

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA
BADJI MOKHTAR – ANNABA UNIVERSITY



جامعة باجي مختار – عنابة

Faculté : Des sciences
Département : Chimie
Spécialité : Chimie organique

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Thème:

Docking moléculaire et criblage ADME/Toxicité pour des inhibiteurs de l'alpha-amylase et de l'alpha-glucosidase

Présenté par : Adjerci Adel

Encadrant : Dr Saouli Ibtissam

MCB

Université Annaba

Jury de Soutenance :

<i>Pr.Ferchchi Loubna</i>	<i>Professeur</i>	<i>Université Annaba</i>	<i>Président</i>
<i>Dr.Saouli Ibtissam</i>	<i>MCB</i>	<i>Université Annaba</i>	<i>Encadrant</i>
<i>Pr.Bougheloum Chafika</i>	<i>Professeur</i>	<i>Université Annaba</i>	<i>Examineur</i>
<i>Dr.Djawhara Chohra</i>	<i>MCB</i>	<i>Université Annaba</i>	<i>Examineur</i>
<i>Dr.Hessainia Sihem</i>	<i>MCA</i>	<i>Université Annaba</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Résumé

Le criblage virtuel par docking moléculaire est une nouvelle approche visant à simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour une cible thérapeutique donnée, plus simple à mettre en place, plus rapide et à un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. L'enzyme α -amylase réagit au niveau de l'intestin grêle avec une autre enzyme appelée α -glucosidase en libérant du glucose, molécule de plus petite taille, capable d'être absorbée par le corps humain. Dans ce travail, une étude théorique par modélisation et simulation moléculaire des interactions protéine-ligand a été réalisée, afin d'évaluer l'effet inhibiteur exercé par des dérivés d'oxanes sur l' α -amylase et l' α -glucosidase. Les résultats obtenus dans cette étude (bons scores), confirment la stabilité des complexes ligands-protéine testés en plus des bonnes propriétés pharmacocinétiques révélées à travers l'évaluation de l'ADMET (Tous les composés testés sont en accord avec la règle de cinq de Lipinski). De ce fait, les dérivés d'oxane peuvent inhiber le processus de la dégradation des oligosaccharides, stoppant la digestion des carbohydrates, et permettant ainsi de contrôler le niveau du glucose dans le sang chez les diabétiques.

Abstract

Virtual screening by molecular docking is a new approach aimed at simulating the affinity of a very large number of ligands for a given therapeutic target, simpler to set up, faster and at a much lower cost than experimental screenings. The α -amylase enzyme reacts in the small intestine with another enzyme called α -glucosidase, releasing glucose, a smaller molecule capable of being absorbed by the human body. In this work, a theoretical study by modeling and molecular simulation of protein-ligand interactions was carried out, in order to evaluate the inhibitory effect exerted by oxane derivatives on alpha amylase and alpha glucosidase. The results obtained in this study (good scores), confirm the stability of the ligand-protein complexes tested in addition to the good pharmacokinetic properties revealed through the evaluation of ADMET (All the compounds tested are in agreement with the rule of five of Therefore, oxane derivatives can inhibit the process of degradation of oligosaccharides, stopping the digestion of carbohydrates, and thus allowing to control the level of glucose in the blood in diabetics.

خلاصة

يعد الفحص الافتراضي عن طريق الالتحام الجزيئي نهجًا جديدًا يهدف إلى محاكاة تقارب عدد كبير جدًا من الروابط لهدف علاجي معين ، وهو أبسط في الإعداد وأسرع وبتكلفة أقل بكثير من الفحوصات التجريبية. الأمعاء الدقيقة مع إنزيم آخر يسمى α -glucosidase يطلق الجلوكوز ، وهو جزيء أصغر يمكن أن يمتصه جسم الإنسان. في هذا العمل ، تم إجراء دراسة نظرية عن طريق الدمج والمحاكاة الجزيئية لتفاعلات البروتين - الترابط ، من أجل تقييم التأثير المثبط الذي تمارسه مشتقات oxane على α و α amylase. glucosidase. تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة (درجات جيدة) على ثبات مجمعات ligand-protein المختبرة بالإضافة إلى الخصائص الحركية الدوائية الجيدة التي تم الكشف عنها من خلال تقييم ADMET جميع المركبات المختبرة تتفق مع قاعدة خمسة من لذلك ، يمكن لمشتقات oxane أن تمنع عملية تحلل السكريات القليلة ، وتوقف هضم الكربوهيدرات ، وبالتالي تسمح بالتحكم في مستوى الجلوكوز في الدم لدى مرضى السكر.

∞ *DEDICACE* ∞

Je dédie ce travail à

Mon père Larbi

La mémoire de Ma mère Djemaa

Ma petite famille : la femme de ma vie Ahlem et mes fils

Mohamed iyad , Adem seif-eddine et Amir nizar

Grand-mère de mes enfants Zoubida

Ma grande famille : mon cher frère Billel , sa femme

Rihab et leurs filles Line et Sirine

mes sœurs Warda et Houda

Sommaire

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

1

PREMIÈRE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Premier chapitre :

Généralité sur le docking moléculaire

I-1 Introduction	3
I-2 Définition de docking moléculaire	4
I-3 Principe de docking	4
I-4 Les outils de docking	5
I-4-1 Le récepteur	5
I-4-2 Le ligand	6
I-4-3 Le programme	6
I-4-4 Les interactions	6
I-5 Type de docking	10
I-5-1 Rigid	10
I-5-2 Semi flexible	11
I-5-3 Flexible	10
I-6 But de docking	12
I-7 docking d'autodok	12
I-7-1 autodok	12
I-7-2 principe d'autodok	12

I-8 Application de docking	12
I-9 fonction de score	13
I-9-1 Fonctions de score basées sur les champs de force	13
I-9-2 Fonctions de score empiriques	14
I-9-3 Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »	14
I-10 Protocole de docking	14
Références bibliographiques	

Deuxième chapitre :

Le criblage des inhibiteurs de alpha amylase et alpha glucosidase

II-1 Généralités sur le criblage	15
II-2 Le Criblage virtuel	15
II-2-1 Le Criblage virtuel « Ligand-based »	15
II-2-2 LeCriblage virtuel « Structure-based »	16
II-3 Le filtrage ADMET-TOX	16
II.4 Les inhibiteurs de alpha amylase et alpha glucosidase	17
II.4.1 L'alpha amylase	18
II-4-1-1. Définition	18
II-4-1-2 Structure	18
II-4-1-3 Caractéristiques générales	19
II-4-1-3 -1 Température optimale	20
II-4-1-3-2 PH optimal	20
II-4-1-5 Activateurs et inhibiteurs de l'alpha-amylase	22
II-4-2 Les alpha- glycosidases	24
II-4-2-1 Généralités	24
II-4-2-2 Structure	24

II-4-2-3 Mécanisme d'action	25
II-4-2-4 Inhibiteurs des glycosidases	26
II-4-2-5 Effets indésirables et événements cliniques associés	27
Références bibliographiques	

DEUXIEME PARTIE

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Troisième chapitre :

Docking moléculaire et criblage ADMET d' alpha amylase et d'alpha glucosidase

III-1 Introduction	28
III.2. Hardware utilisé	28
I	
II.2-1 Programmes (Softwares) utilisé	28
III-2-2 Banques de Données	29
III-2-2-1 Data bank PDB (Protein Data Bank)	29
III-2-2-2 Pubchem	30
III-3 Préparation Des Ligands	30
III-4 Résultats Du Docking Moléculaire	31
III-5 Étude Des Interactions Enzyme- Les Ligands	33
III-5-1 Interactions α -amylase-6-(dihydroxyméthyl)oxane- 2,3,4,5-tetrol	34
III-5-2 Interactions α -amylase-(2S,4S,5R,6R)-6- (hydroxyméthyl)oxane-2,3,3,4,5-pentol	35
III-5-3 Interactions α -amylase-2-(dihydroxyméthyl)oxane-2,3,4,5- tetrol	35

2,4,5-triol	III-5-4 Interactions α -amylase-2-(dihydroxymethyl)oxane-	36
2,3,5-triol	III-5-5 Interactions α -amylase-(3S,5S)-6-(hydroxymethyl)oxane-	37
(hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetro	III-5-6 Interactions α -amylase- (2R,3R,4S,5S,6R)-6-	37
III-6 Résultats ADME/Toxicité		38
Reference bibliographique		
Conclusion Générale		

Remerciement

Avant tout, nous tenons à remercier notre grand Dieu tout puissant de nous avoir guider durant toutes nos années d'études et nous avoir donner la force, la volonté et le courage pour terminer ce projet.

*Nos remerciements les plus chaleureux s'adressent à notre encadreur **Dr Saouli Ibtissam** pour ses conseils précieux et son suivi qu'il nous a prodigué tout au long de ce travail. Elle n'a pas hésité à tout instant de nous fournir tout ce qu'elle a acquit comme science et informations.*

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

À nos enseignants du département, pour les efforts consacrés et la formation qui nous ont donné durant notre cycle d'étude.

Enfin, nous ne pourrons pas terminer sans remercier infiniment toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

Liste des tableaux

Tableau II-1	Différentes nomenclatures d' α -amylase	18
Tableau II-2	Quelques propriétés des alpha-amylases	20
Tableau II-3	Activateurs et inhibiteurs inorganiques et organiques de l' α -amylase salivaire	23
Tableau III-1	Résultats de SCORE de Récepteur 1OSE avec les ligands étudiés	32
Tableau III.2	les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour 1OSE Résultats ADME/ Toxicité	34
Tableau III-3	Résultats ADME/ Toxicité	40

Liste des figures

Figure I-1	Présentation de Docking moléculaire.	4
Figure I-2	Les différents interaction legand-recepteur	7
Figure I-3	Les interactions de Liaisons hydrogène	8
Figure 1-4	Les interactions de Van der wals	8
Figure I-5	Les interactions hydrophobes	9
Figure I-6	Les Interactions électrostatiques	9
Figure I-7	Docking rigide	10
Figure I-8	Docking flexible	11
Figure I-9	Docking semi flexible	11
Figure II-1	Diagramme en ruban de l'alpha amylase pancréatique humaine (HPA) et de ses sous domaine en complexe avec un substrat octaose	19
Figure II-2	Mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques	
Figure II-3	Structure d'acarbose	22
Figure III-1	L'enzyme d'alpha amylase utilisé sur PDB	29
Figure III-2	Un ligand utilisé sur PubChem	30
Figure III-3	Présentation 2D des interactions α -amylase-6-(dihydroxyméthyl)oxane-2,3,4,5-tetrol	35
Figure III-4	Présentation 2D des interactions α -amylase-(2S,4S,5R,6R)-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,3,3,4,5-tetrol	36
Figure III-5	Présentation 2D des interactions α -amylase -2-(dihydroxyméthyl)oxane-2,3,4,5-tetrol	36

Figure III-6

II

Présentation 2D des interactions α –amylase-2-(dihydroxyméthyl)oxane-2,4,5-triol

Figure III-7

Présentation 2D des interactions α –amylase-(3S,5S)-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,3,5-triol

Figure III-8

Présentation 2D des interactions α –amylase- (2R,3R,4S,5S,6R)-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

Liste des abréviations

RX	Rayons X
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
PDB	Banque de Donnée Protéique (Protein Data Bank)
LBD	Ligand Binding Domain
DOCK	Docking
3D	3 Dimension
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide RiboNucléique
VDW	Van Der Waals
PMF	Potential of Mean Force
ADT	AutoDock Tools
LGA	Algorithme génétique lamarckien
QSAR	Relation Structure- Activité Quantitative
ΔG	Énergie d'activation
R&D	Recherche et de développement
IC50	La moitié de la Concentration maximale Inhibitrice
°C	Degrés Celsius
ADME-T	Absorption, D : Distribution, M : Métabolisme T: toxicité
RMSD	Root Mean Square Déviation, représente l'écart entre deux conformations
pH	Potentiel hydrogène.
Asp	Acide Aspartique
Glu	Acide Glutamique
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les carbohydrates tels que le saccharose et l'amidon représentent la majorité des constituants dans le régime alimentaire de l'être humain. L'action de l'enzyme α -amylase, un des constituants de la salive, sur l'amidon libère de nouvelles grosses molécules non absorbées par le corps, connues sous le nom "oligosaccharides". Ces derniers réagissent au niveau de l'intestin grêle avec une autre enzyme appelée α -glucosidase en libérant du glucose, molécule de plus petite taille, capable d'être absorbée par le corps humain. L'inhibition de l' α -glucosidase bloque le processus de la dégradation des oligosaccharides, stoppant la digestion des carbohydrates, et permettant ainsi de contrôler le niveau du glucose dans le sang chez les diabétiques I. Cet effet bénéfique, des inhibiteurs des glycosidases, sur la santé a attiré l'attention des chercheurs et des firmes pharmaceutiques pour développer et enrichir la classe thérapeutique des médicaments anti diabète type II.

