

DEMOCRATIC AND POPULAR REPUBLIC OF ALGERIA
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITY AMAR TELIDJI OF LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTY OF SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT OF BIOLOGIY



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

**Etude de quelques alcaloïdes comme agents antiviraux potentiels
contre la protéase principale du SRAS-CoV-2 *in silico***

Présenté par :

Abdelatif Hadja Sahra

Lahreche Manal

Lahreche khouloud

Bou-Salah Leila

Doc

Examinatrice

Nia Samira

MCB

Présidente

BENAROUS Khedidja

Prof

Encadreur

LINANI Abderahmane

Doc

Co-encadreur

2020/2021

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à ceux que j'aime le plus au monde mes très chers **parents** pour leurs sacrifices et leurs encouragements toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.*

*Je dédie ce mémoire à toute ma famille en particulier ma Grand-Mère **Hadda**, et mes frères et sœurs : **Ibrahim, Abderrahmane, Bouchra et Hakima** et aussi **Houria, Asma et Chourouk**.*

*A mes chères amies **Houda** et **Nesrine** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mon chat **Sky** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.*

Mes dédicaces vont aussi à tous ceux qui ont contribué de près et de loin pour que je réussisse dans mes études.

Sahra

Dédicace

A mes chers parents, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mon mari .Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu.

*A ma famille, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite en particulier : **Aicha, Nadjwa, Said, farouk.***

Merci d'être toujours là pour moi.

Manal

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma chère mère

Mon cher père

A mon mari

Mes frères

Mes Sœurs

A toutes ma famille et mes amies et qui je les connue

kholoud

Remerciement

Avant toutes choses, je remercie **Dieu**, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience pour accomplir ce travail.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à **Mme. Khedidja Benarous** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé pour réaliser ce travail.

On désire remercier aussi notre Co- encadreur, **Abderahmane LINANI** pour son esprit scientifique, son écoute et ses généreux secours au cours de nos moments difficiles ont été d'immense réconfort.

Nous tenons à remercier tous les enseignants du département de Biologie à l'université de -Laghouat- qui nous ont permis de bénéficier de leurs expériences, de leurs compétences et de leur rigueur scientifique tout le long de notre formation universitaire.

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Résumé

Le coronavirus (COVID-19) est une nouvelle maladie infectieuse du syndrome respiratoire aigu sévère, qui est devenue la préoccupation sanitaire mondiale en raison de sa nature hautement contagieuse. Elle est apparue initialement en décembre 2019 à Wuhan, en Chine et s'est rapidement propagée dans le monde entier. Le but de ce travail est d'évaluer *in silico* l'effet d'inhibition de dix alcaloïdes en tant que molécules pures sur la protéase principale (Mpro) du SARS-CoV-2 en utilisant les programmes AutoDock vina et Discovery studio visualiser, les inhibiteurs choisis sont : Canthine-6-one, Infractine A, Infractine B, Scaurine A, Scaurine B, Stephano-sporine, mycearbine A, Mycearbine B, SanguinoneA, Sanguinone B, les paramètres ADMT ont été vérifiés pour confirmer leurs paramètres pharmacocinétique à l'aide du serveur preADMT 2.0, les inhibiteurs les mieux classés ont été choisis en fonction de leur profil ADMT, la valeur d'énergie la plus faible (VEM), et le taux de répétition (TR) le plus élevé. Les résultats obtenus montrent que Mycearubin B est le meilleur inhibiteur parmi les dix autres molécules avec une valeur TR de 60% et VEM de - 8,1 kcal/mol, Tandis que la Scaurin B est le modèle d'inhibiteur le plus faible avec un TR de 60% et un VEM de -6,3 Kcal/mol. L'amarrage moléculaire des dix ligands sur Mpro montre des résultats prometteurs qui pourraient être efficace contre le corona virus, des études *in vivo* doivent être réalisées pour confirmer son efficacité.

Mots clés : SARS-CoV-2, AutoDock vina, Mycearubin B, ADMT, Scaurin B

Abstract

Coronavirus (COVID-19) is a new infectious disease of severe acute respiratory syndrome, which became the global health concern due to its highly contagious nature. It initially emerged in December 2019 in Wuhan, China and has rapidly spread worldwide. The aim of this work is to evaluate *in silico* the inhibition effect of ten alkaloids as pure molecules on the main protease (Mpro) of SARS-CoV-2 using AutoDock vina and Discovery studio visualizer programs, the used inhibitors were: Canthine-6-one, Infractin A, Infractin B, Scaurin A, Scaurin B, Stephansporin, mycearbin A, Mycearbin B, SanguinoneA, and Sanguinone B, ADMT parameters were checked to confirm their pharmacokinetics using preADMT 2.0 server, the top ranked inhibitors were chosen based on their ADMT profile, their lowest energy value (MEV), and its highest repetition rate (RR). The results obtained show that Mycearubin B is the best inhibitor among the other ten molecules with a TR value of 60% and MEV of - 8.1 kcal/mol, While Scaurin B is the weakest inhibitor model with a TR of 60% and an MEV of -6.3 Kcal/mol. Molecular docking of the ten ligands to Mpro shows promising results that could be effective against corona virus, *in vivo* studies need to be performed to confirm its effectiveness.

Key words: SARS-CoV-2, AutoDock vina, Mycearubin B, ADMT, Scaurin B

ملخص

يعد فيروس كورونا (كوفيد-19) مرضًا معديًا جديدًا ملتزمًا الجهاز التنفسي الحادة الوخيمة والذي أصبح مصدر قلق للصحة العالمية بسبب طبيعته شديدة العدوى. ظهر في البداية في ديسمبر 2019 في ووهان، الصين وانتشر بسرعة في جميع أنحاء العالم. الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير المثبط لعشرة قلويدات في السيليكو كجزئيات نقية على البروتياز الرئيسي لسارس-كوفيد-2 باستخدام البرامج اوتودوك فينا و دبسكوفري ستيديو فيسياليسر. المثبطات المختارة هي كاتنين-6-اون، انفركتين ا، انفركتين ب، سكورين ا، سكورين ب، ستيفانوسبورين، ميسوروين ا، ميسوروين ب. تم فحص معلومات الادميت لتأكيد المعلومات باستخدام خادم الادميت المسبق. تم اختيار مثبطات أعلى مرتبة بناءً على ملف تعريف الادميت، أقل قيمة للطاقة وأعلى معدل تكرار. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن ميسوروين ب هو أفضل مثبط من بين الجزئيات العشرة مع معدل تكرار بنسبة 60٪ وأدنى قيمة للطاقة 8.1-. بينما سكورين ب هو أضعف نموذج مثبط مع معدل تكرار بنسبة 60٪ وأدنى قيمة للطاقة 6.3-. يُظهر الالتحام الجزيئي للرابطات العشرة على البروتياز الرئيسي نتائج واعدة يمكن أن تكون فعالة ضد فيروس كورونا، و يجب إجراء دراسات في الجسم الحي لتأكيد فعاليتهم

الكلمات الرئيسية : سارس كوفيد-2 ، اوتودوك فينا ، ميسوروين ب ، ادميت ، سكورين ب

Liste des figures

Figure 1: La structure virale du SARS-COV-2	5
Figure 2: Les symptômes des coronavirus	7
Figure 3: Les structures 3D post-docking des meilleurs inhibiteurs	22

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différents traitements pharmacologiques potentiels de la COVID-19	8
Tableau 2: Systématique des champignons utilisée comme source des molécules investiguées	10
Tableau 3: La structure bidimensionnelle (2D) des inhibiteurs testés.....	15
Tableau 4: Les résultats du Docking moléculaire	20
Tableau 5: Les résultats d'ADMT	21

Liste des abréviations

MPro : La protéase majeure du SARS-CoV-2

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine

ADT: Autodock Tools

AIH: Absorption intestinale humaine

ARNm : Acide ribonucléique messenger

CYP3A4: Cytochrome P450 3A4

DM: Doking moléculaire

DSV: Discovery Studio 3 Visualizer

HCoV-NL63: Coronavirus humain NL63

HCoV-OC43: Coronavirus humain OC43

HCoV-HKU1: Coronavirus humain HKU1

MERS : Syndrome respiratoire du Moyen-Orient

Mpro: La protéase principale

NC: Nucléocapside

PC : Propriétés pharmacocinétiques

PDB : Protein Data Bank

SRAS-CoV-2: Syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus 2

SRAS : Syndrome respiratoire aigu sévère

TMPRSS2: Protéase transmembranaire à sérine 2

TR: Taux de répétition

VEM: Valeur d'énergie minimale

2D : structure bidimensionnelle

3D: structure tridimensionnelle

Table de matière

Introduction	1
Rappel bibliographique	4
1. Structure et génome du SARS-COV-2.....	5
2. Le mode de transmission.....	5
3. Processus physiopathologiques	6
4. Les Symptômes du SARS-COV-2	7
5. Traitement actuel.....	8
6. Les sources des molécules investiguées.....	10
Matériels et méthodes.....	13
1. Relation structure-activité (SAR).....	14
2. Paramètres du Docking moléculaire (amarrage moléculaire).....	17
3. Analyses d’Absorption, Distribution, Métabolisme, et Toxicité (ADMT).....	17
Résultats et discussion.....	19
1. Relation structure-activité (SAR).....	20
2. Analyses ADMT	21
Conclusion.....	30
Référence bibliographique	32

