

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Bio-informatique*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation *in silico* de l'effet inhibiteur de l'alpha amylase sur les biomolécules du sapin d'Algérie : potentiel traitement pour le diabète

Présenté par : RAIS Chaïma

Le 17/07/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : BELLIL Ines (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Co-encadreur : KRID Adel (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : GHERBOUDJ Amira (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : BENCHIHEUB Meriem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2021 - 2022

Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu qui nous a donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce travail.

*Je tiens avant tout à exprimer ma reconnaissance à Madame **BELLIL Ines** (MCA- UFM Constantine 1) pour avoir accepté de m'encadrer dans cette étude. Je la remercie pour son implication, et son soutien tout au long de ce travail.*

*Merci à Mr **KRID. Adel**, mon Co-encadreur pour son accueil chaleureux, son aide et ses conseils.*

*Merci aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail, Présidente du jury Madame **GHERBOUDJ Amira** (MCA- UFM Constantine 1), et l'examinatrice Madame **BENCHIHEUB Meriem** (MCB- UFM Constantine 1).*

Un merci spécial à toute ma famille et amis pour leurs encouragements et leur soutien continus.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé à rédiger ce mémoire, de près ou de loin.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Madame KASAH LAOUAR, Madame OUNIS, Madame DALICHAOUCH, Mr. M. BELAOUED. Pour ses aides, ses encouragements, soutien, Sollicitude et Attention Mr MEDJROUBI aussi pour ses efforts et ses ambitions à la fois qui m'ont donné le courage de continuer.

La plus belle chose du monde ma chère mère Rachida pour ses efforts, son amour et ses encouragements constants, pour son soutien et tous ses sacrifices.

Mon père Abdelhafid, ma fierté le bras droit et mon héros pour toute ma vie

Mes frères Mohamed Imad Eddine, sa femme et ses fils surtout mon petit prince Mohamed Amir, Achraf Eddine, Nadjoua et la petite Nazli, et Sofiane de m'avoir aidé, à réaliser cet accomplissement.

Mon mari, qui m'a donné l'énergie et surtout le courage tout au long mon destin.

Mes chères amies Rania, Chaïma, Soumia. Pour son soutien, pour me remonter le moral et pour me soutenir depuis que je les connais et pour leur amour.

Tous mes amis, spécialement Mr ALIOUANE Salah Eddine, pour son soutien et encouragement.

Chaïma

Résumé

Abies numidica est l'une des plantes médicinales que l'on utilise dans le traitement de diverses maladies dans le monde entier, parmi les activités métaboliques : l'activité antidiabétique.

Les objectifs de cette étude sont l'appréciation de l'activité antidiabétique de la plante *Abies numidica*, en étudiant l'effet inhibiteur de l'enzyme alpha amylase par les biomolécules du sapin d'Algérie extraites des feuilles dans l'acétate d'éthyle en l'occurrence la quercétine, la rutine, l'hyperoside et l'astragaline, ainsi que l'utilisation des outils bio-informatiques afin d'atteindre des buts biologiques : traitement du diabète type II.

Les résultats de cette étude ont démontré que les inhibiteurs testés ont une importante efficacité dans l'activité antidiabétique. La rutine enregistre le plus haut taux de compatibilité. De plus le docking moléculaire a montré que ce ligand a un potentiel, comparé à d'autres espèces d'*Abies* cités dans la littérature. Donc on peut dire que la rutine est la molécule efficace afin de traiter le diabète de type II.

En perspective les méthodes de découverte de médicaments *in silico* et le développement de la réorientation des médicaments antidiabétiques sont un facteur important dans la découverte de nouveaux médicaments, il existe diverses approches informatiques qui peuvent aider à découvrir de nouvelles opportunités de médicaments antidiabétiques.

Mots clés : Diabète type 2, alpha-amylase, docking moléculaire, effet inhibiteur de l'alpha-amylase, *Abies numidica*, les biomolécules.

Abstract

Abies numidica is one of the medicinal plants that are used in the treatment of various diseases all over the world, among metabolic activities: antidiabetic activity.

The objectives of this study are the appreciation of the antidiabetic activity of the *Abies numidica* plant, by studying the inhibitory effect of the enzyme alpha amylase by the biomolecules of the Algerian fir extracted from the leaves in ethyl acetate. In this case quercetin, rutin, hyperoside and astragalin, as well as the use of bioinformatics tools to achieve biological goals: treatment of type II diabetes.

The results of this study demonstrated that the inhibitors tested have significant efficacy in the antidiabetic activity. Rutin record the highest rate of compatibility. In addition, molecular docking has shown that this ligand has potential, compared to other species of *Abies* cited in the literature. So we can say that rutin is the effective molecule to treat type II diabetes.

In perspective in silico drug discovery methods and the development of antidiabetic drug redirection is an important factor in new drug discovery, there are various computational approaches that can help discover new antidiabetic drug opportunities.

Keywords: Type 2 diabetes, alpha-amylase, molecular docking, alpha-amylase inhibitory effect, *Abies numidica*, biomolecules.

المخلص

Abies numidica هو أحد النباتات الطبية التي تستخدم في علاج الأمراض المختلفة في جميع أنحاء العالم ، من بين الأنشطة الأيضية : النشاط المضاد لمرض السكري.

أهداف هذه الدراسة هي تقدير النشاط المضاد لمرض السكري لنباتة *Abies numidica* ، من خلال دراسة التأثير التثبيطي لإنزيم alpha amylase بواسطة الجزيئات الحيوية للتوب الجزائرى المستخرج من الأوراق في ethyl acetate. في هذه الحالة: Quercetine ، Rutine ، Hyperoside ، Astragaline وكذلك استخدام أدوات المعلوماتية الحيوية لتحقيق أهداف بيولوجية: علاج مرض السكري من النوع الثاني.

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن للمثبطات المختبرة فعالية كبيرة في النشاط المضاد لمرض السكر. يسجل Rutine أعلى معدل توافق. بالإضافة إلى ذلك، أظهر الالتحام الجزيئي أن هذا الترابط لديه إمكانات، مقارنة بأنواع أخرى من *Abies* المذكورة في المؤرخات. لذلك يمكننا القول إن Rutine هو الجزيء الفعال لعلاج مرض السكري من النوع الثاني.

في منظور طرق اكتشاف الأدوية وتطوير إعادة توجيه الأدوية المضادة لمرض السكر باستعمال الإعلام الآلي هو عامل مهم في اكتشاف الأدوية الجديدة، هناك العديد من الأساليب الحسابية التي يمكن أن تساعد في اكتشاف فرص جديدة للأدوية المضادة لمرض السكري

الكلمات المفتاحية: السكري من النوع 2 ، ألفا أميليز ، الالتحام الجزيئي ، التأثير المثبط لألفا أميليز ، *Abies numidica* ،

biomolecule

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : *Abies numidica*

1. Découverte du sapin de numidie	3
2. Description botanique	4
3. Aire de répartition géographique	5
3.1. Aire naturelle	5
3.2. Aire artificielle et plantation	5
3.3. Exigences climatiques	6
3.4. Exigences édaphiques	7
4. Usage traditionnelle et travaux scientifiques réalisé sur <i>Abies numidica</i>	7
5. Intérêt médicinale	7

Chapitre 2 : α -amylase, Diabète et différentes approches de traitement

1. Définition de l'amylase	8
2. L'alpha amylase et le diabète	8
2.1. Différentes approches de traitements du diabète	8
2.2. Les cibles possibles pour les médicaments antidiabétiques	10
2.3. L'alpha amylase comme une cible moléculaire antidiabétique	12
a. Les polyphénols	12
b. Les potentiels polyphénols des plantes avec régulations de l' α -glucosidase et l' α -amylase	12
2.4. Le rôle des inhibiteurs de l' α -amylase dans le traitement du diabète sucré	14
a. Les flavonoïdes	15
b. La lutéolines	15
c. L'extrait de pharbitis nil (SOA)	15

Chapitre 3 : Le docking moléculaire

1. Définition du docking moléculaire ou amarrage moléculaire	16
2. Le docking moléculaire in silico	17
3. Le but du docking moléculaire	17
4. Docking avec AutoDock	17
a. AutoDock	18
b. Principe de l'AutoDock	18
5. Les applications du docking	19
6. La procédure du docking	19

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I. 1. Les molécules biologiques	21
I. 2. Hard ware utilisé	22
I.3. Programmes (Soft ware)	22
I.3.1. Banques de données	22
I.3.1.1. RCSB, data bank PDB	22
I.3.1.2. Pubchem	22

II. Résultats et discussions

1. Interactions α -amylase-ligands	25
1.1. Interaction α -amylase-QUERCETINE	25
1.2. Interaction α -amylase-HYPEROSINE	26
1.3. Interaction α -amylase-ASTRAGALIN	27
1.4. Interaction α -amylase-ROUTINE	29

Conclusion	31
-------------------	-----------

Référence bibliographique	32
----------------------------------	-----------

Liste des abréviations

AGH : alpha glucosidase

BSC : barrière sang cerveau

DT2 : diabète type 2

PBD : la banque de données sur les protéines

RMSD : déviation de la racine de la moyenne des carrés

SBDD : science des systèmes de la dynamique biologique

YGM : extrait d'Ipomoea batata

3D : trois dimensionnelle

2D : deux dimensionnelle

Liste des figures

Figure 1 : la plante <i>A. numidica</i> à seraidi	3
Figure 2 : les ailles d' <i>Abies numidica</i>	4
Figure 3 : a. Le sapin de Numidie ; b. Rameau de sapin de Numidie	5
Figure 4 : Une carte montrant le site sur lequel les feuilles d' <i>Abies numidica</i> ont été Collectées.	6
Figure 5 : structure de l'alpha amylase	8
Figure 6 : L'effet des inhibiteurs de l'alpha-glucosidase sur le diabète	9
Figure 7 : Mécanisme d'action des Inhibiteurs d' α -amylase	14
Figure 8 : Procédures de docking avec AutoDock	18
Figure 9 : Illustration de docking/scoring	20
Figure 10 : Superposition du ligand Acarbose co-cristallise (orange) et théorique (bleu)	24
Figure 11 : superposition des ligands dans le site actif de l α -amylase.	24
Figure 12 : représentation 2D et 3D des interactions entre la Quercétine et l α -AMYLASE.	25
Figure 13 : représentation 2D et 3D des interactions de l'hyperoside et l α -AMYLASE.	27
Figure 14 : comparaison des configurations et orientation de l'Astragale (orange) et hyperoside (violet).	28
Figure 15 : Représentation 2D et 3D des interactions de l'Astragale et l α -AMYLASE.	28
Figure 16 : Superposition des deux ligands Quercétine (Rouge) et la Rutine (Bleu)	29
Figure 17 : représentation 2D et 3D des interactions de la Rutine et l α -AMYLASE	30
Figure 18 : représentation 3D des interactions de la Rutine et l α -AMYLASE.	30

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les Cibles moléculaires d'un médicament anti –hyperglycémiant	10
Tableau 2 : Identification et quantification des polyphénols présents dans l'extrait acétate D'éthyle	21
Tableau 3 : Présent le score du docking moléculaire sur la α -amylase code pdb 1B2Y	23
Tableau 4 : Acides aminés impliqués dans les interactions hydrophobes et liaisons hydrogène Dans chaque complexe.	26

Introduction

Introduction

Introduction

Selon l’OMS (organisation mondiale de la santé), l’estimation mondiale de l’omniprésence mondiale pour le diabète en 2019 était de 463 millions et il est prévu d’une augmentation de 700 millions en 2045. Le diabète sucré est une maladie consistant en une hyperglycémie chronique, qui résulte de dérèglement dans la sécrétion de l’insuline, d’une action anormale d’insuline ou parfois les deux.

Les patients non traités peuvent souffrir de stupeur, d’engourdissement, de coma et même la mort à cause de l’acidocétose (*Kahanovitz et al., 2017 ; Kharroubi et Darwish, 2015*). Aujourd’hui il y a un grand nombre de plantes médicinales qui possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l’agriculture. Les plantes ont constitué donc la source majeure des médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires.

L’Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d’une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques. Parmi ces plantes médicinales, *Abies numidica* De Lannoy ou sapin d’Algérie. Cette plante est l’une des espèces forestières endémiques des monts des Babors et Tababors en Algérie, où elle constitue l’unique peuplement du pourtour méditerranéen. Ces dernières années, beaucoup d’attention a été accordée aux espèces du genre *Abies*, en raison de leurs diverses activités biologiques de leurs métabolites secondaires.

Dans ce contexte, l’objectif de ce travail est de définir l’effet biologique antidiabétique de 4 molécules en l’occurrence la quercétine, la rutine, l’hyperoside et l’astragaline identifiées et quantifiées par la technique de LC-MS/MS dans une fraction d’acétate d’éthyle extraite à partir des aiguilles de la plante forestière *Abies numidica*. Ce travail fait appel à la bio-informatique où l’étude *in silico* en utilisant l’amarrage « docking » de l’effet inhibiteur de l’alpha amylase par ces molécules extraites dans l’acétate d’éthyle à partir des feuilles du sapin d’Algérie. Cette étude rentre dans le cadre d’un bio-consulting et permettra sans doute un gain d’argent et de temps pour déterminer d’une manière ciblée l’effet potentiel d’un principe actif avant même d’aller extraire chaque molécule indépendamment et tester son effet antidiabétique *in vitro* et *in vivo* par la suite.

