



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la
Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Mémoire

Présenté par
Mkhelfi Meriem Imane
&
Mkhelfi Ikram

En vue de l'obtention du
Diplôme de **MASTER**

En Sciences Biologique
Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

*Étude de simulation et d'amarrage moléculaire de dérivés
de la quinine en tant qu'inhibiteurs potentiels de la
protéase principale du SARS-CoV-2*

Soutenu devant le jury :

Présidente **Mme. SAHI-DALI YUCEF Majda** **Pr Université de Tlemcen**

Encadreur **Mr. Cherrak Ahmed Sabri** **MCA Université de Tlemcen**

Examineur **Mme. Dennouni-Medjati Nouria** **Pr Université de Tlemcen**

Année universitaire 2020/2021

Résumé

Le COVID-19, une maladie mortelle apparue à Wuhan, dans le centre de la Chine, en décembre 2019 et qui s'est répandue dans plus de 170 pays à ce jour. L'inexistence de médicaments ou de vaccins peu onéreux pour lutter contre le SARS-CoV-2 a aggravé la situation. C'est pourquoi le développement d'une thérapie efficace et peu coûteuse contre le COVID-19 est une priorité qui a intensifié la recherche.

Cette étude a été conçue pour évaluer l'efficacité des dérivés naturels de la quinine contre le SARS-CoV-2 en utilisant des méthodes de docking moléculaire et de dynamique moléculaire.

Afin d'estimer le potentiel inhibiteur de ces composés, des études de docking moléculaire ont été réalisées en utilisant autodock vina. Un total de 21 composés dérivés de la quinine a été docké avec la protéase principale du SARS-CoV-2 : la Mpro (PDB Id : 6LU7). Cinq composés : L'Indole-5,6-quinine, la quinine glucuronide, l'O-(Tert-Butylcarbamoyle) quinine, la quinine picrate et l'O-Benzoyl quinine ont montré les plus grandes affinités (-8.3 kcal/mol, -8.2, -7.8, -7.7, -7.6 respectivement) envers cette protéase faisant preuve d'un potentiel d'inhibition élevé.

Dans le but d'évaluer la stabilité et le comportement dynamique de la protéine en complexe avec les deux meilleurs résultats obtenus au cours du docking, on a pratiqué des simulations de dynamique moléculaire. Nos résultats indiquent que l'Indole-5,6-quinine et la quinine glucuronide sont des inhibiteurs potentiels de la protéase principale du virus.

Mots clés : COVID-19, SARS-CoV-2, dérivés naturels de la quinine, docking moléculaire, dynamique moléculaire, l'Indole-5,6-quinine et la quinine glucuronide.

Abstract

COVID-19 is a deadly disease that emerged in Wuhan, central China, in December 2019 and has spread to over 170 countries to date. The lack of inexpensive drugs or vaccines to combat SRAS-CoV-2 has made the situation worse. Therefore, the development of an effective and inexpensive therapy against SRAS-CoV-2 is a priority that has intensified research.

This study was designed to evaluate the efficacy of natural quinine derivatives against SARS-CoV-2 using molecular docking and molecular dynamics methods.

To estimate the inhibitory potential of these compounds, molecular docking studies were performed using autodock vina. A total of 21 quinine-derived compounds were docked with the main protease of SRAS-CoV-2 : Mpro (PDB Id : 6LU7). Five compounds : Indole-5,6-quinine, quinine glucuronide, O-(Tert-Butylcarbamoyle) quinine, quinine picrate and O-Benzoyl quinine showed the highest affinities (-8.3, -8.2, -7.8, -7.7, -7.6 kcal/mol respectively) towards this protease showing a high inhibition potential.

In order to evaluate the stability and dynamic behavior of the protein in complex with the two best results obtained during docking, molecular dynamics simulations were performed.

Our results indicate that Indole-5,6-quinine and quinine glucuronide are potential inhibitors of the main protease of the virus.

Key Words : COVID-19, SRAS-CoV-2, natural quinine derivatives, molecular docking, molecular dynamics, Indole-5,6-quinine and quinine glucuronide.

الملخص

إستبان كوفيد 19 كمرض مميت في ووهان وبالتحديد في قعر الصين وذلك في التاريخ الموافق ل ديسمبر 2019 حيث تجلى وإلى حد الساعة في أزيد من 170 دولة. إن عسرة توافر الأدوية أو اللقاحات الغير مكلفة بغية مكافحة السارس كوفيد 2 قد ساهم في تفاقم الوضع. ولذلك يعتبر تطوير علاجات مفيدة وغير مكلفة أولية عملت على تكثيف البحث.

تم تصميم هذه الدراسة من أجل تقييم فعالية المشتقات الطبيعية الخاصة بالكينين ضد السارس كوفيد 2 وذلك بإستعمال أساليب الإلتحام الجزيئي والديناميكا الجزيئية.

من أجل تقدير إمكانية التثبيت لهذه المركبات، تم إجراء دراسات الإرساء الجزيئية وذلك بإستخدام autodock vina , بحيث تم إرساء 21 من المركبات المشتقة من الكينين مع M pro التي تعتبر البروتياز الأساسية لسارس كوفيد 2 (PDB Id : 6LU7). أظهرت خمس مركبات: إندول-5,6-كينين، كينين غلوكورونيد، أو- (تيرت بوتيل كاربامويل) كينين، كينين بيكرات و أو-بنزويل كينين (-8.3، -2.8، -7.8، -7.7، -7.6 كيلو كالوري / مول على التوالي) أعلى درجات الإنجذاب تجاه هذه البروتياز مبرهنين بذلك إمكانية تثبيت عالية.

من أجل تقييم الاستقرار والسلوك الديناميكي للبروتين المركب مع أفضل نتيجتين تم الحصول عليهما أثناء الإرساء، قمنا بممارسة محاكاة الديناميكا الجزيئية. تشير نتائجنا إلى أن إندول-5,6-كينين و كينين جلوكورونيد هم عبارة عن مثبتات محتملة لبروتياز الفيروس الرئيسية.

الكلمات المفتاحية: كوفيد 19، السارس كوفيد 2، المشتقات الطبيعية الخاصة بالكينين، الإلتحام الجزيئي، الديناميكا الجزيئية إندول-5,6-كينين و كينين غلوكورونيد.

Introduction

Le 31 décembre 2019, la Commission municipale de la santé de Wuhan a publiquement notifié une épidémie de pneumonie inexplicée et l'a annoncé à l'Organisation mondiale de la santé OMS [1, 2]. C'est un nouveau type de coronavirus qui est apparu à Wuhan, dans la province du Hubei, dans le centre de la Chine, en particulier sur le marché local des fruits de mer [1, 3-5]. Ce virus s'est développé dans plus de 170 pays à travers le monde et a affecté plus de 170 millions d'individus avec plus de 3 557 000 décès au 02 juin 2021 [6].

Le virus s'appelait à l'origine le nouveau coronavirus 2019 ou 2019-nCoV, puis Le comité international de taxonomie des virus (ICTV) a désigné le virus comme étant le SARS-CoV-2 de sorte que L'OMS a changé le nom de la maladie en maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) [3, 5, 7, 8].

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a officiellement déclaré l'épidémie de COVID-19 comme une pandémie le 11 mars 2020 [4, 9].

La principale façon dont les gens sont infectés par le SARS-CoV-2 est la transmission entre humain. Les patients atteints de COVID-19 diffusent le virus sous forme de gouttelettes de liquide lorsqu'ils parlent. Cependant, on peut aussi voir de petites particules et des particules beaucoup plus grosses dites aérosols, qui peuvent rester dans l'air pendant une longue période et pénétrer profondément dans les poumons lorsqu'elles sont inspirées par d'autres personnes. En outre, la propagation du virus sur la surface oculaire et la présence à long terme de l'ARN viral du SARS-CoV-2 dans les échantillons fécaux ont également été enregistrées [3-5, 10-15].

Il s'avère que les personnes de tous âges sont sensibles à l'infection par le SARS-CoV-2 [5, 16-21]. Les symptômes les plus courants sont la fièvre, la fatigue et la toux sèche [20-24]. Pour ce qui est des symptômes moins courants dans les études menées auprès de patients en Chine, ils comprenaient la production d'expectorations, la diarrhée, les maux de tête, les nausées ou vomissements, les frissons, l'hémoptysie, les douleurs thoraciques et les maux de gorge [20, 24]. Des Anosmies, Anorexie et Sueurs ont également été signalés chez des patients aux États-Unis [16]. Cependant, beaucoup d'infections, notamment chez les enfants et les jeunes adultes sont asymptomatiques. Selon les estimations, 17,9 % à 33,3 % des patients infectés demeurent asymptomatiques [25-27].

Ces manifestations cliniques varient avec l'âge. De manière générale, les patients âgés sont plus susceptibles d'être gravement malades, ils ont plus de comorbidités telles que les maladies cardiovasculaires, l'hypertension et le diabète, et plus de cas de difficultés respiratoires (dyspnée) [17, 19, 28]. Il est à noter que les femmes enceintes ne courent pas un risque plus élevé de maladie [29]. Néanmoins, bien qu'il s'agisse d'un cas indépendant, des preuves de transmission du SARS-CoV-2 d'une mère infectée au placenta du nouveau-né ont été signalées [30].

La pandémie COVID-19 a prouvé qu'alors que le SARS-CoV-2 continue de se propager, un test précis et rapide de ce virus est une priorité absolue. Les outils de diagnostic disponibles à ce jour sont basés sur la détection d'anticorps humains (sérologie), qui est indispensable

pour un examen immunologique approfondi, mais qui ne suffit pas à confirmer la présence du virus. Nous avons également la détection des antigènes viraux, mais cette technique est en cours de développement, et en raison des mutations incontrôlées du virus, il faut du temps pour développer un antigène très précis. Enfin, nous avons la méthode de la réaction en chaîne par polymérase de transcription inverse (la RT-PCR) pour la détection des gènes viraux, qui est la technologie la plus sûre et la plus fiable, où la détection des régions génomiques virales repose presque entièrement sur cette méthode ou sur des tests moléculaires en général [31].

Pendant cette pandémie, les chercheurs à travers le monde ont fait des efforts considérables pour développer un nouveau vaccin contre le SARS-CoV-2. La vaccination stimule le système immunitaire, ce qui entraîne la synthèse d'anticorps neutralisants contre le SARS-CoV-2. Trois nouveaux vaccins, le vaccin BNT162b2, le vaccin ARNm-1273 et le vaccin ChAdOx1 nCoV-19 ont été mis au point pour cibler le site principal de la protéine de pointe du SARS-CoV-2, sur lequel ces variantes ont subi des mutations, ce qui soulève des inquiétudes concernant l'efficacité de ces vaccins contre les nouvelles variantes [32]. En outre, les chercheurs et les fabricants effectuent des essais cliniques à large spectre afin de déterminer les différentes thérapies pour le COVID-19. Au 5 avril 2021, il y avait environ 506 médicaments thérapeutiques en développement pour le COVID-19, tandis qu'il y en avait près de 419 dans des essais cliniques sur l'homme, de plus environ 216 vaccins sont en développement pour le COVID-19, dont 122 sont en développement préclinique et 92 dans des essais sur l'homme [33]. Mais en dépit de tout cela, il convient de noter que la majorité des pays à revenu faible et intermédiaire (PRIT) sont confrontés à des difficultés pour obtenir et fournir des vaccins et des traitements contre le COVID-19 à leurs populations [34]. Par ailleurs des défis subsistent en ce qui concerne les tests de stade avancé et la distribution finale. De même, la réapparition récemment signalée de l'infection par une autre souche du coronavirus 2 du SARS-CoV-2, a de nouveau suscité des doutes et des inquiétudes concernant l'efficacité à long terme des vaccins préventifs ou du plasma de convalescence [35].

Il est nécessaire de développer des médicaments anti COV19 performants afin de pouvoir prévenir l'épidémie et empêcher les contaminations par ce virus [36]. Même si la commission des recherches est désarmée en termes de médicaments, la disposition de la séquence du génome ARN du virus (GenBank ID : MN908947.3) offre un précieux départ en vue de la détermination des traitements antiviraux censés inhiber la réplication de cette coronavirus [37, 38]. D'autant plus, l'ensemble de la séquence génomique du SARS-CoV-2 montre un degré élevé d'identité les uns avec les autres supérieurs à 99%, et ils ont 82% d'identité avec le SARS-CoV (GenBank ID : NC_004718.3) [39, 40].

Les coronavirus (coronaviridae) comprennent selon leur relation phylogénétique et leur structure génomique quatre genres : Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus et Deltacoronavirus [11, 38, 40]. Le SARS-CoV-2 a été identifié comme un β -coronavirus lié au coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV), il a donc été nommément désigné SARS-CoV-2 [4, 11, 39, 41].