Introduction

Pour la troisième fois en autant de décennies, un coronavirus zoonotique a traversé des espèces pour infecter les populations humaines. Ce virus, provisoirement appelé 2019-nCoV, a été identifié pour la première fois à Wuhan, en Chine, chez des personnes exposées à un marché de fruits de mer ou humide. La réponse rapide des communautés de santé publique, clinique et scientifique chinoises a facilité la reconnaissance de la maladie clinique et la compréhension initiale de l'épidémiologie de l'infection (**Perlman, S.** 2020). Les premiers rapports ont indiqué que la transmission interhumaine était limitée ou inexistante, mais nous savons maintenant qu'une telle transmission se produit, bien que dans quelle mesure reste inconnue. Comme les épidémies causées par deux autres coronavirus respiratoires humains pathogènes ; le syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV) et le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS), le 2019-nCoV provoque une maladie respiratoire souvent grave (**Rodriguez AJ et al., 2020**).

Les coronavirus appartiennent à la famille des coronaviridés (sous-famille des Coronavirinae), leur nom signifie "virus en couronne" et vient du fait qu'ils possèdent tous un aspect en forme de couronne. Ils produisent des symptômes et des maladies allant du simple rhume à des maladies graves et finalement mortelles. Le SARS-CoV-2 est considéré comme l'un des sept membres de la famille *Coronavirinae* qui infecte les humains (**Zhu N et al., 2020**), six autres type étaient connus pour infecter les humains, notamment le cov humain 229E (H. Cov-229 E), le HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV et MERS-CoV (**Wei X et al., 2020, Li, Q et al., 2020, Zhou, P et al., 2020, Wu, F et al., 2020, Guan WJ et al., 2020**).

La plupart des personnes infectées par le virus COVID-19 souffriront d'une maladie respiratoire légère à modérée. Les personnes âgées et celles qui ont des problèmes médicaux sous-jacents tels que les maladies cardiovasculaires, les maladies respiratoires chroniques et le cancer sont plus susceptibles de développer du virus. À l'échelle mondiale, en juillet 2021 plus de 187 millions cas de coronavirus confirmés avec plus de 4 million décès (**Guan WJ. et al., 2020**).

Actuellement, une variété d'options thérapeutiques sont disponibles qui incluent des médicaments antiviraux comme le *Remdesivir*, l'hydroxychloroquine et la chloroquine ont été proposées comme traitements antiviraux pour le COVID-19 initialement pendant la pandémie. Aussi des anticorps monoclonaux anti-SARS-CoV-2 (par exemple, *Bamlanivimab/etesevimab*, *Casirivimab/imdevimab*), des médicaments anti-inflammatoires (par exemple, *Dexaméthasone*), les agents immunomodulateurs (par exemple, *Baricitinib*, *Tocilizumab*) sont disponibles en vertu d'une autorisation d'utilisation d'urgence (EUA) délivrée par la FDA ou en cours d'évaluation dans la gestion de COVID-19 (**Coopersmith, et al., 2021**).

Les alcaloïdes représentent un ensemble de molécules d'origine naturelle, renfermant du carbone, de l'hydrogène et, plus spécialement, de l'azote. Ils jouent toujours un rôle important, comme principes actifs des médicaments comme la morphine qui reste le produit de référence des analgésiques (médicaments de la douleur), son dérivé, la codéine (méthylmorphine) qui est un analgésique mais surtout un calmant de la toux. Ils ont un rôle important comme dépresseur du système nerveux sympathique, vasodilatateur cérébral, et anti-migraines. (**Babbar, N. 2015**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer *in silico* l'effet inhibiteur de 10 alcaloïdes sur la protéase principale du SRAS-CoV-2 (Mpro), en utilisant les programmes AutoDock vina, AutoDock Tools, et Discovery studio visualiser, ce travail est supporter par une étude de paramètre pharmacocinétique à l'aide du serveur preADMET v2.0.

Ce manuscrit commence par une introduction générale, suivi par rappels bibliographiques, dans la troisième partie, nous allons citer le matériel et les méthodes utilisées, puis nous allons présenter les résultats avec leur discussion, nous terminons par une conclusion générale et perspectives.

Rappel bibliographique

1. Structure et génome du SARS-COV-2

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN monocaténaire sphérique enveloppé, dont le génome (30 kilobases) (**Wu F et al., 2020**) comporterait une nucléocapside (NC) hélicoïdale formée par l'ARN génomique associé à la protéine N, est contenue dans la capsid, elle-même entourée de l'enveloppe, le génome se divisé en 3 parties : effectrices (**de Wilde A.H et al., 2018**).

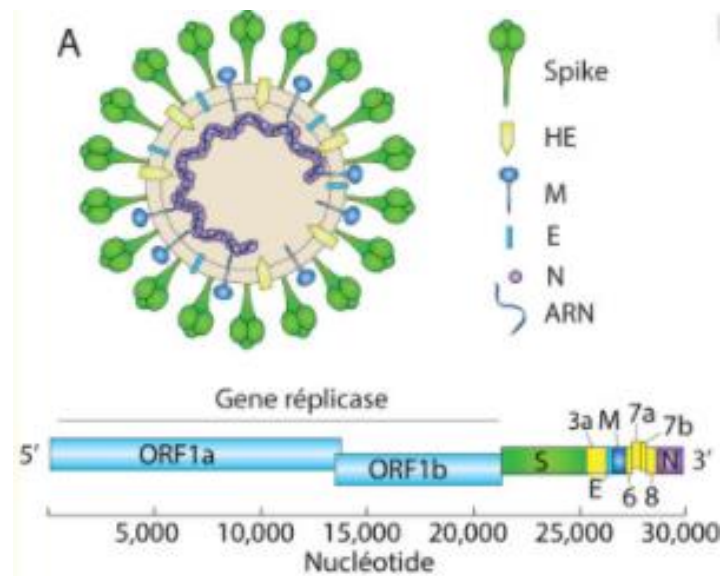


Figure 1: La structure virale du SARS-COV-2 (**Bonny V et al., 2020**)

Les deux parties du génome codent le gène de réplacation (composé de orf1a et orf1b) qui sera traduit en polyprotéines puis clivées en protéine, l'autre partie code pour les protéines de structure (une protéine de nucléocapside (N), une protéine de membrane (M), une protéine d'enveloppe (E) et une protéine de surface (protéine *Spike* ou S) cette dernière lie au récepteur (ACE2) présente à la surface du cellule . se compose de deux sous-unités : la S1 contient le domaine de liaison au récepteur cellulaire, tandis que la S2 , sert de médiateur à la fusion des membranes du virus à la membrane cellulaire (**Wrapp D et al., 2020**).

2. Le mode de transmission

Les sécrétions respiratoires sont identifiées comme la voie de sortie du virus alors que celui-ci se transmet principalement par le biais de gouttelettes émises lors de la toux, les éternuements,

la parole par un sujet infecté. L'infection peut aussi être transmise par le biais d'un contact étroit et prolongé avec une personne contaminée. Lorsqu'une personne est atteinte de la COVID-19, on considère qu'elle est contagieuse environ une journée avant l'apparition des symptômes et jusqu'à 14 jours à la suite de l'apparition de ceux-ci. Il est également possible de contracter l'infection en touchant des surfaces contaminées par le virus, puis en touchant la «Zone T» de son visage, soit les yeux, le nez et la bouche. On considère que les contacts étroits avec une personne infectée sont le principal mode de transmission de la maladie (**Woelfel R et al., 2020**).

Lorsque les conditions sont favorables, le SRAS-CoV-2 peut survivre jusqu'à trois heures dans l'air, jusqu'à 24 heures sur le carton et jusqu'à deux à trois jours sur le plastique et l'acier inoxydable (**Van Doremalen N et al., 2020**).

3. Processus physiopathologiques

La physiopathologie de la COVID-19 est un processus très complexe. Ils infectent une grande variété d'espèces et sont divisés en quatre genres ; α , β , γ et δ en fonction de leur structure génomique (**Zou X., 2020**). L'infection par le SRAS-CoV-2, provoque une réponse immunitaire par l'hôte afin de permettre la multiplication et la migration des leucocytes (globules blancs) vers le tissu pulmonaire. Cette réponse permet d'éliminer le virus (**Li G., 2020**) (**Jin Y., 2020**).

