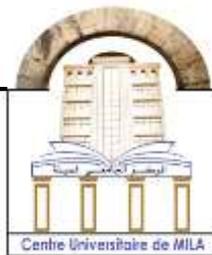


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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 :

**Modélisations des interactions dipeptidyl peptidase 4-
inhibiteurs à l'aide de technique de docking moléculaire**

Présenté par :

- **KECHACHA Fatima**
- **HABILA Hadil**
- **BOUADJEL Omaima**

Devant le jury :

BOUCHERIT Hanane	(MCB) Centre universitaire de Mila	Présidente
LALAOUI Meriem	(MCB) Centre universitaire de Mila	Examinatrice
MERZOUG Amina	(MCA) Centre universitaire de Mila	Promotrice

Année Universitaire : 2022/2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال تعالى:

(يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا
الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ)

الآية 11، سورة المجادلة.

Modélisation des interactions de la dipeptidyl peptidase 4-inhibiteurs à l'aide de technique de docking moléculaire

Résumé :

Le diabète de type 2 est une maladie chronique, silencieuse et indolore, qui se caractérise par un taux de sucre trop élevé dans le sang. Cette accumulation dans le sang est due à un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation.

Dans notre travail, nous avons focalisés sur le traitement du diabète de type 2 basé sur l'inhibition de la dipeptidyl peptidase 4. Ce dernier c'est une enzyme qui sert à la dégradation des incrétines ; ils potentialisent l'effet du glucose sur la sécrétion d'insuline et améliorent l'équilibre glycémique chez les patients diabétiques.

Pour réaliser ce travail, en faisant appel aux méthodes de modélisation moléculaire plus particulièrement le docking par le programme Surflex-dock qu'il est avéré assez performant pour reproduire le test expérimental puisque 72,50% des valeurs de RMSD sont inférieures à 2Å et d'après l'analyse visuelle des ligands nous avons pu confirmer la performance de ce programme.

Cette méthode a été utilisée pour étudier le mode d'interaction des complexes dipeptidyl peptidase 4-inhibiteurs et de découvrir *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants. Cette étude a fait ressortir les composés CID 145676316 et CID 68023157 comme des nouveaux agents antidiabétiques avec plus d'affinités par rapport aux agents précédemment connus.

Enfin, Nous avons prédit les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et vérifie aussi la toxicité de ces nouvelles molécules proposées.

نمذجة تفاعلات مثبطات 4 dipeptidyl peptidase باستخدام تقنية الالتحام الجزيئي

ملخص

داء السكري من النوع 2 هو مرض مزمن وصامت وغير مؤلم يتميز بارتفاع مفرط في مستويات السكر في الدم. هذا التراكم في الدم ناتج عن اضطراب في استيعاب و استخدام وتخزين السكريات التي يوفرها الطعام.

في عملنا ، ركزنا على كيفية علاج مرض السكري من النوع 2 عن طريق تثبيط ثنائي بيتيدل بيتيداز 4. وهذا الأخير هو إنزيم يستخدم في تحلل الإنكريتينات اي انها تقوي تأثير الجلوكوز على إفراز الأنسولين وتحسن التحكم في نسبة السكر في الدم لدى مرضى السكري.

لتنفيذ هذا العمل قمنا باستخدام طرق النمذجة الجزيئية ، وبشكل أكثر تحديداً الالتحام بواسطة برنامج Surflex-dock. هذا البرنامج قد ثبت أنه فعال بما يكفي لإعادة إنتاج الاختبار التجريبي نظراً لأن 72.50% من قيم RMSD أقل من 2 Å ووفقاً لتحليل الروابط المرئية كنا قادرين على اختبار أداء البرنامج والقول بأنه موثوق.

تم استخدام هذه الطريقة لدراسة طريقة تفاعل مركبات مثبطات ثنائي بيتيدل بيتيداز 4 واكتشاف مثبطات جديدة أكثر فعالية. في هذه الدراسة سلطنا الضوء على المركبين CID 145676316 و CID 68023157 كعوامل جديدة مضادة لمرض السكر مع تقارب أكبر مقارنة بالعوامل المعروفة سابقاً.

أخيراً، توقعنا الخصائص الفيزيائية والكيميائية والحركية الدوائية وتحققنا أيضاً منسمية هذه الجزيئات المقترحة الجديدة.

الكلمات المفتاحية: داء السكري من النوع 2 ، ثنائي بيتيدل بيتيداز 4 ، الالتحام الجزيئي ، Surflex-dock.

Modeling of dipeptidyl peptidase 4-inhibitor interactions using molecular docking technique

Abstract

Type 2 diabetes is a chronic and painless disease. It is characterized by excessive high blood sugar levels. This accumulation of blood results from a disturbance in the absorption, use and storage of sugars provided by food.

In our work, we focused on how to treat type 2 diabetes by inhibiting dipeptidyl peptidase 4 which is an enzyme used in decomposition of encritins, it strengthens the effect of glucose on insulin secretion and improves blood sugar control in diabetic patients.

To carry out this work, we use the molecular modeling methods and more specifically the molecular docking approach by Surflex-dock software, it has been shown to be effective enough to reproduce the experimental test since 72.50% of RMSD values are less than 2Å. According to visual analysis, we were able to confirm the program's performance.

This method was used to study the interaction mode of dipetidyl peptidase 4-inhibitor complexes and to detect in silico new and more effective inhibitors. In this study we highlighted the compounds CID 145676316 and CID 68023157 as new antidiabetic agents with more affinities compared to previously known agent. Finally, we predicted the physical, chemical and kinetic properties and also verified the toxicity of these new proposed compounds.

Keywords: Type 2 diabetes, dipeptidyl peptidase 4, molecular docking, Surflex-dock.

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah qui nous a donné la force et la volonté pour accomplir ce travail.

Nos vifs remerciements à notre directrice de recherche Dr. Amina MERZOUG de nous avoir accordé et guidé tout au long de la recherche ainsi pour sa disponibilité, sa patience et ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier les membres de jury :

Dr. BOUCHERIT Hanane, d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire aussi, Dr. LALAOUI Meriem d'avoir accepté de juger et examiner ce travail.

Nous exprimons notre gratitude à tous nos enseignants, en particulier : Mme A.MERZOUG, Mme H.BOUCHRIT, Mme H.BOUKARIYA et Mr M.ZOUAGHI, merci pour la qualité d'enseignement que vous nous avez prodigué tout au long du parcours.

Nous remercions sincèrement toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avec l'aide de dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie avec profonde et sincères mots :

A mon père Kamel, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et ma source de joie et bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.

A ma mère Nadjet, l'exemple parfait de la femme idéale, le symbole de l'amour, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur.

A vous mes Chers parents et tout ce que j'ai dans ma vie, que Dieu vous garde, J'espère qu'un jour Allah me donnera m'aide pour vous honorer et vous rendre ce que vous méritez.

A moi-même, je me tire un chapeau pour tout ce que j'ai fait tout au long de ces années, fière de moi !

A ma meilleure amie, mon bras droit, la source de mon inspiration, à toi Hadil tu es toujours mon soutien.

A ma chère tante et mes cousines Samiha et Aasma pour leur aide et supports dans les moments difficiles.

A ma petite sœur Raghad, je te souhaite tout le bonheur et la réussite dans ta vie.

Au Trio, avec qui j'ai passé des moments incroyables et inoubliables, je suis tellement reconnaissante de travailler avec vous, vous étiez et vous restez toujours le signe d'un bon choix.

A mon encadrante MERZOUG Amina et Tous mes enseignants.

A tous ceux que j'aime, ceux qui m'aiment et me respectent de près ou de loin.

Fatima



Dédicaces

Avec mes sentiments de gratitude, je dédie cet humble travail :

*A l'âme de mon cher grand-père Touhami qu'Allah garde ton âme dans son vaste paradis,
tu restes toujours vivant dans ma mémoire et mon cœur.*

*A mon très cher papa Farid mon roi et mon supporteur qui a consacré sa vie pour
m'instruire et qui m'a éclairé le chemin vers la réussite en disant «ma fille ... la volonté
fera des miracles ».*

*A ma chère maman Hadda, ma reine et tout ce que j'ai dans ma vie, la femme son laquelle,
je n'aurai jamais vu ce jour-là.*

J'ai de la chance d'être votre fille ainée.

*A ma deuxième mère, ma grand-mère Masseouda, la femme la plus tendre au monde qui
m'a élevé les bonnes valeurs avec ses précieux conseils.*

*A moi-même, bravo Hadil ! Célébres ta réussite ! Enfin, tu vis ton rêve, fière de toi ma
petite.*

A ma moitié, ma jumelle Nadine, la source de ma joie, ma motivation et ma force.

A mon très cher et unique frère Abdeladime, mon héros et celui qui m'encourage toujours.

A ma petite sœur gâtée Yasmine, la princesse de notre petite famille.

*A ma meilleure amie, mon bras droit, la source de mon inspiration, à toi Fatima tu es
toujours mon soutien.*

*A mes proches et mes amis, pour leur soutien moral et leurs encouragements tout au long
du parcours.*

*Au Trio, avec qui j'ai passé des moments incroyables et inoubliables, je suis tellement
reconnaissante de travailler avec vous, vous étiez et vous restez toujours le signe d'un bon
choix.*

A tous les membres de ma famille.

*A tous les enseignants du département sciences de nature et de la vie particulièrement notre
encadrante M^{me} MERZOUG Amina, pour leurs conseils et leur enseignement tout au long
des cinq ans.*

Hadil



Dédicace

Tout d'abord je remercie Allah qui m'a permis d'arriver jusqu'ici et de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté d'achever ce modeste travail que je dédie :

A moi-même, je me remercie du fond de cœur pour ma persévérance tout au long du parcours.

A la lumière de mes yeux, la perle rare, la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a jamais épargné aucun effort pour me rendre heureuse mon adorable mère Sabah, que dieu te garde pour moi.

Au premier amour de ma vie, l'être le plus cher, la raison de ma réussite, mon cher père Salim. Je te remercie pour ton amour, ta générosité, ta compréhension, ton aide financière et ton soutien qui fut une lumière dans tout mon parcours, j'espère te rendre fière par cette réussite.

Je vous remercie mes parents, pour tous les sacrifices que vous n'as cessé de me donner depuis ma naissance.

A ma grande sœur Amani, son mari Zaki et la brunelle de leurs yeux Bissane.

À mes chéries Nada, Rihab, Abir mes petites sœurs et le signe de ma joie.

Au Trio, avec qui j'ai passé des moments incroyables et inoubliables, je suis tellement reconnaissante de travailler avec vous, vous étiez et vous restez toujours le signe d'un bon choix.

A mes chères proches, mes amies d'enfance Hiba et Imane qui ont vécu avec moi les meilleurs moments ainsi que les mauvais.

A tous mes amis, avec qui j'ai partagé une salle, un amphi, un café, un repas, tout au long des cinq ans.

A mon encadrante MERZOUG Amina et Tous mes enseignants.

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

Oumayma



Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
Références bibliographiques	

Chapitre I: Généralité sur le diabète de type 2

I. Définition du diabète	5
II. Historique du diabète	5
III. Classification du diabète	5
IV. Epidémiologie du diabète	6
V. Diabète type 2	7
VI. Physiopathologie du diabète de type 2	7
VII. Facteurs de risque du diabète de type 2.....	8
VII.1. Facteurs génétiques.....	8
VII.2. Facteurs environnementaux	8
VII.3. Facteurs physiologiques.....	9
VII.4. Facteurs pathologiques	9
VIII. Symptômes du diabète de type 2	10
IX. Diagnostic du diabète type 2	10
X. Complications du diabète.....	11
X.1. Complications métaboliques	11
X.2. Complications chroniques	11
X.3. Complications infectieuses.....	12
XI. Traitement du diabète	12
XI.1. Traitements non médicamenteux	13
XI.2. Traitement médicamenteux.....	13

XI.2.1. Médicaments hypoglycémiants oraux	13
XI.2.2. Insulinothérapies	15

Références bibliographiques

Chapitre II: Dipeptidyl peptidase 4

I. Définition.....	20
II. Structure de la dipeptidyl peptidase 4	20
III. Le site actif de l'enzyme	20
IV. Classification de la dipeptidyl peptidase 4	21
V. Localisation de la dipeptidyl peptidase 4	21
VI. Substrats de la DPP4.....	22
VII. Physiologie et rôle du GIP et du GLP-1	22
VIII. Enzymes proches de la DPP4	24
IX. Pharmacologie des inhibiteurs de la DPP4	24
X. Mécanisme d'action	25
X.1. Sitagliptine.....	25
X.2. Vildagliptine	26
X.3. Linagliptine	26
X.4. Saxagliptine	26

Références bibliographiques

Chapitre III: Docking moléculaire

I. Définition.....	31
II. Principe	31
III. Les approches du docking moléculaire.....	32
IV. Applications de docking	33
V. Protocole générale de docking	33
VI. Outils du docking moléculaire.....	34
VI.1. Un ligand.....	34

VI.2. Un récepteur	35
VII. Interaction protéine-ligand	36
VIII. Les programmes du docking	39
IX. Le programme de docking moléculaire Surfex-dock	40

Références bibliographiques

Chapitre IV: Matériel et méthodes

I. Matériel.....	46
I.1. Microordinateur	46
I.2. Réseau internet.....	46
I.3. Programmes utilisés	46
I.3.1. Surfex-dock 1.3.....	46
I.3.2. Open Babel 2.0.2.....	47
I.3.3. Viewerlite 4.2.....	47
I.3.4. Excel 2010.....	48
I.4. Banques de données.....	48
I.4.1. La Protein Data Bank	48
I.4.2. PubChem	49
I.5. Serveurs.....	50
I.5.1. SwissADME :.....	50
I.5.2. PreADMET	51
II. Méthodes	52
II.1. Réalisation du docking moléculaire	52
II.1.1. Préparation du récepteur	52
II.1.2. Préparation de ligand	52
II.1.3. Docking par Surfex-dock.....	53
II.2. Traitement de résultat	53
III. Prédiction de la similarité médicamenteuse.....	54

III.1. Absorption.....	54
III.2. La distribution	54
III.3. Métabolisme	54
III.4. Elimination.....	54
III.5. Propriétés physico-chimiques	55
III.6. Propriétés pharmacocinétiques.....	56
III.7. Toxicité.....	56
Références bibliographiques.....	58

Chapitre V: Résultats et Discussion

I. La fiabilité du programme Surflex-dock	61
I.1. Test RMSD (<i>root mean square deviation</i>)	61
I.2. Analyse visuelle	64
II. Etude des interactions intervenantes dans l'inhibition de la dipeptidyl peptidase 4	68
II.1. Choix du code 4A5S.....	68
II.2. Choix des inhibiteurs à étudiés	68
II.3. Résultats du docking.....	69
III. Proposition de nouveaux inhibiteurs.....	70
IV. Prédiction du mode d'interaction des deux meilleurs composés.....	75
V. Prédiction de la similarité médicamenteuse.....	78
V.1. Les paramètres physicochimiques.....	78
V.2. Les paramètres pharmacocinétiques.....	79
V.3. Prédiction de la toxicité.....	79
Références bibliographiques.....	81
Conclusion	83
Résumé	

Liste des abréviations

3D : Tridimensionnelle.

Å: Angström.

ADCP 2: *Adenosine Deaminase Complexing Protein 2*.

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

ADME-Tox : Absorption Distribution Métabolisme Elimination – Toxicité.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATP: Adénosine triphosphate.

BBB: *Blood–brain barrier*.

CD26: *Cluster of Differentiation 26*.

CID: Dénomination commune internationale.

CYP: Enzymes hépatiques Cytochrome P450.

DNID: Diabète non insulino-dépendant.

DPP4: Dipeptidyl peptidase 4.

EC : Commission des enzymes

FAP : *Fibroblast activation protein*.

GHz: Gigahertz.

GI absorption : Absorption gastro-intestinale.

GIP: *Glucose dependent insulintropic polypeptide*.

GLP-1: *Glucagon like peptide 1*.

GLP-2: *Glucagon-Like Peptide-2*.

HbA1c : Hémoglobine glycolysée ou glyquée.

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

HLHC: Hormone de libération de l'hormone de croissance.

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

M⁻¹ : Molarité⁻¹.

NPY : Neuropeptide Y.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAACH: Polypeptide activateur de l'adénylate cyclase hypophysaire.

PDB: *Protein Data Bank.*

PIV: *Polypeptide intestinal vasoactif.*

PLG: Polypeptide libérant de la gastrine.

PPAR-γ : Récepteur gamma activé par les proliférateurs des peroxysomes.

PSA : surface polaire.

PYY: Peptide YY.

QPP: *Quiescent cell proline dipeptidase.*

RAM: *Random access memory.*

RMN: Résonance magnétique nucléaire.

RMSD: *Root mean square deviation.*

SARS-coV-2: *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.*

SGLT-2: Co-transporteur sodium- glucose 2.

Smi: *SMILES format.*

SNC: Système nerveux central.

Test d'Ames : Test de mutation bactérienne reverse.

TPSA: *polar surface area.*

Xyz: *XYZ cartesian coordinates format.*

Liste des figures

Numéro de figure	Titre de figure	Page
Figure I.1	Diabète type 2.	7
Figure I.2	Physiopathologie du diabète de type 2.	8
Figure I.3	Illustration des principaux mécanismes d'action des différentes classes d'antidiabétiques oraux.	15
Figure II.1	Site actif de la DPP4 humain.	21
Figure II.2	Physiopathologie de l'axe des incrétines : effets du GLP-1 et du GIP sécrétés en réponse à la prise alimentaire.	24
Figure II.3	Structures chimiques des gliptines.	25
Figure III.1	Docking protéine-ligand.	31
Figure III.2	Les étapes principales du docking.	32
Figure III.3	Protocole générale du docking moléculaire.	34
Figure III.4	Les interactions électrostatiques.	36
Figure III.5	Les forces de Van Der Waals.	37
Figure III.6	Exemple d'une liaison hydrogène.	38
Figure III.7	Les interactions hydrophobiques.	39
Figure IV.1	Capture d'écran du programme OpenBabel.	47
Figure IV.2	Capture d'écran du logiciel ViewerLite.	48
Figure IV.3	Capture d'écran du site de la <i>Protéine Data Bank</i> .	49
Figure IV.4	Capture d'écran du site de la banque PubChem.	50
Figure IV.5	Capture d'écran du site de serveur SwissADME.	51
Figure IV.6	Capture d'écran du site de serveur PreADMET.	52
Figure IV.7	Capture d'écran d'un exemple du résultat de docking moléculaire donné par le programme Surflex-dock.	53
Figure IV.8	Capture d'écran d'un résultat du calcul de RMSD par le programme Surflex-dock.	54
Figure IV.9	Représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme.	55
Figure V.1	Résultats en % obtenus par Surflex-dock à deux intervalles du RMSD (A°).	64

Figure V.2	Résultats en % obtenu par Surfex-dock à divers intervalles du RMSD.	64
Figure V.3	Superposition du ligand 605 du complexe 3D4L simulé par Surfex-dock (coloré en jaune) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=0,308Å).	66
Figure V.4	Superposition du ligand AAF du complexe 2G63 simulé par Surfex-dock (coloré en jaune) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=2,145Å).	66
Figure V.5	Superposition du ligand CJP du complexe 4PV7 simulé par Surfex-dock (coloré en jaune) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=7,506Å).	67
Figure V.6	Mode de liaison du composé vildagliptine avec le site actif de la DPP4.	70
Figure V.7	Mode de liaison du composé CID145676316 avec le site actif de la dipeptidyl peptidase 4.	76
Figure V.8	Mode de liaison du composé CID68023157 avec le site actif de la dipeptidyl peptidase 4.	77

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau II.1	Comparaison des principales caractéristiques du GLP-1 et du GIP.	23
Tableau III.1	Les Principaux programmes de docking moléculaire.	39
Tableau IV.1	Caractéristiques des microordinateurs utilisés.	46
Tableau V.1	Liste de 120 complexes utilisés pour tester la fiabilité du programme Surflex-dock et leurs chiffres de RMSD.	61
Tableau V.2	Valeurs de RMSD des trois complexes choisis.	65
Tableau V.3	Les caractéristiques du code choisi.	68
Tableau V.4	Structures moléculaires, nomenclatures, affinités prédites (Kj/mol) des inhibiteurs étudiés avec la DPP4.	69
Tableau V.5	Résultats de docking moléculaire de 210 vildagliptine dérivatives dans le complexe 4A5S.	71
Tableau V.6	Les deux meilleurs inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4.	75
Tableau V.7	Paramètres des règles de Lipinski et de Veber pour l'inhibiteur de référence et les deux meilleurs similaires.	78
Tableau V.8	Paramètres pharmacocinétiques de l'inhibiteur vildagliptine et les deux meilleurs similaires.	79
Tableau V.9	Le profil de toxicité de l'inhibiteur de référence et les deux meilleurs similaires.	80

Introduction

Introduction

Les maladies chroniques constituent le principal problème de morbidité à l'échelle mondiale, puisqu'elles sont responsables de 63 % des décès (1).

Parmi ces maladies chroniques les plus fréquents on distingue le diabète qui se définit par l'une des plus anciennes maladies connues de l'humanité dont l'effet dévastateur augmente de jour en jour et gravement à un niveau épidémique. Il est caractérisé par une hyperglycémie chronique consécutive à une insuffisance de sécrétion d'insuline par le pancréas (insulino-carence), des anomalies de l'action de cette insuline au niveau des tissus-cibles (insulino-résistance) ou le plus souvent à une interaction des deux anomalies (2).

Le diabète peut entraîner à long terme des complications macro-vasculaires ou des complications micro-vasculaires. leur traitement consiste à contrôler le niveau glycémique des patients par des mesures diététiques, des antidiabétiques oraux et injectables (insulinothérapie) mais la classe de médicaments la plus en vogue actuellement est celle des inhibiteurs de l'enzyme dipeptidyl peptidase-4 (DPP4), communément appelés gliptines (3) qui bloquent l'action de cette enzyme connue pour dégrader les incrétines (GLP-1) qui sont des hormones gastro-intestinale stimule la sécrétion d'insuline lorsque la glycémie est trop élevée (4). L'inhibition de la DPP4 entraîne donc l'augmentation de GLP-1 et la sécrétion d'insuline.

L'interaction entre une protéine et son ligand, inhibiteur ou substrat, est la première étape dans la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre les molécules. Ceci démontre l'importance d'approfondir l'étude biochimique de la DPP4 dans le but de mieux comprendre le mécanisme d'action et contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs par les nouvelles approches de modélisation moléculaire. Plus précisément l'amarrage ou le docking moléculaire (5).

Le docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association, affinité ou énergie d'interaction, entre ces deux molécules. (6)

Pour cela nous avons orienté notre recherche sur l'inhibition de la DPP4, afin d'identifier d'autres inhibiteurs plus puissants en utilisant la méthode de docking moléculaire.

Nous présentons cette étude selon cinq chapitres :

- Dans **le premier chapitre** nous avons effectué une recherche bibliographique sur le diabète de type 2.
- **Le deuxième chapitre** est consacré à l'étude de l'enzyme dipeptidyl peptidase 4 ainsi qu'à ses inhibiteurs.
- **Le troisième chapitre** se consacre à expliquer le processus d'amarrage moléculaire et ses applications.
- **Le quatrième chapitre** porte sur une description du matériel utilisé et des méthodes employées.
- Dans **le cinquième chapitre** : nous avons analysé et discuté les résultats obtenus.
- Enfin, **une conclusion générale** résume l'ensemble du travail réalisé et présenté les perspectives d'études que nous envisagerons pour l'avenir.

