



Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie

**Mémoire
Présenté par**

Melle SOULIMANE lamia

Melle LACHACHI dallal

*En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biologie*

Filière : Sciences biologiques

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Intitulé du thème

Évaluation in silico de candidat anti-COVID-19 potentiel en tant qu'inhibiteur de la protéase principale du SRAS-CoV-2 : Cas d'analogue du Ritonavir

Soutenue le 29 juin 2022, devant le jury composé de :

Président	CHERRAK Ahmed Sabri	M.C.A	Université de Tlemcen
Examinatrice	GUERMOUCHE-BOUAYAD Baya	Professeur	Université de Tlemcen
Promotrice	DALI-SAHI Majda	Professeur	Université de Tlemcen

Année Universitaire: 2021-2022

Résumé

Introduction : La pandémie du Covid-19 causée par le nouveau syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus 2 (Sars-Cov-2) a eu un impact mondial sur les systèmes de santé et les individus. Le développement de médicaments efficaces était donc devenu une urgence sanitaire.

Objectif : l'objectif de notre travail est de développer un médicament potentiel anti covid19 et examiné in silico l'efficacité d'un analogue de structure ritonavir ayant une meilleure affinité pour la protéase principale 3- C-like proteinase (3CL pro) du sars cov 2

Matériel et méthode : Le récepteur a été téléchargé à partir de la base de données PDB (code : 7WO3) puis visualisé sur le logiciel Discovery Studio 2.5 . Les ligands ont été téléchargés à partir de la base de données PUBCHEM .La similarité de structures des analogues a été calculée par le score de TANIMOTO , en utilisant le Ritonavir comme ligand de référence approuvé par la Food and Drug Administration (FDA). L'amarrage moléculaire a été effectué avec le logiciel AutoDock Vina.

Résultats : Huit analogues avaient une affinité de liaison supérieure à celle du ritonavir . L'analogue 9 (C37H48N6O5S2) Compound CID: 5076 a été identifié comme ayant une affinité de liaison maximale de -7.1 (Min : -6.6 et Max : -7.3) avec un RMSD (2.722) . La pose (02) a été retenue comme étant la meilleure conformation. L'affinité du ritonavir pour la même cible (7wo3) 3CLpro (3C-like proteinase) du sars cov2 était bien inférieure : Affinité -6.0 (Min :-5.2 à Max : -6.1) avec un RMSD de 2.531. Le ritonavir se fixe au récepteur via ASP : 187, HIS : 41, GLU : 166 ,ASN : 142, GLN : 189 ,CYS : 145 . L'analogue 9 été fixé dans la poche de liaison du SARS-CoV-2 3clpro en formant plusieurs interactions (CYS : 145, GLY : 143, ASN : 142 ,THR : 26 ASN : 119, TYR : 118, LEU : 141, MET : 165 ,MET : 49, HIS : 41) Les plus importantes étaient les interactions de liaison communes avec le ritonavir : (CYS : 145 , ASN : 142 , et HIS : 41).

Le poids moléculaire de l'analogue 9 ,(semblable à celui du ritonavir de 720.9 g/mol) n'a pas respecté la règle de Lipinski . Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBD) et d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) a été respecté. Le log P indiquait que le composé était trop lipophile.

Conclusion :

Un nouvel analogue du ritonavir a été identifié. Il forme un complexe plus stable avec la protéine 3CLpro du sars cov2 ayant une affinité maximale et une meilleure conformation. Cette molécule pourrait être un candidat prometteur à fort potentiel pour contre la souche SARS-CoV-2

Mots clés :

Sars-cov2 , Ritonavir , in silico , anti COVID19 , protéase principal

Introduction

Le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère² (SARS-CoV-2) présente un parasitisme cellulaire strict, et du fait de son incapacité à s'autorépliquer, il dépend des cellules hôtes pour toutes les étapes de son cycle de vie et sa multiplication.

C'est un virus, à ARN simple brin enveloppé, à sens positif (**Justine Adnet et Julia Dina** 2021) . L'ARN viral du Coronavirus (CoV) s'organise principalement en deux cadres de lecture ouverts (ORF1a et ORF1b) qui codent pour 16 protéines non structurales (NSP) et quatre open reading frame (ORF) qui codent pour des protéines structurales de l'enveloppe (E) , membrane (M) et nucléocapside et la protéine spike (S) qui est importante pour la transmission du coronavirus, (**Chun-Chi Chenet al.**,2021) car elle assure la liaison du récepteur et la fusion membranaire du virus à l'enzyme de conversion de l'angiotensine hôte 2 (ACE2), un récepteur cellulaire du SRAS-CoV-2 (**Taj Mohammad et al.**,2020)

Plusieurs gènes de protéines accessoires s'intercalent dans les ORF des protéines structurales ORF1a et ORF1b produisent des polyprotéines 1a (environ 450 kDa) et 1b (environ 750 kDa), respectivement, pour lesquelles les longueurs et les séquences d'acides aminés sont plutôt conservées parmi les CoV. Les polyprotéines 1a et 1b contiennent plusieurs protéines virales, pour lesquelles la maturation et les actions ultérieures nécessitent un clivage protéolytique par une protéase à cystéine de type papaine (PLpro) et une protéase à cystéine de type 3C (3CLpro). Les actions protéolytiques de PLpro et 3CLpro produisent divers NSP tels que l'ARN polymérase dépendante de l'ARN et l'hélicase qui sont nécessaires au cycle de vie viral. (**Chun-Chi Chenet al.**,2021)

3CLpro, connue sous le nom de protéase principale (Mpro), fonctionne comme une protéase à cystéine pour cliver les polyprotéines à 11 positions avec une spécificité de substrat stricte. 3CLpro est intégrée dans les polyprotéines en tant que domaine NSP5 ; ainsi, l'autoclivage est nécessaire pour éliminer les régions N- et C-terminales afin de libérer la molécule 3CLpro mature (**Chun-Chi Chenet al.**,2021)

Le site actif du SARS-CoV-2 3CL-Pro est formé par une dyade catalytique de Cys-145 et His-41, ce qui est rare pour les enzymes de la famille des protéases Cys (**Maria Kuzikovet al.**,2021)

