

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université ABOUBEKR BELKAID –
TLEMCEM



وزارة التعليم العالي و البحث
العلمي
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Faculté des Sciences de la Nature et de
la Vie, et des Sciences de la Terre et de
l'Univers

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم
الأرض و الكون

Département de biologie

Mémoire de fin d'études

Présenté par

BOUHASSOUN Soumia
MASSAD Asma

En vue de l'obtention du
Diplôme de MASTER
En sciences biologiques
Option : Physiologie cellulaire et physiopathologie

Thème

Etude *in silico* de l'inhibition de la PTP1B

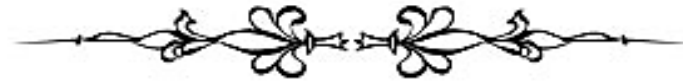
Soutenu devant le jury composé de :

| | | | |
|-----------|------------------------|------------|-----------------------|
| Examineur | SAKER Meriem | Professeur | Université de Tlemcen |
| Examineur | RAHMOUN Mohamed Nadjib | Professeur | Université de Tlemcen |
| Encadrant | CHERRAK Sabri Ahmed | MCA | Université de Tlemcen |

Année universitaire 2020/2021



REMERCIEMENTS



Nous remercions tout d'abord « ALLAH » tout puissant, de nous avoir donné la foi, la force, le courage et la patience nécessaire pour mener ce travail à bout.

En préambule à ce mémoire, je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

*Nous tenons à remercier notre encadreur : **Dr.CHERRAK Sabri Ahmed** qui nous a aidé par ses orientations et ses précieux conseils, et qui nous a toujours consacré son temps malgré ses occupations. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude, de nos remerciements les plus sincères et de notre respect.*

*Nous tenons à remercier le professeur **SAKER Meriem** Pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail..*

Veuillez accepter chère maître l'expression de toute notre reconnaissance et notre plus grand respect.

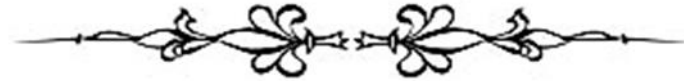
*Nous tenons à remercier le professeur **RAHMOUN Mohamed Nadjib** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous n'oublierons pas de remercier vivement les enseignants qui ont assuré notre formation du niveau primaire jusqu'au niveau universitaire.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les professeurs de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers de l'université de Tlemcen, et tout nos proches et amis pour leur support , leur encouragement et leur soutien au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

DÉDICACE



C'est avec profonde gratitude et sincères remerciements que je dédie ce travail, à tous ceux qui me sont chers, qui ont contribué à ma réussite de près ou de loin.

Je dédie ce modeste travail de fin d'études :

À la mémoire de ma chère mère

J'aurais tant aimé que tu sois présente ce jour. Puisses ton âme repose en paix. Que Dieu, le tout puissant, te couvre de Sa Sainte miséricorde et t'accueille dans son éternel paradis.

À mon cher père

À ma sœur jumelle Asma, mes sœurs Nassima, Amina, Souad et leurs enfants,

À Mon frère et sa petite fille

*Ainsi qu'à toute la famille **BOUHASSOUN** et **BENSAID**.*

À ma chère binôme « Asma »

À tous mes maîtres et mes enseignants durant les années des études, tous mes amis de cœur et tous mes collègues de la promotion de physiologie cellulaire et physiopathologie.

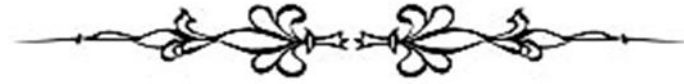
À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

À tous ceux qui me sont trop chers et que j'ai omis de citer.....

♥ *Merci.* ♥

Soumia BOUHASSOUN

DÉDICACE



Je dédie ce travail :

À Mes chers parents, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Merci d'être toujours là pour moi

A mon marie et ma petites princesse Fatima Zahra

À mon cher et adorable frère et ma petite sœur. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

À ma chère binôme « Soumia » qui m'a aidé et qui m'a supporté durant la réalisation de ce travail.

À monsieur « Cherrak » et a tous mes maitres et mes enseignants et mes collègues de promotion de Physiologie cellulaire et physiopathologie

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous.

A toute la famille « Messad » et la famille « Lasgaa »

♥Merci.♥

Asma MASSAD

TABLE DES MATIERES

RESUMES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I : L'OBESITE

| | |
|---|----|
| 1. Définition | 3 |
| 2. Epidémiologie | 3 |
| 3. Facteurs étiologiques | 5 |
| 3.1. Facteurs génétiques..... | 5 |
| 3.2. Facteurs alimentaires | 5 |
| 3.3. Sédentarité et activité physique | 5 |
| 3.4. Microbiote intestinale | 5 |
| 3.5. Autres facteurs | 6 |
| 4. Conséquences | 6 |
| 5. Physiopathologie de l'obésité | 8 |
| 5.1. L'homéostasie énergétique | 9 |
| 5.1.1. Leptine | 9 |
| 6. Thérapeutique | 9 |
| 6.1. Objectifs de traitement | 9 |
| 6.2. Moyens thérapeutiques | 10 |
| 6.2.1. Traitement diététique | 10 |
| 6.2.2. Activité physique | 11 |
| 6.2.3. Traitement médicamenteux | 11 |
| 6.2.4. Traitement chirurgical | 11 |

CHAPITRE II : PTP1B

| | |
|--|----|
| 1. Introduction | 13 |
| 2. Les PTPs | 13 |
| 2.1. Les PTPs classiques | 14 |
| 2.1.1. PTP1B | 14 |
| 2.1.1.1. Structure moléculaire et régulation de PTP1B | 14 |
| 2.1.1.2. Présentation de l'enzyme PTP1B et de ses sites actifs | 15 |
| 2.1.1.3. Régulation et mécanisme d'action de l'enzyme | 17 |
| 2.1.1.4. Les activités biologiques de PTP1B | 18 |
| 2.1.1.5. Inhibiteurs de PTP1B | 21 |
| ❖ Les composés synthétiques | 21 |
| ❖ Les composés naturels issus des plantes | 21 |
| ❖ La rutine | 22 |

CHAPITRE III: DOCKING MOLECULAIRE

| | | |
|----|---|----|
| 1. | Introduction | 28 |
| 2. | Définition du docking moléculaire | 28 |
| 3. | Outils de docking moléculaire | 29 |

CHAPITRE IV: MATERIELS ET METHODES

| | | |
|----------|---|----|
| 1. | Matériels | 33 |
| 1.1. | Hardwares (microordinateur) | 33 |
| 1.2. | Softwares | 33 |
| 1.2.1. | Le réseau WEB | 33 |
| 1.2.2. | Banques de données | 33 |
| 1.2.2.1. | PDB | 33 |
| 1.2.2.2. | PubChem | 34 |
| 1.2.3. | Programmes utilisés | 35 |
| 1.2.3.1. | UCSF Chimera | 35 |
| 1.2.3.2. | Discovery Studio Visualizer | 35 |
| 1.2.4. | SwissADME | 36 |
| 1.3. | Le récepteur | 36 |
| 1.4. | Ligands | 37 |
| 2. | Méthodes | 39 |
| 2.1. | Préparation de la protéine | 39 |
| 2.2. | Docking moléculaire | 41 |
| 2.3. | Visualisation et traitement des résultats | 43 |

CHAPITRE V: RESULTAS ET DISCUSSION

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | Etude des interactions entre les inhibiteurs et la PTP1B | 45 |
| 2. | Diagrammes 2D | 46 |
| 2.1. | Les cinq meilleurs inhibiteurs sélectionnés | 46 |
| 2.1.1. | Interactions entre l'inhibiteur (21676154) et le site actif | 46 |
| 2.1.2. | Interactions entre l'inhibiteur (5748580) et le site actif | 47 |
| 2.1.3. | Interactions entre l'inhibiteur (44259719) et le site actif | 47 |
| 2.1.4. | Interactions entre l'inhibiteur (44259713) et le site actif | 48 |
| 2.1.5. | Interactions entre l'inhibiteur (13370459) et le site actif | 49 |
| 3. | L'évaluation des propriétés ADMET | 50 |
| 3.1. | Propriétés physico-chimiques | 51 |
| 3.2. | Propriétés pharmacocinétiques | 53 |

| | |
|-------------------------|-----------|
| CONCLUSION | 55 |
|-------------------------|-----------|

| | |
|--|-----------|
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 57 |
|--|-----------|

| | |
|----------------------|-----------|
| ANNEXES | 63 |
|----------------------|-----------|

Résumé :

L'obésité est devenue un problème de santé publique majeur au niveau mondial où elle constitue une des principales causes des maladies cardiovasculaires. Dans ce travail, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de PTP1B, cible thérapeutique de l'obésité. Pour atteindre notre objectif, nous avons fait recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme AutoDock vina intégré dans le logiciel UCSF Chimera. Par docking moléculaire d'une collection de 24 similaires chimiques. Les résultats obtenus révèlent les composés Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether ; 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone comme nouveaux inhibiteurs théoriquement puissants envers la PTP1B avec des scores de -8.3 Kcal/mole . Enfin, l'application des filtres ADMET nous renseigne de manière positive sur le composé 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone qui se présente comme un nouvel inhibiteur potentiellement plus actif envers la PTP1B.

Mots Clés : PTP1B, Obésité, AutoDock, Docking moléculaire, Inhibiteur.

المخلص :

اصبحت السمنة مشكلة صحية عامة رئيسية في جميع انحاء العالم حيث انها من الاسباب الرئيسية لأمراض القلب والاعوية الدموية . في هذا العمل ،حاولنا اقتراح مثبطات جديدة لأنزيم تيروزين فوسفاتاز PTP1B باعتبارها الهدف العلاجي للسمنة .لتحقيق هدفنا، اتبعنا نهج الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج AutoDock vina المدرج ضمن برنامج UCSF Chimera من خلال الالتحام الجزيئي لمجموعة من 24 نظيرا كيميائيا مشتقة من PDB . النتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن المركبين Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether و 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone كمثبطات فعالة جديدة من الناحية النظرية ضد انزيم PTP1B ومع تسجيل طاقة ارتباط تقدر ب : -8.3 ك كال/ مول . واخيرا تطبيق الغرلة باستعمال الخصائص ADMET وجهتنا بطريقة ايجابية نحو المركب 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone والذي يعتبر كمثبط جديد وفعال اتجاه البروتين PTP1B

الكلمات المفتاحية : البروتينة PTP1B ، السمنة ، الالتحام الجزيئي، برنامج AutoDock ، المثبط .

Abstract

Obesity has become a major public health problem worldwide where it is one the deferent causes of cardiovascular disease. In this work, we have tried to propose new inhibitors of PTP1B, therapeutic target of obesity. To achieve our goal, we used the molecular docking approach using the AutoDock program by molecular docking of a collection of 24 chemical analogues. The results obtained reveal the compounds Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether; 3',5-Dihydroxy-3,4', 5', 7-tetramethoxyflavone as new theoretically potent inhibitors against PTP1B with scores of -8.3 Kcal/mole. Finally, the application of the ADMET filters gives us a positive indication of the 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone compound, which presents itself as a new inhibitor potentially more active towards PTP1B.

Key Words: PTP1B, Obesity, AutoDock, Molecular Docking, Inhibitor.

LISTE DES ABREVIATIONS

AA: Acides aminés
AET: Apport énergétique total
ALD: Adrénoleucodystrophie
ARNs: acides ribonucléiques
Å: Ångström
DBT 2: Diabète de type 2
DSV: Discovery studio visualizer
DUSP: Dual-specificity phosphatases
GI: gastro-intestinale
HDL: High density lipoprotein
IGF-1: Insulin-like growth factor 1
IMC: indice de masse corporelle
INSP: institut national de santé pub
IRS-1: Substrat du récepteur à l'insuline 1
JAK2: Janus kinases 2
Kg: kilogramme
LDL: Low density lipoprotein
NrPTP: Non-receptor protein tyrosine phosphatase
OMS: Organisation mondiale de santé
PDB: Protein Data Bank
PI3K: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase
PM: poids moléculaire
PPP: phosphoprotéine phosphatase
PR: récepteur de la leptine
PTKs: protéines tyrosine kinases
PTP: protéine tyrosine phosphatases
PTP1B: Protéine tyrosine phosphatase de type 1B
PTPH 1: protéine tyrosine phosphatase non receptor type 3
PTyr: Phosphotyrosine
RI: Récepteur à insuline
RMSD: Root Mean Square Deviation
RPTPs: récepteurs protéine tyrosine phosphatase
SAS: syndrome d'apnée du sommeil
SHP-2: Src homology region 2-containing protéine tyrosine phosphatase 2
SOCS-3: suppressor of cytokine signaling 3
TA: tissus adipeux
TCPTP: T-cell enriched protein tyrosine phosphatase

LISTE DES ABREVIATIONS

TPSA: topological polar surface area

UCSF: University of California, San Fransisco

VLDL: very Low density lipoprotein

3D: tridimensionnelle.

ΔG : variation en énergie libre de Gibbs

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| FIGURE 1 : PLANISPHERES DE L'INDICE DE MASSE CORPORELLE (IMC) EN 2016 ET DE LA VARIATION 1976-2016 DE LA PREVALENCE DE L'OBESITE DES ADULTES EN POURCENTAGE. | 4 |
| FIGURE 2 : MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES DE L'OBESITE A L'ORIGINE DES PRINCIPALES COMPLICATIONS METABOLIQUES ET CARDIOVASCULAIRES D'APRES . | 8 |
| FIGURE 3 : LES FAMILLES DES PROTEINES PHOSPHATASES. | 13 |
| FIGURE 4 : STRUCTURE DU DOMAINE CATALYTIQUE DE PTP1B. | 15 |
| FIGURE 5 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA STRUCTURE DU DOMAINE DE PTP1B. | 15 |
| FIGURE 6 : STRUCTURE DU SITE ACTIF DE PTP1B EN PRESENCE D'UN SUBSTRAT DE TYPE HEXAPEPTIDE | 17 |
| FIGURE 7 : MECANISME D'ACTION DE PTP1B. | 18 |
| FIGURE 8: SIGNALISATION METABOLIQUE ET ONCOGENIQUE DE PTP1B. | 20 |
| FIGURE 9 : DIFFERENTS TYPES DE FLAVONOÏDES A PARTIR DE L'ELEMENT STRUCTURAL DE BASE | 23 |
| FIGURE 10 : STRUCTURE CHIMIQUE DE LA RUTINE(PUBCHEM). | 24 |
| FIGURE 11 : PROTOCOLE GENERAL DE DOCKING MOLECULAIRE. | 29 |
| FIGURE 12 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES ETAPES DU DOCKING MOLECULAIRE | 29 |
| FIGURE 13 : UTILISATION DES DIFFERENTS LOGICIELS DE DOCKING EN 2010-2011. | 31 |
| FIGURE 14 : INTERFACE DE PROTEIN DATA BAN. | 34 |
| FIGURE 15: INTERFACE D'ACCUEIL DU PUBCHEM. | 34 |
| FIGURE 16: INTERFACE DE CHIMERA. | 35 |
| FIGURE 17: L'INTERFACE GRAPHIQUE DE SWISSADME | 36 |
| FIGURE 18: LA STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE LA PROTEINE CIBLE | 36 |
| FIGURE 19: ILLUSTRATION DU DOCKING MOLECULAIRE | 39 |
| FIGURE 20: INTERACTIONS ENTRE UN RECEPTEUR BIOLOGIQUE ET UN LIGAND. | 39 |
| FIGURE 21: L'ENZYME DE LA PTP1B AVEC LE STYLE CARTOON PAR CHIMERA, (TELECHARGEE A PARTIR DE RCSB PDB (PDB), PREPAREE PAR CHIMERA).(PDB) | 40 |
| FIGURE 22: LES ETAPES DE LA PREPARATION DE LA PROTEINE CIBLE ET DE LIGAND POUR LE DOCKING PAR CHIMERA. | 42 |
| FIGURE 23: DETERMINATION DE L'ESPACE DE RECHERCHE (TAILLE ET POSITION DU CENTRE DE LA GRILLE) POUR LE DOCKING. | 42 |
| FIGURE 24: STRUCTURE EXPERIMENTALE DU COMPLEXE RECEPTEUR PTP1B (1T49) LIGAND. L'ESPACE DE RECHERCHE EST DELIMITE PAR LA BOITE BLANCHE. | 43 |
| FIGURE 25 : REPRESENTATION D'INTERACTION DU MYRICETIN 3,7,3'-TRIMETHYL ETHER DANS LE SITE ACTIF DE LA PTP1B PAR UCFS CHIMERA(A) ET LES INTERACTIONS PAR DSV(B) | 46 |
| FIGURE 26 : REPRESENTATION D'INTERACTION DU 3',5-DIHYDROXY-3,4',5',7-TETRAMETHOXYFLAVONE DANS LE SITE ACTIF DE LA PTP1B PAR UCFS CHIMERA(A) ET LES INTERACTIONS PAR DSV(B). | 47 |
| FIGURE 27: REPRESENTATION D'INTERACTION DU L'INHIBITEUR 3',5,7-TRIHYDROXY-3,4',5'-TRIMETHOXYFLAVONE DANS LE SITE ACTIF DE LA PTP1B PAR UCFS CHIMERA(A) ET LES INTERACTIONS PAR DSV(B). | 48 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| FIGURE 28: REPRESENTATION D'INTERACTION DU MYRICETIN 3,7,3',5'-TETRAMETHYL ETHER DANS LE SITE ACTIF DE LA PTP1B PAR UCFS CHIMERA(A) ET LES INTERACTIONS PAR DSV(B). | 48 |
| FIGURE 29: REPRESENTATION D'INTERACTION DU 2-(3,4-DIHYDROXYPHENYL)-3-ETHOXY-5,7- DIHYDROXYCHROMEN-4-ONE DANS LE SITE ACTIF DE LA PTP1B PAR UCFS CHIMERA (A) ET LES INTERACTIONS PAR DSV(B). | 49 |
| FIGURE 30: DIAGRAMMES DES 5 MEILLEURS COMPOSES SELON LA REGLE DE LIPINSKI | 52 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| TABLEAU I : CLASSIFICATION DU DEGRE DE SURPOIDS OU D'OBESITE SELON L'IMC (SELON LA CLASSIFICATION RETENUE PAR L'OMS) (OMS)..... | 3 |
| TABLEAU II: BENEFICE THEORIQUE D'UNE PERTE DE POIDS DE 10 KG | 10 |
| TABLEAU III : COMPOSES NATURELS INHIBITEURS DE PTP1B | 22 |
| TABLEAU IV :DIVERSES SOURCES DE RUTINE (LISTE NON EXHAUSTIVE) | 25 |
| TABLEAU V: PRINCIPAUX PROGRAMMES DE DOCKING MOLECULAIRE..... | 31 |
| TABLEAU VI: LES 24 LIGANDS REPRESENTES AVEC LE STYLE BALL & STICK DU PUBCHEM (PUBCHEM)..... | 37 |
| TABLEAU VII : LES CARACTERISTIQUES DE LA 1T49 (LA PROTEINE CIBLE)..... | 40 |
| TABLEAU VIII : RESULTATS DES ENERGIES D'INTERACTIONS DES 5 MEILLEURS INHIBITEURS DE LA PTP1B..... | 45 |
| TABLEAU IX: LE PROFIL ADMET RELATIVE DES 24 COMPOSES CANDIDATS OBTENUS A PARTIR DE SERVEUR SWISSADME ET LEURS SCORES | 50 |

INTRODUCTION
GENERALE

L'obésité est une préoccupation majeure de santé publique dans nos sociétés modernes. Depuis la fin des années 1990, l'obésité a atteint le stade d'épidémie mondiale. Cette pathologie est le principal facteur de risque du diabète de type 2, des maladies cardiovasculaires, de certaines formes de cancers et de pathologies inflammatoires [1]. Ainsi le surpoids et l'obésité sont reconnus comme la cinquième cause de mortalité par l'OMS.