Références bibliographiques

- (1) Mireau J., Gaudreault N., Laframboise F. De la maladie chronique à une population en santé. *Le point en administration de la santé et des services sociaux*. **2011**, 7(3).
- (2) Mrabti H.N. Étude pharmacologique toxicologique de l'*Arbutus unedo* L. au Maroc. Thèse de doctorat en Sciences du médicament. Maroc : Université Mohammed V de Rabat. **2018**, 157p.
- (3) Bagbila W.P., Naone M., Yaméogo T.M., Kyelem C.G., Sagna Y., Ilboudo A., Ouédraogo S.M., Drabo Y.J. Score clinique finlandais de risque de diabète de type 2 et facteurs de risque en milieu étudiantin au Burkina Faso. *Médecine des maladies Métaboliques*. **2019**, 13, 459463.
- (4) Andaloussi A.B. Étude des propriétés antidiabétiques de *Nigella sativa* : sites d'action cellulaires et moléculaires. Thèse de doctorat en Pharmacologie. France : Université de Montréal, **2009**.
- (5) Wodak S.J., Janin J. Computer analysis of protein-protein interactions. *J. Mol. Biol.* **1978**, 124, 323-342.
- (6) Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Mémoire de Magister. Algérie: Université Mentouri Constantine, **2012**.

Chapitre I:
Généralité sur le diabète
de type 2

I. Définition du diabète

Parmi les maladies métaboliques les plus fréquentes, nous distinguons le diabète. Ce dernier signifie une hyperglycémie qui se traduit par l'accroissement chronique de la concentration de glucose dans le sang (1). De plus, l'augmentation des sucres dans le sang est principalement liée à un défaut de la sécrétion d'insuline (autodestruction des îlots de Langerhans par la réaction immunitaire), de l'utilisation d'insuline par l'organisme, ou d'une manque de production de la même hormone qui a un rôle de faire stocker le glucose du sang au niveau des cellules des tissus de l'organisme ou il est converti en énergie nécessaire au bon fonctionnement des muscles et des tissus (2).

II. Historique du diabète

La première référence au diabète apparaît dans un papyrus égyptien datant d'environ 1500 avant Jésus Christ. Le nom de diabète sucré – d'après le mot latin mel, signifiant « miel » – fut donné, à cause de la douceur de l'urine diabétique, par Thomas Willis, médecin britannique du XVIIe siècle. Il remarqua également que, bien que la maladie soit rare dans les temps anciens, sa fréquence augmentait. La cause du diabète resta inconnue jusqu'à la fin du XIXe siècle, lorsque Joseph Von Mering et Édouard Hedon trouvèrent l'association entre diabète et pancréas. Enfin, en 1893, le pathologiste français Gustave-Édouard Languesse découvrit que la régulation de la glycémie dépendait d'une hormone sécrétée par le pancréas : l'insuline (3).

III. Classification du diabète

En 1997, un groupe d'experts de l'Association Américaine du Diabète annoncent une classification nosologique du diabète remplace celle élaborée en 1979 par le *National Diabetes Data group* qui entérinée en 1980 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (1) :

➤ Diabète de type 1

Le diabète insulino-dépendant représente 10 à 15 % des cas du diabète. Il se présente soit dans l'enfance, l'adolescence ou le début de l'âge adulte. Il s'agit d'une maladie auto-immune dans laquelle le système immunitaire fabrique des anticorps qui détruisent les cellules productrices d'insuline dans le pancréas. Il n'est actuellement pas possible de prévenir ce type de diabète (1).

➤ **Diabète de type 2**

Le diabète sucré non insulino-dépendant (DNID) représente environ 90% des cas de diabète. Il se présente généralement à l'âge adulte, chez les personnes plus de 40 ans. Apparaît après un double problème. D'une part, il y a l'émergence de la résistance à l'insuline dans les tissus périphériques. D'autre part, les cellules peuvent toujours produire l'insuline, mais elles ne peuvent pas compenser la résistance à l'insuline (4).

➤ **Diabète gestationnel**

Il se caractérise par une hyperglycémie, c'est-à-dire une élévation de la teneur en sucre du sang, avec des valeurs supérieures à la normale, mais inférieures à celles posant le diagnostic de diabète, apparaissant pendant la grossesse. Les femmes ayant un diabète gestationnel ont un risque accru à des complications pendant la grossesse et à l'accouchement. Leur risque ainsi que celui de leur enfant, d'avoir un diabète de type 2 à un stade ultérieur de leur vie augmente également (5).

➤ **Diabète secondaire**

Rarement, il existe des troubles génétiques, des infections, des troubles pancréatiques exocrines, des troubles endocriniens et des causes liées à la drogue (6). Ce type de diabète peut entraîner la destruction des îlots pancréatiques, entraînant un hypoinsulinisme, une résistance à l'insuline ou une combinaison des deux (7).

IV. Epidémiologie du diabète

Le diabète est la cause de décès de 3 à 4 millions de personnes chaque année dans le monde. Selon les données de l'OMS, le nombre de diabétiques était de 150 millions en 2000, de 366 millions en 2010 et de 382 millions en 2013, ce chiffre passera à 552 millions en 2030 (8).

En Algérie, la prévalence du diabète a considérablement augmenté pour passer de 8% en 1998 à 16% en 2013, et 18% de la population algérienne est atteinte en 2018. Cette hausse inquiétante, prouvée par plusieurs études menées en Algérie durant les 15 dernières années. La prévalence du diabète sucré non diagnostiqué en Afrique du Nord variait de 18% à 75% de tous les cas de diabète (9).

V. Diabète type 2

Le diabète de type 2 est la forme la plus courante de diabète, c'est une maladie hétérogène non auto-immune. Il se caractérise par une résistance à l'insuline et une absence relative de la sécrétion d'insuline (Figure I.1), l'une ou l'autre de ces deux caractéristiques prédominant à des degrés divers, restant asymptomatique pendant des années et sans diagnostic, pouvant également entraîner des complications (10).

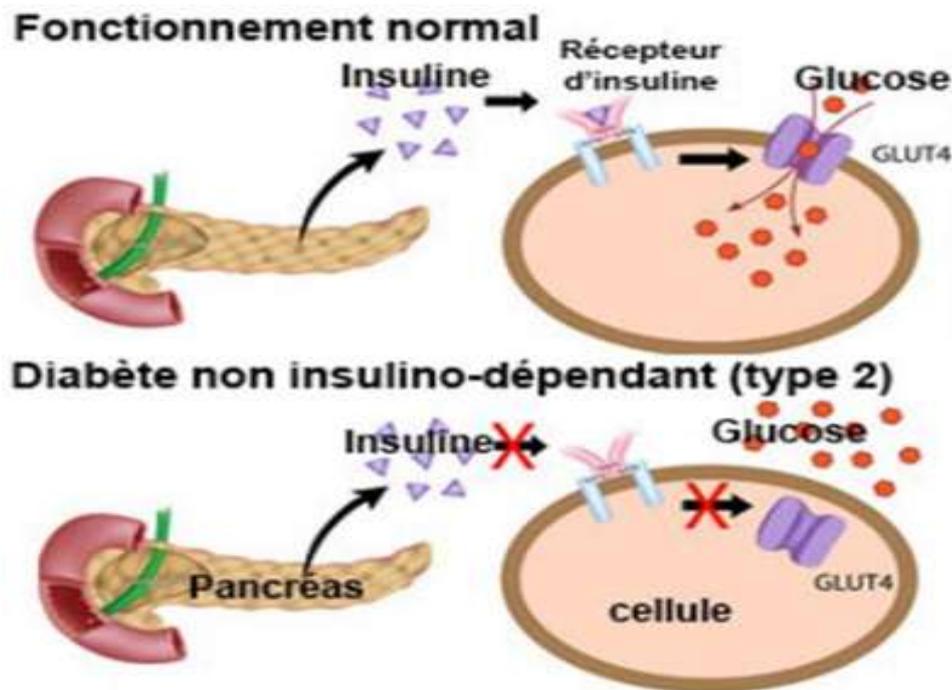


Figure I.1: Diabète type 2 (11).

VI. Physiopathologie du diabète de type 2

La physiopathologie du diabète de type 2 est complexe, Il apparaît généralement suite à un double problème : dans un premier temps, un état d'insulinorésistance vient s'installer, empêchant l'organisme d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. En fait, l'insulinorésistance peut mener à une aggravation du diabète. Chez les personnes insulinorésistantes, le glucose sanguin pénètre plus difficilement dans les cellules musculaires, adipeuses et hépatiques, où il doit être normalement stocké, ce qui cause une hyperglycémie (Figure I.2). Dans ces circonstances, l'organisme doit produire une quantité de plus en plus importante d'insuline afin de maintenir une glycémie constante. On estime que 90 % des personnes atteintes de diabète de type 2 sont insulinorésistantes (12). Après plusieurs années (10 à 20 parfois), la première réponse à la résistance à l'insuline est une

augmentation de la production d'insuline, entraînant une fatigue du pancréas qui ne peut plus sécréter l'insuline nécessaire à la régulation du taux de sucre dans le sang : c'est l'insulino-déficience (13).

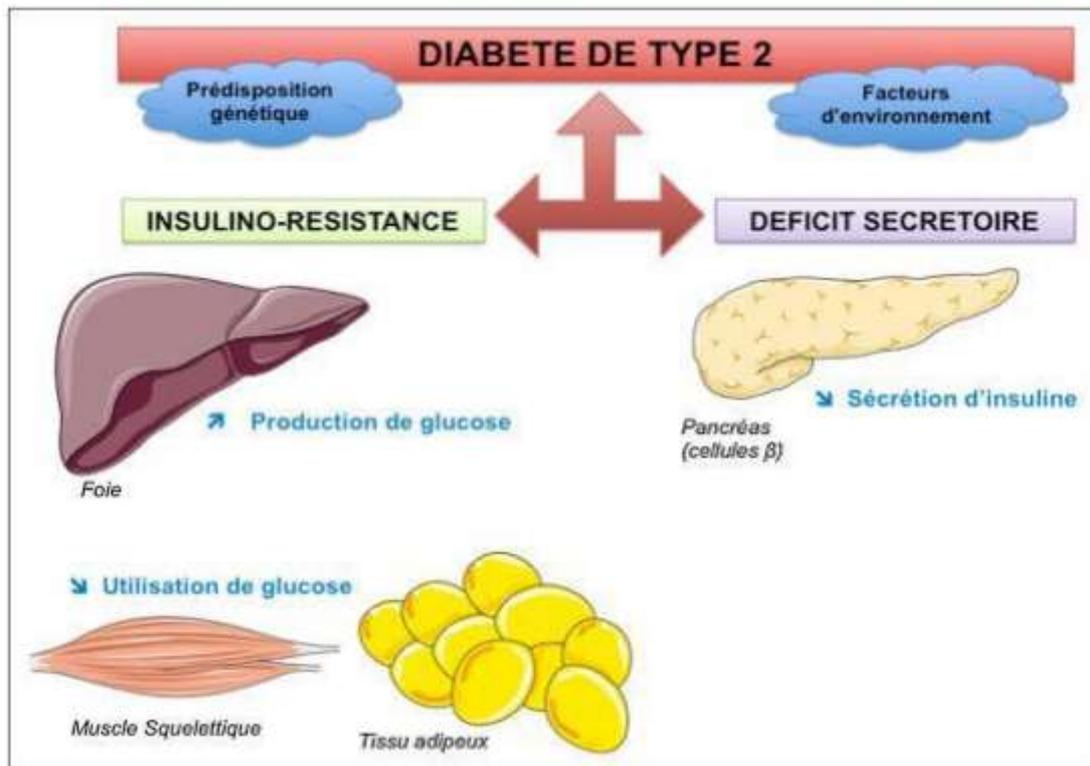


Figure I.2: Physiopathologie du diabète de type 2 (14).

VII. Facteurs de risque du diabète de type 2

VII.1. Facteurs génétiques

La présence d'un patient atteint du diabète de type 2 augmente le risque de développer un diabète chez les membres de cette famille, qui est bénéfique pour l'implication de la génétique dans l'apparition du diabète de type 2 (15).

VII.2. Facteurs environnementaux

- Obésité

C'est un facteur de risque majeur qui touche 80% des diabétiques de type 2 qui sont obèses ou en surpoids, particulièrement lorsqu'il s'agit d'une obésité abdominale liée à l'augmentation du tissu gras viscéral (16).

- **Mauvaise alimentation**

Une alimentation riche en acides gras saturés entraîne une insulino-résistance. Au cours de la période fœtale, la malnutrition protéino-calorique (alimentation déséquilibrée) aurait pour certaines personnes un effet diabéto-gène.

- **Sédentarité**

Constitue un facteur de risque, puisque des études récentes montrent que l'exercice continu entraîne l'amélioration de l'équilibre glycémique (17).

VII.3. Facteurs physiologiques

- **Grossesse**

Le blocage d'action de l'insuline à cause de la sécrétion des hormones au fur et à mesure de la grossesse.

- **Age**

La fonction pancréatique décline avec l'âge (17).

VII.4. Facteurs pathologiques

- **Infections**

Certains virus peuvent détruire les cellules β chez les individus sensibles.

- **Défaut du système immunitaire**

Plusieurs facteurs détruisent les cellules β en déclenchant le système immunitaire des cellules β . Cependant, il ne provoque pas des symptômes du diabète.

- **Traumatisme physique**

Certain problème (accident ou blessure) peut provoquer un blocage de la sécrétion d'insuline par la destruction du pancréas.

- **Médicaments**

Les médicaments prescrits pour une autre condition peuvent révéler un diabète. (Médicaments à base de cortisone et certains médicaments contre l'hypertension).

- **Stress**

Pendant les périodes de stress il y a une libération des hormones qui peuvent bloquer l'effet d'insuline (18).

VIII. Symptômes du diabète de type 2

Les symptômes du diabète de type 2 sont malheureusement rarement détectables sans effectuer une analyse sanguine (mesure de la glycémie) d'où l'importance de faire régulièrement un check-up chez le médecin, ce qui est surtout recommandé chez les personnes en surpoids, car le risque de développer un diabète de type 2 est plus élevé chez ces individus. Cependant dans certains cas des signes ou des symptômes de diabète de type 2 peuvent être visibles (19), comme :

- **Polyurie** : Besoin fréquent d'uriner (même pendant le sommeil).
- **Polydipsia** : Une soif excessive.
- **Polyphagie** : Toujours être très faim.
- La sécheresse, la démangeaison, et l'infection de la peau.
- Guérison lente des coupures.
- Vision floue.
- Sensation de fatigue et de faiblesse.
- Perte de poids.
- Engourdissement ou picotements dans les pieds (18).

IX. Diagnostic du diabète type 2

➤ **Glycémie à jeun**

Selon l'OMS et le *National Diabetes Data Group*, un taux plasmatique veineux égale à 7,8 mmol (1,4 g/l) ou plus confirme le diagnostic du diabète (20).

➤ **Test d'hyperglycémie provoquée**

Il s'agit de doser la glycémie à jeun puis de faire consommer 75g de glucose et de répéter le dosage régulier de la glycémie toutes les 30 minutes pendant 2 heures. L'aspect de ce test permet de détecter des anomalies de métabolisme du glucose (21).

➤ **Hémoglobine glyquée**

L'hémoglobine glycolysée ou glyquée (HbA1c) est le résultat d'une réaction non enzymatique entre une protéine du sang (l'hémoglobine) et le glucose et reflète l'équilibre

glycémique moyen de chaque personne au cours des 8 à 12 derniers semaines. Ainsi, Il existe donc des valeurs normales chez les sujets non diabétiques et normoglucoles tolérants et des valeurs pathologiques chez les patients diabétiques avérés (20).

➤ **Glycémie post prandiale**

Correspond à la mesure de la glycémie après le repas. Un taux qui augmente trop peut indiquer une altération de la tolérance au glucose (21).

X. Complications du diabète

Les complications deviennent plus graves lorsque le diabète est d'équilibré (22,23).

X.1. Complications métaboliques

Il y a d'abord le coma acidocétosique, le coma hypoglycémique, et le coma hyperosmolaire.

➤ **Acidocétose**

C'est une complication grave du diabète qui peut mener au coma. Cela se produit lorsque le corps manque d'insuline et que le sang devient trop acide en raison de la présence d'acétone.

➤ **Coma hypoglycémique**

Le manque de sucre dans le sang entraîne une perte de conscience. Il peut être déclenché après de fortes doses d'insuline ou un exercice intense. Traité par injection de glucagon.

➤ **Coma hyperosmolaire**

Elle touche principalement les personnes âgées, le plus souvent chez les personnes atteintes du diabète de type 2. Un manque de liquide peut entraîner une perte de conscience et une déshydratation sévère.

X.2. Complications chroniques

On a les complications :

- **Micro angiopathie**

Elle s'observe après une hyperglycémie prolongée et correspond à une atteinte des gros vaisseaux. C'est l'équivalent de l'athérosclérose, mais le phénomène est plus fréquent et largement observé chez les diabétiques déséquilibrés.

- Néphropathie

C'est une attaque des petits vaisseaux sanguins rénaux. L'excès de sucre s'y accumule, perturbe la circulation sanguine et réduit la capacité de filtrage des reins. Cela conduit à une insuffisance rénale.

- Neuropathie

C'est une atteinte des nerfs périphériques et des nerfs sensitifs. Des douleurs aux jambes, une sensibilité ou une altération de la vidange gastrique peuvent survenir. Elle est associée à une hyperglycémie chronique.

- Rétinopathie

C'est une attaque des petits vaisseaux sanguins de la rétine. L'excès de sucre dans le sang endommage les parois de ces vaisseaux, les rend perméable et des lésions apparaissent sur la rétine. Le traitement au laser peut empêcher le développement de ces lésions.

- Macro angiopathie

Elle s'observe après des longues périodes d'hyperglycémie, elle correspond à une atteinte des gros vaisseaux. C'est l'équivalent de l'athérosclérose, mais ce phénomène est plus fréquent et plus étendu chez les personnes diabétiques mal équilibrées.

X.3. Complications infectieuses

Le diabète favorise le développement des infections bactériennes et fongiques qui conduisent à la gangrène nécessitant une amputation.

XI. Traitement du diabète

Il existe deux types de traitement pour le diabète de type 2, non médicamenteux (activité physique et régime hygiénique) et médicamenteux (antidiabétiques oraux et insulinothérapie).

XI.1. Traitements non médicamenteux

Il a été démontré que la perte de poids et une activité physique régulière ont un effet bénéfique sur le contrôle glycémique. Ce dernier a des effets bénéfiques sur la résistance à l'insuline.

Lorsque l'HbA1c dépasse 6, des mesures hygiéno-diététiques doivent être prises. Une alimentation équilibrée est recommandée, en augmentant la consommation de glucides lents et en réduisant la consommation de graisses saturées, de sucres rapides et d'alcool (24).

L'activité physique est recommandée pour les patients atteints de diabète de type 2 en fonction de leur potentiel. En effet, il contribue à améliorer l'état métabolique (sensibilité à l'insuline, taux de sucre dans le sang, tension artérielle, profil lipidique, etc.) et peut aider au contrôle du poids (24).

XI.2. Traitement médicamenteux

XI.2.1. Médicaments hypoglycémiants oraux

Les antidiabétiques oraux, également appelés hypoglycémiants oraux, permettent d'abaisser le taux de sucre dans le sang. Ces agents agissent sur la cellule β du pancréas, la production hépatique du glucose, la digestion des glucides ou encore sur l'isulinosensibilité (Figure I.3) (25).

On distingue :

➤ Sulfonylurées ou sulfamides hypoglycémiants

Premiers antidiabétiques oraux disponibles. Cette classe comprend : le gliclazide, le glibenclamide et le glimépiride. Le récepteur aux sulfonylurées est une composante du canal ATP dépendant du potassium dans les cellules β du pancréas. La liaison des sulfonylurées conduit à l'inhibition de ces canaux qui modifient le potentiel de repos de la cellule, induisant un influx de calcium et une stimulation de la sécrétion d'insuline. Il s'agit d'une libération de l'insuline pré-synthétisée et non d'une augmentation de synthèse de l'hormone (26).

➤ Glinides

Bien qu'ils soient plus récents, leur action est très proche de celle des sulfamides hypoglycémiants. Leur effet insulino-sécréteur est basé sur le même principe d'action que celui des sulfamides hypoglycémiants, mais le site de liaison de ces deux familles sur la cellule β -pancréatique diffère. Les glinides agissent donc plus rapidement et plus brièvement

sur la sécrétion de l'insuline et ciblent plus spécifiquement la phase d'hyperglycémie postprandiale. Ils sont efficaces et entraînent moins d'hypoglycémies que les sulfamides. Contrairement aux sulfamides hypoglycémiant, les glinides préservent entre autre la biosynthèse de l'insuline par les cellules pancréatiques (27).

➤ **Biguanides (Metformine)**

La metformine diminue la gluconéogenèse et la lipogenèse hépatiques en augmentant l'activité de la protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate hépatique, augmentant ainsi l'absorption du glucose dans le muscle par l'insuline (28).

➤ **Thiazolidinediones (rosiglitazone, pioglitazone)**

Ils améliorent la sensibilité à l'insuline dans les tissus adipeux et hépatiques. Ils agissent par l'intermédiaire du récepteur gamma activé par les proliférateurs des peroxyosomes (PPAR- γ) au sein du noyau cellulaire. La stimulation de ce récepteur mène à l'expression ou à la suppression d'une série des gènes qui jouent un rôle dans l'augmentation d'absorption périphérique du glucose et la diminution de la production hépatique du glucose (29).

➤ **Inhibiteurs de l'alpha-glucosidase (acarbose, miglitol, voglibose)**

L'alpha-glucosidase est une enzyme située dans l'intestin grêle. Elle convertit les polysaccharides en monosaccharides. L'inhibition de cette enzyme ralentit la digestion des glucides et diminue leur absorption, abaissant ainsi la glycémie postprandiales et de l'HbA1c (30,31).

➤ **Inhibiteurs du Co-transporteur sodium- glucose de type 2 (canagliflozine)**

Ils inhibent le Co-transporteur sodium- glucose 2 (SGLT-2) dans les tubules proximaux des glomérules rénaux. Ils inhibent la réabsorption du glucose de 90% et réduisent le taux du glucose plasmatique (32).

➤ **Cycloset (Bromocriptine)**

C'est un agoniste sympatholytique des récepteurs dopaminergiques D2, qui restaure les rythmes circadiens hypothalamiques qui aurait pu être altérés par l'obésité. Cela renverse la résistance à l'insuline et réduit la production de glucose (33).

➤ **Inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4 (sitagliptine, saxagliptine, vildagliptine, linagliptine, alogliptine)**

Ils inhibent l'enzyme dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) et prolongent l'action du peptide de type glucagon. Cela inhibe la libération de glucagon, augmente la sécrétion d'insuline et réduit la vidange gastrique, abaissant ainsi la glycémie (34).