Le virus pénètre dans l'organisme via les voies aériennes :

- 1- La partie S1 de la protéine de surface se fixe au récepteur ACE2 (Enzyme de conversion de l'angiotensine) exprimé à la surface des cellules qui tapissent nos voies respiratoires. Une autre protéine cellulaire (TMPRSS2 : Transmembrane protéase serine 2) permet ensuite au virus de pénétrer dans la cellule (corécepteur).
- 2- Le virus est internalisé par cette cellule et y libère son matériel génétique.

- 3- Une fois à l'intérieur, l'ARN viral est traduit par la machinerie cellulaire, qui sera ensuite découpée par la protéolyse pour former des protéines virales qui permet la synthèse de nouvelles copies de génomes et d'ARNm.
- 4- De nouveaux virions se forment et vont infecter de nouvelles cellules.

4. Les Symptômes du SARS-COV-2

Dans la majorité des cas (environ 80 %), les personnes infectées par la COVID-19 présentent des symptômes légers à modérés (toux, fièvre, fatigue) alors que 14 % d'entre eux ont des symptômes sévères (difficulté respiratoire), et 6 % présentent un tableau clinique critique (insuffisance respiratoire) (World Health Organization. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). WHO February 2020.

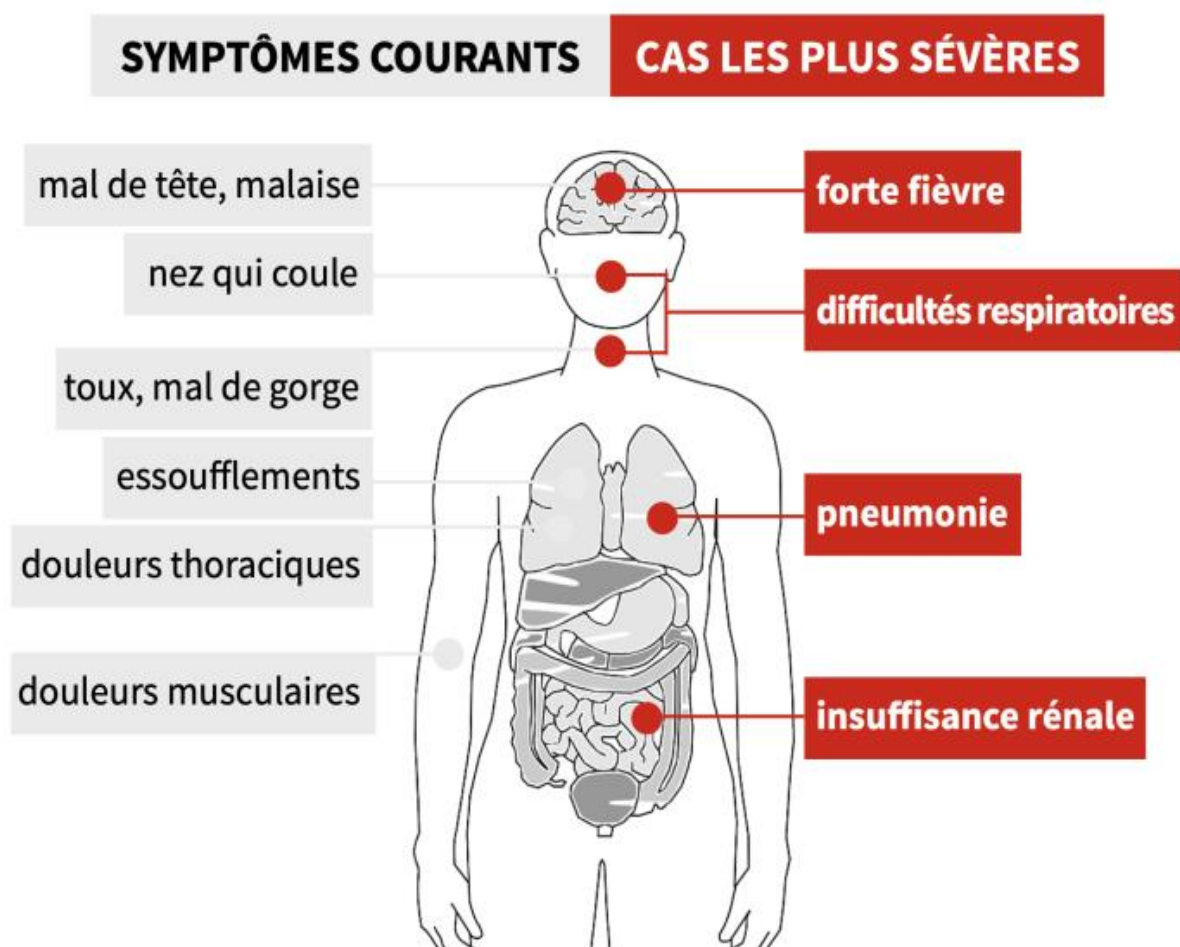


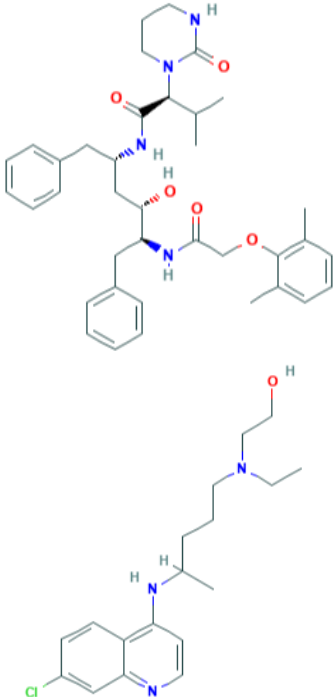
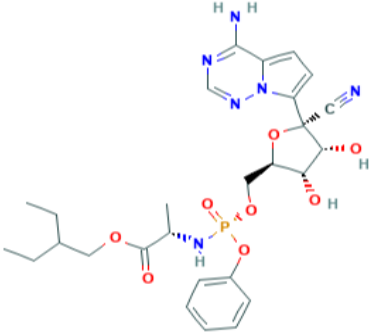
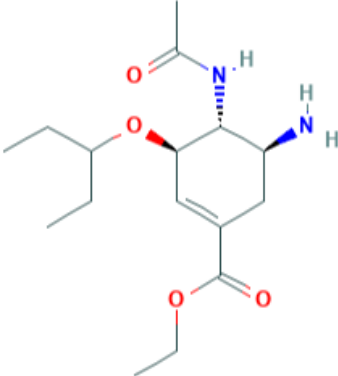
Figure 2: Les symptômes des coronavirus (inconnu, 2020)

5. Traitement actuel

L'institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) a récemment effectué plusieurs recensions des écrits scientifiques afin d'émettre rapidement des constats et de prendre position quant aux différents traitements pharmacologiques potentiels de la COVID-19. Le tableau ci-après présente un résumé de leurs recommandations.

Table 1: Les différents traitements pharmacologiques potentiels de la COVID-19
(Lapierre A., 2020)

la molécule	Structure	Mécanisme d'action	RTC019	ECC
Amantadine et Rimantadine		Interfèrent avec le cycle de réplication des virus influenza de type A en inhibant l'activité du canal ionique M2 de leur membrane cellulaire.	Non-recommandé	Non
Chloroquine et Hydroxychloroquine		Effets antiviraux en inhibant les étapes dépendantes du pH de la réplication virale. Effet immunomodulateur possible.	Effet potentiel, mais non recommandé, car données insuffisantes.	Oui
Colchicine		Inhibe l'activation de la réponse inflammatoire.	Effet potentiel, mais non recommandé, car données insuffisantes.	Oui

<p>Lopinavir /ritonavir</p>		<p>Le lopinavir-ritonavir est une association de lopinavir, qui inhibe la protéase chymotrypsine 3 virale, et de ritonavir, qui inhibe l'isoenzyme 3A4 du cytochrome P450, soit l'enzyme qui métabolise le lopinavir, ce qui en augmente la biodisponibilité (Ng, T. B.,2020).</p>	<p>Effet potentiel, mais non recommandé, car données insuffisantes.</p>	<p>Oui</p>
<p>Remdésivir</p>		<p>inhibe la synthèse de l'ARN virale en inhibant l'ARN polymérase ARN-dépendante virale ayant initialement été mis au point pour le traitement du virus Ebola (Ng, T. B., 2020).</p>	<p>Effet potentiel, mais non recommandé, car données insuffisantes.</p>	<p>Oui</p>
<p>Oseltamivir</p>		<p>Inhibiteur sélectif de l'enzyme neuraminidase des virus influenza de type A et de type B.</p>	<p>Non recommandé</p>	<p>Oui</p>
<p>Tocilizumab</p>	<p>un anticorps monoclonal humanisé anti-IL-6 utilisé pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (Ng, T. B., 2020)</p>	<p>Effet potentiel, mais non recommandé, car données insuffisantes.</p>	<p>Oui</p>	

6. Les sources des molécules investiguées

Les informations des molécules issues de plantes médicinales utilisées dans ce travail ont été classées et présentées dans le tableau ci-après.

