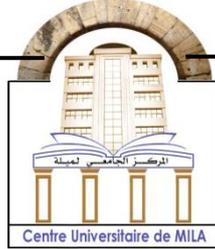


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

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 :

Identification de nouveaux inhibiteurs de l'alpha glucosidase en tant qu'une stratégie thérapeutique pour traiter le diabète de type 2

Présenté par :

- ATROUZ Bochra
- BAOUTA Omayma
- TABANE Hana

Devant le jury :

BOUKERIA Sabah	(MCA) Centre universitaire de Mila	Présidente
BOUCHERIT Hanane	(MCB) Centre universitaire de Mila	Examinatrice
MERZOUG Amina	(MCA) Centre universitaire de Mila	Promotrice

Année Universitaire : 2022/2023

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

یَرْفَعُ اللّٰهُ الَّذِیْنَ اٰمَنُوْا مِنْكُمْ
وَالَّذِیْنَ اٰتَوْا الْعِلْمَ دَرَجٰتٍ

سورة المجادلة آية ١١



Remerciements

Nous dédions ce travail en premier lieu à notre dieu ALLAH le tout-puissant qui nous a donné la force, la santé, la volonté et le courage d'accomplir ce modeste projet.

Nous remercions notre directrice de mémoire, **MERZOUG Amina**, pour le temps qu'elle a consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche, pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportée, pour ses remarques et ses conseils avisés, pour nous avoir guidés de la meilleure façon qui soit afin de mener à bien ce travail et pour sa très grande gentillesse.

À la Présidente du jury : Madame **BOUKERIA Sabah**, qui nous fait l'honneur d'être parmi le jury d'examen de notre travail.

A notre examinatrice : Madame **BOUCHERIT Hanane**, merci d'avoir accepté l'évaluation de notre manuscrit.

Nous tenons à témoigner nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie
ma remise de diplôme et ma joie

À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie et mon bonheur, ma
lune, maman.

À celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon support
qui était toujours m'encourager, à mon prince papa.

À ma grande sœur Sana qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir
tout au long de mes études.

À mes frères Abdennacer, Abdelsamia, Abdeladim et Abdelmounaim qui étaient
toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

Sans oublier mon trinôme Omayma et Bochra pour leur soutien moral, leur patience et
leur compréhension tout au long de ce projet.

À tous mes amis Foufaa, Manar, Asma et Ikram qui m'ont donné des moments
inoubliables.

À tout ce qui ont participé à ma réussite et a tous qui m'aiment.

Hana

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce travail

À ma très chère mère Souad, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

À mon très cher père Said, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entraine le déroulement de mes études.

À ma chère grand-mère rahimaha Allah.

À mes frères sohib, Slimo et Mouatassef Belleh pour leur encouragement permanent, et leur soutien moral.

À mon fiancé nadir qui m'a soutenue tout au long de mon parcours universitaire.

À mes meilleurs amis : Hadil, Zineb pour leurs amours et leurs soutiens.

À ma famille et mes chers collègues.

À tous mes enseignants durant les années des études.

En fin, je remercie mon trinôme Hana et Omayma, qui a contribué à la réalisation de ce travail.

Bohra

Dédicace

C'est avec profonde et sincère mots, que je dédie ce modeste travail

De fin d'études :

A Mes Très Chers Parents Roubila et Abdlelhamid

Source constante de confiance, d'amour, d'encouragement, de soutien et d'affection. Aucune dédicace n'est assez forte, aucun mot n'est assez éloquent pour exprimer ce que je ressens. Mais à travers ce modeste travail, je voudrais vous dire mon estime et mon respect inégale, ma gratitude infinie :

"Puisse dieu vous accorde longue vie, santé, bonheur et sérénité"

A Ma très chère sœur adorable Amel

Pour ta bonté, ton respect, ta gentillesse, ta confiance, ton soutien, ta compréhension, ton amour, tes conseils et encouragements.

A mon très chère frère Walid

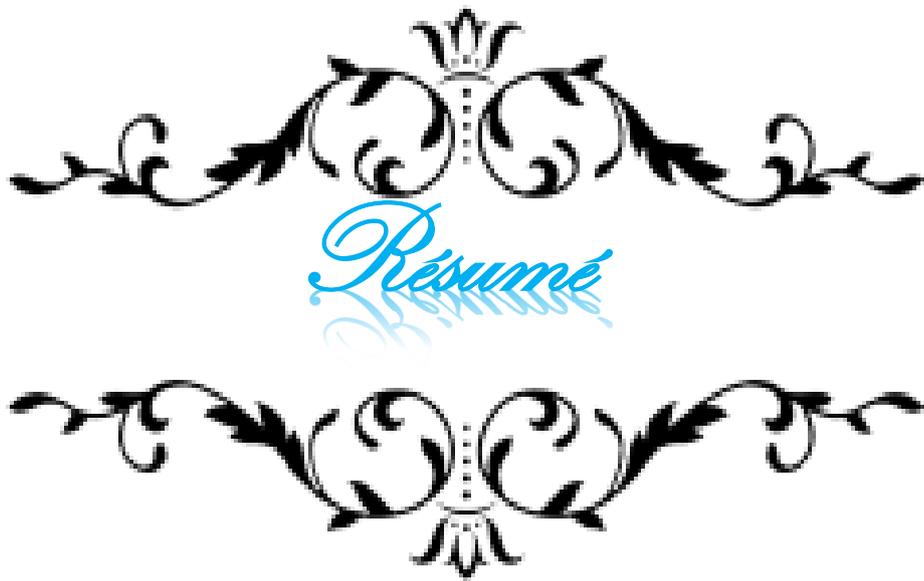
Source de joie, d'innocence, d'énergie et d'espoir dans ma vie.

A Ma Chère Belle Famille et Mes Beaux Parents

A Tous Mes Proches amies, merci pour vos prières et votre soutien tant moral que matériel .

A mes chères collègues Bochra et Hana pour son soutien, ses persévérances, ses patiences et ses compréhensions tout au long de ce travail.

Omayma



Identification de nouveaux inhibiteurs de l'alpha glucosidase en tant qu'une stratégie thérapeutique pour traiter le diabète de type 2

Résumé

Le diabète non insulino-dépendant est une maladie métabolique caractérisée par un excès chronique de sucre dans le sang. L'alpha-glucosidase est une enzyme clé dans la digestion des glucides, ce qui le fait une cible thérapeutique importante dans le traitement de cette pathologie.

Focalisés sur le traitement du diabète de type 2, nous avons utilisé la méthode d'arrimage moléculaire avec le programme Surflex-dock pour identifier de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'alpha-glucosidase. Avec un coefficient de corrélation entre l'affinité de 44 complexes différents simulée par docking moléculaire et l'activité biologique déterminée *in vitro* égal à 0.71, la performance du programme Surflex-dock est avérée.

Le criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques de l'inhibiteur de référence, l'acarbose, fait ressortir le composé CID_10815496 comme un nouvel inhibiteur potentiel de l'alpha-glucosidase avec une affinité supérieur à celle de l'acarbose, tous deux ayant des interactions comparables avec le site actif de l'enzyme et des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques intéressantes.

Cette étude a fait ressortir le composé CID_10815496 comme un nouvel agent antidiabétique.

Mots clés : Diabète de type 2, alpha-glucosidase, docking moléculaire, Surflex-dock, agent antidiabétique.

Identification of new alpha glucosidase inhibitors as a therapeutic strategy to treat type 2 diabetes

Abstract

Non-insulin-dependent diabetes is a metabolic disease characterized by a chronic excess of sugar in the blood. Alpha-glucosidase is a key enzyme in the digestion of carbohydrates, making it an important therapeutic target in the treatment of this pathology.

Focused on treating type 2 diabetes, we used molecular docking with the Surflex-dock program to identify new and more potent inhibitors of alpha-glucosidase. With a correlation coefficient between the affinity of 44 different complexes simulated by molecular docking and the biological activity determined in vitro equal to 0.71, the performance of the Surflex-dock program is proven.

The virtual screening of a collection of chemical similars to the reference drug, acarbose, highlights compound CID_10815496 as a potential novel alpha-glucosidase inhibitor with higher affinity than acarbose, both having comparable interaction with the binding site of the enzyme with interesting physical chemistry and pharmacokinetic properties.

This study highlighted the compound CID_10815496 as novel antidiabetic agent.

Keywords: Type 2 diabetes, molecular docking, Surflex-dock, alpha-glucosidase, antidiabetic agent

تحديد مثبطات ألفا جلوكوزيداز جديدة كإستراتيجية علاجية لمرض السكري من النوع 2

الملخص

مرض السكري غير المعتمد على الأنسولين هو مرض أیضي يتميز بزيادة مزمنة في مستوى السكر في الدم. الألفا-جلوكوزيداز هو إنزيم رئيسي في هضم السكريات، مما يجعله هدف علاجي مهم في علاج هذا المرض.

مع التركيز على علاج السكري من النوع 2، استخدمنا طريقة الرص الجزيئي مع برنامج-Surflex-dock لتحديد مثبطات جديدة أكثر فعالية للألفا-جلوكوزيداز. مع معامل الارتباط بين تفاعل 44 مركبا مختلفًا محاكا بالرص الجزيئي مع النشاط الحيوي المحدد في المختبر يساوي 0.71 تم اثبات فعالية برنامج-Surflex-dock.

التحري الافتراضي لمجموعة من نظائر المثبط المرجعي و هو acarbose سمح لنا بالحصول على المركب CID_10815496 كمثبط نظري جديد للألفا-جلوكوزيداز مع قيمة ترابط تساوي $9.72 M^{-1}$. الاثنان يملكان تفاعلات متشابهة مع الانزيم و خصائص فيزيائية وكيميائية ودوائية مثيرة للاهتمام. سلطت هذه الدراسة الضوء على المركب CID_10815496 كعامل جديد مضاد لمرض السكر.

الكلمات المفتاحية: السكري من النوع 2، الألفا-جلوكوزيداز، الرص الجزيئي، برنامج-Surflex-dock عامل مضاد للسكري

Table des matières

Résumé	
Liste des abréviations	
Tableau des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

CHAPITRE 01 : Généralité sur le diabète de type 2

1	Définition de diabète.....	3
2	Types de diabète.....	3
2.1	Le diabète de type 1.....	3
2.2	Le diabète de type 2.....	4
2.3	Le diabète gestationnel	4
3	Epidémiologie.....	5
4	Physiopathologie du diabète type 2.....	5
5	Les symptômes	6
6	Diagnostic et suivi	6
6.1	La glycémie	6
6.2	L'hémoglobine glyquée.....	7
7	Traitement de diabète type II.....	7
7.1	Traitement non médicamenteux	8
7.1.1	Les mesures diététiques	8
7.1.2	L'activité physique	8
7.2	Traitement médicamenteux.....	8
7.2.1	Les insulino-sécréteurs	8
7.2.2	Les biguanides	9
7.2.3	Les inhibiteurs des alpha-glucosidases.....	9

7.2.4	Les thiazolidinediones	10
7.2.5	L'insulinothérapie	10

CHAPITRE 02 : L'alpha-glucosidase

1	Les alpha glucosidases.....	11
2	Structure de l'alpha-glucosidase	11
2.1	Site actif.....	12
3	Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase.....	13
3.1	Mode d'action	13
3.2	Le miglitol	13
3.3	Le voglibose.....	14
3.4	L'acarbose.....	14

CHAPITRE 03 : Le docking moléculaire

1	Généralité	16
2	Définition du docking moléculaire	16
3	Principe de docking moléculaire	17
4	Les étapes de docking	18
5	Les applications.....	19
6	Les outils du docking moléculaire.....	20
6.1	Ligand.....	20
6.2	Récepteur	21
7	Les programmes de docking moléculaire	22

8	Surflex-dock	22
----------	---------------------------	-----------

CHAPITRE 04 : Matériel et méthodes

1	Matériel.....	23
1.1	Micro-ordinateurs	23
1.2	Banques des données.....	23
1.2.1	La <i>Protein Data Bank</i>	23
1.2.2	PubChem	24
1.3	Les programmes	25
1.3.1	Surflex-dock	25
1.3.2	Open Babel	25
1.3.3	ViewerLite 4.2.....	25
1.4	Les serveurs	26
1.4.1	SwissADME.....	26
1.4.2	PreADMET.....	27
2	Méthodes.....	28
2.1	Test de fiabilité de programme Surflex-dock	28
2.2	Criblage virtuel.....	28
2.2.1	Préparation de l'enzyme.....	28
2.2.2	Préparation de ligands	29
2.2.3	Docking par Surflex-dock	29
2.3	Prédiction ADMET	30
2.3.1	Propriétés physicochimiques	30
2.3.2	Propriétés pharmacocinétiques	31
2.3.3	Tests de toxicité.....	32

CHAPITRE 05 : Résultats et discussion

1.	Test de fiabilité.....	34
2.	Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de l'alpha-glucosidase par diverses molécules	37
2.1	Choix de code.....	37

2.2	Choix des inhibiteurs	38
2.3	L'étude d'interaction alpha glucosidase - acarbose.....	40
3	Proposition des nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase	41
3.1	L'analyse visuelle du complexe alpha-glucosidase-composé CID_10815496.....	45
4	Les propriétés ADME-Tox	46
4.1	Les propriétés physicochimiques	46
4.2	Propriétés pharmacocinétiques.....	47
4.3	Toxicité	48
	Conclusion.....	49
	Références bibliographiques	

Liste des abréviations

3D : Tridimensionnel.

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

BBB : *Blood–brain barrier*

BHE : Barrière hémato-encéphalique.

CYP : Enzymes hépatiques Cytochrome P450.

DNID: Diabète non insulino-dépendant.

FID: Fédération Internationale du Diabète.

GI absorption : Absorption gastro-intestinale

HbA1c : Hémoglobine glyquée.

hERG: *Human ether-a-go-go-related gene*.

HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale

IC50 : Concentration inhibitrice médiane.

IUBMB : Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire.

NCBI : *National Center for Biotechnology Information*.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PDB : *Protein Data Bank*.

PM : Poids moléculaire.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

RMSD : Ecart quadratique moyen.

SNC : Système nerveux central.

Test d'AMES : Test de mutation bactérienne reverse.

Tableau des Figures

N°	Titre	Page
Figure I.1	Diabète de type II	4
Figure I.2	Principe du diabète de type II	6
Figure I.3	Mécanisme d'action de l'insuline	9
Figure II.1	Représentation en ruban de la structure tridimensionnelle résolue par cristallographie aux rayons X de l'alpha-glucosidase d' <i>Homo sapiens</i>	12
Figure II.2	La structure chimique du miglitol	14
Figure II.3	La structure chimique du voglibose	14
Figure II.4	La structure chimique de l'acarbose	15
FigureIII.1	Représentation schématique du docking de deux molécules (protéine-ligand) pour produire un complexe	17
FigureIII.2	Principe générale d'un programme de docking	18
FigureIII.3	Protocole générale de docking moléculaire	19
FigureIII.4	Les étapes typiques d'un docking	20
Figure IV.1	Site de la <i>Protein Data Bank</i>	24
Figure IV.2	Site du PubChem	24
Figure IV.3	Interface du programme OpenBabel	25
Figure IV.4	Interface du logiciel ViewerLite	26
Figure IV.5	Page d'accueil du serveur SwissADME	27
Figure IV.6	Page d'accueil du serveur PreADMET	27
Figure IV.7	Structure 3D du complexe 3W37	28

Figure IV.8	Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le programme Surflex-dock.	30
Figure V.1	Corrélation entre l'activité biologique (Log IC50) des inhibiteurs de l'alpha-glucosidase et leurs affinités données par Surflex-dock	36
Figure V.2	Docking de l'acarbose dans le site actif de l'alpha-glucosidase	40
Figure V.3	Structures chimique des meilleurs similaires de l'acarbose	44
Figure V.4	Mode d'interaction du composé CID_10815496 dans le site actif de l'alpha-glucosidase	45

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau III.1	Principaux programmes de docking moléculaire	22
Tableau IV.1	Les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés	23
Tableau V.1	Liste de 44 complexes utilisés pour réaliser l'analyse par régression linéaire	34
Tableau V.2	Caractéristiques du code choisi	37
Tableau V.3	Les résultats de docking des trois meilleurs inhibiteurs de l'alpha-glucosidase	38
Tableau V.4	Les valeurs d'affinité de 147 acarbose dérivatives	41
Tableau V.5	Propriétés physicochimiques du composé CID_10815496 et d'acarbose	46
Tableau V.6	Propriétés pharmacocinétiques du composé proposé CID_10815496 et d'acarbose	47
Tableau V.7	Tests de toxicité pour l'acarbose et le similaire CID_10815496	48



Introduction

Le diabète sucré est une affection chronique due soit à une insuffisance génétique ou acquise de la production d'insuline par le pancréas, soit au fait que cette insuline n'est pas assez active. Cette insuffisance provoque une augmentation de la glycémie (concentration de glucose dans le sang) qui conduit à son tour à des lésions affectant plusieurs appareils ou systèmes, en particulier les vaisseaux et les nerfs [1].

Le diabète de type 2, diabète non insulino-dépendant, est la forme la plus répandue des diabètes (environ 90% des diabètes connus) [2]. Il touche généralement les adultes mais est de plus en plus observé chez des enfants et des adolescents. Chez les personnes atteintes de diabète de type 2, l'organisme est capable de produire de l'insuline, mais soit la quantité produite est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang [3].

La prise en charge du diabète de type 2 ne vise pas à guérir de la maladie mais à normaliser le taux de sucre dans le sang pour éviter les complications. Pour y parvenir, il s'agit d'abord de modifier le mode de vie (alimentation et activité physique) et de prendre, si cela ne suffit pas, un traitement médicamenteux prescrit par le médecin [4].

Il existe plusieurs familles de médicaments antidiabétiques prescrits habituellement dans le traitement du diabète de type 2. Ils diffèrent par leur mode d'action: les sulfamides [5], les biguanides (metformine) [6], les gliptines [7], et les thiazolidinediones [8]. En conséquence, plusieurs enzymes sont apparues comme cibles prometteuses, notamment l'alpha-glucosidase, qui s'avère comme une cible thérapeutique potentielle pour le traitement du diabète de type 2.

Les alpha-glucosidases sont des enzymes du tube digestif qui hydrolysent les glucides en glucose. Une stratégie qui a été développée pour traiter le diabète de type 2 est l'inhibition de l'activité des alpha-glucosidases à l'aide de médicaments synthétiques. Cependant, ces inhibiteurs sont généralement associés à des effets secondaires gastro-intestinaux [9].

Dans le but de chercher des traitements de diabète type 2, des études de criblage *in silico* et de simulation moléculaire ont été réalisées pour identifier des nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase.

Dans le passé, le processus de développement d'un nouveau médicament était long et coûteux. De nos jours, avec le développement de l'outil informatique, de la bio-informatique et particulièrement du docking moléculaire, la recherche devient plus rapide et moins

onéreuse. Le docking moléculaire se révèle être un outil de grande utilité pour prédire la position la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur [10]. Nous l'avons utilisé afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de notre cible, l'alpha-glucosidase.

Notre mémoire comprend deux grandes parties :

1. Une partie bibliographique qui comprend trois chapitres dont :
 - ❖ Le premier chapitre porte sur le diabète type 2.
 - ❖ Le deuxième donne un aperçu sur notre cible, l'alpha-glucosidase et ses inhibiteurs.
 - ❖ Le troisième chapitre décrit le docking moléculaire et son principe.