Introduction

Le travail est divisé en deux parties présentées comme suit : la première partie bibliographique concerne les informations relatives à notre thème, la deuxième partie de ce document est expérimentale présentant les méthodes choisies pour l'étude *in silico* ainsi que le matériel utilisé au cours de cette étude, suivie des résultats qui ont été obtenus. Une conclusion générale et des perspectives sont données.

Partie bibliographique

Partie bibliographique

Chapitre 1 : *Abies numidica*

1. Découverte du sapin de Numidie

C'est une espèce découverte en 1861 sur les montagnes des Babors par le capitaine de Guilbert. Les botanistes Letourneux et Cosson estiment que ce sapin est une variété des sapins espagnols, de ce fait il a été appelé *Abies pinsapo* baborensis.

En 1861, De Lannoy décrit pour la première fois ce sapin d'où l'appellation *A. numidica* De Lannoy, mais en 1866 Élie Abel Carrière de par sa publication l'appellation a été validée (**Barbey, 1934**).

Abies numidica est habituellement appelé : sapin de Kabylie, sapin d'Algérie, sapin de Numidie et sapin des Babors. Les dendrologues et les botanistes ont désigné ce sapin sous diverses appellations entre-autre : *A. numidica* De Lann, *A. pinsapo baborensis* Cosson, *A. numidica glauca* Hort, *Abies baborensis* Letourneux, *A. numidiensis* Alphand, *A. numidica aurea* Blaringhem, *Picea numidica* Gordon, *Pinus baborensis* Mac Nab, *Pinus pinsapo* Parlatore et *Pinus baborensis* Voss (**Barbey, 1934**).



Figure 1 : la plante *A. numidica* à seraidi

Partie bibliographique

2. Description botanique

La sapine numidienne *Abies numidica* (*A. numidica*) est un arbre de 25 m de hauteur, toujours vert, dont la structure pyramidale devient conique avec les années (Figure 1) (Tili et al., 2012).

C'est un conifère dense si très branché. Le tronc est droit, recouvert d'écorce rose pâle à gris orangé fendillée dans les âges plus anciens.



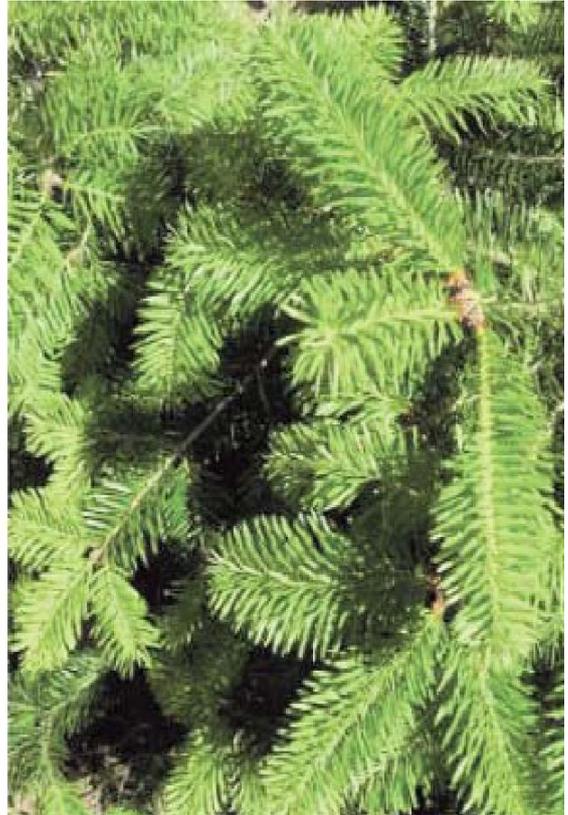
Figure 2 : les ailes d'*Abies numidica*

Les rameaux sont nombreux, dépourvus de poils, de couleur vert-brun lorsqu'ils sont jeunes, puis deviennent gris-brun ; Les aiguilles sont disposées autour des branches et plutôt vers le haut ; Elles sont parfois bleu-vert avec une tache triangulaire vert-gris au bout, sur la partie inférieure des aiguilles, on trouve deux bandes de stomates blanches ; Les aiguilles sont denses, courtes, longues d'un à deux centimètres et arrondies à l'apex.

Partie bibliographique



a. Le sapin de Numidie



b. Rameau de sapin de Numidie.

Figure 3 : a. Le sapin de Numidie ; b. Rameau de sapin de Numidie.

3. Aire de répartition géographique

3.1. Aire naturelle

Le sapin de Numidie (*Abies numidica* de Lannoy) est une propriété forestière algérienne, endémique des monts Babors où il couvre une superficie de 300 ha.

Au Tababort, on ne compte que quelques pieds rabougris et déformés par la neige et le vent mais d'après Barbey (1934), il aurait certainement été parsemé de sapins à une époque lointaine.

3.2. Aire artificielle et plantation

Abies numidica a été implanté en dehors de son aire naturelle en Algérie dans des zones telliennes, notamment dans les forêts de l'Est. Cette espèce peut donner apparemment des résultats forts intéressants en termes de production de semences, productivité etc.

En outre, des introductions ont été effectuées en France dans certains arboretums en 1861 (*ParDe, 1937 ; Callen, 1976*).

Partie bibliographique

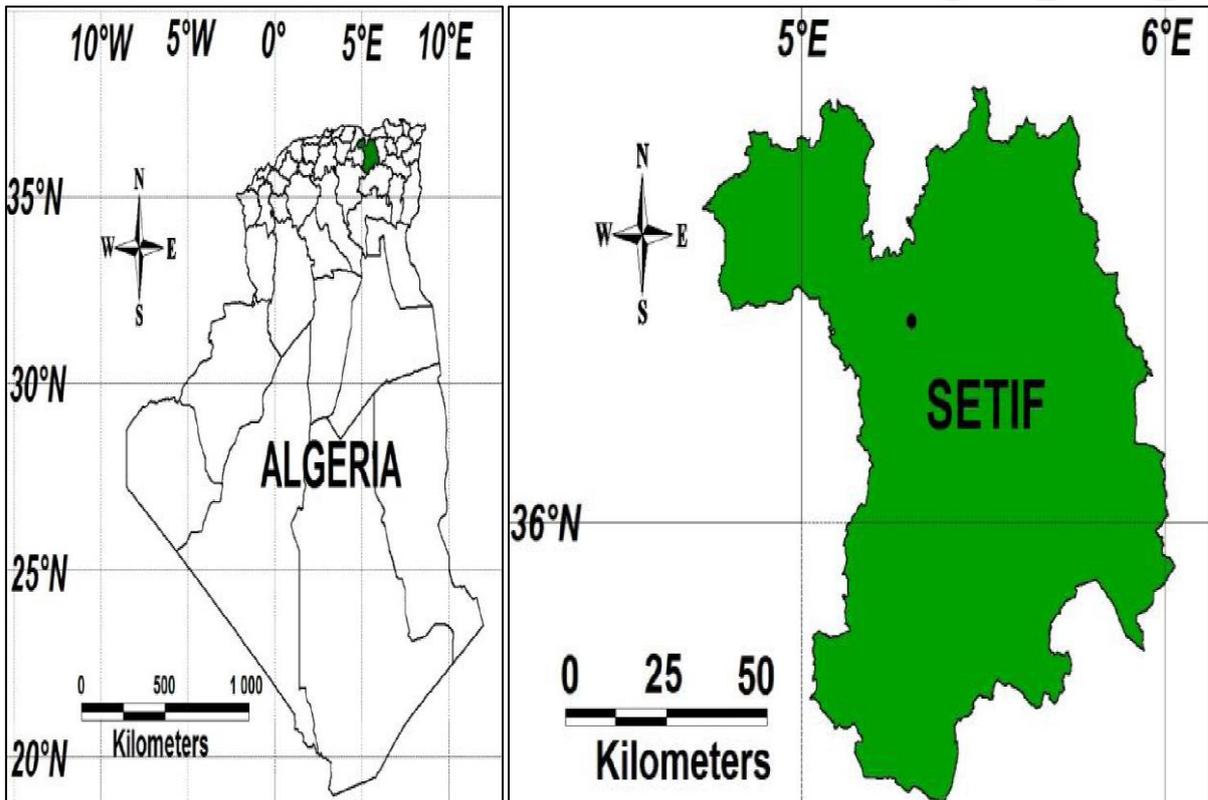


Figure 4 : Une carte montrant le site sur lequel les feuilles d'*Abies numidica* ont été collectées.

Dans la pépinière de Djebel Ouahch dans l'aire du Chêne liège, l'accroissement moyen annuel du sapin de numidie est de 5.28 m³/ha/an (*Hadjadj, 1986*). Dans la forêt de Seraidi à Annaba, cette espèce fructifie avec une régénération naturelle qui s'installe dans le temps.

3.3. Exigences climatiques

L'espèce demeure à l'étage bioclimatique humide avec des précipitations importantes entre 800 mm et 1500 mm. Les températures minimales oscillent entre (-2,2°C et 1,5°C) et les moyennes maximales entre (25,8°C et 29°C) (*Druckrey, 1998 ; Gherzouli et Djellouli, 2005*).

Précisément *Abies numidica* ; s'est bien adapté près des stations bien alimentées en eau mais résiste à la sécheresse. C'est une espèce intermédiaire entre : *A. nordmanniana*, *A. marocana*, *A. pinsapo*, *A. cilicica* et *A. concolore*, *cephalonica*. Aussenac (2002) Autrement précise, qu'À. Numidica et *A. cephalonica* ont une forte résistance à la sécheresse, ça leur permettrait de résister à la sécheresse liée aux changements climatiques et ne seraient pas menacées par un déplacement de leur aire naturelle.

Partie bibliographique

A. numidica comme *A. nordmanniana*, ont un bourgeonnement tardif et sont très peu sensibles aux gelées tardives de fin de printemps (*Druckrey, 1998*).

3.4. Exigences édaphiques

Le sapin de Numidie s'établissait sur les substrats calcaires-dolomitiques notamment sur les reliefs karstifiés, les sols sont généralement légers, profonds et bruns (*Lebtahi et Bouguedoura, 2000*).

4. Usage traditionnel et travaux scientifiques réalisés sur *Abies numidica*

On trouve la gomme de sapin dans la médecine traditionnelle, qui est l'un des remèdes essentiels de la médecine populaire, employée comme antiscorbutique, comme antiseptique dans les blessures et en cataplasmes sur les brûlures.

En revanche, cette plante est utilisée pour le traitement des voies respiratoires (*Ramdani et al., 2014*).

Également, des études récentes montrent que l'huile essentielle des aiguilles du sapin de Numidie possède un effet antimicrobien (*Tili et al., 2012*).

5. Intérêt médicinal

Pour pouvoir supporter la rudesse des hivers du grand Nord, les sapins ont dû développer des métabolites secondaires.

Et à partir des aiguilles de ces « poumons de la nature » que l'on tire des huiles essentielles réputées notamment pour traiter les infections des voies respiratoires.

On le Recommande en cas de bronchite, rhume, grippe ou d'angine, les huiles essentielles de Sapin possèdent des vertus expectorantes qui permettent de fluidifier les sécrétions bronchiques.

Leur propriété anti-infectieuse les rend aussi efficaces contre les sinusites et les rhinites et leur confère un fort pouvoir antiseptique aérien.

Parmi tous les conifères, l'huile essentielle de sapin est de loin la plus utilisée, en fin en aromathérapie elle est très appréciée (*Silvant, 2015*)

Partie bibliographique

Chapitre 2 : α -amylase, Diabète et différentes approches de traitement

1. Définition de l'amylase

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 (*DeGachons et Breslin, 2016*).

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 (*Morris et coll., 2011*).

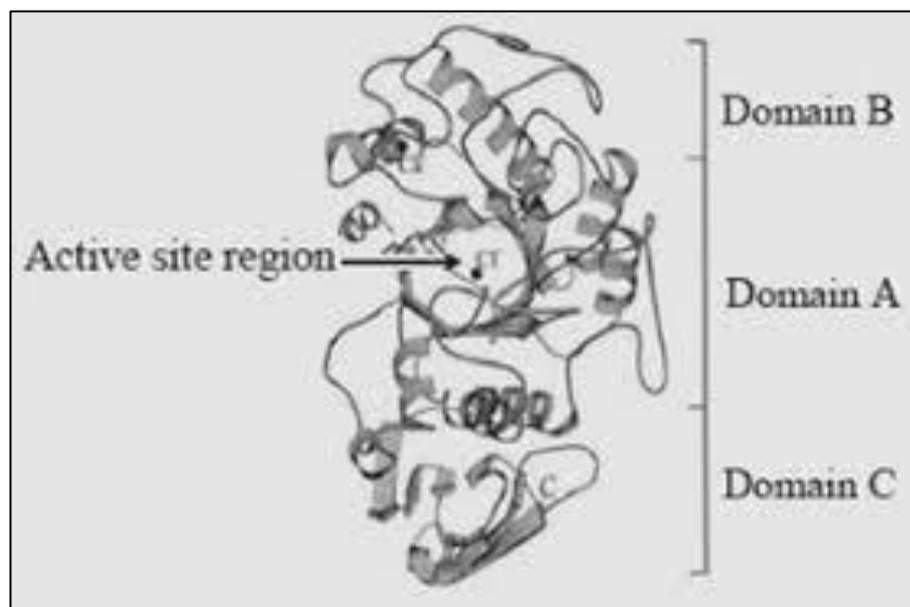


Figure 5 : structure de l'alpha amylase

2. L'alpha amylase et le diabète

2.1. Différentes approches de traitement du diabète

Les fruits sont considérés comme l'une des principales sources de métabolites secondaires bioactifs tels que :

Les caroténoïdes, les polyphénols, les glucosinolates, les stérols et les saponines, ainsi que les vitamines et les fibres (*Alothman et al., 2009*).