Table 2 : Systématique des champignons utilisés comme source des molécules investiguées.

Canthin-6-one et Infractin A et B	
Canthin-6-one avec Infractine A et B sont des produits de <i>C. infractus</i> . Ce dernier est un champignon basidiomycète non comestible du genre Cortinarius.	
Photo	
Règne :	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Sous-division	Agaricomycotina
Classe	Agaricomycetes
Ordre	Agaricales
Famille	Cortinariaceae
Genre	Cortinarius
Espèce	<i>Cortinarius infractus</i>
Scaurine A et B	
Les Scaurines sont les pigments polyéniques avec l'acide glutamique lié qui ont été isolés de la fructification de <i>C. scaurus</i> (Fr.) Fr. (Gill 1998,2003).	
Photo	
	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Sous-division	Agaricomycotina
Classe	Agaricomycetes
Ordre	Agaricales
Famille	Cortinariaceae
Genre	Cortinarius
Espèce	<i>Cortinarius scaurus</i> (Fr.)Fr.
Stephanosporine	



Stephanospora est un genre de champignons de la famille des Stephanosporaceae, contient le pigment stéphanosporine.

Photo

Règne	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Classe	Agaricomycetes
Ordre	Agaricales
Famille	Stephanosporaceae
Genre	<i>Stephanospora</i> pat
Espèce	<i>Stephanospora caroticolor</i> (berk.) pat



Mycearubine A et B

Les corps des fruits de *Mycena rosea* contiennent deux pigments alcaloïdes rouges qui sont uniques à cette espèce Appelés : mycearubine A et mycearubine B. Ces produits chimiques sont apparentés aux damirones que l'on trouve dans les éponges marines.

Photo

Division	Basidiomycota
S/Division	Agaricomycotina
Classe	Agaricomycète
S/ Classe	Agaricomycetidae
Ordre	Tricholomatales
Famille	Mycenaceae
Tribu	Myceneae
Genre	<i>Mycena</i>
Espèce	<i>M.rosea</i>



Sanguinones A et B

Des alcaloïdes bleus de pyrroloquinoléine provenant des corps fruitiers du champignon *Mycena sanguinolenta* communément appelé "bonnet saignant". C'est une espèce de champignon de la famille des Mycenaceae, Lorsqu'ils sont frais, les corps du fruit «saignent» une sève rouge-violet foncé.

Photo

Règne	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Classe	Agricomycetes
Ordre	Tricholomatales
Famille	Mycenaceae
Genre	<i>Mycena</i>
Espèce	<i>Mycena sanguinolenta</i> (Alb. Et Shwein. :Fr) Kumm 1871



Matériels et méthodes

1. Relation structure-activité (SAR)

Nous avons réalisé une étude *in silico* par Docking moléculaire pour chercher à comprendre l'effet de dix molécules de nature alcaloïdique sur la protéase principale du SRAS-CoV-2, et d'identifier le mécanisme d'inhibition et les interactions impliquées tel qu'hydrogène et hydrophobique. Nous avons réalisé le docking moléculaire à l'aide du logiciel *Autodock Vina*.

Premièrement : La structure tridimensionnelle (3D) de la protéase principale (Mpro) du SRAS-CoV-2 de code PDB : 6LU7 a été obtenue de la PDB "Protein Data Bank" (Berman, H. M et al.,2000)(Jin, Z et al.,2020). La structure de 6LU7 est de poids moléculaire de 34,51 kDa, avec un nombre total de résidus de 312 acides aminés. Elle est formée de deux chaînes A et C, la chaîne A est composée de 306 résidus et la chaîne C est composée de 6 résidus représentent l'inhibiteur peptidique nommé : n-[(5-méthylisoxazol-3-yl)carbonyl]alanyl-l-valyl-n-1-~((1r,2z)-4(benzyloxy)-4-oxo-1-[(3r)-2-oxopyrrolidin-3 yl]méthyl)but-2-enyl)-l-leucinamide .

Les structures 3D SDF de certains composés ont été téléchargées de la base de données PubChem, et les structures 2D des autres composés ont été illustrées à l'aide de Chemdraw.

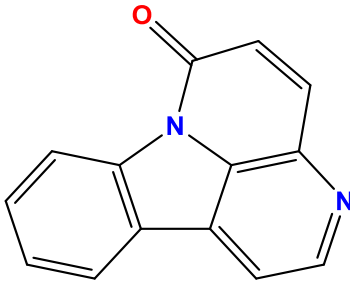
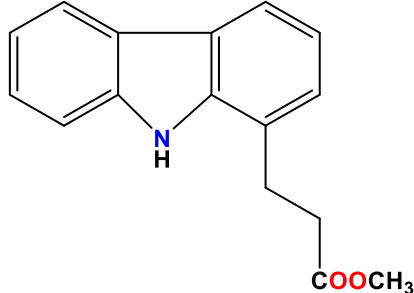
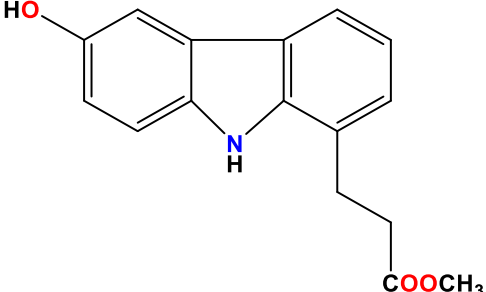
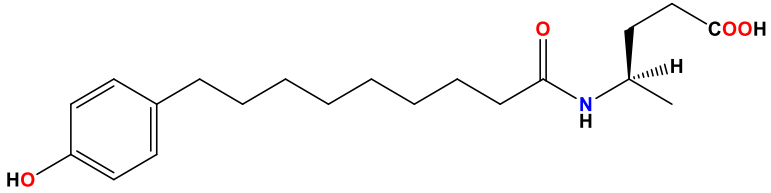
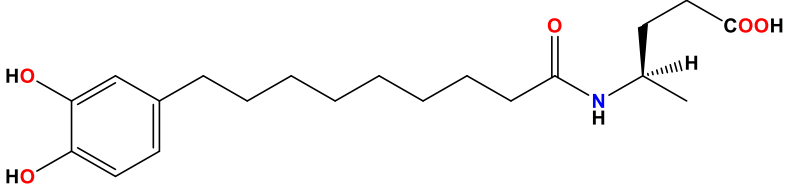
Par la suite *Discovery Studio Visualizer* a été utilisé pour convertir les structures en format pdb puis en PDBQT

Deuxièmement ; Les résultats de l'amarrage ont été chargés dans le programme *Discovery Studio 3 Visualizer* (DSV) qui consiste en une série de logiciels de simulation moléculaires. Dans notre cas, il est utilisé pour prédire la conformation la plus favorable et d'identifier les interactions établies d'un ligand au sein du site actif de notre protéine cible, en se basant sur les valeurs d'énergie les plus faibles et du taux de répétition les plus élevés (TR) obtenues et aussi pour étudier les acides aminés impliqués et les interactions formées.

Nous avons utilisé dix inhibiteurs potentiels de Mpro, en fonction de leurs propriétés inhibiteur : canthine-6-one, infractin A, infractin B, Scaurin A, Scaurin B, stephanosporin , mycearubin A, mycearubin B, Sanguinone A , et Sanguinone B. La structure bidimensionnelle

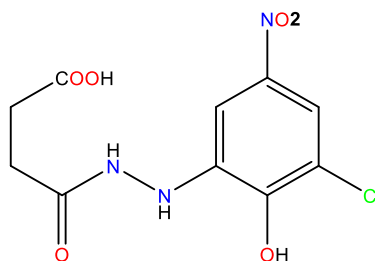
(2D) des dix inhibiteurs a été obtenue à partir de la base de données PubChem au format. Mol2 ou Chemdraw.

