

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Salah Boubnider Constantine 3



Faculté de médecine
Département de pharmacie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en
Pharmacie

Thème :

Recherche de nouveaux inhibiteurs de l'ARN polymérase du virus de l'hépatite C : Étude *in silico*

Soutenu publiquement le : 02/06/2024

Réalisé par :

- BOUDEN Lina
- NEDJAR Lina Bouchra
- BOUDINA Manel
- AIECH Aya

Encadré par :

Dr. GUEROUI Mehdi
Maître-assistant en
Chimie Thérapeutique

Membres du jury :

- **Président :** Pr. LALAOUNA Abd El Djalil *Professeur en Chimie Analytique*
- **Examinatrice :** Dr. KERRADA Amina *Maître-assistante en Pharmacologie*

Année universitaire : 2023/2024

Table des matières

Liste des figures.....	vii
Liste des tableaux	x
Liste des équations	xi
Liste des annexes.....	xii
Liste des abréviations	xiii
Introduction	1
Partie théorique	
Chapitre I : Hépatite C.....	4
I. Définitions.....	4
I.1 Hépatites virales.....	4
I.2 Hépatite C	4
II. Épidémiologie	4
II.1 Prévalences et incidences.....	4
II.2 Modes de transmission.....	5
II.2.1 Transmission parentérale.....	5
II.2.2 Transmission non-parentérale.....	5
II.3 Facteurs de risque	6
III. Pouvoir pathogène	6
IV. Clinique	7
IV.1 Hépatite aiguë	7
IV.2 Hépatite chronique.....	8
IV.3 Fibrose	9
IV.4 Cirrhose.....	9
IV.5 Carcinome hépatocellulaire	9
IV.6 Manifestations extra-hépatiques	10
V. Diagnostic.....	11

V.1	Détection des anticorps anti-VHC	11
V.2	Détection et quantification de l'ARN du VHC	11
V.3	Détermination moléculaire du génotype du VHC (génotypage)	12
V.4	Détection de l'antigène du core du VHC	12
VI.	Traitement.....	13
VI.1	Anciens traitements antiviraux	13
VI.1.1	Interféron	13
VI.1.2	Ribavirine	13
VI.2	Nouvelles molécules anti VHC.....	14
VI.2.1	Inhibiteurs de la protéase NS3/4A, les «-prévir»	15
VI.2.2	Inhibiteurs de la NS5A, les «-asvir».....	15
VI.2.3	Inhibiteurs de la polymérase NS5B, les «-buvir».....	16
VI.3	Prévention	16
Chapitre II : Virus de l'hépatite C		17
I.	Classification.....	17
II.	Variabilité génétique	18
III.	Structure	20
III.1	Enveloppe	20
III.2	Capside protéique	20
III.3	Génome viral.....	20
IV.	Organisation du génome.....	21
IV.1	Régions non codantes	22
IV.1.1	Région 5' non codante (5'NC)	22
IV.1.2	Région 3' non codante (3'NC)	22
IV.2	Région codante pour les protéines virales	23
V.	Protéines virales	23
V.1	Protéines structurales	23

V.1.1	Protéine de capsid « Core » ou « protéine C ».....	23
V.1.2	Protéines de l'enveloppe E1 et E2.....	24
V.2	Protéines non structurales	24
V.2.1	NS2	24
V.2.2	NS3	25
V.2.3	NS4A	25
V.2.4	NS4B	26
V.2.5	NS5A	26
V.2.6	NS5B	26
V.2.7	Protéine P7.....	27
V.2.8	Protéine F.....	28
VI.	Cycle cellulaire du virus de l'hépatite C	28
VI.1	Attachement et entrée dans la cellule	29
VI.2	Synthèse protéique et traitement post-traductionnel.....	29
VI.3	Réplication	29
VI.4	Assemblage et sécrétion des virions	30
Chapitre III : Criblage virtuel		31
I.	Généralités.....	31
II.	Approches du criblage virtuel	32
II.1	Criblage virtuel «ligand-based».....	32
II.1.1	Modélisation du pharmacophore	33
II.1.2	Recherche de similarité	33
II.1.3	Les méthodes de QSAR.....	33
II.2	Criblage virtuel « structure-based ».....	34
III.	Docking moléculaire.....	35
III.1	Principe général	35
III.2	Différentes approches du docking moléculaire.....	36

III.2.1	Approche de complémentarité de forme	36
III.2.2	Approche de simulation.....	36
III.3	Différents types du docking moléculaire	37
III.3.1	Docking moléculaire rigide	37
III.3.2	Docking moléculaire semi-flexible	37
III.3.3	Docking moléculaire flexible	37
III.4	Étapes du docking moléculaire	38
III.4.1	Echantillonnage	39
III.4.2	Scoring.....	42
III.5	Types d'interactions.....	45
III.5.1	Liaisons hydrogène.....	45
III.5.2	Liaisons de Van der Waals	45
III.5.3	Liaisons hydrophobes	46
III.5.4	Interactions électrostatiques	47
III.6	Logiciels du docking moléculaire	48
III.7	Analyse post-docking « Redocking »	49
III.8	Applications du docking moléculaire	50
III.9	Limites du docking moléculaire	51
IV.	Filtration ADME/Tox	52
IV.1	Propriétés physico-chimiques	52
IV.2	Propriétés pharmacocinétiques	53
IV.3	Tests de toxicité	53
Partie pratique		
	Objectifs	56
	Matériels et méthodes.....	57
I.	Matériels.....	57
I.1	Micro-ordinateur	57