Les gènes des protéines non structurales codent : la protéinase principale du SRAS-CoV (M pro), également appelée 3-Chymotrypsine like protease (3CL pro), joue un rôle clé dans le traitement protéolytique des polyprotéines virales, protéines essentielles à la réplication et à la fonction virales, est considérée comme une cible médicamenteuse clé. Une précédente analyse de simulation de dynamique moléculaire a indiqué qu'il existait des affinités de liaison équivalentes du lopinavir et du ritonavir envers le SARS-CoV 3CL pro . De plus, six et sept liaisons hydrogène ont été détectées dans les complexes SARS-CoV-lopinavir et SARS-CoV-ritonavir, respectivement .En conséquence, les inhibiteurs qui bloquent la fonction de clivage de 3CL pro peuvent éventuellement inhiber la réplication du virus. Faisant de cette enzyme l'une des cibles les plus attrayantes pour le traitement du COVID-19. Bien que le SARS-CoV-2 (2019-nCoV) puisse avoir une structure assez différente, le lopinavir et le ritonavir peuvent avoir une efficacité clinique contre le SARS-CoV-2, comme on le voit dans la réponse contre le SARS-CoV . (**Mekonnen Sisay** ,.2020)

Le ritonavir est un inhibiteur de la protéase couramment utilisé dans le traitement du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), (**Konda Mani Saravananet al.**,2020). Les

inhibiteurs de la protéase agissent à une étape de la reproduction du virus différente de celle des autres catégories de médicaments disponibles auparavant pour combattre VIH. Le ritonavir est utilisé en association avec d'autres antirétroviraux pour retarder la progression de l'infection par le VIH. (**Norvir** .,2009)

Lors de l'épidémie de SRAS, le traitement par le lopinavir en association avec le ritonavir a été exploré avec un certain succès dans des essais cliniques non randomisés.

Les patients atteints du SRAS-CoV traités par lopinavir/ritonavir ont montré une diminution progressive de la charge virale .Récemment, l'activité antivirale du remdesivir et de l'IFN- β s'est avérée supérieure à celle du lopinavir/ritonavir-interferon beta contre (le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient)MERS-CoV in vitro et in vivo . (**Katya Uzunova et al.**,2020)

Actuellement, il n'existe pas de traitement antiviral efficace pour COVID-19, mais un grand nombre de médicaments ont été évalués depuis le début de la pandémie, et beaucoup d'entre eux ont été utilisés pour le traitement de COVID-19 malgré les résultats préliminaires ou contradictoires des essais cliniques. (**Serap ŞİMŞEK YAVUZ et İpek KOMŞUOĞLU ÇELİK YURT** ., 2021)

L'objectif de ce travail est le développement de médicaments contre le COVID-19, nous avons tenté d'examiner virtuellement l'efficacité des analogues du Ritonavir avec des approches informatiques. La plupart des agents proposés sont des médicaments approuvés par la Food And Drug Administration (FDA) inhibant la protéase principale 3CL pro du SRAS-CoV-2 .

Matériel et Méthodes

Préparation du récepteur

Le récepteur a été importé à partir de la base de données (Protéine Data Bank) PDB ayant le code 7wo3. Il s'agit 3CLpro (3C-like protéinase) du syndrome respiratoire aigue sévère de coronavirus 2, une protéine virale (Wang, Y ., Ye, S ., 2022)

Les Données expérimentales instantanées du récepteur 7wo3 sont présentées sur tableau 1

Tableau(1) : les Données expérimentales instantanées du récepteur 7wo3

<i>Date de création</i>	13-04-2022
<i>Résolution</i>	2.01 Å
<i>R-Value Free</i>	0.243
<i>R-Value Work</i>	0.197
<i>R-Value Observed:</i>	0.199
<i>Méthode</i>	X-RAY DIFFRACTION

La protéine 3CL pro (7wo3) a été visualisée sur discovery.

(DiscoveryStudio2.5(CDOCKERDock,DassaultSystemes BIOVIA, États-Unis).

Discovery Studio facilite l'examen des propriétés des grandes et des petites molécules.

Les molécules d'eau et les hétéroatomes ont été éliminées. La cible (7wo3) a été enregistrée sous format PDB .

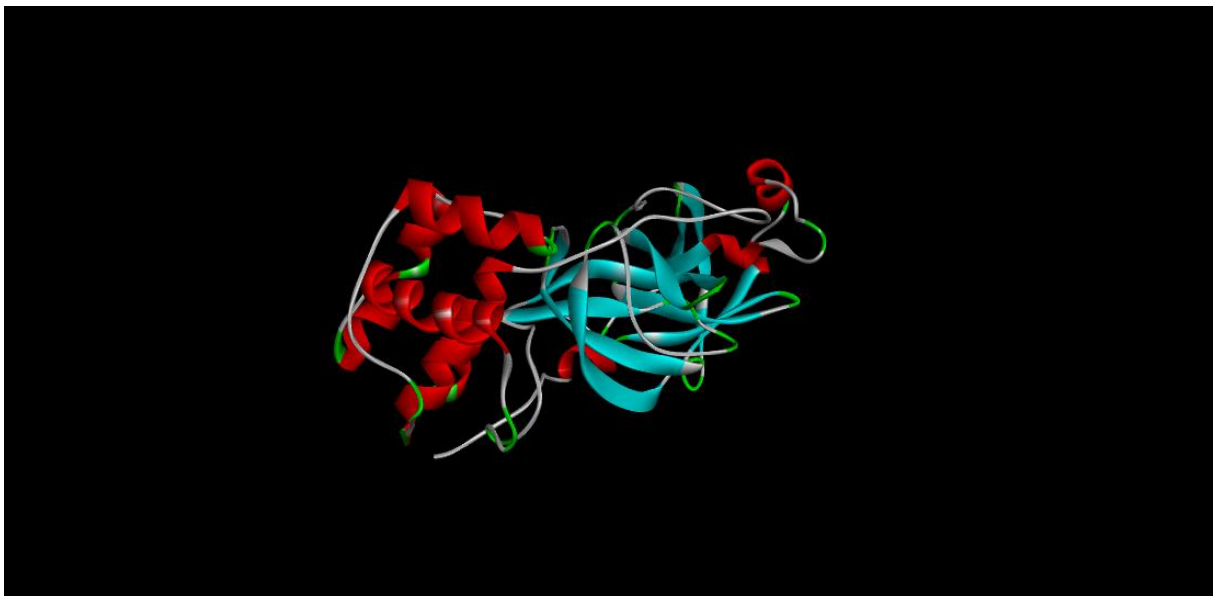


Figure (1) : Structure 3D du récepteur (7wo3)

7wo3 a été importé sur AutoDock (version Autodock 1.5.6)

les atomes d'hydrogène polaires et les charges de kollman ont été ajoutées. Enfin le récepteur a été enregistré sous format pdbqt .