Table 3: La structure bidimensionnelle (2D) des inhibiteurs testés

Inhibiteurs	Structure chimique
Canthine-6-one FB : C₁₄H₈N₂O	
Infractin A FB: C₁₆H₁₅NO₂	
Infractin B FB: C₁₆H₁₅NO₃	
Scaurin A FB: C₂₀H₃₁NO₄	
Scaurin B FB: C₂₀H₃₁NO₅	

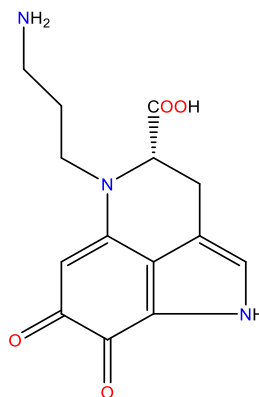
Stephanosporin

FB: C₁₀H₁₀N₃O₆Cl



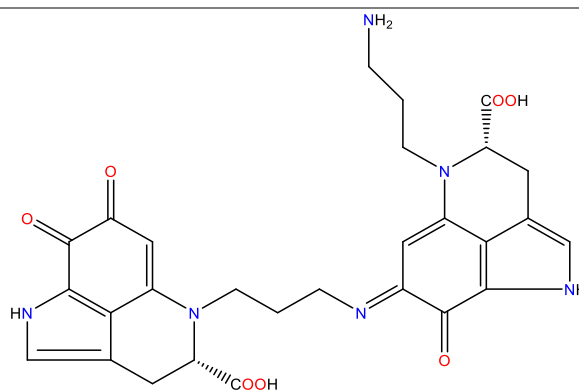
Mycearubin A

FB: C₁₄H₁₅N₃O₄



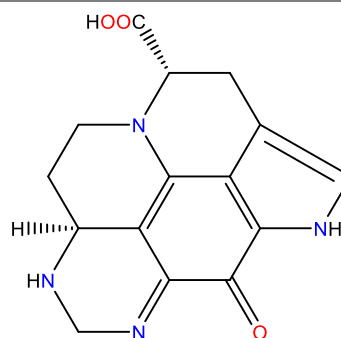
Mycearubin B

FB: C₂₈H₂₈N₆O₇



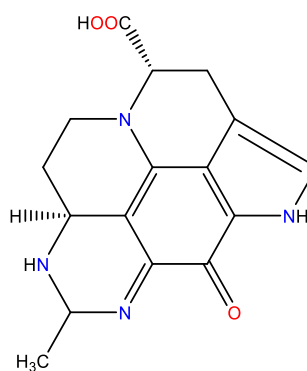
Sanguinone A

FB: C₁₅H₁₄N₄O₃



Sanguinone B

FB: C₁₆H₁₆N₄O₃



2. Paramètres du Docking moléculaire (amarrage moléculaire)

Le Docking moléculaire « amarrage moléculaire » est une méthode très utile visant à prédire la meilleure position d'un ligand au site actif d'un récepteur pour optimiser et évaluer les interactions probables entre des ligands (substrat ou inhibiteur) et les acides aminés catalytiques.

Nous avons utilisé le programme *Autodock vina* pour l'amarrage moléculaire dans une station à huit CPU, la protéine doit être préparée selon les 3 étapes suivantes :

- La première étape : élimination de toutes les molécules d'eau, les hétéroatomes, les ligands et le solvant co-cristallisé. Après on ajoute des hydrogènes et des charges partielles à la structure en utilisant Autodock Tools (ADT) (version 1.5.4). Ensuite, on définit le centre de la boîte de grille (GB) et la taille de la poche de liaison par les coordonnées de grille x, y et z. étaient (x = -12,441, y = 12,198, et z = 67,681), et (x = 18, y = 22, et z = 24), respectivement. Les résultats de l'amarrage moléculaire obtenus ont été analysés à l'aide de *Discovery Studio Visualizer* (DSV).

3. Analyses d'Absorption, Distribution, Métabolisme, et Toxicité (ADMT)

Le premier essai clinique est une étape importante dans le développement d'un médicament pour garantir les propriétés pharmacocinétiques (PC) et éviter ainsi l'échec dans les dernières phases. Nous avons utilisé le serveur pré-ADMT v2.0 (Lee, S *et al.*, 2003), en tant que serveur puissant et citer dans la littérature, son principe consiste à prédire à partir d'essais (*in vitro* et *in vivo*) antérieurs enregistrés dans une base de données, les serveurs Web fournissent tous les essais cliniques pour les petites molécules et les bio-essais associés, l'enregistrement chimique et l'analyse comme la RMN, la SM, la HPLC et d'autres. Nous avons utilisé comme paramètre d'absorption :

- **Absorption intestinale humaine (AIH %)** qui détermine la quantité du médicament (exprimée en pourcentage) qui a pu accéder au sang, et par la suite aux tissus, en

traversant la barrière entérocytaire tout au long du tube digestif, mais beaucoup plus dans l'intestin grêle (**Chedik L., 2017**).

- **Solubilité dans le tampon** : plus la solubilité d'une substance médicamenteuse augmente mieux c'est (**Chedik L., 2017**).

Et pour le paramètre de distribution :

- **Pénétration de la barrière hémato-encéphalique** (Concentration cerveau/ Concentration sang) qui permet de déterminer la capacité du médicament à entamer le système nerveux (**Lee, S. et al., 2003**) (**Lefauconnier, J. M.; Hauw, J. J., 1984**).
- **Perméabilité pour la peau** : mesure la capacité d'une substance administrée par voie cutané à entamer le sang (**Khan, NR et al., 2015**).

Et pour le paramètre du métabolisme :

- **Cytochrome P450 3A4(CYP3A4)** : qui fait partie de la superfamille d'enzymes du cytochrome P450, située dans le foie, responsable du métabolisme des xénobiotiques, à partir de cette étape certaines substances deviennent inactives et facile à éliminer, d'autres deviennent actives (prodrogues). Donc, un médicament doit être métabolisé au moins en partie par la CYP3A4 (**Ekroos,M, Sjorgren,T., 2006**).

Et pour le paramètre de toxicité :

- **Test d'Ames** : qui évalue le potentiel mutagène d'une substance c'est-à-dire sa capacité à induire des mutations.
- **La (HERG)** : qui est un canal potassique de nature protéique, son blocage entraîne des fibrillations. (**Kiesecker C et al., 2004**).

Résultats et discussion

1. Relation structure-activité (SAR)

En fonction du taux de répétition (TR) et la valeur d'énergie minimale (VEM) les résultats montrent que : Mycearubin B est le meilleur inhibiteur parmi les dix autres molécules avec un TR de 60% et un MEV de -8,1 Kcal/mol. Tandis que la Scaurin B est le modèle d'inhibiteur le plus faible avec un TR de 60% et un VEM de -6,3 Kcal/mol. Les résultats obtenus enregistrent un pourcentage de TR de 30-100%, 90% des interactions enregistrées étaient de type hydrophile. Tous les résultats sont résumés dans le tableau ci-après.

Table 4 : Les résultats du Docking moléculaire

Ligands	TR (%)	Énergie (kcal / mol)	Résidus nucléophiles	Interactions	Distance (Å)	Nombre
Canthine-6-one	100	-6,7	GLU166, MET49	I. Hydrogène	2,15	2
			GLY143, CYS145,	I.Hydrophobe	>3,6	2
Infractin A	60	-6,8	CYS145, HIS41	I. Hydrogène	3,57	2
			MET165, HIS163 PHE140, GLU166	I.hydrophobe	>3,6	5
Infractin B	60	-7,2	CYS145, GLY143	I. Hydrogène	2,15	2
			GLU166, HIS41	I.hydrophobe	>3,6	5
Scaurin A	30	-6,4	His163, Gly143	I. Hydrogène	2,87	6
			Ser144, GLU166 His41, Met165	I.hydrophobe	>3,6	3
Scaurin B	60	-6,3	Phe140, Gly143	I. Hydrogène	2,93	10
			Ser144, His163	I.hydrophobe	>3,6	3
Stephanosporin	100	-7,1	Tyr54, His164	I. Hydrogène	3,75	5
			Met49, Gln189	I.hydrophobe	>3,6	3
Mycearubin A	60	-6,4	GLY143, SER144	I. Hydrogène	2,54	6
			CYS145, HIS163 GLU166, HIS164	I.hydrophobe	>3,6	1
Mycearubin B	60	-8,1	ASN142, SER144	I. Hydrogène	2,67	8
			CYS145, LEU141	I.hydrophobe	<3,1	2
Sanguinone A	100	-7,7	GLY143, SER144	I. Hydrogène	2,68	5
			CYS145, LEU141	I. C-H	3,40	1
Sanguinone B	100	-7,9	GLY143, SER144	I. Hydrogène	2,40	5
			CYS145, LEU141	I. C-H	3,63	1

Résultats et discussion

2. Analyses ADMT

Les paramètres ADMT ont été déterminés et vérifiés pour la qualification avec leurs plages standards les résultats sont résumés dans le tableau ci-après.