2. Une partie pratique formée de deux chapitres dont :
 - ❖ Le premier chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.
 - ❖ Le second expose les résultats et leurs interprétations suivis d'une conclusion qui résume le travail et des perspectives.



Chapitre 1: Généralité sur le diabète type 2



1 Définition de diabète

Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline, ou des deux. L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut, le taux de sucre augmente dans le sang, or l'organisme est très sensible à ces variations : la chronicité de l'hyperglycémie est responsable de complications à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux [11]. Le diabète est défini comme une glycémie à jeun $> 1,26$ g/L ou dans certains cas > 2 g/L quel que soit l'heure du prélèvement en présence de symptômes cliniques [12].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), cette maladie constitue un problème de santé publique majeur et malgré les efforts de prévention, la pandémie se poursuit [13].

2 Types de diabète

La plupart des cas de diabète se répartissent en deux grandes catégories : le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Les autres types de diabète sont le diabète gestationnel, défini comme une intolérance au glucose qui débute ou est découverte pendant la grossesse [14], ou d'autres types plus spécifiques parce qu'ils sont associés à : des anomalies génétiques des cellules β pancréatiques, des anomalies génétiques de la fonction insulinaire, des maladies du pancréas exocrine, des endocrinopathies, secondaires à des médicaments ou à des produits chimiques, secondaires à une infection, des formes rares de diabète à médiation immunitaire ou de diabète associé à des syndromes génétiques [11].

2.1 Le diabète de type 1

Le diabète insulino-dépendant ou diabète type 1 est l'endocrinopathie la plus fréquente chez l'enfant. Elle constitue une pathologie chronique à répercussions lourdes sur la qualité de vie de l'enfant et de sa famille. Il s'agit d'une affection auto-immune qui est responsable de la destruction des cellules β du Langerhans, l'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste que 10 à 20% des cellules β fonctionnelles [15].

2.2 Le diabète de type 2

Le diabète non insulino-dépendant (DNID) est la forme la plus répandue des diabètes, (environ 90% des diabètes connus) [2]. Il touche généralement les adultes mais est de plus en plus observé chez des enfants et des adolescents. Chez les personnes atteintes de diabète de type 2, l'organisme est capable de produire de l'insuline, mais soit la quantité produite est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang [3]. Son apparition est lente : il peut évoluer avec un degré d'hyperglycémie suffisant pour engendrer des atteintes organiques et fonctionnelles dans de nombreux tissus mais sans symptôme clinique et donc sans diagnostic pendant plusieurs années [16]. En effet, la prévalence de cette pathologie augmente parallèlement au vieillissement des populations, à l'urbanisation, à la sédentarisation et au développement de l'obésité.

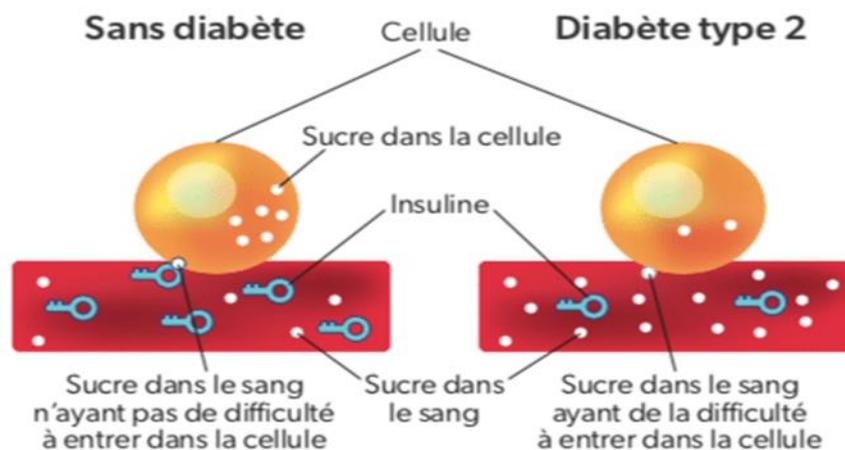


Figure I.1 : Diabète de type II [17].

2.3 Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est défini par l'OMS comme une hyperglycémie de divers degrés de gravité, diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse, indépendamment de la cause, de la durée et de l'évolution après la grossesse. En effet cette définition comprend plusieurs unités :

- Une anomalie de la tolérance aux glucides qui s'est effectivement manifestée pendant la grossesse, généralement au deuxième stade, et a disparu au moins temporairement dans la période post-partum;

- Diabète vrai, généralement de type 2 mais peut être de type 1, préexistant et découvert pendant la grossesse. Ce diabète se manifeste par des changements métaboliques liés à la grossesse et persiste après l'accouchement.

La première situation est évidemment la plus courante et c'est à cette définition qu'il est fait référence quand on parle de diabète gestationnel [18,19].

3 Epidémiologie

Selon la Fédération Internationale du Diabète (FID), dans le monde, 425 millions de personnes vivaient avec le diabète en 2017 et 629 millions de personnes en seront atteintes en 2045 [20].

À l'instar de plusieurs pays en développement, l'Algérie est en phase de transition épidémiologique, la prévalence du DNID de cette dernière décennie représente 8,2 % de la population, équivalent à 3 millions de diabétiques [2].

4 Physiopathologie du diabète type 2

Le développement du diabète de type 2 se fait très progressivement et insidieusement sur de nombreuses années en deux étapes :

Tout d'abord, les cellules de l'organisme deviennent résistantes à l'insuline. Cette résistance est normale avec l'âge mais elle est aggravée par l'excès de tissus gras en cas de surpoids et d'obésité. À ce stade, on parle d'insulino-résistance, l'organisme tente alors de s'adapter et, il augmente la production d'insuline par le pancréas. On parle alors d'hyperinsulinisme ; après plusieurs années (10 à 20 ans), le pancréas s'épuise et ne peut plus sécréter suffisamment d'insuline pour réguler le taux de sucre dans le sang ; c'est le stade d'insulino-déficience [21].

Ces deux grands mécanismes en cause, insulino-résistance et insulino-déficience, vont continuer à évoluer tout au long de la vie du patient.

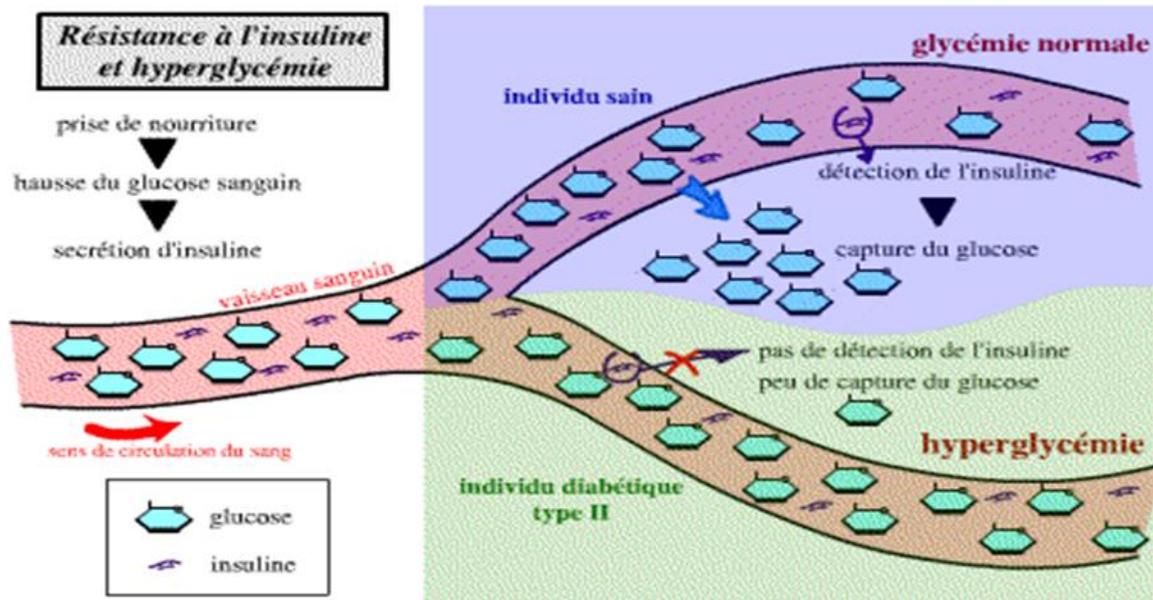


Figure I.2 : Principe du diabète de type II [22].

5 Les symptômes

Les symptômes classiques de diabète de type 2 sont une polyurie, une polydipsie et une perte de poids [23]. Ils peuvent être même inexistantes au début et le diagnostic ne sera posé que plusieurs années après l'apparition de la maladie.

Les patients peuvent également être en surpoids ou obèses avec une répartition de l'obésité abdominale. La grande majorité des patients atteints de DNID ont un syndrome métabolique, une hyperglycémie, une hypertension et une dyslipidémie athérosclérotique (taux élevés de lipides sanguins et/ou faible cholestérol HDL) [24].

6 Diagnostic et suivi

6.1 La glycémie

Le diagnostic du diabète repose sur la mesure de la glycémie (taux de sucre dans le sang), trois méthodes sont possibles, et en l'absence d'hyperglycémie franche, chacune doit être confirmée un jour différent en répétant l'une de ces trois méthodes. Un patient est considéré comme diabétique dans les situations suivantes :

- Glycémie à jeun (pas d'apport calorique depuis au moins 8 heures) supérieure ou égale à 126 mg/dL ou 7 mmol/L.

- Glycémie supérieure ou égale à 200 mg/dL ou 11,1 mmol/L à tout moment de la journée en présence de signes cliniques d'hyperglycémie.
- Glycémie HGPO sur 2 heures (hyperglycémie induite par voie orale telle que recommandée par l'OMS en utilisant 75 g de charge de glucose anhydre par voie orale dans l'eau) supérieure ou égale à 200 mg/dL ou 11,1 mmol/L.

Les taux de glycémie normaux sont inférieurs à 100 mg/dL à jeun et inférieurs à 140 mg/dL au cours de la deuxième heure HGPO. Il existe également un groupe intermédiaire de personnes dont la glycémie, bien qu'elle ne réponde pas aux critères diagnostiques du diabète, est trop élevée pour être considérée comme normale :

- Si la glycémie à jeun se situe entre 100 et 125 mg/dL (ou 5,6 et 6,9 mmol/L), on parle alors de glycémie à jeun anormale.
- Si la glycémie se situe entre 140 et 199 mg/dL (ou 7,8 et 11,1 mmol/L) au cours de la deuxième heure de l'HGPO, on parle alors d'une altération de la tolérance au glucose [25].

6.2 L'hémoglobine glyquée

L'hémoglobine glyquée résulte de la fixation non enzymatique de glucose, ou d'autres oses simples, sur les fonctions amines de la globine. Sa fraction prépondérante, l'hémoglobine A1c (HbA1c), représente chez le sujet sain de 4 % à 6 % de l'hémoglobine totale environ. La formation de l'hémoglobine glyquée est augmentée chez le patient diabétique mal équilibré. Le taux d'HbA1c représente un index rétrospectif cumulatif de l'équilibre glycémique des deux mois qui précèdent le prélèvement, et est corrélé à l'apparition des complications dégénératives à long terme de la maladie. L'HbA1c est considérée comme le paramètre de référence de suivi du patient diabétique. L'HbA1c doit être dosée par une méthode reliée à la méthode de référence internationale de *l'International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, et exprimée à la fois en pourcentage de l'hémoglobine totale et en mmol HbA1c/mol Hb [26].

7 Traitement de diabète type II

Le traitement du diabète s'avère le plus souvent complexe et implique des modifications hygiéno-diététiques visant à optimiser l'apport nutritionnel et à majorer l'activité physique ainsi que la mise en route de traitements pharmacologiques, antidiabétiques oraux et insuline [27].

7.1 Traitement non médicamenteux

7.1.1 Les mesures diététiques

La grande majorité des personnes atteintes de diabète de type 2 sont en surpoids ou obèses. Par conséquent, un régime hypocalorique est recommandé. Une perte de poids d'environ 5 à 10 % permet de mieux contrôler la glycémie et de passer parfois des mois voire des années sans médicament. L'objectif de perte de poids est de 2 à 4 kg/mois. Cela permet une diminution progressive et soutenue de la glycémie au fil du temps [28].

Le patient doit éviter les aliments hypercaloriques et des aliments contenant des graisses saturées (qui augmentent le risque de maladies cardiovasculaires) comme le beurre, le saindoux, la graisse de canard ou d'oie, la crème fraîche, la margarine. Les huiles d'olive ou de canola sont préférées [28].

Un diabétique n'est pas obligé d'éviter complètement le sucre ou les aliments sucrés, mais ils sont souvent riches en calories et ne suffisent pas à satisfaire la faim. A l'inverse, il est recommandé de manger des féculents ou du pain à chaque repas, en privilégiant les légumineuses et les céréales complètes. Les fruits et légumes sont recommandés, tout comme les produits laitiers et les viandes maigres (par exemple la volaille) ou le poisson [28].

7.1.2 L'activité physique

Associée à des mesures diététiques et, si nécessaire, à un traitement médicamenteux, elle fait partie intégrante du traitement. Des études montrent que l'exercice améliore la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline (permettant un meilleur contrôle glycémique) et aide également à corriger les facteurs de risque associés (hypertension, dyslipidémie). Elle doit être régulière, d'intensité modérée et de durée suffisante pour permettre une bonne adhérence. Une activité physique telle que marcher pendant 30 minutes 3 fois par semaine est suffisante [28].

7.2 Traitement médicamenteux

7.2.1 Les insulino-sécréteurs

Les médicaments insulino-sécrétants (sulfamides, hypoglycémiantes ou sulfonylurées, et plus récemment glinides) : agissent exclusivement sur les cellules bêta du pancréas pour stimuler la sécrétion d'insuline et restaurer au moins partiellement le pic initial de sécrétion d'insuline, en renforçant les effets des nutriments sur la sécrétion d'insuline et d'autres hormones impliquées dans la sécrétion d'insuline [29].

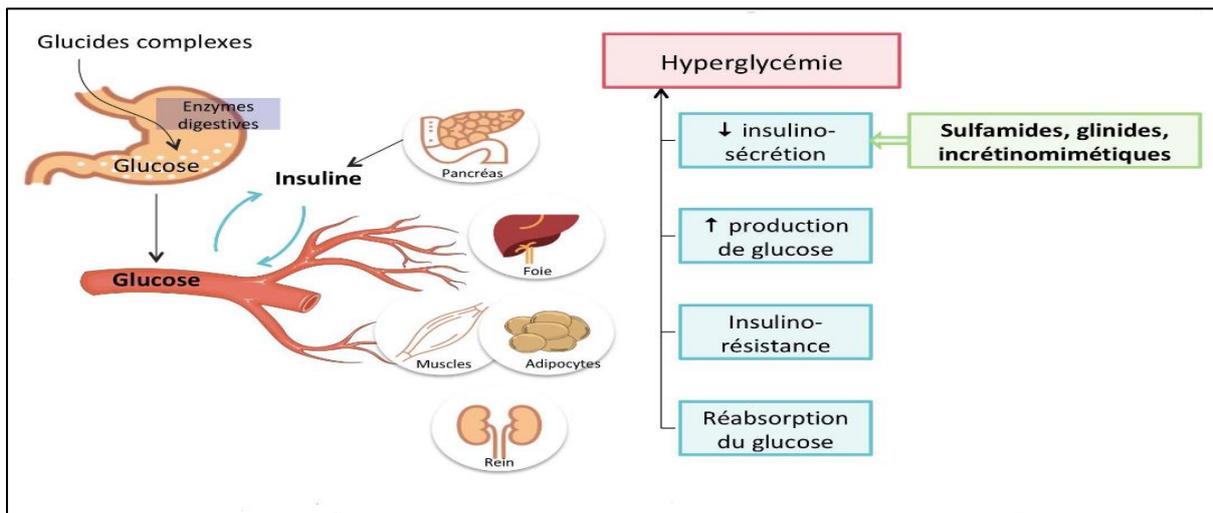


Figure I.3 : Mécanisme d'action de l'insuline [30].

7.2.2 Les biguanides

Aujourd'hui, la metformine est le seul membre de cette famille qui n'a aucun effet sur la sécrétion d'insuline. En particulier, il inhibe la production de glucose dans le foie des diabétiques de type 2, son effet a été comparé à la réduction de la résistance à l'insuline du foie [6].

7.2.3 Les inhibiteurs des alpha-glucosidases

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase bloquent l'absorption des glucides de l'intestin grêle. Il inhibe de manière compétitive les enzymes qui convertissent les glucides complexes non absorbables en glucides simples absorbables [7].

Cette classe de médicaments est utilisée pour traiter le diabète de type 2 seule ou avec d'autres médicaments antidiabétiques. Elle peut également être utilisée chez les patients présentant une altération de la tolérance au glucose et pour retarder l'apparition du diabète de type 2 chez ces patients. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases sont particulièrement utiles chez les patients qui présentent un risque de développer une hypoglycémie ou une acidose lactique et ne sont donc pas des candidats appropriés pour d'autres médicaments antidiabétiques tels que les sulfonurées et la metformine [31-34].

C'est particulièrement cette classe d'antidiabétiques qui nous intéresse dans la présente étude.

7.2.4 Les thiazolidinediones

Les thiazolidinediones constituent une nouvelle classe d'antidiabétiques oraux qui améliorent la sensibilité périphérique à l'insuline et réduisent la glycémie, la lipémie et l'insulinémie chez le patient diabétique de type 2, Elles ont aussi une influence sur la fonction des cellules β pancréatiques, sans doute en intervenant dans le phénomène de lipotoxicité qu'exercent les acides gras libres sur les îlots. Le traitement par les thiazolidinediones entraîne de plus une baisse significative des taux de triglycérides et des acides gras libres plasmatiques [8].

Les thiazolidinediones n'ont pas d'effet immédiat et un traitement d'une à trois semaines est nécessaire pour observer la diminution de la glycémie [35].

7.2.5 L'insulinothérapie

L'insulinothérapie pour le diabète de type 2 est un dernier recours pour le contrôle glycémique. L'évolution naturelle de la maladie conduit à la survenue d'une insulinopénie au bout de quelques années. Les médicaments sécrétant de l'insuline ne sont donc plus utiles. L'injection d'insuline est alors le seul moyen de contrôler la glycémie. L'insuline réduit le risque à long terme de développer des complications vasculaires, cardiaques ou neurologiques [6].



Chapitre 2: Alpha glucosidase



1. Les alpha glucosidases

Les glycosidases ou glycoside-hydrolases sont les enzymes qui catalysent l'hydrolyse sélective des liaisons glycosidiques dans les polysaccharides et les glycoconjugués. Elles permettent la libération de molécules non saccharidiques, de monosaccharides ou d'oligosaccharide. Selon la nomenclature établie par l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (IUBMB), les glycosidases font partie de la famille EC 3.2.1., dans laquelle le chiffre 3 correspond aux hydrolases, le chiffre 2 aux glycosylases et le chiffre 1 aux O- et S-glycosidases [36]. L'alpha-glucosidase est responsable de l'hydrolyse de la liaison osidique liant les monomères d'oses. L'affinité de l'enzyme varie selon le nombre de monosaccharides, la position de la liaison osidique et la configuration des groupements hydroxyles dans le substrat [37]. Les alpha-glucosidases (EC 3.2.1.20) sont définies comme des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons alpha 1→4 glucosidiques d'un substrat (comme chez les maltooligosaccharides ou le glycogène par exemple) pour libérer un alpha-D-glucose. Elles peuvent également catalyser des réactions de transglycosylation pour synthétiser des composés alpha-D-glucosylés [38].