Le criblage virtuel par docking moléculaire est une nouvelle approche visant à simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour une cible thérapeutique donnée, plus simple à mettre en place, plus rapide à un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. Aujourd'hui, ces approches sont devenues des étapes indispensables et cruciales dans de nombreux programmes de découverte de médicaments. Les industries pharmaceutiques consacrent près de 10% de leur budget à la recherche sur les médicaments assistés par ordinateur.

Actuellement, il existe un méritoire nombre de logiciel de docking moléculaire comme le programme AutoDock qui a déjà appui à la composition de nouveaux médicaments.

Effectivement, AutoDock a été utilisé de manière intensive et pertinente dans le développement préclinique de la molécule.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude théorique par modélisation et simulation moléculaire des interactions protéine-ligand, nous avons choisi pour étudier l'effet inhibitrice des dérivés d'oxanes sur l' α amylase et l' α glucosidase.

Afin d'atteindre ces objectifs, nous avons structuré notre travail comme suit :

Introduction générale.

Le premier chapitre : étude bibliographique docking moléculaire

Le deuxième chapitre : étude bibliographique Le criblage des inhibiteurs.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le troisième chapitre : Résultat et discussion.

Enfin, on termine par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Première partie

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Premier chapitre:

Généralité sur le docking moléculaire

1 Introduction:

L'interaction entre les molécules est à la base de la plupart des mécanismes biologiques. Par conséquent, les détails de ces interactions au niveau moléculaire sont très intéressants et peuvent être étudiés par cristallographie aux rayons X ou par résonance magnétique nucléaire (RMN). Malheureusement, compte tenu de l'existence d'innombrables molécules différentes dans une seule cellule, ces techniques ne permettent pas une description détaillée de toutes ces interactions.

La connaissance de la structure du complexe permet aux chercheurs Mieux comprendre les modes de fonctionnement des interactions participantes. Les ligands protéiques sont donc essentiels pour pouvoir expliquer le mécanisme d'influence d'affinité entre deux molécules. Le docking reste une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et par suite la conception de médicaments. De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective [01].

Le docking est une technique informatique qui permet de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et la structure d'une protéine. Il se déroule en deux étapes :

- une étape de positionnement du ligand dans le site choisi de la protéine.
- une étape d'évaluation des interactions énergétique potentielles entre le ligand et la protéine.

Les méthodes utilisées pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de docking utilisé.

Cependant, des outils informatiques ont vu le jour pour traiter le flux de données résultant Et optimiser la progression de cette technique. L'amarrage moléculaire (souvent appelé "amarrage") est l'une des dernières méthodes informatiques. Le Docking consiste à prédire et répliquer des complexes protéine-ligand en étudiant l'ensemble Le mécanisme et l'interaction de

La formation de complexes moléculaires [2,3]. Il est fréquemment utilisé pour l'étude d'une cible moléculaire des médicaments et pour réduire les essais expérimentaux. Le docking moléculaire utilise deux approches, l'un basée sur la complémentarité des surfaces et l'autre basée sur le calcul de l'énergie du complexe.

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring.

I-2 Définition de docking moléculaire:

On désigne par Docking (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) les simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand). Le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand ». [04]

Il est l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires. Il a des applications pratiques dans l'ingénierie des protéines et la conception de nouveaux médicaments. Les différents types de docking sont : ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine.

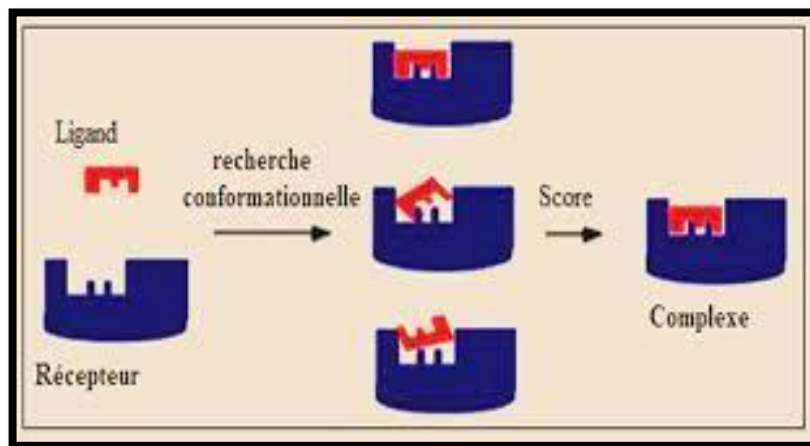


Figure I.1 : Présentation de Docking moléculaire.

On peut dire que le docking est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduire les essais expérimentaux. En générale il Ya deux approches, l'un basée sur la complémentarité des surfaces et l'autre basée sur le calcul de l'énergie du complexe.

I-3 Principe de docking :

Le plus important dans une étape de docking c'est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. Prendre en compte le nombre de degrés de liberté de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand permet d'éviter de provoquer ou limiter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants.

I-4 Les outils de docking :

Les logiciels de docking sont des outils utiles en pharmacie et en médecine, car la plupart des principes actifs sont des petites molécules (ligand) conçues pour interagir sur le plan moléculaire avec leurs protéines cibles (récepteur), pour agir sur les voies biologiques dans lesquelles ces dernières sont impliquées.[05]

I-4-1 Le récepteur :

Les récepteurs sont des macromolécules impliquées dans la signalisation chimique des signaux inter- et intracellulaires. Ils peuvent être situés sur la membrane de surface cellulaire ou dans le cytoplasme. Les récepteurs activés agissent en régulant de façon directe ou indirecte des processus biochimiques cellulaires (ex : conductance ionique, phosphorylation des protéines, transcription de l'ADN, activité enzymatique).

Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB (« Protein Data Bank », la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN). Cette banque de données a été établie en 1971 et contenait à l'époque sept structures.[06]

On peut y trouver la séquence correspondante, ses coordonnées atomiques, les conditions expérimentales (par exemple, la résolution), des images 3D...etc. Cette base de données est fiable car elle est vérifiée et maintenue par différents centres. Les coordonnées atomiques des structures se trouvent dans un format de référence, appelé PDB, lu par différents logiciels de visualisation, de modélisation, de criblage virtuel...etc.

I-4-2 Le ligand:

Le ligand est généralement une molécule flexible étrangère de petite taille tandis que le récepteur est une protéine qui possède un ou plusieurs sites actifs spécifiques.

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules.

A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimique.

Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (*pdb, mol, mol2...etc.*)

I-4-3 Le programme :

Initié au début des années 1980, ce domaine s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs.

Actuellement il y a plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles.

Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock[07], GOLD[08], FlexX[09], DOCK.[10]

I-4-4 les interactions :

Le fonctionnement des systèmes biologiques est basé sur de remarquables mécanismes d'assemblage et de reconnaissance impliquant des interactions moléculaires non-covalentes de faible énergie.

A l'échelle d'une protéine, c'est un équilibre entre attractions et répulsions non-covalentes, qui sera à l'origine de sa structure tridimensionnelle et donc, à l'origine de son activité.

GENERALITE SUR LE DOCKING MOLECULAIRE

Ces interactions peuvent être classées en différents types:

- Forces électrostatique
- Interactions de Van Der Waals
- Forces liées aux solvant (effet hydrophobe)
- Liaisons hydrogènes

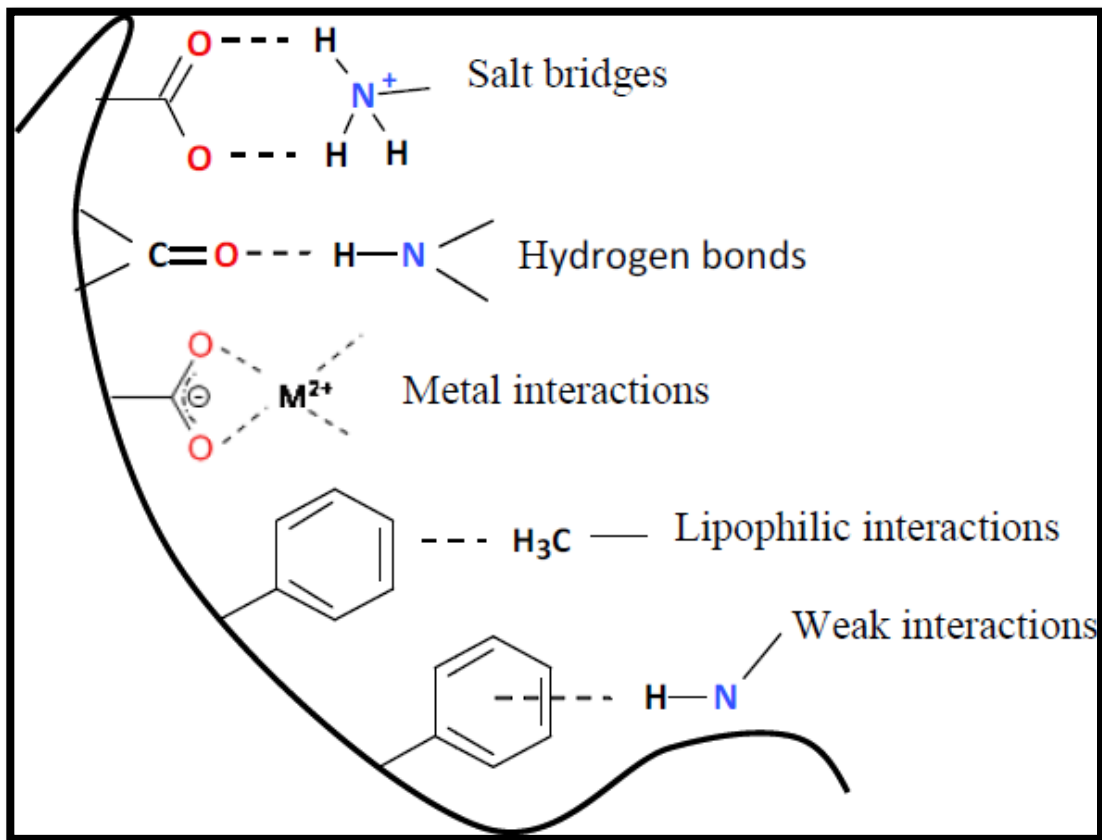


Figure I-2 : Les différents interaction legand-recepteur

*les interactions hydrogène

Les liaisons hydrogène (LH) sont des interactions d'origine électrostatique entre un atome électronégatif dit "accepteur" (charge partielle δ^-) et un atome d'hydrogène polaire (charge partielle δ^+) qui est lié de manière covalente à un atome électronégatif dit "donneur" (charge partielle δ^-).

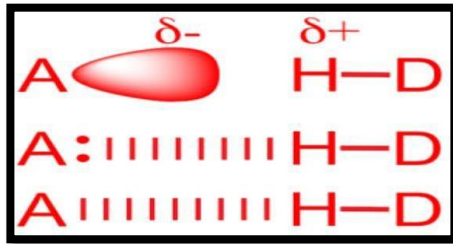


Figure I-3 : Les interactions des Liaisons hydrogène

***Les interactions de Van der Waals**

Les interactions de Van der Waals (VdW), également connues sous le nom d'interactions de London ou de forces de dispersion, impliquent des dipôles instantanés. Les interactions de VdW sont de faible intensité, mais elles sont néanmoins très importantes en pratique à cause de leur très grand nombre. Bien que cela puisse paraître assez simpliste, ce sont les interactions de VdW qui sont essentiellement responsables de la complémentarité stérique lors d'un phénomène de liaison.

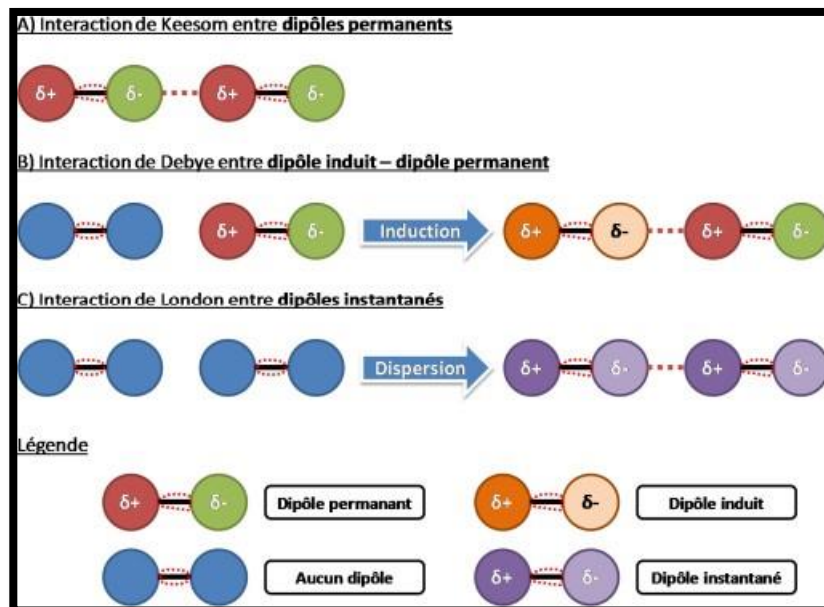


Figure I-4 : les interactions de Van der wals

***Interactions hydrophobes**

Une protéine se forme d'un assemblage de nombreux acides aminés. Ces derniers possèdent un radical apolaire et hydrophobe (comme mentionné sur la figure 7), c'est la zone hydrophobe de la protéine (ils ne forment aucune liaison hydrogène avec les molécules d'eau).

