

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Réf :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Prédiction *in silico* de nouveaux inhibiteurs
de l'alpha-glucosidase**

Présenté par :

- Ghichi Riad
- Boucherab Karima
- Kaha Rania

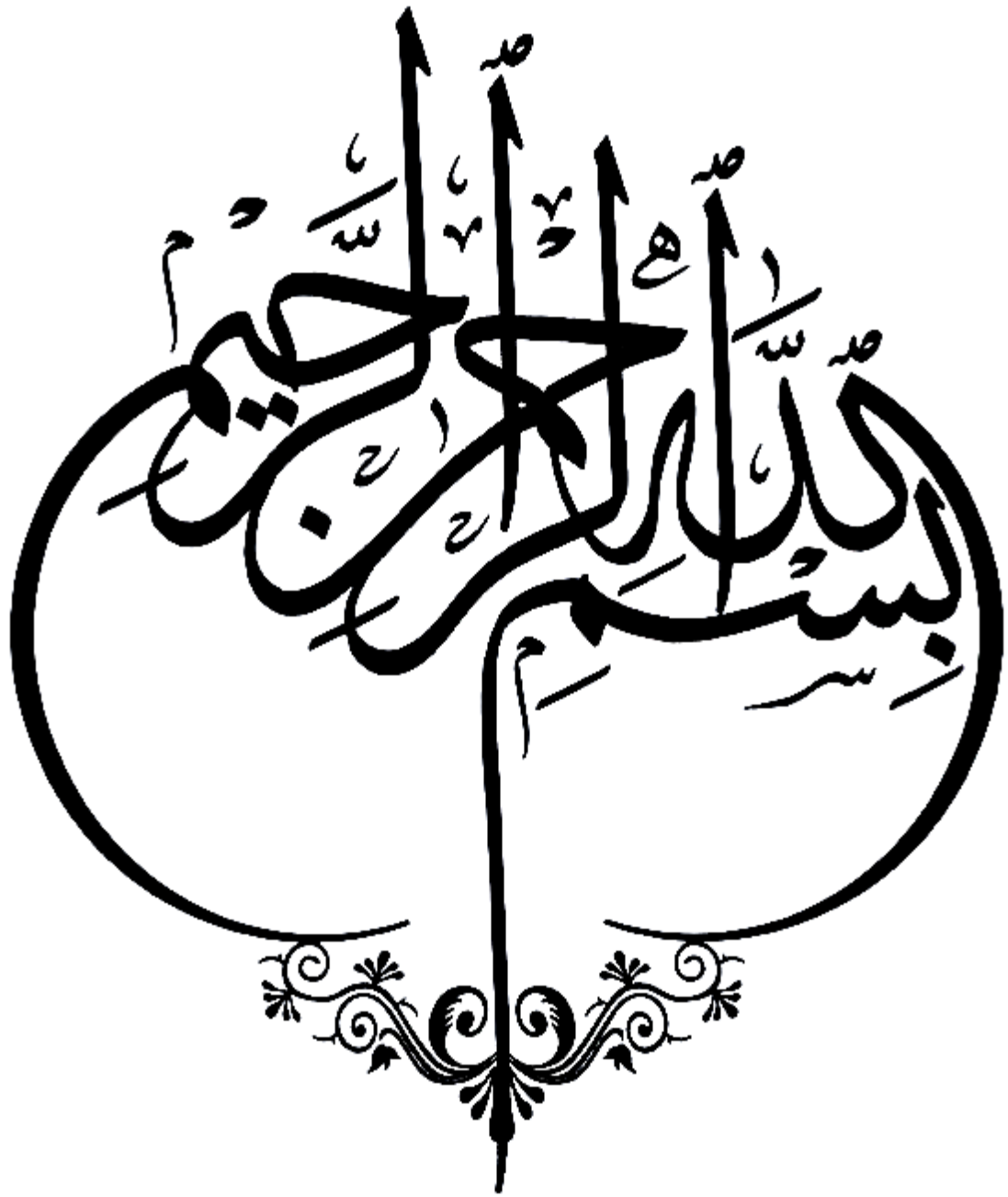
Devant le jury :

Présidente : BOUCHERIT Hanane M.C.B Centre.Univ.A.Boussouf – Mila

Examinatrice : LALAOUI Meriem M.A.B Centre.Univ.A.Boussouf – Mila

Promotrice : MERZOUG Amina M.C.A Centre.Univ.A.Boussouf - Mila

Année Universitaire : 2021/2022



Résumé

Prédiction *in silico* des nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par une hyperglycémie qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit .

Le diabète de type 2 constitue aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale.

Dans notre travail, nous sommes focalisés sur le traitement de ce type de diabète par l'inhibition de l'alpha-glucosidase humaine, une enzyme qui hydrolyse les liaisons α -1 \rightarrow 4 des polysaccharides.

Le programme de docking moléculaire Surfex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å de 76 %, les performances du programme Surfex sont avérées. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands de référence et ceux obtenus par docking moléculaire.

Dans cette étude , ce programme a été utilisé pour étudier l'inhibition de l'alpha-glucosidase humaine par divers composés afin d'identifier les meilleurs, qui sont les W9G et VND. Le criblage virtuel d'une collection de 77 composés issus de la banque de données PubChem, similaires de l'inhibiteur W9G a fait ressortir les composés CID44343625, CID101342889 comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'alpha-glucosidase avec plus d'affinité par rapport à l'inhibiteur de référence .

Enfin, l'application de la règle de 5 de Lipinski nous informe de manière positive sur les propriétés physicochimiques de ces nouvelles molécules proposées .

Mots clés : Diabète de type 2, Alpha glucosidase, docking moléculaire, Surfex-dock , la règle de Lipinski.

Abstract

In silico prediction of new alpha glucosidase inhibitors

Diabetes is a chronic disease characterized by hyperglycemia that occurs when the pancreas does not produce enough insulin or when the body is unable to use the insulin that it produces.

Type 2 diabetes is now a major public health problem worldwide. In our work, we are focused on the treatment of this type of diabetes based on the inhibition of human alpha-glucosidase, an enzyme that hydrolyzes the α -1 \rightarrow 4 bonds of polysaccharides.

The molecular docking program Surflex-dock was developed to help develop molecules with therapeutic activity. With an RMSD values less than or equal to 2 Å of 76%, the performance of the Surflex program is proven. This test was followed by a visual analysis of the superposition of the references ligands and those obtained by molecular docking.

In this study this program was used to study the inhibition of human alpha-glucosidase by various compounds in order to identify the best ones, which are the compounds W9G and the VND. The virtual screening of a collection of 77 compounds from the PubChem database, similar to the W9G inhibitor, highlighted the compounds CID44343625 and CID101342889 as potential new inhibitors of alpha-glucosidase with more affinity by compared to the reference inhibitor.

Finally, the application of Lipinski's rule of 5 informs us positively about the physicochemical properties of these new proposed molecules.

Keywords: Type 2 diabetes, Alpha-glucosidase, molecular docking, Surflex-dock, Lipiniski's rule of 5

ملخص

إقتراح مثبطات جديدة لأنزيم الألفا غليكوزيداز بواسطة الفحص الافتراضي

السكري مرض مزمن يتميز بارتفاع نسبة السكر في الدم بسبب عدم قدرة البنكرياس على إنتاج الكمية الكافية من الأنسولين أو عدم قدرة الجسم على استعمال هذا الأخير بطريقة فعالة.

السكري من النوع الثاني يمثل حاليا مشكل كبير للصحة العمومية على المستوى العالمي.

في عملنا هذا ركزنا على العلاج عن طريق تثبيط أنزيم الألفا غليكوزيداز البشري و الذي يقوم بتفكيك الروابط السكرية من النوع α 1 ← 4 .

برنامج الإلتحام الجزيئي surflex-dock تم تطويره للمساعدة على إكتشاف مركبات ذات فعالية علاجية مع نسبة 76 % من قيم "RMSD" أقل من 2 Å ، كفاءة برنامج surflex-dock مؤكدة . هذا الإختبار تبعه التحليل المرئي لتراكب الجزيئات المرجعية مع التي تم الحصول عليها ببرنامج surflex-dock .

لإنجاز هذا العمل قمنا بإعتماد طريقة الإلتحام الجزيئي بإستعمال برنامج surflex-dock ، هذا البرنامج استعمل من أجل دراسة تثبيط أنزيم الألفا غليكوزيداز البشري بواسطة عدة مركبات من أجل معرفة الأفضل بينهم و هما "W9G" و "VND" . الفحص الافتراضي على 77 مركب تم تحميلهم من بنك المعلومات "PubChem" نظائر للمثبط "W9G" " سمح بالحصول على مثبطات جديدة مثل المركبين CID44343625 و CID101342889 و اللذان لهما أداء أفضل من المثبط السالف الذكر .

أخيرا استعمال قاعدة "Lipinski" زودنا بمعلومات إيجابية تخبرنا بطريقة إيجابية عن الخصائص الفيزيوكيميائية عن هذه المركبات الجديدة المقترحة.

كلمات مفتاحية : السكري من النوع الثاني ، ألفا غليكوزيداز ، الإلتحام الجزيئي ، surflex-dock ، الإلتحام الجزيئي ، قاعدة Lipinski .

Remerciement

*Nous remercions en premier lieu **ALLAH** le tous puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.*

Nous tenons à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et particulièrement Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu

*À notre encadreur **docteur MERZOUG Amina M.C.A** Centre.Univ.A.Boussouf - Mila pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience,... tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer nos sentiments de profonde gratitude.*

Nous tenons à exprimer notre respect aux membres du jury.

*Nous commençons d'abord par **docteur BOUCHERIT Hanane M.C.B** Centre.Univ.A.Boussouf - Mila qui a accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail comme présidente de Jury. Qu'elle soit assurée de notre respectueuse considération.*

*On remercie infiniment **docteur CALAOUI Meriem M.A.B** Centre.Univ.A.Boussouf - Mila pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de juger ce master et d'être examinatrice.*

Nous adressons un grand merci au chef du département de biologie

Noustenons à exprimer également nos gratitudes à nos enseignants(es).

A tous les lecteurs de ce mémoire .

Dédicace

Mes très chers parents sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos en Soulagements, vos prières et vos efforts que vous avez déployés durant toute ma vie,

Ce travail n'aurait jamais pu être réalisé. Je vous présente ma pleine gratitude et mon Profond respect, j'espère que Dieu vous donne la longue vie et la bonne santé, je vous Aime énormément.

A mes frères, Abdelhamid, Nadir et mes sœurs; Hayette , Fouzia, Nourelhouda.

Merci pour tout..., la confiance et l'énergie que vous m'aviez donnée... A ma femme Fouzia et mes enfants Amir et Wassim grand merci pour leur soutient et encouragement qui m' ont donné la volonté pour arriver à mon but .

A tous ceux que j'aime, ceux qui m'aiment et me respectent de près ou de loin , sans oublier toute la promotion 2022 de biochimie appliquée A mon encadreur docteur MERZOUG Amina qui m'a dirigé et encouragé pour réaliser ce travail .

Enfin mon plus profond respect va tout droit à mes aimables professeurs dans Tous les cycles de ma scolarité qui mon éclairé la voie du savoir.

Riad

Dédicace

Je dédie ce modeste travail comme un témoignage d'affection de respect et d'admiration:

À la mémoire de mes très chers parents, Noureddine et Alakri

Pour tout l'amour dont vous m'avez entouré, pour tout ce que vous avez fait pour moi, je ferais de mon mieux pour rester un sujet de fierté à vos yeux avec l'espoir de ne jamais vous décevoir. Que ce modeste travail, soit l'exaucement de vos vœux tant formulés et de vos prières quotidiennes.

À mes frères: Mourad ,Lotfi ; et à ma sœur Radia et son mari

Qui sont partagés avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

À notre encadreur :Dr.Merzoug Amina

Au membre trinôme Riad

,Rania

A ma source de joie et de bonheur , pour toute la famille :Rida et oubey et Abderahmane.

Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patience infinies

À mes chères amies et toute ma famille

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles

À tous ce qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Karima

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quel que soit les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leurs exprimer mon amour sincère.

A mon encadreur Dr.Merzoug Amina pour sa patience infinie

*A l'homme, mon précieux offert du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et mon respect: mon chers père **Abd El moumoen***

*A la femme qui à souffert sans me laisser souffrir, qui n'à jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse: mon adorable mère **Aziza***

*A ma chère tante **Nadia** et son mari **Amer** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A vous mon grand père **Mouhamed** et ma grand mère **Fatima**, ceci est ma profonde gratitude pour votre éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse vous offrir, que dieu vous donne une longue et joyeuse vie.*

*A mes frères, **Oussama**, **Yasser**, **Abd'Esselem** et **Abd Raouf**, et mon adorable petite sœur **Meriem**, qui m'ont toujours soutenu et encouragés Durant ces années d'étude.*

*A ma source de joie et de bonheur, pour toute la famille : **Chifaa** et **Tasbih**.*

A mes chers oncles et mes chères tantes

A toutes les cousines, les voisines et mes chères amies que j'ai connu jusqu'à maintenant; merci pour leurs amour et leurs encouragements.

*Sans oublier les membres du trinôme **Riad**, **Karima**, pour leur soutien moral et leur patience et compréhension tout au long de ce projet*

Rania

Liste des tableaux

Tableau	page
Chapitre 03 : Le docking moléculaire	
Tableau III.1 : Les principaux programmes de docking moléculaire	32
Chapitre 05 : Résultats et discussion	
Tableau V. 1 : Liste des 151 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex dock par le test du RMSD	45-47
Tableau V. 2. Les valeurs des affinités des complexes 3WY2-inhibiteurs étudiés	51-54
Tableau V.3 : les liaisons hydrogène formées par le ligand W9G.	55
Tableau V.4 : Résultats de docking des similaires de composé W9G dans l'alpha glucosidase .	57-61
Tableau V.5 : Les liaisons hydrogènes formées par le composé CID44343625 avec les résidus de site actif .	63
Tableau V.6 : Critères de la règle de Lipinski pour l'inhibiteur de référence et les deux composés proposés.	65

Liste des graphes

Graphe	page
Graphe V.1 : Résultat global du RMSD en %	47
Graphe V.2 : Résultats en % obtenu par Surflex-dock à divers intervalles de RMSD.	48

Liste des figures

Figures	page
Chapitre 1 :Généralité sur le diabète	
Figure I.1 :L’histoire de diabète	03
Figure I.2 : Le diabète .	04
Figure I. 3 : Diabète de type 2	06
Figure I. 4 : complications de Diabète de type 2	10
Chapitre II : L’alpha-glucosidase et ses inhibiteurs	
Figure II.1 : Représentation en ruban de la structure tridimensionnelle résolue par cristallographie aux rayons X de l’ α -glucosidase de <i>blautia obium</i>	17
Figure II.2 : Structure chimique de la molécule de l’acarbose	20
Figure II.3 : structure chimique du miglitol	21
Figure II.4 :Structure du Voglibose	21
Chapitre III : Le docking moléculaire	
Figure III.1 : Représentation schématique du docking de deux molécules(protéine+ ligand=complexe moléculaire)	24
Figure III.2:Principe de docking	25
Figure III.3 : Protocole typique d’un docking	26
Figure III .4 :Représentation schématique des étapes du docking moléculaire	27
Figure III.5: Les forces de Van Der Waals	30

Figure III.6 : Interactions hydrophobes	30
Figure III.7 : La liaison hydrogène	31
Figure III.8 : Les interactions électrostatiques	32
Chapitre IV : Matériel et méthodes	
Figure IV.1 : Capture d'écran du programme OpenBabel	37
Figure IV.2 : Visualisation par ViewerLite de l'occupation du site actif de l'alpha glucosidase par un inhibiteur	38
Figure IV.3:Interface de la banque de données PDB	39
Figure IV.4 :Interface de la base de données PubChem	40
Figure IV 5 :Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le programme surflex-dock	42
Figure IV.6 : Résultat du calcul de RMSD par le programme surflex-dock	42
Chapitre V : Résultats et discussion	
Figure V .1 : Superposition du ligand MIG du complexe 5NN6 simulé par Surfex-dock (coloréen vert) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en violet) (RMSD=0.454 Å)	49
Figure V .2 : Superposition du ligand 9VH du complexe 5OHY simulé par Surfex-dock (coloréen vert) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=2.671 Å)	49
Figure V .3 : Superposition du ligand H9B du complexe 6IC6 simulé par Surfex-dock (coloréen vert) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en bleu) (RMSD=4.187Å)	50
Figure V .4 : Mode de liaison du composé W9G avec le site actif de l'alpha- glucosidase	54
Figure V .6 : Résultat du docking du composé CID44343625 avec le 3WY2	62
Figure V .7 : Résultat de docking de composé CID101342889 avec le site actif de 3WY2	64

LISTE DES ABREVIATIONS

Å: Angström.

AVC : Accidents Vasculaires Cérébraux .

3D: Tridimensionnelle

GLP1 : Glucagon Like Peptide -1 .

HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale .

HTA : Hyper Tension Artérielle .

J- C : Jésus Christ

Log P: Le logarithme décimal du coefficient de partage octanol/eau.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PDB: Protein Data Bank.

RMN: La résonance magnétique nucléaire.

RMSD: Root Mean Square Deviation.

SGLT2 : sodium /glucose cotransporter 2 .

Table des matières

Résumé

Abstract

الملخص

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des graphes

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	01
Chapitre I : généralité sur le diabète.....	04
1-Historique.....	04
2- Définition	05
3- Les différents types de diabète.....	06
4- Facteurs de risque	08
4-1- Les antécédents familiaux (hérédité).....	08
4-2- L'obésité.....	08
4-3- La sédentarité	09
4-4- L'âge	09
4-5- Les habitudes alimentaires	09
5- Epidémiologie	09
6-Complications	10
6-1- Atteintes micro-vasculaires	11
6-2- Atteintes macro-vasculaires	12
7- Physiopathologie.....	12
8- Traitements	12
8-1- Traitement non médicamenteux	12

8-2- Traitement médicamenteux du diabète	12
Références bibliographiques	15
Chapitre II : L'alpha-glucosidase et ses inhibiteurs	17
1-Les alpha-glucosidases	17
1-1.Définition des alpha-glucosidases	17
1-2. Site catalytique	17
1-3. Description structural	17
2-Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase	19
2-1 –Définition	19
2-2- Mécanisme d'action	19
2-3- Utilisation clinique	19
2-4- Paramètres pharmacocinétiques	19
2-5- Dosage et effets indésirables	20
3-Médicaments existants	20
3-1- L'acarbose	20
3-2- Le miglitol	21
3-3- Le voglibose	22
Références bibliographiques	23
Chapitre III : Le docking moléculaire	24
1-Généralité	24
2-Définition	24
3-Principe du docking	25
4-Approches du docking moléculaire	26
5-Applications	27
6- Les étapes du docking moléculaire	27
7- Les outils du docking moléculaire	28
8- Les interactions protéine – ligand	29
8-1 . Les forces de van der Waals	30
8-2. L'effet hydrophobe	31

8-3. Les liaisons hydrogènes	32
8-4. Les interactions électrostatiques	32
9- Les programmes du docking	33
10- Le programme du docking moléculaire surflex-dock	34
Références bibliographiques	35
Chapitre IV : Matériel et méthodes	37
1-Matériel	37
1-1. Microordinateurs	37
1-2. Programmes utilisés	37
1-3. Banques de données	38
2-Méthodes	41
2-1-Tests de fiabilité de programme Surflex-dock	41
2-1-1-Root Mean Square Deviation (RMSD)	41
2-1-2-Analyse visuelle	42
2-2-Les étapes du docking par Surflex-dock	42
2-3- Prédiction de la similarité médicamenteuse par la règle de Lipinski	44
Références bibliographiques	45
Chapitre V : Résultats et discussion	46
1-Tests de fiabilité du programme Surflex-dock	46
1-1-Test RMSD	46
1-2- Analyse visuelle	49
2-Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de l'alpha-glucosidase par diverses molécule	52
3-Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase	57
4-Prédiction de la similarité médicamenteuse.....	65
Références bibliographiques	67
Conclusion.....	68

Introduction

INTRODUCTION :

Le diabète, maladie chronique du siècle, est caractérisé par une hyperglycémie qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Il existe différents types de diabète soit le pré diabète, le diabète de type 1 (diabète insulino-dépendant), de type 2 (diabète non insulino-dépendant), et le diabète de grossesse (diabète gestationnel) (1) .

L'Atlas du diabète, publié en novembre 2017, indique que près de deux millions de personnes sont atteintes de diabète en Algérie.(2). Le document publié par la fédération internationale du diabète (FID), révèle dans son Top 10 des pays en nombre de nouveaux cas de diabète chez les enfants et les adolescents (0-19 ans), que l'Algérie se classe à la sixième place(2) .

Selon l'atlas 2021, le taux de mortalité chez les diabétiques est augmenté suite aux infections causées par la pandémie du corona virus (covid-19) et ces complications (3) .

Malgré la recherche médicale qui avance tous les jours, le diabète reste une maladie qui se soigne très bien mais qui ne se guérit pas. Il faut donc, toute sa vie, se surveiller, garder de bonnes habitudes alimentaires, pratiquer une activité physique et prendre régulièrement son traitement. Un diabétique peut donc être un malade en bonne santé.

Les traitements actuels du diabète de type 2 qui nous intéressent dans le présent travail dépendent principalement de certains agents hypoglycémisants oraux, mais leurs effets ne sont pas souvent satisfaisants.

Par conséquent, les chercheurs recherchent maintenant des médicaments et des traitements plus efficaces.

Au début du diabète de type 2, il y'a toujours une production d'insuline mais accompagnée d'une résistance des cellules du corps à cette dernière, un traitement complémentaire s'avère obligatoire pour une bonne maîtrise de la glycémie.

A ce titre, plusieurs enzymes sont apparues comme cibles prometteuses, notamment les alpha-glucosidases ,qui se présentent comme des cibles thérapeutiques potentielles et prometteuses pour le traitement du diabète de type 2.

Les alpha-glucosidases sont des enzymes qui procèdent à la digestion des sucres. Dans un premier temps, dégradés en disaccharides par l'amylase salivaire puis par l'amylase pancréatique, les sucres sont ensuite pris en charge par les alpha-glucosidases . Ils sont alors dégradés en monosaccharides (eux seuls capables de franchir la barrière intestinale). Ainsi, les

inhibiteurs des alpha-glucosidases bloquent le dernier stade de la digestion des sucres qui ne pourront pas être absorbés. Ils sont donc indiqués dans le traitement de certains diabètes (4) .