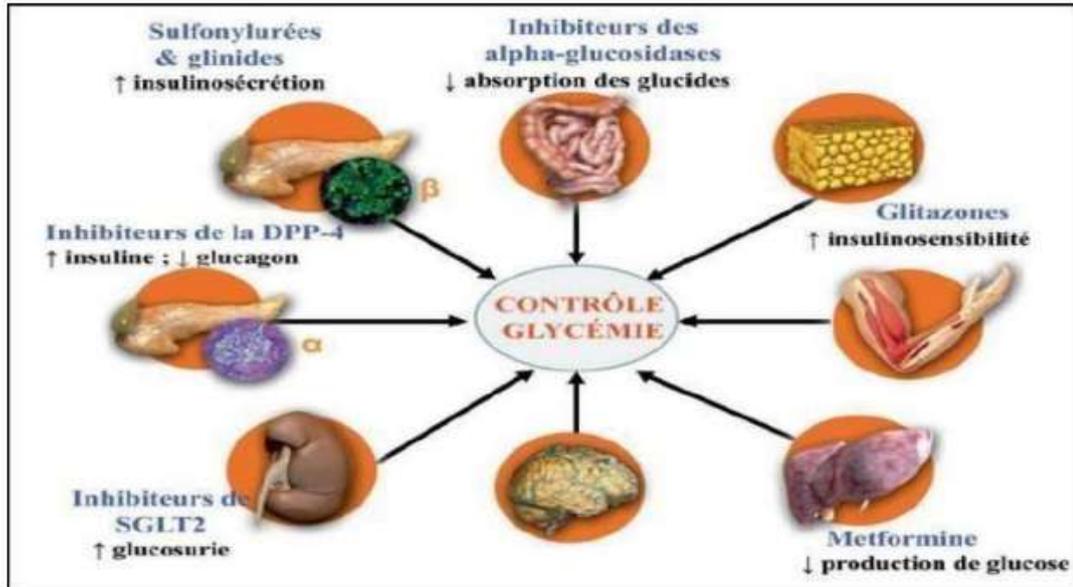


Figure I.3 : Illustration des principaux mécanismes d'action des différentes classes d'antidiabétiques oraux (35).

XI.2.2. Insulinothérapies

Le diabète de type 2 est une maladie évolutive marquée par une aggravation progressive et presque inéluctable du déficit insulino-sécrétoire. Lorsque la sécrétion endogène par les cellules bêta des îlots de Langerhans devient insuffisante, l'injection d'analogue pharmacologique de l'insuline est indispensable au maintien du métabolisme glucidique (36).

Références bibliographiques

- (1) Rodier M. Définition et classification du diabète. *Endocrinologie - CHU – Nîmes. Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique*. **2001**, 25(2), 91-93.
- (2) Hirst M. *ATLAS du Diabète de la FID*. 6^{ème} ed. Fédération Internationale du Diabète: Brussels, **2013**.
- (3) Wass J.A.H., Stewart P.M., Amiel S.A., Davies M.J. *Oxford Textbook of Endocrinology and Diabetes*. 2nd ed, Vol. 1, Oxford University Press, **2016**.
- (4) Wens J., Sunaert P., Nobels F., Feyen L., Crombruggen P.V., Bastiaens H., Royen P.V. Diabète sucré de type 2. *Société Scientifique de Médecine Générale*. **2007**, 72.
- (5) Organisation mondial de la santé. *Diabète*. Aide-Mémoire N° 312, Genève, **2009**.
- (6) Dehayem M. *Définition, classification et physiopathologie des diabètes*. Ed., Centre National de l'Obésité: Hôpital Central Yaoundé, **2011**.
- (7) Klein M. Relations entre le diabète sucré de type 2 et l'amyloïdose chez le chat : étude bibliographique. Thèse d'état en Vitrine. France: Université de Toulouse, **2009**.
- (8) Whiting D.R., Guariguata L., Weil C., Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*. **2011**, 94(3), 311-321.
- (9) Asmelash. D., Asmelash, Y. The Burden of Undiagnosed Diabetes Mellitus in Adult African Population: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of diabetes research*. **2019**, ID 4134937.
- (10) Fagot-Campagna A., Romon I., Fosse S., Roudier C. Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France-Synthèse épidémiologique. Institut de veille sanitaire. *Maladies chroniques et traumatismes*, **2010**.
- (11) Anonyme. Diabète non insulino-dépendant. [En ligne]: <https://www.docteurcliv.com/maladie/diabete-non-insulino-dependant-type-2DNID.aspx>. (Consulté le 28 /02 /2023).
- (12) Aychi H. Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire : Cas du diabète de type 2. Thèse de Doctorat en Chimie-Physique. Algérie: Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen, **2017**.
- (13) Ichai C. Recommandations francophones pour le contrôle glycémique en réanimation. *Médecine des maladies Métaboliques*. **2010**, 4, 478-489.

- (14) Chevalier N., Fénichel P. Obésité, diabète de types 2 et perturbateurs endocriniens. *La Presse Médicale*. **2016**, 48(10), 88-97.
- (15) Lange G. L'âge moyen de découverte du diabète de type 2 diffère significativement selon la catégorie sociale. Thèse de Doctorat en Médecine. France: Université Paris Cité, **2014**.
- (16) Romli H. Prise en charge et traitement Du diabète de type 2. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Maroc: Université Mohammed V Rabat, **2016**.
- (17) Abdelkebir K. Les marqueurs biologiques des complications du diabète sucré. Mémoire de Magistère en Physiologie Cellulaire et Moléculaire. Algérie: Université de Constantine 1, **2014**.
- (18) Atallah S. Metabolic disturbance in diabetic patients with and without urinary ketone bodies. Thèse de Doctorat en Biologie. Algérie : Université de Constantine, **2007**.
- (19) Monnier L. *Diabétologie*, 3^{ème} éd., Elsevier Masson, Paris, **2019**.
- (20) Adiza A. Etude d'une recette traditionnelle, des écorces de tronc de *Sclerocarya birrea* hosch et d'*Uapaca togoensis* pax utilisées dans le traitement du diabète, Thèse de Doctorat en Pharmacie. Senegal : Université de Nouakchott, **2006**.
- (21) Ménat E. *La diététique du diabète : prenez-vous en charge, évitez les erreurs. Comprendre le diabète*. Ed., Alpen, **2015**.
- (22) Grimaldi A. Diabétologie Questions d'internat. Thèse de Doctorat en Médecine. France : Université Paris-VI, **2000**.
- (23) Meltzer S., Leiter L., Daneman D., Gerstein H.C., Lau D., Ludwig S., Yale J.F., Zinman B., Lillie D. Lignes directrices de pratique clinique 1998 pour le traitement du diabète au Canada. *Canadian Medical Association Journal*. **1998**, 159, S1-S31.
- (24) Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. *Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications*. ed., Service des Recommandations et Références Professionnelles: Paris, **2000**.
- (25) 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**.

- (26) Halimi S., Debaty I., Villaret L., Muller M. Les nouveaux traitements du diabète de type 2 : quelle place pour les incrétines et le rimonabant par rapport aux précédents ?. *La Revue de médecine interne*. **2008**, 29(11), 881-890.
- (27) Andreelli F., Jacquier D., Dierick-Gallet A., Amouyal C. Pharmacogénétique des antidiabétiques : Pharmacogenetics of antidiabetic drugs. *Médecine des Maladies Métaboliques*. **2011**, 5(5), 512-519.
- (28) Gerson M. La metformine Antidiabétiques oraux: portrait de famille. *y* 2(8), 347-351.
- (29) Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N. Engi. J. Med.* **2004**, 351, 1106-18.
- (30) Cheng A.Y., Fantus I.G. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *CMAJ*. **2005**, 172(2), 213-226.
- (31) Henquin J.C. *Cell biology of insulin secretion. Joslin's diabetes mellitus*. ed., Lippincott Williams & Wilkins: USA, **2005**.
- (32) Scheen A.J., Van Gaal L.F. Combating the dual burden: therapeutic targeting of common pathways in obesity and type 2 diabetes. *The lancet Diabetes & endocrinology*. **2014**, 2(11), 911-922.
- (33) De Lima J.G., Nóbrega, L.H.C. *Oral therapies for type 2 diabetes*. In Endocrinology and Diabetes. Ed., Springer: New York, **2014**.
- (34) Scheen A.J. DPP-4 inhibitors in the management of type 2 diabetes: a critical review of head-to-head trials. *Diabetes & metabolism*. **2012**, 38(2), 89-101.
- (35) Scheen A.J. Antidiabétiques oraux dans le traitement du diabète de type 2: perspectives historique et médico-économique. *Médecine des maladies Métaboliques*. **2015**, 9(2), 186-197.
- (36) Zahm V. Stratégie thérapeutique dans le diabète de type 2 : Enquête de pratique sur l'attitude thérapeutique des médecins généralistes français par rapport aux recommandations nationales. Thèse de Doctorat en Médecine. France : Université de Strasbourg, **2020**.

Chapitre II:
Dipeptidyl peptidase 4

I. Définition

La dipeptidyl peptidase 4 (DPP4 ; EC : 3.4.14.5) est une enzyme qui dégrade les incrétines qui favorisent la sécrétion d'insuline et le métabolisme du glucose. Egalement désigné par les noms suivants :

ADCP 2 (Adenosine Deaminase Complexing Protein 2) : Protéase de surface cellulaire. Ce sont des prolyl oligopeptidases qui éliminent sélectivement les dipeptides N-terminaux des peptides contenant de la proline ou de l'alanine en seconde position (1).

CD26 (marqueur de surface des lymphocytes CD26): Glycoprotéine transmembranaire de 110 kD dont 6 acides aminés sont dans le cytoplasme et 738 représentent le domaine extracellulaire exprimé dans de nombreux tissus (2).

II. Structure de la dipeptidyl peptidase 4

La DPP4 est une glycoprotéine transmembranaire de 110 kD. Elle contient 766 acides aminés et une structure primaire se compose d'une courte queue cytoplasmique de six acides aminés (une région N-terminal intracellulaire), 22 acides aminés transmembranaires, et une portion extracellulaire de 738 acide aminés comprise d'une tige souple caractérisée par une région glycosylée à côté de la membrane offrant à la protéine un grand pouvoir d'adhésion face à d'autres protéines, une région centrale riche en cystéine et une région C-terminal qui contient la triade catalytique (3).

III. Le site actif de l'enzyme

Le site actif de la DPP4 est composé de la triade catalytique Ser630, Asp708, et His740, deux résidus d'ancrage Glu204 et Glu205, ainsi que les résidus stabilisants du substrat Arg125, Tyr547 et Asn710 (Figure II.1) (3).

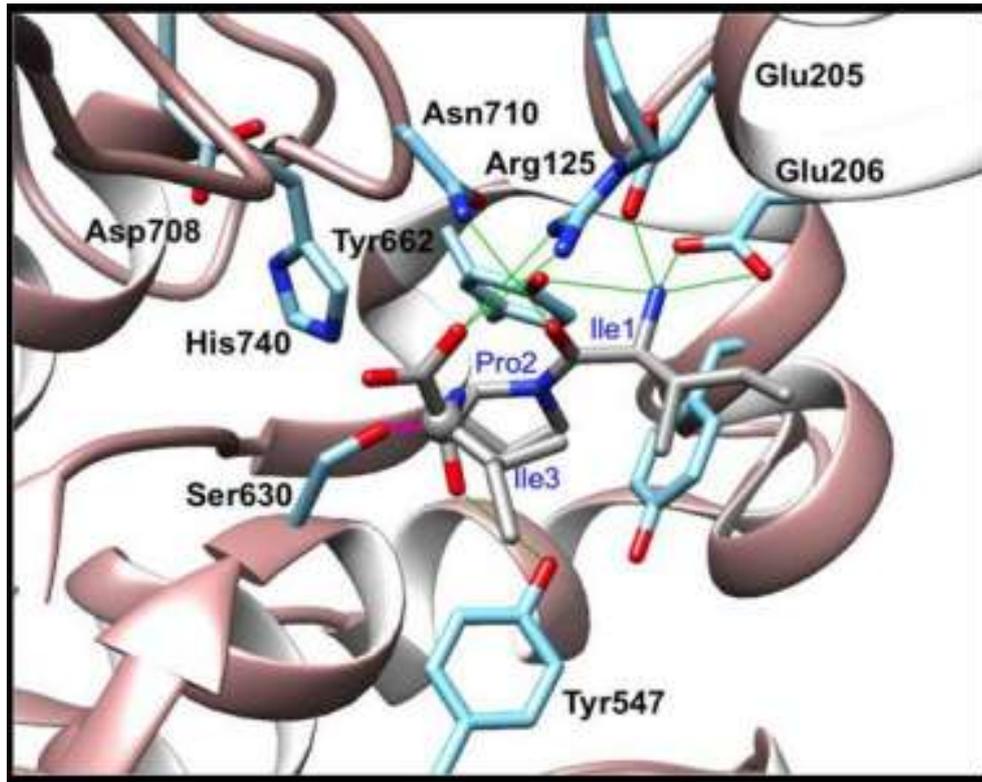


Figure II.1 : Site actif de la DPP4 humain (4).

IV. Classification de la dipeptidyl peptidase 4

La DPP4 est classée dans les groupes suivants :

- **Exopeptidase** : Clive les acides aminés à l'extrémité N-terminale des peptides.
- **Clans SC** : Consiste en un noyau central de feuillets bêta entourés d'hélices alpha.
- **Famille S** : Sérine peptidases : leur site catalytique est composé de sérine.
- **Sous-famille S9B** : Le motif autour du site actif formé par la sérine est le suivant: Gly-Trp-Ser-Tyr-Gly-Gly-Tyr (5).

V. Localisation de la dipeptidyl peptidase 4

La DPP4 est exprimée de manière particulièrement ubiquitaire dans le corps. Elle est liée à la membrane cellulaire et présente dans de nombreux tissus (6), à des fortes concentrations dans : Reins, intestins, moelle osseuse et à des faibles concentrations dans : foie, pancréas, placenta, thymus, rate, cellules épithéliales, endothélium vasculaire, lymphocytes et cellules myéloïdes (7). Elle est présente sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins qui alimentent la muqueuse intestinale, où résident les cellules L qui sécrètent le *Glucagon like peptide 1* (GLP-1). Cela suggère que la majeure partie du GLP-1

est inactivée peu de temps après la sécrétion, ainsi la demi-vie du GLP-1 est inférieure à 2 minutes (8).

VI. Substrats de la DPP4

Les principaux substrats de la DPP4 sont : le GIP (*glucose dependent insulinotropic polypeptide*), le GLP-1 et les incrétines. Ces derniers sont rapidement inactivés par la DPP4 qui clive leur région N-terminale et le transfère en métabolites inactifs. Cette altération accélérée par la DPP4 est responsable de la courte demi-vie des incrétines (60 à 90 secondes pour le GLP-1) (9).

En dehors des incrétines, de nombreux peptides peuvent être clivés par la DPP4 (6).

➤ **Neuropeptides :**

- Neuropeptide Y (NPY)
- Substance P (10)
- Hormone de libération de l'hormone de croissance (HLHC)
- Polypeptide activateur de l'adénylate cyclase hypophysaire (PAACH)
- polypeptide intestinal vasoactif (PIV)
- Polypeptide libérant de la gastrine (PLG)

➤ **Nombreuses chémokines et cytokines.**

➤ **Autres peptides**

- GLP-2
- Peptide YY (PYY)

VII. Physiologie et rôle du GIP et du GLP-1

Les incrétines GLP-1 et GIP sont des hormones intestinales agissant sur l'homéostasie glucidique à différents niveaux. Elles sont sécrétées par les cellules K duodénales pour le GIP et par les cellules L au niveau du jéjunum pour le GLP-1 (11).

Elles exercent d'une part des actions directes sur le pancréas, en augmentant l'insulinosécrétion gluco-dépendante et réduisant la sécrétion de glucagon (aboutissant à une baisse de la glycémie post prandiale) et ralentissent d'autre part la vidange gastrique et la prise alimentaire (Tableau II.1). Elles possèdent une demi-vie extrêmement courte (2 minutes) (11).

Tableau II.1 : Comparaison des principales caractéristiques du GLP-1 et du GIP (12).

	GIP	GLP-1
Sécrétion d'insuline	Stimulée	Stimulée
Sécrétion de glucagon	Aucun effet	Inhibée
Prise alimentaire	Aucun effet	Réduit
Vidange gastrique	Aucun effet	Ralentie
Synthèse d'insuline	Aucun effet	Stimulée
Prolifération bêta cellulaire	Favorisée	Favorisée

Parmi celles-ci, le plus intéressant est le GLP-1. Cet hormone exerce plusieurs effets métaboliques intéressants pour la prise en charge du patient diabétique de type 2 (Figure II.2):

- Stimulation de l'insulinosécrétion proportionnellement à la glycémie ambiante, avec absence de stimulation en cas d'hypoglycémie.
- Ralentissement de la vidange gastrique.
- Diminution de l'appétit par une action hypothalamique.
- Réduction de la sécrétion et des concentrations circulantes de glucagon.
- Effet trophique sur les cellules β , en potentialisant leur prolifération et en diminuant leur apoptose (13).

Il a été montré que la sécrétion de GLP-1 est diminuée chez le patient diabétique de type 2 par comparaison à une personne non diabétique (13). Cette observation, combinée à une meilleure connaissance de la physiologie et des actions du GLP-1, a amené l'industrie pharmaceutique à rechercher des moyens pour augmenter les concentrations plasmatiques du GLP-1. La recherche s'est donc orientée dans deux directions: soit développer des analogues du GLP-1 à action plus prolongée susceptibles d'être administrés par voie sous-cutanée, soit recourir à des médicaments inhibiteurs de l'enzyme qui dégrade le GLP-1 (14).

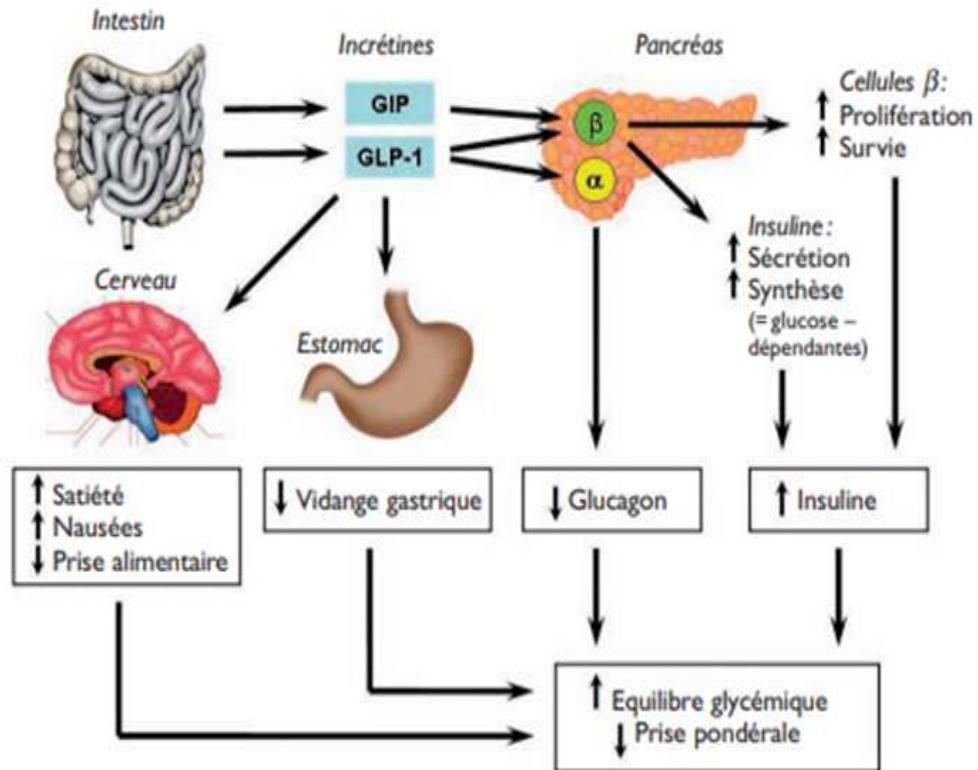


Figure II.2 : Physiopathologie de l'axe des incrétines : effets du GLP-1 et du GIP sécrétés en réponse à la prise alimentaire (11).

VIII. Enzymes proches de la DPP4

La DPP4 comprend les protéines suivantes :

- **FAP** : protéine-a d'activation des fibroblastes.
- **DPP-II.**
- **QPP** : proline dipeptidase des cellules au repos.
- **DPP-8** : enzyme cytosolique présente au niveau des cellules T activées.
- **DPP-9** : enzyme cytosolique retrouvée dans le muscle squelettique, le cœur et le foie (15,7).

IX. Pharmacologie des inhibiteurs de la DPP4

Les inhibiteurs de la DPP4 sont des petites molécules de synthèse appartenant à des familles chimiques différentes (16). Ils inhibent sélectivement la DPP4 et ils sont utilisés pour augmenter les niveaux endogènes d'incrétines. Les gliptines s'élèvent la sensibilité des cellules bêta au glucose et donc à la sécrétion d'insuline. Chez les patients non diabétiques, elles ne stimulent pas la sécrétion d'insuline (12).

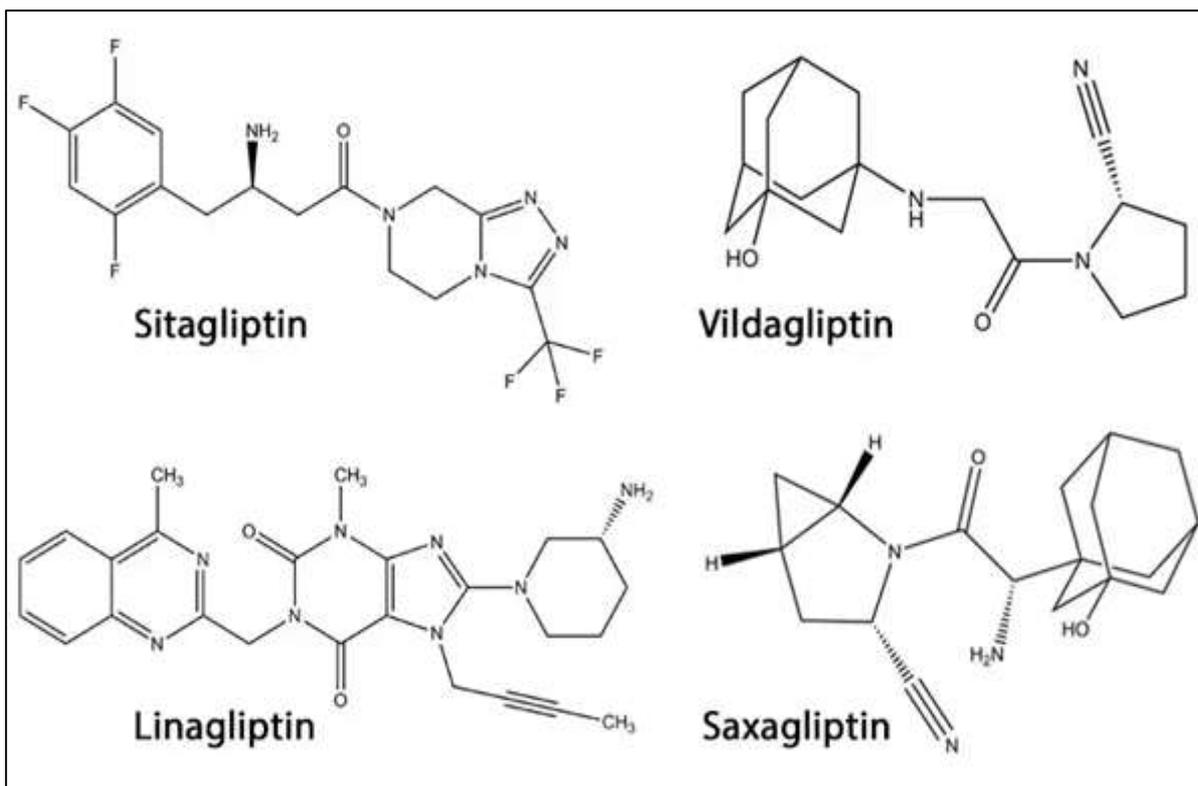


Figure II.3 : Structures chimiques des gliptines (17).

Les structures de ces quatre gliptines sont très variées. Bien que la présence du cycle de l'azote et de la fonction cétonique leur semblent communes, elles exercent toutes une inhibition de la DPP4 et appartiennent donc à la même classe thérapeutique (Figure II.3) (18).