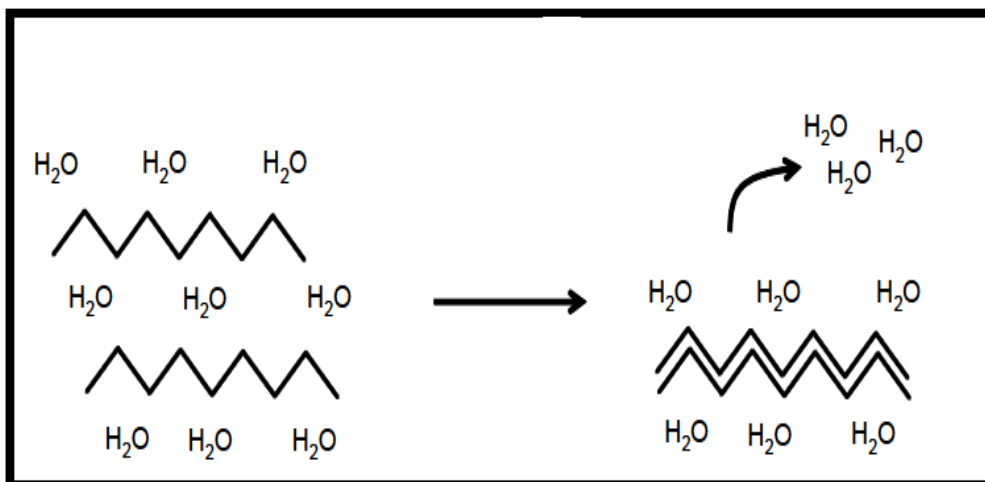


Figure I-5 : les interactions hydrophobes

***Interactions électrostatique**

Les groupements fonctionnels chargés des acides aminés agissent à longue distance pour donner naissance à des interactions électrostatiques. [11]

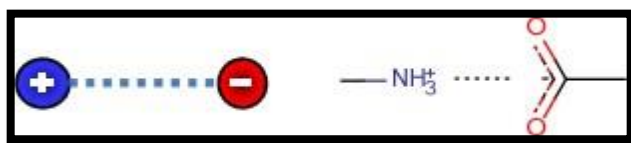


Figure I-6: Les interactions électrostatiques

I-5 Types de docking

I-5-1 Rigide

docking ligand et le récepteur sont des entités rigides, nous cherchons la pose optimale par positionnement en énumérant toutes les rotations et les translations possibles pour le ligand à l'intérieur du site d'interaction. Ensuite nous éliminons les poses incompatibles avec le site actif. Enfin, nous attribuons aux poses sélectionnées un score et nous optimisons les meilleures. Seuls les degrés de liberté translationnels et rotationnels du ligand relativement à la protéine sont explorés. Il est généralement employé pour l'amarrage entre deux macromolécules pour lesquelles les degrés de liberté sont très importants pour réaliser un échantillonnage conformationnel efficace dans des temps de calcul raisonnables. C'est le plus simple et demeure encore souvent employé pour l'amarrage protéine-protéine.



Figure I-7 : docking rigide

I-5-2 Docking flexible

Dans le docking flexible, le ligand et la protéine sont flexibles (la flexibilité du récepteur concerne les chaînes latérales des résidus du site actif). Les degrés de liberté conformationnels du récepteur peuvent être limités à certaines chaînes latérales ou bien considérer également des mouvements plus larges impliquant par exemple les différents arrangements possibles entre domaines d'une protéine. Ce type de docking représente une approche plus réaliste en considérant des modèles de liaison du ligand au récepteur de type ajustement induit et/ou la sélection conformationnelle. C'est l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels de docking car elle permet une évaluation rapide de bases de milliers de molécules.

GENERALITE SUR LE DOCKING MOLECULAIRE

En revanche, elle est approximative et l'exploration de l'ensemble des degrés de liberté du ligand et du récepteur implique des difficultés importantes liées au temps de calculs nécessaires pour exploiter le docking flexible efficacement.

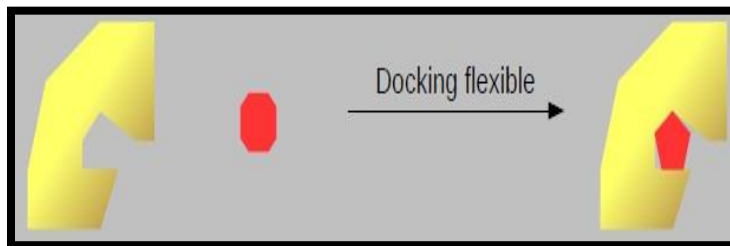


Figure I-8: docking flexible

I-5-3 Docking semi-flexible

Dans le docking semi-flexible, le ligand est flexible et la protéine est rigide, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoute aux explorations translationnelles et rotationnelles. Ce type de docking repose sur l'hypothèse que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand. Il est "asymétrique" et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand. Les approches de docking semi-flexible ou flexible sont plus généralement appliquées à la modélisation d'interaction entre protéines et ligand.



Figure I-9 : docking semi flexible

I-6 Le but du docking moléculaire

Le docking est utilisé pour prédire la structure du complexe intermoléculaire résultant de l'association entre au moins deux molécules. Il permet également de connaître la façon dont un ligand (petite molécule) interagit avec un récepteur (macromolécule) ; autant de calculer l'énergie de liaison entre eux. Il permet de déterminer quel ligand candidat interagit le mieux avec un récepteur cible .

I-7 Docking avec AutoDock

Dans le docking ; on a besoin de connaître les types, les charges et la liste de liaison de chaque atome. Pour les fichiers pdb pour la protéine , il faut chercher dans la base de données PDB (Protein Data Bank) sur le site ([http : // www. pdb. org](http://www.pdb.org),[http: // www. rcsb. org](http://www.rcsb.org)).

I-7-1 AutoDock

C'est un programme flexible, qu'on utilise pour le docking protéine-ligand. Il s'agit d'un ensemble de procédures, dont le but de prédire l'interaction de petites molécules, telles que des médicaments candidats « ligand » ou des substrats à un récepteur dont la structure 3D est connue.[12]

I-7-2 Principe de l'AutoDock

Il fonctionne principalement comme une procédure en deux étapes : le calcul de la carte d'interaction du site de liaison du récepteur qui est réalisé avec AutoGrid, et la position de ligand sur la carte d'interaction, qui est effectuée avec AutoDock. Le programme AutoGrid est censé calculer les cartes d'interaction des grilles afin de maximiser l'étape d'évaluation des différentes configurations du ligand.

I-8 Les applications du docking

Il facilite le développement de médicaments avec les avantages qu'elles présentent. Son utilisation de docking protéine-ligand a abouti à l'identification de nouveaux ligands pour l'anhydrase carbonique II, ainsi la découverte de nouveaux inhibiteurs pour plusieurs cibles kinases et à l'identification réussie de nouveaux antagonistes pour les récepteurs neurokinine [13]. 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

GENERALITE SUR LE DOCKING MOLECULAIRE

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. [14]

I-9 Fonction de score

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe .

La fonction de score fournit un mode permettant de classer le positionnement des ligands proportionnellement à un autre. Idéalement, le score devrait correspondre directement à l'affinité de liaison du ligand pour la protéine, de sorte que les ligands présentant le meilleur score soient les meilleurs liants. Les fonctions de scoring peuvent être empiriques [15].

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

I-9-1 Fonctions de score basées sur les champs de force

les fonctions de score basées sur un champ de force calculent, par mécanique moléculaire, l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) et l'énergie interne du ligand. Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de Van der Waals et électrostatiques. L'énergie interne du ligand est généralement écrite de manière similaire [16,17]. Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force sont par exemple : Goldscore [18], DOCK [19] et Autodock [20].

I-9-2 Fonctions de score empiriques

Les fonctions empiriques de score estiment l'affinité des complexes protéine-ligand en additionnant des termes d'interaction (liaison hydrogène, interaction hydrophobe, interaction ionique ...). Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage.

I-9-3 Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »

Ces fonctions de score sont construites à partir de règles fondées sur une analyse statistique des complexes protéine-ligand résolus expérimentalement. La fonction PMF (Potential of Mean Force) fait partie de cette classe de fonction [16].

I-10 Protocole de docking

Paramètres de la grille de calculs Le programme AutoDock utilise dans les calculs de docking moléculaire une grille de potentiels, permettant d'augmenter la vitesse d'évaluation de l'énergie d'interaction ligand/récepteur. Le site actif ou la zone à explorer du récepteur est englobée dans une grille tridimensionnelle dont les paramètres sont définis de manière à permettre la libre orientation de chaque composé étudié. Ainsi, chaque ligand est docké dans cet espace délimitant le site de liaison dans l'Arf1. Cette grille, ayant pour centre (5.228, 6.841, 33.346), présente un volume égal à $42 \times 46 \times 50 \text{ \AA}^3$. L'espacement entre chaque point de la grille est de 0.375 \AA . Cette valeur, prise par défaut par AutoDock4, correspond au quart de la longueur d'une simple liaison C-C. Il faut noter que ce paramètre peut varier de 0.2 à 1.0 \AA , suivant la précision désirée de la grille.

Le protocole de docking moléculaire adopté, dans ce travail, consiste à docker chaque ligand, considéré flexible, dans le site actif de l'Arf1. Les paramètres d'arrêt ont été repoussés à 2500.000 évaluations d'énergie et à 27.000 générations. Pour avoir un échantillon de solutions statistiquement intéressant, nous avons retenu 50 conformations pour chaque ligand. Chaque expérience de docking a consisté en une série de 50 cycles, utilisant l'algorithme génétique lamarckien (LGA). Quant aux autres paramètres de simulations, nous avons pris les paramètres par défaut d'Autodock

Références bibliographique

- [1] M.Stahl, M.Rarey ,Detailed analysis of scoring functions for virtual screening, J. Med. Chem , 44 (2001)1035.
- [2] M.W.Chang, C.Ayeni, S.Breuer, B.E.Torbett,Virtual screening for HIV protease Inhibitors; a comparison of AutoDock 4 and Vina, PLoS ONE, 5 (2010)11955.
- [3] J.Nocedal, S.J.Wright, T. V. Mikosch, S. I. Resnick, S. M. Robinson ,Quasi-Newton Methods ; In Numerical Optimization(2006).
- [4] E.B.Oliveira, 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 d'université : Procédés biotechnologiques et alimentaires. Nancy : Institut National Polytechnique de Lorraine,France,187(2009).
- [5] M.GANN,M.FRED , pose prediction and virtual screening accuracy, Journal of chemical Information and Modeling, 51(2011)578- 96.
- [6] L.Martin, Développement d'une plateforme bio-informatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK.Thèse de doctorat d'université : Bio-informatique. Montpellier : Université Montpellier 2,France,149 (2006).
- [7] G. M. Morris, D. S.Goodsell, R. S.Halliday , R. Huey, W.Lindstrom, W. E. Hart, Journal of Computational Chemistry, 19(1998)1639-1662.
- [8] G. Jones, P.Willett , R. C.Glen, A. R.Leach, R.Taylor, Journal of Molecular Biology. 267(1997),72748.
- [9] M.Rarey, B.Kramer, T. Lengauer, G.Klebe, Journal of Molecular Biology, 201(1996)470-489.
- [10] T. J.Ewing, S.Makino, A. G.Skillman,I. D. Kuntz, Journal of Computer-Aided molecular, 15(2001) 411-428.
- [11]Les interactions électrostatiques [Drug Design]. Disponible sur : https://ressources.unisciel.fr/_reste_a_valider/drug_design/co/paragraphe2.html

- [12] F. Louacheni (2013), Institut de la Francophonie pour l'Informatique - Master 2 Informatique. Developpement-d-un-portail-web-pour-le-criblage-virtuel-sur-la-grille-de-calcul7.html
- [13] D. Neeraja, N.M.Bhartenda, M.K. Vishwa, 2D-QSAR model development and analysis on variant groups of anti-tuberculosis drugs. *Bioinformation*, 7(2011)82–90.
- [14] A. abdelmoumin(2021),MÉMOIRE DE MASTER MASTER DE « Biotechnologie médicale » « Biomédicale » Intitulé Conception de nouveaux inhibiteurs de 3CLpro- SARS-CoV2 par approche in silico Soutenu par : Année 2021 ROYAUME DU MAROC Université Mohammed V – Rabat Faculté de Médecine et de Pharmacie RABAT.
- [15] R.A. Friesner, J.L.Banks, R.B.Murphy, T.A.Halgren,J.J. Klicic, D.T. Mainz,J *Med Chem*, 47(2004)1739-1749.
- [16] D. B Kitchen, H.Decornez, J. R. Furr, J.Bajorath, *Drug discovery*, 3(2004)935-949.
- [17] C.Bissantz, G.Folkers, D.Rognan, *Journal of medicinalchemistry*, 43(2000)4759-4767.
- [18] M. L.Verdonk, C.Cole, M. J. Hartshorn, C. W. Murray, R. D .Taylor1, *Proteins:Structure, Function, and Genetics*, 52(2003)609- 623.
- [19] T. J. A Ewing, S.Makino, A. Skillman, I. D. G;Kuntza, *Journal ofComputer-Aided Molecular Design*. 15(2001) 411-428.
- [20] M.Rarey, B.Kramer, T. Lengauer, G. Klebe, *Journal of MolecularBiology*, 261(1996)470-489.

