



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Constantine 1 Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la Nature et de la  
Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département :** Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire **قسم:** الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Simulation informatique par docking moléculaire de nouveaux inhibiteurs de l'enzyme  $\alpha$ -amylase  
pour le traitement du diabète**

**Présenté par :** Djehiche Imene

**Le :** 13/06/2024

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Oualbani R (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** Teniou S (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur :** Demmak RG (MCA - U Constantine 3 Salah Boubnider).

**Année universitaire  
2023 - 2024**

# *Remerciements*



*Tout d'abord, je tiens à exprimer ma gratitude envers Allah, le Tout-Puissant, pour m'avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.*

*Je tiens à remercier chaleureusement tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce modeste travail. Je souhaite remercier spécialement mon encadrante Soumia Teniou, pour son soutien constant, ses conseils précieux, sa patience infinie et sa disponibilité tout au long de ce travail.*

*Je désire également remercier les membres du jury, qui ont consacré leur temps pour évaluer mon mémoire, notamment Madame la présidente Puablani R. et Madame l'examinatrice Demmak R.G.*

*Enfin, je remercie tous mes enseignants du département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire pour leur enseignement et leur soutien tout au long de mon parcours académique.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes parents, ma mère Sabrina et mon père Abed el Malek, qui ont été mes piliers les plus solides. Votre amour inconditionnel, votre tendresse sans fin et votre confiance indéfectible en moi m'ont permis de devenir la personne que je suis aujourd'hui. Je vous remercie du fond du cœur, je vous aime plus que tout au monde.*

*À ma sœur Cheima et mon frère Amir, mes compagnons de vie. Votre soutien sans faille a été mon refuge dans les moments difficiles. Je vous remercie pour votre amour et votre soutien constants.*

*Enfin, je tiens à remercier toute ma famille et tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail. Votre aide et votre soutien ont été inestimables.*

*Merci à vous tous.*

*Imene.....*



# Table des matières

Liste de tableaux .....	4
Liste de figures .....	5
Liste des abréviations.....	6
Introduction générale.....	9

## Partie bibliographie

### Chapitre 1. Diabète type 2 et la cible enzymatique

1.Introduction.....	12
2.Définition.....	12
3.Classification du diabète.....	13
3.1. Le diabète de type 1.....	13
3.2. Le diabète de type 2.....	13
3.3. Le diabète gestationnel.....	13
3.4. Autres types du diabète.....	13
4. Physiopathologie du diabète .....	14
4.1. Diabète de type 1.....	14
4.2. Diabète de type 2.....	14
5. Traitement actuel du diabète.....	14
5.1. Traitement du diabète type 1.....	14
5.2. Traitement du diabète type 2.....	15
5.2.1. Traitements non médicamenteux.....	15
5.2.2. Traitements médicamenteux. ....	15
5.2.2.1. Antidiabétiques oraux.....	15
5.2.2.2. Les médicaments qui réduisent l'absorption des sucres.....	16

5.2.2.3. Les médicaments qui agissent par le biais des incrétines.....	16
5.2.2.4. Les médicaments qui favorisent l'élimination des sucres.....	17
6. Les $\alpha$ -amylases.....	17
6.1. Définition et nomenclature.....	17
6.2 Structure et mode d'action.....	18
6.3 Différentes origines d' $\alpha$ -amylase.....	20
6.3.1 Origine végétale.....	20
6.3.2 Origine animale.....	20
6.3.3 Origine microbienne.....	21
6.4 Caractéristiques générales.....	21
6.4.1 Température optimale.....	21
6.4.2 pH optimal.....	21
6.5 Activateurs et inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase.....	22

## **Chapitre 2. Docking Moléculaire**

1.Introduction.....	24
2. Docking moléculaire.....	24
3. Les Types de docking moléculaire.....	25
3.1. Docking rigide.....	25
3.2. Docking semi-flexible.....	25
3.3. Docking flexible.....	25
4. Les outils du docking moléculaires.....	25
4.1. Le récepteur.....	25
4.2. Le ligand .....	26
4.3. Un programme de docking moléculaire.....	27

4.3.1. Autodock vina.....	27
4.3.1.1. Docking Simultané de Multiples Ligands.....	28
4.3.1.2. Docking Hydraté.....	28
4.3.1.3. AutoDock4 <sub>Zn</sub> .....	28
4.3.1.4. Macrocycle Conformational.....	29
4.3.2. Autodock tools .....	29
5. Les interactions entre le ligand et le récepteur.....	30
6. Le pharmacophore.....	30
<b>Partie Matériel et méthodes</b>	
1. Les molécules biologiques.....	34
2. Docking moléculaire.....	35
2.1. Matériel.....	35
2.2. Méthodes.....	36
2.2.1. Préparation du récepteur.....	36
2.2.2. Préparation des ligands.....	36
2.2.3. Calcul des grilles de potentiel et l'arrimage moléculaire .....	36
2.2.4. Méthodes d'évaluation <i>in silico</i> des Propriétés ADMET.....	37
<b>Partie Résultats et discussion</b>	
1. Validation de la fiabilité du logiciel de Docking.....	40
2. Résultats de Docking moléculaire.....	42
3. Étude des interactions protéines- ligands.....	43
3.1. Interaction enzyme-acarbose.....	44

3.2. Etude d'interaction enzyme-Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate.....	45
3.3. Etude d'interaction enzyme-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl).....	46
4. Analyse in silico des paramètres de biodisponibilité et d'ADMET des inhibiteurs de l'alpha- amylase.....	47
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>53</b>
Références.....	55
Résumé.....	61

## Liste de tableaux

Tableau 1	Différentes nomenclatures d' $\alpha$ -amylase.....	17
Tableau 2	Quelques propriétés des $\alpha$ -amylases.....	21
Tableau 3	Activateurs et inhibiteurs inorganiques et organiques de l' $\alpha$ -amylase salivaire.....	22
Tableau 4	Liste de bases de données disponibles pour les ligands .....	26
Tableau 5	Liste des substances phytochimiques identifiées dans l'extrait huileux par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Le tableau comprend le nom des composés, les formules chimiques, les poids moléculaires, les temps de rétention et les surfaces des pics.....	34
Tableau 6	Les paramètres de Grid Box pour Alpha-amylase.....	37
Tableau 7	Scores de Docking Moléculaire et Valeurs d'IC50 des Complexes Ligand-Protéine.....	40
Tableau 8	Résultats de Docking moléculaire.....	43
Tableau 9	Profil ADME des composés à partir du serveur SwissADME.....	48

## Liste de figures

Figure 1	Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -amylase.....	18
Figure 2	Les trois étapes de la réaction catalytique de l' $\alpha$ amylase .....	19
Figure 3	Les étapes de docking moléculaire .....	27
Figure 4	Exemples d'applications d'AutoDockVina 1.2.0 pour le docking (A) de multiples ligands (PDB 5x72), (B) avec des molécules d'eau en utilisant le protocole de docking hydraté d'AutoDock4 (PDB 4ykq), (C) en présence de zinc en utilisant le champ de force AutoDock4Zn (PDB 1s63), ou (D) de macrocycles flexibles.....	29
Figure 5	Les différentes étapes successives dans la génération d'un modèle pharmacophore.....	32
Figure 6	Corrélation entre l'Énergie de Liaison des Ligands et les Valeurs d'IC50.....	41
Figure 7	L'affinité de liaison et d'interaction entre l'Acarbose et l'enzyme alpha-amylase en 3D et 2D.....	45
Figure 8	L'affinité de liaison et d'interaction entre Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate et l'enzyme alpha-amylase en 3D et 2D.....	46
Figure 9	L'affinité de liaison et d'interaction entre Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl) et l'enzyme alpha-amylase en 3D et 2D.....	47
Figure 10	Toxicités des composés réaliser par PROTOX-II.....	51

## Liste des abréviations

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolite, Excrétion et Toxicité

ARG : Arginine

ASP : Aspartate

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

CPG-MS : Chromatographie en phase gazeuse -MS : Spectrométrie de masse

DNID : Diabète Non Insulinodépendant

DPP-4 : dipeptidylpeptidase-4

DS : Discovery Studio

DT2 : Diabète Type 2

GLN : Glutamine

GLP-1 : Glucagon-Like Peptide-1

GLU : Glutamate

Gly : Glycine

LD50 : Dose létale médiane

MODY : MaturityOnset Diabètes of the Young

nHA : Nombre de donneurs d'hydrogène (Number of Hydrogen Acceptors)

nHD : Nombre d'accepteurs d'hydrogène (Number of Hydrogen Donors)

nRot : Nombre de liaisons de rotation (Number of Rotatable Bonds)

NIH : National Institutes of Health

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PDB : Protein Data Banck

PM : Poids Moléculaire

PROTOX-II : prédiction de toxicité

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SA : Synthesis Accessibility

SER : Sérine

SGLT2 : Co-Transporteur Sodium/Glucose Type 2

THR : Thréonine

TPSA : topological polar surface area

TRP : Tryptophane

TYR : Tyrosine

VD : Volume de distribution

T1/2 : Demi-vie (Half-life)

## Introduction

---

Depuis les trente dernières années, le processus de recherche et développement (R&D) au sein de l'industrie pharmaceutique a subi des transformations majeures. En particulier, le « Waxman-Hatch Act » en 1984 a stimulé l'innovation pharmaceutique tout en facilitant l'entrée des génériques sur le marché. Cette législation a inauguré une nouvelle ère où les produits ont des cycles de vie plus courts, rendant indispensable l'augmentation du nombre de molécules innovantes pour répondre aux besoins croissants en alternatives thérapeutiques [1].

Cependant, la R&D de nouveaux composés semble aujourd'hui ralentir, en partie à cause de contraintes réglementaires de plus en plus strictes et des coûts de développement toujours plus élevés. Les phases de test clinique, essentielles mais coûteuses, représentent une part significative de ces dépenses [2]. Les échecs en fin de tests cliniques, ainsi que les retraits post-commercialisation dus à des problèmes de toxicité, entraînent des pertes financières importantes pour les entreprises. Dans certains cas, des médicaments peuvent être retirés du marché après approbation en raison de toxicités observées lors de la phase de pharmacovigilance (phase 4 du développement clinique), nécessitant des études complémentaires pour prouver leur innocuité [3].

Aujourd'hui, les scientifiques doivent prendre en compte très tôt dans le processus de R&D des aspects comme la commercialisation et la toxicité des molécules. Les méthodes virtuelles, capables de prédire l'affinité des composés, sont de plus en plus utilisées. Des stratégies de criblage virtuel, telles que le docking moléculaire, permettent de concevoir rationnellement des médicaments. Plusieurs médicaments sur le marché ont été découverts grâce à ces techniques, comme des inhibiteurs de l'aldose réductase, des inhibiteurs de la thrombine et d'autres cibles thérapeutiques [2].

Le criblage virtuel présente l'avantage de prédire des molécules en un temps limité, parfois sans avoir à les synthétiser, surtout lorsque les composés proviennent de chimiothèques commerciales. Ce processus commence par un pré-filtrage des chimiothèques selon des règles spécifiques aux médicaments connus, comme la règle de Lipinski (ou « règle des 5 »), qui stipule : une masse molaire  $\leq 500$  g/mol, un  $\text{Log P} \leq 5$ ,  $\leq 10$  accepteurs de liaisons hydrogène, et  $\leq 5$  donateurs de liaisons hydrogène [4].

Notre objectif est de vérifier les résultats obtenus à partir de la plante médicinale *Ammodaucus leucotrichus* via le docking moléculaire. Nous nous concentrons sur les composés majeurs de cette plante et leur interaction avec l'alpha-amylase, une enzyme impliquée dans le traitement du diabète de type 2. Nous prévoyons de prédire leurs propriétés physicochimiques en utilisant des serveurs en ligne afin de valider les résultats du docking moléculaire.

## **Introduction**

---

Ce travail est scindé en trois parties :

Dans la première partie, nous avons mené une recherche bibliographique divisée en deux chapitres.

Le chapitre 1 renferme des généralités de la maladie du diabète et la cible enzymatique alpha-amylase. Chapitre 2 comprend une vue générale sur le docking moléculaire, qui rend possible de déterminer les interactions les plus favorables entre le ligand et son récepteur.

La deuxième partie inclut le matériel et la méthode utilisée pour effectuer le docking moléculaire et l'analyse ADMET.

Dans la troisième partie nous avons présenté les résultats obtenus suivis par une discussion.

Enfin nous avons clôturé notre travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

# **1. Bibliographie**

## **Chapitre 1 : Diabète type 2 et la cible enzymatique**

# 1. Bibliographie

---

## 1. Introduction :

Dans une étude de 216 pays, la Fédération Française des Diabétiques (FFD) a conclu que près de quatre millions de décès dans un groupe des 20 à 79 ans peuvent être diabétiques en 2010, ce qui représente 6,8% de la mortalité globale dans ce groupe d'âge [5]. Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou lorsque le corps ne peut pas utiliser efficacement l'insuline qu'il produit, ce qui entraîne une augmentation de la glycémie. Naturellement, après un repas, le corps transforme la nourriture en glucose, qui est transporté par le sang jusqu'aux toutes les cellules du corps. Ces cellules utilisent l'insuline, une hormone fabriquée par le pancréas, pour convertir le glucose sanguin en énergie. Les personnes atteintes du diabète ont des problèmes à faire la conversion du glucose en énergie, ce qui conduit à la fatigue et aux nombreuses autres complications graves. Le diabète est devenu l'une des maladies les plus critiques dans le monde. En effet, 171 millions de personnes dans le monde souffraient de diabète, en 2000 [6]. Par conséquent, on s'intéresse dans ce travail à l'étude du diabète et plus particulièrement le diabète de type 2.

L'hyperglycémie postprandiale, qui est l'augmentation du taux de sucre dans le sang après un repas, est une caractéristique courante du diabète [7]. L'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase sont des enzymes impliquées dans la digestion des glucides, et l'inhibition de ces enzymes peut aider à abaisser les taux de sucre dans le sang après les repas [8].

Des études ont montré que l'inhibition de l'alpha-amylase peut prévenir l'hyperglycémie postprandiale dans le diabète et d'autres maladies métaboliques [8]. Cependant, la relation précise entre l'alpha-amylase et le diabète reste à déterminer. L'objectif de ce chapitre est d'explorer en détail la relation entre l'alpha-amylase et le diabète. Nous chercherons à comprendre comment l'alpha-amylase influence la glycémie et comment son inhibition pourrait être utilisée pour traiter le diabète.

## 2. Définition

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou lorsque l'organisme ne peut pas utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone produite par le pancréas qui joue un rôle essentiel dans la régulation du taux de sucre dans le sang [9]. L'insuline agit comme une clé, permettant au glucose de passer de la circulation sanguine aux cellules du corps pour produire de l'énergie. Lorsque l'organisme ne produit

# 1. Bibliographie

---

pas suffisamment d'insuline ou ne peut pas l'utiliser efficacement, le glucose reste dans la circulation sanguine, ce qui entraîne une hyperglycémie [10]. L'hyperglycémie, ou taux élevé de sucre dans le sang, est un effet courant du diabète non contrôlé et peut, avec le temps, causer de graves dommages à de nombreux systèmes de l'organisme, en particulier les nerfs et les vaisseaux sanguins. Cela peut entraîner des complications à long terme telles que des maladies cardiaques, des accidents vasculaires cérébraux, des maladies rénales, la cécité et des amputations [9].

Le nombre de personnes diabétiques dans le monde âgé de 20 à 79ans est estimé à 537 millions d'adultes, représentant 10,5% de la population mondiale [11].

## 3. Classification du diabète

### 3.1. Le diabète de type 1

Anciennement appelé insulino-dépendant ou juvénile [12]. Caractérisé par une carence importante en sécrétion d'insuline, provoquée par la destruction progressive, sélective et irréversible des cellules insulino-sécrétrices : les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans [13].

