

INTRODUCTION

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

Il existe différents types de diabète soit le pré diabète, le diabète de type 1, de type 2, et le diabète de grossesse(diabète gestationnel).

L'Atlas du diabète, publié en novembre 2017, qui est la source de référence la plus récente, indique que près de deux millions de personnes sont atteintes de diabète en Algérie. Le document publié par l'internationale du diabète (FID), révèle dans son Top 10 des pays en nombre de nouveaux cas de diabète chez les enfants et les adolescents (0-19 ans), que l'Algérie se classe à la sixième place. Dans le Top 10 des pays/territoires en nombre de nouveaux cas de diabète de type-1 (enfants et adolescents), notre pays se place à la huitième place. **(1)**

L'OMS prévoit qu'en 2030 le diabète soit la septième cause de décès dans le monde. **[2]**

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

Les traitements actuels du diabète de type 2 qui nous intéressent dans le présent travail dépendent principalement de l'insuline et de certains agents hypoglycémisants oraux, mais les injections d'insuline à long terme engendrent chez les patients beaucoup de douleur. De plus, les effets des agents hypoglycémisants oraux ne sont souvent pas satisfaits.

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

A ce titre, plusieurs enzymes sont apparues comme cibles prometteuses, *notamment l'alpha glucosidase*, qui s'avère comme une cible thérapeutique potentielle pour le traitement du diabète de type 2.

Les alpha-glucosidases sont des enzymes qui procèdent à la digestion des sucres. Dans un premier temps, dégradés en disaccharides par l'amylase salivaire puis par l'amylase pancréatique, les sucres sont ensuite pris en charge par les alpha-glucosidases que sont la maltase, la lactase, la saccharase ou l'invertase. Ils sont alors dégradés en monosaccharides (eux seuls capables de franchir la barrière intestinale). Ainsi, les inhibiteurs des alpha-glucosidases bloquent le dernier stade de la digestion des sucres qui ne pourront pas être absorbés. Ils sont donc indiqués dans le traitement de certains diabètes**(3)**

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

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

Pour cela, nous avons organisé ce travail comme suit :

- Une première partie : pour bien décrire le diabète de type 2.
- La deuxième partie : traite l'alpha glucosidase et ses inhibiteurs.
- La troisième partie : explique le docking moléculaire et ses applications.
- La quatrième partie présente le matériel et les méthodes utilisés.
- La cinquième partie expose les résultats et leur discussion.
- Et enfin, une conclusion pour clôturer notre travail.

CHAPITRE 1

DIABETE DE TYPE 2

1. Diabète de type 2

Le diabète de type 2, ou diabète non insulino-dépendant, est un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres apportés par l'alimentation. Il conduit à un taux de glucose dans le sang (glycémie) trop important. Les sucres s'accumulant au fil des repas ne sont pas régulés et amènent l'organisme à un état d'hyperglycémie chronique.

À l'inverse du type 1, le diabète de type 2 est une maladie évolutive, ce qui rend son diagnostic et son traitement plus compliqués. Bien qu'il ne se manifeste généralement qu'après 40 ans (c'est pourquoi on l'appelle parfois "diabète de l'adulte"), la maladie est diagnostiquée à un âge moyen proche de 65 ans.

Le surpoids ou l'obésité et le manque d'activité physique sont des révélateurs principaux du diabète de type 2 chez des sujets génétiquement prédisposés. Sournois et indolore, son développement peut passer longtemps inaperçu. Et il s'écoule en moyenne 5 à 10 ans entre l'apparition des premières hyperglycémies et le diagnostic [4].

2. Epidémiologie

Le Diabète de type 2 constitue aujourd'hui une préoccupation majeure en termes de santé publique. A l'échelle mondiale, on compte 422 millions d'adultes diabétiques en 2014, contre 180 millions en 1980, soit une prévalence passant de 4,7% à 8,5% ». [5]

La prévalence de cette maladie est en augmentation continue depuis plusieurs années, avec une hausse de 5,4 % par an entre 2000 et 2011 [6]. Ainsi, l'Organisation Mondiale de la Santé « OMS » estime que le taux de mortalité dû au diabète va augmenter de 50 % durant la prochaine décennie si aucune mesure urgente n'est prise. Véritable épidémie, le diabète est responsable de plus de décès que le VIH, il tue une personne toutes les dix secondes [7].

En Algérie, le diabète est l'un des problèmes majeurs de santé publique, en particulier le diabète de type 2. Le diabète vient en deuxième position au classement des maladies chroniques, derrière l'hypertension en Algérie [8], et pour bien préciser, le diabète est le deuxième état morbide le plus fréquent (8,78%) après l'hypertension artérielle (16,23%) [7].

Le taux de diabétiques en Algérie a atteint 12 % de la population [9], et plus de 15.000 nouveaux cas de diabète sont recensés chaque année au niveau national [10]. D'où notre intérêt pour cette maladie dans le présent travail.

En outre, l'incidence du diabète de type 2 augmente en particulier avec l'âge, néanmoins, ce type de diabète touche aussi des sujets plus jeunes, y compris des adolescents, voire des enfants.

Le nombre de personnes atteintes de diabète est en progression, passant de 0,3 % chez les sujets âgés de moins de 35 ans à 4,1 % chez les 35 – 59 ans et 12,5% chez les plus de 60 ans » [8].

3. Mécanismes physiopathologiques :

Le diabète de type 2 résulte de la conjonction de plusieurs gènes de susceptibilité, dont l'expression dépend de facteurs environnementaux (consommation de graisses saturées, sucres rapides et sédentarité) [11].

L'anomalie métabolique fondamentale qui précède le diabète de type 2 est l'insulinorésistance qui entraîne en réponse un hyperinsulinisme. Par la suite, il apparaît une insulinodéficience responsable de l'hyperglycémie.

3. 1. Le phénomène d'insulinorésistance

L'insulinorésistance est secondaire à l'excès de graisse au niveau du muscle et du tissu adipeux viscéral. Elle se traduit par une diminution de la sensibilité à l'insuline qui s'exerce au niveau périphérique, mais également hépatique.

En pratique clinique, la quantification du caractère androïde par des mesures anthropométriques simples (tour de taille, rapport tour de taille / tour de hanches) fournit une évaluation indirecte, mais fiable, du niveau d'insulinorésistance [11].

3. 1. 1. Insulinorésistance périphérique :

Elle existe constamment au cours du diabète de type 2. L'action de l'insuline sur les tissus périphériques, en particulier le muscle, succède à la liaison de l'insuline à la membrane cellulaire par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique. La résistance à l'insuline combine deux types d'anomalies :

- anomalie de la liaison de l'insuline à son récepteur qui correspond à une diminution du nombre des récepteurs sans modification de leur affinité.
- anomalie de la transmission post-réceptrice : défaut de l'activité du transport transmembranaire du glucose en réponse à la liaison insuline/récepteur.

L'insulinorésistance périphérique induit un déficit de captation du glucose par les tissus insulino-dépendants et tient donc un rôle important dans le développement de l'hyperglycémie postprandiale. La correction de l'hyperglycémie permet d'améliorer, au moins partiellement cette situation d'insulinorésistance, ce qui signifie que l'hyperglycémie en elle-même accentue l'insulinorésistance.

3. 1. 2. Insulinorésistance hépatique

Le tissu adipeux viscéral libère une grande quantité d'acides gras libres. Le flux portal d'acides gras libres favorise la synthèse hépatique des triglycérides et stimule la néoglucogénèse hépatique [11]. La production hépatique de glucose joue un rôle primordial dans l'élévation de la glycémie à jeun.

En résumé, le stockage et l'utilisation du glucose sont diminués au niveau musculaire alors qu'au niveau hépatique il y a une stimulation de la néoglucogénèse. Tout ceci concourt à faire augmenter la glycémie.

3.2. Anomalies de l'insulinosécrétion

3.2. 1. Anomalies cinétiques et quantitatives :

Le glucose stimule la sécrétion d'insuline par un effet direct sur la cellule bêta pancréatique. La réponse insulinaire à une stimulation glucosée intraveineuse s'effectue en deux phases :

- une phase immédiate appelée pic précoce d'insulinosécrétion dans les premières minutes suivant le stimulus
- une phase secondaire d'insulinosécrétion qui dure 60 à 120 minutes.

Au cours du diabète de type 2, le pic précoce est altéré très précocement. Par ailleurs, la réponse tardive et l'insulinémie qui en résulte restent dans tous les cas insuffisantes par rapport à l'hyperglycémie contemporaine.

En effet, la capacité sécrétoire maximale de la cellule bêta est toujours insuffisante en réponse à des stimuli glucidiques ou autre (Arginine par exemple).

D'autre part, dans le diabète de type 2, il existe de façon constante une hyperglucagonémie relative (inappropriée dans le contexte d'hyperglycémie) qui participe à l'entretien de l'hyperglycémie.

3.2. 1. Anomalies qualitatives :

La maturation de l'insuline s'effectue dans la cellule bêta pancréatique à partir d'une hormone nommée pro insuline. Celle-ci subit plusieurs scissions enzymatiques aboutissant à la sécrétion d'une molécule d'insuline mature et d'une molécule de peptide C. Chez le sujet normo- glycémique, l'insuline mature représente plus de 95% de l'ensemble des produits insuliniques et les précurseurs (pro insuline et molécules intermédiaires) moins de 5%.

Il existe chez tous les patients diabétiques de type 2 des anomalies de la maturation de l'insuline ayant deux conséquences principales :

- la diminution proportionnelle de la quantité d'insuline mature, biologiquement active sécrétée (< 85%).
- l'augmentation quantitative et proportionnelle de la sécrétion des précurseurs insuliniques (> 15%).

Le diabétique de type 2 présente donc de façon constante une insulino-pénie relative qui participe au développement de l'hyperglycémie.

4. Facteurs de risques

Cette maladie non auto-immune, multifactorielle et polygénique, est déterminée par l'interaction de plusieurs gènes, qui ne s'expriment qu'en présence de facteurs environnementaux favorisant [12].

