



Université Mohamed khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes, des sciences de la nature et de la vie  
Département science de la matière

# MÉMOIRE DE MASTER

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

Réf. : /

---

Présentée et soutenue par :  
**Bensmain Amira**

Le : 02/06/2025

## Etude de docking moléculaire des inhibiteurs de polymérase NS5B du virus de l'hépatite C

---

### Jury :

Dr	Mazri Radhia	MCA	Université Mohamed khider de Biskra	Rapporteur
Dr	Belaidi Saleh	Professeur	Université Mohamed khider de Biskra	Président
Dr	Asma Fettah	MCA	Université Mohamed khider de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2024/2025

# Remerciements

Louange à Dieu, le Tout-Puissant, le Clément et le Miséricordieux, qui m'a accordé la force, la volonté, la patience et la persévérance nécessaires pour accomplir ce travail. C'est grâce à Sa lumière que j'ai pu franchir les différentes étapes de ce mémoire et arriver au terme de cette expérience enrichissante.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude et mon amour à mes chers parents. Leur soutien indéfectible, leur patience, leurs sacrifices et leurs prières constantes ont toujours été la source de mon courage et de ma motivation. Sans eux, rien de ce que j'ai entrepris n'aurait été possible. Je leur dédie ce travail avec toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Je remercie du fond du cœur Docteur **Mazri Radhia**, mon encadrante, pour sa précieuse disponibilité, ses conseils avisés, son accompagnement scientifique rigoureux ainsi que sa bienveillance. Elle a su m'orienter avec patience et professionnalisme tout au long de ce travail. Son implication et sa pédagogie ont été d'une grande importance dans la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements aux membres du jury, **Dr. Fettah Asma** et **Dr. Belaidi Saleh**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Leur présence, leurs observations pertinentes ainsi que le temps qu'ils ont bien voulu consacrer à la lecture et à l'évaluation de ce mémoire me sont particulièrement précieux. Leur expertise et leur regard critique contribuent à enrichir la portée scientifique de ce travail, et je leur en suis profondément reconnaissante.

Je tiens également à remercier l'ensemble des enseignants, chercheurs et personnels administratifs de la faculté et du département, pour la qualité de l'enseignement et de l'encadrement dont j'ai bénéficié tout au long de mon parcours universitaire.

Je n'oublie pas mes camarades de promotion et mes amis, avec qui j'ai partagé des moments de travail, d'échange, de doute mais aussi de joie et de réussite. Leur présence m'a apporté soutien et motivation dans les moments les plus difficiles.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, que ce soit par leur aide technique, leur soutien moral ou leurs encouragements.

À toutes et à tous, je vous dis merci.



Merci



## **Dédicace**

### **À mon père**

Ton calme, ta sagesse et ton engagement ont profondément marqué mon parcours.

Tu m'as appris, sans grandes paroles mais par l'exemple, la valeur du travail, de la discipline et du respect.

Merci pour ton soutien discret mais constant, pour tous ces gestes silencieux qui en disent long sur ton amour. Ce mémoire est aussi le fruit de ta rigueur et de ta générosité.

### **À ma mère**

Je te dédie ce mémoire avec tout l'amour et la reconnaissance que je te dois.

Toi qui as toujours été mon repère, ma confidente, ma force.

Ton amour inconditionnel, ta patience infinie et ton soutien sans faille ont été pour moi une source constante de courage et de motivation.

Merci pour tes prières, tes encouragements dans les moments d'épuisement, et ta présence rassurante même à distance.

Ce travail est en grande partie le reflet de tes sacrifices et de ton dévouement.

### **À ma famille**

À mes frères, ma sœur, oncles, tantes, cousins et cousines,

Merci pour vos encouragements, votre affection et vos mots réconfortants.

Vous avez, chacun à votre manière, contribué à alléger ce long chemin.

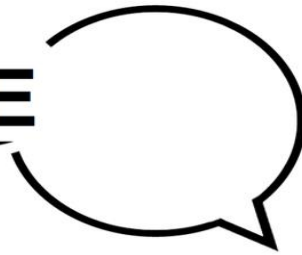
### **À tous ceux qui ont cru en moi**

Amies sincères, camarades fidèles, enseignants bienveillants,

Merci pour votre présence, vos encouragements et votre soutien moral.

Vos paroles m'ont souvent donné la force de continuer.

# **DÉDICACE**



## **Résumé**

Le virus de l'hépatite C (VHC) est l'un des principaux agents responsables d'infections hépatiques chroniques dans le monde, affectant des millions de personnes. Malgré les progrès thérapeutiques récents, l'éradication complète du virus reste un défi, en raison de l'émergence de résistances et du coût élevé des traitements. La polymérase NS5B, une ARN-polymérase ARN-dépendante, joue un rôle central dans la réplication du génome viral. Elle constitue donc une cible stratégique pour le développement de nouveaux inhibiteurs.

Ce mémoire porte sur l'étude *in silico* de l'interaction entre la polymérase NS5B du VHC et une série de ligands potentiellement inhibiteurs, en utilisant la méthode de docking moléculaire. Des outils de modélisation moléculaire : shroodinger et discovery studio ont été employés pour évaluer l'affinité de liaison, les interactions hydrogène et les conformations stables dans le site actif de l'enzyme. L'analyse des résultats a permis d'identifier plusieurs composés présentant un bon potentiel inhibiteur, surpassant parfois celui du ligand de référence.

Cette étude met en lumière des pistes prometteuses pour la conception de nouveaux agents antiviraux ciblant spécifiquement NS5B, contribuant ainsi à la lutte contre le VHC.

### **Mots-clés :**

Virus de l'hépatite C, NS5B, polymérase, antiviraux, modélisation moléculaire, inhibition

## **Abstract**

Hepatitis C virus (HCV) is a leading cause of chronic liver infections worldwide, affecting millions of individuals. Despite recent advances in antiviral therapies, the complete eradication of HCV remains challenging due to drug resistance and treatment costs. NS5B, an RNA-dependent RNA polymerase, plays a crucial role in the replication of the viral genome, making it a key target for drug discovery.

This thesis focuses on an *in silico* study of the interaction between the HCV NS5B polymerase and a selection of potential inhibitory ligands, using molecular docking techniques. Computational tools such as Schrödinger, Discovery Studio, were utilized to evaluate binding affinities, hydrogen bonding interactions, and conformational stability within the enzyme's active site. The results highlighted several compounds with promising inhibitory potential, in some cases outperforming the reference ligand.

This study contributes to the advancement of targeted antiviral drug design and offers new perspectives in the development of effective inhibitors against HCV.

### **Keywords:**

Hepatitis C virus, NS5B, polymerase, antiviral agents, molecular modeling, inhibition.

## المخلص

يعد فيروس التهاب الكبد الوبائي سي أحد العوامل المسببة الرئيسية لالتهابات الكبد المزمنة في جميع أنحاء العالم، حيث يؤثر على ملايين الأشخاص. وعلى الرغم من التقدم العلاجي الأخير، فإن القضاء التام على الفيروس لا يزال يشكل تحديًا، وذلك بسبب ظهور المقاومة والتكلفة العالية للعلاجات. تلعب بوليميراز NS5B، وهو بوليميراز RNA معتمد على دورًا محوريًا في تكرار الجينوم الفيروسي. وهذا يشكل هدفًا استراتيجيًا لتطوير مثبطات جديدة.

ترتكز هذه الأطروحة على الدراسة الحاسوبية للتفاعل بين بوليميراز HCV NS5B وسلسلة من الرابطة المثبطة المحتملة، باستخدام طريقة الالتحام الجزيئي. تم استخدام أدوات النمذجة الجزيئية مثل Schrödinger و Discovery Studio لتقييم تقارب الارتباط وتفاعلات الهيدروجين والتكوينات المستقرة في الموقع النشط للإنزيم. وقد أتاح تحليل النتائج تحديد العديد من المركبات ذات الإمكانيات المثبطة الجيدة، والتي تتفوق في بعض الأحيان على الرابطة المرجعية. تسلط هذه الدراسة الضوء على سبل واعدة لتصميم عوامل مضادة للفيروسات جديدة تستهدف NS5B على وجه التحديد، وبالتالي المساهمة في مكافحة فيروس التهاب الكبد الوبائي سي.

الكلمات المفتاحية :

فيروس التهاب الكبد الوبائي سي، البوليميراز ، مضادات الفيروسات، النمذجة الجزيئية، التنبيط.

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

**Introduction générale**

## **Chapitre I : Hépatites virales et le virus de l'hépatite C**

### **Partie I : Hépatites virales**

I.1 Définition d'hépatites virales.....	1
I.2 Approche comparative des hépatites virales selon les virus responsables et leurs modes de transmission.....	1
I.2.a Hépatite A.....	1
I.2.b Hépatite B.....	2
I.2.c Hépatite C.....	2
I.2.d Hépatite D.....	2
I.2.e Hépatite E.....	3
I.3 Manifestations cliniques.....	3
I.3.A/ Hépatite aigue.....	3
I.3.B/ Hépatite chronique.....	3
I.3.C/ Cirrhose.....	4
I.3.D/Manifestations extra-hépatiques.....	5

### **Partie II : le virus de l'hépatite C**

II.1 Taxonomie.....	8
II.2 Structure virale de virus de l'hépatite C.....	9

II.2.A Enveloppe virale et membrane lipidique.....	9
II.2.B La capside.....	10
II.3 Organisation du génome viral.....	11
II.4 Le cycle de vie de virus.....	12
II.5 Mode de transmission du VHC.....	14
II.6 Diagnostic et stratégie de dépistage.....	14
Bibliographie.....	16

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

### **Partie I : Méthodes de criblage virtuel**

I Introduction.....	24
I-1 Généralité sur le criblage.....	24
I-2 Le criblage virtuel.....	25
I-2-1 Le criblage virtuel « ligand based ».....	25
I-2-2 Le criblage virtuel « structure based ».....	25
I-3 Docking moléculaire.....	26
I-3-1 Les outils de docking moléculaire.....	27
✚ Ligands.....	27
✚ Récepteur.....	28
✚ Programmes.....	28
I-3-2 Etapes du docking moléculaire.....	28
✚ Docking.....	28
✚ Scoring.....	28
I-3-3 Interactions protéines ligands.....	29
✚ Interactions van der waals.....	29
✚ Liaisons hydrogène.....	29
✚ Interactions électrostatiques.....	30
✚ Interactions hydrophobes.....	30
I-3-4 Type de docking.....	31
✚ Rigide docking.....	31
✚ Docking flexible.....	31
✚ Docking semi flexible.....	32
I-3-5 Drug likeness.....	32
❖ Règle de lipinski.....	32
❖ Règle de veber.....	32

I-3-6 La pharmacocinétique.....	33
A. Absorption.....	33
B. Distribution.....	34
C. Métabolisme.....	35
D. Elimination.....	36
E. Toxicité.....	37

## **Partie II : Matériels et méthodes**

II.1 Introduction.....	39
II.2 Dispositifs et matériels d'expérimentation utilisés.....	39
a) Micro-ordinateur.....	39
b) La banque des données.....	40
• Protéine Data bank (PDB).....	40
• Pubchem.....	40
c) Les programmes.....	41
+ Biovia Discovery studio visualizer.....	41
+ Schrodinger maestro 12.5.....	41
d) Outils web .....	42
+ Serveur ADMET lab.....	42
II.3 Approche méthodologique.....	43
II.3.1 Génération et préparation des ligands .....	44
II.3.2 Préparation de la protéine cible .....	45
II.3.3 Génération de grille et validation systématique « Redocking ».....	46
II.3.4 Modèle e-pharmacophore, criblage virtuel et docking des dérivées moléculaires.....	48
II.3.5 Prédiction des propriétés pharmacocinétiques in-silico.....	49
Bibliographie.....	50

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

1. Introduction.....	56
2. Résultats et discussion .....	56
2.1 Résultats de docking.....	56
2.2.1 Discussion les résultats de docking moléculaire.....	56
2.2 Résultats de druglikeness.....	67
2.3 Résultats de ADME.....	69
Bibliographie.....	75
Conclusion générale.....	76

## Liste des tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Pages</b>
<b>Chapitre I</b>	
<b>Chapitre II</b>	
<b>Tableau 01 : représentant les caractéristiques de micro-ordinateurs</b>	<b>39</b>
<b>Chapitre III</b>	
<b>Tableau 01 : Résultats de l'ancrage moléculaire pour les molécules sélectionnées</b>	<b>56</b>
<b>Tableau 02 : Résultats des interactions</b>	<b>59</b>
<b>Tableau 3 : les résultats de la règle de lipinski et veber</b>	<b>67</b>
<b>Tableau 4 : les résultats de l'absorption</b>	<b>70</b>
<b>Tableau 5 : les résultats de la distribution</b>	<b>71</b>
<b>Tableau 6 : les résultats de métabolisme</b>	<b>73</b>
<b>Tableau 7 : les résultats d'élimination</b>	<b>73</b>

## Liste des figures

Figures	Les pages
<b>Chapitre I</b>	
<b>Figure 01 : Structure de virus A</b>	<b>1</b>
<b>Figure 02 : Les différentes manifestations cliniques des hépatites</b>	<b>2</b>
<b>Figure 03 : la différence entre un foie sain et une cirrhose</b>	<b>5</b>
<b>Figure 04 : Quelques symptômes cliniques des angélismes cryoglobulinémiques</b>	<b>6</b>
<p><b>(a) ulcère cutané sévère,</b></p> <p><b>(b) biopsie neurologique mettant en évidence une vascularite avec infiltrat inflammatoire périvasculaire</b></p>	
<b>Figure 05 : Lésions d'hépatite auto-immune avec des ponts nécrotiques avec l'abondance d'infiltrat inflammatoire induite par la nitro furantoïne</b>	<b>6</b>
<b>Figure 06 : Le virus d'hépatite C</b>	<b>8</b>
<b>Figure 07: structure biologique d'un virion de l'hépatite C</b>	<b>9</b>
<b>Figure 08 : Sous-régions de E1 et E2. Structure de l'hétérodimère E1E2 représentée et colorée selon la sous-région (d'après PDB ID 8FSJ)</b>	<b>10</b>
<b>Figure 09 : représentation schématique de la polyprotéine de l'hépacivirus</b>	<b>11</b>
<b>Figure 10 : Cycle hypothétique de réplication du VHC</b>	<b>14</b>
<b>Chapitre II : Partie I</b>	
<b>Figure 01 : représentant le criblage virtuel</b>	<b>24</b>
<b>Figure 02 : La base de docking moléculaire</b>	<b>26</b>
<b>Figure 03 : représentant les liaisons Van der waals</b>	<b>29</b>
<b>Figure 04 : représentant les liaisons d'hydrogène</b>	<b>30</b>
<b>Figure 05 : représentant les liaisons électrostatiques</b>	<b>30</b>
<b>Figure 06 : représentant les types de docking</b>	<b>31</b>
<b>Figure 07 : représentant La pharmacocinétique</b>	<b>33</b>
<b>Figure 08 : représentant les bases de l'absorption des médicaments</b>	<b>34</b>
<b>Figure 09 : représentant le phénomène de distribution</b>	<b>35</b>
<b>Figure 10 : représentant le phénomène de métabolisme</b>	<b>36</b>
<b>Figure 11 : représentant le phénomène d'élimination</b>	<b>37</b>
<b>Chapitre II : Partie II</b>	
<b>Figure 01 : Interface API de base des données pubchem</b>	<b>40</b>
<b>Figure 02: Interface de Biovia Discovery studio visualizer</b>	<b>41</b>
<b>Figure 03 : Interface de ADME/T LAB</b>	<b>42</b>

<b>Figure 04 : structure chimique du K4S à partir de pdb 6MVP</b>	<b>44</b>
<b>Figure 05 : Interface API de base des données pubchem</b>	<b>44</b>
<b>Figure 06 : interface graphique de « Ligprep » de Maestro 12.5 dans Schrödinger suite 2020-3</b>	<b>45</b>
<b>Figure 07 : les menus principaux utilisés dans la préparation de protéine « Protein preparationwizard » avec les paramètres de préparation</b>	<b>46</b>
<b>(A) pré procédure structural / (B) l'affinement de la structure de la protéine</b>	
<b>Figure 08 : Génération de grille</b>	<b>47</b>
<b>Figure 9 : Interface « Ligand docking » pour la validation systématique ou bien redocking.</b>	<b>47</b>
<b>Figure 10 : Génération et développement du model pharmacophore à partir de l'outil «PHASE».</b>	<b>48</b>
<b>Figure 11 : l'étape de criblage virtuelle en utilisant le model e-pharmacophore avec un match total de 5 caractéristiques.</b>	<b>49</b>

### **Chapitre III**

<b>Figure 01 : Interactions entre protéine-L1 (structure 3D)</b>	<b>61</b>
<b>Figure 02 : Interactions entre protéine-L1 (structure 2D)</b>	<b>61</b>
<b>Figure 03 : Interactions entre protéine-L2 (structure 3D)</b>	<b>62</b>
<b>Figure 04 : Interactions entre protéine-L2 (structure 2D)</b>	<b>62</b>
<b>Figure 05 : Interactions entre protéine-L3 (structure 3D)</b>	<b>63</b>
<b>Figure 06 : Interactions entre protéine-L3 (structure 2D)</b>	<b>63</b>
<b>Figure 07 : Interactions entre protéine-L4 (structure 3D)</b>	<b>64</b>
<b>Figure 08 : Interactions entre protéine-L4 (structure 2D)</b>	<b>64</b>
<b>Figure 09 : Interactions entre protéine-L5 (structure 3D)</b>	<b>65</b>
<b>Figure 10 : Interactions entre protéine-L5 (structure 2D)</b>	<b>65</b>
<b>Figure 11 : Interactions entre protéine-k4s (structure 3D)</b>	<b>66</b>
<b>Figure 12 : Interactions entre protéine-k4s (structure 2D)</b>	<b>66</b>

## Liste des abréviations

**VHC** : Virus de l'hépatite C

**ARN** : Acide ribonucléique

**VHA** : Virus de l'hépatite A

**VHB** : Virus de l'hépatite B

**VHD** : Virus de l'hépatite D

**VHE** : Virus de l'hépatite E

**DAA** : Antiviraux à action directe

**ADME** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination

**ICTV** : Comité international de taxonomie des virus

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine

**NABM** : Nomenclature des Actes de Biologie Médicale

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**ANRS** : Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les hépatites virales

**RX** : Rayons X

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**PDB**: Protein Data base

**3D** : Trois Deux dimensionnelle

**2D** : Deux dimensionnelle

**QSAR** : Quantitative Structure –Activity Relationship

**SBVS** : Structure-Based Virtual Screening

**CADD** : Computer-Aided Drug Design

**API** : Application Programming Interface

**opls3e** : Optimized Potentials for Liquid Simulations

**RMSD** : Root Mean Square Deviation

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**TPSA** : Topological Polar Surface Area

**VD** : Volume de distribution

**VDW** : Van der Waals

**XP** : Extra Precision

**HBA** : Hydrogen Bond Acceptor

**HBD** : Hydrogen Bond Donor

**MW** : Molecular Weight

**SNC** : Système nerveux centrale

**PPB** : Plasma Protein Binding

**BBB** : Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique

**VAL** : Valine

**SER** : Sérine

**ARG** : Arginine

**ASN** : Asparagine

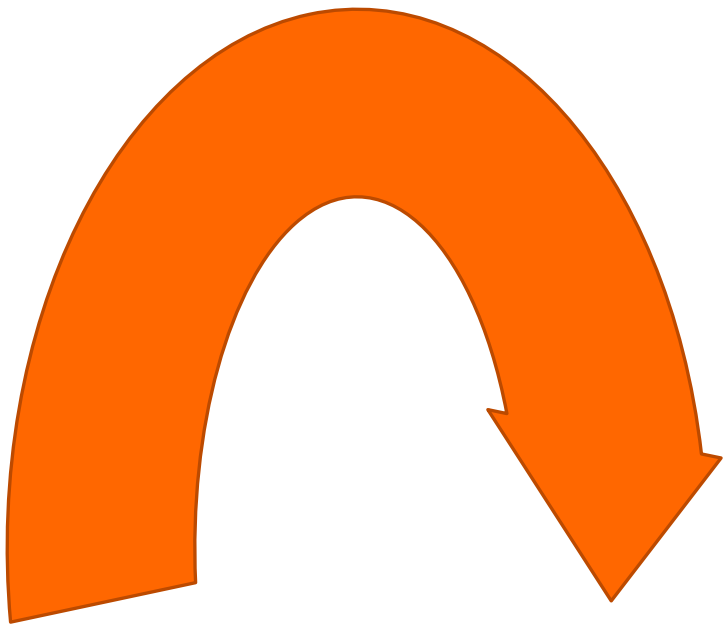
**TYR** : Tyrosine

**LEU** : Leucine

**MET** : Méthionine

**CYS** : Cystéine

**ILE** : Isoleucine



# **Introduction générale**

## Introduction générale

L'hépatite C est une infection virale à ARN, transmise principalement par voie sanguine, causée par le virus de l'hépatite C (VHC). Elle représente un problème de santé publique majeur, avec plus de 58 millions de personnes atteintes de manière chronique dans le monde et environ 290 000 décès par an, selon l'Organisation mondiale de la santé [1].

Le caractère asymptomatique de l'infection chronique retarde souvent le diagnostic, augmentant ainsi le risque d'évolution vers des complications sévères telles que la cirrhose hépatique ou le carcinome hépatocellulaire [2].

Le VHC appartient à la famille des *Flaviviridae* et possède un génome à ARN monocaténaire de polarité positive. Ce génome code une polyprotéine unique, clivée par des protéases virales et cellulaires pour générer dix protéines, dont NS5B, une ARN polymérase ARN-dépendante essentielle à la réplication virale [3].

Les traitements actuels contre le VHC, bien que très efficaces grâce aux antiviraux à action directe (DAAs) comme le sofosbuvir ou le daclatasvir, ne sont pas exempts de limites : coût élevé, apparition de variants résistants et efficacité variable selon les génotypes. Cela motive la recherche de nouvelles molécules inhibitrices, plus accessibles, spécifiques et présentant un meilleur profil pharmacocinétique [4].

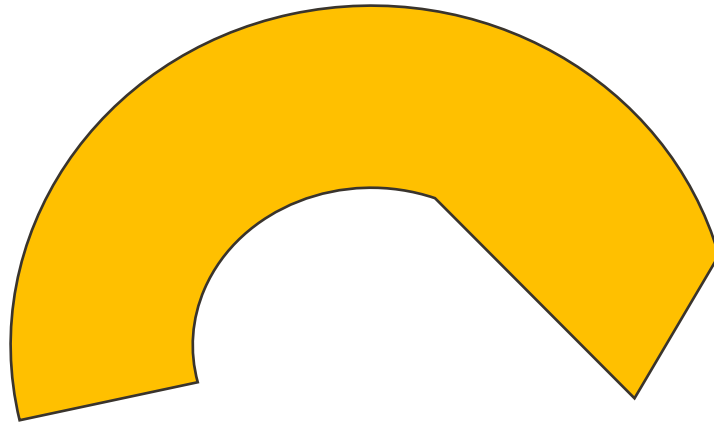
Dans ce cadre, les approches *in silico*, notamment le docking moléculaire, jouent un rôle déterminant dans le criblage virtuel de composés bioactifs. Le docking permet de modéliser l'interaction entre une molécule (ligand) et une protéine cible (récepteur), afin de prédire l'affinité de liaison, l'orientation préférentielle dans le site actif et la stabilité du complexe formé. Cette méthode est largement utilisée pour accélérer la découverte de nouveaux médicaments tout en réduisant les coûts liés aux essais *in vitro* et *in vivo* [5].

Cependant, une bonne affinité de liaison ne garantit pas l'efficacité *in vivo*. Il est donc nécessaire d'intégrer une analyse des propriétés ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination) des candidats identifiés. Ces propriétés pharmacocinétiques permettent de prédire le comportement du médicament dans l'organisme, sa biodisponibilité, sa demi-vie, son métabolisme hépatique (notamment via les isoenzymes du cytochrome P450) et son potentiel de toxicité. L'intégration de ces données favorise une sélection rationnelle des molécules les plus prometteuses, combinant efficacité biologique et bon profil pharmacocinétique [6].

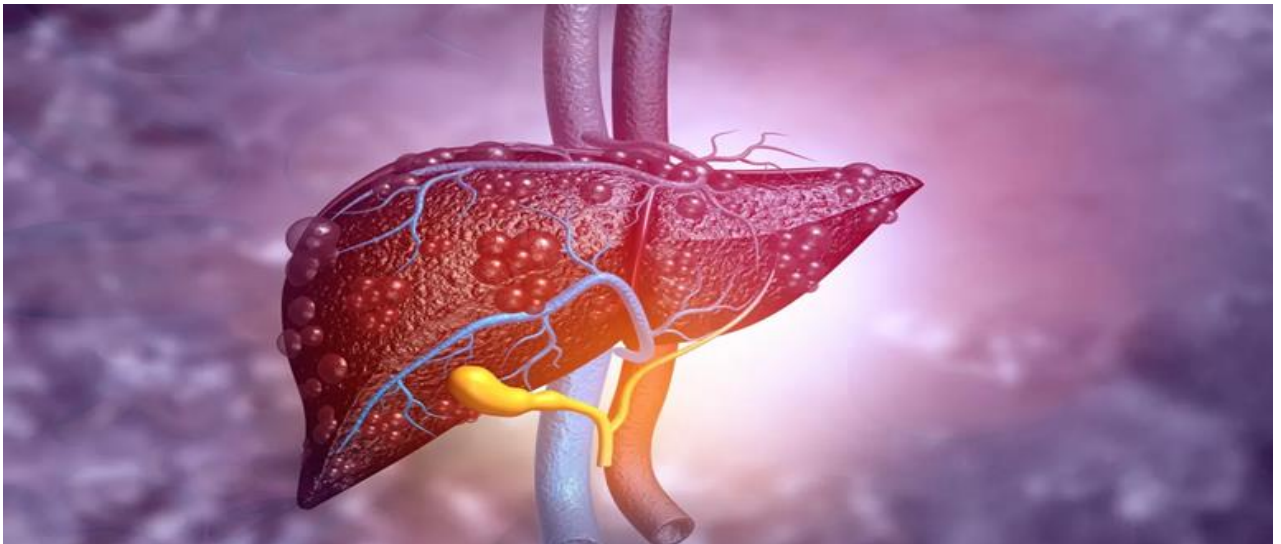
Ainsi, cette étude a pour objectif de modéliser les interactions entre différents ligands potentiels et la protéine NS5B du VHC via le docking moléculaire, puis d'évaluer leurs propriétés pharmacocinétiques à l'aide d'outils de prédiction ADME. L'ensemble de cette démarche vise à identifier des inhibiteurs présentant à la fois une bonne affinité pour NS5B et un profil favorable pour un développement thérapeutique ultérieur.

## Bibliographie

- [1] World Health Organization. (2022). *Hepatitis C – Key facts*. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
- [2] Li, G., & De Clercq, E. (2017). Current therapy for chronic hepatitis C: The role of direct-acting antivirals. *Antiviral Research*, 142, 83–122. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.02.014>
- [3] Moradpour, D., Penin, F., & Rice, C. M. (2007). Replication of hepatitis C virus. *Nature Reviews Microbiology*, 5(6), 453–463. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1645>
- [4] De Clercq, E., & Li, G. (2016). Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(3), 695–747. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-15>
- [5] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
- [6] Di, L., & Kerns, E. H. (2015). *Drug-like properties: concepts, structure design and methods*. Academic Press.