Parmi les hormones-clés impliquées dans l'obésité et le maintien du poids corporel figure la leptine. Cette hormone est associée à la sensation de satiété et joue un rôle majeur dans le contrôle de la prise de poids et la dépense d'énergie. La leptine agit sur des récepteurs spécifiques exprimés au niveau des tissus périphériques et le système nerveux central. Chez les sujets normaux, des taux de leptine élevés conduisent à une augmentation de la dépense énergétique et à une diminution de la prise alimentaire, donc à une baisse de la masse adipeuse et du taux de la leptine. En revanche, chez les personnes obèses, ce mécanisme de contrôle ne fonctionne plus et l'on parle d'une résistance à la leptine. L'activation des voies de signalisation induites par cette hormone est régulée de façon négative par plusieurs protéines dont les plus importantes sont la PTP1B et SOCS-3[2].

Plusieurs études montrent qu'au niveau périphérique; une expression très élevée de PTP1B induit une insensibilité des tissus-cibles à la leptine (et à l'insuline) ; alors qu'une inhibition de la production de cette protéine empêche le développement de l'obésité[3].

Notre travail de master a pour objectif essentiel d'acquérir des compétences en docking moléculaire afin de contribuer à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la PTP1B ; cible thérapeutique validée pour le traitement de l'obésité.

Les principaux chapitres de ce travail sont traités comme suit :

Dans le premier chapitre, nous avons effectué une recherche bibliographique représente un aperçu général sur l'obésité, commençant avec une définition, ses causes, ses complications, ainsi que sa physiopathologie et ses traitements.

Le second chapitre est réservé pour la recherche bibliographique sur la protéine cible « PTP1B » impliqué dans l'obésité, sa structure, ses mécanismes d'action, son rôle biologique ainsi que ses inhibiteurs.

Dans le troisième chapitre, nous avons parlé des techniques du docking moléculaire et des logiciels utilisés.

Dans le quatrième chapitre, les différents matériels et méthodes utilisés dans notre étude seront détaillés et nous avons décrit la méthodologie du Docking suivi pour analyser l'affinité « PTP1B–RUTINES ».

Dans le dernier chapitre de ce mémoire, nous exposerons l'essentiel de nos résultats obtenus avec une discussion en choisissant les inhibiteurs les plus puissants et sélectif envers de cette enzyme. Ainsi que l'application de la règle de Lipinski nous permettra de vérifier la biodisponibilité par voie orale des composés proposés.

Ce travail sera clôturé par une conclusion générale résumant l'ensemble du travail réalisé et quelques perspectives.

CHAPITRE I :

L'OBÉSITÉ

Les données épidémiologiques concernant l'obésité dans le monde d'aujourd'hui sont impressionnantes. À propos de l'obésité, il est courant de dire qu'il s'agit de la « plus grande épidémie mondiale non infectieuse ». L'impact économique de l'obésité dans le monde s'élève environ à 2 000 milliards d'euros par an [4].

1. Définition

L'obésité est un terme médical caractérisant une personne ayant une masse corporelle (adipeuse) plus importante que la plupart des gens, répartie de façon généralisée dans plusieurs zones de l'organisme [5].

Selon l'OMS, l'obésité se définit comme « une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle, ce qui représente un risque pour la santé ». Ce surpoids résulte d'un déséquilibre entre les rapports et les dépenses énergétiques [6].

La mesure de la masse grasse étant difficile à réaliser en pratique clinique, le calcul de l'indice de masse corporelle (IMC) qui est correspond au poids (en kg) divisé par le carré de la taille (en mètre) est donc reste à ce jour le seul moyen simple pour estimer la masse grasse d'un individu et définir l'obésité. Cette mesure permet une classification du poids, décrite dans le tableau 1, allant de l'insuffisance pondérale à l'obésité morbide [1, 4].

Pour l'adulte quels que soient le sexe ou l'âge, Une personne ayant un IMC de 30 ou plus est généralement considérée comme obèse. Une personne dont l'IMC est égal ou supérieur à 25 est considérée comme étant en surpoids [7].

Tableau I : Classification du degré de surpoids ou d'obésité selon l'IMC (Selon la classification retenue par l'OMS) [7]

| Degré d'obésité (selon l'OMS) | Indice de masse corporelle IMC (kg/m ²) |
|-------------------------------|---|
| Poids insuffisant | <18,5 |
| Poids normal | 18,5–24,9 |
| Surpoids | 25,0–29,9 |
| Obésité modérée | 30,0–34,9 |
| Obésité sévère | 35,0–39,9 |
| Obésité morbide | ≥ 40 |

2. Epidémiologie

Au niveau mondial, l'obésité est aujourd'hui la maladie métabolique la plus fréquente et de surcroît soumise à une augmentation importante et rapide. Elle est considérée par l'OMS comme l'épidémie du XXI^e siècle [8].

Le surpoids et l'obésité sont les premiers facteurs de risque de décès au niveau mondial. Environ 3,4 millions d'adultes en meurent chaque année [9].

D'après les estimations mondiales récentes de l'OMS: (2020) [7]

À l'échelle mondiale, le nombre de cas d'obésité a presque triplé depuis 1975.

Globalement, plus de 1,9 milliard d'adultes – personnes de 18 ans et plus – étaient en surpoids (environ 39%). Sur ce total, plus de 650 millions étaient obèses ce qui représente 13% de la population adulte mondiale (11% des hommes et 15% des femmes) en 2016 [7]. En 2019, on estimait que 38,2 millions d'enfants de moins de 5 ans étaient en surpoids ou obèses [7]. D'ici 2030, le nombre de personnes en surpoids devrait atteindre 3,3 milliards [10].

En Afrique, le nombre d'enfants en surpoids ou obèses a augmenté de près de 24% depuis 2000. La prévalence du surpoids et de l'obésité chez les enfants et les adolescents âgés de 5 à 19 ans a augmenté de façon spectaculaire, passant d'à peine 4% en 1975 à un peu plus de 18% en 2016. L'augmentation a été la même chez les garçons que chez les filles: en 2016, 18% des filles et 19% des garçons étaient en surpoids [7].

En Algérie la position de ce phénomène n'est guère différente des autres pays du monde ; selon le Pr Amar Tbaïbia, chef de service de la médecine interne à l'EPH de Birtraria (El Biar), Il indique que «En Algérie, les chiffres ont triplé depuis 2015 et selon les derniers résultats de l'enquête Step Wise du ministère de la Santé 2017, le taux de l'obésité est de 30% chez les femmes et 14% des hommes.» [11].

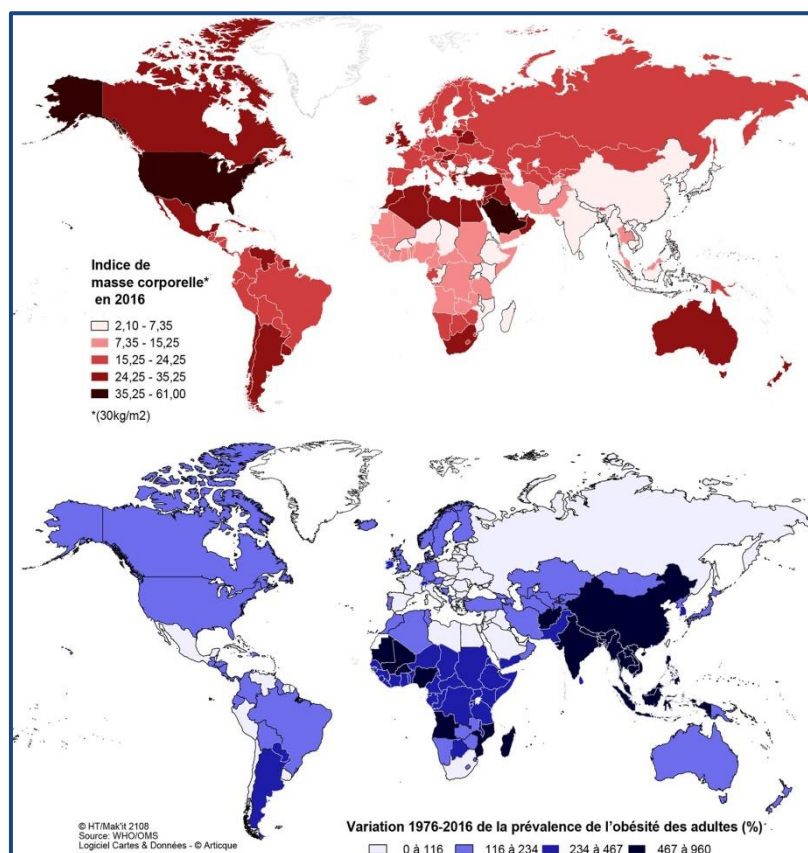


Figure 1 : Planisphères de l'Indice de masse corporelle (IMC) en 2016 et de la variation 1976-2016 de la prévalence de l'obésité des adultes en pourcentage [12].

3. Facteurs Etiologiques (les causes) :

L'obésité est une pathologie chronique complexe et plurifactorielle qui résultant d'une interaction entre une multitude de facteurs génétiques, endocriniens, métaboliques, comportementaux, sociaux, psychologiques et environnementaux [13] :

3.1. Facteurs génétiques :

Le risque de développer une obésité chez un individu dont l'un ou les deux parents sont obèses, est environ deux à huit fois plus élevé comparativement à un individu sans histoire familiale d'obésité[4] . Cependant, cette transmission familiale ne suffit pas pour affirmer une transmission génétique car les membres d'une même famille partagent, outre des gènes, un contexte socioculturel, un style de vie et un type d'alimentation [14]. une étude portant sur plus de 10000 individus, Maes et al., (1997), suggère que les influences génétiques expliqueraient 50 à 90 % des variations phénotypiques de l'IMC [15].

On considère que la génétique intervient comme facteur prédisposant dans 30% environ des situations d'obésité.

3.2. Facteurs alimentaires :

Parmi ceux agissant sur la balance énergétique via l'excès d'apports, on trouve les modifications de la prise alimentaire, quantitatives ou qualitatives (alimentation hypercalorique, hyperlipidique, hyperprotidique, pauvres en Fibres...) provoque une obésité [14]. Plusieurs études ont suggéré qu'une alimentation riche en graisse était associée à une prise de poids [15] .

En outre, la prise alimentaire est influencée par des facteurs socioculturels (habitudes, croyances, disponibilité et palatabilité des aliments, contexte des repas, ressources économiques) , émotionnels et psychologiques (stress, anxiété, ennui, colère, tristesse, joie) [14, 16] .

3.3. Sédentarité et activité physique :

Le facteur jouant un rôle central dans le déséquilibre du bilan d'énergie et entraînant un défaut de dépense énergétique est principalement la sédentarité [17], état dans lequel les mouvements sont réduits au minimum, avec une dépense énergétique proche du métabolisme énergétique au repos. [14]. Des chercheurs soulignent que les activités de loisirs impliquant la position assise, la courte durée de sommeil comme prendre 5 ou 6 heures de sommeil chez les adultes et les adolescents [18, 19] ou moins de 10-11 heures de sommeil chez les enfants [18, 20] sont également associés à un gain de poids[18]. Toutes les deux heures, les femmes passaient la journée à regarder la télévision, elles avaient 23% plus de risques de devenir obèses et 14% plus de risques de développer un diabète [18, 21].

3.4. Microbiote intestinale : [4]

L'étude du lien entre la flore bactérienne (l'ensemble des bactéries de notre intestin) et le poids a commencé dans les années 1980. En 2004 J. Gordon et son équipe américaine de l'université Washington à Saint-Louis a montré que des souris dépourvues de flore intestinale

(axénique) avaient une masse grasse inférieure de 42% à celle de souris normales, alors qu'elles absorbaient un tiers de calories de plus. L'équipe a transféré le microbiote de souris normales à des souris axénique, ces dernières ont vu leur masse grasse augmenter de 60% en 14 jours malgré une réduction de la prise alimentaire. Des études de la même équipe en 2006 montrent que certaines compositions du microbiote favoriseraient la prise de poids, mais ce que nous mangeons modifie aussi la composition de notre flore intestinale [4].

3.5. Autres facteurs favorisant l'obésité:

La tendance qu'a un individu à prendre du poids peut être majorée par certains facteurs tels que le fait d'arrêter de fumer, la durée et la qualité du sommeil [14], dérèglement endocriniens (hypothyroïdie, syndrome de Cushing ...) l'apparition de maladie, ou le traitement par des médicaments dont l'effet secondaire est de favoriser la prise de poids (comme les antihistaminiques, les antidépresseurs, des corticoïdes ..) [15].

4. Conséquences :

L'obésité est devenue un grave problème de santé publique qui grève les budgets des systèmes de santé et nuit à la santé physique et psychologique entraînant plusieurs complications [22] :

4.1. Complications métaboliques :

Une des principales complications métaboliques de l'obésité est le diabète de type 2 [23] (75% des patients de DBT2 sont obèses [16]) qui résulte à l'incapacité des organes périphériques comme le foie, le muscle ou le TA à répondre efficacement à l'insuline (la résistance à l'insuline) [24].

L'obésité est liée à une augmentation du cholestérol, des triglycérides, du LDL-cholestérol et à une diminution du HDL-cholestérol [25].

L'obésité fait partie des causes de stéatose hépatique non alcoolique (maladie chronique du foie) [26] et de la goutte [25].

4.2. Hypertension artérielle et maladies cardiovasculaires :

Différentes études ont montré que le risque de morbidité et de mortalité cardiovasculaire augmente chez la personne obèse aussi bien chez l'homme que chez la femme. Les patients obèses peuvent également souffrir d'hypertension artérielle et possèdent des facteurs de risque d'infarctus du myocarde et d'insuffisance cardiaque [27].

4.3. Troubles respiratoires :

Les principales complications sont le syndrome d'hypoventilation alvéolaire, le syndrome d'apnée du sommeil (SAS) et l'hypertension artérielle pulmonaire. La prévalence du syndrome d'apnée du sommeil chez l'obèse pourrait dépasser 40% dans les cas d'obésité massive [28].

De nombreux chercheurs montrent une grande corrélation entre l'indice de l'obésité centrale et l'apparition de l'asthme et sa gravité [18]. Le surpoids augmente le risque d'asthme de 38%, tandis que l'obésité l'augmente de 92%, de façon similaire entre les femmes et les hommes [18, 29].

4.4. Néphropathies chroniques :

L'obésité conduit également à une insuffisance rénale. Ils ont constaté que plus l'IMC est élevé, plus le risque de maladie rénale chronique est élevé. [18, 30].

4.5. Articulations et Déformations de l'os :

L'obésité est la première cause d'arthrose du genou chez la femme, et la deuxième chez l'homme, après les traumatismes du genou [16].

Les personnes obèses adultes et âgées montrent également des signes de reconstruction osseuse et des symptômes d'ostéoporose [18, 31, 32]. L'ostéoporose des articulations de la cheville et du genou est environ 4 à 8 fois plus fréquente chez les personnes ayant un $IMC > 30 \text{ kg / m}^2$ que chez les personnes ayant un $IMC < 25 \text{ kg / m}^2$ [18, 31].

4.6. Cancer :

Plus récemment, des preuves ont montré que le surpoids et / ou l'obésité pouvait être un facteur de risque pour le développement de certains types de cancers [33] tels que le cancer de l'endomètre et le cancer du sein, le cancer de la vésicule biliaire [34], du foie [35], de l'œsophage, du côlon, du pancréas, du rein [36], des ovaires et du cancer avancé de la prostate [37], ainsi que des leucémies [38].

On estime que le surpoids et l'obésité sont à l'origine d'environ 20% de tous les cas de cancer, indépendamment de l'alimentation [39].

4.7. Complications digestives :

Le reflux gastro-œsophagien est deux fois plus fréquent au cours de l'obésité et contribue à expliquer le sur-risque d'adénocarcinome œsophagien observé chez les sujets obèses [40]. L'incidence annuelle de la lithiase biliaire silencieuse est multipliée par 7 chez la femme obèse. Par ailleurs, la perte de poids rapide après chirurgie bariatrique ou régime à basse calories accroît le risque lithiasique en réduisant notablement la vidange vésiculaire [18, 41].

4.8. Les conséquences psychosociales :

Au niveau psychologique, l'obésité peut engendrer: un syndrome anxio-dépressif, des troubles du comportement alimentaire secondaires, une perte de confiance en soi, une perte d'estime de soi et une tendance au repli sur soi [25].