### 3.2. Le diabète de type 2

Le diabète non insulino-dépendant, c'est l'une des formes de diabète sucré les plus courantes dans le monde [12]. Cette maladie survient lorsqu'il ya un manque de sécrétion d'insuline par rapport aux besoins de l'organisme "insulinopénie" et/ou lorsqu'il y a un défaut d'utilisation de l'insuline par l'organisme "insulino-résistance" [14-15]. Il diffère beaucoup du diabète type 1 sur le plan clinique, car l'apparition de la maladie est lente et généralement à un âge plus avancé [13].

### 3.3. Le diabète gestationnel

Aux premiers stades de grossesse, la masse et la fonction de la cellule bêta pancréatique maternelle sont déjà augmentées avant l'élévation physiologique de la résistance à l'insuline. Pour compenser l'augmentation de la résistance à l'insuline, en cas d'inefficacité de l'insuline une hyperglycémie maternelle et s'ensuit, c'est-à-dire un diabète sucré gestationnel [16].

### 3.4. Autres types du diabète

- Le diabète MODY (Maturity-Onset Diabètes of the Young) [17]
- Le diabète LADA (Latent Auto-immune Diabètes in Adults) [18].

# 1. Bibliographie

---

- Diabète médicamenteux [19].

## 4. Physiopathologie du diabète

### 4.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 est en effet une maladie auto-immune dans laquelle le système immunitaire attaque et détruit les cellules bêta du pancréas, qui produisent l'insuline. Cette destruction entraîne une carence en insuline, ce qui empêche le sucre (glucose) d'entrer dans les cellules pour être utilisé comme source d'énergie, entraînant ainsi une accumulation de glucose dans le sang. Les niveaux élevés de glucose dans le sang peuvent endommager les vaisseaux sanguins, les nerfs et les organes, ce qui peut entraîner de graves complications de santé [20].

### 4.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 se développe progressivement sur de nombreuses années en trois étapes. Tout d'abord, il y a l'insulino-résistance, où les cellules du corps deviennent moins sensibles à l'insuline, souvent exacerbée par un excès de tissu adipeux en cas de prise de poids et d'obésité. Ensuite, survient l'hyperinsulinisme, où le pancréas produit plus d'insuline pour compenser cette résistance. Enfin, après plusieurs années (10 à 20 ans), le pancréas peut s'épuiser et ne plus être en mesure de produire suffisamment d'insuline, entraînant ainsi une insulino-déficience [21].

## 5. Traitement actuel du diabète

### 5.1. Traitement du diabète type 1

L'insulinothérapie est cruciale pour les personnes atteintes de diabète de type 1, car elles ont besoin d'insuline pour réguler leur glycémie et survivre. Il existe différents types d'insuline, chacun ayant un début d'effet, un pic d'intensité et une durée différente. L'insuline à action rapide agit rapidement, atteint son pic en 30 minutes à une heure et diminue après 2 à 4 heures, tandis que l'insuline à action intermédiaire commence plus lentement, atteint son pic en 4 à 12 heures et peut durer jusqu'à 18 heures. L'insuline à action prolongée agit lentement et fournit une libération constante sur 24 heures. Les combinaisons d'insuline à action intermédiaire ou longue avec action rapide couvrent les besoins à court et à long terme. Ces choix thérapeutiques doivent être adaptés à chaque individu en fonction

# 1. Bibliographie

---

de nombreux facteurs, et une surveillance régulière par un professionnel de la santé spécialisé est essentielle [22].

## 5.2. Traitement du diabète type 2

Le traitement du diabète de type 2 repose également sur plusieurs principes clés. L'éducation thérapeutique est essentielle pour aider les patients à comprendre leur maladie et à adopter des comportements sains. Les règles hygiéno-diététiques jouent un rôle crucial, notamment en suivant un régime alimentaire équilibré, en faisant de l'exercice régulièrement et en évitant le tabagisme et l'alcool. La surveillance régulière de la glycémie, de la pression artérielle et du cholestérol est importante pour contrôler la maladie et prévenir les complications. Enfin, l'administration de médicaments, tels que des antidiabétiques oraux ou de l'insuline, peut être nécessaire pour contrôler la glycémie. Il est important que ces mesures soient adaptées à chaque patient en fonction de ses besoins spécifiques [23].

### 5.2.1. Traitements non médicamenteux

Le traitement non médicamenteux du diabète de type 2 peut jouer un rôle crucial dans le contrôle de la glycémie. Les mesures diététiques, telles qu'un régime alimentaire équilibré et contrôlé en glucides, peuvent aider à maintenir des niveaux de sucre dans le sang stable. L'activité physique régulière est également importante, car elle peut améliorer la sensibilité à l'insuline et aider à contrôler le poids. Ces approches non médicamenteuses peuvent souvent être aussi efficaces que les médicaments pour contrôler le diabète de type 2, et elles sont souvent recommandées en première intention, en particulier pour les patients nouvellement diagnostiqués ou ceux dont le diabète est bien contrôlé [24].

### 5.2.2. Traitements médicamenteux

#### 5.2.2.1. Antidiabétiques oraux

##### a. Insulinosensibilisateurs

Les biguanides, comme la metformine, sont des antidiabétiques oraux qui agissent en améliorant l'efficacité de l'insuline. La metformine, le représentant le plus courant de cette classe, abaisse la glycémie en inhibant la production de glucose par le foie (glycogénolyse hépatique), en augmentant la sensibilité à l'insuline et en favorisant l'absorption périphérique du glucose par les muscles, sans

# 1. Bibliographie

---

affecter la glycogénolyse. Ces médicaments sont largement prescrits dans le traitement du diabète de type 2 en raison de leur efficacité et de leur profil de sécurité favorable [25].

## b. Insulinosécréteurs

Les insulinosécréteurs comprennent deux familles d'antidiabétiques oraux qui stimulent la libération d'insuline par le pancréas en grande quantité : les sulfamides hypoglycémiants et les glinides. Les sulfamides hypoglycémiants, tels que le gliclazide, le glimépiride et le glibenclamide, ainsi que les glinides, tels que le repaglinide, agissent en stimulant la sécrétion d'insuline par les cellules bêta pancréatiques. Les sulfamides hypoglycémiants ont une action plus prolongée que les glinides, qui ne couvrent que la période postprandiale. Cependant, il est important de noter que les deux types de médicaments peuvent entraîner des hypoglycémies et favoriser la prise de poids. Il est donc crucial de surveiller attentivement la glycémie et d'ajuster le traitement en conséquence pour éviter ces effets indésirables [26].

### 5.2.2.2. Les médicaments qui réduisent l'absorption des sucres

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase, tels que l'acarbose, sont des médicaments qui réduisent l'absorption des sucres dans l'intestin en inhibant l'enzyme alpha-glucosidase. L'acarbose est un inhibiteur de l'alpha-glucosidase d'origine bactérienne utilisé cliniquement dans le traitement des patients atteints de diabète de type 2. Ces médicaments sont souvent prescrits en complément d'un régime alimentaire pour aider à contrôler la glycémie en limitant l'absorption des glucides complexes, ce qui peut aider à réduire les pics de glycémie après les repas. Il est important de noter que ces médicaments peuvent entraîner des effets secondaires gastro-intestinaux tels que des ballonnements, des flatulences et des diarrhées, et qu'ils doivent être pris avec les repas pour être efficaces [27].

### 5.2.2.3. Les médicaments qui agissent par le biais des incrétines

Deux familles d'antidiabétiques agissent par le biais des incrétines :

a) Les inhibiteurs de la dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4), également appelés gliptines, ont pour rôle d'inhiber l'activité de la DPP-4, une enzyme qui détruit le GLP-1 (glucagon-like peptide-1). Cela entraîne une augmentation de l'insulinosécrétion en fonction de la glycémie, ainsi qu'une diminution de la glycémie postprandiale.

# 1. Bibliographie

---

b) Les analogues du GLP-1 augmentent la sécrétion d'insuline en réponse à la glycémie, réduisent la sécrétion de glucagon, ralentissent la vidange gastrique, renforcent la sensation de satiété et diminuent les prises alimentaires. Ces médicaments agissent de manière similaire au GLP-1 naturellement produit par le corps, mais ils sont plus stables et ont une durée d'action prolongée. Ces deux classes de médicaments sont utilisées dans le traitement du diabète de type 2 pour aider à contrôler la glycémie [28].

## 5.2.2.4. Les médicaments qui favorisent l'élimination des sucres

Les inhibiteurs du co-transporteur sodium-glucose de type 2 (SGLT2), également appelés gliflozines, bloquent l'action de la protéine SGLT2, qui est responsable de la réabsorption rénale du glucose. En bloquant cette protéine, ces médicaments favorisent l'élimination du glucose dans l'urine, ce qui contribue à réduire les niveaux de sucre dans le sang. Les gliflozines sont utilisées dans le traitement du diabète de type 2 pour aider à contrôler la glycémie [29].

L'insulinothérapie est souvent nécessaire lorsque les traitements oraux ne parviennent pas à contrôler efficacement la glycémie chez les personnes atteintes de diabète de type 2. Dans ces cas, le médecin peut prescrire des injections d'insuline pour aider à réguler les niveaux de sucre dans le sang. Ces injections fournissent à l'organisme l'insuline dont il a besoin pour traiter le glucose correctement, compensant ainsi l'insuffisance de production d'insuline par le pancréas. Il est important que l'insulinothérapie soit surveillée de près par un professionnel de la santé pour ajuster les doses en fonction des besoins individuels et pour prévenir les complications éventuelles [30].

## 6. Les $\alpha$ -amylases

Les  $\alpha$ -amylases sont des enzymes ubiquitaires de différentes sources animales, végétales et microbiennes de sources bactériennes et/ou fongiques. Le marché mondial des enzymes est représenté par 80% des hydrolases, particulièrement les amylases et les protéases. Les  $\alpha$ -amylases sont parmi les plus importantes enzymes à l'échelle industrielle, ce qui les rendent l'un des outils-clés des biotechnologies [31].

### 6.1. Définition et nomenclature

L' $\alpha$ -amylase (1,4-glucan-4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) est une enzyme clé du système digestif sécrétée par les glandes pancréatiques et salivaires chez les mammifères. C'est une macromolécule appartenant à la classe des hydrolases qui catalyse l'étape initiale d'hydrolyse des

# 1. Bibliographie

---

liaisons  $\alpha$ -1,4-glycosidiques dans l'amidon, le glycogène, et d'autres oligo et polysaccharides [32]. Les  $\alpha$ -amylases pouvant être divisées en deux catégories endomylases et exomylases. Les endomylases catalysent l'hydrolyse à l'intérieur de la molécule d'amidon d'une manière aléatoire (tableau1). Cette action provoque la formation d'oligosaccharides linéaires et ramifiés de diverses longueurs de chaîne. Les exomylases hydrolysent l'extrémité non réductrice, pour donner successivement des produits finaux plus courts [33].

**Tableau 1.** Différentes nomenclatures d' $\alpha$ -amylase [31]

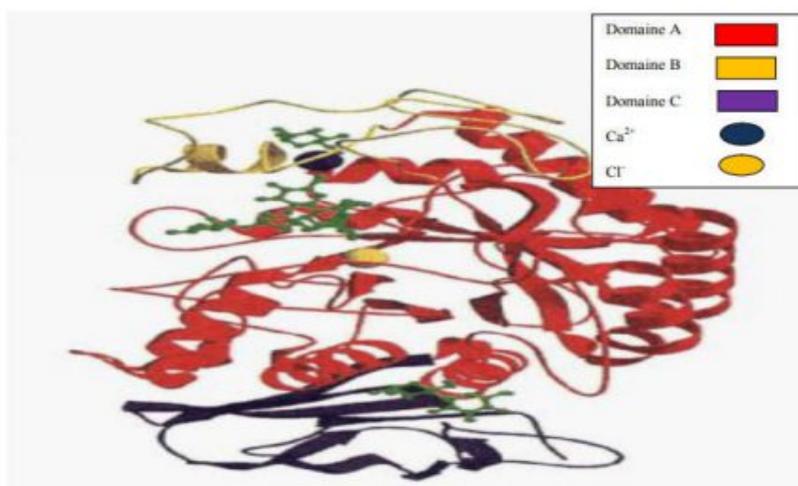
Nom systématique	
Nom codifié	EC 3.2.1.1
Nom recommandé	$\alpha$ - amylase
Autres noms	endoamylase, thermolase, amylotherm, amylopsin, ptyalin

## 6.2 Structure et mode d'action

Les  $\alpha$ -amylases sont des glycoprotéines renfermant 478 acides aminés forment huit feuillets  $\beta$  plissés et huit hélices  $\alpha$  [32] répartis en deux domaines globulaires appelés A (1-380 résidus) forme un tonneau ( $\beta / \alpha$ ) 8 et B (381-478 résidus) forme une boucle à partir du milieu du domaine A (figure1). Ces domaines sont associés par une chaîne polypeptidique constituée principalement par des résidus hydrophobes. Il existe d'autre domaine C lié au domaine A par une chaîne polypeptidique simple et semble être un domaine indépendant avec une fonction inconnue. Les résidus constituant le site de fixation du substrat, ainsi que ceux constituant le site catalytique sont localisés dans le domaine A, dont la partie glucidique est formée principalement, de D-mannose, D-glucose, D-galactose, D-xylose, et D-glucosamine [31]. Les  $\alpha$ -amylases sont des métallo enzymes à calcium (union calcium par molécule) . Ces ions sont nécessaires à l'activité enzymatique et au maintien de la stabilité de la structure en acides aminés de l'enzyme [33].

# 1. Bibliographie

---



**Figure1.** Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -amylase [34]

L' $\alpha$ -amylase d'origine végétale, animale ou microbienne, agit sur les polysaccharides (amidon, glycogène) et les oligosaccharides. Elle hydrolyse les liaisons glucosidiques  $\alpha$  (1-4) de l'amidon et des substrats relatifs [34]. Son action peut se faire de différentes façons:

- . Une attaque aléatoire, en coupant les liaisons alpha (1-4) à partir de l'extrémité non réductrice. Il en résultera, la formation de glucose, de maltose et surtout d' $\alpha$  dextrines [34].
- . Mécanisme uni-chaîne où l' $\alpha$ -amylase dégrade une chaîne avant de passer à l'autre [35].
- . Mécanisme multi-chaîne, la dégradation des chaînes est simultanée [35].
- . Attaque multiple ou répétitive, le déplacement de l'enzyme, fixée tout au long de la chaîne, conduit à plusieurs hydrolyses avant la dissociation du complexe enzyme substrat [35].

La réaction catalytique est réalisée en trois étapes (figure 2) avec participation d'un nombre important de groupements chargés, dont trois acides aminés essentiels à l'activité catalytique de l' $\alpha$ -amylase : Asp 231, Glu 261 et Asp 328 [36].