# **Chapitre I : Hépatites virales et le virus d'hépatite C**



## **Partie I : Hépatites virales**

### **I.1 Définition d'hépatites virales**

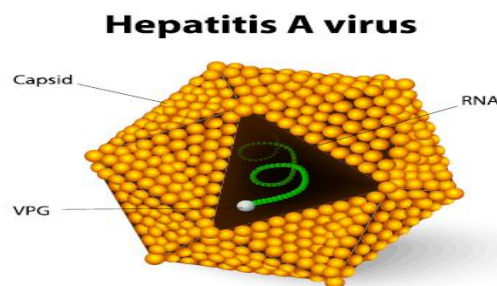
L'hépatite virale est une affection inflammatoire complexe du foie caractérisée par des lésions du tissu hépatique causées par une infection virale [1]. Cet état pathologique représente un défi sanitaire mondial important, impliquant un groupe de pathogènes viraux distincts qui ciblent spécifiquement les cellules hépatiques et peuvent conduire à une maladie hépatique aiguë ou chronique [2]. Les principaux agents viraux responsables de l'hépatite sont les virus des hépatites A, B, C, D et E, chacun ayant des voies de transmission, des manifestations cliniques et des conséquences potentielles à long terme sur la santé qui lui sont propres [3,4]

### **I.2 Approche comparative des hépatites virales selon les virus responsables et leurs modes de transmission**

En ce qui concerne la maladie de l'hépatite virale, il existe une nette différence entre les hépatites A, B, C, D et E d'après de nombreuses recherches portant notamment sur la structure, la forme, le code génétique et même la famille virale [5].

#### **I.2.a Virus d'hépatite A**

VHA[6] Il s'agit d'un petit virus à ARN symétrique non enveloppé qui présente de nombreuses caractéristiques de la famille des picornavirus. Ce virus est classé parmi les entérovirus de type 72 [7], et est à l'origine d'hépatites infectieuses ou épidémiques transmises par voie fécale-orale[5]. Le virus se propage principalement dans les régions où les conditions sanitaires sont médiocres et où l'accès à l'eau potable est limité, ce qui en fait un problème de santé publique important dans les pays en développement [8]. L'infection aiguë par le VHA disparaît généralement sans complications chroniques, la plupart des patients développant une immunité à vie après leur guérison [9].



**Figure 01** : Structure de virus A

## **I.2.b Virus d'hépatite B**

Il s'agit d'un virus à ADN partiellement double brin doté d'un mécanisme de réplication unique qui implique la transcription inverse [10]. Le virus cible principalement les hépatocytes et provoque des infections chroniques chez environ 5 à 10 % des patients adultes et jusqu'à 90 % des nourrissons infectés [3].

La transmission se fait par différentes voies, notamment par le sang, les contacts sexuels et la transmission verticale de la mère à l'enfant, la prévalence la plus élevée étant observée dans les régions d'Asie et d'Afrique [11].

## **I.2.c Virus d'hépatite C**

En tant que membre de la famille des Flaviviridae, le VHC se transmet principalement par contact direct avec le sang, la consommation de drogues par voie intraveineuse et les procédures médicales dangereuses représentant des facteurs de risque importants [12].

La capacité du virus à établir une infection persistante est particulièrement préoccupante : environ 30 % des personnes infectées éliminent spontanément le virus, tandis que les 70 % restants développent une hépatite chronique qui peut évoluer vers une cirrhose du foie ou un carcinome hépatocellulaire [13]. Les progrès récents des traitements antiviraux à action directe ont révolutionné la prise en charge du VHC, offrant des taux de guérison supérieurs à 95 % et réduisant de manière significative les complications à long terme liées au foie [14].

## **I.2.d Virus d'hépatite D**

Le virus de l'hépatite D (VHD), également connu sous le nom de virus delta, est un virus satellite unique et complexe qui ne peut infecter que les personnes déjà infectées par le virus de l'hépatite B (VHB), ce qui en fait la forme la plus grave d'hépatite virale [15]. Au niveau mondial, environ 4,5 % à 14,6 % des porteurs du VHB sont co-infectés par la VHD, ce qui concerne environ 12 millions à 72 millions de personnes dans le monde [16]. Ce virus à ARN défectueux nécessite l'antigène de surface de l'hépatite B pour l'entrée virale et la formation de particules, créant une relation pathogène complexe qui augmente considérablement le risque de maladie hépatique grave [17].

## I.2.e Virus d'hépatite E

En tant que petit virus à ARN non enveloppé appartenant à la famille des Hepeviridae, le VHE se transmet principalement par des sources d'eau contaminées et est endémique dans certaines régions d'Asie, d'Afrique et de certaines parties de l'Amérique centrale [18]. Contrairement à d'autres virus de l'hépatite, le VHE présente une diversité épidémiologique remarquable, avec au moins quatre génotypes reconnus, dont les génotypes 1 et 2 touchent exclusivement l'homme, tandis que les génotypes 3 et 4 sont zoonotiques et peuvent être transmis par les animaux, en particulier les porcs [19]. Le virus provoque généralement des infections aiguës et spontanément résolutive chez la plupart des personnes immunocompétentes, avec des taux de mortalité inférieurs à 1 %, mais présente des risques importants pour les femmes enceintes et les patients immunodéprimés, avec des taux de mortalité pouvant atteindre 20 à 25 % chez les femmes enceintes au cours du troisième trimestre [20].

## I.3 Manifestations cliniques

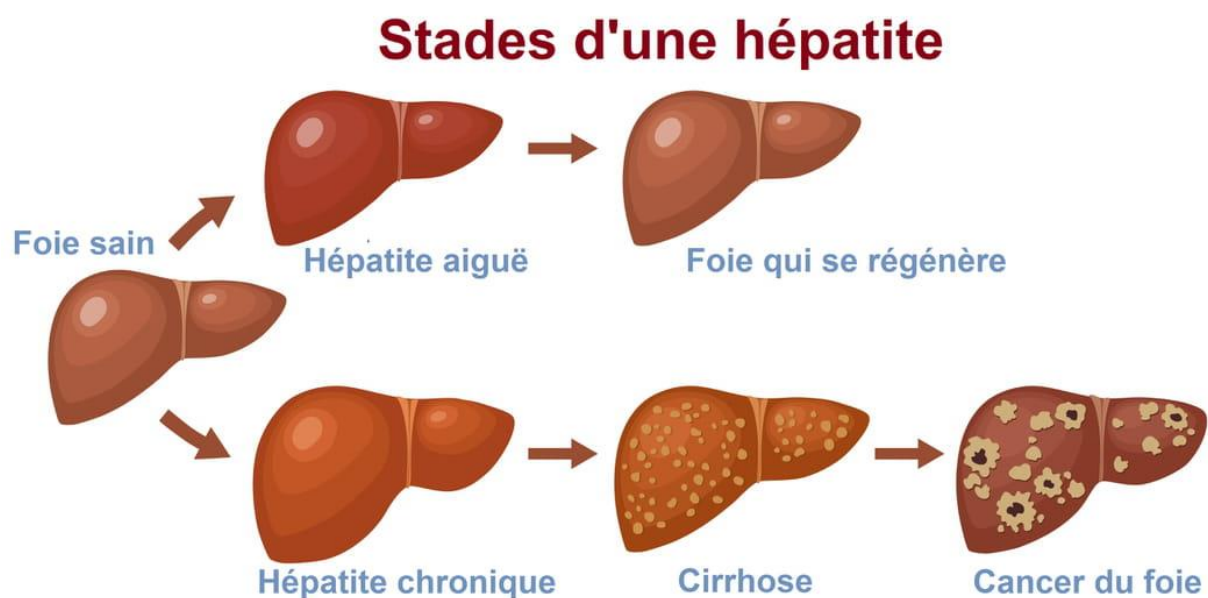


Figure 02 : Les différentes manifestations cliniques des hépatites

### I.3.A Hépatite aiguë

L'hépatite aiguë est une inflammation soudaine et temporaire du foie, caractérisée par une détérioration rapide de la fonction hépatique, qui peut résulter de diverses causes, notamment des infections virales, des agents toxiques et des réactions auto-immunes [21]. Les manifestations cliniques varient considérablement, allant de formes asymptomatiques à des

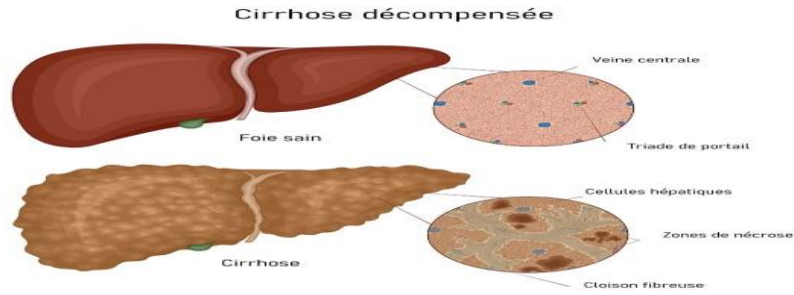
présentations cliniques sévères pouvant évoluer vers une insuffisance hépatique fulminante, avec un taux de mortalité potentiellement élevé atteignant 80 % en l'absence de transplantation hépatique [22]. Les causes virales représentent la majorité des cas d'hépatite aiguë, les virus de l'hépatite A, B, C, D et E jouant un rôle prédominant, bien que d'autres agents pathogènes tels que le virus d'Epstein-Barr et le cytomégalovirus puissent également être impliqués [23]. Le diagnostic repose sur une combinaison de marqueurs sérologiques, de tests biochimiques hépatiques et d'évaluations cliniques détaillées, permettant de différencier les diverses étiologies et d'orienter les stratégies thérapeutiques[24]. La prise en charge médicale nécessite une approche multidisciplinaire, avec un accent particulier sur le soutien symptomatique, la gestion des complications potentielles et, dans les cas les plus graves, l'évaluation de la transplantation hépatique [25]. Les facteurs pronostiques comprennent l'étiologie sous-jacente, l'âge du patient, la présence de comorbidités et la rapidité de l'intervention médicale, ce qui souligne l'importance d'une intervention précoce et d'un suivi clinique rigoureux [26]

### **I.3.B Hépatite chronique**

L'hépatite chronique se distingue par une inflammation du foie persistant au moins 6 mois, le plus souvent causée par des infections virales (hépatite B, C, D), des troubles auto-immuns ou des lésions hépatiques induites par des médicaments [27]. Les patients souffrent de fatigue, de jaunisse, de douleurs abdominales et d'une élévation des enzymes hépatiques, mais beaucoup restent asymptomatiques jusqu'à un stade avancé de la maladie. En revanche, en l'absence de traitement, la progression peut conduire à la cirrhose, à l'insuffisance hépatique et au carcinome hépatocellulaire. Le diagnostic repose généralement sur des tests sérologiques, des tests de la fonctionnalité hépatique, des examens d'imagerie et parfois une biopsie du foie[28]. Le traitement varie selon son étiologie : médicaments antiviraux pour l'hépatite virale, immunosuppresseurs pour l'hépatite auto-immune et modifications du mode de vie pour tous les types d'hépatite. Un suivi régulier est primordial, car une prise en main efficace permet de prévenir les complications et d'améliorer le pronostic à long terme.[29]

### **I.3.C Cirrhose**

La cirrhose -Figure 01- du foie représente la dernière voie commune de lésion chronique du foie caractérisée par une fibrose progressive, une distorsion de l'architecture hépatique et la formation de nodules régénératifs[30]. L'affection résulte de diverses étiologies, notamment l'hépatite virale chronique, les maladies hépatiques liées à l'alcool, la stéatohépatite non alcoolique et les autres maladies hépatiques auto-immunitaires [27].



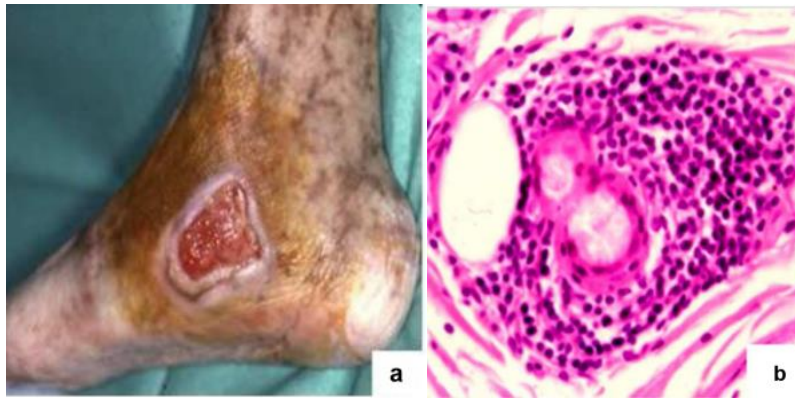
**Figure 03** : la différence entre un foie sain et une cirrhose. [31]

Les phénomènes cliniques vont des états asymptomatiques aux complications telles que l'hypertension portale, l'ascite, les saignements variqueux, l'encéphalopathie hépatique et le syndrome hépatorénal. Le diagnostic repose sur une expertise clinique, des tests de laboratoire, des examens d'imagerie et parfois une biopsie du foie lorsque l'étiologie n'est pas claire[32]. La prise en charge se concentre sur le traitement de la cause sous-jacente, la prévention de la progression et le traitement des complications ; de nouvelles thérapies antifibrotiques sont à l'étude, bien que la transplantation hépatique reste le traitement définitif de la maladie au stade terminal [33]. La prise en charge se concentre sur le développement d'un système d'information sur la santé et d'un système de gestion de l'information sur la santé.

### **I.3.D Manifestations extra-hépatiques**

Les manifestations extra-hépatiques de l'hépatite virale impliquent une atteinte systémique au-delà des lésions hépatiques, en affectant de nombreux systèmes organiques par le biais de leur immunologie, d'effets viraux directs ou de perturbations métaboliques [34].

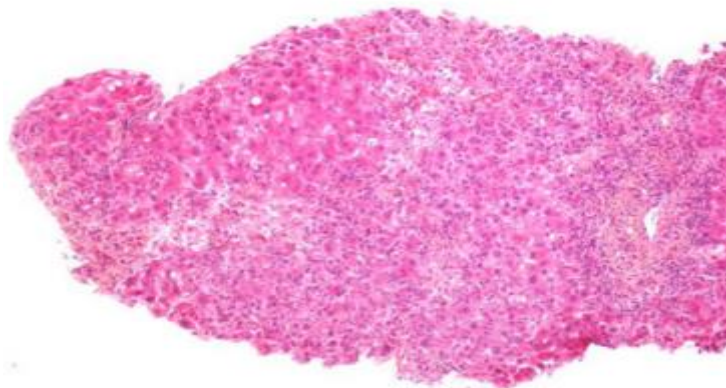
Le virus de l'hépatite C est notamment associé à une cryoglobulinémie mixte, entraînant un purpura palpable, des arthralgies et une glomérulonéphrite membranoproliférative, tout en étant lié à un risque accru de troubles lymphoprolifératifs et de dysfonctionnement thyroïdien [35]. L'infection par l'hépatite B peut déclencher une polyartérite noueuse, une néphropathie membraneuse et une acrodermatite cutanée chez les enfants [36].



**Figure 04** : Quelques symptômes cliniques des angélismes cryoglobulinémiques.

(a) ulcère cutané sévère, (b) biopsie neurologique mettant en évidence une vascularite avec infiltrat inflammatoire périvasculaire. [37]

L'hépatite auto-immune est souvent associée à des infections auto-immunes concomitantes, notamment les maladies inflammatoires de l'intestin, la polyarthrite rhumatoïde et la thyroïdite auto-immune [38]. Les manifestations dermatologiques des diverses hépatites comprennent le lichen plan, l'urticaire et l'érythème acral nécrolytique, tandis que les symptômes neuropsychiatriques tels que la fatigue, la dépression et les troubles cognitifs ont un impact significatif sur la qualité de vie [39].



**Figure 05** : Lésions d'hépatite auto-immune avec des ponts nécrotiques avec l'abondance d'infiltrat inflammatoire induite par la nitro furantoïne [40] .

La perception de ces manifestations extra-hépatiques est cruciale car elles peuvent dominer le tableau clinique, apparaître avant que la maladie hépatique ne soit détectée, et parfois conduire à des décisions thérapeutiques indépendantes de l'état du foie.

## Partie II : le virus de l'hépatite C

### II.1 Taxonomie

Le VIIIe rapport du Comité international de taxonomie des virus (ICTV) classe le virus de l'hépatite C ( HCV) et le virus de l'hépatite B parmi les membres du genre *Hepacivirus* de la famille des virus, *Flaviviridae* [41]. La carte taxonomique du virus de l'hépatite C est la suivante [42,43]:

- Rang taxonomique « Realm » : *Riboviria*
- Royaume : *Orthornavirae*
- Phylum : *Kitrinoviricota*
- Classe : *Flasuviricetes*
- Ordre : *Amarillovirales*
- Famille : *Flaviviridae*
- Genre : *Hepacivirus*
- Espèces : *Virus de l'hépatite C*

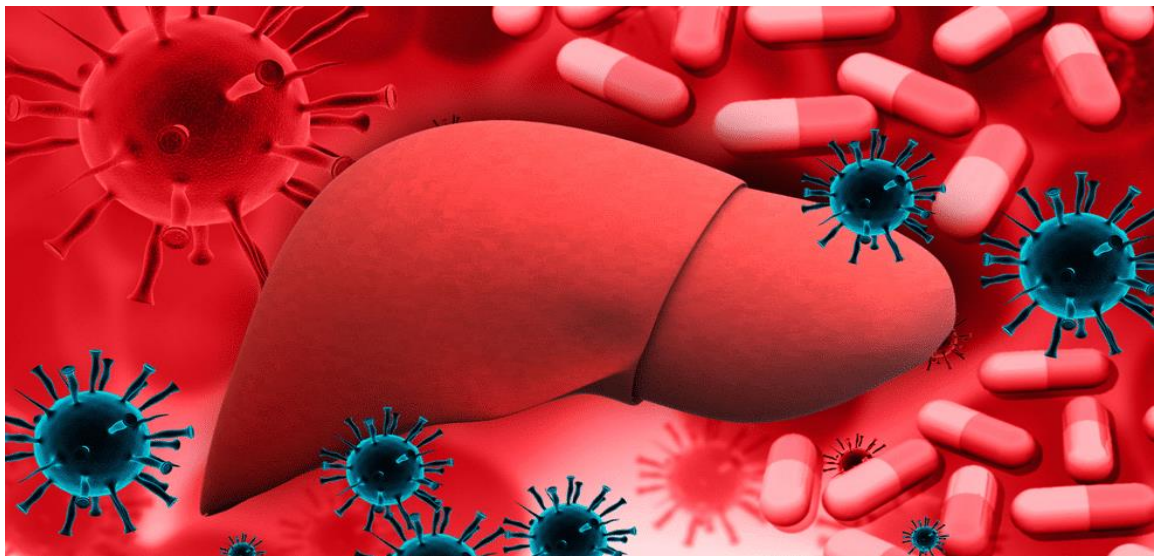


Figure 06 : Le virus d'hépatite C

## II.2 Structure virale de virus de l'hépatite C

Le virus de l'hépatite C (VHC) est un agent pathogène complexe avec une structure -Figure 04- et un cycle de vie compliqué. Le passage d'un virus HCV intact à son enveloppe virale implique plusieurs composants et processus :

- Un noyau de nucléocapside contenant l'ARN viral.
- Entouré d'une enveloppe virale (une bicouche lipidique).
- Des glycoprotéines d'enveloppe (E1 et E2) intégrées dans cette membrane lipidique.
- Associé à des lipoprotéines de l'hôte, ce qui lui confère une structure unique de "lipoviroparticule".

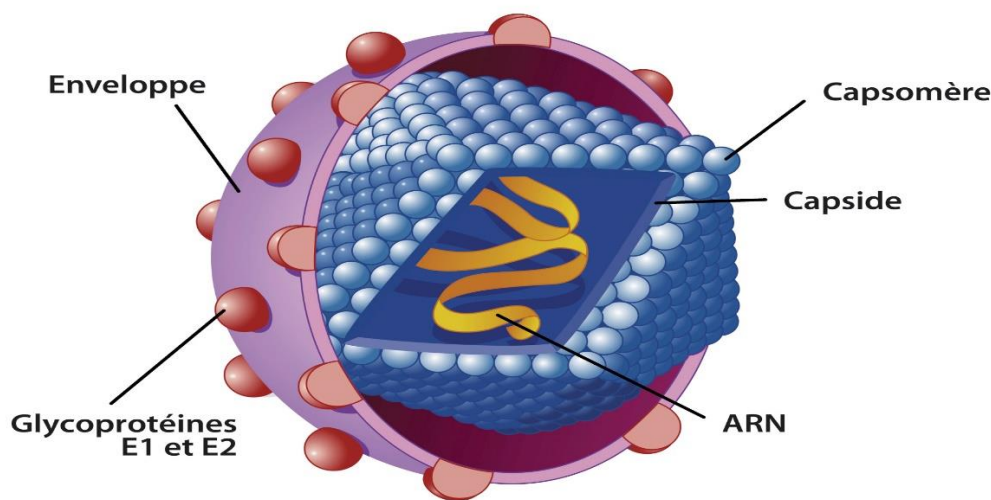
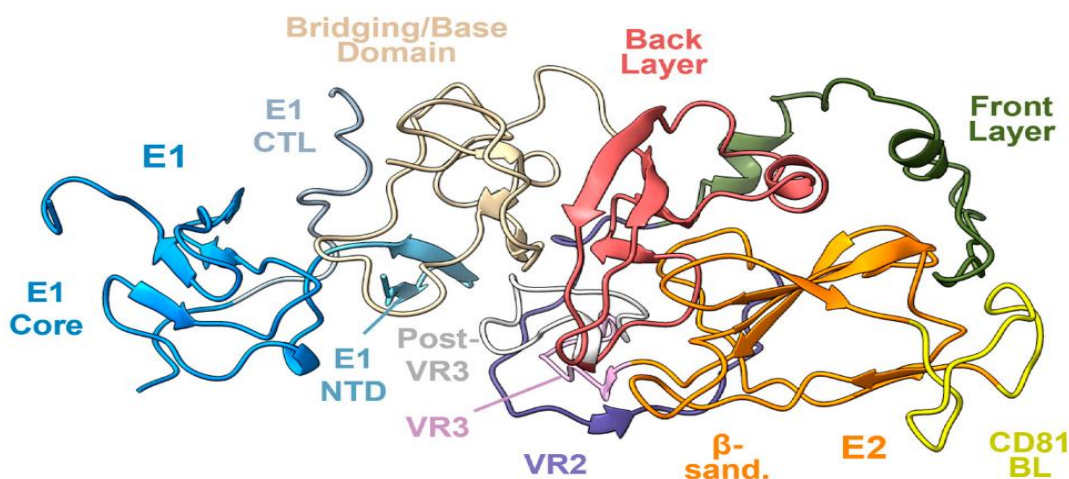


Figure 07: structure biologique d'un virion de l'hépatite C [44]

### II.2.A Enveloppe virale et membrane lipidique

L'enveloppe du virus de l'hépatite C (VHC) comprend des glycoprotéines distinctives E1 et E2 qui forment des complexes hétérodimériques non covalents [45]. Ces hétérodimères se fondent dans la bicouche lipidique dérivée de l'hôte, formant ainsi la structure de l'enveloppe virale [46]. Les enquêtes indiquent que ces glycoprotéines s'organisent en formations oligomériques complexes, en mettant en évidence des trimères d'hétérodimères E1/E2 qui peuvent ensuite se regrouper en pentamères [47]. La région hypervariable de la protéine E2 constitue un bouclier immunologique pour la protéine E1, participant ainsi aux mécanismes d'évasion immunitaire [48,49]. D'un point de vue fonctionnel, ces protéines d'enveloppe médient des processus critiques, y compris la reconnaissance des récepteurs, la fusion des membranes lors de l'entrée, et

contribuent à l'assemblage des virions [50]. La glycoprotéine E1 comprend environ 192 acides aminés, tandis que la glycoprotéine E2 s'étend sur environ 363 acides aminés[51]. La composante lipidique de l'enveloppe, acquise à partir des cellules hôtes pendant le bourgeonnement viral, contient principalement du cholestérol, des esters de cholestérol, de la phosphatidylcholine et de la sphingomyéline [52]. La nature lipidique de la membrane du VHC contribue à la remarquable capacité du virus à persister dans environ 80 % des infections, ce qui pose d'importants défis pour le développement de vaccins [53]. Cependant, cette composition distinctive de la membrane présente aussi des cibles thérapeutiques potentielles, les inhibiteurs d'entrée et les anticorps neutralisants dirigés contre les glycoprotéines E1/E2 - Figure 06- représentant des voies d'intervention prometteuses [54].



**Figure 08** : Sous-régions de E1 et E2. Structure de l'hétérodimère E1E2 représentée et colorée selon la sous-région (d'après PDB ID 8FSJ). [55,56]

## II.2.B La Capside

La nucléocapside du VHC [57] se présente sous la forme de la capsid du VHC et de l'ARN du VHC. La capsid du VHC, aussi appelée cœur du VHC, est l'enveloppe protéique qui en capsid et qui protège l'ARN du VHC. La capsid du VHC[58] est entièrement constituée par la protéine du noyau du VHC. Les protéines de la surface périphérique du noyau sont en interaction avec la membrane virale et la surface interne se lie à plusieurs fragments de l'ARN du VHC[59].

Après le clivage du polypeptide, les protéines du cœur s'assemblent sur la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique pour forger la capsid ; ce phénomène de rassemblement est

déclenché par des interactions avec l'ARN du VHC et la protéine E1 de l'enveloppe[60]. Au cours de l'assemblage, les protéines centrales prennent l'ARN du VHC comme échafaudage sur lequel les protéines centrales se lient à l'ARN du VHC et l'entourent[61]. La capsid du VHC est sphérique et de taille hétérogène, avec un diamètre approximatif de 30 nm [62] .

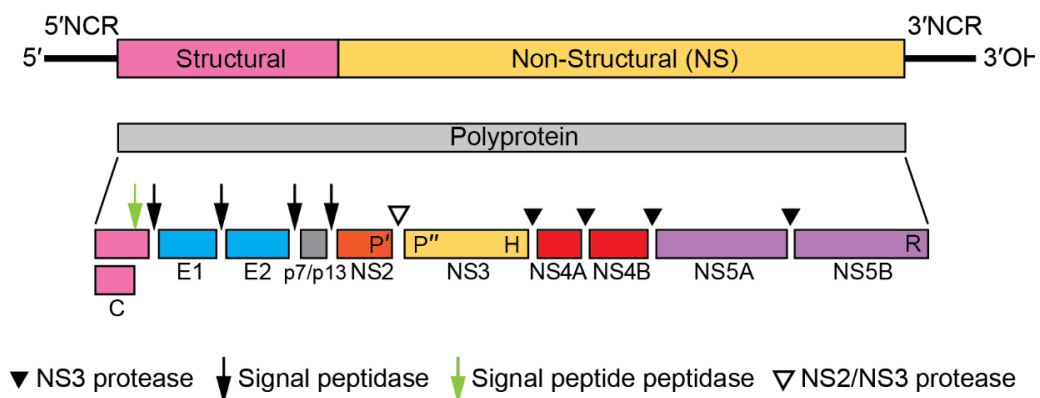
## II.3 Organisation du génome viral

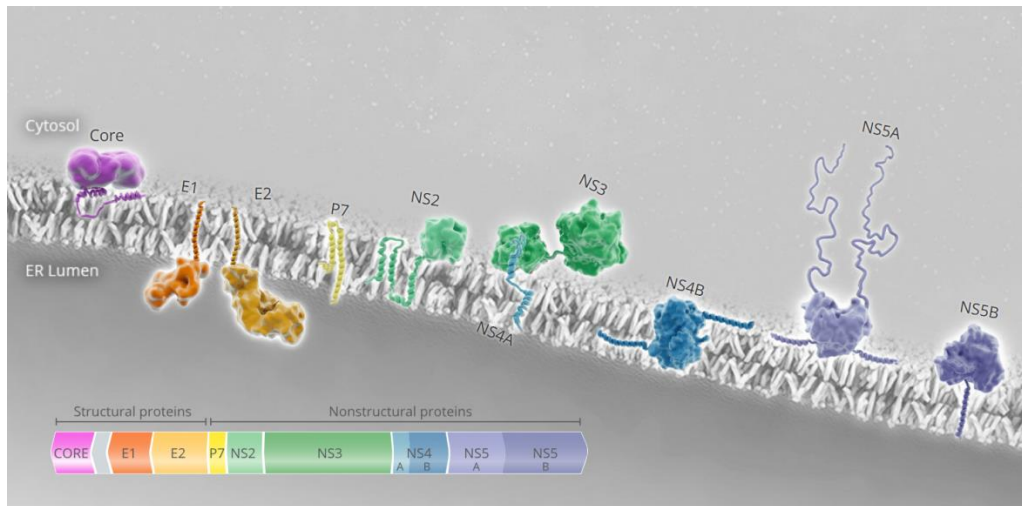
Le génome viral est constitué de trois régions de 5' en 3' :

- ❖ Une région 5' non codante comprenant 341 nucléotides.