Il s'agit de virus membranaires à ARN monocaténaire positif de 26 à 32 kb enveloppé, qui est considéré comme le plus grand génome viral à ARN connu à ce jour, et appartient à la

sous-famille d'orthocoronavirinae de la famille des Coronaviridae, de l'ordre des Nidovirales [4, 38, 39, 41].

Les espèces de Betacoronavirus connus qui peuvent causer des maladies humaines sont les deux coronavirus humains HKU1 et OC43 issus probablement de rongeurs, et les Coronavirus associés au syndrome respiratoire aigu sévère (SARS), comme le SARS-CoV et le SARS-CoV-2 (2019-nCoV) et le coronavirus du virus respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) qui ont pour origine les chauves-souris [11, 38, 40]. Les deux premiers CoV provoquent une maladie légère et spontanément résolutive contrairement au 2 derniers qui sont extrêmement pathogéniques et provoquent des maladies pulmonaires fatales [11, 38].

De 2002 à juillet 2003, le SARS-CoV a été détecté initialement dans la région de Guangdong, en Chine, puis s'est propagé dans 33 autres pays du monde avec 8096 cas et 774 décès. Autrement dit, le taux de mortalité est de 10%. Ensuite, en 2012, une nouvelle maladie causée par le MERS-CoV est apparue chez l'Homme initialement en Arabie saoudite, puis s'est propagé dans 27 autres pays du monde avec 2494 cas de MERS et 858 décès soit un taux de mortalité élevé de 34 % [11, 38-40, 42, 43].

Le virus du SARS-CoV-2 possède plusieurs protéines cruciales, qui sont des éléments clés à différentes étapes du cycle d'infection virale, inclusivement l'entrée du virus, la réplication, l'immortalité dans les cellules hôtes et d'autres infections. Trois protéines sont essentielles [44, 45], la Spike protéine de coronavirus (S) qui est une glycoprotéine transmembranaire homo-trimérique, possédant une forte affinité avec l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (l'ACE2), et se lie donc à ce dernier sur la membrane de la cellule hôte humaine, avec TMPRSS2 qui est tout près pour faciliter la fusion virale. Ensuite le virus pénètre dans les cellules hôtes par endocytose [46-48]. Deuxièmement l'ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp) qui est un complexe enzymatique employé par le SARS-CoV-2 afin de répliquer son génome et transcrire son ARN viral en plusieurs ARNm, qui sont ensuite traduits en protéines virales fondamentales, en particulier S, M (membrane), E (enveloppe) et N (nucléocapside) [49-51].

Troisièmement la protéase principale (M pro), qui malgré l'importance des protéines mentionnées ci-dessus comme cibles médicamenteuses contre le SARS-CoV-2, est devenue la cible la mieux décrite [52, 53]. La M pro également connue sous le nom de protéase de type 3-chymotrypsine (3CL pro) est une cystéine protéase capable de cliver et de convertir les polyprotéines virales. Elle partage 96 % d'identité de séquence avec le SARS-CoV [54].

Elle est appelée la protéase principale (Mpro) grâce à son rôle majeur dans le maintien des activités des complexes réplikatifs et la transformation des polyprotéines virales [55, 56].

La protéine 3CL du SARS-CoV-2 forme un dimère où chaque monomère contient trois domaines : 6 tonneau β antiparallèle constituent les domaines I et II (résidus 8-101 et résidus 102-184) et Le site de liaison du substrat (site actif) qui se localise dans un interstice entre ces deux domaines et qui fait de quatre sites (S1', S1, S2, et S4), ainsi que Le domaine III (résidus 201-306) [57, 58].

Bien que le SARS-CoV-2 3CL coexiste sous forme de dimères et de monomères, il a été largement prouvé que seuls les dimères sont catalytiquement actifs [57], les domaines I et II, appelés conjointement le domaine N-terminal et Les acides aminés N-terminaux 1 à 7 forment le doigt N (NF) qui joue un rôle important dans la dimérisation et la formation du site actif de 3CLpro ainsi une boucle s'étendant des résidus 184 à 199 permet de joindre le domaine N-terminal et le domaine III, également appelé domaine C-terminal, qui contient un groupe de cinq α -hélice antiparallèles permettent le contrôle de la dimérisation de la protéine [58].

La 3CLpro est une cystéine-protéase qui possède une dyade catalytique Cys-His (Cys-145 et His-41) situé dans l'espace entre les domaines I et II, correspondant à la structure de SARS 3CLpro (Cys-145 et His-41), donc la forme de la poche de liaison du récepteur 3CLpro du SARS-CoV-2 est semblable à celle du 3CLpro du SARS-CoV [57-59].

La structure cristalline du Mpro COVID-19 (PDB ID : 6lu7) a été récemment présentée, fournissant aux chercheurs la possibilité de développer des inhibiteurs anti-CoV à large spectre [60]. Elle est censée se cliver à partir de la polyprotéine par le biais de sa capacité protéolytique afin de libérer la protéase mature [61], La Mpro clive la polyprotéine en 11 sites précis principalement de Leu à Gln↓(Ser,Ala,Gly) (où le site de clivage est marqué par ↓) incluant les sites d'auto transformation N- et C-terminaux , Les nombres d'acides aminés du substrat de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale sont P1-P4 et P1'-P3' et le site de clivage est entre P1 et P1' de la sorte un résidu Gln devant se trouver au niveau de la position P1 des substrats [53, 57, 58, 61], la 3CLPro est donc une cible potentielle pour la recherche d'inhibiteurs d'anti-COVID-19 [36, 55, 58].

La pandémie de COVID-19 continue de se propager, elle est toujours la source de morbidité et de mortalité dans le monde [62]. Le traitement de cette infection est principalement un traitement symptomatique, qui dépend intensément de la gravité de la maladie. Il inclut l'hydratation, le contrôle de la douleur et de la fièvre, l'oxygène supplémentaire et la ventilation mécanique invasive si nécessaire [63]. Par conséquent, il existe un besoin urgent de médicaments antiviraux efficaces contre le COVID-19. Mais le problème pour y arriver est le fait que le développement d'un nouveau médicament pourrait prendre environ 15 ans et coûter des milliards de dollars. Parmi les nouveaux médicaments précliniques très prometteurs identifiés à partir de centaines de composés, environ un sur dix peut être approuvé pour une utilisation clinique. Environ 30 % des nouveaux médicaments ne respectent pas les règles de sécurité dans les essais cliniques. Dans ce cas, le principe de repositionnement de médicament peut être une méthode alternative rentable et rapide pour le développement des candidats thérapeutiques antiviraux possibles à partir de médicaments traditionnels et/ou de médicaments approuvés existants [64]. En comparaison avec les inhibiteurs synthétiques, les médicaments à base de plantes ont une moindre toxicité et sont plus sûrs à employer. Les produits naturels, comme les médicaments traditionnels et les composés à base de plantes (phytochimiques), sont regardé comme une source importante de médicaments antiviraux prometteurs, en effet ils sont à l'origine de près de 44% des médicaments antiviraux accrédités de 1981 à 2006 [65, 66]. Il convient également de souligner que les composés végétaux et les molécules végétales naturelles sont le moyen le plus économique et le plus idéal pour développer des médicaments à travers la technique de

découverte de médicament. En plus de tout cela, des médicaments naturels non synthétiques et spécifiques à une cible, avec moins d'effets secondaires sont essentiels à toute urgence pour prévenir et traiter le COVID-19 [67, 68].

Les herbes fournissent une variété de médicaments indispensables qui peuvent aider à résoudre de nombreux problèmes derrière de nombreuses maladies virales [69]. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) indique dans un rapport que 80 % de la population des pays en développement à recours aux herbes traditionnelles pour répondre à leurs besoins sanitaires [69].

Un produit naturel potentiel trouvé dans la feuille de *S. cusia* est le β -sitostérol, un phytostérol étant célèbre pour son activité anti-HBV (virus de l'hépatite B) et son activité inhibitrice enzymatique in vitro envers la 3CLpro du coronavirus du SARS, De plus, il a également des effets antibactériens, anti-inflammatoires et anti tumoraux [69]. Par ailleurs, de nombreuses plantes phytochimiques antivirales, des substances bioactives extraites de différentes plantes médicinales marocaines (Crocine et Digitoxigenine) sont réputées être des inhibiteurs efficaces de Mpro du SARS CoV-2 [70].

La quinine est l'alcaloïde du quinquina, qui appartient aux arylaminoalcools des médicaments, c'est un composé très basique, il existe donc toujours sous forme de sel [71]. Elle a été extraite en 1820 de l'écorce du quinquina d'Amérique du Sud, séparée et nommée par Joseph Caventou et Pierre Joseph Pelletier [71, 72]. De plus, elle est comprise dans la liste des médicaments essentiels de l'Organisation mondiale de la santé (WHO) [73].

Le présent travail de recherche avait pour objectif de tester le potentiel des composés naturels dérivés de la quinine dans la lutte contre la dévastatrice COVID-19, en ayant recours à des approches computationnelles telles que le docking moléculaire et la dynamique moléculaire qui sont adoptés principalement pour évaluer l'interaction entre ces produits naturels et la principale protéase Mpro du SARS COV 2 tirée de la base de données des protéines (BDP).

2. Matériels et méthodes

2.1. Préparation de la protéine

La structure cristallographique tridimensionnelle de la protéase principale du SARS-CoV-2 (Main protease, structure PDB ID : 6LU7) a été téléchargée à partir du site Web de la banque de données sur les protéines « RCSB PDB (Protein Data Bank) » <https://www.rcsb.org/> avec une très bonne résolution de 2.16 Å°.

Cette structure 3D comporte un inhibiteur co-cristallisé « N3 » [74], et doit être par conséquent préparée avant de commencer le processus d'amarrage moléculaire. Cela se fait à l'aide du programme Chimera UCSF [75] (ver 1.14), qui permet de supprimer le ligand d'origine liés à la cible mais également les molécules d'eau. Enfin, la structure 3D préparée de la 6LU7 a été enregistrée au format de fichier PDB.

2.2. Téléchargement des ligands « inhibiteurs »

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

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

2.3. L'amarrage moléculaire

Afin d'effectuer un Docking moléculaire, la protéase 6LU7 doit être préparée par l'outil Dock prep du programme Chimera UCSF [75]. Cet outil permet d'ajouter des atomes d'hydrogène, des charges et d'appliquer une énergie minimale ΔG , car la cible extraite du RCSB PDB ne contenait aucune charge.

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

Pour tester l'effet inhibiteur de ces molécules sur la protéase principale du SARS-CoV-2, l'interaction de liaison réelle a été confirmée par l'amarrage moléculaire à l'aide du logiciel Auto dock Vina [76], tandis que les meilleurs conformères ont été représentés avec la plus faible énergie de liaison (kcal /mol) sur le site actif.

2.4 Identification des interactions

Les vingt et une quinines complexées à la protéase sont chargées directement l'une après l'autre dans le logiciel Discovery Studio visualize [77, 78] (ver 16.1), qui rend possible la visualisation en 2D des divers diagrammes d'interaction existant notamment entre le site actif de l'enzyme et les ligands. En effet, il permet de connaître les liaisons hydrogène et les liaisons hydrophobes contractualisées par les acides aminés du site actif de la cible 6LU7 et les quinines.

2.5. Détermination des paramètres pharmacocinétique

Les propriétés physico-chimiques, ainsi que les prévisions des paramètres ADMET, les caractéristiques pharmacocinétiques et les règles de lipinski de chaque dérivé quinine ont été analysées à partir du site Web Swiss ADME <http://www.swissadme.ch/>

2.6. Simulation de la dynamique moléculaire

Au moyen du logiciel GROMACS (Ver 5.1), que l'on a mis en place sur un système Linux, et en recourant également au champ de force CHARMM36, il a été procédé à des simulations de dynamique moléculaire [79, 80]. Il est à noter que tout d'abord, la structure topologique de la protéine est préparée en employant l'outil pdb2gmx. La solvatation pour les complexes protéiques a été réalisée en milieu triclinique.

L'énergie du système a été réduite grâce à l'algorithme nommé : *Steepest descent algorithm* [81]. On a soumis la protéine à une solvatation au moyen du modèle de solvant

TIP3, et on a ajouté 4 ions Na⁺ au système de façon à neutraliser tout le système. Le système présente un écart minimum de 1,5 Å entre chaque bord et chaque atome protéique.

On a employé des températures correspondant à 300 K ainsi qu'une pression totale de 1 bar afin que le système se stabilise. Une dynamique moléculaire finale de 10 ns est appliquée au système, avec des étapes de 2 fs.