C'est dans ce même contexte que nous orientons notre travail vers la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase en faisant appel aux techniques bio-informatiques.

Dans ce cadre, apparait l'importance du docking moléculaire, qui vise la modélisation de la structure d'un complexe protéine-ligand permettant de mieux comprendre les interactions entre un composé potentiel « ligand » et sa cible thérapeutique « protéine », dans le but de concevoir des molécules thérapeutiques.

Dans ce modeste travail , on a commencé par une première partie théorique développant dans laquelle la maladie qui est le diabète sucré ensuite l'enzyme : l'alpha-glucosidase qui a apparue comme cible thérapeutique , dans la seconde partie pratique on a parlé du matériels et méthodes , les différents programmes utilisés dans les études *in silico* , le docking moléculaire , enfin la dernière partie celle des résultats et discussion se terminant par une petite conclusion .

Références bibliographiques:

- (1) Reinwein D., Benker G.1996.Checklists de médecine « Endocrinologie et métabolisme »
Ed: VIGOT, France, p 479.
- (2) International diabetes federation.2017. Atlas du diabète. 8^{ème} édition, p150.
- (3) International diabetes federation. 2021. Atlas du diabète.10^{ème} édition, p141.
- (4)David J.H., Hazel P. 1998.Analytical biochemistry. 3^{ème} Edition. Ed: Prentice Hall ,
Angleterre, p 336.

Chapitre I :
généralité sur le diabète

Chapitre I : Généralité sur le diabète

1. Historique

Le diabète est l'une des maladies métaboliques les plus vieilles qui furent signalées dès l'Antiquité, Le papyrus Ebers fait mention de cette maladie à partir de 1550 ans avant Jésus Christ (J.-C) (1). Il est mieux défini dans le traité indien Sushruta Samhita qui daterait de 500 ans avant J.-C (2). Le terme « diabète » vient du grec ancien et signifie passer au travers en référence à deux symptômes caractéristiques de la maladie, la soif (polydipsie) et le besoin fréquent d'uriner (polyurie). Le terme latin « mellitus » signifiant sucré comme le miel a été ajouté par le médecin anglais Thomas Willis après avoir noté le goût sucré des urines de patients diabétiques (3). Ce n'est que 275 ans avant J.-C. que le terme « diabète » fut utilisé par le grec Démétrios d'Apnée. Cette maladie ne fut décrite et étudiée qu'au premier siècle après J.-C (4). Les découvertes les plus importantes concernant le diabète étaient réalisées à partir de la deuxième moitié du 18^{ème} siècle (figure I.1), Jusqu'à présent, le diabète est une maladie encore mal connue étant donné son étiologie complexe. Le diabète est devenu la 4^{ème} ou la 5^{ème} cause de mortalité dans la plupart des pays développés selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et contrairement aux idées reçues, sa progression est fulgurante dans les pays en voie de développement et notamment en Afrique.

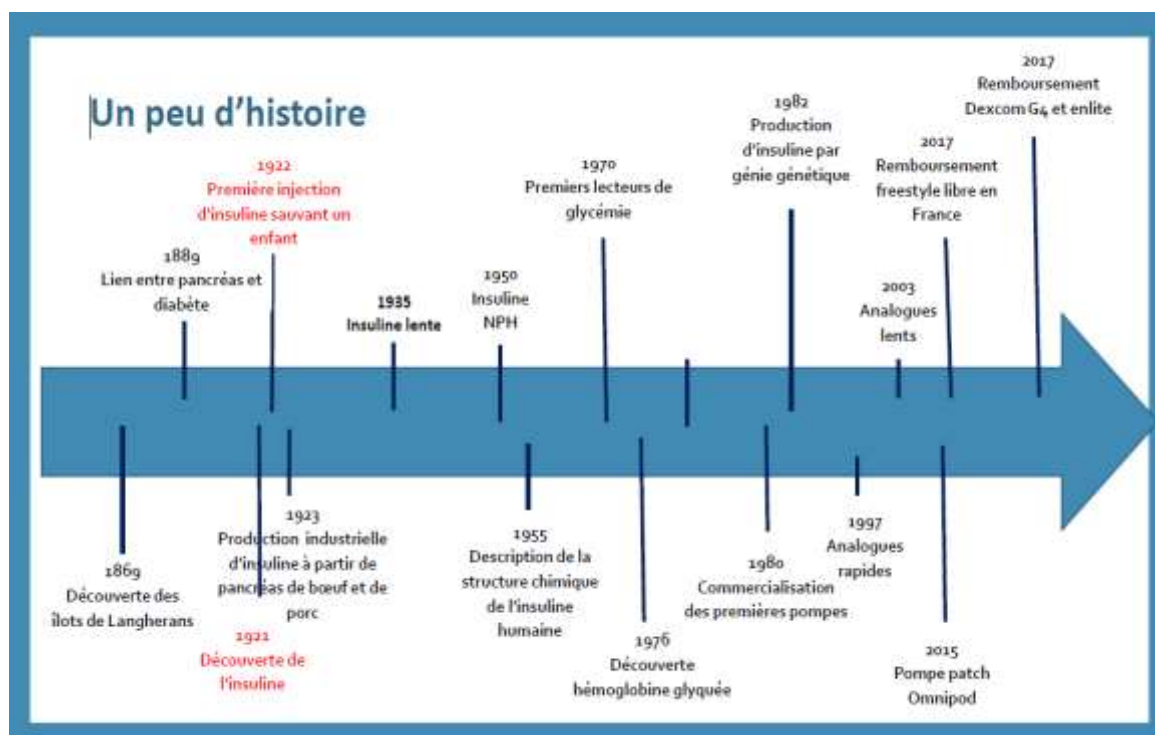


Figure I.1 :L'histoire de diabète (5)

2. Définition

Le diabète sucré est une affection du métabolisme caractérisée par l'augmentation du taux de sucre sanguin (Figure I.2), qui perturbe le métabolisme des hydrates de carbone, des graisses et des protéines(6) . L'affection est due à une défaillance de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou des deux (6).

Selon l'OMS, un patient est diagnostiqué diabétique dès lors qu'il présente deux glycémies à jeun supérieures à 1.26 g/l, ou qu'une mesure de l'hémoglobine glyquée est supérieure à 6 %, ou encore qu'il obtient un résultat positif au test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO : observation des variations de glycémie durant deux heures, chez un patient à jeun au départ, à qui l'on a demandé de boire une solution contenant 75 grammes de glucose) (7) .

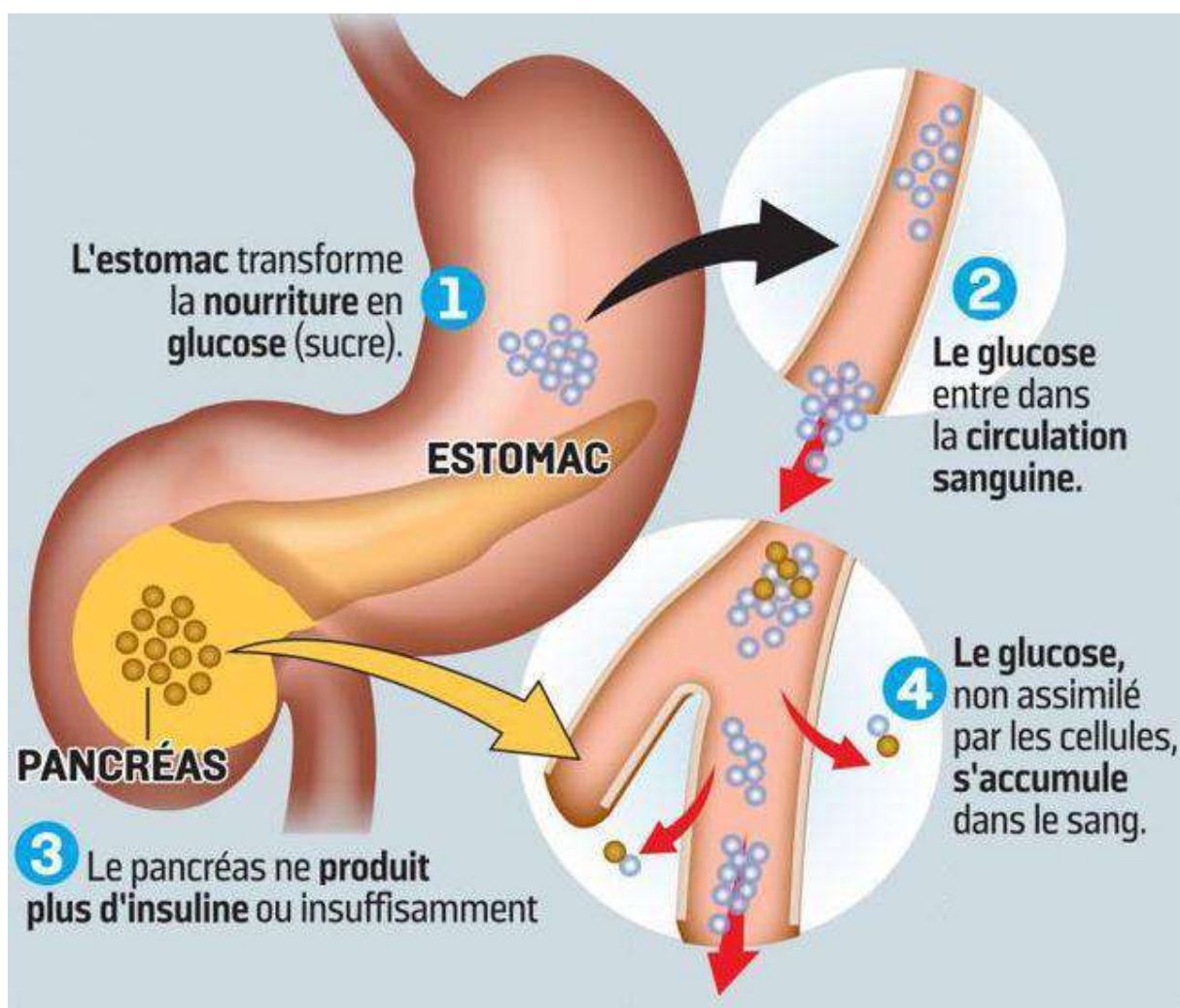


Figure I.2 : Le diabète (8) .

3. Les différents types de diabète

Il existe quatre grands types de diabète (9) :

- Diabète de type 1 ;
- Diabète de type 2 ;
- Diabète gestationnel ;
- Diabète secondaire.

3.1. Diabète de type 1

Ce type de diabète apparaît en général chez le sujet jeune mais peut se développer à tout âge(5-10% des patients) (10). L'étiologie exacte reste inconnue mais une pathologie auto-immune détruisant les cellules bêta du pancréas est souvent évoquée, ainsi que des facteurs environnementaux et certains virus ou bactéries(10). Le pancréas ne produit plus du tout ou pas assez d'insuline ce qui provoque les symptômes classiques d'hyperglycémie:

- Soif, polyurie et polydipsie ;
- Perte de poids involontaire ;
- Fatigue ;
- Vision floue ;
- Douleurs abdominales.

Ces patients nécessitent un apport exogène d'insuline pour vivre(10) .

3.2.Diabète de type 2

Il peut apparaître à tout âge mais se développe en général chez les adultes d'âge moyen ou les personnes âgées(90-95% des patients)pouvant déjà souffrir d'un syndrome métabolique (surpoids, obésité, dyslipidémie, hypertension...) (10) . L'étiologie est inconnue mais il apparaît plus fréquemment chez certaines ethnies ou après un diabète gestationnel. Le pancréas est en général encore fonctionnel (au moins au début) mais une production insuffisante d'insuline est observée ainsi qu'une résistance des cellules à l'action de celle-ci (10).

Ce type de diabète est souvent asymptomatique et peut évoluer plusieurs années de manière silencieuse et provoquer déjà des complications. Parfois certains signes sont présents tels que :

- Des infections fréquentes et une cicatrisation lente ;
- Un syndrome des ovaires polykystiques ;
- Un Acanthosis Nigricans (taches cutanées épaisses, d'aspect bronzé, grises, brunes ou noires) (10).

Ces patients nécessitent un traitement basé sur des règles hygiéno-diététiques, des antidiabétiques oraux et parfois aussi de l'insuline (Figure I-3) (10) .

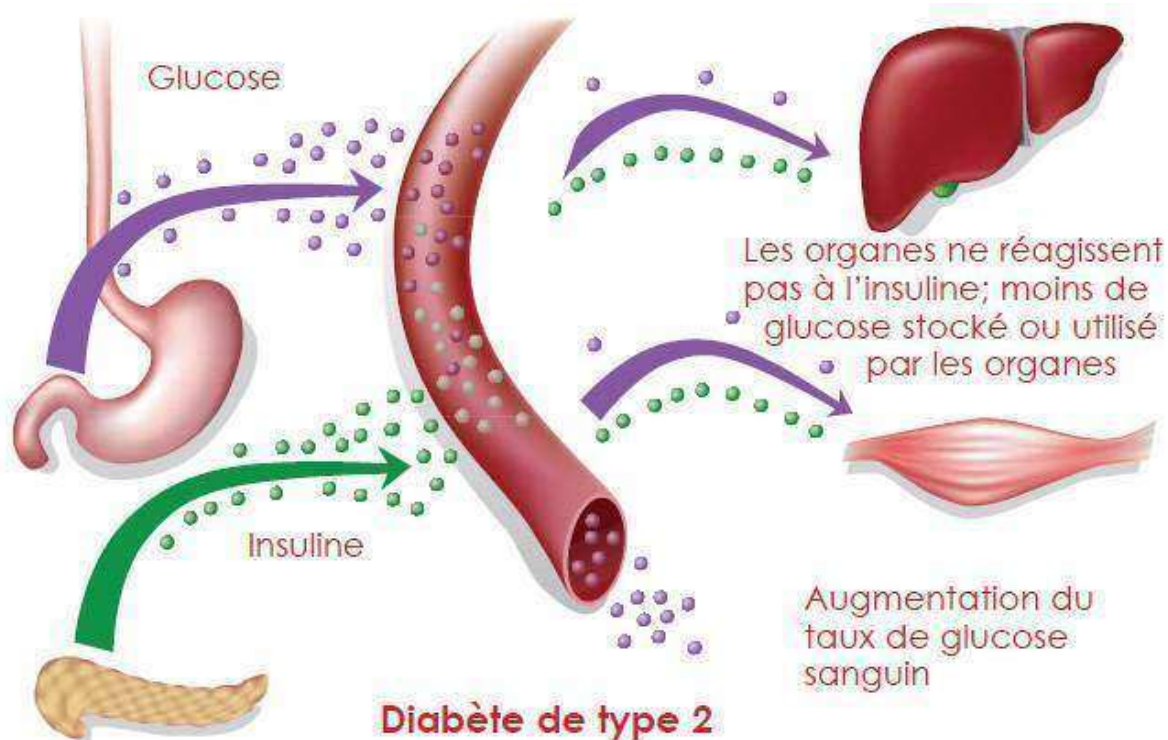


Figure I. 3 : Diabète de type 2 (11).

3.3. Diabète gestationnel

Ce diabète apparaît lors d'une grossesse(14% des femmes enceintes) (10). Il se développe une intolérance au glucose due à une sécrétion insuffisante d'insuline dans le cadre d'une résistance à l'action de celle-ci augmentée durant la grossesse (10). Ce diabète est en général asymptomatique d'où l'importance du dépistage chez la femme enceinte.

Certains facteurs de risques sont associés à son apparition tels que:

- Obésité ;
- Age > 30 ans ;
- Anamnèse familiale de diabète de type 2 positive ;
- Femme ayant déjà accouché d'un nouveau-né de plus de 4kg (10) .

Ces patientes nécessitent un traitement d'insuline ainsi qu'une surveillance étroite de leur glycémie durant la grossesse et en post-partum. Le nouveau-né sera aussi encadré étroitement par une équipe multidisciplinaire (10).

3.4. Le diabète secondaire

Dans laquelle une autre maladie est à la base de l'apparition du diabète. Les causes les plus fréquentes de diabète secondaire (Figure I.4) sont les suivantes :

- Affections du pancréas ;
- Affections métaboliques ;
- Affections endocriniennes ;
- Utilisation des médicaments diabétogènes ;
- Syndromes génétiques ;
- Infections virales (rubéole congénitale, cytomégalovirus) (12).

4. Facteurs de risques

Cette maladie non auto-immune, multifactorielle et polygénique, est déterminée par l'interaction de plusieurs gènes, qui ne s'expriment qu'en présence de facteurs environnementaux favorisant (13).

4.1. Les antécédents familiaux (Hérédité)

La présence d'un diabétique de type 2 dans une famille augmente le risque de survenue du diabète chez les autres membres de cette famille (13) .

4.2. L'obésité

80 % des diabétiques de type 2 présentent une obésité caractérisée par un excès de tissu adipeux intra-abdominal, plus précisément dans les régions omentales et mésentériques qui sont drainées par la veine porte. Ce tissu graisseux viscéral présente une activité métabolique

avec lipolyse accrue et libération massive d'acides gras libres dans le système porte, à cause de la rareté des récepteurs d'insuline dans le tissu omental ce qui réduit le rôle d'inhibiteur de la lipolyse joué par l'insuline. Ces acides gras vont favoriser l'insulinorésistance au niveau hépatique par une diminution de la clairance de l'insuline, et au niveau musculaire par l'inhibition compétitive de la captation du glucose. Ainsi donc, les acides gras libres présentent une action inverse de celle de l'insuline (13).

4.3. La sédentarité

L'étude menée par Helmrich *et al* (1991) (13) met en évidence une augmentation de 10 % du risque de diabète de type 2 pour chaque augmentation de 500 kcal de dépense énergétique par semaine.

4.4 .L'âge

L'incidence de la maladie augmente avec l'âge du fait de l'usure des cellules et des organes (13) .

4.5. Les habitudes alimentaires

En Algérie, le nombre de diabétiques âgés de 25 à 40 ans a sensiblement augmenté en raison notamment d'un régime alimentaire déséquilibré et d'une alimentation malsaine (13)

5.Épidémiologie

Le diabète de type 2 constitue aujourd'hui une préoccupation majeure en terme de santé publique. A l'échelle mondiale, on compte 422 millions d'adultes diabétiques en 2014, - contre 180 millions en 1980, soit une prévalence passant de 4,7% à 8,5% (13).

La prévalence de cette maladie est en augmentation continue depuis plusieurs années, avec une hausse de 5,4 % par an entre 2000 et 2011 (6). Ainsi, l'OMS estime que le taux de mortalité dû au diabète va augmenter de 50 % durant la prochaine décennie si aucune mesure urgente n'est prise. Véritable épidémie, le diabète est responsable de plus de décès que le sida, il tue une personne toutes les dix secondes (13) .

En Algérie, le diabète est l'un des problèmes majeurs de santé publique, en particulier le diabète de type 2. Le diabète vient en deuxième position au classement des maladies

chroniques, derrière l'hypertension, et pour bien préciser, le diabète est le deuxième état morbide le plus fréquent (8,78%) après l'hypertension artérielle (16,23%) (13).

Le taux de diabétiques en Algérie a atteint 12 % de la population, et plus de 15.000 nouveaux cas de diabète sont recensés chaque année au niveau national. D'où notre intérêt pour cette maladie dans le présent travail (13) .

Le nombre de personnes atteintes de diabète est en progression, passant de 0,3 % chez les sujets âgés de moins de 35 ans à 4,1 % chez les 35 – 59 ans et 12,5% chez les plus de 60 ans (13).

6.Complications

Les hyperglycémies répétées et prolongées entraînent des complications graves à long terme (Figure I.4). Elles sont d'autant plus insidieuses qu'elles sont le plus souvent asymptomatiques, ces complications peuvent survenir après plusieurs années de déséquilibre glycémique (souvent après 10 à 20 ans). Les organes touchés sont : le système cardiovasculaire, les yeux, les reins, les nerfs et les pieds (13) ; et elles peuvent se traduire au niveau de l'organisme par différentes atteintes.

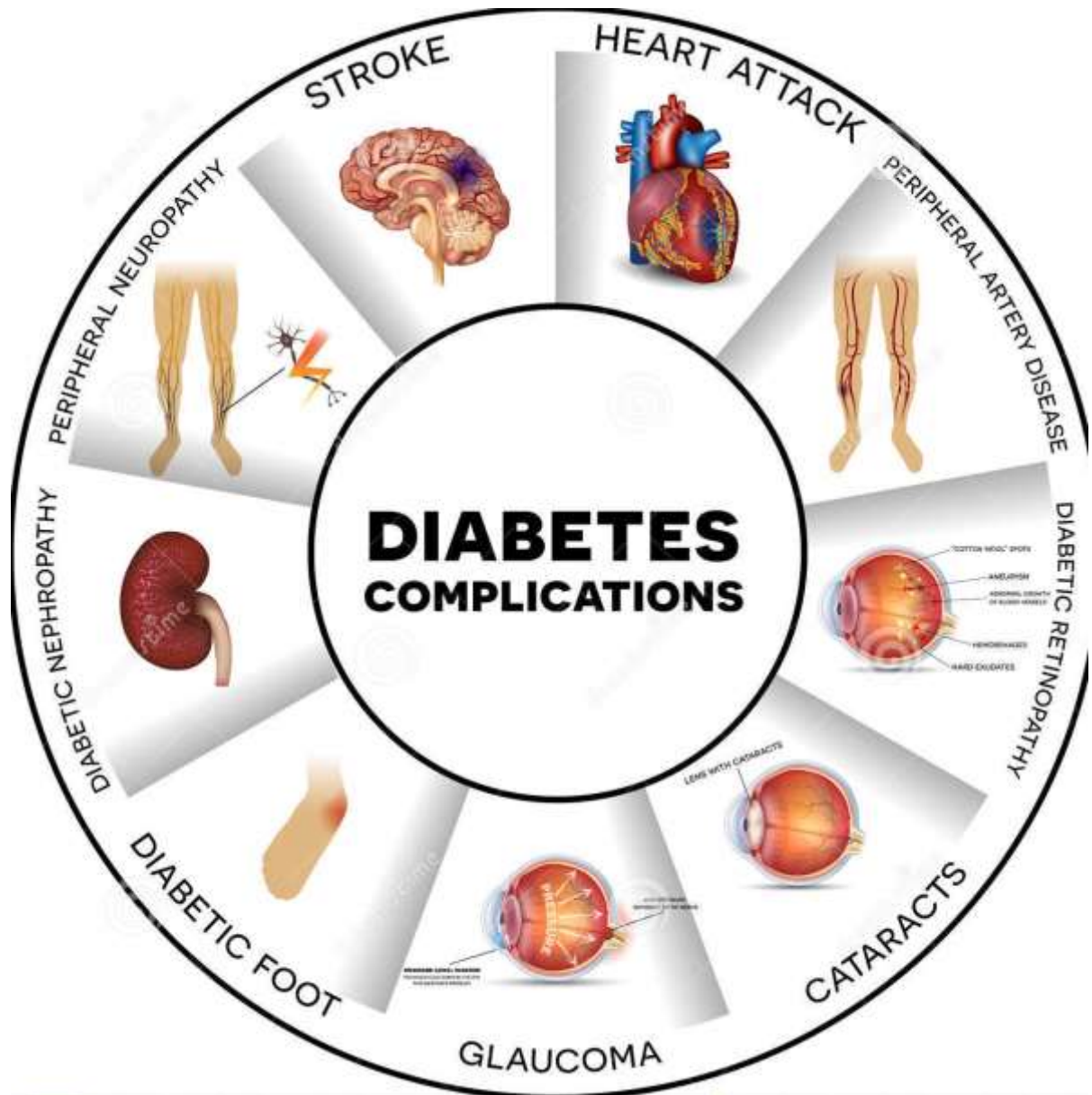


Figure I. 4 : complications de Diabète de type 2(15).