Le rôle principal de ces enzymes qui sont présentes dans la bordure en brosse de l'intestin grêle est la digestion des oligosaccharides en monosaccharides [39]. La comparaison des structures des différentes glycosidases montre une variabilité significative dans l'ordre des acides aminés et dans la spécificité de ces enzymes vis-à-vis des glucides [40].

2. Structure de l'alpha-glucosidase

Plusieurs représentants structuraux des alpha-glucosidases ont été déposés dans la base de données *Protein Data Bank* (PDB). Ils sont issus d'organismes appartenant à un règne différent tel que *Saccharolobus solfataricus* (code PDB : 2G3M) chez les Archaea, *Nostoc punctiforme* PCC (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) (domaine A) à la suite duquel se trouve deux domaines en sandwich β (domaine C ou proximal et domaine D ou distal) (FigureII.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 [41]. 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.

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 [41].



Figure II.1 : Représentation en ruban de la structure tridimensionnelle résolue par cristallographie aux rayons X de l'alpha-glucosidase d'*Homo sapiens* [42].

2.1 Site actif

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 [42].

3 Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase

3.1 Mode d'action

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase sont une classe unique de médicaments antidiabétiques, dérivés de bactéries. Ces médicaments oraux sont des inhibiteurs enzymatiques qui n'ont pas de mécanisme d'action centré sur le pancréas. Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase ont été qualifiés de « diamants inexploités » de la diabétologie. L'utilisation de ces antidiabétiques oraux ciblant la physiopathologie dans les premiers stades du diabète de type 2, notamment pour réduire l'hyperglycémie postprandiale et l'hyperinsulinémie, va inévitablement augmenter avec le temps [43].

Les médicaments comme l'acarbose, le voglibose et le miglitol sont des inhibiteurs des alpha-amylases et des alpha-glucosidases. Cette inhibition diminue la quantité du glucose absorbée par l'intestin. Quelques problèmes d'intolérance gastro-intestinale sont considérés comme des effets indésirables de ces agents hypoglycémisants et limitent considérablement leur utilisation [44].

3.2 Le miglitol

Le miglitol, est un inhibiteur oral de l'alpha-glucosidase, il a été utilisé dans la prise en charge du diabète sucré non insulino-dépendant. Le miglitol est un dérivé de la désoxynojirimycine, et est chimiquement connu sous le nom de 3(2R,3R,4R,5S)-1-(2-hydroxyéthyl)-2-(hydroxyméthyl)pipéridine-3,4,5-triol. C'est une poudre blanche à jaune pâle, de poids moléculaire égale à 207,2 g/mol. Sa formule empirique est $C_8H_{17}NO_5$ et sa structure chimique est la suivante [42].

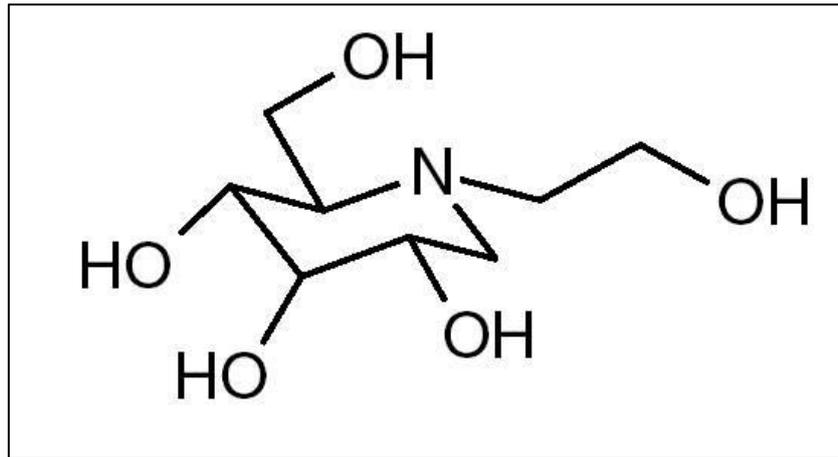


Figure II.2 : La structure chimique du miglitol [45].

3.3 Le voglibose

Le voglibose est un inhibiteur puissant de glycosidases, il a montré une activité antidiabétique. En tant qu'inhibiteur de l'alpha-glucosidase, ce composé exerce son activité dans le tractus gastro-intestinal, il retarde l'absorption des glucides et réduit ainsi les pics de glycémie post-prandiale [46,47,48]. Les effets indésirables les plus fréquents du voglibose ont été la flatulence, la distension abdominale et la diarrhée [49].

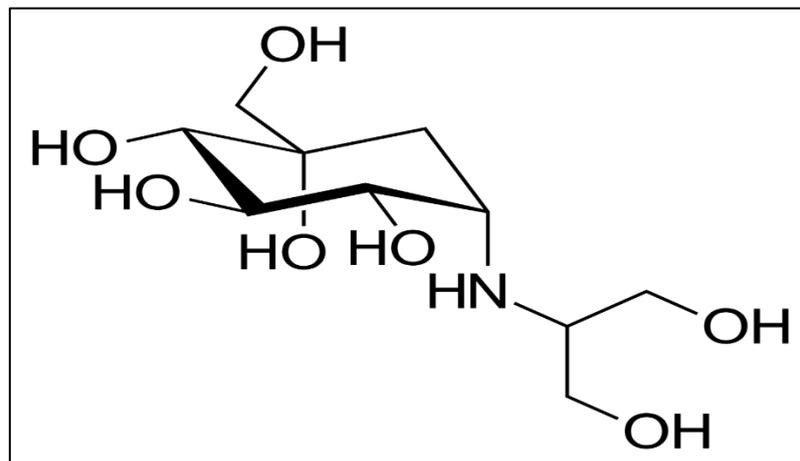


Figure II.3 : La structure chimique du voglibose [50].

3.4 L'acarbose

L'acarbose, un pseudotétracaccharide, est constitué de cyclitol en C7 qui possède une liaison diéthylène avec trois hydroxyles en 4,5 et 6 et une fonction alcool primaire en position alliée sur le carbone 3. Ce cyclitol est fixé en son carbone 1 sur l'azote d'un sucre aminé : le

4,6-désoxy-4-aminoglucose. Une combinaison de cyclitol et de viosamine est appelée : acarviosine, ce dernier est constitué d'une unité de valienamine (carbasucre) attachée à un didésoxyglucose par une liaison N-glycosidique qui imite la liaison O-glycosidique des substrats naturels. C'est une molécule capable d'inhiber des alpha-glucosidases d'origines diverses : bactéries [51] ou mammifères [45], il s'agit d'un composé oligosaccharidique qui agit comme inhibiteur de plusieurs enzymes responsables de la dégradation des glucides complexes dans l'intestin. Il inhibe à la fois l'alpha-amylase et les alpha-glucosidases liées à la membrane – y compris la glucomylase intestinale, la sucrase, la maltase et l'isomaltase – qui sont responsables du métabolisme des amidons complexes et des oligo-, tri- et disharharides en sucres simples absorbables. En inhibant l'activité de ces enzymes, l'acarbose limite l'absorption des glucides alimentaires et l'augmentation postprandiale subséquente des taux de glucose sanguin et d'insuline.

Par conséquent, l'acarbose est utilisé avec un régime alimentaire et d'autres thérapies médicamenteuses pour gérer la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 2 [52].

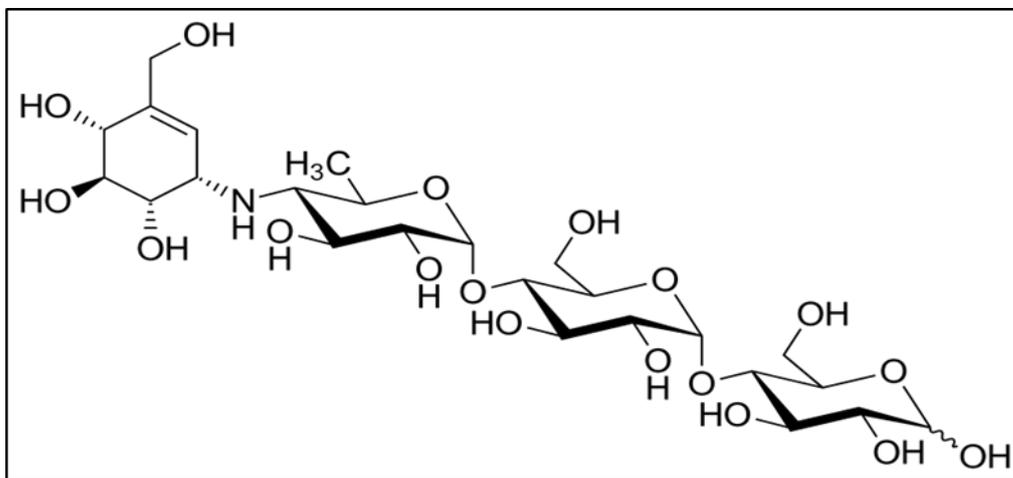


Figure II.4 : La structure chimique de l'acarbose [45].



Chapitre 3: Docking moléculaire



1 Généralité

Auparavant, un nouveau projet de développement de médicament reposait sur une méthode expérimentale, coûteuse et lente. Le criblage *in vitro* à haut débit consiste à tester l'activité d'un très grand nombre de ligands *in vivo* avec une cible thérapeutique spécifique pour identifier des composés promoteurs. Cependant, cette approche s'est rapidement heurtée à de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques et surtout financiers. Cependant, les méthodes d'analyse computationnelle, d'où le nom "bio-informatique", sont devenues une alternative qui permet la recherche de nouvelles molécules biologiques thérapeutiques qui font gagner suffisamment de temps, sont moins coûteuses et permettent de prédire les propriétés recherchées [53].

2 Définition du docking moléculaire

L'amarrage peut être défini comme un ensemble de mécanismes et d'interactions impliqués dans la formation de complexes moléculaires. Il existe plusieurs types d'amarrage, notamment la protéine-ligand, la protéine-protéine, la protéine glucidique et la protéine-ADN. Le docking moléculaire consiste à prédire la ou les structures des complexes qui vont se former entre la molécule active et la protéine.

- ❖ Des algorithmes informatiques génèrent un grand nombre d'orientations possibles pour trouver la « meilleure façon d'insérer » une molécule dans une protéine au site actif.
- ❖ Le programme prend en compte tous les degrés de liberté de la molécule (translation et rotation).
- ❖ Pour chaque possibilité, l'énergie de liaison est calculée en considérant toutes les interactions ligand-récepteur (liaisons de Van der Waals, liaisons Hydrogène, hydrophobicité...).
- ❖ Cela donne un "score" pour estimer la meilleure interaction ligand/récepteur.
- ❖ Le résultat est l'enthalpie libre de liaison [54].

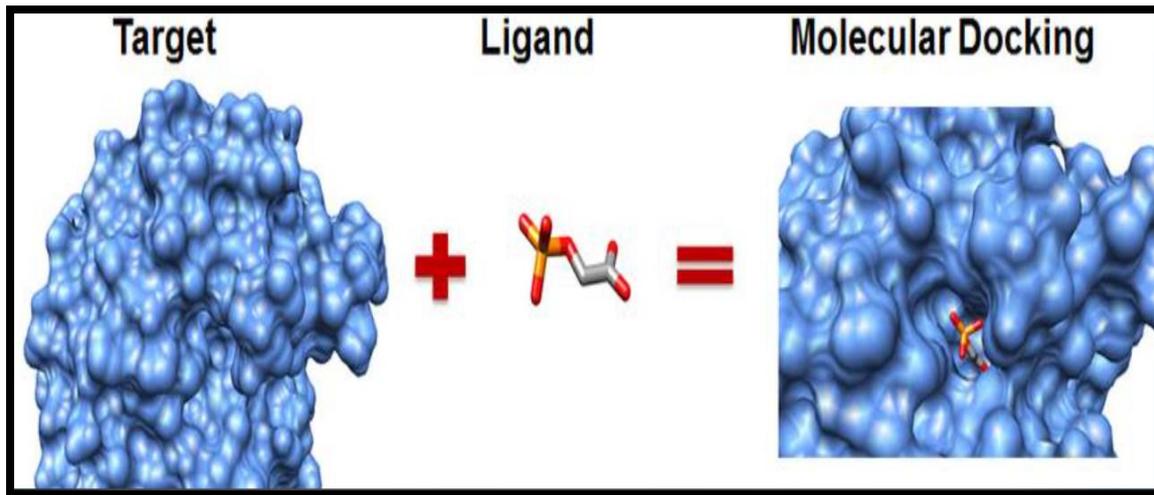


Figure III.1 : Représentation schématique du docking de deux molécules (protéine-ligand) pour produire un complexe [55].

3 Principe de docking moléculaire

Le docking décrit le processus d'amarrage d'une molécule (ligand) dans un espace tridimensionnel (3D) au site actif d'une protéine cible. Deux aspects sont importants : prédire l'affinité du complexe ligand-protéine et prédire la bonne position du ligand dans le site actif de la protéine. La prédiction d'affinité est liée aux différents ligands de la collection, dont certains sont mieux adaptés que d'autres. La prédiction de position est liée à la même molécule de ligand mais dans des orientations différentes. [56,57].

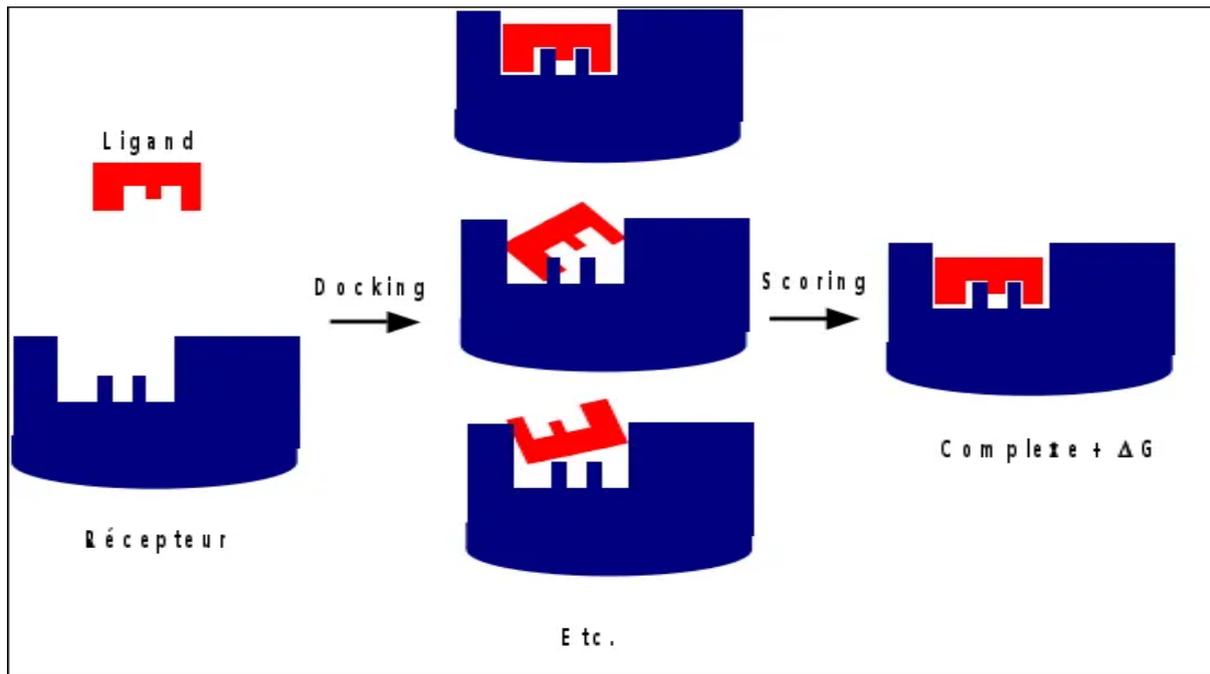


Figure III .2 : Principe générale d'un programme de docking [55].

4 Les étapes de docking

Les étapes de docking comprennent essentiellement deux étapes, le docking proprement dit et le scoring :

❖ La première étape (le docking)

C'est une phase de sélection qui consiste à positionner le ligand dans le site actif de la protéine et à choisir les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne gardant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables.

❖ La deuxième étape (le scoring)

C'est une phase de classification, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [58].

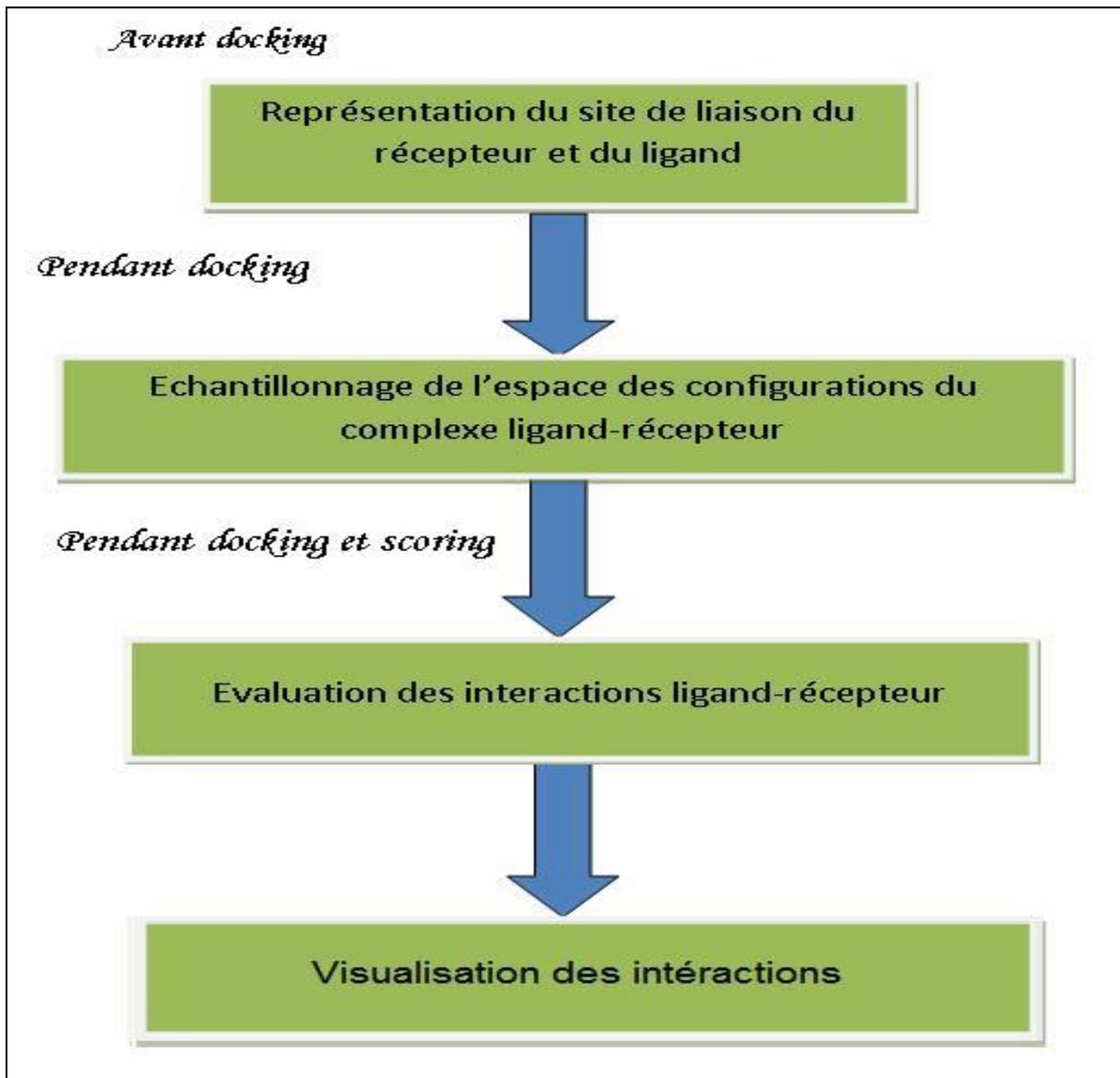


Figure III .3 : Protocole générale de docking moléculaire [59].