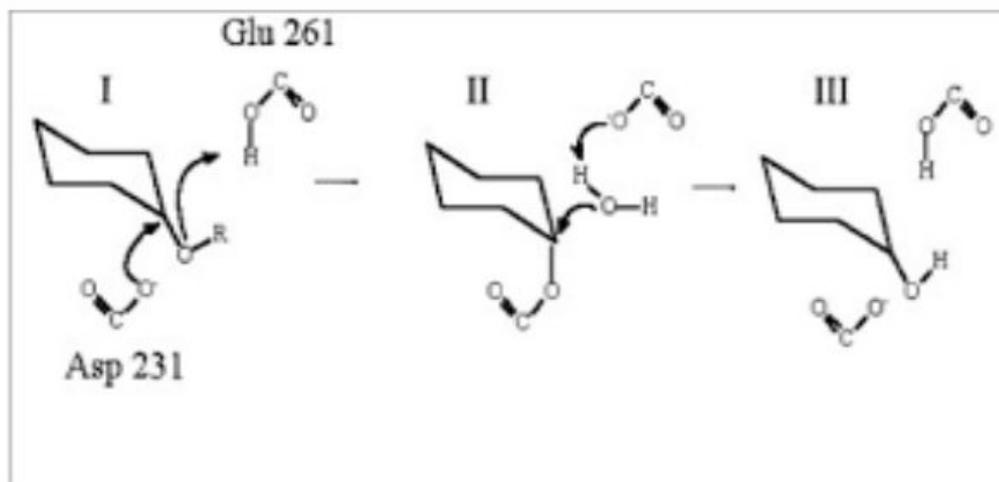
1- Protonation de l'oxygène glycosidique par le donneur de proton (Glu 261). Celle-ci, est suivie d'une attaque nucléophile, sur le C1 du résidu du sucre en position 1 par l'Asp 231 et départ de la pièce d'aglycone [36].

2- Activation d'une molécule d'eau, vraisemblablement par le maintien du Glu 261 déprotonné [36].

## 1. Bibliographie

---

3 - Hydrolyse du lien covalent entre l'oxygène nucléophile de l'Asp 231 et le C1 du résidu du sucre en position 1, permettant l'accomplissement du cycle catalytique [36].



**Figure 2.** Les trois étapes de la réaction catalytique de l' $\alpha$  amylase [36]

### 6.3 Différentes origines d' $\alpha$ -amylase

Les  $\alpha$ -amylases sont abondantes dans tous les règnes, elles ont été isolées par extraction à partir des tissus végétaux et animaux ou par fermentation avec des cellules microbiennes [37].

#### 6.3.1 Origine végétale

Les  $\alpha$ -amylases végétales possèdent une importance primordiale dans le métabolisme glucidique ou elles participent à la conversion de l'amidon en le réduisant en sucres réducteurs qui sont la source énergétique nécessaire à la germination. Ces enzymes végétales sont synthétisées par un mécanisme cellulaire compliqué, au cours de la germination des graines qui requiert une activité enzymatique très importante pour la mobilisation des réserves et le développement de l'embryon [38].

#### 6.3.2 Origine animale

L' $\alpha$ -amylase animale est généralement extraite de la salive humaine et du pancréas des mammifères tels que les porcs et les veaux. Chez l'homme, l' $\alpha$ -amylase est largement présente dans

# 1. Bibliographie

---

les sécrétions salivaires ( $\alpha$ -amylase S) et pancréatiques ( $\alpha$ -amylase P). Les  $\alpha$ -amylases animales sont incapables d'hydrolyser la liaison alpha (1 $\rightarrow$ 6) de l'amylopectine ou du glycosyl oligosaccharides, l'hydrolyse complète de l'amylose et de l'amylopectine par les  $\alpha$ -amylases animales donne respectivement du maltose et du D-glucose pour l'amylose et du glucose, maltose et des dextrans limites pour l'amylopectine [39].

## 6.3.3 Origine microbienne

Les  $\alpha$ -amylases microbiennes ont été largement utilisées pour la production industrielle, à savoir les  $\alpha$ -amylases fongiques et bactériennes. Parmi les bactéries amylolytiques on trouve celles du genre *Bacillus*; à savoir *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis* et *B. amyloliquefaciens* sont connus pour être de bons producteurs d'une  $\alpha$ -amylase et ceux-ci ont été largement utilisés à des fins commerciales. De même, les champignons filamenteux ont été largement utilisés pour la production des  $\alpha$ -amylases depuis des siècles. Etant donné que ces espèces sont connues pour être des producteurs de protéines extracellulaires, ils sont largement exploités pour la production des enzymes différentes, y compris l' $\alpha$ -amylase [40].

## 6.4 Caractéristiques générales

Pour qu'une enzyme réponde aux exigences potentielles en vue d'une production industrielle, il est nécessaire de déterminer les propriétés de cette enzyme (tableau 2).

### 6.4.1 Température optimale

En général, les  $\alpha$ -amylases ont une température optimale comprise entre 25°C et 70 °C, avec une grande stabilité thermique pour les  $\alpha$ -amylases bactériennes. La température optimale des  $\alpha$ -amylases bactériennes, varie de 50°C à 90°C. Cependant la température optimale des  $\alpha$ -amylases fongiques varie de 40°C à 60°C [41].

### 6.4.2 pH optimal

Les  $\alpha$ -amylases sont généralement stables dans une gamme de pH de 4 à 9, avec un optimum variant de 4 à 5 pour les  $\alpha$ -amylases fongiques, et un optimum supérieur à la neutralité, soit 6 à 8.5 pour les  $\alpha$ -amylases bactériennes. Le pH optimal pour l'amylase pancréatique et salivaire varie selon les auteurs, mais une majorité convient qu'il se situe autour de 6,9 avec une variation pouvant s'échelonner de 6,5 et 7,2 [41].

# 1. Bibliographie

---

Tableau 2. Quelques propriétés des  $\alpha$ -amylases [42]

Enzymes d'origine	Exemples	Poids moléculaire(Da)	pH optimal	Température optimale (°C)
Animal	Salive humaine	50 000	6,9	40
Animal	Pancréas de porc	50 000	6,9	37
Végétale	Malt d'orge	59 500	4,7-5,4	50-55
Végétale	Blé	59 500	4,6	60-66
Microbienne	Bacillus coagulans	49 000	5,2	57
Microbienne	Aspergillus oryzae	52 600	5,5-6,9	40

## 6.5 Activateurs et inhibiteurs de l' $\alpha$ -amylase

La régulation de l'activité enzymatique peut être assurée par des composés appelés effecteurs (activateurs ou inhibiteurs) qui agissent directement ou indirectement sur le site actif de l'enzyme [43]. Les inhibiteurs sont généralement des molécules de structure voisine du substrat, qui ne donnent pas de réaction ou réagissent beaucoup plus lentement que le substrat. L'étude de l'effet d'inhibiteur est utilisée pour déterminer le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, de mieux connaître la spécificité d'une enzyme ainsi qu'obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif de l'enzyme [43].

## 1. Bibliographie

---

Les ions  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , et  $\text{Hg}^{2+}$  sont donc des inhibiteurs compétitifs (analogues structuraux aux activateurs [44]). Les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  sont des activateurs de l' $\alpha$ -amylase car ils font partie du site actif où ils participent à la stabilité structurale de l'enzyme (tableau 3) [44]

**Tableau 3.** Activateurs et inhibiteurs inorganiques et organiques de l' $\alpha$ -amylase salivaire [45].

	<b>Activateur</b>	<b>Inhibiteur</b>
<b>Activateurs et inhibiteurs inorganiques</b>	Chlorures, Bromures, Nitrates, Iodures, Phosphates, Calcium, Magnésium	Mercure, Fer, Argent, Cuivre
<b>Activateurs et inhibiteurs organiques</b>	Acétyl choline, Albumine	Acarbose, Miglitol, Voglibose, Maltose, D-glucose, D-xylose, Citrate, Oxalate

## **Chapitre 2. Docking Moléculaire**

# 1. Bibliographie

---

## 1. Introduction

L'interaction entre les molécules est fondamentale pour la plupart des mécanismes biologiques. Les détails de ces interactions peuvent être étudiés par cristallographie aux rayons X ou par résonance magnétique nucléaire (RMN) [46]. Toutefois, ces techniques ne peuvent pas décrire en détail toutes les interactions moléculaires en raison de la diversité des molécules dans une cellule. Le docking moléculaire vise à prédire la structure des complexes moléculaires à partir de molécules isolées. Comparé aux méthodes expérimentales, le docking est facile à mettre en œuvre, abordable et rapide [47].

Les logiciels de docking sont des outils précieux en biologie, pharmacie et médecine, car ils permettent de prédire les interactions entre de petites molécules (ligands) et des cibles biologiques d'importance thérapeutique. Ce mémoire utilise le docking pour la conception de nouvelles molécules actives, en présentant les enjeux du docking, les solutions courantes et leurs performances actuelles, ainsi que deux applications dans le développement de médicaments [48].

La première étape du docking consiste à obtenir la structure du récepteur par cristallographie aux rayons X, RMN ou modélisation. Une validation rigoureuse est nécessaire pour s'assurer que la structure est biologiquement pertinente. Cela inclut la vérification des contacts cristallins et la qualité atomique de la structure. La flexibilité de la structure cible, indiquée par un facteur B élevé ou des conformations multiples identifiées par RMN, doit également être prise en compte [49].

Lors de la préparation de la structure pour le docking, il est crucial de résoudre les problèmes de clashes stériques et de considérer les états de protonation. La conformation initiale du ligand est généralement modifiée et optimisée durant le docking [50]. Une fois les structures préparées, des paramètres spécifiques sont fournis au logiciel de docking, qui propose ensuite des modes d'interactions potentiels. Ces interactions peuvent être utilisées de diverses manières pour développer de nouveaux médicaments et comprendre les mécanismes biologiques [51].

## 2. Docking moléculaire

L'amarrage moléculaire, ou docking, est une technique de modélisation utilisée pour prédire l'ancrage de petites molécules dans les poches ou sites actifs de cibles biologiques potentielles [52]. Cette méthode évalue les affinités de liaison en utilisant des calculs d'énergie libre, ce qui facilite la sélection de molécules prometteuses lors du criblage virtuel de vastes bases de données [52]. Le docking est largement employé en pharmacologie et en chimie médicinale pour concevoir de nouveaux

# 1. Bibliographie

---

médicaments et prédire leurs interactions avec des cibles biologiques spécifiques. Grâce à cette approche, les chercheurs peuvent identifier et optimiser des candidats médicamenteux de manière plus efficace, accélérant ainsi le processus de découverte de médicaments [53].

## 3. Les Types de docking moléculaire

Il existe trois principaux types d'ancrage moléculaire [54] :

3.1. Docking rigide (ou star): Les conformations des ligands sont fixes pendant le processus de docking. Cela signifie que la structure du ligand n'est pas modifiée pour s'adapter à la cible.

3.2. Docking semi-flexible: Seul le ligand est autorisé à adopter différentes conformations pendant le processus de docking, tandis que la cible reste rigide.

3.3. Docking flexible (ou flexible-in-flexible): À la fois la cible et le ligand peuvent adopter différentes conformations pendant le processus de docking. Cela permet de mieux prendre en compte les changements conformationnels qui peuvent se produire dans la cible lors de l'interaction avec le ligand.

## 4. Les outils du docking moléculaires

### 4.1. Le récepteur

La première grande approche de l'étude et de la conception de molécules bioactives à l'aide de la modélisation moléculaire est celle basée sur la structure des récepteurs. Cette approche repose sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible [55]. Trois méthodes expérimentales sont actuellement utilisées pour déterminer la structure des protéines : la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie aux rayons X. Cette dernière technique est à l'origine de la majorité des études sur la structure des protéines. Cette dernière technique est à l'origine de la majorité des structures contenues dans une base de données connue sous le nom de Protein Data Bank (PDB). La PDB est un dépôt mondial d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de tous les règnes biologiques. La PDB est librement accessible via Internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Elle contient plusieurs milliers de structures de protéines obtenues soit par cristallographie aux rayons X, soit par RMN [56]. Si la cible n'a pas encore été déposée dans la bibliothèque et que celle-ci contient une

# 1. Bibliographie

---

protéine avec des séquences similaires, la modélisation homologique est utilisée pour construire la structure 3D de la cible désirée [57].

## 4.2 Le ligand

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules. Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique (ZINC, ChEMBL DrugBank, PubChem, CHEMBRIDGE Database...ect) (tableau 4) .Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl...etc [58].

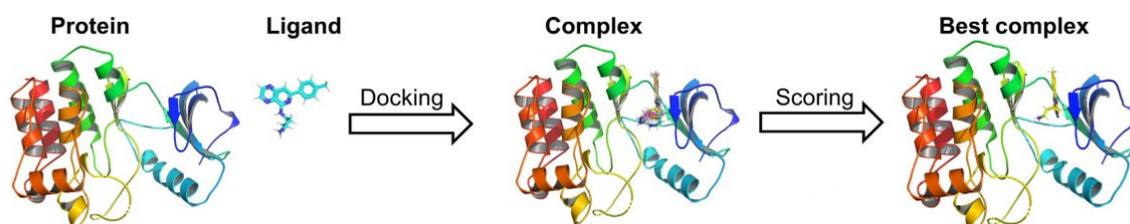
**Tableau 4.** Liste de bases de données disponibles pour les ligands [59]

Database	
<b>ZINC</b> <a href="https://zinc.docking.org/">https://zinc.docking.org/</a>	Une base de données gratuite de composés disponibles dans le commerce et annotés pour le criblage virtuel. ZINC contient plus de 736 millions de composés de type plomb, dont 509 millions sont en formats 3D prêts à être dockés. ZINC contient également plus de 1,3 milliard de composés acheteables que vous pouvez rechercher rapidement pour trouver des analogues.
<b>ChEMBL</b> <a href="https://www.ebi.ac.uk/chembl/">https://www.ebi.ac.uk/chembl/</a>	ChEMBL fournit des informations complètes sur 1 million de composés bioactifs (petites molécules similaires à des médicaments) avec 8 200 cibles médicamenteuses.
<b>DrugBank</b> <a href="https://www.drugbank.com/">https://www.drugbank.com/</a>	La base de données combine des informations détaillées sur les médicaments avec des informations complètes sur les cibles médicamenteuses. Elle contient 6 712 entrées de médicaments, y compris 1 448 petites molécules approuvées par la FDA, 131 médicaments biotechnologiques (protéines/peptides) approuvés par la

	FDA, 85 nutraceutiques et 5 080 médicaments expérimentaux.
<b>PubChem</b> <a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a>	base de données de molécules chimiques contenant trois types d'informations : substance, composé et essais biologiques
<b>Chembridge</b> <a href="https://www.chembridge.com/">https://www.chembridge.com/</a>	Contient 1 million de composés similaires à des médicaments composés dans 2 collections qui ne se chevauchent pas, respectivement 460 000 et 620 000 composés, couvrant différents espaces chimiques et personnalisables pour créer des bibliothèques diversifiées, des bibliothèques ciblées (bibliothèques KINASet, CNS-Set et IONSet) et des bibliothèques de fragments, qui peuvent être achetées sur demande.  peuvent être achetées sur demande.

#### 4.3. Un programme de docking moléculaire

L'amarrage moléculaire comporte deux étapes complémentaires. La première consiste à rechercher des conformations de ligands capables d'établir des interactions idéales avec le récepteur. La seconde est une fonction de notation qui permet d'évaluer ces conformations par un calcul rapide de leur énergie d'interaction avec le récepteur (figure 3)[59].



**Figure 3.** les étapes de docking moléculaire [59]

L'étape de docking moléculaire est réalisée grâce au sous-programme AutoDock. Est une suite d'outils de docking automatisés. Il est conçu pour prédire comment de petites molécules, telles que des substrats ou des médicaments candidats, se lient à un récepteur de structure 3D connue [60]. Deux logiciels d'autodock :

##### 4. 3.1. Autodock vina

AutoDock Vina (Vina) est l'un des programmes de docking de la suite AutoDock, aux côtés de AutoDock4 (AD4), AutoDock-GPU, AutoDockFR et AutoDock-CrankPep. Vina est sans doute l'un

# 1. Bibliographie

---

des programmes les plus utilisés, probablement en raison de sa facilité d'utilisation et de sa rapidité, comparé aux autres programmes de docking de la suite et d'ailleurs, ainsi que de son caractère open source [61].