6.1. Atteintes micro-vasculaires

- Rétinopathie avec un risque de cécité (13) ;
- Néphropathie avec insuffisance rénale chronique et micro-albuminurie(13) ;
- Neuropathie périphérique : sur 3 millions de diabétiques, 600.000 souffrent d'artériopathie dont 30.000 sont au stade d'ischémie chronique dont le seul remède est l'amputation (13) ;
- Neuropathie du système autonome, avec symptômes gastro-intestinaux, génitourinaires, cardio-vasculaires, et troubles sexuels (13).

6.2. Atteintes macro-vasculaires

- Cardiopathie ischémique (13) ;
- Insuffisance artérielle des membres inférieurs (13) ;
- Accidents vasculaires cérébraux (AVC) : 75 % de diabétiques présentant aussi une hypertension artérielle (HTA) finissent par un AVC (13).

7. Physiopathologie

Chez les personnes souffrant d'un diabète de type 2, l'organisme devient résistant à l'insuline. La production de l'insuline continue, mais l'organisme ne répond plus aussi bien à ses effets. Après un certain temps, la capacité du pancréas à produire de l'insuline diminue progressivement. C'est pour cette raison que le contrôle du diabète de type 2 nécessite une augmentation graduelle des types de médicaments lors du traitement (16).

8. Traitements

Le premier objectif du traitement de diabète consiste à maintenir une glycémie plasmatique aussi près que possible de la normale, sans provoquer d'hypoglycémie (17). Le traitement du diabète de type 2 repose sur un ensemble de mesures diététiques et d'hygiène de vie mais aussi sur des hypoglycémifiants oraux. Mais aucun traitement ne permet de guérir définitivement le diabète.

Donc le traitement de cette maladie est divisé en deux parties (18) :

8.1. Traitement non médicamenteux

Le traitement du diabète de type 2 repose d'abord sur des modifications du style de vie (régime, perte de poids et exercice physique) et sur la prise en charge des facteurs de risque cardiovasculaire associés (18).

- **Une perte de poids si nécessaire.**

- **Alimentation** : Des modifications nutritionnelles peuvent améliorer de nombreux aspects du diabète de type 2. Le conseil principal est de réduire les calories afin d'amener à une diminution du poids. L'amélioration du contrôle glycémique induite par la perte de

poids est associée à une réduction de l'insulino-résistance et à une augmentation de la sensibilité de la cellule β à répondre par une sécrétion d'insuline adaptée à la glycémie (18).

- **Exercice** : L'exercice régulier est bénéfique dans le diabète de type 2; il améliore le contrôle glycémique grâce à une augmentation de la sensibilité à l'insuline. De plus, la pratique de l'exercice physique associé à des conseils diététiques retarde la progression de l'état pré-diabétique vers le diabète (18).

8.2. Traitement médicamenteux du diabète

Il existe plusieurs classes thérapeutiques des médicaments du diabète de type 2 fondées sur des mécanismes d'action différents, administrés seules ou associées entre elles :

➤ **Classe 1 : Les Biguanides**

Comme la metformine qui est la pierre angulaire du traitement chez la grande majorité des diabétiques de type 2 (13) . Ils ont une action anti-hyperglycémiant sans risque d'hypoglycémie, car ils réduisent la glycémie en dehors et après les repas en :

- Diminuant la production du glucose par le foie ;
- Diminuant l'insulino-résistance;
- Retardant l'absorption intestinale du glucose ;
- Les biguanides favorisent aussi la perte de poids

➤ **Classe 2 : les Sulfamides hypoglycémiantes et les Glinides**

Stimulent la production d'insuline au niveau du pancréas. Ils sont très efficaces pour contrôler la glycémie avant et après les repas, mais avec le risque potentiel de causer des hypoglycémies (13).

➤ **Classe 3 : Les incrétines**

Les incrétines dont le *Glucagon-Like Peptide-1*(GLP1) sont des substances libérées par le corps au début des repas, pour stimuler la sécrétion d'insuline. On les utilise en pharmacologie soit en injectant du GLP1 soit en diminuant sa dégradation dans le corps grâce aux gliptines (inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4). Ils agissent en ralentissant la vidange gastrique, en limitant l'appétit et en stimulant la sécrétion d'insuline mais uniquement quand

la glycémie est élevée, ce qui limite le risque d'hypoglycémie. Les incrétines peuvent provoquer une perte de poids(13) .

➤ **Classe 4 : Les inhibiteurs du co-transporteur glucose/sodium (SGLT2)**

Augmentent l'élimination du glucose dans les urines, vu que le rein joue un rôle dans la régulation de la glycémie en éliminant du glucose lorsque la glycémie est trop élevée (13).

➤ **Classe 5 :Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase**

L'alpha-glucosidase est une enzyme située dans l'intestin grêle, leurs effets s'exercent uniquement sur le tractus digestif. Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase entravent la décomposition des oligo- et polysaccharides dans l'intestin grêle et inhibent de cette manière l'absorption du glucose (19).

Donc cette enzyme retarde l'absorption des glucides après les repas, ils doivent être pris au moment d'un repas pour être plus efficaces. Ils ne provoquent pas d'hypoglycémie (13) . C'est particulièrement cette classe thérapeutique d'inhibiteurs qui nous intéresse dans la présente étude.

➤ **Classe 6 : L'insuline**

Le traitement à l'insuline par injections est une option très valable, bien qu'on y ait recours souvent après un échec aux médicaments oraux. Des injections d'insuline peuvent s'imposer lorsque les médicaments ne suffisent plus, car la sécrétion de l'insuline diminue avec le temps chez les diabétiques de type 2 (13). Le médecin propose un schéma d'insuline adapté au profil glycémique du patient :

- Une insuline lente, si la glycémie est haute le matin et baisse dans la journée (13) ;
- Une insuline rapide, si la glycémie monte après les repas (13) ;
- Une association d'insuline lente et rapide, si la glycémie est haute à plusieurs moments de la journée (13).

Références bibliographiques

- (1) Jouzier É., 2007. - Diabète et philatélie. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux* , **146** :159-178
- (2) Bhattacharya S.K., Sushrutha I. 2009. Our proud heritage. *Indian journal of plastic surgery*, **42**: 223-225.
- (3) Willis T., 1674. - Pharmaceuticationalis, sive, Diatriba de medicamentorum operationibus in humanocorpore. Oxford: Ed. Theatro Sheldoniano, 1-6 .
- (4) Delluc G., Delluc B., Roques M. 2003. La nutrition préhistorique. Ed. In Ellipses. p. 223.
- (5) Rabasa L.M.D. 2003. Nutrition et Maladies II , [En ligne] www.slideplayer.fr (consulté le 06/03/2022)
- (6) Wens J., Sunaert P., Nobels F., Feyen L., Crombruggen P.V., Bastiaens H., Royen P.V. 2007. Diabète sucré de type 2. Société Scientifique de Médecine Générale. 72p
- (7) Jennifer L. 2011. Place du pharmacien d'officine dans les campagnes de dépistage du diabète de type 2 et dans l'éducation thérapeutique du patient diabétique. Thèse de doctorat en Pharmacie. France : Université Henri Poincaré-Nancy, 120p.
- (8) Anonyme. Qu'est-ce que le diabète. [En ligne], <https://blogs.mediapart.fr/>. (Consulté le 15/03/2022).
- (9) Togola M. ;2018 ; Education thérapeutique du patient diabétique au centre de sante de référence de Bougouni. Thèse de doctorat en médecine. Mali : Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako, 85p.
- (10) Labud H., Jenni N., Marcoz N. 2015. Définition du diabète. Conseils pour la prise en charge des patients diabétiques. [En ligne]: Fiche-S1_1-Définition-du-diabète (Consulté le 15/03/2022) .
- (11) Anonyme. 2011 . Diabète de type 2 ; [En ligne]: www.medicine.savoire.fr (Consulté le 20 /05 /2022)
- (12) Bastiaens H., Benhalima K., Cloetens H., Feyen L., Nobels F., Koeck P., Sunaert P., Crombrugge P.V., Pottelbergh I.V., Leeuwen E.V., Verhaegen A. 2013. Diabète sucré de type 2 : Recommandations de bonne pratique. Ed. Domusmedica. 130p.

(13) Anonyme. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de alpha-glucosidase. [En ligne]:www.fac.umc.edu.dz pdf. (Consulté le 11/03/2022).

(14) Fédération Française des Diabétiques . Facteurs de risques et diabète .[En ligne] : www.federationdesdiabetiques.org; (Consulté le 29/05/2022)

(15) Futura santé .2021 .Covid-19 :des chercheurs sont sur la piste d'un modèle prédictif pour les patients diabétiques . [En ligne] : www.futura-science.com , (Consulté le 07/06/2022) .

(16) Favier F., Fianu A., Naty N., Le Moullec N0, Papoz L. 2005. Essai de prévention primaire du diabète de type 2 et du syndrome métabolique à la Réunion.*Revue Médicale de l'Assurance Médicale*. **36** (1) : 5-13

(17) Tayeb S .2017 . Etude du statut sélénié chez les diabétiques de type 2. Mémoire de master en Biologie. Algérie : Université Abou-BakrBelkaid-Tlemcen, 41p.

(18) Andaloussi A.B. 2009 . Étude des propriétés antidiabétiques de Nigellasativa : sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de doctorat en Pharmacologie. France : Université de Montréal,233p.

(19) Halimi S., Le Berre M. A., Grange V. 2000 ; Efficacy and safety of acarbose add-on therapy in the treatment of overweight patients with Type 2 diabetes inadequately controlled with metformine: a double-blind, placebo-controlled study. *Diabetes Research and Clinical Practice*,**50**:49–56.

Chapitre II :
L'alpha-glucosidase et ses
inhibiteurs

Chapitre II : L'alpha-glucosidase et ses inhibiteurs

1-Les alpha-glucosidases

Comme est montré dans le chapitre précédent le diabète en particulier le type 2 se manifeste par une hyper glycémie dû à une résistance des cellules du corps à l'insuline, cette dernière est une hormone hypoglycémiante et régulatrice de la glycémie.

Après la prise d'un repas, la glycémie augmente suite à la dégradation des carbohydrates y contenus par des enzymes appelées les alpha-glucosidases.

1-1. Définition des alpha-glucosidases

Enzymes appartenant à la famille des osidases clivant les liaisons osidiques dans lesquelles est impliquée une molécule d'alpha-glucose (1) .

Les glycosidases (glycoside hydrolases) sont des enzymes très répandues et impliquées dans un grand nombre de processus biologiques fondamentaux du métabolisme des sucres : la digestion des polysaccharides alimentaires dans la bouche et l'intestin grêle, la dégradation des polysaccharides au niveau du lysosome, ou encore la glycosylation des protéines au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi.

Les α -glucosidases (EC 3.2.1.20, α -D-glucoside glucohydrolase) sont définies comme des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glucosidiques d'un substrat (comme chez les malto-oligosaccharides ou le glycogène par exemple) pour libérer un α -D-glucose.(2)

1-2. Site catalytique

Le site actif de l'alpha-glucosidase est formé d'une triade catalytique composée de deux acides aspartiques, l'un joue le rôle de nucléophile, l'autre participe à la stabilisation de l'état de transition et d'un troisième acide qui est le glutamate, défini comme le résidu acide/base (3) .

1-3. Description structurale

Plusieurs représentants structuraux des α -glucosidases ont été déposés dans la base de données PDB. Ils sont issus d'organismes appartenant à un règne différent tel que

saccharolobus solfataricus (code PDB : 2G3M) chez les Archaea, *blautia obium* (code PDB : 3NO4) chez les bactéries et *Homo sapiens* (code PDB : 2QLY) chez les eucaryotes.

Ces enzymes sont composées de 4 domaines : un domaine N-terminal en sandwich β (domaine N) suivi du domaine catalytique formé d'un tonneau (β/α)₈(domaine A) à la suite duquel se trouvent deux domaines en sandwich β (domaine C ou proximal et domaine D ou distal) (Figure II.1).

Le domaine N-terminal paraît avoir un rôle dans la fixation du substrat et/ou dans le maintien de l'architecture du domaine catalytique (4). Généralement, les feuillets β sont connus pour jouer un rôle dans la fixation des sucres et aider les polysaccharides à se positionner avant d'approcher le domaine catalytique (4).

Le domaine C, constitué de 8 brins β , semble avoir pour rôle de stabiliser le domaine A en le protégeant du solvant. Le domaine D, quant à lui formé de 11 brins β et moins conservé, paraît avoir évolué en acquérant des fonctions distinctes.

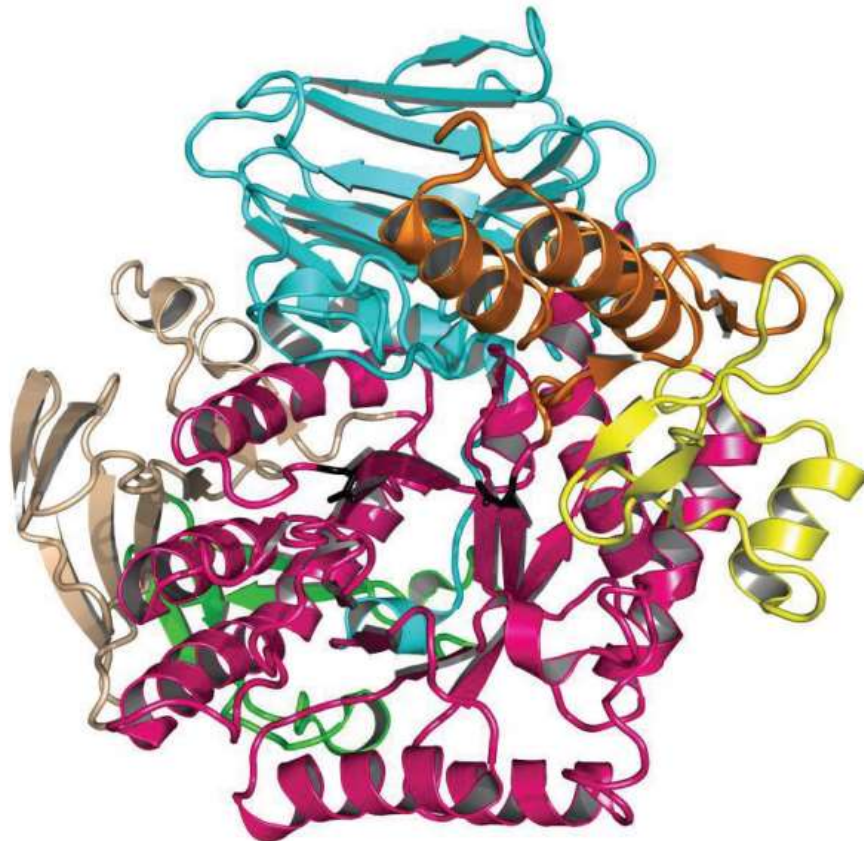


Figure II.1 : Représentation en ruban de la structure tridimensionnelle résolue par cristallographie aux rayons X de l' α -glucosidase de *blautia obium* (4)

Le domaine N, le domaine catalytique A et les domaines C et D sont respectivement colorés en cyan, rose, beige et vert. Les résidus catalytiques supposés sont représentés en bâtons et colorés en noir.

2-Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase

2-1. définition

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase sont des médicaments oraux prescrits en général contre le diabète sucré de type 2, leurs efficacité sur le diabète de type 1 n'est pas encore prouvés, ces derniers agissent en bloquant la digestion des carbohydrates comme l'amidon et le saccharose (sucre de table), les glucides sont normalement convertis en sucres simples (monosaccharides) par les enzymes alpha-glucosidases présentes sur les cellules tapissant l'intestin, ce qui permet aux monosaccharides d'être absorbés par lui .

Par conséquent, les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase réduisent l'impact des glucides alimentaires sur la glycémie (5) .

2-2. Mécanisme d'action

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase sont des pseudotetrasaccharides d'origine bactérienne. Ces analogues structuraux sont des oligosaccharides alimentaires qui inhibent de façon compétitive et réversible les alpha-glucosidases de la bordure en brosse de l'intestin grêle (glucoamylase, maltase, isomaltase et sucrase). Les inhibiteurs des alpha-glucosidases intestinales jouant le rôle de faux substrat retardent l'hydrolyse enzymatique des glucides complexes en mono et disaccharides qui sont alors absorbés dans l'iléon. L'absorption du glucose après un repas est ainsi retardée dans le temps. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases sont essentiellement actifs sur l'hyperglycémie postprandiale. Ils sont représentés par l'acarbose , le miglitol et le voglibose (5) .

2-3.Utilisation clinique

Les inhibiteurs de l'alpha glucosidase permettent de contrôler efficacement l'hyperglycémie dans le cas du diabète de type 2 surtout en ce qui concerne l'hyperglycémie postprandiale. Ils sont utilisés en monothérapie, associés avec un régime pour le diabète, ou encore associés avec d'autres médicaments antidiabétiques (6) .

2-4. Paramètres pharmacocinétiques

La résorption, l'élimination, la métabolisation et la demi-vie d'un produit sont des paramètres importants car ils déterminent le mode d'administration du produit et le nombre de prises quotidiennes, afin de maintenir l'efficacité du traitement.

- La résorption digestive est variable selon les produits,
- l'élimination s'effectue par voie fécale et urinaire,
- la dégradation de ces produits s'effectue au niveau intestinal et la demi-vie d'élimination varie de 6 à 8 heures.

Ces différents paramètres pharmacocinétiques, autorisent l'administration de ces produits, à raison de 3 prises par jour, au début des repas (7) .

2-5. Dosage et effets indésirables

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase étant des inhibiteurs compétitifs des enzymes digestives, ils doivent être pris au début des repas principaux pour avoir un effet maximal. Leurs effets sur la glycémie après les repas dépendront de la quantité de glucides complexes contenus dans les repas.

Étant donné que les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase empêchent la dégradation des glucides complexes en glucose, les glucides restent dans l'intestin. Dans le côlon, les bactéries vont digérer les glucides complexes, provoquant ainsi des effets secondaires gastro-intestinaux tels que la flatulence et la diarrhée. Étant donné que ces effets sont liés à la dose, il est généralement conseillé de commencer par une faible dose et d'augmenter progressivement la dose jusqu'à la quantité souhaitée. La pneumatose cystoïde intestinale est un autre effet secondaire rapporté. Si un patient utilisant un inhibiteur de l'alpha-glucosidase souffre d'un épisode d'hypoglycémie, le patient devrait manger quelque chose contenant des monosaccharides, tels que des comprimés de glucose. Étant donné que le médicament empêchera la digestion des polysaccharides, ces aliments peuvent ne pas inverser efficacement un épisode hypoglycémique chez un patient prenant un inhibiteur de l'alpha-glucosidase (8) .

3-Médicaments existants

Actuellement, trois médicaments sont disponibles sur le marché : l'acarbose, le miglitol et le voglibose.

3-1. L'acarbose

L'acarbose est un pseudotétracosaccharide de formule brute $C_{25}H_{43}NO_{18}$ (Figure II.2). Isolé dans les années 70 d'une souche bactérienne appelée *Actinoplanes sp.*

L'acarbose est le médicament le plus largement utilisé pour traiter le diabète de type 2. Il est commercialisé sous différentes marques comme Glucobay, Glucor ou comme générique. Son principal effet secondaire est la perte de selles ou la diarrhée, qui limite son emploi. C'est un antidiabétique oral modéré (9).

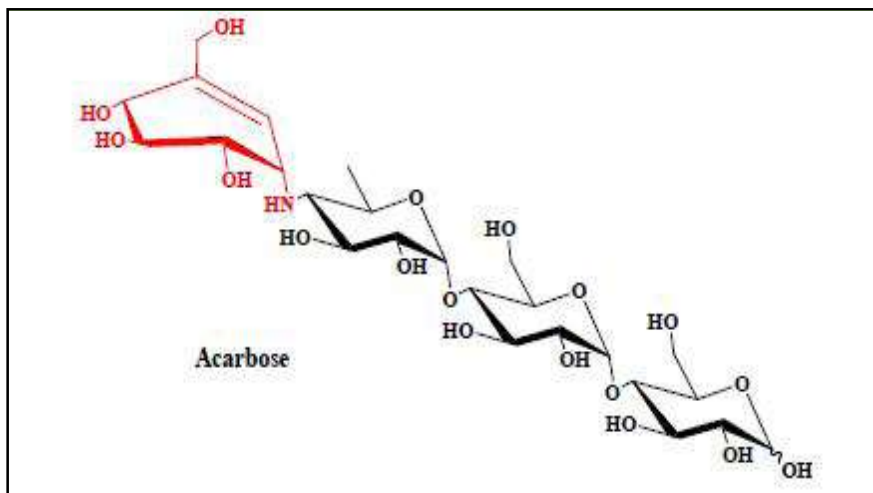


Figure II.2 : Structure chimique de la molécule de l'acarbose. (9)

3-2. Le miglitol

Le miglitol de formule brute $C_8H_{17}NO_5$ est également connu sous la marque Diastabol (Figure II-3). Il s'agit d'un antidiabétique oral de la famille des inhibiteurs d'alpha-glucosidase qui agit en diminuant l'absorption intestinale des glucides (10).