5 Les applications

La méthode de docking a deux utilisations principales, La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. 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 et encore de ses propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) [60].

6 Les outils du docking moléculaire

La méthode d'amarrage est un outil très utile en biologie, en pharmacie et en médecine puisque la plupart des médicaments sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible thérapeutique biologique (protéine).

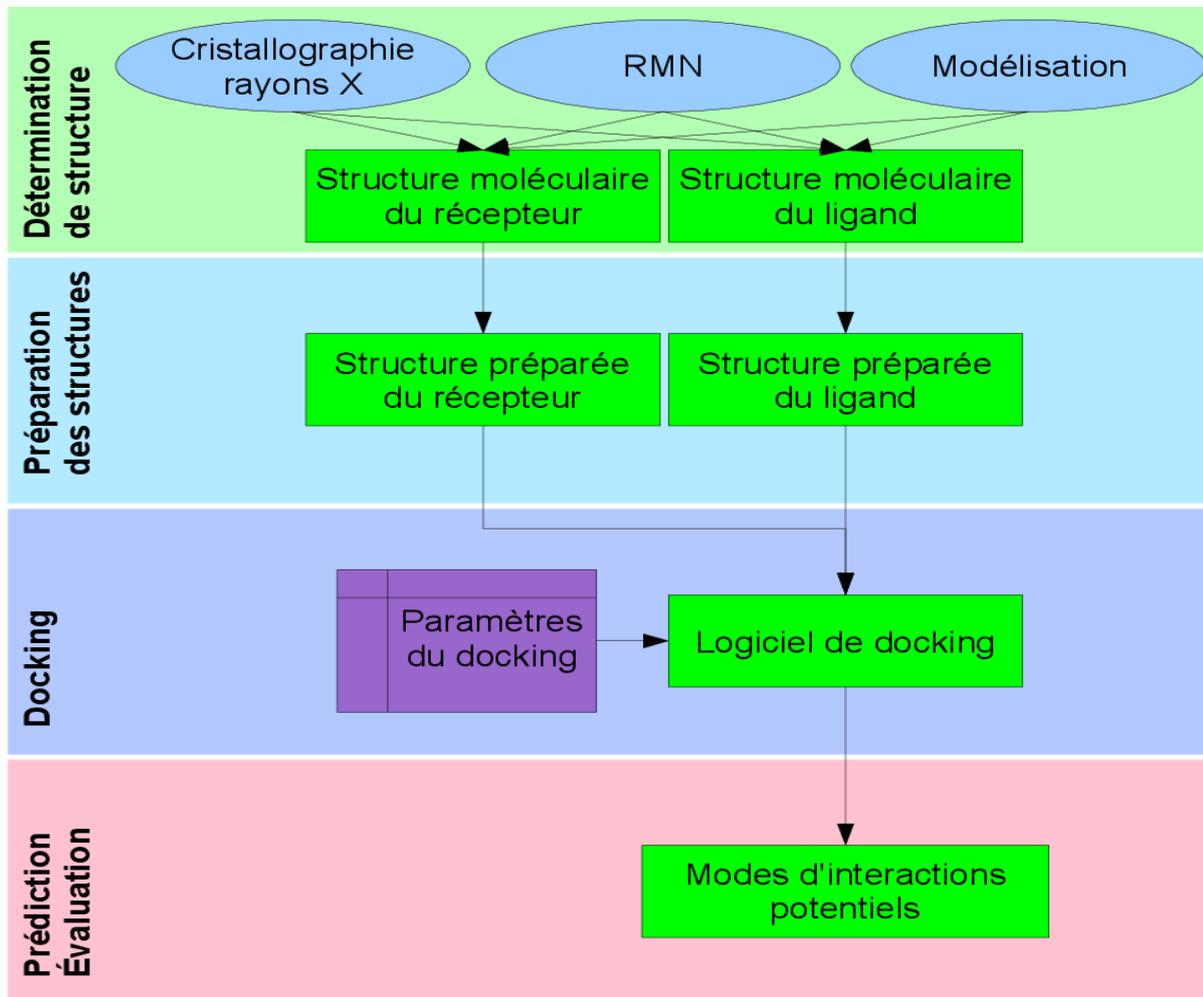


Figure III. 4: Les étapes typiques d'un docking [55].

6.1 Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule qui possède des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le terme ligand est le plus couramment utilisé en chimie de coordination et en chimie organométallique [61]. En biologie, un ligand (du latin *ligandum*, liant) est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule cible, une protéine ou un acide nucléique et remplit généralement des fonctions fonctionnelles : stabilisation structurale, catalyse, modulation de l'activité enzymatique ou transduction. Il définit des molécules qui interagissent avec une protéine de

manière non covalente et spécifique et jouent un rôle dans sa fonction. La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent sa conformation, c'est-à-dire sa structure tridimensionnelle.

L'énergie associée aux interactions intermoléculaires qui se forment entre la protéine et son ligand favorise ce changement conformationnel, appelé conformation induite. Cette modification structurelle peut alors moduler in fine son état fonctionnel et son activité [62]. La structure des ligands est obtenue de deux manières :

- 1 Elle repose sur l'utilisation de ligands issus de la PDB ou de la littérature avec la possibilité de les reproduire par conception, optimisation et stockage des formats différents (pdb, mol, mol2, etc....) par des logiciels d'ingénierie moléculaire comme le Titan ;
- 2 Elle implique l'utilisation d'une collection de molécules virtuelles commerciales constituées de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimiques, dont la plus courante est la banque de données PubChem [61].

6.2 Récepteur

Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN). Les données structurales sont obtenues par cristallographie aux rayons X, microscopie électronique et résonance magnétique nucléaire (RMN) et sont accessibles gratuitement sur internet via des sites Web définis de ses organisations membres dont : RCSB PDB, PDBj, PDBe, etc. En mois de avril 2023, la PDB compte plus de 204104 structures de bio- macromolécules [63].

Les différentes conformations 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 résolue 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 [61].

7 Les programmes de docking moléculaire

Au cours des deux dernières décennies, plus de 60 outils et programmes d'amarrage différents ont été développés, à des fins académiques et commerciales, tels que : MOE, Dock, Glide, FlexX, AutoDock, Gold et Fred [64].

Tableau III.1 : Principaux programmes de docking moléculaire [65].

Nom	Editeur	Site Internet
Auto Dock	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/applications/fred.html
Glide	Schrodinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFlit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

8 Surflex-dock

Parmi les programmes de docking moléculaires nous avons utilisé le programme Surflex-dock pour mener nos recherches. Ce programme est basé sur l'appariement de fragments, en commençant par la construction d'un modèle de site actif appelé protomol. Ce modèle est constitué du volume d'espace disponible et des points d'interaction tels que les sites de liaisons hydrogène, les charges ou les sites lipophiles. Son algorithme est également appelé fragmentation, car la molécule est d'abord scindée en parties rigides et en liaisons flexibles. Ensuite, les parties rigides sont placées en premier et le ligand est reconstruit étape par étape, en examinant différentes conformations au fur et à mesure que des liaisons flexibles se forment, permettant de rechercher rapidement de grandes bibliothèques de composés [66].



Chapitre 4: matériel et méthodes



1 Matériel

1.1 Micro-ordinateurs

Trois micro-ordinateurs ont été utilisés pour exécuter et analyser les résultats obtenus, à savoir les caractéristiques de ces machines sont résumées dans le tableau IV.1.

Tableau IV. 1: Les caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés.

Caractéristiques	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2	Micro-ordinateur 3
La RAM (mémoire)	6.00 GB	8.00 GB	4.00 GB
Type de système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits
Processeur	Intel(R) core(TM) i5-2520M@2.50GHz 2.50GHz	Intel(R) core (TM) I7-4600U CPU @2.10GHz 2.70GHz	AMD E-300 APU with Radeon (TM) HD Graphics 1.30 GHz
Système d'exploitation	Microsoft Windows 10 professionnel	Microsoft Windows 10 professionnel	Microsoft Windows 8.1 professionnel

1.2 Banques des données

1.2.1 La *Protein Data Bank*

Pour l'obtention des récepteurs, on utilise les structures 3D des protéines qui sont accessibles dans la banque de donnée PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>). La *Protein Data Bank* (PDB) est une collection mondiale de données de structures 3D de macromolécules biologiques telles que les protéines [67]. Ces structures sont essentiellement déterminées par spectroscopie RMN, microscopie électronique ou cristallographie des rayons X [68]. Ces données expérimentales sont déposées dans la PDB par des biologistes et biochimistes du monde entier avec un accès public [69].

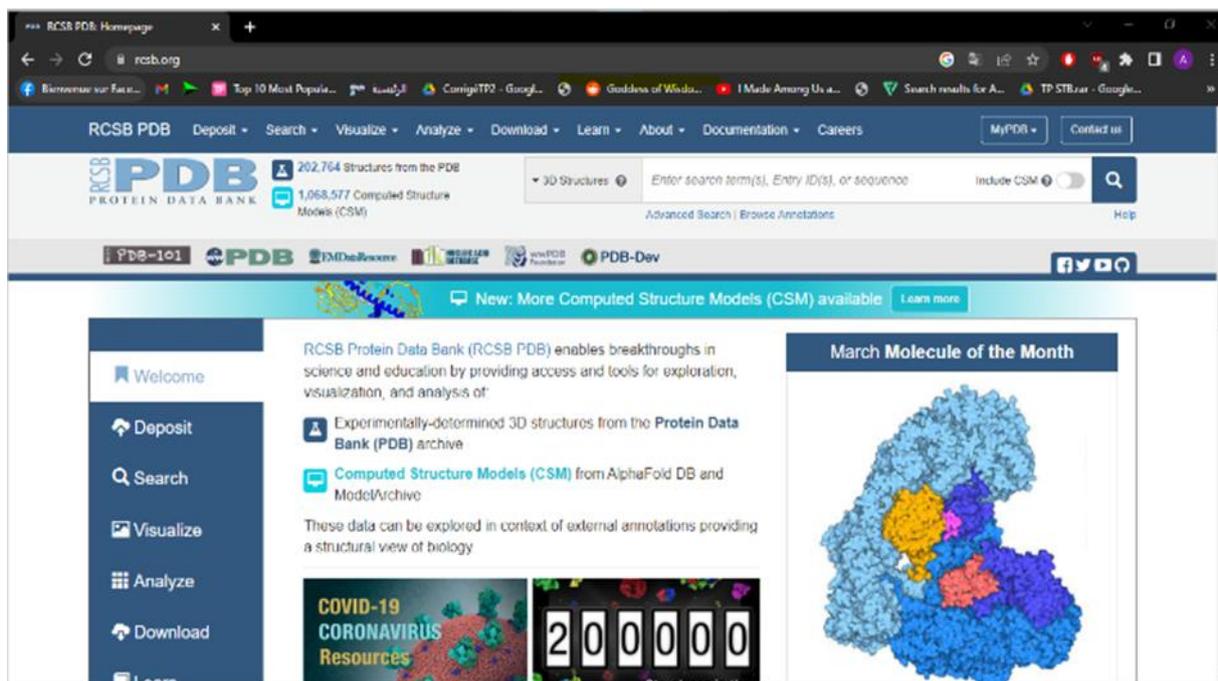


Figure IV.1 : Site de la *Protein Data Bank*.

1.2.2 PubChem

PubChem est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Elle répertorie actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles via Internet : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. [70]. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux de notre ligand de référence.

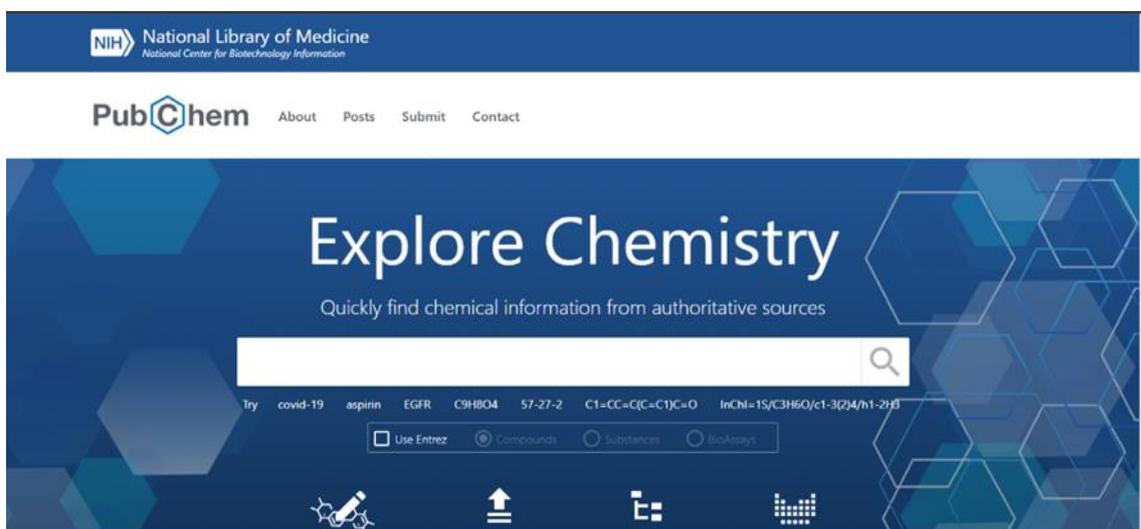


Figure IV.2 : Site du PubChem.

1.3 Les programmes

1.3.1 Surfex-dock

Surflex-dock est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision.

Pour l'utilisateur, l'emploi du logiciel passe par deux étapes :

- Construire la pseudo-molécule qui sera la cible de la recherche de similarité.
- Lancer le processus de docking [71].

1.3.2 Open Babel

Open Babel (version 2.0.2) est un programme libre principalement utilisé dans des applications de chemo-informatique pour la conversion des fichiers de structures chimiques en plusieurs formats (mol2, pdb, SMILES, etc...) [72].

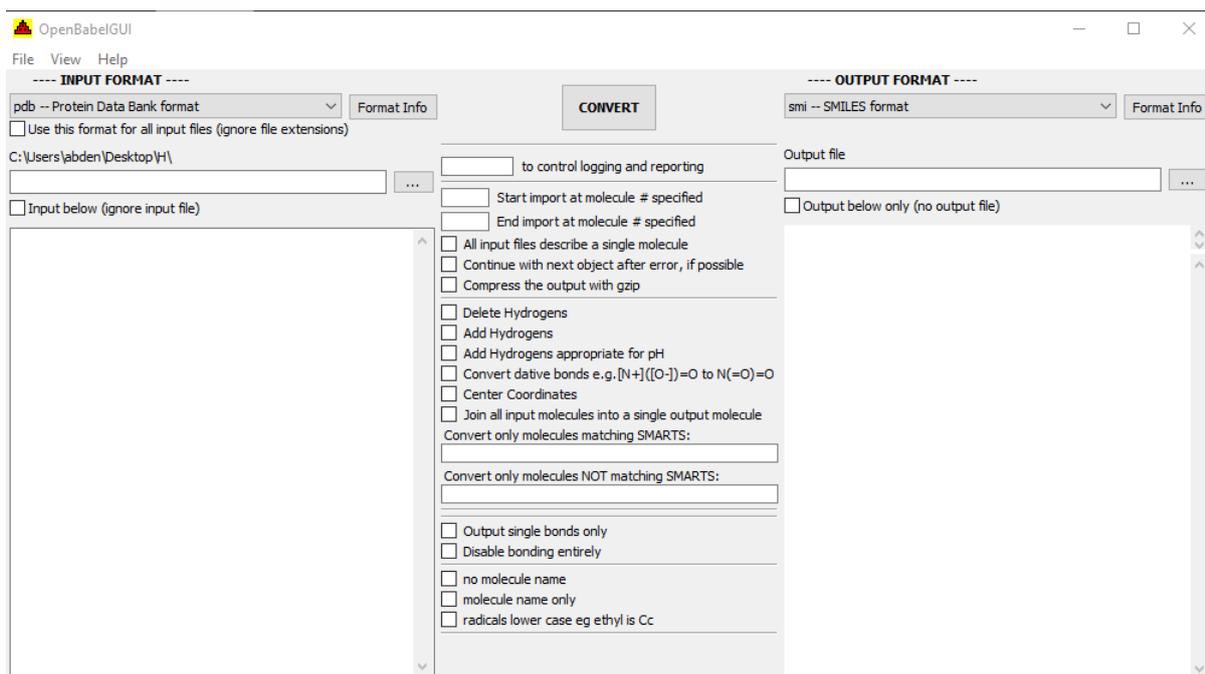


Figure IV. 3 : Interface du programme OpenBabel.

1.3.3 ViewerLite 4.2

C'est un logiciel qui permet la visualisation des interactions et les liaisons hydrogène formées entre les différents inhibiteurs et le site actif de l'enzyme étudiée [73].

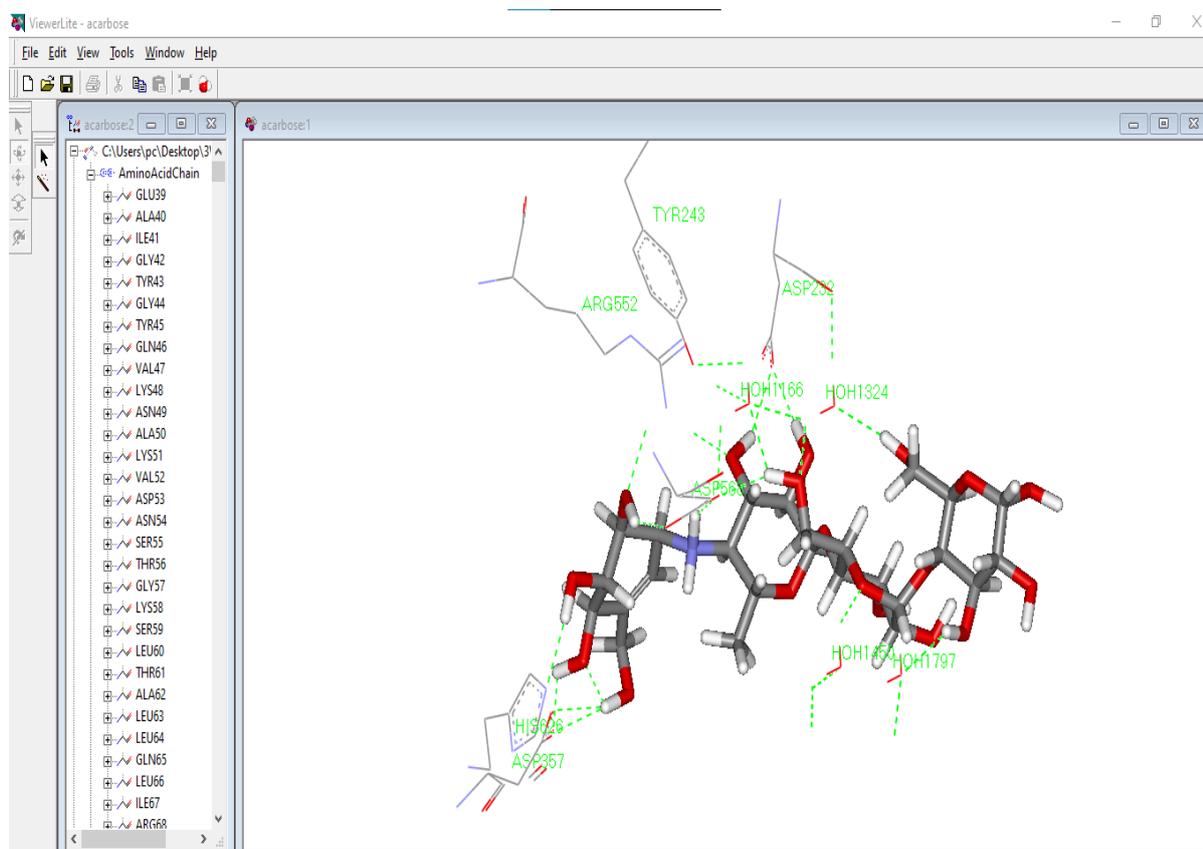


Figure IV. 4 : Interface du logiciel ViewerLite.