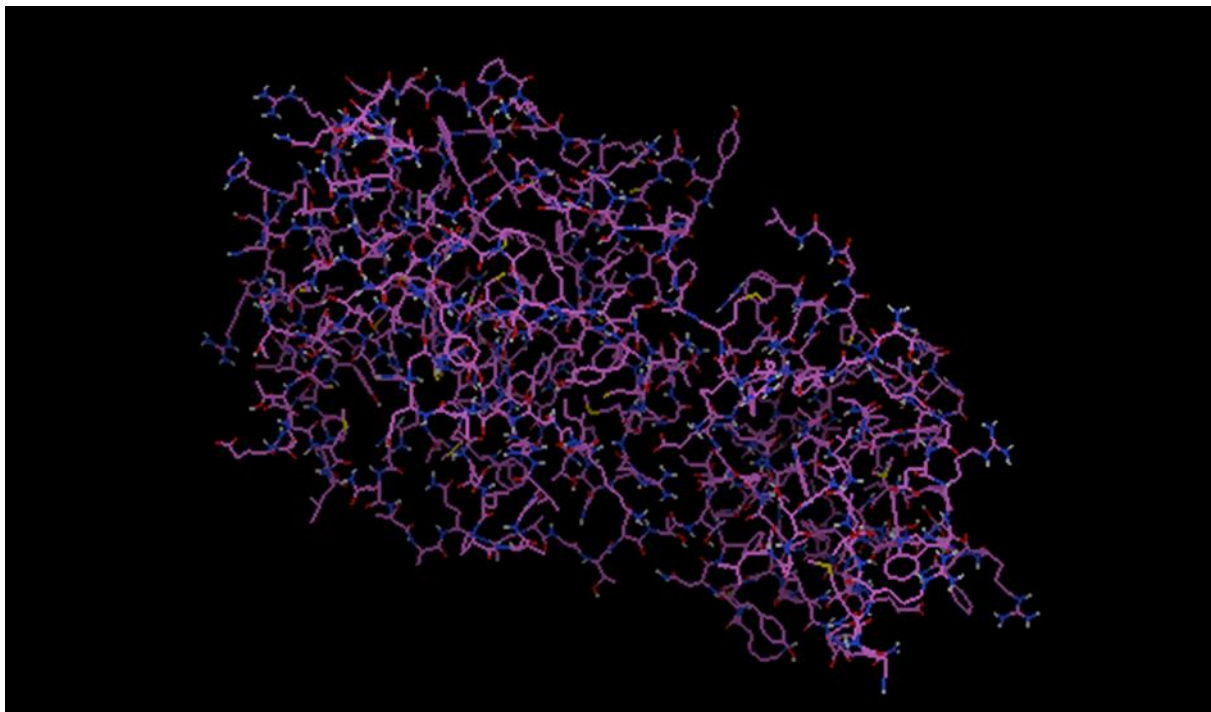


Figure (2) : Récepteur 7wo3 avec atomes hydrogènes polaire et charge de kollman

Préparation des ligands

Les structures des ligands ont été téléchargées à partir de la base de données PubChem : (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). La méthode de similarité 2 dite des empreintes digitales moléculaires a été utilisée. Les types d'empreintes moléculaires les plus courants sont les clés structurelles, qui codent les informations structurelles d'une molécule dans une chaîne PubChem utilise sa propre empreinte digitale appelée empreintes digitales de sous-graphes PubChem

Leur similarité est quantifiée sous la forme d'un score dit de similarité ou d'un coefficient de similarité. En conjonction avec les empreintes digitales du sous-graphe PubChem, la méthode de similarité PubChem 2-D utilise le coefficient de Tanimoto .

La recherche de similarité 2D renvoie les molécules dont les scores de similarité avec la molécule de requête sont supérieurs ou égaux à une valeur seuil Tanimoto donnée. Dans notre cas la valeur de référence était (**Similarité>1,000**).

Tableau (2) : les propriétés chimique et physique du ritonavir

Property Name	Property Value	Reference
Molecular Weight	720.9	Computed by PubChem 2.1 (PubChem release 2021.05.07)
XLogP3-AA	6	Computed by XLogP3 3.0 (PubChem release 2021.05.07)
Hydrogen Bond Donor Count	4	Computed by Cactvs 3.4.8.18 (PubChem release 2021.05.07)
Hydrogen Bond Acceptor Count	9	Computed by Cactvs 3.4.8.18 (PubChem release 2021.05.07)
Rotatable Bond Count	18	Computed by Cactvs 3.4.8.18 (PubChem release 2021.05.07)
Exact Mass	720.31276100	Computed by PubChem 2.1 (PubChem release 2021.05.07)
Monoisotopic Mass	720.31276100	Computed by PubChem 2.1 (PubChem release 2021.05.07)
Topological Polar Surface Area	202 Å ²	Computed by Cactvs 3.4.8.18 (PubChem release 2021.05.07)
Heavy Atom Count	50	Computed by PubChem
Formal Charge	0	Computed by PubChem
Complexity	1040	Computed by Cactvs 3.4.8.18 (PubChem release 2021.05.07)
Isotope Atom Count	0	Computed by PubChem
Defined Atom Stereocenter Count	4	Computed by PubChem
Undefined Atom Stereocenter Count	0	Computed by PubChem
Defined Bond Stereocenter Count	0	Computed by PubChem
Undefined Bond Stereocenter Count	0	Computed by PubChem

Property Name	Property Value	Reference
Covalently-Bonded Unit Count	1	Computed by PubChem
Compound Is Canonicalized	Yes	Computed by PubChem (release 2021.05.07)

Le ligand de référence été le ritonavir . Après avoir ajusté le filtre sur les propriétés physico chimique du ritonavir . Au total , 10 ligands ont été récupérés