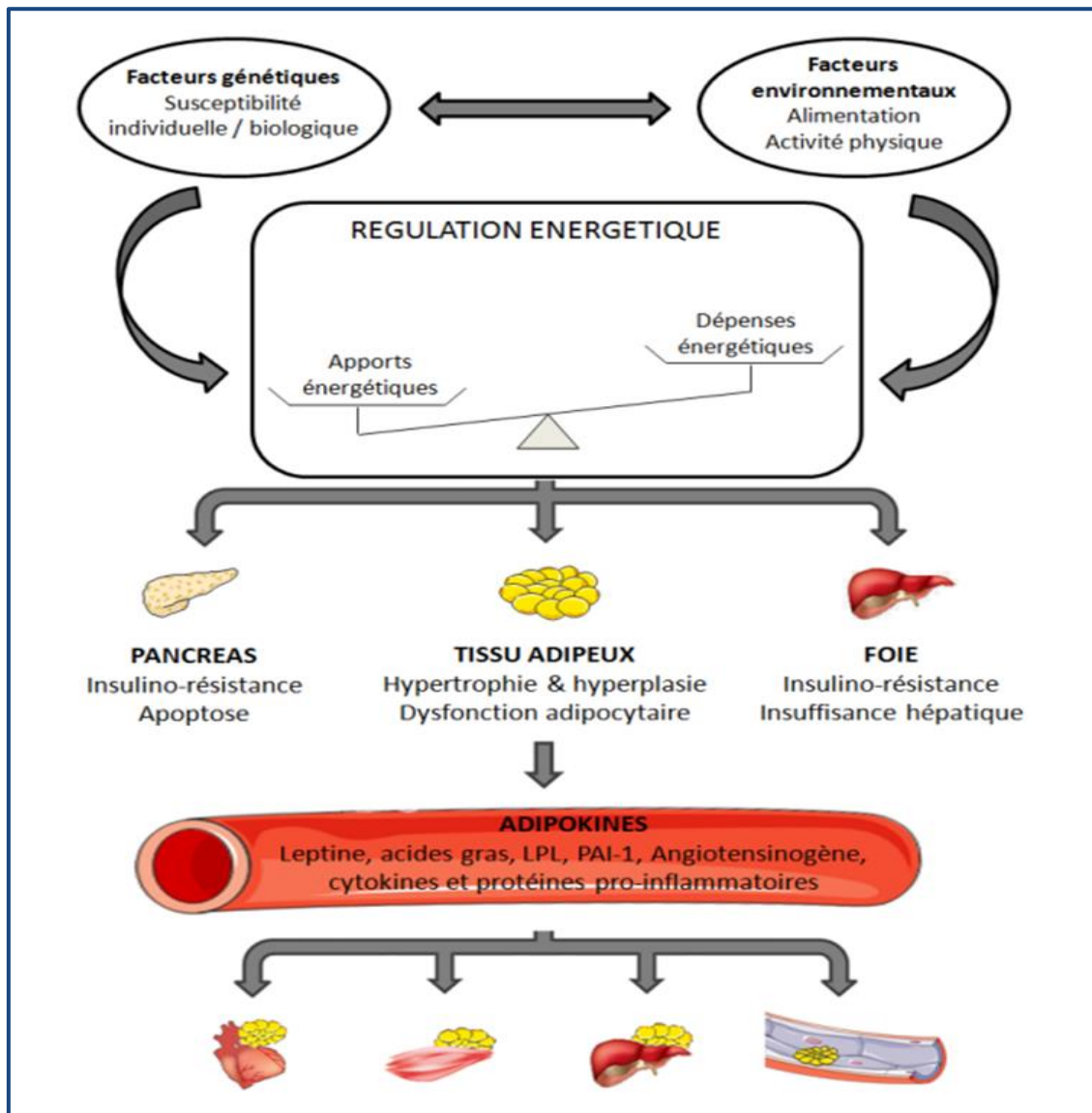


Figure 2 : Mécanismes physiopathologiques de l'obésité à l'origine des principales complications métaboliques et cardiovasculaires d'après [42, 43, 44].

5. Physiopathologie de l'obésité

La physiopathologie de l'obésité relève de causes multifactorielles dont les mécanismes soulignent l'importance cruciale du contrôle pondéral pour le maintien de la santé. L'obésité résulte naturellement d'un déséquilibre de la balance énergétique entre les apports et les dépenses énergétiques. Les forces de cet équilibre agissant par la voie du contrôle de la prise alimentaire ou sur l'activité physique spontanée sont aussi régies par le système nerveux qui est à même à tout moment de moduler cette balance en jouant sur le contrôle de la prise alimentaire ou sur les dépenses énergétiques [45].

5.1. L'homéostasie énergétique :

L'obésité se constitue lorsqu'il existe un déséquilibre de l'homéostasie énergétique. Plusieurs hormones liés à l'équilibre énergétique, comme la leptine [46, 47], qui nous intéresse dans notre étude et qui est responsable de la régulation de l'appétit et du comportement alimentaire.

5.1.1. Leptine

La leptine est une hormone peptidique codée par le gène ob, qui est produit principalement par les adipocytes proportionnellement à la masse adipeuse, mais il peut également être sécrété par les cellules des ovaires, de l'épithélium mammaire, du tissu adipeux brun, des muscles squelettiques et de l'estomac [18, 48, 49]. La leptine est impliquée dans la régulation hypothalamique du poids corporel car elle a un rôle clé dans l'homéostasie énergétique en informant le cerveau des changements dans l'équilibre énergétique et la quantité de carburant stockée sous forme de graisse [18, 50] en favorisant une sensation de satiété [51]. La diminution de la signalisation de la leptine favorise l'augmentation de l'apport alimentaire, l'équilibre énergétique positif et l'accumulation de graisse [18, 51, 52]. La perte de fonction de la leptine par les mutants génétiques ou son récepteur dans des modèles murins développent des anomalies métaboliques systémiques tels que l'obésité, le diabète et les défauts immunitaires [18, 53]. Dans l'état obèse, la leptine est surproduite qui favorise le développement de la résistance à la leptine [18, 51, 54]. Des concentrations élevées de la leptine chez les obèses sont associées à de plus grandes masse de TA [18, 55, 56] ce hyperlipidémie affecte plusieurs fonction dont la fonction immunitaire, la production de cytokines, l'angiogenèse et la carcinogenèse [18, 57]. La leptine apparaît donc comme le régulateur interne du poids corporel.

6. Thérapeutique :

6.1. Objectifs de traitement :

L'objectif du traitement est que la personne obèse, à travers des modifications durables de ses habitudes, parvienne à retrouver un équilibre nutritionnel et une meilleure santé psychologique et somatique [58].

La prise en charge des comorbidités est un des objectifs prioritaires. Le contrôle d'un diabète, de la pression artérielle et des autres facteurs de risque ne doivent pas être négligés au profit de la seule réduction pondérale, qui n'est pas toujours suffisante en elle-même. Néanmoins la perte de 10 kg est déjà très efficace [58].

Tableau II: Bénéfice théorique d'une perte de poids de 10 kg [58].

| Paramètre | Evaluation de l'effet |
|-----------------------------|---|
| Mortalité | ↓ de plus de 20% de la mortalité totale ↓ de plus de 30% de la mortalité liée au diabète |
| Pression artérielle | ↓ 10 mmHg de la pression artérielle systolique ↓ 20 mmHg de la pression artérielle diastolique |
| Diabète de type 2 | ↓ 50% de la glycémie à jeun |
| Lipides plasmatiques | ↓ de 15% du LDL-Cholestérol ↓ de 30% des triglycérides ↑ de 8% du HDL-Cholestérol |

6.2. Moyens thérapeutiques :

6.2.1. Traitement diététique :[58]

Le choix tactique des différents régimes se fait en 2 étapes ;

- La restriction énergétique : On distingue 3 types de régimes en fonction du déficit calorique et de la durée [58, 59, 60].

- Les régimes peu restrictifs personnalisés : ont la préférence dans les recommandations de bonnes pratiques cliniques. Ils sont prescrits pour quelques mois (3 à 6 mois) [58].

- Les régimes à bas niveau calorique [800 à 1200-1500 kcal./ jour] imposent une diminution considérable (de 30 à 50%) des apports énergétiques par rapport aux besoins du sujet. Leur durée ne doit pas dépasser quelques semaines[58].

- Les régimes à très basse valeur calorique [inférieur ou égal à 800 kcals/jour]. Très efficaces, ils font perdre 4 à 8 kg par mois, mais le risque de rechute est très élevé. Les recommandations françaises précisent que ces régimes doivent être utilisés sous contrôle médical strict, pour des périodes ne dépassant pas 4 semaines [58].

- Stratégies diététiques :[58]

- Conseils nutritionnels comme [60, 61] :

- Limiter la consommation des aliments à forte densité énergétique, riche en lipides ou en sucres simples et les boissons sucrées[58] [60, 61].
- Choisir des aliments à faible densité énergétique (fruits, légumes, boire de l'eau) [58, 60, 61].
- Structurer les prises alimentaires en repas et en collation en fonction des nécessités et modes de vie du sujet [58, 60, 61].

- Régime dit équilibré, modérément hypocalorique : le principe est de proposer une alimentation équilibrée en glucides, lipides et protéines (G-L-P : 50-35-15% des AET) mais réduite de 15 à 30% par rapport aux besoins calculés du sujet (régime hypolipidique, régime hyperprotidique, régime hypoglucidique) [58] .

6.2.2. Activité physique : [58]

Le principal intérêt de l'activité physique est de limiter la reprise de poids après amaigrissement et de prévenir de certaines maladies liées à l'obésité, comme le diabète, l'hypertension artérielle, les dyslipidémies et probablement certains types de cancers. Le message est simple : essayer de rendre le mode de vie de plus en plus « actif ». Il est recommandé d'accumuler au moins 30 minutes d'activités non sédentaires chaque jour de la semaine [58].

6.2.3. Traitement médicamenteux : [58]

Deux médicaments, de 2 classes différentes sont actuellement prescrits dans la plupart des pays, car agréés pour une utilisation de longue durée [62].

L'orlistat ou tétrahydrolipstatine (Xénical) est un inhibiteur puissant des lipases gastriques et pancréatiques, qui diminue par conséquent l'hydrolyse des triglycérides alimentaires [62]. L'absorption des lipides baisse de 30% et une stéatorrhée de 20 à 30 g /jour apparaît [58].

La subitramine (Subitral) est un anorexigène, dérivé de la β -phényléthylamine. Elle permet de diminuer au niveau des terminaisons nerveuses la « recapture » de la sérotonine et de la noradrénaline et, dans une moindre mesure, celle de la dopamine, sans affecter la libération de ces neurotransmetteurs. La subitramine est contre indiquée en cas d'hypertension artérielle mal contrôlée, d'antécédent d'accident vasculaire cérébral [58].

Le rimonabant, actuellement en phase 3 de son développement, est le premier représentant d'une nouvelle classe thérapeutique, les bloqueurs des récepteurs des cannabinoïdes de type CBI [58, 63].

6.2.4. Traitement chirurgical : [58]

Le traitement chirurgical est sans aucun doute le plus efficace pour obtenir une perte de poids importante en cas d'obésité massive. Les effets bénéfiques sur les comorbidités et sur la qualité de vie sont démontrés, mais il n'est pas actuellement établi qu'ils permettent réduire la mortalité. Les indications de la chirurgie bariatrique (gastroplasties et court-circuit gastrique...) ont été clairement définies par de nombreux consensus d'experts : ne sont concernés que les sujets massivement obèses (IMC supérieur à 40) ou les sujets qui souffrent de comorbidités sévères et qui ont un IMC supérieur à 35 kg/m², motivés et bien informés [58].

CHAPITRE II :

LA PTP1B

1. Introduction :

De nombreux processus biologiques dépendent des cascades de phosphorylation et déphosphorylation. La régulation de la phosphorylation des tyrosines est sous contrôle de protéines tyrosine kinases (PTKs) et de protéines tyrosine phosphatases (PTPs) qui diffèrent dans leur structure et leur mécanisme d'action. Les protéines kinases et les phosphatases apparaissent donc comme des régulateurs clés des événements cellulaires.

2. Les PTPs :

Les PTPs constituent la plus grande famille de gènes encodant des phosphatases, et comprend plus de 100 phosphatases différentes [64, 65] et six mutations au niveau de ces gènes codant des PTPs sont à l'origine de maladies génétiques (hypercholestérolémie, diabète, maladie d'Alzheimer...) [66]. Bien qu'elles aient été initialement perçues comme étant des enzymes non-spécifiques, elles sont désormais bien établies comme étant des enzymes spécifiques agissant comme régulateurs essentiels des mécanismes cellulaires. En équilibre avec les PTKs, elles régulent l'activation de multiples voies de signalisation intracellulaires et participent donc dans la régulation de nombreuses réponses physiologiques [65].

On divise la superfamille des PTPs en deux sous-familles. Alors que les PTPs classiques sont constituées de 37 phosphatases pouvant déphosphoryler spécifiquement les résidus tyrosines, les PTPs à double spécificité (DUSP, dual-specificity phosphatases) comprennent 68 phosphatases et déphosphorylent les sérines et thréonines en plus des tyrosines, et certains lipides et ARNs [65, 67] Étant donné leur capacité à réguler de multiples mécanismes intracellulaires, une altération de la fonction des PTPs contribue au développement de plusieurs pathologies chez l'humain [65, 68].

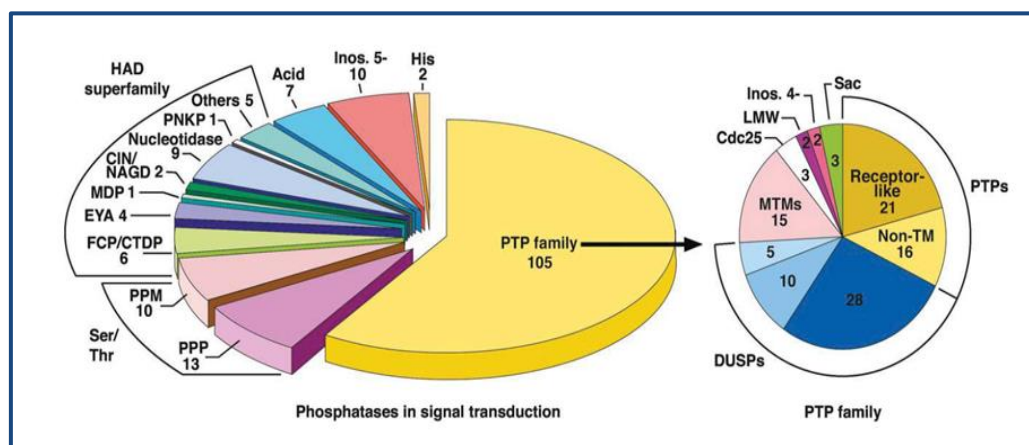


Figure 3 : Les familles des protéines phosphatases. On classe les phosphatases en 3 grandes familles. La famille des PP (Ser/Thr) catalyse spécifiquement la déphosphorylation des résidus sérine et thréonine, et inclue des phosphoprotéines phosphatases P (PPP) et M (PPM). Les phosphatases HAD catalysent la déphosphorylation de leurs substrats grâce à un résidu aspartate. Les PTPs constituent la plus grande famille des phosphatases et comportent plus de 105 phosphatases. Celles-ci incluent les PTPs classiques spécifiques aux résidus tyrosines, ainsi que les phosphatases à double-spécificité (DUSPs), qui déphosphorylent les sérines, thréonines et tyrosines. Les PTPs classiques incluent des membres récepteurs et non-récepteurs. Reproduit de Tonks, 2013 avec la permission de FEBS PRESS [65].

2.1. Les PTPs classiques :

D'abord, les PTPs classiques sont catégorisées en deux types, soit les récepteurs protéines tyrosine phosphatases (RPTPs) ainsi que les PTPs non-transmembranaires (nrPTPs, non-receptor protein tyrosine phosphatases). Ensuite, les nrPTPs incluent environ une quinzaine de PTPs dont PTP1B, TCPTP (T-cell enriched protein tyrosine phosphatase), SHP-2 (Src homology region 2-containing protein tyrosine phosphatase 2) et PTPH1 (protéine tyrosine phosphatase non-receptor type 3). Ces phosphatases possèdent un seul domaine catalytique accompagné de régions régulatrices adjacentes qui favorisent les interactions protéines-protéines importantes pour entre autres moduler l'activité de l'enzyme et déterminer sa localisation à l'intérieur de la cellule [65, 68].

2.1.1. La PTP1B :

L'enzyme PTP1B ou Protéine tyrosine phosphatase de type 1B est une de ces enzymes de type tyrosine phosphatase. Elle est la première PTP qui a été purifiée à partir de placenta humain par les Docteurs. Nicholas Tonks et Edmond Fischer, décrite en 1988, cristallisée en 1994 [69] et de nombreuses études sont toujours en cours afin de cerner ses mécanismes de régulation. Elle est exprimée dans plusieurs tissus et est située sur la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique [65, 70].

Elle joue un rôle majeur en inhibant la voie de signalisation via les récepteurs à insuline et à leptine. Dans le cas de l'insuline et de la leptine, PTP1B déphosphoryle soit le récepteur à insuline (RI) ainsi que ses substrats primaires, les protéines IRS, soit la tyrosine kinase JAK2 (Janus kinase 2). PTP1B joue également un rôle dans la prolifération cellulaire. Ainsi cette enzyme suscite beaucoup d'intérêt pour d'éventuelles applications dans l'obésité, le diabète et le cancer[66].

2.1.1.1. Structure moléculaire et régulation de la PTP1B

Cette enzyme a été la première PTP cristallisée, ce qui a permis de mieux comprendre comment fonctionnent les autres PTPs [65, 69]. Essentiellement, le domaine catalytique de PTP1B est composé de 8 hélices alpha et de 12 feuilletts beta. Comme toutes les autres PTPs, PTP1B possède un motif conservé HCX 5 R et celui-ci est situé à la base d'une voute formée de trois motifs. Le premier motif est formé par la boucle WPD qui consiste en une boucle conservée chez les PTPs dans laquelle un résidu aspartate (l'aspartate 181 chez PTP1B) est impliqué dans la catalyse. Le deuxième motif est formé par la boucle Q, comprenant la glutamine 262 qui constitue également un résidu essentiel à la catalyse. Le troisième motif est la boucle phosphotyrosine (pTyr) contenant la tyrosine 46. Cette dernière définit la spécificité de PTP1B envers les résidus phospho-tyrosines, puisqu'elle est située complètement à la base de son domaine catalytique qui, de par sa profondeur, n'est accessible que par les résidus phospho-tyrosines qui possèdent une chaîne latérale plus longue que celle des résidus phospho-sérines ou -thréonine [65].