Premier chapitre:

*Le criblage des inhibiteurs de alpha amylase et
alpha glucosidase*

II-1 Généralités sur le criblage

La découverte de nouvelles drogues médicamenteuses dépend d'un procédé long et coûteux. Le temps compté entre l'identification d'un nouveau composé potentiellement actif sur une cible à son approbation et sa mise sur le marché varie entre 9 et 12 ans [21], oublié qu'un grand nombre de molécules sont rejetées au fur et à mesure des phases cliniques. Ce procédé peut être scindé en plusieurs étapes, allant de la découverte du (composé médicament) à sa production [22].

II-2 Le Criblage virtuel

Le terme criblage virtuel regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration de bases de composés à la recherche de molécules d'intérêt [23]. Une analogie souvent utilisée compare ces techniques à des filtres qui permettraient de constituer des ensembles de molécules partageant certaines propriétés, de sélectionner les plus susceptibles d'interagir avec une cible donnée et d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables[24].

Les méthodes de criblage sont séparées en deux grandes familles : « ligand-based » et «structure-based », en fonction du type de données.

II-2-1 Le Criblage virtuel « Ligand-based »

Un criblage virtuel « ligand-based » peut être réalisable, si au moins un ligand de la cible étudiée est déjà connu. L'hypothèse que les molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activités très proches à similaires, est le principe de base de toutes les méthodes. Les méthodes de criblage « ligand-based » reposent sur la connaissance préalable de ligands ayant une activité sur la cible thérapeutique. Il sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « hits » afin d'identifier d'autres composés similaires, présentant des caractéristiques d'activité comme aux ligands connus de la cible [25,26]. Différents types de descripteurs moléculaires pourront être calculés pour quantifier la similitude entre composés. Suivant le nombre de ligands connus de la cible thérapeutique. Plusieurs méthodes peuvent être employées : la recherche de similarité, le criblage de pharmacophores, ou les approches QSAR [26].

II-2-2 Le Criblage virtuel « Structure-based »

Le criblage virtuel « structure-based » est considéré comme un équivalent in silico d'un test expérimental étudiant la liaison ligand-cible biomoléculaire [27]. Cependant, ce criblage dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique qui est obtenue, soit par méthodes expérimentales (RX et RMN) dans des bases de données (tel que PDB: Protein Database), soit par des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence [28].

Différentes approches peuvent être employées pour réaliser ce criblage: la construction de modèles pharmacophoriques 3D, l'établissement de modèles 3D-QSAR, la conception de novo « de novo design » et les méthodes de docking moléculaire qui sont les plus populaires.

II-3 Le filtrage ADMET-TOX

Les échecs dans le développement de médicament étaient principalement la conséquence de mauvaise performance pharmacocinétique. Ce problème a été en grande partie résolu grâce à l'utilisation d'un filtrage procédant l'utilisation de chimiotèque, Résidant les taux d'échec dans les phases de développement.[29] Les filtres de type ADME-Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité) sont rapidement devenus populaires. Ils reposent sur plusieurs critères déterminant les propriétés pharmacocinétiques potentielles des molécules et sont désormais largement utilisés pour réduire le nombre de composés d'une chimiothèque en sélectionnant les plus adaptés à devenir des candidats médicaments, avant tout processus de criblage. L'utilisation de ces filtres a donné de très bon résultats [30].

- **Absorption**

L'absorption est le processus par lequel le médicament inchangé passe de son site d'administration à la circulation générale la voie d'administrations du médicament influence cette première phase : la voie intra-veineuse est la voie de référence puisque par définition, à la différence des autres voies (orale par exemple) toute la dose administrée atteint la circulation générale.

- **La distribution :**

La distribution est fonction de la capacité du médicament à franchir les barrières qui séparent les différents compartiments de l'organisme et à s'y accumuler ou à en être exclu. Ceci implique le passage de barrières membranaires qui peuvent être franchies par diffusion

Passive ou par l'action de transporteurs.

- **Métabolisme**

Une fois la circulation sanguine atteinte, les médicaments vont se distribuer dans l'organisme. La distribution correspond à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme. Elle est influencée par le degré de lipophilie de principe actif et par son affinité pour les différents tissus (os, tissu adipeux, etc) Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par l'organisme. Les réactions métaboliques s'effectuent principalement avec des enzymes. Pour les médicaments, deux groupes de réactions sont impliqués dans le métabolisme : Les réactions de phase 1 et de phase 2. Les réactions de phase 1 précèdent habituellement celles de phase 2 dans la chronologie du métabolisme d'un médicament.

- **Elimination**

Elimination se définit comme le volume de plasma contenant la quantité de médicament éliminée par unité de temps. Si, stricto sensu, la clairance d'un médicament peut être le rénale sont, habituellement, les deux principalement à prendre en compte dans l'étude des médicaments.

- **Toxicologie :**

La toxicité d'un candidat-médicament est l'un des paramètres les plus redoutés par les développeurs, surtout lorsqu'il entre en phases cliniques. En effet, un candidat-médicament présentant des effets secondaires graves lors des phases cliniques est immédiatement abandonné, et ce généralement de manière définitive. Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure lors des phases précoces de développement R&D. La toxicité peut être classifiée selon l'organe affecté ou selon le mécanisme de toxicité [31] .

II-4 Les inhibiteurs d'alpha amylase et alpha glucosidase

Les enzymes sont les outils clés des biotechnologies car elles offrent de nombreuses possibilités d'applications dans différents domaines, en industries agroalimentaires (industries laitières, biscuiteries, charcuterie, pâtisserie...), en industries chimiques (détergents et textiles), en clinique (enzymes réactifs, enzymothérapies par des protéines

recombinantes), dans la recherche (protéomique et en génomique) et autres. Parmi ces enzymes qui ont une grande importance dans différents domaines on trouve les α -amylases et les α -glucosidases

II-4-1 L'alpha amylase:

II-4-1-1 Définition :

L'amylase est une enzyme produite par les glandes salivaires qui digère les molécules d'amidon pour donner un produit de décomposition comme le maltose, qui à son tour se décompose en deux molécules de glucose. L'amylase sert à la fois : une fonction endocrine et exocrine [32]

Parmi les différents types d'enzymes amylase, une grande catégorie de l'enzyme est la α -amylase pancréatique. Ce sont essentiellement du calcium métalloenzymes, pour cette raison le calcium est un cofacteur important dans l'exécution de fonctions telles que la digestion de l'amidon [33]

Tableau II-1 : Différentes nomenclatures d' α -amylase [34].

Nom systématique	A-1,4 glucan-4-glucanohydrolase
Nom codifié	EC3.2.1.1
Nom recommandé	α - amylase
Autres noms	Endomylase, thermolase, amyloyherm, amylopsin, ptyalin

II-4-1-2 Structure

Les α -amylases sont des glycoprotéines renfermant 478 acides aminés forment huit feuillets β plissés et huit hélices α [35,36] répartis en deux domaines globulaires appelés A (1-380 résidus) forme un tonneau (β/α) et B (381-478 résidus) forme une boucle à partir du milieu du domaine

Le criblage des inhibiteurs de alpha amylase et alpha glucosidase

A. Ces domaines sont associés par une chaîne polypeptidique constituée principalement par des résidus hydrophobes. Il existe un autre domaine C lié au domaine A par une chaîne polypeptidique simple et semble être un domaine indépendant avec une fonction inconnue. Les résidus constituant le site de fixation du substrat, ainsi que ceux constituant le site catalytique sont localisés dans le domaine A, dont la partie glucidique est formée principalement, de D-mannose, D-glucose, D-galactose, D-xylose, et D-glucosamine.

Les α -amylases sont des métallo-enzymes à calcium (un ion calcium par molécule). Ces ions sont nécessaires à l'activité enzymatique et au maintien de la stabilité de la structure en acides aminés de l'enzyme [37].

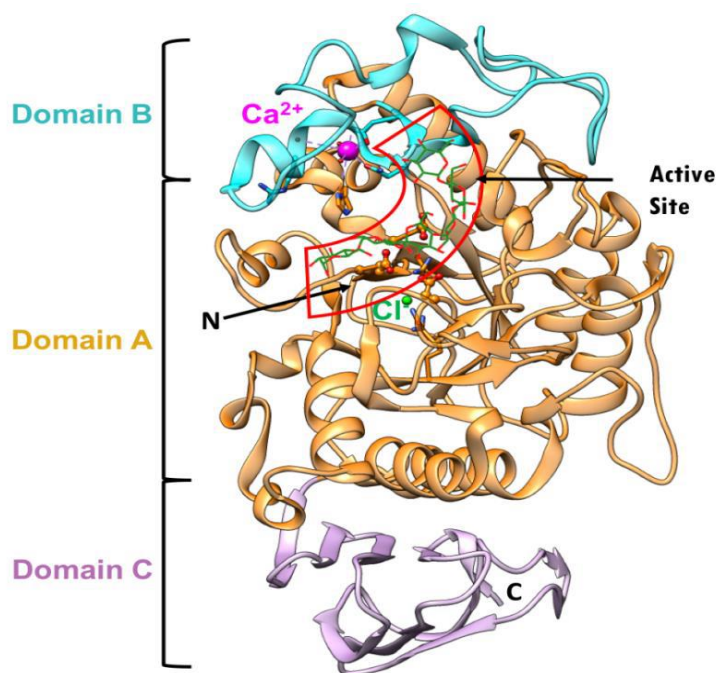


Figure II-1 : Diagramme en ruban de l'alpha amylase pancréatique humaine (HPA) et de ses sous-domaines en complexe avec un substrat octaose

II-4-1-3 Caractéristiques générales

Pour qu'une enzyme réponde aux exigences potentielles en vue d'une production industrielle, il est nécessaire de déterminer les propriétés de cette enzyme.

II-4-1-3-1 Température optimale

En général, les α -amylases ont une température optimale comprise entre 25°C et 70 °C, avec une grande stabilité thermique pour les α -amylases bactériennes [38]: signalent que la température optimale des α -amylases bactériennes, varie de 50°C à 90°C. Cependant la température optimale des α -amylases fongiques varie de 40°C à 60°C.

II-4-1-3-2 PH optimal

Les α -amylases sont généralement stables dans une gamme de pH de 4 à 9, avec un optimum variant de 4 à 5 pour les α -amylases fongiques, et un optimum supérieur à la neutralité, soit 6 à 8.5 pour les α -amylases bactériennes [39]: Le pH optimal pour l'amylase pancréatique et salivaire varie selon les auteurs, mais une majorité convient qu'il se situe autour de 6,9 avec une variation pouvant s'échelonner de (6,5 et 7,2) [40].

Tableau II-2: Quelques propriétés des alpha-amylases [41].

Enzymes d'origine	Exemples	Poids moléculaire(Da)	pH optimal	Température optimale (°C)
Animal	Salive humaine	50000	6,9	40
	Pancréas de porc	50000	6,9	37
Végétale	Malt d'orge	59500	4,7-5,4	50-55
	Blé	59500	4,6	60-66
microbienne	Bacillus coagulans	49000	5,2	57
	Aspergillus oryzae	52600	5,5-6,9	40

II-4-1-4 Mécanisme d'action

L'alpha-amylase (α -1,4-glucane-4 glucanohydrolase, EC 3.2. 1. 1) est largement distribuée dans les plantes, les tissus de mammifères et les microorganismes, chez les mammifères, l'a-amylase est présente dans les sécrétions salivaires et pancréatiques.

L'activité catalytique de l'enzyme implique la participation des trois acides aminés du site actif : Asp 231 (nucléophile catalytique), Glu 261 (donneur catalytique de l'hydrogène) et Asp 328 (l'aide de catalyse) [42].