2.7. L'analyse de trajectoire et L'analyse énergétique de l'interaction protéine-ligand

On a employé successivement les outils gmx rms et gmx rmsf afin de mesurer la déviation quadratique moyenne (RMSD) et les fluctuations de la moyenne quadratique (RMSF) de la protéine. L'outil gmx hbond a été utilisé pour analyser les liaisons hydrogène et l'outil de giration gmx gyrate pour analyser le rayon de giration. Finalement, le logiciel Grace a servi à élaborer les graphiques.

3. Résultats et discussion

3.1. Études d'amarrage

La structure tridimensionnelle cristallisée de la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro (PDB ID : 6LU7) a été mise à disposition dans le site Web de la banque de données sur les protéines « RCSB PDB (Protein Data Bank) » <https://www.rcsb.org/>. Sur cette structure, un inhibiteur peptidique (N3) est installé au niveau du site actif de la protéine, localisé dans un creux qui sépare une dyade catalytique Cys-His.

Des détails sur vingt-et-un ligands quinines sont listés dans le **Tableau 01**. Le Docking de ces ligands a été réalisé contre le site actif de la protéine Mpro, ce qui a permis de dégager plusieurs configurations retenues comme définissant des modes de liaison avantageux et favorables énergétiquement parlant.

Plus l'énergie de liaison est réduite, plus l'efficacité de la liaison est élevée, résultant en une inhibition accrue. Dans la présente étude, L'Indole-5,6-quinine un composé naturel, a présenté la meilleure conformation de liaison avec la protéase M pro avec une énergie de liaison de -8.3 kcal/mol, suivie par la quinine glucuronide avec une énergie de liaison de -8.2 kcal/mol (**Figure-01**). A noter que ces valeurs sont supérieures à celles obtenues pour l'inhibiteur N3 (-7.5 kcal.mol⁻¹). Ainsi que la montre la **Figure-02**, L'Indole-5,6-quinine et la quinine glucuronide sont bien installées dans le site actif et la position correspond à l'inhibiteur peptidique N3.

Nom	CID	Formule moléculaire	Masse Moléculaire (G/mol)	ΔG (-kcal/mol)
Quinine	3034034	C ₂₀ H ₂₄ O ₂ N ₂ ou C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₂	324.4	-5.8
Indole-5,6-quinine	129826697	C ₂₈ H ₂₇ N ₃ O ₂	437.5	-8.3
Quinine glucuronide	91810518	C ₂₆ H ₃₂ N ₂ O ₈	500.5	-8.2
O-(Tert-Butylcarbamoyl) quinine	100967846	C ₂₅ H ₃₃ N ₃ O ₃	423.5	-7.8
Quinine picrate	129641851	C ₂₆ H ₂₅ N ₅ O ₉	551.5	-7.7
O-Benzoylquinine	10342538	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₃	428.5	-7.6
Quinine acrylate	129760090	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₄	394.5	-7.5
5-(1-Bromo-2-(trifluoromethoxy) ethyl) quinine 9-O-benzoate	123133582	C ₂₈ H ₂₈ BrF ₃ N ₂ O ₄	593.4	-7.5
T-Butyl quinine carbamate	129849829	C ₂₅ H ₃₃ N ₃ O ₄	439.5	-7.4
2,5-Dihydroxymethyl quinine	129676223	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₄	370.4	-7.2
Prenyl quinine	129715923	C ₂₅ H ₃₂ N ₂ O ₂	392.5	-7.2
Methacryloyl quinine	129845973	C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₃	392.5	-7.0
11-(Phenyl)-Quinine	70696150	C ₂₆ H ₂₈ N ₂ O ₂	400.5	-7.0

Ethyl quinine carbonate	6757	C23H28N2O4	396.5	-6.9
Quinine ethylcarbonate (TN)	53297453	C23H28N2O4	396.5	-6.9
Isopropyl quinine	129772775	C23H30N2O2	366.5	-6.8
Beta-Chloro-t-butyl carbamoyl quinine	129829175	C25H32ClN3O3	458	-6.7
O-Allyl quinine	137797455	C23H28N2O2	364.5	-6.6
9-O-(Tert-Butylcarbamoyl) quinine	101236204	C25H33N3O3	423.5	-6.6
Tertiary butyl hydroxyl quinine	129854300	C24H32N2O3	396.5	-6.4
Quinine 1-N-oxide	12044305	C19H22N2O2	310.4	-6.2

Tableau-01 Coordonnées et énergies de liaison de vingt-et-un ligands quinine amarrés à la principale protéase du SARS-Cov-2 Mpro.

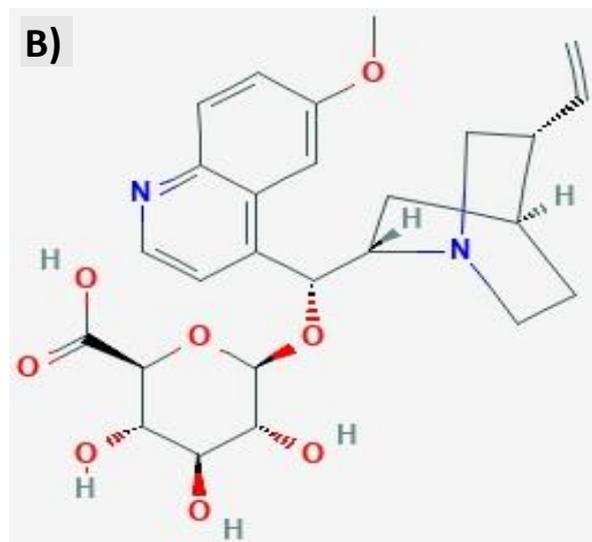
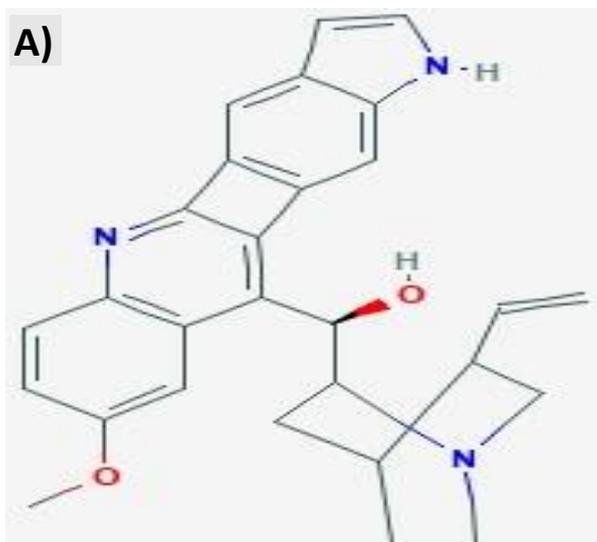


Figure-01 Structure des deux composés avec le score delta G le plus élevé par rapport au site actif de la principale protéase Mpro du SARS-CoV-2. **A)** Structure de L'Indole-5,6-quinine. **B)** Structure de la quinine glucuronide.

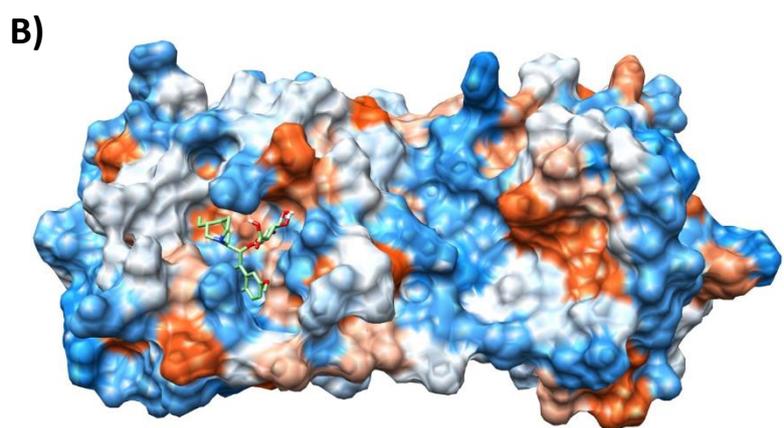
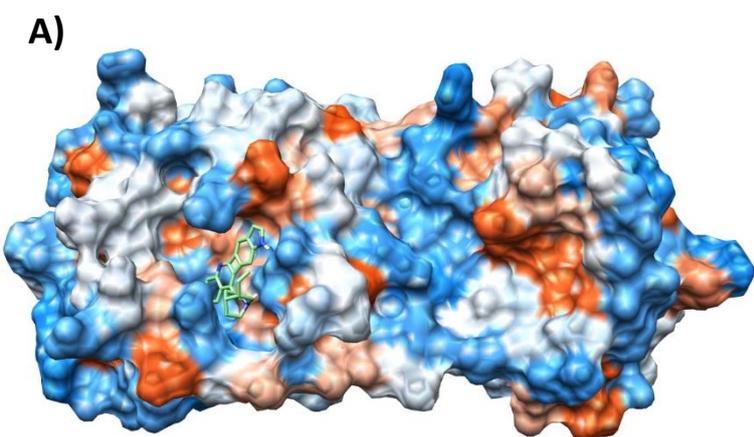


Figure-02 Interaction de L'Indole-5,6-quinine (**A**) et de la Quinine glucuronide (**B**) avec le site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro.

Le logiciel Discovery Studio visualizer a été utilisé pour identifier les liaisons contractées entre d'une part, les acides aminés du site actif de la cible 6LU7 et d'autre part, les ligands de la quinine (**Figure-03**). Les liaisons hydrogène (HBs) jouent un rôle essentiel dans la structure et l'action catalytique des enzymes, Plus le nombre de ces liaisons hydrogène est important, plus l'efficacité de la liaison et de l'inhibition est élevée [82]. En général, les interactions protéine-ligand se caractérisent notamment à travers les interactions hydrophobes et les liaisons hydrogène, lesquelles tiennent une place majeure dans la prévision et l'évaluation de la force de liaison entre ligand et protéines.

Les interactions des meilleurs résultats obtenus lors des expériences de docking sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Meilleurs composés amarrés	AA	Interaction
Indole-5,6-quinine	Glu166	Conventional Hydrogen Bond, Pi-Anion
	Met165	Pi-alkyl
	His41	Pi-Pi T-Shaped
	Met49	Carbon Hydrogen Bond
Quinine glucuronide	Gln189	Pi-Sigma
	Glu166	Conventional Hydrogen Bond
	His163	Conventional Hydrogen Bond
	Cys145	Conventional Hydrogen Bond
	Asn142	Conventional Hydrogen Bond
	His41	Pi-Pi T-Shaped
	Met165	Carbon Hydrogen Bond,
O-(Tert-Butylcarbamoyl) quinine	Cys145	Conventional Hydrogen Bond, Pi-Sulfur
	His-164	Conventional Hydrogen Bond
	His-41	Conventional Hydrogen Bond
	Gln189	Carbon Hydrogen Bond
	Asn142	Carbon Hydrogen Bond
Quinine picrate	His41	Conventional Hydrogen Bond
	Met165	Carbon Hydrogen Bond
	Gly143	Carbon Hydrogen Bond
	Thr25	Carbon Hydrogen Bond
	Met49	Pi-alkyl
O-Benzoylquinine	Met49	Pi-Cation
	His41	Pi-Cation
	Cys145	Pi-Cation
	His172	Pi-Pi T-Shaped
	His163	Pi-Pi T-Shaped

Tableau.02 Interactions des 5 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine Mpro.

Le composé Indole-5,6-quinine est un dérivé de la classe des indoles qui occupent une place importante dans cette classe de composés organiques. Dans le cadre de cette étude L'Indole-5,6-quinine a présenté un score de liaison de -8.3 kcal/mol avec la création d'une liaison H et d'une liaison Pi-Anion avec les acides aminés Glu166, une liaison Pi-alkyl avec les acides aminés Met165, une liaison Pi-Pi avec les acides aminés His41, et une liaison carbone-hydrogène avec les acides aminés Met49 (**Figure-03-01-B**) (**Tableau.02**).