Tableau (3) : Les codes CID pubchem des ligands interprétés

Ligands	Pubchem CID	Formule générale	IUPAC name	Poids moléculaire	H bond donneur	H bond accepteur	Xlog P
Ritonavir	392622	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,3S,5S)-3-hydroxy-5-[[[(2S)-3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	720.9 g/mol	4	9	6
Analogue 1	515815	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,4S,5S)-4-hydroxy-5-[[[(2S)-3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	720.9 g/mol	4	9	6
Analogue 2	72942039	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,3R,5S)-3-hydroxy-5-[[[(2S)-3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	720.9 g/mol	4	9	6
Analogue 3	45040375	C ₃₇ H ₄₈ N ₆ O ₅ S ₂	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,3S,5S)-5-[[[(2S)-2-[[[2-(1,1,1,3,3,3-hexadeuteriopropyl)-1,3-thiazol-4-yl]methylmethylcarbonyl]amino]-3-methylbutanoyl]amino]-3-hydroxy-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	727g/mol	4	9	6

Ligands	Pubchem CID	Formule générale	IUPAC name	Poids moléculaire	H bond donneur	H bond accepteur	Xlog P
Analogue 4	45040376	C37H48N6O5S2	(4,5-13C2)1,3-thiazol-5-yl(113C)methyl N-[(2S,3S,5S)-3-hydroxy-5-[[[(2S)-3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	723.9 g/mol	4	9	6
Analogue 5	76973781	C37H48N6O5S2	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,3S,5S)-3-hydroxy-5-[[[(2S)-3-methyl-2-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl-(trideuterio(113C)methyl)carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	725 g/mol	4	9	6
Analogue 6	53487909	C37H48N6O5S2	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,3S,5R)-3-hydroxy-5-[[[(2S)-3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	720.9 g/mol	4	9	6
Analogue 7	72942040	C37H48N6O5S2	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,3R,5R)-3-hydroxy-5-[[[(2S)-3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	720.9 g/mol	4	9	6

Ligands	Pubchem CID	Formule générale	IUPAC name	Poids moléculaire	H bond donneur	H bond accepteur	Xlog P
Analogue 8	464863	C37H48N6O5S2	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[(2S,3S,5S)-3-hydroxy-5-[[[(2R)-3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-5-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	720.9 g/mol	4	9	6
Analogue 9	5076	C37H48N6O5S2	1,3-thiazol-5-ylmethyl N-[3-hydroxy-5-[[[3-methyl-2-[[methyl-[(2-propan-2-yl-1,3-thiazol-4-yl)methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-1,6-diphenylhexan-2-yl]carbamate	720.9 g/mol	4	9	6

Les 10 premiers analogues ont été retenus (voir figure ci-dessous)

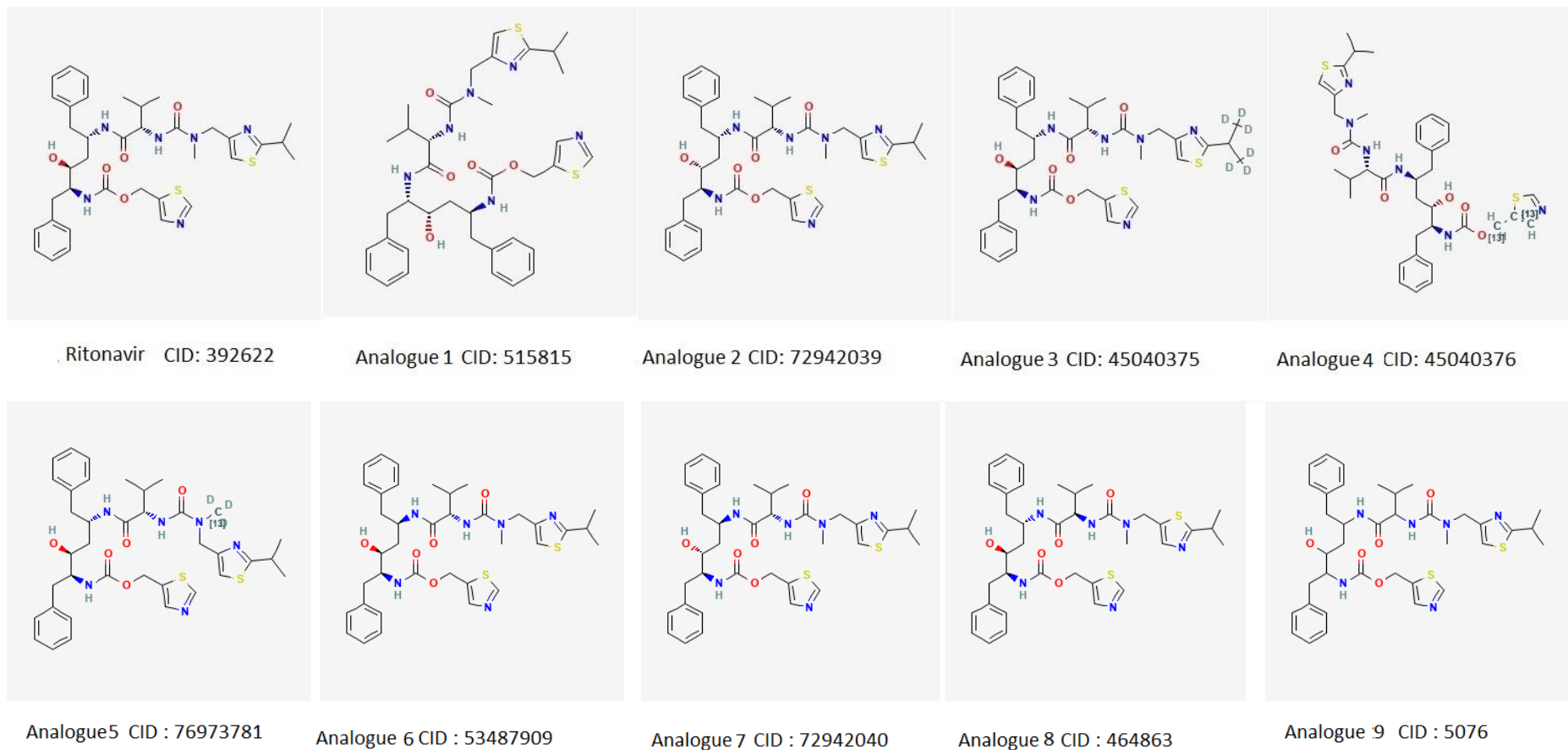


Figure (3) : Structures du ritonavir et ces 9 analogues avec leurs pubchem CID

*préparer un dossier qui contient le conf (conf.txt), le ligand et le récepteur sous format pdb et pdbqt déjà enregistré et les 3 fichiers du AutoDock (vina_split.exe/ vina_license.rtf/ vina.exe)

La région du docking a été définie par le ligand et le récepteur sous format pdbqt .