Il a été rapporté que la consommation des fruits et légumes entiers réduit le risque de développer du diabète et ses complications (*Du et al., 2017*).

Partie bibliographique

La consommation de fruits tropicaux a considérablement augmenté en raison de l'évolution des connaissances de la promotion de la santé et leurs propriétés nutritionnelles bénéfiques (Ayala et al. 2011).

Parmi les stratégies thérapeutiques pour la gestion du diabète : la réduction de l'hyperglycémie postprandiale en empêchant l'absorption du glucose par l'intermédiaire d'enzymes supprimant l'hydrolyse des glucides telles que la α -glucosidase et la α -amylase (Tundis et al., 2010).

L'inhibition de la α -amylase est pointée du doigt comme une cible thérapeutique efficace dans le traitement du diabète type II (DT2) et de l'obésité (Ryu et al., 2011 ; Sales et al., 2012).

L' α -amylase synthétique et les inhibiteurs (AAI) provoquent de nombreux effets secondaires critiques, tels que : des troubles hépatiques (Asgar, 2013).

Actuellement, de nombreux chercheurs essaient de trouver un AAI sûr à peu ou pas d'effets secondaires. Il a été prouvé systématiquement que les métabolites phénoliques ont un effet remarquable sur la réduction de l'hyperglycémie postprandiale et l'amélioration des complications associées au diabète (Serina et Castilho., 2021).

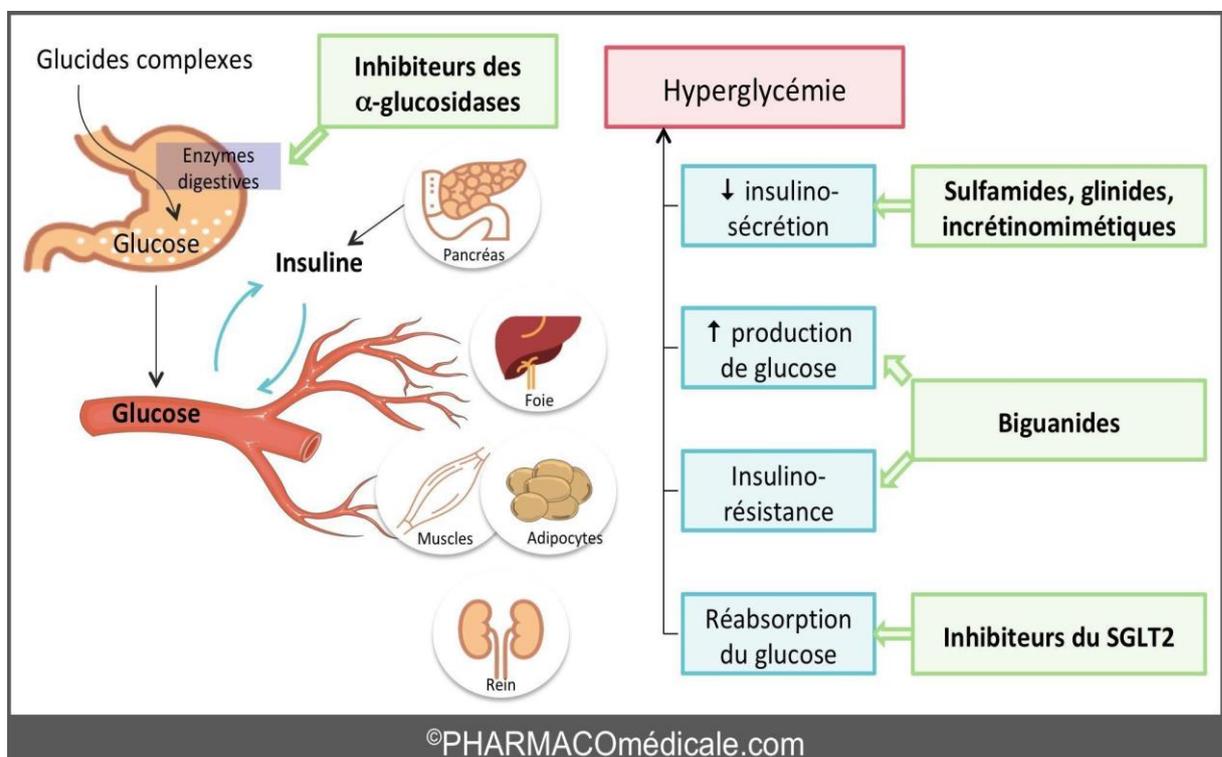


Figure 6 : L'effet des inhibiteurs de l'alpha-glucosidase sur le diabète.

Partie bibliographique

2.2. Les cibles possibles pour les médicaments antidiabétiques

Diverses cibles sont désignées par différents agents chimiques pour induire leur effet antidiabétique. Les dérivés synthétiques agissant sur diverses cibles de protéines nouvelles pour traiter le diabète.

Ils peuvent être classés en fonction de leur mode d'action comme des agents insulino-tropiques ou non insulino-tropiques (*Kneuer et al., 2006*).

Tableau 1 : Les Cibles moléculaires d'un médicament anti -hyperglycémiant

Classe	Mécanisme d'action	Nom générique	Effets secondaires
-Glucosidase et -inhibiteurs d'amylase	Retarde la digestion des glucides, prolonge le temps de digestion global et diminue le taux d'absorption du glucose	Acarbose, Miglitol	Légères douleurs à l'estomac, Gaz ou ballonnements, constipation, diarrhée
-Inhibiteurs du transporteur-2 (SGLT2) lié au glucose sodique	Inhibe SGLT2 dans les contours proximaux tubule (PCT) pour bloquer la réabsorption de glucose et faciliter sa sécrétion dans les urines	Dapagliflozine, Canagliflozine, Sitagliptine	Maux d'estomac, diarrhée, Migraine
-inhibiteurs du Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4)	Bloque l'activité DPP-4 dans le périphérique plasma, qui inhibe l'hormone incrétine glucagon-semblable peptide (GLP)-1 dans la circulation périphérique	Sulfonylurées, Thiazolidinediones, Biguanides	Faim, gain de poids, Réaction cutanée
- Proliférateur de peroxyosomes	Diminue le niveau de triglycérides lié à la	PPAR agoniste, RXR (récepteurs rétinoïdes)	Gain de poids, la rétention d'eau,

Partie bibliographique

récepteur activé- (PPRA γ)	régulation de l'homéostasie énergétique	X) agonistes (rexinides)	Risque accru des arrêts cardiaques
-Récepteur kinase de l'insuline (RIK)	Récepteur de l'insuline en tant que tétramère glycoprotéine et se lie à une cellule spécifique des récepteurs de surface dans ses cellules cibles entraînant des effets de l'insuline sur la phosphorylation	IRS (1, 2, 3, 4), SHC (Src domaine d'homologie 2 contenant)	Pas clair si sûr ou traitement efficace
-Récepteur d'insuline substrat (IRS)	Adaptateur cytoplasmique protéique qui fonctionne comme un signal crucial intermédiaires en aval de la surface cellulaire activée	IGF-1 (facteur 1 de croissance analogue à l'insuline), IGF-2, Insuline	Hypotension orthostatique, La rétention d'eau
-Transporteur du glucose 4 (GLUT4)	Exprimé dans le muscle et régule absorption de glucose stimulée par l'insuline dans le tissu musculaire	MET2 (activateur de myocytes facteur-2), MyoD protéine myogénique	Resté largement inconnue
- protéines couplé aux récepteurs G (PCRG)	Fonctionne avec les cellules _ β pour inhiber la sécrétion d'insuline et le nombre de cellules_ β RCPG liés au contrôle de la sécrétion d'insuline	Sécrétagogues de l'insuline, GLP-1 (semblable au glucagon peptide-1), GIP (Glucose-dépendant peptide insulino-trope)	Vomissements, Diarrhée, Problèmes gastro- intestinal

Partie bibliographique

2.3. L'alpha-amylase comme une cible moléculaire antidiabétique

a) Les Polyphénols

Les polyphénols sont des composés naturels ou peuvent être des extraits de plantes, ils ont un intérêt considérable dans la recherche ces temps-ci en raison de leurs implications dans le traitement de diverses maladies telles que le diabète sucré et les troubles de la santé humaine (*Pallavi et al., 2018*).

Les chercheurs ont étudié plusieurs familles de plantes par rapport à leurs capacités anti-hyperglycémiantes (*Liu et al., 2013*).

Récemment, on trouve que les aliments fonctionnels riches en polyphénols ont été proposés comme des suppléments et traitements nutraceutiques du Diabète Type 2 (*Grosso et al., 2018*).

De plus il a été prouvé que les composés polyphénoliques, contenant de multiples fractions phénoliques telles que : les lignanes, stilbènes, flavonoïdes, l'acide phénolique, acides hydroxycinnamiques, acides hydrobenzoïques et les polyphénols de l'huile d'olive (*American Diabetes Association, 2016*), peuvent entraîner une antioxydation et une anti-inflammation, et médier le métabolisme enzymatique afin de modérer et diminuer l'absorption du glucose dans l'intestin (*Aryaeian et al., 2017*).

Au cours de ces dernières années, pour diverses raisons ; les thérapies traditionnelles à base de plantes et d'herbes prescrites dans le système de médecine indigène (*Tundis et al., 2010*), avec différents mécanismes, ont été couramment utilisées (*Ahmad et al., 2008*).

b) Les potentiels polyphénols des plantes avec régulation de la α -glucosidase et alpha amylase

- **L'activité amyliques**

La α -glucosidase est située dans la bordure en brosse de l'intestin grêle et décompose l'amidon et les disaccharides. La α -amylase rompt les liaisons internes -1,4-glycosidiques de l'amidon en glucose et en maltose dans les organes digestifs. [*IDF, 2015*].

L'amylase se trouve dans les glandes salivaires tandis que l'amylase pancréatique est sécrétée par le pancréas dans l'intestin grêle (*Kerru et al., 2018*).

Cependant, le niveau de glucose dans le sang peut être déterminé par l' α -amylase via une digestion croissante de l'amidon et des disaccharides (*Bilal et al., 2018*).

Partie bibliographique

- **Traitement thérapeutique du Diabète Type 2**

L'approche thérapeutique du traitement du Diabète Type 2 consiste à retarder l'absorption du glucose par l'inhibition d'enzymes (la α -glucosidase et la α -amylase) dans les organes digestifs (*Saini, 2010 ; Zhang et al., 2017*).

Dont les mécanismes et le potentiel thérapeutique des polyphénols peuvent être utilisés pour des essais cliniques et la découverte de médicaments dans la gestion du Diabète Type2.

En principe on trouve les polyphénols dans les aliments à base de plantes, par exemple : les fruits, les légumes, les grains entiers, le café, le thé et les noix.

Ces polyphénols peuvent affecter la glycémie et le DT2 par différents mécanismes, tels que : la promotion de l'absorption du glucose dans les tissus, (la α -glucosidase et la α -amylase) assurent l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (*Guasch-Ferre et al., 2017*).

De plus, les composés polyphénoliques tels que : l'acide caféique, la curcumine, la cyanidine, la daidzéine, l'épicatéchine, l'éridyctiol, l'acide férulique, l'héspéridine, la narenginine, le pinorésinol, la quercétine, le resvératrol et l'acide syringique ont la capacité d'inhiber de manière significative l'enzyme α -glucosidase.

Notamment, la catéchine, l'héspéridine, le kaempférol, la silibinine et la pélargonidine apparaissent comme étant de puissants inhibiteurs de la α -amylase (*Aryaeian et al., 2017*).

Diverses familles de polyphénols ont des effets avantageux en matière d'inhibition (*El-Beshbishy et al., 2012*). Et il a été démontré que l'inhibiteur pharmacologique de la glucosidase, l'acarbose, et la catéchine 3-galltes a fortement inhibé à la fois l'activité α -glucosidase et α -amylase contre le DT2 (*Nazir et al., 2020*).

Il est aussi évident, que certaines plantes impliquent les mêmes effets inhibiteurs. En outre, il a été observé que les polyphénols ont un rôle important dans la diminution de la résistance à l'insuline in vitro et l'amélioration de l'homéostasie du glucose in vivo (*Ahmad et al., 2008*).