1.4 Les serveurs

1.4.1 SwissADME

SwissADME est un outil Web qui donne accès gratuitement à un ensemble de modèles prédictifs rapides mais robustes pour les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques d'un composé [74]. Nous avons utilisé ce serveur pour la prédiction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des inhibiteurs étudiés.

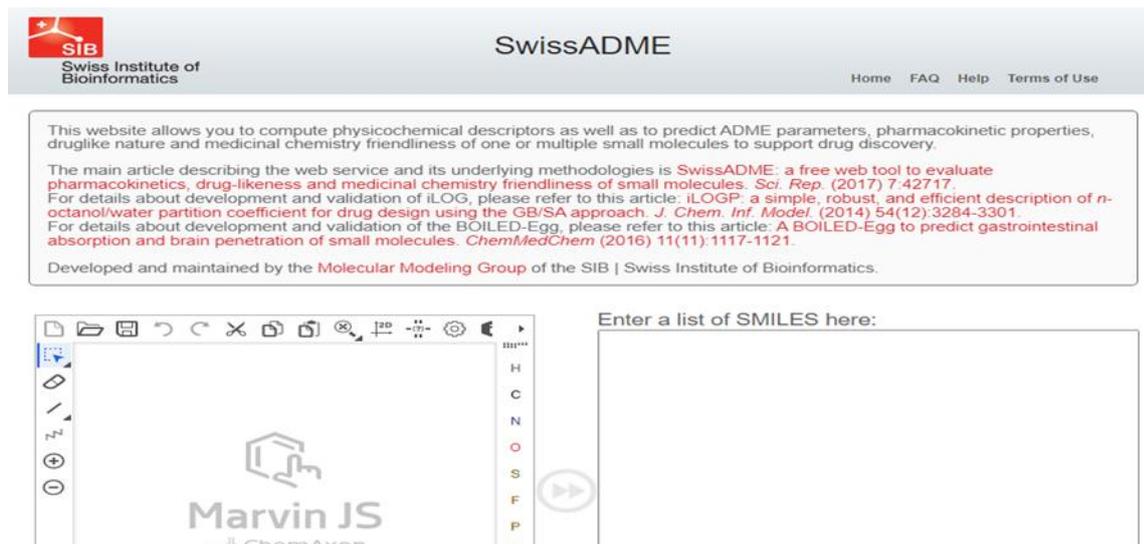


Figure IV. 5 : Page d'accueil du serveur SwissADME.

1.4.2 PreADMET

PreADMET est un serveur permettant de prédire, et de calculer *in silico* les paramètres pharmacocinétiques et les propriétés physicochimiques et la toxicité potentielle par différents tests et modèles [75]. Dans le présent travail, nous avons constaté que ce serveur est utile pour prédire la toxicité potentielle de nos inhibiteurs d'intérêt.

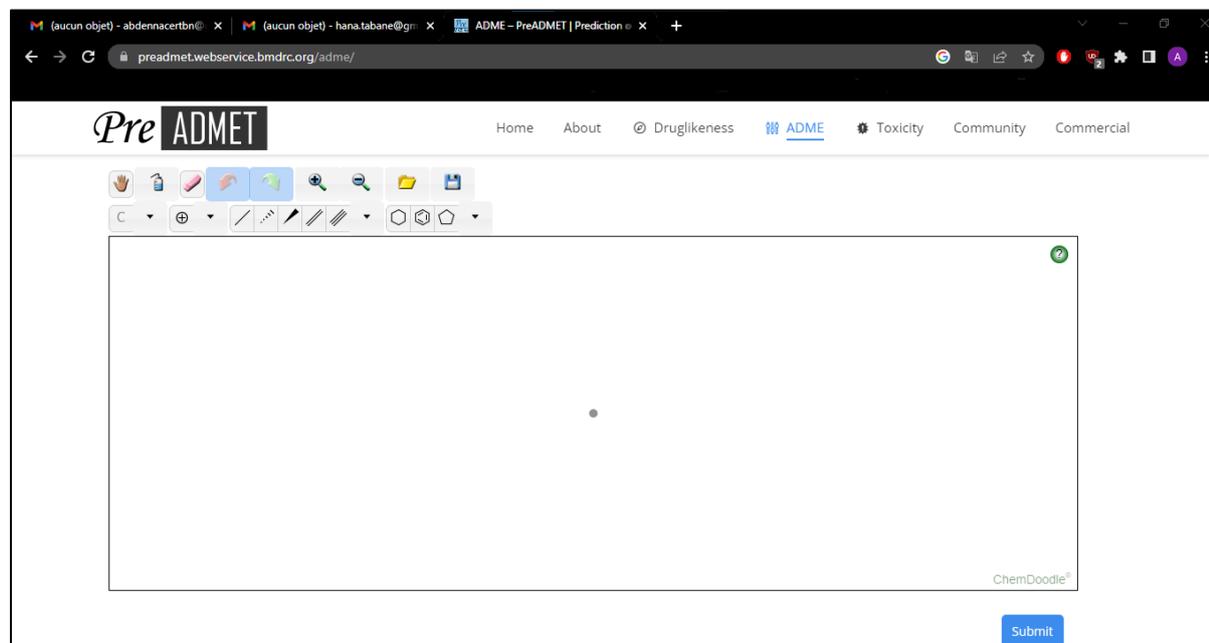


Figure IV. 6 : Page d'accueil du serveur PreADMET.

2 Méthodes

2.1 Test de fiabilité de programme Surflex-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 Surflex-dock. Pour cela, nous avons fait appel au test de coefficient de corrélation linéaire (r).

La racine carrée de coefficient de détermination r , appelée également le coefficient de corrélation, est calculé entre les valeurs prédites par le programme Surflex-dock et celles expérimentales, par le modèle de régression, sa valeur variée entre -1 et 1 [76-79].

En effet, plus la valeur absolue du coefficient de corrélation r est proche de 1, plus la régression linéaire est idéale et le modèle linéaire est fiable et valide [79].

2.2 Criblage virtuel

2.2.1 Préparation de l'enzyme

La structure 3D de l'alpha-glucosidase qui fait l'objet de notre étude, a été téléchargée sous format pdb à partir de la PDB sous le code 3W37 [80] ; où elle existe sous forme de complexe lié à un inhibiteur (acarbose) avec une valeur de résolution de 1.70Å.

L'inhibiteur lié au récepteur a été éliminé pour ne conserver que la structure de l'enzyme et les molécules d'eau. Le fichier est enregistré ensuite sous format pdb, puis convertie au format mol2 par le programme Open Babel.

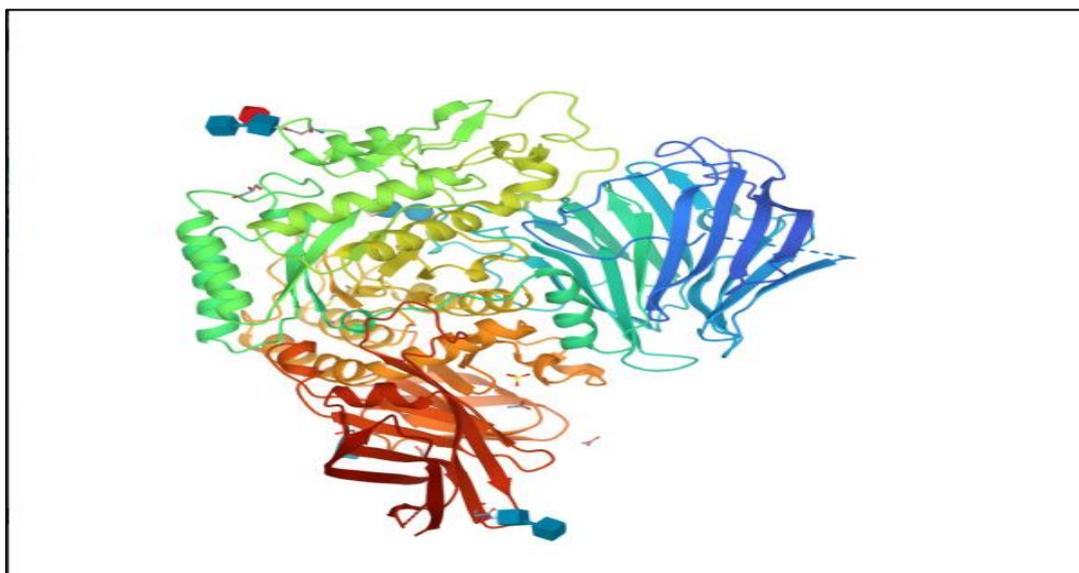


Figure IV. 7 : Structure 3D du complexe 3W37 [80].

2.2.2 Préparation de ligands

A partir de la chimiothèque PubChem nous avons téléchargé 147 molécules similaires de l'acarbose avec un pourcentage de similarité de 90%. Ces molécules sont téléchargées sous le format .sdf et puis convertis 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, différentes étapes sont nécessaires :

❖ Génération du protomol

Afin d'identifier le site actif (une pseudo-molécule appelée "protomol") de l'enzyme étudiée, nous avons utilisé la commande suivante :

```
surflex-dock proto ligand.mol2 protein.mol2 pl
```

Dans notre travail, pour générer le protomol nous avons utilisé l'inhibiteur de référence qui est l'acarbose.

❖ Docking du ligand

Cette étape a été réalisée en utilisant la protéine et les ligands et le pl-protomol au format .mol2. Cette opération a permis d'identifier les dix meilleures conformations de chaque ligand au niveau du site actif de l'enzyme et les classées par des scores d'affinité décroissant allant de final-0 à final-9 au format mol2. Pour cette étape nous avons utilisé la commande suivante :

```
surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 proteine.mol2
```

```
ret_conf 6.79] [ret_conf 7.34] [ret_conf 7.18] [ret_conf 7.83] [ret_conf 6.90] final-0: 8.23 (crash -5.48 (self -3.19))  
final-1: 8.23 (crash -5.48 (self -3.19))  
final-2: 8.19 (crash -5.42 (self -3.18))  
final-3: 8.17 (crash -5.45 (self -3.23))  
final-4: 8.14 (crash -5.42 (self -3.21))  
final-5: 8.13 (crash -5.39 (self -3.20))  
final-6: 8.13 (crash -5.47 (self -3.20))  
final-7: 8.12 (crash -5.40 (self -3.20))  
final-8: 8.11 (crash -5.43 (self -3.24))  
final-9: 8.07 (crash -5.58 (self -3.12))  
C:\Users\abden\Desktop\Similaires\CID_90304934>
```

Figure IV. 8 : Capture d'écran des résultats du docking obtenus par le programme Surfex-dock.

2.3 Prédiction ADMET

Pour augmenter le succès de la découverte et le développement de candidats médicaments, il est nécessaire de considérer l'activité pharmacologique des composés et l'optimisation de leurs propriétés [81].

ADME est une abréviation pour « Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion », elle décrit la disposition d'un composé pharmaceutique au sein d'un organisme [82]. Alors que le « T » représente la toxicité potentielle de ce composé.

Dans ce travail, nous avons simulé les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des composés issus de la similarité en utilisant le serveur SwissADME, alors que la toxicité potentielle a été prédite en utilisant le serveur PreADMET.

2.3.1 Propriétés physicochimiques

2.3.1.1 La règle de Lipinski

En 1997, Lipinski *et al* ont proposés « la règle de Lipinski » également appelée « règle de 5 » qui permet d'évaluer la biodisponibilité d'un composé chimique par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle. Selon cette règle, un composé doit valider au moins deux des quatre (2/4) critères suivants pour avoir la chance d'être disponible oralement :

- Le poids moléculaire (PM) ≤ 500 daltons (Da).
- Le nombre d'accepteurs de liaison hydrogène (O et N) ≤ 10 .

- Le nombre de donneurs de liaison hydrogène (OH et NH) $H \leq 5$.
- Le coefficient de partition octanol/eau ($\log P$) ≤ 5 [83].

$\log P$ est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau. Le $\log P = \log (C_{\text{oct}} / C_{\text{eau}})$, doit être compris entre -2 et 5. Cette valeur permet de déterminer le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. S'il est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement [83].

2.3.1.2 Règle de Veber

En plus des travaux de Lipinski, des études par Veber *et al* en 2002 suggèrent que les composés qui valident les deux critères suivants, présentaient généralement une bonne biodisponibilité orale :

- La surface polaire de la molécule (TPSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$.
- Le nombre de liaisons à libre rotation ≤ 10 [84].

2.3.1.3 Solubilité dans l'eau

La solubilité, le phénomène de dissolution du soluté dans un solvant pour donner un système homogène, est l'un des paramètres les plus importants pour atteindre la concentration souhaitée d'un médicament dans la circulation systémique pour avoir la réponse pharmacologique anticipée [85]. La possession d'une molécule soluble facilite grandement de nombreuses activités de développement de médicaments, surtout pour les projets de découverte ciblant l'administration orale [74].

2.3.2 Propriétés pharmacocinétiques

2.3.2.1 L'absorption gastro-intestinal

Pour le développement de produits pharmaceutiques oraux, l'étude des processus de perméabilité intestinale des médicaments est cruciale. Pour qu'un médicament soit absorbé, accède au sang puis d'attendre sa cible, il doit être capable de traverser le tractus gastro-intestinal [74].

2.3.2.2 La perméabilité BBB

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est un élément important de la régulation de l'environnement interne du cerveau. Les médicaments agissant dans le système nerveux central doivent traverser le BHE [86]. La BBB empêche la plupart des composés externes (98%) de pénétrer dans le système nerveux central (SNC) afin de maintenir l'homéostasie du SNC [87].

2.3.2.3 Inhibition des Cytochrome CYP450

Parmi les enzymes intervenants dans le métabolisme des substrats endogènes ou exogènes, notamment médicamenteux, les enzymes hépatiques Cytochrome P450 (CYP) sont les plus fréquents. Les principaux CYP impliqués dans le métabolisme des médicaments sont : CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4. Il vaut mieux choisir les médicaments à faible affinité aux CYP pour qu'ils ne puissent pas les inhiber [88].

2.3.3 Tests de toxicité

La toxicité est le degré auquel une substance peut endommager un organisme ou une sous-structure de l'organisme, comme les cellules et les organes, et reste l'une des raisons les plus importantes de l'échec du développement de médicaments à un stade avancé. Une priorité essentielle dans le développement de médicaments est l'identification précoce de la toxicité grave avant que le temps et les ressources ne soient dépensés aux stades avancés [89].

2.3.3.1 Le test d'AMES

Le test de mutation bactérienne reverse (test d'AMES) est l'un des tests les plus largement utilisés pour l'identification des substances mutagènes. Ce test consiste en des sous-tests parallèles dans lesquels chacune des souches bactériennes testées de *Salmonella typhimurium* est exposée à la substance d'intérêt. Chaque souche a une mutation différente dans un gène nécessaire à la synthèse de l'histidine indispensable à sa croissance. Si l'exposition à la substance d'intérêt permet à la cellule mutée de produire l'histidine nécessaire pour se développer sur un milieu de culture dépourvu de ce dernier, la substance est considérée comme un mutagène [90].

2.3.3.2 Cancérogénicité

L'objectif de ces études est de définir le potentiel cancérigène d'une substance chez l'animal afin d'évaluer le risque chez l'homme. Ces études sont nécessaires lors d'une

utilisation clinique prolongée de la substance chez l'homme (au moins 6 mois) ou lors d'une administration répétée sur plusieurs cycles [91].

2.3.3.3 Inhibition de HERG

La toxicité cardiaque est l'un des effets secondaires et une des principales causes de retrait de candidats-médicaments lors de la découverte de médicaments. Les candidats-médicaments provoquent souvent un blocage indésirable du canal des ions potassium de hERG (*human ether-a-go-go-related gene*) qui conduit éventuellement à des arythmies ventriculaires fatales et à une mort subite [92].



Chapitre 5: Résultats et discussion



1. Test de fiabilité

L'efficacité d'un programme à prédire les affinités expérimentales est évaluée par le test de coefficient de corrélation linéaire (r). L'analyse par régression linéaire a été réalisée sur différents complexes dont l'activité biologique a déjà été testée.

Ce test consiste à évaluer le degré de corrélation qui existe entre l'affinité de 44 complexes différents simulée par docking moléculaire avec Surflex-dock et l'activité biologique (IC50) déterminée *in vitro*.

Après avoir regroupé les données expérimentales et les scores de docking obtenus par le programme Surflex-dock, le coefficient de détermination « R^2 » et le coefficient de corrélation « r » ont été calculés et les résultats sont présentés dans le tableau et la figure suivants.

Tableau V. 1: Liste de 44 complexes utilisés pour réaliser l'analyse par régression linéaire.

Code PDB de complexe	Code de ligand	IC50 (nM)	Log IC50	Affinité (M^{-1})
3H0C	PS4	0.38	-0.42	9.42
2RGU	356	0.1	-1	9.45
1X70	715	120	2.08	4.84
3F8S	PF2	13	1.11	5.24
1N1M	A3M	5400	3.73	5.86
2QOE	448	25	1.39	6.43
2FJP	S14	4.3	0.63	11.91
3HAC	361	67	1.82	6.84
3HAB	677	4.2	0.62	6.86
2QT9	524	2.3	0.68	11.01
2QTB	474	4.8	0.65	10.32
2AJD	BPR	1300	3.11	4
2OPH	277	16	1.2	9.22
2BUC	008	23	1.36	3.4
2QJR	P7F	37	1.53	5

2BUB	FPB	410	2.61	6.68
3KWF	B1Q	6.8	0.83	10.55
3VJK	M51	0.29	-0.53	10.19
3VJL	W94	5.6	0.74	8.1
3VJM	W61	0.37	-0.43	12.18
3GOB	T22	10	1	8.06
4N8E	2KV	20	1.3	7.07
3GOC	RUF	2000	3.3	2.36
4FFW	715	120	2.08	3.94
3C43	315	19	1.27	10.4
3C45	317	0.21	-0.67	9.87
5KBY	6RL	1.3	0.6	7.13
5T4B	75N	0.42	-0.37	14.84
5T4F	75M	10	1	13.73
5I7U	6AJ	1.7	0.23	13.05
6B1E	LF7	80.1	1.9	3.49
3OCO	B2Q	710	2.85	4.36
5ISM	6DG	0.7	-0.15	10.13
1G2A	BB2	140	2.14	5.38
1LRU	BB2	140	2.14	5.82
2AI7	SB7	400	2.6	4.11
2AI8	SB7	160	2.2	5.14
2AIE	SB9	2200	3.34	5.08
2EW5	Y12	1250	3.09	7.9
2KMN	BB2	140	2.14	3.1
3E3U	NVC	13	1.11	12.74
4DR9	BB2	10	1	7.2
4JE7	BB2	27	1.43	3.2

2EW6	Y13	1.08	0.03	8.07
------	-----	------	------	------

- IC50 : C'est la concentration d'inhibiteur nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition de l'enzyme [93].