C'est la région la plus conservée du génome. Elle forme des structures secondaires complexes formées de tiges et de boucles. Cette région comporte un site d'entrée du ribosome (ou IRES pour Internal Ribosomal Entry Site) essentiel pour le phénomène d'initiation de la traduction de la polyprotéine, mais également un signal d'encapsidation indispensable à la formation de la nucléocapside virale. Cette région intervient donc essentiellement dans les étapes de traduction et de répllication du virus.

- ❖ Un cadre de lecture ouvert unique contenant 9024 à 9111 nucléotides. Il permet la synthèse d'un précurseur polyprotéique clivé ensuite en 10 protéines virales avec de 5' en 3' : les protéines structurales (protéines de capsid C et glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2) et les protéines non structurales NS (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B).
- ❖ Une extrémité 3' non codante impliquée dans le processus de répllication [63].





**Figure 09** : représentation schématique de la polyprotéine de l'hépacivirus.

## II.4 Le cycle de vie virale de VHC

Le cycle de vie du virus de l'hépatite C (VHC) est une séquence rigoureusement régulée d'événements qui permet au virus d'infecter les hépatocytes, de répliquer son génome, d'assembler de nouveaux virions et de propager l'infection.

### 1) Fixation du virus et entrée dans la cellule

La fixation du virus à l'hépatocyte constitue la première étape du cycle de répllication virale. L'attachement du virus sur la cellule hôte fait intervenir notamment les protéines structurales E1 et E2 du VHC, ainsi que de nombreux récepteurs situés à la surface des cellules cibles.

L'entrée du virion effectuée, la nucléocapside est alors libérée dans le cytoplasme. Cette décapsidation libère alors l'ARN viral de polarité positive dans le cytoplasme de l'hépatocyte [64].

### 2) Traduction de l'ARN viral L'ARN génomique viral

Une fois libéré dans le cytoplasme sert d'ARN messenger. Il est alors traduit au niveau du réticulum endoplasmique directement en une grande polyprotéine. Cette polyprotéine précurseur est ensuite clivée par des protéases cellulaires et virales, donnant ainsi naissance aux différentes protéines virales structurales (capside, E1 et E2) et non structurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) [64,65].

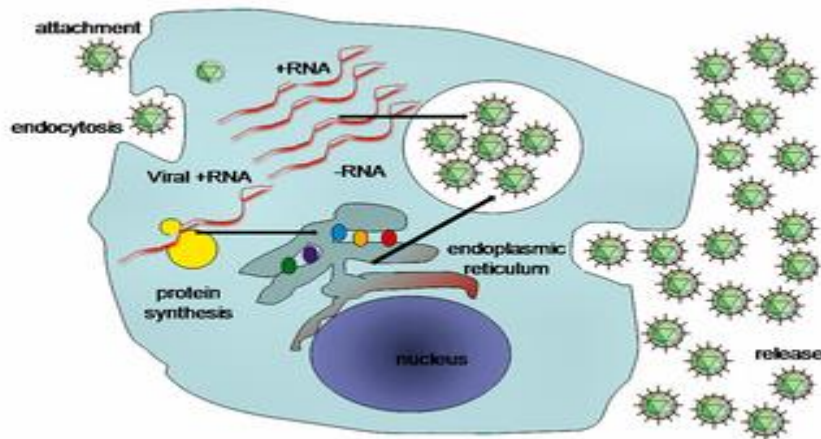
### **3) Réplication virale**

La réplication virale est sous la dépendance du complexe de réplication formé par la protéine NS5B avec les autres protéines non structurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A), mais également avec des protéines cellulaires de l'hôte. La protéine NS5B joue un rôle primordial dans ce processus de réplication. Il s'agit d'une ARN polymérase ARN- dépendante. La protéine NS3 possède une activité de protéase virale et assure, via son activité hélicase et NTPase, un déroulement des structures secondaires complexes, facilitant ainsi l'amorçage et l'élongation de la matrice ARN. La protéine NS5A régule aussi cette réplication. La protéine NS4B servirait d'ancrage au complexe de réplication et régulerait ainsi l'activité de la polymérase. D'autres acteurs viraux interviendraient dans ce mécanisme de réplication qui reste encore, à l'heure actuelle, assez peu connu. Généralités - Le virus de l'hépatite C 18 La réplication s'effectue en deux étapes par l'ARN polymérase ARN dépendante : celle-ci synthétise d'abord un brin d'ARN négatif qui servira ensuite de matrice pour la synthèse de nombreux brins d'ARN positifs, qui seront alors en capsidés, formant les génomes des particules virales néoformées [64,65,66].

### **4) Assemblage et sécrétion des virions**

Une fois les nucléocapsides formées, celles-ci acquièrent une enveloppe par bourgeonnement dans les membranes du réticulum endoplasmique et du golgi. Les particules virales nouvellement synthétisées sont libérées de la cellule hôte par exocytose [65]. Depuis quelques années, des cibles pour de futurs traitements de l'infection par le VHC sont étudiées, grâce à différents modèles in vitro [67] :

- des inhibiteurs d'entrée du virus dans la cellule cible
- des inhibiteurs de la protéase NS3 du VHC dont deux médicaments ont récemment obtenu l'autorisation de mise sur le marché : le bocéprévir et télaprévir (inhibiteurs de protéase dits de première génération).
- des inhibiteurs de NS5A
- des inhibiteurs de la polymérase NS5B
- des inhibiteurs de la cyclophiline
- des inhibiteurs d'assemblage et de relargage de la particule virale.



**Figure 10** : Cycle hypothétique de réplication du VHC.

## II.5 Mode de transmission du VHC

Le VHC se transmet principalement par voie parentérale, par contact direct avec du sang ou des produits sanguins contaminés et l'ARN-VHC a été détecté entre 7 et 21 jours après la transfusion sanguine [68].

La plupart des patients infectés étaient asymptomatiques pendant la phase aiguë et n'étaient pas conscients de leur maladie[69].

Une élimination spontanée s'est produite chez 20 à 30 % des patients infectés [70].

De nombreux patients n'ont pas présenté de symptômes hépatiques spécifiques pour le diagnostic de l'infection par le VHC, et leur maladie s'est poursuivie en phase chronique [71].

L'incidence de la transmission mère-enfant est faible : le risque est estimé à environ 5% en l'absence de co-infection par le VIH. Ce risque augmente chez les femmes co-infectées par le VIH (environ 20%) [72].

La transmission mère-enfant ne représente que quelques centaines de nouveaux cas par an. Une transmission intra-familiale peut survenir en cas de partage d'objets de toilettes coupants (ciseaux, rasoir). La contamination sexuelle reste très faible, en dehors de rapports traumatiques ou survenant en période menstruelle [72].

## II.6 Diagnostic et stratégie de dépistage

Le diagnostic et le suivi de l'infection par le VHC font appel à différents tests virologiques.

Les uns détectent des anticorps spécifiques, marqueurs indirects de l'infection ; les autres mettent en évidence, quantifient et/ou caractérisent les constituants des particules virales (ARN génomique et antigènes viraux), marqueurs directs de l'infection [73].

La détection des anticorps anti-VHC dans le sérum ou le plasma est basée sur l'utilisation de technique immunoenzymatique sandwich de type EIA (Enzyme ImmunoAssay). Différents kits commerciaux existent et détectent les anticorps dirigés contre différents antigènes structuraux et non structuraux du virus. Tous ces kits présentent d'excellentes sensibilité et spécificité. La réalisation d'un immunoblot au laboratoire (INNO-LIA® par exemple) permet de confirmer la spécificité de ces anticorps contre des antigènes du VHC recombinants ou de synthèse, déposés sur une membrane de nylon. L'utilisation d'un immunoblot n'est pas obligatoire. Dans la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM), il est recommandé de contrôler tout dépistage douteux ou positif par une deuxième technique sérologique différente, sur un deuxième prélèvement. Dans ce contexte, l'immunoblot peut être utilisé. Des tests permettent la détection et la quantification de l'antigène de capsid du VHC dont le taux est fortement corrélé au niveau de la charge virale ARN du VHC. Néanmoins, la sensibilité de ces tests reste insuffisante pour permettre leur utilisation dans le suivi des patients sous thérapie anti-VHC [74].

La détection et la quantification de l'ARN du VHC par des techniques d'amplification de la cible en temps réel de type PCR (Polymerase Chain Reaction) sont reconnues comme étant les techniques de choix pour le diagnostic de l'infection VHC répliquative et son suivi [73].

Les techniques utilisées actuellement sont totalement ou partiellement automatisées. Les résultats de charge virale VHC sont exprimés en unités internationales (UI/mL) d'ARN VHC. Ceux-ci possèdent une limite de détection de 10 à 15 UI/mL et une très bonne spécificité. Le génotype et sous type de VHC sont déterminés par des techniques de biologie moléculaire (PCR en temps réel) ou de séquençage de la région NS5b du virus selon la méthode de l'ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les hépatites virales) [74].

## **Bibliographie**

- [1] World Health Organization, Consolidated guidelines on HIV, viral hepatitis and STI prevention, diagnosis, treatment and care for key populations, World Health Organization, 2022.
- [2] E. Gower, C. Estes, S. Blach, K. Razavi-Shearer, H. Razavi, Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection, *Journal of Hepatology* 61 (2014) S45–S57. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.07.027>.
- [3] J.J. Ott, G.A. Stevens, J. Groeger, S.T. Wiersma, Global epidemiology of hepatitis B virus infection: New estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity, *Vaccine* 30 (2012) 2212–2219. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.116>.
- [4] K. Mohd Hanafiah, J. Groeger, A.D. Flaxman, S.T. Wiersma, Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence, *Hepatology* 57 (2013) 1333–1342. <https://doi.org/10.1002/hep.26141>.
- [5] J.Y. Lau, G.J. Alexander, A. Alberti, Viral hepatitis., *Gut* 32 (1991) S47–S62. <https://doi.org/10.1136/gut.32.Suppl.S47>.
- [6] J.L. Melnick, Properties and classification of hepatitis A virus, *Vaccine* 10 (1992) S24–S26. [https://doi.org/10.1016/0264-410X\(92\)90536-S](https://doi.org/10.1016/0264-410X(92)90536-S).
- [7] S.M. Feinstone, A.Z. Kapikian, R.H. Purcell, Hepatitis A: Detection by Immune Electron Microscopy of a Viruslike Antigen Associated with Acute Illness, *Science* 182 (1973) 1026–1028. <https://doi.org/10.1126/science.182.4116.1026>.
- [8] E. Franco, Hepatitis A: Epidemiology and prevention in developing countries, *WJH* 4 (2012) 68. <https://doi.org/10.4254/wjh.v4.i3.68>.
- [9] K.-Y. Lin, G.-J. Chen, Y.-L. Lee, Y.-C. Huang, A. Cheng, H.-Y. Sun, S.-Y. Chang, C.-E. Liu, C.-C. Hung, Hepatitis A virus infection and hepatitis A vaccination in human immunodeficiency virus-positive patients: A review, *World J Gastroenterol* 23 (2017) 3589–3606. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i20.3589>.
- [10] S. Locarnini, F. Zoulim, Molecular Genetics of HBV Infection, *Antiviral Therapy* 15 (2010) 3–14. <https://doi.org/10.3851/IMP1619>.

- [11] A. Schweitzer, J. Horn, R.T. Mikolajczyk, G. Krause, J.J. Ott, Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013, *The Lancet* 386 (2015) 1546–1555. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61412-X).
- [12] M. Houghton, Discovery of the hepatitis C virus, *Liver International* 29 (2009) 82–88. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2008.01925.x>.
- [13] L.B. Seeff, Natural history of chronic hepatitis C, *Hepatology* 36 (2002) s35–s46. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.36806>.
- [14] J. Pawlotsky, New Hepatitis C Therapies: The Toolbox, Strategies, and Challenges, *Gastroenterology* 146 (2014) 1176–1192. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.03.003>.
- [15] T. Kushner, Delta hepatitis epidemiology and the global burden of disease, *Journal of Viral Hepatitis* 30 (2023) 5–11. <https://doi.org/10.1111/jvh.13797>.
- [16] S. Bajis, N. Luhmann, P. Easterbrook, Web Annex C 12.1: Who to Test for Hepatitis D Virus: Summary of Evidence, Guidelines for the Prevention, Diagnosis, Care and Treatment for People with Chronic Hepatitis B Infection (2024) 67.
- [17] M. Rizzetto, Hepatitis D: Thirty years after, *Journal of Hepatology* 50 (2009) 1043–1050. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.01.004>.
- [18] N. Pavio, X.-J. Meng, V. Doceul, Zoonotic origin of hepatitis E, *Current Opinion in Virology* 10 (2015) 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2014.12.006>.
- [19] X.J. Meng, Hepatitis E virus: Animal reservoirs and zoonotic risk, *Veterinary Microbiology* 140 (2010) 256–265. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.017>.
- [20] N. Kamar, H.R. Dalton, F. Abravanel, J. Izopet, Hepatitis E Virus Infection, *Clin Microbiol Rev* 27 (2014) 116–138. <https://doi.org/10.1128/CMR.00057-13>.
- [21] C. Trépo, H.L.Y. Chan, A. Lok, Hepatitis B virus infection, *The Lancet* 384 (2014) 2053–2063. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60220-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60220-8).
- [22] W.M. Lee, Acute Liver Failure, *N Engl J Med* 329 (1993) 1862–1872. <https://doi.org/10.1056/NEJM199312163292508>.
- [23] P. Manka, J. Verheyen, G. Gerken, A. Canbay, Liver Failure due to Acute Viral Hepatitis (A-E), *Visc Med* 32 (2016) 80–85. <https://doi.org/10.1159/000444915>.

- [24] N.B. Ozturk, E. Herdan, F.H. Saner, A. Gurakar, A Comprehensive Review of the Diagnosis and Management of Acute Liver Failure, *JCM* 12 (2023) 7451. <https://doi.org/10.3390/jcm12237451>.
- [25] W.M. Lee, R.H. Squires Jr, S.L. Nyberg, E. Doo, J.H. Hoofnagle, Acute liver failure: summary of a workshop, *Hepatology* 47 (2008) 1401–1415.
- [26] W. Bernal, G. Auzinger, A. Dhawan, J. Wendon, Acute liver failure, *The Lancet* 376 (2010) 190–201. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60274-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60274-7).
- [27] S.K. Asrani, H. Devarbhavi, J. Eaton, P.S. Kamath, Burden of liver diseases in the world, *Journal of Hepatology* 70 (2019) 151–171. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.09.014>.
- [28] A. Berzigotti, E. Tsochatzis, J. Boursier, L. Castera, N. Cazzagon, M. Friedrich-Rust, S. Petta, M. Thiele, EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis – 2021 update, *Journal of Hepatology* 75 (2021) 659–689. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.05.025>.
- [29] N.A. Terrault, A.S.F. Lok, B.J. McMahon, K. Chang, J.P. Hwang, M.M. Jonas, R.S. Brown, N.H. Bzowej, J.B. Wong, Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance, *Hepatology* 67 (2018) 1560–1599. <https://doi.org/10.1002/hep.29800>.
- [30] E.A. Tsochatzis, J. Bosch, A.K. Burroughs, Liver cirrhosis, *The Lancet* 383 (2014) 1749–1761. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60121-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60121-5).
- [31] J. Quesnel, Cirrhose décompensée : symptômes, évolution, quel pronostic ?, (2023). <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2891739-cirrhose-decompensee-symptomes-evolution-quel-pronostic/> (accessed April 13, 2025).
- [32] D. Schuppan, N.H. Afdhal, Liver cirrhosis, *The Lancet* 371 (2008) 838–851. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60383-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60383-9).
- [33] EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis, *Journal of Hepatology* 53 (2010) 397–417. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.05.004>.
- [34] P. Cacoub, L. Gagnani, C. Comarmond, A.L. Zignego, Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection, *Digestive and Liver Disease* 46 (2014) S165–S173. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.10.005>.

- [35] Z. Younossi, H. Park, L. Henry, A. Adeyemi, M. Stepanova, Extrahepatic Manifestations of Hepatitis C: A Meta-analysis of Prevalence, Quality of Life, and Economic Burden, *Gastroenterology* 150 (2016) 1599–1608. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.039>.
- [36] R.G. Gish, B.D. Given, C.-L. Lai, S.A. Locarnini, J.Y.N. Lau, D.L. Lewis, T. Schluep, Chronic hepatitis B: Virology, natural history, current management and a glimpse at future opportunities, *Antiviral Research* 121 (2015) 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.06.008>.
- [37] A.C. Desbois, P. Cacoub, D. Saadoun, Les cryoglobulinémies, *Revue du Rhumatisme* 86 (2019) 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2018.12.009>.
- [38] EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis, *Journal of Hepatology* 63 (2015) 971–1004. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.06.030>.
- [39] P. Cacoub, C. Comarmond, New insights into HCV-related rheumatologic disorders: A review, *Journal of Advanced Research* 8 (2017) 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2016.07.005>.
- [40] B. Sorin, M. Pineton De Chambrun, J. Haroche, Y. Freund, M. Miyara, F. Charlotte, B. Lebrun-Vignes, Z. Amoura, F. Cohen Aubart, Hépatite auto-immune induite par la nitrofurantoïne : une complication rare à connaître, *La Revue de Médecine Interne* 37 (2016) 131–134. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.07.003>.
- [41] H.-J. Thiel, Flaviviridae, *Virus Taxonomy Eighth Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses* (2005).
- [42] P. Simmonds, P. Becher, J. Bukh, E.A. Gould, G. Meyers, T. Monath, S. Muerhoff, A. Pletnev, R. Rico-Hesse, D.B. Smith, J.T. Stapleton, ICTV Report Consortium, ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae, *Journal of General Virology* 98 (2017) 2–3. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000672>.
- [43] Genus:Hepacivirus | ICTV, (n.d.). <https://ictv.global/report/chapter/flaviviridae/flaviviridae/hepacivirus> (accessed April 16, 2025).
- [44] A.R. Garbuglia, S. Pauciullo, V. Zulian, P. Del Porto, Update on Hepatitis C Vaccine: Results and Challenges, *Viruses* 16 (2024) 1337. <https://doi.org/10.3390/v16081337>.

- [45] H. Freedman, M.R. Logan, D. Hockman, J. Koehler Leman, J.L.M. Law, M. Houghton, Computational Prediction of the Heterodimeric and Higher-Order Structure of gpE1/gpE2 Envelope Glycoproteins Encoded by Hepatitis C Virus, *J Virol* 91 (2017) e02309-16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02309-16>.
- [46] R.I. Moustafa, J.G. Haddad, L. Linna, X. Hanouille, V. Descamps, A.A. Mesalam, T.F. Baumert, G. Duverlie, P. Meuleman, J. Dubuisson, M. Lavie, Functional Study of the C-Terminal Part of the Hepatitis C Virus E1 Ectodomain, *J Virol* 92 (2018) e00939-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00939-18>.
- [47] E. González-Almela, H. Williams, M.A. Sanz, L. Carrasco, The Initiation Factors eIF2, eIF2A, eIF2D, eIF4A, and eIF4G Are Not Involved in Translation Driven by Hepatitis C Virus IRES in Human Cells, *Front. Microbiol.* 9 (2018) 207. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00207>.
- [48] I. Vasiliauskaite, A. Owsianka, P. England, A.G. Khan, S. Cole, D. Bankwitz, S.K.H. Fong, T. Pietschmann, J. Marcotrigiano, F.A. Rey, A.H. Patel, T. Krey, Conformational Flexibility in the Immunoglobulin-Like Domain of the Hepatitis C Virus Glycoprotein E2, *mBio* 8 (2017) e00382-17. <https://doi.org/10.1128/mBio.00382-17>.
- [49] M. Lavie, X. Hanouille, J. Dubuisson, Glycan Shielding and Modulation of Hepatitis C Virus Neutralizing Antibodies, *Front. Immunol.* 9 (2018) 910. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00910>.
- [50] H. Freedman, M.R. Logan, J.L.M. Law, M. Houghton, Structure and Function of the Hepatitis C Virus Envelope Glycoproteins E1 and E2: Antiviral and Vaccine Targets, *ACS Infect. Dis.* 2 (2016) 749–762. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.6b00110>.
- [51] Y. Tong, D. Lavillette, Q. Li, J. Zhong, Role of Hepatitis C Virus Envelope Glycoprotein E1 in Virus Entry and Assembly, *Front. Immunol.* 9 (2018) 1411. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01411>.
- [52] J. Marcotrigiano, M.T. Catanese, The Structure of HCV, in: T. Miyamura, S.M. Lemon, C.M. Walker, T. Wakita (Eds.), *Hepatitis C Virus I*, Springer Japan, Tokyo, 2016: pp. 31–64. [https://doi.org/10.1007/978-4-431-56098-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-4-431-56098-2_3).
- [53] L.B. Dustin, B. Bartolini, M.R. Capobianchi, M. Pistello, Hepatitis C virus: life cycle in cells, infection and host response, and analysis of molecular markers influencing the outcome

of infection and response to therapy, *Clinical Microbiology and Infection* 22 (2016) 826–832. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.08.025>.

[54] A. Tarr, T. Khera, K. Hueging, J. Sheldon, E. Steinmann, T. Pietschmann, R. Brown, Genetic Diversity Underlying the Envelope Glycoproteins of Hepatitis C Virus: Structural and Functional Consequences and the Implications for Vaccine Design, *Viruses* 7 (2015) 3995–4046. <https://doi.org/10.3390/v7072809>.

[55] M.C. Metcalf, B.M. Janus, R. Yin, R. Wang, J.D. Guest, E. Pozharski, M. Law, R.A. Mariuzza, E.A. Toth, B.G. Pierce, T.R. Fuerst, G. Ofek, Structure of engineered hepatitis C virus E1E2 ectodomain in complex with neutralizing antibodies, *Nat Commun* 14 (2023) 3980. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39659-z>.

[56] B.G. Pierce, N. Felbinger, M. Metcalf, E.A. Toth, G. Ofek, T.R. Fuerst, Hepatitis C Virus E1E2 Structure, Diversity, and Implications for Vaccine Development, *Viruses* 16 (2024) 803. <https://doi.org/10.3390/v16050803>.

[57] P. Maillard, K. Krawczynski, J. Nitkiewicz, C. Bronnert, M. Sidorkiewicz, P. Gounon, J. Dubuisson, G. Faure, R. Crainic, A. Budkowska, Nonenveloped Nucleocapsids of Hepatitis C Virus in the Serum of Infected Patients, *J Virol* 75 (2001) 8240–8250. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.17.8240-8250.2001>.

[58] S.-L. Tan, ed., *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology*, Horizon Bioscience, Norfolk (UK), 2006. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1613/> (accessed April 19, 2025).

[59] K.C. Klein, S.J. Polyak, J.R. Lingappa, Unique Features of Hepatitis C Virus Capsid Formation Revealed by De Novo Cell-Free Assembly, *J Virol* 78 (2004) 9257–9269. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.17.9257-9269.2004>.

[60] K. Gawlik, P.A. Gallay, HCV core protein and virus assembly: what we know without structures, *Immunol Res* 60 (2014) 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12026-014-8494-3>.

[61] C.C. Kao, G. Yi, H.-C. Huang, The core of hepatitis C virus pathogenesis, *Current Opinion in Virology* 17 (2016) 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.01.009>.

[62] E. Piver, A. Boyer, J. Gaillard, A. Bull, E. Beaumont, P. Roingeard, J.-C. Meunier, Ultrastructural organisation of HCV from the bloodstream of infected patients revealed by

electron microscopy after specific immunocapture, *Gut* 66 (2017) 1487–1495.  
<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-311726>.

[63]. Marc PLANÇON .Efficacité virologique des trithérapies anti-vhc après un an d'utilisation au sein de la cohorte nantaise. Le 15 mai 2013 .

[64].Dény P. Virus de l'hépatite C. Elsevier Masson; 2003.

[65]. Pawlotsky J-M. Hépatite C. L'Editeur: EDP Sciences; 2004.

[66]. Pawlotsky J-M, Chevaliez S, McHutchison JG. The hepatitis C virus life cycle as a target for new antiviral therapies. *Gastroenterology*. mai 2007; 132(5):1979-1998.

[67]. Asselah T, Marcellin P. New direct-acting antivirals' combination for the treatment of chronic hepatitis C. *Liver Int*. janv 2011;31 Suppl 1:68-77.

[68] J. Grebely, M. Prins, M. Hellard, A.L. Cox, W.O. Osburn, G. Lauer, K. Page, A.R. Lloyd, G.J. Dore, Hepatitis C virus clearance, reinfection, and persistence, with insights from studies of injecting drug users: towards a vaccine, *The Lancet Infectious Diseases* 12 (2012) 408–414.  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70010-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70010-5).

[69] R. Loomba, M.M. Rivera, R. McBurney, Y. Park, V. Haynes-Williams, B. Rehermann, H.J. Alter, S.K. Herrine, T.J. Liang, J.H. Hoofnagle, T. Heller, The natural history of acute hepatitis C: clinical presentation, laboratory findings and treatment outcomes, *Aliment Pharmacol Ther* 33 (2011) 559–565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04549.x>.

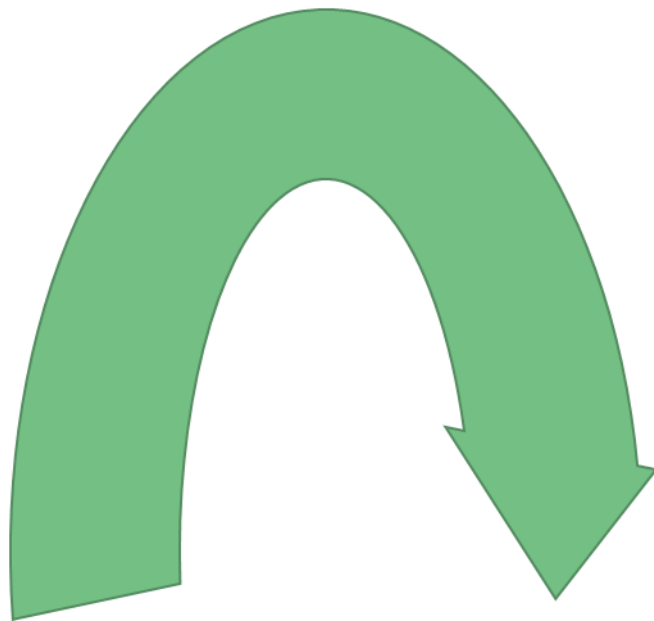
[70] J.M. Micallef, J.M. Kaldor, G.J. Dore, Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies, *Journal of Viral Hepatitis* 13 (2006) 34–41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2005.00651.x>.

[71] B. Maasoumy, H. Wedemeyer, Natural history of acute and chronic hepatitis C, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 26 (2012) 401–412.  
<https://doi.org/10.1016/j.bpg.2012.09.009>

[72]. Pillonel J, Laperche S. Trends in risk of transfusion-transmitted viral infections (HIV, HCV, HBV) in France between 1992 and 2003 and impact of nucleic acid testing (NAT). *Euro Surveill*. févr 2005;10(2):5-8.

[73]. Chevaliez S, Pawlotsky J-M. Virology of hepatitis C virus infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. août 2012; 26(4):381-389.

[74]. Sandres-Sauné K, Deny P, Pasquier C, Thibaut V, Duverlie G, Izopet J. Determining hepatitis C genotype by analyzing the sequence of the NS5b region. *J. Virol. Methods*. mai 2003; 109(2):187-193.