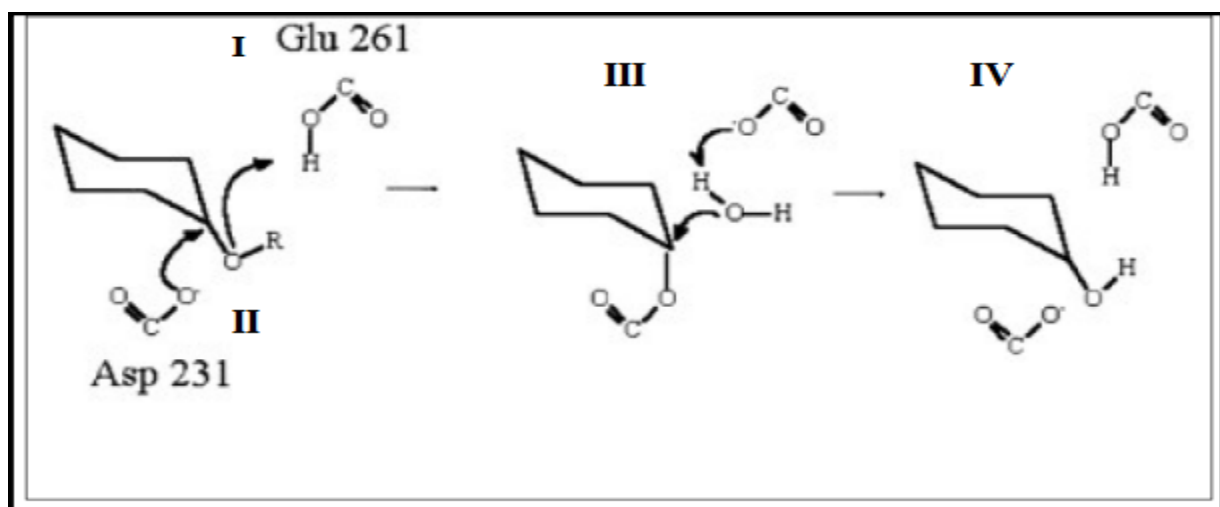
L'activité des α -amylases reste essentiellement dépendante du pH et de la température. Le pH modifie la charge électrique des acides aminés présents sur le site catalytique, ce qui rend impossible les réactions de transferts d'atomes, nécessaires à la rupture des liaisons osidiques. La température favorise la formation du complexe enzyme/amidon [43].

Le mode d'action des α -amylases est peu connu et fondé sur des probabilités [44], il a été décrit en 4 étapes :

- ✓ **Etape 1 : Formation du complexe enzyme/substrat** : L'enzyme se fixe par affinité sur l'intérieur de la chaîne ou sur les extrémités réductrices, les chaînes d'amidon déformées par le complexe enzyme/substrat et stabilisées par un grand nombre de liaisons hydrogènes entre les acides aminés du site de fixation de l'enzyme et les groupements polaires (OH) de la chaîne carbonée [43].
- ✓ **Etape 2, L'attaque de la liaison α (1-4)** : Au niveau de la liaison osidique située sur le site catalytique, l'acide glutamique est à l'origine de l'attaque, sous sa forme protonée (au pH optimal de l'enzyme), il fournit un atome d'hydrogène à l'atome d'oxygène de la liaison osidique à couper située sur le carbone C4 de la chaîne, ce qui entraîne une rupture de la liaison osidique. L'acide aspartique est en revanche ionisé au pH optimal de l'enzyme, forme électro-négative, il établit une liaison covalente avec le carbone anomérique ou C1, ce qui permet alors la libération de la première partie de la chaîne carbonée

- ✓ **Etape 3 : le retour à l'état initial de l'enzyme**, cette étape est assurée par une molécule d'eau qui va hydroxylé le carbone anomérique, pour cliver la liaison covalente entre ce dernier et l'acide aspartique.
- ✓ **l'étape 4** : L'acide glutamique, chargé négativement, capte un proton de la molécule d'eau, le groupement OH restant, instable, se fixe sur le carbone anomérique ou C1 après le clivage de la liaison entre C1 et l'acide aspartique, cette réaction rend possible l'éjection de la deuxième partie de la chaîne carbonée.

Donc l'acide glutamique semble jouer un rôle important dans la catalyse, ce résidu serait un donneur de proton et aurait donc une fonction de catalyseur général acide ou électrophile, de même, l'acide aspartique jouerait le rôle de catalyseur général basique ou nucléophile sur les transferts réactionnels permettant la rupture de la chaîne, c'est réaction nucléophile [42.45]



FigureII-2 : Mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques

II-4-1-5 Activateurs et inhibiteurs de l' α -amylase

La régulation de l'activité enzymatique peut être assurée par des composés appelés effecteurs (activateurs ou inhibiteurs) qui agissent directement ou indirectement sur le site actif de l'enzyme[46].

Les inhibiteurs sont généralement des molécules de structure voisine du substrat, qui

Le criblage des inhibiteurs de alpha amylase et alpha glucosidase

ne donnent pas de réaction ou réagissent beaucoup plus lentement que le substrat. L'étude de l'effet d'inhibiteur est utilisée pour déterminer le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, de mieux connaître la spécificité d'une enzyme ainsi qu'obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif de l'enzyme [47].

Les ions Cu^{2+} , Fe^{2+} , et Hg^{2+} sont donc des inhibiteurs compétitifs (analogues

structuraux aux activateurs. Les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} sont des activateurs de l' α -amylase car ils font partie du site actif où ils participent à la stabilité structurale de l'enzyme [47].

Tableau II-3 : Activateurs et inhibiteurs inorganiques et organiques de l' α -amylase salivaire

	Nom de composé	activateur	inhibiteur
Activateurs	Chlorures	+	
Inhibiteurs	Bromures	+	
Inorganiques	Iodures	+	
	Phosphates	+	
	Calcium	+	
	Magnésium	+	-
	Mercure		-
	Fer		-
	Argent		-
	Cuivre		-
	Activateurs	Maltose	
Inhibiteurs	D-glucose, D-xylose		-
Inorganiques	Citrate		-
	Oxalate		-
	Acétyl choline	+	
	Albumine	+	
	Acarbose		-
	Miglitol		-
	Voglibose		-

II.4.2 Les α - glycosidases

II.4.2.1. Généralités

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

Les glycosidases catalysent la dégradation hydrolytique des polysaccharides en oligosaccharides et en hydrates de carbone monomères. De toutes les enzymes présentes dans la nature, ce sont les plus abondantes, les plus évoluées et comptent parmi les plus efficaces. Elles arrivent à augmenter jusqu'à 10¹⁷ fois la vitesse de la réaction de coupure de la très stable liaison glycosidique C-O.

Selon la nomenclature établie par l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (IUBMB) est basée sur la spécificité de substrat, les glycosidases font partie de la famille EC 3.2.1., dans laquelle le chiffre 3 correspond aux hydrolases, le chiffre 2 aux glycosylases et le chiffre 1 aux O- et S-glycosidases.

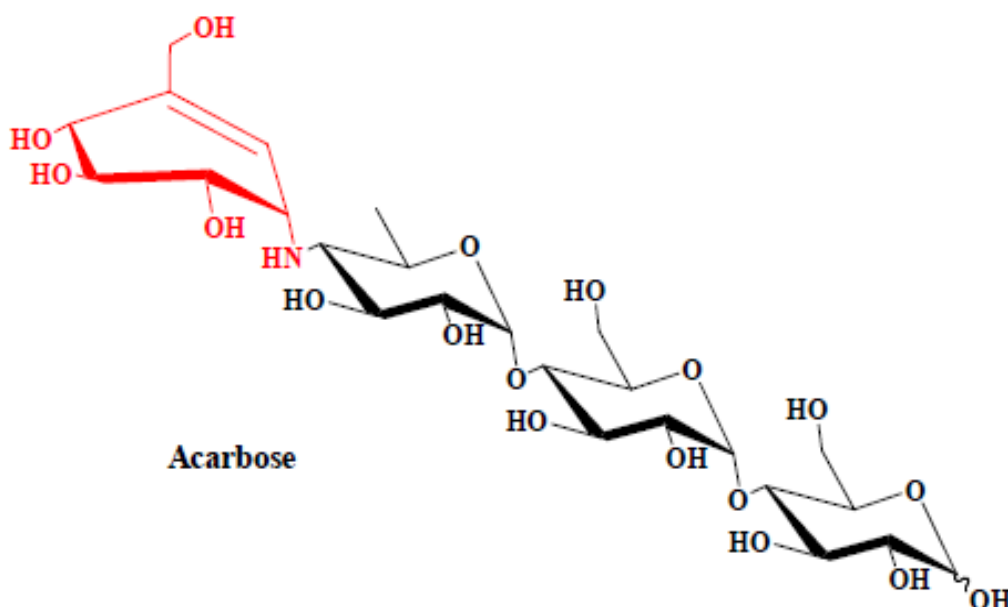
Les glucosides hydrolases sont classifiés dans le groupe EC 3.2.1.x correspondant aux enzymes catalysant l'hydrolyse des liaisons O-ou S-glycosidiques. La rétention ou l'inversion de la configuration absolue du carbone anomérique au cours de l'hydrolyse permet de séparer les enzymes en fonction de leur mécanisme.

Les α -glucosidases (EC 3.2.1.20, α -D-glucoside glucohydrolase) sont définies comme des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques d'un substrat (comme chez les maltooligosaccharides ou le glycogène par exemple) pour libérer un α -D-glucose [48].

II-4-2-2-1 Structure

L'acarbose est constitué d'un cyclitol en C7 renfermant une double liaison éthylénique avec trois hydroxyles en 4,5 et 6 et une fonction alcool primaire en position allylique sur le carbone 3. Ce cyclitol est relié par son carbone 1 à l'azote d'un amino-sucré : le 4,6-désoxy-4aminoglucose. L'ensemble cyclitol et viosamine est appelé : acarviosine. Cette dernière est liée par son C-1 hémiacétalique au C-4 d'un maltose.

Le miglitol est un inhibiteur de l'alpha-glucosidase dérivé de la nojirimycine et de sa forme réduite, la 1 désoxynojirimycine.



FigureII-3 : structure d'acarbose

II-4-2-3 Mécanisme d'action

De maniere generale, de nombreux inhibiteurs de glucosidases sont developpes du fait des implications fondamentales de ces enzymes dans plusieurs processus biochimiques comme :

- L'hydrolyse de polysaccharides alimentaires en unites monosaccharidiques absorbees et utilisees parl'organisme,
- Le catabolisme lysosomal de glycoconjuges et la transformation des glycoproteines
- La biosynthese d'unites oligosaccharidiques dans les glycoproteines et glycolipides.

Ainsi, ces multiples fonctions justifient les recherches sur les inhibiteurs, notamment en vue d'être utilisés dans le traitement du diabète, de l'obésité, des maladies de surcharge lysosomale, les infections à V.I.H. ou encore les tumeurs en général [49]. En outre, sur un plan plus fondamental, ces ligands sont des outils précieux pour l'étude des mécanismes de ces enzymes.

Lors de l'hydrolyse des glycosides, l'état de transition (de très courte durée) implique généralement un intermédiaire de type ion oxocarbenium. Ceci consiste en des liaisons partiellement formées ou rompues entre le nucléophile qui attaque l'oxygène glycosidique du groupe partant.

A ce stade, il y a accumulation de charges positives au niveau du cycle pyranose provoquant une distorsion du substrat proche de l'état de transition [49]. Certains inhibiteurs mimeraient cet état de transition formé furtivement durant le processus d'hydrolyse du glycoside. Ceci n'a été démontré que dans quelques cas où le ligand mimant l'état de transition se fixe à l'enzyme avec une très grande affinité [50]. Dans les années 1940, Pauling a fait le postulat que les inhibiteurs ont de meilleures affinités pour une enzyme lorsqu'ils miment la structure d'un «complexe active contraint» (c'est-à-dire, l'état de transition) [51].

II-4-2-4 Inhibiteurs des glycosidases

Les rôles catalytiques critiques des glycosidases ont mis en avant le développement de leurs inhibiteurs qui peuvent présenter plusieurs types d'activité pharmacologique. Isolés ou synthétisés, les stratégies de développement de ces inhibiteurs sont généralement orientées vers des structures mimant le substrat ou son état de transition [52]. Pour certains composés, l'activité inhibitrice est parfois attribuée à de fortes interactions avec le site actif sans correspondre à un mimétisme du substrat ou son état de transition [53].

Le criblage des inhibiteurs de alpha amylase et alpha glucosidase

Les inhibiteurs significatifs de glycosidases sous forme de familles regroupés selon leurs propriétés structurales en deux catégories: les inhibiteurs mimétiques et les inhibiteurs non-mimétiques.

II-4-2-5 Effets indésirables et événements cliniques associés

Les principaux effets indésirables sont: flatulences, météorisme, diarrhées et douleurs abdominales. Ces symptômes apparaissent au début de traitement et dépendent du régime alimentaire et de la posologie. Ils sont principalement dus à la fermentation bactérienne deshydrates de carbone dans le colon. Quelques rares cas d'atteintes hépatiques, d'occlusion intestinales et des réactions cutanée sont été observé avec l'acarbose [54].