Le miglitol est un inhibiteur réversible des alpha-glucosidases intestinales. Sous l'influence du miglitol, la digestion des hydrates de carbone complexes en monosaccharides absorbables au niveau de l'intestin grêle est retardée d'une façon dépendante de la dose. L'administration de miglitol réduit l'hyperglycémie postprandiale et les fluctuations glycémiques quotidiennes. Contrairement aux sulfamides, le miglitol ne stimule pas l'insulinosécrétion pancréatique (11).

Le traitement par le miglitol permet également une réduction de la glycémie à jeun et une modification du taux d'hémoglobine glycosylée. Ces modifications peuvent correspondre à une réduction ou à une moindre aggravation des taux d'HbA1c d'hémoglobine glycosylée selon l'état clinique du patient et l'évolution de la maladie. Ces paramètres sont modifiés par le miglitol d'une façon dépendante de la dose (11).

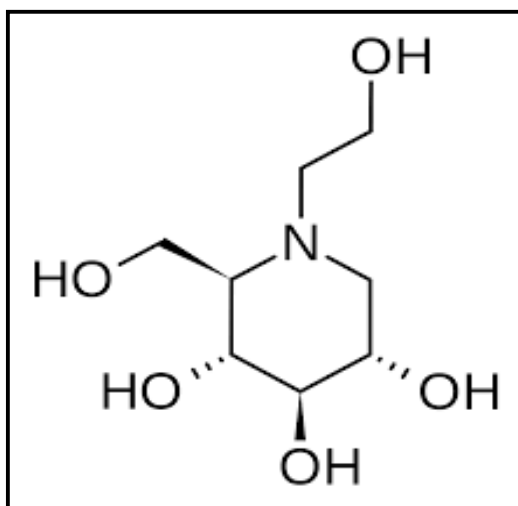


Figure II.3 : structure chimique du miglitol (11)

3-3. Le voglibose :

Le voglibose (nom commercial : VoglibC₁₀H₂₁NO) est un inhibiteur de l'alpha-glucosidase (figure II-4) utilisé pour abaisser la glycémie postprandiale chez les personnes atteintes de diabète de type 2. Le voglibose retarde l'absorption du glucose, réduisant ainsi le risque de complications macrovasculaires. Voglibose est un produit de recherche de *Takeda Pharmaceutical Company*, la plus grande société pharmaceutique du Japon. Voglibose a été lancé pour la première fois en 1994, sous le nom commercial BASEN, pour améliorer l'hyperglycémie postprandiale dans le diabète sucré type 2 (12).

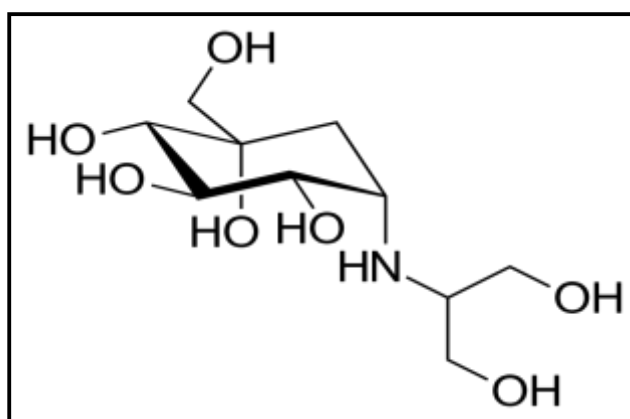


Figure II.4 :Structure du Voglibose (12)

Références bibliographiques :

- (1) Dictionnaire médical de l'académie de médecine, 2022.Définition de l'alpha-glucosidase.[En ligne] :<https://www.académie-médecine.fr>.(Consulté le 20/05/2022).
- (2) David J.H., Hazel P. 1998.Analytical biochemistry.3ème Edition. Ed. Prentice Hall, Angleterre,p 336.
- (3) Chiba S.1988. Amyloglycosidase.In: Handbook of Amylases and related enzymes.Ed. The Amylase Research Society of Japan, Pergamum Press, Oxford,U.K,p 104-116
- (4) Anonyme, Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs d'alpha-glucosidase. [En ligne] : www.fac.umc.edu.dz pdf (Consulté le 05/05/2022) .
- (5) Venable S.J., Aschenbrenner D.S. 2006. Drug TherapyIn: Nursing. Ed: Hagerstown, MD, Lippincott Williams & Wilkins, 1217 p
- (6) Chen Z., XiaoC.2010. Development of alpha-glucosidaseinhibitor from medicinal herbs. *China Journal of ChineseMateriaMedica*, **35**(12), 1633
- (7)Figaroj le. 2021.Antidiabétiques oraux.[En ligne] :<https://sante.lefigaro.fr/sante /traitement/antidiabetiques-oraux/mecanisme-daction#:~:text=Les%20alpha%2Dglucosidases%20ont%20pour,%20organisme%2C%20comme%20le%20glucose>.(Consulté le 16/05/2022)
- (8) Kubo K., AokiH., Nanba H. 1994. Anti-diabetic Activity Present in the Fruit Body of *Grifolafrondosa* (Maitake). *Biological& Pharmaceutical Bulletin*. **17**(8), 1106.
- (9) Wu J., Shi S., Wang H., Wang S. 2016. Mechanisms underlying the effect of polysaccharides in the treatment of type 2 diabetes: A review. *Carbohydrate Polymers*. 525p
- (10) Emile C. 2008.Traitement médicamenteux du diabète de type 2, actualités et nouveautés. Ed.Actualités pharmaceutiques, France.470p
- (11) Dictionnaire médicalVidal.2013. Substance active miglitol. [En ligne] : <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/miglitol-17759.html>.(Consulté le : 24/05/2022).
- (12) Xiaolong C., Yuguo Z., YinchuS. 2006.Voglibose (Basen, AO-128), one of the most important alpha-glucosidase inhibitors.*Current Medicinal Chemistry*.**13**(1), 109–116.

Chapitre III :
Le docking moléculaire

Chapitre III : Le docking moléculaire

1. Généralité

La recherche traditionnelle pour le développement des nouveaux médicaments nécessite un environnement de recherche spéciale. Au lieu de passer des jours, des mois, ou même des années dans un laboratoire à tester certaines molécules dans le but de savoir si elles ont un effet thérapeutique bénéfique ou pas, en plus de ça c'est coûteux, la recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques et biochimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire (1).

Le docking moléculaire consiste à prédire la conformation optimale entre deux molécules afin de créer un complexe de molécules stable . Il permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie (2).

2. Définition

Le terme docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand).Le terme docking seul est couramment employé pour désigner un docking protéine-ligand(Figure III.1) (3) . Le docking moléculaire permet soit de découvrir de nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), soit de comprendre la nature d'un complexe de molécules obtenu par cristallographie (1) .

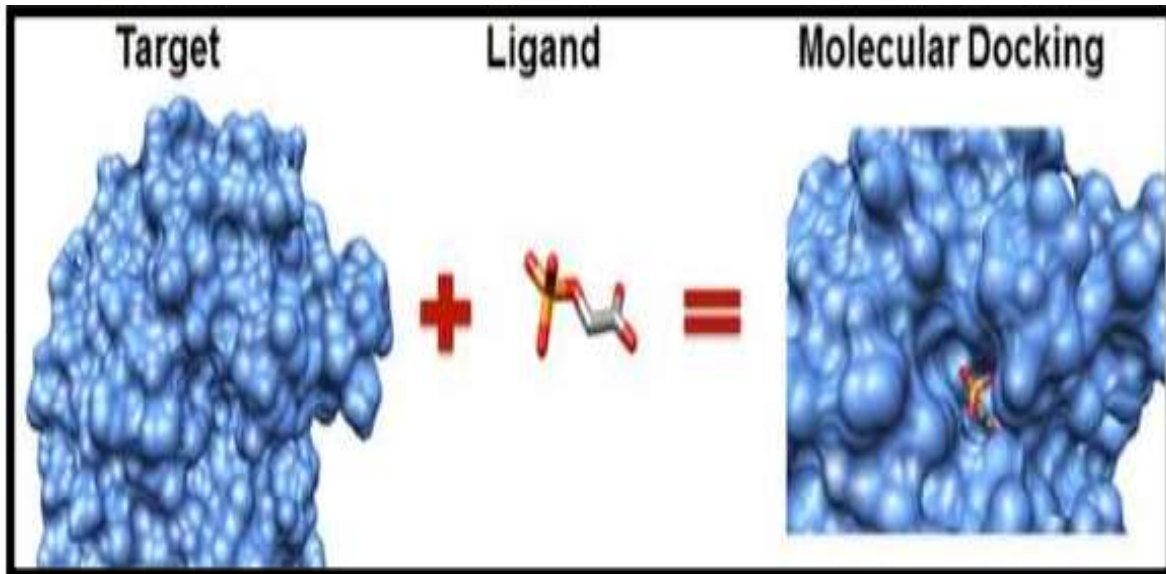


Figure III.1 : Représentation schématique du docking de deux molécules(protéine+ ligand=complexe moléculaire) (3).

D'un point de vue informatique, la prédiction de la structure se traduit par un problème d'optimisation. A chaque position relative possible est associée une énergie (également appelé score, fitness, etc.). La structure la plus probable est alors celle qui minimise cette énergie (4).

3. Principe du docking

Le docking moléculaire se déroule en deux étapes principales (Figure III.2):

- La première consiste à rechercher et générer toutes les conformations possibles et donc générant les modes d'interaction possibles entre la protéine et le ligand. Cette étape doit parcourir au mieux l'espace conformation pour trouver l'énergie minimale globale.
- La deuxième est une donnée numérique dite fonction de score capable de déterminer la conformation qui représentera le mode d'interaction le plus juste pour chaque ligand par rapport à son récepteur. En calculant rapidement l'énergie libre totale du complexe protéine-ligand formé : c'est l'étape de marquage de score (5).

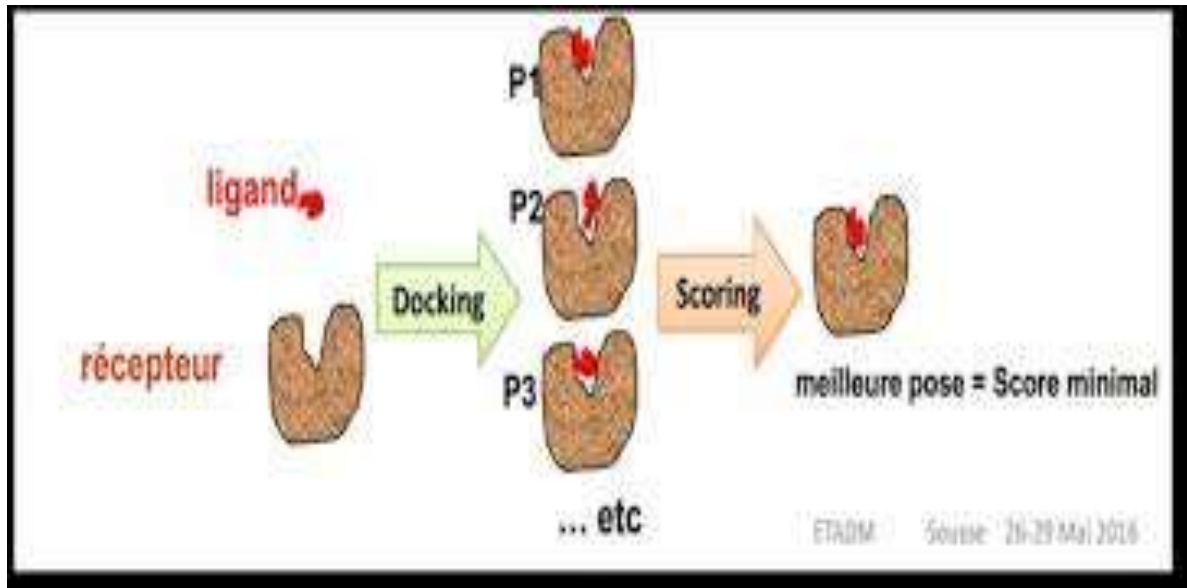


Figure III.2: Principe de docking (6).

4. Approches du docking moléculaire

Le docking est un procédé qui vise à prédire la structure et les propriétés d'un complexe moléculaire formé entre une petite molécule ou ligand et le site de liaison d'une protéine afin d'accélérer la recherche et la découverte de nouveaux médicaments *in silico* (3).

Les différentes approches du docking se distinguent au niveau de leurs conditions d'application et de la nature des informations qu'elles peuvent fournir.

Trois degrés sont en général considérés :

- Le docking rigide : considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe (3) .
- Le docking semi-flexible : une molécule rigide et l'autre flexible, ce type est souvent appliqué dans le cas protéine-ligand où une des deux molécules (le ligand) de taille moindre est considérée comme flexible et la protéine comme rigide pour ne pas trop complexifier le système.
- Flexible : considérant que les deux sont flexibles.

5. Applications

Il y a deux principales applications au programme de docking, La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction (Figure III.3) . La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur. L'optimisation de la structure du ligand déjà connu peut avoir plusieurs raisons : l'amélioration de son affinité, de sa spécificité, de sa synthèse ou encore de ses propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) (7).

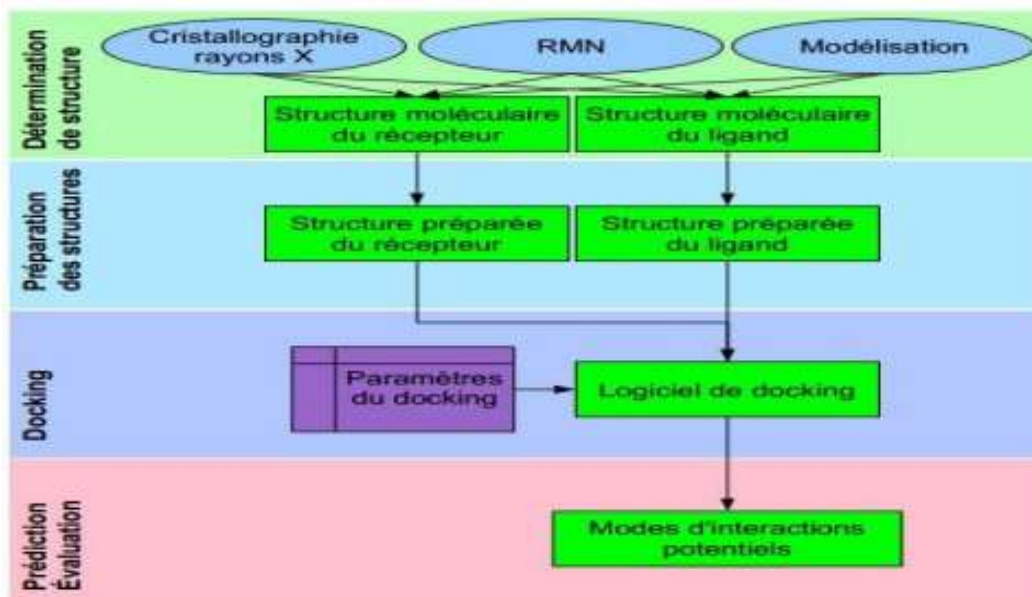


Figure III.3 : Protocole typique d'un docking (3)

6. Les étapes du docking moléculaire

Une stimulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring (Figure III.4) (3).

6.1. Le docking

Il s'agit de l'étape de sélection qui consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles (3).

6.2. Le scoring

C'est l'étape de classement ou d'évaluation de l'affinité entre le ligand et la protéine de chaque complexe sélectionné lors de l'étape précédente en donnant un score aux poses obtenues permettant ainsi de ne retenir que la meilleure (3).

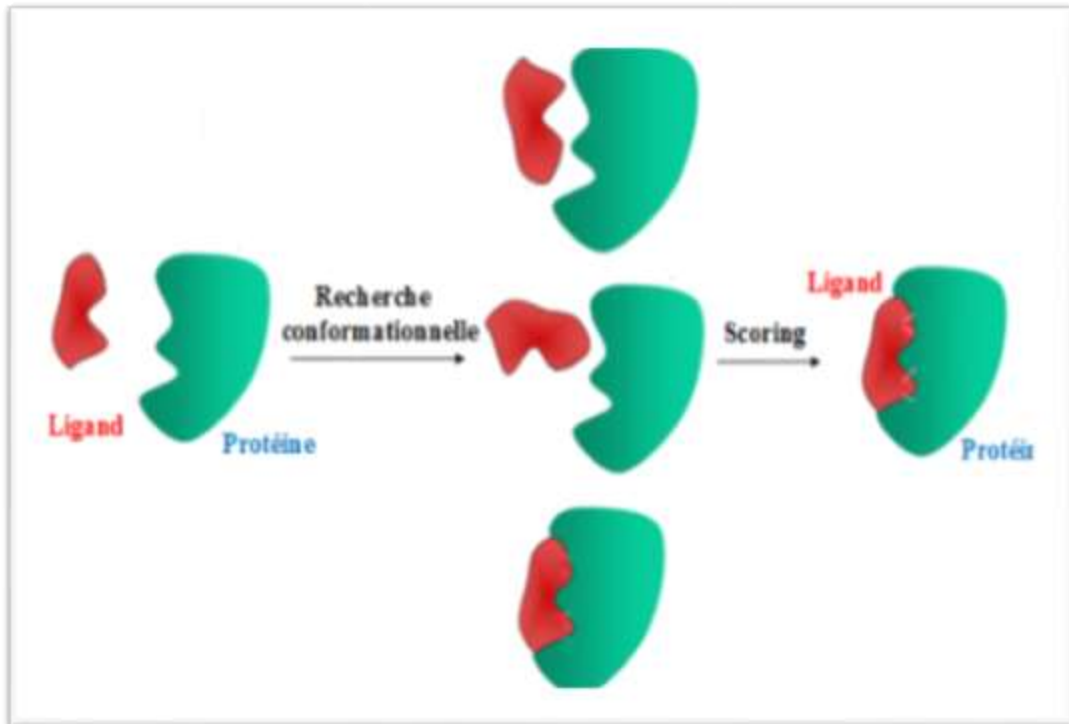


Figure III .4 :Représentation schématique des étapes du docking moléculaire(8).

7. Les outils du docking moléculaire

Les éléments indispensables pour pratiquer un docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique appelée cible, une petite molécule appelée ligand et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi.

7.1. Ligand

Le ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal (9).

Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions.

La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en trois dimensions (3D). L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet de promouvoir ce

changement de conformation, appelé ajustement induit. Cette modification structurale peut ainsi moduler éventuellement son état fonctionnel et son activité (10).

La structure des ligands est obtenue par deux moyens :

- Le premier : consiste à utiliser des ligands de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Arguslab et Titan.
- Le deuxième : consiste à utiliser des ligands de la PDB ou des collections de molécules virtuelles aussi bien commerciales qui proviennent de bases de données des structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique tel que ZINC et PubChem. (11).

7.2. Le récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information. Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand. Les structures 3D des récepteurs que nous utilisons proviennent de la PDB (1).

Les différentes conformations tridimensionnelles 3D sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ...etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée (11).

8. Les interactions protéine-ligand

Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction(3). Les interactions entre une protéine et un ligand sont en général de nature non covalente et génèrent une énergie appelée énergie libre de Gibbs (3) qui se calcule selon l'Équation suivante :

Energie libre de Gibbs $\Delta G = -RT \ln K_i$

R: constante des gaz ($8,314 \text{ J. K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)

T: Température (K)

K_i : constante d'inhibition

Les associations sont dues aux propriétés chimiques, électroniques, et géométriques des molécules. A l'inverse des liaisons covalentes, les liaisons faibles permettent une grande flexibilité et plasticité des macromolécules (protéine, enzymes, complexes protéine-ligand ou protéine- protéine). Les interactions qui stabilisent les structures tridimensionnelles des macromolécules font intervenir plusieurs types de liaisons faibles, dont les forces électrostatiques, les forces de van der Waals, les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes (3).

8.1. Les forces de Van Der Waals

Les interactions de Van Der Waals sont des interactions de nature électrostatique qui ont lieu entre les nuages électroniques (Figure III.5). Cette force généralement attractive n'intervient qu'à très courte distance, elle est donc plus intense lorsque les molécules qui interagissent sont proches et volumineuses. Cette force est amplifiée par le fait que les liaisons internes des molécules soient polaires. Ces forces généralement attractives de nature électrostatique sont donc responsables de liaisons intermoléculaires de faibles intensités (3).

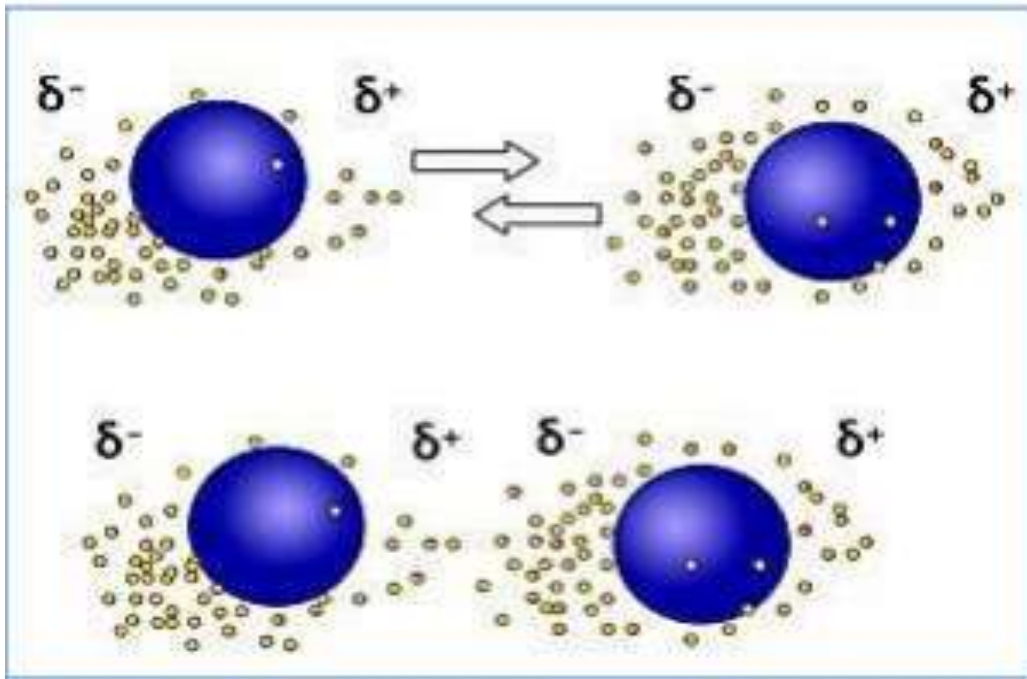


Figure III.5: Les forces de Van Der Waals (3)

8.2. L'effet hydrophobe

Les molécules ou groupes non polaires ne sont pas capables de former des liaisons hydrogènes et ne peuvent donc pas s'hydrater : on les nomme pour cette raison substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau (Figure III.6) (3).