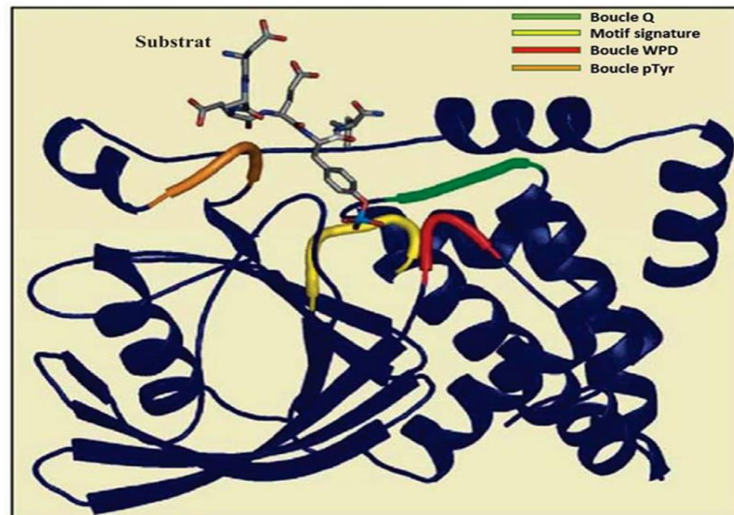


Figure 4 : Structure du domaine catalytique de la PTP1B. Le motif signature HCX_5R de PTP1B est situé à la base d'une voute composée de trois motifs, soit la boucle Q, la boucle WPD ainsi que la boucle phosphotyrosine (pTyr). Un substrat phosphorylé interagit avec PTP1B. Adapté de Tonks, 2003 avec l'autorisation de John Wiley and Sons. [65]

2.1.1.2. Présentation de l'enzyme PTP1B et de ses sites actifs :

La protéine native PTP1B est composée de 435 acides aminés et possède plusieurs régions (Fig. 5):[71]

- résidus de 30-278 : domaine catalytique de type phosphatase correspondant à la partie N-terminale (en vert sur la Fig.5) [71].
- résidus 279-401: région dite de régulation riche en proline (en violet sur la Figure 5) [71].
- résidus 401-435 : domaine dit de localisation membranaire qui permet l'accrochage de l'enzyme à la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique et correspondant à la partie C-terminale (domaine ER en orange sur la Figure 5) [71].

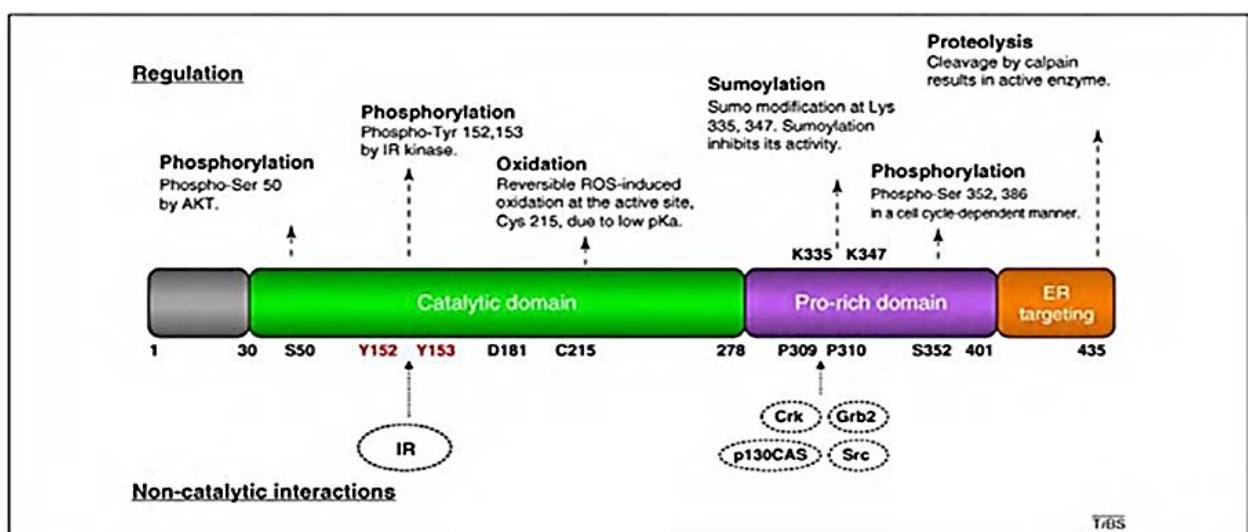


Figure 5 : Représentation schématique de la structure du domaine de la PTP1B[71].

Le site actif de l'enzyme PTP1B se situe au niveau des acides aminés en position 30-278 et il renferme plusieurs régions importantes pour son activité : le site catalytique associé à la boucle WPD (tryptophane, proline, acide aspartique), le site secondaire d'attachement du groupe aryl-phosphate et quelques sites annexes pour augmenter les interactions entre la protéine et ses molécules d'attachement (Fig. 6)[66].

La base du site catalytique est définie par le motif que l'on retrouve dans les PTP c'est-à-dire les résidus AA en position 214-221 qui forment une boucle rigide, en forme de berceau composée de 8 AA (His214-Cys215-Ser216-Ala217-Gly218-Ileu219-Gly220-Arg221) qui va fixer une moitié du groupe aryl-phosphate (Fig. 6) (le groupe phosphate est attaché en 4^{ème} position du groupe phényle de la tyrosine) du substrat tyrosine. Cette boucle contient également le site actif nucléophile de la Cys215. Quatre autres boucles portant des résidus invariants forment les bords de la clé catalytique et contribuent à la catalyse et à la reconnaissance du substrat (Asp181, Phe182, Tyr46, Val49, Lys120, Gln262). La profondeur de cette clé catalytique est de 8-9 Å et joue un rôle dans la sélectivité du substrat (par exemple la sérine et la thréonine ne peuvent pas atteindre la Cys215 pour une éventuelle activation) [66].

La boucle WPD (AA de 179-181 Trp179-Pro180-Asp181) peut bouger d'environ 12 Å pour enfermer le noyau aromatique de la tyrosine au sein du site catalytique et ainsi augmenter les interactions hydrophobes. L'Asp181 (du site catalytique) peut ainsi jouer le rôle d'un acide et protoner le groupement tyrosyl, l'Arg221 peut se réorienter pour augmenter les liaisons ioniques avec le substrat phosphate et enfin la Cys215 est en position pour subir une attaque nucléophile du substrat contenant l'atome de phosphore. Cette boucle peut ainsi se présenter sous 2 formes, une forme ouverte et forme fermée [66].

Les inhibiteurs pourront donc soit inhiber PTP1B avec une boucle en position ouverte ou fermée tout en sachant que les inhibiteurs ciblant la « forme ouverte » sont de plus faibles inhibiteurs que ceux ciblant « la forme fermée » [66].

Les sites secondaires de fixation du groupe aryl-phosphate sont situés sur un site adjacent au site catalytique (Arg24, Arg254). Ce site est catalytiquement inactif et est responsable de plus faibles interactions avec le substrat qu'avec le site primaire d'autant plus qu'il est exposé aux solvants. Il intervient néanmoins pour permettre d'optimiser les interactions entre inhibiteurs de PTP1B et l'enzyme [66].

Quelques sites annexes sont également importants afin d'augmenter la sélectivité des inhibiteurs :[66]

- 152 -Arg47-Asp48 sont des AA chargés situés au-dessus de la poche du site catalytique et ils forment la région connue sous le nom YRD. En formant un pont ionique entre Asp48 et un inhibiteur contenant un atome d'azote, la sélectivité par rapport aux autres phosphatases est assurée [66].
- Gly259 appartient à un site de fixation des tyrosines phosphatées proche du site catalytique et il permet de contrôler l'accès vers le site secondaire aryl-phosphate.

Ainsi, plus les inhibiteurs contiendront des substituants pouvant interagir avec toutes les régions d'intérêt de PTP1B, plus l'efficacité et la sélectivité seront augmentées [66].

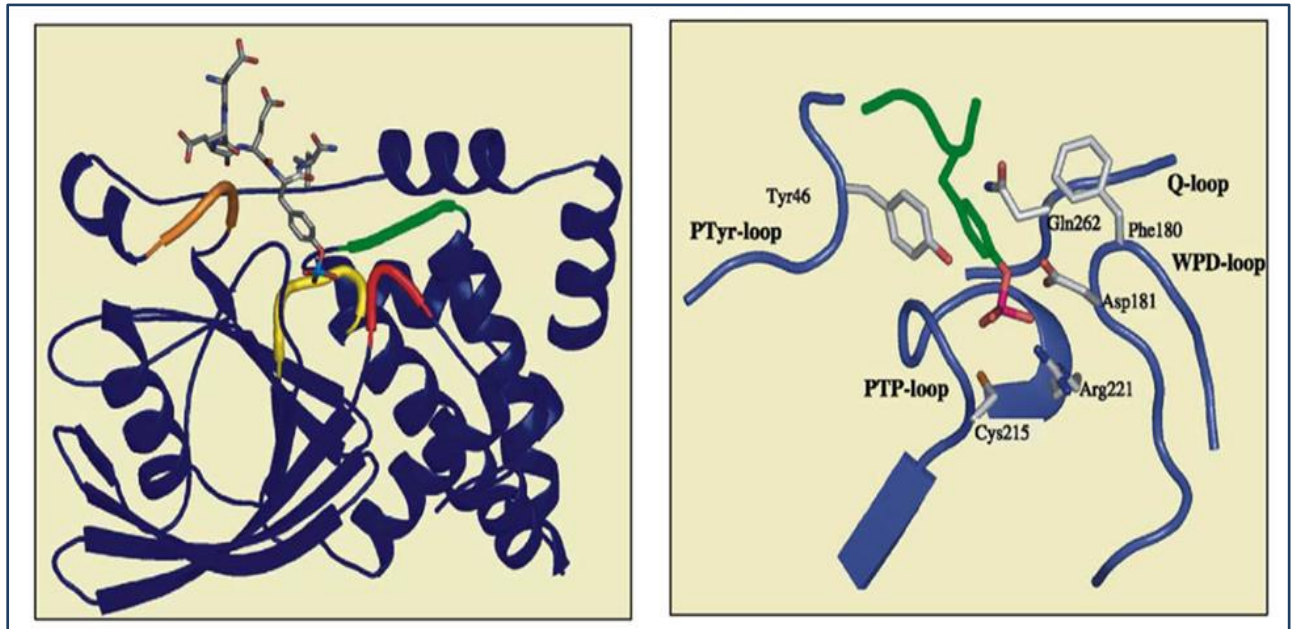


Figure 6 : Structure du site actif de la PTP1B en présence d'un substrat de type hexapeptide [72]

2.1.1.3. Régulation et mécanisme d'action de l'enzyme :

La cystéine 215, présente dans le site actif de l'enzyme PTP1B, est essentielle à la catalyse qui va permettre l'hydrolyse du phosphate. Cette catalyse comprend 2 étapes (Fig. 7) [66] :

- ♦ La première étape consiste en une attaque nucléophile sur le phosphate du substrat par l'atome de soufre de thiolate de la cystéine 215. Il se forme un intermédiaire phosphate et le départ du substrat déphosphorylé est favorisé par une protonation par un acide aspartique 181 proche du site catalytique [66].
- ♦ La deuxième étape est une hydrolyse de l'intermédiaire phosphate. Cela conduit à la libération d'un phosphate et à la restitution de la phosphatase. Cette hydrolyse se produit grâce à la glutamine Gln262 donnant une molécule d'eau et l'acide aspartique Asp181 fonctionnant comme une base conjuguée [66].

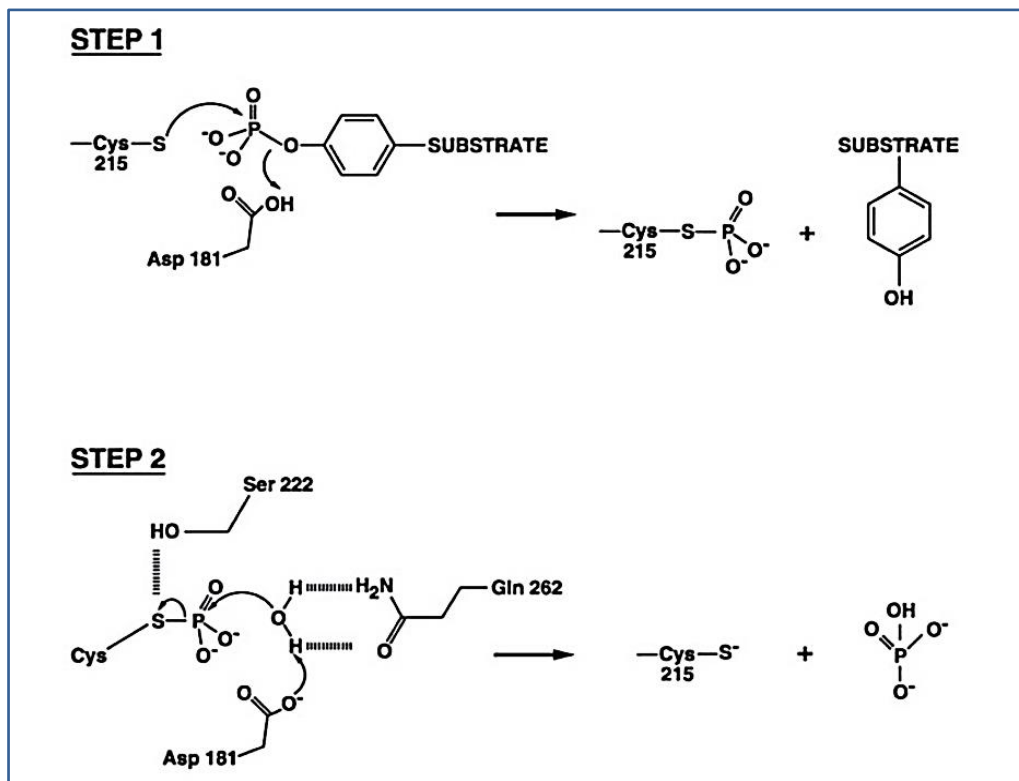


Figure 7 : Mécanisme d'action de la PTP1B. *PTP1B catalyse la déphosphorylation de son substrat via un mécanisme en deux étapes. Lors de la première étape, la cystéine 215 de PTP1B effectue une attaque nucléophile sur le groupement phosphate de son substrat phosphorylé, menant à la formation d'un intermédiaire cystéinyl-phosphate. Le groupement phosphate est alors hydrolysé lors de la deuxième étape. Reproduit de Tonks, 2003 avec l'autorisation de John Wiley and Sons [65]*

Pour que les substrats puissent être actifs, il faut qu'ils puissent parvenir à la surface du réticulum endoplasmique et quatre mécanismes (qui peuvent travailler de façon indépendante ou en synergie) interviennent : des phénomènes d'oxydation, de phosphorylation, de sumoylation et de protéolyse [66, 71].

2.1.1.4. Les activités biologiques de la PTP1B :

Les phosphatases PTP1B sont impliquées dans la régulation de nombreux processus biologiques. Par conséquent, elles peuvent intervenir dans l'expression de plusieurs maladies. Trois grandes activités sont actuellement décrites pour PTP1B : action sur le métabolisme, action sur l'oncogénèse et action sur les maladies neurodégénératives [66, 71].

❖ Action sur le métabolisme :

PTP1B exerce un contrôle négatif sur les voies de signalisation impliquées dans le métabolisme de l'insuline et de la leptine et pourrait être utilisé dans le traitement du diabète de type 2 (diabète non insulino-dépendant) et de l'obésité [66].

Le diabète correspond à une élévation prolongée de la concentration de glucose dans le sang (hyperglycémie). Dans le cas du diabète de type 2, on constate une baisse de sensibilité des cellules à l'insuline (on parle d'insulino-résistance), notamment sous l'effet de l'obésité ou de la sédentarité. Pour répondre à la demande accrue en insuline qui en découle, les cellules insulino-sécrétrices du pancréas produisent davantage d'insuline (hyperinsulinisme) jusqu'à ce qu'elles ne puissent plus répondre ou finissent par s'épuiser. La production d'insuline devient alors insuffisante conduisant à une accumulation de glucose dans le sang (hyperglycémie). Autrement dit, l'insuline est produite en quantité insuffisante face à une demande accrue [66].

Moléculairement et en conditions physiologiques, la stimulation par fixation de l'insuline à son récepteur conduit à l'autophosphorylation et l'activation du récepteur à l'insuline de type 1 (IRS-1) par phosphorylation de la tyrosine. Ces premières étapes conduisent alors à l'activation du phosphatidyl-inositol de type 3 (PI3K) et de AKT qui permettent alors la translocation du transporteur au glucose GLUT4. La phosphatase PTP1B atténue cette cascade d'activation en déphosphorylant IRS-1 et ce qui est attendu en cas de diabète de type 2 est d'inhiber cette déphosphorylation (Fig. 9, en rouge)[66].

La leptine est une hormone peptidique qui régule les réserves de graisses dans l'organisme et l'appétit en contrôlant la sensation de satiété. En conditions physiologiques, l'hypothalamus sécrète deux neuropéptides orexigènes (NPY et AgRP) dont la sécrétion est inhibée par la leptine, l'insuline et deux neuropéptides anorexigènes POMC et CART (eux-mêmes sous contrôle de la leptine et de l'insuline). Une sécrétion importante de leptine induit une lipolyse, une inhibition de la lipogenèse et une augmentation de la sensibilité à l'insuline. Elle diminue également la sécrétion en insuline et réduit la néoglucogénèse interprandiale. Elle agit à faible dose en stabilisant la résorption osseuse[66].