Les polyphénols tels que : les flavonoïdes, l'acide phénolique et le stilbène ont été impliqués dans le traitement de divers troubles humains (*Vinholes et al., 2017*), y compris le diabète (*Kabir et al., 2021*) Les polyphénols peuvent être une source importante d'inhibiteurs de la α -glucosidase et de la α -amylase pour traiter le DT2. La simulation de modèles a prédit des prétendants en relation avec la liaison des polyphénols à la structure tridimensionnelle (3D)des deux enzymes (*Mai et al., 2007*).

Partie bibliographique

L'inhibition du métabolisme des glucides au cours de la digestion des saccharides, via l'inhibition de la α -glucosidase et de la α -amylase, peut jouer un rôle majeur dans le traitement du DT2 associé à des études d'amarrage pour déterminer l'inhibition enzymatique basée sur l'énergie libre de liaison, vu que les interactions de liaison hydrogène sont lors de la liaison α -glucosidase et α -amylase (Ibrahim et al., 2018).

2.4. Le Rôle des inhibiteurs de l' α -amylase dans le traitement du diabète sucré

Les molécules telles que l'amidon sont grandes c'est pourquoi elles ne peuvent franchir la barrière sang-cerveau. Mais par contre, le glucose est nécessaire pour la fonction cérébrale appropriée. Par conséquent, L'enzyme α -amylase convertit la complexe grande molécule d'amidon en petits fragments de sucre afin de les rendre faciles à traverser le BSC. Lorsque l'excès d'amidon commence à se transformer en fragments de sucre plus simples, il augmente le taux de glucose sanguin. Les niveaux de glucose postprandial sont également augmentés par l' α -amylase.

C'est la raison pour laquelle les inhibiteurs de l' α -amylase sont utilisés, et leur mécanisme est donné à la figure 7.

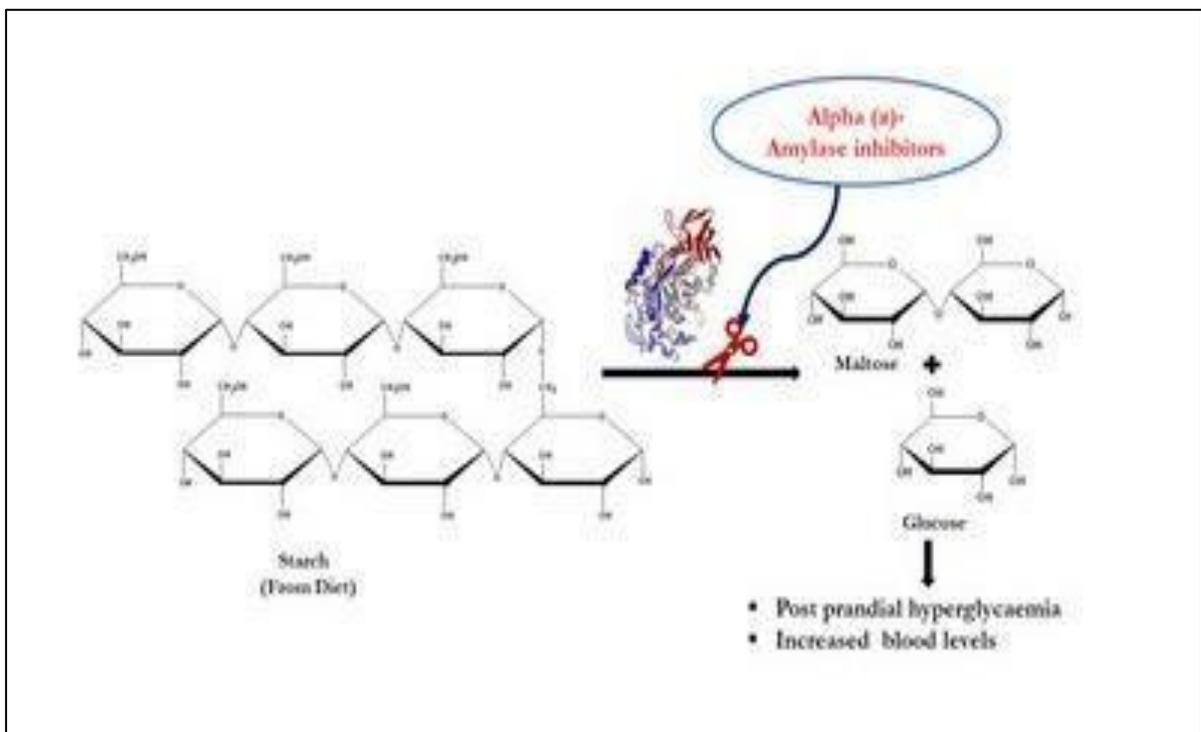


Figure 7 : Mécanisme d'action des Inhibiteurs d' α -amylase.

Partie bibliographique

- a) **Les flavonoïdes** jouent un rôle important dans la chimie médicinale. Ainsi, l'investigation et l'essai de vingt et un composés flavonoïdes a été fait. Les activités inhibitrices de tous ont été examinées sur l' α -amylase et l' α -glucosidase
- b) **La lutéoline** a une activité α -amylase inhibitrice, mais sa puissance était inférieure à celle de l'acarbose. Différents tests cliniques et une évaluation plus poussée étaient nécessaires. On a constaté que les glycosides de flavonol avaient une activité inhibitrice vis-à-vis de α -amylase (*Kim et al., 2000*). Selon les données déclarées par *Matsui et coll.*, l'extraction de douze anthocyanes a été réalisée et il s'est avéré qu'elles avaient une puissante activité inhibitrice vis-à-vis de l' α -glucosidase (AGH).
- c) **L'extrait de Pharbitis nil (SOA)** s'est avéré qui a la plus forte activité inhibitrice vis-à-vis de la maltase, similaire à l'extrait d'*Ipomoea batata* (YGM). Chacun des deux extraits présente une inhibition de l'activité de l' α -amylase et indiquait la bonne caractéristique de la suppression des taux de glycémie postprandiaux. (*Matsui et al., 2001*).

Partie bibliographique

Chapitre 3 : Le docking moléculaire

La première problématique de la biologie structurale est le repliement des macromolécules dans une structure tridimensionnelle biologiquement active.

La compréhension de la communication moléculaire pour échanger des informations « activer ou inhiber » est une seconde problématique, ainsi on peut dire que la biologie intégrée est un enjeu majeur (*Brut, 2009*).

L'amarrage moléculaire (ou le docking moléculaire) est l'un des outils qui confère à résoudre ces problèmes (*Brut, 2009*). C'est une nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les Modes Statiques.

1. Définition du docking moléculaire ou amarrage moléculaire

Le docking moléculaire ou amarrage moléculaire, est une méthode informatique qui se base sur un grand nombre de structures utilisé pour la découverte de médicaments. Elle permet d'identifier de nouvelles molécules d'intérêts thérapeutiques, pour prédire les interactions ligand-protéine (cible), au niveau molécules-cible et de positionner un ligand (petite molécule) dans le site de liaison dans les récepteurs de façon à optimiser les interactions entre ce ligand avec le récepteur.

De même le docking est un processus de prédiction de la conformation du ligand et de son orientation dans la structure cible, il joue un rôle primordial dans la SBDD. Les méthodes SBDD : étant utiles dans le contexte approprié .La base de données Systems Science of Biological Dynamics (SSBD:database) est une base de données à valeur ajoutée pour la dynamique biologique (<https://ssbd.riken.jp/database/>).

L'interaction ou l'ajustement entre le ligand et la structure de la protéine est mieux représentée par le modèle de la (main et du gant). Cette méthode est souvent réalisée en deux parties :

- **La première partie** : comprend la recherche effective de l'espace conformationnel par un mécanisme de " pose " où le ligand est placé à l'intérieur du récepteur dans différentes orientations pour faciliter l'identification du mode de liaison réel des molécules du ligand. Un score basé sur l'énergie est pourvu pour chaque pose en termes d'interactions avec le récepteur.

Partie bibliographique

Les fonctions de notation sont des caractéristiques aidant à étudier les interactions entre la petite molécule et la cible biologique, ce qui fournit de même un contexte sur l'activité biologique.

- **La deuxième partie du processus d'accostage** consiste à classer des poses en fonction de leurs scores calculés (*Ahmedou., 2021*).

2. Le docking moléculaire *in silico*

Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales mentionnées ci-dessus.

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée. (*Ahmedou, 2021*)

3. 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. De plus, il permet de déterminer quel ligand candidat interagit le mieux avec un récepteur cible (*Asses., 2011 ; Lanez., 2016*).

4. Docking avec AutoDock

Pour effectuer la procédure de docking ; l'Auto Dock a besoin de connaître les types, les charges et la liste de liaison de chaque atome. De primeabord, 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)), les fichiers pdb pour la protéine et le ligand.

Partie bibliographique

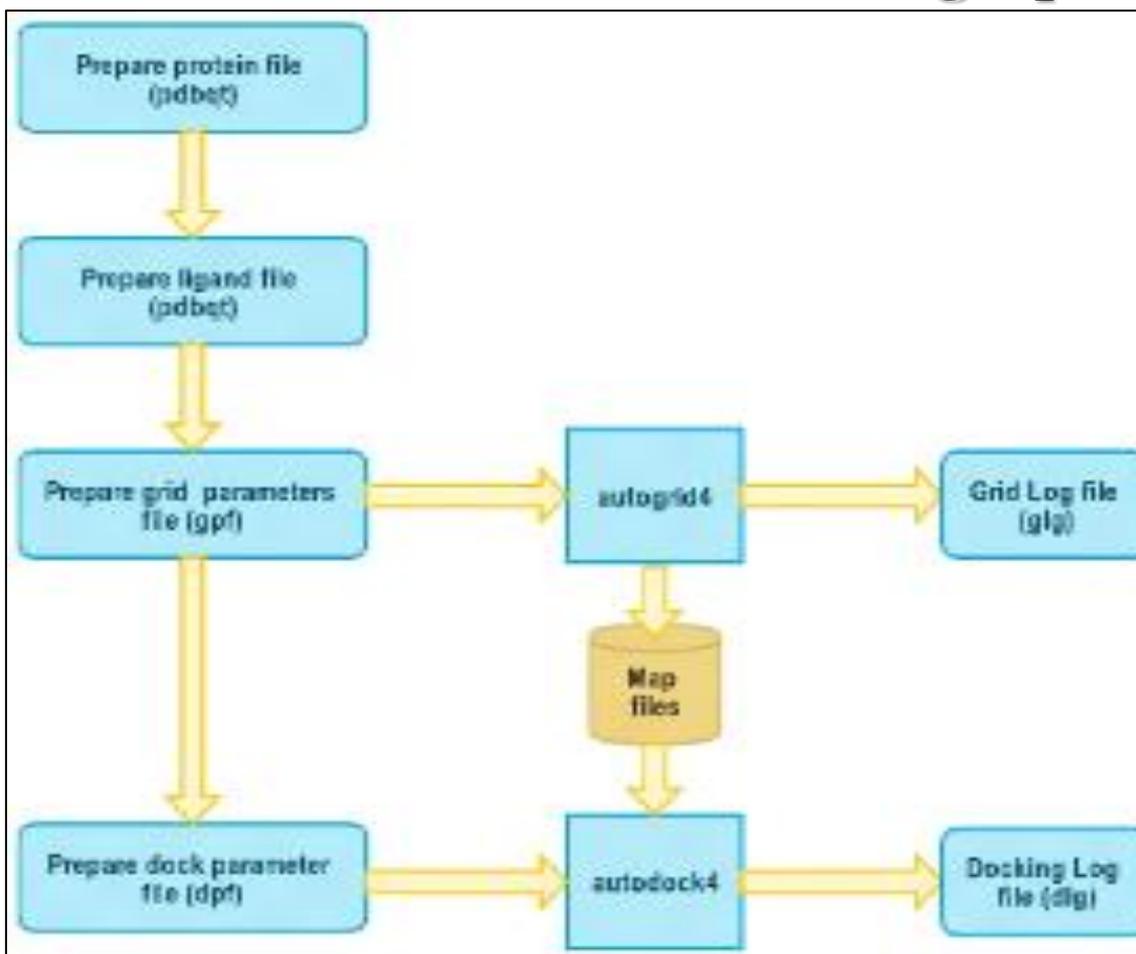


Figure 8 : Procédures de docking avec autoDock (Louacheni., 2013)

a) AutoDock

L'Auto Dock 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. (Louacheni., 2013)

b) Principe de l'AutoDock

L'Auto Dock 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.

Partie bibliographique

Le temps de calcul de l'énergie en utilisant les grilles est relatif au nombre d'atomes du ligand uniquement, il est indépendant du nombre d'atomes du récepteur.

Le programme AutoDock effectue la partie de recherche et d'évaluation des diverses configurations du ligand. Il est possible d'utiliser plusieurs techniques pour les obtenir.

Les énergies de la nouvelle et de l'ancienne configuration sont comparées. Si la première est plus basse elle est gardée, sinon elle est conservée ou rejetée.