Dernières Méthodes de Docking par AutoDock Vina sont :

## 4.3.1.1. Docking Simultané de Multiples Ligands

Vina est désormais capable de réaliser le docking simultané de plusieurs ligands. Cette fonctionnalité peut être appliquée à la conception de médicaments basée sur des fragments, où de petites molécules se liant à la même cible peuvent être agrandies ou combinées en des composés plus grands avec une affinité potentiellement meilleure (figure 4A) [62].

## 4.3.1.2. Docking Hydraté

Le docking hydraté modélise les molécules d'eau impliquées dans l'interaction ligand-récepteur. Les ligands sont hydratés avec des molécules d'eau et leur position et rôle peuvent être prédits pour améliorer les prédictions de pose de ligand. Les molécules d'eau, représentées par un atome W, sont ajoutées au ligand à chaque liaison hydrogène. Ils se déplacent avec le ligand sans interactions internes et peuvent se superposer à la protéine (figure 4B) [63].

## 4.3.1.3. AutoDock4<sub>Zn</sub>

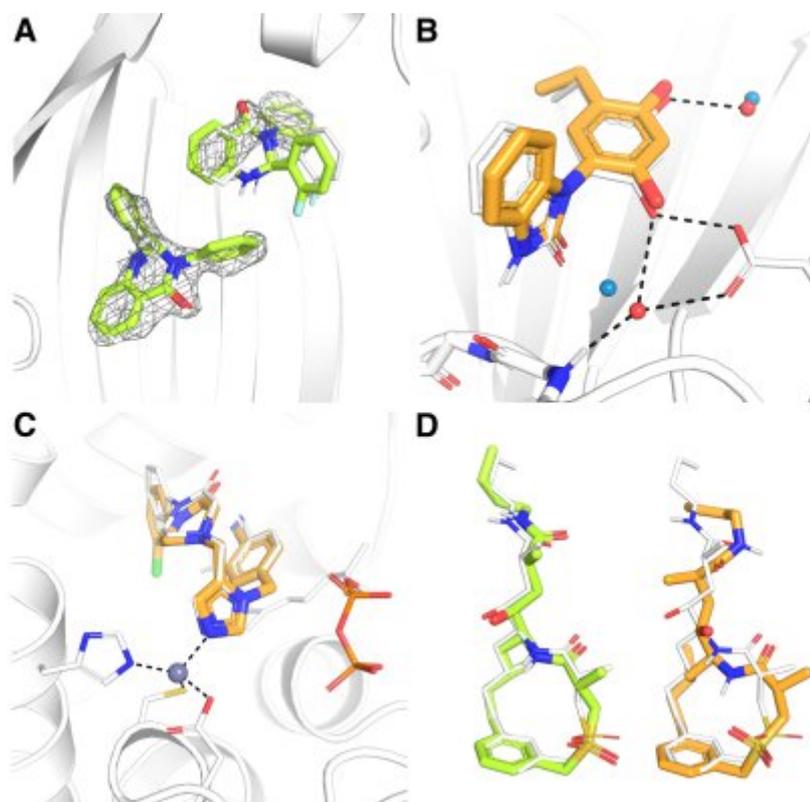
AutoDock4<sub>Zn</sub> est l'un des méthodes les plus utilisées développées pour AD4. Il s'agit d'un champ de force spécialisé pour modéliser les ligands coordonnant le zinc. Ce champ de force utilise des pseudo-atomes pour décrire la géométrie de coordination tétraédrique optimale de l'ion zinc complexé dans les protéines, ainsi que des potentiels améliorés pour décrire son interaction avec les éléments de coordination dans le ligand (azote, oxygène et soufre). La géométrie de coordination est codée dans les cartes de grille pour les types d'atomes AD4 standard. Les résultats de l'implémentation de cette méthode dans Vina montrent une excellente superposition avec la pose cristallographique du ligand et une géométrie de coordination du zinc optimale, reproduisant ainsi les performances de docking améliorées rapportées pour le travail original avec AD4 (figure 4C) [64].

# 1. Bibliographie

---

## 4.3.1.4. Macrocycle Conformationnel

Le docking des macrocycles est complexe en raison de leur flexibilité d'anneau. AutoDock4 (AD4) propose un protocole spécialisé pour ce type de docking, où une liaison de l'anneau est temporairement rompue pour faciliter l'échantillonnage des conformations. Cette méthode a été implémentée dans AutoDock Vina 1.2.0 avec succès. Elle consiste à ajouter des atomes factices pour restaurer la liaison rompue pendant le docking. Cette approche a été testée avec succès sur 19 macrocycles (figure 4D) [64].



**Figure 4.** Exemples d'applications d'AutoDockVina 1.2.0 pour le docking (A) de multiples ligands (PDB 5x72), (B) avec des molécules d'eau en utilisant le protocole de docking hydraté d'AutoDock4 (PDB 4ykq), (C) en présence de zinc en utilisant le champ de force AutoDock4Zn (PDB 1s63), ou (D) de macrocycles flexibles [64].

## 4. 3.2 Autodock tools

AutoDockTools (ADT), construit sur les méthodes graphiques modulaires de MGLTools, a rempli cette fonction pour les différentes versions d'AutoDock. Il fournit des outils graphiques pour

# 1. Bibliographie

---

ajouter des hydrogènes, définir l'articulation des ligands, préparer les parties flexibles et rigides des récepteurs, créer des fichiers de commande et analyser les résultats des simulations de docking. Cependant, ADT est principalement destiné aux utilisateurs expérimentés en modélisation moléculaire et en méthodes de docking, avec de nombreuses fonctionnalités d'AD4 exposées pour permettre la personnalisation pour des applications complexes [65].

## 5. Les interactions entre le ligand et le récepteur

Les interactions entre une protéine et un ligand sont en général de nature non covalente. L'énergie libre de Gibbs 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<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>)

T: Température (K)

K<sub>i</sub>: constante d'inhibition

La grandeur du  $\Delta G$  en solution aqueuse est comprise entre -10 et -70 KJ/mol.

Les composantes de l'énergie libre sont :

- la complémentarité géométrique, stérique et de surface entre le ligand et le récepteur
- les contacts présents entre deux régions lipophiles des deux entités.
- les liaisons hydrogène

Les molécules d'eau dans les cavités des protéines peuvent parfois être un élément fondamental. Elles sont capables d'assurer le relais entre le récepteur et le ligand et ainsi créer des réseaux de liaisons hydrogène [2].

# 1. Bibliographie

---

Le processus de scoring

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [66] :

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

En pratique, le score issu du docking représente une estimation de l'affinité entre une macromolécule et une petite molécule organique. Il ne prédit pas directement une activité biologique, mais plutôt une affinité de liaison. Ainsi, il n'est pas approprié de chercher à corréler ce score avec une activité mesurée. Il est plus pertinent d'établir une corrélation entre les constantes d'inhibition ( $K_i$ ) expérimentales et les scores obtenus *in silico*. Il est important de noter qu'une mauvaise corrélation entre les affinités expérimentales et les scores ne remet pas en question la validité de la fonction de scoring. En effet, les molécules pour lesquelles les affinités sont expérimentalement mesurées ne couvrent qu'une fraction limitée de l'intervalle de scores potentiellement couvert par la fonction de scoring [2].

Les fonctions de scoring sont utilisées de deux manières principales. Tout d'abord, elles aident à sélectionner la conformation la plus appropriée pour représenter le ligand, appelée "première pose". Ensuite, elles permettent de classer ces premières poses pour établir un classement final des molécules les plus prometteuses. Cependant, il reste de nombreuses incertitudes concernant le mécanisme de reconnaissance lors de la formation du complexe, telles que la formation de liaisons hydrogène, les termes entropiques et le rôle des molécules d'eau dans la solvation et la désolvation. Le docking et les fonctions de scoring sont sujets à de nombreuses approximations. Il est en effet impossible d'évaluer toutes les interactions intra et interatomiques de manière exhaustive [66]. Malgré ces limitations, ces méthodes restent utiles pour le criblage virtuel [2].

## 6. Le pharmacophore

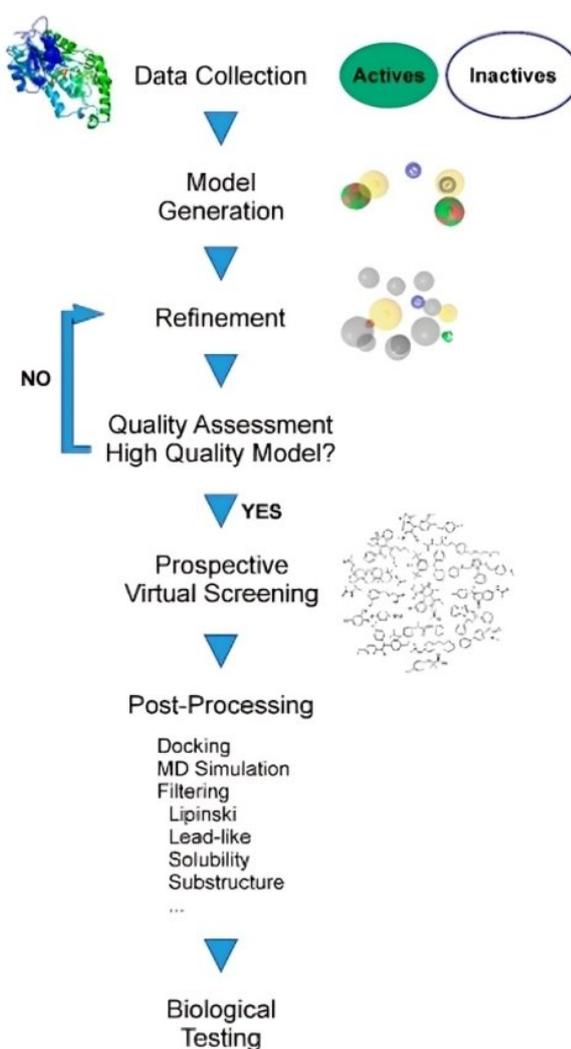
Le pharmacophore est un outil essentiel en chimie médicinale et en conception de médicaments. Il permet de comprendre les interactions clés entre un ligand et sa cible biologique, ce qui est crucial pour concevoir de nouveaux composés pharmaceutiques. En plus des points caractéristiques comme la lipophilie et les sites donneurs/accepteurs de liaisons hydrogène, le pharmacophore peut également inclure des informations sur les contraintes stériques et les interactions ioniques [67].

# 1. Bibliographie

---

Lorsqu'il est combiné avec le docking, le pharmacophore peut aider à rationaliser les résultats du docking en identifiant les interactions clés prédites par le docking. Cela peut améliorer la précision de la prédiction de l'affinité ligand-récepteur et permettre une conception plus efficace de nouveaux médicaments. De plus, le pharmacophore peut être utilisé pour cribler de grandes bases de données de composés afin d'identifier de nouveaux candidats médicamenteux [68].

Le pharmacophore est un outil puissant pour la conception de médicaments qui complète efficacement les méthodes de docking en fournissant des informations précieuses sur les interactions moléculaires clés. Son intégration dans le processus de conception de médicaments peut améliorer l'efficacité et la précision de la découverte de nouveaux médicaments (figure 5) [69].



**Figure 5.** Les différentes étapes successives dans la génération d'un modèle pharmacophore [70]

## **2. Matériel et méthodes**

## 2. Matériel et Méthodes

Dans le cadre de ce travail, nous nous intéressons particulièrement à l'huile essentielle de la plante *Ammodaucus leucotrichus*. Cette plante, connue pour ses propriétés médicinales, pourrait jouer un rôle clé dans le traitement du diabète de type 2 [71]. Notre objectif principal est d'évaluer les interactions moléculaires des composés présents dans cette huile envers l'enzyme alpha-amylase, une cible thérapeutique potentielle pour le traitement du diabète à l'aide d'une méthode de modélisation, le docking moléculaire.

### 1. Les molécules biologiques

Les composés sélectionnés sont les molécules majoritaires de l'extrait huileux d'*Ammodaucus leucotrichus* Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethenyl)-, D-Limonene, Pinene beta, 3-Carene, Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate. L'analyse quantitative et qualitative d'extrait huileux d'*Ammodaucus leucotrichus* par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS) a montré cinq molécules majoritaires, Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethenyl)-, D-Limonene, Pinene beta, 3-Carene et le Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate. (tableau 5).

**Tableau 5.** Liste des substances phytochimiques identifiées dans l'extrait huileux par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Le tableau comprend le nom des composés, les formules chimiques, les poids moléculaires, les temps de rétention et les surfaces des pics.

N°	Nom du composé	Formule chimique	Poids moléculaire (g/mol)	Temp de rétention (min)	Surface des pic (%)
1	Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethenyl)-	<a href="#">C10H14O</a>	150.22	35.21	42.69
2	D-Limonene	<a href="#">C10H16</a>	136.23	17.60	37.13
3	Pinene beta	<a href="#">C10H16</a>	136.23	13.76	2.70
4	3-Carene	<a href="#">C10H16</a>	136.23	16.08	9.21
5	Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate	<a href="#">C11H16O2</a>	180.24	42.86	1.16

## 2. Matériel et Méthodes

---

### 2. Docking moléculaire

#### 2.1. Matériel

- **Micro-ordinateur**

Dans cette étude, nous avons utilisé, un micro-ordinateur :

-Pc SAMSUNG avec une mémoire RAM 8 GO et un processeur Intel(R) Core(TM) i5- 3240 CPU @ 3,40GHz. Windows 10 professionnel.

- **Programmes**

Dans le présent travail, nous avons utilisé les programmes suivants :

- **PyRx**

Un outil de docking moléculaire avec un accès libre, utilise des algorithmes sophistiqués, permet de simuler la liaison entre une protéine et un ligand. De plus, PyRx est un logiciel très utile pour la recherche en pharmacologie et pour la découverte de nouveaux médicaments [72].

- **Discovery Studio 2021**

C'est un outil de visualisation graphique des données de modélisation moléculaire, ce programme a été utilisé afin d'analyser les interactions établies entre enzyme et son inhibiteur [73].

- **GraphPad prism 10**

C'est un logiciel utilisé pour créer des feuilles de calcul, des listes et des graphiques [74].

- **Banques de données et serveurs utilisés**

- **Protein Data Bank (PDB)**

Protein Data Bank est une base de données sur la structure 3D des grandes molécules biologiques, telles que les protéines et les acides nucléiques. Les données, généralement obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN ou, de plus en plus, par cryo-microscopie électronique, sont soumises par des biologistes et des biochimistes du monde entier [75].

- **PubChem**

PubChem une base de données de chimie ouverte des National Institutes of Health (NIH) « Ouvert ». Depuis son lancement en 2004, PubChem est devenu une ressource d'information clé pour les scientifiques, les étudiants et le grand public. Il contient principalement de petites molécules, mais aussi des molécules plus grosses comme les nucléotides, les glucides, les lipides, les peptides et les macromolécules chimiquement modifiées, et recueille des informations sur les structures chimiques, les identifiants, les propriétés chimiques et physiques, les activités biologiques, brevets, santé, sécurité, données sur la toxicité et bien d'autres [76].

## 2. Matériel et Méthodes

---

### - SwissADME

Un outil d'apprentissage automatique qui prédit rapidement et avec précision un ensemble de modèles prédictifs pour les propriétés physicochimiques, la pharmacocinétique, La similarité des médicaments et la disponibilité des produits chimiques médicinaux. La prédiction des propriétés ADMET (Absorption, Distribution, Métabolite, Excrétion et Toxicité) joue un rôle important dans le processus de conception des médicaments, car ces propriétés expliquent l'échec d'environ 60 % des essais cliniques. Les principaux processus impliqués dans la pharmacocinétique sont l'absorption, la distribution et les deux voies d'élimination des médicaments, le métabolisme et l'excrétion pharmacodynamique (URL : <http://www.swissadme.ch/index.php>) [77].