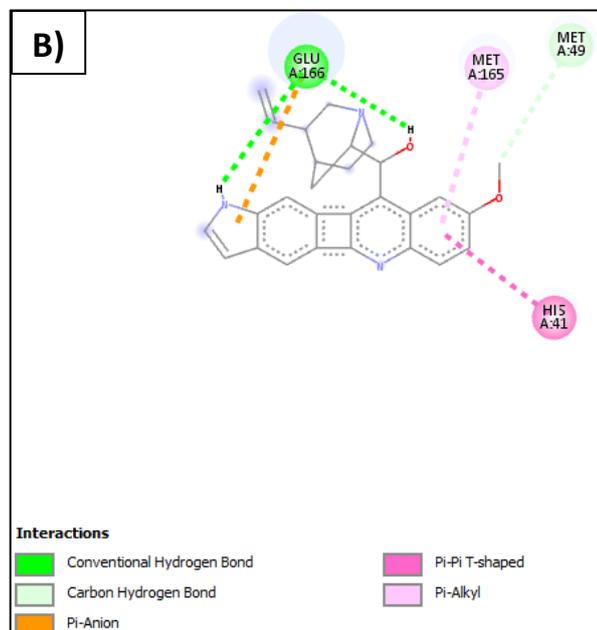
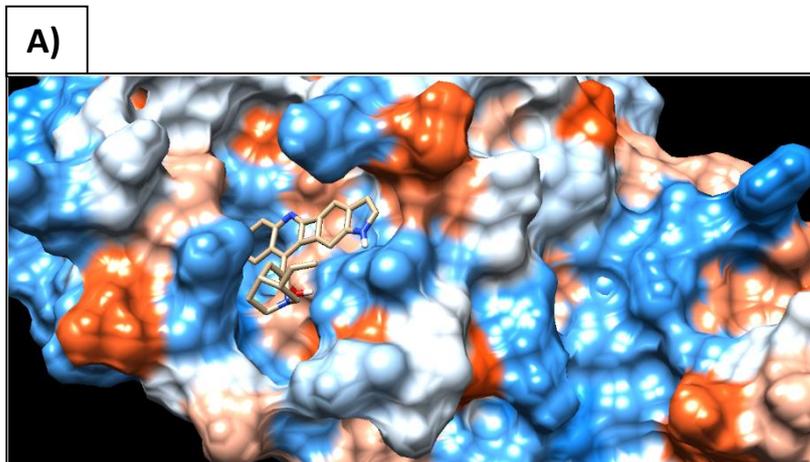


Figure-03-01

A) Image de surface de L'Indole-5,6-quinine dans la fente du site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro.

B) Interaction 2D de L'Indole-5,6-quinine avec la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro (-8.3 kcal/mol).

La Quinine glucuronide figure parmi les sept métabolites probables de la quinine décelés dans les urines humaines [83]. Elle a présenté un score de liaison de -8.2 kcal/mol avec la création de quatre liaisons H avec les acides aminés Glu166, His163, Cys145 et Asn142, une liaison Pi-Sigma avec les acides aminés Gln189, une liaison Pi-Pi T-Shaped avec les acides aminés His41, et une Liaison carbone-hydrogène avec les acides aminés Met165 (**Figure-03-02-B**) (**Tableau.02**).

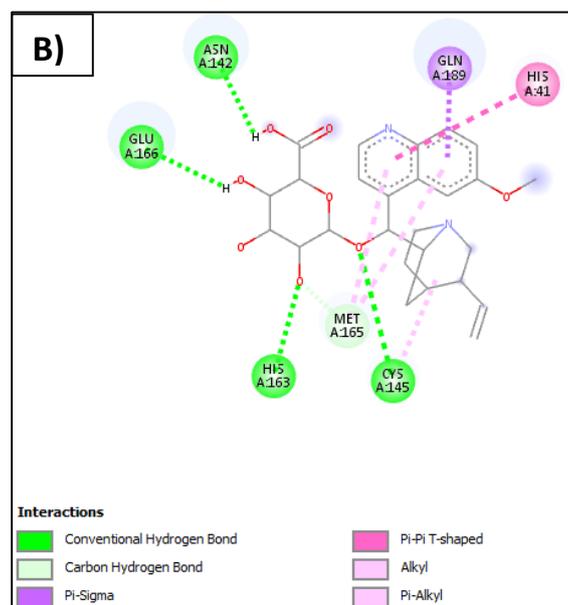
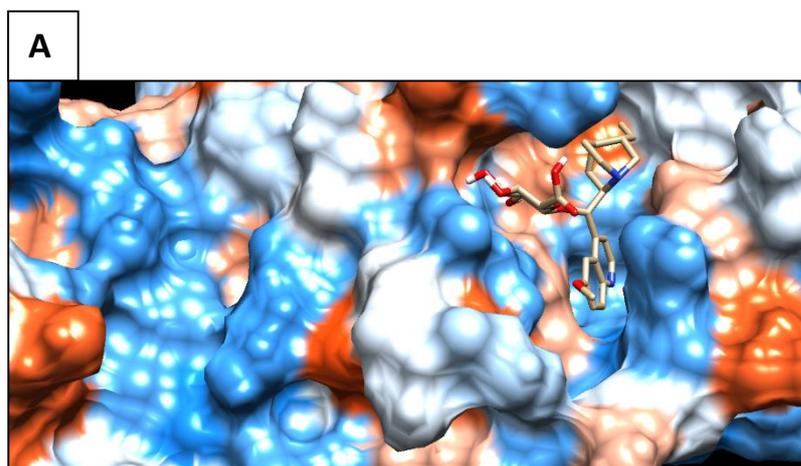


Figure-03-02. A) Image de surface de la Quinine glucuronide dans la fente du site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro. **B)** Interaction 2D de la Quinine glucuronide avec la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro (-8.2 kcal/mol).

L'O-(Tert-Butylcarbamoyl) quinine a présenté un score de liaison de -7.8 kcal/mol avec la création de trois liaisons H avec les acides aminés Cys145, His-164, His-41, une liaison Pi-Sulfur avec les acides aminés Cys145, et deux Liaison carbone-hydrogène avec les acides aminés Gln189, Asn142 (**Figure-03-03-B**) (**Tableau.02**).

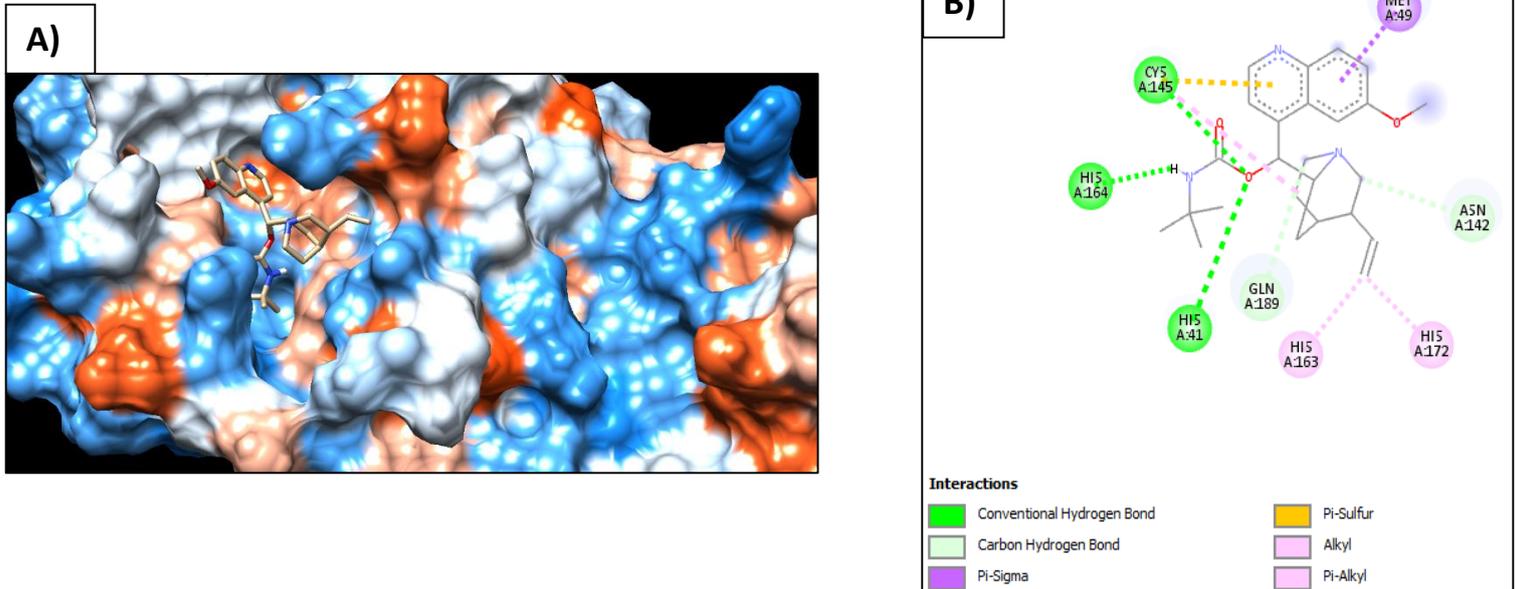


Figure-03-03

A) Image de surface de l'O-(Tert-Butylcarbamoyl) quinine dans la fente du site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro.

B) Interaction 2D de l'O-(Tert-Butylcarbamoyl) quinine avec la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro (-7.8kcal/mol).

La Quinine picrate a présenté un score de liaison de -7.7 kcal/mol avec la création d'une liaison H avec les acides aminés His41, trois liaisons Carbon Hydrogen avec les acides aminés Met165, Gly143, Thr25, et une liaison Pi-alkyl avec les acides aminés Met49 (**Figure-03-04-B**) (**Tableau.02**).

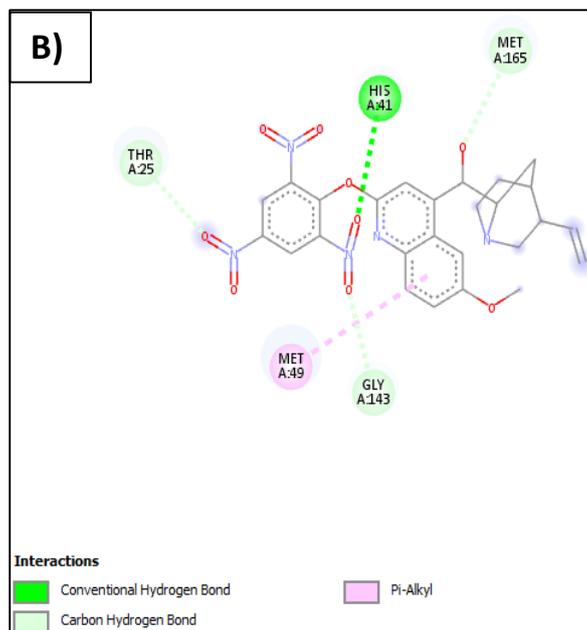
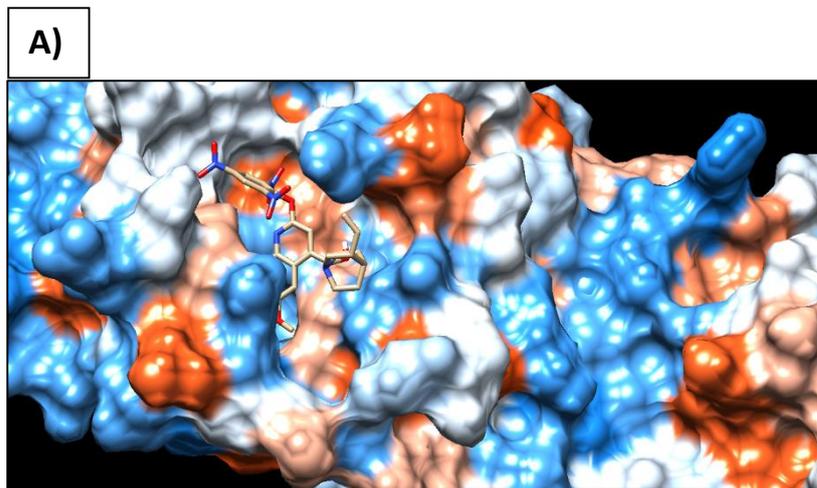


Figure-03-04

A) Image de surface de la Quinine picrate dans la fente du site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro.

B) Interaction 2D de la Quinine picrate avec la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro (-7.7kcal/mol).

L'O-Benzoylquinine a présenté un score de liaison de -7.6 kcal/mol avec la création de trois liaisons Pi-Cation avec les acides aminés Met49, His41, Cys145, et deux liaisons Pi-Pi T-Shaped avec les acides aminés His172 et His163 (**Figure-03-05-B**) (**Tableau.02**).