Avec la (Grid/Grid Box)

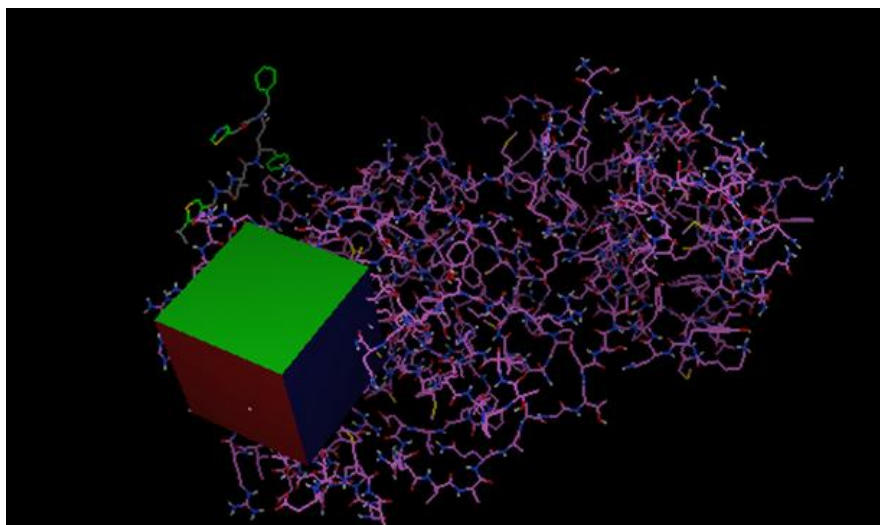


Figure (4) : Analogue et récepteur 7wo3 avec grid box

*étaier la Grid box entre le récepteur et le ligand sur le site actif . Les dimensions du box et les coordonnées du centre ont été notées . Un fichier (conf.txt) a été régénéré . Le processus du docking a été lancé avec le programme vina dans CMD (Vina-configconf.txt)

A terme 10 meilleures poses ont été obtenues. Les interactions ligand-récepteur ont été visualisées sur Discovery