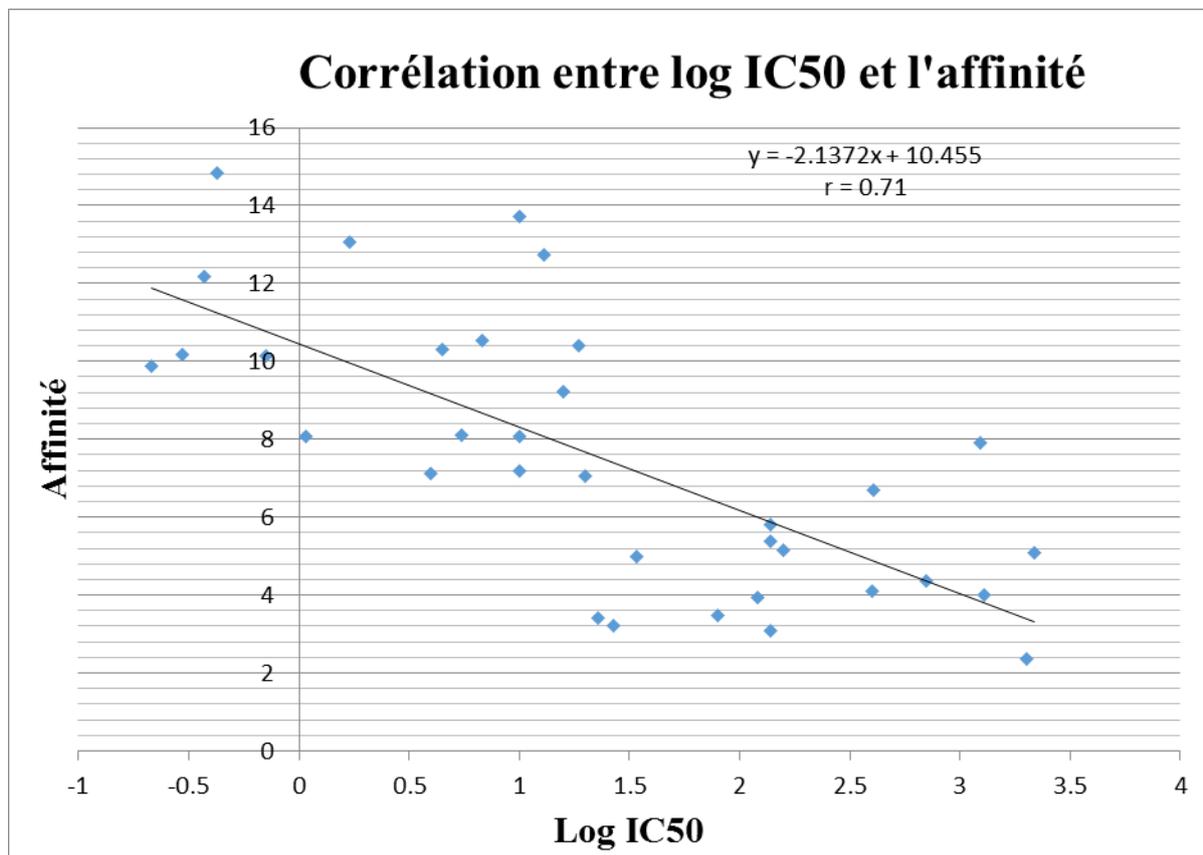


Figure V.1 : Corrélation entre l'activité biologique (Log IC50) des inhibiteurs de l'alpha glucosidase et leurs affinités données par Surfex-dock.

L'analyse par régression linéaire réalisée entre les affinités et les IC50 (Log IC50) donne un nuage de points (voir figure V.1) avec un coefficient de corrélation égal à 0.71. Une telle valeur indique que les 2 variables sont fortement corrélées et témoigne ainsi de la haute performance du programme Surfex-dock dans sa version 1.3.

Notre résultats confirme les résultats obtenus par Kamel M *et al.*, 2010 [94] Boucherit H *et al.*, 2014 ($r = 0,76$) [95], Merzoug A *et al.*, 2015 ($r = 0,728$) [96], Chikhi A *et al.*, 2010 ($r = 0,83$) [97], ceux qui montrent que tout programme de docking est réussi lorsque le coefficient de corrélation est proche de 1.

A la lumière de ces résultats on conclue que le logiciel Surflex-dock est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant, et peut être utilisé, sans trop de risque d'erreurs, dans l'étude de mode d'interaction entre l'alpha-glucosidase et ses inhibiteurs.

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

Pour étudier le mode d'interaction de différents inhibiteurs de l'alpha-glucosidase avec le site actif de notre cible enzymatique par la méthode de docking moléculaire, nous avons utilisé le programme Surflex-dock.

2.1 Choix de code

Il existe plusieurs structures tridimensionnelles de l'alpha-glucosidase dans la PDB dont la majorité sous forme de complexes alpha glucosidase-inhibitors. Parmi les 337 complexes disponibles, nous avons utilisé le complexe 3W37 [80], ce dernier est choisi selon les caractéristiques indiquées dans le tableau V.2 ci-dessous :

Tableau V.2 : Caractéristiques du code choisi [46].

Molécule	L'alpha-glucosidase
Complexe	3W37
Classification	hydrolase
inhibiteur	acarbose
Nombre de chaine	4 Chaines (A, B, C, D)
Libéré	13/12/2013
Résolution	1.7 Å

Les acides aminés du site actif

La détermination des résidus d'acides aminés du site actif de notre cible pouvant intervenir dans le processus de reconnaissance du ligand est essentielle pour pouvoir effectuer un criblage virtuel *in silico*. Par conséquent, les acides aminés du site actif de notre cible enzymatique sont : Asp232, Ile233, Ala234, Ser235, Phe236, Asn237, Leu240, Tyr243, Cyc327, Arg328, Trp329, Asp357, Ile358, Ile396, Asp398, Trp432, Trp467, Asp469,

Met470, Glu6, Trp5, Gly567, Asp568, Asn569, Asp597, Phe601, Ala602, Arg624, His626, Ser627 et Ala628.

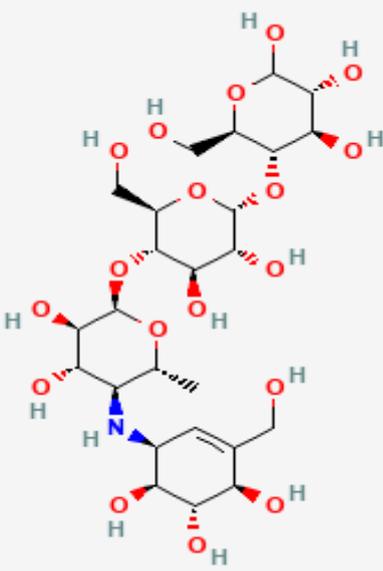
2.2 Choix des inhibiteurs

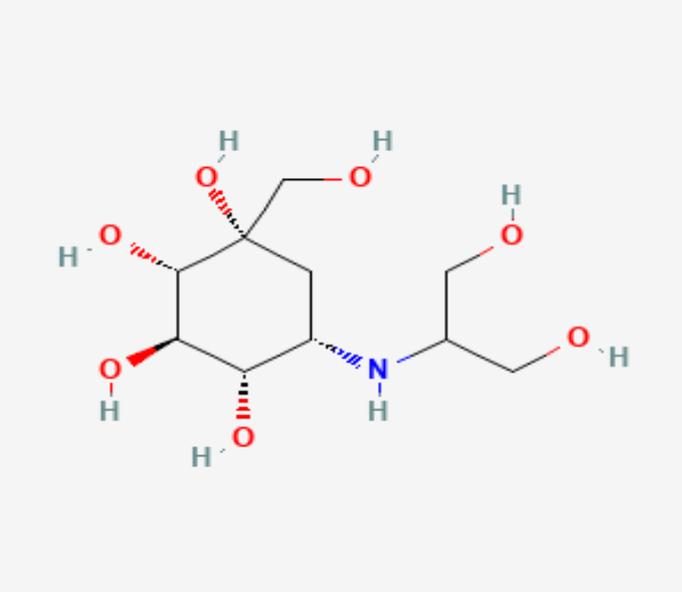
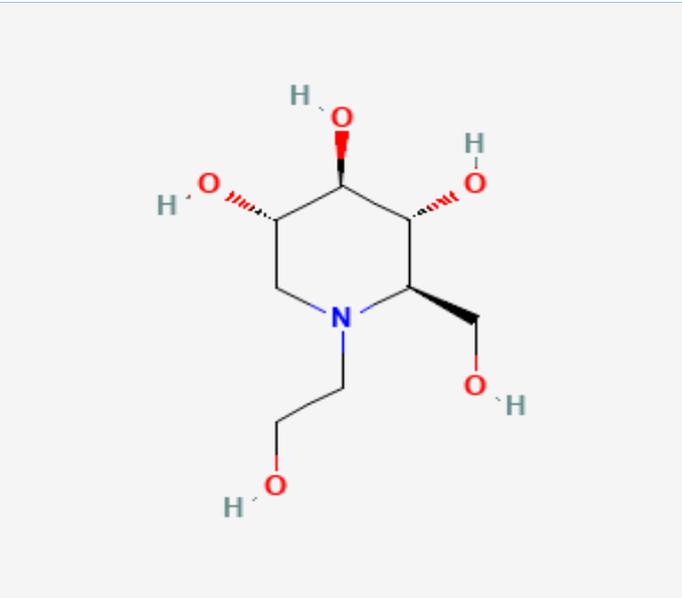
Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase sont des antidiabétiques utilisés contre le diabète sucré de type 2, qui agissent en empêchant la digestion des glucides. Il existe un grand nombre de produits ayant une action inhibitrice de l'alpha-glucosidase, les principaux sont l'acarbose, le miglitol et le voglibose. Ces trois antidiabétiques oraux ciblent la physiopathologie dans les premiers stades du diabète de type 2, notamment pour réduire l'hyperglycémie postprandiale [44].

Le présent travail a pour but de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces trois molécules afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs en faisant appel aux approches *in silico* de modélisation des interactions enzyme-inhibiteur par docking moléculaire.

Les résultats du docking de ces inhibiteurs dans le site actif de l'enzyme sont représentés dans le tableau V.3 suivant :

Tableau V.3 : Les résultats de docking des trois meilleurs inhibiteurs de l'alpha glucosidase.

Inhibiteur	Structure bidimensionnelle	Affinité (M ⁻¹)
Acarbose		8.23

Voglibose	 The image shows the chemical structure of Voglibose, a cyclic alpha-D-glucopyranoside. It features a six-membered ring with an oxygen atom at the top position. The substituents are: C1-OH (axial, dashed), C2-OH (equatorial, solid), C3-OH (axial, solid), C4-OH (equatorial, dashed), and C5-OH (equatorial, solid). A 2-deoxy-2-(2-hydroxyethyl)amino group is attached to the C2 position.	5.48
Miglitol	 The image shows the chemical structure of Miglitol, a cyclic alpha-D-glucopyranoside. It features a six-membered ring with an oxygen atom at the top position. The substituents are: C1-OH (axial, solid), C2-OH (equatorial, dashed), C3-OH (axial, solid), C4-OH (equatorial, solid), and C5-OH (equatorial, solid). A 2-deoxy-2-(2-hydroxyethyl)amino group is attached to the C2 position.	3.39

Parmi les 3 composés étudiés l'acarbose présente le meilleur score (affinité égale à 8.23 M^{-1}); il présente donc le meilleur effet inhibitrice, c'est pour cela nous le avons choisis comme modèle afin d'interpréter ses différentes interactions établies avec l'enzyme.

2.3 L'étude d'interaction alpha glucosidase - acarbose

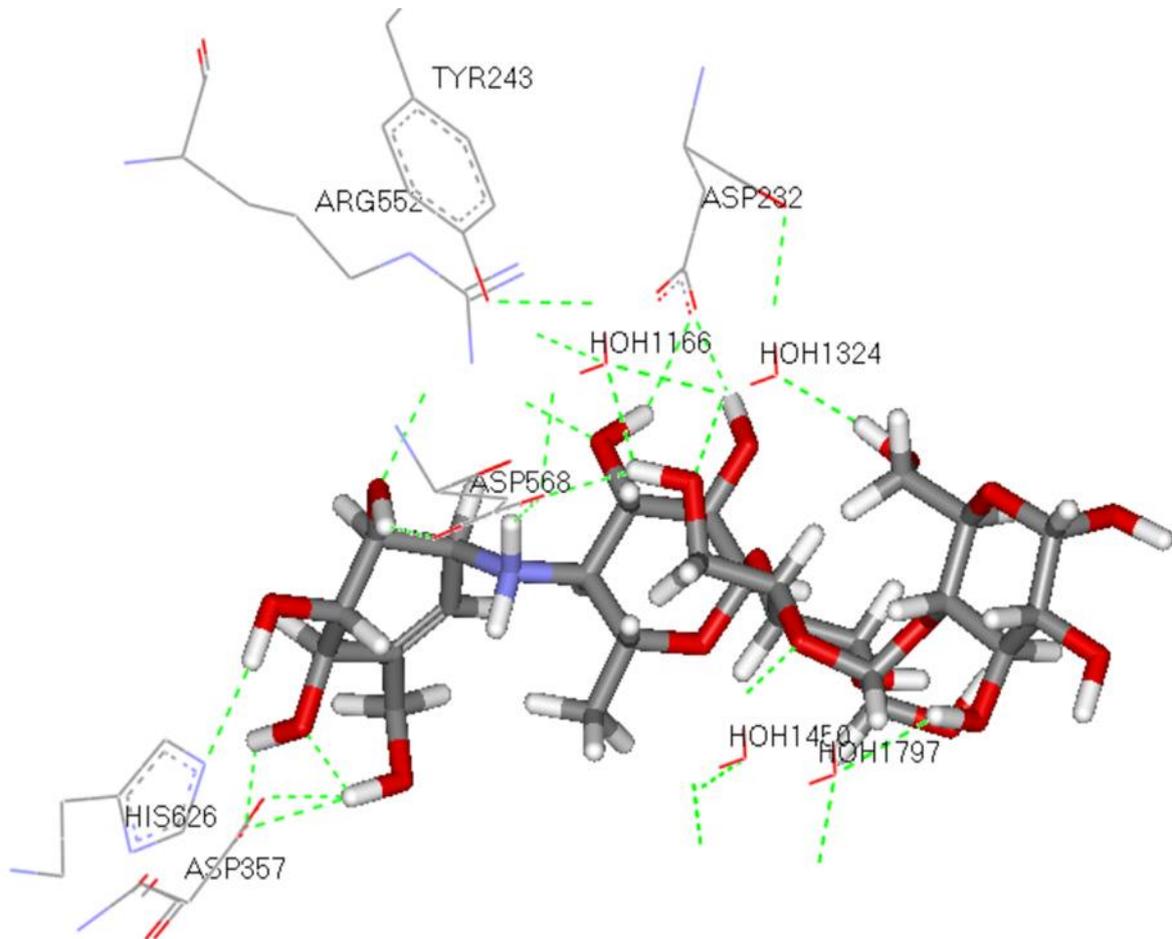


Figure V.2 : Docking de l'acarbose dans le site actif de l'alpha-glucosidase.

L'étude du mécanisme d'inhibition du composé acarbose vers l'alpha-glucosidase par docking moléculaire a révélé que ce composé forme onze liaisons hydrogène avec les résidus de site actif.

- Il est engagé par ses groupements hydroxyles dans dix liaisons, trois avec le groupement carboxyle de l'ASP357, deux avec la fonction amine de l'ARG552, deux avec la fonction acide de l'ASP232, une avec l'azote de l'HIS626, une avec le carboxyle de l'ASP568, et une avec l'hydroxyle de la Tyr243.
- La dernière liaison est formée entre la fonction amine de l'acarbose et l'une des atomes d'oxygène de la fonction carboxyle de l'ASP568.

L'acarbose établit aussi par l'intermédiaire de ses liaisons avec les molécules d'eau HOH1324 et l'HOH1166, présentes dans le site actif, des interactions supplémentaires avec les résidus ASP232, TYR243 et ASP568.

3 Proposition des nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase

Dans le but de développer de nouveaux inhibiteurs puissants de l'alpha-glucosidase. La banque de donnée *PubChem* nous a fournis une collection de 147 composés similaires du composé acarbose avec un taux de similarité allant jusqu'au 90%, le docking moléculaire de cette collection des similaires est réalisé par le programme de Surflex-dock. Les résultats d'affinité de ces similaires sont représentés dans le tableau V.4.

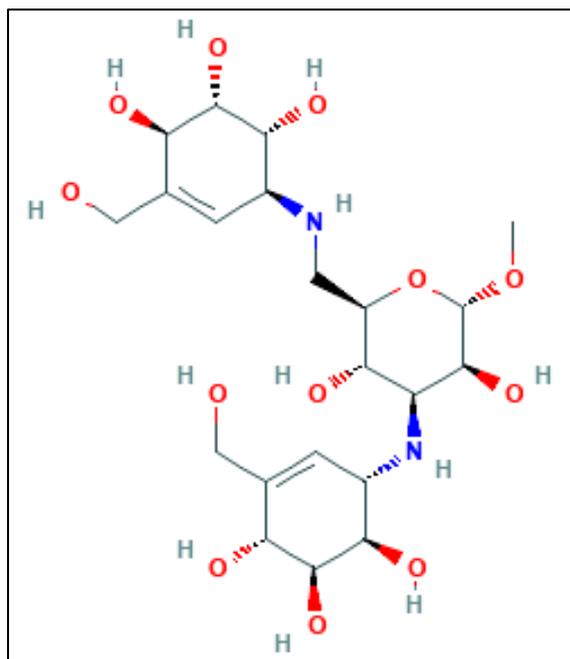
Tableau V.4 : Les valeurs d'affinité de 147 acarbose dérivatives.