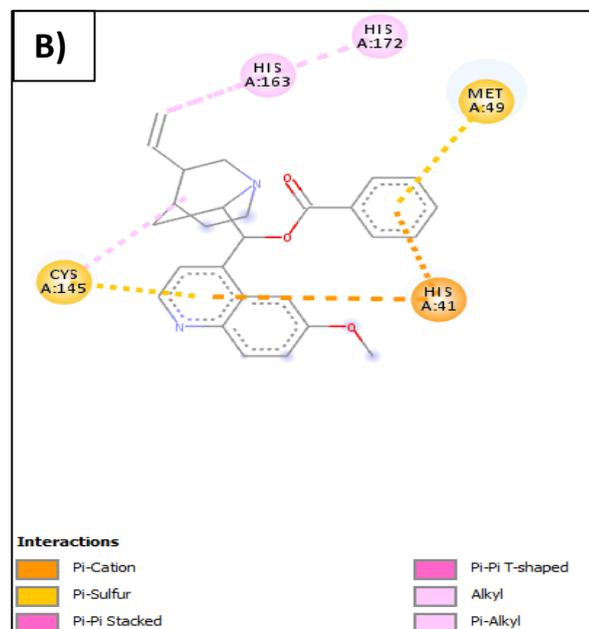
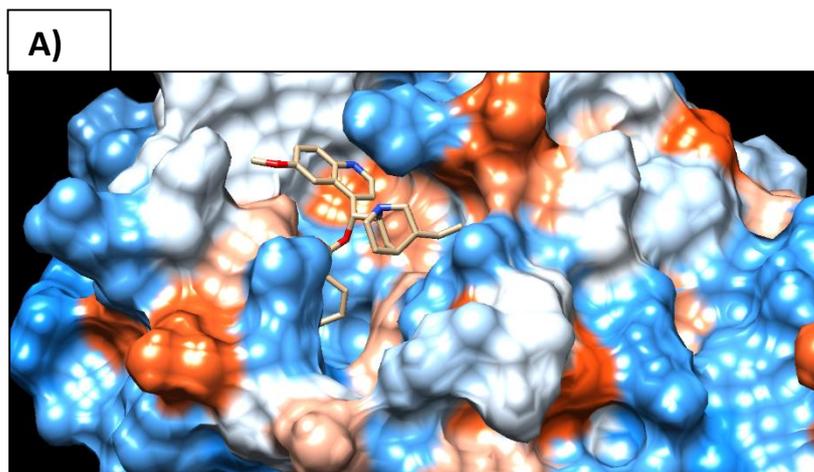


Figure-03-05. A) Image de surface de L'O-Benzoylquinine dans la fente du site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro. **B)** Interaction 2D de L'O-Benzoylquinine avec la protéase principale du SARS-CoV-2 Mpro (-7.6 kcal/mol).

L'existence d'interactions hydrophobes et de liaisons hydrogène a été observée entre la protéase principale et les ligands que nous avons sélectionnés. De plus, une quantité significative d'acides aminés figure dans ces interactions. En effet, l'interaction hydrophobe réussit à mettre en évidence des groupes fonctionnels spécifiques pouvant être à l'origine de l'effet de formation d'hydrophobes de ces composés ayant une grande affinité de liaison avec les protéines cibles et pouvant ainsi avoir un rôle majeur dans la lutte contre l'infection par le SARS-CoV-2. En outre, il a été constaté que ces interactions hydrophobes et ces liaisons hydrogènes permettaient une liaison forte et puissante entre les atomes des ligands et les molécules de protéines [84]. Ce lien ligand-protéine révèle aussi une bonne valeur de l'énergie libre de liaison entre la protéine et les ligands.

3.2. Propriétés pharmacocinétiques

Les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des 5 principaux ligands (**Figure-03**) ont été évaluées à l'aide de l'outil SwissADME (**figure-04**) en vue de déterminer le potentiel pharmacologique de chacun de ces composés sur la base de la règle des cinq de Lipinski (**tableau 3**).

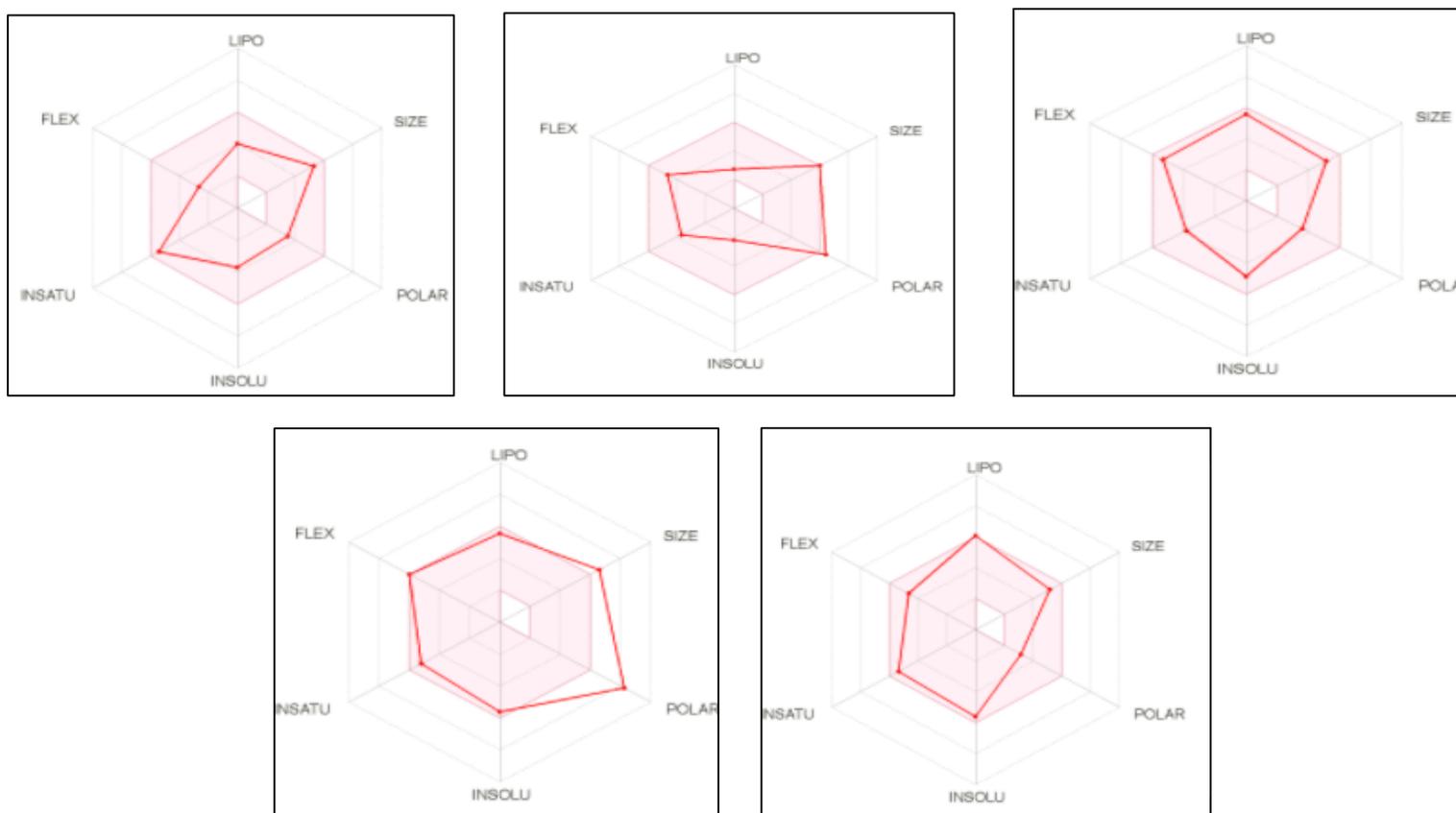


Figure-04. Les Propriétés ADME des 5 principaux ligands antiviraux : L'Indole-5,6-quinine, la Quinine glucuronide, L'O-(Tert-Butylcarbamoyle) quinine, La Quinine picrate et L'O-Benzoylquinine. La région rose illustre la gamme optimale pour chaque propriété.

CID	ΔG	Log p	MW	CSP3	WS	Veber	
						PSA	nrotb
Indole-5,6-quinine	-8.3	1.55	437.53	0.32	-3.96	61.38	4
Quinine glucuronide	-8.2	-0.75	500.54	0.54	-2.21	141.81	7
O-(Tert-Butylcarbamoyle) quinine	-7.8	4.27	423.55	0.52	-4.87	63.69	8
Quinine picrate	-7.7	4.23	551.50	0.35	-5.63	192.28	9
O-Benzoylquinine	-7.6	5.11	428.52	0.33	-5.62	51.66	7

Tableau-03 Propriétés pharmacocinétiques des médicaments en voie de réadaptation.

Ce tableau montre que sur les cinq conditions de la règle de Lipinski, il n'y en a que deux qui ne sont pas remplies pour la quinine glucuronide et la quinine picrate qui contiennent un poids moléculaire (MW) supérieur à 500 g/mol d'une part, et qui renferment du soufre et du phosphore en tant qu'atomes polaires représentés par une surface polaire (PSA) supérieure à 130Å² d'autre part, qui, grâce à cette dernière, entraîneront une absorption intestinale difficile. En revanche, tous les autres composés satisfont leurs propriétés en suivant la règle des 5 de Lipinski (**tableau 03**). Lipinski a établi un ensemble des règles destinées à estimer la biodisponibilité par voie orale d'un composé par le biais de sa structure bidimensionnelle (2D) et suggère que l'absorption sera probablement meilleure si la molécule valide au moins trois de ses conditions (MW < 500, NHs + OHs < 5, HBA < 10, HBD < 5, Un log P ≤ 5,5) [85].

Lors de cette étude, les critères supplémentaires de Veber ont été utilisés pour améliorer les prédictions de la productivité du médicament (**tableau 03**). Tous les composés ont un indice de rotation inférieur à 10 et de ce fait une très bonne biodisponibilité orale du médicament, ainsi qu'à l'exception du glucuronide de quinine et du picrate de quinine, les 3 composés indole-5,6-quinine, O-(Tert-Butylcarbamoyle) quinine et o-benzoyl quinine ont un score de surface polaire très favorable calculé par la méthode TPSA et de ce fait possèdent une meilleure corrélation de l'absorption intestinale.

De plus, par la fraction de carbones hybridés sp³ (Csp³) calculée par l'outil SwissADME, la complexité moléculaire des cinq composés a pu être mesurée et chacun d'entre eux est supérieur à 0,25 (**tableau 03**).

Dans le cadre de projets de découverte visant l'administration par voie orale, la solubilité est une propriété d'importance majeure qui influence l'absorption, SwissADME inclut une méthode topologique pour prédire la solubilité dans l'eau, qui représente une implémentation du modèle ESOL36 [86]. Les résultats de **tableau 03** ont révélé que les

composés ont une valeur log s ne dépassant pas 6 et sont donc entièrement solubles dans l'eau.

La lipophilie d'un composé organique peut être exprimée au moyen d'un coefficient de partage log P, qui révèle l'écart relatif au sein du corps humain entre la solubilité dans l'eau et l'absorption intestinale d'un substrat [87]. Dans SwissADME, la valeur XLOGP3 est utilisée comme descripteur de la lipophilie et doit être comprise entre -0,7 et +6,0. Selon les résultats des tableaux ci-dessous, les valeurs de XLOGP3 sont toutes inférieures à 6,0.

3.3 Simulation de la dynamique moléculaire (DM)

Les techniques de docking sont habituellement peu précises et ne peuvent être mises en œuvre que rapidement. Ils ne tiennent cependant pas compte de la flexibilité des protéines, ce qui peut affecter la précision du complexe ligand-protéine résultant. Des techniques de simulation de dynamique moléculaire plus précises pourraient donc s'avérer un meilleur complément au docking. Il s'agit d'une technique informatique (in-silico) prouvée et efficace permettant de recueillir des données dynamiques avec une résolution spatiale atomique. Elle est habituellement employée afin de déterminer le mouvement des macromolécules, en se fondant sur la mécanique traditionnelle et les équations newtoniennes du mouvement qui permettent de mesurer la position et la vitesse de tous les atomes du système étudié. Par conséquent, la dynamique moléculaire effectue un contrôle situationnel et conformationnel d'une manière plus approfondie qu'un docking, décrivant ainsi avec plus de précision le mouvement des protéines. Au regard des éléments exposés ci-dessus, Les complexes Mpro amarrés avec les deux principaux composés qui présentaient une haute affinité et une faible énergie de liaison : L'Indole-5,6-quinine et la quinine glucuronide ont été sujets à des simulations de dynamique moléculaire durant 10 ns en vue d'analyser la stabilité des complexes.

En effet, on utilise souvent le graphique RMSD dans le but de connaître la stabilité d'un complexe, en sachant que plus la RMSD est faible, plus la stabilité de la protéine est importante [88]. De ce fait, l'effet des deux meilleurs ligands sur la stabilité conformationnel de la Mpro pendant les simulations a été étudié, et les résultats ont été tracés dans la **Figure-05**.