X. Mécanisme d'action

X.1. Sitagliptine

La sitagliptine est le premier inhibiteur puissant, compétitif et réversible de la DPP4 disponible sur le marché (7). Il bloque la dégradation du GLP-1 par la DPP4 (19) en formant des liaisons non covalentes avec l'enzyme. Son groupement phényle occupe la poche hydrophobe du site actif où réside la sérine 630 (20). Ceci se traduit par une augmentation prolongée des taux de GLP-1 stimulant ainsi la production d'insuline en présence de glucose tout en inhibant la sécrétion de glucagon (20). Cela peut conduire à un meilleur équilibre glycémique en abaissant la glycémie post prandiale et basale. En revanche, il n'existe actuellement aucun effet connu sur la satiété ou la vidange gastrique (contrairement aux analogues du GLP-1) (19).

X.2. Vildagliptine

La vildagliptine est le deuxième inhibiteur fort et irréversible de la DPP4 disponible sur le marché. Elle appartient à la classe des cyanopyrrolidines. Elle se lie de manière covalente au résidu Ser630 du site actif de l'enzyme via le groupe nitrite, donnant à ces molécules une demi-vie significativement plus longue par rapport aux autres classes. L'administration de vildagliptine inhibe rapidement et complètement l'activité de la DPP4 et augmente les taux d'hormones incrétines endogènes à jeun et postprandiales GLP-1 et GIP. La vildagliptine augmente la sensibilité des cellules bêta au glucose, stimulant ainsi la sécrétion d'insuline glucose-dépendante et augmente également la sensibilité des cellules alpha au glucose, induisant une sécrétion du glucagon glucose-dépendante plus appropriée. L'association vildagliptine et metformine améliore le contrôle glycémique chez les patients diabétiques de type 2 (21).

X.3. Linagliptine

La linagliptine (xanthine) est un inhibiteur de la DPP4, elle se lie de façon très efficace, réversible et sélective. Leur synthèse a été inspirée suite à des études menées sur la structure tridimensionnelle de la DPP4 et en particulier son site actif. Ces molécules hétérocycliques se présentent comme les meilleurs inhibiteurs de la DPP4 connus jusque-là. Leur fort pouvoir inhibiteur est dû à leur carbonyle qui établit une liaison hydrogène avec la Ser630 du site actif de la DPP4 (22).

X.4. Saxagliptine

La saxagliptine est un inhibiteur puissant et sélectif de la DPP4. Elle exerce une inhibition sélective, durable mais réversible de la DPP4 (18). Elle participe en augmentant la quantité d'incrétine disponible dans l'organisme (23).

Références bibliographiques

- (1) Yazbeck R., Howarth G.S., Abbott C.A. Dipeptidyl peptidase inhibitors, an emerging drug class for inflammatory disease. *Trends in Pharmacological Science*. **2009**, 30, 600-607.
- (2) Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)-role in the inactivation of regulatory peptides. *Regulatory Peptides*. **1999**, 85, 9-24.
- (3) Wagner L. *Dipeptidyl Peptidase 4*. In: Encyclopedia of Signaling Molecules. ed., Springer: New York, **2016**.
- (4) Anonyme: [En ligne]. <https://pdb101.rcsb.org/global-health/diabetes-mellitus/drugs/dpp4-inhibitor/dpp4>. (Consulté le 10/03/2023).
- (5) Matteucci E., Giampietro O. Dipeptidyl Peptidase-4(CD26): Knowing the Function before Inhibiting the Enzyme. *Current Medicinal Chemistry*. **2009**, 16, 2943-2951.
- (6) Blicklé J.F. Tolérance clinique et biologique des inhibiteurs de la DPP4. *Médecine des maladies métaboliques*. **2008**, 2(1), 50-52.
- (7) Miller S., St Onge E.L. Sitagliptine: A Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabetes. *The Annals of Pharmacotherapy*. **2006**, 40, 1336-43.
- (8) Tahrani A.A., Piya M.K., Barnett A.H. Saxagliptin: a New DPP-4 Inhibitor for the Treatment of Type 2 Diabete Mellitus. *Advances in Therapy*. **2009**, 26(3), 249-62.
- (9) Virally M., Kevorkian J.P., Guillausseau P.J. Incrétines, incrétiomimétiques et inhibiteurs de la DPP-4 : homéostasie glucidique et diabète de type 2. *Sang thrombose vaisseaux*. **2008**, 20(9), 453-61.
- (10) Brown N.J., Byiers S., Carr D., Maldonado M., Warner B.A. Dipeptidyl Peptidase-IV inhibitor use associated with increased risk of ACE inhibitor-associated angioedema. *Hypertension*. **2009**, 54(3), 516-23.
- (11) Nauck M.A., Homberger E., Siegel E.G., Allen R.C., Eaton R.P., Ebert R., Creutzfeldt W. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab*. **1986**, 63, 492-8.
- (12) Gaudriot A. Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 et les analogues du GLP-1 en thérapeutique. Thèse de doctorat en Pharmacie. France : Université de Limoges, **1988**.

- (13) Drucker D.J., Nauck M.A. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*. **2006**, 368, 1696-1705.
- (14) Gautier J.F., Fetita S., Sobngwi E., Salaun-Martin C. Biological actions of the incretins GIP and GLP-1 and therapeutic perspectives in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab*. **2005**, 31, 233-242.
- (15) Lankas G.R., Leiting B., Sinha Roy R., Eiermann G.J., Beconi M.G., Biftu T., Chan C.C., Edmondson S. Dipeptidyl peptidase IV Inhibition for the treatment of Type 2 Diabetes. Potential Important of Selectivity Over Dipeptidyl peptidase 8 and 9. *Diabetes*. **2005**, 54, 2988-93.
- (16) Gautier J.F., Choukem S.P. Les incrétines. *Nutrition clinique et métabolisme*. **2008**, 22, 59-65.
- (17) Anonyme: [En ligne]. <https://www.gelbe-liste.de/wirkstoffgruppen/dpp-4-inhibitoren-gliptine> (Consulté le 10/03/2023).
- (18) Cingal M. Les inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) : place dans la prise en charge du diabète de type 2. Thèse de doctorat en pharmacie. France : Université de Rouen, **2013**.
- (19) Bories T. Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'Eure. Thèse de doctorat en Médecine. France : Université de Rouen, **2012**.
- (20) Wallace M. B., Feng J., Zhang Z., Skene R. J., Shi L., Caster C. L., Kassel D.B., Xu R., Gwaltney S.L. Structure-based design and synthesis of benzimidazole derivatives as dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **2008**, 18, 2362–2367.
- (21) Simpkins L.M., Bolton S., Pi Z., Sutton J.C., Kwon C., Zhao G., Magnin D.R, Augeri D.J, Gungor T., Rotella D.P, Sun Z., Liu Y., Slusarchyk W.S, Marcinkeviciene J., Robertson J.G., Wang A., Robl J.A., Atwal K.S., Zahler R.L., Parker R.A., Kirby M.S., Hamann L.G. Potent non-nitrile dipeptidic dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **2007**, 18, 6476–6480.
- (22) Kurukulasuriya R., Rohde J.J., Szczepankiewicz B.G., Basha F., Lai C., Jae H.S. Winn M., Stewart K.D., Longenecker K.L., Lubben T.W., Ballaron S.J., Sham H.L., Geldern

T.W. Xanthine mimetics as potent dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. **2006**, 16, 6226–6230.

- (23) Scheen A.J. Le médicament du mois Saxagliptine (ONGLYZA®) : Nouvel inhibiteur de la dipeptidylpeptidase-4 pour le traitement oral du diabète de type 2. *Rev Med*. **2010**, 65, 527-532.

Chapitre III:
Docking moléculaire

I. Définition

Le terme docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est une méthode informatique utilisée pour la découverte des nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), ou pour comprendre les propriétés des complexes moléculaires obtenu par cristallographie, pour prédire les interactions ligand-protéine (Figure III.1) et positionner un ligand (petite molécule) dans le site de liaison d'un récepteur (cible protéique) de manière à optimiser les interactions entre ce ligand avec le récepteur (1).

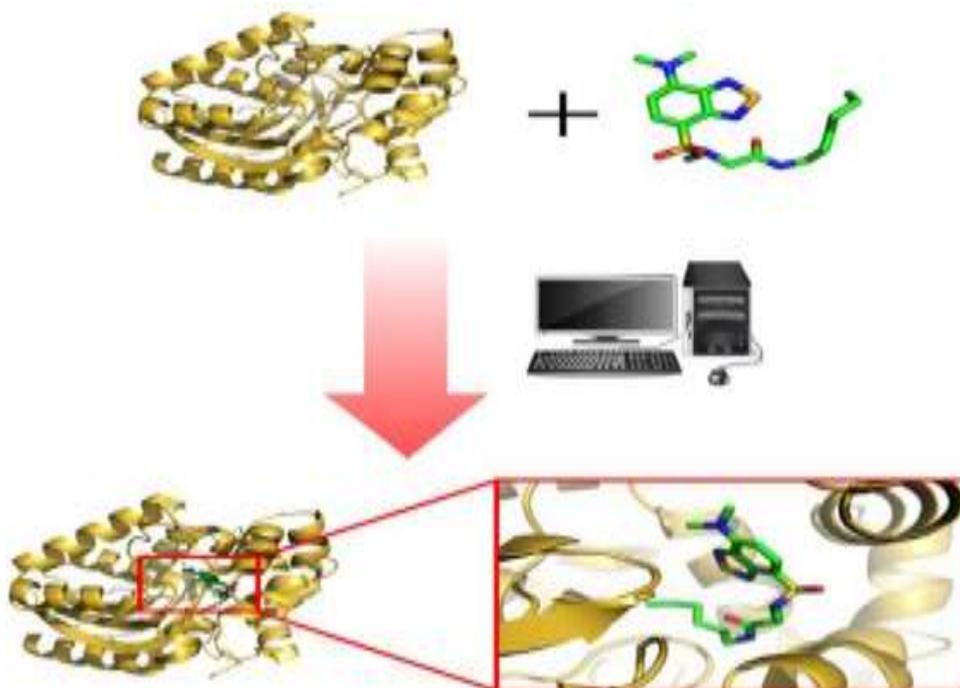


Figure III.1: Docking protéine-ligand. (2)

II. Principe

En principe, les procédures d'amarrage devraient être capables de générer des modèles de liaison attendus pour les ligands dont les positions adoptées dans le site actif sont connues dans un délai raisonnable (2) (Figure III.2).

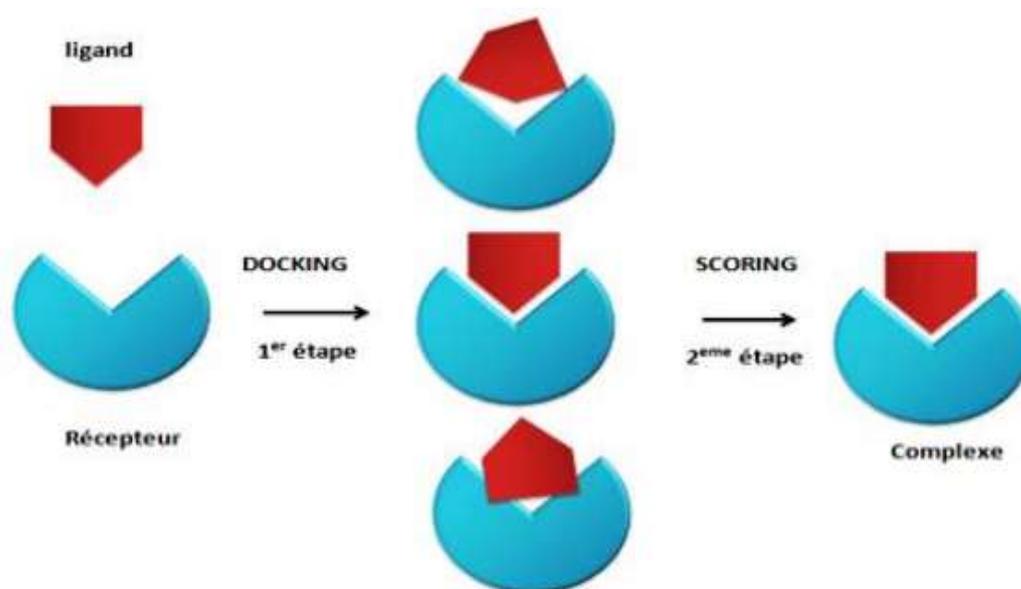


Figure III.2 : Les étapes principales du docking (2).

Pour cela, leur principe est composé de deux étapes complémentaires (Figure III.2):

- **La première étape (recherche conformationnelle)** : consiste à rechercher et générer toutes les conformations possibles, aboutissant à des modes d'interactions possibles entre la protéine et le ligand. Cette étape doit couvrir l'espace conformation pour trouver l'énergie minimale globale (3).
- **La deuxième étape (le scoring)** : consiste à apprécier 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 (2).

III. Les approches du docking moléculaire

Le docking est un procédé qui vise à prédire la structure et les propriétés d'un complexe moléculaire formé entre une petite molécule ou ligand et le site de liaison d'une protéine afin d'accélérer la recherche et la découverte de nouveaux médicaments *in silico* (4).

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

➤ Le docking semi-flexible

Le docking semi-flexible est "asymétrique" et couramment utilisé pour le docking des protéines et des ligands. Dans ce cas, le ligand est considéré comme flexible tandis que la protéine est gardée rigide.

➤ **Le docking flexible**

Traite la flexibilité des deux molécules, mais limite la flexibilité permise pour simplifier le modèle.

➤ **Le docking rigide**

Considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe (4).

IV. Applications de docking

Le docking moléculaire a deux utilisations principales. La première est la prédiction du mode d'interaction protéine-ligand. La deuxième est l'optimisation des molécules qui ont une activité avec le récepteur (5). Il existe plusieurs raisons d'optimiser la structure des ligands connus : améliorer l'affinité, la spécificité, la synthèse ou les propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) (6).

Le docking moléculaire est au centre d'applications pratiques telles que l'ingénierie des protéines et la conception de médicaments. Il a contribué au développement de nouveaux composés pour la lutte contre le sida, des médicaments anticancéreux, des agents antidiabétiques, etc (7).

V. Protocole générale de docking

Les méthodes actuellement utilisées sont purement computationnelles et développées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être divisées en trois à quatre phases successives (Figure III.3) (8).

- Choisir des protéines cibles avec des structures tridimensionnelles de haute qualité et une excellente résolution.
- Identifier les résidus d'acides aminés du site actif qui interviennent dans le processus de reconnaissance du ligand.
- Evaluer et visualiser les interactions des ligands sélectionnés avec le site actif de la protéine cible et le classement de ces composés en fonction de leurs affinités pour prédire les molécules les plus actives pour la cible et classer ces composés selon leur affinité et prédire les molécules les plus actives contre la cible (9).

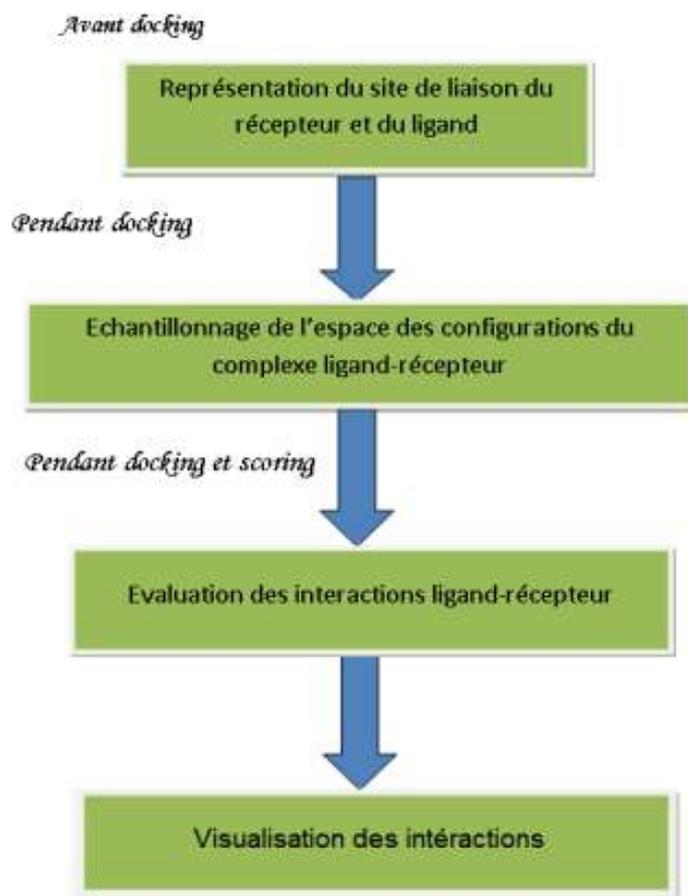


Figure III.3 : Protocole générale du docking moléculaire (9).

VI. Outils du docking moléculaire

Les éléments essentiels pour faire un docking moléculaire se limitent en une petite molécule appelée ligand conçue pour interagir sur le plant moléculaire avec sa protéine cible appelée récepteur et un logiciel de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur sélectionné. Pour agir sur la voie biologique dans laquelle ce dernier est impliqué (10).

VI.1. Un ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule cible (protéine ou acide nucléique) et joue couramment un rôle fonctionnel. Le terme est largement utilisé dans la recherche sur les protéines et fait référence à des molécules qui interagissent avec les protéines de manière non covalente et spécifique et jouent un rôle dans leur fonction (11).

La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice altère généralement sa conformation, c'est-à-dire sa structure tridimensionnelle (3D). L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre les protéines et leurs ligands aide à conduire ce changement conformationnel, appelé adaptation induite. Par conséquent, cette modification structurelle peut moduler son état fonctionnel et son activité (11).

Il existe actuellement deux manières d'obtenir la structure chimique d'un ligand particulier :

- **La première** : consiste à utiliser des ligands de la *Protein Data Bank* (PDB) ou de la littérature qui peuvent être conçus, optimisés et sauvegardés dans plusieurs formats (pdb, sdf, mol2, smile... etc) grâce à des programmes de construction moléculaires tels que Titan et Arguslab.
- **La deuxième** : consiste à utiliser des molécules issues des bases des données des structures chimiques (chimiothèques) réelles ou virtuelles telles que Pubchem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) et ZINC database (<https://zinc.docking.org/>) (12).

Les ligands comprennent :

- **Substrats** : Molécules qui se lient et agissent sur le site actif des protéines et des enzymes (décarboxylation, hydrolyse, déshydratation, etc.).
- **Coenzyme** : Une molécule qui complète l'action d'une enzyme particulière.
- **Activateur** : Composé qui provoque un changement conformationnel du site actif d'une enzyme, augmentant son affinité pour son substrat.
- **Inhibiteur** : Contrairement aux activateurs, ce type de ligand altère la structure électronique du site actif en diminuant l'affinité de l'enzyme pour son substrat (13).

VI.2. Un récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui reçoit des informations. En termes de molécules, les récepteurs sont des protéines spécialisées qui peuvent se lier spécifiquement et de manière réversible à une autre molécule appelée ligand (14).

Trois méthodes expérimentales sont maintenant disponibles pour déterminer la structure des protéines: la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie aux rayons X. La méthode de cristallographie aux rayons X est responsable de la majorité des structures de la base des données PDB (15), qui est une archive à grande

échelle des données structurales des biopolymères tels que les protéines et les acides nucléiques (16).

Diverses conformations tridimensionnelles peuvent être téléchargées avec l'extension pdb, et traitées par le logiciel de docking ; le fichier pdb contient le nom du récepteur, équipe qui a résolu la structure, méthodes expérimentales...etc. Il contient également des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y, Z qui déterminent la position de chaque atome dans une conformation particulière. Si la cible n'a pas encore déposée au niveau de la banque et contient des protéines avec des séquences similaires, une modélisation par homologie interviendra pour construire une structure 3D de la cible d'intérêt (16).

VII. Interaction protéine-ligand

Le fonctionnement des systèmes biologiques repose sur des remarquables mécanismes d'assemblage et de reconnaissance mettant en jeu des interactions moléculaires non covalentes à faible énergie (9).

Des nombreux types d'interactions non covalentes ont été détectés dans les complexes protéine-ligand, on cite les interactions de type polaire (liaisons hydrogène, liaisons ioniques) et les interactions de type hydrophobe.

➤ Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques ou ioniques sont l'ensemble de deux interactions réciproques qu'exercent l'un sur l'autre résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes des charges opposées (Figure III.4).

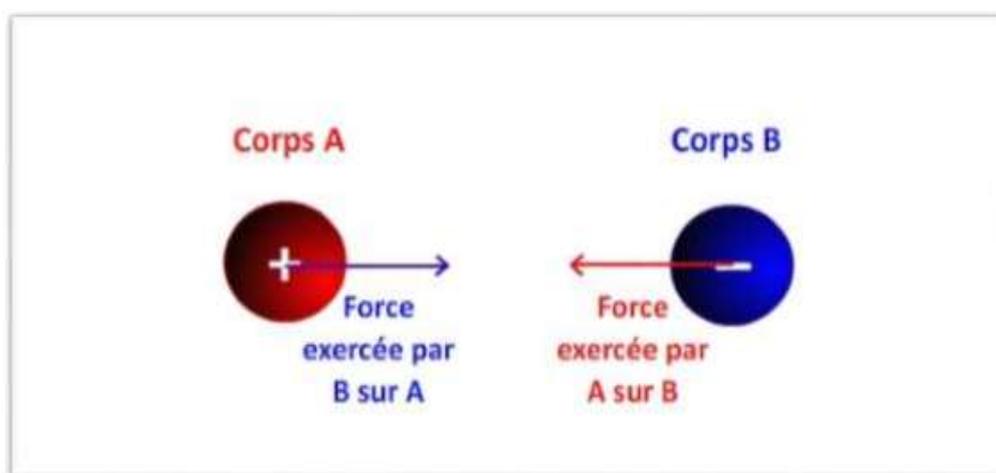


Figure III.4 : Les interactions électrostatiques (17).

➤ **Les forces de Van Der Waals**

Les interactions de Van Der Waals sont des dipôles non permanents de faible rayon d'action mais dans le cas des macromolécules (Figure III.5), un grand nombre d'entre elles produisent l'ensemble d'une force importante. Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice (18).

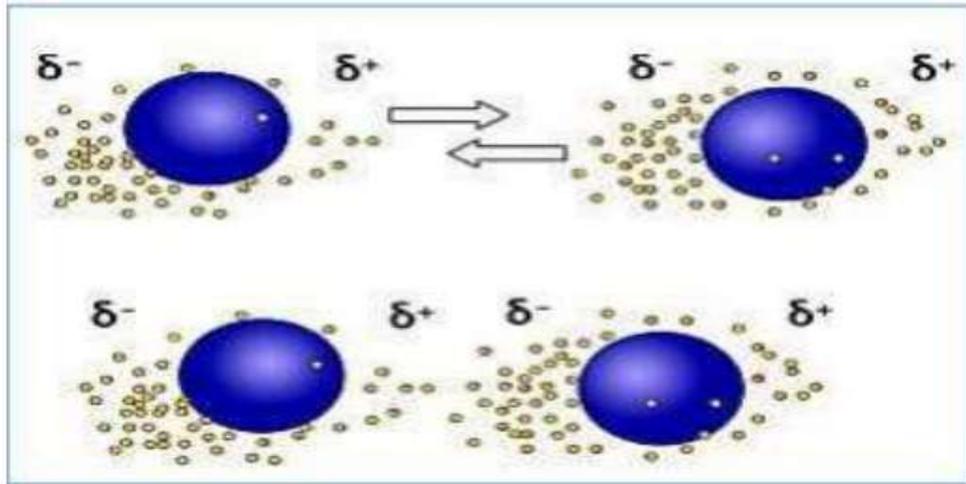


Figure III.5: Les forces de Van Der Waals (19).