## **Chapitre II : Matériels et méthodes**



## Partie I : Méthodes de criblage virtuel

### Introduction

Précédemment, un projet de développement d'un nouveau médicament était basé sur une méthode expérimentale, coûteuse et lente. Le criblage in vitro à haut débit consiste à tester expérimentalement l'activité d'un très grand nombre de ligand vis-à-vis d'une cible thérapeutique afin d'identifier des composés promoteurs. Cependant, cette approche s'est rapidement trouvée confrontée à de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques et financiers en particulier. Actuellement, les compagnies pharmaceutiques font recours aux approches de modélisation moléculaire par Docking qui sont devenues des alternatives qui permettent de rationaliser le processus du drug design. [1]

En effet, le criblage virtuel par Docking moléculaire vise à simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour une cible thérapeutique donnée ce qui est plus simple à mettre en place, plus rapide pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. Aujourd'hui, ces approches sont devenues des étapes indispensables et cruciales dans de nombreux programmes de découverte de médicaments. Les industries pharmaceutiques consacrent près de 10% de leur budget à la recherche, sur les médicaments, assistée par ordinateur [2].

### I-1 Généralités sur le criblage

La découverte de nouvelles drogues médicamenteuses dépend d'un procédé long et coûteux. Le temps compté entre l'identification d'un nouveau composé potentiellement actif sur une cible à son approbation et sa mise sur le marché varie entre 9 et 12 ans [3], oublié qu'un grand nombre de molécules sont rejetées au fur et à mesure des phases cliniques. Ce procédé peut être scindé en plusieurs étapes, allant de la découverte du (composé médicament) à sa production [4].



Figure 01 : représentant le criblage virtuel

## **I-2 Le 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 [5].

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 [6].

Les méthodes de criblage sont séparées en deux grandes familles : « ligand-based » et « structure-based », en fonction du type de données.

### **I-2-1 Le Criblage virtuel « Ligand-based »**

Un criblage virtuel « ligand-based » peut être réalisable, si au moins un ligand de la cible étudiée est déjà connu. L'hypothèse que les molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activités très proches à similaires, est le principe de base de toutes les méthodes. 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 comme aux ligands connus de la cible [7,8].

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 [8].

### **I-2-2 Le Criblage virtuel « Structure-based »**

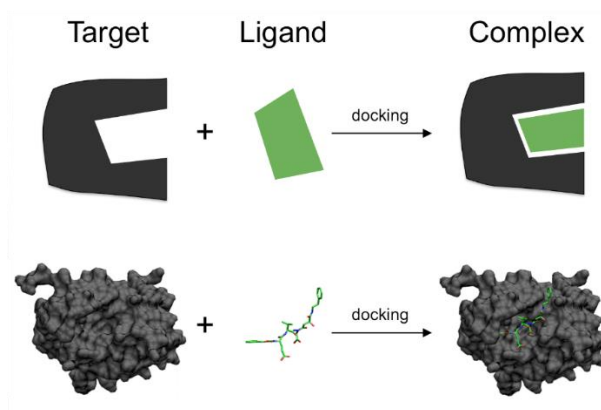
Le criblage virtuel « structure-based » est considéré comme un équivalent *in silico* d'un test expérimental étudiant la liaison ligand-cible biomoléculaire [9]. Cependant, ce criblage dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique qui est obtenue, soit par méthodes expérimentales (RX et RMN) dans des bases de données (tel que PDB: Protein Data base), soit par des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence [10].

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.

### I-3 Docking Moléculaire

Le docking (ancrage ou amarrage) est l'expression donnée aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches chimique, physique et biologique sont combinées pour étudier au niveau atomique les interactions entre deux molécules :

- ❖ L'une, la cible, une protéine possédant un ou plusieurs sites actifs spécifiques avec une structure tridimensionnelle connue.
- ❖ L'autre, le ligand, une petite molécule flexible. Il permet la détermination des conformations les plus favorables pour la fixation du ligand à la cible conduisant à la formation du complexe ligand-protéine le plus stable [3] (figure 1)



**Figure 02** : La base de docking moléculaire.

Le criblage virtuel basé sur la structure (SBVS) représente une approche informatique puissante qui évalue systématiquement de grandes bibliothèques de composés par rapport à des cibles protéiques bien définies afin d'identifier des molécules bioactives potentielles [12].

Parmi les méthodes de criblage virtuel basées sur la structure, la méthode e-pharmacophore (energy-optimized pharmacophore) représente une intégration innovante des approches basées sur la structure et sur le ligand, qui répond aux limitations inhérentes à la modélisation pharmacophore traditionnelle [13]. Contrairement au développement du pharmacophore conventionnel qui repose uniquement sur les caractéristiques structurales du ligand,

l'e-pharmacophore dérive des caractéristiques d'interaction clés directement à partir des complexes protéine-ligand tout en incorporant des contributions énergétiques calculées à partir de l'amarrage moléculaire [14].

Selon Sutter et al. [15], le flux de travail de l'e-pharmacophore comprend généralement :

1. L'arrimage de composés actifs connus à la protéine cible
2. L'analyse énergétique des interactions entre la protéine et le ligand
3. L'identification des caractéristiques pharmacophores clés. Identification des caractéristiques pharmacophoriques clés sur la base des contributions énergétiques
4. Génération d'un modèle pharmacophore pondéré par l'énergie
5. Validation à l'aide de composés actifs et inactifs connus
6. Criblage virtuel de bibliothèques de composés

Le docking moléculaire et le criblage virtuel basé sur la structure ont révolutionné l'identification et l'optimisation d'inhibiteurs puissants de la NS5B tels que GSK8175. Ces approches computationnelles exploitent efficacement les données structurales à haute résolution de la polymérase virale pour accélérer la découverte de médicaments tout en minimisant les dépenses en ressources [16]. La mise en œuvre de ces techniques *in silico* a été particulièrement fructueuse dans le développement de médicaments contre le VHC en raison de la disponibilité de multiples structures cristallines de la NS5B dans des états conformationnels distincts [17].

### **I-3-1 Les outils du docking**

Les outils qui sont très utilisées en docking sont : une petite molécule qui est appelée ligand. Une cible biologique d'intérêt thérapeutique appelée protéine et un programme de docking.

#### **Ligand**

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme de ligand est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique (branches de la chimie inorganique). En biologie, un ligand (du latin ligand *Um*, liant) est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, et qui désigne les molécules qui réagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions. La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en trois dimensions (3D). L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet

d'améliorer ce changement de conformation. Cette modification structurale peut ainsi moduler éventuellement son état fonctionnel et son activité [18].

### Récepteur

Un récepteur est un macromoléculaire étant le plus souvent une protéine [19]. La Protein Data Bank (PDB) est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de l'ensemble des règnes biologiques. Les structures tridimensionnelles sont issues principalement de l'analyse par diffraction des rayons X, les autres par résonance magnétique nucléaire (RMN) ou de modélisations moléculaires [20].

### Programmes

Un logiciel est un ensemble de programmes qui permet à un ordinateur ou à un système informatique d'assurer une tâche ou une fonction en particulier, procédés et règles, et éventuellement de la documentation, relatifs au fonctionnement d'un ensemble de traitement de données (Par opposition au matériel). Un programme de docking moléculaire a pour but de prédire correctement le mode d'interaction entre deux entités chimiques, et de reconnaître parmi ceux –ci lequel est le meilleur. A l'heure actuelle, plusieurs programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : Auto Dock, Glide , FlexX, DOCK et ICM [21].

## **I-3-2 Etapes du Docking moléculaire**

Une stimulation par docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring.

### Docking

C'est l'étape de sélection consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine en l'orientant en plusieurs conformation et positions possibles [22].

### Scoring

C'est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre les poses du ligand obtenues lors de la première étape à l'égard de la protéine. Cette étape donne lieu à un score. [22]

### I-3-3 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

Elles résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive. Le potentiel de Van Der Waals contient une composante attractive lorsque les atomes sont liés, et une composante répulsive si les atomes sont trop proches. Il peut être utilisé pour empêcher l'interpénétration de deux protéines durant un docking interactif, en calculant les forces entre les atomes à l'interface.

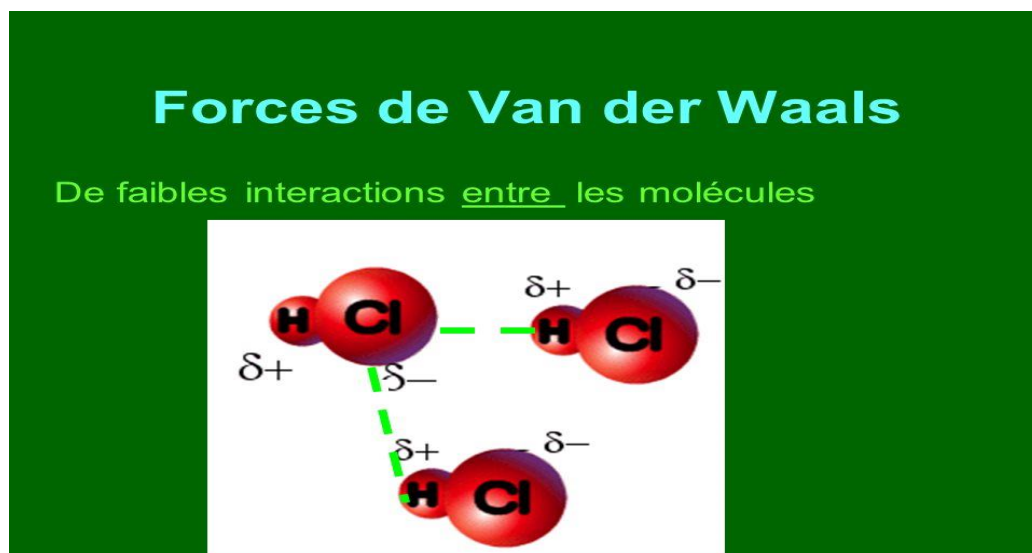
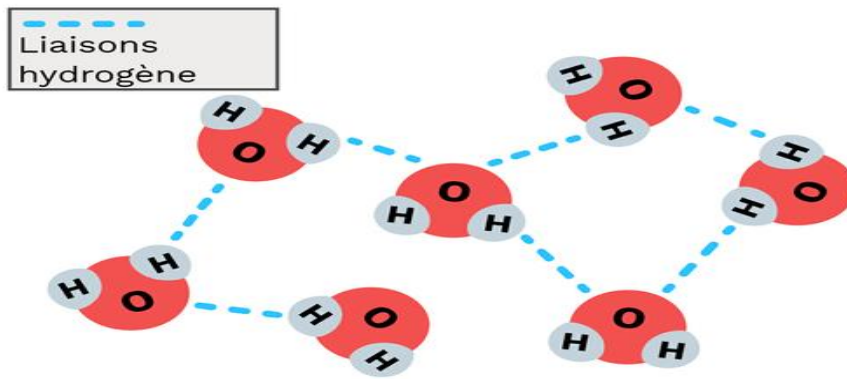


Figure 03 : représentant les liaisons Van der waals

#### ✚ 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) [23]. 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 [23].



**Figure 04** : représentant les liaisons d'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 [23].



**Figure 05** : représentant les interactions électrostatiques

### ⚡ 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 [24].

### I-3-4 Types de docking

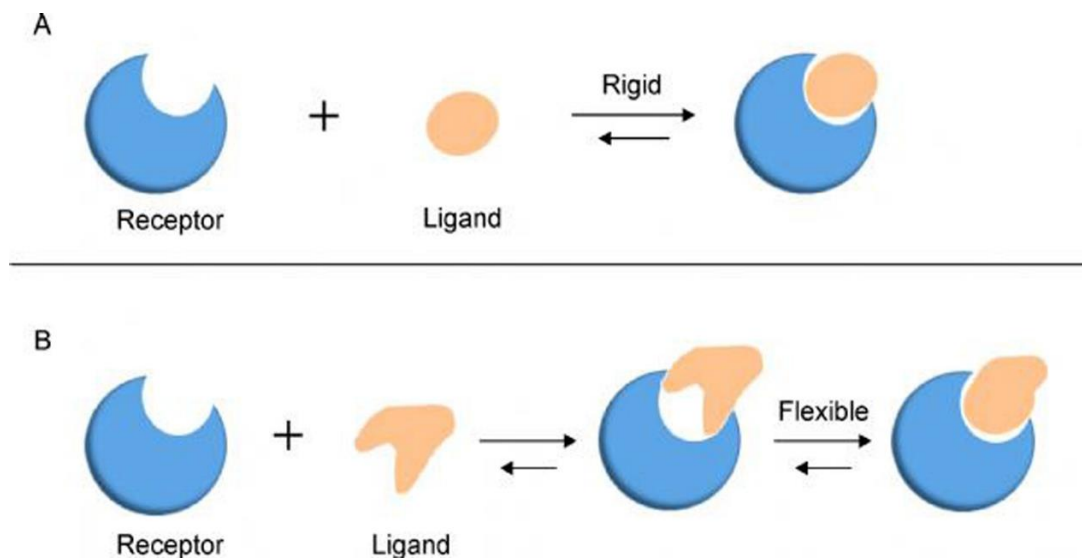


Figure 06 : représentant les types de docking

#### Rigide docking

Ligand et le récepteur sont des entités rigides, nous cherchons la pose optimale par positionnement en énumérant toutes les rotations et les translations possibles pour le ligand à l'intérieur du site d'interaction. Ensuite nous éliminons les poses incompatibles avec le site actif. Enfin, nous attribuons aux poses sélectionnées un score et nous optimisons les meilleures. Seuls les degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand relativement à la protéine sont explorés. Il est généralement employé pour l'amarrage entre deux macromolécules pour lesquelles les degrés de liberté sont très importants pour réaliser un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calcul raisonnable. C'est le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine [25].

#### Docking flexible

Dans le docking flexible, le ligand et la protéine sont flexibles (la flexibilité du récepteur concerne les chaînes latérales des résidus du site actif). Les degrés de liberté conformationnels du récepteur peuvent être limités à certaines chaînes latérales ou bien considérer également des mouvements plus larges impliquant par exemple les différents arrangements possibles entre domaines d'une protéine. Ce type de docking représente une approche plus réaliste en considérant des modèles de liaison du ligand au récepteur de type ajustement induit et/ou la

sélection conformationnelle. C'est l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels de docking car elle permet une évaluation rapide de bases de milliers de molécules.

En revanche, elle est approximante et l'exploration de l'ensemble des degrés de liberté du ligand et du récepteur implique des difficultés importantes liées au temps de calculs nécessaires pour exploiter le docking flexible efficacement [25].

### **Docking semi-flexible**

Dans le docking semi-flexible, le ligand est flexible et la protéine est rigide, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoute aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce type de docking repose sur l'hypothèse que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand. Il est "asymétrique" et généralement utilisé pour l'amarrage protéine ligand. Les approches de docking semi-flexible ou flexible sont plus généralement appliquées à la modélisation d'interaction entre protéines et ligand [25].

## **I.4 Drug likeness**

La druglikeness décrit les propriétés moléculaires collectives qui déterminent si un composé est susceptible de devenir un agent pharmaceutique efficace et biodisponible[26]. Ce concept est né de l'observation que les médicaments efficaces partagent des paramètres physicochimiques caractéristiques qui les distinguent des autres composés [27].

### **❖ Règle de LIPINSKI**

La « règle des cinq » de **Lipinski**, largement reconnue, suggère que les médicaments actifs par voie orale possèdent généralement : [28]

- Un poids moléculaire inférieur à 500 Da,
- Donneurs de liaisons hydrogène  $\leq 5$
- Accepteurs de liaisons hydrogène  $\leq 10$
- Des valeurs calculées de  $\log P < 5$ .

### **❖ Règle de Veber**

La règle de Veber énoncée par J. Veber en 2002, vient compléter la règle de Lipinski en permettant de vérifier la biodisponibilité par voie orale d'un composé. Selon cette règle, un composé possède une bonne biodisponibilité par voie orale s'il remplit les critères suivants : [29]

- 1- L'aire de surface polaire (PSA : Polar Surface Area) doit être inférieure ou égale à  $140 \text{ \AA}^2$ ,
- 2- Le nombre de liaisons flexibles doit être inférieur à 10

## I.5 la pharmacocinétique

### I.5.1 la pharmacocinétique

La pharmacocinétique [30] est le terme qui couvre les quatre stades de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion des médicaments. Les médicaments sont des produits ou d'autres substances qui ont un effet physiologique lorsqu'ils sont introduits dans l'organisme. Un médicament passe par quatre étapes fondamentales dans le corps humain : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion. La totalité de ce processus est parfois abrégée en ADME [31].

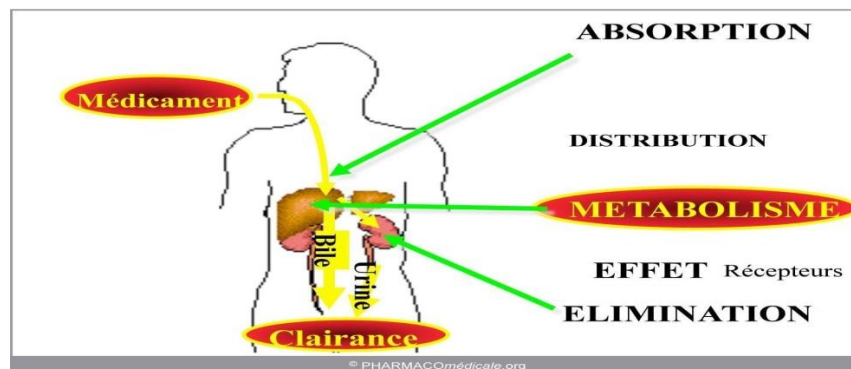


Figure 07 : représentant La pharmacocinétique

#### A. Absorption

Les processus d'absorption englobent les mécanismes qui facilitent l'entrée d'un xénobiotique dans la circulation systémique de l'organisme [32]. Si le tube digestif représente le site d'absorption prédominant, l'absorption peut également se faire par la peau, qui sert de barrière primaire entre les environnements interne et externe [33]. En outre, les voies respiratoires constituent une autre voie d'absorption, notamment pour les composés volatils et les substances présentes dans les aérosols et les particules de poussière [34].

Ces diverses voies d'absorption jouent un rôle crucial dans la détermination de la biodisponibilité d'un composé et des effets pharmacologiques qui en découlent [35].

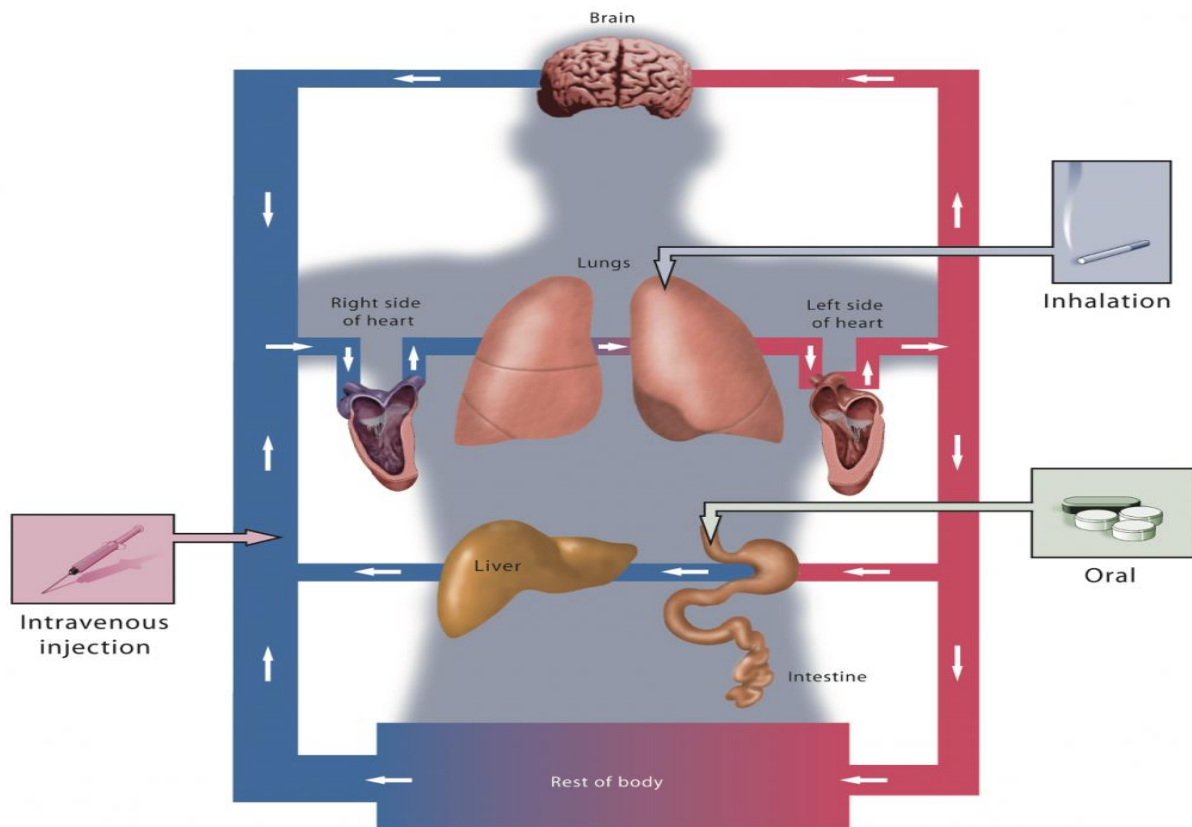
## Les bases de l'absorption des médicaments



**Figure 08** : représentant les bases de l'absorption des médicaments

### **B. Distribution**

Après l'entrée d'un xénobiotique dans la circulation systémique, sa distribution dans les différents tissus de l'organisme sera influencée par l'hémodynamique tissulaire, la diffusion passive à travers les membranes lipidiques, la présence de processus de transport actif à médiation par des transporteurs reconnaissant le xénobiotique, et la liaison protéique dans le sang et les tissus[36]. Le flux sanguin tissulaire détermine la vitesse à laquelle les médicaments atteignent les différents organes, tandis que la lipophilie affecte la perméabilité des membranes[37]. Des transporteurs spécialisés peuvent faciliter ou entraver le passage des barrières cellulaires, créant ainsi des schémas de distribution spécifiques aux tissus [38]. En outre, la liaison aux protéines plasmatiques telles que l'albumine et l'alpha-1-glycoprotéine acide affecte de manière significative le volume de distribution et la pénétration tissulaire d'un composé, car seul le médicament non lié est disponible pour la distribution et l'action pharmacologique [39].



**Figure 09** : représentant le phénomène de distribution

### C. Métabolisme

Les médicaments et autres xénobiotiques qui pénètrent dans l'organisme peuvent subir un ou plusieurs des quatre destins distincts suivants[40]:

1. Élimination sous forme inchangée
2. Rétention sous forme inchangée
3. Transformation chimique spontanée
4. Métabolisme enzymatique

Chacun de ces destins est important mais, en termes quantitatifs, c'est le métabolisme enzymatique, souvent également appelé biotransformation, qui prédomine [41]. Le principal site de métabolisation des composés étrangers est le foie, bien que les tissus extra-hépatiques, qui sont souvent le site d'entrée ou d'excrétion du corps (par exemple, les poumons, les reins, la muqueuse gastro-intestinale), jouent également un rôle dans le métabolisme des xénobiotiques[42]. Le métabolisme hépatique est principalement assuré par les enzymes du cytochrome P450, qui catalysent les réactions de la phase I, notamment l'oxydation, la réduction et l'hydrolyse [43]. Les réactions de conjugaison de phase II, catalysées par des transférases

telles que les UDP-glucuronosyltransférases et les glutathion S-transférases, suivent souvent pour augmenter encore la solubilité dans l'eau et faciliter l'excrétion[44].

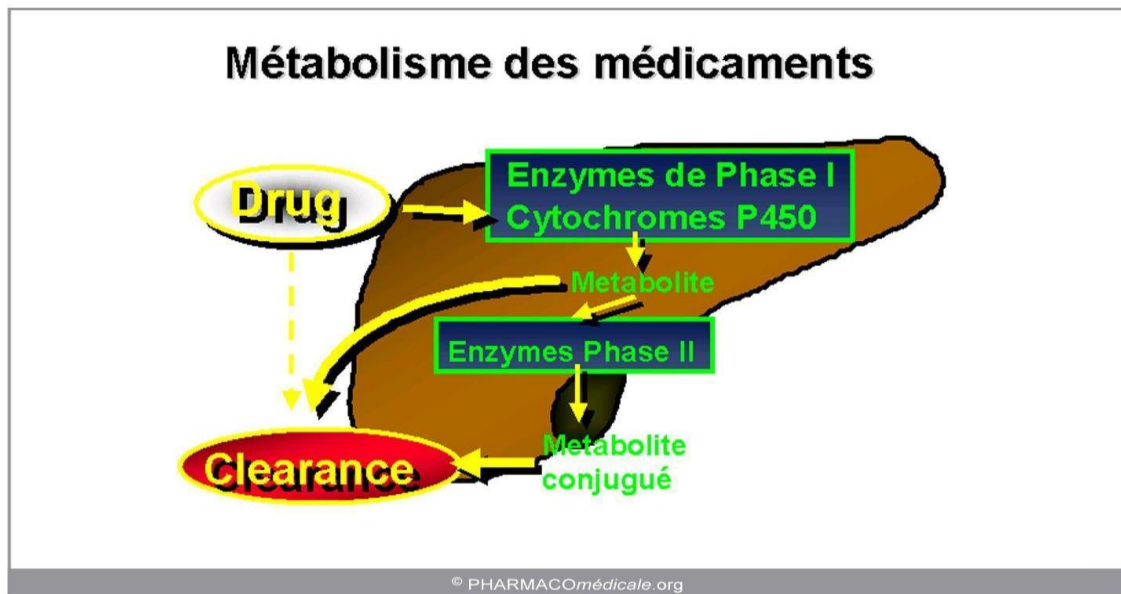


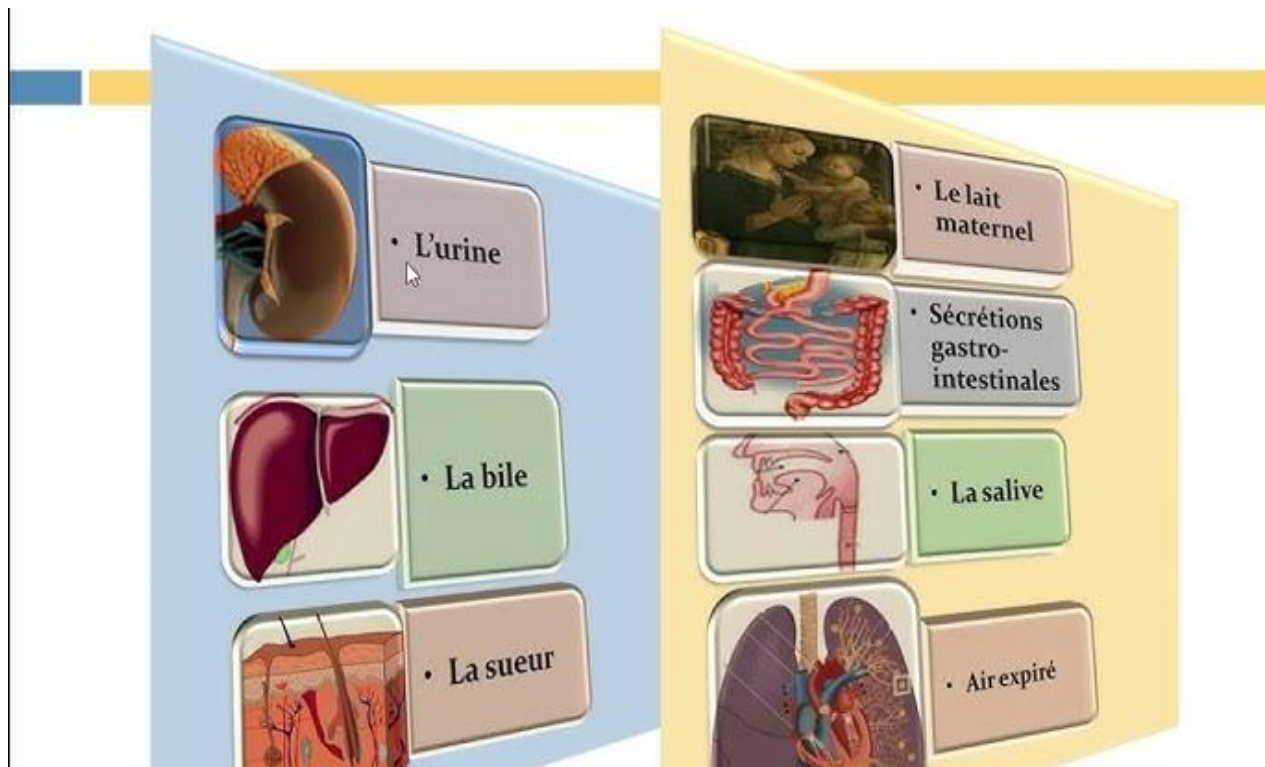
Figure 10 : représentant le phénomène de métabolisme

#### D. Elimination

Les xénobiotiques et leurs métabolites sont éliminés de l'organisme par deux voies principales [45]. Dans les reins et le foie, les composés polaires sont excrétés plus efficacement que les composés lipophiles [46].