5. Les applications du docking

L'utilisation de ces méthodes au fur et à mesure a facilité le développement de médicaments avec les avantages qu'elles présentent. À titre d'exemple, l'utilisation de docking protéine-ligand a abouti à l'identification de nouveaux ligands pour l'anhydrase carbonique II, ainsi qu'à la découverte de nouveaux inhibiteurs pour plusieurs cibles kinases et à l'identification réussie de nouveaux antagonistes pour les récepteurs neurokinine. (*Neeraja et al., 2011*)

Parmi les applications récentes de docking : En 2020 une étude est réalisée pour le criblage des molécules anti SARS-coV-2 par docking moléculaire, ou le logiciel AutoDock Vina a été utilisé pour cribler des médicaments potentiels avec les protéines du coronavirus ; dont la ribavirine, un médicament antiviral courant, le remède sibir, la chloroquine et la lutéoline ont été étudiés. (*Ahmadou., 2021*)

En outre il existe d'autres applications et des émergentes de docking plus récentes comprenant : la prédiction des effets indésirables, la polypharmacologie, le repositionnement des médicaments et le target fishing (*Baldie., 2010*).

6. La procédure de docking

Les logiciels de docking moléculaire fonctionnent sur le principe d'un algorithme qui a été construit à base de données biophysiques et biochimiques, de données sur différents complexes ligand-récepteur de référence, les lois de la physico-chimie et des calculs statistiques, qui est ainsi capable de prédire le mode d'interaction entre un ligand et un récepteur en se basant sur les structures 3D de ces deux systèmes moléculaires. (*Colquitt et al., 2011*)

Le docking moléculaire se passe en deux étapes complémentaires. La première est le *Docking*, qui consiste à rechercher les conformations du ligand capables à établir des interactions idéales avec le récepteur en utilisant des algorithmes de recherche : algorithme génétique, la méthode de Monte Carlo (qui utilise des procédés aléatoires).

Partie bibliographique

La deuxième dite le « *Scoring* », qui sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de docking correctes de celles incorrectes.

Ces méthodes sont utilisées pour prévoir la puissance d'interaction et l'affinité de liaison et qui permet d'évaluer les conformations par un calcul rapide d'énergie d'interaction des ligands avec un récepteur pour ne retenir que la meilleure.

La formule utilisée pour le scoring est la suivante : $AGO \text{ complexe} - \text{Ligand} - \text{Protéine}$

La figure ci-dessous schématise le principe du *docking / scoring*, où *R* symbolise une structure du récepteur. Tandis que, A, B et C représentent les petites molécules.

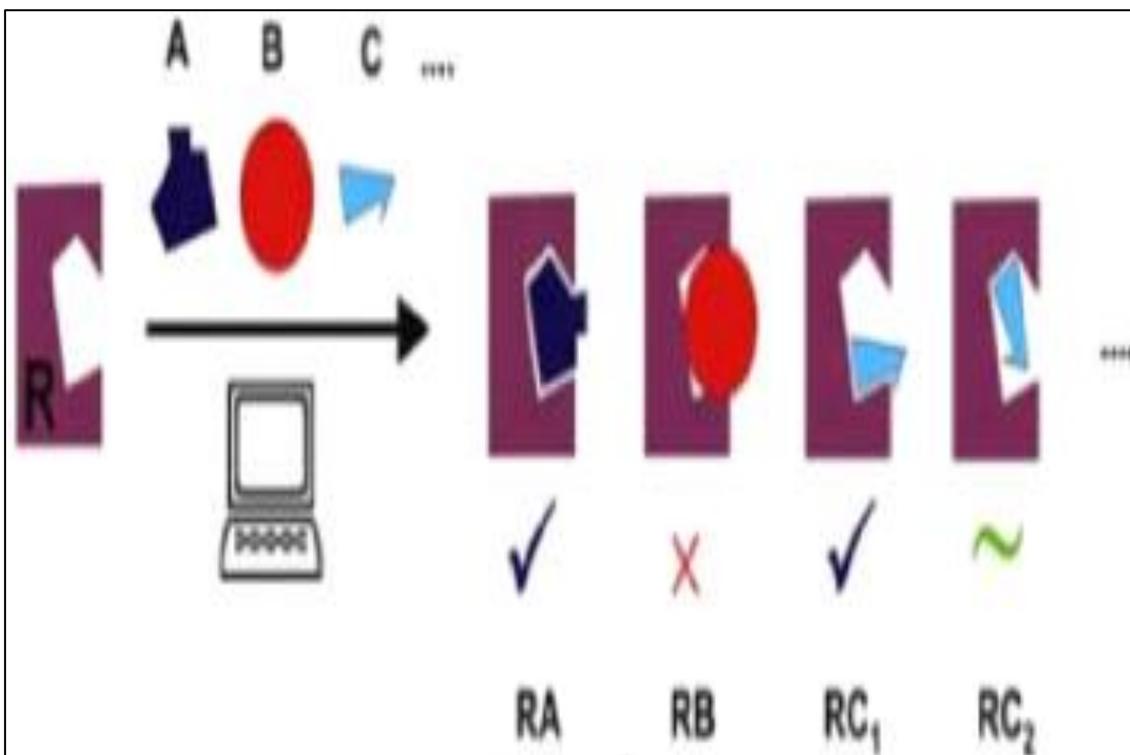


Figure 9 : Illustration de docking/scoring (Louacheni., 2013)

Le docking peut être interprété d'une façon qualitative par observation de l'entité *ligand* dans la cavité de la protéine, mais aussi de manière quantitative par traitement des données provenant des fonctions de scoring.

Partie
expérimentale

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

L'objectif essentiel de ce travail de master est une étude *in silico* qui se focalise sur l'apport des méthodes de modélisation, notamment le docking moléculaire de quelques molécules sur l'enzyme α -amylase qui représente une cible potentielle dans le traitement du diabète type 2. Pour ce faire, nous avons utilisé le matériel suivant :

I.1. Les molécules biologiques

Le matériel biologique qui est l'objet de notre étude est un ensemble de 4 biomolécules en l'occurrence des polyphénols : la quercétine, la rutine, l'astragaline et l'hyperoside. Ces composés phénoliques ont été extraits dans le solvant Acétate d'éthyle à partir des feuilles du sapin d'Algérie (*Abies numidica*) au laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales de l'Université Frères Mentouri Constantine 1.

Plusieurs activités biologiques de cet extrait ont été évaluées (*Benouchene et al 2020*), et l'extrait a montré des résultats très satisfaisants. L'identification et la quantification des polyphénols présents dans cet extrait ont été réalisées par la méthode LC-MS/MS. Un ensemble de 12 molécules a été identifié (tableau ...).

Tableau 2 : Identification et quantification des polyphénols présents dans l'extrait acétate d'éthyle (*Benouchene et al. 2020*)

No	Analytes	Retention Time ^a	EAF ($\mu\text{g/g}$)
1	Protocatechuic acid	7.00	71,62
2	Chlorogenic acid	8.03	15,59
3	Luteolin-7-glucoside	13.20	43,17
4	Rutin	13.67	27,58
5	Hesperidin	13.68	7,83.
6	Hyperoside	13.69	3370,96
7	Apigetrin	14.54	192,56
8	Quercitrin	14.98	2300,33
9	Astragalin	15.13	3391,36
10	Quercetin	17.10	24,75
11	Luteolin	17.78	2,41
12	Apigenin	19.20	6,64
13	Pseudohypericin	26.34	N.D.
14	Hyperforin	28.97	N.D.
15	Hypericin	30.18	N.D.

Partie expérimentale

I.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 Linux - UBUNTU 20.04-

I.3. Programmes (Softwares)

Dans cette étude, plusieurs programmes de modélisation moléculaire ont été utilisés :

- AUTODOCK VINA (docking moléculaire) version 1.1.2
- Pymol ; Chimera, et Avogadro.

I.3.1. Banques de Données

I.3.1.1. RCSB, 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>].

I.3.1.2. 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/>].

Partie expérimentale

II. Résultats et discussion

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à étudier le mode d'interaction de quatre molécules vis-à-vis de la α -amylase. Pour cela, la structure de la cible en question a été téléchargée du pdb sous le code 1B2Y. Cette enzyme a comme ligand co-cristallise l'acarbose, celui-ci servira à guider la simulation du docking et voir comment nos molécules interagissent avec les acides aminés de la cible comparativement au ligand.

Comme première étape, et afin de valider le protocole de simulation, le self-docking a été utilisé. Il consiste à repositionner le ligand acarbose co-cristallise au sein de la cavité (site actif) et comparer les deux structures expérimentale et théorique en calculant le RMSD (Root Mean Square Deviation). Le protocole est bien validé si sa valeur est inférieure à 2Å. Le tableau suivant montre les différentes énergies d'interaction obtenues par AV.

Tableau 3 : présente le score du docking moléculaire sur la α -amylase code pdb 1B2Y

	<i>Acarbose</i>	<i>Quercétine</i>	<i>Rutine</i>	<i>Hyperoside</i>	<i>Astragaline</i>
ΔG <i>Kcal/mol</i>	-9.1 <i>RMSD (0.8455 Å)</i>	-8.9	-9.5	-8.00	-8.5

Il est clair que la rutine avec une énergie de -9.5 Kcal / mol présente le meilleur complexe le plus stable. Ceci pourrait envisager que cette molécule pourrait bien inhiber l'enzyme. Cette énergie obtenue est principalement due aux interactions mises en jeu entre les deux entités chimiques (enzyme et rutine) ce qui va être discuté par la suite.

Partie expérimentale

L'image suivante présente la superposition de l'acarbose expérimental et théorique.

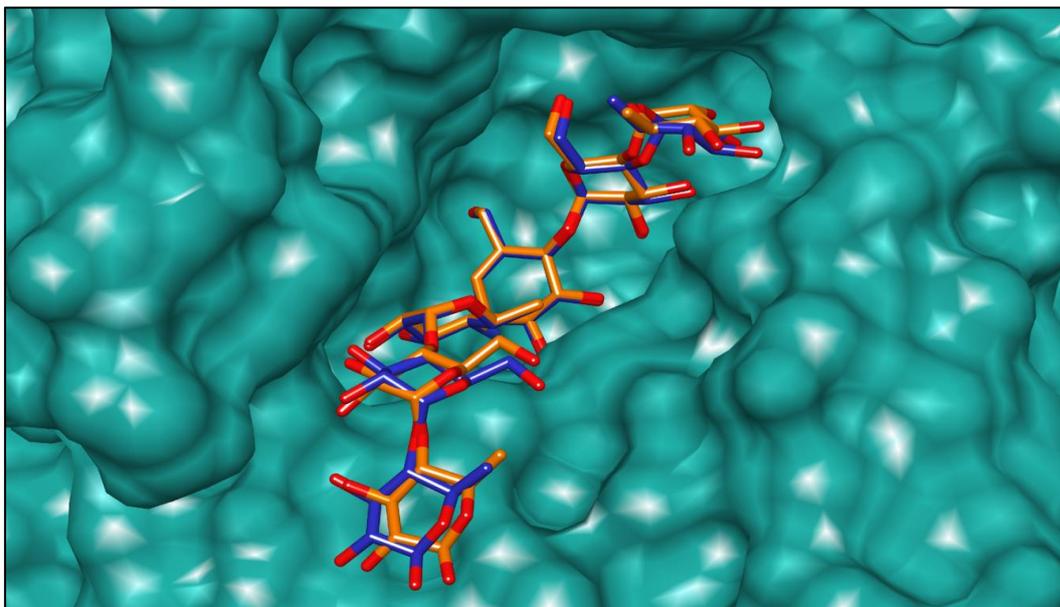


Figure 10 : Superposition du ligand Acarbose co-cristallise (orange) et théorique (bleu)

Afin d'élucider le mode d'interaction de toutes les molécules, nous avons superposé les quatre ligands ensemble dans le site actif de la cible. La figure suivante présente le mode d'ancrage de tous les ligands.

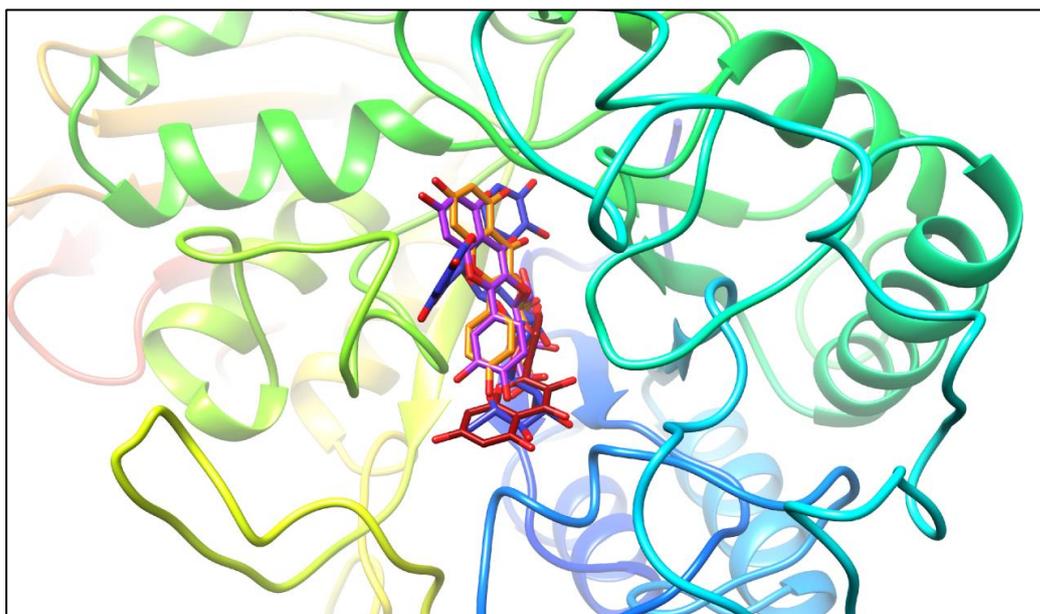


Figure 11: superposition des ligands dans le site actif de l' α -amylase.