➤ **Les liaisons hydrogène**

Une liaison hydrogène est une liaison chimique dipôle-dipôle non covalente entre deux molécules ou entre deux groupes des molécules. Elle consiste essentiellement en une interaction entre deux molécules dont l'une possède un atome donneur d'électrons (O, N, F) et l'autre possède un atome H accepteur d'électrons (OH, NH₂). Ce type de liaison résulte du transfert partiel d'un électron célibataire sur le groupement H (Figure III.6). Les liaisons hydrogène peuvent se produire de manière intramoléculaire ou intermoléculaire (20).

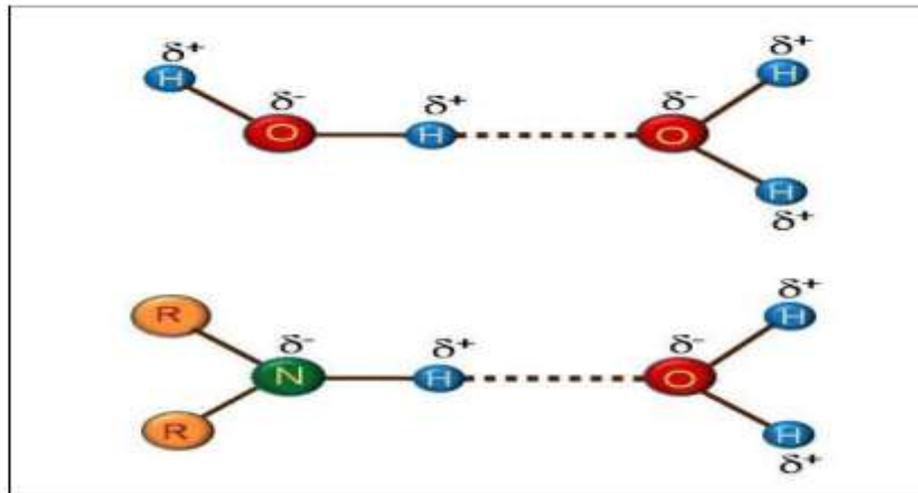


Figure III.6 : Exemple d'une liaison hydrogène (9).

Les liaisons hydrogène jouent un rôle très important en chimie et en biochimie. Ils jouent un rôle dans la stabilisation de la structure secondaire des macromolécules biologiques. Les liaisons hydrogène sont présentes dans les protéines, les acides nucléiques et les interactions moléculaires (comme la reconnaissance de petites molécules par les récepteurs). Les liaisons hydrogène sont plus fortes que les liaisons de Van der Waals. Leurs énergies sont estimées entre -3 et -9 kcal/mol (9).

➤ **Les interactions hydrophobes**

Les molécules non polaires et moins polaires ont tendance à s'agréger, créant des forces de liaisons hydrophobes. Ce sont des interactions entre molécules ou groupements qui ont une très faible affinité pour le solvant (l'eau) dans lequel ils sont dissous. Les groupes sont disposés de manière à ce que leur surface de contact avec l'eau soit minimale (Figure III.7). Les groupes sont donc attirés les uns vers les autres par des forces de type dispersion (9).

Certains acides aminés hydrophobes sont en contact à l'interface par complémentarité hydrophobe. Dans de nombreux complexes, ceux-ci conduisent à des interactions stabilisatrices (21).

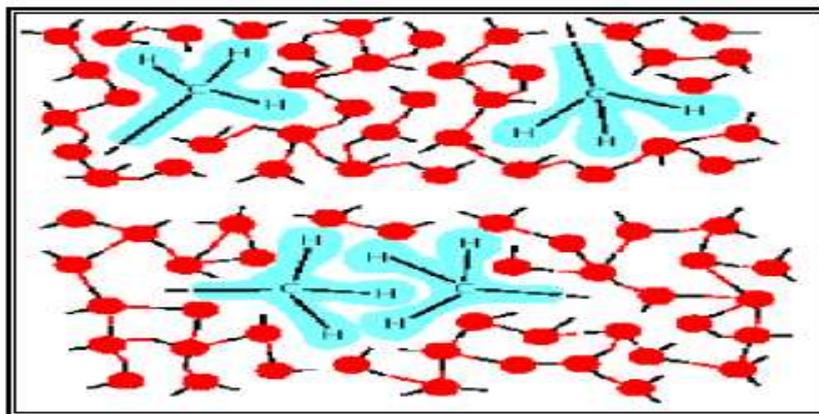


Figure III.7: Les interactions hydrophobiques (9).

VIII. Les programmes du docking

Un logiciel est un ensemble de programmes qui permettent à un ordinateur ou à un système informatique d'effectuer certaines tâches ou fonctions, processus et règles. Un programme du docking moléculaire vise à prédire avec précision la nature des interactions entre deux produits chimiques et identifier le meilleur d'entre eux (22).

Plus de 30 programmes de docking moléculaire (commerciaux et non commerciaux) sont actuellement disponibles. Les plus couramment mentionnés sont AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK, ICM et Surflex (Tableau III.1) (22).

Tableau III.1: Les Principaux programmes de docking moléculaire (23).

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

L'utilisation des procédures d'amarrage au fur et à mesure a facilité le développement des médicaments avec les avantages qu'elles présentent. À titre d'exemple, l'utilisation de docking protéine-ligand a abouti à l'identification des nouveaux ligands pour l'anhydrase carbonique II, ainsi qu'à la découverte des nouveaux inhibiteurs pour plusieurs cibles kinases et à l'identification des nouveaux antagonistes pour les récepteurs neurokinines. Parmi les applications récentes de docking : En 2020 une étude est réalisée pour le criblage des molécules anti SARS-coV-2 par docking moléculaire, ou le logiciel AutoDock Vina a été utilisé pour cribler des médicaments potentiels avec les protéines du coronavirus ; dont la ribavirine, un médicament antiviral courant, le remède sibir, la chloroquine et la lutéoline ont été étudiés (24).

IX. Le programme de docking moléculaire Surflex-dock

Pour réaliser cette étude, nous avons utilisé le programme Surflex-dock (25). Ce programme se compose de deux parties. Une pour les études de similarité tridimensionnelle moléculaire (5) et l'autre pour les études de docking. Seule la partie de docking est couverte ici. Il est basé sur la construction des pseudo-molécules comme cibles contre lesquelles les ligands s'alignent. Ce sont des fragments moléculaires qui sont disposés dans le site actif pour une occupation idéale et redondante selon des caractères morphologiques.

La procédure de docking est effectuée à l'aide de l'une des deux méthodes suivantes :

- **La première :** est une méthode incrémentale appelée Hammerhead (5). Dans ce cas, le programme fractionne le ligand et essaye de trouver le meilleur appariement pour chaque fragment. Les fragments ayant la plus haute affinité sont utilisés pour reconstruire le ligand.
- **La deuxième :** méthode dite « molécule entière » reprend la même étape de fractionnement que précédemment. Le changement se fait au niveau des fragments du ligand conservés. Dans la méthode Hammerhead ne sont conservés pour l'étape de docking que les meilleurs fragments qui s'alignent avec ceux de la pseudo-molécule. Ici tous les fragments sont pris en compte pour la recherche de configuration optimale du ligand.

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

- Construire la «pseudo-molécule » qui sera la cible pour les ligands.
- Lancer le processus de docking.

Les résultats sont présentés sous la forme des 10 meilleurs conformères du format mol2. Chaque fichier a trois scores: le premier est l'affinité ; le second correspond au degré de pénétration impropre du ligand dans la protéine appelé «crash score», plus ce score est proche de 0 plus l'interaction est favorable et le troisième ou «polar score» correspond au niveau de contribution des interactions polaires (5).

Références bibliographiques

- (1) Beutraït A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de doctorat en Chimie Informatique et Théorique. France: Henri Poincaré – Nancy I, **2008**.
- (2) Boucherit H. Recherche *in silico* de nouveaux composés bioactifs et applications à l'inhibition de la méthionine aminopeptidase. Thèse de Doctorat en Biochimie. Algérie : Université Frères Mentouri - Constantine 1, **2020**.
- (3) Corinne H. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de Doctorat en Biologie Structurale. France : Université Toulouse III - Paul Sabatier, **2008**.
- (4) Brut M. Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques: les Modes Statiques. Thèse de Doctorat en Nanophysique. France : Université de Toulouse, **2009**.
- (5) Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase – substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de Doctorat en Biochimie Appliquée. Algérie : Université Mentouri de Constantine, **2007**.
- (6) Tabti K., Elmchichi L., Sbai A., Maghat H., Bouachrine M., Lakhlifi T., Ghosh A. In silico design of novel PIN1 inhibitors by combined of 3D-QSAR, molecular docking, molecular dynamic simulation and ADMET studies. *Journal of Molecular Structure*. **2022**, 1253, 132291.
- (7) Arrault A. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de Doctorat en Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. France : Université d'Orléans. **2007**.
- (8) Merzoug A. Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition du peptide déformylase. Thèse de doctorat en Biochimie. Algérie : Université de Frères Mentouri, Constantine 1, **2018**.
- (9) Bouchagra S. Modélisation des interactions protéine-petites molécules: étude de la relation structure – fonction dans le cas des lipases. Thèse Doctorat en Chimie Organique et Bioorganique. Algérie : Université Badji Mokhtar- Annaba, **2018**.

- (10) McGann M. FRED pose prediction and virtual screening accuracy. *Journal of Chemical Information and Modeling*. **2011**, 51, 578-96.
- (11) Leach A.R. *Molecular modelling: Principles and application*. 2nd ed., Pearson Education: Canada, **2001**.
- (12) 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**.
- (13) D'Oliveira E.B. Simulation moléculaire appliquée à l'acétylation de flavonoïdes Catalysés par des lipases : influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la Régiosélectivité de la bioconversion. Thèse de Doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. France: Institut National Polytechnique de Lorraine –Nancy, **2009**.
- (14) Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat en Chimie Informatique et Théorique. France : Henri Poincaré – Nancy I, **2008**.
- (15) Krid A. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Mémoire de Magister en Chimie Théorique. Algérie: Université Mentouri de Constantine, **2008**.
- (16) Boucherit H. Étude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Mémoire de Magister en Biochimie. Algérie : Université Mentouri Constantine, **2012**.
- (17) Renvez G. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking. Thèse de Doctorat en Nanophysique. France.: l'université Toulouse III- Paul Sabatier, **2010**.
- (18) Gerschel A. *Liaisons intermoléculaires : Les forces en jeu dans la matière condensée*. 2^{ème} éd., EDP Sciences: Paris, **2012**.
- (19) Martz F. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de Doctorat en Chemo-Informatique. France: Université Paris Sud, **2007**.
- (20) Atkins P.W. *Chimie Physique*. 6^{ème} éd., De Boeck, **1999**.

- (21) Israelachvili J.N. *Intermolecular and surface forces*. 2^{ème} éd., Academic Press : Londres, **1997**.
- (22) Thiriot E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. Thèse de Doctorat en Chimie Informatique et Théorique. France: Université de Nancy, **2009**.
- (23) Taylor R.D., Jewsbury P.J., Essex J.W. FDS : Flexible Ligand and Receptor Docking with a Continuum Solvent Model and Soft-Core Energy Function. *J. Comput. Chem.* **2003**, 24(13), 1637–1656.
- (24) Neeraja, D.; Bhartenda, N.M.; Vishwa, M.K. 2D-QSAR model development and analysis on variant groups of anti-tuberculosis drugs. *Bioinformation*. **2011**, 7, 82–90.
- (25) Teniou S. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de Magister en Biochimie. Algérie : Université Mentouri Constantine, **2012**.

Chapitre IV:
Matériel et méthodes

I. Matériel

L'objectif essentiel de ce travail est la recherche *in silico* des inhibiteurs potentiels de la dipeptidyl peptidase 4 par la méthode de modélisation par docking moléculaire avec le programme Surflex-dock et d'évaluer leurs caractéristiques physicochimiques, pharmacocinétiques ainsi que leur toxicité. Pour cela, nous avons utilisé le matériel mentionné ci-dessous:

I.1. Microordinateur

Trois microordinateurs ont été utilisés pour installer le logiciel de notre travail. Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau IV.1 : Caractéristiques des microordinateurs utilisés.

Caractéristiques	Microordinateur 1	Microordinateur 2	Microordinateur 3
Marque	DELL	HP	DELL
Mémoire (RAM)	4,00 Go	8,00 Go	5,00 Go
Système d'exploitation	Windows 10	Windows 10	Windows 10
Type de système	64 Bits	64 Bits	64 Bits
Processeur	2.60 GHz	2,50 GHz	2,70 GHz

I.2. Réseau internet

Comme outil fondamental pour le téléchargement des logiciels, des complexes (protéine-ligand), et des ligands (inhibiteurs) dont on a besoin.

I.3. Programmes utilisés

Nous avons fait appel à plusieurs programmes pour réaliser la partie pratique, à savoir :

I.3.1. Surflex-dock 1.3

Pour étudier les interactions protéines-ligands, nous avons choisi le programme Surflex-dock qui utilise une approche incrémentielle. Surflex-dock (1.3, 2005) est un algorithme qui a été utilisé pour réaliser le docking moléculaire, il est capable d'arrimer des ligands dans un environnement constitué d'acide aminés avec une bonne précision et d'une façon rapide (1).

I.3.2. Open Babel 2.0.2

Open Babel est un programme gratuit destiné à convertir des données chimiques d'un format à un autre dans différents types de fichiers (Figure IV.1). Les formats de fichiers pris en charge par Open Babel incluent : pdb, mol, mol2, sdf, xyz, pc, smi...etc. Ce dernier disponible à l'adresse email suivante: <http://openbabel.org/wiki/> (2).

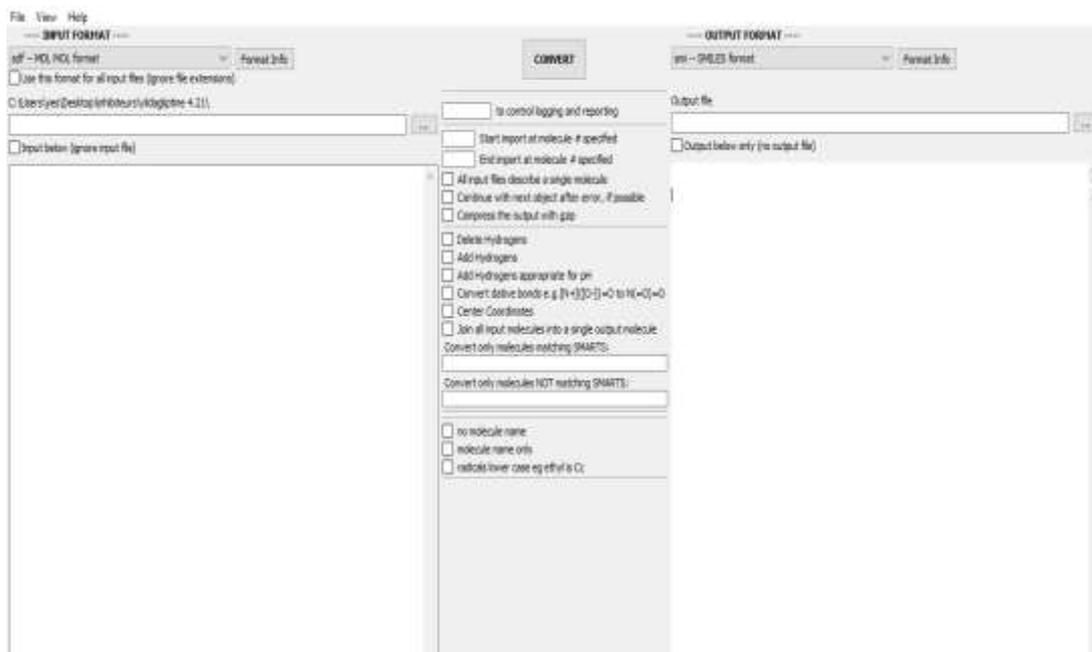


Figure IV.1 : Capture d'écran du programme OpenBabel.

I.3.3. Viewerlite 4.2

ViewerLite 4.2 est un outil gratuit de visualisation, qui permet un affichage tridimensionnel d'une structure de molécule biologique (Figure IV.2). Il permet d'ouvrir plus de 150 types de fichiers sur PC sous un système d'exploitation Windows pour visualiser la structure des protéines ou des petites molécules. Viewerlite propose plusieurs fonctions telles que : la présentation des liaisons chimiques (liaisons hydrogène), la mesure de distances interatomiques, l'annotation des acides aminés (nom, numéro), créations de surfaces, choix de couleur (selon les atomes, les structures...), la capacité de cacher et puis afficher à nouveau les différentes molécules. Le programme Surflex-dock est dépourvu de la visualisation c'est pour cette raison nous avons utilisé le programme ViewerLite afin de visualiser les différentes interactions formées entre le ligand et le site actif de notre enzyme (1).

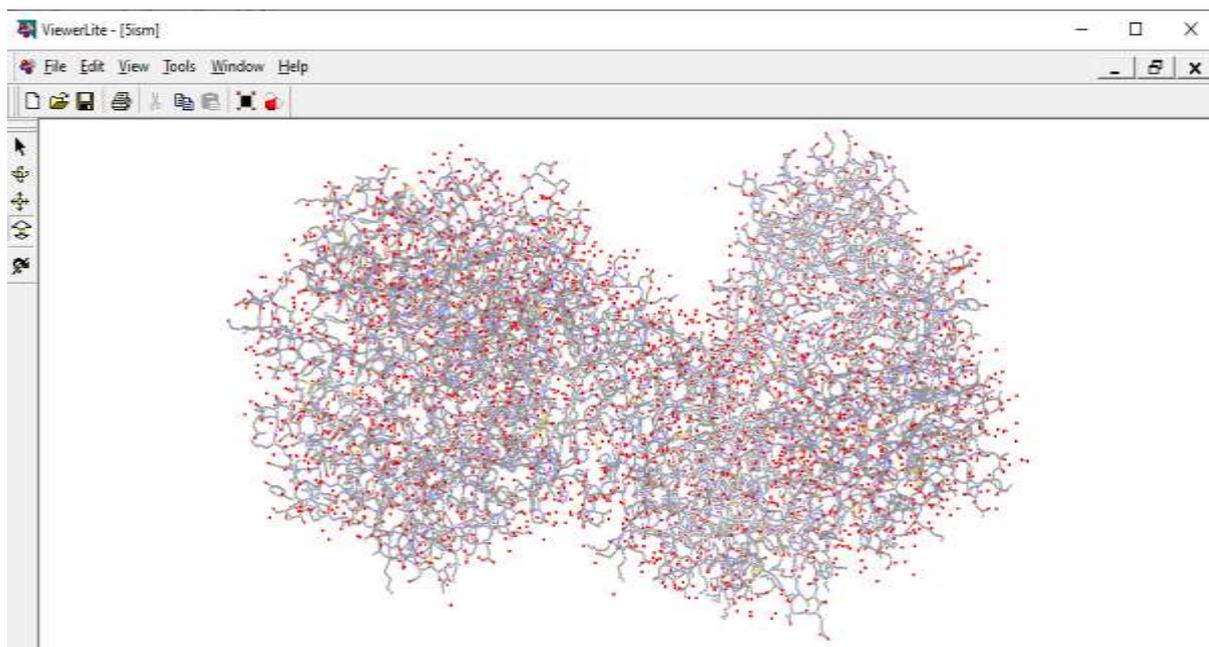


Figure IV.2 : Capture d'écran du logiciel ViewerLite.

I.3.4. Excel 2010

Pour tracer le diagramme et le secteur du RMSD présenté dans ce travail.

I.4. Banques de données

I.4.1. La *Protein Data Bank*

La banque des données protéiques *Protein Data Bank* ou PDB est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle des macromolécules biologiques : (protéines, ADN, ARN ...etc.) et des assemblages complexes qui aident les étudiants et les chercheurs à comprendre tous les aspects de la biomédecine et de l'agriculture. Ces structures sont principalement déterminées par trois méthodes expérimentales, la cristallographie à rayons X, la résonance magnétique nucléaire ou la microscopie électronique. La première méthode est la plus utilisée pour la majorité des structures de DPP4 disponibles dans la PDB, la moitié de ces structures sont sous forme de complexes avec divers ligands. La consultation des structures est gratuite et peut se faire via l'internet (Figure IV.3). Son adresse électronique est : <http://www.rcsb.org/pdb> (3).



Figure IV.3 : Capture d'écran du site de la *Protéine Data Bank*.

I.4.2. PubChem

PubChem est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par *the National Center for Biotechnology Information*, branche de la Bibliothèque Nationale de Médecine des États-Unis sous l'autorité du *National Institutes of Health*. Elle contient actuellement plus de 94 millions des composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques et pharmacologiques sont gratuitement accessibles via son site d'internet : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (Figure IV.4). Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux du ligand utilisé dans cette étude (4).

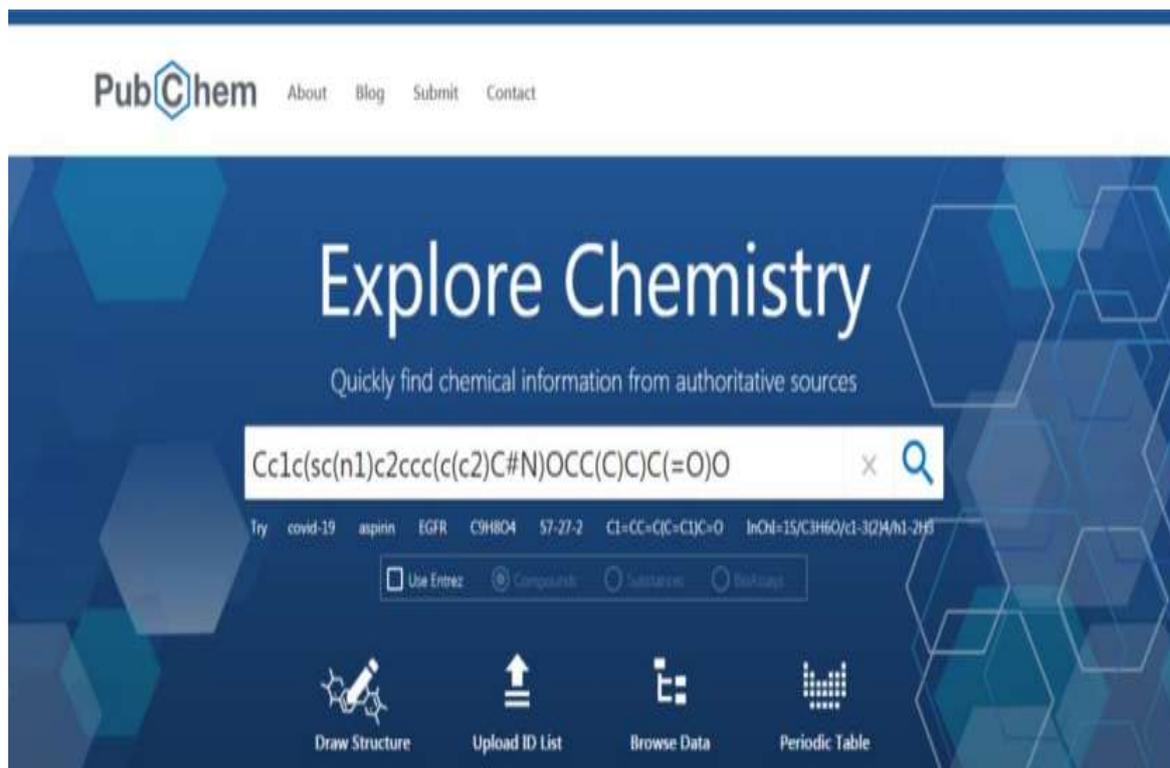


Figure IV.4 : Capture d'écran du site de la banque PubChem.