4. 1. Les antécédents familiaux (Hérédité)

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

4. 2. L'obésité, notamment abdominale

80 % des diabétiques de type 2 présentent une obésité caractérisée par un excès de tissu adipeux intra-abdominal, plus précisément dans les régions omentales et mésentériques qui sont drainées par la veine porte. Ce tissu graisseux viscéral présente une activité métabolique avec lipolyse accrue et libération massive d'acides gras libres dans le système porte, à cause de la rareté des récepteurs d'insuline dans le tissu omental ce qui réduit le rôle d'inhibiteur de la lipolyse joué par l'insuline. Ces acides gras vont favoriser l'insulinorésistance au niveau hépatique par une diminution de la clairance de l'insuline, et au niveau musculaire par l'inhibition compétitive de la captation du glucose. Ainsi donc, les acides gras libres présentent une action inverse de celle de l'insuline.

4. 3. La sédentarité

L'étude menée par Helmrach *et al* met en évidence une diminution de 10 % du risque de diabète de type 2 pour chaque augmentation de 500 kcal de dépense énergétique par semaine [13].

4-4-L'âge

L'incidence de la maladie augmente avec l'âge du fait de l'usure des cellules et des organes [5].

4. 5. Les habitudes alimentaires

En Algérie, le nombre de diabétiques âgés de 25 à 40 ans a sensiblement augmenté en raison notamment d'un régime alimentaire déséquilibré et d'une alimentation malsaine [14].

5. Complications

Les hyperglycémies répétées et prolongées entraînent des complications graves à long terme. Elles sont d'autant plus insidieuses qu'elles sont le plus souvent asymptomatiques, ces complications peuvent survenir après plusieurs années de déséquilibre glycémique (souvent après 10 à 20 ans). Elles peuvent se traduire au niveau de l'organisme par différentes atteintes.

5. 1. Atteintes micro-vasculaires

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

5. 2. Atteintes macro-vasculaires

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

6. Diagnostic

Le diagnostic précoce est d'une importance capitale, puisque environ 1/3 des patients présentent déjà des complications au moment du diagnostic et ainsi donc des atteintes au niveau des organes cibles. C'est pourquoi, un dépistage opportuniste ciblé est recommandé tous les trois mois chez les personnes âgées de plus de 45 ans, ayant au moins un marqueur de risque du diabète de type 2.

Le diagnostic du diabète de type 2 n'est qu'un acte médical simple, il s'établit sur la base de la glycémie plasmatique à jeun, ou durant la journée en présence de symptômes. Il peut aussi être établi par la mesure de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), qui est une nouvelle méthode proposée par un comité international d'experts. [15].

7. Traitement

Aucun traitement ne permet de guérir définitivement le diabète .mais il existe des traitements permettant de diminuer les causes et les effets pour améliorer la qualité de vie des personnes atteintes de diabète. Le traitement de référence du diabète de type 2 est la modification des habitudes de vie :

- Une perte de poids si nécessaire.
- Une activité physique régulière.
- Une alimentation équilibrée.
- Ensuite, des antidiabétiques oraux et/ou injectables sont prescrits pour contrôler la glycémie.

Le diabète de type 2 étant une maladie évolutive, après l'augmentation progressive des antidiabétiques (escalade thérapeutique), des injections d'insuline seront proposées en complément au patient lorsque la carence en insuline sera trop importante. [16]

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

- **Classe 1 : Les Biguanides**

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

- Diminuant la production du glucose par le foie.
- Diminuant l'insulinorésistance.
- Retardant l'absorption intestinale du glucose.

Les biguanides favorisent aussi la perte de poids.

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

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

- **Classe 3 : Les inhibiteurs des alpha-glucosidases**

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

- **Classe 4 : Les incrétines**

Les incrétines dont la GLP1 sont des substances libérées par le corps au début des repas, pour stimuler la sécrétion d'insuline. On les utilise en pharmacologie soit en injectant du GLP1 soit en diminuant sa dégradation dans le corps grâce aux gliptines (IDPP4). Ils agissent en ralentissant la vidange gastrique, en limitant l'appétit et en stimulant la sécrétion d'insuline mais uniquement quand la glycémie est élevée, ce qui limite le risque d'hypoglycémie.

Les incrétines peuvent provoquer une perte de poids.

- **Classe 5 : Les inhibiteurs du SGLT2**

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

Le traitement à l'insuline par injections est une option très valable, bien qu'on y ait recours souvent après un échec aux médicaments oraux. Des injections d'insuline peuvent s'imposer lorsque les médicaments ne suffisent plus, car la sécrétion de l'insuline diminue avec le temps chez les diabétiques de type 2 [17]. Le médecin propose un schéma d'insuline adapté au profil glycémique du patient :

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

CHAPITRE 2 : L'ALPHA-GLUCOSIDASE ET SES INHIBITEURS

1. Activité.

Les α -glucosidases (EC 3.2.1.20) sont des enzymes qui hydrolysent les liaisons α -1 \rightarrow 4 des polysaccharides. Dans un premier temps dégradés en disaccharides par l'amylase salivaire puis par l'amylase pancréatique, les sucres sont ensuite pris en charge par les alpha-glucosidases que sont la maltase, la lactase, la saccharase ou l'invertase. Ils sont alors dégradés en monosaccharides car eux seuls sont capables de franchir la barrière intestinale. Elles sont présentes chez les Archées, les Bactéries et les Eucaryotes.

Ces enzymes agissent selon un mécanisme de rétention de la configuration du carbone anomérique [18]. Le site actif est constitué d'une triade catalytique composée de deux acides aspartiques : un ayant le rôle de nucléophile, le second participant à la stabilisation de l'état de transition et un acide glutamique défini comme le résidu acide/base [19].

Des études ultérieures ont permis de mettre en évidence des intermédiaires catalytiques en utilisant des réactifs de type 5-fluoroglycosyl fluoride [20].

2. Description structurale

Plusieurs représentants structuraux des α -glucosidases ont été déposés dans la base de données PDB. Ils sont issus d'organismes appartenant à un règne différent tel que *Sulfolobus solfataricus* (code PDB : 2G3M) chez les Archaea, *Ruminococcus obeum* (code PDB : 3NO4) chez les bactéries et *Homo sapiens* (code PDB : 2QLY) chez les eucaryotes.

Ces enzymes sont composées de 4 domaines : un domaine N-terminal en sandwich β (domaine N) suivi du domaine catalytique formé d'un tonneau (β/α)₈ de type « TIM barrel » (domaine A) à la suite duquel se trouvent deux domaines en sandwich β (domaine C ou proximal et domaine D ou distal). Au sein du domaine catalytique sont retrouvées deux insertions : entre le brin β ₃ et l'hélice α ₃ (sous-domaine B) mais aussi entre brin β ₄ et l'hélice α ₄ (sous-domaine B') (**Figure 1**). Les trois domaines en sandwich β sont formés de brins β antiparallèles.

Le domaine N est composé d'une dizaine de brins β incluant de grandes boucles interagissant avec le domaine A et qui semblent particulièrement importantes. Ce domaine N-terminal paraît avoir un rôle dans la fixation du substrat et/ou dans le maintien de l'architecture du domaine catalytique [21]. Généralement, les feuilletts β sont connus pour jouer un rôle dans la fixation des sucres [22] et aider les polysaccharides à se positionner avant d'approcher le domaine catalytique [23].

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

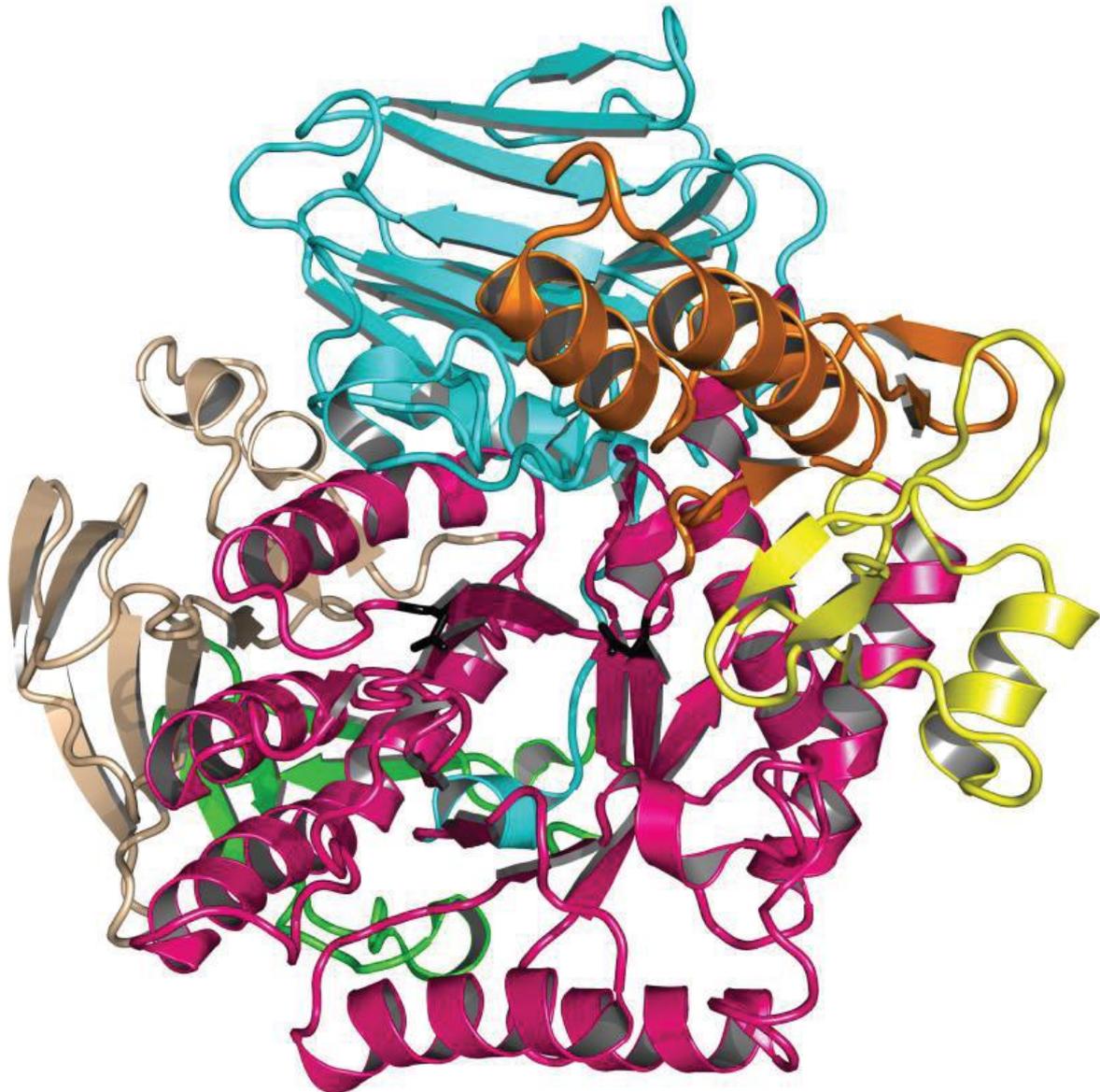


Figure N° 1 : Représentation en ruban de la structure tridimensionnelle résolue par cristallographie aux rayons X de l' α -glucosidase de *Ruminococcus obeum*[24].