Ainsi, les composés solubles dans les lipides ne sont pas facilement éliminés de l'organisme s'ils ne sont pas d'abord métabolisés en composés plus polaires et plus solubles dans l'eau[47]. L'élimination rénale implique la filtration glomérulaire, la sécrétion tubulaire et les processus de réabsorption, la taille moléculaire, la charge et la liaison aux protéines influençant considérablement la filtration [48]. L'excrétion hépatobiliaire représente la deuxième voie principale, où les composés sont activement transportés dans la bile et ensuite éliminés par les fèces [49].

L'interaction entre les processus métaboliques et ces voies d'excrétion détermine en fin de compte le temps de séjour d'un composé dans l'organisme et son profil pharmacocinétique global [50].



**Figure 11** : représentant le phénomène d'élimination

### **E. Toxicité**

Dans le cadre de la découverte et du développement de médicaments, la compréhension des voies d'élimination est cruciale pour prédire et atténuer les risques de toxicité potentiels [51]. Les composés dont les profils d'élimination sont médiocres peuvent s'accumuler dans les tissus, entraînant des effets indésirables et une toxicité inattendue par le biais de divers mécanismes[52]. Les lésions hépatiques induites par les médicaments constituent une préoccupation majeure, car elles restent l'une des principales causes d'attrition des médicaments au cours de leur développement et de leur retrait du marché après leur mise sur le marché[53]. Les métabolites réactifs générés au cours des processus de biotransformation peuvent se lier de manière covalente aux macromolécules cellulaires, déclenchant des réponses toxiques à médiation immunitaire ou des dommages cellulaires directs[54]. En outre, les interactions médicamenteuses affectant les voies d'élimination, telles que l'inhibition des enzymes du cytochrome P450 ou des transporteurs de médicaments, peuvent précipiter la toxicité en modifiant le profil pharmacocinétique des médicaments co-administrés [55].

L'évaluation précoce des voies d'élimination et des responsabilités métaboliques potentielles est donc devenue une partie intégrante des paradigmes modernes de découverte de

médicaments, avec des méthodologies *in vitro*, *in silico* et *in vivo* employées pour identifier les composés présentant des caractéristiques d'élimination favorables et un potentiel de toxicité réduit [56].

## Partie II : Matériels et méthodes

### II.1. Introduction

Cette section décrit les **outils, logiciels, bases de données et protocoles méthodologiques** utilisées pour mener à bien cette étude. Elle vise à garantir la **reproductibilité** des résultats obtenus, en précisant les **étapes suivies**, les **paramètres expérimentaux appliqués**, ainsi que les **critères de sélection** des données. L'ensemble du travail repose sur une démarche structurée, combinant des approches **in silico** (modélisation moléculaire, prédiction ADME, etc.) avec des outils informatiques spécialisés.

Chaque méthode a été choisie en fonction de sa pertinence par rapport aux objectifs de l'étude, notamment pour l'analyse des propriétés pharmacocinétiques et la sélection des meilleurs candidats thérapeutiques [57].

### II.2. Dispositifs et Matériels d'Expérimentation utilisés

#### a) Micro-ordinateur

Notre travail a été effectué en utilisant un micro-ordinateur dont les caractéristiques sont rassemblées dans le tableau suivant :

Caractéristiques	Micro-ordinateur
Mémoire (RAM)	8,00 GO
Type de système	Système d'exploitation 64 bits
Processus	Intel(R) Core (TM) i5-8365U CPU @ 1.60 GHz 1,90 GHz
Système D'exploration	Windows 10 professionnel

**Tableau 01** : représentant les caractéristiques de micro-ordinateurs

La réalisation des calculs de docking moléculaire a nécessité l'utilisation d'un ensemble de programmes informatiques, la consultation de plusieurs sites internet et certaines bases et banques de données.

## b) La banque des données

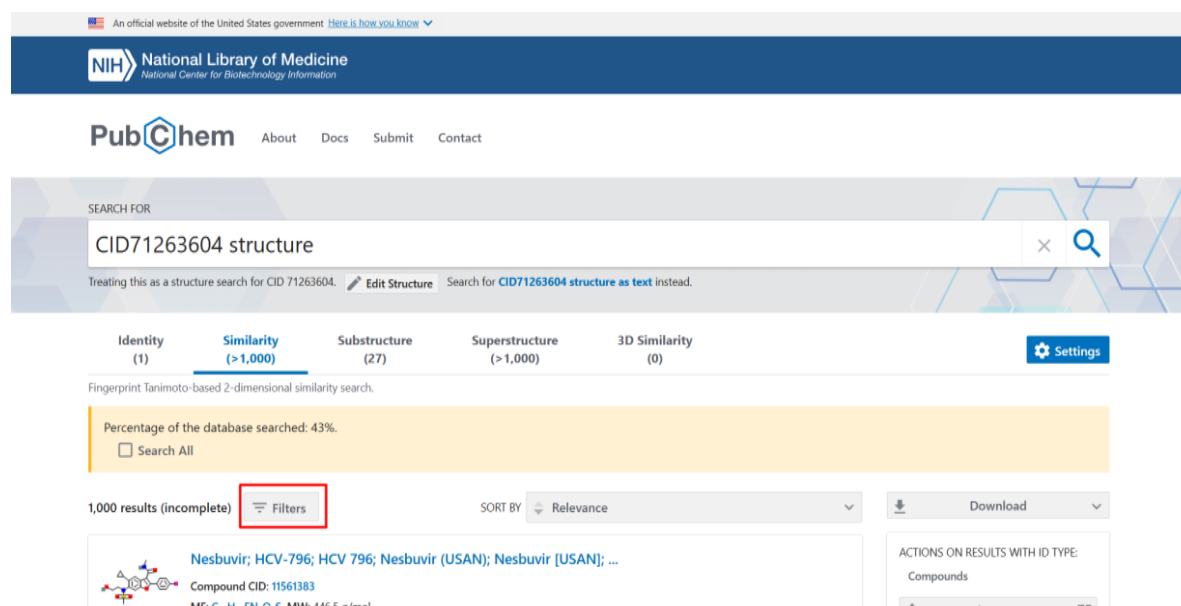
Le réseau internet a été très utile dans notre étude pour l'obtention des complexes protéiques (protéine-ligand), pour la simulation des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de nos inhibiteurs.

- **Proteine Data bank (PDB)**

Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques permettant de consulter et de télécharger gratuitement les structures 3D des protéines biologiques via son site web : <http://www.rcsb.org/pdb/> [58].

- **Pubchem**

Cette chimiothèque a été utilisée pour la recherche et le téléchargement de l'inhibiteur de la NS5B. Les différentes conformations tridimensionnelles des modèles proposés par la PubChem sont téléchargeables sous l'extension .sdf. On peut consulter cette chimiothèque via le lien : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> [59].



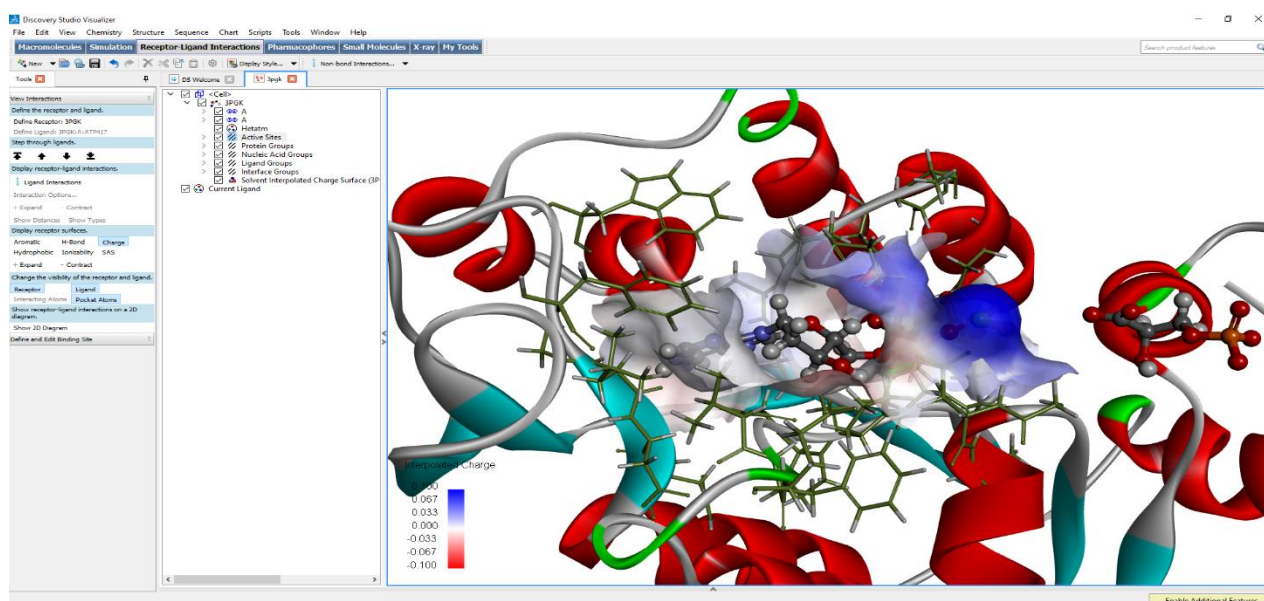
The screenshot displays the PubChem website interface. At the top, there is a navigation bar with the NIH logo and the text 'National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information'. Below this, the PubChem logo is visible along with links for 'About', 'Docs', 'Submit', and 'Contact'. The main search area contains a search bar with the text 'CID71263604 structure'. Below the search bar, there are tabs for 'Identity (1)', 'Similarity (>1,000)', 'Substructure (27)', 'Superstructure (>1,000)', and '3D Similarity (0)'. A 'Settings' button is located to the right of these tabs. Below the tabs, there is a section for 'Fingerprint Tanimoto-based 2-dimensional similarity search' with a yellow background. It shows 'Percentage of the database searched: 43%' and a 'Search All' checkbox. Below this, there is a section for '1,000 results (incomplete)' with a 'Filters' button highlighted by a red box. To the right of the results, there is a 'SORT BY' dropdown menu set to 'Relevance' and a 'Download' button. The results section shows a chemical structure and the text 'Nesbuvir; HCV-796; HCV 796; Nesbuvir (USAN); Nesbuvir [USAN]; ...' and 'Compound CID: 11561383'. To the right of the results, there is a section for 'ACTIONS ON RESULTS WITH ID TYPE' with a dropdown menu set to 'Compounds'.

**Figure 01** : Interface API de base des données pubchem

## c) Les programmes

### Biovia Discovery studio visualizer

Est une suite de programmes fournissant des fonctionnalités pour visualiser et analyser des données biologiques et chimiques. Il a été utilisé pour la visualisation des résultats obtenus, la génération des diagrammes 2D des interactions ligand-cible et la construction des ligands [60].



**Figure 02:** Interface de Biovia Discovery studio visualizer

### Schrödinger maestro 12.5

Le logiciel Schrödinger est une suite intégrée de programmes informatiques utilisée pour la modélisation moléculaire, la chimiométrie, et la découverte de médicaments assistée par ordinateur (CADD). Développé par la société Schrödinger, Inc., ce logiciel comprend plusieurs modules, tels que Maestro (interface graphique), Glide (docking moléculaire), LigPrep (préparation des ligands), QikProp (prévision des propriétés ADME), et Desmond (dynamique moléculaire), permettant l'analyse structurelle et fonctionnelle des molécules en environnement virtuel [61].

## d) Outils Web

### ❖ Serveur ADME/T lab

Est une plate-forme en ligne permettant aux utilisateurs d'effectuer une analyse de druglikeness, la prédiction des points finaux ADMET, l'évaluation systématique et la recherche similarité, ce qui donne une compréhension globale d'un lot de composés et peut réaliser le processus de criblage rapide. On peut consulter ce serveur via le lien :

<http://admet.scbdd.com/> [62].

The screenshot displays the ADMETLab 2.0 interface. The left panel, titled 'Absorption', shows results for MDCK Permeability (3.4e-05), Pgp-inhibitor (---), Pgp-substrate (---), HIA (---), F20% (---), F30% (---), and Distribution (PPB: 61.073%, VD: 2.895, BBB Penetration: ++, Fu: 34.777%). The right panel, titled 'Toxicity', lists various toxicity endpoints such as hERG Blockers, H-HT, DILI, AMES Toxicity, Rat Oral Acute Toxicity, FDAMDD, Skin Sensitization, Carcinogenicity, Eye Corrosion, Eye Irritation, and Respiratory Toxicity, along with Environmental Toxicity (Bioconcentration Factors and IGC<sub>50</sub>).

Absorption			
MDCK Permeability	3.4e-05	●	i
Pgp-inhibitor	---	●	i
Pgp-substrate	---	●	i
HIA	---	●	i
F <sub>20%</sub>	---	●	i
F <sub>30%</sub>	---	●	i
Distribution			
PPB	61.073%	●	i
VD	2.895	●	i
BBB Penetration	++	●	i
Fu	34.777%	●	i

Toxicity			
hERG Blockers	--	●	i
H-HT	-	●	i
DILI	-	●	i
AMES Toxicity	++	●	i
Rat Oral Acute Toxicity	+	●	i
FDAMDD	-	●	i
Skin Sensitization	--	●	i
Carcinogenicity	-	●	i
Eye Corrosion	---	●	i
Eye Irritation	---	●	i
Respiratory Toxicity	++	●	i
Environmental Toxicity			
Bioconcentration Factors	1.273		i
IGC <sub>50</sub>	3.948		i

Figure 03 : Interface de ADME/T LAB

## II.3. Approche Méthodologique

1

### ❖ Préparation de ligand

- \_ Téléchargement des ligands
- \_ Optimisation des ligands grâce au logiciel Schrödinger

2

### ❖ Préparation de protéine

- \_ Télécharger l'enzyme k4s et supprimer les molécules d'eau et autres chaînes
- \_ Détection de la cavité enzymatique (le site actif)

3

### ❖ Docking moléculaire :

- \_ Rechercher la meilleure pose et voir les interactions de la meilleure pose pour le complexe ligand\_K4S

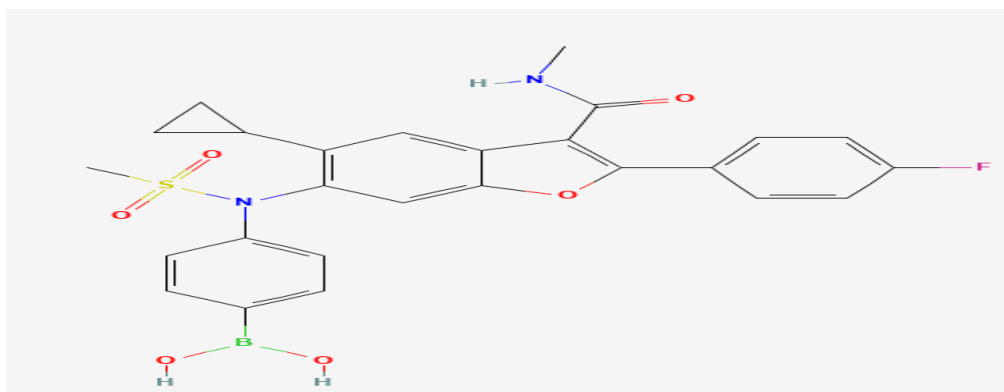
4

### ❖ Prédiction des propriétés moléculaires

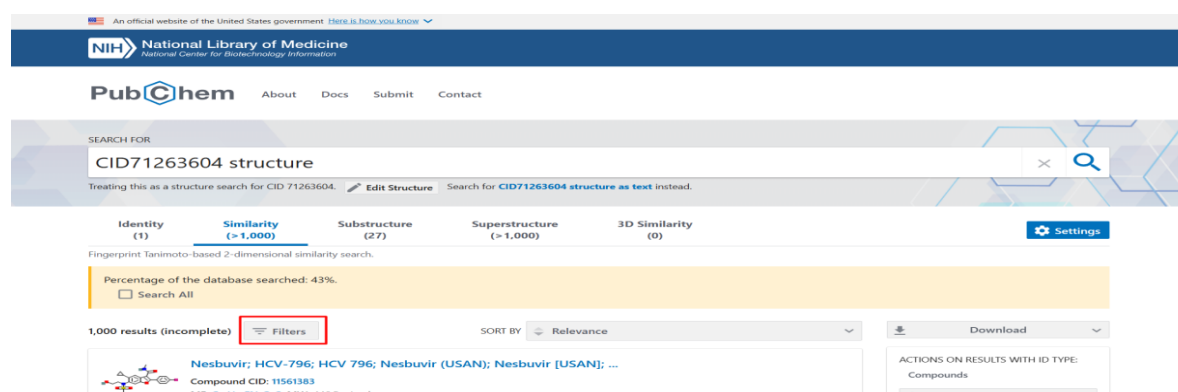
- \_ Application de la règle du lipinski
- \_ Application de la règle du viber
- \_ Application des filtre ADME

## II.3.1 Génération et préparation des ligands

La première étape a consisté à résoudre la structure chimique du K4S -Figure 05-, cette dernière a été obtenue à partir de la base de données moléculaires Pubchem, la structure a été téléchargée sous la forme d'un fichier \*.sdf.



**Figure 04** : structure chimique du K4S à partir de pdb 6MVP.

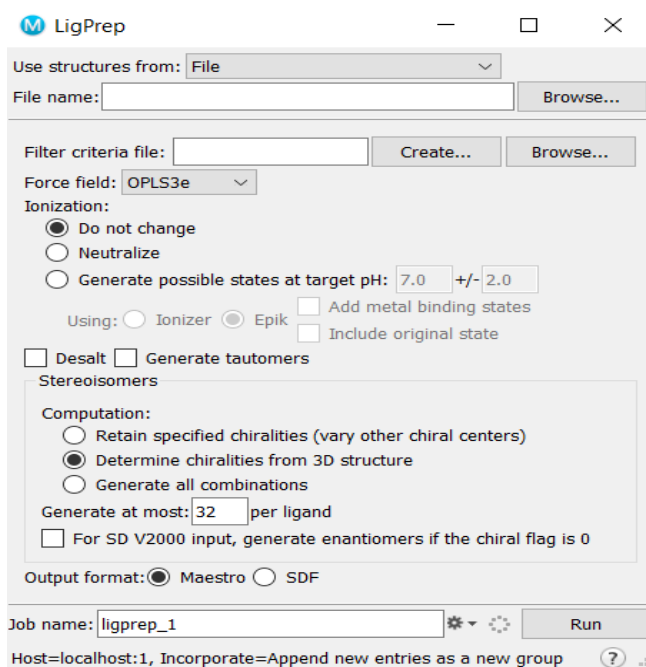


**Figure 05** : Interface API de base des données pubchem

Nous avons débuté notre étude avec un total de 9502 composés, dans le but d'identifier des inhibiteurs potentiels de la polymérase NS5B du virus de l'hépatite C (VHC). Dans un premier temps, une analyse de similarité a été effectuée en appliquant un seuil de 75 %, afin d'éliminer les composés redondants ou trop proches structurellement, tout en conservant une diversité chimique représentative. Par la suite, une étape de filtration a été réalisée en tenant compte de plusieurs critères, notamment les propriétés physico-chimiques (masse moléculaire, logP, nombre de donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène) et les règles de Lipinski, dans le but de sélectionner les candidats les plus prometteurs. Enfin, une évaluation de la complémentarité structurale entre les ligands retenus et le site actif de la protéine NS5B

a été menée, afin d'identifier ceux présentant une forte affinité potentielle sur la base de leur forme, de leur polarité.

Les dérivés acquis ont également été sauvegardés dans un seul fichier \*.sdf. La préparation des ligands a été effectuée à l'aide de l'outil Ligprep - Figure 05- trouvé dans Schrödinger Suite 2020-3 [50] dédiées au processus d'amarrage moléculaire et de criblage virtuel. En conservant les configurations des centres de chiralité dans chaque ligand, l'optimisation des ligands a été déployée sous l'application du champ de force opls3e « Optimized Potentials for Liquid Simulations » avec la génération d'un nombre maximum de 32 conformères par ligand avec aucun change d'état ionique.



**Figure 06** : interface graphique de « Ligprep » de Maestro 12.5 dans Schrödinger suite 2020-3

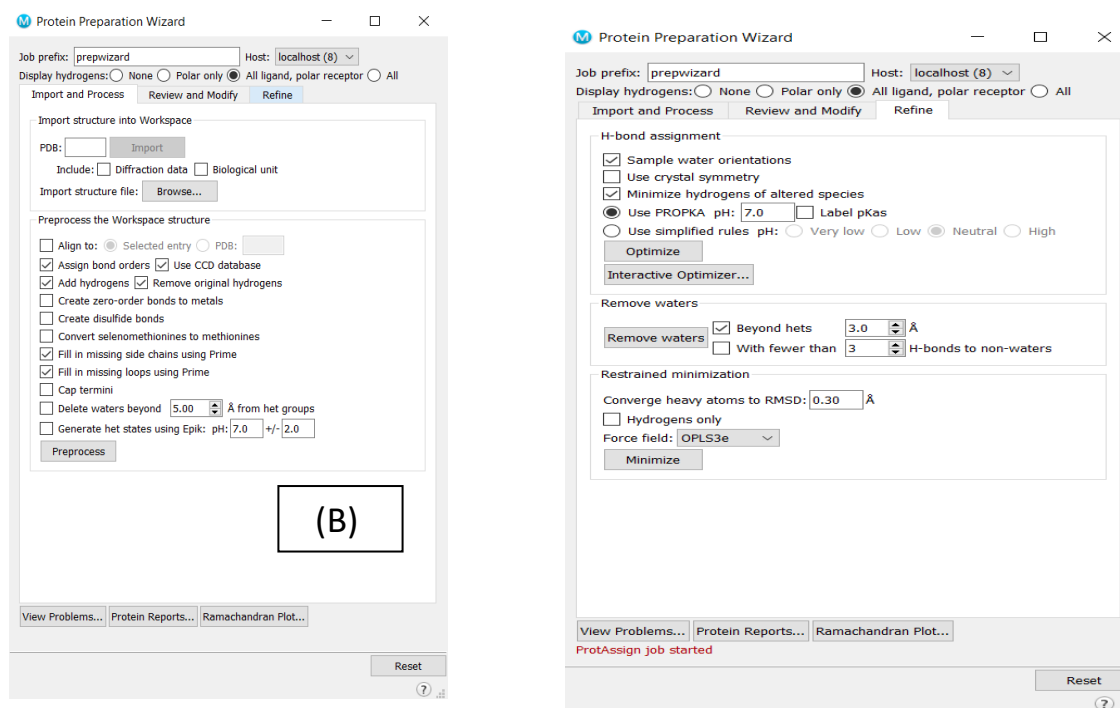
### II.3.2 Préparation de la protéine cible

Une fois le ligand traité et préparé avec succès, la protéine / cible pour l'ancrage moléculaire a été collectée dans la banque de données des protéines avec l'identifiant pdb 6MVP (<https://www.rcsb.org/structure/6MVP>) en tant que structure prédéterminée du VHC NS5B avec une résolution de 2.00 Å par cristallographie aux rayons X. La structure a été importée dans l'interface graphique Maestro 12.5 et nettoyée de tout hétéroatome non pertinent pour la structure de la protéine, comme les molécules d'eau et les ions du solvant par exemple.

Il était essentiel de se référer à la symétrie du fichier pdb utilisé, alors qu'il contient deux chaînes protéiques identiques A et B. Par conséquent, la chaîne-A a été conservée avec son ligand adjacent K4S et le reste a été supprimé. En utilisant l'assistant de préparation des protéines dans Maestro 12.5, les atomes d'hydrogène ont été ajoutés et l'ordre des liaisons a été assigné via l'outil de préparation des protéines, les défauts structuraux ont été corrigés en remplissant les boucles et les chaînes latérales manquantes de la protéine à l'aide de l'outil prime.

Ensuite, l'affinement de la structure de la protéine a été traité selon les étapes suivantes :

1. Affectation des liaisons H avec PROPKA à pH neutre pour optimiser les groupes hydroxyles, Asn, Gln et His via ProtAssign.
2. Minimisation restreinte de la structure de la protéine sous RMSD de 0.3 Å pour la convergence des atomes lourds à l'aide du champ de force OPLS3e.

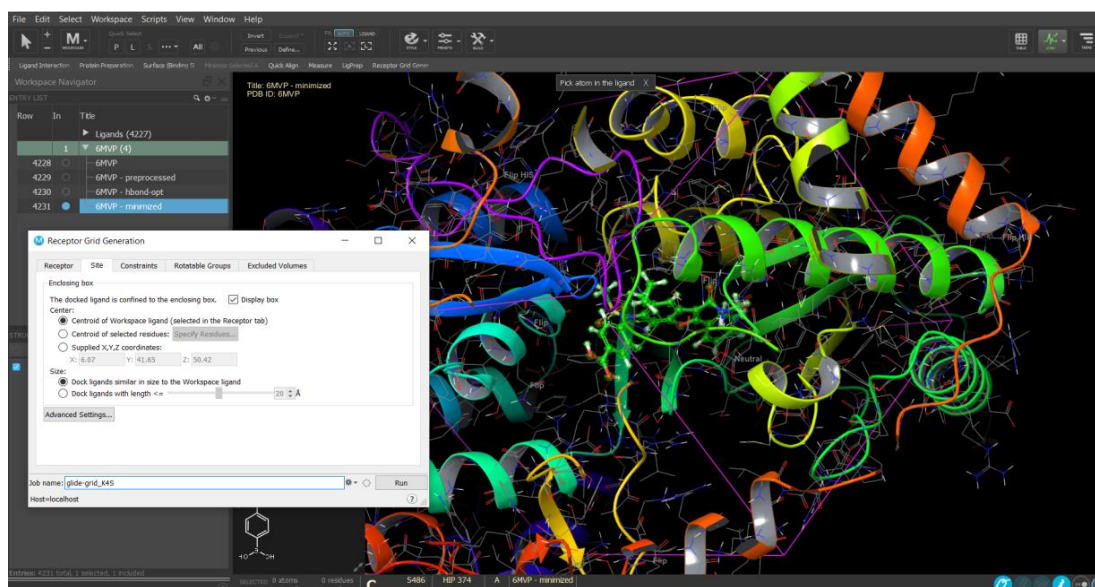


**Figure 07** : les menus principaux utilisés dans la préparation de protéine « Protein preparationwizard » avec les paramètres de préparation, (A) préprocédure structural ; (B) l'affinement de la structure de la protéine.