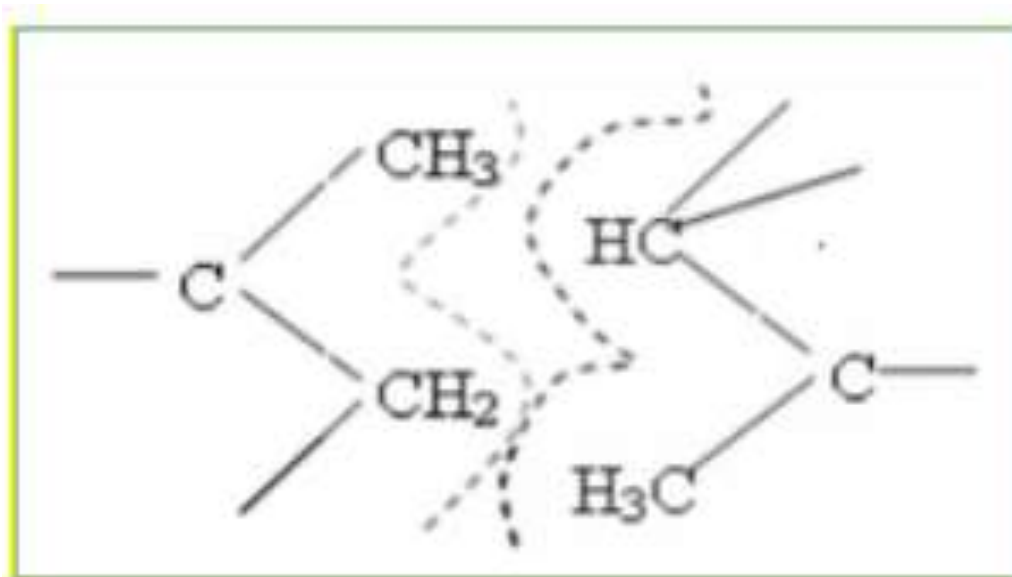


Figure III.6 : Interactions hydrophobes (3)

8.3. Les liaisons hydrogènes

La liaison hydrogène appelée aussi pont hydrogène est une force intermoléculaire qui implique un atome d'hydrogène et un atome électronégatif tel que l'oxygène, l'azote ou le fluor (Figure III.7).

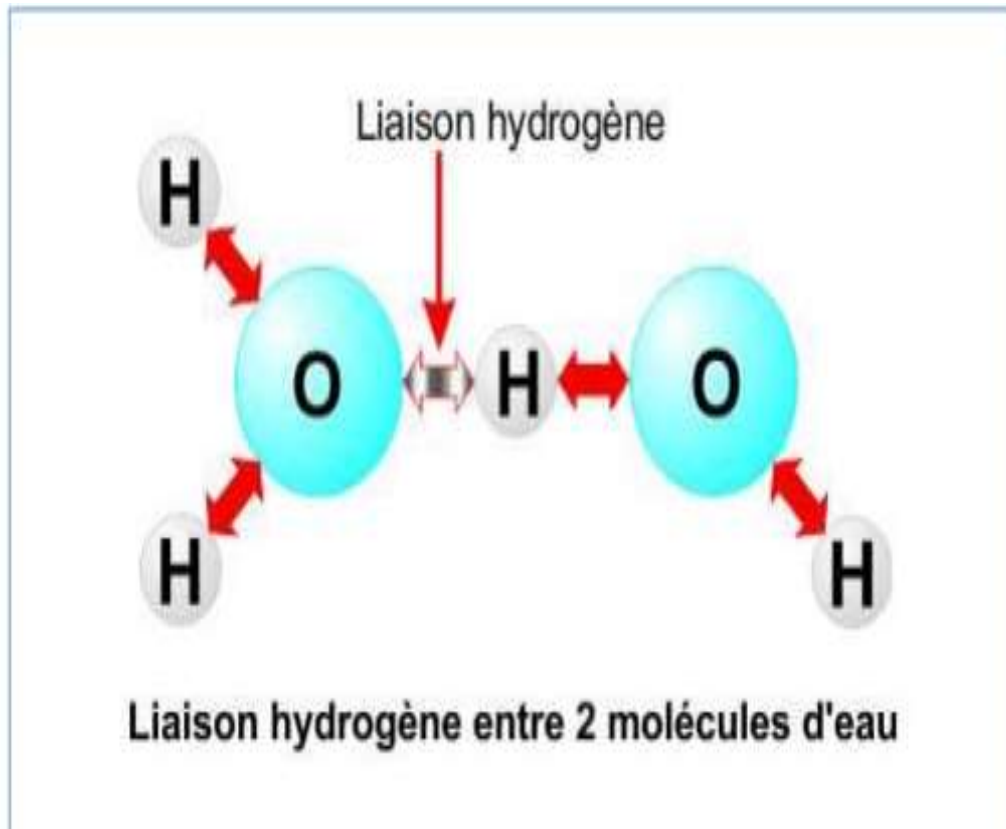


Figure III.7 : La liaison hydrogène (3)

On a longtemps cru que cette liaison était covalente. On a constaté qu'en fait elle est électrostatique à 90%. Elle se situe entre la liaison covalente et la liaison van der Waals (interaction électrique de faible intensité entre atomes) (3).

8.4. Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques ou ioniques résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées (Figure III.8).

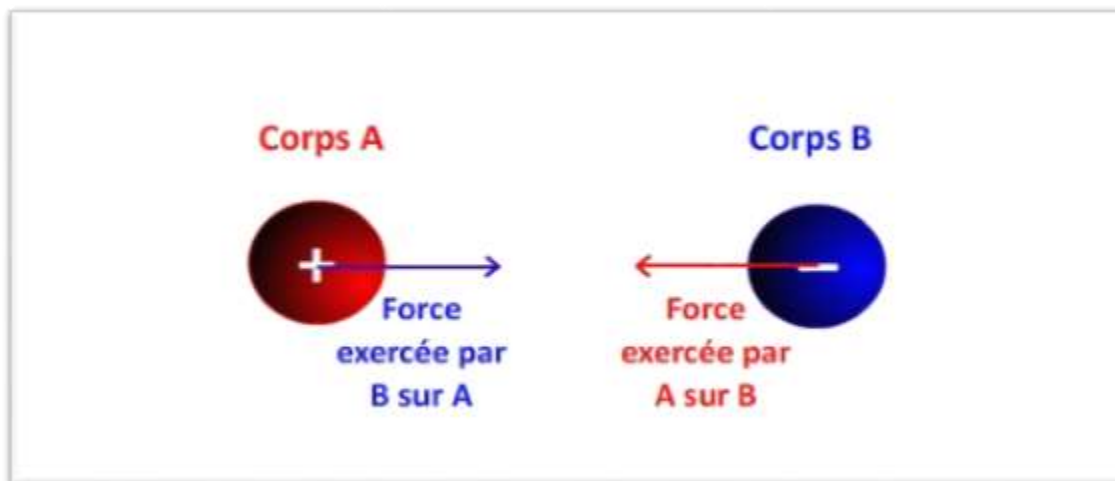


Figure III.8 : les interactions électrostatiques (12).

9. Les Programmes du docking

Le tableau suivant représente quelques exemples des programmes de docking.

Tableau III.1 : Les Principaux programmes de docking moléculaire (13)

Nom	Editeur	Site internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/application/fred.html
Glide	Schrodinger	http://www.schorodinger.com/products/glide.html
Gold	CCDC	http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

10. Le programme du docking moléculaire Surflex-dock

Parmi les programmes de docking moléculaire, nous avons utilisé le programme Surflex-dock pour réaliser le travail de recherche. Ce programme repose sur l'ajustement de fragments en commençant par construire un modèle du site actif dit protomol.

Ce modèle est constitué par le volume accessible du site et les points d'interaction tels que les sites de liaison hydrogène, les charges ou les sites lipophiles. Son algorithme est appelé également de fragmentation incrémentale car, dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles ce qui permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés (14) (Figure III.9).

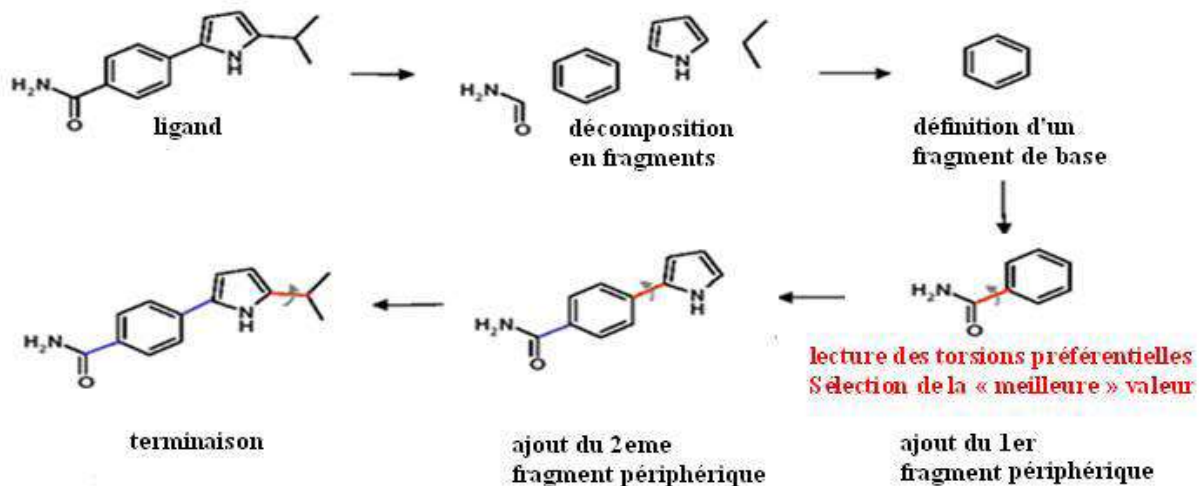


Figure III.9: Construction incrémentale d'un ligand au sein du site actif (14).

Références bibliographiques:

- (1) Beutraït A. 2008 . Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat : en chimie informatique et théorique. France : Henri Poincaré -Nancy I: Université de Nancy. France.
122p.
- (2) Bermam H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N. et Weissig H. 2000.The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* **28**, 235-242.
- (3) Anonyme. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase. [En ligne]: www.fac.umc.edu.dz pdf.(Consulté le 11/03/2022).
- (4)LengauerT.,RareyM.1996.Computational methods for biomolecular docking. *Curr.Opin.Struct. Biol.***6**(3), 402–406.
- (5) Halperin I., Ma B., Wolfson H., Nussinov R. 2002.Principles of Docking : An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions,” *PROTEINS Struct.Funct.Genet.***443**(47), 409–443.
- (6)Makhloufi K.E., Lazreg I. 2019.Conception *in silico* de nouveaux composés anticancéreux. Mémoire de master en Chimie Pharmaceutique. Algérie : Université Mohamed Khider de Biskra, 72p.
- (7) Merzoug. A. 2012. Étude *in silico* de l'inhibition de la peptide déformylase. Mémoire de Magistère en biochimie. Algérie: Université Mentouri Constantine,91p.
- (8) université de Guelma . les étapes du docking moléculaire[en ligne] : dspace.univ-guelma.dz (08/05/2022) .
- [9] Baysal T. Demird A. 2017. Lipoxygenase in fruits and vegetables .*Enzyme Microb.Technol.* **40**(4) ,491–496.
- (10).Leach A.R. 2001. Molecular Modelling Principles and applications;illustrée, p 744.
- (11) Mokrani E.H.2012. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse magister en Biochimie. Algérie:Université Mentouri Constantine. Algérie, 121p.

- (12) Physique et chimie. 2021. Interactions, champs électrostatiques et gravitationnels. [En ligne]: [www.https://webphysique.fr/force-electrique-gravitation-champ](https://webphysique.fr/force-electrique-gravitation-champ). (Consulté le 4/06/2022).
- (13) Taylor R.D., Jewsbury P.J., Essex J.W. 2003. FDS: Flexible Ligand and Receptor Docking with a Continuum Solvent Model and Soft-Core Energy Function. *J. Comput. Chem.* **24**(13), 1637–1656.
- (14) Bessadok A. 2012. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine: Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. HAL Id: tel-00711662.

Chapitre IV :
Matériel et méthodes

Chapitre IV : Matériel et méthodes

1-Matériel

1-1-Microordinateurs

Dans notre étude nous avons utilisé des logiciels installés dans trois microordinateurs présentant les caractères suivants :

- ACER avec 2GO de RAM, et un processeur de 2,53 GHz sous le système d'exploitation Windows 7 ;
- TOSHIBA avec 4 GO de RAM, et un processeur de 2,53 GHz sous le système d'exploitation Windows 7 ;
- DELL avec 4 GO de RAM, et un processeur de 2,40 GHz sous le système d'exploitation Windows 10.

1-2-Programmes utilisés

Pour réaliser la partie pratique on a utilisé plusieurs programmes de bioinformatique qui sont :

1-2-1-Surflex-dock 1.3

C'est un algorithme qui a été utilisé pour réaliser le docking moléculaire, ce programme exécute le docking selon la méthode incrémentale[1], il est capable d'arrimer des ligands dans un environnement constitué d'acide aminés avec une bonne précision et d'une façon rapide.

1-2-2-Open Babel 2.0.2 :

C'est un programme libre, nous a servi à la conversion des fichiers en plusieurs formats[1]. Les formats de fichier que Open Babel prend en charge comprennent : PDB, MOL, MOL2, SDF ;Smile...etc [2.3]. Un exemple de conversion est mentionné dans la figure IV-1.

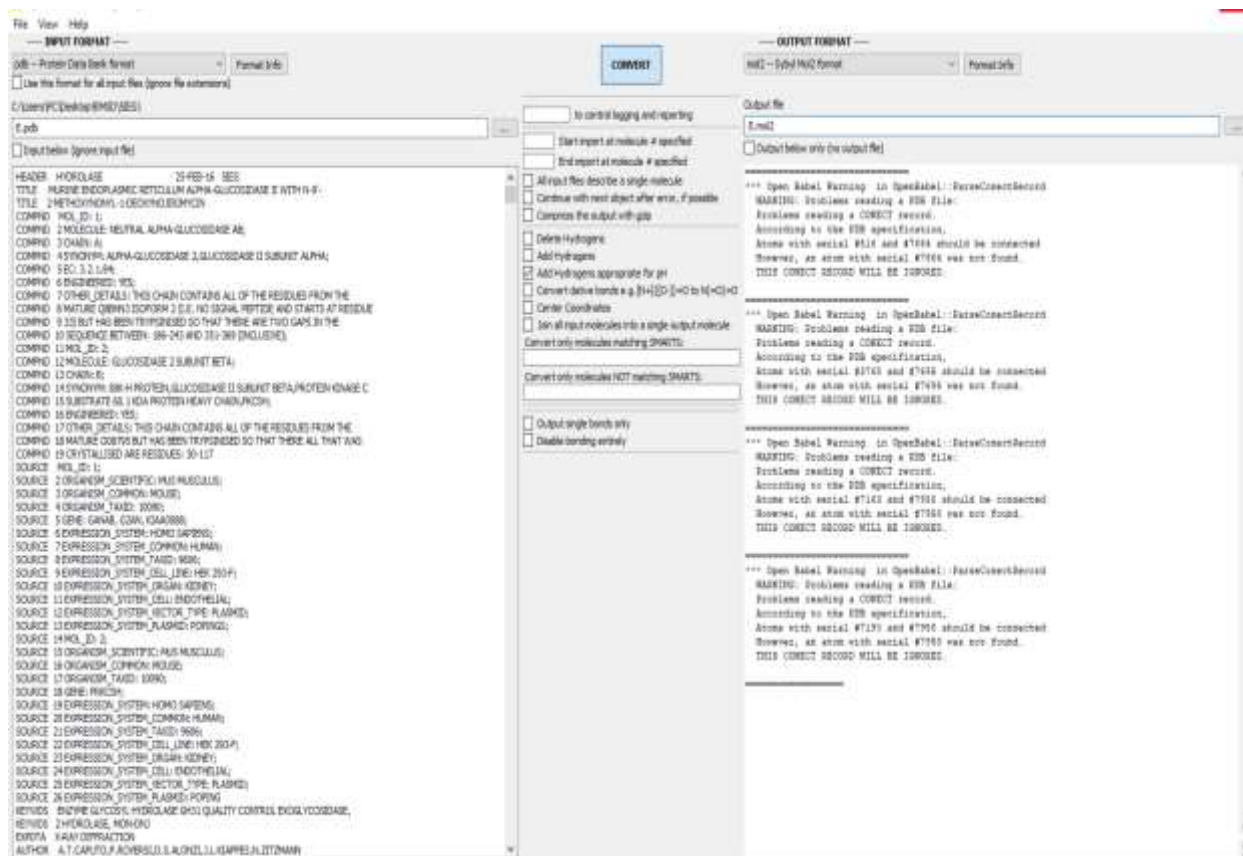


Figure IV.1 : Capture d'écran du programme OpenBabel

1-2-3-ViewerLite 4.2

Nous avons utilisé ce programme pour la visualisation de différentes interactions formées entre les inhibiteurs étudiés et les acides aminés du site actif de l'alpha-glucosidase (Figure IV.2).

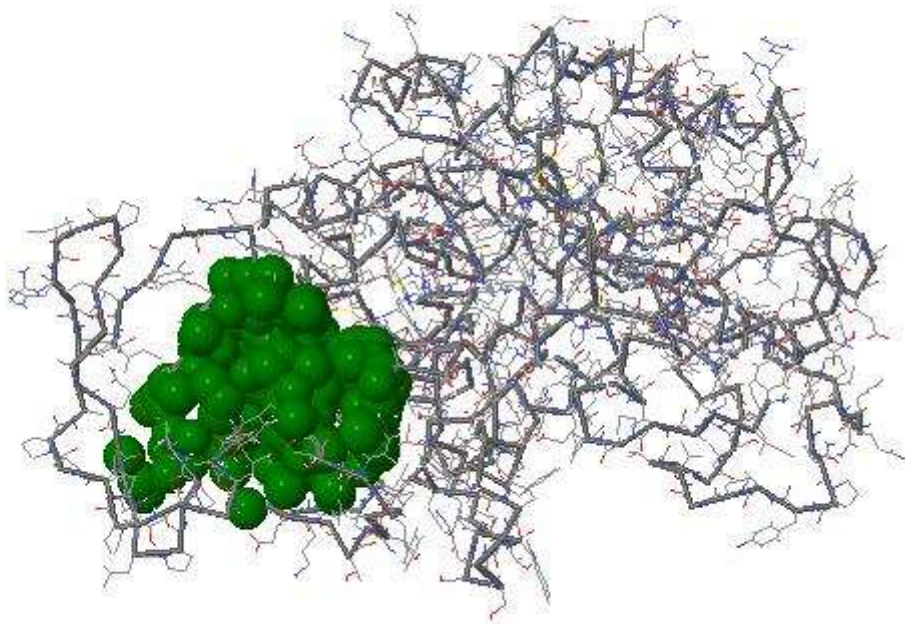


Figure IV.2 : Visualisation par ViewerLite de l'occupation du site actif de l'alpha glucosidase par un inhibiteur .

1-3- Banques de données

1-3-1- *Protein Data Bank*

La banque de données protéiques *Protein Data Bank* ou PDB (<http://www.pdb.org>) est la principale source de données de biologie structurale, elle permet en particulier d'accéder à des structures tridimensionnelles de protéines d'intérêt thérapeutique (Figure IV.3). Ces structures sont principalement déterminées par trois méthodes expérimentales : la cristallographie par rayons X, la résonance magnétique nucléaire et la microscopie électronique (4).



Figure IV.3:Interface de la banque de données PDB.

1-3-2-Pubchem

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (Figure IV.4). Elle répertorie plusieurs millions de composés, principalement des petites molécules, mais également des molécules plus grandes telles que les nucléotides, les glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules en mettant en ligne gratuitement leurs structures et leurs propriétés physico-chimiques(1). Cette base nous a été utile afin d'obtenir des similaires structuraux de notre ligand de base.

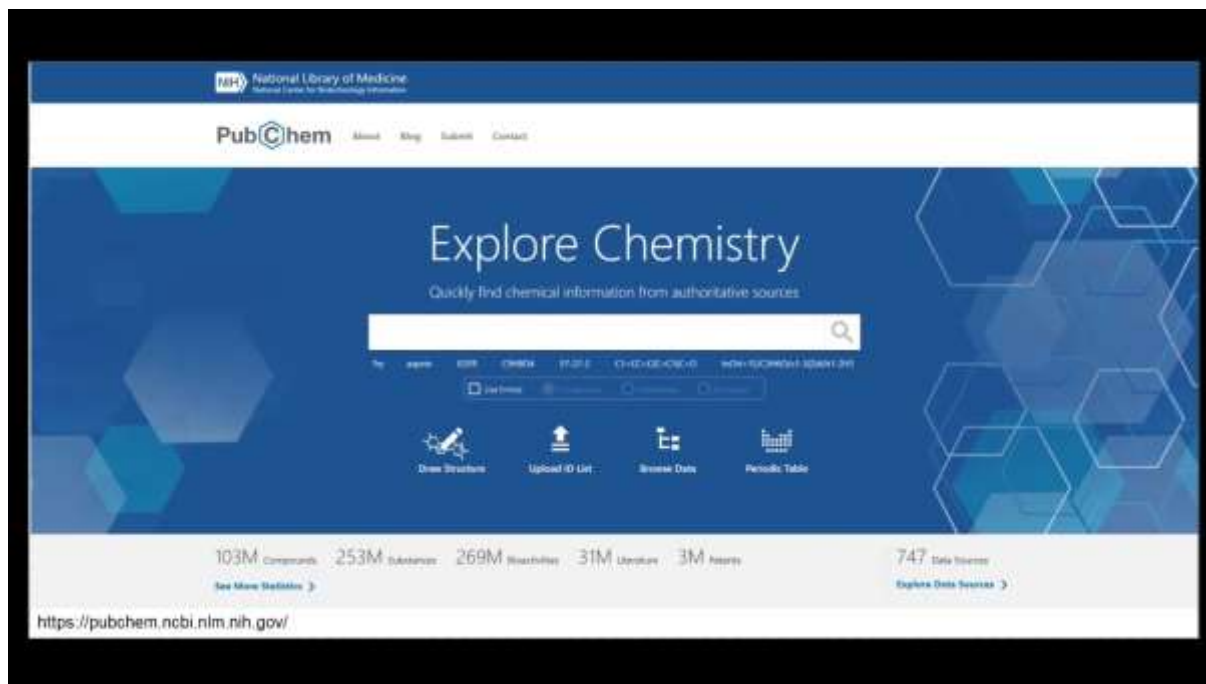


Figure IV.4 :Interface de la base de données PubChem.