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

3. les inhibiteurs de l'alpha glucosidase

3. 1. Définition :

Les inhibiteurs d'alpha-glucosidase sont des antidiabétiques oraux utilisés contre le diabète sucré de type 2, qui agissent en empêchant la digestion des glucides tels que l'amidon et le sucre de table. Les glucides sont normalement convertis en sucres simples (monosaccharides) par les enzymes alpha-glucosidases présentes sur les cellules tapissant l'intestin, ce qui permet aux monosaccharides d'être absorbés par l'intestin. Par conséquent, les inhibiteurs d'alpha-glucosidase réduisent l'impact des glucides alimentaires sur la glycémie.

3. 2. Médicaments existants :

A l'heure actuelle, seuls deux médicaments sont commercialisés : l'Acarbose et le Miglitol.

L'Acarbose est un triholoside de formule brute $C_{25}H_{43}NO_{18}$ (**Figure 2**). Il est utilisé en tant qu'inhibiteur de l'alpha glucosidase pour traiter le diabète de type 2. Il est commercialisé en Europe sous la marque Glucobay et en France sous le nom de Glucor ou comme générique. Le principal effet secondaire est la perte de selles ou la diarrhée, qui limite son emploi. C'est un antidiabétique oral modéré.

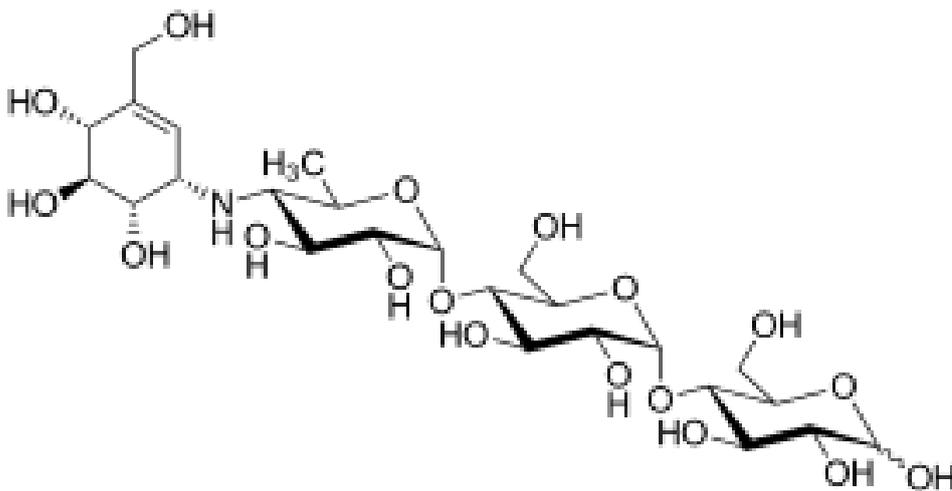


Figure N° 2 : structure chimique de l'Acarbose

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

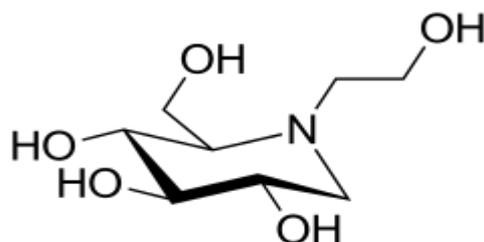


Figure N° 3 : structure moléculaire du Miglitol

3. 3. Mécanismes d'action

L'Ascarbose et le Miglitol inhibent de façon compétitive l'hydrolyse des glucides complexes en monosaccharides absorbables. Ces médicaments retardent donc l'absorption des glucides et aboutit à une réduction des glycémies postprandiales. Du fait de leur mécanisme d'action, l'administration est recommandée au début des repas.

3. 4-Surveillance des effets

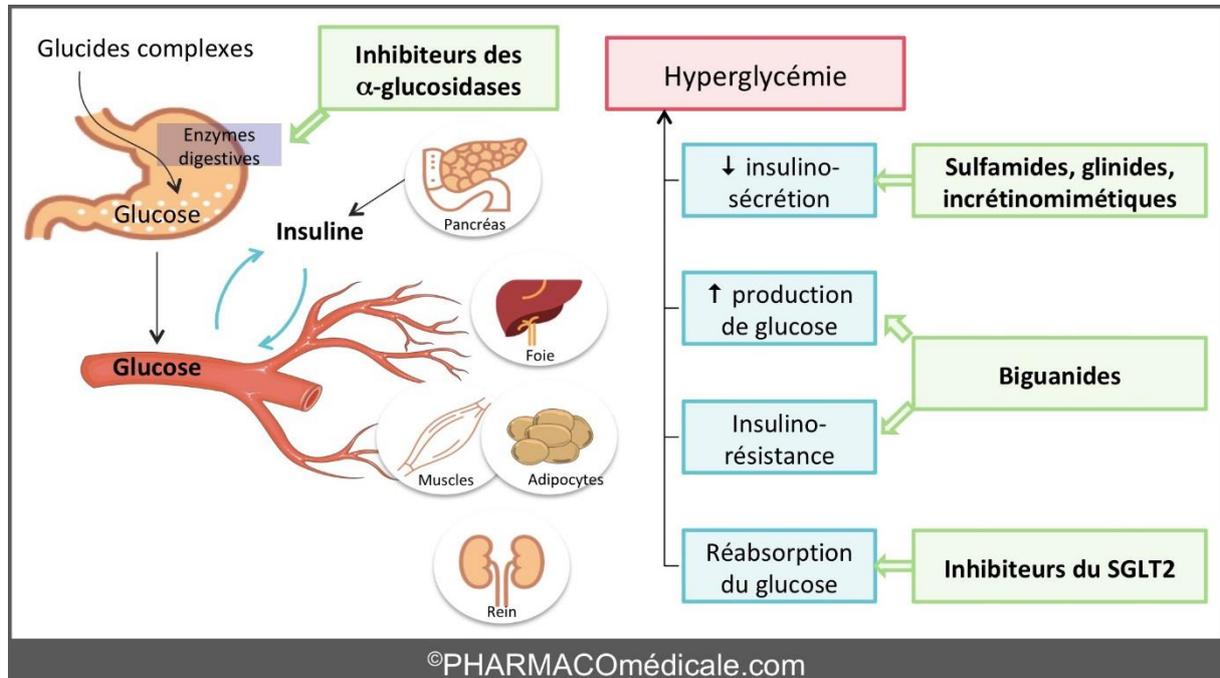


Figure N° 4 : Surveillance des glycémies et de l'HbA1c afin de vérifier le bon contrôle glycémique.

3. 5. Effets utiles en clinique :

Ces deux médicaments engendrent une réduction de l'HbA1c de 0,5 à 1% se traduisant par une efficacité significativement plus faible que les autres classes d'antidiabétiques oraux. Cependant, l'innocuité de ces molécules permet de les utiliser chez les patients présentant des contre-indications aux autres antidiabétiques oraux et pour lesquels l'insulinothérapie ne semble pas nécessaire (sujets âgés porteurs d'un diabète peu sévère par exemple). Ce type de traitement peut également être utilisé en association aux autres antidiabétiques oraux, comme traitement d'appoint chez des patients dont l'HbA1c est proche de l'objectif fixé.

Pas de risque d'hypoglycémie en l'absence de médicament favorisant la sécrétion insulinique (sulfamides hypoglycémisants/glinides).

3. 6. Caractéristiques pharmacocinétiques utiles en clinique

L'acarbose est métabolisé au niveau intestinal et seul 1% de la dose est absorbée, tandis que le Miglitol est absorbé à plus de 90% et éliminé sous forme inchangé par voie rénale.

3. 7. Situations à risque ou déconseillées

- Insuffisance rénale sévère (pour le Miglitol)
- Pathologies chroniques de l'appareil digestif.

3. 8. Effets indésirables :

Troubles digestifs à type de flatulences, diarrhées et douleurs abdominales, provoquées par la stagnation et fermentation des glucides non digérés. Ces effets indésirables sont dépendants de la dose et du régime alimentaire, et surviennent essentiellement en début de traitement. Il est donc conseillé d'instaurer un tel traitement de manière progressive (doses croissantes).

CHAPITRE 3

LE DOCKING MOLECULAIRE

1. Définition

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

2. Applications du docking moléculaire

Le docking est une technique informatique employée initialement pour la prédiction et la reproduction des complexes protéine-ligand [25]

Cette méthode permet de modéliser les meilleures orientations et conformations du ligand sur

Une surface protéique appelée récepteur ou cible, et d'évaluer sous la forme d'un score la capacité d'interaction entre ces deux molécules [26].