### II.3.3 Génération de grille et validation systématique « Redocking »

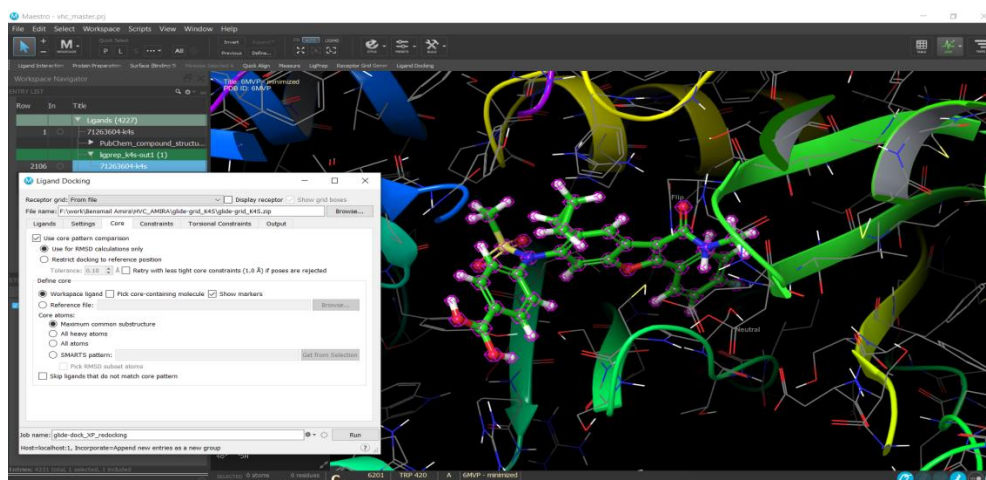
Afin d'initialiser une opération d'ancrage moléculaire, le site de liaison doit être déterminé avec précision. C'est pourquoi une grille a été générée pour décrire l'emplacement et les frontières de l'ancrage moléculaire avec l'outil de génération de grille GLIDE aux coordonnées exactes

du K4S dans le complexe 6MVP-chaîne A (X= 6,07 ; Y= 41,63 ; Z= 50,42) et sur une longueur d'ancrage de 20 Å -Figure 08-.



**Figure 08** : Génération de grille

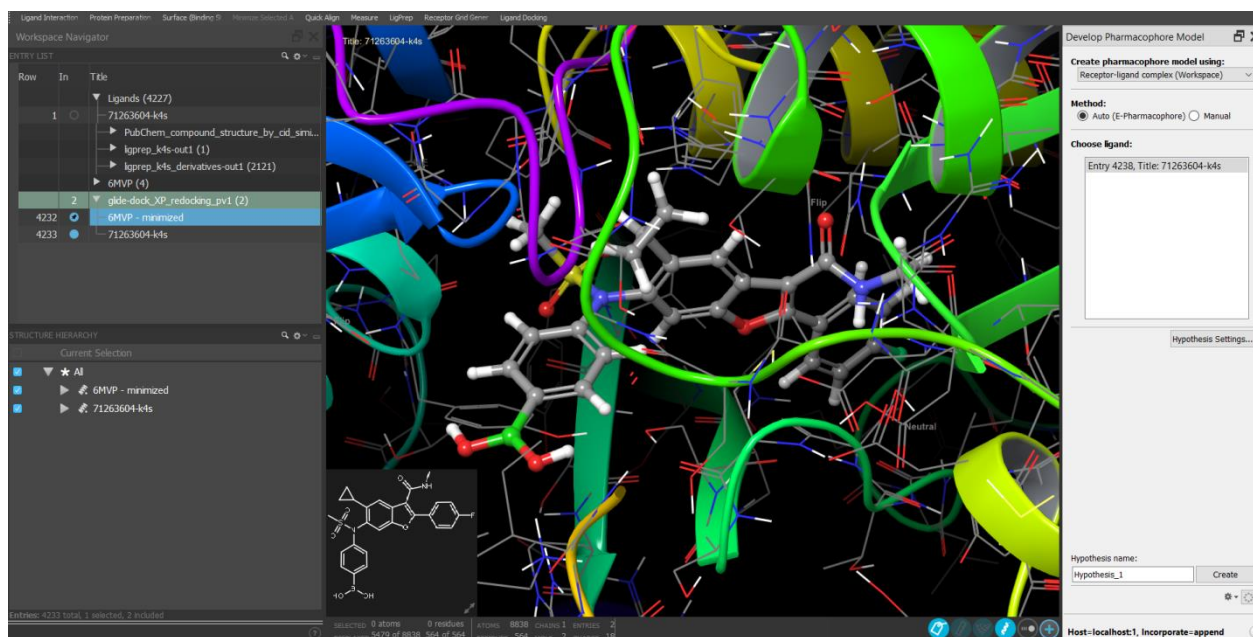
La validation systématique « Redocking » a été réalisée à l'aide de l'outil de docking GLIDEv8.8139 en détectant la boîte à grille pré-générée. En sélectionnant la structure optimisée K4S, un docking glide de précision supplémentaire a été exécuté « GLIDE xp docking », dédié à la sortie du score de docking et à la comparaison des noyaux pour la validation systématique avec l'RMSD, afin d'en faire un véritable processus de « redocking » -Figure 09- sous le champ de force OPLS3e.



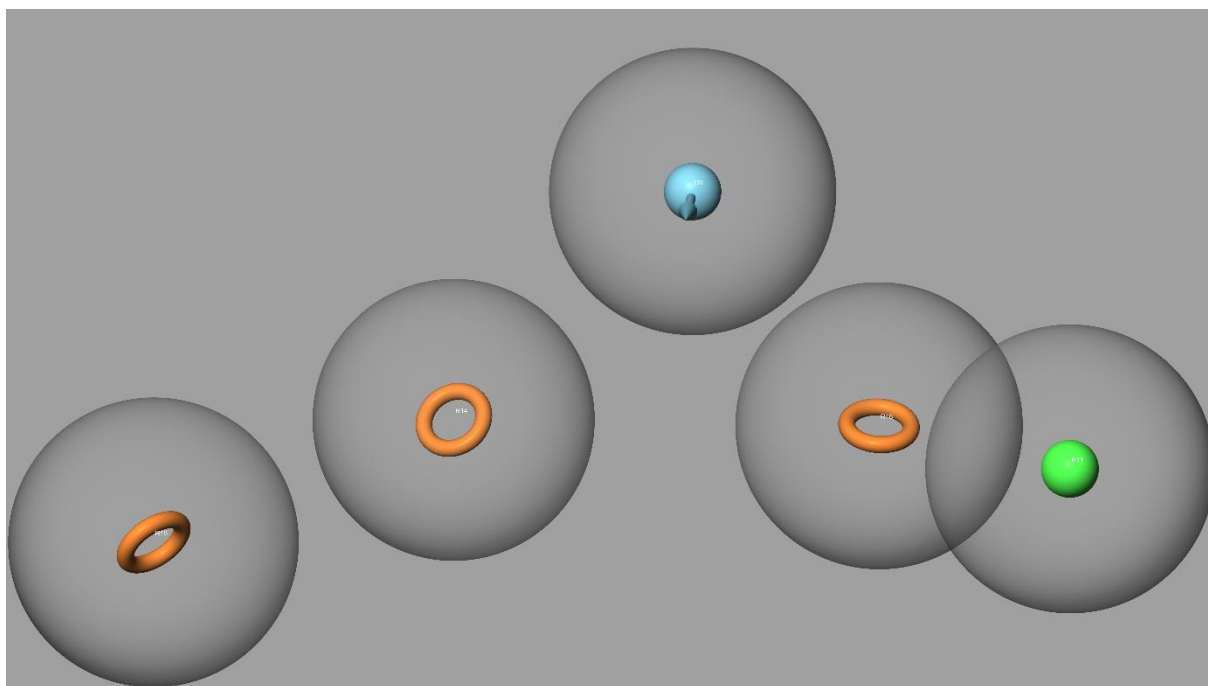
**Figure 9** : Interface « Ligand docking » pour la validation systématique ou bien redocking.

### II.3.4 Modèle e-pharmacophore, criblage virtuel et docking des dérivées moléculaires

Une fois le processus de redocking réussi, le complexe de sortie avec sa pose d'amarrage a été utilisé pour générer un modèle e-pharmacophore (pharmacophore basé sur la structure) en utilisant l'outil de phase -Figure 10- de pharmacophore et d'analyse de criblage fourni dans Maestro 12.5. Un modèle pharmacophore est généralement composé de caractéristiques décrivant le site responsable de l'interaction efficace non liée à l'origine de l'effet biologique/pharmacologique, ces caractéristiques comprennent les caractéristiques : donneur d'hydrogène - accepteur d'hydrogène - anneau - hydrophobe - ionique et métallique. L'ensemble des dérivés optimisés du K4S a ensuite été introduit dans l'interface de criblage de phase -Figure 11- afin d'utiliser le modèle e-pharmacophore pour cribler les ligands avec un critère de match avec 5 caractéristiques du modèle. Finalement, les ligands candidats qui répondaient à un fitness score d'aptitude supérieur à 1,5 ont été arrimés dans les mêmes conditions que celles de la section de redockage, mais sans comparaison des noyaux. Effectuez uniquement un amarrage moléculaire avec une précision standard « GLIDE spdocking » et un autre supplémentaire « GLIDE xpdocking » dans la zone de grille prégénérée.



**Figure 10** : Génération et développement du model pharmacophore à partir de l'outil «PHASE».



**Figure 11** : l'étape de criblage virtuelle en utilisant le model e-pharmacophore avec une match total de 5 caractéristiques.

### **II.3.5 Prédictions des propriétés pharmacocinétiques in-silico**

La mise en œuvre de la pharmacocinétique et de la prédiction de la toxicité est très cruciale pour toute étude de découverte ou de conception de médicaments, tandis que la sécurité de l'administration est évaluée à l'aide des dernières tendances de l'informatique dédiées à cet effet. Pour cette raison, l'API d'intelligence artificielle en ligne ADMETLab 3.0 (<https://admetlab3.scbdd.com/>) a été utilisée pour prédire l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'élimination et le profil de toxicité pour les ligands candidats sélectionnés par le score d'amarrage optimal de Glide XP [51]

## **Bibliographie :**

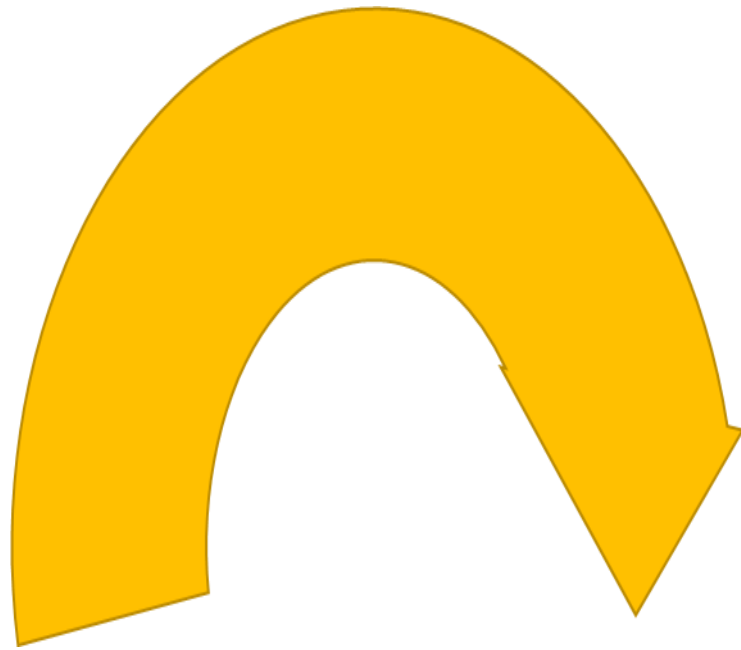
- [1] Hoffer L. Développement et validation du logiciel S4MPLE. Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug Design. thèse de Doctorat : Chémoinformatique. Strasbourg. Université de strasbourg. France.2013.
- [2] Meslamani J. Développement de nouvelles méthodes de criblage in silico en chémogénomique thèse de Doctorat : Chémoinformatique. Strasbourg. Université de strasbourg. France.2012.
- [3] T.D. Warner, J.A.Mitchell, Cyclooxygenase-3 (COX-3) : Filling in the gaps toward a COX continuum , Proc. Natl. Acad. Sci, 99(2002)13371-13373
- [4] J.P.Overington, B. Al-lazikani, A. L.Hopkins, How many drug targets are there ,Nat. Rev. Drug Discov, 5(2006)993-996.
- [5] W.P.Walters, M.T.Stahl, M.A.Murcko, Drug Discov. Today, 3(1998)160-178.
- [6] Y.Tanrikulu, B. Kruger, E. Proschak, 18(2013)358-364.
- [7] K-P. Schulz, Concepts and application of Molecular Similarity, Berichte der Bunsengesellschaft für Phys. Chemie , 96(1992)1087.
- [8] P.C.D.Hawkins, A.G.Skillman, A.Nicholls, Comparison of Shape-Matching and Docking as virtual screening Tools, J.Med.Chem 50(2007).
- [9] B. S. Cummings, Biochem. Pharmacol, 74(2007) 949-959.
- [10] D. J. Diller, R. Li, J Med Chem, 46(2003)4638-4647
- [11]: Yang Y., Chakravorty D.K., Merz K.M., 2010.- Finding a needle in the haystack: computational modeling of Mg<sup>2+</sup> binding in the active site of protein farnesyltransferase. biochemistry, 49: 9658-9666
- [12] E. Lionta, G. Spyrou, D. K Vassilatis, Z. Cournia, Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances, Current Topics in Medicinal Chemistry 14 (2014) 1923–1938.
- [13] N.K. Salam, R. Nuti, W. Sherman, Novel method for generating structure-based pharmacophores using energetic analysis, Journal of Chemical Information and Modeling 49 (2009) 2356–2368.

- [14] K. Loving, N.K. Salam, W. Sherman, Energetic analysis of fragment docking and application to structure-based pharmacophore hypothesis generation, *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 23 (2009) 541–554.
- [15] J. Sutter, J. Li, A. J. Maynard, A. Goupil, T. Luu, K. Nadassy, New features that improve the pharmacophore tools from Accelrys, *Current Computer-Aided Drug Design* 7 (2011) 173–180.
- [16] D.B. Kitchen, H. Decornez, J.R. Furr, J. Bajorath, Docking and scoring in virtual screening for drug discovery :methods and applications, *Nature Reviews Drug Discovery* 3 (2004) 935–949.
- [17] G.M. Keating, A. Vaidya, Sofosbuvir: first global approval, *Drugs* 74 (2014) 273–282.
- [18]: Lecha.R. molecular modelling: Principles and application. pearson education canada. 2001.582. 10-6p.
- [19] : El Hadji Said K. , Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. thèse de master d'université de tlemcen faculté des sciences département de chimie. tlemcen. algérie. 2016. 50P
- [20] : Antoine.F., Techniques de modélisation moléculaire appliquées à l'étude et à l'optimisation de molécules immunogènes et de modulateurs de la chimiorésistance. thèse de doctorat, université joseph fourier - grenoble I, 2006.
- [21] : Grosdidier A. , Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. thèse de doctorat en pharmacie. grenoble: université joseph fourier. France. 2007. 90 p.
- [22] Ayachi H. Compréhension Du Mécanisme Enzyme-substrat Par Modélisation Moléculaire. thèse de Doctorat : Chimie. Telemcen: Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. Algérie. 2017.
- [23] : Demachy I., Piquemal J.P., 2014.- La surface d'énergie potentielle vue par les champs de forces. *actualité chimique*, 388(389) : 37-42.
- [24] : Veselovsqy A.V., Ivanov Y.D., Ivanv A.S., Archakov A.I., Lewi P., Janssen P., 2002.- "Protein-protein interactions : mechanisms and modification by drugs". *pub. med.*, 15(6) : 405-22.

- [26] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings 1 PII of original article: S0169-409X(96)00423-1. The article was originally published in *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (1997) 3–25. 1, *Advanced Drug Delivery Reviews* 46 (2001) 3–26. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0).
- [27] D.F. Veber, S.R. Johnson, H.-Y. Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward, K.D. Kopple, Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates, *J. Med. Chem.* 45 (2002) 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.
- [28] C.A. Lipinski, Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution, *Drug Discovery Today: Technologies* 1 (2004) 337–341.
- [29] Veber D F. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2002; 45(12) :2615-2623.
- [30] K. Ernstmeier, E. Christman, *Nursing Pharmacology* [Internet], (2023).
- [31] J. Caldwell, I. Gardner, N. Swales, *An Introduction to Drug Disposition: The Basic Principles of Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion*, *Toxicol Pathol* 23 (1995) 102–114. <https://doi.org/10.1177/019262339502300202>.
- [32] M. Rowland, T.N. Tozer, *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, (2010).
- [33] M.R. Prausnitz, R. Langer, *Transdermal drug delivery*, *Nature Biotechnology* 26 (2008) 1261–1268.
- [34] J.S. Patton, P.R. Byron, *Inhaling medicines: delivering drugs to the body through the lungs*, *Nature Reviews Drug Discovery* 6 (2007) 67–74.
- [35] L.Z. Benet, D. Kroetz, L. Sheiner, J. Hardman, L. Limbird, *Pharmacokinetics: the dynamics of drug absorption, distribution, metabolism, and elimination*, *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics* 3 (1996) e27.
- [36] D.A. Smith, L. Di, E.H. Kerns, *The effect of plasma protein binding on in vivo efficacy: misconceptions in drug discovery*, *Nature Reviews Drug Discovery* 9 (2010) 929–939.

- [37] M. Hammarlund-Udenaes, M. Fridén, S. Syvänen, A. Gupta, On the rate and extent of drugdelivery to the brain, *Pharmaceutical Research* 25 (2008) 1737–1750.
- [38] Membrane transporters in drugdevelopment, *Nature Reviews Drug Discovery* 9 (2010) 215–236.
- [39] S. Schmidt, D. Gonzalez, H. Derendorf, Significance of protein binding in pharmacokinetics and pharmacodynamics, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 99 (2010) 1107–1122.
- [40] B. Testa, S.D. Krämer, The biochemistry of drugmetabolism—an introduction: part 1. principles and overview, *Chemistry & Biodiversity* 3 (2006) 1053–1101.
- [41] F.P. Guengerich, Cytochrome p450 and chemicaltoxicology, *Chemical Research in Toxicology* 21 (2008) 70–83.
- [42] C. Ioannides, Up-regulation of cytochrome P450 and phase II enzymes by xenobiotics in precision-cut tissue slices, *Xenobiotica* 43 (2013) 15–28.
- [43] U.M. Zanger, M. Schwab, Cytochrome P450 enzymes in drugmetabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation, *Pharmacology & Therapeutics* 138 (2013) 103–141.
- [44] P. Jancova, P. Anzenbacher, E. Anzenbacherova, Phase II drugmetabolizing enzymes, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 154 (2010) 103–116.
- [45] H. Xiong, H. Suzuki, Y. Sugiyama, P.J. Meier, G.M. Pollack, K.L. Brouwer, Mechanisms of impaired biliary excretion of acetaminophen glucuronide after acute phenobarbital treatment or phenobarbital pretreatment, *Drug Metabolism and Disposition* 30 (2002) 962–969.
- [46] V. Launay-Vacher, H. Izzedine, S. Karie, J.S. Hulot, A. Baumelou, G. Deray, Renal tubular drug transporters, *Nephron Physiology* 103 (2006) p97–p106.
- [47] M.J. Zamek-Gliszczynski, X. Chu, J.W. Polli, M.F. Paine, A. Galetin, Understanding the transport properties of metabolites: case studies and considerations for drugdevelopment, *Drug Metabolism and Disposition* 42 (2014) 650–664.
- [48] Z. Mazerska, A. Mróz, M. Pawłowska, E. Augustin, The role of glucuronidation in drug resistance, *Pharmacology & Therapeutics* 159 (2016) 35–55.

- [49] K. Köck, K. Brouwer, A perspective on efflux transport proteins in the liver, *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 92 (2012) 599–612.
- [50] L.Z. Benet, Clearance (née Rowland) concepts: a down date and an update, *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* 37 (2010) 529–539.
- [51] J.J. Hornberg, M. Laursen, N. Brenden, M. Persson, A.V. Thougard, D.B. Toft, T. Mow, Exploratory toxicology as an integrated part of drug discovery. Part I: Why and how, *Drug Discovery Today* 19 (2014) 1131–1136.
- [52] H. Olson, G. Betton, D. Robinson, K. Thomas, A. Monroe, G. Kolaja, P. Lilly, J. Sanders, G. Sipes, W. Bracken, Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 32 (2000) 56–67.
- [53] N. Kaplowitz, Idiosyncratic drug hepatotoxicity, *Nature Reviews Drug Discovery* 4 (2005) 489–499.
- [54] R.A. Thompson, E.M. Isin, Y. Li, L. Weidolf, K. Page, I. Wilson, S. Swallow, B. Middleton, S. Stahl, A.J. Foster, In vitro approach to assess the potential for risk of idiosyncratic adverse reactions caused by candidate drugs, *Chemical Research in Toxicology* 25 (2012) 1616–1632.
- [55] L.C. Wienkers, T.G. Heath, Predicting in vivo drug interactions from in vitro drug discovery data, *Nature Reviews Drug Discovery* 4 (2005) 825–833.
- [56] J.P. Hughes, S. Rees, S.B. Kalindjian, K.L. Philpott, Principles of early drug discovery, *British Journal of Pharmacology* 162 (2011) 1239–1249.
- [57] **Miller, E. B., et al. (2024).** Enabling structure-based drug discovery utilizing predicted models. *Cell*, 187(3), 521–525. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.07.015>
- [58]. RCSB PDB : Homepage [En ligne] <http://www.rcsb.org/>.
- [59]. PubChem [En ligne] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.
- [60]. Discovery Studio Visualizer – weizmann institute of science. [En ligne] <http://bip.weizmann.ac.il/toolbox/structure/ds.htm>.
- [61]. Friesner, R. A., et al. (2004). Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(7), 1739–1749. <https://doi.org/10.1021/jm0306430>
- [62]. Home-ADMETlab : ADMET Prédiction/ADMET Predictor/QSAR/ADMET Database. [En ligne] <http://admet.scbdd.com/>. Consulté le [25/06/2021]



### **Chapitre III: Résultats et discussion**



## 1. Introduction

Cette section présente et analyse les résultats obtenus à la suite des simulations de docking moléculaire entre la polymérase NS5B du virus de l'hépatite C (VHC) et divers inhibiteurs candidats. L'objectif principal est d'évaluer le potentiel inhibiteur de ces composés en estimant leur affinité de liaison avec la cible virale.

## 2. Résultats et discussion

### 2.1 Résultats de docking moléculaire

#### 2.2.1 Discussion les résultats de docking moléculaire

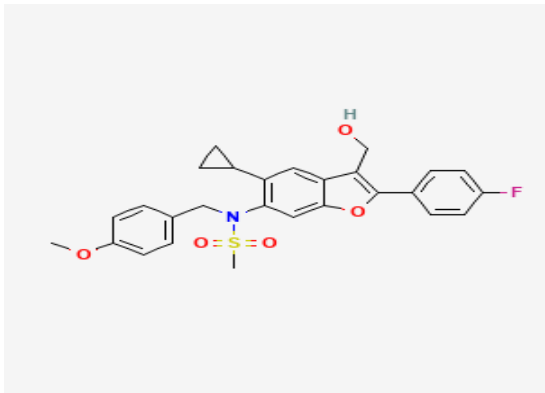
Le docking moléculaire est une méthode informatique largement utilisée pour prédire l'interaction entre une molécule cible (généralement une protéine) et une ou plusieurs petites molécules (ligands).

Dans le cadre de cette étude, des simulations de docking moléculaire ont été réalisées à l'aide de la suite logicielle Schrödinger, et plus particulièrement du module Glide, reconnu pour sa précision dans la prédiction des interactions ligand-récepteur.

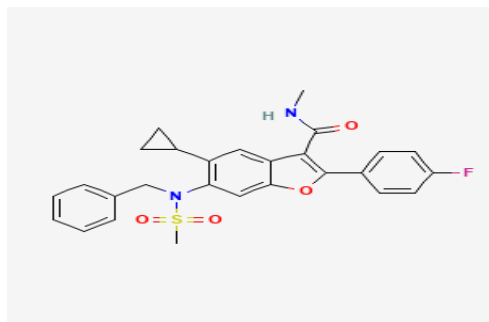
Cette approche permet de modéliser et d'évaluer la capacité de différents ligands à se lier au site actif de la protéine cible, en estimant leur affinité de liaison via des scores de docking.

L'objectif principal de ces simulations est d'identifier les composés présentant le meilleur profil d'interaction, tant en termes d'énergie de liaison. Les résultats obtenus fournissent ainsi des éléments clés pour la sélection de candidats potentiels en vue d'une optimisation future ou d'une validation expérimentale.

Nous avons exposé les résultats des scores de docking XP à l'aide du logiciel Schrödinger.

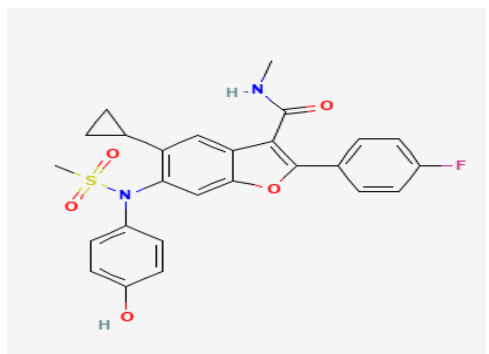
Ligands	Structure	Xp Docking score (kcal/mol)
L1	 The chemical structure of ligand L1 is a complex organic molecule. It features a central benzimidazole ring system. One of the benzimidazole nitrogens is substituted with a propyl chain, which is further substituted with a 4-methoxyphenyl group. The other benzimidazole nitrogen is substituted with a methyl group and a sulfonyl group (SO2). The benzimidazole ring is also substituted with a cyclopropyl group and a hydroxymethyl group. The benzimidazole ring is further substituted with a 4-fluorophenyl group.	-10.792

L2



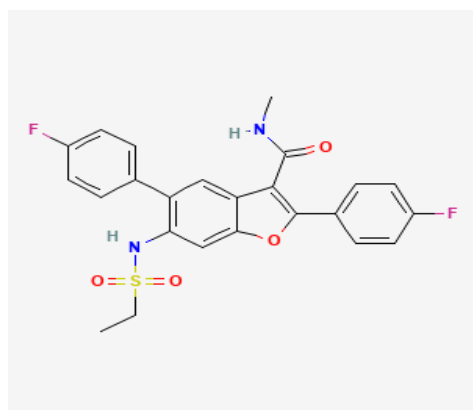
-10.012

L3



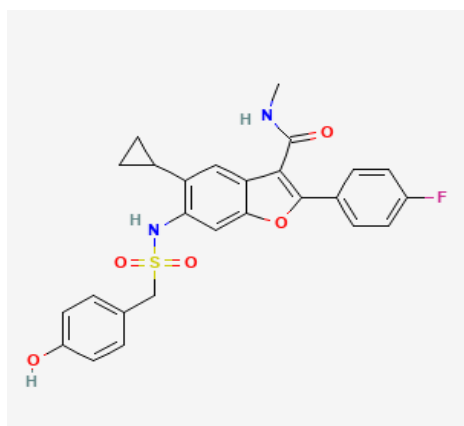
-9.562

L4

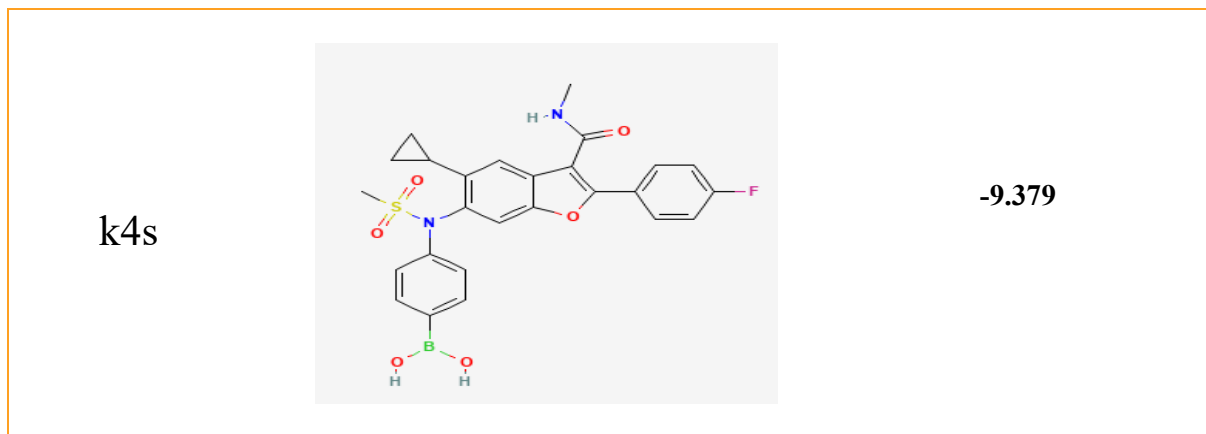


-9.536

L5



-9.483



**Tableau 01 : Résultats de l'ancrage moléculaire pour les molécules sélectionnées**

Le ligand de référence, utilisé comme point de comparaison dans cette étude, présente un **XP docking score de  $-9,379$  kcal/mol**. Ce score traduit une bonne affinité de liaison reflétant son efficacité connue comme inhibiteur.