Table 5: Les résultats d'ADMT

Pharmacocinétique	canthine-6-one	infractine A	infractine B	Scaurine A	Scaurine B	Stephano- sporine	mycearbie A	Mycearbie B	Sanguinoe A	Sanguinone B
Absorption										
Absorption intestinale humaine (AIH %)	98,82	92,76	90,91	75,60	80,57	37,45	0,34	62,01	86,65	88,15
Solubilité dans le tampon (mg/l)	152,85	5617,01	195,81	18324,7	8825,39	0,07	151041	10544	274,69	1160,81
Distribution										
Pénétration de la barrière hémato-encéphalique (C.cerveau/C.sang)	3,43	1,13	3, 28246	0,26	0,56	0,016	0,34	0,07	0,09	0,09
Perméabilité pour la peau (logKp, cm/heure)	-3,76	-4,21	-4,00	-2,63	-2,19	-4,29	-5,03	-4,97	-5,08	-4,98
Métabolisme										
Inhibition du cytochrome P450 3A4	Inhibiteur	Inhibiteur	Inhibiteur	Non	Non	Inhibiteur	Non	Inhibiteur	non	Non
Substrat du cytochrome P450 3A4	Non	faible	faible	Non	Non	faible	Non	faible	substrat	substrat
Toxicité										
Test d'ames	mutagène	mutagène	mutagène	mutagène	mutagène	mutagène	mutagène	mutagène	mutagène	mutagène
Inhibition de la HERG	Risque moyen	Risque moyen	Risque moyen	dangereux	dangereux	Risque faible	Risque moyen	Risque élevé	Risque faible	Risque faible

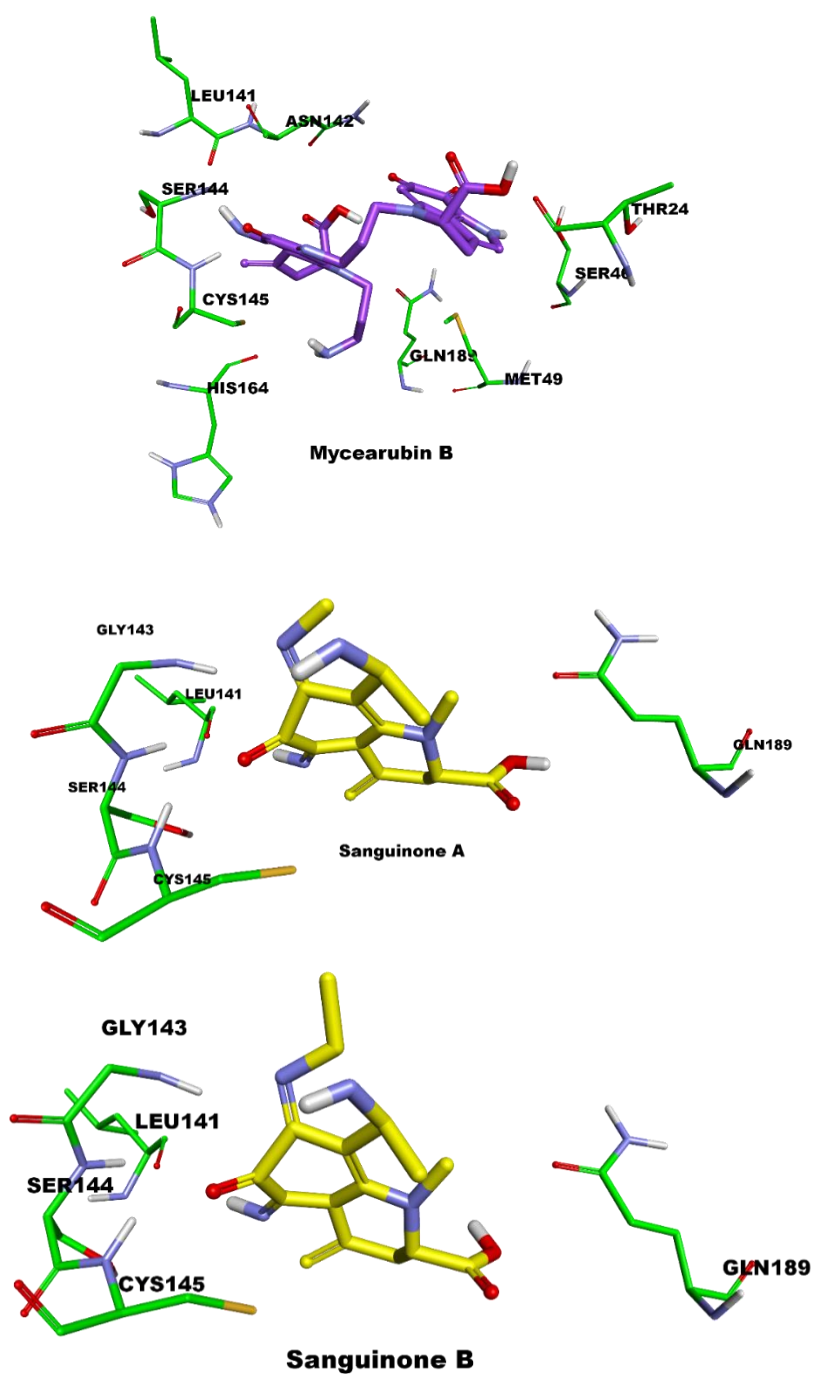


Figure 3: Les structures 3D post-docking des meilleurs inhibiteurs

Nous avons étudié le mécanisme d'action des alcaloïdes sur le Mpro, notamment le type d'interactions et les acides aminés impliqués ; les résultats prédits montrent une inhibition significative par les ligands utilisés à l'intérieur de la cavité du site actif avec 90% d'interactions hydrogène.

Le **canthine-6-one** est un composé organique hétérotétracyclique appartenant aux alcaloïdes indoliques du champignon *C.infractus* (Gill 1998,2003). Sa valeur TR était 100%, cependant, son énergie était -6,7 kcal/mol et classée la septième parmi les autres inhibiteurs. D'un point de vue structurel, Le canthine-6-one a été ancré horizontale dans la cavité du site actif selon les résultats de DM, ceci explique son forte affinité à l'enzyme avec une stabilité faible. Nous avons enregistré deux interactions hydrogènes avec GLU166 et GLY143, la CYS145 formant deux des interactions π -donneur et Alkyl. L'HIS41 a formé une interaction électrostatique avec le cycle benzénique de canthine-6-one. Au total 7 interactions favorables ont été formées. D'autres interactions type π -cation et π -alkyle ont été observé avec MET49. L'analyse ADMT à permet de prédire une grande pénétration de la barrière hémato-encéphalique, avec une absorption intestinale optimale par rapport aux autres inhibiteurs. Par contre sa solubilité dans le tampon était la plus faible. Cependant, il peut être un inhibiteur du Cytochrome P450 3A4, le profil de toxicité montre une mutagénicité aux tests d'Ames, avec un risque moyen pour l'inhibition des canaux ioniques. Dans ce cas, il peut être dangereux pour les patients atteints de maladies chroniques ; il doit être pris avec précaution.

L'**Infractine A** est un composé organique hétérotricyclique appartenant aux alcaloïdes indoliques du champignon *C. infractus* (Gill 1996). D'un point de vue structurel, l'infractin A a été ancré en forme verticale à l'intérieur de site actif en forme L, sa valeur TR était de 60%, cependant, son énergie était faible avec -6,8 Kcal/mol. L'HIS163 et CYS145 ont formé des interactions hydrogènes avec la fonction carboxylique de ligand, le GLU166 a formé 2 interactions hydrogènes, type π -donneur et carbone-hydrogène, aussi le PHE140 interagissant via une interaction π -donneur, HIS41 a formé la même interaction avec le cycle benzénique et pyrrolidine du ligand. La MET165 a formé deux interaction π -alkyle. L'Infractin A a formé plus d'interactions avec les acides aminés hydrophiles qu'hydrophobe. Au total 9 interactions favorables ont été formées, la moitié a été obtenue avec la fonction carboxylique du ligand.

Selon les paramètres ADMT prédits pour L'Infractine A, sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique était faible et son absorption intestinale et sa solubilité dans le tampon étaient importantes. Cependant, il peut être un inhibiteur du Cytochrome P450 3A4, le profil de toxicité montre mutagénicité aux tests d'Ames, avec un risque moyen pour l'inhibition des canaux ioniques. Dans ce cas, il peut être dangereux pour les patients atteints de maladies chroniques ; il doit être pris avec précaution.

L'Infractine B est un composé organique hétérotricyclique appartenant aux alcaloïdes indoliques du champignon *C.infractus* (Gill 1996). D'un point de vue structurel, l'infractin B a été ancré verticale dans la cavité de site actif selon les résultats DM en forme L, sa valeur TR était 60% avec 14 interactions favorables, cependant, son énergie était -7,2 Kcal/mol et classée la quatrième parmi les autres inhibiteurs. La SER144, CYS145, et HIS163 ont formé trois interactions hydrogènes avec la fonction carboxylique de l'Infractin B. ASP187 également forme une interaction hydrogènes avec la fonction hydroxyle de cycle benzénique du ligand. Une important interaction sulfure a été formée avec le cycle benzénique qui peut stabilise le complexe enzyme-inhibiteur. HIS41 a formé une interaction électrostatique avec les deux cycles benzéniques et pyrrolidine présents dans le ligand. La plupart des interactions obtenues était avec les acides aminés hydrophiles. Selon les paramètres prédits pour L'infractine B, sa solubilité dans le tampon était faible, par contre sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique et son absorption intestinale étaient importantes. Cependant, il peut être un inhibiteur du Cytochrome P450 3A4, le profil de toxicité montre mutagénicité aux tests d'Ames, avec un risque moyen pour l'inhibition des canaux ioniques. Dans ce cas, il peut être dangereux ; il doit être pris avec précaution.