Avec le développement de la cristallographie par rayons X et l'outil informatique, les méthodes de modélisation par docking moléculaire sont devenues des étapes cruciales dans de nombreux programmes de découverte de médicaments (Figure 5)

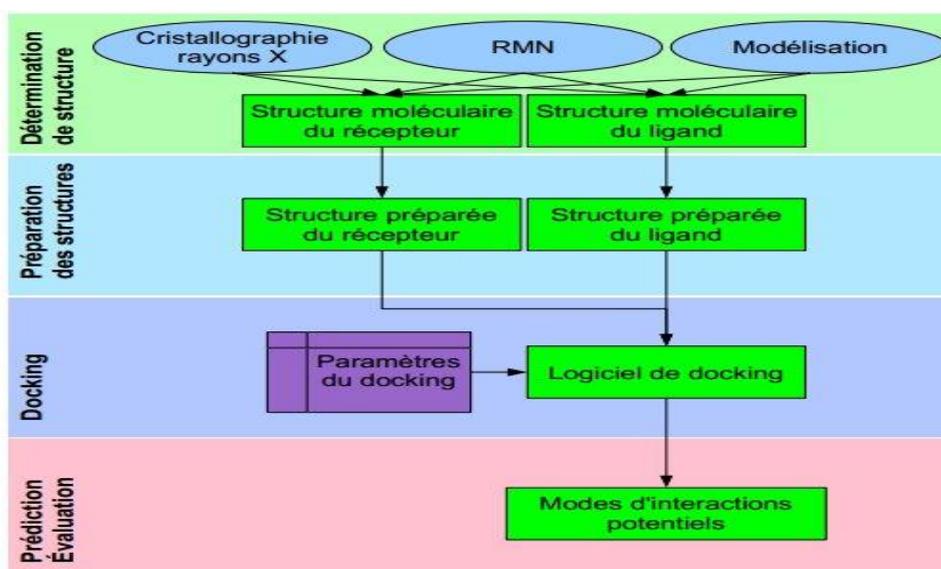


Figure 5 : Protocole typique d'un docking. [27]

L'une des applications du docking moléculaire consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur dans le but d'améliorer son affinité, sa spécificité, sa synthèse ou encore ses propriétés ADME-T (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) [28].

L'introduction du criblage virtuel a offert une nouvelle voie d'identification de ligands. Le criblage virtuel basé sur la structure 3D

de la protéine consiste à amarrer et à prédire l'affinité d'un grand nombre de molécules (collectées en

chimiothèques) pour le site actif ciblé. Les molécules les plus prometteuses sont sélectionnées, achetées ou synthétisées puis testées expérimentalement [29]

Cette démarche est aujourd'hui couronnée de succès en mettant sur le marché un bon nombre

de médicaments, citons à titre d'exemple : indinavir ; un inhibiteur puissant de protéases du VIH et célécoxib inhibant sélectivement la cyclo-oxygénase 2. [30].

3. Approches du docking moléculaire

Le docking ou «*amarrage, arrimage*» 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* [31].

Les différentes approches du docking se distinguent au niveau de leurs conditions d'application et de la nature des informations qu'elles peuvent fournir. Trois degrés sont en général considérés :

- Le docking rigide : considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. [32]
- Le docking semi-flexible : une molécule rigide et l'autre flexible, ce type est souvent appliqué dans le cas protéine-ligand où une des deux molécules (le ligand) de taille moindre est considérée comme flexible et la protéine comme rigide pour ne pas trop complexifier le système.
- Flexible : considérant que les deux sont flexibles.

4. Les étapes du docking moléculaire

Une stimulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring.

4. 1. Le docking

Il s'agit de l'étape de sélection qui consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles (Figure 6).

4. 2. Le scoring

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

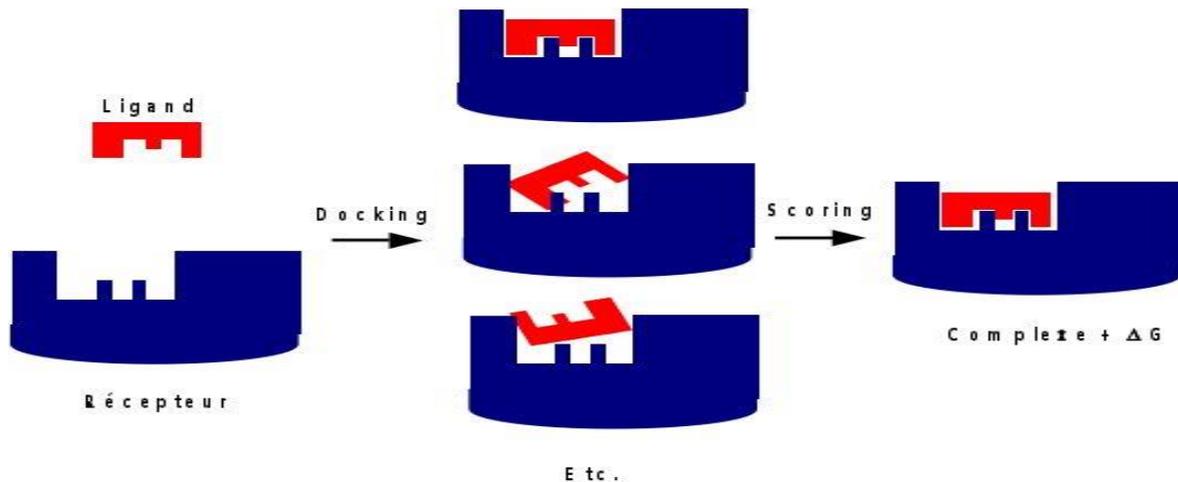


Figure 6 : Stimulation du docking et scoring.

5. Les interactions protéine-ligand

Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction. [33]. Les interactions entre une protéine et un ligand sont en général de nature non covalente et génèrent une énergie appelée énergie libre de Gibbs [34] qui se calcule selon l'Équation 1.

$$\Delta G = -RT \ln K_i = \Delta H - T\Delta S$$

Équation 1 : Energie libre de Gibbs

R: constante des gaz (8,314 J. K⁻¹ mol⁻¹)

T: Température (K)

K_i: constante d'inhibition

Les associations sont dues aux propriétés chimiques, électroniques, et géométriques des molécules. A l'inverse des liaisons covalentes, les liaisons faibles permettent une grande flexibilité et plasticité des macromolécules (protéine, enzymes, complexes protéine-ligand ou protéine- protéine). Les interactions qui stabilisent les structures tridimensionnelles des macromolécules font intervenir plusieurs types de liaisons faibles, dont les forces électrostatiques, les forces de van der Waals, les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes [35]

5. 1. Les forces de Van Der Waals

Les interactions de Van Der Waals sont des interactions de nature électrostatique qui ont lieu entre les nuages électroniques (**Figure 7**). Cette force généralement attractive n'intervient qu'à très courte distance, elle est donc plus intense lorsque les molécules qui interagissent sont proches et volumineuses. Cette force est amplifiée par le fait que les liaisons internes des

molécules soient polaires. Ces forces généralement attractives de nature électrostatique sont donc responsables de liaisons intermoléculaires de faibles intensités [36].

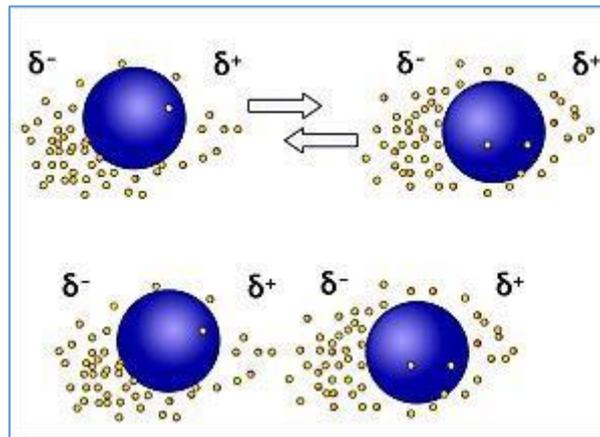


Figure 7 : Les forces de Van Der Waals

5. 2. L'effet hydrophobe

Les molécules ou groupes non polaires ne sont pas capables de former de liaisons hydrogène et ne peuvent donc pas s'hydrater : on les nomme pour cette raison substances hydrophobes (Figure 8). L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau. [35]

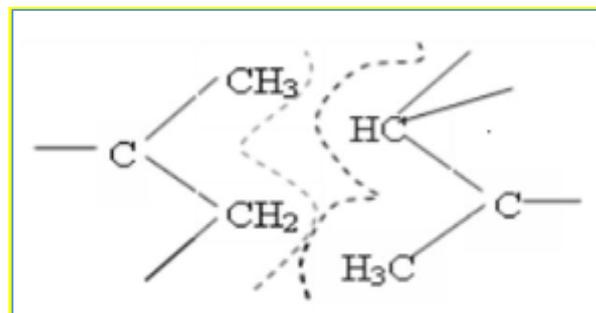


Figure 8 : Interactions hydrophobes

5. 3. La liaison hydrogène

La liaison hydrogène appelée aussi pont hydrogène est une force intermoléculaire qui implique un atome d'hydrogène et un atome électronégatif tel que l'oxygène, l'azote ou le fluor (Figure 9).