Tous les ligands testés présentent des XP docking scores plus négatifs que celui du ligand de référence, ce qui suggère une affinité de liaison potentiellement plus forte avec la polymérase NS5B.

Le ligand 1, avec un score de  $-10,792$  kcal/mol, se distingue comme le meilleur candidat, indiquant une interaction très favorable avec le site actif.

Le ligand 2 affiche également un très bon potentiel inhibiteur  $-10,012$  kcal/mol, proche du premier.

Les ligands 3, 4 et 5, bien que présentant des scores légèrement supérieurs à celui de la référence, restent très proches en termes d'affinité, ce qui les positionne comme des alternatives intéressantes.

Ces résultats suggèrent que les cinq ligands étudiés pourraient être des candidats potentiellement plus efficaces que le ligand de référence pour inhiber la NS5B, à condition de confirmer leur stabilité et efficacité par des approches complémentaires.

Complexe (Ligand- protéine)	Les liaisons hydrogènes		Liaisons hydrophobiques		Les liaisons halogènes	
	Résidu	Distance	Résidu	Distance	Résidu	Distance
<b>L1- protéine</b>	A:ARG20	2,14963	A:TYR448	5,62123	A:LEU360	3,34014
	A:ASN316	2,05367	A:CYS366	4,89539	A:ILE363	3,59447
	A:TYR448	2,17672	A:PHE193	4,73532		
			A:TYR448	4,63574		
	A:SER365	2,33384	A:CYS366	3,9132		
	A:ASN316	2,91133	A:LEU384	5,19		
	A:GLN446	2,41379	A:MET414	5,33276		
	A:GLN446	2,62665	A:LEU204	4,79547		
			A:VAL321	4,74805		
<b>L2- protéine</b>	A:ARG20	2,20113	A:CYS366	5,04651	A:LEU360	3,3517
	A:ARG20	2,68452	A:LEU314	4,6939	A:ILE363	3,59828
	A:SER365	2,33304	A:VAL321	4,24913		
	A:SER368	2,82971	A:PHE193	5,01538		
	A:SER365	2,82612	A:TYR448	4,33879		
	A:LEU314	2,6089	A:CYS366	3,95388		
	A:LEU314	2,73625	A:LEU384	5,09157		
			A:CYS366	3,54596		
			A:MET414	5,05364		
		A:LEU204	4,78665			
		A:VAL321	4,76656			
	A:ARG20	2,26377	A:LEU314	4,65283	A:LEU360	3,48895
			A:VAL321	4,24841	A:ILE363	3,43711
	A:ARG20	2,48146	A:PHE193	5,28553		
	A:PRO197	2,86626	A:TYR448	4,30014		

<b>L3-protéine</b>	A:SER368	2,64353	A:CYS366	3,8212		
	A:SER365	2,91872	A:LEU384	5,03671		
	A:LEU314	2,96102	A:CYS366	3,72579		
	A:LEU314	2,64942	A:LEU384	5,43549		
			A:LEU204	4,93025		
			A:VAL321	4,86356		
<b>L4-protéine</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>
	A:ARG200	2,94641	A:VAL321	2,90229	A:LEU360	3,69255
	A:TYR448	2,32045	A:TYR448	4,86712		
	A:SER365	2,55825	A:VAL321	4,06492		
	A:LEU314	2,53556	A:CYS366	4,17567		
	A:LEU314	2,96221	A:LEU384	5,03903		
			A:CYS366	3,57164		
			A:LEU384	5,13558		
			A:CYS366	4,50858		
			A:LEU204	4,58121		
		A:ILE363	5,24219			
<b>L5-protéine</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>
	A:ASN316	2,0921	A:CYS366	4,46196	A:LEU360	3,00711
			A:LEU314	4,5086	A:ILE363	3,45624
	A:SER365	2,77011	A:PHE193	4,99358		
	A:LEU314	2,20083	A:TYR448	4,92719		
			A:CYS366	4,03212		
			A:LEU384	5,2452		
			A:CYS366	3,68076		
		A:LEU204	4,76299			
		A:VAL321	4,84037			
	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>	<b>Résidu</b>	<b>Distance</b>
	A:ARG200	2,48074	A:LEU314	4,64472	A:ILE363	3,4607
	A:SER368	2,6339	A:VAL321	4,28803		
		A:PHE193	5,32194			

<b>K4S-protéine</b>	A:LEU314	2,78139	A:TYR448	4,23515
	A:LEU314	2,80739	A:CYS366	3,81911
			A:LEU384	5,04106
			A:CYS366	3,7039
			A:LEU384	5,41306
			A:LEU204	4,91183
			A:VAL321	4,84495

**Tableau 02 : Résultats des interactions**

➤ **Etude des interactions protéine-L1**

Le ligand forme un total de **7 liaisons hydrogène** avec la protéine NS5B, impliquant notamment les résidus répétés ASN316 (à 2,05 Å et 2,91 Å) et GLN446 (à 2,41 Å et 2,63 Å), ainsi que ARG200 (2,15 Å), TYR448 (2,18 Å) et SER365 (2,33 Å). Ces multiples liaisons sur un même résidu s'expliquent par l'interaction avec différents atomes du ligand avec les résidus protéiques. Le ligand établit aussi **2 interactions halogènes** avec LEU360 (3,34 Å) et ILE363 (3,59 Å). Par ailleurs, **8 interactions hydrophobes** stabilisent la liaison, dont plusieurs contacts répétés avec TYR448 (4,64 Å et 5,62 Å) et CYS366 (3,91 Å et 4,90 Å). Cette diversité d'interactions, polaires et hydrophobes, souligne une forte affinité et complémentarité du ligand avec le site actif de NS5B.

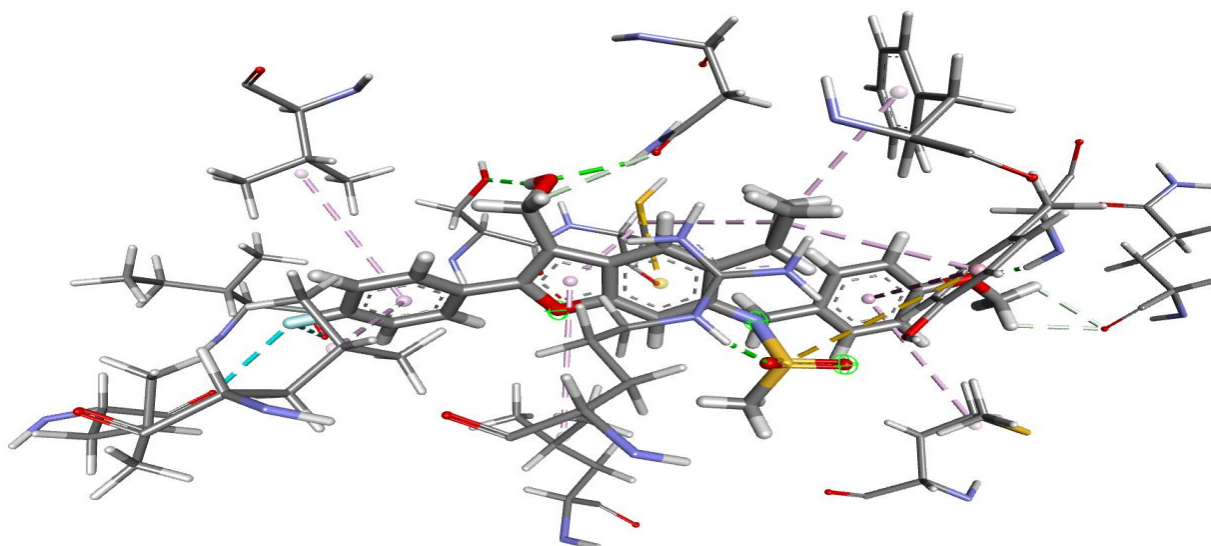


Figure 01 : Interactions entre protéine-L1 (structure 3D)

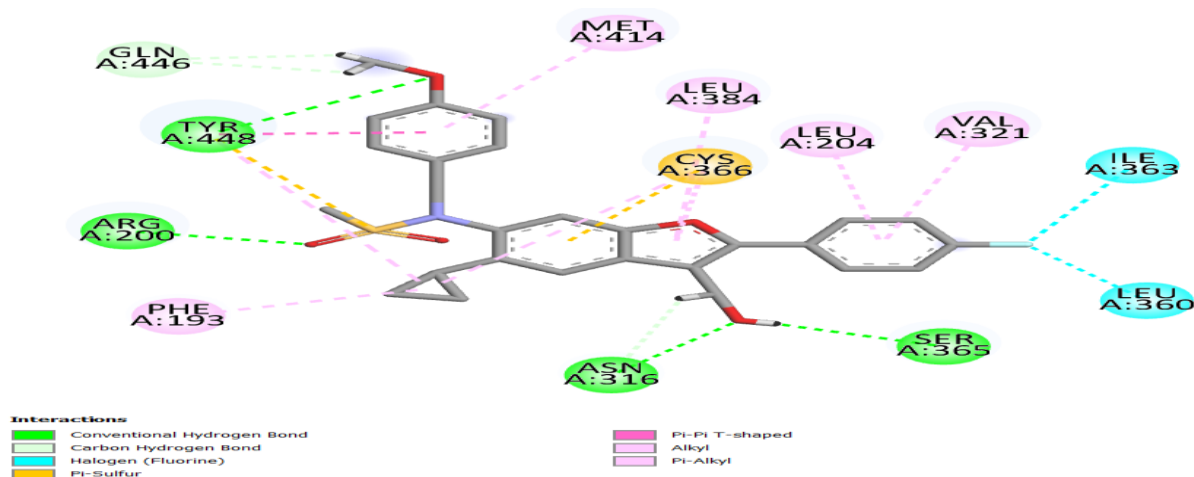
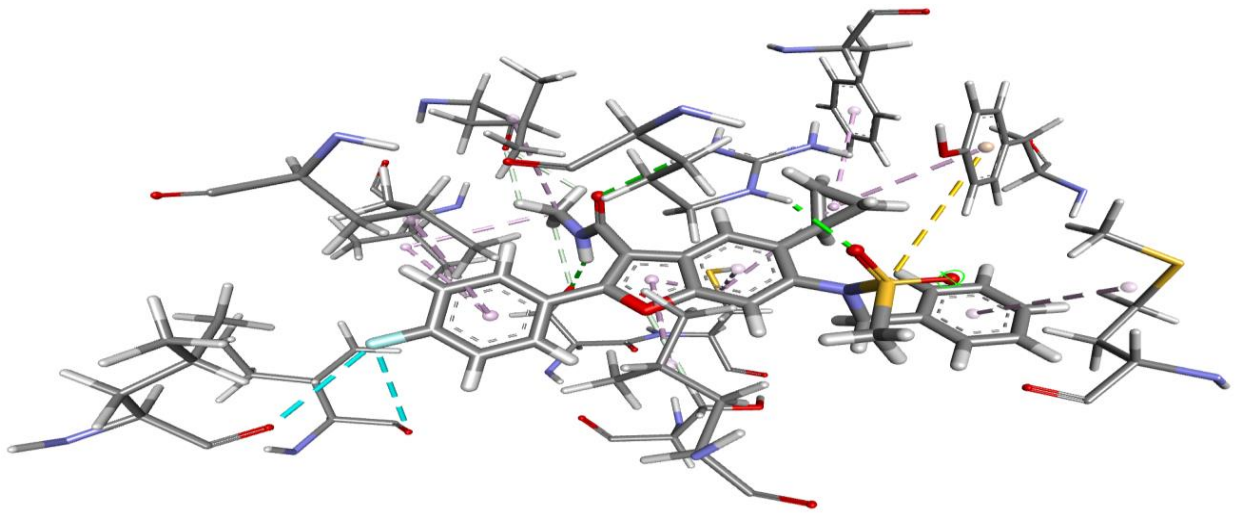


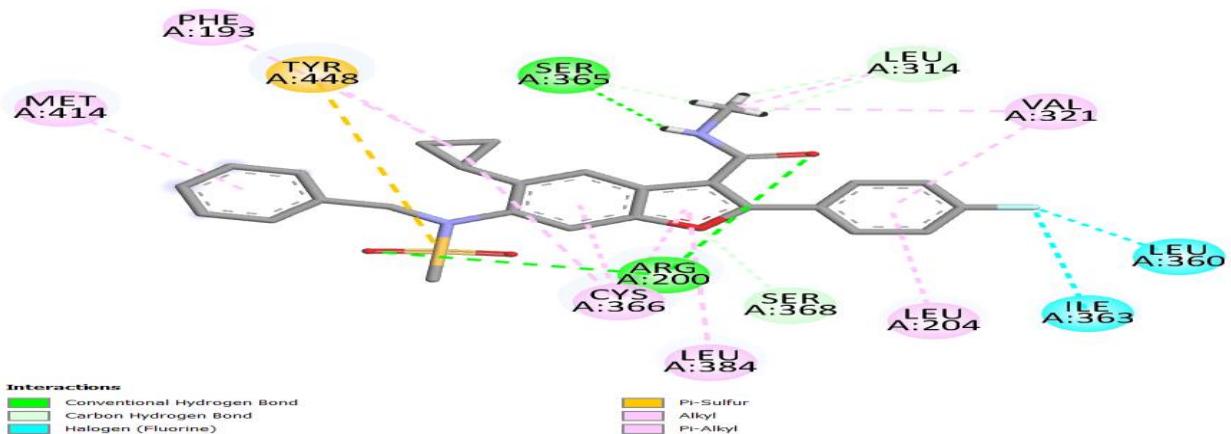
Figure 02 : Interactions entre protéine-L1 (structure 2D)

### ➤ Etude des interactions protéine-L2

Le ligand établit **7 liaisons hydrogène** avec la protéine NS5B, impliquant notamment les résidus ARG200 (à 2,20 Å et 2,68 Å), SER365 (à 2,33 Å et 2,83 Å) et LEU314 (à 2,61 Å et 2,74 Å), ainsi que SER368 (2,83 Å). La présence de plusieurs distances pour un même résidu reflète des interactions avec différents atomes du ligand ou du résidu protéique. En plus, **deux liaisons halogènes** sont observées avec LEU360 (3,35 Å) et ILE363 (3,60 Å). Par ailleurs, le ligand bénéficie d'une série **d'interactions hydrophobes, au nombre de 10**, incluant des contacts répétés avec CYS366 (à 3,55 Å, 3,95 Å et 5,05 Å) et VAL321 (4,25 Å et 4,77 Å). Cette multiplicité d'interactions hydrophobes et polaires renforce la stabilité et l'affinité du ligand dans le site actif de NS5B.



**Figure 03 : Interactions entre protéine-L2 (structure 3D)**



**Figure 04 : Interactions entre protéine-L2 (structure 2D)**

### ➤ Etude des interactions protéine-L3

Le ligand forme **7 liaisons hydrogène** avec la protéine NS5B, incluant des interactions multiples avec ARG200 (2,26 Å et 2,48 Å) et LEU314 (2,65 Å et 2,96 Å), ainsi que des contacts avec PRO197 (2,87 Å), SER368 (2,64 Å) et SER365 (2,92 Å). De plus, **deux liaisons halogènes** sont présentes avec LEU360 (3,49 Å) et ILE363 (3,44 Å). Enfin, le ligand est stabilisé par une série d'interactions **hydrophobes au nombre de 10**, avec notamment des contacts répétés sur CYS366 (3,73 Å et 3,82 Å), LEU384 (5,04 Å et 5,44 Å) et VAL321 (4,25 Å et 4,86 Å).

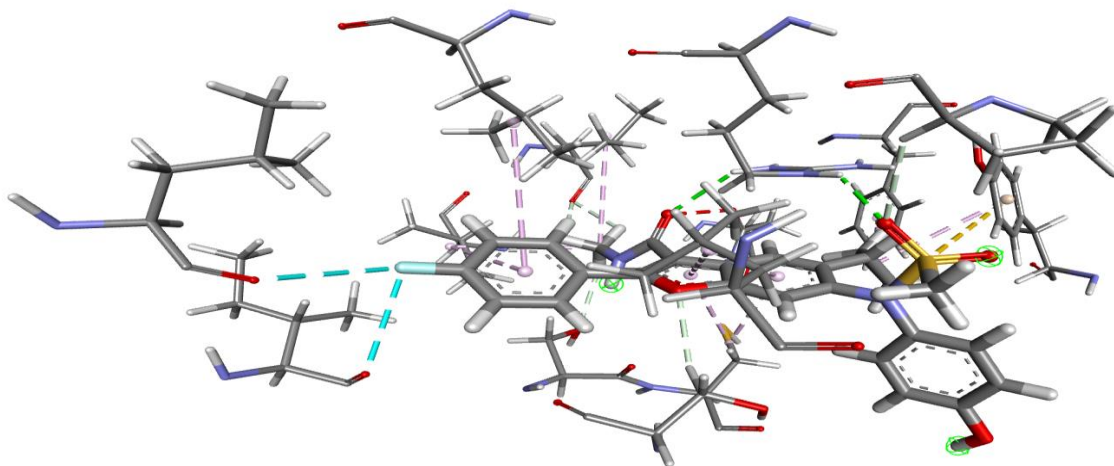


Figure 05 : Interactions entre protéine-L3 (structure 3D)

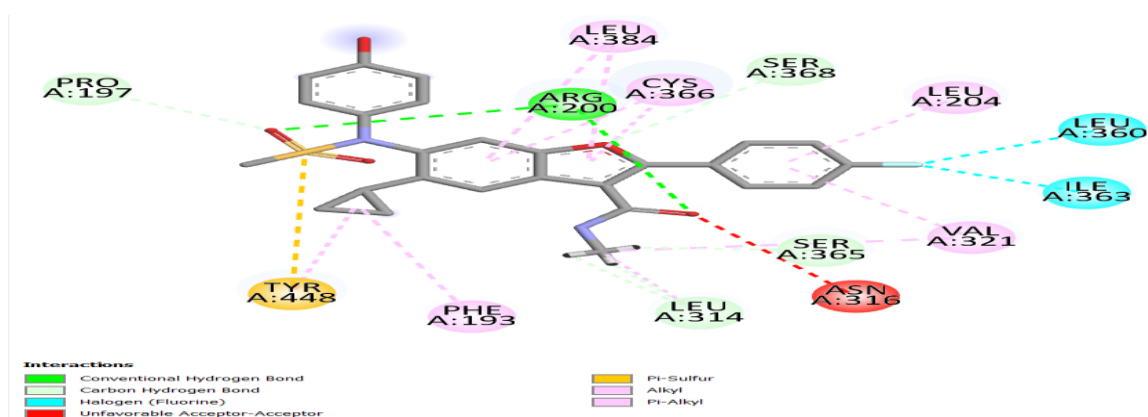


Figure 06 : Interactions entre protéine-L3 (structure 2D)

### ➤ Etude des interactions protéine-L4

Le ligand forme **5 liaisons hydrogène** avec la protéine NS5B, incluant deux interactions avec LEU314 (à 2,54 Å et 2,96 Å) ainsi que des contacts avec ARG200 (2,95 Å), TYR448 (2,32 Å) et SER365 (2,56 Å). Ces différentes distances pour LEU314 reflètent des interactions avec des atomes distincts du ligand ou du résidu protéique. Le ligand présente également **une liaison halogène** avec LEU360 (3,69 Å). Par ailleurs, une série **d'interactions hydrophobes, au nombre de 10**, contribue à la stabilité du complexe, notamment via des contacts répétés avec CYS366 (3,57 Å, 4,18 Å et 4,51 Å), LEU384 (5,04 Å et 5,14 Å) et VAL321 (2,90 Å et 4,06 Å). Cette diversité d'interactions hydrogène, halogène et hydrophobe indique une forte affinité et une bonne complémentarité du ligand avec le site actif de NS5B

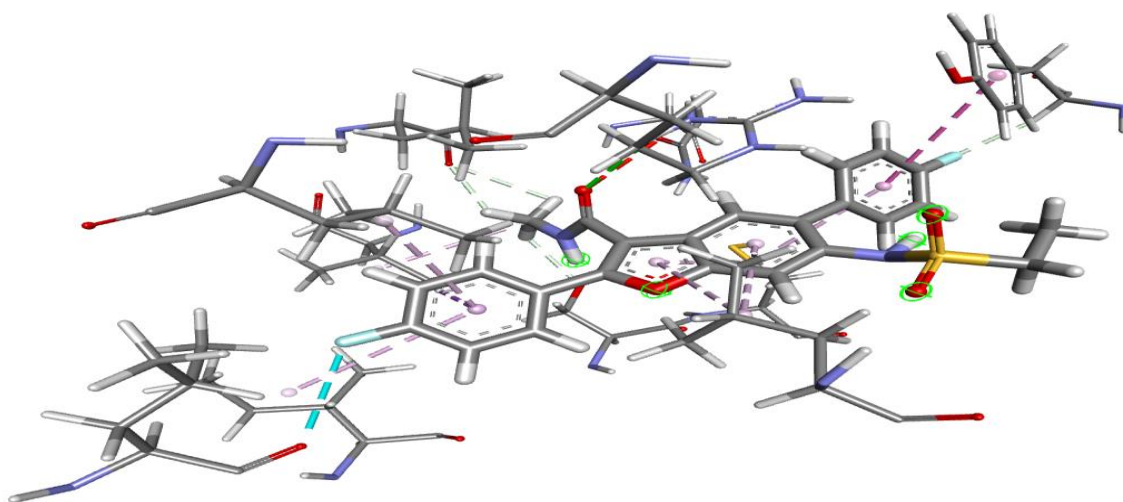


Figure 07 : Interactions entre protéine-L4 (structure 3D)

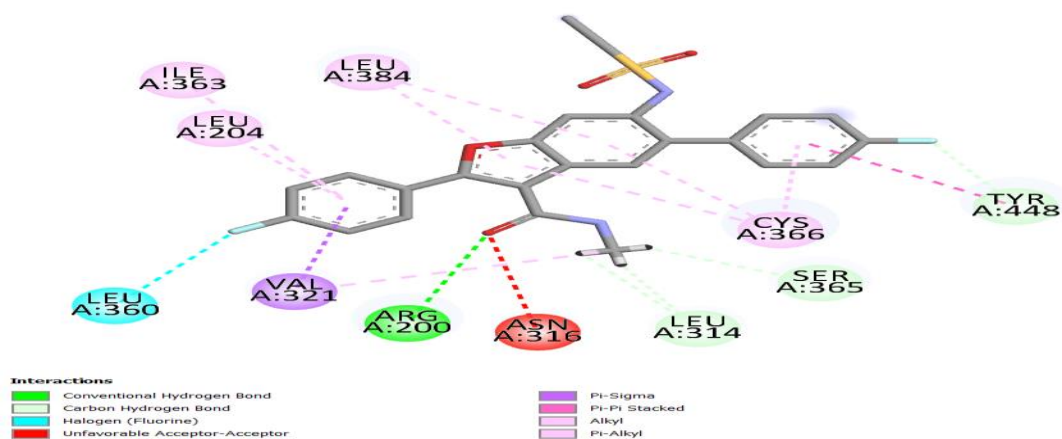


Figure 08 : Interactions entre protéine-L4 (structure 2D)

### ➤ Etude des interactions protéine-L5

Le ligand forme **3 liaisons hydrogène** avec la protéine NS5B, impliquant les résidus ASN316 (2,09 Å), SER365 (2,77 Å) et LEU314 (2,20 Å). Il établit également **deux interactions halogènes** avec LEU360 (3,01 Å) et ILE363 (3,46 Å). Par ailleurs, **plusieurs interactions hydrophobes** renforcent la stabilité du complexe, notamment via des contacts répétés avec CYS366 (à 3,68 Å, 4,03 Å et 4,46 Å) ainsi qu'avec LEU314 (4,51 Å).