Références bibliographique

- [21] T.D. Warner, J.A.Mitchell, Cyclooxygenase-3 (COX-3) : Filling in the gaps toward a COX continuum , Proc. Natl. Acad. Sci, 99(2002)13371-13373
- [22] J.P.Overington, B. Al-lazikani, A. L.Hopkins, How many drug targets are there ,Nat. Rev. Drug Discov, 5(2006)993-996.
- [23] W.P.Walters, M.T.Stahl, M.A.Murcko, Drug Discov. Today, 3(1998)160-178.
- [24] Y.Tanrikulu, B. Kruger, E. Proschak, 18(2013)358-364.
- [25] K-P. Schulz, Concepts and application of Molecular Similarity, Berichte der Bunsengesellschaft für Phys. Chemie , 96(1992)1087.
- [26] P.C.D.Hawkins, A.G.Skillman, A.Nicholls, Comparison of Shape-Matching and Docking as virtual screening Tools, J.Med.Chem 50(2007).
- [27] B. S. Cummings, Biochem. Pharmacol, 74(2007) 949-959.
- [28] D. J. Diller, R. Li, J Med Chem, 46(2003)4638-4647.
- [29] I.Kola, J.Landis, Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates Nat , Rev Drug discov, 43(2004)711-716 .
- [30] Charly Empeur, Development of statistical tools for the evaluation of virtual screening methods : predictiveness curves & Screening Explorer, Theses, Conservatoire national des arts et métiers - CNAM, June (2017).
- [31] M. Berry, B. Fielding, J. Gamielien, “Practical considerations in virtual screening and molecular docking,” Emerg. trends Comput. Biol. bioinformatics, Syst. Biol, 487(2015).
- [32] American Diabetes Association, Standards of Medical Care in Diabetes-2016: Summary of Revisions. Diabetes Care, 39 (Suppl. 1),S4–S5 amylase. Appl. Biochem. Biotechnol), 8(2016)153-170.
- [33]C.Morris, S. L.Fichtel, A. J.Taylor, Impact of calcium on salivary α -amylase activity, starch paste apparent viscosity, and thickness perception (2011).
- [34]C.KATO, G.GONCALVES, R.PERALTA, F.SEIXAS, A.SA-NAKANISHI, L.BRACHT,

J.COMAR, A.BRACHT, Inhibition of Amylases by Condensed and Hydrolysable Tannins: Focus on Kinetics and Hypoglycemic Actions, Brazil, Chemosensory Perception, 12.4(3) (2017) 116.

[35] S.Chiba, Amyloglycosidase In Handbook of Amylases and related enzymes(The Amylase Research Society of Japan), Pergamum Press, Oxford, (1988)104-116.

[36] A.Burhan, N.Unaldi, G.Coral, O.Colak, A.Aygan, O.Gulnaz, Enzymatic properties of a novel thermostable, thermophilic,alkaline and chelator resistant amylase from an alkaliphilic Bacillus sp, Isolate ANT-6, Process Biochemistry, 38(2003)1397- 1403.

[37] W.M.Fogarty, C.T. Kelly, Amylase, amyloglucosidase and related glucanasesIn Rose (A.H.) Ed. Economic microbiology, microbial enzymes and bioconversion, London: Academic Press,5(1980)115-170-268.

[38]M.LARPENT-GOURGAUD, J.J.SANGLIER, Inhibitors of α -Amylase,Bioorganic. Medicinal Chemistry Letters,(1992)1575-6000.

[39] K.ISHIKAWA, S.MATSUI, H.KOBAYASHI, K.NAKATANI, Substrate recognition at the binding site in mammalian pancreatic alpha-amylases Biochemistry,32 (1993)259-265.

[40]I.KHACHEBA, H.BENAMAR, Effets des extraits de quelquesplantesmédicinaleslocales - sur l'alpha - amylase. Mémoire de fin d'étudesenvue de l'obtention du diplôméd'Ingénieurd'EtatenBiologie, Université Amar Telidji – Laghouat (2008).

[41] Narimane. Kolli , Rokaya.Zatout. Production de l'alpha amylase par certainessouchesfongiques sur différentssubstrats.Mémoire de master,Université des frères MentouriCanstantine, (2015) 5-6-9

[42]M.Faiveley,Procédés biochimiques et chimiques enagroalimentaire. Produits d'origine végétale,Fabrication des bières,Techniques-ingénieur. ENILBIO poligny, France,(2010).

[43] P. M.Sales, P. M.Souza, L. A.Simeoni, P. O.Magalhães, D. Silveira, α -Amylase inhibitors : a review of raw material and isolated compound from plant source, Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 15(1)(2012)141-183.

[44] L.D.Dubois, Progrésphysiopathologiquesdans le diabète de type1 ; Revue du praticien,60(2010)165-69.

- [45]:GARRETT R. H., GRISHAM C. M., 2000, Biochimie: 1292.
- [46]C.MERCIER, Les enzymes amylolytiques, Hydrolases etdép polymérase,(1985)110-140.
- [47]T. J. A. Ewing, S.Makino, A.Skillman, I. D. G.Kuntza, Journal of Computer-Aided Molecular Design, 15(2001)411-428.
- [48]H. H. J. V. H. Lillelund, X. Liang, M. Bols, Chem. Rev, 102(2002) 515-553.
- [49]T.M. Gloster, G.J.Davies, Glycosidase inhibition: assessing mimicry of the transition (2010).
- [50] R. Wolfenden, M.J.Snider, The depth of chemical time and the power of enzymes as catalysts. Accounts of Chemical Research, 34(2010) 938-945.
- [51] L.Pauling, Nature of forces between large molecules of biological interest. Nature, 161(1948)707-709.
- [52] M. N. S. G. Withers, R. Mosi, dansIminosugars as Glycosidase Inhibitors Stütz, (1999)188-206.
- [53] E.Borges de Melo, A.Da Silveira Gomes , I.Carvalho, Alpha-and beta-Glucosidase,(2006). inhibitors: chemical structure and biological activity. Tetrahedron, 62: 10277-10302.
- [54]:BERRIHA Asma et BOUKHRIS AmelThème MASTER Effet des extraits de polysaccharides sur l'inhibition de l' α -glucosidase et de l' α -amylase UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA,2019

Deuxième partie

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Troisième chapitre :

*Docking moléculaire et criblage ADMET d'alpha amylase et
d'alpha glucosidase*

III-1 Introduction :

Le sujet d'étude fondamentale et appliquées c'est le docking moléculaire, qui est notamment dans le milieu de la recherche pharmaceutique. Alors différentes méthodes et algorithmes ont été mise au point pour l'élaboration de cette technique. Le rôle principal de cette technique est étudié puis prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure de récepteur (protéine). Le docking moléculaire se déroule plusieurs étapes :

- ♣ Préparation des ligands.
- ♣ Préparation de l'enzyme.
- ♣ Positionner le ligand dans le site actif choisi de la protéine.
- ♣ Évaluation des interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine.

Ce chapitre présente les résultats de notre étude pratique des interactions entre les différents ligands des dérivés d'oxane avec L'enzyme d'alpha amylase (IOSE) par la méthode du Docking moléculaire et leurs scores en utilisant le logiciel BIOVIA DISCOVERY. Cette étude est basée sur les principaux paramètres suivants : le score et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux ligands et aussi les différents types d'interactions présentes entre certains acides aminés de la protéine étudiée et celle de ligands. Nous allons étudier et présenté également dans ce chapitre quelques propriétés des ligands à savoir, propriétés moléculaires des ligands.

III.2. Hardware utilisé

Nous avons utilisé un microordinateur ayant une mémoire vive de 16 Go ; 2.8 mhz. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation WINDOWS10.

III.2-1 Programmes (Softwares) utilisé : Dans cette étude, plusieurs programmes de modélisation moléculaire ont été utilisés :

-**AUTODOCK TOOLS** : pour la préparation des protéines et des ligands.

- **AUTODOCK VINA** (docking moléculaire) version 1.1.2 : pour lancer les calculs des scores.
- **PYMOL** : Pour changer des fichiers des ligands ou des fichiers ajoutés de sdf à Pdb.
- **BIOVIA DISCOVERY** : Le visualiseur Discovery Studio est un visualiseur gratuit qui peut être utilisé pour ouvrir des données générées par d'autres logiciels de la gamme de produits Discovery Studio. Il est conçu pour offrir un environnement interactif permettant de visualiser et d'éditer des structures moléculaires, des séquences, des données de réflexion des rayons X, des scripts et d'autres données.

III-2-2 Banques de Données

III-2-2-1 Data bank PDB (Protein Data Bank)

C'est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques telles que les protéines enzymes, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par diffractions aux rayons X ou par méthodes spectroscopiques telle que la résonance magnétique nucléaire RMN [<http://www.pdb.org/pdb/home>].

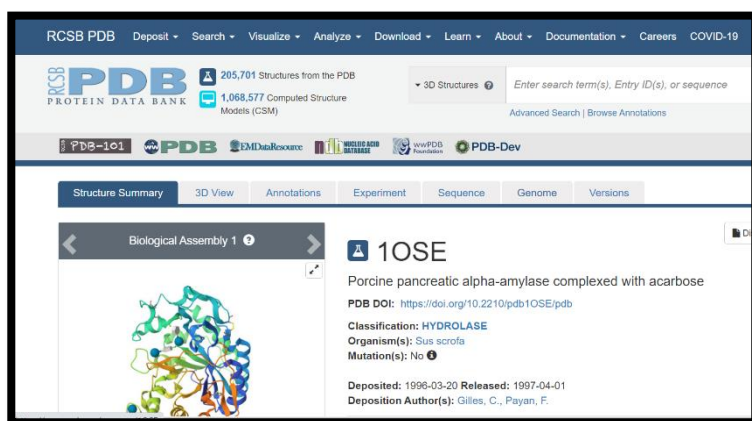


Figure III-1 : L'enzyme d'alpha amylase utilisé sur PDB.

III-2-2-2 PubChem

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (le Centre National d'Information Biotechnologie). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques ont l'accès gratuit. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux de notre ligand [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>].

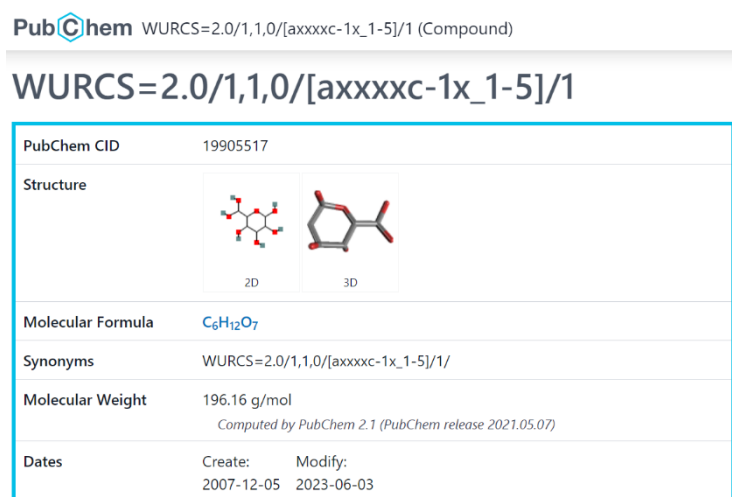


Figure III-2 : Un ligand utilisé sur PubChem

III-3 Préparation Des Ligands

Les ligands utilisés dans notre travail sont les dérivés d'oxane, qui sont considérés comme nouveaux agoniste de 1 OSE ,

On commence a téléchargé la protéine sur le pdb après le dope sur l'autodock tools en élimination des molécules d'eau et l'ajout des charges de Kollman et l'hydrogènes polaires et on l' enregistre sous format pdbqt.

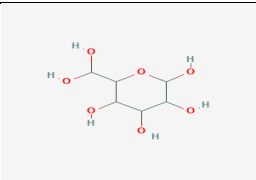
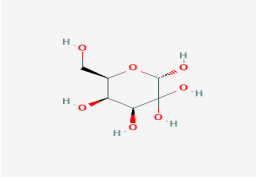
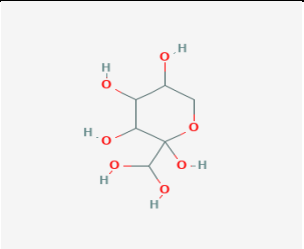
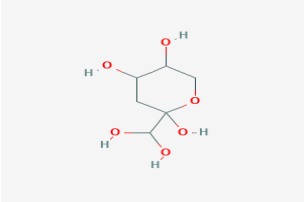
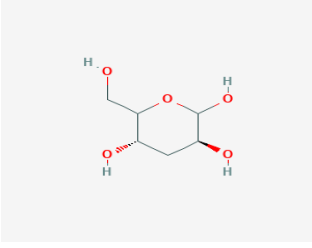
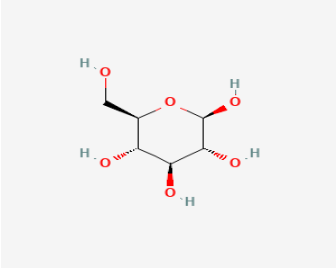
Pour la préparation de ligand il faut passer de PYMOL pour changer le format sdf a pdb et après le doper sur l'autodok tools pour enregistrer le ligand en pdbqt.