I.5. Serveurs

I.5.1. SwissADME :

L'outil web SwissADME est un serveur en ligne géré par l'Institut Suisse de Bioinformatique qui offre un accès gratuit à un ensemble des modèles prédictifs rapides et puissants pour évaluer les propriétés physicochimiques (la règle de cinq de Lipinski), pharmacocinétiques, la similarité des médicaments et la disponibilité des produits chimiques médicinaux (Figure IV.5). Une saisie et une interprétation simples et efficaces sont assurées via l'interface conviviale du site internet <http://www.swissadme.ch> (1).

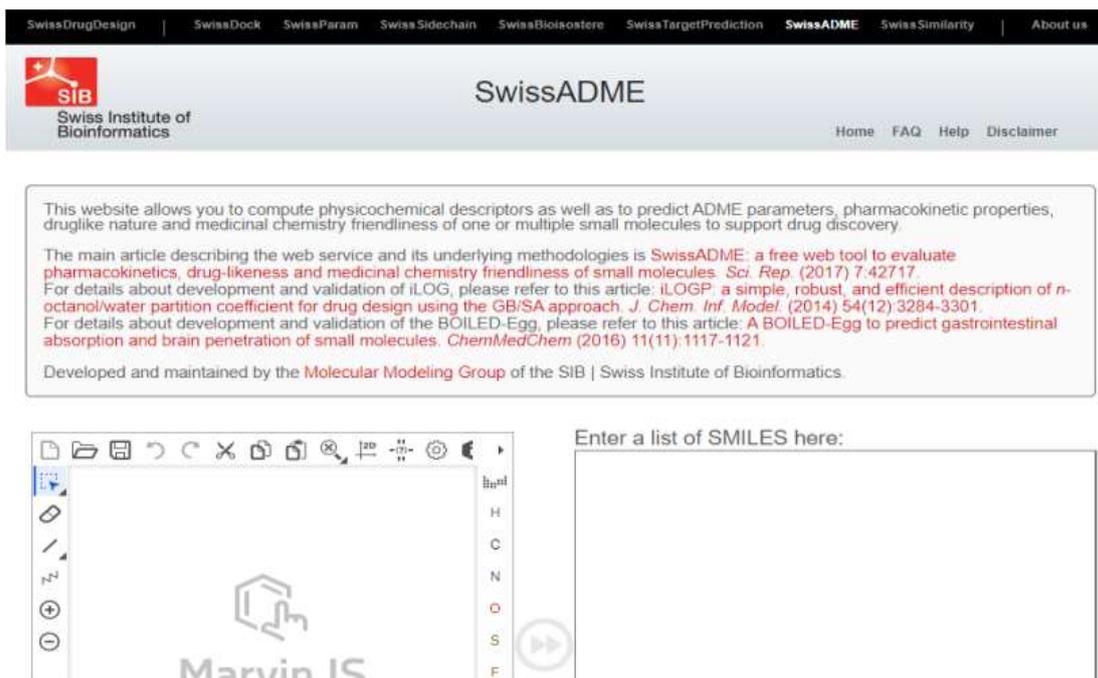


Figure IV.5 : Capture d'écran du site de serveur SwissADME.

I.5.2. PreADMET

L'outil web PreADMET est un serveur en ligne gratuitement accessible via son site d'internet <https://preadmet.bmdrc.kr>, permettant de prédire les données ADME-Tox et de créer une bibliothèque de type médicament à l'aide de la méthode *in silico* (Figure IV.6). PreADMET permet un accès à plusieurs modèles pour prédire :

- Les propriétés physicochimiques (*Drug likeness*) ;
- Quelques comportements pharmacocinétiques ;
- La toxicité des composés (5).

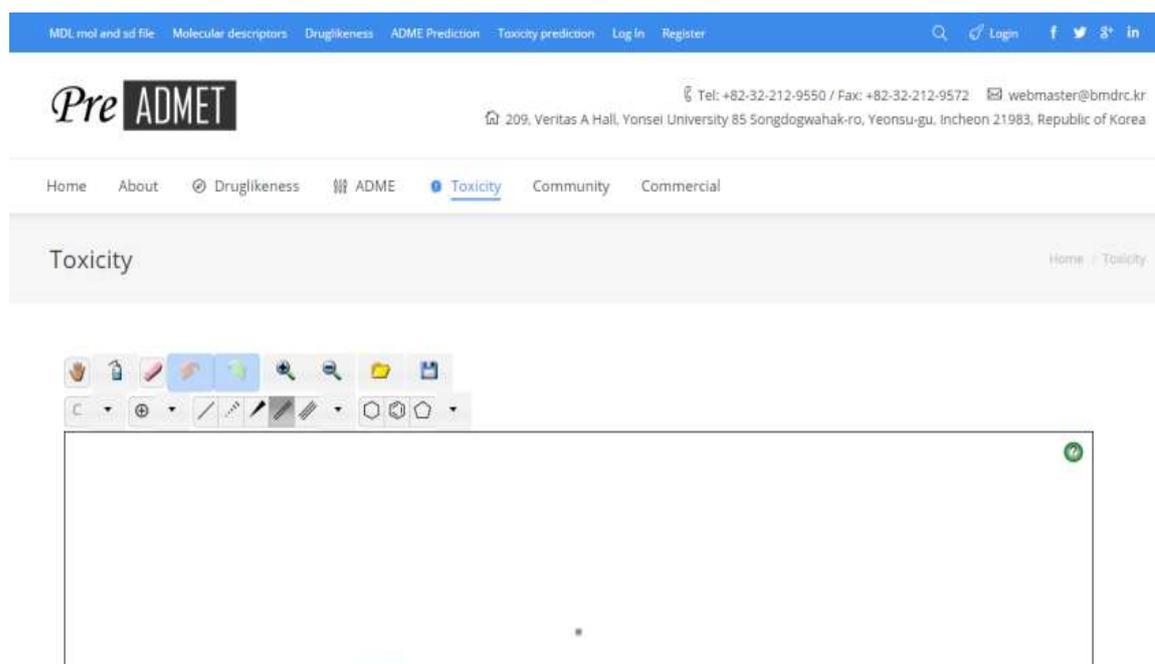


Figure IV.6: Capture d'écran du site de serveur PreADMET.

II. Méthodes

II.1. Réalisation du docking moléculaire

II.1.1. Préparation du récepteur

Parmi plusieurs complexes DPP4-ligand disponibles dans la PDB, nous avons choisi le code 4A5S avec une résolution égale à 1.62 Å. L'enzyme étant formée d'une seule chaîne, les hétéroatomes ont été éliminés sauf que les molécules d'eau pour permettre une utilisation plus aisée de l'enzyme avec un site actif libre lors du docking moléculaire. La protéine ainsi préparée est enregistrée sous format pdb. Le programme Surflex-dock exige le format .mol2. Pour cette raison, nous avons utilisés le programme Open Babel 2.3.0 pour la conversion du format .pdb de notre protéine en format .mol2 et aussi pour ajouter des atomes d'hydrogène à la structure.

II.1.2. Préparation de ligands

Les structures tridimensionnelles des ligands ont été obtenues à partir de la base des données PubChem sous format sdf, ces derniers ont été convertis au format mol2 grâce au logiciel Open Babel.

II.1.3. Docking par Surflex-dock

La réalisation de docking avec le programme Surflex-dock s'effectue par les étapes suivantes (6):

- Génération du protomol

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

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

- Docking du ligand dans le site d'interaction

L'étape de docking débute par une fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments obtenus permet de rechercher les meilleures conformations du ligand dans le site actif de l'enzyme. La réalisation de cette étape nécessite la commande suivante :

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

II.2. Traitement de résultat

Les résultats pour les dix meilleures conformères sont fournis dans un même fichier (Figure IV.7). Chaque conformères possède trois scores:

- Le premier correspond à l'affinité.
- Le second au degré de pénétration important du ligand dans la protéine.
- Le troisième correspond au niveau de contribution des interactions polaires.



```
[ret_conf 4.35] [ret_conf 4.22] [ret_conf 4.50] [ret_conf 4.42] [ret_conf 3.78] [ret_conf 5.25] [ret_conf 4.26] [ret_conf 4.21] [ret_conf 3.84] [ret_conf 4.70] [ret_conf 3.20] [ret_conf 3.25] [ret_conf 3.25] [ret_conf 3.25] [ret_conf 3.23] [ret_conf 4.65] [ret_conf 3.39] [ret_conf 3.20] [ret_conf 4.87] [ret_conf 3.69] [ret_conf 2.82] [ret_conf 3.25] [ret_conf 3.25] [ret_conf 3.23] [ret_conf 3.23] [ret_conf 4.16] [ret_conf 3.39] [ret_conf 3.20] [ret_conf 4.87] [ret_conf 5.28] [ret_conf 4.65] [ret_conf 4.65] [ret_conf 3.71] [ret_conf 4.83] [ret_conf 4.54] [ret_conf 3.39] [ret_conf 4.60] [ret_conf 4.70] [ret_conf 3.70] [ret_conf 5.25] [ret_conf 3.84] [ret_conf 3.25] [ret_conf 3.34] [ret_conf 3.25] [ret_conf 3.32] [ret_conf 2.82] [ret_conf 3.39] [ret_conf 3.20] [ret_conf 4.87] [ret_conf 5.25] final-0: 5.70 (crash -1.13 (self -0.75))
```

Figure IV.7 : Capture d'écran d'un exemple du résultat de docking moléculaire donné par le programme Surflex-dock.

- Test RMSD

Pour le test RMSD nous avons utilisé la commande suivante (Figure IV.8):

```
surflex-dock rms final-0.mol2 ligand.mol2
```

```
C:\Users\yes\Desktop\1>surflex-dock rms final-0.mol2 L.mol2
Surflex license: C:\sfdocklicense
The Surflex software is the property of Biopharmics LLC.
Surflex licensed to SFDock0036 (Gerhard Vergoten, Univ. Lille) for internal use only.
Rotatable bonds: 6 6
Actual rmsd: 0.742
Heavy atom rmsd: 0.689
Similarity: 0.790
```

Figure IV.8 : Capture d'écran d'un résultat du calcul de RMSD par le programme Surflex-dock.

III. Prédiction de la similarité médicamenteuse

Les principales raisons de l'échec des molécules en cours de développement d'un médicament sont le manque d'efficacité chez l'homme et les problèmes de pharmacocinétique. Chaque médicament éventuel doit se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible cout de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (Figure IV.9) (5).

III.1. Absorption

L'absorption est un processus par lequel le médicament inchangé passe de son site d'administration à la circulation sanguine générale à travers de membranes biologiques (7).

III.2. La distribution

La distribution est fonction de la capacité du médicament à franchir les barrières qui peuvent être franchies par diffusion passive ou par l'action des transporteurs (7).

III.3. Métabolisme

Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par l'organisme. Cette transformation est essentiellement réalisée par une réaction enzymatique d'un médicament en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs au plan pharmacologique (8).

III.4. Elimination

L'élimination d'un médicament de l'organisme peut se faire par différentes voies : urinaire, respiratoire, cutanée, salivaire, ou dans le lait maternel. Pour un certain nombre de voie d'élimination, un phénomène de réabsorption du médicament peut être rencontré, qui contribue à diminuer ou ralentir l'élimination du médicament (8).

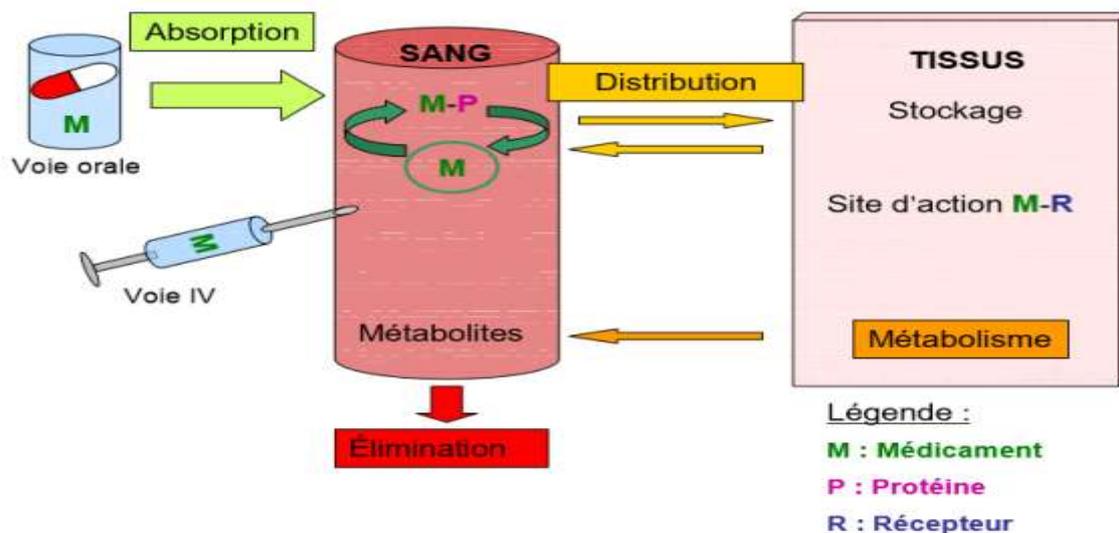


Figure IV.9 : Représentation schématique de devenir d'un médicament dans l'organisme (7).

III.5. Propriétés physico-chimiques

➤ Règle de Lipinski (règle des 5)

Lipinski en 1997 a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle. Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phases finales de développement. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être biodisponible oralement s'il respecte au moins 2 des 4 critères suivants (5,9) :

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons.
- Le coefficient de partition octanol/eau (logP) entre -2 et 5.
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (OH et NH) doit être ≤ 5 .
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (O et N) doit être ≤ 10 .

➤ Règle de Veber

La règle Veber suggère que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale. La réduction de la flexibilité moléculaire (mesurée par le nombre de liaisons rotatives) et la faible surface polaire sont des prédicateurs importants de la bonne biodisponibilité orale (10) :

- Le nombre des liaisons rotatives ≤ 10 .

- La surface polaire (PSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$.

III.6. Propriétés pharmacocinétiques

➤ Absorption gastro-intestinale (GI)

L'absorption est le processus par lequel un médicament passe de son site d'administration à traverser la barrière gastro-intestinale pour accéder à la circulation générale. Elle se caractérise essentiellement par l'un des trois mécanismes qui comprennent la diffusion facilitée, la diffusion passive, et le transport actif **(11)**.

➤ BBB perméabilité

La barrière hémato-encéphalique est une structure retrouvée au niveau des capillaires cérébraux. Elle protège le système nerveux central (SNC) en séparant le tissu cérébral de la circulation sanguine. Il est principalement formé par l'endothélium cérébral, qui peut empêcher les molécules plus grosses et les petites molécules de pénétrer dans le SNC et permettre le transport uniquement de molécules solubles dans l'eau et des lipides et de molécules de transport sélectif **(12)**.

➤ Inhibition de CYP (P450)

Les cytochromes P450 sont des hémoprotéines qui interviennent au métabolisme oxydatif de nombreux médicaments. Ils comprennent plusieurs formes, les principaux sont : CYP 1A2, 2D6, 2C9, 2C19, 2E1 et 3A4. Ils participent à la chaîne respiratoire des cellules en tant que transporteur d'électrons, permettant la synthèse d'ATP (adénosine triphosphate) qui est une source d'énergie cellulaire. Certains cytochromes ont une activité enzymatique qui peut être modifiée sous l'action des médicaments inducteurs ou inhibiteurs. Leur connaissance doit permettre d'éviter les interactions médicamenteuses **(13)**.

III.7. Toxicité

La toxicité se définit en général comme l'ensemble des effets néfastes qui peuvent être des lésions morphologiques et fonctionnelles dans un organisme vivant, provoquées par une substance introduite à dose unique relativement élevée ou à des petites doses longtemps répétées. L'étude de la toxicité d'une substance est l'ensemble des essais pharmacologiques, qui déterminent le degré ou le caractère nocif de cette dernière afin de réglementer son utilisation. La toxicité peut être classifiée selon leur mode d'administration, l'organe affecté ou selon le mécanisme de la toxicité **(14)**.

➤ **Génotoxicité (test d'Ames)**

Le test d'Ames, parfois appelé test à Salmonella ou muta test, consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* (15).

➤ **La carcinogénicité**

La carcinogenèse est un processus multi-étape complexe qui implique la transition des cellules normales en cellules cancéreuses pour objectifs de déterminer les risques posés par les tumorigènes à cause d'un composé chez les animaux et d'évaluer les risques qu'ils peuvent présenter pour les humains (11).

➤ **Inhibition de HERG**

Le gène hERG (*human Ether-a-go-go-Related Gene*) code pour un canal potassique à tension variable qui est un élément clé dans la formation du potentiel d'action cardiaque. Chez l'homme, les effets de certains médicaments entraîne une disfonctionnement ou un blocage de ce canal, ce qui provoque des fibrillations pouvant aller jusqu'à l'arrêt cardiaque (16).

Références bibliographiques

- (1) Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Mémoire de Magistère en Biochimie. Algérie: Université Mentouri Constantine I. **2012**.
- (2) Jay A., Jain 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.
- (3) Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. The protein data bank. *Nucl Ac Res.* **2000**, 28, 235-242.
- (4) Wheeler D.L., Barrett T., Benson D.A., Bryant S.H., Canese K., Chetvernin V., Church D.M., DiCuccio M., Edgar R., Federhen S., Feolo M., Geer L.Y., Helmberg W., Kapustin Y., Khovayko O., Landsman D., Lipman D.J., Madden T.L., Maglott D.R., Miller V., Ostell J., Pruitt K.D., Schuler G.D., Shumway M., Sequeira E., Sherry S.T., Sirotkin K., Souvorov A., Starchenko G., Tatusov R.L., Tatusova T.A., Wagner L., Yaschenko E. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res.* **2008**, 36, D13–D21.
- (5) 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.* **2001**, 46, 3-26.
- (6) Teniou S. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de Magister en Biochimie. Algérie : Université Mentouri Constantine, **2012**.
- (7) Kola I., Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat. Rev Drug discov.* **2004**, 43, 711-716.
- (8) Ritschel W.A. *Handbook of Basic Pharmacokinetics*. 3^{er} ed., Drug Intelligence Publications: Inc, **1986**.
- (9) Corinne H. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat en Biologie structurale. France : Université Toulouse III - Paul Sabatier, **2008**.

- (10) 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. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2615–2623.
- (11) Boucherit H. Recherche *in silico* de nouveaux composés bioactifs et applications à l'inhibition de la méthionine aminopeptidase. Thèse de doctorat en Biochimie. Algérie: Université Mentouri Constantine, **2020**.
- (12) Bourbon A., Vionnet M., Leprince P., Vaissier E., Copeland J., McDonagh P., Debre P., Gandjbakhch I. The effect of methylprednisolone treatment on the cardiopulmonary bypass-induced systemic inflammatory response. *European journal of cardio-thoracic surgery.* **2004**, 26(5), 932-938.
- (13) Taburet A.M., Furlan V. Le système des cytochromes P450 : définition, rôle et implication dans la pharmacocinétique des anti-infectieux. *La Lettre de l'Infectiologue.* **2000**, 1, 12-17.
- (14) Etame L.G., Yinyang J., Okalla Ebongue C., Makondo B.V., Ngaba G.P., Mpondo E., Dibong S.D. Étude de la toxicité aigüe et subaigüe de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn. *Journal of Applied Biosciences.* **2017**, 120, 12077-12085.
- (15) De Méo M., Laget M., Di Giorgio C., Guiraud H., Botta A., Castegnaro M., Duménil G. Optimization of the salmonella/mammalian microsome assay for urine mutagenesis by experimental designs. *Mutat. Res.* **1996**, 340, 51-65.
- (16) Rampe D., Murawsky M.K., Grau J. Lewis E.W. L'agent antipsychotique sertindole est un antagoniste de haute affinité du canal du potassium cardiaque humain HERG. *J. Pharmacol.* **1998**, 286, 788–793.

Chapitre V:
Résultats et Discussion

I. La fiabilité du programme Surflex-dock

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

I.1. Test RMSD

Le RMSD (*root mean square deviation*) entre deux poses est une mesure géométrique de la distance entre les positions atomiques de la structure expérimentale et celles de la structure prédite du complexe ligand-site de liaison. Pour réaliser un calcul de RMSD, le ligand co-cristallisé d'une cible donnée est extrait, et repositionné par docking dans le site actif. C'est ce qu'on appelle en anglais le « *cognate redocking* » ou encore « *self docking* ». La prédiction est acceptable lorsque la valeur du RMSD obtenue est $\leq 2\text{\AA}$ (1).

Dans notre cas, le test de fiabilité du programme Surflex-dock par le test RMSD a été réalisé sur 120 complexes, dont la majorité sont des complexes dipeptidyl peptidase 4-inhibiteurs. Ils ont été téléchargés à partir de la PDB au format pdb puis convertis au format mol2 à l'aide du programme Open Babel. Les résultats de ce test sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V.1 : Liste de 120 complexes utilisés pour tester la fiabilité du programme Surflex-dock et leurs chiffres du RMSD.

Code d'enzyme	Code d'inhibiteur	RMSD	Code d'enzyme	Code d'inhibiteur	RMSD
1N1M	A3M	1,552	2QTB	474	0,678
1ORW	PHI	0,517	2RGU	356	0,659
1RWQ	5AP	0,742	3C43	315	1,446
1TKR	DFP	0,769	3CCC	7AC	0,664
1X70	715	0,285	3D4L	605	0,308
2AJ8	SC3	2,217	3EIO	AJH	1,598
2AJB	0QG	2,662	3F8S	PF2	1,301
2AJC	AES	0,152	5Y7K	8VU	1,261
2AJD	BPR	1,364	5Y7J	8OL	2,043
2AJL	JNH	2,526	5Y7H	8O3	0,559
2BUA	007	2,839	5VTA	9K4	1,606

2BUB	FPB	0,747	5ISM	6DG	0,461
2BUC	008	0,156	5I7U	6AJ	2,179
2FJP	S14	0,395	4PV7	CJP	1,947
2G5P	ADF	1,308	4PNZ	2VH	0,906
2G5T	ACF	1,400	4N8E	2KV	1,671
2G63	AAF	2,145	4N8D	2KS	0,600
2GBF	AIA	1,319	4LKO	1WH	0,443
2GBG	1AD	1,030	4JH0	1MD	2,639
2GBI	XIH	1,661	4J3J	D3C	0,877
2I03	AXD	1,903	5JF8	PN3	1,382
2I3Z	LIR	0,783	3C45	317	1,567
2I78	KIQ	1,755	4FFW	715	1,385
2IIT	872	2,406	4DTC	D5C	1,622
2IIV	565	2,378	4DSZ	DC3	2,725
2JID	GVB	0,570	4DSA	D1C	2,388
2OAE	AIL	0,945	4A5S	N7F	1,014
2OAG	DLI	1,691	3WQH	SKK	1,790
2OGZ	U1N	1,300	3W2T	LF7	1,564
2OLE	KR2	1,113	3VJM	W61	0,892
2OPH	277	1,151	3VJL	W94	1,900
2OQI	GGO	1,357	3VJK	M51	0,898
2OQV	MA9	1,512	3SX4	KXA	0,243
2P8S	417	0,618	3SWW	KXB	1,338
2QJR	PZF	0,749	3QBJ	NXZ	0,545
2QOE	448	2,259	3Q0T	LGE	0,963
2QT9	524	1,940	3OC0	B2Q	1,202
5J3J	HL1	1,834	3NOX	6A5	1,513
5KBY	6RL	0,601	3KWJ	23Q	0,566
5LLS	6Z8	0,960	3KWF	B1Q	1,060
5T4B	75N	0,539	3HAC	361	1,872
5T4E	75L	0,623	3HAB	677	0,862
5T4F	75M	0,746	3H0C	PS4	2,799
5T4H	75J	0,862	3G0G	RUM	2,547

5ZID	9EL	0,624	3G0D	XIH	1,856
6B1E	LF7	2,292	3G0C	RUF	7,360
6B1O	C8S	1,616	3G0B	T22	2,056
1BSZ	2PE	1,317	1BSJ	MLN	1,969
1RL4	BL5	1,531	1BSK	MLN	2,251
2EW6	Y13	1,439	2EW5	Y12	0,565
5CVP	56F	0,083	4E9A	QAP	1,539
5CWX	56K	2,332	4E9B	EPE	1,882
5CWY	4WL	0,806	5CVK	56E	9,014
5CXO	56L	2,057	5JF3	SF5	2,232
5CXJ	56T	2,312	5JF4	6JT	1,029
5CY7	56U	6,201	5JF5	7JT	1,092
5CY8	56V	2,523	3SW8	5LI	1,717
5JF2	S7F	1,438	3E3U	NVC	1,246
5JF6	BB4	0,652	1IX1	MHA	0,830
5JF7	6JU	0,117	6GB1	HEZ	1,413

Dans le graphique suivant, les résultats du test RMSD sont donnés en pourcentage (%), à deux intervalles ($\geq 2 \text{ \AA}$ et $< 2 \text{ \AA}$).