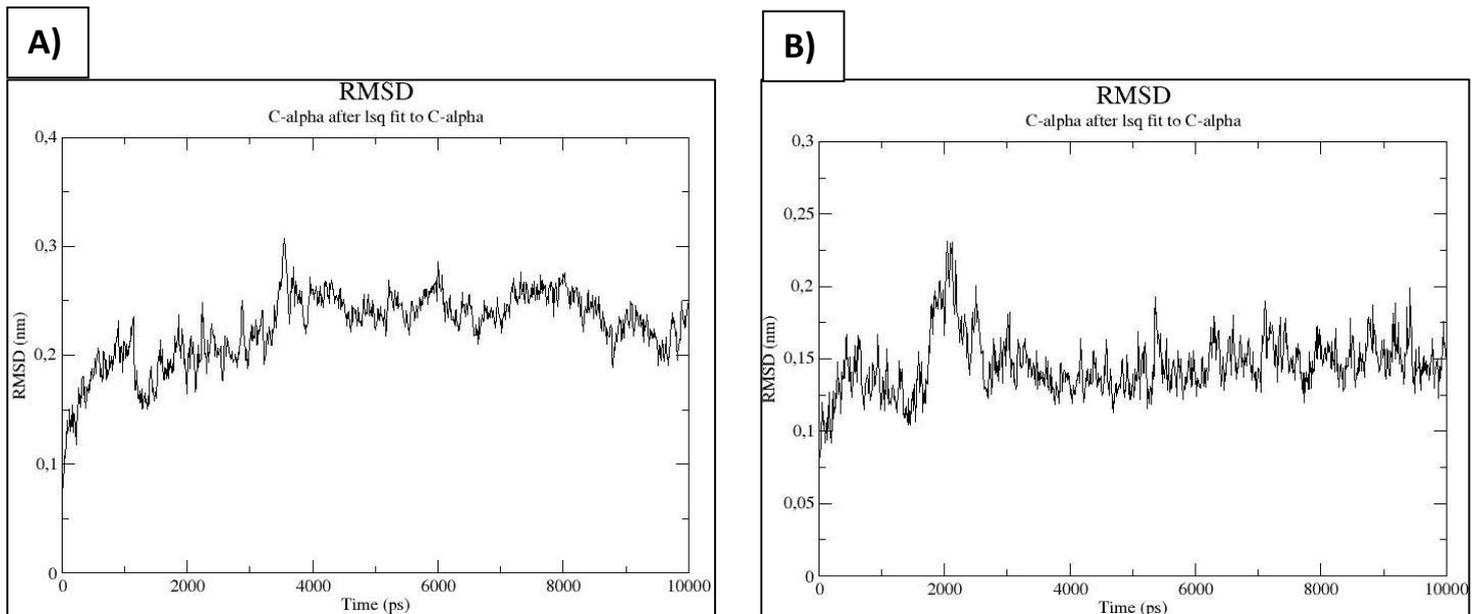


Figure-05 Graphiques RMSD pour le complexe Mpro avec l'Indole-5,6-quinine **(A)** et la Quinine glucuronide **(B)** pendant 10 ns.

Lors de la simulation de 10 ns, La Mpro en complexe avec la quinine glucuronide a montré une RMSD plus stable autour de 0.15 nm. Tandis que Le deuxième complexe du Mpro avec l'Indole-5,6-quinine a subi une légère augmentation de la valeur RMSD jusqu'à 0,30 nm ; puis après 4ns une gamme stable et constante de RMSD s'observe entre 0,20 nm et 0,25 nm. L'existence de ces différences de squelette RMSD dans l'Indole-5,6-quinine indique que la Mpro subit des changements de conformation, Ainsi, la quinine glucuronide stabilise mieux la protéine que l'Indole-5,6-quinine.

D'autre part, on se sert du graphique RMSF à des fins de compréhension de la flexibilité structurale **Figure-06**. En effet, des renseignements significatifs sur la stabilité du complexe sont apportés par les trajectoires RMSF. Lorsque les fluctuations de la trajectoire sont importantes, cela correspond à une flexibilité accrue et à des liaisons peu stables. À l'inverse, si la valeur est faible ou que l'on observe des fluctuations légères, cela révèle qu'il existe des zones correctement structurées au sein du complexe, d'où une déformation réduite.

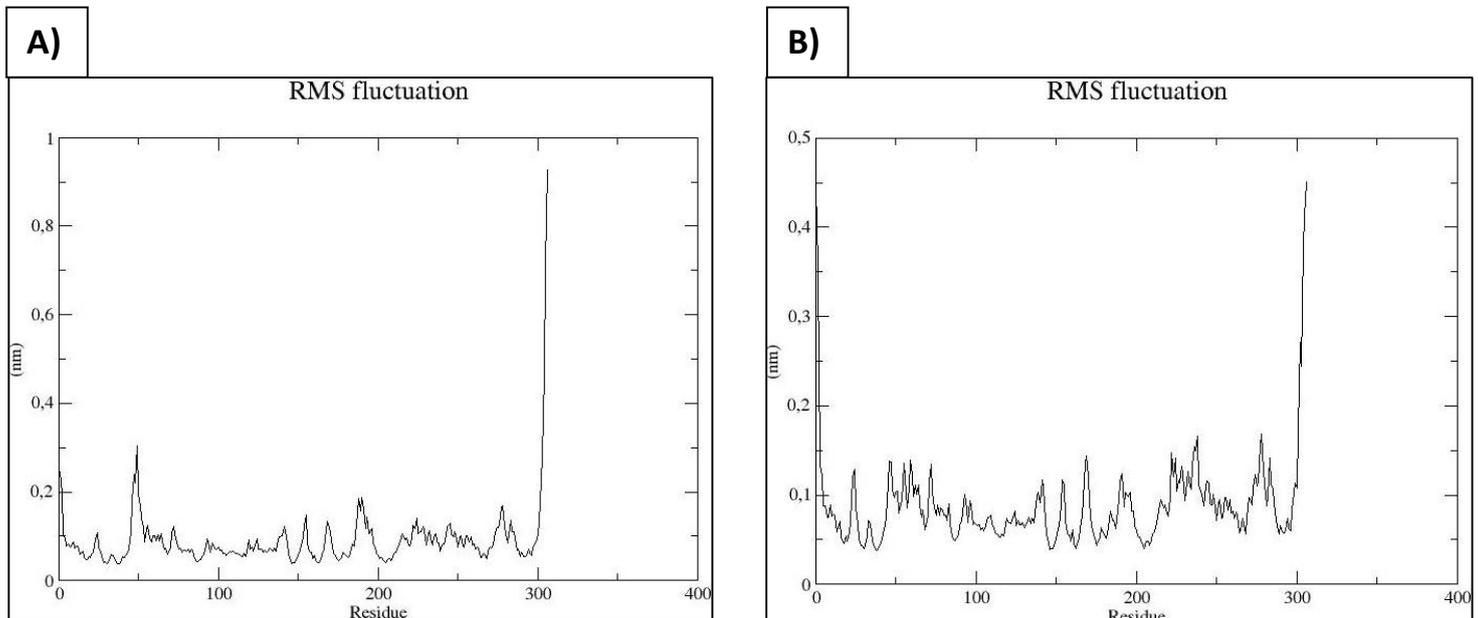


Figure-06 Graphiques RMSF pour le complexe Mpro avec l'Indole-5,6-quinine **(A)** et la Quinine glucuronide **(B)** pendant 10 ns.

La valeur RMSF du complexe de la Mpro avec l'Indole-5,6-quinine est demeurée en dessous de 0,3 nm tout au long de la simulation, alors que le second complexe de la quinine glucuronide n'a pas dépassé 0,2 nm. En revanche, C'est au niveau des résidus Met en position 49 et GLN 189 que sont observées les deux fluctuations maximales du RMSF du complexe de l'Indole-5,6-quinine, lequel est plutôt stable pendant la simulation MD. L'étude du complexe de la quinine glucuronide a également donné de bons résultats avec une faible fluctuation, Où la valeur RMSF la plus élevée a été observée au niveau des résidus ASN 238 et GLY 278. Nous remarquons parmi ces résidus en fluctuation, celui du MET 49 se trouve dans le domaine catalytique I, ainsi que le résidu GLN 189 qui borde la cavité du site actif.

Par la suite, Le graphiques Rg est tracé en fonction du temps de façon à identifier la compacité du système. **Figure-07**

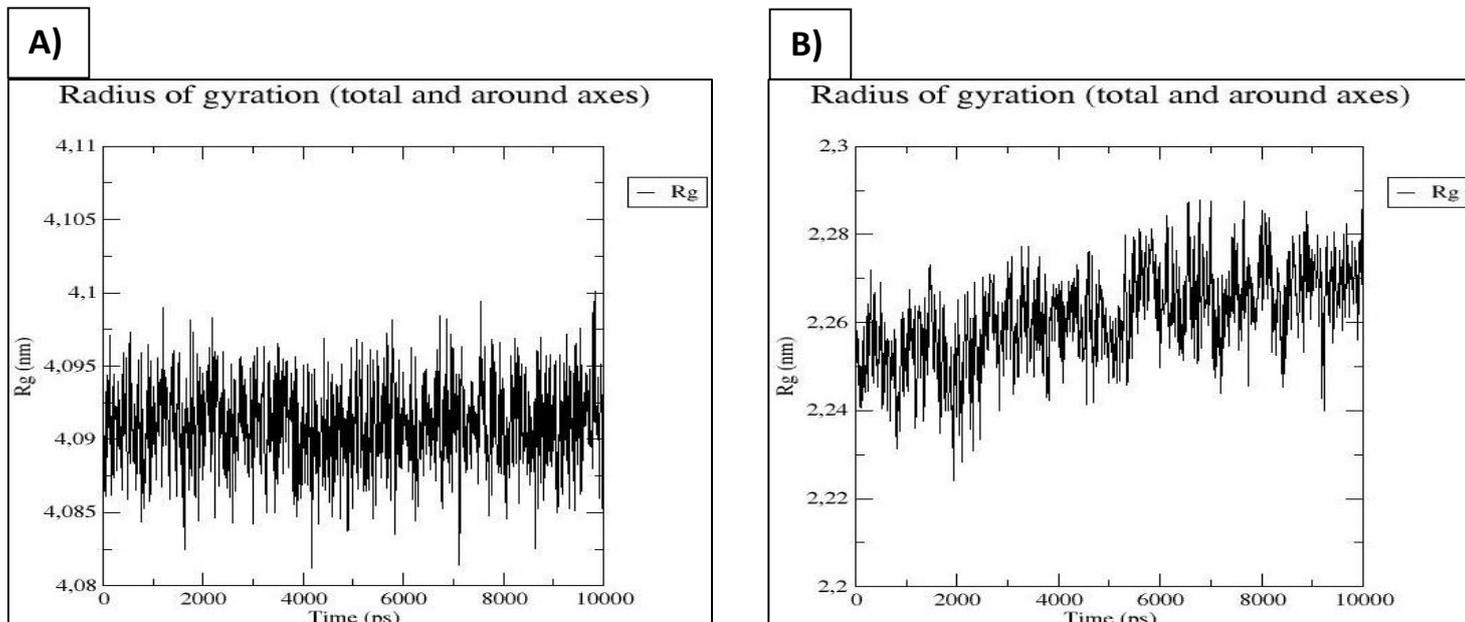


Figure-07 Graphiques Rg pour le complexe de la Mpro avec l'Indole-5,6-quinine **(A)** et la Quinine glucuronide **(B)** pendant 10 ns.

En effet, lorsque les valeurs Rg sont plus importantes et qu'elles présentent un degré de fluctuation significatif, cela signale une compacité réduite avec la conformation entropique. À l'inverse, des valeurs Rg basses, qui fluctuent faiblement et régulièrement tout au long de la simulation, correspondent à une grande compacité témoignant d'une stabilité et d'une rigidité importante de la structure, soit un nombre plus important de plis.

Pour le complexe de la Mpro avec l'Indole-5,6-quinine **Figure-07 (A)**, les valeurs de simulation Rg varient entre 0.408 et 0.41 nm. Cette légère variation du Rg démontre la stabilité de la protéine dans le complexe. En revanche, le complexe de la quinine glucuronide paraît avoir des valeurs de simulation Rg plus basses **Figure-07 (B)**, où elles ont varié entre 0,222 et 0,229 nm, indiquant là aussi une stabilité et une rigidité satisfaisantes. Par conséquent, l'analyse des valeurs Rg des deux complexes, à savoir l'Indole-5,6-quinine et la quinine glucuronide démontre donc une stabilité et une rigidité de la Mpro au sein de cette paire de complexes, ce qui laisse penser que la liaison de l'Indole-5,6-quinine et de la quinine glucuronide ne génère pas de modifications structurales.

Les liaisons hydrogène sont indispensables à l'identification de la puissance de liaison existant entre un ligand et une protéine. Par conséquent nous avons déterminé le nombre de ces liaisons hydrogène intermoléculaires dans les deux complexes ligand-protéine. **Figure-08**.