Au final en prépare le format protéine-ligand et on lance le calcul sur autodock vina.

III-4 Résultats Du Docking Moléculaire

Avant de détailler les résultats de l'étude des interactions enzyme-ligand, nous allons tout d'abord présenter les résultats de scores (Kcal/mol) pour chaque ligand (Tableau III. 1). Sachant que : Le scores : représente les interactions liées à l'électrostatique (comme les liaisons hydrogène et les interactions de VdW), les effets de solvation et de désolvation et l'énergie nécessaire pour déformer le ligand [55]. Le score devrait correspondre directement à l'affinité de liaison en du ligand pour la protéine, de sorte que les ligands présentant le meilleur score soient les meilleurs liants [56]. En général, une pose de ligand est finalement sélectionnée en fonction d'un score d'amarrage [57]. C'est-à-dire, le choix de la pose est correspondu à la structure qui a l'énergie la plus basse. Résultats du Docking moléculaire sont reportés dans le Tableau III. 1 qui présentent l'énergie d'interaction entre le ligand et la protéine (Tableau III. 1)

Tableau III-1 : Résultats de SCORE de Récepteur IOSE avec les ligands étudiés

Molécules	Structure	IUPAC Name	Docking score (Kj/mol)
CID 19905517		6-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol	-4.523
CID 101244920		(2S,4S,5R,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,3,4,5-pentol	-5.045
CID 85377510		2-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol	-5.022
CID 133633634		2-(dihydroxymethyl)oxane-2,4,5-triol	-4.941
CID 45038825		(3S,5S)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,5-triol	-4.924
Molécule ref		(2R,3R,4S,5S,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol	-4.523

--	--	--	--

D'après les résultats obtenus présentés sur le tableau on Remarque des bon scores avec les dérivés d'oxane et il est clair que (2S,4S,5R,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,3,4,5-pentol avec une énergie de -5.045 Kcal / mol présente le meilleur complexe le plus stable et après le 2-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol avec une energie de -5,22 Kcal / mol. Ceci pourrait envisager que ces molécules pourrait bien inhiber l'enzyme. Les énergies obtenues sont principalement dues aux interactions mises en jeu entre les deux entités chimiques (enzyme et dérivés d'oxane) ce qui va être discuté par la suite

III-5 Étude Des Interactions Enzyme- Les Ligands

Les résultats obtenus montrent que les ligands formant un complexe stable avec l'enzyme IOSE. Cette étude est effectuée sur les cinq ligands et le ligand de référence, Les résultats des interactions entre ces ligands et l'enzyme IOSE sont présentés dans le (Tableau III.2).

Tableau III.2 les interactions entre les résidus du site actif et les atomes des ligands pour 1OSE

Composés	Interaction hydrogen band	Interaction carbon hydrogen
CID 19905517	GLU A:272 – TYR A:276 ASN A: 279	TRP A:284
CID 101244920	GLU A:272 – LYS A:261 TRP A:284	/
CID 85377510	LYS A:261 – TRP A:284 GLU A:272	/
CID 133633634	GLU A:272 – TRP A:284 LYS A:261	
CID 45038825	GLU A:272 – SER A:270 THR A:274	LYS A:261
Molécule ref	GLU A: 272 – LYS A:261 TRP A/ 284 – ASN A:279	

III-5-1 Interactions α -amylase-6-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

Le 6-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol forme un complexe avec l'alpha amylase sous une energie de -4.523 Kcal/mol le dernier au classement de stabilité parmi les ligands étudiés .Ce composé partage quatre interactions avec l'alpha amylase avec GLU A:272 – TYR A:276 -ASN A: 279 en formant des interactions des liaisons d'hydrogène et TRP A:284 qui forme une interaction hydrogène carbone. La figure III-3 présente les interactions obtenus.

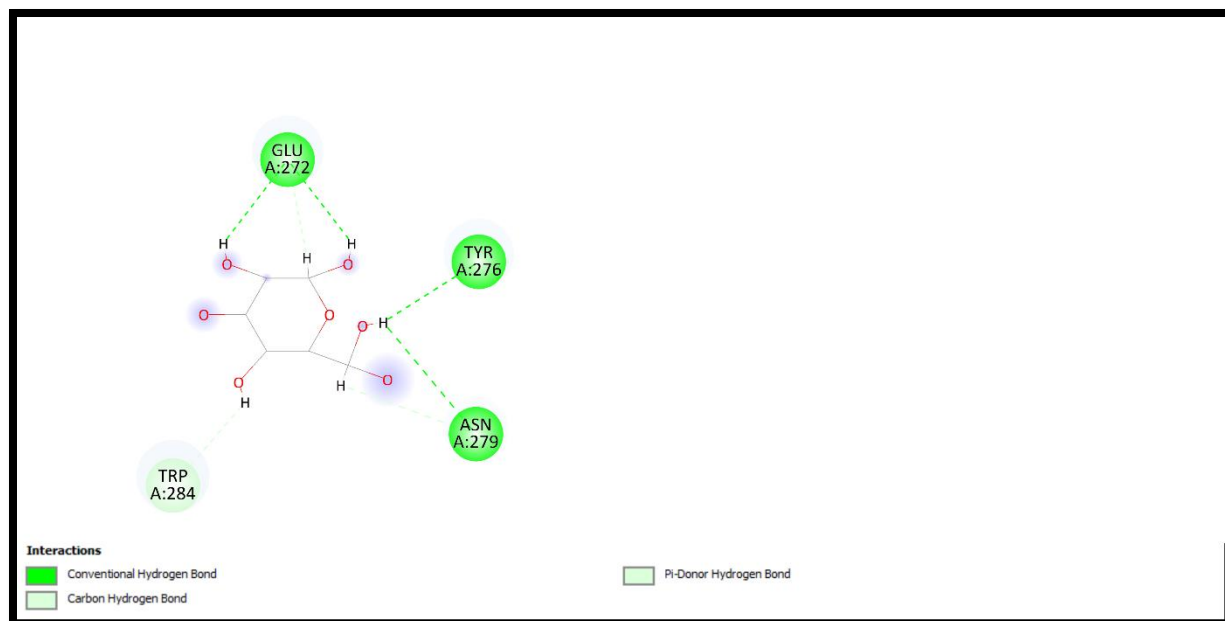


Figure III-3 : Présentation 2D des interactions α -amylase-6-(dihydroxyméthyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

III-5-2 Interactions α -amylase-(2S,4S,5R,6R)-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,3,3,4,5-pentol

Le (2S,4S,5R,6R)-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,3,3,4,5-pentol forme un complexe avec l'alpha amylase sous une énergie de -5.045 Kcal/mol qui ressemble a le meilleur ligand étudié le plus stable parmi les les ligands étudiés .Ce composé partage trois interactions des liaisons hydrogène avec l'alpha amylase avec GLU A:272 – LYS A:261

TRP A:284. La figure III-4 présente les interactions obtenue

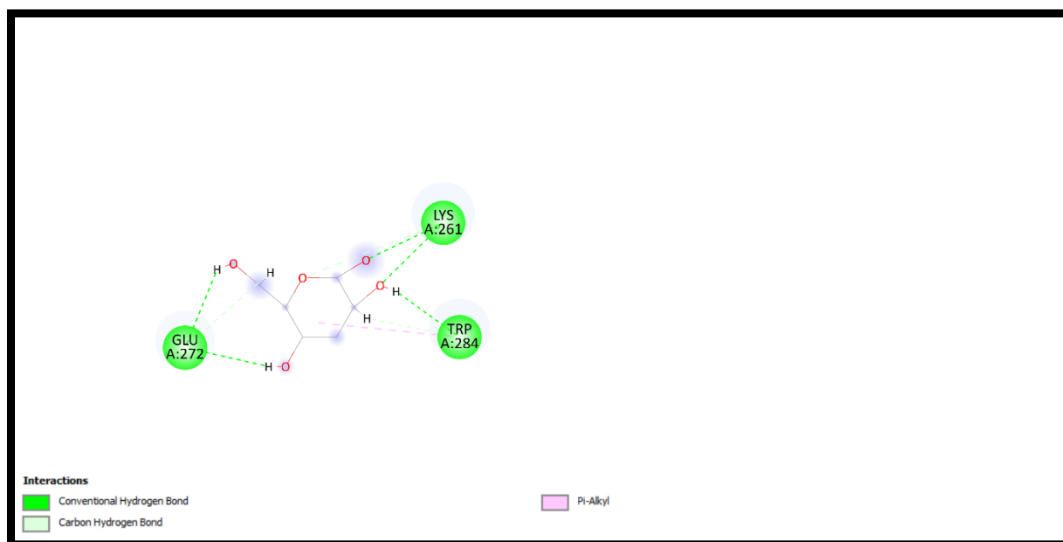


Figure III-4 : Présentation 2D des interactions α -amylase-(2S,4S,5R,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,3,4,5-pentol

III-5-3 Interactions α -amylase-2-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

Le 2-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol forme un complexe avec l'alpha amylase sous une énergie de -5.022 Kcal/mol. Ce composé partage trois interactions des liaisons hydrogène avec l'alpha amylase avec LYS A:261 – TRP A:284-GLU A:272-TRP A:284. La figure III-5 présente les interactions obtenues

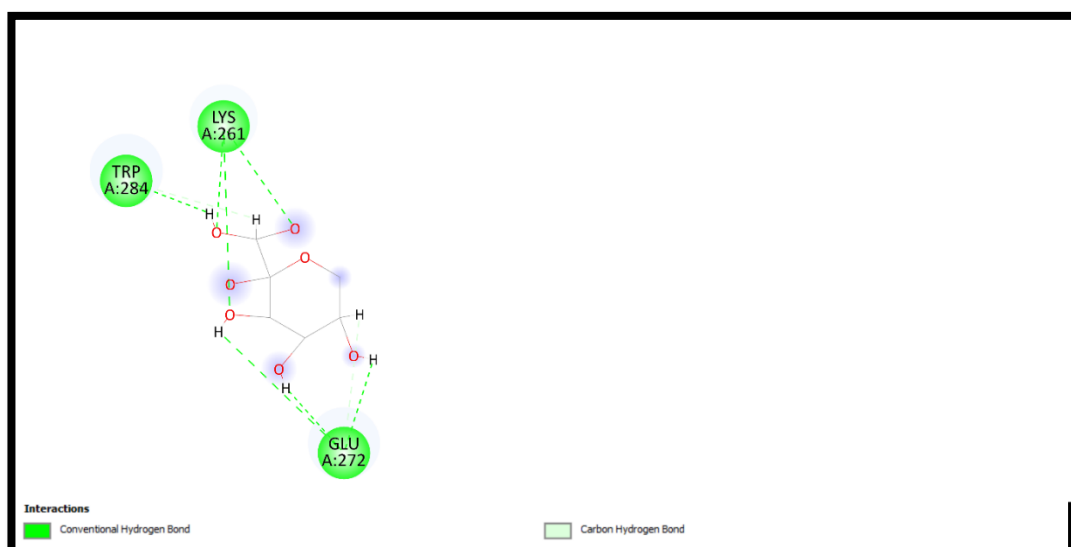


Figure III-5 : Présentation 2D des interactions α -amylase -2-(dihydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

III-5-4 Interactions α –amylase-2-(dihydroxyméthyl)oxane-2,4,5-triol

Le 2-(dihydroxyméthyl)oxane-2,4,5-triol forme un complexe avec l'alpha amylase sous une énergie de -4.941Kcal/mol. Ce composé partage trois interactions des liaisons hydrogène avec l'alpha amylase avec GLU A:272 – TRP A:284-LYS A:261. La figure III-6 présente les interactions obtenues