Résultats

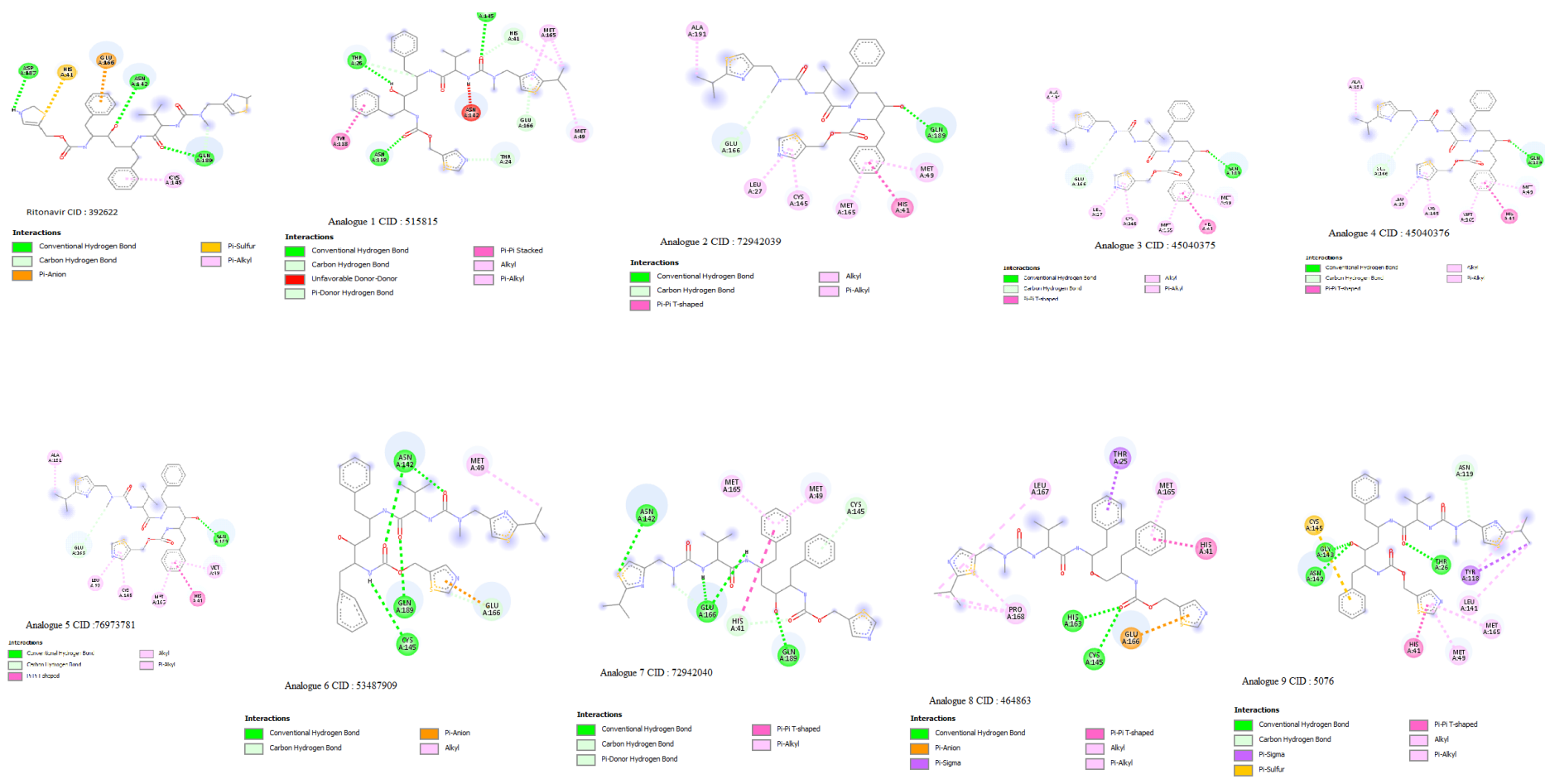


Figure (5) : Interactions ligands – récepteurs a partir de DISCOVERY

Ligand Formule générale	Meilleure pose	Affinité de la meilleure pose	RMSD de la meilleure pose	Affinité min de la série	Affinité max de la série	Coordonnées de la Grid Box					
						Centre x	Centre y	Centre z	Size x	Size y	Size z
C37H48N6O5S2 (ritonavir)	Pose 3	-6.0	2.531	-5.2	-6.1	14.261	17.698	18.53	40	40	40
C37H48N6O5S2 (Analogue 1)	Pose 2	-6.8	3.002	-6.0	-7.1	16.083	10.528	15.944	40	34	36
C37H48N6O5S2 (Analogue 2)	Pose 2	-5.4	2.991	-5.1	-5.5	15.542	17.369	12.981	40	42	54
C37H48N6O5S2 (Analogue 3)	Pose 3	-6.6	2.909	-6.2	-7.0	16.528	13.222	18.972	40	40	40
C37H48N6O5S2 (Analogue 4)	Pose 3	-6.3	1.942	-6.0	-6.5	15.861	13.444	15.833	26	34	34
C37H48N6O5S2 (Analogue 5)	Pose 2	-6.2	2.399	-6.0	-6.4	14.271	17.687	17.868	40	42	34
C37H48N6O5S2 (Analogue 6)	Pose 3	-6.6	3.183	-6.2	-6.7	14.869	16.752	17.42	34	42	36
C37H48N6O5S2 (Analogue 7)	Pose 2	-6.5	2.632	-6.1	-6.6	16.274	14.459	18.412	34	34	36
C37H48N6O5S2 (Analogue 8)	Pose 3	-6.5	2.631	-6.1	-6.6	15.389	15.45	15.039	38	46	38
C37H48N6O5S2 (Analogue 9)	Pose2	-7.1	2.722	-6.6	-7.3	17.341	12.15	16.471	32	36	36

Ligand Formule générale	Nombre de contacts	Acides aminés du récepteur (incriminés dans l'interaction)	Liaisons Alkyls	Liaisons hydrogènes	Liaisons de Van der valls
C37H48N6O5S2 (Ritonavir)	06	ASP A : 187 HIS A : 41 GLU A : 166 ASN A : 142 GLN A : 189 CYS A : 145	00	03	00
C37H48N6O5S2 (Analogue 1)	10	THR A : 26 TYR A : 118 ASN A : 119 CYS A : 145 HIS A : 41 MET A : 165 MET A : 49 GLU A : 166 THR A : 24 ASN A : 142	01	03	00
C37H48N6O5S2 (Analogue 2)	08	GLU A : 166 LEU A : 27 ALA A : 191 CYS A : 145 MET A : 165 HIS A : 41 MET A : 49 GLN A : 189	02	01	00
C37H48N6O5S2 (Analogue 3)	07	GLN A : 189 MET A : 49 ASN A : 142 MET A : 165 HIS A : 41 GLU A : 166 PRO A : 168	01	02	00

C37H48N6O5S2 (Analogue 4)	06	GLN A : 189 GLU A : 166 ASN A : 142 MET A : 49 HIS A : 41 MET A : 165	01	02	00
C37H48N6O5S2 (Analogue 5)	06	HIS A : 41 MET A : 49 GLU A : 166 ASN A : 142 LEU A : 141 THR A : 25	01	02	00
C37H48N6O5S2 (Analogue 6)	05	ASN A : 142 MET A : 49 GLN A : 189 CYS A : 145 GLU A : 166	01	03	00
C37H48N6O5S2 (Analogue 7)	07	ASN A : 142 MET A : 165 MET A : 49 CYS A : 145 GLU A : 166 HIS A : 41 GLN A : 189	01	03	00
C37H48N6O5S2 (Analogue 8)	08	LEU A : 167 PRO A : 168 THR A : 25 MET A : 165 HIS A : 41 HIS A : 163 CYS A : 145 GLU A : 166	01	02	00

<p>C37H48N6O5S2 (Analogue 9)</p>	<p>10</p>	<p>CYS A : 145 GLY A : 143 ASN : 142 THR A : 26 ASN A : 119 TYR A : 118 LEU A : 141 MET A : 165 MET A : 49 HIS A : 41</p>	<p>01</p>	<p>03</p>	<p>00</p>
--	-----------	--	-----------	-----------	-----------

Discussion

La pandémie du Covid-19 causée par le nouveau Sars-Cov-2 a eu un impact mondial sur les systèmes de santé et les individus (**YogeshKumar, et al., 2020**). Le développement de médicaments efficaces était donc devenu une urgence sanitaire.

Actuellement, les stratégies de lutte se limitent au traitement symptomatique et aux soins de soutien (**KatyaUzunova et al., 2020**). Parmi les options retenues comme thérapeutique ciblée du sars cov2, les agents antiviraux tels que le remdesivir, lopinavir et ritonavir (**MaryamHosseini et al., 2021**)

Le ritonavir est un inhibiteur de la protéase qui interfère avec le cycle de reproduction du VIH (**MW Hull et al., 2011**), bien qu'il ait été initialement développé en tant qu'agent antiviral indépendant, il a été proposé dans des schémas thérapeutiques combinés avec le liponavir et d'autres inhibiteurs de protéase

Par ailleurs, Les essais les plus importants (RECOVERY et SOLIDARITY) ont montré que la combinaison Liponavir/Ritonavir n'a pas réussi à réduire la mortalité, l'initiation de la ventilation mécanique invasive ou la durée d'hospitalisation. (**Alhumaid S et al., 2020**)

Le développement de nouveaux médicaments antiviraux est un processus difficile, onéreux et prend du temps. Ainsi, les études in silico ont été reconnues comme une alternative pour contourner cette situation. (**A. El Aissouq et al., 2020**), (**SJY Macalino, V et al., 2015**) Parmi ces approches, les études d'amarrage moléculaire. (**Z. Liu, et al., 2015**), (**R. Dubey et al., 2013**)

Cette technique permet de prédire la conformation et l'orientation du ligand dans le site actif du récepteur.

Afin d'identifier de nouveaux candidats, la similarité de structures des analogues a été calculée par le score de TANIMOTO, (**Maiia E et al., 2022**) en utilisant le ritonavir comme ligand de référence approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) en 1996 pour traiter le VIH (**Talha B et al., 2022**)

Huit analogues avaient une affinité de liaison supérieure à celle du ritonavir (-6.2 à -7.1). L'analogue 9 (C37H48N6O5S2) Compound CID: 5076 a été identifié comme ayant une affinité de liaison maximale de -7.1 avec un RMSD (2.722). La valeur RMSD prédit la stabilité du complexe ligand-récepteur. Une valeur RMSD inférieure indique une stabilité plus élevée du complexe protéique. L'affinité de sa série variait entre -6.6 et -7.3. La pose (02) a été retenue comme étant la meilleure conformation.