I.2	Logiciels.....	57
I.2.1	BIOVIA Discovery Studio	57
I.2.2	AutoDockTools	58
I.2.3	Avogadro.....	58
I.2.4	AutoDock Vina « PyRx ».....	59
I.2.5	ChemSketch	60
I.3	Bases de données	61
I.3.1	Protein Data Bank « PDB »	61
I.3.2	PubChem	62
I.4	Serveurs en ligne.....	63
I.4.1	PacDOCK.....	63
I.4.2	SwissADME.....	64
I.4.3	PreADMET	65
II.	Méthodes	66
II.1	Étude de docking moléculaire.....	66
II.1.1	Préparation de la protéine	66
II.1.2	Validation du protocole de docking moléculaire.....	80
II.1.3	Préparation des ligands	81
II.1.4	Docking moléculaire.....	87
II.2	Filtration ADME/TOX	90
II.3	Analyse et visualisation des résultats.....	92
	Résultats et discussion	94
I.	Validation du protocole de docking	94
I.1	Analyse visuelle	94
I.2	Calcul du RMSD.....	94
II.	Criblage virtuel de la chimiothèque	95
III.	Filtration ADME/Tox	102

III.1	Propriétés physico-chimiques	102
III.2	Propriétés pharmacocinétiques	105
III.3	Accessibilité synthétique	107
III.4	Toxicité	109
IV.	Visualisation et étude des interactions.....	112
IV.1	Ligand natif.....	112
IV.2	Meilleurs inhibiteurs	114
IV.2.1	Visualisation de l'analogue N°323	114
IV.2.2	Visualisation de l'analogue N°268	116
IV.2.3	Visualisation de l'analogue N°179	118
IV.2.4	Visualisation de l'analogue N°85	120
IV.2.5	Visualisation de l'analogue N°289	122
IV.2.6	Visualisation de l'analogue N°290	125
IV.2.7	Visualisation de l'analogue n°7	127
IV.2.8	Visualisation de l'analogue n°297	129
IV.2.9	Visualisation de l'analogue N°86	131
IV.2.10	Visualisation de l'analogue N°132	133
	Conclusion.....	135

Résumé

L'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) est l'une des principales étiologies des maladies du foie qui pourrait entraîner une hépatite aiguë et chronique. Le traitement médicamenteux par les antiviraux directs ciblant les différentes enzymes vitales du VHC est un moyen primordial pour gérer la maladie infectieuse. Ce travail s'inscrit dans la perspective de la conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'ARN polymérase ARN dépendante du VHC qui fait appel aux approches de la chimie computationnelle basées sur le criblage virtuel et le docking moléculaire afin de contourner les limites du criblage expérimental dans le cadre de la recherche de nouveaux médicaments contribuant au traitement de l'hépatite C.

Le ligand de référence a été séparé de son complexe identifié sur la PDB par 2HWI. Ses 334 analogues structuraux issus de la PubChem à une similarité de 83% ont fait l'objet d'un amarrage moléculaire réalisé par le logiciel AutoDock Vina intégré dans la préface PyRx 0.8 dont la fiabilité a été vérifiée au préalable. Ce criblage a fait ressortir 29 molécules qui pourraient être des inhibiteurs plus puissants de l'ARN polymérase ARN dépendante NS5B du VHC avec des énergies d'interaction inférieures à -9kcal/mol (ΔG [ligand natif-NS5B] = -8.7 kcal/mol). L'évaluation des propriétés physicochimiques relevant des règles de Lipinski et de Veber, pharmacocinétiques et toxicologiques de ces analogues par les serveurs SwissADME et PreADMET a conduit à la rétention des 10 inhibiteurs présentant théoriquement les meilleurs profils ADME/Tox : CID137131214, CID135435208, CID2329878, CID137140028, CID135641010, CID135648064, CID162655680, CID135745213, CID137124469 et CID72181350. Le logiciel Biovia Discovery Studio a permis de visualiser les interactions établies entre la cible protéique et ces candidats potentiels qui méritent de passer aux phases ultérieures de développement des médicaments.

Mots clés : Hépatite C, Virus de l'hépatite C, NS5B, Docking moléculaire, criblage virtuel, AutoDock Vina.

Abstract

Hepatitis C virus (HCV) infection is one of the main causes of liver disease that could lead to acute and chronic hepatitis. Drug treatment with direct-acting antivirals targeting the various vital enzymes of HCV is a crucial way to manage the infectious disease. This work is part of the perspective of *in silico* design of new inhibitors of HCV RNA-dependent RNA polymerase, which uses computational chemistry approaches based on virtual screening and molecular docking in order to circumvent the limitations of experimental screening in the search for new drugs that contribute to the treatment of hepatitis C.

The reference ligand was separated from its complex identified on PDB by 2HWI. Its 334 structural analogues from PubChem with an 83% similarity underwent molecular docking performed by the software AutoDock Vina integrated into the preface PyRx 0.8, whose reliability was previously verified. This screening yielded 29 molecules that could be more potent inhibitors of HCV RNA-dependent RNA polymerase with interaction energies below -9 kcal/mol (ΔG [native ligand-NS5B] = -8.7 kcal/mol). The evaluation of physicochemical properties related to Lipinski and Veber rules, pharmacokinetics, and toxicological properties of these analogues by the SwissADME and PreADMET servers led to the retention of 10 inhibitors theoretically presenting the best ADME/Tox profiles: CID137131214, CID135435208, CID2329878, CID137140028, CID135641010, CID135648064, CID162655680, CID135745213, CID137124469, CID72181350. The Biovia Discovery Studio software allowed to visualize the interactions established between the protein target and these potential candidates that deserve to progress to later stages of drug development.

Keywords: Hepatitis C, hepatitis C virus, NS5B, Molecular Docking, Virtual Screening, AutoDock Vina.