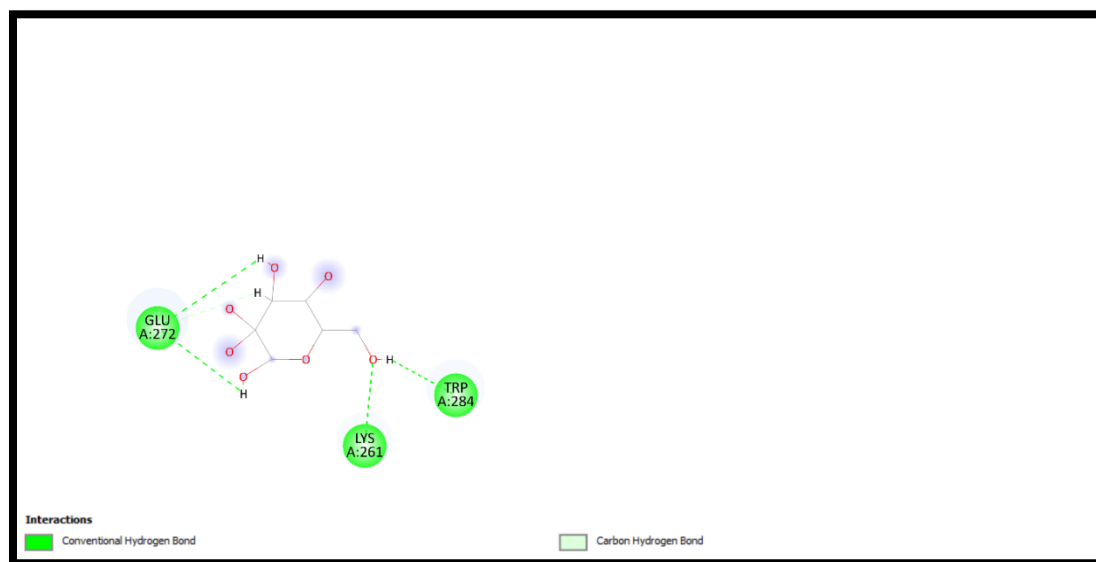


Figure III-6 : Présentation 2D des interactions α –amylase-2-(dihydroxyméthyl)oxane-2,4,5-triol

III-5-5 Interactions α –amylase-(3S,5S)-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,3,5-triol

Le -(3S,5S)-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,3,5-triol forme un complexe avec l'alpha amylase sous une énergie de -4.924Kcal/mol. Ce composé partage quatre interactions avec l'alpha amylase avec GLU A:272 – SER A:270-THR A:274 en formant des interactions des liaisons d'hydrogène et LYS A:261 qui forme une interaction hydrogène carbone. La figure III-3 présente les interactions obtenues

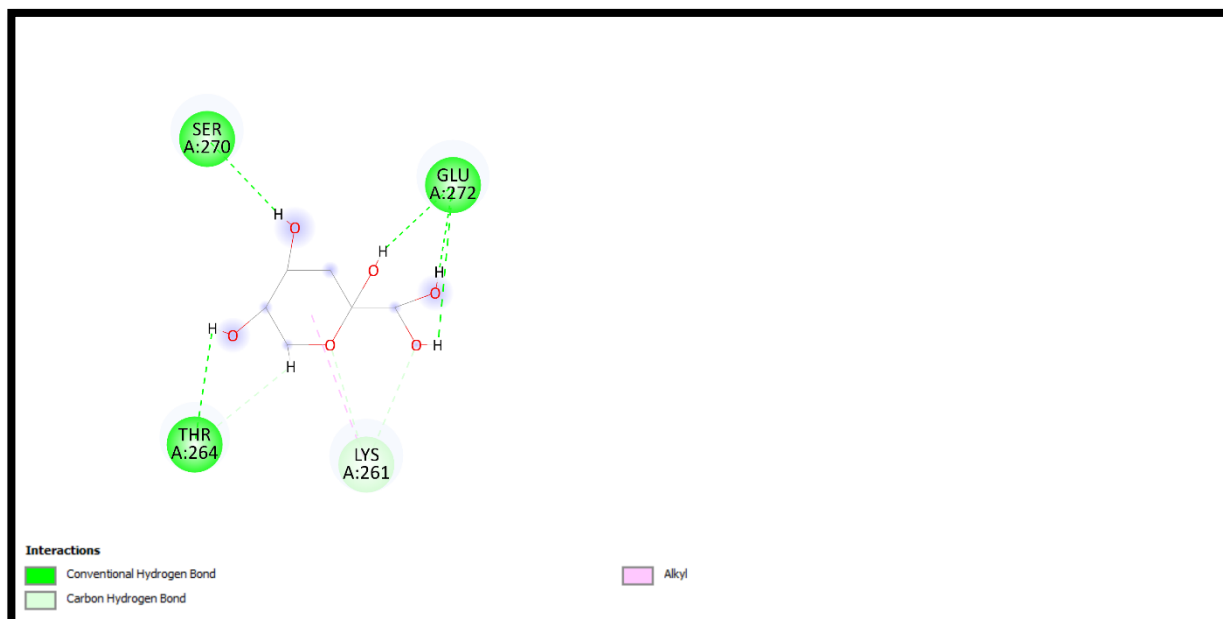


Figure III-7 : Presentation 2D des interactions α –amylase-(3S,5S)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,5-triol

III-5-6 Interactions α –amylase- (2R,3R,4S,5S,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetro

Le (2R,3R,4S,5S,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetro c'est la molécule de référence forme un complexe avec l'alpha amylase sous une énergie de -4.523 Kcal/mol le dernier au classement de stabilité comme le premier dérivés étudié parmi les ligands étudiés .Ce composé partage quatre interactions avec l'alpha amylase avec GLU A: 272 – LYS A:261- TRP A/ 284 – ASN A:279en formant des interactions des liaisons d'hydrogène. La figure III-8 présente les interactions obtenues

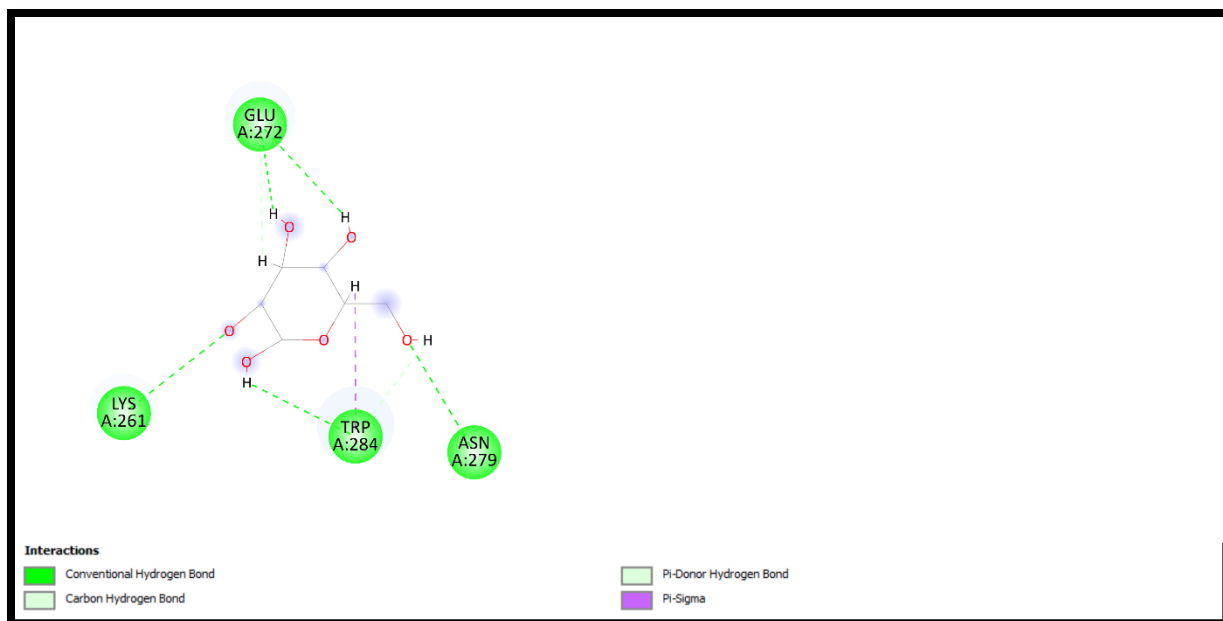


Figure III-8 : Presentation 2D des interactions α –amylase- (2R,3R,4S,5S,6R)-6-(hydroxymethyl)oxane-2,3,4,5-tetrol

III-6 Résultats ADME/Toxicité

On préfère tester que les molécules ayant un fort potentiel à devenir un médicament : absence de toxicité, grande efficacité thérapeutique, bonne absorption pour les médicaments destinés à la prescription par voie orale, etc. En l'absence de définition universelle ou de méthode prédictive parfaite, de nombreuses études ont tenté de faire la différence entre une molécule biologiquement active et une molécule "drug-like" se rapprochant du médicament idéal [58–61]. La définition la plus célèbre d'un composé "drug-like" est celle de Lipinski [62]. A partir de composés administrés par voie orale ayant passé avec succès la phase 2 des tests cliniques, il observe que les molécules ayant le plus de chances d'être absorbées par voie orale satisfont au moins trois des caractéristiques suivantes :

- *un poids moléculaire inférieur à 500 Dalton,
- * un LogP calculé inférieur à 5,
- *un nombre d'accepteurs de liaison hydrogène inférieur ou égal à 10,
- *un nombre de donneurs de liaison hydrogène inférieur ou égal à 5.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III-3

Tableau III-3 : Résultats ADME/ Toxicité

Molécules	LopP	Log S	absorption gastro-intestinale	accessibilité de synthèse
CID 19905517	-2.57	0.97	Bon	4.11
CID 101244920	-2.52	1.13	Bon	3.99
CID 85377510	-2.53	1.15	Bon	4.00
CID 133633634	-2.81	1.13	Bon	3.99
CID 45038825	-1.42	0.22	Bon	3.78

D'après l'étude précédente, nous avons étudié 5 composés. Pour une étude plus détaillée nous évaluons des propriétés moléculaires de ces composés sous la règle de lipinski, les résultats sont obtenus en utilisant l'outil web Molinspiration. Le coefficient de partage, est une manière de mesurer la tendance d'une molécule à se dissoudre dans les membranes, qui est corrélée à sa tendance à se dissoudre dans un solvant organique, on a constaté une absence de toxicité, tous Les valeurs du logarithme P de nos composés sont inférieures à 5. Sachant que, une valeur positive pour log P indique que les composés sont trop lipophiles, donc ils ont : une bonne perméabilité à travers la membrane biologique, une meilleure liaison aux protéines plasmatiques, une bonne élimination par le métabolisme, une bonne accessibilité de synthèse

On a constaté que les résultats de calcul qui se représente dans le (tableau III.3) montrent que tous les composés sont en accord avec les règles de cinq de Lipinski, ce qui suggère que ces composés théoriquement n'auront pas des problèmes avec la biodisponibilité orale. Alors les dérivés d'oxanes peuvent bloquer le processus de la dégradation des oligosaccharides, stoppant la digestion des carbohydrates, et permettant ainsi de contrôler le niveau du glucose dans le sang chez les diabétiques.

Reference bibliographique

[55] Eddy. Thiriot, Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. PhD thesis, Université Henri Poincaré-Nancy 1, (2009).

[56] Richard. A Friesner, Jay. L. Banks, Robert .B. Murphy, Thomas. A. Halgren, Jasna. J .Klicic, Daniel. T. Mainz, Matthew. P. Repasky, Eric. H. Knoll, Mee. Shelley, Jason. K Perry, Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7)(2004)1739–1749.

[57] Hui.Sun. Lee, Sunhwan .Jo, Hyun-Suk. Lim, Wonpil. Im, Application of binding free energy calculations to prediction of binding modes and affinities of mdm2 and mdmx inhibitors, *Journal of chemical information and modeling*, 52(7)(2012)1821– 1832.

[58] Ingo. Muegge, Selection criteria for drug-like compounds, *Medicinal Research Reviews*, 23(3) (2003) 302–321.

[57] Giulio. Vistoli, Alessandro. Pedretti, Bernard .Testa. Assessing drug-likeness– What are we missing? *Drug Discovery Today*, 13(7-8)(2008)285–294.

[60] Ming-Qiang Zhang and Barrie Wilkinson, Drug discovery beyond the 'rule-offive', *Current Opinion in Biotechnology* ,18(6)(2007) 478–488.

[61] D.Paul Leeson ,Brian. Springthorpe, The influence of drug-like concepts on decisionmaking in medicinal chemistry, *Nature Reviews. Drug Discovery* ,6(11) (2007)881– 890.

[62]] C. A. Lipinski, F Lombardo, B. W Dominy, P. J Feene, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3) (2001) 3–26.

CONCLUSION

Les travaux réalisés dans ce mémoire exposent une évaluation par docking moléculaire, de la capacité de quelques dérivés d'oxane à former un complexe stable avec la protéine de l'alpha amylase afin d'inhiber son pouvoir. Il est à souligner que ces travaux sont en concordance avec un le domaine de recherche pharmacologique d'une grande importance actuelle.

Les résultats obtenus dans cette étude notée à travers les bons scores, démontrent la stabilité des complexes ligands-protéine formés testé.

En outre, les bonnes propriétés pharmacocinétiques illustrées à travers l'évaluation de l'ADMET de tous les composés testés sont en harmonie avec la règle de cinq de Lipinski.

En conclusion, les dérivés d'oxane investigués dans ce travail peuvent inhiber le processus de la dégradation des oligosaccharides, stoppant la digestion des carbohydrates, et permettant ainsi de contrôler le niveau du glucose dans le sang chez les diabétiques.