La Scaurine A est un composé organique linéaire appartenant aux alcaloïdes éphédrine du champignon *C.scaurus* (Gill 1998,2003) D'un point de vue structurel, Scaurin A à été ancré verticale dans la cavité de site actif selon les résultats DM en forme V. sa valeur TR était 30%,

cependant, son énergie était faible avec -6,4 Kcal/mol parmi les autres inhibiteurs. HIS16, SER144, GLY14, et GLU166 ont formé 4 interactions hydrogènes avec la fonction carboxylique de la molécule. La GLU166 a formé une interaction hydrogènes avec la fonction cétone. MET49 a formé une liaison π -alkyle et MET165 peuvent être liés au ligand par la formation d'une liaison alkyle. Le résidu HIS41 a formé une interaction type hydrogènes et π -cation avec le cycle benzénique. Selon l'analyse ADMT, Scaurine A a montré la solubilité la plus importante dans le tampon, et sa pénétration de la barrière hémato-encéphalique était faible, son absorption intestinale était moyennement faible. Cette molécule ne peut pas être un inhibiteur de la Cytochrome P450 3A4. Le profil de toxicité montre que la Scaurin A est mutagène et dangereux pour l'inhibition des canaux ioniques donc il est déconseillé surtout pour les patients atteints de maladies cardiaque.

Scaurine B est un composé organique linéaire appartenant aux alcaloïdes éphédrine du champignon *C.scaurus*, (Gill 1998,2003). D'un point de vue structurel, Scaurin B a été ancré verticale dans la cavité de site actif en forme V. Sa valeur TR était 60%, cependant, son énergie était faible -6,3 Kcal/mol et classée la dernière parmi les autres inhibiteurs. La fonction carboxyle de Scaurin B a formé 6 interactions hydrogènes avec HIS163, PHE140, SER144, GLY143, CYS145, et GLU166, ce dernier a formé aussi une interaction hydrogène avec la fonction cétone. MET165 a formé une interaction π -alkyle avec le ligand. Au total 13 interactions favorables ont été formées et la plupart des interactions obtenues était avec la fonction carboxylique qui pourrait être responsable de la meilleure orientation préférée à l'intérieur de site actif. L'analyse ADMT a donné des valeurs similaires par rapport à celles de la Scaurine A, sauf que sa solubilité dans le tampon est importante mais faible par rapport à son analogue. Donc les 2 inhibiteurs sont déconseillés ou ils doivent être pris avec précaution.

La Stephanosporine est un composé organique linéaire appartenant aux alcaloïdes éphédrine du champignon *Stephanospora caroticolor* (Lang et al., 2001), D'un point de vue structurel, la

Stephanosporin à été ancré horizontale dans la cavité de site actif en prenant la forme I. Sa valeur TR était de 100%, cependant, son énergie -7,1 Kcal/mol et classée le cinquième parmi les autres inhibiteurs. TYR54 et MET49 ont formé 2 interactions hydrogènes avec la fonction carboxylique de ligand, HIS164 a formé la même interaction hydrogènes avec la fonction amine. HIS41 a formé une interaction électrostatique avec les deux groupes amines présents dans le composé. Une importante interaction sulfure entre le CYS145 et le cycle benzénique de Stephanosporin est formé qui pourrait être essentiel à son mécanisme d'inhibition. Au total 8 interactions favorables ont été formées. Selon les paramètres ADMT prédits pour La Stephanosporine, sa solubilité dans le tampon, sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique, et son absorption intestinale étaient faibles. Cependant, il peut être un inhibiteur du Cytochrome P450 3A4, le profil de toxicité montre mutagénicité aux tests d'Ames, avec un risque faible pour l'inhibition des canaux ioniques. Dans ce cas, elle peut être dangereuse, elle doit être prise avec précaution.

La Mycearubine A est un composé organique tetrahétérocyclique appartenant aux alcaloïdes pyrroloquinolines de *Mycena rosea* (**Peters et Spiteller 2007a**) un champignon relativement petit. Contient une fonction carboxylique, cétone, amine et amide. D'un point de vue structurel, ce ligand a été ancré horizontalement dans la cavité du site actif selon les résultats DM. Sa valeur TR était de 60%, cependant, son énergie était faible avec -6,4 Kcal/mol parmi les autres inhibiteurs. Au total 8 interactions favorables ont été obtenues, et une seule interaction formée avec la fonction carboxylique. Pour comprendre son mode d'action nous localisons la fonction la plus réactive dans la structure de ce ligand, le Mycearubin A a été pointé vers le site catalytique et forme une interaction hydrogène avec six acides aminés. HIS163, CYS145, SER144, et GLY143 forme une interaction hydrogènes avec la fonction cétone de cycle indole, GLU166 et HIS146 forment une interactions hydrogènes avec la fonction amine et la fonction carboxylique de cycle pipéridine respectivement. Ce ligand forme plus d'interactions avec des

acides aminés hydrophiles comme : HIS163, HIS164, SER144, GLY143, GLU166. Selon l'analyse ADMT, La Mycearbine A présente la solubilité la plus élevée dans le tampon, sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique était faible, son absorption intestinale est très réduite voir négligeable. Cependant, il ne peut pas être un inhibiteur du Cytochrome P450 3A4, De plus, son profil de toxicité montre sa mutagénicité et son risque moyen pour l'inhibition des canaux ioniques. D'après le profil d'absorption et de toxicité la molécule ne peut pas être utilisée comme un médicament.

Mycearubine B appartenant aussi aux alcaloïdes pyrroloquinolines de *Mycena rosea* (**Peters & Spitteller 2007a**). D'un point de vue structurel, ce ligand a été ancré horizontalement dans la cavité du site actif selon les résultats DM. Sa valeur TR était de 60%, cependant, son énergie était forte -8,1 Kcal/mol et classée la première parmi les autres inhibiteurs. Les interactions peuvent être classées en 4 catégories, à savoir : les interactions hydrogènes type conventionnelles, les interactions π -sulfure, π -sigma, carbone hydrogène et van der Waal. Parmi les différents résidus, CYS145, SER144 et ASN142 formaient des interactions hydrogène conventionnelle avec la fonction cétone de cycle benzénique. HIS164, SER46 et LEU141 ont formé une interaction hydrogène conventionnelles avec la fonction amine de ligand. Une seule liaison π -sigma et π -sulfure a été observée avec le résidu MET49. Le résidu GLN189 a été trouvé en interaction via une interaction carbone hydrogène. Il forme plus d'interactions avec des acides aminés hydrophiles comme : HIS164, SER144, GLY143, SER46, THR24, ASN142. Une autre formation de interactions hydrogènes entre la THR24 et la fonction carboxylique principale. Au total 12 interactions favorables, une seule interaction formée avec la fonction carboxylique. Selon les paramètres ADMT prédits pour La Mycearbine B, son absorption intestinale et sa solubilité dans le tampon étaient moyennes, et sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique était faible. La molécule peut être un inhibiteur de la Cytochrome P450

3A4. Cependant, son profil de toxicité montre sa mutagénicité aux tests d'Ames, et son risque élevé pour l'inhibition des canaux ioniques.

La Sanguinone A est un composé organique hétérocyclique appartenant aux alcaloïdes pyrroloquinoline de *Mycena sanguinolenta* (Peters & Spiteller 2007b). D'un point de vue structurel, ce ligand a été ancré horizontalement dans la cavité du site actif en prenant la forme L. Selon les résultats DM. Sa valeur TR était de 100%, cependant, son énergie de -7,7 Kcal/mol a été classée la troisième inhibiteur parmi les autres. SER, CYS145 formaient une interaction hydrogènes type conventionnelle avec le ligand GLN189 lié à l'aide d'une interaction carbone hydrogène et une autre interaction hydrogènes avec le groupement carboxyle. Au total 6 interactions favorables, une seule interaction formée avec la fonction carboxylique. On peut voir aussi 9 résidus stabilisant le complexe par la force d'attraction de van der Waals peuvent également être observés. Selon les paramètres ADMT prédits pour La Sanguinone A, son absorption intestinale était importante, sa solubilité dans le tampon, et sa pénétration dans la barrière hémato-encéphalique étaient faibles. Cependant, il peut être un substrat du Cytochrome P450 3A4, le profil de toxicité montre mutagénicité aux tests d'Ames, avec un risque faible pour l'inhibition des canaux ioniques. Dans ce cas cet inhibiteur doit être pris avec précaution.