2-Méthodes

2-1-Tests de fiabilité de programme Surfex-dock

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de l'alpha glucosidase par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme Surfex-dock1.3 utilisé. Pour cela, nous avons fait appel à deux tests complémentaires:

- L'écart quadratique moyen ou le test RMSD (*Rootmean square deviation*) ;
- L'analyse visuelle.

2-1-1-Root Mean Square Deviation (RMSD)

La valeur de déviation quadratique moyenne ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*) entre la conformation et l'orientation du ligand déterminée par le programme de docking et sa pose dans le complexe expérimental doit être la plus petite possible. Plus la valeur de déviation quadratique moyenne se rapproche de 0, plus la conformation prédite par le logiciel se superpose avec celle de référence (5). La norme actuelle pour évaluer la performance d'un logiciel de docking est de faire ce test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés (5). Ce premier test a été réalisé sur 151 complexes tirés de la PDB.

2-1-2-Analyse visuelle

L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour juger la performance du programme Surflex-dock 1.3 ; elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD. Elle se fait par le programme de visualisation ViewerLite 4.2.

2-2-Les étapes du docking par Surflex-dock

2-2-1-Préparation d'enzyme

La structure 3D de l'alpha-glucosidase qui fait l'objet de notre étude a été téléchargée sous le code 3WY2 au format.pdb à partir de la PDB. Il s'agit d'une structure cristallographique de l'enzyme en complexe avec un inhibiteur définie à haute résolution 1.47Å . Les hétéroatomes ont été éliminés pour ne conserver que la structure de l'enzyme et la convertir en format mol2 par le programme Open Babel.

2-2-2-Préparation des ligands

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase existant au niveau de la PDB et les similaires du meilleur inhibiteur étudié ont été téléchargés sous format.sdf à partir de la PDB et de la banque de données PubChem, puis converties au format mol2 par le programme Open Babel.

2-2-3-Docking par Surflex-dock

Le docking moléculaire a été réalisé en utilisant le programme Surflex-dock, et différentes étapes sont nécessaires :

➤ **Génération du protomol**

Identification du site actif par construction d'une pseudo-molécule appelée "protomol". Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

Surflex-dock proto ligand.mol2 protein.mol2 pl

➤ **Docking du ligand dans le site d'interaction**

L'étape de docking débute par une fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments obtenus permet de rechercher les meilleures conformations du ligand dans le site

actif de l'enzyme et d'estimer l'affinité d'interaction (Figure IV.5). La réalisation de cette étape nécessite la commande suivante :

Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protein.mol2

```

C:\Users\dz\Desktop\4ba0>
Times (total 1): search 0 align1 1 merge+chain 0 polish 0
Nconfs (final 73): 3 24 2424 2074
[ret_conf -5.49] [ret_conf -1.83] [ret_conf -2.97] [ret_conf -2.70] [ret_conf -2
.20] [ret_conf -3.17] [ret_conf -0.97] [ret_conf -1.56] [ret_conf -1.62] [ret_co
nf -3.04] [ret_conf -2.80] [ret_conf -2.66] [ret_conf -2.84] [ret_conf -3.79] [r
et_conf -2.90] [ret_conf -3.81] [ret_conf -1.97] [ret_conf -1.34] [ret_conf -1.3
6] [ret_conf -4.22] [ret_conf -2.64] [ret_conf -1.11] [ret_conf -2.36] [ret_conf
-2.11] [ret_conf -2.70] [ret_conf -2.85] [ret_conf -1.72] [ret_conf -1.75] [ret
_conf -7.76] [ret_conf -1.75] [ret_conf -2.51] [ret_conf -3.00] [ret_conf -3.22]
[ret_conf -3.21] [ret_conf -3.27] [ret_conf -1.03] [ret_conf -1.63] [ret_conf -
2.50] [ret_conf -2.66] [ret_conf -3.57] [ret_conf -3.09] [ret_conf -1.72] [ret_c
onf -4.58] [ret_conf -1.65] [ret_conf -4.94] [ret_conf -2.72] [ret_conf -2.70] [
ret_conf -2.67] [ret_conf -1.74] [ret_conf -2.49] final-0: -0.09 (crash -0.16 (s
elf -0.08))
final-1: -0.13 (crash -0.16 (self -0.10))
final-2: -0.36 (crash -0.38 (self -0.25))
final-3: -0.47 (crash -0.34 (self -0.21))
final-4: -0.67 (crash -0.26 (self -0.24))
final-5: -0.68 (crash -0.28 (self -0.23))
final-6: -0.73 (crash -0.27 (self -0.22))
final-7: -0.73 (crash -0.20 (self -0.19))
final-8: -0.75 (crash -0.18 (self -0.09))
final-9: -0.75 (crash -0.27 (self -0.25))
C:\Users\dz\Desktop\4ba0>

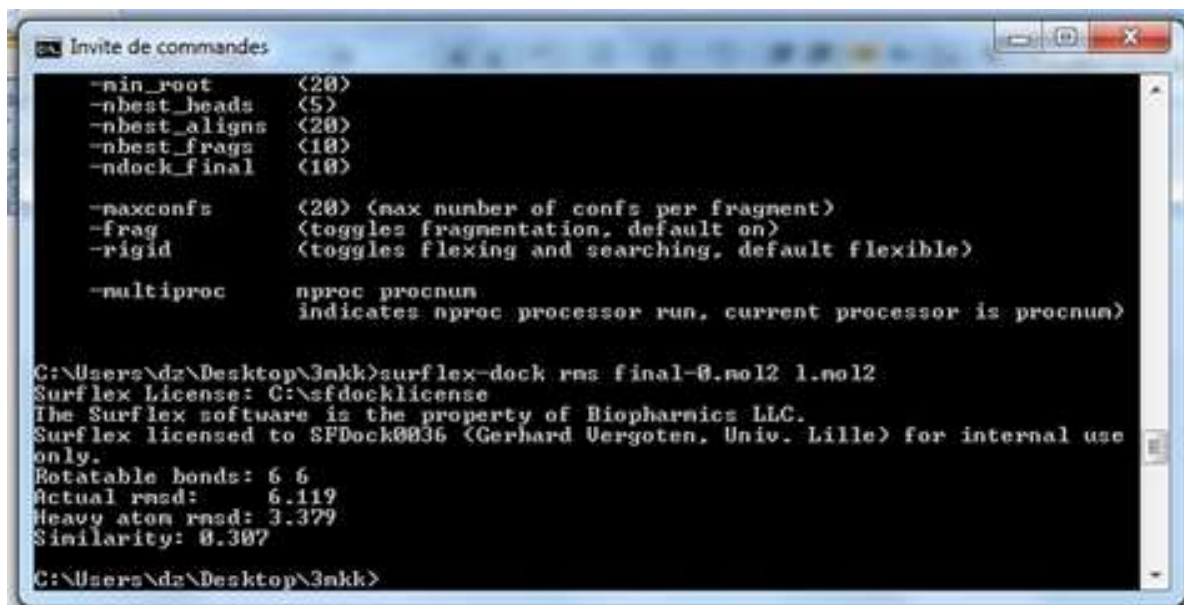
```

Figure IV 5 : Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le programme surflex-dock.

➤ Calcul de RMSD

Pour calculer la valeur du RMSD, nous avons utilisé en plus une troisième commande qui sert à déterminer la position du ligand simulé vis-à-vis de celui de référence (Figure IV.6) :

Surflex-dock rms final-0.mol2 ligand.mol2



```

- nin_root      (20)
- nbest_heads   (5)
- nbest_aligns  (20)
- nbest_frags   (10)
- ndock_final   (10)

- maxconfs      (20) (max number of confs per fragment)
- frag          (toggles fragmentation, default on)
- rigid         (toggles flexing and searching, default flexible)

- multiproc     nproc procnun
                indicates nproc processor run, current processor is procnun)

C:\Users\dz\Desktop\3nkk>surflex-dock rms final-0.no12 1.no12
Surflex License: C:\sfdocklicense
The Surflex software is the property of Biopharmics LLC.
Surflex licensed to SFDock0036 (Gerhard Vergoten, Univ. Lille) for internal use
only.
Rotatable bonds: 6 6
Actual rmsd:      6.119
Heavy atom rmsd: 3.379
Similarity: 0.307
C:\Users\dz\Desktop\3nkk>

```

Figure IV.6 : Résultat du calcul de RMSD par le programme surflex-dock.

2-3-Prédiction de la similarité médicamenteuse par la règle de Lipinski

Lipinski a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle. Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement(6).

Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être biodisponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants(7):

- Ne possède pas plus de 5 donneurs de ponts hydrogène (OH et NH).
- Ne possède pas plus de 10 accepteurs de ponts hydrogène (O et N)
- Possède une masse moléculaire inférieure ou égale à 500 daltons.
- Un coefficient de partition octanol / eau, noté $\log P \leq 5$
- Possède un nombre de liaisons rotatables inférieur ou égale à 15.

Références bibliographiques :

- (1) Anonyme, Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs d'alpha-glucosidase. [En ligne] : www.fac.umc.edu.dz/pdf (Consulté le 05/05/2022)
- (2) Jay A., Jain N. 2007. Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *J Comput Aided Mol Des.* **21**, 281-306
- (3) Hutchison G.R., Morley C., James C., Swain C., Winter H.D., Vandermeersch T. 2011. Open Babel Documentation. [En ligne], <http://openbabel.sourceforge.net>. (Consulté le 12/03/2022).
- (4) 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. *NuclAcRes.* **28**, 235-242.
- (5) Aissani L., Dabouze S. 2021. Application du docking moléculaire par SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase. Mémoire de master en biochimie appliqué ; Algérie: Université des Frères Mentouri. Constantine 1, 98p.
- (6) Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **46**: 3-26.
- (7) Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry.* **45**: 2615-2623.

Chapitre V :
Résultats et discussion

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Tests de fiabilité du programme Surflex-dock

Afin de prédire le mode d'interaction qui consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur, il est indispensable de tester la fiabilité du programme Surflex-dock utilisé pour cette étude par l'écart quadratique moyen (RMSD) suivi par l'analyse visuelle.

1-1.Test RMSD

L'efficacité du programme Surflex-dock à prédire le positionnement exact d'un ligand dans le site actif de l'enzyme est évalué par la déviation quadratique moyenne ou RMSD de la position du ligand simulée par le programme Surflex-dock par rapport à celle déterminée expérimentalement qu'on retrouve dans la PDB[1].

La prédiction est jugée correcte lorsque la valeur du RMSD obtenue est $\leq 2\text{\AA}$ (1). Ce test a été réalisé sur 151 complexes protéine-ligand choisis arbitrairement à partir de la PDB. Après avoir séparé la protéine de son ligand, les deux fichiers sont enregistrés séparément afin de reconstituer de nouveau le complexe par docking moléculaire et de calculer le RMSD entre la meilleure conformation du ligand générée par Surflex-dock qui est le finale-0 et la conformation expérimentale de référence issue de la PDB. Les résultats des chiffres du RMSD des 151 complexes étudiés sont représentés dans le tableau suivant:

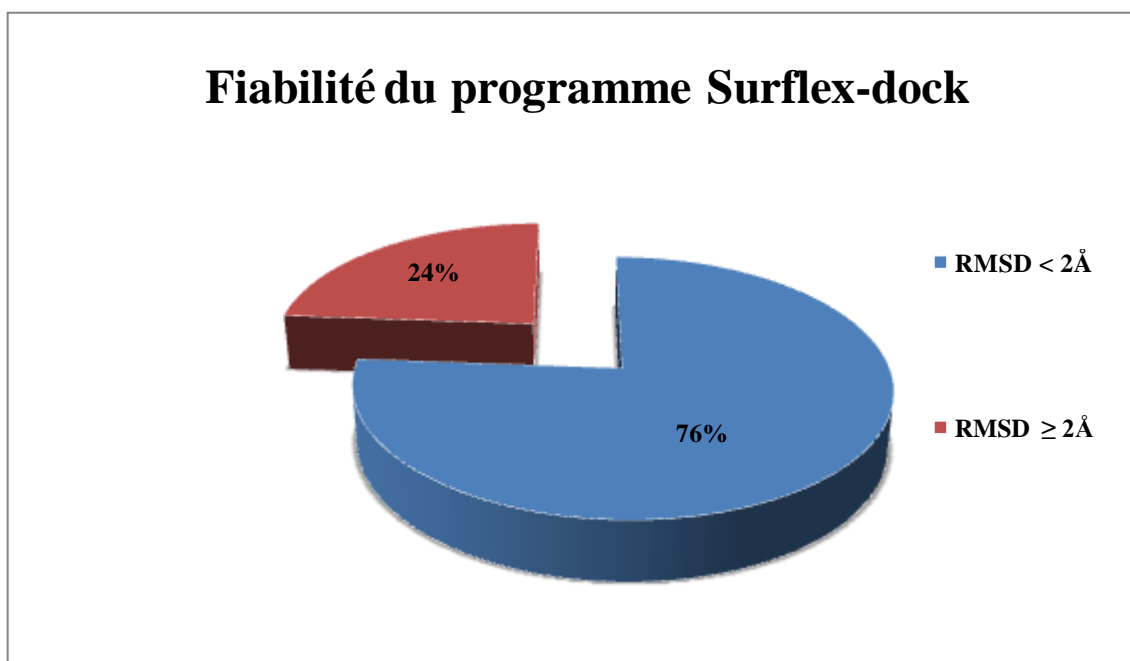
Tableau V.1 : Liste des 151 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex dock par le test du RMSD

Code d'enzyme	Code du ligand	RMSD (Å)	Code d'enzyme	Code du ligand	RMSD (Å)
6DUX	NAD	0.640	2JKA	EDO	0.605
6DVV	NAD	1.330	2JKE	NOJ	0.759
2FH6	GLC	1.11	2JKP	CTS	0.258
5X7O	MES	3.399	1OBB	NAD	0.899
5X7R	BGC	1.001	1VJT	NAD	1.180
7KBJ	WAV	1.123	3N04	GOL	4.895
7KBR	WAS	1.539	3NSX	TRS	1.191
5H9O	NAG	1.597	3NUK	GOL	0.606
5HJO	DGO	1.597	3W37	NAG	1.030
5HJR	5GF	0.957	3W38	NAG	0.971
5IED	CTS	0.329	3WEL	GOL	0.855
5IEE	NOJ	0.764	3WEM	NAG	6.533

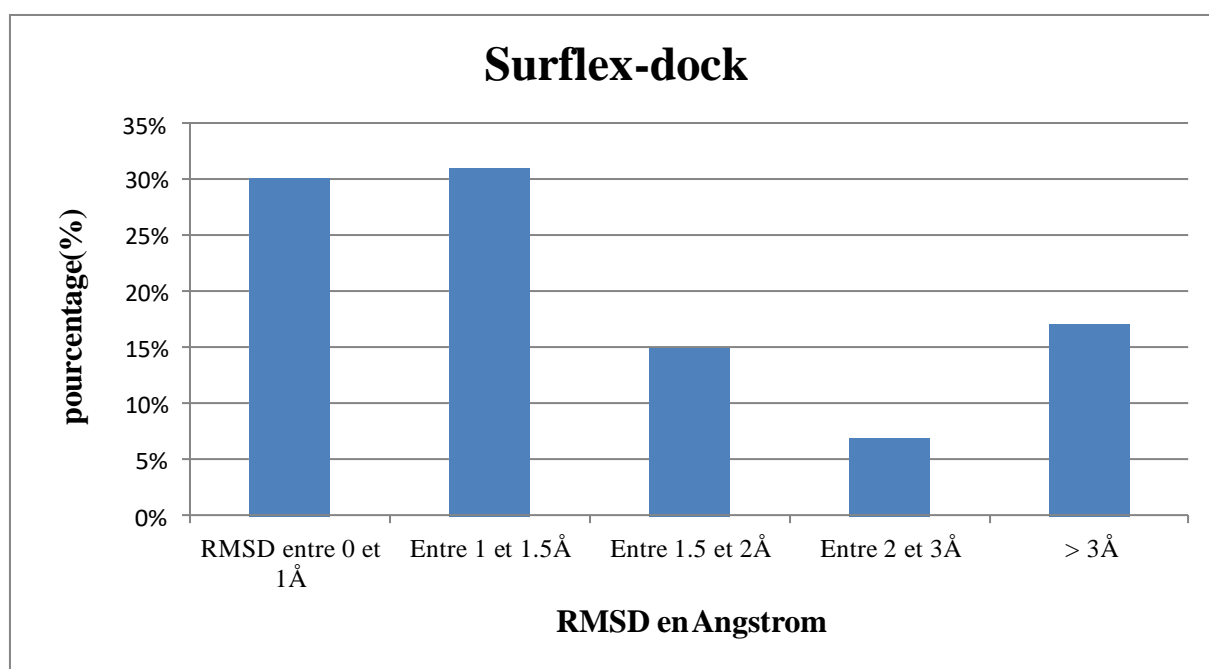
5IEF	NBV	1.018	3WEO	NAG	5.237
7KRY	X8Y	5.740	3WFA	EDT	0.921
5JQP	TRS	0.957	3WY1	PRU	1.695
7JTY	VND	1.444	3WY2	BGC	1.162
7K9O	W9P	1.972	3WY3	BGC	0.861
1QXW	M1C	0.884	3WY4	GOL	0.599
1QXY	M2C	1.148	4XPO	TRS	0.877
1QXZ	M3C	1.095	4XPP	GAL	0.648
1WKM	MET	0.592	4XPQ	FUL	1.076
1XNZ	FCD	2.907	4XPR	EDO	1.451
1YVM	TMG	1.988	4XPS	GLA	0.937
2BB7	QMS	1.176	5HQ4	GOL	2.223
2EVC	FC3	5.272	5HQA	GOL	0.621
2EVM	FC2	3.816	5HQB	GOL	0.623
2EVO	CT0	1.803	5AED	MPD	1.029
2GU4	NLP	4.578	6PNR	9VH	2.344
2GU5	NLP	0.603	7EHH	MES	0.658
2GU6	NLP	0.692	7EHI	MES	0.797
2P98	YE7	2.241	5AEE	NSQ	0.234
2P99	YE6	5.538	5AEG	B9D	1.277
2P9A	YE6	3.420	5NN4	SC2	5,467
2Q92	B23	1.648	5NN5	NOJ	0,832
2Q93	B21	1.401	5NN6	MIG	0,454
2Q94	A04	1.390	5NN8	PGE	1.040
2Q95	A05	2.239	7CTM	BDP	1,071
2Q96	A18	0.932	4WLC	BGC	1.040
3D27	W29	1.191	5OHY	9VH	1.824
4PNC	7NP	1.490	3MKK	BGC	0.983
4Z7M	4L9	1.399	4B9Z	PEG	3,376
5YOH	MET	7.761	4BA0	5GF	3,976
5YOI	MET	0.648	7KAD	W9T	5,583
5YPD	MET	0.631	7KB6	XOD	5,069
5YXF	MET	0.511	7KB8	W7A	3,571
6LH7	GOL	0.721	7K9Q	W9S	1.419
5IED	CTS	0,320	1JQP	NAG	3.885
3JYH	NAG	1.087	1K3B	NAG	1.125
3N0T	OPY	1.219	2DJF	1ZB	1.368
4EBB	NAG	1.464	2DJG	NAG	1.552
1J2E	NAG	1.615	3PDF	LXV	0.670
1N1M	NAG	7.021	4CDC	6AO	2.672
1NU6	NAG	0.923	4CDD	GDI	2.555
1NU8	NAG	1.717	4CDE	U6B	1.751
1ORV	NAG	1.574	4CDF	W2C	1.269
1ORW	PHI	9.896	4OEL	NAG	7.102
1R9M	NAG	1.491	4OEM	NAG	1.051
1R9N	NAG	3.004	6IC5	HB5	3.325
1BS4	2PE	1.286	6IC6	H9B	4.187
1BSZ	2PE	1.187	6IC7	H9H	0.507
1G27	BB1	1.452	6RN6	K9Q	2.942
1G2A	BB2	1.325	6RN7	K9W	4.380

1IX1	BB2	1.225	6RN9	K9Z	0.902
1LRU	BB2	0.975	6RNE	KA8	0.699
1LRY	BB2	0.627	6RNI	KAQ	1.661
1Q1Y	BB2	1.200	3SW8	5LI	5.562
1RL4	BL5	1.603	3U04	BB2	1.717
1SZZ	BB2	1.097	3U7K	MDB	1.700
2AI7	SB7	1.753	3U7L	UDB	1.836
2AI8	SB7	0.907	3U7M	FHF	1.053
2AIE	SB9	1.065	3U7N	UHF	1.483
2EW5	Y12	0.565	4E9A	QAP	1.064
2EW6	Y13	0.430	5CWX	56K	2.332
3E3U	NVS	1.246	5CX0	56L	2.627
3K6L	2BB	1.223	5CY8	56V	1.758
3STR	3LI	1.670			

Les deux graphes suivants montrent les résultats obtenus lors de l'évaluation du programme Surfex-dock pour sa capacité à reproduire les modes d'interaction expérimentaux des 151 composés vis-à-vis de leurs récepteurs, les résultats sont montrés en pourcentage (%), à divers intervalles de RMSD.