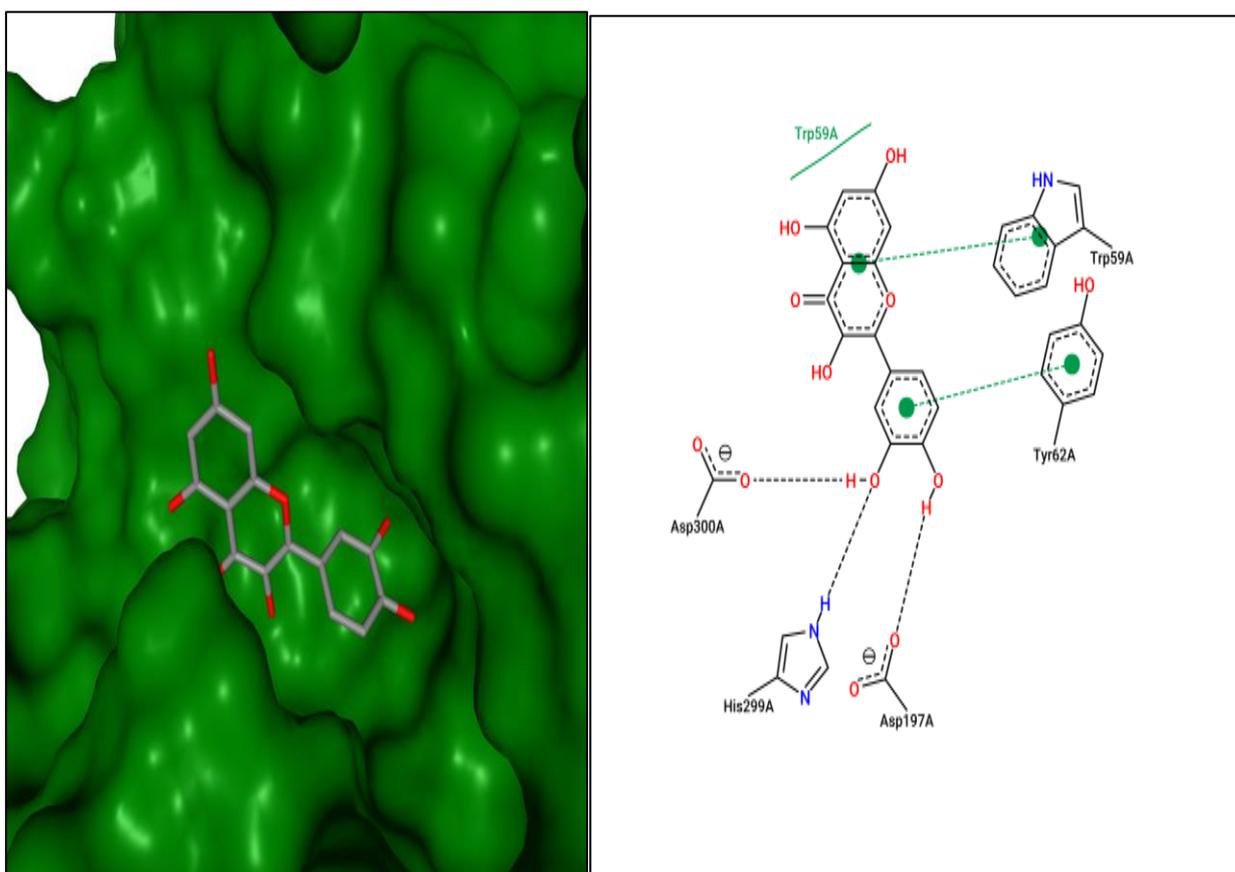
Partie expérimentale

Il ressort que toutes les molécules interagissent bien dans la cavité active de l'enzyme avec des modes de fixation différents. Dans ce qui suit, nous allons présenter le mode d'interaction dans chaque complexe.

1. Interactions α -amylase-Ligands

1. 1. Interactions α -amylase-QUERCÉTINE

Ce complexe est caractérisé par un score de -8.9 kcal/mol qui est proche de celui du ligand natif. Cette complexation est principalement gouvernée par diverses interactions notamment trois liaisons hydrogènes. Le tableau N résume les différentes interactions établies lors de l'association de nos molécules avec la cible protéique. La figure suivante schématise les interactions en 2D entre la quercétine et la α -amylase.



a. structure 2D

b. structure 3D

Figure 12 : représentation 2D et 3D des interactions entre la Quercétine et l' α -amylase.

Les interactions hydrophobes sont représentées en pointillés verts.

Partie expérimentale

Tableau 04 : Acides aminés impliqués dans les interactions hydrophobes et liaisons hydrogène dans chaque complexe. Les acides aminés communs sont représentés en rouge.

Molécules	Liaison-H	Hydrophobique
α -AMYLASE-RUTINE	Glu233, Gln63, Trp59, Gly306	Leu 162, His 201, Ile 235
α -AMYLASE- QUERCÉTINE	Asp300, His299, Asp197	Trp 59, Tyr 62
α -AMYLASE-ASTRAGALINE	Glu 233, Asp 197, Asp300, Arg 195, His 299	Leu 162
α -AMYLASE-HYPEROSIDE	His305, Asp 197, Arg 195, Glu 233	Leu 162
α -AMYLASE-ACARBOSE	Lys 200, Gln 233, His 201, Arg195, Asp300, Gln63, Trp59, Thr163, His305, Asp197, His101	Leu 165

1.2. Interactions α -amylase- HYPEROSIDE :

L'hyperoside forme un complexe avec la cible avec une énergie de -8.00kcal/mol.

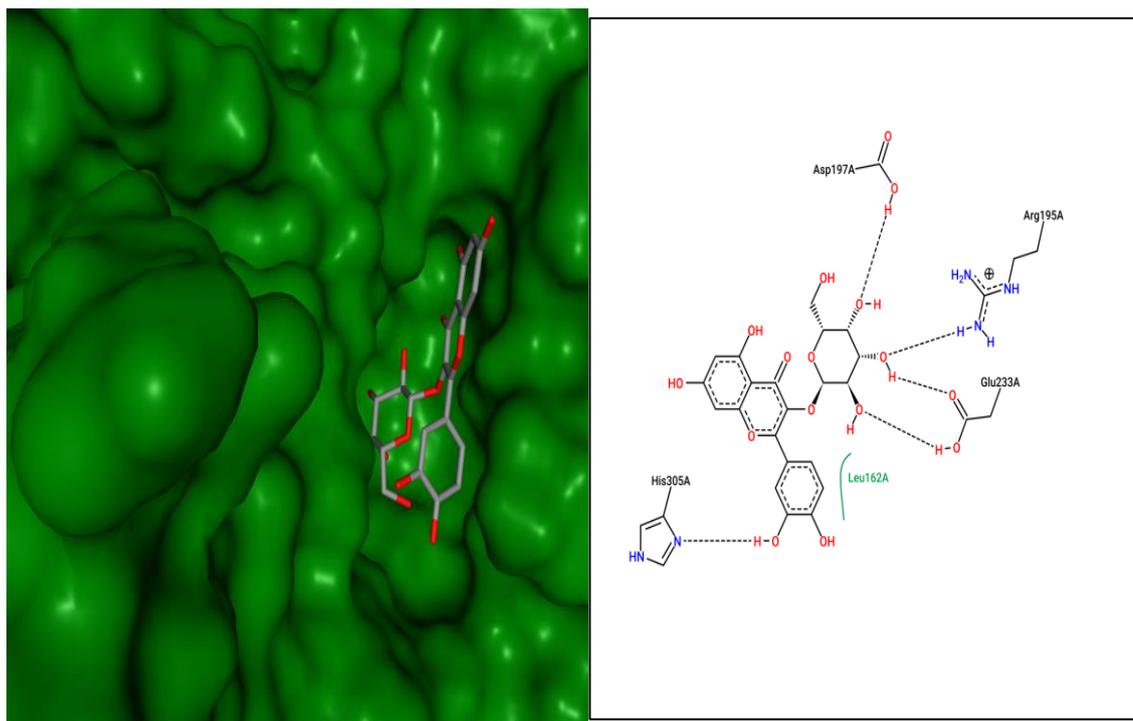
Ce complexe est le moins stable du point de vue énergétique par rapport aux autres complexes.

La représentation 2D du complexe alpha-amylase-hyperoside est sur la Figure.

Ce complexe partage quatre interactions communes similaires à celles engendrées par l'acarbose.

Cette molécule forme uniquement une interaction hydrophobe avec la Leu 162.

Partie expérimentale



a. Structure 3D

b.structure 2D

Figure 13 : représentation 2D et 3D des interactions de l'hyperoside et l' α -AMYLASE.

Les interactions hydrophobes sont représentées en pointillés verts.

1.3. Interactions α -amylase- ASTRAGALIN

L'énergie d'interaction entre l'astragale et la cible mise en jeu est de -8.5 kcal / mol.

Cette molécule interagit avec la Leu 162 en formant une interaction hydrophobique similaire aux complexes de rutine, hyperoside.

De même, cette molécule forme cinq liaisons hydrogène tout en partageant quatre d'entre elles avec l'acarbose (Gln 233, Asp 197, Arg 195 et Asp300).

A partir des simulations de docking, nous avons observé que l'astragale et la hyperoside s'orientent de la même manière et adoptant des configurations quasi-similaires comme le montre la figure suivante :

Partie expérimentale

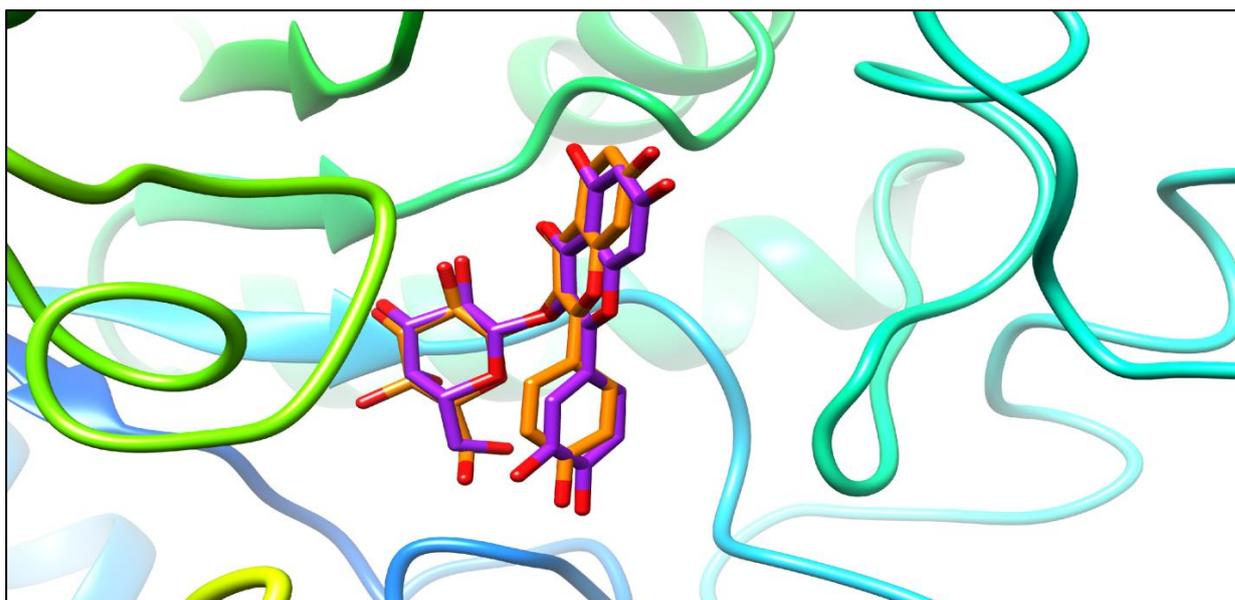
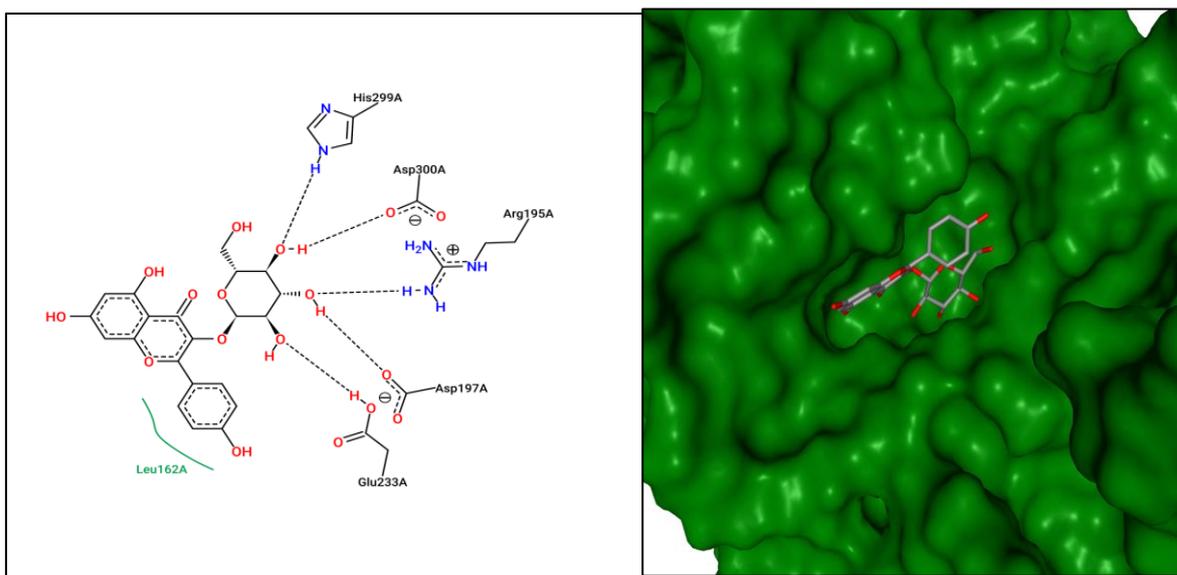


Figure 14 : comparaison des configurations et orientation de l'Astragale (orange) et hyperoside (violet).