On a longtemps cru que cette liaison était covalente. On a constaté qu'en fait elle est électrostatique à 90%. Elle se situe entre la liaison covalente et la liaison van der Waals (interaction électrique de faible intensité entre atomes) [37]

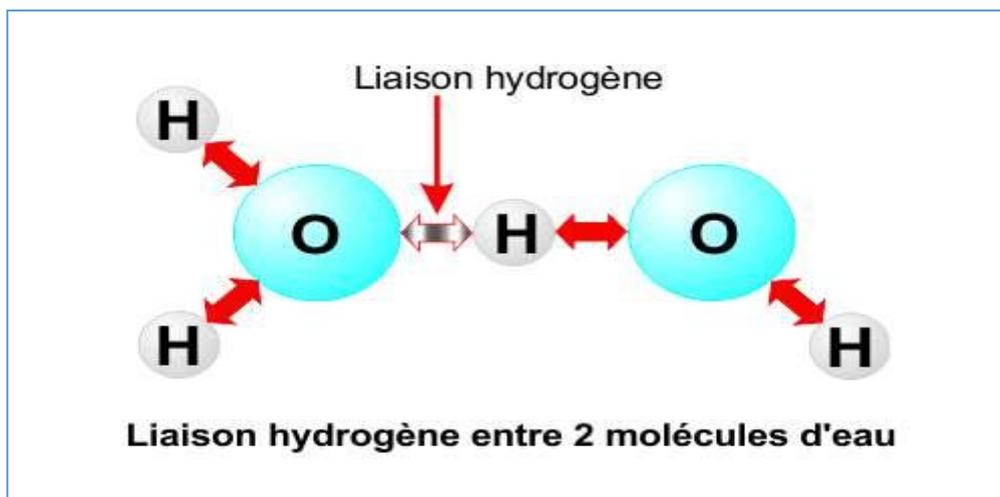


Figure N°9 : La liaison hydrogène

5. 4. Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques ou ioniques résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes de charges opposées.

6. Programmes de Docking

Actuellement, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités figurent dans le tableau suivant :

Tableau N° 1 : Principaux programmes de docking moléculaire [38].

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/applications/fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

Chapitre 1

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Micro-ordinateur

Dans notre étude nous avons utilisé un micro-ordinateur TOSHIBA ayant un processeur de 1,70 Intel Core i3 et une mémoire vive de 4,00 Go, sous le système d'exploitation Windows 7 professionnel.

1.2 Logiciels (programmes)

Nous avons fait appel à plusieurs programmes pour réaliser le présent travail :

- le programme surflex version 1.3 (2005) : a été utilisé pour réaliser le docking moléculaire. Ce programme exécute le docking selon la méthode dite incrémentale ou 'Hammerhead'.

Le programme VMD 1.9.1 a été utilisé pour visualiser les résultats du test RMSD.

- Le programme Open Babel (2.0.2) nous a servi à la conversion des fichiers en plusieurs formats (mol2, mol, pdb,...).

- Le programme Maestro (11.3) a enfin été utilisé dans cette étude pour visualiser respectivement les poses et les interactions établies entre les inhibiteurs et le site actif de notre enzyme.

1.3 Banques de données

1.3.1.«PDB » (Protein Data Bank)

La PDB est la principale source de données de biologie structurale qui permet en particulier d'accéder à des structures 3D des protéines enzymatiques d'intérêt thérapeutique.

1.3.2. PubChem

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

2. Méthodes

2.1 Préparation de l'enzyme

La structure 3D de l'enzyme a été téléchargée via la PDB sous le format .pdb. Cette banque de données nous a proposé 22 structures cristallographiques de notre enzyme Alpha glucosidase en complexe avec leur inhibiteur. Les codes PDB de ces complexes, ainsi que ceux de leurs inhibiteurs et les valeurs de leur résolution sont présentés dans le tableau N°2

Tableau N°2 Caractéristiques des complexes Alpha-glucosidase disponibles dans la PDB.

Code du complexe	Code de l'inhibiteur	Résolution Å	Nombre de chaînes	Nombre d'acides aminés
3L4W	MIG	2.0	1	875
5LVX	NAG	2.2	4	497
5NN5	NOJ	2	1	872
5NN6	MIG	2	1	872
5NN8	ACR	2.45	1	872
5KZW	NAG	2	1	874
5KZX	NAG	2	1	874
3VKK	MAN	2	1	469
3TON	ACR	2.953	2	908
3TOP	ACR	2.881	2	908
2XWD	NAG	2.66	2	505
2XWE	NAG	2.31	2	505
3LPO	NAG	3.2	4	898
3LPP	NAG	2.15	4	898
3L4V	NAG	2.1	1	875
3L4Z	SSD	2	1	875
2WCG	NAG	2.3	2	505
3CTT	NAG	2.1	1	870
2VT0	CBU	2.15	2	505
2V3E	NND	2	2	505
2J25	NAG	2.9	2	497
2F61	NDG	2.5	2	497

Parmi ces complexes, nous avons choisi celui portant le code **3L4W** en raison de sa faible valeur de résolution soit 2.0Å.

L'enzyme cible que nous avons utilisée dans notre travail, l'alpha glucosidase, est constituée d'une seule chaine (A). Partant du complexe 3L4W, nous avons éliminé les molécules d'eau et l'inhibiteur présent dans la chaine A. L'enzyme ainsi préparée a été enregistrée sous le format .mol2

2.2 Préparation du ligand

Comme pour la préparation de l'enzyme, nous avons utilisé le même complexe **3L4W** pour préparer le ligand. La chaine A a été supprimée ainsi que les molécules d'eau et tous les autres composants, à l'exception l'inhibiteur **MIG** présent dans ce complexe. Le ligand est enregistré sous le format.pdb. L'inhibiteur **MIG** ainsi obtenu nous servira d'une part à déterminer le site actif de l'enzyme et d'autre part à générer les composés similaires via la PubChem. Il est à noter que les composés similaires ont été téléchargés sous le format .sdf puis convertis en pdb grâce au programme OpenBabel.

2.3 Génération du protomol

Le docking moléculaire a été réalisé par le programme Surflex en suivant plusieurs étapes. Nous avons d'abord déterminé le site actif en générant une pseudo-molécule appelée 'protomol' que fournit Surflex sous la forme 'pl-protomol.mol2' en utilisant la commande suivante :

```
surflex-dock proto inhibiteur.pdb proteine.pdbpl
```

L'inhibiteur correspond au ligand MIG et la protéine correspond à l'alpha-glucosidase.

2.4 Docking moléculaire

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

```
surflex-dock dock inhibiteur.pdb pl-protomol.mol2 proteine.pdb
```

Pour calculer la valeur du RMSD, nous avons utilisé en plus une troisième commande qui sert à optimiser la position du ligand simulé vis-à-vis de celui de référence.

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

3. Analyse visuelle des résultats

Le programme Surflex ne permet pas de faire l'analyse visuelle, pour cela on a fait appel au programme Maestro pour visualiser les interactions hydrophobes et hydrogènes que peut établir chaque inhibiteur avec le site actif de l'enzyme. Le programme VMD nous a également aidés à visualiser les résultats du RMSD.

4. Criblage virtuel d'une collection de composés similaires :

Dans le but de rechercher de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de l'alpha glucosidase, le composé **MIG** du complexe **3L4W** a été utilisé comme structure de départ. La banque *PubChem* nous propose 327 similaires de l'inhibiteur **MIG** au format .sdf avec un taux de similarité allant jusqu'à 92%. Les similaires sont convertis au format .pdb par OpenBabel. Un criblage de ces similaires a été réalisé par docking moléculaire avec Surflex en vue de calculer leur affinité vis-à-vis de l'enzyme Alpha glucosidase.

5. Filtrage ADME/Tox

5.1 Simulation des propriétés physicochimiques

Il était indispensable de compléter notre travail par la prédiction de certains paramètres liés aux propriétés d'ADME afin de nous assurer que les meilleurs inhibiteurs trouvés dans notre travail possèdent des propriétés compatibles avec une application biologique. Dans cette perspective, nous avons utilisé le serveur SwissADME (<http://www.swissadme>).

5.1.1 Règle de 5 de Lipinski

C'est une règle qui permet d'évaluer les propriétés physico-chimiques d'une molécule afin de prédire sa biodisponibilité par voie orale. Cette règle énoncée par Lipinski en 1997 [39] est basée sur cinq critères :

- 1- Un poids moléculaire inférieur ou égal à 500 daltons.
- 2- Le nombre des groupements donneurs d'hydrogène ne dépassant pas 5.
3. Le nombre des groupements accepteurs d'hydrogène ne dépassant pas 10.
4. Un coefficient de partage octanol/eau (log P) entre -2 et 5.
5. Le nombre de liaisons à libre rotation inférieur à 15.

Pour être retenue, une molécule doit répondre à au moins 3 de ces critères.

5.1.2 Règle de veber :

Des compléments à la règle de Lipinski ont été apportés par la règle de Veber [40]. On a constaté pour un grand ensemble de données de composés chez le rat, que la surface polaire et le nombre de liaisons à libre rotation permettaient de mieux distinguer les composés actifs par voie orale de ceux qui ne le sont pas. Les composés qui répondent positivement aux deux critères ci-dessous présenteront une bonne biodisponibilité orale.

- 10 liaisons à libre rotation au maximum
- Surface polaire de la molécule (PSA) inférieure ou égale à 140 \AA^2

5.2 Simulation des propriétés pharmacocinétiques

Le serveur précédent nous a également servi à calculer les propriétés pharmacocinétiques de nos similaires, en l'occurrence la pénétration de la barrière hémato-encéphalique (BBB), l'absorption gastro-intestinale (GI), la perméabilité cellulaire et l'inhibition des différents cytochromes P450.

5.3 Simulation de la toxicité potentielle

La toxicité potentielle de nos inhibiteurs a été évaluée à l'aide du serveur PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/toxicity>). Ce dernier nous a permis de simuler, à partir de la structure 3D d'un inhibiteur, la toxicité potentielle des inhibiteurs proposés selon plusieurs tests à savoir : le test d'Ames (évaluer le pouvoir mutagène), le test d'inhibition de la croissance des algues (Algal Growth Inhibition), le test d'immobilisation par *Daphnia magna Straus*, (évaluer la toxicité potentielle aigue), le test de toxicité aigue sur les poissons (*Oryziaslatipes* et *Pimephalespromelas*), le test de cancérogénicité sur les souris et les rats ainsi que le test de l'inhibition du gène ether-a-go-go humain (hERG).