Moléculairement, la fixation de la leptine à son récepteur permet la phosphorylation des tyrosines de la protéine kinase JAK2 et l'activation du facteur de transcription STAT-3. Ces deux facteurs sont des cibles directes de PTP1B. La phosphatase PTP1B atténue cette cascade d'activation en déphosphorylant JAK2 ce qui est attendu dans les cas d'obésité (Fig.8, en rouge)[66].

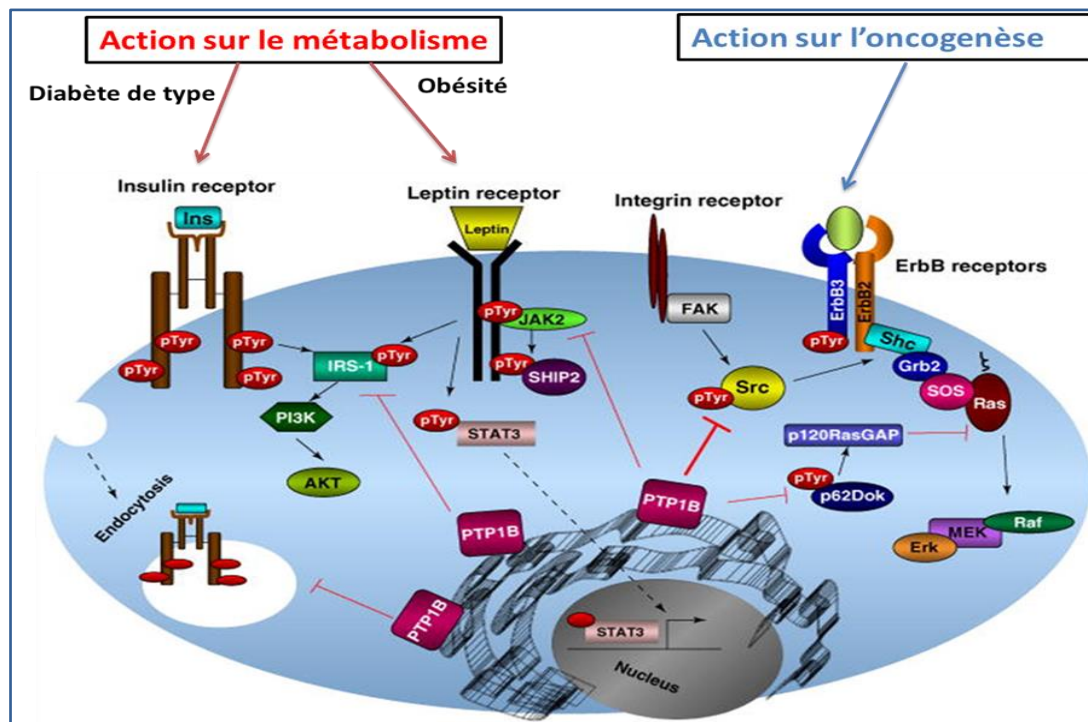


Figure 8: Signalisation métabolique et oncogénique de PTP1B[71].

❖ Action sur l'oncogénèse :

Cette enzyme pourrait également jouer un rôle en oncogénèse (Fig. 9, en bleu). En effet, PTP1B possède un contrôle positif sur le gène ErbB2 (aussi dénommé HER2) qui code pour des récepteurs de facteurs de croissance épidermiques eux-mêmes impliqués dans les mécanismes de signalisation intracellulaire contrôlant la croissance, la survie, l'adhésion, la migration ainsi que la différenciation de la cellule. Dans certains cancers du sein (20-30%), ce gène est amplifié à cause de mutations et conduit à une augmentation du nombre de récepteurs à la surface de la cellule. La surexpression de HER2 résultant de cette mutation s'accompagne alors d'une prolifération des cellules cancéreuses. PTP1B est capable d'agir sur la cascade d'activation cellulaire en déphosphorylant des intermédiaires comme p62Dok, p120RasGAP capables d'activer la voie des Ras-MAPK impliquée dans la prolifération cellulaire. PTP1B permet ainsi de moduler la prolifération cellulaire et pourrait jouer un rôle dans l'oncogénèse [66].

❖ Action sur les maladies neuro-dégénératives :

La myéline entoure, protège, nourrit, isole les fibres nerveuses et joue un rôle clé dans la transmission nerveuse. Elle est détruite chez les individus atteints d'Adréno-leucodystrophie (ALD), maladie génétique touchant un individu sur 17'000. Jusqu'à 65% des malades risquent de subir une démyélinisation cérébrale, entraînant des déficits nerveux, moteurs, et cognitifs, fatals. À ce jour, aucun traitement efficace n'a atteint le marché. Or, des facteurs trophiques (IGF-1 ou NT-3) ont la capacité de promouvoir la

survie de ces cellules et la production de myéline. En 2002, l'équipe de Buckley a montré que dans des cellules déficientes en PTP1B, le signal de IGF-1 (Insulin growth factor-1) était augmenté ainsi que l'activité des récepteurs de IGF-1. Or les régions de phosphorylation des récepteurs à l'insuline et des récepteurs d'IGF-1 sont très proches et les récepteurs d'IGF-1 représenteraient un bon substrat pour les ligands de PTP1B. En modulant l'activité des récepteurs d'IGF-1, les ligands de PTP1B pourrait ainsi jouer dans les maladies neurodégénératives [66].

2.1.1.5. Inhibiteurs de PTP1B :

La cible PTP1B est une cible toujours d'actualité et les nombreux articles publiés quotidiennement l'indiquent clairement. Actuellement, de nombreux motifs structuraux ont été identifiés et développés par l'industrie pharmaceutique et les laboratoires universitaires en ciblant les sites d'intérêt nécessaires pour optimiser le drug-design de ces inhibiteurs [66].

❖ Les composés synthétiques :

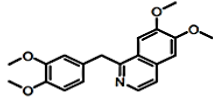
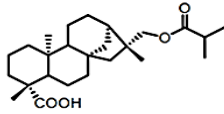
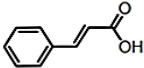
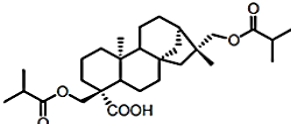
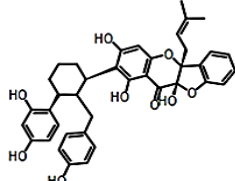
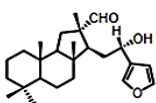

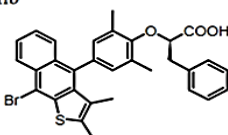
Récemment, Lant rapporte que la trodusquemine était un inhibiteur efficace de PTP1B central et périphérique avec le potentiel de déclencher une perte de poids spécifique en matière grasse, et d'améliorer les taux d'insuline et de leptine [66].

De nombreux composés synthétiques ont été synthétisés et 139 composés sont décrits dans la publication de Thareja, 2012 [66, 73] mettant en évidence les nombreux motifs susceptibles d'interagir avec la phosphatase PTP1B. On peut citer des composés de type thiazolidinediones, des dérivés phosphorés ionisés mimant le peptide phosphotyrosyl, des dérivés isothiazolidinones, des benzofuranes et biphényles benzothiophènes, des composés contenant du vanadium, des dérivés de l'acide 2-oxalylamino benzoïque, des 1,2-naphtoquinones, des dérivés formylchromones, des analogues de la pyridazine, des acétophénones, des dérivés pyrimido [5,4-3][1,2,4] triazine-5,7-diamine, des dérivés catéchols, des cyclopenta[d][1,2]-oxazine, des acides carboxyliques isoxazole, des composés miscellaires et des dérivés acides non phosphorés mais contenant un motif phosphotyrosyl [66].

❖ Les composés naturels issus des plantes, champignons et éponges :

Les composés naturels ont toujours été une source d'inspiration et parmi ceux qui ont montré une activité inhibitrice de PTP1B, on peut citer des alcaloïdes isoquinoliniques (berbérine, papavérine), des dérivés arylbenzofuranes avec des chaînes isoprényles, des dérivés de l'acide cinnamique et chlorogénique, des diterpènes, des triterpènes, des anthraquinones et des dérivés flavonoïdes (flavonol, flavane, chalcone, flavanones) possédant ou non des chaînes isoprényles et prényles, tel que la rutine [66].

Tableau III : Composés naturels inhibiteurs de PTP1B [66, 73]

| Composé | IC ₅₀ (μ M) | Composé | IC ₅₀ (μ M) |
|---|-----------------------------|--|-----------------------------|
| Papavérine  | 1.20 | Acide ent-16 β H, 17-isobutyryloxy-kauran-19-oïque  | 8.7 \pm 0.9 |
| Acide cinnamique  | 29.7 | Acide ent-16 β H, 18-isobutyryloxy-kauran-19-oïque  | 30.6 \pm 2.1 |
| Sanggenon C  | 2.6 \pm 0.3 | Hyrtiosal  | 42 |
| Déphostatine  | 7.7 | Ertiprotafib  | 1.4 \pm 0.1 |

Parmi les flavonoïdes on trouve :

❖ La rutine

La rutine est un flavonoïde largement répandu dans la nature. C'est l'un des composés phytochimiques les plus attractifs en raison de ses nombreuses propriétés, il est en effet considéré comme un des plus importants flavonoïdes utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Plus de 130 médicaments à base de rutine ont été enregistrés à travers le monde [74].

La rutine est un puissant anti-oxydant qui présente notamment des propriétés intéressantes sur les capillaires et les veines. C'est un composé polyvalent par les différentes propriétés qu'il présente: anti-inflammatoire, antiagrégant plaquettaire... D'autres activités, souvent moins reconnues, sont actuellement à l'étude. Elle possède également des dérivés particulièrement actifs, tels que la quercétine et la troxérutine [74].

✚ Classification :

La rutine est une molécule de type flavonol appartenant au grand groupe des flavonoïdes. Le terme de «flavonoïdes» désigne une large gamme de composés appartenant la famille des polyphénols [74].

Les flavonoïdes sont majoritairement présents dans les plantes sous forme d'hétéroside (ou glycoside), c'est-à-dire une molécule née de la condensation entre un ose (sucre) et une substance non-glucidique que l'on appelle «aglycone» ou «génine». Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, sont hydrosolubles et s'accumulent dans les vacuoles et, selon les espèces, se

concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle [74].

Au niveau structural, les flavonoïdes se divisent en plusieurs groupes de molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones, les anthocyanes et les tanins. Les flavones et flavonols sont les molécules les plus répandues du groupe des flavonoïdes (en 2004 on dénombrait plus de 1100 génines de structures connues, et environ 1400 hétérosides de flavonols et 700 hétérosides de flavones) [74].

✚ Structure chimique :

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et donc possèdent le même élément structural de base (Fig. 9). En effet, leur structure s'organise toujours autour d'un squelette C6-C3-C6. Les deux cycles benzéniques sont nommés cycle A et cycle B. Le chaînon propyle C3 peut être complété par une fonction éther formant ainsi un cycle central, appelé cycle C: c'est l'enchaînement 2-phénylchromane, ou noyau flavane [74, 75].

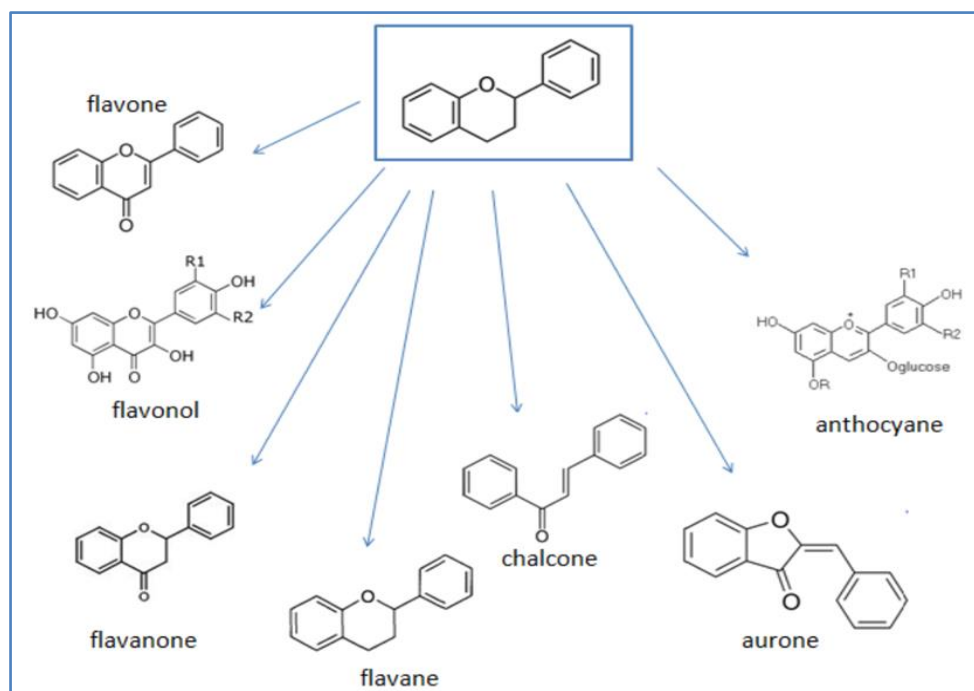


Figure 9 : Différents types de flavonoïdes à partir de l'élément structural de base [74].

La rutine (aussi appelée rutoside) est un hétéroside de la quercétine, un flavonol. La quercétine est donc l'aglycone de la rutine, elle est liée au rutinose, c'est-à-dire un diholoside (sucre constitué par deux oses). Le rutinose se constitue d'une unité de rhamnose lié à une unité de glucose, lié par une liaison osidique (Fig. 10) [74, 75].

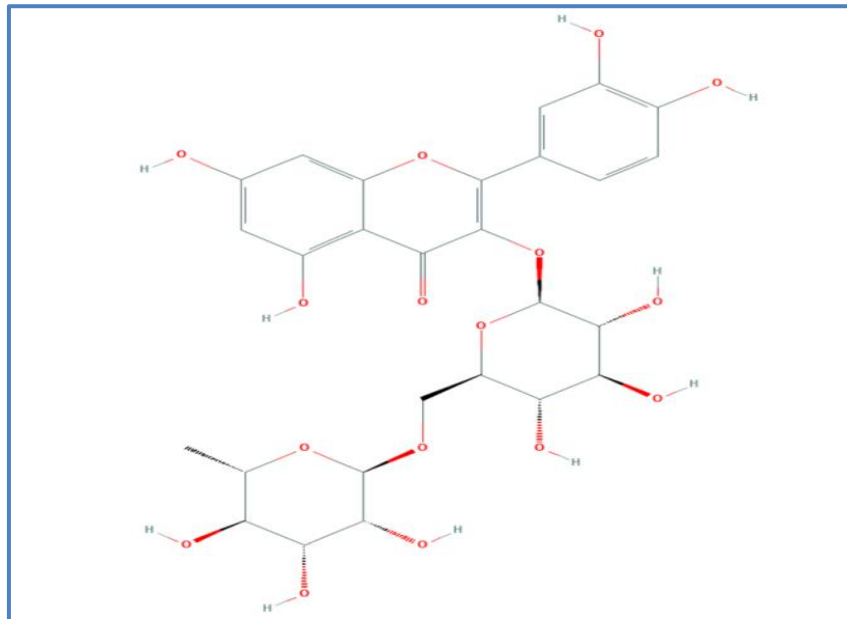


Figure 10 : Structure chimique de la rutine[76].

🌿 Sources alimentaires :

Dans les végétaux, la rutine est essentiellement présente dans les feuilles sous forme hétérosidique. Environ 180 hétérosides de quercétine sont retrouvés dans la nature, la rutine étant l'un des plus courants. L'oignon (*Allium cepa*) a été classé comme l'aliment contenant le plus de rutine (347 mg/kg). La rutine est le flavonoïde majoritairement présent chez l'asperge (300 mg/kg). Les haricots verts (32-45 mg/kg), le brocoli (30 mg/kg), la pomme (21-72 mg/kg), le thé (20 mg/kg) la laitue (14 mg/kg), ou la tomate (8 mg/kg) figurent également parmi les aliments les plus riches en rutine [74]. En effet la concentration de rutine dans le jus de raisin varie entre 7 et 9 mg/L. Les jus de fruits, mis à part le jus de citron (7 mg/L) et le jus de tomate (13 mg/L), contiennent moins de 5 mg/litre. Les infusions de thé peuvent atteindre une concentration en rutine de 10 à 25 mg/L [74].

🌿 Sources industrielles :

La rutine est relativement fréquente dans la nature, toutefois seul un petit nombre d'espèces végétales en referment une quantité suffisante pour permettre son extraction à l'échelle industrielle. En règle générale, les plantes contiennent la plus forte concentration de rutine en période de début de floraison [74].

Tableau IV :Diverses sources de rutine (liste non exhaustive) [74].

| Variétés | Partie(s)concernée(s) | Taux maximal de la rutine(%) |
|---|-------------------------------|------------------------------|
| Eucalyptus macrorhyncha, MYRTACEAE | Feuilles | 24 |
| Uncaria,elliptica, RUBIACEAE | Feuilles | 20,2 |
| Sophora japonica(sophora) FABACEAE | Boutons floraux | 20 |
| Viola tricolor(Pensée sauvage) VIOLACEAE | Feuilles,Fleurs | 20 |
| Fagopyrum esculentum(Sarrasin) POLYGONACEAE | Influerescense,feuilles,tiges | 15(jeune feuille) a 1 (tige) |
| Calathea undulata, MARANTACEAE | Feuilles | 8,46 |
| Dimorphandra mollis(Fava d'anta) CEA SALPINIACEAE | Feuilles,Fleurs | 8 |
| Ruta graveolens(Rue fétide) RUTACEAE | Partie aérienne | 5 à 8 |
| Orchidantha maxillarioides, LOWIACEAE | Feuilles | 0,16 |
| Allium cepa(Oignon) AMARYLLIDACEAE | Bulbes | 0,0347 |
| Phaseolus vulgaris(Haricotcommun) FABACEAE | Gousses | 0,0032à 0,0045 |
| Brassica oleracea(Brocoli) BRASSICACEAE | Influerescense | 0,003 |

Propriétés thérapeutiques

La rutine est traditionnellement connue pour son activité antioxydante ainsi que ses effets sur la perméabilité et la résistance capillaire. Toutefois, nous verrons dans cette partie que les propriétés de la rutine ne se limitent pas à celles-ci et que la rutine est l'objet d'études dans de nombreux autres domaines[74].