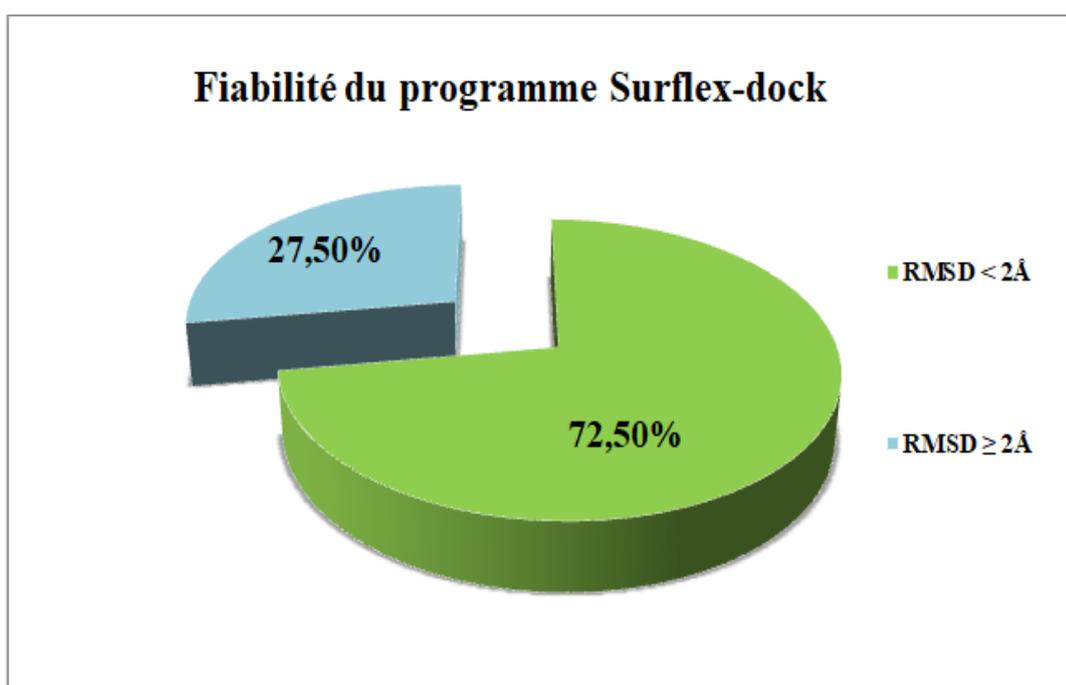


Figure V.1. Résultats en % obtenus par Surflex-dock à deux intervalles du RMSD (Å).

Dans le deuxième graphique, les résultats sont donnés en pourcentage (%), à divers intervalles du RMSD et sont représentés par différentes couleurs.

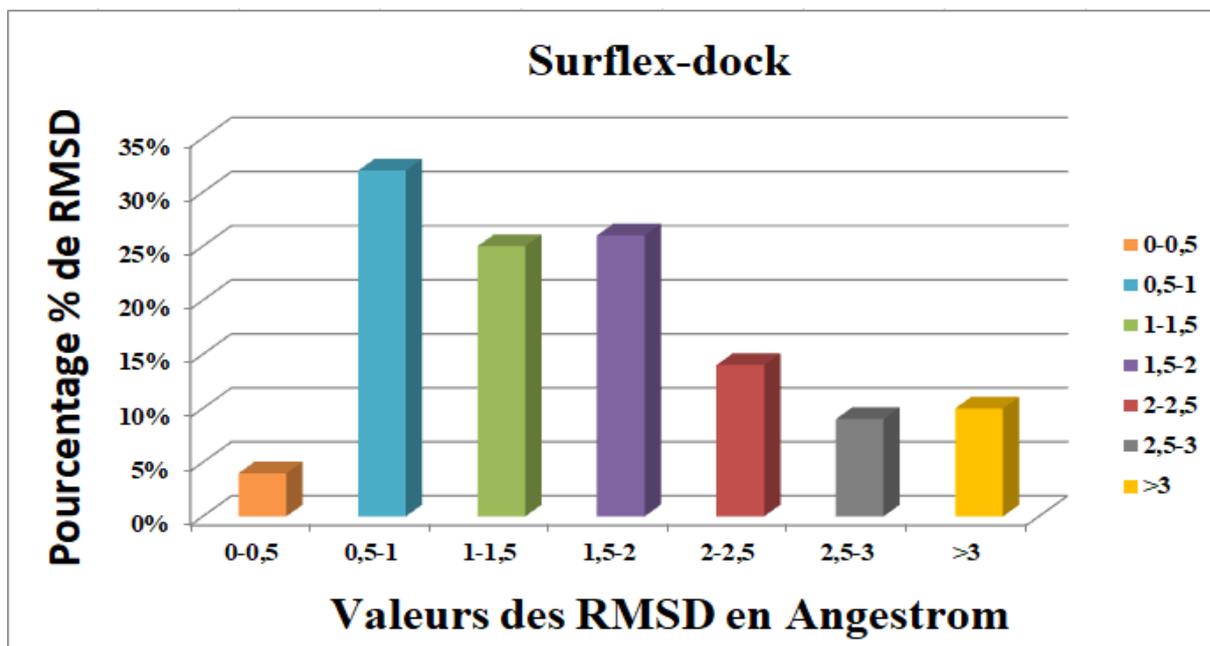


Figure V.2 : Résultats en % obtenu par Surflex-dock à divers intervalles du RMSD.

Nous avons constaté d'après le graphe de la figure V.1, qui représente les résultats en pourcentage obtenus par Surflex-dock à deux intervalles du RMSD (\AA), que 72,50% des complexes présentent des valeurs du RMSD inférieures ou égale à 2\AA , cependant 27,50% seulement sont des valeurs supérieures à 2\AA . Dans le graphe V.2, qui indique les résultats en pourcentage obtenu par Surflex-dock à divers intervalles du RMSD, nous avons trouvé que la majorité des bonnes RMSD se situe dans les intervalles de $[0,5\text{\AA}-1\text{\AA}]$ et de $[1,5\text{\AA}-2\text{\AA}]$.

La reproduction des données expérimentales dans telles proportions, montre que le programme Surflex-dock est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant et ce conformément aux travaux de Chikhi A., Bensegueni A. (2008) et Teniou S. (2012) qui ont trouvés 63%, 85,8% des RMSD sont inférieurs ou égale à 2\AA respectivement (2, 3).

I.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape très importante permettant une meilleure appréciation des résultats du RMSD obtenus avec Surflex-dock. Nous avons appliqué le test RMSD sur trois complexes de la dipeptidyl peptidase 4 disponibles au niveau de la PDB portant les codes : 3D4L, 2G63 et 4PV7 afin de faire la comparaison de la conformation expérimentale

de ces trois complexes (colorées en rose) avec les conformations des ligands dockés (colorées en jaune). Les résultats sont indiqués dans le tableau V.2 et les figures V.1, 2 et 3 suivants :

Tableau V.2 : Valeurs du RMSD des trois complexes choisis.

Code PDB des complexes	Code PDB des ligands	RMSD (Å)
3D4L	605	0,308
2G63	AAF	2,145
4PV7	CJP	7,506

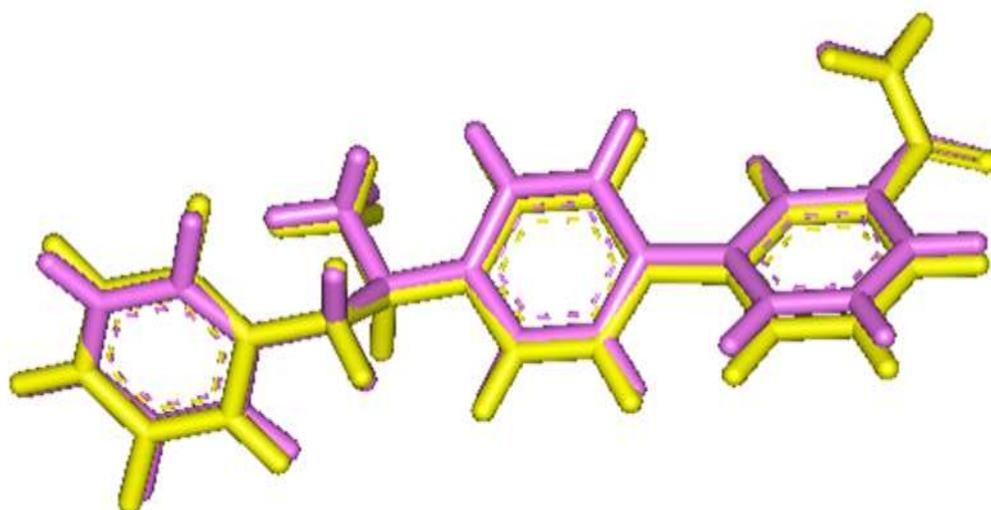


Figure V.3 : Superposition du ligand 605 du complexe 3D4L simulé par Surflex-dock (coloré en jaune) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=0,308Å).

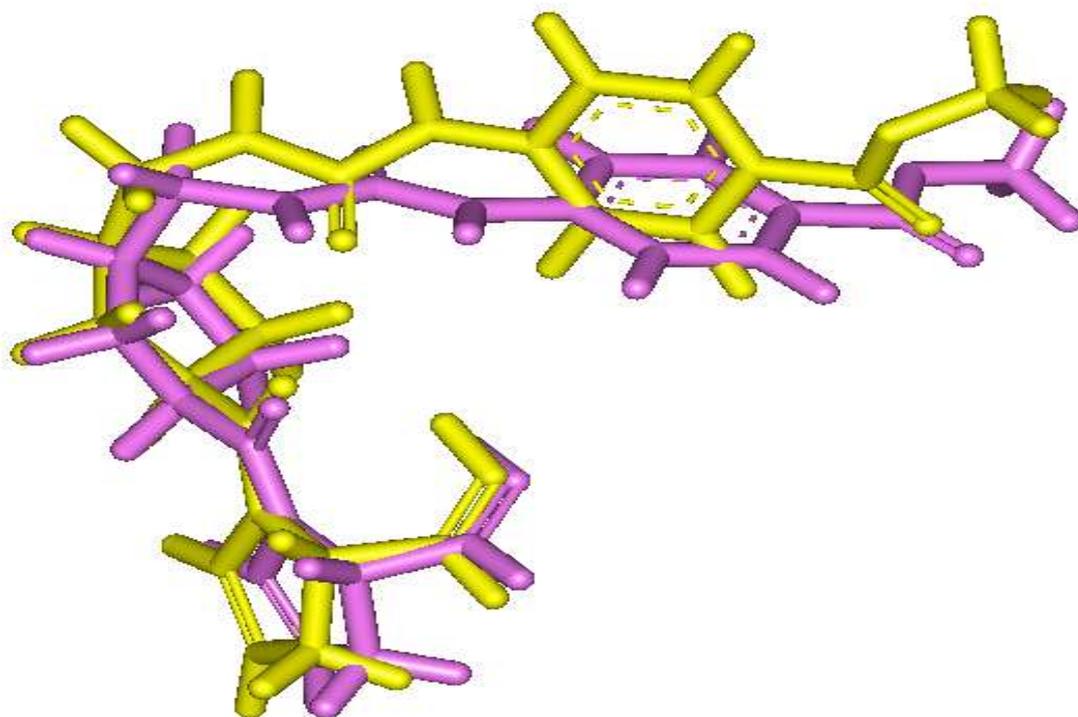


Figure V.4 : Superposition du ligand AAF du complexe 2G63 simulé par Surflex-dock (coloré en jaune) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=2,145Å).

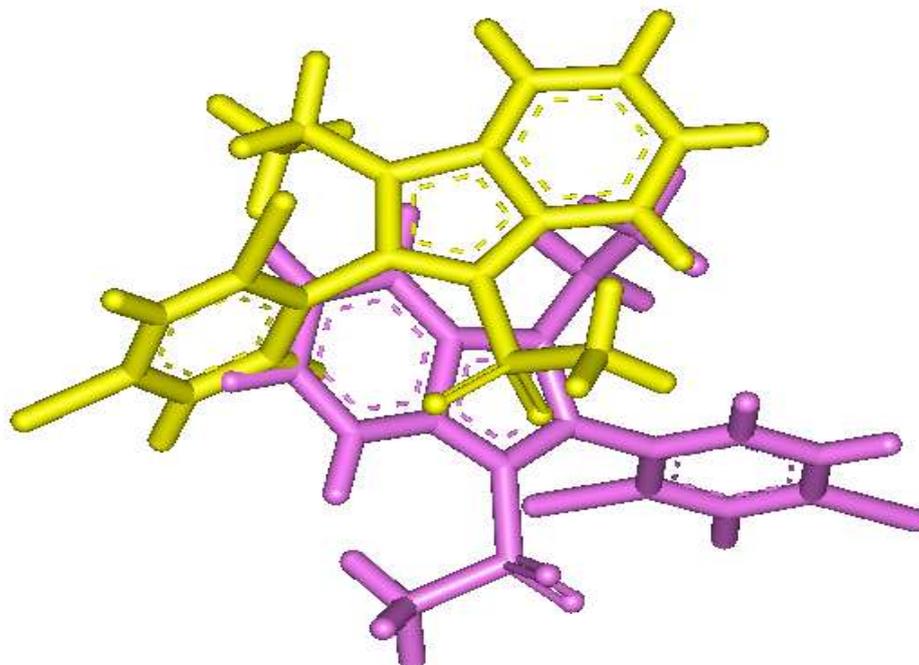


Figure V.5 : Superposition du ligand CJP du complexe 4PV7 simulé par Surfex-dock (coloré en jaune) vis-à-vis de la conformation expérimentale (coloré en rose) (RMSD=7,506Å).

Le test RMSD suivi par l'analyse visuelle montre que le programme Surfex-dock est fiable. Il peut donc être utilisé, sans grands risques d'erreurs, pour identifier par simulation *in silico*, des nouveaux inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4 en tant que nouveaux agents antidiabétiques.

II. Etude des interactions intervenantes dans l'inhibition de la dipeptidyl peptidase 4

II.1. Choix du code 4A5S

Nous avons choisis le code « 4A5S » de l'enzyme DPP4 qui possède les caractéristiques suivantes :

Tableau V.3 : Les caractéristiques du code choisi.

Caractère	DPP4 (EC : 3.4.14.5)
Complexe	4A5S
Classification	Hydrolase
Inhibiteur	N7F
Nombre de chaines	2 chaines (A et B)
Libéré	2012-02-08
Résolution	1.62 Å

II.2. Choix des inhibiteurs à étudiés

Les inhibiteurs de la DPP4 sont des petites molécules de synthèse appartenant à plusieurs familles chimiques, inhibant sélectivement la DPP4 en contribuant significativement à normaliser la glycémie avec très peu d'effets indésirables (4).

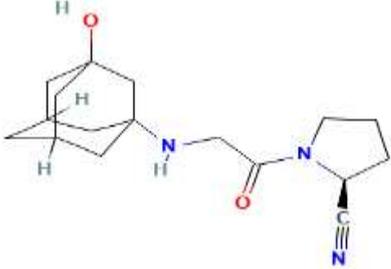
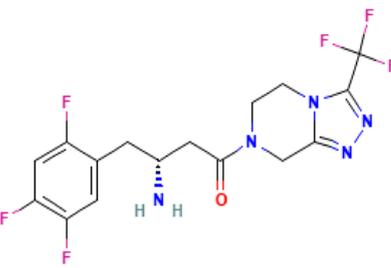
Les gliptines sont des inhibiteurs compétitifs puissants de la DPP4 utilisés dans le traitement du diabète de type 2. Les plus connus sont la sitagliptine (Januvia) et la vildagliptine (Galvus). En inhibant la DPP4, ces molécules entraînent une augmentation importante de la concentration du GLP-1 et GIP, ce qui provoque une augmentation de la sécrétion d'insuline et une diminution de la sécrétion de glucagon (5).

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

II.3. Résultats du docking

Les valeurs d'affinité calculées entre la DPP4 et les divers inhibiteurs étudiés sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau V.4 : Structures moléculaires, nomenclatures, affinités prédites (Kj/mol) des inhibiteurs étudiés avec la DPP4.

Inhibiteur	Structure bidimensionnelle	Nom chimique	Affinité (M ⁻¹)
Vildagliptine		(2S)-1-[2-[(3-hydroxy-1-adamantyl)amino]acetyl]pyrrolidine-2-carbonitrile	4,21
Sitagliptine		(R)-3-amino-1-(3-(trifluorométhyl)-5,6-dihydro-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazine-7(8h)-yl)-4-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-1-one	2,16

Nous avons choisi la vildagliptine comme un inhibiteur de référence puisque elle possède la meilleure affinité envers la DPP4 qui est égale à 4,21 M⁻¹, ainsi qu'une bonne fixation au niveau du site d'interaction (Figure V.4).

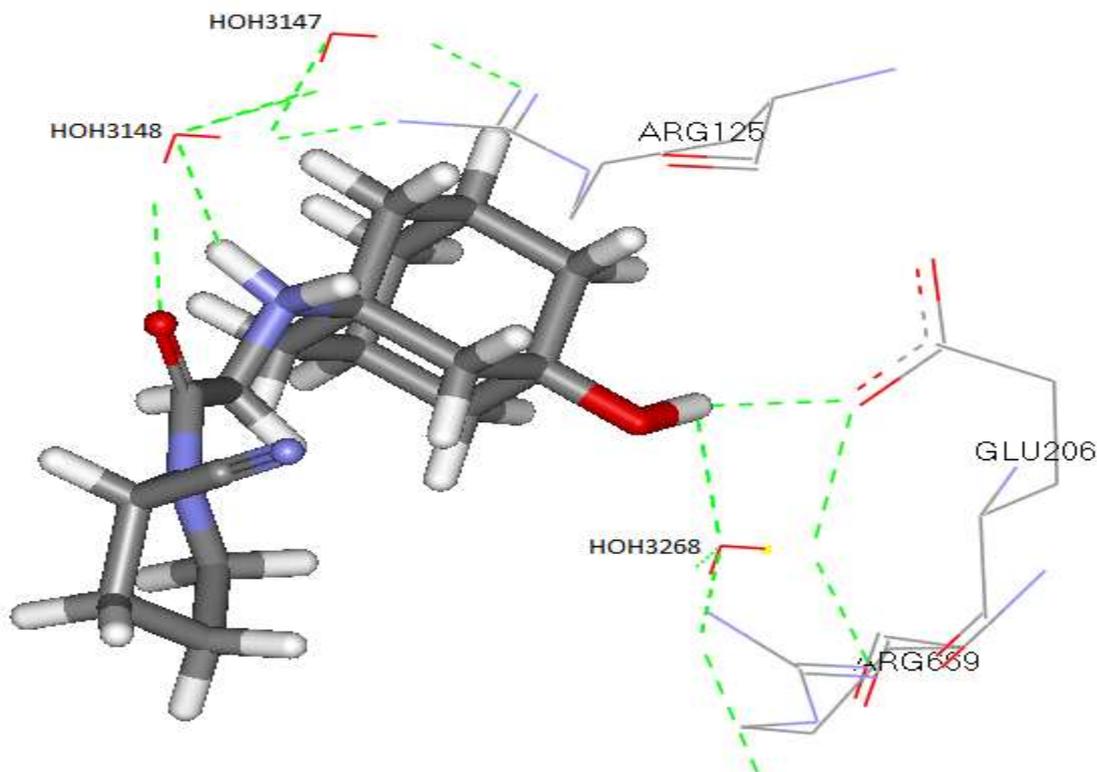


Figure V.6 : Mode de liaison du composé vildagliptine avec le site actif de la DPP4.

L'analyse visuelle montre que le composé vildagliptine est stabilisé par la formation d'une liaison hydrogène par l'intermédiaire de son groupement hydroxyle avec l'une des atomes d'oxygène de la fonction carboxyle du GLU206 et trois liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau HOH3268 et HOH3148 présentes dans le site actif.

Cet inhibiteur établit par l'intermédiaire de ses liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau des interactions supplémentaires avec les résidus GLU206, ARG125 et ARG669 de site actif.

III. Proposition de nouveaux inhibiteurs

Dans le but d'identifier des nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la dipeptidyl peptidase 4, nous avons utilisé comme structure de départ l'inhibiteur ayant présenté la meilleure affinité vis-à-vis de l'enzyme qui est la vildagliptine. La banque de données PubChem nous propose 209 similaires de l'inhibiteur vildagliptine, avec un taux de similarité allant jusqu'à 85%. Dans notre travail, nous avons réalisé le docking moléculaire de ces similaires en évaluant leurs affinité envers l'enzyme en question à l'aide du programme Surflex-dock. Les numéros d'accèsion et les affinités de ces composés sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V.5 : Résultats du docking moléculaire de 209 vildagliptine dérivatives dans le complexe 4A5S.