Similaire	Affinité (M ⁻¹)	Similaire	Affinité (M ⁻¹)
CID_22800533	4.35	CID_71095952	2.95
CID_44629528	5.26	CID_71095954	2.43
CID_53386869	3.07	CID_71104404	3.82
CID_53386870	2.80	CID_73265284	3.01
CID_56668330	4.70	CID_78225164	0.46
CID_56672287	6.43	CID_78225312	2.61
CID_58618553	3.47	CID_87132412	0.96
CID_58618562	5.19	CID_90304934	1.67
CID_58618589	5.45	CID_24971174	3.31
CID_58618603	3.48	CID_24971175	2.30
CID_58618606	2.81	CID_44561541	2.16
CID_58618613	5.21	CID_44891366	0.16
CID_58618622	4.32	CID_71481137	0.88
CID_58618626	3.34	CID_86301314	0.06
CID_58618631	4.67	CID_101005739	3.60
CID_58618637	4.66	CID_101343159	1.96
CID_58618640	4.93	CID_101343160	3.49
CID_58960799	6.11	CID_101343161	0.32
CID_58960819	3.34	CID_101343162	3.64
CID_58960848	3.48	CID_101343186	4.45
CID_58960855	3.48	CID_101343187	5.46
CID_58960858	4.66	CID_101343188	4.07
CID_58960860	5.42	CID_5288403	1.33
CID_59366481	4.00	CID_508375	4.20

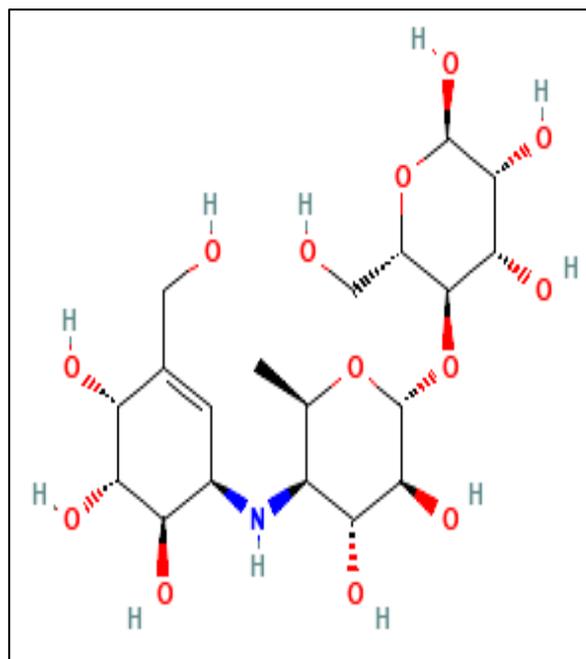
CID_59366485	3.75	CID_448897	2.42
CID_59701767	3.35	CID_5287619	6.18
CID_59701768	1.41	CID_6917714	-0.35
CID_67969547	-2.96	CID_10055145	-0.12
CID_68023871	3.37	CID_10258648	0.81
CID_68253726	5.14	CID_10627975	0.77
CID_68920478	1.09	CID_10699545	4.14
CID_68920480	-5.06	CID_10770622	-10.44
CID_10815496	9.72	CID_124905289	3.69
CID_11215971	0.51	CID_124905290	3.74
CID_17754036	3.36	CID_124905291	0.30
CID_101343189	3.43	CID_124905292	2.11
CID_101748926	3.02	CID_129539594	1.97
CID_102033884	2.30	CID_131707781	-1.54
CID_102067844	4.40	CID_132838263	2.91
CID_102355258	2.07	CID_133636855	-1.83
CID_124710649	0.26	CID_135121325	4.74
CID_124710650	0.80	CID_145710289	0.99
CID_124710651	0.53	CID_1457110311	1.88
CID_124710652	-3.12	CID_145710463	-2.75
CID_145710693	-1.47	CID_163058886	6.66
CID_155294158	0.13	CID_163058885	4.84
CID_162926268	-6.30	CID_162955693	-3.31
CID_162996640	-8.84	CID_163048502	1.87
CID_11968287	1.40	CID_10689257	4.66
CID_14040286	3.34	CID_127767	6.11
CID_197426	4.12	CID_441184	2.16
CID_444254	1.39	CID_444440	4.54
CID_445421	-0.37	CID_449164	3.40
CID_449165	0.14	CID_3083346	4.26
CID_5288404	2.53	CID_17753825	3.43
CID_46936324	-4.03	CID_46936518	1.35

CID_46936699	1.96	CID_58960848	3.48
CID_58960855	3.48	CID_66563683	0.90
CID_70682078	2.81	CID_70684192	3.98
CID_70690487	4.96	CID_70692640	2.41
CID_86583399	0.04	CID_90304936	1.30
CID_90659860	-3.02	CID_90659861	-1.67
CID_90995832	2.76	CID_91144966	3.69
CID_91242099	2.29	CID_91820480	-4.06
CID_100966752	2.26	CID_101101475	3.97
CID_121353418	2.79	CID_122172882	1.97
CID_122627482	2.35	CID_122706040	4.87
CID_129010024	1.89	CID_131704236	4.55
CID_131881950	0.89	CID_134969637	4.22
CID_138059738	-1.30	CID_145948806	1.06
CID_154925673	0.52	CID_156616595	-3.20
CID_156616596	0.24	CID_156616906	1.77
CID_156617917	2.15	CID_156618023	3.52
CID_156618806	0.32		

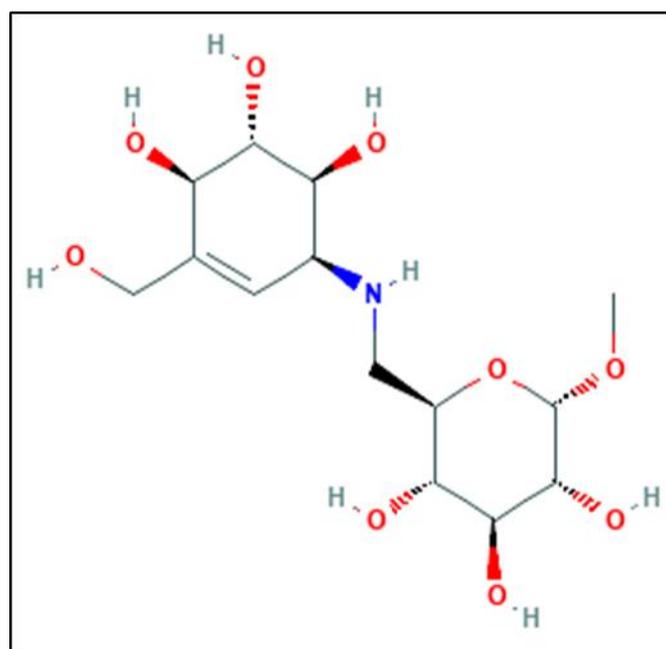
Le criblage virtuel de la collection de similaires chimiques du l'acarbose fait ressortir le composé CID_10815496 comme le meilleur inhibiteur potentiel de notre cible protéique avec une affinité égal à 9.72 M^{-1} suivi par les composés CID_163058886 et CID_56672287 avec des affinités égal à 6.66 M^{-1} et 6.43 M^{-1} respectivement.



CID_10815496



CID_163058886



CID_56672287

Figure V.3 : Structures chimique des meilleurs similaires de l'acarbose [46].

3.1 L'analyse visuelle du complexe alpha-glucosidase-composé CID_10815496

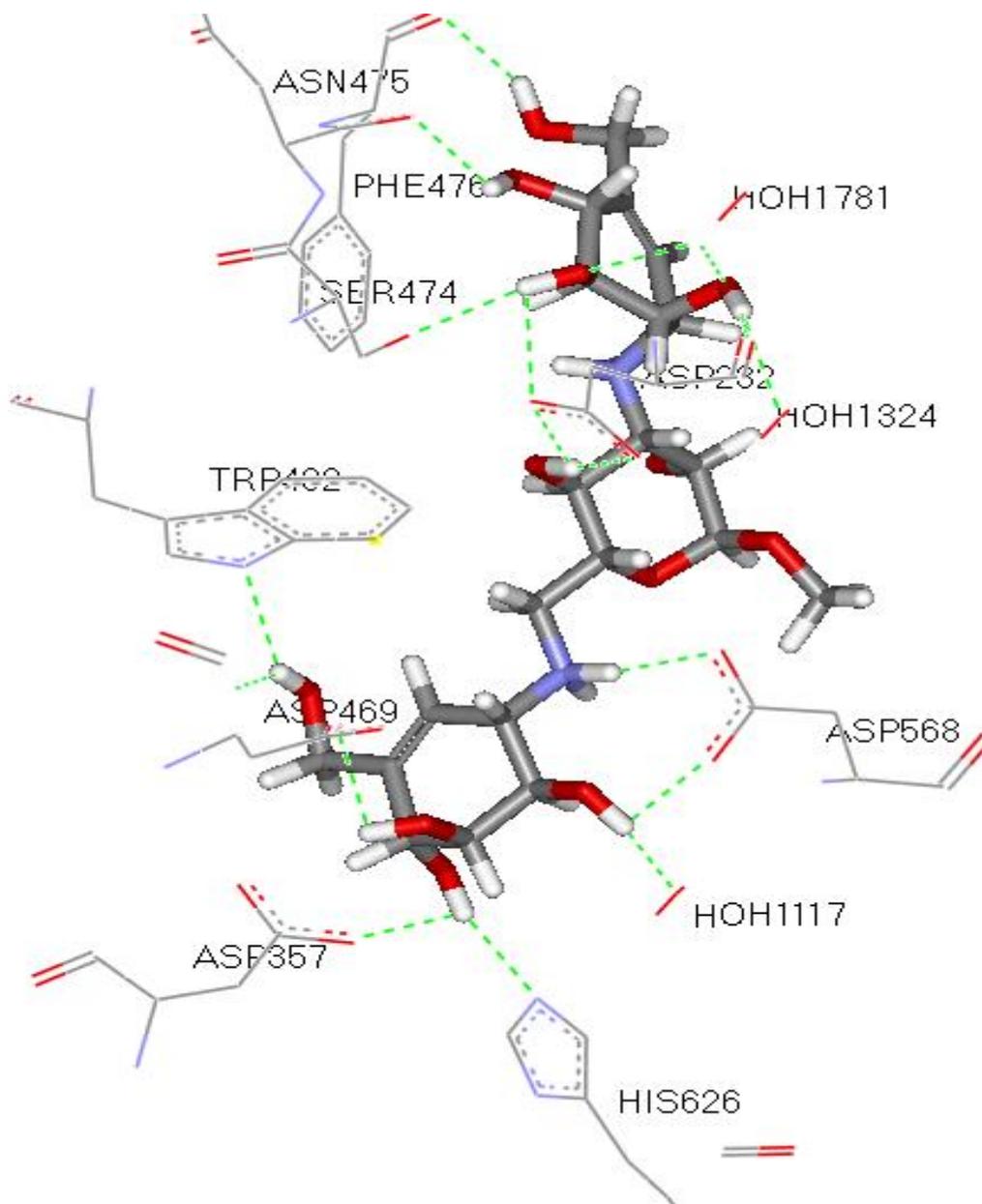


Figure V.4 : Mode d'interaction du composé CID_10815496 dans le site actif de l'alpha-glucosidase.

Dans le cas du composé CID_10815496, (1R,2S,3R,6S)-6-[[[(2R,3S,4S,5S,6S)-3,5-dihydroxy-6-methoxy-4-[[[(1S,4R,5S,6R)-4,5,6-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)cyclohex-2-en-1-yl]amino]oxan-2-yl]methylamino]-4-(hydroxymethyl)cyclohex-4-ene-1,2,3-triol], le complexe enzyme-inhibiteur donne une affinité de 9.72 M^{-1} . Cette affinité se caractérise par la formation de nombreuses liaisons hydrogène avec les résidus de site actif de l'enzyme.

L'analyse visuelle montre que le composé CID_10815496 forme ces liaisons hydrogène avec les acides aminés de site d'interaction par l'intermédiaire de ses groupements hydroxyles, ce qui proche au mode de liaison de l'acarbose avec le même site actif.

Il est engagé dans des liaisons hydrogène avec les fonctions carboxyliques des acides aminés aspartiques ASP232, ASP357, ASP568 et ASP469, les fonctions carbonyles des acides aminés ASN475 et PHE476, les fonctions amines de TRP432 et HIS626 et avec l'hydroxyle de SER474.

La stabilité de complexe formé est gouvernée aussi par la formation des ponts hydrogène entre le composé CID_10815496 et les molécules d'eau HOH1117, HOH1324, HOH1781 présentes dans le site actif.

4 Les propriétés ADME-Tox

Après déterminer les interactions entre l'alpha-glucosidase et le meilleur inhibiteur étudié, il est nécessaire d'évaluer les paramètres permettant son validation comme médicament, il était très important de compléter cette étude par l'application de la méthode de filtrage ADME-Tox.

Cette démarche est basée essentiellement sur la règle de cinq de Lipinski et la règle de veber, et les critères de ces règles sont admis comme conditions générales pour une bonne biodisponibilité. De plus, nous avons également déterminé certaines propriétés pharmacocinétiques, ainsi que la toxicité potentielle de notre meilleur inhibiteur qui est le composé CID_10815496. L'acarbose a été utilisée comme molécule de référence, ce composé est l'un des traitements disponibles de la maladie de diabète type 2 en tant qu'inhibiteur de l'alpha-glucosidase.

4.1 Les propriétés physicochimiques

Tableau V.5 : Propriétés physicochimiques du composé CID_10815496 et d'acarbose.

Inhibiteur	Acarbose	CID_10815496
Propriétés		
Poids moléculaire g/mol	646.61	510.53
Nombre de donneurs de liaisons H	14	12
Nombre	18	12

d'accepteurs de liaisons H		
nombre de liaisons de rotables	9	8
TPSA(Å²)	325.75	253.98
Log(P)	0.19	1.71

Le tableau V.5 montre que ces deux composés ne répondent pas aux critères de la règle de Lipinski (1/4) ni aux critères de la règle de Veber, malgré cela nous avons noté que les propriétés physicochimiques de composé CID_10815496 sont mieux que celles de l'acarbose, en se référant à son faible poids moléculaire et à son caractère lipophile.

4.2 Propriétés pharmacocinétiques

Nous avons complété notre travail par une analyse pharmacocinétique afin de confirmer que le composé proposé comme un nouvel inhibiteur de l'alpha-glucosidase pouvait avoir les meilleures chances d'être un nouvel agent antidiabétique.

Tableau V.6: Propriétés pharmacocinétiques du composé proposé CID_10815496 et d'acarbose.

	Inhibiteur	Acarbose	CID_10815496
Propriétés			
BBB Perméabilité		Faible	Faible
GI Absorption		Faible	Faible
CYP1A2 Inhibition		Non	Non
CYP2C19 Inhibition		Non	Non
CYP2C9 Inhibition		Non	Non
CYP2D6 Inhibition		Non	Non
CYP3A4 Inhibition		Non	Non

Le composé CID_10815496 ainsi que le médicament de référence ont présenté une absorption gastro-intestinale faible. Ces composés présentent aussi une faible perméabilité pour la barrière hémato-encéphalique ce qui peut être un handicap pour les médicaments destinés à agir au niveau du système nerveux central, et ce qui n'est pas le cas de notre cible thérapeutique. Concernant l'inhibition des différentes isoformes du cytochrome P450

(CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4), les résultats montrent que l'acarbose et le composé CID_10815496 n'ont pas d'effet inhibiteur sur ces isoformes.

4.3 Toxicité

À l'aide du serveur PreADMET nous avons simulé la toxicité potentielle des composés d'intérêts. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau V.7.

Tableau V.7 : Tests de toxicité pour l'acarbose et le similaire CID_10815496.

Inhibiteur	Acarbose	CID_10815496
Test		
CR Souris	Négative	Positive
CR Rats	Négative	Négative
Test d'Ames	Non-mutagène	Non-mutagène
hERG Inhibition	Ambigué	Ambigué

La prédiction du test d'Ames montre que l'acarbose et le composé CID_10815496 n'ont aucun d'effet mutagène potentiel donc ils ne peuvent pas provoquer de modifications génétiques. Cependant, il a été prédit que l'acarbose n'a aucun effet cancérigène sur les souris ou les rats par contre le composé CID_10815496 possède un effet cancérigène sur les souris. La capacité d'inhibition du gène hERG par le composé CID_10815496 et l'acarbose est ambigué .L'inhibition de ce gène causer des problèmes cardiaque.



Conclusion



Conclusion

Notre travail de master avait pour but essentiel d'acquérir des compétences en simulation informatique, notamment le docking moléculaire par Surfex-dock, afin de contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase : cible thérapeutique intéressante pour le traitement de diabète type 2.

Afin d'affirmer que Surfex-dock est un programme adapté à notre étude, nous avons testé la capacité de ce programme à reproduire les affinités expérimentales. Pour cela, nous avons fait appel au test du coefficient de corrélation linéaire qui existe entre l'affinité obtenue par l'amarrage moléculaire avec Surfex-dock et l'activité biologique (IC50) déterminée *in vitro*. Les résultats de la régression linéaire donnent un coefficient de corrélation égale à 0.71 ce qui est proche à 1. Ce test nous apporte la preuve que le programme Surfex est hautement performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions entre l'alpha-glucosidase et ses inhibiteurs.

Dans un deuxième temps, la modélisation par docking moléculaire avec Surfex nous a permis d'évaluer l'affinité des inhibiteurs connus de l'alpha-glucosidase, les résultats ont été clairement démontrés que l'acarbose est le meilleur inhibiteur avec une affinité égal à 8.23 M⁻¹.

Dans la recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques plus efficaces que notre ligand de référence, qui est l'acarbose, 147 structures avec un taux de similarité de 90% à notre ligand de référence ont été téléchargés à partir de la chimiothèque PubChem. Parmi les similaires analysés par le programme Surfex-dock, le composé CID10815496 a donné le meilleur score, 9.72 M⁻¹, par conséquent il peut être considéré comme un nouveau inhibiteur potentiellement actif envers l'alpha-glucosidase.

La dernière étape de notre travail a consisté à appliquer un filtrage ADME-Tox afin de nous renseigner sur les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques ainsi que la toxicité de la molécule proposée. L'évaluation des différentes propriétés a montré que le composé CID_10815496 possède un profil ADME-Tox mieux que ce de l'inhibiteur de référence. De

ce fait, on peut dire que les résultats obtenus sont encourageants et peuvent contribuer au développement de nouveaux agents antidiabétiques.

Il convient dans les perspectives d'avenir de vérifier ces résultats théoriques en réalisant des études expérimentales complémentaires *in vitro* et/ou *in vivo*.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

- [1] Organisation mondiale de la santé. Définition de la diabète. Aide -mémoire N° 138 [En ligne] : <http://www.who.int>.(Consulté le 25/04/2023).
- [2] Dali-Sahi M., Benmansour D., Aouar A., Karam N. Étude de l'épidémiologie du diabète de type 2 dans des populations endogames de l'ouest Algérien. *Lebanese Science Journal*. 13(2), **2012**, 17-26.
- [3] Hirst M., *ATLAS du diabète de la FID*. 6^{ème} ed., Fédération Internationale du Diabète : Brussels, **2013**.
- [4] Haute Autorité de Santé. *Actualisation du référentiel de pratiques de l'examen périodique de santé. Prévention et dépistage du diabète de type 2 et des maladies liées au diabète*. ed., HAS : France, **2015**.
- [5] Romain V. La recherche de complications lors de l'examen clinique et le suivi biologique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes en Picardie. Thèse de Doctorat en Médecine. France : Université de Picardie Jules Vernes, **2016**.
- [6] Herbourg C. Elaboration D'un Programme d'éducation thérapeutique du diabète De type 2 adapte au milieu carcéral. Thèse de doctorat en Pharmacie. France : Université de Lorraine, **2013**.
- [7] Akmal M., Wadhwa R. Alpha glucosidase inhibitors. *StatPearls Publishing*. **2023**, PMID: 32496728.
- [8] Dubois M. Thiazolidinediones dans le diabète de type 2 Rôle du peroxisome proliferator-activated receptor ? (PPAR ?). *Annales d'Endocrinologie*. **2002**, 63, 511-523.
- [9] Assefa S.T., Yang E.Y., Chae SY., Song M., Lee J., Cho M.C., Jang S. Alpha glucosidase inhibitory activities of plants with focus on common vegetables. *Plants(Basel)*. **2020**, 9(1), 2.
- [10] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en Pharmacie. France : Université Joseph Fourier, **2007**.