- **Résistance et perméabilité capillaire :**

Une étude réalisée sur des rats de laboratoire a permis de montrer que l'administration de rutine diminue la perméabilité capillaire chez ces rats et les rendant ainsi plus résistants [74].

- **Activité antioxydante :**

Actuellement il est admis que la rutine est capable de piéger les radicaux formés dans diverses circonstances telles que l'anoxie, qui bloque le flux d'électrons

en amont des cytochromes oxydases et engendre la production de l'anion radical superoxyde[74].

La rutine est également capable de chélater les ions métalliques (de valence II et III), qui peuvent participer à la formation de radicaux libres[74].

- **Autres propriétés :**

La rutine exerce notamment une activité anti-oxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse ; neuro-protectrice. Elle serait également bénéfique dans certaines pathologies chroniques telles que les maladies cardio-vasculaires ou le diabète et l'obésité[74].

Une variété de produits naturels, y compris des extraits bruts et les composés isolés à partir de plantes, peuvent réduire le poids corporel et prévenir l'obésité induite par l'alimentation. Ces dernières années, de nombreuses études ont mis l'accent sur la biodisponibilité des composés phénoliques dans la prévention et le traitement de l'obésité [77].

Ce travail concerne de trouver une composition pharmaceutique pour le traitement de l'obésité en testant -in silico- l'effet inhibiteur des différentes substances similaires des flavonoïdes rutosides contre la protéine PTP1B impliquée dans l'obésité. La présente étude ouvre de nouvelles perspectives dans le cadre du traitement de l'obésité et leurs conséquences.

CHAPITRE III:
DOCKING
MOLECULAIRE

1. Introduction

La conception d'un nouveau médicament est extrêmement longue et onéreuse depuis la première phase de recherche jusqu'à sa mise sur le marché. En effet, le temps nécessaire à la découverte d'un nouveau médicament est estimé en moyenne entre 12 et 14 ans pour un coût total de 800 millions à 1 milliard de dollars [78, 79]. C'est dans ce contexte que les techniques de docking *in silico* ont été développées. Il s'agit des approches théoriques permettant de prédire l'affinité d'un ligand au sein de son récepteur, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que les méthodes expérimentales *in vitro* [78, 80]. Le docking s'est développé pour devenir de nos jours un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives [78].

In silico c'est un modèles biomathématiques utilisant des bases de données issues d'expérimentation *in vivo* ou *in vitro*, permettant d'analyser, grâce à des logiciels informatiques, les propriétés recherchées ou indésirables d'une substance en fonction de sa structure ou de sa réactivité, et de raccourcir les temps de recherche[81].

2. Définition du docking moléculaire

Le docking moléculaire est une technique informatique qui permet de prédire les interactions probables et la conformation plus favorable (position et orientation relatives) entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure d'une protéine. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules. L'utilisation de la technique de « Docking » apparait comme une alternative très intéressante quand on n'a pas une réelle connaissance sur le site actif. [82, 83].

Le docking moléculaire se déroule en deux étapes distinctes (figure12)[82]

- la première étape « Docking » est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables[84].
- La seconde dite « Scoring » est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées[84].

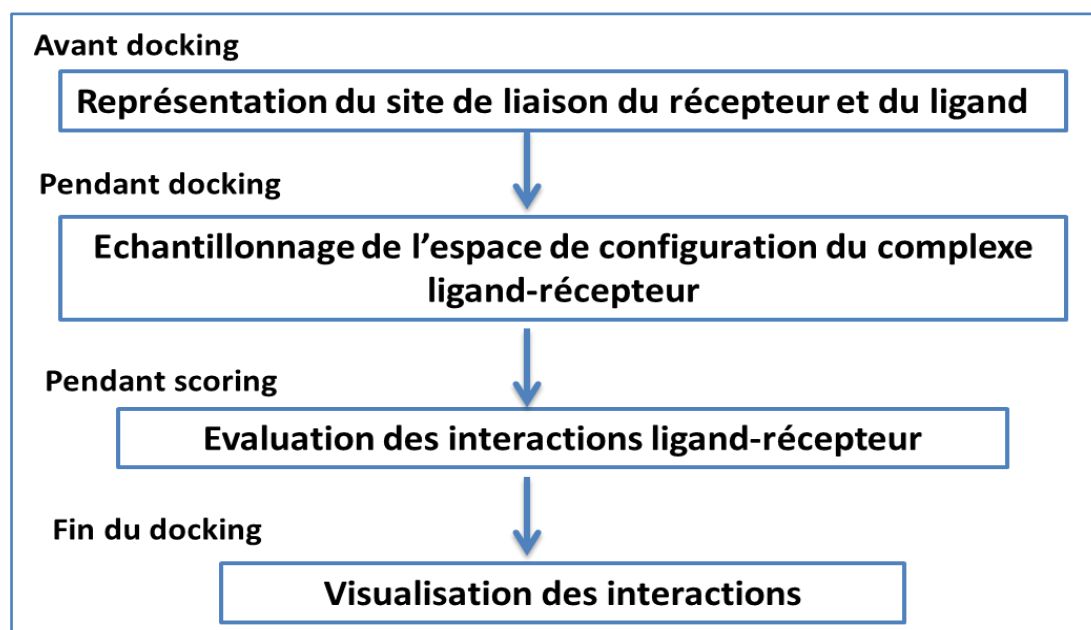


Figure 11 : Protocole général de docking moléculaire[82].

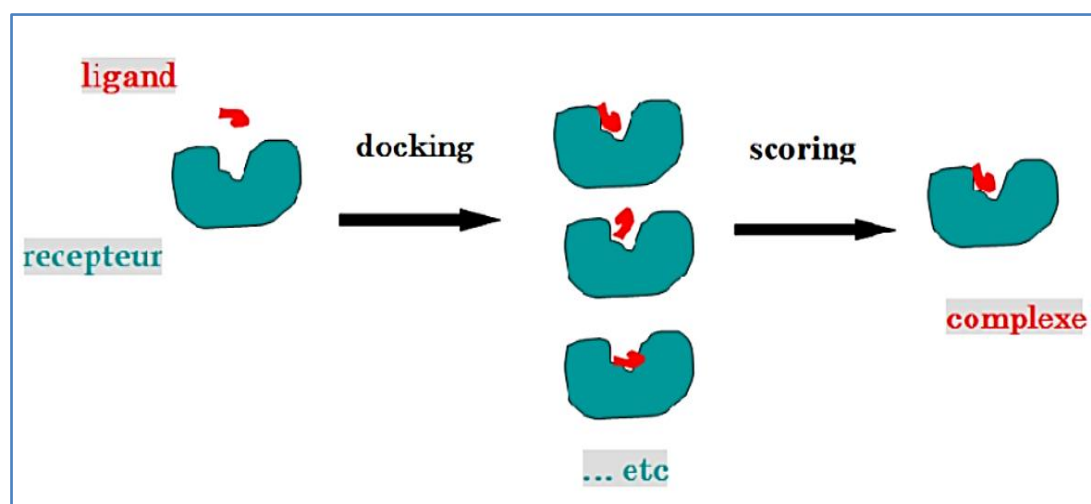


Figure 12 : Représentation schématique des étapes du docking moléculaire[84]

3. Outils de docking moléculaire

Les éléments indispensables pour réaliser un docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire le plus souvent de nature protéique appelée cible, un ligand et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi [78].

3.1. Récepteur 3D (cible)

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la PDB « Protein Data Bank». C'est la plus grande base de données de structures 3D des macromolécules biologiques (protéines, ADN, ARN...etc.) (<http://www.pdb.org>) [85]. Elle a été créée en 1971 au Brookhaven National Laboratory. Les structures 3D que propose cette banque sont accessible gratuitement pour les utilisateurs. Actuellement, la PDB compte plus de 152.000 structures macromoléculaires biologiques dont plus de 141 000 sont des protéines [78]. Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette base de données, il devient alors possible de construire la structure 3D de la cible souhaitée, en faisant appel à la modélisation par homologie [78].

3.2. Ligands 3D (Chimiothèques)

Le choix du ligand est une étape très importante pour le succès du docking moléculaire. Dans ce cadre, le ligand doit être sous forme 3D. Pour y obtenir, il existe deux moyens :[78]

- Le premier moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer sous différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des programmes de construction moléculaire 3D tels que Titan, ChemDraw, Marvin, Sybyl...etc. [78].
- Le second moyen est souvent d'aspect commercial consistant à consulter des bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques. Parmi les chimiothèques virtuelles nous citons : **PubChem** , **Zinc** ..[78]

3.3. Programmes (Logiciels) :

Dans le domaine de docking moléculaire, plusieurs logiciels ont été utilisés pour étudier les différentes interactions existantes entre deux entités moléculaires (protéine-ligand). À l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking sont disponibles que ce soit commerciaux ou libres [78] tels que: **GOLD**, **AUTODOCK**, **AUTODOCK VINA**, **FLEXX**,**SURFLEX**, **UCSF CHIMERA** (Tableau N°7). Il est intéressant de remarquer que les trois logiciels AutoDock, Glide et GOLD font partie des logiciels de docking les plus populaires (Figure 13)[78].

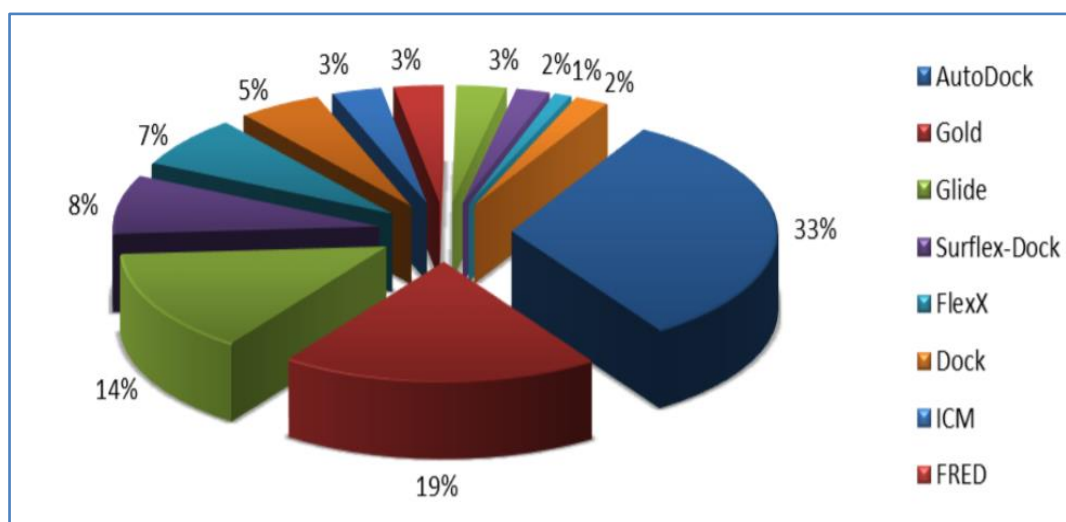


Figure 13 : Utilisation des différents logiciels de docking en 2010-2011[78]

Tableau V: Principaux programmes de docking moléculaire[78].

| Nom | Editeur | Site Internet |
|------------------|-------------|---|
| AutoDock | Scripps | http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/ |
| Dock | UCSF | http://dock.compbio.ucsf.edu/ |
| FlexX | BioSolveIT | http://www.biosolveit.de/FlexX/ |
| Fred Open | OpenEyes | http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html |
| Glide | Schrödinger | http://www.schrodinger.com/Products/glide.html |
| Gold | CCDC | http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/ |
| ICM | Molsoft | http://www.molsoft.com/products.html |
| LigandFit | Accelrys | http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html |
| Surflex | Biopharmics | http://www.biopharmics.com/products.html |

CHAPITRE IV:
MATERIELS ET
METHODES

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés aux méthodes de docking moléculaire afin de proposer et développer in silico des nouveaux inhibiteurs de la protéine PTP1B impliquée dans l'obésité. À l'aide de cette technique du Docking moléculaire, nous avons étudié le mode d'interaction le plus probable de différents composés similaires de routine dans le site actif des protéines de la PTP1B. Pour la réalisation de cette étude nous avons utilisé le matériel suivant :

1. Matériels

1.1. Hardwares (microordinateur) :

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur dans lequel tous les programmes utilisés ont été installés sous système d'exploitation linux, 32 bits. Ce micro-ordinateur possède une mémoire vive de 504 Go et un processeur Intel ® Core TM i5-7400 CPU @ 3.00 GHz*4.

1.2. Softwares :

1.2.1. Le réseau WEB :

Le réseau internet a été très utile dans notre étude pour l'obtention de la structure de la protéine cible et leurs inhibiteurs, des composés similaires ainsi que pour la simulation des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de nos meilleurs inhibiteurs.

1.2.2. Banques de données :

1.2.2.1. PDB (Protein Data Bank) :

La structure tridimensionnelle (3D) de la protéine PTP1B faisant l'objet de ce travail, provient de la PDB « Protein Data Bank » ou Banque de Données sur les Protéines (APB). Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques permettant de consulter et de télécharger gratuitement les structures 3D des protéines, des acides nucléiques et d'autres macromolécules via son site web : <http://www.rcsb.org/pdb/> [85]. Les structures 3D des macromolécules disponibles dans cette banque sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN.

Chaque entrée dans la PDB est identifiée par un code unique à quatre caractères (le premier est toujours un caractère numérique et les trois suivants sont des caractères alphanumériques), c'est le « code PDB ». Pour chaque entrée, la structure 3D est stockée dans des fichiers sous différents formats. Le premier format est le format PDB.



Figure 14 : Interface de Protein Data Ban. Elle a été fondée en 1971 par le Laboratoire national de Brookhaven, en comportant uniquement 7 structures. Depuis cette époque, le nombre de structures 3D de macromolécules ne cesse à croître arrivant au 2018 à environ 140 000 structures dont 90 % de structures cristallographiques et un rythme de croissance d'environ 30 nouvelles structures par jour. Environ 92 % des structures déposées sont des protéines [86].

1.2.2.2. PubChem :

PubChem répertorie plusieurs millions de composés en mettant gratuitement en ligne, pour chaque substance, une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental, etc...

Cette chimiothèque a été utilisée dans notre travail pour la recherche et le téléchargement des similaires de l'inhibiteur de la PTP1B . Les différentes conformations tridimensionnelles des modèles proposés par la PubChem sont téléchargeables sous l'extension .sdf. On peut consulter cette chimiothèque via le lien : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> [87].



Figure 15: Interface d'accueil du PubChem.

1.2.3. Programmes utilisés :

Afin de concrétiser la partie pratique de notre travail, nous avons utilisé plusieurs programmes. En effet, le programme de docking moléculaire Auto Dock Vina intégrée dans UCSF (University of California, San Francisco) Chimera a été utilisé pour simuler les interactions entre la PTP1B et ses inhibiteurs. De même, le programme de visualisation moléculaire DISCOVERY STUDIO VISUALIZER a été utilisé.

1.2.3.1. UCSF Chimera :

Concernant le programme du docking moléculaire, nous avons utilisé AutoDock vina intégré dans Chimera afin de simuler les interactions protéine-inhibiteur pour chercher les différents sites de contact.

Ce programme est un logiciel de visualisation permet d'effectuer un arrimage rapide et précis d'un ligand avec une protéine et servira à analyser les résultats. UCSF Chimera est multi-plateforme et gratuit pour un usage non commercial. Il n'est pas possible de lancer des simulations de docking avec ce logiciel, en revanche, il servira d'interface pour lancer Autodock Vina sur le serveur proposé.

Nous avons choisis Chimera avec Autodock Vina pour faire le docking en raison de la facilité de son interface, contrairement aux autres programmes tels que Autodock, Autodock Vina, Gold Suite et Molecular Operating Environment dont leur utilisation est un peu compliqués pour les chercheurs débutants dans la bio-informatique.

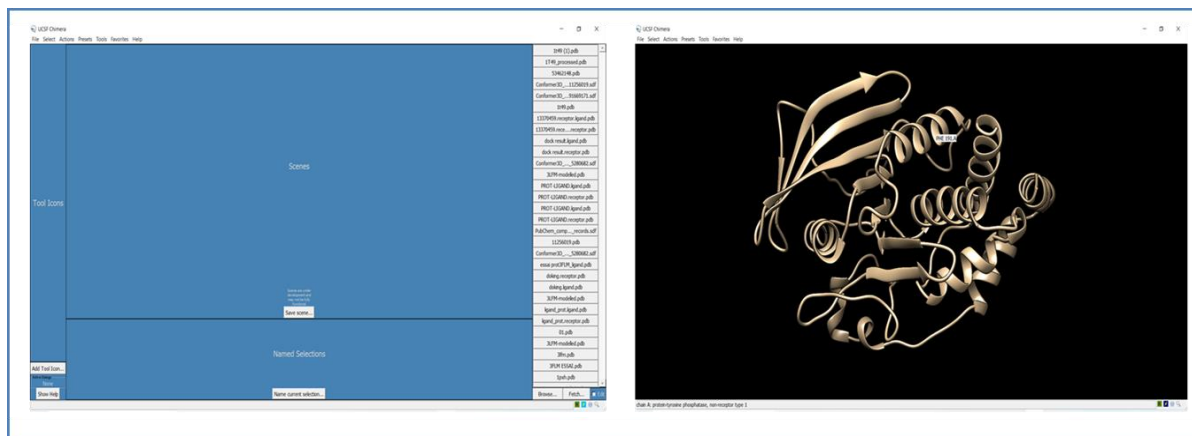


Figure 16: Interface de Chimera.

1.2.3.2. Discovery Studio Visualizer :

Discovery Studio Visualizer c'est un logiciel gratuit qui permet de construire une représentation 3D d'une molécule, de la visualiser et de sauvegarder les coordonnées cartésiennes sous différent format lisible par d'autre logiciel. Dans notre étude ce logiciel nous a permet de générer des images 2D montrant les résidus d'acides aminés impliqués dans les interactions entre le site actif de la protéine cible PTP1B et les différents inhibiteurs.