L'affinité du ritonavir pour la même cible (7wo3) 3CLpro (3C-like proteinase) du sars cov2 était bien inférieure (Affinité -6.0) avec un RMSD de (2.531).

Dans l'étude de Vinod et al , sur les huit antiviraux testés, le ritonavir a affiché le score de liaison le plus faible (magnitude) avec la protéase COVID-19 (-7.2 kcal/mol). Les autres composés ont montré une énergie de liaison > 8 kcal/mol sur la protéase. L'ampleur des scores de liaison des médicaments sur la protéase suivait l'ordre saquinavir > nelfinavir > lopinavir = indinavir > darunavir > amprénavir > ritonavir (Vinod P et al.,2020)

Abdellah et al ont réalisé un criblage virtuel basé sur la structure en utilisant AutoDock VINA impliqué dans le logiciel PyRx 0.8. (Abdellah El Aissouq et al.,2021) sur une série d'analogues du ritonavir tirés de littérature) . (DJ Kempf, et al.,1998), (PT Kaye, et al.,2004) . tous les ligands sélectionnés (Mol181: -8.9 , Mol1184: -8.58 , Mol187: -8.75 et Mol188 : -8.45) avaient une énergie libre de liaison supérieure à celle du ritonavir (-6,9 kcal/mol)

Dans notre étude, le ritonavir se fixe au récepteur via ASP : (187, HIS : 41, GLU :166, ASN : 142, GLN : 189 ,CYS : 145)

L'analogue 9 a été fixé dans la poche de liaison du SARS-CoV-2 3clpro en formant plusieurs d'interactions (CYS : 145, GLY : 143, ASN : 142 ,THR : 26 ASN : 119, TYR : 118, LEU : 141, MET : 165 ,MET : 49, HIS : 41) Les plus importantes sont les interactions de liaison communes avec le ritonavir : (CYS : 145 , ASN : 142 , et HIS : 41).

Ces résultats corroborent avec ceux de abdellah et al .qui ont trouvé que le composé Mol181 (analogue sélectionné du ritonavir) a été fixé dans la poche de liaison du SARS-CoV-2 en formant le même type d'interactions, et les plus importantes étaient les interactions de liaison hydrogène avec CYS 145 et HIS 41 (résidus de dyades catalytiques) (Abdellah El Aissouq, et al.,2021)

Cela vient reconforter l'amarrage moléculaire de l'analogue 9 et du ritonavir qui étaient donc ancrés sur le bon site actif

En terme de drug discovery , Selon la "règle des cinq" de Lipinski, une molécule candidate sera probablement active par voie orale, si le poids moléculaire (MW) < 500, le coefficient de partage octanol/eau calculé (log P) < 5, il y avait moins de 5 donneurs de liaisons hydrogène (HBD) (groupes OH et NH), et il y avait moins de 10 accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) (notamment N et O) (CA Lipinski et al.,1997)

La conformité de l'analogue 9 a été examinée

Le poids moléculaire de l'analogue 9 ,(semblable a celui du ritonavir de 720.9 g/mol) a agit en opposition avec la règle . Par ailleurs, la majorité des médicaments anti-VIH inhibiteurs de protéase

ont une masse moléculaire > 500 D et interagissent bien avec la poche de liaison de la protéase SARS-CoV-2. (Vinod P et al.,2020)

Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBD) et d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) a été respecté. (Giménez BG, et al.,2010)

LogP est utilisé pour prédire la solubilité du médicament par voie orale. Quand LogP augmente, la solubilité dans l'eau diminue donc l'absorption diminue. D'autre part, une valeur positive pour le log P indique que le composé est trop lipophile. Ainsi, il a une bonne perméabilité à travers la membrane biologique donc une meilleure liaison aux protéines plasmatiques, l'élimination par le métabolisme, mais une faible solubilité et de la tolérance gastrique (S. Schultes, et al.,2010) L'analogue 9 présente donc un bon profil de biodisponibilité.

Conclusion

Un nouvel analogue du ritonavir a été identifié. L'analogue (C₃₇H₄₈N₆O₅S₂) Compound CID: 5076 forme un complexe plus stable avec la protéine 3CLpro du sars cov2 ayant une affinité maximale et une meilleure conformation. on peut suggérer que cette molécule soit un candidat prometteur comme traitement antiviral à fort potentiel pour lutter notamment contre la souche SARS-CoV-2