CHAPITRE 2

RESULTATS ET DISCUSSION

1. La fiabilité du programme Surfex :

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de l'alpha-glucosidase par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme Surfex. Pour cela, nous avons fait appel au test de RMSD et l'analyse visuelle.

1.1 Test RMSD

L'efficacité d'un programme à prédire le positionnement exact d'un ligand dans le site actif est évalué par la déviation quadratique moyenne ou RMSD de la position du ligand simulée par le programme Surfex par rapport à celle déterminée expérimentalement qu'on retrouve dans la PDB. La prédiction est jugée correcte lorsque la valeur du RMSD obtenue est $\leq 2\text{\AA}$ [41]. Ce test a été réalisé sur 180 complexes protéine-ligand choisis arbitrairement à partir de la PDB. Après avoir séparé la protéine de son ligand, les 2 fichiers sont enregistrés séparément afin de reconstituer de nouveau le complexe par docking moléculaire et de calculer le RMSD entre la meilleure conformation du ligand générée par Surfex (finale 0) et la conformation expérimentale de référence issue de la PDB. Les résultats des 180 complexes sont représentés dans l'Annexe 1.

La figure suivante (figure N° 10) présente les résultats du test RMSD donnés en pourcentage à deux intervalles ($\leq 2\text{\AA}$ et $> 2\text{\AA}$).

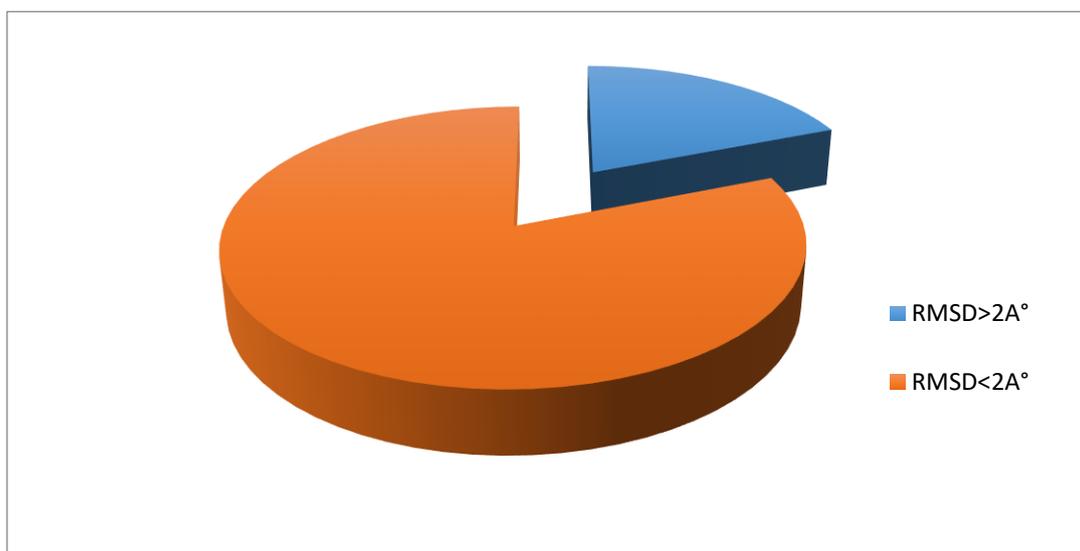
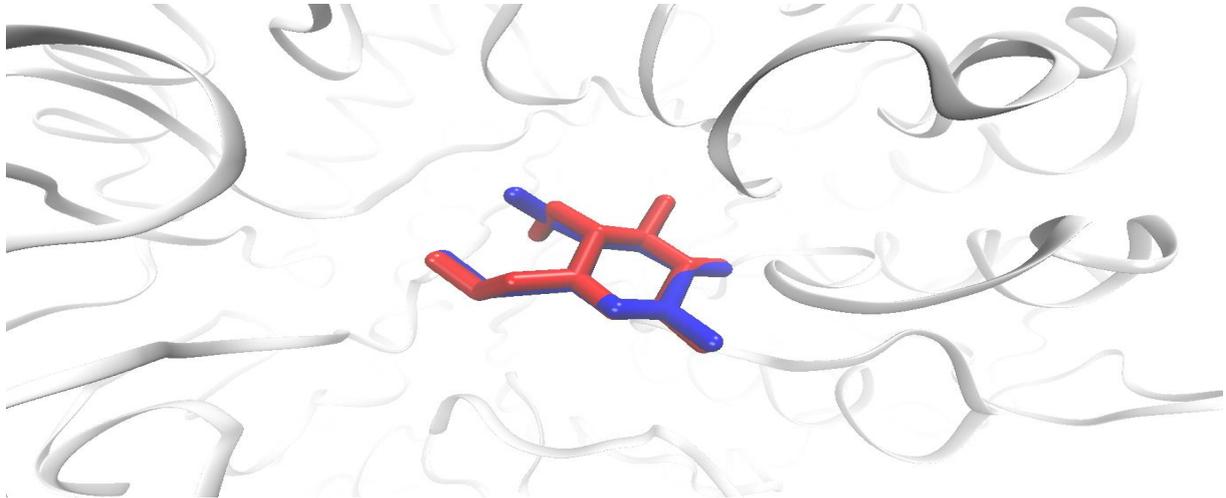


Figure N° 10 : Résultats en % des RMSD obtenus par Surfex

Les résultats du graphe montrent que 80% des valeurs RMSD sont $\leq 2\text{\AA}$ alors que seulement 20% sont $> 2\text{\AA}$. La reproduction des données expérimentales dans de telles proportions, montre que Surfex est fiable et ce conformément aux travaux de TENIOU. S (2012) et CHIKHI. A et BENSEGUENIA (2008) [42] qui montrent que les pourcentages RMSD $\leq 2\text{\AA}$ sont respectivement de 85.8% et 63%.

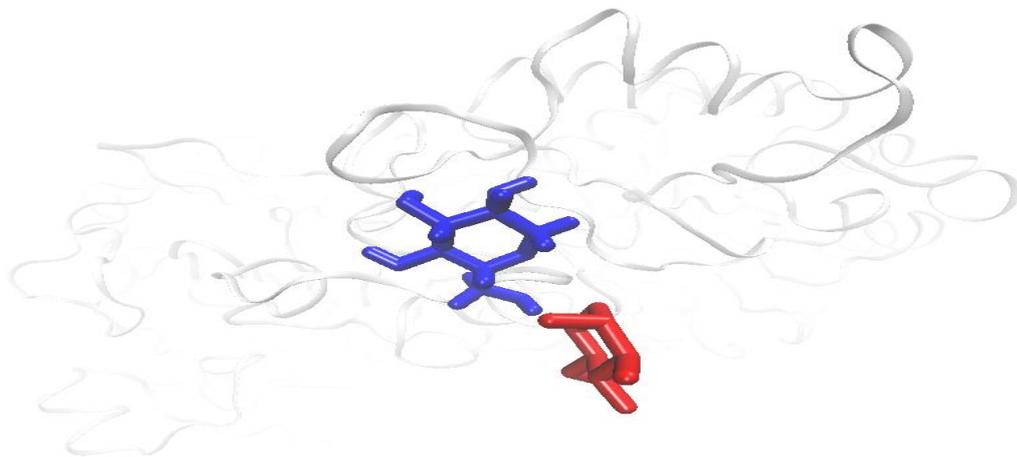
1.2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape essentielle permettant une meilleure appréciation des résultats de RMSD obtenus avec Surfex. Pour cela nous avons choisi arbitrairement 2 complexes de la PDB dont l'un avec une bonne valeur du RMSD $< 2 \text{ \AA}$ (Figure N°11) et l'autre avec un RMSD nettement supérieur à 2 \AA (Figure N°12).



(3L4W RMSD = 0.468 Å)

Figure N°11 : Superposition de la géométrie du ligand MIG du complexe 3L4W obtenu par rayon-X (colorée en rouge) et celle calculée par docking moléculaire avec Surfex (colorée en bleu).



5NN3 (RMSD = 5.154 Å)

Figure N°12 : Superposition de la géométrie du ligand CSO du complexe 5NN3 obtenu par rayon-X (colorée en rouge) et celle calculée par docking moléculaire avec Surfex (colorée en bleu).

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.468Å, on obtient une bonne superposition de solution du docking avec les coordonnées de la structure observée expérimentalement. De ce fait la superposition est presque parfaite (figure N°11). Dans le deuxième cas, avec un RMSD de 5.154Å, il n'existe aucune superposition. Autrement dit, le ligand arrimé est éloigné du ligand Co-cristallisé (figure N° 12).

1.3 Conclusion :

Le test RMSD et l'analyse visuelle apportent la preuve de la haute performance du programme Surflex. Il s'agit d'un outil suffisamment fiable qui peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs pour étudier les mécanismes d'inhibition de l'alpha-glucosidase.

2- Etudes des interactions alpha-glucosidase-miglitol

Le **Miglitol** (également connu sous la marque *Diastabol*) est un antidiabétique oral qui agit en diminuant l'absorption intestinale des glucides. Il inhibe fortement l'alpha-glucosidases avec un K_i égale à 1 uM [43]. La structure 3D de ce composé au sein du site actif de l'alpha-glucosidases est actuellement disponible dans la PDB sous le code **3L4W**. La reconstruction de ce complexe par docking moléculaire avec surflex confirme ces données expérimentales en générant un score d'affinité de 2.44. L'analyse visuelle (figure13) montre que le miglitol bloque le site actif de l'alpha-glucosidases en formant plusieurs interactions hydrophobiques avec les résidus Meth444, Trp441, Trp539, Tyr299, Ile328, Ile364 et Trp406. Cependant, aucune liaison hydrogène n'a été constatée lors de la formation de ce complexe.