1.2.4. SwissADME :

C'est un serveur en ligne permet de calculer des descripteurs physico-chimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques des composés, la nature drug-like et la convivialité de la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments. On peut consulter ce serveur via le lien: <http://www.swissadme.ch/> [88]

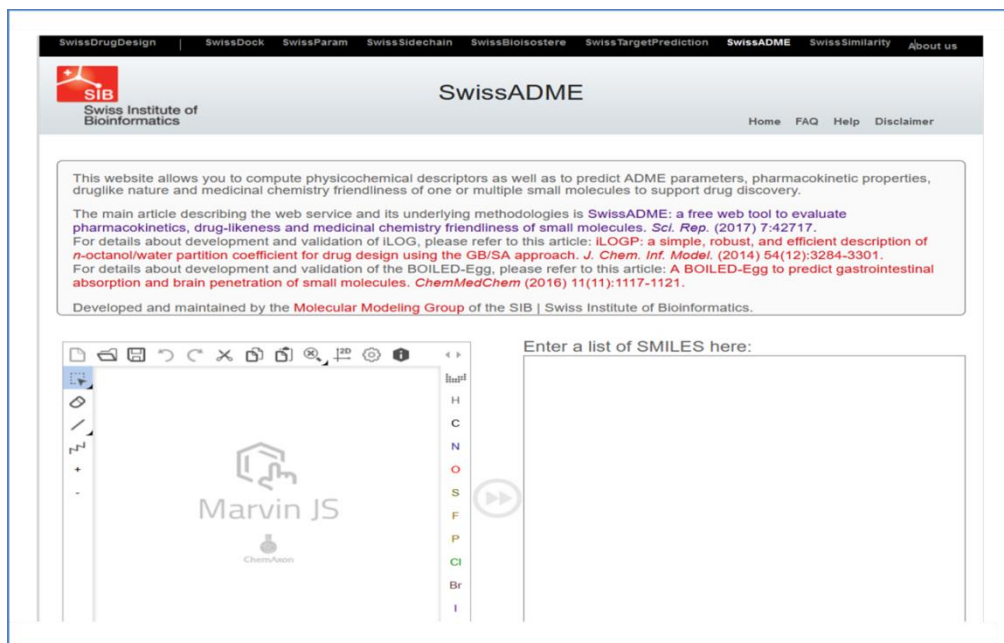


Figure 17: L'interface graphique de SwissADME

1.3. Le récepteur (la protéine cible) :

La structure tridimensionnelle de la protéine cible (la protéine PTP1B) utilisé dans ce travail provient de la banque de donnée PDB.

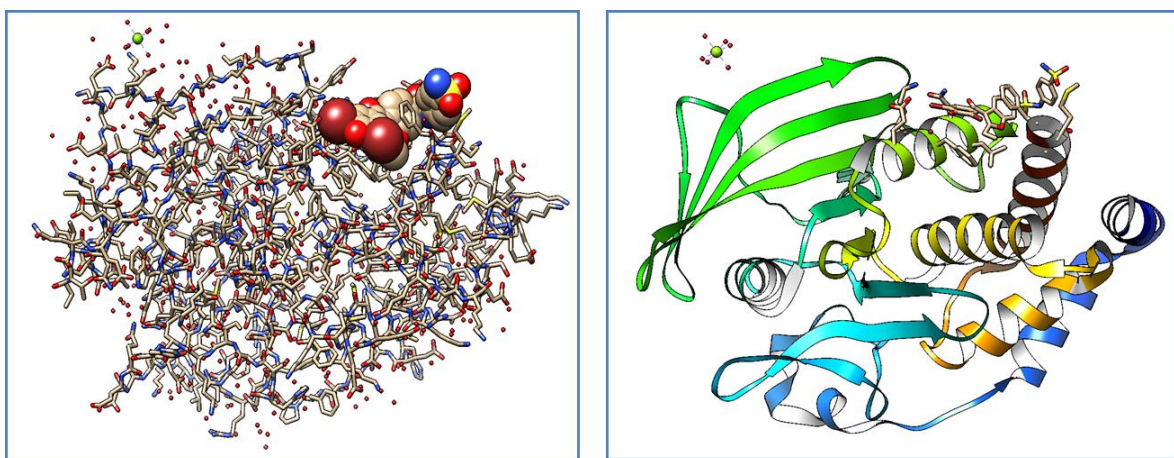
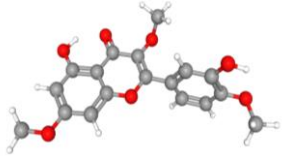
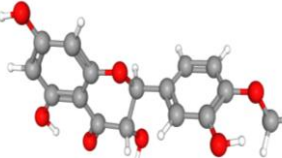
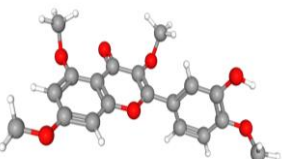
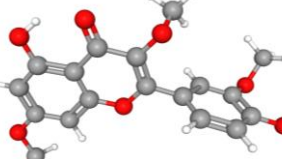
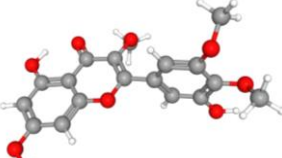
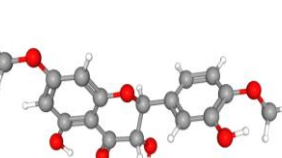
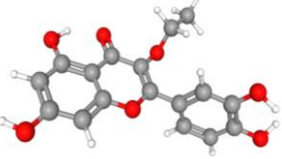
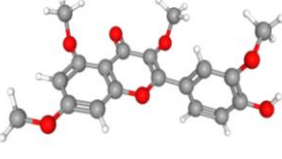
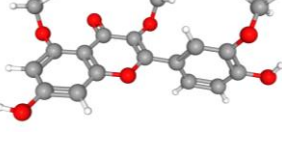
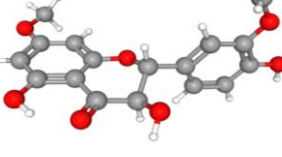


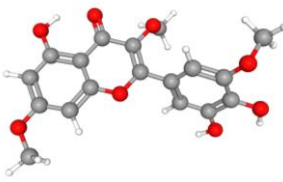
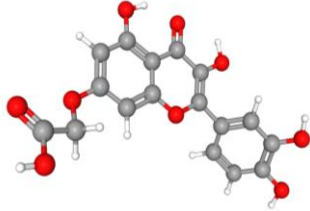
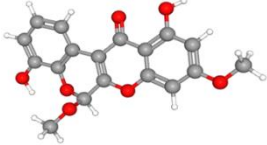
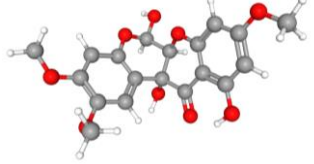
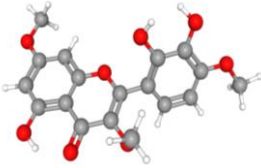
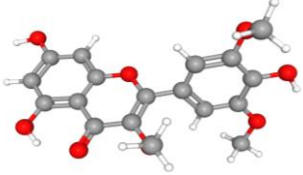
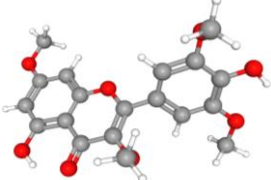
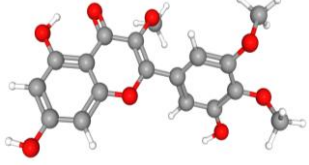
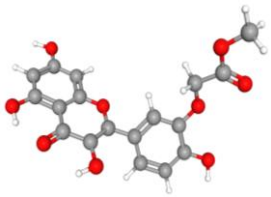
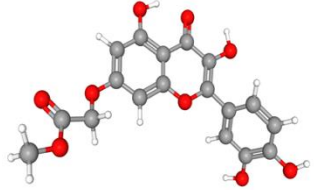
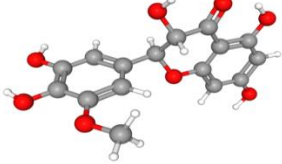
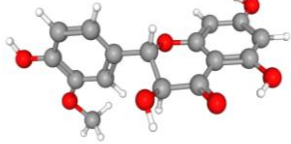
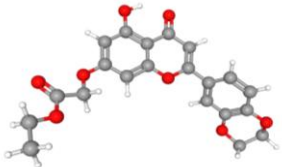
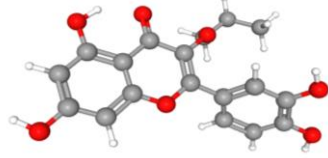
Figure 18: La structure tridimensionnelle de la protéine cible

1.4. Ligands :

Les ligands utilisés dans notre étude sont téléchargés du PubChem sous l'extension .sdf.

Tableau VI: Les 24 ligands représentés avec le style Ball & Stick du PubChem [89]

| Nom | Structure 3D | Nom | Structure 3D |
|--|---|--|---|
| Ayanin Code: 5280682 |  | Dihydrotamarixetin Code : 482576 |  |
| 2-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,5,7-trimethoxy-4H-chromen-4-one Code: 632128 |  | Pachypodol Code: 5281677 |  |
| 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone Code: 5748580 |  | 3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethoxyflavanone Code: 11256019 |  |
| 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-ethoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one Code: 13370459 |  | 3,5,7,3'-Tetramethoxy-4'-hydroxyflavone Code: 13942543 |  |
| Quercetin 3,5,3'-trimethyl ether Code: 14162697 |  | 3,4',5-Trihydroxy-3',7-dimethoxyflavanone Code: 14353345 |  |

| | | | |
|---|---|---|---|
| <p>Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether Code: 21676154</p> |  | <p>2-[2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetic acid Code: 25030197</p> |  |
| <p>Boeravinone G Code: 11537442</p> |  | <p>Clitoriacetal Code: 44257416</p> |  |
| <p>Apuleidin Code :44259519</p> |  | <p>Myricetin 3,3',5'-trimethyl ether Code: 44259712</p> |  |
| <p>Myricetin 3,7,3',5'-tetramethyl ether Code: 44259713</p> |  | <p>3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-trimethoxyflavone Code: 44259719</p> |  |
| <p>Methyl 2-[2-hydroxy-5-(3,5,7-trihydroxy-4-oxochromen-2-yl)phenoxy]acetate Code: 44592298</p> |  | <p>Methyl 2-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetate Code: 44592398</p> |  |
| <p>Hovenitin I Code: 53462148</p> |  | <p>Dihydroisorhamnetin Code: 56658060</p> |  |
| <p>Ethyl 2-[2-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl)-5-hydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetate Code: 71723596</p> |  | <p>2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-propoxychromen-4-one Code: 91669171</p> |  |

2. Méthodes

La procédure de docking moléculaire avec AutoDock vina intégré dans Chimera a été réalisé en 4 étapes complémentaires:

1. La sélection et la préparation de la cible.
2. la préparation des ligands.
3. Le docking moléculaire.
4. Analyse des résultats.

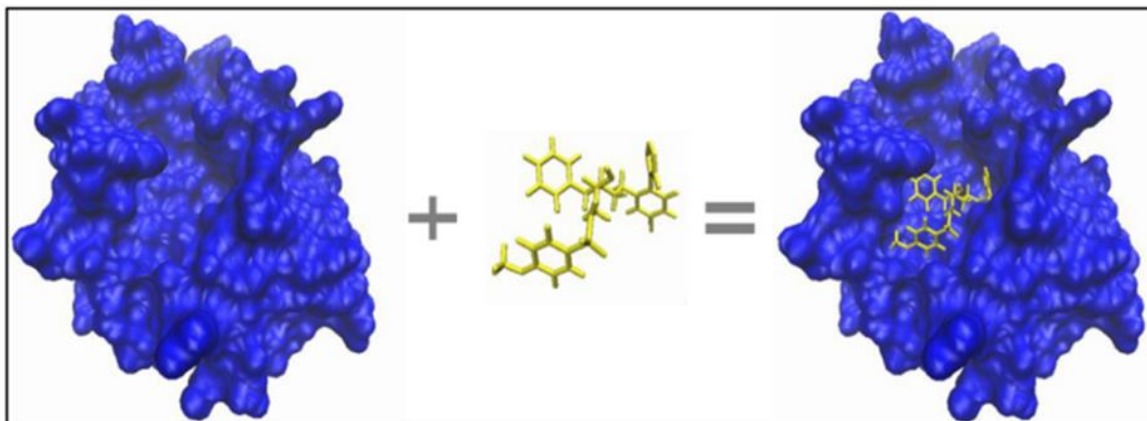


Figure 19: Illustration du docking moléculaire [78]

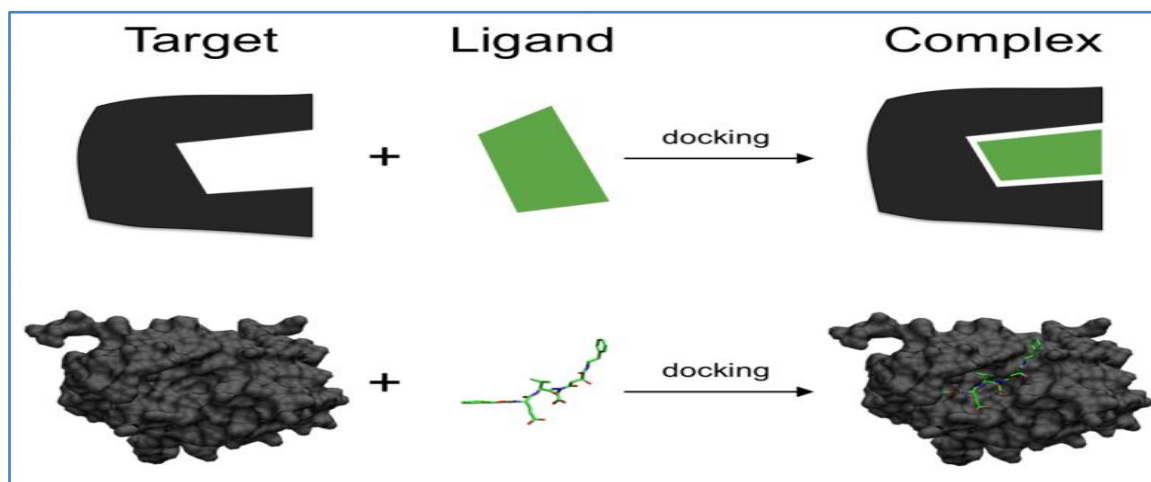
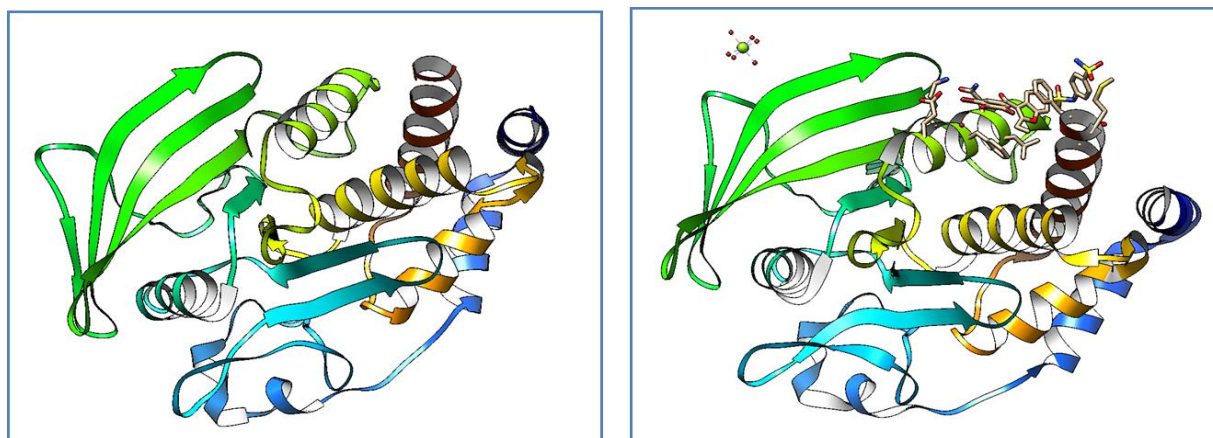


Figure 20: Interactions entre un récepteur biologique et un ligand.

2.1. Préparation de la protéine :

La structure 3D de PTP1B, objet de notre étude, a été téléchargée sous format PDB via la banque de donnée Protein Data Bank. Dans notre cas, Cette dernière nous propose 314 conformations 3D de la PTP1B dont il n'existe aucune structure de la PTP1B humaine. De ce fait, nous avons utilisé celle issue d'Escherichia coli qui est sous le code 1T49 avec une

structure correctement définie par cristallographie aux rayons X et une résolution égale à 1.90 Å. Enfin, le fichier de la protéine ainsi préparée a été enregistré [90].



LA PTP1B simplifiée

LA PTP1B

Figure 21: L'enzyme de la PTP1B avec le style cartoon par Chimera, (téléchargée à partir de RCSB PDB [85], préparée par Chimera).[85]

Après le téléchargement de la cible PTP1B sous le format PDB que reconnaît le programme Chimera, nous utilisons un logiciel de visualisation pour voir avec quels ligands l'enzyme est Co-cristallisée (eau, ligands, ion,...). L'enzyme étant présentée sous forme monomérique, contient uniquement la chaîne A tout en éliminant les molécules d'eau, les différents ligands, les cofacteurs et les coenzymes. La structure (1T49) a été modifiée comme suit pour obtenir un modèle simplifié :

- Les molécules d'eau ont été effacées
- L'inhibiteur a été supprimé.

Les coordonnées de tous les résidus non standards ont été supprimées à l'aide du logiciel Chimera (v. 1.15). le complexe PTP1B a été séparé de son ligand afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre.

Enfin, la structure préparée a été convertie du format PDB en PDBQT pour une utilisation postérieure dans l'étude d'amarrage.

Tableau VII : Les caractéristiques de la 1T49 (la protéine cible)

| Enzyme | Code PDB | Résolution Å | Nombre de chaînes | Nombre d'AA |
|--------------|----------|--------------|-------------------|-------------|
| PTP1B | 1T49 | 1.90 | 1 | 435 |

2.2. Docking moléculaire :

Les études d'amarrage ont été effectuées par le logiciel Chimera pour recherche la meilleure conformation du complexe d'enzymes-ligands. Nous avons analysé les énergies de la conformation des composés dérivés rutines et l'enzyme PTP1B. Tout d'abord, nous avons cherché dans la base de donnée PDB les fichiers pdb pour les protéines dans le site (<http://www.rcsb.org>). Ensuite, le ligand et les molécules d'eau ont été retirés des structures protéiques et les atomes d'hydrogène ont été ajoutés à toutes les protéines cibles. Afin de pouvoir effectuer la procédure de docking [91].