Graphe V.1 : Résultat global du RMSD en %



Graphe V.2 : Résultats en % obtenu par Surflex-dock à divers intervalles de RMSD.

Nous remarquons d'après ces résultats que le programme Surflex-dock reproduit bien les données expérimentales, en effet, 76% des valeurs de RMSD sont inférieures à 2Å (Graphe V.1), la majorité des bonnes RMSD se situe dans les intervalles de 0 à 1Å et de 1 à 1.5 Å (Graphe V.2), et que seulement 24% des résultats sont supérieurs ou égale à 2Å(Graphe V.1).

La reproduction des données expérimentales dans de telles proportions, montre que Surflex-dock est fiable . Notre résultat est corrélé avec les résultats obtenus par Merzoug *et al* (2015) (2) et de Khaldi et Ihoual(2020) (3) . Ils ont trouvé que le programme surflex-dock a reproduit biens les donnés expérimentales avec 79.24% et 65% respectivement des valeurs de RMSD sont inférieurs ou égale à 2Å.

1-2.Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape essentielle permettant une meilleure appréciation des résultats de RMSD obtenus avec Surflex-dock. Pour cela nous avons choisi 3 complexes de la PDB dont l'un avec une bonne valeur du RMSD < 2 Å (Figure V.1) le deuxième a une valeur moyenne (RMSD) qui est égale à 2Å(Figure V.2) et l'autre avec un RMSD nettement supérieur à 2Å (Figure V.3) .

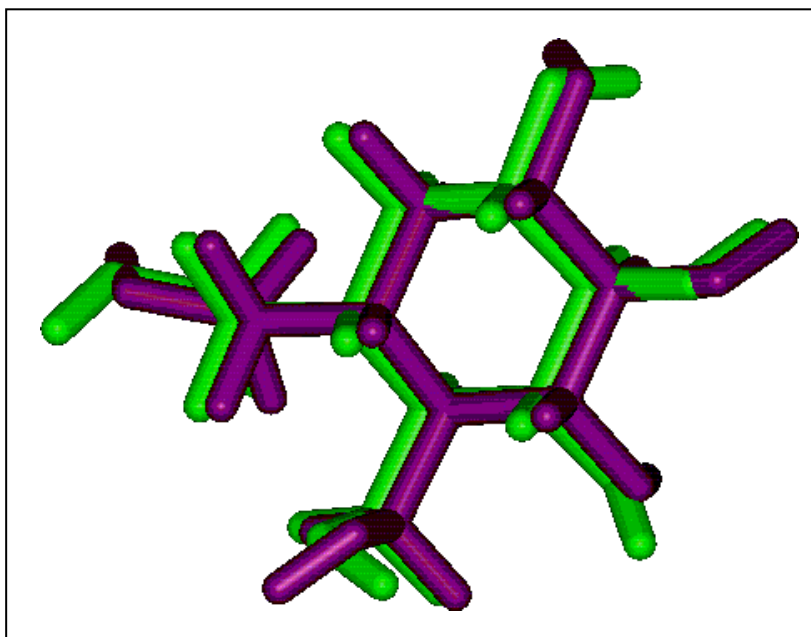


Figure V.1 : Superposition du ligand MIG du complexe 5NN6 simulé par Surflex-dock (coloré en vert) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en violet) (RMSD=0.454 Å).

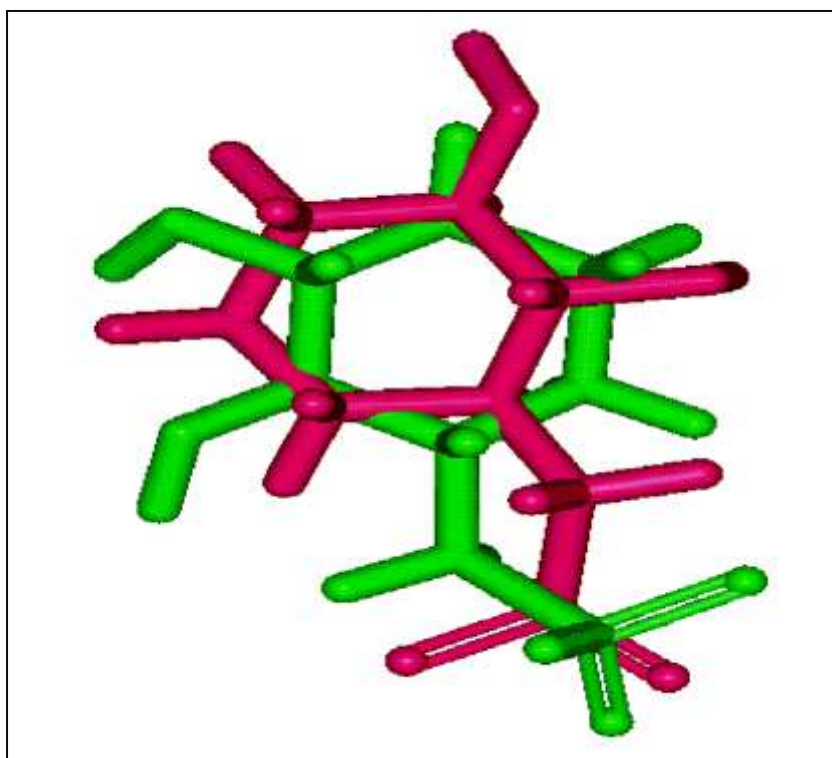


Figure V.2 : Superposition du ligand 9VH du complexe 5OHY simulé par Surflex-dock (coloré en vert) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=2.671 Å).

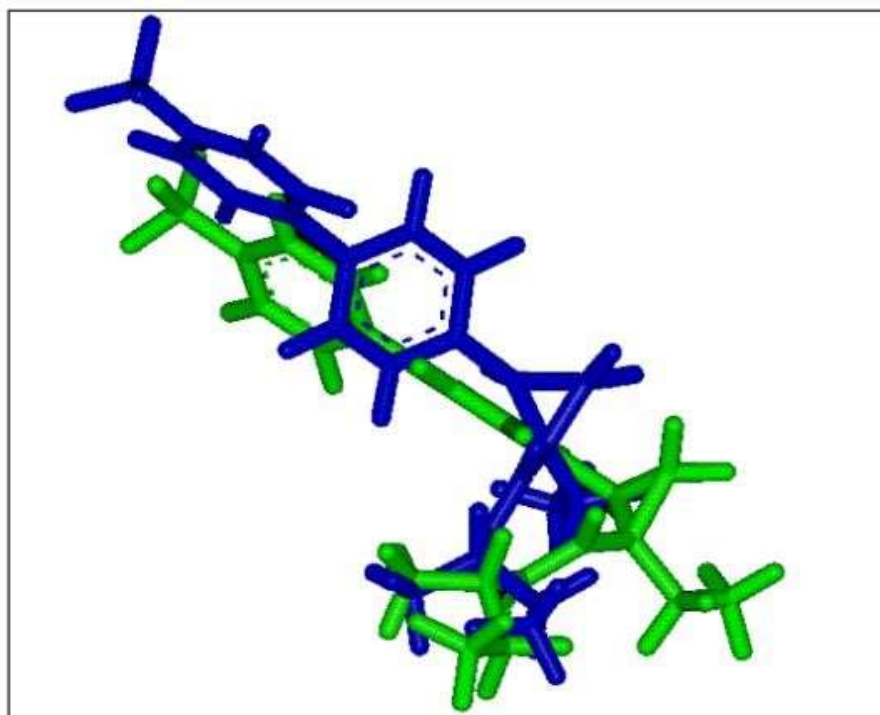


Figure V.3 : Superposition du ligand H9B du complexe 6IC6 simulé par Surflex-dock (coloré en vert) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en bleu) (RMSD=4.187Å)

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.454 Å, la superposition de la conformation optimale du ligand obtenue par docking moléculaire avec la géométrie du même ligand donnée est maximale (Figure V.1); dans le deuxième cas, avec un RMSD de 2.671 Å, elle est moins (Figure V.2); alors que dans le troisième cas, avec un RMSD de 4.187Å il n'existe aucune superposition (Figure V.3).

Les résultats des deux tests utilisés dans cette étude pour évaluer la fiabilité du programme surflex –dock 1.3 , nous a permis de conclure que ce programme est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant. Il peut donc être utilisé, sans grands risque d'erreurs, pour identifier par simulation *in silico*, des nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase en tant que nouveaux agents antidiabétiques.

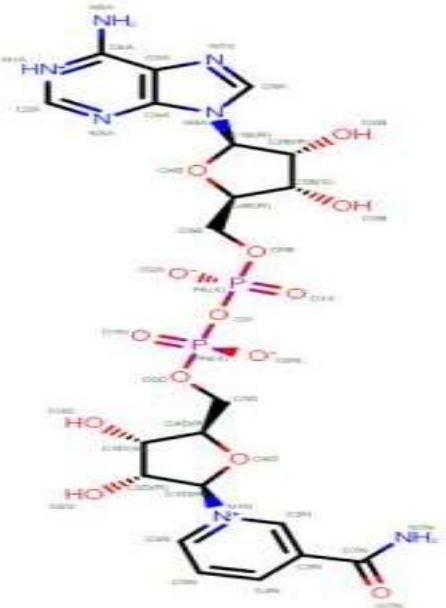
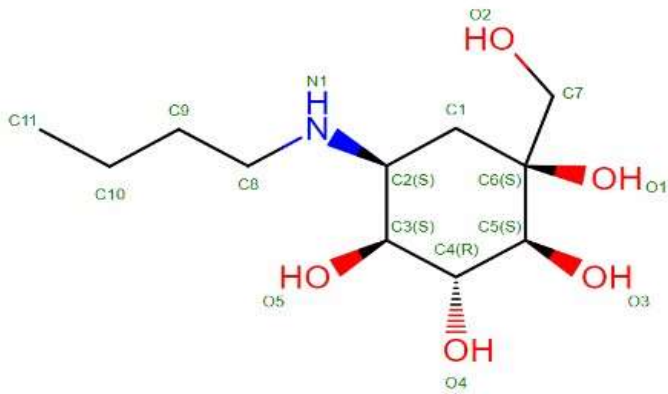
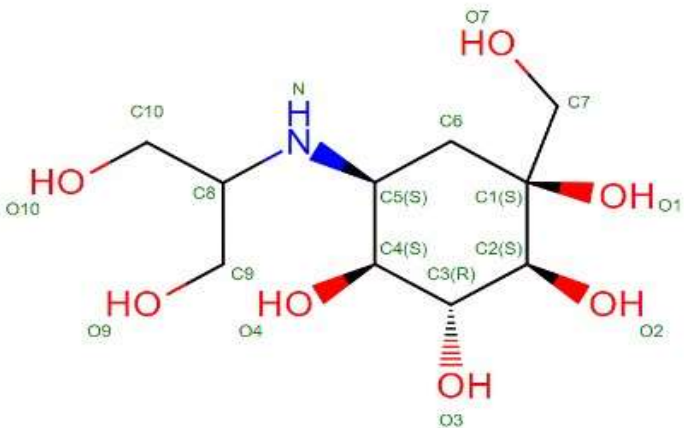
2. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de l'alpha glucosidase par diverses molécules

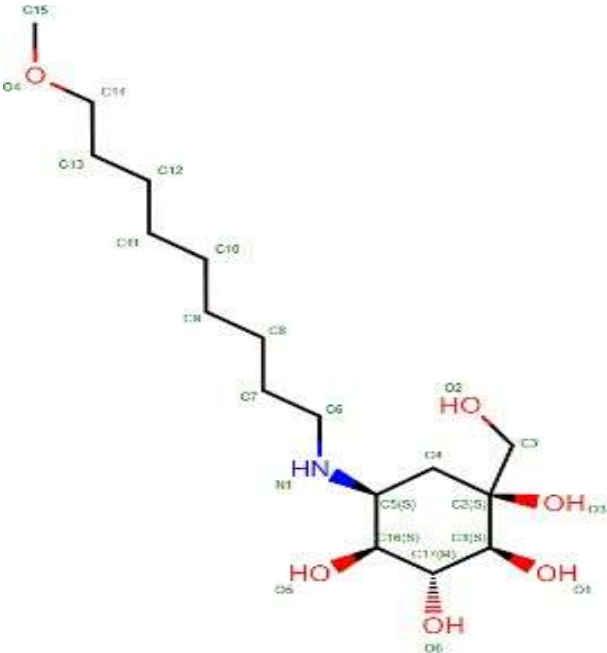
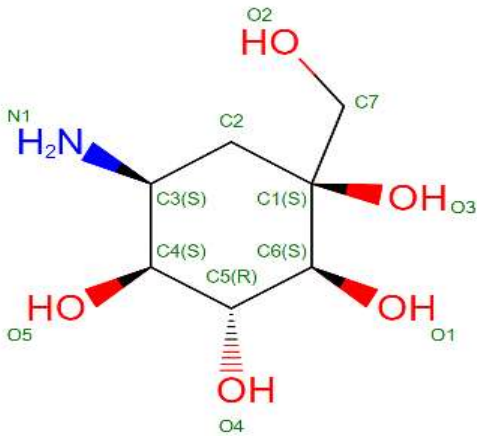
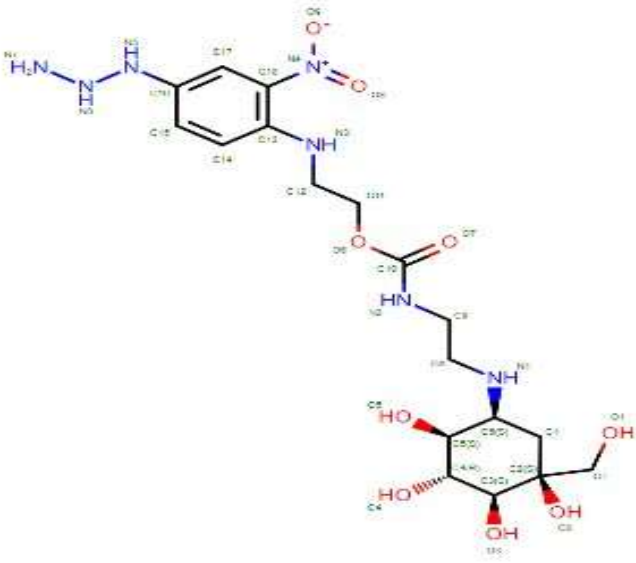
Cette étude est basée sur neuf inhibiteurs de l'alpha-glucosidase présentés dans la PDB. Pour effectuer le docking de ces molécules, nous avons utilisé le récepteur du complexe 3WY2 comme protéine cible .


Afin de réaliser correctement notre docking moléculaire , nous avons éliminé au préalable le ligand N7F du site d'interaction de l'enzyme. Les résultats du docking de ces inhibiteurs dans le site actif de l'enzyme sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V.2 : Les valeurs des affinités des complexes 3WY2-inhibiteurs étudiés

Inhibiteur	Structure chimique	Affinité (M ⁻¹)
CTS		2.62
Miglitol		6.77

<p>NOJ</p>		<p>6.28</p>
<p>VND</p>		<p>7.22</p>
<p>Voglibose</p>		<p>5.16</p>

<p>W9G</p>		<p>7.71</p>
<p>W9S</p>		<p>6.19</p>
<p>WAS</p>		<p>1.53</p>

WAV	 <p>The image shows the chemical structure of W9G, a complex molecule consisting of a benzene ring substituted with a hydrazine group, a nitro group, and a side chain containing a methoxy group and a cyclohexane ring with multiple hydroxyl groups. Atoms are labeled with their respective symbols and numbers (e.g., N1, O1, C1).</p>	4.37
-----	---	------

Comme le montre le tableau ci-dessus le composé W9G se présente comme le meilleur inhibiteur de l'alpha-glucosidase humaine avec une affinité égale à 7.71 M^{-1} , suivi par le composé VND avec affinité de 7.22 M^{-1} .

2-1.Complexe 3WY2-W9G

Parmi les neufs inhibiteurs étudiés, le composé W9G dont le nom chimique (1S ;2S ;3R ;4S ;5S)-(hydroxyméthyle)-5-[(9-méthoxynonylamino]cyclohexane-1 ;2 ;3 ;4-tetrol] se présente comme le meilleur inhibiteur de l'alpha-glucosidase, Son orientation dans le site de liaison de l'enzyme est représentée sur la figure V.4.

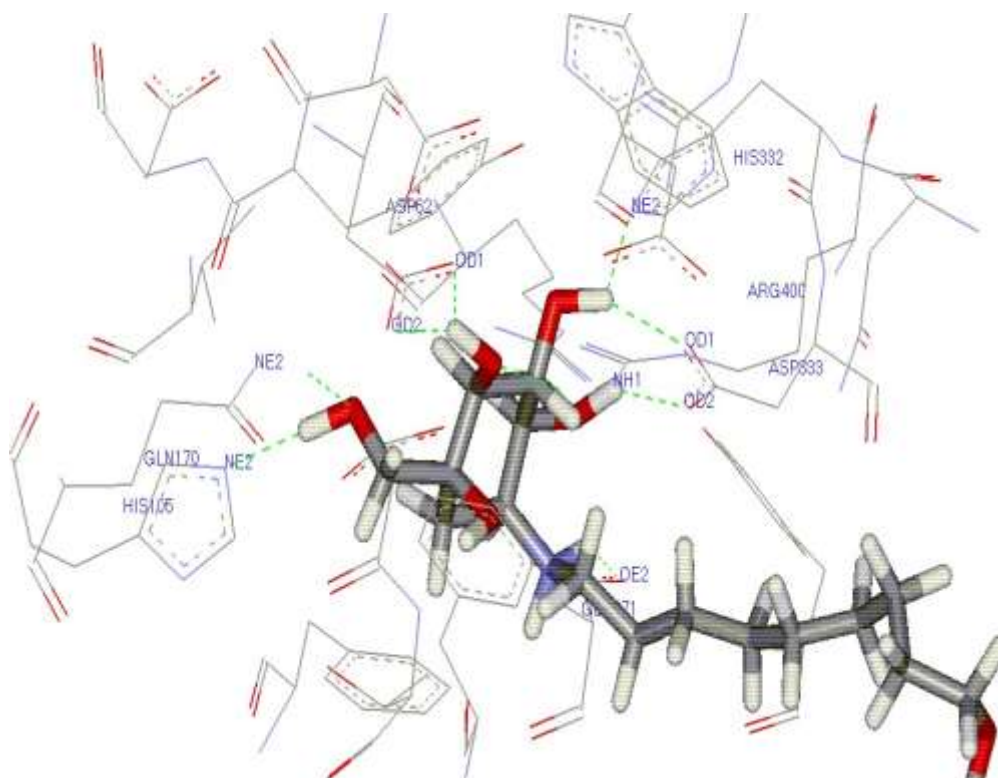


Figure V.4 : Mode de liaison du composé W9G avec le site actif de l'alpha-glucosidase.

Les tirets verts discontinus représentent les ponts hydrogènes.

L'analyse visuelle montre que le composé W9G établit huit liaisons hydrogènes avec les résidus du site actif par l'intermédiaire de ses groupements hydroxyles, parmi lesquels l'Asp62, l'Asp333 et le Glu271 qui sont les acides aminés jouant un rôle important dans la fonction catalytique de cette enzyme [4], et une liaison hydrogène supplémentaire grâce à sa fonction amine. Dans le tableau 3 ci-dessous nous avons résumé ces différentes liaisons.

Tableau V.3 : les liaisons hydrogène formées par le ligand W9G.

Liaisons	Atomes du ligand	Atomes et résidus
Hydrogènes	W9G	du site actif
1	O2-H	NE2-His105
2	O2	NH-Gln170
3	O1	NH1-Arg400
4	O1-H	OD1-Asp62
5	O1-H	OD2-Asp62
6	O6-H	NE2-His338
7	O6-H	OD1-Asp333
8	O5-H	OD2-Asp333
9	N1-H	OE2-Glu271

De nombreuses interactions de type hydrophobe et de Vander Walls assurent également la stabilité du complexe alpha- glucosidase-composé W9G (Figure V.4).

2-2.Complexe 3WY2-VND

La structure du composé VND est proche à celle de l'inhibiteur W9G ; c'est la raison pour laquelle son orientation dans le site actif et son interaction avec les résidus de ce site sont très proches. Comme le montre la figure V.5, le composé VND établit la majorité de ses liaisons hydrogènes par l'intermédiaire de ses groupements hydroxyles aussi.

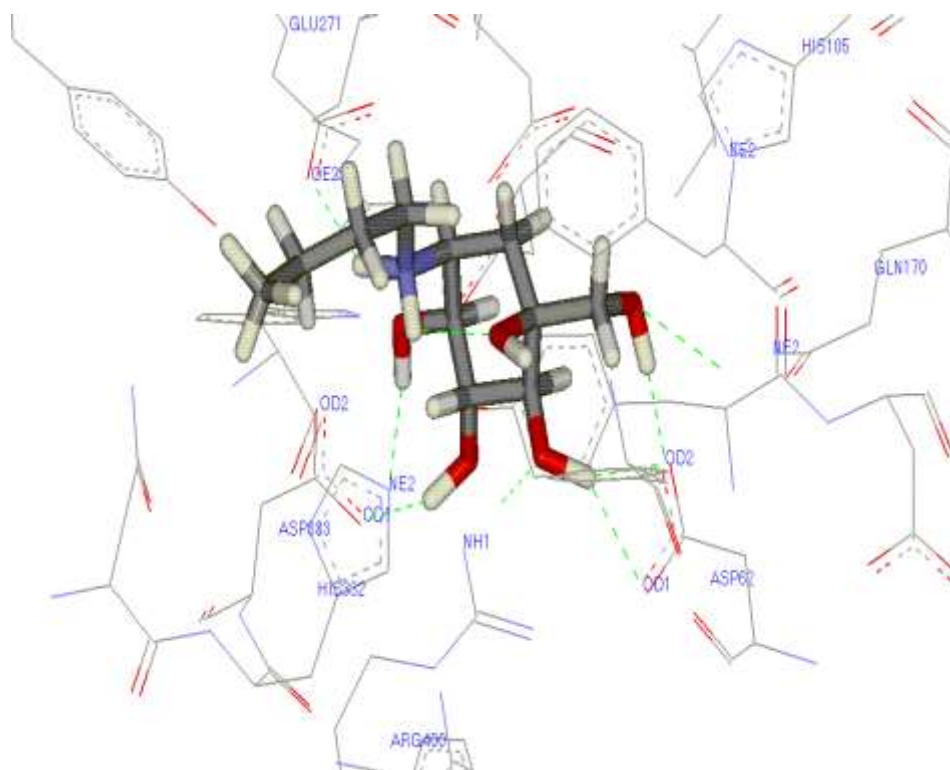


Figure V.5 : Mode de liaison du composé VND avec le site actif de l'alpha- glucosidase.