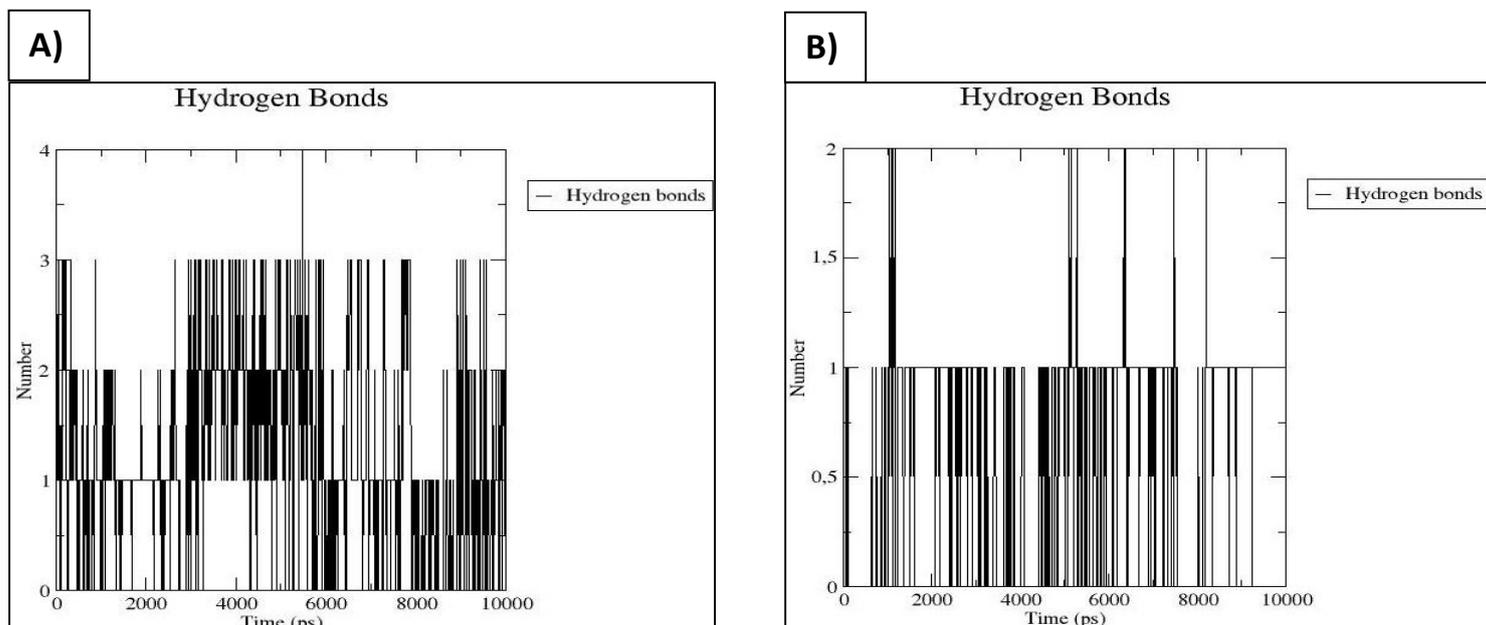


Figure-08 Liaisons hydrogène pour le complexe de la Mpro avec l'Indole-5,6-quinine **(A)** et la Quinine glucuronide **(B)** pendant 10 ns.

L'indole-5,6-quinine **Figure-08 (A)** présente une série constante de liaisons hydrogène allant jusqu'à 3 durant toute la simulation. De même, la quinine glucuronide **Figure-08 (B)** présente elle aussi une gamme de liaisons hydrogène constante variant de zéro à un au fil de la simulation. Ces remarques laissent penser que le complexe de la protéine Mpro avec les deux composés était stable lors de la simulation.

Cependant, on a constaté que le complexe de la quinine glucuronide était plus stable et constituait par conséquent un excellent candidat en tant que médicament potentiel pour l'inhibition de la protéine Mpro.

Conclusion

L'infection potentiellement mortelle par le coronavirus suscite plusieurs études utilisant des traitements médicamenteux antiviraux dans le cadre de la campagne de lutte contre cette maladie. La présente étude avait pour but de mettre en évidence des composés naturels susceptibles d'être des agents antiviraux potentiels par le biais de l'inhibition de la Mpro du SARS-CoV-2 (PDB Id : 6LU7), ce qui permet de neutraliser sa prolifération. Vingt et un composés naturels potentiels ont été étudiés, en utilisant avec succès les outils de docking moléculaire et de dynamique moléculaire ainsi que leurs propriétés pharmacologiques (ADME), afin de déterminer les composants les plus efficaces contre cette protéase. On a effectué l'amarrage en utilisant l'outil Vina de Chimera et Discovery Studio Visualizer pour élucider les interactions entre les ligands et la Mpro. Les résultats indiquent que l'Indole-5,6-quinine, le glucuronide de quinine, l'O- (Tert-Butylcarbamoyle) quinine, la quinine picrate et l'O-Benzoylquinine ont une énergie de liaison élevée (-8.3, -8.2, -7.8, -7.7 et -7.6 respectivement kcal/mol) légèrement plus élevées que celle de l'inhibiteur N3 (Co-cristallisé avec la Mpro) et que leur capacité de liaison était la plus élevée, Ainsi les ligands interagissent de manière récurrente avec les résidus catalytiques Cys145 et His41 de la protéase majeure, ou au moins l'un d'entre eux. Il est évident que la liaison des dérivés naturels de la quinine est vraisemblablement plus importante que celle de l'inhibiteur N3 Co-cristallisé, ce qui prouve leur capacité à inhiber le SARS-CoV-2 Mpro, de sorte qu'ils pourraient constituer un excellent candidat dans le cadre de la lutte contre le COV19.

Référence

1. Hu, B., et al., *Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19*. Nature Reviews Microbiology, 2020: p. 1-14.
2. Chan, J.F.-W., et al., *A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster*. The lancet, 2020. **395**(10223): p. 514-523.
3. Zhou, P., et al., *A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin*. nature, 2020. **579**(7798): p. 270-273.
4. Amir, I.J. and Z. Lebar, *Covid-19: virologie, épidémiologie et diagnostic biologique*. Option/Bio, 2020. **31**(619): p. 15.
5. Dong, Y., et al., *Epidemiology of COVID-19 among children in China*. Pediatrics, 2020. **145**(6).
6. Organization, W.H., *WHO coronavirus disease (COVID-19) dashboard <https://covid19.who.int>*. Accessed July, 2020. **29**.
7. Wu, Y., et al., *SARS-CoV-2 is an appropriate name for the new coronavirus*. The lancet, 2020. **395**(10228): p. 949-950.
8. Organization, W.H., *Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it*, 2020.
9. Organization, W.H., *WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19-11 March 2020*, 2020, Geneva, Switzerland.
10. Organization, W.H., *Coronavirus disease (COVID-19): How is it transmitted*, 2020, Recuperado de <https://www.who.int/emergencies/diseases/novelcoronavirus>
11. Fani, M., A. Teimoori, and S. Ghafari, *Comparison of the COVID-2019 (SARS-CoV-2) pathogenesis with SARS-CoV and MERS-CoV infections*. Future Virology, 2020. **15**(5): p. 317-323.
12. Stadnytskyi, V., et al., *The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020. **117**(22): p. 11875-11877.
13. Van Doremalen, N., et al., *Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1*. New England journal of medicine, 2020. **382**(16): p. 1564-1567.
14. Lu, C.-w., X.-f. Liu, and Z.-f. Jia, *2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored*. Lancet (London, England), 2020. **395**(10224): p. e39.
15. Wu, Y., et al., *Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples*. The lancet Gastroenterology & hepatology, 2020. **5**(5): p. 434-435.
16. Vahey, G.M., et al., *Symptom profiles and progression in hospitalized and nonhospitalized patients with coronavirus disease, Colorado, USA, 2020*. Emerging infectious diseases, 2021. **27**(2): p. 385.
17. Zhou, Z., et al., *Clinical characteristics of older and younger patients infected with SARS-CoV-2*. Aging (Albany NY), 2020. **12**(12): p. 11296.
18. Liguoro, I., et al., *SARS-COV-2 infection in children and newborns: a systematic review*. European Journal of Pediatrics, 2020. **179**: p. 1029-1046.
19. Yu, C., et al., *Epidemiological and clinical characteristics of 1663 hospitalized patients infected with COVID-19 in Wuhan, China: a single-center experience*. Journal of infection and public health, 2020. **13**(9): p. 1202-1209.
20. Guan, W.-j., et al., *Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China*. New England journal of medicine, 2020. **382**(18): p. 1708-1720.
21. Zheng, Y., et al., *Epidemiological and clinical characteristics analysis of COVID-19 in the surrounding areas of Wuhan, Hubei Province in 2020*. Pharmacological research, 2020. **157**: p. 104821.
22. Organization, W.H., *Coronavirus disease (COVID-19): breastfeeding*. World Health Organization. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus->

- 2019/question-and-answers-hub/qa-detail/coronavirus-disease-covid-19-breastfeeding. Published May, 2020. **7**.
23. Xu, X., et al., *Imaging and clinical features of patients with 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2*. European journal of nuclear medicine and molecular imaging, 2020. **47**(5): p. 1275-1280.
 24. Chen, N., et al., *Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study*. The lancet, 2020. **395**(10223): p. 507-513.
 25. Kronbichler, A., et al., *Asymptomatic patients as a source of COVID-19 infections: A systematic review and meta-analysis*. International journal of infectious diseases, 2020. **98**: p. 180-186.
 26. Mizumoto, K., et al., *Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020*. Eurosurveillance, 2020. **25**(10): p. 2000180.
 27. Nishiura, H., et al., *Estimation of the asymptomatic ratio of novel coronavirus infections (COVID-19)*. International journal of infectious diseases, 2020. **94**: p. 154.
 28. Singhal, S., et al., *Clinical features and outcomes of COVID-19 in older adults: a systematic review and meta-analysis*. BMC geriatrics, 2021. **21**(1): p. 1-9.
 29. Chen, H., et al., *Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records*. The lancet, 2020. **395**(10226): p. 809-815.
 30. Vivanti, A.J., et al., *Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection*. Nature communications, 2020. **11**(1): p. 1-7.
 31. Yüce, M., E. Filiztekin, and K.G. Özkaya, *COVID-19 diagnosis—A review of current methods*. Biosensors and Bioelectronics, 2020: p. 112752.
 32. Cascella, M., et al., *Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19)*. StatPearls, 2021.
 33. *COVID-19 Vaccine & Therapeutics Tracker*. 2021; Available from: <https://biorender.com/covid-vaccine-tracker>
 34. Figueroa, J.P., et al., *Urgent needs of low-income and middle-income countries for COVID-19 vaccines and therapeutics*. The lancet, 2021. **397**(10274): p. 562-564.
 35. Jia, H., E. Neptune, and H. Cui, *Targeting ACE2 for COVID-19 Therapy: Opportunities and Challenges*. American journal of respiratory cell and molecular biology, 2021. **64**(4): p. 416-425.
 36. Elmezayen, A.D., et al., *Drug repurposing for coronavirus (COVID-19): in silico screening of known drugs against coronavirus 3CL hydrolase and protease enzymes*. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2020: p. 1-13.
 37. Hillen, H.S., *Structure and function of SARS-CoV-2 polymerase*. Current Opinion in Virology, 2021.
 38. Llanes, A., et al., *Betacoronavirus genomes: how genomic information has been used to Deal with past outbreaks and the COVID-19 pandemic*. International journal of molecular sciences, 2020. **21**(12): p. 4546.
 39. Khan, M.I., et al., *Comparative genome analysis of novel coronavirus (SARS-CoV-2) from different geographical locations and the effect of mutations on major target proteins: An in silico insight*. PLoS One, 2020. **15**(9): p. e0238344.
 40. Cui, J., F. Li, and Z.-L. Shi, *Origin and evolution of pathogenic coronaviruses*. Nature Reviews Microbiology, 2019. **17**(3): p. 181-192.
 41. Agrawal, A., et al., *Molecular docking study to identify potential inhibitor of covid-19 main protease enzyme: An in-silico approach*. 2020.
 42. Éric Caumes, <[SARS-CoV-2, une leçon d’histoire.pdf](#)>. 2021.
 43. Okba, N.M., et al., *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2– specific antibody responses in coronavirus disease patients*. Emerging infectious diseases, 2020. **26**(7): p. 1478-1488.