La Sanguinone B est un Composé organique hétérocyclique appartenant aux alcaloïdes pyrroloquinoline de *Mycena sanguinolenta*. (Peters & Spiteller 2007b). D'un point de vue structurel, ce ligand a été ancré horizontalement dans la cavité du site actif en prenant la forme V Selon les résultats DM. Sa valeur TR était de 100%, cependant, son énergie -7,9 Kcal/mol a été classée le deuxième inhibiteur parmi les autres. Deux types d'interaction ont été observés dans le complexe ancré : SER, CYS145 formaient une interaction hydrogènes avec le ligand. GLN189 lié à l'aide d'une liaison carbone hydrogène. Leu141, Gly143 interagissaient avec la fonction Amine. Au total 5 interactions favorables. Selon l'analyse ADMT, La Sanguinone B présente une similitude avec la Sanguinone A, une absorption intestinale importante, une

pénétration dans la barrière hémato-encéphalique très faibles, mais sa solubilité dans le tampon était importante. De même elle peut être un substrat du Cytochrome P450 3A4, le profil de toxicité montre mutagénicité aux tests d'Ames, avec un risque faible pour l'inhibition des canaux ioniques. Dans ce cas cet inhibiteur doit être pris avec précaution.

Conclusion

La pandémie du COVID19 oblige de nombreuses études visent à trouver des thérapies antivirales. La plupart des études se concentrent sur la recherche d'un remède à l'aide de médicaments synthétisés chimiquement ou utilisés antérieurement pour d'autres maladies.

Les stratégies de gestion appropriées pour les patients atteints de COVID-19 sont un défi thérapeutique en évolution rapide, pour traiter l'infection ou prévenir la progression vers une maladie grave reste mal défini, les preuves restent peu concluantes et changent presque quotidiennement.

Les résultats obtenus montrent que **Mycearubin B** est le meilleur inhibiteur parmi les dix autres molécules avec une affinité modérée et une meilleure stabilité traduite par la valeur d'énergie la plus faible de $-8,1$ kcal/mol, son profil ADMT montre une faible absorption intestinale et risque élevé pour l'inhibition des canaux ioniques, la recherche de d'autres voies d'administrations pour le Mycearubin B est indispensable pour éviter ces effets secondaires.

Les résultats de l'analyse ADMT pour les autres des ligands ont qualifié quelque inhibiteur potentiel convenable, et autres doivent porter avec précaution pour les personnes ayant des maladies chroniques, la plupart pourraient être dangereuse pour les maladies cardiaques, des examens et analyses cardiaque sont nécessaires avant le traitement par ces alcaloïdes.

Les alcaloïdes pourraient être un traitement médicamenteux efficace pour le 2019-nCoV. Cependant, l'efficacité et l'innocuité doivent encore être confirmées par des expériences cliniques.

*Référence
bibliographique*

Babbar, N. (2015). An introduction to alkaloids and their applications in pharmaceutical chemistry. *The Pharma Innovation Journal*, 4(10), 74-75.

Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E., (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28 (1), 235-242.

Bonny, V., Maillard, A., Mousseaux, C., Plaçais, L., & Richier, Q. (2020). COVID-19: physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *La Revue de médecine interne*, 41(6), 375-389.

CHEDIK, Lisa. (2017). Prédiction in silico de l'absorption intestinale et de la pénétration cérébrale des pesticides chez l'homme. Thèse de doctorat.

Coopersmith, C. M., Antonelli, M., Bauer, S. R., Deutschman, C. S., Evans, L. E., Ferrer, R., De Backer, D. (2021). The surviving sepsis campaign: research priorities for coronavirus disease 2019 in critical illness. *Critical care medicine*, 49(4), 598-622.

De Wilde, A. H., Snijder, E. J., Kikkert, M., & van Hemert, M. J. (2018). Host factors in coronavirus replication. *Roles of host gene and non-coding RNA expression in virus infection*, 1-42.

Ekroos, M., & Sjögren, T. (2006). Base structurelle de la promiscuité des ligands dans le cytochrome P450 3A4. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, 103 (37), 13682-13687.

Gill M. (1996): Pigments of fungi (Macromycetes). *Natural Products Reports*, 13: 513–528.

Gill M. (2003): Pigments of fungi (Macromycetes). *Natural Products Reports*, 20: 615–639.

Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, Liu L, Shan H, Lei CL, Hui DSC. (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England journal of medicine* 2020.

Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Wu, W., Chen, S., Zhang, W., & Duan, G. (2020). Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses*, 12(4), 372.

Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., Zhang, B., Li, X., Zhang, L., Peng, C. and Duan, Y. & Yang, H. (2020). Structure of M pro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, 582(7811), 289-293.

R Khan, N., S Harun, M., Nawaz, A., Harjoh, N., & W Wong, T. (2015). Nanocarriers and their actions to improve skin permeability and transdermal drug delivery. *Current pharmaceutical design*, 21(20), 2848-2866.

Kiesecker, C., Zitron, E., Lück, S., Bloehs, R., Scholz, E. P., Kathöfer, S., Thomas D, Kreye VA, Katus HA, Schoels W, Karle CA, Kiehn J. (2004). Class Ia anti-arrhythmic drug ajmaline blocks HERG potassium channels: mode of action. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 370(6), 423-435.

Lang M., Spiteller P., Hellwig V., Steglich W. (2001): Stephanosporin, ein „spurloser“ Vorläufer von 2-Chlor-4-nitrophenol im Bauchpilz *Stephanospora caroticolor*. *Angewandte Chemie, International Edition English*, 113:1749–1751.

Lapierre, A., Fontaine, G., Tremblay, P. L., Maheu-Cadotte, M. A., & Desjardins, M. (2020). La maladie à coronavirus (COVID-19): portrait des connaissances actuelles. *Soins d'Urgence*, 1(1), 13-8.

Lee, S. K., Lee, I. H., Kim, H. J., Chang, G. S., Chung, J. E., & No, K. T. (2003). The PreADME Approach: Web-based program for rapid prediction of physico-chemical, drug absorption and drug-like properties. *EuroQSAR 2002 Designing Drugs and Crop Protectants: processes, problems and solutions*, 2003, 418-420.

Lefauconnier, J. M., & Hauw, J. J. (1984). The blood-brain barrier. II. Physiological data (conclusion). *Revue neurologique*, 140(2), 89-109.

Li, G., Fan, Y., Lai, Y., Han, T., Li, Z., Zhou, P., Pan, P., Wang, W., Hu, D., Liu, X. and Zhang, Q. (2020). Coronavirus infections and immune responses. *Journal of medical virology*, 92(4), 424-432.

Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K.S., Lau, E.H., Wong, J.Y. and Xing, X. (2020). Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus–infected pneumonia. *New England journal of medicine*.

Perlman, Stanley, (2020). Another decade, another coronavirus. *N Engl J Med*; 382:760-762
DOI: 10.1056/NEJMe2001126 (2020): 760-762.

Peters S., Spiteller P. (2007): Mycenarubins A and B, red pyrroloquinoline alkaloids from the mushroom *Mycena rosea*. *European Journal of Organic Chemistry*, 1571–1576.

Peters, S., Spiteller, P. (2007). Sanguinones A and B, blue pyrroloquinoline alkaloids from the fruiting bodies of the mushroom *Mycena sanguinolenta*. *Journal of natural products*, 70(8), 1274-1277.

Rodriguez-Morales, A. J., Bonilla-Aldana, D. K., Balbin-Ramon, G. J., Rabaan, A. A., Sah, R., Paniz-Mondolfi, A., ... & Esposito, S. (2020). History is repeating itself: Probable zoonotic spillover as the cause of the 2019 novel Coronavirus Epidemic. *Infez Med*, 28(1), 3-5.

Van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., ... & Munster, V. J. (2020). Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *New England journal of medicine*, 382(16), 1564-1567.

Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Abiona, O., & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260-1263.

Woelfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Mueller, M.A., Niemeyer, D., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M. and Bleicker, T. (2020). Clinical

presentation and virological assessment of hospitalized cases of coronavirus disease 2019 in a travel-associated transmission cluster. *MedRxiv*.

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.M., Wang, W., Song, Z.G., Hu, Y., Tao, Z.W., Tian, J.H., Pei, Y.Y. and Yuan, M.L. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269.

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.M., Wang, W., Song, Z.G., Hu, Y., Tao, Z.W., Tian, J.H., Pei, Y.Y. and Yuan, M.L. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269.

Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., ... & Tan, W. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England journal of medicine*.

Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... & Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *nature*, 579(7798), 270-273.

Zou, X., Chen, K., Zou, J., Han, P., Hao, J., & Han, Z. (2020). Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Frontiers of medicine*, 1-8.