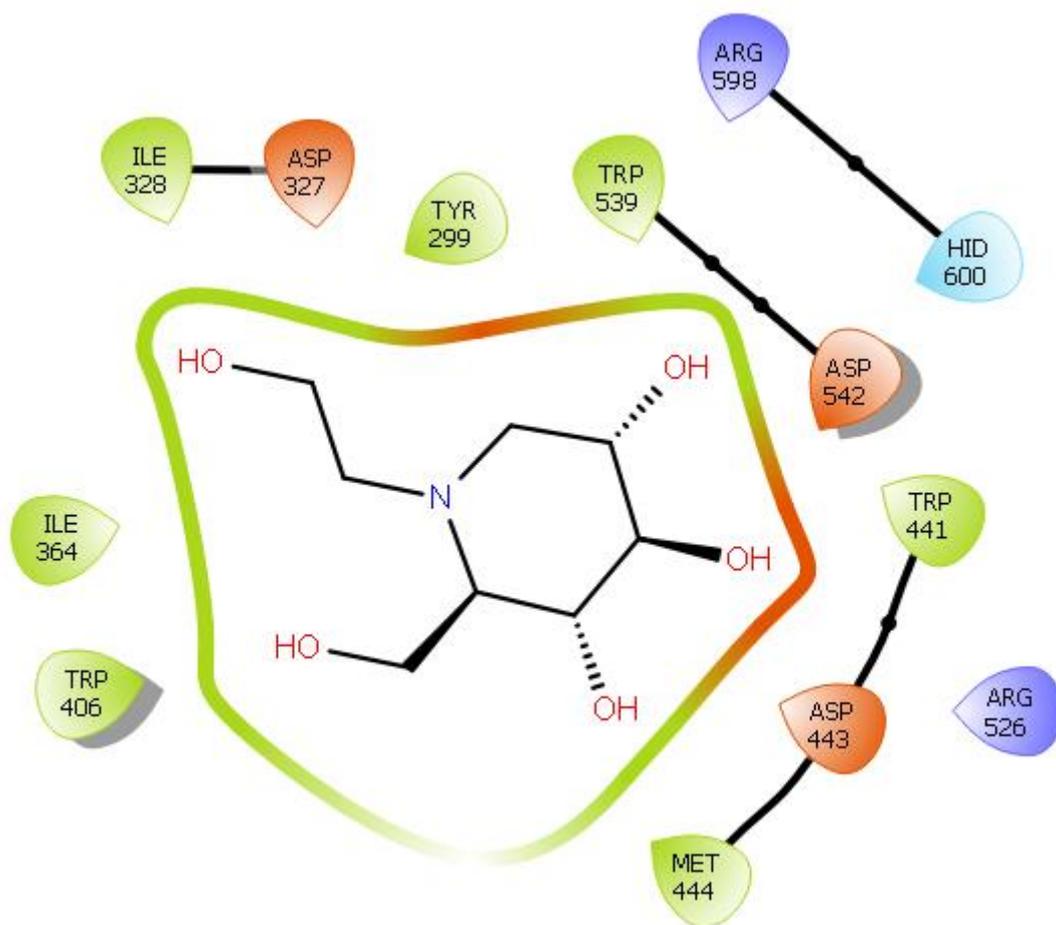


FIGURE N° 13 Représentation de l'interaction alpha-glucosidase-miglitol

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosidase

Dans le but de développer de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de l'alpha-glucosidase, nous avons utilisé comme structure de départ le Miglitol. La banque de données *PubChem* nous propose 327 similaires de ce composé, avec un taux de similarité allant jusqu'à 92%. Dans notre travail, nous avons réalisé le docking moléculaire de ces similaires en évaluant leur affinité envers l'enzyme à l'aide du programme Surflex. Les numéros d'accèsion, noms et scores d'affinités de ces composés sont représentés dans le tableau 3. A l'issu de ce criblage, il ressort que 191 composés présentent un score supérieur au composé de départ dont l'affinité est égale à 2.44.

Tableau N° 3 : Numéro d'accèsion et score de docking des 10 meilleurs composés similaires envers l'alpha-glucosidase classés par ordre décroissant.

N° d'accèsion	N° de composé	score
CID_67342595	S142	8.33
CID_57286281	S124	7.86
CID_3489215	S22	7.85
CID_59345099	S131	7.62
CID_89119128	S191	7.37
CID_59795861	S134	7.09
CID_10443493	S40	6.91
CID_12766473	S48	6.91
CID_501395	S19	6.85
CID_12766486	S49	6.78

Parmi ces similaires, les composés **S142** et **S124** ont attiré notre attention car présentant des valeurs d'affinité nettement supérieures à celle de l'inhibiteur de départ (tableau N°2).

➤ **Composé S142**

Avec un score d'affinité de 8.33, le composé **S142** se présente comme le meilleur inhibiteur de l'alpha-glucosidase obtenu dans ce travail. L'analyse visuelle montre que le composé **S142** inhibe l'enzyme en formant 4 liaisons hydrogènes. Ces liaisons sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Asp443, Asp327, Asp542 et Asp203 respectivement. De plus, plusieurs interactions hydrophobiques participent à la stabilité du complexe alpha-glucosidase-S142 faisant intervenir les résidus Ile364, Trp406, Meth444, Tyr299, Ile328, Trp441, Trp539, Phe575 et Phe450.

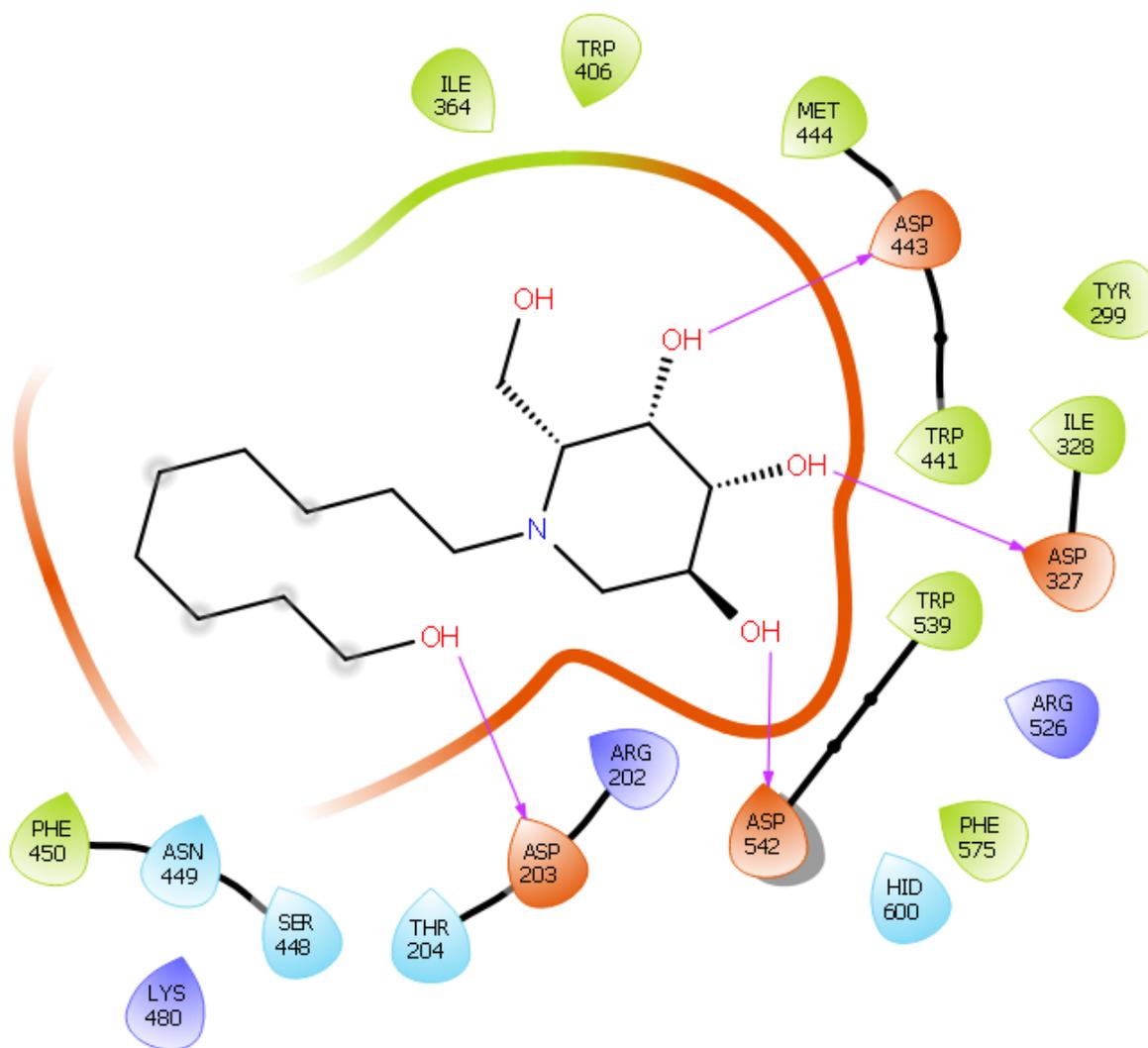


Figure N°14 Représentation de l'interaction alpha-glucosidase-S142

➤ **Composé S124**

Le deuxième meilleur inhibiteur obtenu dans ce travail, le composé **S124**, bloque le site actif de l'alpha-glucosidase en y engageant 5 liaisons hydrogènes. La première fait intervenir le résidu Asp443, les deux suivantes sont formées avec l'Asp327 et les deux dernières avec Asp542. Le complexe alpha-glucosidase-S124 est également stabilisé grâce à de nombreuses interactions hydrophobiques formées entre l'inhibiteur et les résidus Ile364, Ile328, Trp441, Tyr299, Trp539, Phe575, Meth444 et Trp406.