### - ProTox-II

ProTox-II est un serveur web gratuit pour la prédiction de la toxicité *in silico* destiné aux toxicologues, aux agences de réglementation, aux chimistes computationnels et médicinaux (URL : [http://tox.charite.de/protox\\_II](http://tox.charite.de/protox_II)) [78].

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Préparation du récepteur

#### - Alpha amylase

Dans notre étude, la structure 3D d'alpha amylase a été téléchargée à partir de la banque de données Protéine Data Bank ( [RCSB PDB - 1OSE: Porcine pancreatic alpha-amylase complexed with acarbose](#)). Cette source offre plusieurs structures tridimensionnelles parmi les quelles nous avons sélectionné le code 1OSE, il s'agit d'une structure avec une résolution égale à 2.30 Å. tout d'abord la protéine a été séparée de son ligand pour obtenir un récepteur avec un site actif libre, ensuite les molécules d'eau et les cofacteurs ont été éliminé et des molécules d'hydrogène sont ajouté via l'utilisation de Discovery studio. Enfin la structure de récepteur et sauvegardées sous forme pdb.

### 2.2.2. Préparation des ligands

Tous les ligands ont été téléchargées via la banque de données américaines des molécules chimiques PubChem (URL : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ensuite à l'aide d'Open Babel PyRx ils ont subi une minimisation d'énergie pour réduire l'énergie potentielle globale ensuite elles sont transformées en format pdbqt.

## 2. Matériel et Méthodes

---

### 2.2.3. Calcul des grilles de potentiel et l'arrimage moléculaire

Afin d'obtenir une population de conformations et d'orientations éventuelles de ligand dans le site de liaison, nous avons procédé à l'amarrage moléculaire. Pour cela nous avons utilisé le PyRx, un programme qui permet de réaliser un docking de plusieurs ligands au même temps. Ce logiciel utilise une grille de potentiel tridimensionnelle (Grille Box) donc permet l'évaluation rapide d'énergie d'interaction générée par le ligand et les acides aminés qui se trouve dans cette grille, alors que tous les calculs de docking ont été effectués au moyen de l'algorithme AutoDock Vina. Cette Grille englobe le site actif de protéine et permettant la rotation libre du ligand dans ce site, leur centre est défini par les coordonnées X et Y et Z alors que sa taille est augmentée ou réduite à l'aide d'un certain nombre de points (les dimensions X, Y, Z). La meilleure conformation avec la plus faible énergie d'amarrage sera ainsi sélectionnée (tableau 6).

**Tableau 6. Les paramètres de Grid Box pour Alpha-amylase**

Alpha amylase	
<b>Centre</b>	X= -17,9887; Y= 21,3080 ;Z=49,3207
<b>Dimensions (Angstrom)</b>	X=55,3914284897;Y=73,2158893776; Z=53,9616529846

### 2.2.4. Méthodes d'évaluation *in silico* des Propriétés ADMET

Les principales raisons de l'échec du développement des médicaments sont les propriétés physico-chimiques, la pharmacocinétique et la toxicité des composés candidats. Ainsi, un médicament candidat doit être facile à administrer et atteindre sa cible en concentration adéquate afin d'être efficace [79].

Dans ce contexte, nous avons terminé notre étude en prédisant *in silico* les caractéristiques ADMET des deux molécules de l'extrait huileux de la plante *Ammodaucus leucotrichus* et le ligand de référence

L'outil Web SwissADME et ProToxII permet à l'utilisateur d'inclure les données SMILES de PubChem d'un ligand qui est étudié comme un médicament et fournit les paramètres tels que :

- Les propriétés physico-chimiques

Les modèles mathématiques ont des dépendances qualitatives et quantitatives montrant la relation entre la structure des composés étudiés, leurs propriétés physiques et chimiques et leurs activités. Il existe de différentes règles pour prédire une bonne biodisponibilité et l'une des plus connues est la règle de Lipinski.

## 2. Matériel et Méthodes

---

-Règles des cinq de Lipinski (Lipinski et al., 1997) :

Une molécule candidat-médicament doit pouvoir survivre dans l'organisme humain suffisamment longtemps pour pouvoir exercer cette activité biologique. Les propriétés d'ADME de ces molécules se vérifient lors de la première phase clinique, c'est-à-dire chez le sujet sain.

- le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da),
- le logarithme décimal du coefficient de partage eau /1-octanol, noté logP, doit être inférieur à 5,
- le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5,
- le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10.

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne respectent pas au moins 2 règles sont les plus susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméation [80].

-La règle de Veber :

En outre, Veber a introduit deux critères supplémentaires pour ce qui est maintenant communément appelé la "règle de 5". D'après l'étude de 1100 composés candidats-médicaments chez GlaxoSmithKline, la surface polaire (PSA, polar surface area) du composé doit être inférieur à 140 Å<sup>2</sup> et le nombre de liaisons de rotation ("rotatable bonds" en anglais) doit être inférieur à 10 pour une bonne biodisponibilité par voie orale chez le rat [81]. La surface polaire est représentée par la somme des surfaces atomiques polaires de la molécule (calculée en fonction de la topologie de la molécule ou TPSA) et peut prédire l'absorption intestinale et le passage à travers la barrière hémato-encéphalique. Ces critères peuvent être adaptés à la cible visée par la molécule. En effet, alors que l'absorption intestinale devient difficile pour un composé de surface polaire supérieure à 140 Å<sup>2</sup>, 60 Å<sup>2</sup> est le seuil maximal pour le passage de la barrière hématoencéphalique [81].

Enfin, la prédiction de la toxicité des deux composés Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethenyl) et Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate, ainsi que de la molécule de référence acarbose, a été réalisée à l'aide du serveur ProToxII.

## **3. Résultats et Discussion**

### 3. Résultats et Discussion

#### 1. Validation de la fiabilité du logiciel de Docking

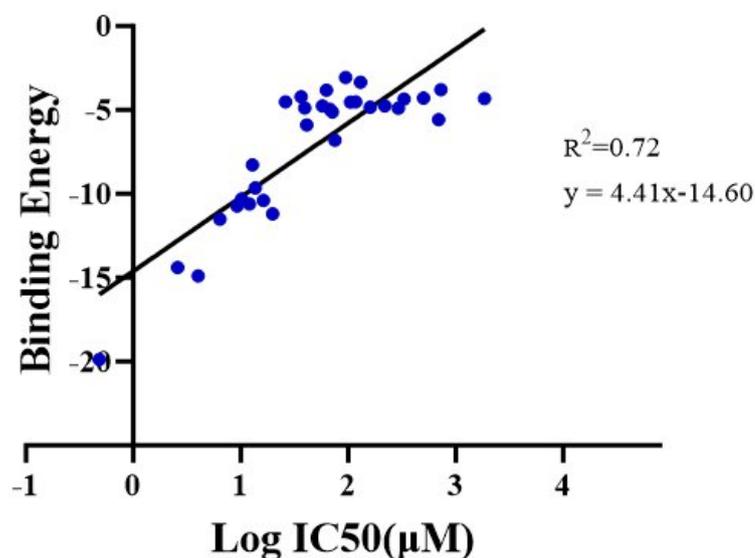
Afin de vérifier la fiabilité et la performance du programme PyRx (AutoDock Vina), ainsi que pour s'assurer de la validité de nos calculs et de nos résultats de docking moléculaire obtenus, nous avons réalisé un test de corrélation. Ce test consiste à comparer l'énergie de liaison, définie comme la somme des interactions intermoléculaires entre le ligand et la protéine cible, avec les valeurs de l'IC<sub>50</sub> (la concentration inhibitrice à 50%) obtenues dans la bibliographie. Les résultats des scores et IC<sub>50</sub> correspondants aux 32 complexes sont présentés dans le tableau 7 suivant :

**Tableau 7.** Scores de Docking Moléculaire et Valeurs d'IC<sub>50</sub> des Complexes Ligand-Protéine

Nom du composé	<i>PubChem CID</i>	IC <sub>50</sub> (μM)	Binding Energy (KJ/mol)
Quercétine	<a href="#">5280343</a>	57.37	-4.76
Minutoside A	<a href="#">44559195</a>	9.2	-7.73
Patuletin	<a href="#">5281678</a>	13.6	-4.66
Berberine	<a href="#">2353</a>	67.31	-6.96
Epigallocatechin gallate	<a href="#">348275972</a>	1849.612	-4.33
Catechin	<a href="#">404771548</a>	160	-4.84
Resveratrol	<a href="#">445154</a>	690.50	-5.58
β-sitosterol	<a href="#">222284</a>	292.02	-8.9
β-sitosterol glucoside	<a href="#">12309060</a>	218.15	-9.10
THPG	<a href="#">18941399</a>	94.53	-3.06
Tetracosyl ferulate	<a href="#">59696701</a>	727.90	-5.8
Curcumin	<a href="#">969516</a>	130	-5.36
Antroquinonol	<a href="#">24875259</a>	500	-4.3
Actinodaphnine	<a href="#">160502</a>	330	-5.35
Eugenol	<a href="#">3314</a>	62.53	-3.83
Piperine	<a href="#">638024</a>	105	-5.54
Capsaicin	<a href="#">1548943</a>	117	-4.52
Luteolin	<a href="#">5280445</a>	6.40	-7.52
Rutin	<a href="#">5280805</a>	12.84	-7.27
Apigenin	<a href="#">5280443</a>	75.12	-6.8
Neochlorogenic acid	<a href="#">5280633</a>	2.58	-5.4
Kaempferol	<a href="#">5280863</a>	12	-7.6
cyanidin	<a href="#">128861</a>	4	-7.9
ursolic acid	<a href="#">64945</a>	0.482	-8.88
Narirutin	<a href="#">442431</a>	70.80	-5.12
Naringin	<a href="#">442428</a>	36.35	-4.21
Poncirin	<a href="#">442456</a>	39.19	-4.88

<b>Hesperidin</b>	<a href="#">10621</a>	26.04	-9.70
<b>Acarbose</b>	<a href="#">41774</a>	10.2	-7.30
<b>Carnosol</b>	<a href="#">442009</a>	19.8	-5.2
<b>Rosmanol</b>	<a href="#">13966122</a>	40.9	-5.9
<b>12-methoxycarnosic acid</b>	<a href="#">133554352</a>	16.2	-5.4

Pour réaliser cette analyse de corrélation, nous avons utilisé le logiciel GraphPad Prism. Ce logiciel nous a permis de générer un graphe représentatif de la linéarité des données. Les résultats indiquent une corrélation linéaire avec un coefficient de corrélation (r) de 0,84 et un coefficient de détermination ( $R^2$ ) de 0,72 indique une forte association positive entre les deux variables (figure 6), ce qui signifie que les ligands ayant des énergies de liaison plus faibles tendent à avoir des valeurs d'IC50 plus faibles (meilleure inhibition). Suggèrent une relation forte et significative entre les énergies de liaison calculées via AutoDock Vina et les valeurs d'IC50 rapportées dans la littérature.



**Figure 6.** Corrélation entre l'Énergie de Liaison des Ligands et les Valeurs d'IC50

### 3. Résultats et Discussion

---

Ces résultats renforcent la validité de notre approche de docking moléculaire, indiquant que les énergies de liaison calculées par AutoDock Vina sont en bon accord avec les données expérimentales d'inhibition. Cette corrélation positive et significative entre les énergies de liaison et les IC<sub>50</sub> démontre la fiabilité de notre méthode et confirme que nos calculs de docking moléculaire peuvent être utilisés pour prédire efficacement l'activité inhibitrice des ligands testés. Cette corrélation positive et significative démontre la fiabilité de notre programme qui peut être utilisés pour prédire efficacement l'activité inhibitrice des ligands testés.

#### 2. Résultats de Docking moléculaire

Dans la présente étude, nous avons effectué un docking moléculaire pour cinq molécules identifiées d'un extrait huileux de la plante *Ammodaucus leucotrichus* par GC-MS, ainsi qu'un ligand de référence, «acarbose», avec la cible enzymatique alpha-amylase "IOSE". Cette approche permet d'étudier la position de chaque ligand sur le site actif de l'enzyme et de déterminer les interactions entre les résidus actifs du site et les inhibiteurs. Le meilleur inhibiteur est sélectionné en comparant les scores d'affinité avec ceux de l'inhibiteur de référence. Les scores d'affinité les plus négatifs indiquent une interaction plus forte entre le ligand et la protéine, signifiant une meilleure inhibition de l'alpha-amylase.

Notre analyse de docking moléculaire a permis de visualiser et de quantifier les interactions spécifiques entre chaque ligand et les résidus actifs du site enzymatique. En comparant les scores d'affinité, nous avons pu identifier l'inhibiteur potentiel le plus efficace en fonction de son interaction énergétique avec l'alpha-amylase. Les résultats ont montré que les scores d'affinité négatifs les plus bas étaient associés à des interactions intermoléculaires plus fortes, suggérant une capacité inhibitrice supérieure par rapport à l'acarbose.

Selon les résultats de docking, nous avons observé que le composé Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate présente une meilleure affinité que les autres composés avec une énergie de liaison de -8,10 kJ/mol, même meilleure que la molécule de référence «acarbose -7,30 kJ/mol». De plus, le Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl), et le D-Limonene ont montré des résultats similaires à la référence, avec des énergies de liaison de -7,10 kJ/mol et 6 kJ/mol respectivement (tableau 8).

### 3. Résultats et Discussion

Tableau 8. Résultats de Docking moléculaire

Nom du Composé	Formule chimique	PubChem CID	Binding Energy (KJ/mol)
Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate	<a href="#">C11H16O2</a>	<a href="#">4453437</a>	-8.10
Acarbose	<a href="#">C25H43NO18</a>	<a href="#">41774</a>	-7.30
Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl) -	<a href="#">C10H14O</a>	<a href="#">16441</a>	-7.10
D-Limonene	<a href="#">C10H16</a>	<a href="#">440917</a>	-6.00
3-Carene	<a href="#">C10H16</a>	<a href="#">26049</a>	-5.70
Pinene beta	<a href="#">C10H16</a>	<a href="#">14896</a>	-5.60

### 3. Étude des interactions protéines- ligands

Il est crucial d'analyser les résultats du docking moléculaire pour évaluer en détail les interactions entre les résidus d'acides aminés de l'enzyme et les atomes des ligands. Cette analyse approfondie permet de mieux comprendre comment les molécules interagissent avec l'enzyme et comment ces interactions influencent la fonction enzymatique. Les interactions clés à analyser comprennent les liaisons hydrogène, les interactions hydrophobes, et les interactions électrostatiques. Ces connexions sont essentielles car elles assurent la stabilité des complexes protéine-ligand.

L'analyse des liaisons hydrogène permet de déterminer les points de contact spécifiques où les atomes du ligand forment des liaisons directes avec les résidus de l'enzyme, influençant fortement l'affinité de liaison. Les interactions hydrophobes, quant à elles, jouent un rôle crucial en stabilisant le complexe dans l'environnement hydrophobe de la poche de liaison de l'enzyme. Enfin, les interactions électrostatiques, incluant les forces de van der Waals et les liaisons ioniques, contribuent également de manière significative à la stabilité globale et à la spécificité de la liaison [82-83-84].

