide des méthodes synthétiques existantes.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

Références bibliographiques

1. Lindberg, M. (2012). Développement, formulation et biodistribution de vecteurs synthétiques pour le transfert de gènes dans le cadre de la thérapie génique de la mucoviscidose.
2. ROUAISSIA HAMIDA, M. M. (2020). Étude par Docking Moléculaire de l'activité inhibitrice des Furanocoumarines Contenues dans le Jus de Pamplemousse sur les Cytochromes CYP3A4.
3. Hioual, K. S., & Chikhi, A. (2012). Étude comparative de l'efficacité de deux programmes de docking et application à l'inhibition de la neuraminidase.
4. Leroux, V. (2006). Modélisation d'inhibiteurs du domaine SH2 de la protéine Grb2 par dynamique moléculaire, docking et criblage virtuel.
5. Freitas, A. A., Limbu, K., & Ghafourian, T. (2015). Prédiction du volume de distribution avec des méthodes de régression basées sur les arbres de décision utilisant des coefficients de partition tissu-plasma prédits.
6. Suenderhauf, C., Hammann, F., & Huwyler, J. (2012). Prédiction informatique de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique en utilisant l'induction d'arbres de décision.
7. Bernard, F. (2020). Mise au point d'un modèle in vitro de la barrière hémato-encéphalique pour l'étude de la perméabilité de médicaments.
8. Ndombera, F., Maiyoh, G., & Tuei, V. (2019). Propriétés pharmacocinétiques, physicochimiques et médicinales d'un agent anticancéreux N-glycosidique plus puissant que le 2-désoxy-D-glucose dans les cellules cancéreuses du poumon.
9. Mulliner, D., Schmidt, F., Stolte, M., Spirkl, H. P., Czich, A., & Amberg, A. (2016). Modèles informatiques de l'hépatotoxicité humaine et animale avec une portée d'application globale.
10. Chong, L. H., Li, H., Wetzel, I., Cho, H., & Toh, Y. C. (2018). Un réseau de coculture foie-immunité pour prédire la sensibilisation cutanée induite par les médicaments.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

11. Boucherit, H., & Chikhi, A. (2020). Recherche in silico de nouveaux composés bioactifs et applications à l'inhibition de la méthionine aminopeptidase.
12. Artursson, P., Neuho, S., Matsson, P., & Tavelin, S. (2007). Modèles de perméabilité passive et de transport actif pour la prédiction de l'absorption orale.
13. Pierard, G., Pierard-Franchimont, C., Lesuisse, M., Hermanns, J. F., & Hermanns-Lê, T. (2015). Cosmétiques, santé et environnement : actualisation d'une diatribe justifiée ou exagérée?
14. Dounia, M. Conception in silico de nouveaux composés anticancéreux pour le traitement du cancer du sein.
15. Pihan, É. (2013). Recherche de nouveaux antipaludiques par bioinformatique structurale et chémoinformatique : application à deux cibles : PfAMA1 et PfCCT.

CONCLUSION GENERALE

La grippe est une maladie respiratoire contagieuse causée par les virus de la grippe. Elle peut entraîner une gamme de symptômes, allant de légers à graves, et peut parfois être mortelle, surtout chez les personnes âgées, les jeunes enfants et les personnes ayant des problèmes de santé sous-jacents.

Nous avons utilisé le logiciel "Schrödinger" pour effectuer le Docking Moléculaire sur 2175 composés naturels provenant de la base de données NPass. Notre objectif était d'identifier les meilleurs complexes en nous concentrant sur des critères clés, notamment l'énergie formée par le complexe protéine-ligand. Pour ce faire, nous avons comparé les scores d'énergie avec celui du ligand de référence 1SJ (-9,04 kcal/mol) afin de sélectionner les ligands présentant une affinité plus élevée pour la protéine cible. Parmi les résultats obtenus, sept ligands (L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7) ont formé des complexes avec le récepteur 4K52, présentant des scores d'énergie inférieurs à celui de 1SJ. Ces sept composés présentent de fortes liaisons avec les résidus du site actif de la protéine neuraminidase, notamment des liaisons hydrogènes et des interactions électrostatiques, contribuant ainsi à la stabilité des complexes formés, comparativement au ligand de référence 1SJ. Le site actif de la neuraminidase, principalement composé de résidus d'arginine, d'aspartate et de glutamate, interagit avec les groupements acides sialiques chargés sur les glycoprotéines. Cette polarité du site actif est essentielle pour cliver les groupements acides sialiques, ce qui suggère que les inhibiteurs proposés devraient cibler ces résidus chargés par des interactions électrostatiques pour perturber l'activité enzymatique, et c'est ce que nos composés ont accompli.

Après avoir identifié les composés que nous prévoyons d'avoir un bon effet inhibiteur de l'enzyme NA en raison de la stabilité de leurs complexes, nous avons étudié les propriétés de ces composés. Dans une première partie, nous avons évalué les propriétés de la « DRUG-LIKENESS » sur les sept composés identifiés précédemment en appliquant les règles de Lipinski et de Veber. Selon les résultats, tous les ligands (L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7) respectent la règle de Lipinski, indiquant leur potentiel de biodisponibilité par voie orale. Quant à la règle de Veber, seuls trois composés (L5, L6, L7) la respectent.

Dans la deuxième partie, nous avons étudié les propriétés ADME-Tox pour les trois composés identifiés (L5, L6, L7). Cette analyse, portant sur l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'élimination et la toxicité, a montré que ces composés présentaient des caractéristiques favorables en termes d'absorption intestinale et ne présentaient aucun risque mutagène.

Ces résultats nous permettent de conclure que les composés (L5, L6, L7) sont des inhibiteurs puissants de la protéine Neuraminidase, présentant des caractéristiques structurelles favorables pour le développement de traitements antiviraux efficaces. Cette étude souligne l'importance de l'utilisation de plusieurs méthodes de modélisation moléculaire dans la découverte et l'identification de nouveaux médicaments, offrant ainsi une base solide pour de futures recherches sur le développement de médicaments antiviraux.



تصريح شرفي

خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية لإنجاز بحث

(ملحق القرار 1082 المؤرخ في 2021/12/27)

أنا الممضي أسفله،

السيد(ة): ليثوق بن كلثوم

الصفة: طالب سنة ثانية ماستر كيمياء

الحامل(ة) لبطاقة التعريف الوطنية رقم: 2306030665054
نخصص: الإحصاء الرصيدية
التاريخ: 2021.10.18

المسجل بكلية: العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة و الحياة قسم: الكيمياء
المكلف بإنجاز أعمال بحث: مذكرة ماستر في الكيمياء

عنوانها: identification des inhibiteurs naturels
de la protéine Neuraminidase du Virus de la grippe
par Docking moléculaire

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات المهنية والنزاهة
الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث المذكور أعلاه وفق ما ينص عليه القرار رقم 1082 المؤرخ في
2021/12/27 المحدد للقواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.

التاريخ: 2021.12.24

إمضاء المعني بالأمر