Il est remarquable aussi que ces deux ligands partagent d'une part trois acides aminés en interaction formant des liaisons hydrogène (Glu 233, Arg 195 et Asp 197) et la même implication de la Leu 162 pour l'interaction hydrophobe. La partie glucoside des deux ligands se trouve dans la même orientation. Les principales interactions de l'astragaline avec l' α -AMYLASE sont représentées en 2D et 3D sur la figure suivante :



a. Structure 2D

b. structure 3D

Figure 15 : Représentation 2D et 3D des interactions de l'Astragale et l' α -amylase.

Partie expérimentale

Les interactions hydrophobes sont représentées en pointillés verts

1.4. Interactions α -amylase – ROUTINE

Il représente le complexe le plus stable avec une énergie d'interaction de -9.5 Kcal / mol. Ce ligand (rutine) possède deux sucres qui lui confèrent plus d'interactions avec l' α -AMYLASE. La Rutine possède également six liaisons rotatives qui permettent une flexibilité importante et donc adopter plusieurs conformations. En le comparant avec l'astragaline et hyperoside, le fait d'avoir une seconde partie glucoside, cette dernière influe sur l'orientation et la conformation du Rutine afin de maximiser les interactions et donc l'énergie d'interaction.

Dans un premier lieu, nous avons comparé le mode de fixation de ce ligand par rapport à la quercétine qui possède la deuxième meilleure énergie d'interaction.

La figure suivante montre bien l'encrage des deux ligands dans le site actif de l'enzyme.

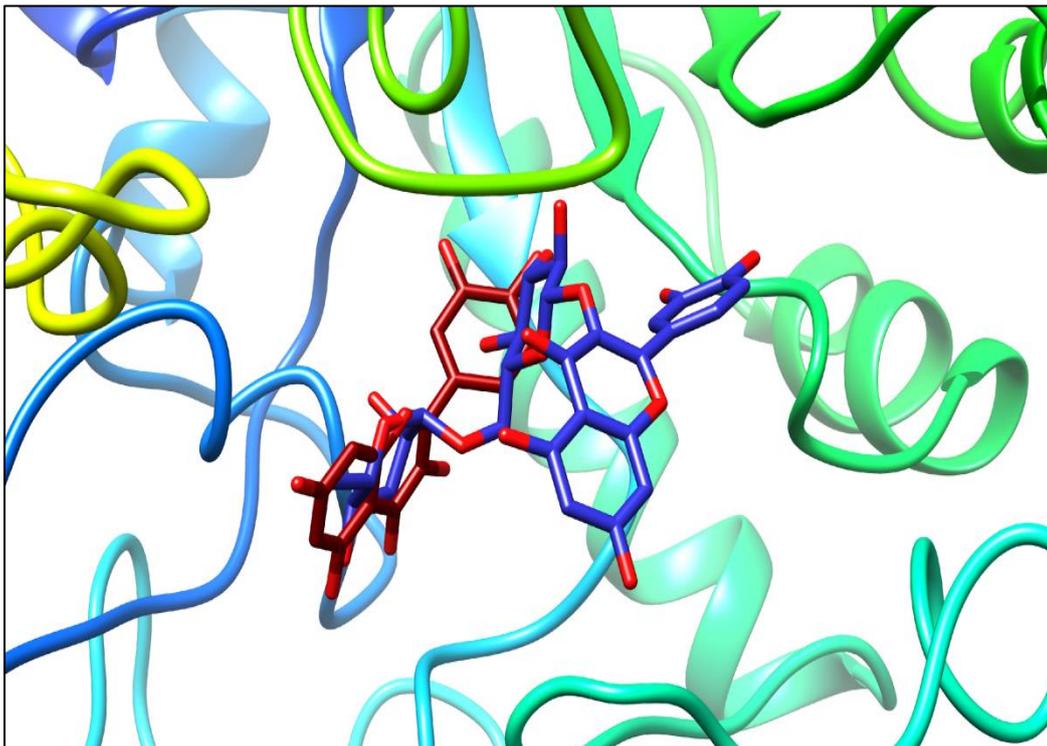


Figure 16 : Superposition des deux ligands Quercétine (Rouge) et la Rutine (Bleu)

Il est remarquable que la première partie glucoside soit quasi-superposée avec le cycle B de la quercétine et le deuxième sucre interagisse dans la zone du cycle C de la quercétine.

Partie expérimentale

Les principales interactions entre la rutine et l α -AMYLASE sont représentées dans la figure suivante.

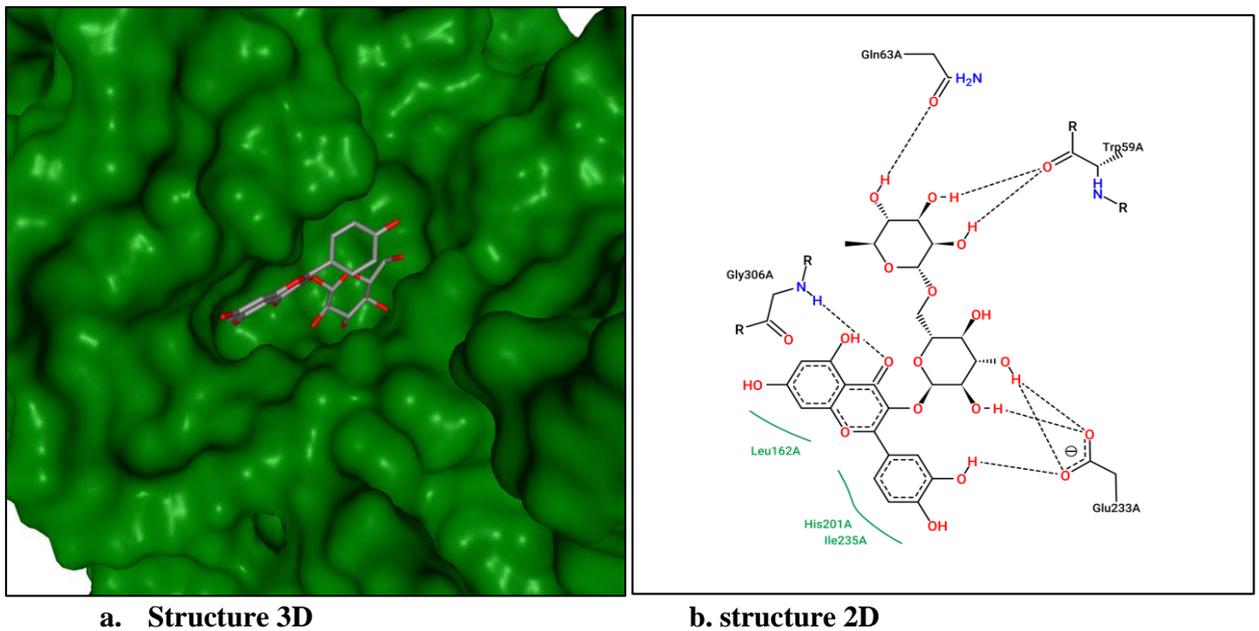


Figure 17 : représentation 2D et 3D des interactions de la Rutine et l α -AMYLASE.

Les interactions hydrophobes sont représentées en pointillés verts

Pour plus de détails, la figure suivante montre les interactions 3D en utilisant le logiciel Pymol.

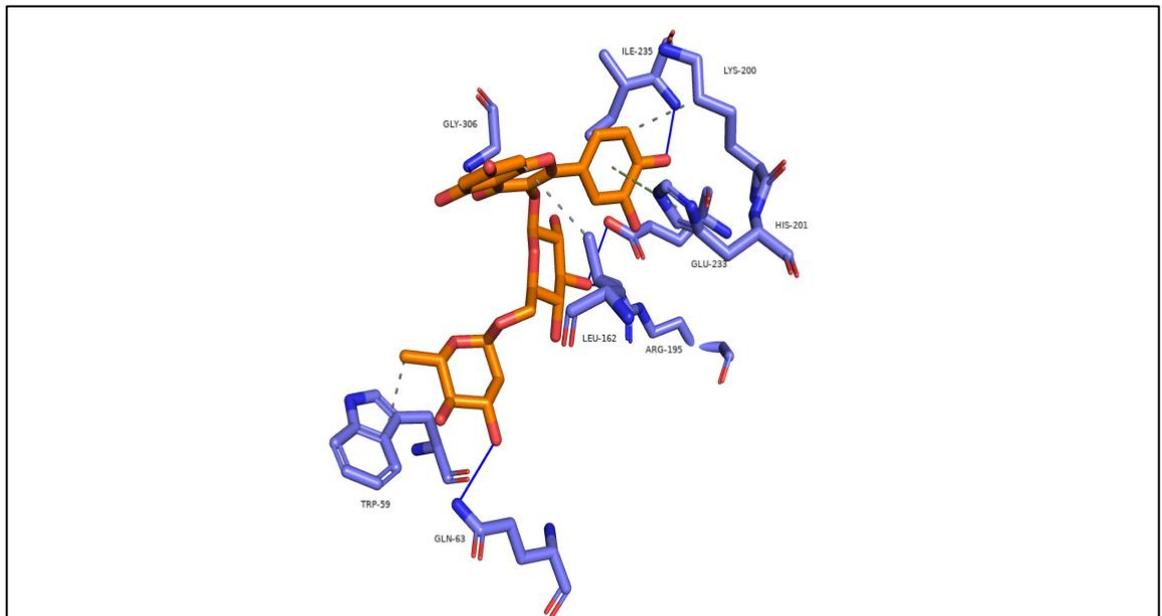


Figure 18 : représentation 3D des interactions de la Rutine et l α -amylase.

Les liaisons hydrogène (Bleu), Hydrophobique (Gris)

Partie expérimentale

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les inhibiteurs testés montrent une importante efficacité d'activité antidiabétique. La routine enregistre le plus haut taux de compatibilité. L'amarrage moléculaire a montré que ce ligand a un potentiel, comparé à d'autres espèces d'*Abies* cités dans la littérature.

Notre travail se termine d'ailleurs par des applications du docking dans la conception de nouvelles molécules actives.

La conception et le développement de médicaments pour le diabète sucré type 2 (T2DM) sont encore à première vue de la gestion. La cible conventionnelle et les méthodes basées sur la structure peuvent être liées et attachées au mécanisme thérapeutique du traitement T2DM.

Pour approfondir le ciblage de molécules ou de gènes spécifiques et accélérer de plus la découverte et le développement de médicaments, la biologie computationnelle associée aux écrans virtuels joue un rôle clé.

En perspectives, il conviendrait donc d'extraire spécifiquement ces biomolécules à partir des feuilles du sapin de Numidie et de les tester de nouveau sur le plan *in vivo* pour confirmer leur effet sur l'inhibition de l'alpha amylase. Et pourquoi ne pas développer des médicaments antidiabétiques naturels sans effets néfastes sur la santé humaine par rapport à leurs analogues synthétiques.

Référence
bibliographique

Référence bibliographique

Référence bibliographique

Ahmad, G. ; Hossein, F. ; Fariba, S.-f.; Mansour, M. 2008. The inhibitory effect of some Iranian plants extracts on the alpha glucosidase. *Iran. J. Basic Med. Sci.*, 11, 1–9.