Nous avons choisi les trois meilleurs inhibiteurs, à savoir le Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate, l'Acarbose et le Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl), présentant des énergies de liaison de -8,10 kJ/mol, -7,30 kJ/mol et -7,10 kJ/mol respectivement. Cette sélection

### 3. Résultats et Discussion

---

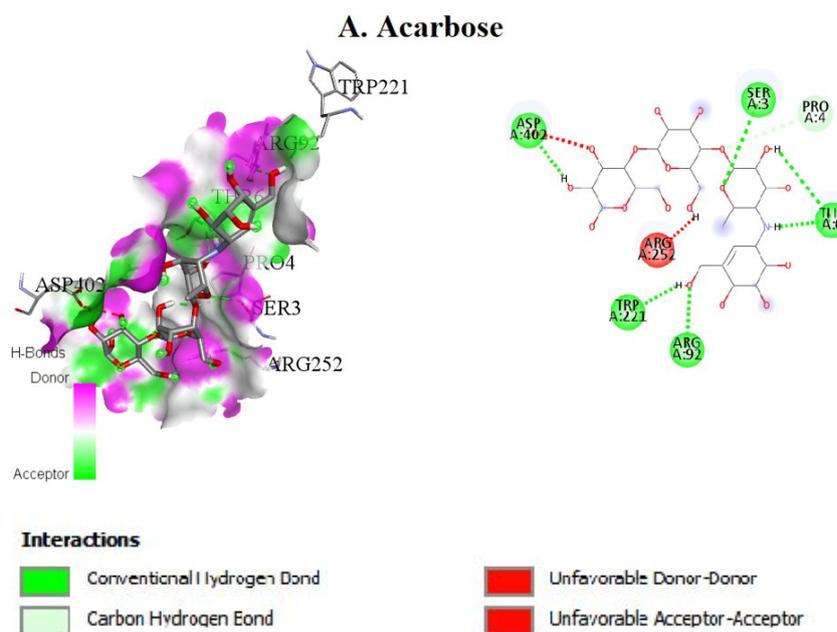
a été effectuée pour étudier en profondeur les interactions en 2D et 3D qui interviennent dans la formation des complexes correspondants.

Nos résultats de docking moléculaire révèlent deux interactions significatives entre l'enzyme alpha-amylase et le composé Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate, deux résidus d'acides aminés TYR62 et GLN63 jouent un rôle clé dans ces interactions (figure 8-9).

#### 3.1. Interaction enzyme-acarbose

Dans notre étude, nous avons examiné l'interaction de l'acarbose avec les résidus SER3, PRO4, ARG252, ASP402, THR6 et TRP221 de la protéine réceptrice de l'alpha-amylase (figure 7). Nos résultats indiquent que cette interaction repose principalement sur des liaisons hydrogène, qui jouent un rôle crucial dans la stabilisation du complexe protéine-ligand. L'analyse détaillée de ces interactions a révélé la formation de liaisons hydrogène spécifiques entre les groupements fonctionnels de l'acarbose et les atomes d'oxygène et d'azote des résidus de la protéine. Ces interactions sont soutenues par des observations expérimentales et des simulations moléculaires, qui montrent que les liaisons hydrogène contribuent significativement à la stabilité globale du complexe. Cette stabilisation est essentielle pour la reconnaissance spécifique de l'acarbose par la protéine réceptrice, et elle pourrait avoir un impact sur l'activité enzymatique de l'alpha-amylase en modifiant la conformation de la protéine [85].

### 3.Résultats et Discussion



**Figure 7.** L'affinité de liaison et d'interaction entre l'Acarbose et l'enzyme alpha-amylase en 3D et 2D.

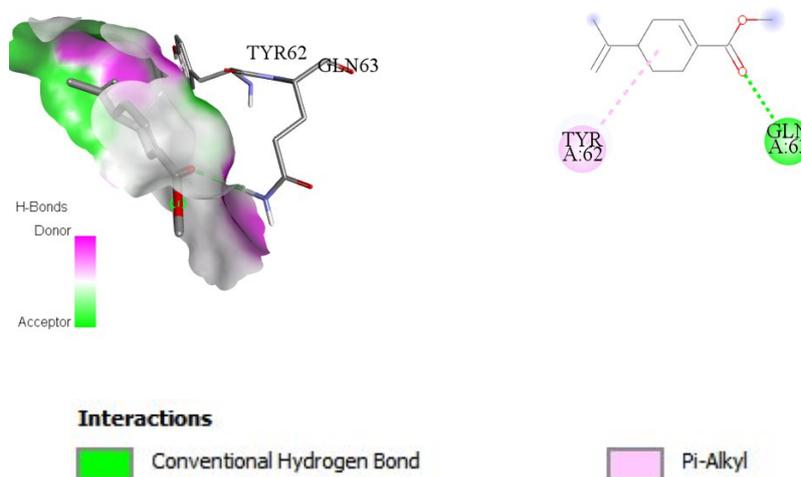
#### 3.2. Etude d'interaction enzyme-Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate

Nos résultats de docking moléculaire révèlent une interaction significative entre l'enzyme alpha-amylase et le composé Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate. Deux résidus d'acides aminés, TYR62 et GLN63 (figure 8), jouent un rôle clé dans cette interaction. TYR62 est impliqué dans une interaction pi-alkyl avec le composé, stabilisant ainsi la liaison par des interactions hydrophobes. Parallèlement, GLN63 forme une liaison hydrogène, renforçant davantage la stabilité du complexe protéine-ligand. Ces interactions spécifiques soulignent l'importance des résidus d'acides aminés dans la reconnaissance et la liaison du composé par l'alpha-amylase. La combinaison de ces interactions pi-alkyl et hydrogène contribue à une affinité de liaison élevée, ce qui est crucial pour l'efficacité inhibitrice du composé [86].

### 3.Résultats et Discussion

---

#### B. Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate

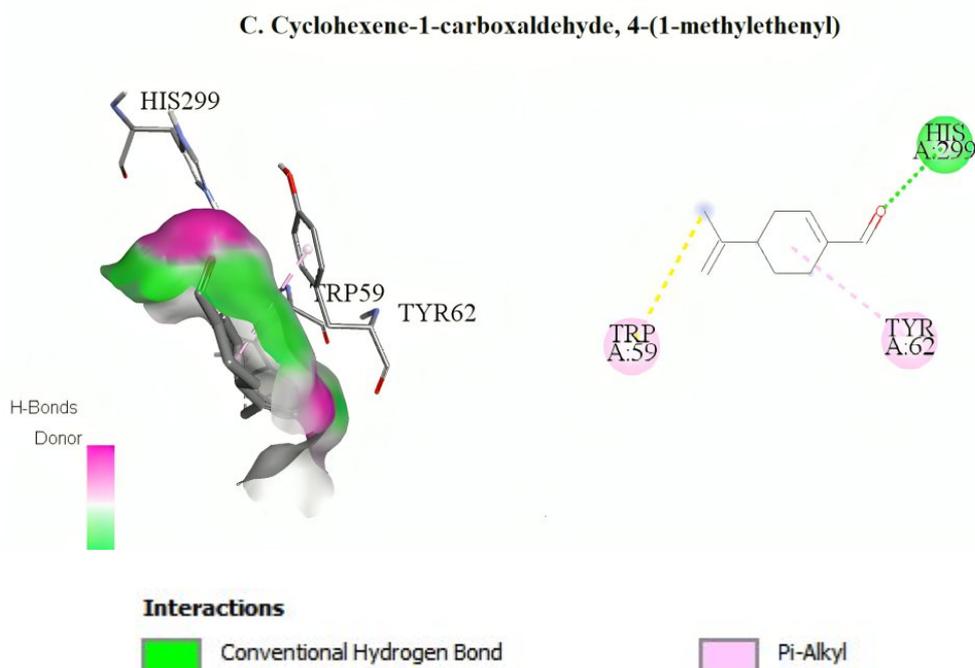


**Figure 8.** L'affinité de liaison et d'interaction entre Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate et l'enzyme alpha-amylase en 3D et 2D.

#### 3.3. Etude d'interaction enzyme-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl)

L'interaction entre l'enzyme alpha-amylase et le composé Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl) a été étudiée. Trois résidus d'acides aminés, HIS229, TYR62 et TRP59, sont impliqués de manière significative (figure 9). Les résidus TYR62 et TRP59 participent à des interactions pi-alkyl, tandis que HIS229 établit une liaison hydrogène. Ces interactions spécifiques sont essentielles pour la reconnaissance et la liaison du composé par l'alpha-amylase. Elles contribuent à la stabilisation de la structure du complexe et à la réduction de l'énergie libre de l'état lié. Ces découvertes pourraient avoir des implications pour la conception de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-amylase [87].

### 3. Résultats et Discussion



**Figure 9.** L'affinité de liaison et d'interaction entre Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl) et l'enzyme alpha-amylase en 3D et 2D.

#### 4. Analyse *in silico* des paramètres de biodisponibilité et d'ADMET des inhibiteurs de l'alpha-amylase

La recherche pharmaceutique vise à comprendre les propriétés moléculaires qui influent sur la biodisponibilité orale des médicaments afin de concevoir de nouveaux candidats-médicaments viables. Une biodisponibilité orale élevée est cruciale pour le développement de molécules bioactives thérapeutiques. Les propriétés physicochimiques des médicaments oraux sont généralement considérées comme les principaux déterminants de leur biodisponibilité. Les aspects liés à l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) sont devenus des points clés pour évaluer les effets ou les risques des nouveaux composés sur le corps humain. Les développeurs de médicaments redoutent particulièrement la toxicité des candidats-médicaments, en particulier lorsqu'ils passent en phase clinique.

### 3. Résultats et Discussion

Les médicaments présentant des effets secondaires graves sont souvent abandonnés de manière définitive. Il est donc crucial de prédire la toxicité des composés dès les premiers stades de la recherche et développement (R&D), en se basant notamment sur leur structure moléculaire. La toxicité peut être classée en fonction de l'organe affecté ou du mécanisme de toxicité. Les propriétés ADMET de quatre molécules ont été étudiées à l'aide des descripteurs SwissADME et ADMETlab. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau 9 ci-joint, récapitulant l'évaluation du profil ADMET des composés étudiés.

**Tableau 9.** Profil ADME des composés à partir du serveur SwissADME

<b>Nom du Composé</b>	<b>Cyclohexene-1-carboxaldehyde, methylethenyl-</b>	<b>Methyl4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1enecarboxylate</b>	<b>Acarbose</b>
<b>PM (g/mol)</b>	150.22	180.24	645.6
<b>Log P</b>	2.49	2.46	-8.56
nHD	0	0	14
nHA	1	2	19
nRot	2	3	9
<b>Lipinski</b>	oui	oui	non
<b>Veber</b>	oui	oui	non
<b>Gastro-intestinale</b>	Élevée	Élevée	Faible
<b>Liaison avec les protéines plasmatiques (%)</b>	54.28	29.80	22.64
<b>VD</b>	1.56	1.09	0.17
<b>Barrière hémato-encéphalique</b>	Oui	Oui	Non
<b>Inhibiteur CYP1A2</b>	Non	Non	Non
<b>Inhibiteur CYP2C19</b>	Non	Non	Non
<b>Inhibiteur CYP2C9</b>	Non	Non	Non
<b>Inhibiteur CYP2D6</b>	Non	Non	Non
<b>Inhibiteur CYP3A4</b>	Non	Non	Non
<b>Clairance</b>	5.27	9.42	0.65

<i>T<sub>1/2</sub></i>	0.61	0.44	0.86
<i>Classe</i>	4	4	6
<i>LD<sub>50</sub>(mg/kg)</i>	1720	700	24000

En examinant les propriétés physicochimiques d'acarbose, nous observons un poids moléculaire de 645.6 g/mol, un Log P de -8.56, 14 donneurs de liaisons hydrogène, 19 accepteurs de liaisons hydrogène, et 9 liaisons rotatives. L'absorption gastro-intestinale est faible et il n'est pas perméable à la barrière hémato-encéphalique (BHE). Ces caractéristiques suggèrent une faible biodisponibilité orale et une difficulté à traverser les membranes cellulaires, en particulier celles du cerveau. En comparaison, les composés Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethényl), D-Limonene, 3-Carene, Pinene beta, et Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate présentent des propriétés plus favorables selon la règle de Lipinski. Ces composés ont des poids moléculaires inférieurs à 500 g/mol, des Log P entre 2.46 et 3.31, et aucun donneur de liaisons hydrogène. Ils respectent tous les critères de Lipinski, ce qui indique une meilleure probabilité d'absorption et de biodisponibilité orale. Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethényl), avec un poids moléculaire de 150.22 g/mol et un Log P de 2.49, montre une absorption gastro-intestinale élevée et une perméabilité à la BHE, indiquant qu'il pourrait atteindre efficacement des cibles dans le cerveau. De même, Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate, avec un poids moléculaire de 180.24 g/mol et un Log P de 2.46, présente également une absorption gastro-intestinale élevée et est perméable à la BHE (tableau 9).

La règle de Veber est une règle empirique utilisée en pharmacologie pour prédire la biodisponibilité des médicaments. Elle évalue la capacité d'une molécule à être absorbée par voie orale en se basant sur le nombre de liaisons rotatives et le nombre de groupes accepteurs d'hydrogène. Plus précisément, la règle de Veber stipule qu'une molécule doit avoir moins de 10 liaisons rotatives et moins de 10 groupes accepteurs d'hydrogène pour être considérée comme un candidat potentiellement bien absorbé par voie orale [88].

En comparant les résultats de la règle de Veber pour les composés donnés avec la référence acarbose, nous pouvons observer ce qui suit : Cyclohexène-1-carboxaldéhyde, 4-(1-méthyléthényl)- et le Methyl4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate respectent la règle de Veber car ils ont un nombre approprié de liaisons rotatives et d'accepteurs d'hydrogène, les rendant potentiellement bien absorbés par voie orale. En revanche, l'Acarbose ne respecte pas cette règle en raison de son grand nombre de donneurs et accepteurs d'hydrogène ainsi que de ses liaisons rotatives, ce qui suggère qu'elle pourrait être moins bien absorbée par voie orale en comparaison aux autres composés.

### 3. Résultats et Discussion

---

Comparé à Acarbose, ces composés démontrent des avantages significatifs en termes de respect des règles de Lipinski, indiquant une meilleure absorption et biodisponibilité orale potentielle. La faible absorption gastro-intestinale de l'Acarbose et son incapacité à traverser la BHE limitent son utilisation, nécessitant souvent des doses plus élevées pour atteindre l'effet thérapeutique souhaité. Les autres composés, avec leurs poids moléculaires plus faibles et Log P favorables, présentent une meilleure balance entre hydrophilie et lipophilie, favorisant une meilleure absorption intestinale et une pénétration potentielle dans le système nerveux central. Bien que Acarbose soit efficace pour son utilisation clinique, les autres composés analysés, notamment Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethenyl) et Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate, montrent des propriétés physicochimiques plus favorables qui pourraient les rendre plus efficaces comme médicaments oraux, avec un potentiel supplémentaire pour cibler le cerveau similaire aux résultats obtenus par des études précédentes. Ces observations suggèrent que de nouveaux composés, optimisés selon les critères de Lipinski, pourraient offrir des alternatives plus efficaces et biodisponibles aux traitements existants comme l'Acarbose [89-90].

En termes de distribution, l'Acarbose, avec une faible liaison aux protéines et un faible volume de distribution (VD), reste principalement dans le plasma (tableau 9). Cette caractéristique influence directement leur biodisponibilité et leur efficacité thérapeutique similaires aux résultats précédents [91-92].