Références Bibliographiques

- Abdellah El Aissouq, Oussama Chedadi, Mohammed Bouachrine, Abdelkrim Ouammou , « Identification de nouveaux inhibiteurs du SRAS-CoV-2 : une approche de dépistage virtuel basée sur la structure », *Journal of Chemistry* , vol. 2021 , Article ID 1901484 , 7 pages , 2021
- Adnet J, Dina J. Virus grippaux et Sars-CoV-2, sommes-nous prêts pour le futur ? [Influenza viruses and SARS-CoV-2, are we ready for the future?]. *Actual Pharm.* 2021;60(608):28-35. doi:10.1016/j.actpha.2021.06.009
- Alhumaid S, Mutair AA, Alawi ZA, Alhmeed N, Zaidi ARZ, Tobaiqy M. Efficacy and Safety of Lopinavir/Ritonavir for Treatment of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Trop Med Infect Dis.* 2020 Nov 28;5(4):180.
- BIOVIA, Dassault Systèmes, Discovery Studio v 17.2.0.16349, San Diego: Dassault Systèmes, 2016.
- CA Lipinski ; Lombardo F.; Dominy BW; Feeney PJ Approches expérimentales et informatiques pour estimer la solubilité et la perméabilité dans les contextes de découverte et de développement de médicaments . *Adv. Déliv. Rév.* 1997, 23 , 3–25. 10.1016/s0169-409x(96)00423-1
- Centre national d'information sur la biotechnologie (2022). Résumé des composés PubChem pour CID 392622, Ritonavir. Extrait le 28 juin 2022 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ritonavir> .
- Chen CC, Yu X, Kuo CJ, Min J, Chen S, Ma L, Liu K, Guo RT. Overview of antiviral drug candidates targeting coronaviral 3C-like main proteases. *FEBS J.* 2021 Sep;288(17):5089-5121. doi: 10.1111/febs.15696. Epub 2021 Feb 1. PMID: 33400393.
- DJ Kempf, HL Sham, KC Marsh et al., « Découverte du ritonavir, un puissant inhibiteur de la protéase du VIH avec une biodisponibilité orale élevée et une efficacité clinique », *Journal of Medicinal Chemistry* , vol. 41, non. 4, pages 602 à 617, 1998. Afficher sur : [Site de l'éditeur](#) | [Google Scholar](#)
- El Aissouq, H. Toufik, M. Stitou, A. Ouammou et F. Lamchouri, "Conception in silico de nouveaux dérivés de pyridinylimidazoles tétra-substitués en tant qu'inhibiteurs de la kinase-3 N -terminale c-jun, en utilisant 2D/3D- Études QSAR, amarrage moléculaire et prédiction ADMET », *The International Journal of Peptide Research and Therapeutics* , vol. 26, non. 3, p. 1335–1351, 2020.
- Giménez BG, Santos MS, Ferrarini M, Fernandes JP. Evaluation of blockbuster drugs under the rule-of-five. *Pharmazie.* 2010 Feb;65(2):148-52
- Kumar Y, Singh H, Patel CN. In silico prediction of potential inhibitors for the main protease of SARS-CoV-2 using molecular docking and dynamics simulation based drug-repurposing. *J Infect Public Health.* 2020;13(9):1210-1223. doi:10.1016/j.jiph.2020.06.016
- Kuzikov M, Costanzi E, Reinshagen J, et al. Identification des inhibiteurs de l'activité enzymatique SARS-CoV-2 3CL-Pro à l'aide d'une petite molécule in vitro Repurposing Screen. *ACS Pharmacol Transl Sci* . 2021;4(3):1096-1110. Publié le 11 mars 2021. doi:10.1021/acspsci.0c00216
- Maryam Hosseini, Wanqiu Chen, Daliao Xiao, Charles Wang, Computational molecular docking and virtual screening revealed promising SARS-CoV-2 drugs, *Precision Clinical Medicine*, Volume 4, Issue 1, March 2021, Pages 1–16, <https://doi.org/10.1093/pcmedi/pbab001>

- Mohammad T, Shamsi A, Anwar S, et al. Identification d'inhibiteurs de haute affinité de la protéase principale du SRAS-CoV-2 : vers le développement d'une thérapie COVID-19 efficace. *Virus Rés* . 2020;288:198102. doi:10.1016/j.virusres.2020.198102
- Monographie de Norvir[®]/Norvir[®] Sec (ritonavir). Saint-Laurent (Québec), Canada : Laboratoires Abbott Limitée, 2008. Préparé par l'Ontario HIV Pharmacy Professional Specialty Group, 2009.
- MW Hull et JSG Montaner, « Inhibiteurs de protéase renforcés par le ritonavir dans le traitement du VIH », *Annals of Medicine* , vol. 43, non. 5, p. 375–388, 2011.
- O. Trott, 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* 31 (2010) 455-461 DOI 10.1002/jcc.21334 <http://vina.scripps.edu>
- PT Kaye, MA Musa, AT Nchinda et XW Nocanda, « Nouveaux analogues hétérocycliques de l'inhibiteur de la protéase du VIH- 1, le ritonavir », *Communications synthétiques* , vol. 34, non. 14, p. 2575–2589, 2004. Afficher sur : [Site de l'éditeur](#) | [Google Scholar](#)
- R. Dubey, AK Tewari, VP Singh et al., "Étude d'amarrage moléculaire du polymorphe conformationnel : élément constitutif de la chimie cristalline", *The Scientific World Journal* , vol. 2013, Article ID 309710, 6 pages, 2013.
- S. Schultes, C. Graaf Haaksma, E. Iwan, O. J. Kramer *Drug Discovery Today: Technologies*, 7, 2010, 157.
- Saravanan KM, Zhang H, Senthil R, et al. Base structurelle de l'inhibition de la protéase principale du SRAS-CoV2 par des composés antiviraux dérivés de plantes médicinales indiennes. *J Biomol Struct Dyn* . 2022;40(5):1970-1978. doi:10.1080/07391102.2020.1834457
- Şimşek-Yavuz S, Komsuoğlu Çelikyurt FI. Une mise à jour du traitement anti-viral du COVID-19. *Turc J Med Sci* . 2021;51(SI-1):3372-3390. Publié le 17 décembre 2021. doi:10.3906/sag-2106-250
- Sisay M. 3CL^{pro} inhibiteurs comme option thérapeutique potentielle pour COVID-19 : preuves disponibles et essais cliniques en cours. *Pharmacol Res* . 2020;156:104779. doi:10.1016/j.phrs.2020.104779
- SJY Macalino, V. Gosu, S. Hong et S. Choi, « Rôle de la conception de médicaments assistée par ordinateur dans la découverte de médicaments modernes », *Archives of Pharmacol Research* , vol. 38, non. 9, p. 1686–1701, 2015.
- Talha B, Dhamoon AS. Ritonavir. [Mise à jour le 11 mai 2022]. Dans : StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 janvier-. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544312/>
- Uzunova K, Filipova E, Pavlova V, Vekov T. Aperçu des mécanismes antiviraux du remdesivir, du lopinavir/ritonavir et de la chloroquine/hydroxychloroquine affectant le nouveau SRAS-CoV-2. *Pharmacologie Biomed* . 2020;131:110668. doi:10.1016/j.biopha.2020.110668
- Uzunova K, Filipova E, Pavlova V, Vekov T. Insights into antiviral mechanisms of remdesivir, lopinavir/ritonavir and chloroquine/hydroxychloroquine affecting the new SARS-CoV-2. *Biomed Pharmacother*. 2020;131:110668. doi:10.1016/j.biopha.2020.110668
- Vinod P. Raphael, Shaju K. Shanmughan , « Évaluation informatique des efficacités d'inhibition des antiviraux du VIH sur la protéase du SRAS-CoV-2 (COVID-19) et identification des pharmacophores 3D et des composés frappés », *Advances in*

Pharmacological and Pharmaceutical Sciences , vol . 2020 , Article ID 8818008 , 10 pages , 2020.

- Wang, Y., Ye, S. Deposited: 2022-01-20 Released: 2022-04-13 PDB DOI: 10.2210/pdb7WO3/pdb
- Z. Liu, J. Zhao, W. Li et al., "Amarrage moléculaire des inhibiteurs potentiels de la grippe H7N9," *Computational and Mathematical Methods in Medicine* , vol. 2015, Article ID 480764, 8 pages, 2015.