44. Zhang, Y.-Z. and E.C. Holmes, *A genomic perspective on the origin and emergence of SARS-CoV-2*. Cell, 2020. **181**(2): p. 223-227.
45. V'kovski, P., et al., *Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2*. Nature Reviews Microbiology, 2020: p. 1-16.
46. Li, F., *Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins*. Annual review of virology, 2016. **3**: p. 237-261.
47. Ou, X., et al., *Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV*. Nature communications, 2020. **11**(1): p. 1-12.
48. Liu, Z., et al., *Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2*. Journal of medical virology, 2020. **92**(6): p. 595-601.
49. Hillen, H.S., et al., *Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase*. nature, 2020. **584**(7819): p. 154-156.
50. Jiang, Y., W. Yin, and H.E. Xu, *RNA-dependent RNA polymerase: Structure, mechanism, and drug discovery for COVID-19*. Biochemical and biophysical research communications, 2021. **538**: p. 47-53.
51. Xu, X., et al., *Molecular model of SARS coronavirus polymerase: implications for biochemical functions and drug design*. Nucleic acids research, 2003. **31**(24): p. 7117-7130.
52. Morse, J.S., et al., *Learning from the past: possible urgent prevention and treatment options for severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV*. Chembiochem, 2020. **21**(5): p. 730-738.
53. Anand, K., et al., *Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs*. Science, 2003. **300**(5626): p. 1763-1767.
54. Dömling, A. and L. Gao, *Chemistry and biology of SARS-CoV-2*. Chem, 2020. **6**(6): p. 1283-1295.
55. Hu, T., et al., *Two adjacent mutations on the dimer interface of SARS coronavirus 3C-like protease cause different conformational changes in crystal structure*. Virology, 2009. **388**(2): p. 324-334.
56. Chandel, V., et al., *In silico identification of potent COVID-19 main protease inhibitors from FDA approved antiviral compounds and active phytochemicals through molecular docking: A drug repurposing approach*. 2020.
57. Grottesi, A., et al., *Computational Studies of SARS-CoV-2 3CLpro: Insights from MD Simulations*. International journal of molecular sciences, 2020. **21**(15): p. 5346.
58. ul Qamar, M.T., et al., *Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants*. Journal of pharmaceutical analysis, 2020. **10**(4): p. 313-319.
59. Yang, H., et al., *The crystal structures of severe acute respiratory syndrome virus main protease and its complex with an inhibitor*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003. **100**(23): p. 13190-13195.
60. Absalan, A., et al., *Computation screening and molecular docking of FDA approved viral protease inhibitors as a potential drug against COVID-19*. Gastroenterology and hepatology from bed to bench, 2020. **13**(4): p. 355.
61. Muramatsu, T., et al., *SARS-CoV 3CL protease cleaves its C-terminal autoprocessing site by novel subsite cooperativity*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016. **113**(46): p. 12997-13002.
62. Organization, W.H., *COVID-19 Weekly Epidemiological Update, 13 April 2021*. 2021.
63. Younis, N.K., et al., *Hydroxychloroquine in COVID-19 Patients: Pros and Cons*. Frontiers in pharmacology, 2020. **11**: p. 1798.
64. Li, C.-C., X.-J. Wang, and H.-C.R. Wang, *Repurposing host-based therapeutics to control coronavirus and influenza virus*. Drug discovery today, 2019. **24**(3): p. 726-736.
65. Liu, A.-L. and G.-H. Du, *Antiviral properties of phytochemicals*, in *Dietary phytochemicals and microbes2012*, Springer. p. 93-126.

66. Newman, D.J. and G.M. Cragg, *Natural products as sources of new drugs over the last 25 years*. Journal of natural products, 2007. **70**(3): p. 461-477.
67. Khaerunnisa, S., et al., *Potential inhibitor of COVID-19 main protease (Mpro) from several medicinal plant compounds by molecular docking study*. 2020.
68. Enmozhi, S.K., et al., *Andrographolide as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease: An in silico approach*. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2021. **39**(9): p. 3092-3098.
69. Narkhede, R.R., et al., *Recognition of natural products as potential inhibitors of COVID-19 main protease (Mpro): In-silico evidences*. Natural products and Bioprospecting, 2020. **10**(5): p. 297-306.
70. Ghosh, R., et al., *Evaluation of green tea polyphenols as novel corona virus (SARS CoV-2) main protease (Mpro) inhibitors—an in silico docking and molecular dynamics simulation study*. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2020: p. 1-13.
71. Achan, J., et al., *Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria*. Malaria journal, 2011. **10**(1): p. 1-12.
72. Boratyński, P.J., M. Zielińska-Błajet, and J. Skarzewski, *Cinchona Alkaloids—Derivatives and Applications*. The Alkaloids: Chemistry and Biology, 2019. **82**: p. 29-145.
73. Organization, W.H., *WHO model list of essential medicines: 18th list, April 2013*. 2013.
74. *Researchers Determine Structure of SARS-CoV-2 Main Protease and Identify Inhibitors*. Technology Networks April 14 2020; Available from: <https://www.technologynetworks.com/drug-discovery/news/researchers-determine-structure-of-sars-cov-2-main-protease-and-identify-inhibitors-333300>.
75. Pettersen, E.F., et al., *UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis*. Journal of computational chemistry, 2004. **25**(13): p. 1605-1612.
76. Trott, O. and A.J. Olson, *AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading*. Journal of computational chemistry, 2010. **31**(2): p. 455-461.
77. Studio, D., *Discovery Studio*. Accelrys [2.1], 2008.
78. Visualizer, D.S., *V 16.1. 0*, AccelrysInc. San Diego, 2016.
79. Kutzner, C., et al., *More bang for your buck: Improved use of GPU nodes for GROMACS 2018*. Journal of computational chemistry, 2019. **40**(27): p. 2418-2431.
80. Abraham, M.J., et al., *GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers*. SoftwareX, 2015. **1**: p. 19-25.
81. Benson, N.C. and V. Daggett, *A comparison of multiscale methods for the analysis of molecular dynamics simulations*. The Journal of Physical Chemistry B, 2012. **116**(29): p. 8722-8731.
82. Vennelakanti, V., et al., *When are two hydrogen bonds better than one? Accurate first-principles models explain the balance of hydrogen bond donors and acceptors found in proteins*. Chemical Science, 2021. **12**(3): p. 1147-1162.
83. Wanwimolruk, S., et al., *Metabolism of quinine in man: identification of a major metabolite, and effects of smoking and rifampicin pretreatment*. Journal of pharmacy and pharmacology, 1995. **47**(11): p. 957-963.
84. Pushpendra, S., P.P. Kushwaha, and K. Shashank, *Novel potent inhibitors of Plasmodium vivax dihydrofolate reductase: an in silico anti-malarial drug discovery*. IJPER, 2018. **52**(1): p. 122-134.
85. Lipinski, C.A., et al., *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings*. Advanced drug delivery reviews, 1997. **23**(1-3): p. 3-25.
86. Daina, A., O. Michielin, and V. Zoete, *SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules*. Scientific reports, 2017. **7**(1): p. 1-13.

87. Leo, A., C. Hansch, and D. Elkins, *Partition coefficients and their uses*. Chemical reviews, 1971. **71**(6): p. 525-616.
88. Aier, I., P.K. Varadwaj, and U. Raj, *Structural insights into conformational stability of both wild-type and mutant EZH2 receptor*. Scientific reports, 2016. **6**(1): p. 1-10.

Résumé

Le COVID-19, une maladie mortelle apparue à Wuhan, dans le centre de la Chine, en décembre 2019 et qui s'est répandue dans plus de 170 pays à ce jour. L'inexistence de médicaments ou de vaccins peu onéreux pour lutter contre le SARS-CoV-2 a aggravé la situation. C'est pourquoi le développement d'une thérapie efficace et peu coûteuse contre le COVID-19 est une priorité qui a intensifié la recherche.

Cette étude a été conçue pour évaluer l'efficacité des dérivés naturels de la quinine contre le SARS-CoV-2 en utilisant des méthodes de docking moléculaire et de dynamique moléculaire.

Afin d'estimer le potentiel inhibiteur de ces composés, des études de docking moléculaire ont été réalisées en utilisant autodock vina. Un total de 21 composés dérivés de la quinine a été docké avec la protéase principale du SARS-CoV-2 : la Mpro (PDB Id : 6LU7). Cinq composés : L'Indole-5,6-quinine, la quinine glucuronide, l'O-(Tert-Butylcarbamoyle) quinine, la quinine picrate et l'O-Benzoyl quinine ont montré les plus grandes affinités (-8.3 kcal/mol, -8.2, -7.8, -7.7, -7.6 respectivement) envers cette protéase faisant preuve d'un potentiel d'inhibition élevé.

Dans le but d'évaluer la stabilité et le comportement dynamique de la protéine en complexe avec les deux meilleurs résultats obtenus au cours du docking, on a pratiqué des simulations de dynamique moléculaire. Nos résultats indiquent que l'Indole-5,6-quinine et la quinine glucuronide sont des inhibiteurs potentiels de la protéase principale du virus.

Mots clés : COVID-19, SARS-CoV-2, dérivés naturels de la quinine, docking moléculaire, dynamique moléculaire, l'Indole-5,6-quinine et la quinine glucuronide.

Abstract

COVID-19 is a deadly disease that emerged in Wuhan, central China, in December 2019 and has spread to over 170 countries to date. The lack of inexpensive drugs or vaccines to combat SRAS-CoV-2 has made the situation worse. Therefore, the development of an effective and inexpensive therapy against SRAS-CoV-2 is a priority that has intensified research.

This study was designed to evaluate the efficacy of natural quinine derivatives against SARS-CoV-2 using molecular docking and molecular dynamics methods.

To estimate the inhibitory potential of these compounds, molecular docking studies were performed using autodock vina. A total of 21 quinine-derived compounds were docked with the main protease of SRAS-CoV-2 : Mpro (PDB Id : 6LU7). Five compounds : Indole-5,6-quinine, quinine glucuronide, O-(Tert-Butylcarbamoyle) quinine, quinine picrate and O-Benzoyl quinine showed the highest affinities (-8.3, -8.2, -7.8, -7.7, -7.6 kcal/mol respectively) towards this protease showing a high inhibition potential.

In order to evaluate the stability and dynamic behavior of the protein in complex with the two best results obtained during docking, molecular dynamics simulations were performed. Our results indicate that Indole-5,6-quinine and quinine glucuronide are potential inhibitors of the main protease of the virus.

Key Words : COVID-19, SRAS-CoV-2, natural quinine derivatives, molecular docking, molecular dynamics, Indole-5,6-quinine and quinine glucuronide.

المخلص

إستبان كوفيد 19 كمرض مميت في ووهان وبالتحديد في قعر الصين وذلك في التاريخ الموافق ل ديسمبر 2019 حيث تجلى وإلى حد الساعة في أزيد من 170 دولة. إن عسرة توافر الأدوية أو اللقاحات الغير مكلفة بغية مكافحة السارس كوفيد 2 قد ساهم في تفاقم الوضع. ولذلك يعتبر تطوير علاجات مفيدة وغير مكلفة أولية عملت على تكثيف البحث.

تم تصميم هذه الدراسة من أجل تقييم فعالية المشتقات الطبيعية الخاصة بالكينين ضد السارس كوفيد 2 وذلك بإستعمال أساليب الإلتحام الجزيئي والديناميكا الجزيئية.

من أجل تقدير إمكانية التثبيت لهذه المركبات، تم إجراء دراسات الإرساء الجزيئية و ذلك بإستخدام *autodock vina* , بحيث تم إرساء 21 من المركبات المشتقة من الكينين مع *M pro* التي تعتبر البروتياز الأساسية لسارس كوفيد 2 (PDB Id : 6LU7). أظهرت خمس مركبات: إندول-5,6-كينين، كينين غلوكورونيد، أو- (تيرت بوتيل كاربامويل) كينين، كينين بيكرات و أو-بنزويل كينين (-8.3، -8.2، -7.8، -7.7، -7.6 كيلو كالوري / مول على التوالي) أعلى درجات الإنجذاب تجاه هذه البروتياز مبرهنين بذلك إمكانية تثبيت عالية.

من أجل تقييم الاستقرار والسلوك الديناميكي للبروتين المركب مع أفضل نتيجتين تم الحصول عليهما أثناء الإرساء، قمنا بممارسة محاكاة الديناميكا الجزيئية. تشير نتائجنا إلى أن إندول-5,6-كينين و كينين جلوكورونيد هم عبارة عن مثبطات محتملة لبروتياز الفيروس الرئيسية.

الكلمات المفتاحية: كوفيد 19، السارس كوفيد 2، المشتقات الطبيعية الخاصة بالكينين، الإلتحام الجزيئي، الديناميكا الجزيئية إندول-5,6-كينين و كينين غلوكورونيد.