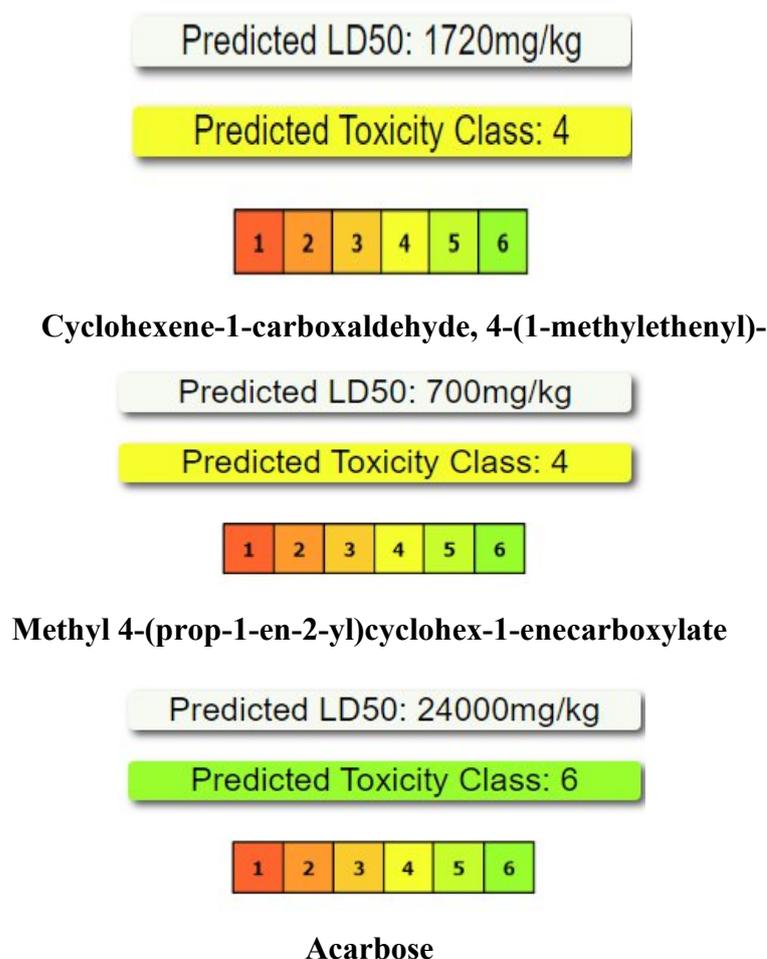
Pour le métabolisme, la plupart des composés montrent un faible potentiel d'inhibition des enzymes CYP, suggérant un faible risque d'interactions médicamenteuses (tableau 9) comme observé dans des recherches précédentes, ce qui pourrait influencer le métabolisme des substrats de cette enzyme et entraîner des interactions indésirables [93-94].

Comme discuté dans les recherches précédentes, Concernant l'élimination, les composés avec une clairance élevée et une demi-vie courte, comme Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthylethenyl) et Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate, sont éliminés rapidement, réduisant ainsi le risque d'accumulation toxique dans l'organisme. En revanche, l'Acarbose a une clairance faible et une demi-vie plus longue, nécessitant une attention particulière lors de l'administration pour éviter des effets secondaires indésirables (tableau 9) [95].

### 3. Résultats et Discussion

En matière de toxicité, les deux composés Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl) et Methyl 4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-enecarboxylate ont une faible toxicité classe 4 avec des LD50 élevés, indiquant une marge de sécurité relativement large. Cependant, l'Acarbose, bien qu'ayant un LD50 élevé, est classé en toxicité 6, ce qui peut être attribué à ses effets secondaires spécifiques et à son profil métabolique complexe conformément aux découvertes des études précédentes (tableau 9 et figure 10) [96].

En conclusion, les composés étudiés démontrent des caractéristiques ADME et de toxicité variée qui influencent leur efficacité et leur sécurité en usage thérapeutique. L'Acarbose, bien qu'efficace dans son rôle d'inhibiteur d'alpha-amylase, présente des défis en termes de pharmacocinétique et de toxicité par rapport aux autres composés plus simples et conformes aux règles de Lipinski et de Veber. Ces observations sont cruciales pour orienter le développement de nouveaux médicaments et optimiser les thérapies existantes.



**Figure 10.** Toxicités des composés réalisés par PROTOX-II

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

---

L'objectif essentiel de ce travail est d'étudier les interactions moléculaires des composés identifiés de la plante *Ammodaucus leucotrichus coss* et l'enzyme alpha-amylase qui a une importance majeure dans la lutte contre le diabète type 2 via une technique de modélisation "docking moléculaire" qui permet de modéliser et d'analyser les interactions entre les enzymes et ligand.

Dans le cadre de cette étude, nous avons évalué la fiabilité de logiciel de docking moléculaire PyRx par le test de corrélation, Par la suite le docking a été utilisé pour simuler l'interaction de cinq molécules naturelles avec l'enzymatique ( $\alpha$ -amylase). Les résultats de la fiabilité montrent que PyRx c'est un programme idéal et simule de manière correcte ces interactions.

En outre, pour évaluer les résultats obtenus, une comparaison a été effectuée démontre que le composé Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate qui donnent une forte énergie (-8,10 kJ/mol) de liaison par rapport à l'acarbose (-7,30 kJ/mol) (molécule de référence) vis-à-vis l'enzyme. Alors que le Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl), et le D-Limonene ont montré des résultats similaires à la référence, avec des énergies de liaison de -7,10 kJ/mol et 6 kJ/mol respectivement.

D'un autre part, pour mieux comprendre comment les molécules interagissent et comment cela peut affecter la fonction de l'enzyme, une analyse des interactions en 2D et 3D a été effectuée sur ces dernières, montrent ainsi que Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate favorisent d'interagir par des liaisons d'hydrogène. D'autres interactions a été identifier et qui intervient dans la stabilité des complexes tels que les interactions hydrophobiques de type (pi-pi stacked, Alkyl, Pi-Alkyl).

L'étude des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et la toxicité a montré que le composé Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate présenté des profils ADMET favorables, pour une application biologique, en tant que candidat médicament.

Pour les perspectives, il est essentiel de valider expérimentalement ces résultats en utilisant des tests enzymatiques *in vivo*. Cette validation permettra de confirmer l'efficacité des composés, ouvrant la voie à des études cliniques ultérieures chez l'homme.

De plus, des travaux de recherche supplémentaires pourraient être entrepris pour optimiser la structure des composés afin d'améliorer leur affinité et leur spécificité vis-à-vis l'alpha-amylase. Les

## **Conclusion et perspectives**

---

études de relations structure-activité pourraient également être explorées pour mieux comprendre les interactions moléculaires sous-jacentes et guider la conception de nouveaux composés plus efficaces.

## Références

1. Blankenship, C. (2023). Gatekeeping Pharmaceuticals: The Consumer Welfare Consequences of “Pay-for-Delay” Settlements.
2. OUSSOIRE, K. (2022). *onception in silico de nouveaux inhibiteurs pour le traitement de tuberculose* (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).
3. Fogel, D. B. (2018). Factors associated with clinical trials that fail and opportunities for improving the likelihood of success: a review. *Contemporary clinical trials communications*, 11, 156-164.
4. Kimber, T. B., Chen, Y., & Volkamer, A. (2021). Deep learning in virtual screening: recent applications and developments. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4435.
5. Bensalem, S., & Benmohammed, K. (2021). *Association diabète de type 2 et cancer du sein* (Doctoral dissertation, Université Constantine 3 Salah Boubnider, Faculté de médecine).
6. Bodart, C. (2022). *Place des inhibiteurs du SGLT2 dans la prise en charge du diabète de type 2, de l'insuffisance cardiaque et de la maladie rénale chronique en 2022* (Doctoral dissertation).
7. Kara, S., & Hammadi, D. (2021). *Synthèse bibliographique sur la physiopathologie du diabète* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
8. Nehla, H., & Sirine, D. Evaluation in silico des interactions moléculaires entre l'alpha-amylase, alpha-glucosidase et certains flavonoïdes extraits du Ginkgo biloba.
9. Mukhtar, Y., Galalain, A., & Yunusa, U. (2020). A modern overview on diabetes mellitus: a chronic endocrine disorder. *European Journal of Biology*, 5(2), 1-14.
10. Rahman, M. S., Hossain, K. S., Das, S., Kundu, S., Adegoke, E. O., Rahman, M. A., ... & Pang, M. G. (2021). Role of insulin in health and disease: an update. *International journal of molecular sciences*, 22(12), 6403.
11. Huhtala, M., Rönnemaa, T., & Tertti, K. (2023). Insulin resistance is associated with an unfavorable serum lipoprotein lipid profile in women with newly diagnosed gestational diabetes. *Biomolecules*, 13(3), 470.
12. Patil, S. R., Chavan, A. B., Patel, A. M., Chavan, P. D., & Bhopale, J. V. (2023). A Review on Diabetes Mellitus its Types, Pathophysiology, Epidemiology and its Global Burden. *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 2(4), 73-79.
13. McCarthy, M. (2020). Approaches to determining the genetic basis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. In *Genetics of Common Diseases* (pp. 91-128). Garland Science.
14. Bano, R., & Durrani, A. (2022). Age and Gender Specific Prevalence among Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus (Type II) and its Correlation with HbA1c% level, A Hospital-Based Cross-Sectional Study. *Int. J. Health Sci. Res*, 8, 102-108.
15. Huhtala, M., Rönnemaa, T., & Tertti, K. (2023). Insulin resistance is associated with an unfavorable serum lipoprotein lipid profile in women with newly diagnosed gestational diabetes. *Biomolecules*, 13(3), 470.
16. Paracha, A. I., Haroon, Z. H., Aamir, M., & Bibi, A. (2021). Diagnostic accuracy of markers of insulin resistance (HOMA-IR) and insulin sensitivity (QUICKI) in gestational diabetes. *J Coll Physicians Surg Pak*, 31(9), 1015-1019.
17. Jang, K. M. (2020). Maturity-onset diabetes of the young: update and perspectives on diagnosis and treatment. *Yeungnam University journal of medicine*, 37(1), 13.
18. Rehman, U. L., Hamza, H. M., Malik, M. M., & Awan, A. A. (2024). Association of latent autoimmune diabetes of adults with type 3 polyglandular autoimmune syndrome-a diagnostic challenge. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 74(5), 990-992.
19. Baah-Nyarkoh, E., Alhassan, Y., Dwomoh, A. K., & Kretchy, I. A. (2023). Medicated-related burden and adherence in patients with co-morbid type 2 diabetes mellitus and hypertension. *Heliyon*, 9(4).

20. Roep, B. O., Thomaidou, S., van Tienhoven, R., & Zaldumbide, A. (2021). Type 1 diabetes mellitus as a disease of the  $\beta$ -cell (do not blame the immune system?). *Nature Reviews Endocrinology*, *17*(3), 150-161.
21. Wondmkun, Y. T. (2020). Obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes: associations and therapeutic implications. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 3611-3616.
22. Janež, A., Guja, C., Mitrakou, A., Lalic, N., Tankova, T., Czupryniak, L., ... & Smircic-Duvnjak, L. (2020). Insulin therapy in adults with type 1 diabetes mellitus: a narrative review. *Diabetes Therapy*, *11*, 387-409.
23. Scheen, A. J. (2021). Existe-t-il encore une place pour les sulfamides hypoglycémisants dans le traitement du diabète de type 2 en 2021?. *Médecine des Maladies Métaboliques*, *15*(1), 45-52.
24. Toi, P. L., Anothaisintawee, T., Chaikledkaew, U., Briones, J. R., Reutrakul, S., & Thakkestian, A. (2020). Preventive role of diet interventions and dietary factors in type 2 diabetes mellitus: an umbrella review. *Nutrients*, *12*(9), 2722.
25. Di Magno, L., Di Pastena, F., Bordone, R., Coni, S., & Canettieri, G. (2022). The mechanism of action of biguanides: New answers to a complex question. *Cancers*, *14*(13), 3220.
26. Nakhleh, A., & Shehadeh, N. (2021). Hypoglycemia in diabetes: An update on pathophysiology, treatment, and prevention. *World journal of diabetes*, *12*(12), 2036.
27. Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F., & Yousef, L. F. (2022). A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes. *Phytochemistry Reviews*, *21*(4), 1049-1079.
28. Cornell, S. (2020). A review of GLP-1 receptor agonists in type 2 diabetes: a focus on the mechanism of action of once-weekly agents. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, *45*, 17-27.
29. Zwart, K., Velthuis, S., Polyukhovych, Y. V., Mosterd, A., Smidt, L., Serné, E. H., ... & Oldenburg-Ligtenberg, P. C. (2021). Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors: a practical guide for the Dutch cardiologist based on real-world experience. *Netherlands Heart Journal*, *29*(10), 490-499.
30. Nauck, M. A., Wefers, J., & Meier, J. J. (2021). Treatment of type 2 diabetes: challenges, hopes, and anticipated successes. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, *9*(8), 525-544.
31. Far, B. E., Ahmadi, Y., Khosroshahi, A. Y., & Dilmaghani, A. (2020). Microbial alpha-amylase production: progress, challenges and perspectives. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *10*(3), 350.
32. Rhimi, M., Da Lage, J. L., Haser, R., Feller, G., & Aghajari, N. (2023). Structural and Functional Characterization of *Drosophila melanogaster*  $\alpha$ -Amylase. *Molecules*, *28*(14), 5327.
33. Neves, R. P., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2022). Role of enzyme and active site conformational dynamics in the catalysis by  $\alpha$ -amylase explored with QM/MM molecular dynamics. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *62*(15), 3638-3650.
34. Tütüncü, H. E., & Sürmeli, Y. (2023). In silico investigation of sequences and predicted three-dimensional homology models of thermoalkaliphilic GH13  $\alpha$ -amylases. *Biologia*, *78*(7), 1833-1845.
35. Murakami, M., & Osanai, T. (2022). Biochemical properties of  $\beta$ -amylase from red algae and improvement of its thermostability through immobilization. *ACS omega*, *7*(41), 36195-36205.
36. Nielsen JE, McCammon JA. Calculating pKa values in enzyme active sites. *Protein Sci.* 2003 Sep;12(9):1894-901.
37. Rabapane, K. J., Mitema, A., Nelson, K., & Feto, N. A. (2022). *Bacillus* spp. of Ruminant Origin as Major Sources of Potential Industrial Amylases. In *Bacilli in Agrobiotechnology: Plant Stress Tolerance, Bioremediation, and Bioprospecting* (pp. 209-230). Cham: Springer International Publishing
38. Amaral, J., Lobo, A. K., & Carmo-Silva, E. (2024). Regulation of Rubisco activity in crops. *New Phytologist*, *241*(1), 35-51.

39. Bulka, N. R., & Barbosa-Tessmann, I. P. (2023). Characterization of an amylolytic enzyme from *Massilia timonae* of the GH13\_19 subfamily with mixed maltogenic and CGTase activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 195(3), 2028-2056.
40. Hänel, F., Krügel, H., & Peschke, T. (1991). Pullulan-Hydrolyzing Enzymes of Streptomyces: Effect of Carbon Source on Their Production and Characterization of a Pullulanase-Negative Mutant. In *Genetics and Product Formation in Streptomyces* (pp. 215-226). Boston, MA: Springer US.
41. Peluso, P., & Chankvetadze, B. (2023). Recent developments in molecular modeling tools and applications related to pharmaceutical and biomedical research. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 115836
42. Chen, G., Seukep, A. J., & Guo, M. (2020). Recent advances in molecular docking for the research and discovery of potential marine drugs. *Marine drugs*, 18(11), 545.
43. Thomas, S. P., Dikundwar, A. G., Sarkar, S., Pavan, M. S., Pal, R., Hathwar, V. R., & Row, T. N. G. (2022). The relevance of experimental charge density analysis in unraveling noncovalent interactions in molecular crystals. *Molecules*, 27(12), 3690.
44. Stanzione, F., Giangreco, I., & Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry*, 60, 273-343.
45. Tao, X., Huang, Y., Wang, C., Chen, F., Yang, L., Ling, L., ... & Chen, X. (2020). Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 33-45.
46. Sivakumar, K. C., Haixiao, J., Naman, C. B., & Sajeevan, T. P. (2020). Prospects of multitarget drug designing strategies by linking molecular docking and molecular dynamics to explore the protein–ligand recognition process. *Drug Development Research*, 81(6), 685-699.
47. Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.
48. Mutharasappan, N., Ravi Rao, G., Mariadasse, R., Poopandi, S., Mathimaran, A., Dhamodharan, P., ... & Jeyaraman, J. (2020). Experimental and computational methods to determine protein structure and stability. *Frontiers in Protein Structure, Function, and Dynamics*, 23-55.
49. Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E. (2019). Homology modeling in drug discovery: Overview, current applications, and future perspectives. *Chemical biology & drug design*, 93(1), 12-20.
50. Rosell, M., & Fernández-Recio, J. (2020). Docking-based identification of small-molecule binding sites at protein-protein interfaces. *Computational and structural biotechnology journal*, 18, 3750-3761.
51. Cournia, Z., Allen, B., & Sherman, W. (2017). Relative binding free energy calculations in drug discovery: recent advances and practical considerations. *Journal of chemical information and modeling*, 57(12), 2911-2937.
52. Nikolov, N., Pavlov, T., Niemelä, J. R., & Mekenyan, O. (2013). Accessing and using chemical databases. *Computational Toxicology: Volume II*, 29-52.
53. Stanzione, F., Giangreco, I., & Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry*, 60, 273-343.
54. Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2016). Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature protocols*, 11(5), 905-919.
55. Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. F., & Forli, S. (2021). AutoDock Vina 1.2. 0: New docking methods, expanded force field, and python bindings. *Journal of chemical information and modeling*, 61(8), 3891-3898.
56. Goodsell, D. S., Sanner, M. F., Olson, A. J., & Forli, S. (2021). The AutoDock suite at 30. *Protein Science*, 30(1), 31-43.
57. Yadav, A. R., & Mohite, S. K. (2020). Homology Modeling and Generation of 3D-structure of Protein. *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology*, 12(4), 313-320.