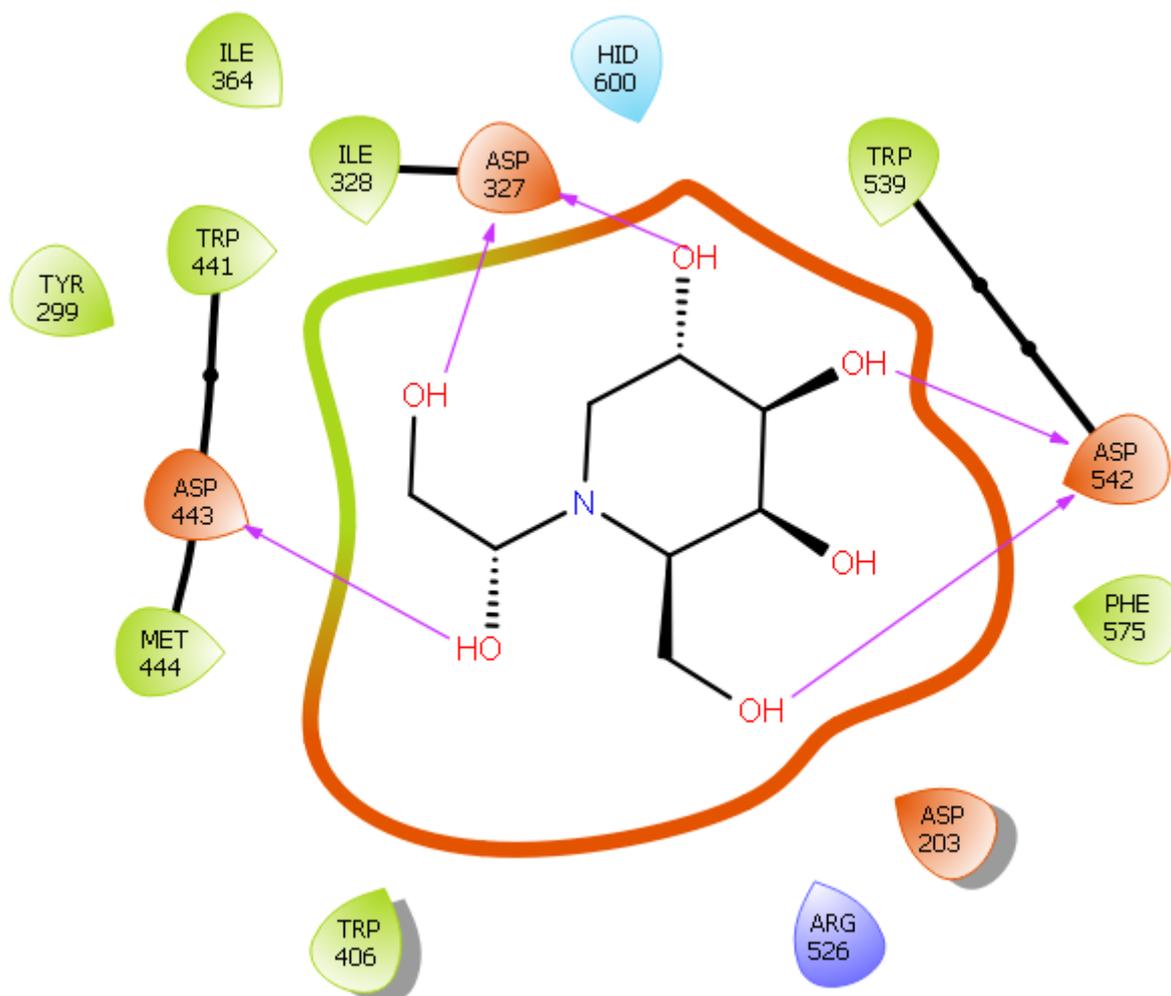


Figure N° 15 : Représentation de l'interaction alpha-glucosidase-S124

4. Prédiction des paramètres ADMET

4.1 Propriétés physicochimiques

À l'aide du serveur SwissADME, nous avons pu prédire les propriétés physicochimiques des deux meilleurs similaires inhibant la cible. Le tableau N°4 montre que ces deux composés répondent positivement aux règles de Lipinski et de Veber. Par conséquent, ces composés peuvent être administrés par voie orale sans poser des problèmes. De même, les composés **S142** et **S124** se sont avérés être solubles dans l'eau ce qui nous amène à conclure qu'ils peuvent se dissoudre dans les milieux aqueux tel que le sang afin qu'ils puissent parvenir jusqu'à leur lieu d'action. Enfin, avec des valeurs de 3.97 et 3.48, les composés **S142** et **S124** semblent être faciles à synthétiser chimiquement. Ce critère est important avant de proposer un composé comme nouvel inhibiteur d'une cible donnée car les étapes suivantes de l'optimisation consistent à apporter des modifications structurales.

Tableau N°4 Propriétés physicochimiques des similaires S142 et S124

Propriétés	Miglitol	S142	S124
Formule	C8H17NO5	C15H31NO5	C8H17NO6
PM (g/mol) Poids moléculaire	207.22 g/mol	305.41 g/mol	223.22 g/mol
nLF nombre de liaisons flexibles	3	10	3
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	6	6	7
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	5	5	6
Log P	-1.94	0.40	-2.56
TPSA Å ²	104.39 Å ²	104.39 Å ²	124.62 Å ²
Règle de Lipinski	Conforme	Conforme	Conforme
Règle de Veber	Conforme	Conforme	Conforme
Solubilité dans l'eau	Soluble	Soluble	Soluble
Accessibilité à la synthèse	3.17	3.97	3.48

4.2 Propriétés pharmacocinétiques

Plusieurs propriétés pharmacocinétiques ont été prédites à l'aide du serveur SuisADME. En effet, les résultats obtenus (tableau N°4) montrent que le composé **S142** semble avoir une perméabilité gastro-intestinale plus élevée par rapport à celle du composé **S124** ainsi que le standard (miglitol). Donc, il peut traverser facilement le tractus gastro-intestinal à travers la paroi de l'intestin pour arriver jusqu'au sang. De plus, ces composés ont la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique. Enfin, Les composés **S142**, **S124** ainsi que le miglitol n'ont aucun effet inhibiteur sur les différents iso-formes de Cytochrome P450. L'inhibition de ces enzymes est une source importante d'interactions médicamenteuses indésirables étant donné que les changements dans l'activité enzymatique CYP peuvent affecter le métabolisme des médicaments.

Tableau N°5 Propriétés pharmacocinétiques des similaires S142 et S124

propriétés	Miglitol	S142	S124
GI absorption	Faible	Elevée	Faible
BBB perméabilité	Faible	Faible	Faible
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

5. Prédiction de la toxicité potentielle

Il était indispensable de conforter notre étude en vérifiant *in silico* la toxicité potentielle des composés **S142** et **S124**. Pour cela, nous avons utilisé le serveur PreADMET. Les résultats obtenus (Tableau N°6) montrent que ces deux composés possèdent un pouvoir mutagène potentiel ainsi qu'un potentiel effet Cancérogène sur les rats. Par contre, ces deux composés n'ont aucun effet inhibiteur quant au gène hERG. L'inhibition de ce dernier cause principalement des problèmes cardiaques. Les faibles valeurs obtenues concernant les tests de toxicité aigue sur les algues (*algae_at*), larves (*daphnia_at*) ou poissons (*medaka_at* et *minnow_at*) montrent que les composés **S142** et **S124** présentent un faible potentiel de toxicité aigue par rapport à celui dumiglitol.

Tableau N°6 : Toxicité potentielle des composés S142 et S124

paramètre	Miglitol	S142	S124
Test d'Ames	Mutagène	Mutagène	Mutagène
Cancérogénicité pour les souris	Négative	Positive	Positive
Cancérogénicité pour les rats	Négative	Négative	Négative
hERG_inhibition	Faible risque	Faible risque	Faible risque
algae_at	0.213023	0.026396	0.140872
daphnia_at	41.7625	1.1583	16.2126
medaka_at	1434.94	1.59022	227.054
minnow_at	323.064	1.85046	74.4521

Conclusion et perspectives :

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

Au préalable, nous avons évalué la performance du programme Surflex par deux tests : le premier consiste à calculer le RMSD (*Root Mean Square Déviation*) entre la meilleure conformation du ligand simulé par le Surflex et celle obtenue par cristallographie au niveau de la PDB. 180 complexes ont été téléchargés à partir de la PDB et testés. Le deuxième critère consiste à analyser visuellement la superposition de la pose du ligand simulée et celle de référence en comparaison avec les valeurs de RMSD obtenues dans chaque cas. Les résultats obtenus ont montré que 80% des valeurs sont inférieures à 2Å, ainsi qu'une bonne superposition entre la géométrie du ligand calculée par Surflex et celle obtenue expérimentalement. Ces résultats apportent la preuve de la haute performance du programme Surflex. Il s'agit d'un outil suffisamment fiable qui peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs pour étudier les mécanismes d'inhibition de l'alpha-glucosidase par divers inhibiteurs.

Dans un deuxième temps, nous avons tenté d'élucider les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de l'alpha-glucosidase par le Miglitol. En effet, la reconstruction du complexe 3L4W par docking moléculaire avec Surflex a montré que le Miglitol occupe la cavité catalytique de l'alpha-glucosidase en y engageant plusieurs interactions hydrophobiques.

Dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'alpha-glucosidase en prenant comme structure de départ le Miglitol. Dans cette perspective, une collection de 327 composés similaires issus de la PubChem a fait l'objet d'un criblage virtuel envers le site actif d'intérêt. Les résultats obtenus révèlent les composés S142 et S124 comme meilleurs inhibiteurs potentiels de l'alpha-glucosidase avec des scores d'affinités de 8.33 et 7.86 respectivement. Ces scores sont nettement supérieurs à celui obtenu avec le miglitol soit 2.44. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés a montré la présence de plusieurs liaisons hydrogènes entre les inhibiteurs et le site actif de l'enzyme.

La dernière étape de notre travail consistait à vérifier certains critères physicochimiques et pharmacocinétiques des composés **S142** et **S124** régissant leurs propriétés ADME grâce au serveur SwissADME. De même, nous avons simulé leur toxicité potentielle à l'aide du serveur PreADMET. Les résultats obtenus montrent que ces composés possèdent des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques compatibles avec une application biologique. Cependant, les problèmes notés quant à leur toxicité potentielle seront très utiles lors de l'optimisation de ces composés avant de devenir des candidats-médicament.

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