Numéro d'accension	Affinité (M ⁻¹)	Numéro d'accension	Affinité (M ⁻¹)
Vildagliptin	4,21	CID9845597	0,49
CID6918537	4,21	CID44560186	4,12
CID11077541	3,68	CID44394020	4,45
CID5251896	3,88	CID16070539	4,21
CID25020797	3,47	CID11616861	1,65
CID24848920	4,90	CID141236609	3,46
CID71752939	3,81	CID141236608	2,56
CID44560187	3,17	CID141174025	3,85
CID44560186	4,12	CID49849422	3,80
CID16070539	4,21	CID160580179	4,21
CID11015514	0,33	CID159841072	-1,60
CID10926029	3,89	CID159738504	4,21
CID160580179	4,21	CID159446324	4,21
CID159738504	4,21	CID145676314	3,88
CID159446324	4,21	CID145676312	-1,31
CID156491510	2,55	CID144262193	4,60
CID156028301	1,62	CID141458113	0,72
CID155318433	2,12	CID141236606	3,32
CID154404253	3,90	CID141236605	3,80
CID153409402	5,43	CID126694384	2,52
CID148726995	2,10	CID126694323	2,06
CID146491241	3,29	CID124199183	3,82
CID146491240	2,57	CID124199182	3,82
CID145676316	6,05	CID123986695	0,68
CID141174023	3,82	CID123708868	3,55
CID141038037	3,39	CID123460477	0,67
CID141023362	3,39	CID123415558	3,63
CID140137937	3,93	CID123386845	0,50
CID139472377	1,44	CID118409819	-1,34

CID137391977	2,92	CID87760998	2,42
CID118350021	3,68	CID86675511	4,21
CID118342604	2,92	CID86675510	4,21
CID118342488	3,61	CID85050849	1,00
CID118258781	-0,11	CID78225474	2,94
CID118163168	3,89	CID77442649	4,20
CID90266316	-1,22	CID75665563	3,59
CID89623439	2,49	CID74422800	-0,24
CID89349177	0,11	CID71773537	2,06
CID69702874	1,96	CID69917600	3,45
CID69475093	3,02	CID68169922	4,01
CID69353168	4,12	CID68168657	-1,59
CID69352992	3,17	CID68164409	3,55
CID69153136	2,90	CID68023481	-0,24
CID69049536	3,36	CID68023157	5,50
CID68253626	0,29	CID66885569	4,80
CID68253625	3,80	CID59760311	3,02
CID68253624	3,45	CID54361627	4,80
CID59669274	3,42	CID49835487	4,21
CID58364483	0,57	CID25057217	0,57
CID57665756	2,42	CID23074861	0,06
CID57626440	3,59	CID17944296	2,43
CID57626439	-0,22	CID17944295	2,41
CID57626438	3,07	CID17944294	3,35
CID57626437	-1,60	CID17944287	3,32
CID57315856	2,23	CID10424276	3,48
CID57294551	0,48	CID10335983	2,08
CID57161743	-0,18	CID11495120	3,68
CID9973731	3,02	CID11710332	1,63
CID9910466	2,98	CID11710333	1,63
CID9887379	1,05	CID11711714	3,68
CID9883455	2,67	CID15945882	3,68
CID9819565	3,05	CID16070183	4,21

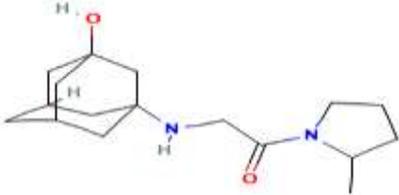
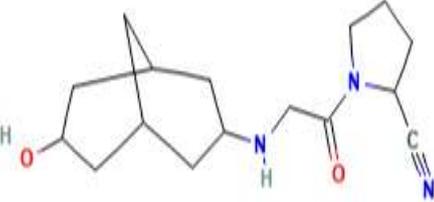
CID9797644	2,11	CID16070184	4,21
CID131633052	5,42	CID16070187	4,21
CID78225475	2,28	CID16070527	4,21
CID71307931	5,36	CID16070536	4,21
CID16070299	4,21	CID16070537	4,21
CID16070300	4,21	CID16070538	4,21
CID16070301	4,21	CID16070643	4,21
CID16070302	4,21	CID16070648	4,21
CID16070404	4,21	CID16070649	4,21
CID16070522	4,21	CID16070786	4,21
CID16071365	4,21	CID16071984	4,21
CID16071366	4,21	CID16071988	4,21
CID16071367	4,21	CID25207821	3,28
CID16071368	4,21	CID25255148	3,48
CID16071488	4,21	CID25255149	3,45
CID16071603	4,21	CID25255150	3,46
CID25255252	3,48	CID25255151	3,47
CID44537855	3,82	CID44594555	2,87
CID44594264	2,28	CID44594556	3,82
CID44594269	3,82	CID44594557	3,82
CID44594409	3,34	CID44594558	2,90
CID44594410	2,90	CID44594698	2,90
CID44594411	3,15	CID46783241	3,79
CID44594412	3,26	CID50943800	4,21
CID44594413	3,34	CID50943801	4,21
CID44594554	3,83	CID50943802	4,21
CID50943803	4,21	CID51347286	4,21
CID50943804	4,21	CID51347287	4,21
CID50943805	4,21	CID51347288	4,21
CID50943886	4,21	CID51347435	4,21
CID50943887	4,21	CID51655233	3,18
CID50943890	4,21	CID56644843	2,17
CID51347285	4,21	CID56644844	1,85

CID73202312	3,88	CID71752940	4,22
CID75213109	3,74	CID135015511	4,76
CID87760999	2,42	CID131708889	3,81
CID87958117	2,30	CID131708890	3,81
CID91810741	4,03	CID131914978	3,71
CID91810742	2,82	CID131939838	1,70
CID145708663	4,33	CID133053561	4,21
CID145708664	4,33	CID133687326	1,51
CID145709155	1,49	CID134694898	3,84
CID145714596	3,83	CID163202874	0,15
CID145714597	3,83	CID163202877	2,51
CID154574636	3,03	CID163202879	2,51
CID157512512	2,76	CID163202883	-1,23
CID163202872	1,11	CID163202885	-1,17
CID163202874	0,15	CID163202887	1,43

Sur les 209 similaires testés, 14 ont une affinité supérieure à celle de l'inhibiteur de référence (Tableau V.4). Les résultats du docking montrent que les composés criblés ont des orientations différentes dans les poches de liaison de la DPP4 en raison de leur diversité sur la composition atomique et leurs propriétés physico-chimiques.

Comme les montrent les tableaux V.4 et V.5, le composé CID145676316 dont le nom chimique 2-[(3-hydroxy-1-adamantyl) amino]-1-(2-méthylpyrrolidin-1-yl) éthanone se présente comme le meilleur inhibiteur de la DPP4, suivi par le composé CID68023157 avec des affinités de 6,05 et 5,50 M⁻¹ respectivement.

Tableau V.6 : Les deux meilleurs inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4.

Numéro d'accèsion	Structure bidimensionnelle	Nom chimique	Affinité (M ⁻¹)
CID145676316		2-[(3-hydroxy-1-adamantyl) amino]-1-(2-méthylpyrrolidin-1-yl) éthanone	6,05
CID68023157		1-[2-[(7-hydroxy-3-bicyclo [3.3.1]nonanyl)amino]acét yl]pyrrolidine-2-carbonitrile	5,50

IV. Prédiction du mode d'interaction des deux meilleurs composés

Nous avons utilisés le programme ViewerLite dans sa version 4.2 pour la visualisation et l'analyse des interactions formées entre les complexes dipeptidyl peptidase 4 - vildagliptine dérivatives.

➤ **Analyse visuelle du complexe 4A5S - composé CID145676316**

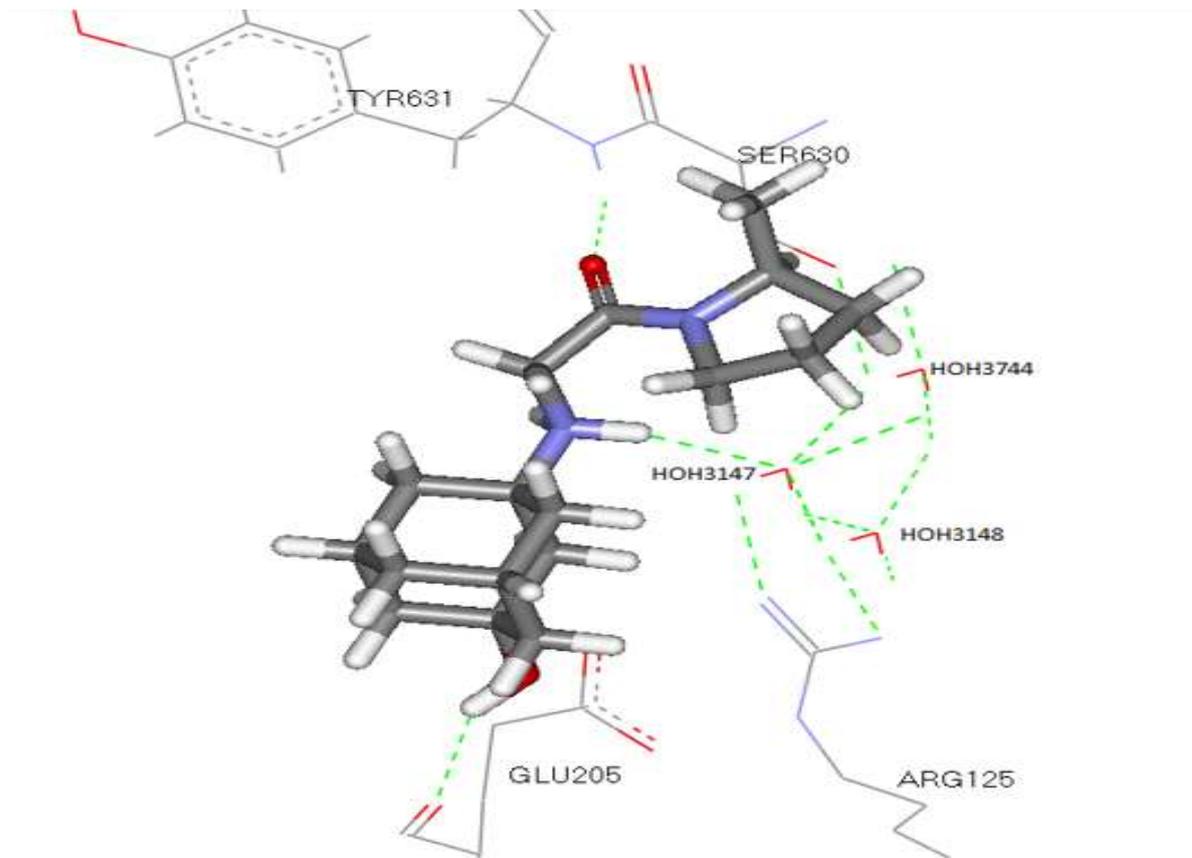


Figure V.7 : Mode de liaison du composé CID145676316 avec le site actif de la dipeptidyl peptidase 4.

L'affinité résulte de la mise en place de deux liaisons hydrogènes entre le composé CID145676316 et les résidus de site actif de la DPP4 : La première liaison est constatée entre l'hydrogène de la fonction hydroxyle de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction carbonyle du résidu GLU205, la deuxième liaison est formée entre le carbonyle de l'inhibiteur et la fonction amine du résidu TYR631.

Cet inhibiteur établit par l'intermédiaire de son pont hydrogène avec la molécule d'eau 3147 des interactions supplémentaires avec les résidus ARG125, SER630 de site actif.

➤ **Analyse visuelle du complexe 4A5S - composé CID68023157**

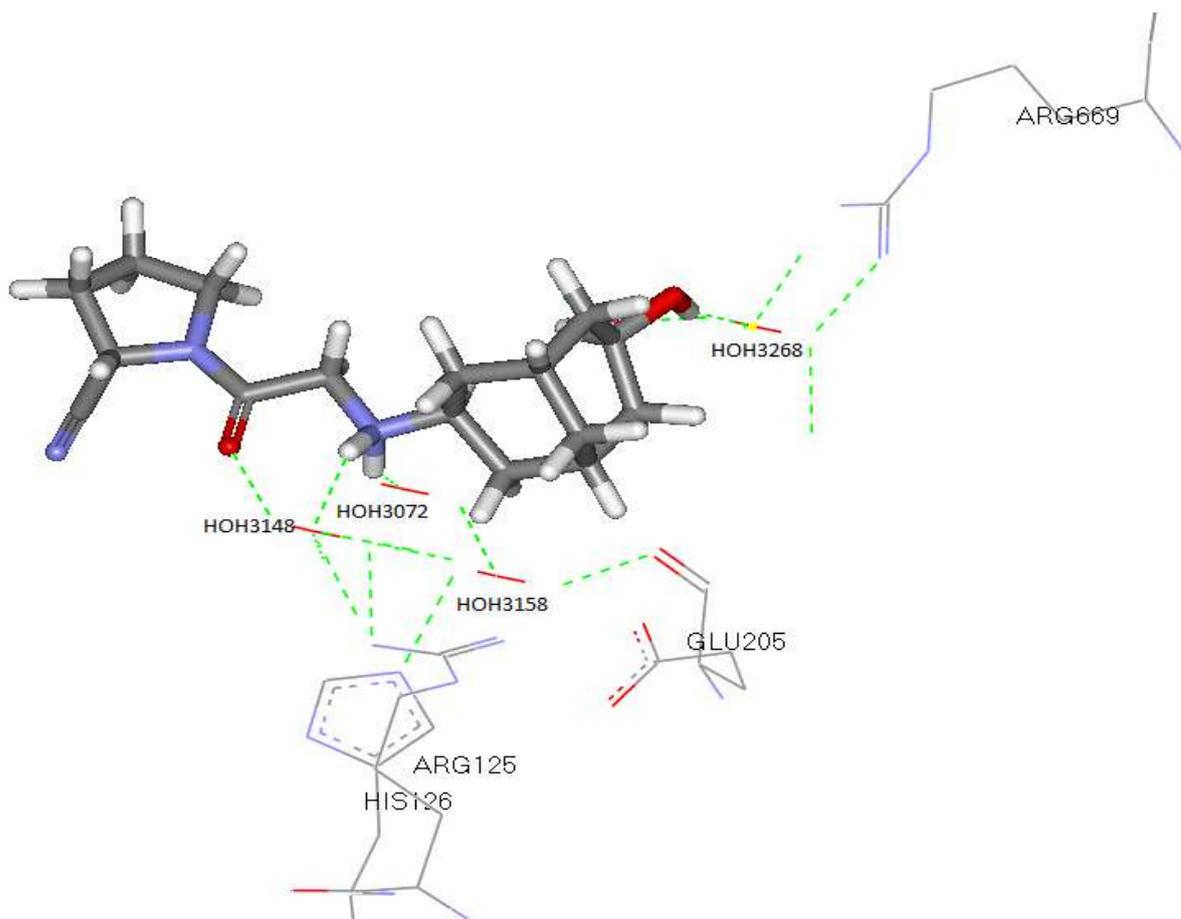


Figure V.8 : Mode de liaison du composé CID68023157 avec le site actif de la dipeptidyl peptidase 4.

Le programme Surflex-dock laisse l'opportunité de simuler l'existence des molécules d'eau dans l'environnement du site actif lors d'un arrimage moléculaire, car la présence d'eau est parfois primordiale pour assurer un relai entre le ligand et le site actif.

La stabilité de complexe CID68023157 - dipeptidyl peptidase 4 est gouvernée par la formation des interactions entre le composé CID68023157 et les résidus ARG125, HIS126, GLU205 et ARG669 de l'enzyme par l'intermédiaire de leur liaisons avec les molécules d'eau HOH 3072, HOH 3148 et HOH 3268 présentes dans le site actif.

V. Prédiction de la similarité médicamenteuse

Après l'étude des différentes interactions établies entre la dipeptidyl peptidase 4 et les similaires de l'inhibiteur vildagliptine nous avons prédit les paramètres physicochimiques, pharmacocinétiques et vérifie aussi la toxicité des meilleurs similaires en utilisant les serveurs

SuissADME et PreADMET. Les valeurs des propriétés observées sont montrées dans les tableaux qui suivent.

V.1. Les paramètres physicochimiques

Cette approche est essentiellement basée sur les règles de Lipinski et de Veber. Ces critères sont admis comme conditions générales d'une bonne biodisponibilité des composés bioactifs.

Tableau V.7 : Paramètres des règles de Lipinski et de Veber pour l'inhibiteur de référence et les deux meilleurs similaires.

Code ID	Vildagliptine	CID145676316	CID68023157
Paramètres			
Poids moléculaire (g/mol)	293.42	292.40	291.39
Nombres donneurs de liaisons H	2	2	2
Nombres d'accepteurs de liaisons H	2	3	4
Log P	2.82	-0.38	2.38
Nombres de liaisons de rotatables	4	4	4
TPSA	57,15	80,94	76,36

Le résultat du tableau V.6 montre que l'inhibiteur de référence et les deux meilleurs similaires prédits par le docking moléculaire répondent parfaitement aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui indique que ces composés peuvent être administrés par voie orale sans poser des problèmes.

V.2. Les paramètres pharmacocinétiques

Nous avons fait une analyse des propriétés pharmacocinétiques des meilleurs inhibiteurs prédits par docking moléculaire afin de confirmer notre sélection et d'aller vers le composé ayant le plus de chance d'être un médicament commercialisé.

Tableau V.8 : Paramètres pharmacocinétiques de l'inhibiteur vildagliptine et les deux meilleurs similaires.

Code ID Paramètres	Vildagliptine	CID145676316	CID 68023157
BBB perméabilité	Oui	Oui	Non
GI absorption	Elevée	Elevée	Elevée
CYP1A2 Inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP2C19 Inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP2C9 Inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP2D6 Inhibition	Négative	Négative	Négative
CYP3A4 Inhibition	Négative	Négative	Négative

Selon le tableau V.7 nous avons vu pour les trois inhibiteurs que l'absorption gastro intestinale est élevée. De plus, la barrière hémato-encéphalique (BBB) est perméable pour la vildagliptine et le composé CID145676316, ils sont capables de traverser facilement les membranes cellulaires de l'organisme. Par contre elle est imperméable au composé CID68023157. Enfin, concernant les cytochromes P450, il apparaît que tous les inhibiteurs adoptent un comportement négatif de ces complexes multienzymatiques.

V.3. Prédiction de la toxicité

Dans le but de vérifier la toxicité des composés proposés, plusieurs paramètres ont été déterminés *in silico*.

Tableau V.9 : Le profil de toxicité de l'inhibiteur de référence et les deux meilleurs similaires.

Code ID Paramètres	Carcino _Souris	Carcino _ Rat	Test d'Ames	hERG _ inhibition
Vildagliptine	Négative	Positive	Mutagène	Faible risque
CID 145676316	Négative	Négative	Mutagène	Faible risque
CID 68023157	Négative	Positive	Non Mutagène	Faible risque

La prédiction de la toxicité montre que :

- Les trois composés prédirent par docking moléculaire n'ont aucun effet cancérigène sur les souris par contre la vildagliptine, le composé CID 68023157 possède un effet cancérigène sur les rats et le composé CID 145676316 n'a aucun effet cancérigène sur les rats.
- Le composé CID 68023157 n'a aucun effet mutagène potentiel par contre la vildagliptine et le composé CID 145676316 ont un effet mutagène donc ayant la capacité de changer la structure chromosomique et provoquer des mutations directes sur l'ADN.
- La capacité d'inhibition du gène hERG provoque des problèmes cardiaques par les trois composés est fiable.

En somme, les inhibiteurs étudiés répondent favorablement à la plupart des critères physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques ce qui nous a permis de proposer ces composés comme des nouveaux inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4 et par conséquent de nouveaux agents antidiabétiques.

Références bibliographiques

- (1) Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E. Modeling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *J. Mol. Biol.* **1997**, 272, 106-120.
- (2) Chikhi A., Bensegueni A. Comparative study of the efficiency of three protein-ligand docking program. *Journal of Proteomics and Bioinformatics.* **2008**, 1, 161-165.
- (3) Teniou S. Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la Topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de Magistère en Biochimie. Algérie: Université Mentouri Constantine, **2012**.
- (4) J.F., Choukem S.P. Les incrétines. *Nutrition clinique et métabolisme.* **2008**, 22, 59-65.
- (5) Simpkins L.M., Bolton S., Pi Z., Sutton J.C., Kwon C., Zhao G., Magnin D.R, Augeri D.J, Gungor T., Rotella D.P, Sun Z., Liu Y., Slusarchyk W.S, Marcinkeviciene J., Robertson J.G., Wang A., Robl J.A., Atwal K.S., Zahler R.L., Parker R.A., Kirby M.S., Hamann L.G. Potent non-nitrile dipeptidic dipeptidyl peptidase IV inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* **2007**, 18, 6476–6480.

Conclusion

Conclusion

L'objectif primordial de notre travail est l'identification des nouveaux inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase 4 pour le traitement du diabète de type 2 en appliquant la méthode de docking moléculaire.

Dans un premier temps nous avons testé la fiabilité du programme Surflex-dock, utilisé dans ce travail, selon deux critères : le premier consiste à calculer le RMSD (*Root Mean Square Déviation*) entre la meilleure conformation du ligand simulé par Surflex-dock et celle obtenue expérimentalement de 120 complexes protéine-ligand. Le deuxième critère consiste à analyser visuellement la superposition de la pose du ligand simulée et celle de référence en comparaison avec les valeurs de RMSD obtenues dans chaque cas. Les résultats obtenus ont montré que 72,50 % des valeurs de RMSD sont inférieures à 2 Å, ainsi qu'une bonne superposition entre la géométrie du ligand calculée par Surflex et celle obtenue expérimentalement. Ces résultats apportent la preuve de la haute performance du programme Surflex-dock.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les mécanismes d'interaction entre la dipeptidyl peptidase 4 et ses inhibiteurs et visualisé les liaisons qu'ils impliquent avec le site actif de cette enzyme. Les résultats ont été clairement démontrés que la vildagliptine est le meilleur inhibiteur avec une affinité égale à $4,21M^{-1}$.

Dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la dipeptidyl peptidase 4 en prenant comme structure de départ la vildagliptine. Dans cette perspective, une collection de 210 composés similaires issus de la PubChem a fait l'objet d'un criblage virtuel envers le site actif d'intérêt. Les résultats obtenus ont permis d'identifier les composés CID145676316 et CID 68023157 comme nouveaux inhibiteurs potentiels de la dipeptidyl peptidase 4 avec des scores d'affinités de 6,05 et 5,50 M^{-1} respectivement. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés a montré la présence de plusieurs liaisons hydrogènes entre ces inhibiteurs et les résidus de site actif de l'enzyme.

Les potentialités biologiques de composés CID145676316 et CID68023157 sont enfin vérifiées par leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques. Les résultats obtenus montrent qu'ils possèdent un profil ADME-Tox acceptable, ils peuvent être proposés comme des nouveaux agents antidiabétiques.

Sur la base de ces résultats préliminaires, nous envisageons d'approfondir l'étude des effets des composés CID145676316 et CID 68023157 sur l'inhibition de la dipeptidyl peptidase 4, en faisant appel à d'autres programmes d'étude de docking moléculaire. Notre étude ici n'étant qu'initiale, une étude expérimentale complémentaire *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de vérifier les résultats théoriques obtenus *in silico*.

Nom et Prénom :

Date de soutenance : 24/06/2023

KECHACHA Fatima

HABILA Hadil

BOUADJEL Omaima

Thème :

Modélisation des interactions de la dipeptidyl peptidase 4-inhibiteurs à l'aide de technique de docking moléculaire.

Résumé :

Le diabète de type 2 est une maladie chronique, silencieuse et indolore, qui se caractérise par un taux de sucre trop élevé dans le sang. Cette accumulation dans le sang est due à un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation.

Dans notre travail, nous avons focalisés sur le traitement du diabète de type 2 basé sur l'inhibition de la dipeptidyl peptidase 4. Ce dernier c'est une enzyme qui sert à la dégradation des incrétines ; ils potentialisent l'effet du glucose sur la sécrétion d'insuline et améliorent l'équilibre glycémique chez les patients diabétiques.

En faisant appel aux méthodes de modélisation moléculaire plus particulièrement le docking par le programme Surflex-dock qu'il est avéré assez performant pour reproduire le test expérimental puisque 72,50% des valeurs de RMSD sont inférieures à 2Å et d'après l'analyse visuelle des ligands nous avons pu tester la performance du programme et dire qu'il est fiable.

Cette méthode a été utilisée pour étudier le mode d'interaction des complexes dipeptidyl peptidase 4-inhibiteurs et de découvrir *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants. Cette étude a fait ressortir les composés CID 145676316 et CID 68023157 comme des nouveaux agents antidiabétiques avec plus d'affinité par rapport aux agents précédemment connus.

Enfin, Nous avons prédit les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et vérifie aussi la toxicité de ces nouvelles molécules proposées.

Mots clés : Diabète de type 2, dipeptidyl peptidase 4, docking moléculaire, Surflex, Paramètres physicochimiques, Paramètres pharmacocinétiques, Toxicité.

Devant le jury :

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

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

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