58. Yang C, Chen EA, Zhang Y. Protein-Ligand Docking in the Machine-Learning Era. *Molecules*. 2022 Jul 18;27(14):4568.
59. Stanzione, F., Giangreco, I., & Cole, J. C. (2021). Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry*, 60, 273-343.
60. Adelusi, T. I., Oyedele, A. Q. K., Boyenle, I. D., Ogunlana, A. T., Adeyemi, R. O., Ukachi, C. D., ... & Abdul-Hammed, M. (2022). Molecular modeling in drug discovery. *Informatics in Medicine Unlocked*, 29, 100880.
61. Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *J Chem Inf Model*. 2021 Aug 23;61(8):3891-3898.
62. Shulga, D. A., Ivanov, N. N., & Palyulin, V. A. (2022). In silico structure-based approach for group efficiency estimation in fragment-based drug design using evaluation of fragment contributions. *Molecules*, 27(6), 1985.
63. Chen, W., He, H., Wang, J., Wang, J., & Chia-en, A. C. (2023). Uncovering water effects in protein–ligand recognition: importance in the second hydration shell and binding kinetics. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 25(3), 2098-2109.
64. Hata, H., Tran, D. P., Sobeh, M. M., & Kitao, A. (2021). Binding free energy of protein/ligand complexes calculated using dissociation Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics and Markov state model. *Biophysics and Physicobiology*, 18, 305-316.
65. Goodsell, D. S., Sanner, M. F., Olson, A. J., & Forli, S. (2021). The AutoDock suite at 30. *Protein Science*, 30(1), 31-43.
66. Li, J., Fu, A., & Zhang, L. (2019). An overview of scoring functions used for protein–ligand interactions in molecular docking. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 11, 320-328.
67. Tyagi, R., Singh, A., Chaudhary, K. K., & Yadav, M. K. (2022). Pharmacophore modeling and its applications. In *Bioinformatics* (pp. 269-289). Academic Press.
68. Choudhury, C., & Narahari Sastry, G. (2019). Pharmacophore modelling and screening: concepts, recent developments and applications in rational drug design. *Structural bioinformatics: applications in preclinical drug discovery process*, 25-53.
69. Khedkar, S. A., Malde, A. K., Coutinho, E. C., & Srivastava, S. (2007). Pharmacophore modeling in drug discovery and development: an overview. *Medicinal Chemistry*, 3(2), 187-197.
70. Kaserer, T., Beck, K. R., Akram, M., Odermatt, A., & Schuster, D. (2015). Pharmacophore models and pharmacophore-based virtual screening: concepts and applications exemplified on hydroxysteroid dehydrogenases. *Molecules*, 20(12), 22799-22832.
71. Djehiche, C., Benzidane, N., Djeghim, H., Tebboub, M., Mebrek, S., Abdelouhab, K., ... & Barhoum, A. (2024). Ammodaucus Leucotrichus Seed Extract as a Potential Therapy in Animal Models of Rheumatoid Arthritis Induced by Complete Freund Adjuvant and Chicken Cartilage Collagen. *Applied biochemistry and biotechnology*, 1-25.
72. Mustafa, G., Younas, S., Mahrosh, H. S., Albeshr, M. F., & Bhat, E. A. (2023). Molecular Docking and Simulation-Binding Analysis of Plant Phytochemicals with the Hepatocellular Carcinoma Targets Epidermal Growth Factor Receptor and Caspase-9. *Molecules*, 28(8), 3583.
73. Shakil, S. (2021). Molecular interaction of inhibitors with human brain butyrylcholinesterase. *EXCLI journal*, 20, 1597.
74. Le Berre, M., Gerlach, J. Q., Dziembała, I., & Kilcoyne, M. (2022). Calculating half maximal inhibitory concentration (IC 50) values from glycomics microarray data using graphpad prism. *Glycan Microarrays: Methods and Protocols*, 89-111.
75. Burley, S. K., Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Markley, J. L., Nakamura, H., & Velankar, S. (2017). Protein Data Bank (PDB): the single global macromolecular structure archive. *Protein crystallography: methods and protocols*, 627-641.

76. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., ... & Bolton, E. E. (2019). PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic acids research*, *47*(D1), D1102-D1109.
77. Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, *7*(1), 42717.
78. Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., & Preissner, R. (2018). ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic acids research*, *46*(W1), W257-W263.
79. Dong, J., Wang, N. N., Yao, Z. J., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., ... & Cao, D. S. (2018). ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of cheminformatics*, *10*, 1-11.
80. Lipinski, J. F., Sallee, F. R., Jackson, C., & Sethuraman, G. (1997). Dopamine agonist treatment of Tourette disorder in children: results of an open-label trial of pergolide. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, *12*(3), 402-407.
81. Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, *45*(12), 2615-2623.
82. Olubiyi, O. O., Olagunju, M., Keutmann, M., Loschwitz, J., & Strodel, B. (2020). High throughput virtual screening to discover inhibitors of the main protease of the coronavirus SARS-CoV-2. *Molecules*, *25*(14), 3193.
83. Cao, J., Li, F., Li, Y., Chen, H., Liao, X., & Zhang, Y. (2021). Hydrophobic interaction driving the binding of soybean protein isolate and chlorophyll: Improvements to the thermal stability of chlorophyll. *Food Hydrocolloids*, *113*, 106465.
84. Du, X., Li, Y., Xia, Y. L., Ai, S. M., Liang, J., Sang, P., ... & Liu, S. Q. (2016). Insights into protein-ligand interactions: mechanisms, models, and methods. *International journal of molecular sciences*, *17*(2), 144.
85. Nada, A. A., Metwally, A. M., Asaad, A. M., Celik, I., Ibrahim, R. S., & Eldin, S. M. S. (2024). Synergistic effect of potential alpha-amylase inhibitors from Egyptian propolis with acarbose using in silico and in vitro combination analysis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, *24*(1), 65.
86. Bernaldez, M. J. A., Billones, J. B., & Magpantay, A. (2018, December). In silico analysis of binding interactions between GSK983 and human DHODH through docking and molecular dynamics. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2045, No. 1). AIP Publishing.
87. Mao, J., Luo, Q. Q., Zhang, H. R., Zheng, X. H., Shen, C., Qi, H. Z., ... & Zhang, H. (2022). Discovery of microtubule stabilizers with novel scaffold structures based on virtual screening, biological evaluation, and molecular dynamics simulation. *Chemico-Biological Interactions*, *352*, 109784.
88. Talevi, A. (2021). in silico ADME: Rule-Based Systems. In *The ADME Encyclopedia: A Comprehensive Guide on Biopharmacy and Pharmacokinetics* (pp. 1-7). Cham: Springer International Publishing.
89. Etsassala, N. G., Badmus, J. A., Marnewick, J. L., Egieyeh, S., Iwuoha, E. I., Nchu, F., & Hussein, A. A. (2022). Alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitory activities, molecular docking, and antioxidant capacities of *Plectranthus ecklonii* constituents. *Antioxidants*, *11*(2), 378.

90. Lam, T. P., Tran, N. V. N., Pham, L. H. D., Lai, N. V. T., Dang, B. T. N., Truong, N. L. N., ... & Tran, T. D. (2024). Flavonoids as dual-target inhibitors against  $\alpha$ -gl
91. Que, L., Huang, K., Ding, Y., Chu, N., Yang, J., Qian, Z., & He, Q. (2021). Acarbose bioequivalence: Exploration of eligible protocol design. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, *46*(2), 492-503.
92. Huang, J., Liu, W. Y., Yu, J. J., Yang, J. B., Li, M., Zou, C., ... & Yang, G. P. (2020). Exploration of suitable pharmacodynamic parameters for acarbose bioequivalence evaluation: A series of clinical trials with branded acarbose. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *86*(11), 2225-2233
93. Siddiqui, T., Sharma, V., Khan, M. U., & Gupta, K. (2024). Terpenoids in Essential Oils: chemistry, classification, and potential impact on human health and industry. *Phytomedicine plus*, 100549.
94. Kandeepan, C., Kalaimathi, R. V., Jeevalatha, A., Basha, A. N., Ramya, S., & Jayakumararaj, R. (2021). In-silico ADMET Pharmacoinformatics of Geraniol (3, 7-dimethylocta-trans-2, 6-dien-1-ol)-acyclic monoterpene alcohol drug from Leaf Essential Oil of *Cymbopogon martinii* from Sirumalai Hills (Eastern Ghats), INDIA. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, *11*(4-S), 109-118.
95. Adams, T. B., Gavin, C. L., McGowen, M. M., Waddell, W. J., Cohen, S. M., Feron, V. J., ... & Smith, R. L. (2011). The FEMA GRAS assessment of aliphatic and aromatic terpene hydrocarbons used as flavor ingredients. *Food and chemical toxicology*, *49*(10), 2471-2494.
96. Wu, L., Yan, B., Han, J., Li, R., Xiao, J., He, S., & Bo, X. (2023). TOXRIC: a comprehensive database of toxicological data and benchmarks. *Nucleic Acids Research*, *51*(D1), D1432-D1445.

## **Abstract**

Type 2 diabetes, a chronic metabolic disorder, is characterized by hyperglycemia due to an increase in the activity of two key enzymes in carbohydrate metabolism:  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. This work assessed the molecular interactions of the compounds present in this oil with the alpha-amylase enzyme, a potential therapeutic target for the treatment of diabetes, using a modeling method known as molecular docking. The results show that Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate has a better affinity than the other compounds, as well as the reference molecule acarbose, with a binding energy of -8.10 kJ/mol. In addition, Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl), and D-Limonene showed similar results to the reference, with binding energies of -7.10 kJ/mol and -6 kJ/mol respectively. The ADMET study reports that Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate and Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl) have good oral bioavailability and the potential to be effective inhibitors.

## **Key words:**

$\alpha$ -amylase, Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate, Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl), D-Limonene, Type 2 Diabetes, Molecular Docking, ADMET.

## **Résumé**

Le diabète de type 2, un trouble métabolique chronique, se caractérise par une hyperglycémie due à une augmentation de l'activité de deux enzymes clés dans le métabolisme des glucides : l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. Ce travail a évalué les interactions moléculaires des composés présents dans cette huile avec l'enzyme alpha-amylase, une cible thérapeutique potentielle pour le traitement du diabète, en utilisant une méthode de modélisation connue sous le nom de docking moléculaire. Les résultats montrent que le Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate a une meilleure affinité que les autres composés, ainsi que la molécule de référence, l'acarbose, avec une énergie de liaison de -8,10 kJ/mol. En outre, le Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthyléthényl) et le D-Limonène ont montré des résultats similaires à la référence, avec des énergies de liaison de -7,10 kJ/mol et -6 kJ/mol respectivement. L'étude ADMET rapporte que le Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate et le Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthyléthényl) ont une bonne biodisponibilité orale et le potentiel d'être des inhibiteurs efficaces.

## Mots-clés :

$\alpha$ -amylase, Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate, Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthyléthényl), D-Limonène, Diabète de type 2, Docking moléculaire, ADMET.

## ملخص

داء السكري من النوع الثاني، اضطراب أيضي مزمن، يتميز بفرط سكر الدم بسبب زيادة نشاط اثنين من الإنزيمات الرئيسية جلوكوزيداز. تم تقييم التفاعلات الجزيئية للمركبات الموجودة في هذا الزيت مع  $\alpha$ -أميليز و  $\alpha$  في استقلاب الكربوهيدرات: أميليز، الهدف العلاجي المحتمل لعلاج السكري، باستخدام طريقة نمذجة معروفة باسم الالتحام الجزيئي. أظهرت  $\alpha$ -إنزيم لديه أفضل ألفة من المركبات الأخرى، Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate النتائج أن Cyclohexene-1-carboxaldehyde، بالإضافة إلى ذلك، أظهر kJ/mol وكذلك الجزيء المرجعي أكاربوز، بطاقة ارتباط قدرها -8.10 kJ/mol نتائج مماثلة للمرجع، بطاقة ارتباط -7.10 D-Limonene و Cyclohexene-1-carboxaldehyde، 4-(1-methylethenyl) و Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate، ADMET على التوالي. أفادت دراسة kJ/mol و -6 يتمتعون D-Limonene و Cyclohexene-1-carboxaldehyde، 4-(1-methylethenyl)، بتوافر حيوي فموي جيد ولديهم إمكانية أن يكونوا مثبطات فعالة.

## الكلمات المفتاحية :

$\alpha$ -أميليز، Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate، Cyclohexene-1-carboxaldehyde، 4-(1-methylethenyl)، D-Limonene، الالتحام الجزيئي، ADMET.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : Djehiche Imene

**Simulation informatique par docking moléculaire de nouveaux inhibiteurs de l'enzyme  $\alpha$ -amylase pour le traitement du diabète**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée**

**Résumé**

Le diabète de type 2, un trouble métabolique chronique, se caractérise par une hyperglycémie due à une augmentation de l'activité de deux enzymes clés dans le métabolisme des glucides : l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase. Ce travail a évalué les interactions moléculaires des composés présents dans cette huile avec l'enzyme alpha-amylase, une cible thérapeutique potentielle pour le traitement du diabète, en utilisant une méthode de modélisation connue sous le nom de docking moléculaire. Les résultats montrent que le Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1- enecarboxylate a une meilleure affinité que les autres composés, ainsi que la molécule de référence, l'acarbose, avec une énergie de liaison de -8,10 kJ/mol. En outre, le Cyclohexene-1- carboxaldehyde, 4-(1-méthyléthényl) et le D-Limonène ont montré des résultats similaires à la référence, avec des énergies de liaison de -7,10 kJ/mol et -6 kJ/mol respectivement. L'étude ADMET rapporte que le Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate et le Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthyléthényl) ont une bonne biodisponibilité orale et le potentiel d'être des inhibiteurs efficaces.

**Mots-clefs** :  $\alpha$ -amylase, Methyl 4-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-1-enecarboxylate, Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-méthyléthényl), D-Limonène, Diabète de type 2, Docking moléculaire, ADMET.

**Laboratoires de recherche** : laboratoire de Biochimie Appliquée (U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Président du jury** : Dr Oualbani R (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant** : Dr Teniou S (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur(s)** : Dr Demmak RG (MCA - U Constantine 3 Salah Boubnider).