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'alpha glucosidase

Afin d'améliorer l'activité inhibitrice du composé W9G nous avons utilisé la méthode du criblage virtuel d'une collection de molécules chimiques similaires de cet inhibiteur provenant de la chimiothèque PubChem.

La banque de donnée PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) nous propose 77 similaires pour le composé W9G avec un taux de similarité allant jusqu'à 90%. Par docking moléculaire avec Surflex-dock de cette collection chimique, seuls, deux similaires présentent

une affinité supérieure à celle de l'inhibiteur de référence ont été observés. Les résultats de la simulation par Surflex-dock de ces similaires sont représentés dans le tableau V.4.

Tableau V.4 : Résultats de docking des similaires de composé W9G dans l'alpha glucosidase .

Code CID	Structure chimique	Affinité(M ⁻¹)
CID69718829	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol;hydrochloride	5.23
CID68563981	azane;(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5.23
CID68230303	(1S,2S,4R,6S)-6-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-4-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,4-triol	4.50
CID67427939	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol;N-ethylethanamine	5.23
CID66915068	Me-Sar-ol.Unk-DL-Ser-ol	5.23
CID66910291	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol;hydrate	5.23
CID66790570	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol;hydrate	5.23
CID60041174	1-(Hydroxymethyl)-5-(methylamino)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	3.84
CID59945574	4-(hydroxymethyl)-6-(methylamino)cyclohexane-1,2,3-triol	4.58
CID59405547	(1R,2R,3S,4R,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	0.98
CID53826599	(2S,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4.88
CID45357542	(2S,3R,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	2.50
CID16760222	(1S,2S,3R,4S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tétrol	3.84
CID9995052	(1R,2R,3R,4S,6R)-4-(decylamino)-6-methylcyclohexane-1,2,3-triol	6.31
CID10131197	(1R,2R,3R,4S,6R)-4-(decylamino)-6-methylcyclohexane-1,2,3-triol	4.23
CID11348057	(1R,2R,3R,4S,6R)-4-(dodecylamino)-6-	4.55

CID11358225	methylcyclohexane-1,2,3-triol (1S,2S,3S,4R,6R)-4-(hydroxymethyl)-6-(octylamino)cyclohexane-1,2,3-triol	4.90
CID11637403	(1S,2R,3S,4S,6R)-4-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-6-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3-triol	2.72
CID11771108	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol;chloride	5.23
CID11778077	(1R,2R,3R,4R,6R)-4-methyl-6-(octylamino)cyclohexane-1,2,3-triol	1.58
CID13137302	(1S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	2.96
CID14279338	4-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-6-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3-triol	3.19
CID25886732	(1S,2S,3R,4S,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	3.03
CID29922600	(1R,2S,3R,4R,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4.74
CID29922603	(1S,2S,3R,4R,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	2.96
CID29922606	(1R,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5.75
CID51387639	(1R,2S,3S,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5.30
CID51397641	(1R,2S,3S,4S,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4.52
CID51397643	(1R,2S,3S,4R,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4.95
CID51397645	(1R,2S,3S,4R,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	3.12
CID67025053	2-amino-2-methylpropan-1-ol;(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5.23
CID70702323	(2S,4R,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	3.27
CID92402760	(1S,2S,3S,4R,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-	5.81

CID92845153	2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol (1S,2S,3S,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5.00
CID98212966	(1S,2R,3S,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4.93
CID18718374	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-[[1-(1S,2S)-2-hydroxycyclohexyl]amino]-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4,85
CID44343669	4-(decylamino)-6-methylcyclohexane-1,2,3-triol	4,69
CID144553212	(2S,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5,68
CID155057076	4-(ethylamino)-6-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3-triol	3,91
CID91362412	(1R,2R,3S,4S,5R,6R)-1-[deuterio(hydroxy)methyl]-3-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)cyclohexane-1,2,3,4,5,6-hexol	4,88
CID90365589	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1-hydroxybutan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4,42
CID71306784	(2S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	3,27
CID 98112968	(1R,2R,3S,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5.58
CID101342888	1-(Octylamino)-1-deoxy-5-O-carba-beta-D-fucopyranose	7.06
CID101342889	1-(Octylamino)-1-deoxy-5-O-carba-beta-L-fucopyranose	8.20
CID101342890	1-(Decylamino)-1-deoxy-5-O-carba-beta-D-fucopyranose	6.48
CID101342892	1-(Dodecylamino)-1-deoxy-5-O-carba-beta-D-fucopyranose	4.36
CID122395552	(1R,2S,3S,4S,5R,6S)-4-Octylamino-6-hydroxymethylcyclohexane-1,2,3,5-tetraol	3.54
CID122395553	(1R,2S,3S,4R,5S,6R)-5-Octylamino-6-hydroxymethylcyclohexane-1,2,3,4-tetraol	1.25
CID124428664	(1S,2R,3R,4S,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	4.63
CID124762072	(1S,2R,3R,4R,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	6.47
CID124762073	(1S,2R,3S,4S,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane-	3.92

CID124762074	1,2,3,4-tetrol 5-(1,3-Dihydroxypropan-2-ylamino)- 1-(hydroxymethyl)cyclohexane-	4.04
CID125471349	1,2,3,4-tetrol (1R,2R,3S,4R,5R)-5- (cyclohexylamino)-1- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4- tetrol	2.58
CID133687332	(2R,3S,5R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2- ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane- 1,2,3,4-tetrol	3.85
CID134694639	(1S,2S,3R,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2- ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane- 1,2,3,4-tetrol	3.27
CID143936282	(2R)-4-(hydroxymethyl)-6-(1- hydroxypropan-2-ylamino)cyclohexane- 1,2,4-triol	3.86
CID155801594	(1R,2S,3S,4R,5R,6S)-5- (hydroxymethyl)-6- (pentylamino)cyclohexane-1,2,3,4- tetrol	3.52
CID155801596	(1R,2S,3S,4R,5S,6R)-5-(hexylamino)-6- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	2.37
CID148822483	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(butylamino)-1- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	6,53
CID129010282	(1R)-5-(1,3-dihydroxypropan-2- ylamino)-1- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4- tetrol	2,41
CID118718369	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(cyclohexylamino)-1- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	3,60
CID118718368	1S,2S,3R,4S,5S)-5- (cyclohexylmethylamino)-1- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4- tetrol	7,24
CID118626839	(1S,2S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2- ylamino)-1- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	3,27
CID90365589	1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1-hydroxybutan-2- ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane- 1,2,3,4-tetrol	4,42
CID5677	5-(1,3-dihydroxypropan-2-ylamino)-1- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3,4-tetrol	2,96
CID71232274	1R,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2- ylamino)-1-ethylcyclohexane-1,2,3,4-tetrol	5,33
CID44394515	4-(hydroxymethyl)-6- (octylamino)cyclohexane- 1,2,3-triol	4,26
CID44343889	(1R,3R,4S)-4-(decylamino)-6- methylcyclohexane- 1,2,3-triol	4,42
CID44343699	4-(dodecylamino)-6-methylcyclohexane- 1,2,3-trioll	6.01
CID44343625	(1R,3R,6S)-4-methyl-6-	8,37

CID44343624	(octylamino)cyclohexane-1,2,3-triol (1R,3R,4S)-4 (dodecylamino)-6- methylcyclohexane-1,2,3 triol	6,05
CID44327991	4-methyl-6-(octylamino)cyclohexane-1,2,3- triol	5,38
CID44327637	4-methyl-6-(nonylamino)cyclohexane-1,2,3- triol	3,50
CID11630203	1R,2S,3S,4S,6R)-4-(1,3- dihydroxypropan-2-ylamino)-6- (hydroxymethyl)cyclohexane-1,2,3-triol	4,28
CID444020	(1S,2S,3R,4S,5S)-5-(1,3-dihydroxypropan-2- ylamino)-1-(hydroxymethyl)cyclohexane- 1,2,3,4-tetrol	5,23

Parmi les molécules criblées, les composés portants les codes CID44343625 et CID101342889 ont montrés les scores de docking les plus élevés. Ils sont considérés comme les meilleurs inhibiteurs de l'alpha-glucosidase.

3-1.Complexe 3WY2-composé CID44343625

Le mode d'interaction de composé CID44343625 avec le site de liaison est représenté dans la figure V.6.

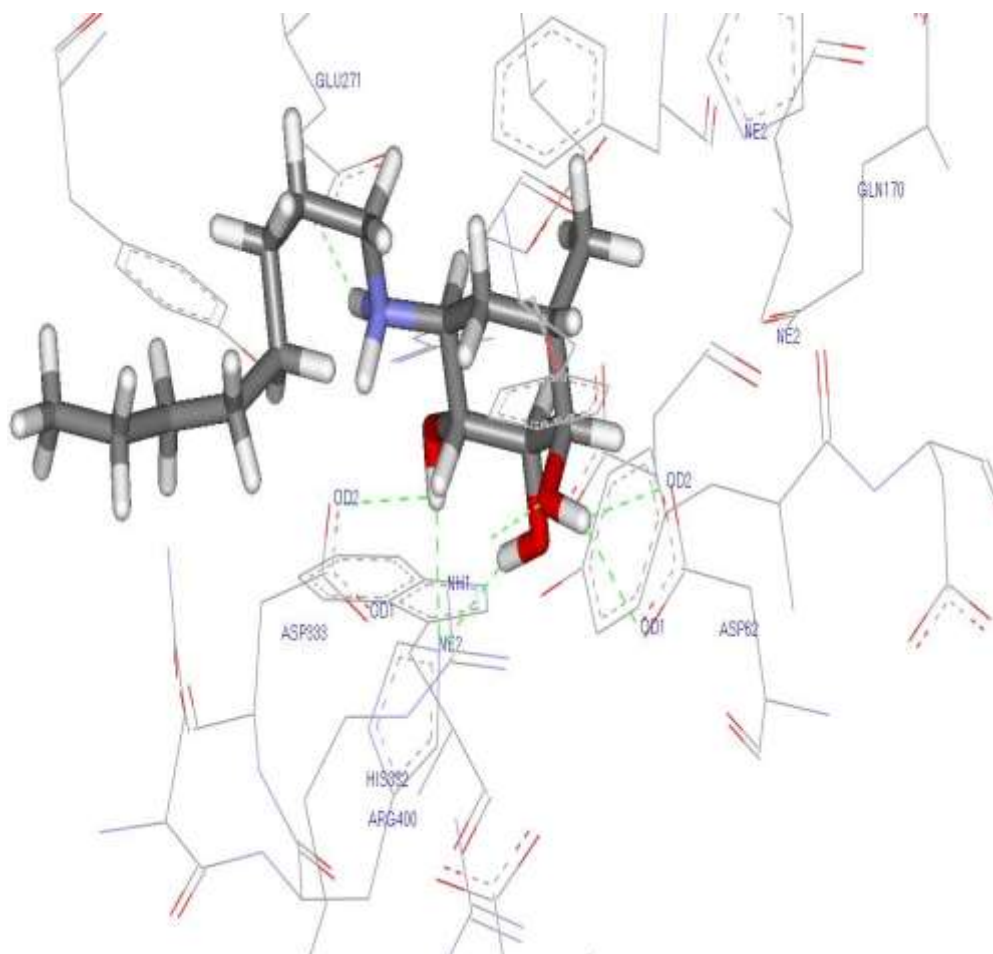


Figure V.6 : Résultat du docking du composé CID44343625 avec le 3WY2

La visualisation des résultats du docking montre que le composé CID44343625 dont le nom chimique (1R,3R,6S)-4-méthyl-6-(octylamino)cyclohexane-1,2,3-triol est bien centré dans le site actif de l'enzyme. Des interactions intéressantes ont été détectées entre eux avec un nombre élevé de liaisons (7 liaisons).

Ce composé établit six liaisons hydrogènes avec les résidus du site actif par l'intermédiaire de ses groupements hydroxyles, parmi lesquels l'Asp62 et l'Asp333 qui sont les deux acides aminés jouant un rôle important dans la fonction catalytique de cette enzyme , et une septième liaison par sa fonction amine avec le Glu271 qui est le troisième résidu du triade catalytique (4). Dans le tableau 5 ci-dessous nous avons résumé les paires d'atomes interagissant dans ces différentes liaisons :

Tableau V.5 : Les liaisons hydrogènes formées par le composé CID44343625 avec les résidus du site actif .

Liaisons	Atomes du composé	Atomes et résidus
Hydrogènes	CID44343625	du site actif
1	O1-H	OD1-ASP62
2	O1-H	OD2-ASP-62
3	O1	NH1-ARG400
4	O6-H	NE2-HIS332
5	O5-H	NE2-HIS332
6	O6-H	OD2-ASP333
7	N1-H	OE2-GLU271

3-2.Complexe 3WY2-composé CID101342889

Avec une affinité avec l'alpha-glucosidase de 8.20 M^{-1} , le composé CID101342889 dont le nom chimique 1-(Octylamino)-1-deoxy-5-O-carba-beta-L-fucopuranose possède la meilleure affinité après le composé CID44343625. Cette affinité se caractérise par la présence de six ponts hydrogènes avec les résidus du site d'interaction (Figure V.7) .

L'analyse visuelle montre que cet inhibiteur établit par l'intermédiaire de ses groupements OH quatre ponts hydrogènes avec les acides aminés Asp62, His332, Asp333, Arg400 , deux ponts supplémentaires sont observés entre la fonction amine de ce composé et le carboxyle de Glu271.

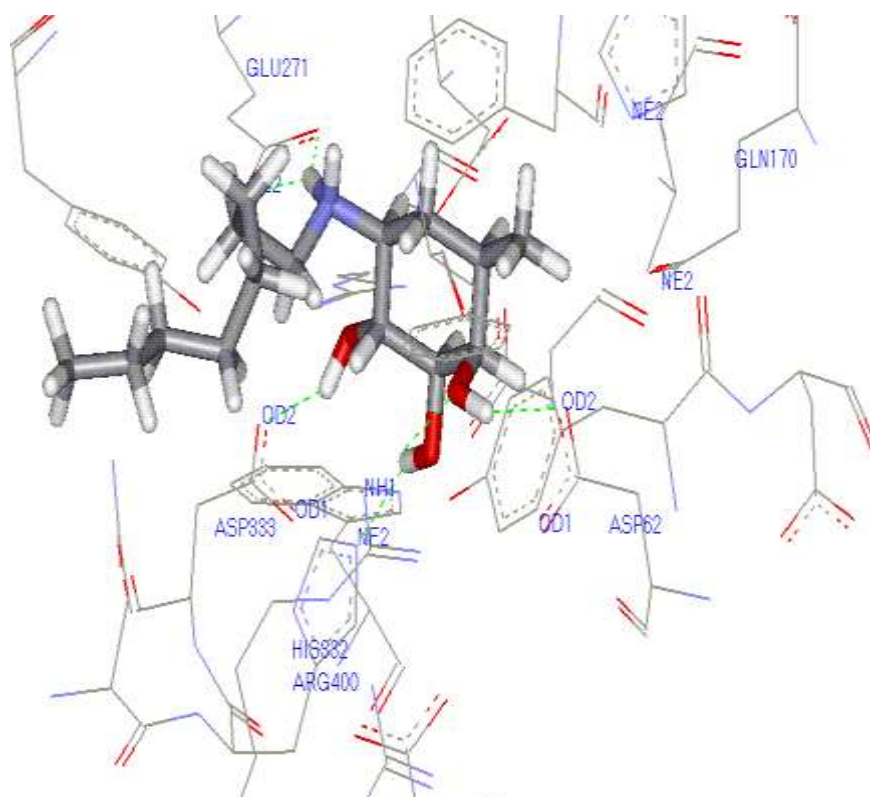


Figure V.7 : Résultat de docking de composé CID101342889 avec le site actif de 3WY2.

4. Prédiction de la similarité médicamenteuse

Plusieurs composés bioactifs n'atteignent pas les phases cliniques pour leurs propriétés pharmacocinétiques défavorables. C'est la raison pour laquelle, une étude computationnelle des meilleurs composés prédits par similarité moléculaire en utilisant Surflex-dock a été effectuée pour estimer la solubilité, l'absorption et la perméabilité des composés proposés et les valeurs évaluées sont décrites dans le tableau suivant.

Tableau V.6 : Critères de la règle de Lipinski pour l'inhibiteur de référence et les deux composés proposés.

Composé	Poids moléculaire (g/mol)	LogP	Donneur d'H	Accepteur d'H	Liaisons Rotables
W9G	349,5	0,1	6	7	12
CID 44343625	273,41	2,4	4	4	8
CID 101342889	273,41	2,4	4	4	8

Le tableau V.6 montre que l'inhibiteur de référence et les deux meilleurs composés prédits par le docking moléculaire sont conformes aux critères de la règle de cinq de Lipinski. On a pu observer que les propriétés pharmaco-cinétiques des composés proposés étaient mieux que celle de l'inhibiteur de base, en se référant à leurs faibles poids moléculaires et à leur caractère lipophile. Ils ont de bonnes propriétés qui les rendraient probablement des antidiabétiques actifs par voie orale.

Références bibliographiques :

- (1) Gabb J., Jackson R. M. , Sternberg M. J. E., (1997). Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. **272**, 106-120
- (2) Merzoug A., Mermoum S., Khaled S., Chikhi A., Bensegueni A., Boucherit H. 2015. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of *Staphylococcus aureus* peptide deformylase by GSK1322322 derivatives. *Journal Academica*. **5**, 16-29
- (3) Khaldi.S., Ihoual.M. 2020. Etude *in silico* de l'inhibition de la dipeptidyl peptidase 4. Mémoire de master en biochimie. Algérie : Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf – Mila, 92p.
- (4) Anonyme. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase. [En ligne]: www.fac.umc.edu.dz pdf. (Consulté le 11/03/2022).

Conclusion

Conclusion :

Notre travail avait pour objectif d'acquérir des compétences en docking moléculaire afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase, cible thérapeutique pour le traitement du diabète de type 2.

Au préalable, nous avons évalué la performance du programme Surflex-dock par deux tests : le premier consiste à calculer le RMSD entre la meilleure conformation du ligand simulé par Surflex et celle obtenue par cristallographie au niveau de la PDB. 151 complexes ont été téléchargés à partir de la PDB et testés. Le deuxième critère consiste à analyser visuellement la superposition de la pose du ligand simulée et celle de référence en comparaison avec les valeurs de RMSD obtenues dans chaque cas. Les résultats obtenus ont montré que 76% des valeurs sont inférieures à 2Å, ainsi qu'une bonne superposition entre la géométrie du ligand calculée par Surflex et celle obtenue expérimentalement. Ces résultats apportent la preuve de la haute performance du programme Surflex. Il s'agit d'un outil suffisamment fiable qui peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs pour étudier les mécanismes d'inhibition de l'alpha-glucosidase par divers inhibiteurs.

Dans un deuxième temps, nous avons pu étudier les mécanismes d'interaction entre le 3WY2 et les neuf inhibiteurs tirés de la PDB ; les résultats ont été clairement démontrés que le W9G et le VND sont les meilleurs inhibiteurs avec des affinités de $7.71M^{-1}$ et $7.22M^{-1}$, respectivement.

Dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'alpha-glucosidase en prenant comme structure de départ le W9G. Dans cette perspective, une collection de 77 composés similaires issus de la PubChem a fait l'objet d'un criblage virtuel envers le site actif d'intérêt. Les résultats obtenus révèlent les composés CID44343625 et CID101342889 comme meilleurs inhibiteurs potentiels de l'alpha-glucosidase avec des scores d'affinité de $8.37 M^{-1}$ et $8.20 M^{-1}$ respectivement. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés a montré la présence de plusieurs liaisons hydrogènes entre les inhibiteurs et les acides aminés clés du site actif de l'enzyme.

La dernière étape de notre travail consistait à vérifier certains critères physicochimiques et pharmacocinétiques des composés CID44343625 et CID101342889. Les résultats obtenus montrent que ces composés prédits par docking moléculaire répondent à la règle de cinq de Lipinski. Ils avaient de bonnes propriétés qui les rendraient probablement des médicaments actifs par voie orale.

Il conviendrait dans le prolongement de cette étude, de tester l'activité biologique des composés nouvellement proposés par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* pour confirmer les résultats théoriques réalisés *in silico*.

Présenté par :
Ghichi Riad
Boucherab Karima
Kaha Rania

soutenu le : 06/07/2022

Résumé
Prédiction *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par une hyperglycémie qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit .

Le diabète de type 2 constitue aujourd'hui un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale.

Dans notre travail, nous sommes focalisés sur le traitement de ce type de diabète par l'inhibition de l'alpha-glucosidase humaine, une enzyme qui hydrolyse les liaisons α -1 \rightarrow 4 des polysaccharides.

Le programme de docking moléculaire Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un taux de valeurs de RMSD inférieures à 2 Å de 76 %, les performances du programme Surflex sont avérées. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle de la superposition des ligands de référence et ceux obtenus par docking moléculaire.

Dans cette étude , ce programme a été utilisé pour étudier l'inhibition de l'alpha-glucosidase humaine par diverses composés afin d'identifier les meilleurs, qui sont les W9G et VND. Le criblage virtuel d'une collection de 77 composés issus de la banque de données PubChem, similaires de l'inhibiteur W9G a fait ressortir les composés CID44343625, CID101342889 comme de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'alpha-glucosidase avec plus d'affinité par rapport à l'inhibiteur de référence .

Enfin, l'application de la règle de 5 de Lipinski nous informe de manière positive sur les propriétés physicochimiques de ces nouvelles molécules proposées .

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente : BOUCHERIT Hanane M.C.B Centre.Univ.A.Boussouf - Mila

Promotrice : MERZOUG Amina M.C.A Centre.Univ.A.Boussouf - Mila

Examinatrice : LALAOUI Meriem M.A.B Centre.Univ.A.Boussouf – Mila