- [11] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2012. *Diabetes care*. **2011**, 35, S4–10.
- [12] Rodier M. Définition et classification du diabète. *Médecine nucléaire-imagerie fonctionnelle et métabolique*, **2001**, 25(2), 91-93.
- [13] Centre Européen d'Étude. Les chiffres de diabète. [En ligne] : <https://ceed-diabete.org/fr/le-diabete/les-chiffres/>. (Consulté le 06/04/2023).
- [14] Cosson E. Diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*, **2010**, 39, S239–50.
- [15] Chaa S. Diabète de type1 et maladies auto immunes chez l'enfant. Thèse de doctorat en Médecine. Algérie : Université de Tlemcen, **2017**.
- [16] Guerin-Dubourg A. Etude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2 : identification de biomarqueurs de glycoxydation et de facteurs de risque de complications vasculaires. Thèse de Doctorat en Biochimie. France : Université de la Réunion, **2014**.
- [17] Diabète Québec. Qu'est-ce que le diabète. **2021**. [En ligne] : <https://www.diabete.qc.ca/fr/comprendre-le-diabete/tout-sur-le-diabete/quest-ce-que-le-diabete-2/quest-ce-que-le-diabete/>. (Consulté le 13/04/2023).
- [18] Jacques Lepercq J.L. Diabète gestationnel. *Rev Prat*. **2010**, 60, 514-516.
- [19] Vambergue A. Le diabète gestationnel : diagnostic et prise en charge à court et à long terme. *Presse Med*. **2013**, 42, 893–899.
- [20] International Diabetes Federation. *ATLAS du diabète de FID*. 8^{ème} ed., International Diabetes Federation : Brussels, **2017**.
- [21] Institut national de la santé et de la recherche médicale. Diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID). [En ligne]: <http://www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/diabete-de-type-2-dnid>, (consulté le 09/04/2023).
- [22] Furelaud G. *Le diabète de type II*. ed., Planet vie : Paris, **2008**.
- [23] Boubekour H. Activités biologiques d'*Helichrysum stoechas*. Thèse de doctorat en Biochimie. Algérie : Université Ferhat Abbas-Sétif, **2018**.
- [24] Scheen A., Van Gaal L.F. Le diabète de type 2 au coeur du syndrome métabolique : plaidoyer pour une prise en charge globale. *Revue Médicale de Liège*. **2005**, 60, 566-71.
- [25] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2008. *Diabetes Care*. **2008**, 31, S12–54.

- [26] Gillery P. Hémoglobine glyquée. *EMC – Biologie médicale*. **2009**, 4(3), 1-6.
- [27] Paquot N. Effets néfastes du défaut d'observance hygiéno-diététique et médicamenteuse chez le patient diabétique. *Rev Med Liège*. **2010**, 65, 326-331.
- [28] Bouries T. Prise en charge Thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'heure. Thèse de doctorat en Médecine. France : Université de Roue, **2012**.
- [29] Romain V. La recherche de complications lors de l'examen clinique et le suivi biologique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes en Picardie. Thèse de Doctorat en Médecine. France : Université de Picardie Jules Vernes, **2016**.
- [30] Pharmacomédical. Antidiabétiques : Les points essentiels. <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antidiabetiques-les-points-essentiels>. (Consulté le 14/04/2023).
- [31] Derosa G., Maffioli P. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Arch Med Sci*. **2012**, 8(5), 899-906.
- [32] Zhang M., Feng R., Yang M., Qian C., Wang Z., Liu W., Ma J. Effects of metformin, acarbose, and sitagliptin monotherapy on gut microbiota in Zucker diabetic fatty rats. *BMJ open diabetes research & care*. **2019**, 7(1), e000717.
- [33] Kumar S., Narwal S., Kumar V., Prakash O. α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacogn rev*. **2011**, 5(9), 19-29.
- [34] Min S.H., Yoon J.H., Hahn S., Cho Y.M. Efficacy and safety of combination therapy with an α -glucosidase inhibitor and a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review with meta-analysis. *J diabetes investig*. **2018**, 9(4), 893-902.
- [35] Suter S.L., Nolan J.J., Wallace P., Gumbiner B., Olefky J.M. Metabolic effects of new oral hypoglycaemic agent CS-045 in NIDDM subjects. *Diabetes Care*. **1992**, 15, 193-203.
- [36] David J.H., Hazel P. *Analytical biochemistry*, 3^{ème} ed. Prentice Hall: Angleterre, **1998**.
- [37] Simone D., Hughes D.L., Nepogodiev S.A., Rejzek M., Field R.A. Synthesis of α - and β -D-glucopyranosyl triazoles by CuAAC 'click chemistry': reactant tolerance, reaction rate, product structure and glucosidase inhibitory properties. *Carbohydrate research*. **2010**, 345,1123-1134.
- [38] Dejob M. Etudes structurales et fonctionnelles d'alpha-glucosidases bacteriennes. Thèse de doctorat. France: Université Claude Bernard Lyon 1, **2013**.

- [39] Wu Z., Zhang M., Xie M., Dai M., Wang X., Hu B., Ye H., Zeng X. Extraction, characterization and antioxidant activity of mycelia polysaccharides from *Paecilomyces hepiali* HN1. *Carbohydrate Polymers*. **2016**, 137, 541–548.
- [40] Vanderkraan M., Kroos M., Joosse M., Bijvoet A., Verbeet M.P., Kleijer W., Reuser A. Deletion of exon 18 is a frequent mutation in glycogen storage disease type II. *Biochemical and biophysical research communications*. **1994**, 203, 1535-1541.
- [41] Chiba S. *Amyloglycosidase*. In: Handbook of Amylases and related enzymes. ed., The amylase Research Society of Japan, Pergamum Press: Oxford, U.K, **1988**.
- [42] Sim L., Quezada-Calvillo R., Sterchi E.E., Nichols B.L., Rose D.R. Human intestinal maltase-glucoamylase: crystal structure of the N-terminal catalytic subunit and basis of inhibition and substrate specificity. *J Mol Biol*. **2008**, 375, 782-792.
- [43] Kalra S. Alpha glucosidase inhibitors. *The journal of the pakistan medical association*. **2014**, 64(4), 474-476.
- [44] Krentz A.J., Bailey C.J. Oral Antidiabetic Agents: Current Role in Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs*. **2005**, 65, 385-411.
- [45] Sim L., Jayakanthan K., Mohan S., Nasi R., Johnston B.D., Pinto M.B., Rose D.R. New glucosidase inhibitors from an ayurvedic herbal treatment for type 2 diabetes: Structures and inhibition of human intestinal maltase-glucoamylase with compounds from *Salacia reticulata*. *Biochemistry*. **2010**, 49(3), 443–451.
- [46] Yamasaki Y., Katakami N., Hayaishi-Okano R., Matsuhisa M., Y.Kajimoto., Kosugi K., Hori M. Alpha-Glucosidase inhibitor reduces the progression of carotid intima-media thickness. *Diabetes. Res. Clin. Pract.* **2005**, 67, 204-210.
- [47] Watanabe K., Uchino H., Ohmura C., Tanaka Y., Onuma T., Kawamori R.J. Different effects of two alpha-glucosidase inhibitors, acarbose and voglibose, on serum 1,5-anhydroglucitol (1,5AG) level. *J. Diabetes Complicat*. **2004**, 18, 183-186.

- [48] Vichayanrat A., Ploybutr S., Tunlakit M., Watanake-jorn P. Efficacy and safety of voglibose in comparison with acarbose in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2002**, 55, 99-103.
- [49] Allain P. Le voglibose, inhibiteur de l'alpha-glucosidase, dans la prévention du diabète de type 2, **2009**. [En ligne]: <https://www.pharmacorama.com/2009/05/voglibose-inhibiteur-alpha-glucosidase-prevention-diabete-type-2/>. (Consulté le 28/04/2023).
- [50] Anonyme. Voglibose molecular structure, flat skeletal chemical formula. Alpha-glucosidase inhibitor drug used to treat Diabetes type 2. [En ligne] : https://stock.adobe.com/ch_fr/images/voglibose-molecular-structure-flat-skeletal-chemical-formula-alpha-glucosidase-inhibitor-drug-used-to-treat-diabetes-type-2-vector-illustration/482572432. (Consulté le 14/04/2023).
- [51] Kitamura M., Okuyama M., Tanzawa F., Mori H., Kitago Y., Watanabe N., Kimura A., Tanaka I., & Yao M. Structural and functional analysis of a glycoside hydrolase family 97 enzyme from *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Journal of Biological Chemistry*. **2008**, 283(52), 36328-36337.
- [52] Wang M., Wang M., Zhang F., Su X. A ratiometric fluorescent biosensor for the sensitive determination of alpha-glucosidase activity and acarbose based on N-doped carbon dots. *Analyst*. **2020**, 145(17), 5808-5815.
- [53] Hoffer L. Développement et validation du logiciel S4MPLE : Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug design. Thèse de doctorat en Chimoinformatique. France : Université de Strasbourg, **2013**.
- [54] Trouillas P. Modélisation moléculaire et biologie. Thèse de doctorat en Biophysique. France : Université de Lille, **2009**.
- [55] Anonyme. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase. [En ligne] : www.fac.umc.edu.dz pdf. (Consulté le 15/04/2023).
- [56] Schulz-Gasch T., Stahl M. Scoring Functions for Protein-ligand Interactions: A Critical Perspective. *Drug Discovery Today: Technologies*, **2004**, 1, 231-239.

- [57] Wang R., Lu Y., Fang X., Wang S. An Extensive Test of 14 Scoring Functions Using the PDB bind Refined Set of 800 Protein-ligand Complexes. *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, **2004**, 44, 2114-2125.
- [58] Alzheimer A., Stelzmann R.A., Schnitzlein H.N., Murtagh F.R. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde". *Clinical anatomy*. **1995**, 8, 429– 431.
- [59] Bouchagra S. Modélisation des interactions protéine - petites molécules : Étude de la relation structure – fonction dans le cas des lipases. Thèse de doctorat en Chimie Organique et Bioorganique. Algérie : Université Badji Mokhtar, **2018**.
- [60] Merzoug.A. Etude *in silico* de l'inhibition de la peptide déformylase. Mémoire de Magistère en Biochimie. Algérie : Université Mentouri Constantine, **2012**.
- [61] Mokrani E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Mémoire de Magister en Biochimie .Algérie : Université Mentouri Constantine, **2012**.
- [62] Leach A.R. *Molecular modelling: Principles and application*. ed., Pearson Education: Canada, **2001**.
- [63] Protein Data Bank. PDB statistics: Overall growth of released structures per year. [En ligne] : <https://www.rcsb.org/stats/growth/growth-released-structures>. (Consulté le 29/04/2023).
- [64] Pagadala N.S., Syed K., Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophys. Rev.* **2017**, 9, 91-102.
- [65] Taylor R.D., Jewsbury P.J., Essex J.W. FDS: flexible ligand and receptor docking with a continuum model and soft-core energy function. *J. Comput. Chem.* **2003**, 24(13), 1637-1656.
- [66] Bessadok A. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. Thèse de Doctorat en Bioinformatique Structurale. France : Université multiplicité de transport de Pierre et Marie curie, **2012**
- [67] Gore S., García E.S., Hendrickx P.M.S., Gutmanas A., Westbrook J.D., Yang H., Feng Z., Baskaran K., Berrisford J.M., Hudson B.P., Ikegawa Y., Kobayashi N., Lawson C.L.,

Mading S., Mak L., Mukhopadhyay A., Oldfield T.J., Patwardhan A., Peisach E., Sahni G., Sekharan M.R., Sen S., Shao C., Smart O.S., Ulrich E.L., Yamashita R., Quesada M., Young J.Y., Nakamura H., Markley J.L., Berman H.M., Burley S.K., Velankar S., Kleywegt G.J. Validation of Structures in the Protein Data Bank. *Structure*. **2017**, 25(12), 1916–1927.

[68] Berman H.M., Kleywegt G.J., Nakamura H., Markley J. L. How Community Has Shaped the Protein Data Bank. *Structure*. **2013**, 21(9), 1485–1491.

[69] Westbrook J.D., Burley S.K. How structural biologists and the Protein Data Bank contributed to recent fda new drug approvals. *Structure*. **2019**, 27(2), 211–217.

[70] National Library of Medicine, PubChem, **2020**. [En ligne] : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (consulté le 30/04/2023).

[71] Jain A.N. Surflex-Dock 2. 1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *J Comput Aided Mol Des*. **2007**, 21, 281–306.

[72] Boyle O., Noel M., Banck M., Crain A.J., Chris M., Vandermeersch T., Hutchison G.R. Open Babel: An Open Chemical Toolbox. *Journal of Cheminformatics*. **2011**, 3, 33.

[73] ViewerLite 4.2. [En ligne] <http://viewerlite.software.informer.com/4.2/>. (Consulté le 15/04/2023).

[74] Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME : A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. **2017**, 3(7), 42717.

[75] Université de Yonsei, « PreADMET », 2020. <https://preadmet.bmdrc.kr/> (consulté le 1/05/2023).

[76] Cronin M.T.D., Schultz T.W. Development of quantitative structure–activity relationships for the toxicity of aromatic compounds to *Tetrahymena pyriformis*: comparative assessment of the methodologies. *Chemical Research in Toxicology*. **2001**, 14, 1284-1295.

[77] Balaza S., Sturdik E., Durkova E., Antalík M., Sulo P. Quantitative structure-activity relationship of carbonylcyanide phenylhydrazones as uncouplers of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta*. **1986**, 851(1), 93-98.

- [78] Azarboni R H., Keyanpour M., Yaghouti M. Leave-two-out cross validation to optimal shape parameter in radial basis functions. *Engineering Analysis with Boundary Elements*. **2019**, 100, 204-210.
- [79] Luco J.M., Ferretti F.H. QSAR based on multiple linear regression and PLS methods for the anti-HIV activity of a large group of HEPT derivatives. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1997**, 37(2), 392-401.
- [80] Tagami T., Yamashita K., Okuyama M., Mori H., Yao M., Kimura A. Molecular basis for the recognition of long-chain substrates by plant & alpha-glucosidase. *J Biol Chem*. **2013**, 288, 19296-19303.
- [81] SwissADME. [En ligne] : <http://www.swissadme.ch>. (Consulté le : 25/03/2023).
- [82] Gupta P.K. *Illustrated Toxicology: With Study Questions*. 1st ed., Elsevier, **2018**.
- [83] Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **1997**, 23, 3-25.
- [84] Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.Y., Smith B.R., Ward K.W., Kopple K.D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2002**, 45(12), 2615-2623.
- [85] Savjani K.T., Gajjar A.K., Savjani J.K. Drug solubility: Importance and enhancement techniques. *International scholarly research notices pharmaceuticals*. **2012**, 2012,195727.
- [86] Allam L. Conception et évaluation des molécules anticancéreuses par approches *in silico* inhibiteurs des kinases AKT1 et LMTK3. Thèse de Doctorat en Biotechnologie et Biologie Moléculaire. Maroc: Université Mohammed V, **2020**.
- [87] Gao Z., Chen Y., Cai X., Xu R., Sahinalp C. Predict drug permeability to blood-brain-barrier from clinical phenotypes: Drug side effects and drug indications. *Bioinformatics*. **2017**, 33(6), 901908.
- [88] Moroy G., Martiny V.Y., Vayer P., Villoutreix B.O., Miteva, M.A. Toward in silico structure-based ADMET prediction in drug discovery. *Drug Discovery Today*. **2012**, 17(1–2), 44–55.

- [89] Wang Y., Xing J., Xu Y., Zhou N., Peng J., Xiong Z., Liu X., Luo X., Luo C., Chen K., Zheng M., Jiang H. Quart. In silico ADME/T modelling for rational drug design. *Rev. Biophys.* **2015**, 48(4), 488–515.
- [90] Levy D.D., Zeiger E., Escobar P.A., Hakura A., van der Leede B.M., Kato M., Moore M.M., Sugiyama K. Recommended criteria for the evaluation of bacterial mutagenicity data (Ames test). *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **2019**, 848, 403074.
- [91] Thibaut B. Approche toxicologique lors du développement d'un médicament radiopharmaceutique, application à une étude préclinique d'un nouveau traceur de la plaque d'athérome vulnérable. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. France: Université de Grenoble, **2016**.
- [92] Lee H.M., Yu M.S., Kazmi S.R., Oh S.Y., Rhee K.H., Bae M.A, Lee B.H., Shin D.S., Oh K.S., Ceong H., Lee D., Na D. Computational determination of hERG-related cardiotoxicity of drug candidates. *BMC Bioinformatics*. **2019**, 20(10), 250.
- [93] Neubig R.R., Spedding M., Kenakin T., Christopoulos A. International union Of pharmacology committee on receptor nomenclature and drug classification. XXX-VIII. Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. *Pharmacological Reviews*. **2003**, 55 (4), 597–606.
- [94] Kamel M., Ali H., Anwar M., Mohamed N., Soliman, A. Synthesis, antitumor activity and molecular docking study of novel Sulfonamide-Schiff's bases, thiazolidinones, benzothiazinones and their C-nucleoside derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2010**, 45, 572- 580.
- [95] Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual KS, Mokrani E.H. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase by several molecules. *Computational Biology and Bioinformatics*. **2014**, 2(5), 63-73.
- [96] Merzoug A., Mermoum S., Khaled S., Chikhi A., Bensegueni A., Boucherit H. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of *Staphylococcus aureus* peptide deformylase by GSK1322322 derivatives. *Journal Academica*. **2015**, 5, 16-29.

[97] Chikhi A., Bensegueni A. In silico study of the selective inhibition of bacterial peptide deformylases by several drugs. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*. **2010**, 3, 061-065.

for the recognition of long-chain substrates by plant & alpha-glucosidase. *J Biol Chem*. **2013**, 288, 19296-19303.

Présenté et soutenu par : - TABANE Hana

soutenu le: 22/06/2023

- BAOUTA Omayma

- ATROUZ Bochra

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité: Biochimie Appliquée

Thème:

Identification de nouveaux inhibiteurs de l'alpha glucosidase en tant qu'une stratégie thérapeutique pour traiter le diabète de type 2

Résumé

Le diabète non insulino-dépendant est une maladie métabolique caractérisée par un excès chronique de sucre dans le sang. L'alpha-glucosidase est une enzyme clé dans la digestion des glucides, ce qui le fait une cible thérapeutique importante dans le traitement de cette pathologie.

Focalisés sur le traitement du diabète de type 2, nous avons utilisé la méthode d'arrimage moléculaire avec le programme Surfex-dock pour identifier de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'alpha-glucosidase. Avec un coefficient de corrélation entre l'affinité de 44 complexes différents simulée par docking moléculaire et l'activité biologique déterminée *in vitro* égal à 0.71, la performance du programme Surfex-dock est avérée.

Le criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques de l'inhibiteur de référence, l'acarbose, fait ressortir le composé CID_10815496 comme un nouvel inhibiteur potentiel de l'alpha-glucosidase avec une affinité supérieure à celle de l'acarbose, tous deux ayant des interactions comparables avec le site actif de l'enzyme et des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques intéressantes.

Cette étude a fait ressortir le composé CID_10815496 comme un nouvel agent antidiabétique.

Mots clés : Diabète de type 2, alpha-glucosidase, docking moléculaire, Surfex-dock, agent antidiabétique.

Jury d'évaluation :

Présidente : BOUKERIA Sabah M.C.A Centre.Univ.A.Boussouf-Mila

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

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

Année universitaire :2022/2023