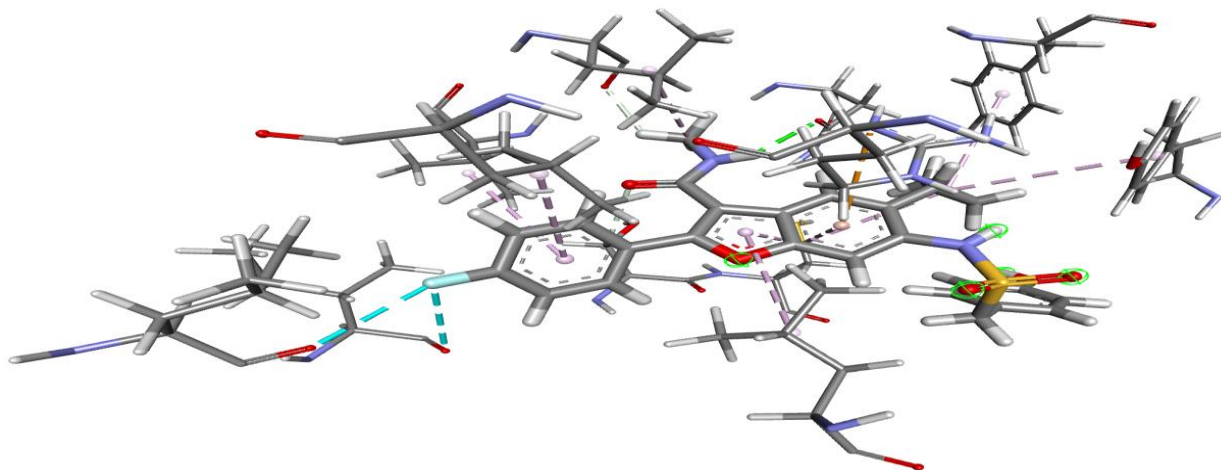


Figure 09 : Interactions entre protéine-L5 (structure 3D)

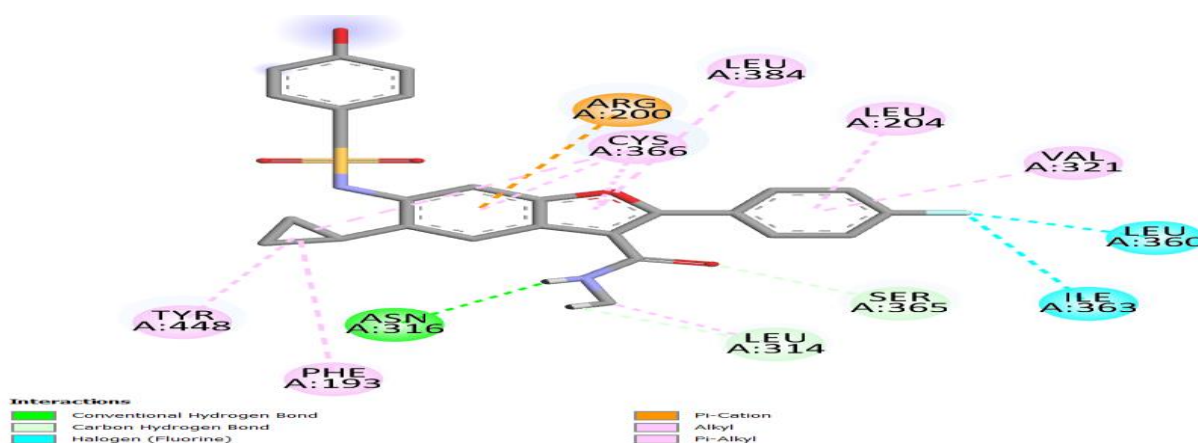
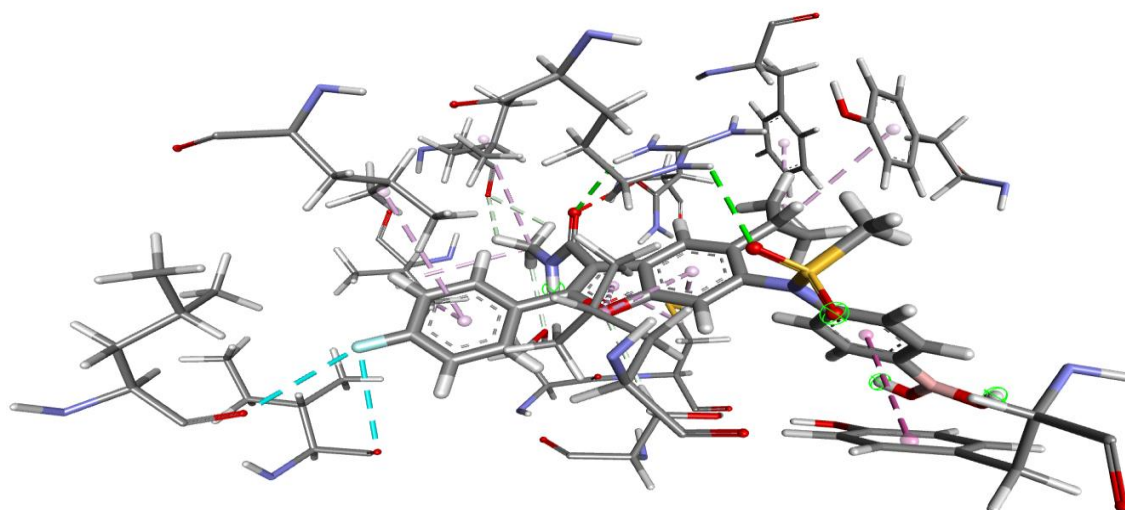


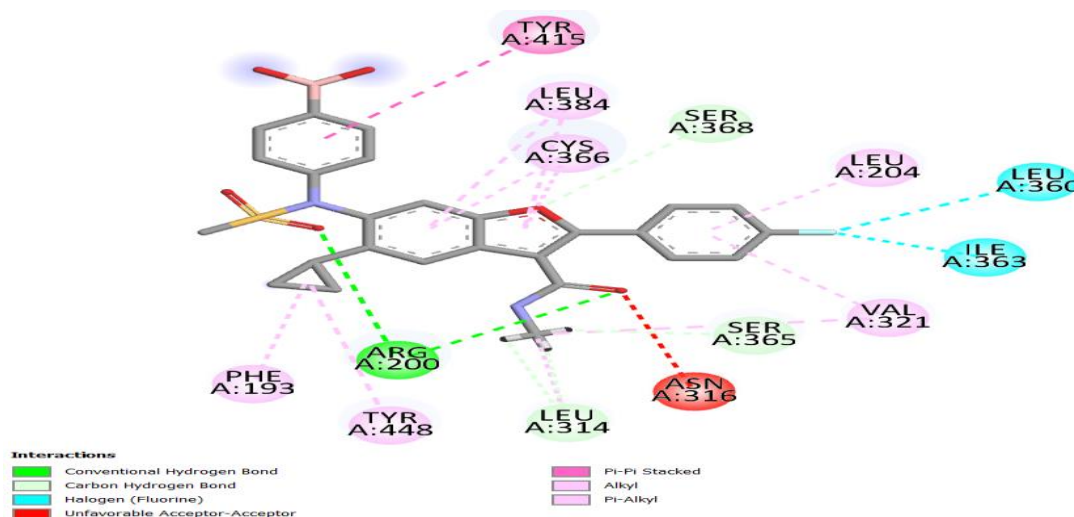
Figure 10 : Interactions entre protéine-L5 (structure 2D)

### ➤ Les interactions du ligand de référence "K4S" avec la protéine

Le ligand établit **7 liaisons hydrogène** avec la protéine NS5B, dont deux avec ARG200 (2,48 Å et 2,99 Å) et deux avec LEU314 (2,78 Å et 2,81 Å), ainsi que des interactions avec SER368 (2,63 Å) et SER365 (2,82 Å). Deux liaisons halogènes sont également observées avec LEU360 (3,47 Å) et ILE363 (3,46 Å). Le ligand bénéficie par ailleurs **d'une dizaine d'interactions hydrophobes**, incluant des contacts répétés avec CYS366 (3,70 Å et 3,82 Å), LEU384 (5,04 Å et 5,41 Å) et VAL321 (4,29 Å et 4,84 Å).



**Figure 11 :** Interactions entre protéine-K4S (structure 3D)



**Figure 12 :** Interactions entre protéine-K4S (structure 2D)

## 2.2 Résultats des propriétés moléculaires (druglikeness)

Avant d'envisager l'utilisation thérapeutique de composés inhibiteurs potentiels, il est essentiel d'évaluer leurs propriétés pharmacocinétiques et physicochimiques, connues sous le nom de **druglikeness**. Cette étape permet de déterminer si une molécule possède les caractéristiques requises pour être absorbée, distribuée, métabolisée et excrétée correctement dans l'organisme humain, tout en maintenant une bonne stabilité et une faible toxicité.

Les résultats obtenus permettent d'identifier les composés présentant un profil favorable pour une administration orale et un développement ultérieur comme agents thérapeutiques. Ils servent

également à exclure les molécules présentant des propriétés défavorables dès les premières étapes du criblage virtuel.

### Application de la règle de lipinski et veber

	N rot	TPSA	LOG P	HBA	HBD	MW
89955334	8	79,98	4,55	6	1	495,15
76336164	8	79,62	3,779	6	1	492,15
131732298	7	99,85	3,324	7	2	494,13
71138770	7	88,41	2,885	6	2	470,11
71258726	8	108,64	3,486	7	3	494,13
Ligand de référence	8	120,08	2,641	8	3	522,14

Tableau 3 : les résultats de la règle de lipinski et veber

Afin d'évaluer les propriétés pharmacocinétiques et la "drug-likeness" des inhibiteurs

potentiels de la polymérase NS5B du virus de l'hépatite C, une analyse préliminaire a été

réalisée selon les règles de Lipinski et de Veber. Ces règles sont couramment utilisées pour prédire la biodisponibilité orale des composés chimiques en phase de recherche préclinique.

La règle de Lipinski, aussi appelée "Rule of Five", stipule qu'un candidat-médicament a une meilleure chance d'être absorbé par voie orale s'il ne viole pas plus d'un des critères suivants poids moléculaire  $\leq 500$  Da,  $\log P \leq 5$ , nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBD)  $\leq 5$ , et nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA)  $\leq 10$ .

Quant à la règle de Veber, elle considère que les composés ayant une surface polaire totale (TPSA)  $\leq 140 \text{ \AA}^2$  et un nombre de liaisons rotatives  $\leq 10$  sont plus susceptibles de présenter une bonne perméabilité membranaire et donc une biodisponibilité satisfaisante.

### Application de la règle Lipinski

#### ➤ La masse moléculaire

Est l'un des paramètres essentiels dans l'évaluation de la druglikeness selon la règle de Lipinski, qui recommande une limite maximale de 500 g/mol pour garantir une bonne absorption orale. Un poids moléculaire trop élevé peut réduire la perméabilité à travers les membranes biologiques et nuire à la biodisponibilité.

Dans cette étude,

Tous les ligands (L1–L5) respectent le seuil de 500 g/mol. L4 a la masse la plus faible, ce qui peut favoriser sa diffusion passive. Par ailleurs, le ligand de référence dépasse le seuil (522.14 g/mol), ce qui pourrait nuire à sa perméabilité membranaire ou à son absorption orale.

## ➤ Log P

Tous les ligands sont en dessous du seuil de 5, donc aucun n'est excessivement lipophile.

Le ligand de référence est le plus hydrophile, ce qui peut favoriser sa solubilité, mais limiter sa diffusion passive. L1 est le plus lipophile, ce qui peut améliorer la pénétration membranaire, mais augmenter le risque de toxicité ou de liaison non spécifique.

## ➤ HBD

Les donneurs de liaisons hydrogène (HBD) sont des groupes fonctionnels (comme –OH ou –NH) capables de former des liaisons hydrogène avec la cible biologique ou l'environnement.

Tous les ligands, y compris le ligand de référence, respectent parfaitement ce critère, ce qui témoigne d'une bonne capacité d'absorption et d'un profil pharmacocinétique acceptable.

## ➤ HBA

Les accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) sont généralement des atomes d'oxygène ou d'azote qui peuvent accepter une liaison hydrogène. Leur nombre influence la polarité du composé et sa capacité à interagir avec des cibles biologiques.

La règle de Lipinski recommande un maximum de 10 accepteurs de liaisons hydrogène pour assurer une bonne perméabilité et une biodisponibilité orale adéquate.

Tous les composés étudiés respectent pleinement ce critère, avec des valeurs nettement inférieures à la limite de 10. Comparé au ligand de référence (8 HBA), les ligands candidats présentent des valeurs égales ou légèrement inférieures, ce qui peut être interprété comme un bon équilibre entre polarité et perméabilité.

Ces résultats suggèrent que les ligands testés possèdent une bonne capacité à interagir avec la cible NS5B via des liaisons hydrogène tout en conservant des propriétés favorables à l'absorption orale.

## Application de la règle Veber

### ➤ TPSA

La **TPSA** correspond à la surface totale occupée par les atomes polaires (principalement oxygène et azote) et leurs hydrogènes liés. Elle est un excellent prédicteur de la capacité d'un composé à traverser les membranes biologiques.

Toutes les molécules étudiées présentent une TPSA inférieure à 140 Å<sup>2</sup>, ce qui est compatible avec une bonne absorption orale selon les standards couramment utilisés.

Comparé au ligand de référence (120 Å<sup>2</sup>), les ligands candidats présentent des valeurs plus faibles, ce qui peut indiquer une meilleure perméabilité membranaire.

Globalement, ces résultats suggèrent que les ligands testés possèdent des profils plus favorables à l'absorption et à la distribution que le ligand de référence.

## ➤ Les valeurs des liaisons rotatives

Les liaisons rotatives correspondent aux liaisons simples non cycliques entre atomes, excluant celles impliquées dans des groupes fonctionnels rigides.

Un nombre élevé de liaisons rotatives augmente la flexibilité moléculaire, ce qui peut nuire à la spécificité d'interaction avec la cible et à la biodisponibilité orale.

Tous les ligands, y compris le ligand de référence, respectent le critère de Veber ( $\leq 10$  liaisons rotatives), ce qui suggère que les ligands sont suffisamment flexibles tout en maintenant une biodisponibilité orale potentiellement élevée.

## 2.3 Résultats de Résultats des filtres ADME

### A. Absorption

Afin d'évaluer la capacité des différents ligands à être absorbés par l'organisme, une analyse comparative de leur profil pharmacocinétique a été réalisée. Les propriétés d'absorption ont été estimées à l'aide de modèles *in silico* en prenant en compte, la perméabilité intestinale (Caco-2), ainsi que la capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB). Ces paramètres permettent de prédire la fraction absorbée et d'identifier les composés présentant un bon potentiel en tant que médicaments.

Ligands	Ligands	Caco-2 Permeability	Pgp substrate
L1	<b>CID 89955334</b>	-5,029	----
L2	<b>CID76336164</b>	-5,093	----
L3	<b>CID131732298</b>	-5,247	--
L4	<b>CID71138770</b>	-4,932	----
L5	<b>CID71258726</b>	-5,352	----
Ligand de référence	<b>CID 71263604</b>	-5,278	--

Tableau 4: les résultats de l'absorption

## ➤ Perméabilité Caco2

La **perméabilité Caco-2** est une méthode largement utilisée pour évaluer la **capacité d'un composé à traverser l'épithélium intestinal**, un critère essentiel dans le développement de médicaments administrés par voie orale.

Elle permet de :

- Prédire l'absorption intestinale d'un médicament
- Étudier le transport actif, passif, et l'efflux
- Déterminer la biodisponibilité orale potentielle [1].

Donc selon les résultats :

Le ligand de référence présente une perméabilité Caco-2 de -5,278, ce qui est modéré mais inférieur à celle de plusieurs ligands testés, notamment L4 (-4,932) qui a la meilleure perméabilité.

Par conséquent, comparé aux ligands L1, L2, et L4, le ligand de référence pourrait avoir une absorption intestinale plus limitée. L5 et L3 ont aussi des valeurs légèrement plus basses, avec L5 la plus faible (-5,352), suggérant une absorption plus faible.

### ➤ Substrate Pgp

La P-glycoprotéine (P-gp) est une protéine de transport transmembranaire appartenant à la famille des ABC transporteurs (ATP-Binding Cassette). Elle joue un rôle crucial dans la pharmacocinétique des médicaments, notamment en limitant l'absorption intestinale, en réduisant la distribution tissulaire (notamment au niveau du cerveau), et en facilitant l'excrétion hépatique et rénale des xénobiotiques. Les molécules qui sont substrats de la P-gp sont activement expulsées des cellules, ce qui peut considérablement réduire leur efficacité thérapeutique, en particulier dans le cas d'une administration orale ou d'une cible située dans le système nerveux central (SNC).

Dans cette étude,

Le ligand de référence est un substrat P-gp, ce qui signifie qu'il est activement expulsé des cellules intestinales, réduisant ainsi sa biodisponibilité. Cette caractéristique est partagée avec le ligand L3, qui, bien qu'ayant une perméabilité Caco-2 modérée, verra probablement son absorption orale réduite par ce mécanisme d'efflux. En revanche, les ligands L1, L2, L4 et L5 ne sont pas substrats P-gp, ce qui leur confère un avantage notable pour une absorption intestinale efficace.

## B. Distribution

L'étude de la distribution est essentielle pour comprendre comment un médicament ou un ligand se répartit dans le corps après administration. Cela permet d'optimiser les doses thérapeutiques, de réduire les effets secondaires et de mieux comprendre l'efficacité thérapeutique du médicament.

Ligands	Ligands	VDs	Perméabilité BBB	PPB
L1	<b>CID 89955334</b>	2.237	++	97.20%
L2	<b>CID76336164</b>	2.231	+++	98.50%
L3	<b>CID131732298</b>	0.792	+	98.70%
L4	<b>CID71138770</b>	1.343	+++	98.00%
L5	<b>CID71258726</b>	0.869	---	98.70%
Ligand de référence	<b>CID 71263604</b>	1,515	+	97,9

Tableau 5 : Les résultats de distribution

### ➤ **Le volume de distribution**

Le volume de distribution d'un médicament est un paramètre pharmacocinétique qui reflète le rapport entre la quantité totale de médicament dans l'organisme et sa concentration dans le sang ou le plasma. Il permet de décrire la tendance d'un médicament à quitter le compartiment sanguin pour se répartir dans les tissus [2].

L1 (2.237) et L2 (2.231) ont les volumes de distribution les plus élevés, indiquant qu'ils peuvent atteindre efficacement divers tissus. Le ligand de référence a un volume intermédiaire (1.515), ce qui suggère une distribution modérée dans l'organisme, moins étendue que L1 et L2 mais plus large que L3 et L5. L3 (0.792) et L5 (0.869) ont les volumes de distribution les plus faibles, limitant leur diffusion tissulaire.

### ➤ **Perméabilité BBB**

La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB permeability) désigne la capacité d'une substance à traverser la barrière physiologique hautement sélective qui sépare la circulation sanguine du système nerveux central (SNC).

Elle est généralement mesurée par le coefficient de perméabilité (P).

Elle est cruciale pour la conception de médicaments agissant sur le cerveau [3].

L2 et L4 montrent une perméabilité BBB élevée (+++), ce qui les rend potentiellement capables d'agir sur des cibles cérébrales ou, à surveiller, susceptibles d'effets secondaires au niveau du SNC.

L1 a une perméabilité modérée (++) , légèrement supérieure à celle du ligand de référence et de L3, qui ont une faible perméabilité (+). L5 est clairement non perméable à la BBB (---), ce qui pourrait limiter son action sur le SNC ou réduire des effets indésirables au cerveau.

### ➤ **Perméabilité PPB**

PPB, ou Plasma Protein Binding, désigne le pourcentage d'un médicament qui se

lie aux protéines présentes dans le plasma sanguin, principalement l'albumine, l' $\alpha$ 1-glycoprotéine acide, et parfois les lipoprotéines.

Cette liaison est réversible et influence directement la distribution, l'efficacité et l'élimination du médicament.

L'analyse de la liaison aux protéines plasmatiques (PPB) montre que l'ensemble des ligands étudiés présentent des valeurs supérieures à 95 %, indiquant une liaison très forte aux protéines circulantes, principalement l'albumine. Ce degré élevé de liaison signifie que seule une fraction très faible des composés est libre dans le plasma, et donc pharmacologiquement active à un instant donné.

Une forte PPB peut avoir plusieurs conséquences : elle prolonge la demi-vie plasmatique en limitant la clairance rénale et hépatique, mais peut aussi réduire la diffusion tissulaire et

retarder le début d'action. De plus, ce profil accroît le risque d'interactions médicamenteuses en cas de co-administration avec d'autres composés fortement liés aux protéines, qui pourraient provoquer des déplacements compétitifs et entraîner une libération brutale de la forme active. Néanmoins, une forte liaison peut également contribuer à stabiliser la concentration plasmatique et à protéger le composé de la dégradation métabolique rapide. Ainsi, bien que favorable à une activité prolongée, une PPB > 95 % nécessite une attention particulière lors de l'évaluation du profil de sécurité et d'efficacité des ligands [4].

## C. Métabolisme

Le métabolisme d'un médicament désigne l'ensemble des transformations chimiques qu'il subit dans l'organisme, principalement au niveau du foie, pour être converti en métabolites plus hydrosolubles, facilitant ainsi son élimination. Ces transformations peuvent aboutir à des métabolites :

- Inactifs, permettant l'élimination du médicament ;
- Actifs, prolongeant ou modulant l'effet thérapeutique ;
- Toxique, pouvant entraîner des effets indésirables.

Le métabolisme se divise en deux phases :

1. Phase I (fonctionnalisation) : réactions d'oxydation, réduction ou hydrolyse, souvent catalysées par les enzymes du cytochrome P450.
2. Phase II (conjugaison) : ajout de groupements polaires (glucuronide, sulfate, acétyl) pour augmenter l'hydrosolubilité, facilitant l'excrétion [5].

Les enzymes CYP450 sont essentielles dans le métabolisme des médicaments. L'inhibition de ces enzymes peut entraîner :

- Des interactions médicamenteuses (si plusieurs composés sont métabolisés par la même enzyme),
- Une accumulation du médicament (si le métabolisme est ralenti),
- Une toxicité potentielle.

Selon les résultats :

Ligands	Inhibitor CYP 1A2	Inhibitor CYP 2C19	Inhibitor CYP 2C9	Inhibitor CYP 2D6	Inhibitor CYP 3A4	Inhibitor CYP 2C8
L1	---	+++	+++	---	+++	+++
L2	--	+++	+++	---	+	+++
L3	---	+++	+++	---	-	+++
L4	+++	+	+++	---	--	+++
L5	-	++	+++	---	+++	+++
Ligand de reference	---	---	+	---	---	+++

**Tableau 6 : Les résultats de métabolisme**

L'évaluation métabolique des cinq ligands (L1 à L5) révèle une inhibition marquée des principales isoformes du cytochrome P450, notamment CYP2C19, CYP2C9 et CYP2C8, pour l'ensemble des composés. Tous les ligands inhibent fortement CYP2C9 et CYP2C8, ce qui suggère une métabolisation hépatique significative et un potentiel d'interaction médicamenteuse élevé via ces

voies. L1 et L5 montrent également une forte inhibition de CYP3A4, l'une des isoformes les plus impliquées dans le métabolisme des médicaments, ce qui peut influencer leur clairance et leur demi-vie. En revanche, aucun des ligands n'inhibe CYP2D6, ce qui réduit le risque d'interaction à ce niveau. Quant au ligand de référence, il présente un profil métabolique plus modéré, avec uniquement une inhibition légère de CYP2C9 et une forte inhibition de CYP2C8. Dans l'ensemble, bien que les ligands étudiés possèdent une bonne affinité pour les enzymes métabolisantes, leur potentiel inhibiteur élevé, notamment pour CYP2C19, CYP2C9 et CYP2C8, pourrait nécessiter une attention particulière en cas de co-administration avec d'autres médicaments métabolisés par les mêmes voies.

## D. Elimination

L'élimination d'un médicament est un processus pharmacocinétique fondamental qui détermine la durée d'action et l'intensité de son effet thérapeutique. Elle englobe l'ensemble des mécanismes par lesquels un composé est excrété par l'organisme. L'élimination a une influence majeure sur la biodisponibilité d'un médicament et son profil de sécurité, car elle détermine la concentration résiduelle du médicament dans l'organisme au fil du temps.

Ligands	Clairance	T 1/2
L1	3,474	0,613
L2	1,958	0,758
L3	3,241	0,898
L4	2,861	0,662
L5	3,991	0,773
Ligand de référence	0,51	1,334

**Tableau 7 : Les résultats d'élimination**

### ➤ La clairance

La clairance (en mL/min/kg) représente la vitesse à laquelle un composé est éliminé par le corps. Une faible clairance signifie une élimination plus lente, ce qui est généralement souhaitable pour des traitements prolongés, car cela permet une meilleure rétention du médicament dans l'organisme, une biodisponibilité plus élevée et une durée d'action étendue.

Tous les ligands L1 à L5 ont une clairance nettement plus élevée que le ligand de référence (0,51), ce qui signifie qu'ils sont éliminés plus rapidement. L5 a la clairance la plus élevée (3,991), suivi de L1 (3,474) et L3 (3,241). Le ligand de référence a donc une élimination plus lente comparée aux ligands testés.

### ➤ T 1/2

Le temps de demi-vie (T1/2) est un paramètre pharmacocinétique essentiel qui indique la durée nécessaire pour qu'un médicament voit sa concentration dans le sang réduire de moitié. Une demi-vie plus longue suggère une élimination plus lente, ce qui est souvent recherché pour des traitements prolongés, car cela permet d'obtenir une concentration stable du médicament sur une plus longue période.

Le ligand de référence possède la plus longue demi-vie 1,334, ce qui est cohérent avec sa faible clairance. Les ligands L1 à L5 ont des demi-vies plus courtes, variant de 0,613 h (L1) à 0,898 h (L3).

La demi-vie la plus courte est celle de L1 0,613 h, indiquant une élimination rapide.

Cela suggère que ces ligands pourraient nécessiter une administration plus fréquente pour maintenir une concentration thérapeutique efficace.

Le ligand de référence est éliminé plus lentement que tous les ligands testés, ce qui peut lui conférer une meilleure durée d'action. Cependant, cette élimination lente peut aussi entraîner un risque d'accumulation et de toxicité.

Les ligands L1 à L5, avec leur clairance plus élevée et demi-vie plus courte, pourraient avoir besoin d'un schéma posologique plus fréquent mais présentent un moindre risque d'accumulation.

## Bibliographie

[1] Artursson, P., & Karlsson, J. 1991. *Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells.*

**Biochemical and Biophysical Research Communications, 175(3), 880–885.**

[https://doi.org/10.1016/0006-291X\(91\)91647-U](https://doi.org/10.1016/0006-291X(91)91647-U)

**[2] Rowland, M., & Tozer, T. N. (2011).** *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Concepts and Applications (4th Edition).*

[3] Pardridge, W. M. (2005). *The Blood–Brain Barrier: Bottleneck in Brain Drug Development.* **NeuroRx, 2(1), 3–14.** <https://doi.org/10.1602/neurorx.2.1.3>

[4] Benet, L. Z., & Hoener, B. A. (2002). *Changes in plasma protein binding have little clinical relevance.* **Clinical Pharmacology & Therapeutics, 71(3), 115–121.**

<https://doi.org/10.1067/mcp.2002.121829>

[5] Jennifer Le, PharmD, MAS, BCPS-ID, FIDSA, FCCP, FCSHP, Skaggs School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of California San Diego. Manuel MSD – Métabolisme des médicaments. Disponible sur [msdmanuals.com](http://msdmanuals.com).

## Conclusion générale

Le virus de l'hépatite C (VHC) demeure l'un des principaux agents responsables des hépatites virales chroniques dans le monde.

Dans la première partie de ce travail, nous avons présenté les caractéristiques biologiques du VHC, les modes de transmission, ainsi que les complications graves qu'il peut engendrer, notamment la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire. Malgré les progrès thérapeutiques récents, l'accès universel aux traitements reste limité, et l'émergence de résistances antivirales impose la recherche continue de nouvelles molécules actives.

La seconde partie de notre mémoire a porté sur la méthodologie utilisée, notamment le docking moléculaire, qui s'est imposé comme un outil incontournable en découverte de médicaments. Cette approche permet de prédire les interactions entre une molécule candidate et une cible biologique, ici la protéine NS5B, une ARN polymérase virale essentielle à la réplication du VHC. L'intégration d'une analyse ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination) nous a permis d'évaluer le profil pharmacocinétique des ligands sélectionnés, garantissant non seulement leur efficacité potentielle, mais aussi leur compatibilité avec les exigences d'un médicament viable.

La troisième partie a livré des résultats riches et complémentaires. Tout d'abord, l'analyse des propriétés physicochimiques selon les règles de Lipinski et de Veber a révélé que plusieurs ligands possèdent des profils compatibles avec une bonne biodisponibilité orale, en respectant les critères de poids moléculaire, log P, nombre de donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, ainsi que la surface polaire totale. Ces résultats soutiennent leur viabilité pharmacologique.

Ensuite, les paramètres ADME prédits ont permis d'identifier des ligands présentant une perméabilité intestinale favorable (Caco-2), une bonne distribution tissulaire (VDs) et un profil de clairance hépatique adéquat, tout en évitant les interactions indésirables avec les principales enzymes du cytochrome P450. Ces propriétés pharmacocinétiques confèrent aux composés une meilleure stabilité et efficacité systémique que le ligand de référence dans certains cas.

Enfin, l'analyse du docking moléculaire a mis en évidence des interactions fortes et spécifiques entre plusieurs ligands et la cavité active de NS5B. Certains ligands ont présenté des énergies de liaison plus stables que le composé de référence, formant des liaisons hydrogène et hydrophobes clés avec les résidus critiques de l'enzyme. Ces résultats suggèrent un potentiel inhibiteur significatif, à confirmer par des études expérimentales.

Les analyses physicochimiques, fondées sur les règles de Lipinski et Veber, ont montré que tous les ligands respectent globalement les critères d'une bonne biodisponibilité orale, avec des poids moléculaires modérés, des valeurs de log P adaptées, ainsi qu'un nombre limité de donneurs et accepteurs d'hydrogène, favorisant une absorption efficace.

Les prédictions ADME ont révélé des différences notables entre les ligands : la perméabilité intestinale (Caco-2) était satisfaisante pour la majorité, tandis que certains composés (notamment L5) présentaient des limitations en perméabilité et distribution. La perméabilité à

la barrière hémato-encéphalique (BBB) variait également, certains ligands présentant un passage modéré, favorable à une distribution systémique optimale.

L'évaluation du métabolisme a mis en évidence des profils variés d'inhibition des enzymes CYP450, avec notamment L1, L2, L4 et L5 montrant une inhibition plus étendue, ce qui pourrait entraîner des interactions médicamenteuses indésirables. En revanche, L3 et le ligand de référence présentaient un profil plus favorable, avec une inhibition limitée.

Les scores de docking XP ont classé les ligands selon leur affinité pour la cible NS5B, L1 et L2 obtenant les meilleurs scores (-10.792 et -10.012 kcal/mol), suivis de L3 (-9.562 kcal/mol) et des autres ligands. Le ligand de référence a présenté la plus faible affinité (-9.379 kcal/mol).

En combinant ces différents critères, le ligand L3 s'est distingué comme le meilleur candidat, présentant un bon équilibre entre affinité de liaison, propriétés pharmacocinétiques favorables, et faible inhibition des enzymes métaboliques, faisant de lui une molécule prometteuse pour un développement ultérieur.

L'ensemble de cette étude démontre que les outils in silico, en particulier le docking moléculaire couplé à des prédictions pharmacocinétiques, représentent une approche rapide, économique et pertinente pour le criblage préliminaire de nouvelles molécules antivirales. Ils permettent de réduire considérablement le recours à des essais in vitro et in vivo coûteux et chronophages.