Ahmedou abdelmoumin, 2021 MÉMOIRE DE MASTER MASTER DE « Biotechnologie médicale » « Biomédicale » Intitulé Conception de nouveaux inhibiteurs de 3CLpro- SARS-CoV-2 par approche in silico Soutenu par : Année 2021 ROYAUME DU MAROC Université Mohammed V – Rabat Faculté de Médecine et de Pharmacie RABAT

Alothman, M.; Bhat, R.; Karim, A.A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chem.*, 115, 785–788. [[CrossRef](#)]

American Diabetes Association. 2016. Standards of Medical Care in Diabetes-2016: Summary of Revisions. *Diabetes Care*, 39 (Suppl. 1), S4–S5.] amylase. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 8: 153–170.

Aryaeian, N.; Sedehi, S.K.; Arablou, T. 2017. Polyphenols and their effects on diabetes management: A review. *Med. J. Islamic Repub. Iran*, 31, 134. [[CrossRef](#)]

Asgar, A. 2013. Anti-diabetic potential of phenolic compounds: A Review. *Int. J. Food Prop.*, 16, 91–103. [[CrossRef](#)]

Asses, Y. (2011). Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Met. Thèse de doctorat. - Université Henri Poincaré – Nancy I. Aurélien Grosdidier. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Sciences pharmaceutiques. 2007.

Ayala-Zavala, J.F. ; Vega-Vega, V. ; Rosas-Domínguez, C. ; Palafox-Carlos, H. ; Villa-Rodríguez, J.A. ; Wasim Siddiqui, M.D. ; González- Aguilar, G.A. 2011. Agro-industrial potential of exotic fruit by-products as a source of food additives. *Food Res. Int.*, 44, 1866–1874. [[CrossRef](#)]

Référence bibliographique

Baldie E. 2010. Computational approaches for drug design and discovery: An overview. *Syst. Rev. Pharm.* ; 1:99–105. (Consulter le 19.08.2021).

Barbey A., 1934 : Une relique de la sapinière méditerranéenne : Les monts Babors. Librairie Agricole de la maison rustique. Paris. (1-11) Flous, 1936 : La classification naturelle des Pinacées.

Bilal, M. ; Iqbal, M.S. ; Shah, S.B. ; Rasheed, T. ; Iqbal, H.M.N. 2018. Diabetic Complications and Insight into Antidiabetic Potentialities of Ethno- Medicinal Plants: A Review. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.*, 12, 7–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Brut.M., 2009. Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécule biologique : les modes statiques. Thèse de doctorat. Université Toulouse III-paul sabatier. P90.

Centre national de la recherche scientifique.pubchem.[En ligne]

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le 502/06/2022)

Callen. G, 1976. Les conifères cultivés en Europe. Edition : J. B. Bailliere. 55P.

Colquitt, R.B.; Colquhoun, D.A 2011.; Thiele, R.H. In silico modeling of physiologic systems. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.*, 25, 499–510. [[CrossRef](#)]

Du, H.; Li, L.; Bennett, D.; Guo, Y.; Turnbull, I.; Yang, L.; Bragg, F.; Bian, Z.; Chen, Y.; Chen, J.; et al. 2017. Fresh fruit consumption in relation to incident diabetes and diabetic vascular complications: A 7-y prospective study of 0.5 million Chinese adults. *PLoS Med.*, 14, e1002279. [[CrossRef](#)]

Ducrey M., 1998 : Aspects écophysiologicals de la réponse et de l'adaptation des sapins méditerranéens aux extrêmes climatiques : gelée printanière et sécheresse estivale. Forêt méditerranéenne t.XIX, n°2.

El-Beshbishy, H.A. ; Bahashwan, S.A. 2012. Hypoglycemic effect of basil (*Ocimum basilicum*) aqueous extract is mediated through inhibition of α -glucosidase and α amylase activities: An in vitro study. *Toxicol. Ind. Health*, 28, 42–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Référence bibliographique

Gharzouli R. et Djellouli M., 2005 : Diversité floristique de la Kabylie des Babors (Algérie). *Sécheresse* Vol. 16, n°3.

Grosso, G. 2018. Effects of Polyphenol-Rich Foods on Human Health. *Nutrients*, 10, 1089. [[CrossRef](#)]

Guasch-Ferre, M.; Merino, J.; Sun, Q.; Fito, M.; Salas-Salvado, J. 2017. Dietary Polyphenols, Mediterranean Diet, Prediabetes, and Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, , 6723931. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Ibrahim, M.A.; Bester, M.J.; Neitz, A.W.; Gaspar, A.R.M. 2018. Rational in silico design of novel alpha-glucosidase inhibitory peptides and in vitro evaluation of promising candidates. *Biomed. Pharmacother.*, 107, 234–242. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

IDF. IDF Diabetes Atlas, 7th ed.; International Diabetes Federation: Brussels, Belgium, 2015.

Kabir, M.T.; Tabassum, N.; Uddin, M.S.; Aziz, F.; Behl, T.; Mathew, B.; Rahman, M.H.; Akter, R.; Rauf, A.; Aleya, L. Therapeutic potential of polyphenols in the management of diabetic neuropathy. *Evid.-Based Complement. Alternate. Med.* **2021**, 9940169. [[CrossRef](#)]

Kahanovitz, L., Sluss, P. M., & Russell, S. J. 2017. Type 1 diabetes—a clinical perspective, 16(1) :37-40.

Kerry, N.; Singh-Pillay, A.; Awolade, P.; Singh, P. 2018. Current anti-diabetic agents and their molecular targets: A review. *Eur. J. Med.Chem.*, 152, 436–488. [[CrossRef](#)]

Kharroubi, A. T., & Darwish, H. M. 2015. Diabetes mellitus: The epidemic.of the century .*world journal of Diabetes*, 6,850-867

Kim, J. S., Kwon, C. S., & Son, K. H. (2000). Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64(11), 2458–2461.

Kneuer, C., Ehrhardt, C., Radomski, M. W., & Bakowsky, U. 2006. Selectins—potential pharmacological targets? *Drug Discovery Today*, 11(21–22), 1034–1040.

Référence bibliographique

Lanez, E. 2016. Etude in silico et in vitro de l'interaction de quelques amides ferrocéniques avec l'ADN. Mémoire de master. Université Mohamed Khider – Biskra.

Lebtahi F., et Bouguedoura N., 2000 : Le sapin de Numidie (*Abies numidica* De Lannoy). La forêt algérienne, *NRFB de Bainem*. Alger : 39-42.

Louacheni Farida, 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

Liu, S. ; Li, D. ; Huang, B.; Chen, Y.; Lu, X.; Wang, Y. 2013. Inhibition of pancreatic lipase, alpha-glucosidase, alpha-amylase, and hypolipidemic effects of the total flavonoids from *Nelumbo nucifera* leaves. *J. Ethnopharmacol.*, 149, 263–269. [[CrossRef](#)]

Mai, T.T.; Chuyen, N.V. 2007. Anti-hyperglycemic activity of an aqueous extract from flower buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71, 69–76. [[CrossRef](#)]

Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N., & Matsumoto, K. 2001. α -Glucosidase Inhibitory Action of Natural Acylated Anthocyanins. 1. Survey of Natural Pigments with Potent Inhibitory Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1948–1951.

Morris, C., Fichtel, S. L., & Taylor, A. J. 2011. Impact of calcium on salivary α -amylase activity, starch paste apparent viscosity, and thickness perception. *Chemosensory Perception*, 4(3), 116.

Nazir, N.; Zahoor, M.; Ullah, R.; Ezzeldin, E.; Mostafa, G.A.E. 2020. Curative Effect of Catechin Isolated from *Elaeagnus Umbellata* Thunb. Berries for Diabetes and Related Complications in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Model. *Molécules*, 26, 137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Neeraja, D.; Bhartenda, N.M.; Vishwa, M.K. 2011. 2D-QSAR model development and analysis on variant groups of anti-tuberculosis drugs. *Bioinformation*, 7, 82–90.

Référence bibliographique

Pallavi, K.; Antara, B.; Anushka, B.; Ramachandran, M.; Francesca, M.; Surajit, P. 2018. An Overview of Dietary Polyphenols and Their Therapeutic Effects. In Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease, Volume 1.

Parde, 1973. Les conifères. La maison rustique (64-93).

Protein Data Bank(PDB). Biological Macromolecular Resource. (En ligne).

<http://www.pdb.org/pdb/home> . Consulté le (02/06/2022).

Ramdani, M., Lograda, T., Charlad, P., Figueredo, G. 2014. Chemical and antimicrobial protein of essential oils of *Abies numidica*, endemic species of Algeria. *International Journal of Phytopharmacology*, 5, 432-440.

Ryu, H.W.; Cho, J.K.; Curtis-Long, M.J.; Yuk, H.J.; Kim, Y.S.; Jung, S.; Kim, Y.S.; Lee, B.W.; Park, K.H. 2011. α -Glucosidase inhibition and antihyperglycemic activity of prenylated xanthenes from *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*, 72, 2148–2154. [[CrossRef](#)]

Saini, V. 2010. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J. Diabetes*, 1, 68–75. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

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

Serina, J.J.C.; Castilho, P.C.M.F. Using polyphenols as a relevant therapy to diabetes and its complications, a review. *Critical Rev.*

Silvant C., 2015 « L’Aromathérapie : La nature au service de l’humanité », Editions Publibook, 166p.

Tlili-Ait Kaki. Y, BENNADJA S. 2012, The Fir of Numidia: A Threatened Species Faculty of Medicine, University of Annaba, Algeria. Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi., Özel Sayı: 283-286 Kastamonu Univ., *Journal of Forestry Faculty, Special Issue*

Référence bibliographique

Tlili-Ait Kaki Y., S. Bennadja et Chefrour A., 2013 : Revalorisation d'une essence endémique : le sapin de Numidie (*Abies numidica*). *Fl. Medit.* 23 :123-129.

Tundis, R.; Loizzo, M.R.; Menichini, F. 2010. Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: An update. *Med. Chem.*, 10, 315–331. [[CrossRef](#)]

Vinholes, J.; Vizzotto, M. 2017, Synergisms in Alpha-glucosidase Inhibition and Antioxidant Activity of *Camellia sinensis* L. Kuntze and *Eugenia uniflora* L. Ethanolic Extracts. *Pharmacogn. Res.* 9, 101–107. [[CrossRef](#)]

Zhang, B.-w.; Xia Li, W.-l.S.; Yan Xing, Z.-l.X.; Chun-lin, Z.; Yue-sheng, D. 2017. Dietary Flavonoids and Acarbose Synergistically Inhibit α -Glucosidase and Lower Postprandial Blood Glucose. *J. Agric. Food Chem.*, 65, 8319–8330. [[CrossRef](#)]

Référence des figures

<https://doi.org/10.1002/dmrr>. 2486

<https://doi.org/10.1007/s1189016-0794-7>.

<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.09.004>

<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2016.06.003>

[https://doi.org/10.1016/S0003-4266\(06\)72600-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4266(06)72600-2)

<https://doi.org/10.1021/jf001251u>

<https://doi.org/10.1155/2021/5561129>.

<https://doi.org/10.3803/EnM> .2018

<https://doi.org/10.3923/jms>. 2011.280.284

<https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i6.850>

[Httpsonlinelibrary. wiley. Comdoifull10.1111cbdd.13909](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cbdd.13909)

<https://doi.org/10.7257/1053-816X.2016.36.1.27>

<http://pharmacomedicale.com>

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : RAIS Chaima

Evaluation *in silico* de l'effet inhibiteur de l'alpha amylase des biomolécules du sapin d'Algérie : potentiel traitement pour le diabète

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Bio-informatique

Résumé

Abies numidica est l'une des plantes médicinales que l'on utilise dans le traitement de diverses maladies dans le monde entier, parmi les activités métaboliques : l'activité antidiabétique.

Les objectifs de cette étude sont l'appréciation de l'activité antidiabétique de la plante *Abies numidica*, en étudiant l'effet inhibiteur de l'enzyme alpha amylase par les biomolécules du sapin d'Algérie extraites des feuilles dans l'acétate d'éthyle en l'occurrence la quercétine, la rutine, l'hyperoside et l'astragaline, ainsi que l'utilisation des outils bio-informatiques afin d'atteindre des buts biologiques : traitement du diabète type II.

Les résultats de cette étude ont démontré que les inhibiteurs testés ont une importante efficacité dans l'activité antidiabétique. La rutine enregistre le plus haut taux de compatibilité. De plus le docking moléculaire a montré que ce ligand a un potentiel, comparé à d'autres espèces d'*Abies* cités dans la littérature. Donc on peut dire que la rutine est la molécule efficace afin de traiter le diabète de type II.

En perspective les méthodes de découverte de médicaments *in silico* et le développement de la réorientation des médicaments antidiabétiques sont un facteur important dans la découverte de nouveaux médicaments, il existe diverses approches informatiques qui peuvent aider à découvrir de nouvelles opportunités de médicaments antidiabétiques.

Mots-clefs : Diabète type 2, alpha-amylase, docking moléculaire, effet inhibiteur de l'alpha-amylase, *Abies numidica*, les biomolécules

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales (Université Frères Mentouri Constantine 1).

Encadreur : BELLIL Ines (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Co-encadreur : KRID Adel (MAA – Université Frères Mentouri Constantine 1)

Examineur 1 : GHERBOUDJ Amira (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : BENCHIHEUB Meriem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