La procédure de docking avec Chimera se décompose en plusieurs étapes :

✓ Préparation des simulations de docking :

Ouvrir avec UCSF Chimera les structures PDB du récepteur (PTP1B) puis du ligand (RUTINE). Les structures proviennent de la structure cristallographique et sont également téléchargeables sur le site <http://www.rcsb.org>.

○ Préparation de la protéine cible pour l'amarrage :

1. Pour définir facilement le site actif, l'inhibiteur déjà présent doit être identifié. Pour ce faire, sélectionner l'inhibiteur en cliquant sur Select > Residue > all non standard > actions > atoms/bonds > Delete
2. La protéine doit être optimisée pour l'amarrage. Cliquez sur Tools > surface/Binding Analysis > Dock Prep.
3. Dans dock prep, sélectionnez toutes les options sauf «Supprimer les ions non complexés» et write Mol2 file et cliquer sur OK.
4. Ajouter de l'hydrogène aux protéines et cliquer sur OK.
5. Attribuer des charges à la protéine en cliquant sur les champs de forces AMBER ff03.r01 et sur Gasteiger puis sur OK.
6. Sélectionnez « net charges » et cliquez sur OK. Pour la plupart des protéines, les charges nettes sont égales à zéro.
7. Enregistrez à nouveau ce fichier sous forme .PDB.

○ Préparation du Ligand pour l'amarrage :

Le ligand doit être optimisé car la protéine a été optimisée. La préparation du ligand est similaire au processus d'obtention de la protéine :

Cliquer sur Tools > surface/Binding Analysis > Dock Prep. Et répéter les mêmes étapes que pour la préparation de la protéine.

Ces étapes comprennent l'élimination des solvants, l'ajout d'hydrogènes et la détermination de la charge.

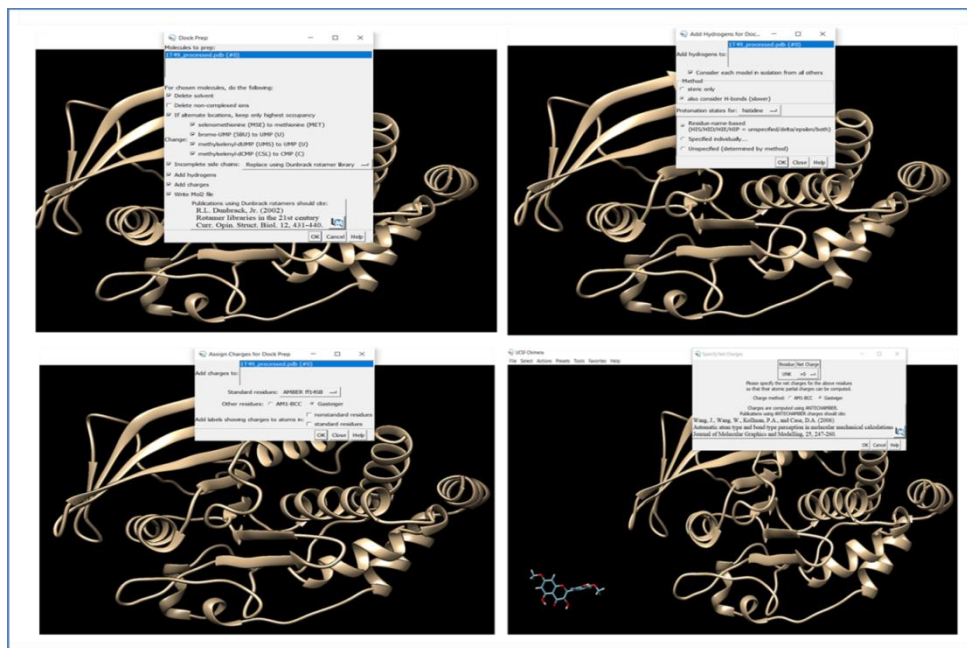


Figure 22: Les étapes de la préparation de la protéine cible et de ligand pour le docking par Chimera

✓ Docking :

- Préparer les paramètres de simulations de docking en ouvrant le menu Tools > Surface/Binding Analysis > Autodock Vina. Dans la fenêtre qui s'ouvre : choisir un nom de fichier de sortie, sélectionner le récepteur et le ligand. Définir l'espace de recherche (taille et position du centre de la grille). Nous avons utilisé les paramètres suivants (figure 23) :

| | | | |
|---------------|-----------|-----------|-----------|
| Centre | 46 | 17 | 13 |
| Size | 67 | 44 | 47 |

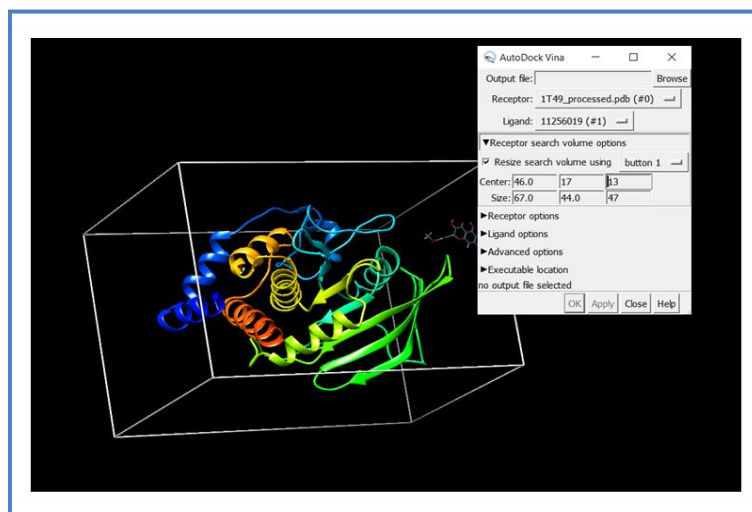


Figure 23: Détermination de l'espace de recherche (taille et position du centre de la grille) pour le docking.

- Dans le sous menu « Receptor options », sélectionner dans l'ordre les choix false-true-true-true-true-false. Dans le sous menu «Ligand options», sélectionner dans l'ordre les choix false-true.
- Enfin, dans le sous menu « Executable location » choisir le serveur opal puis lancer le calcul. Dans le cas d'une installation locale du logiciel Autodock Vina, sélectionner le répertoire contenant l'exécutable.

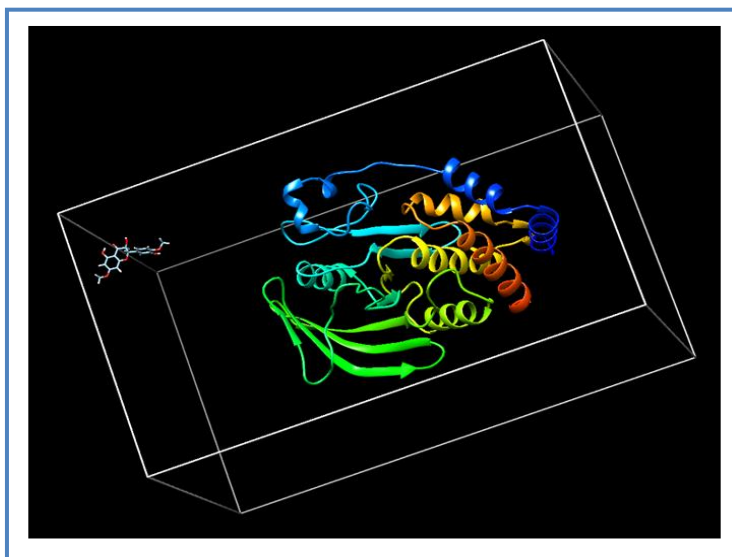


Figure 24: Structure expérimentale du complexe récepteur PTP1B (1T49) ligand. L'espace de recherche est délimité par la boîte blanche.

Le criblage virtuel a été réalisé avec le programme Chimera. La protéine a été gardée rigide pendant le docking tandis que les ligands ont été considérés comme flexibles.

2.3. Visualisation et traitement des résultats :

Après quelques secondes à quelques minutes du docking selon la taille du ligand, UCSF Chimera ouvrira l'Interface «ViewDock» présentant une liste tabulaire contenant des poses sélectionnée avec les différentes solutions et résultats proposées par le logiciel (score, match, RMSD... etc.)

Les résultats de docking effectués par le programme AutoDock sont enregistrés dans un fichier .PDB .

Parmi les 24 ligands nous avons choisis les Cinq meilleurs selon leur ΔG obtenus et nous avons enregistré les conformations spatiales de la meilleure position dans le site actif de l'enzyme de chacun de ces 5 meilleurs ligands,

La lecture du fichier .PDB par Discovery Studio Visualizer permet la visualisation du mode d'interaction entre les meilleures conformations du ligands et le site actif tout en affichant les différents types des liaisons formées.

CHAPITRE V :

RESULTAS ET

DISCUSSION

Résultats et discussion :

Dans cette étude, nous avons exploré plusieurs outils de docking moléculaire pour leur application *in silico* dans le cadre de la découverte de nouveaux inhibiteurs de la PTP1B.

Nous avons étudié les modes d'interactions des inhibiteurs de la PTP1B par le logiciel UCSF Chimera puis dans un deuxième temps nous avons analysée visuellement ces inhibiteurs par le logiciel DSV, puis nous avons utilisé l'outil SwissADME qui inclut toute une série de modèles permettant d'évaluer si la molécule a des chances d'atteindre sa protéine cible dans l'organisme. Ceci en termes d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME). Cet outil permet également d'optimiser les propriétés physiques et chimiques de la molécule pour qu'elle devienne à terme un médicament possible à administrer par voie orale (sous forme de comprimés, gélules, sirop, etc.).

1. Etude des interactions entre les inhibiteurs et la PTP1B :

Dans le but d'étudier l'interaction des ligands dans le site actif de la PTP1B, nous avons choisi les 5 meilleurs inhibiteurs portant les codes , 21676154, 5748580 , 44259719, 44259713 , 13370459, parmi 24 inhibiteurs dont l'énergie d'interaction calculée par le Autodock vina intégré dans le logiciel Chimera (kcal/mole), comme montre le tableau ci-dessous:

Tableau VIII : Résultats des énergies d'interactions des 5 meilleurs inhibiteurs de la PTP1B

| Nom | Formule | Poids moléculaire g/mol | Δg | Interactions |
|--|-------------------|-------------------------|------------|--|
| Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether Code : 21676154 | $C_{18}H_{16}O_8$ | 360.3 | -8.3 | Tyr46; Lys120; Trp179; Gly183; Arg221; Gln266: Conventional H bonds Lys116 : infavorable donor-donor Gln262 liaison carbone hydrogène |
| 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone Code: 5748580 | $C_{19}H_{18}O_8$ | 374.3 | -8.3 | Gln266 : liaison carbone hydrogène Lys116; Lys120; Trp179; Arg221; Gln262 : Conventional H bonds |
| 3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-trimethoxyflavone Code: 44259719 | $C_{18}H_{16}O_8$ | 360.3 | -8.2 | Gly183: infavorable donor-donor Lys120; Trp179; Arg221; Gln266: Conventional H bonds Gln262 : liaison carbone hydrogène |
| Myricetin 3,7,3',5'-tetramethyl ether Code: 44259713 | $C_{19}H_{18}O_8$ | 374.3 | -8.1 | Gln262 : liaison carbone hydrogène Tyr46 : Pi-Sigma Lys116; Lys120; Trp179; Arg221; Gln266 : Conventional H bonds |

| | | | | |
|---|--|--------|------|--|
| 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-ethoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one Code: 13370459 | C ₁₇ H ₁₄ O ₇ | 330.29 | -8.0 | Tyr46; Lys116; Lys120; Trp179; Gly183; Arg221; Gln266: Conventional H bonds |
|---|--|--------|------|--|

2. Diagrammes 2D :

La conformation des ligands dockés est visualisée à l'aide de logiciel DSV qui permet de visualiser les fichiers au format PDB, dans l'analyse visuelle nous avons basé sur deux paramètres ; le nombre de liaison, et le nombre d'acide aminé entre le site actif de récepteur PTP1B et les inhibiteurs.

2.1. Les cinq meilleurs inhibiteurs sélectionnés

2.1.1. Interactions entre le Myricetin 3,7,3'-trimethyl éther et le site actif :

L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à -8.3 kcal/mole, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que cet inhibiteur est bien placé dans le site actif de la PTP1B où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 8 acides aminés suivants : Tyr46; Lys116; Lys120; Trp179; Gly183; Arg221; Gln262; Gln266; (figure 25) en formant 8 liaisons hydrogènes : 4 liaisons sont formées entre l'oxygène du composé **Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether** et les résidus Trp179; Arg221; Gln266; et 2 liaisons sont constatées entre l'oxygène du groupement carboxyle de l'inhibiteur et Lys120; Gln266 et 2 liaisons sont formées entre l'hydrogène du groupement carboxyle et Tyr46; Gly183 du site actif de l'enzyme.

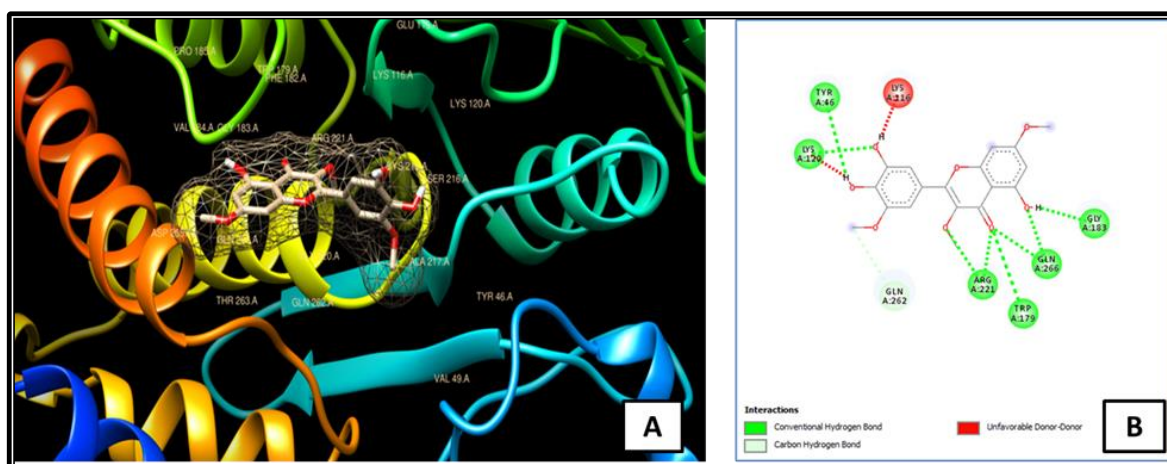


Figure 25 : Représentation d'interaction du Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether dans le site actif de la PTP1B par UCFS Chiméra(A) et les interactions par DSV(B)

2.1.2. Interactions entre le 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetraméthoxyflavone et le site actif :

L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à -8.3 kcal/mole, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur est bien placé dans le site actif de la PTP1B où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 6 acides aminés suivant : Lys116; Lys120; Trp179; Arg221; Gln262; Gln266; (figure 26) en formant 7 liaisons hydrogènes entre l'oxygène du composé 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetraméthoxyflavone et les résidus Lys116; Lys120; Trp179; Arg221; Gln266; du site actif de l'enzyme.

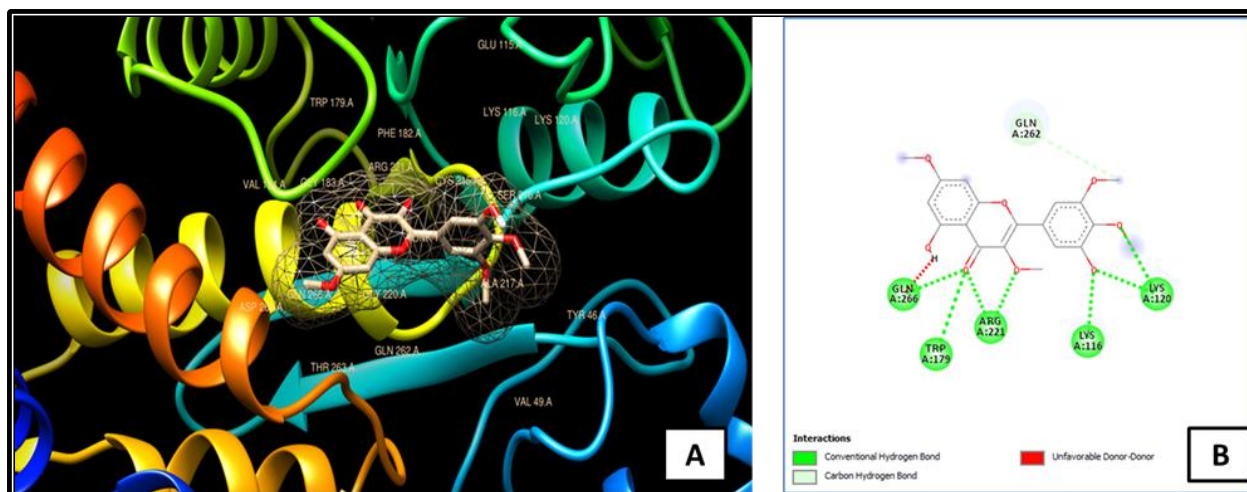


Figure 26 : Représentation d'interaction du 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetraméthoxyflavone dans le site actif de la PTP1B par UCFS Chimera(A) et les interactions par DSV(B).

2.1.3. Interactions entre le 3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-triméthoxyflavone et le site actif

L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à -8.2 kcal/mole, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que ce composé est bien placé dans le site actif de la PTP1B où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 6 acides aminés suivants : Lys120; Trp179; Gly183; Arg221; Gln262; Gln266 (figure 27) en formant également 7 liaisons hydrogènes entre le composé 3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-triméthoxyflavone et les résidus Lys120; Trp179; Arg221; Gln266 du site actif de l'enzyme.

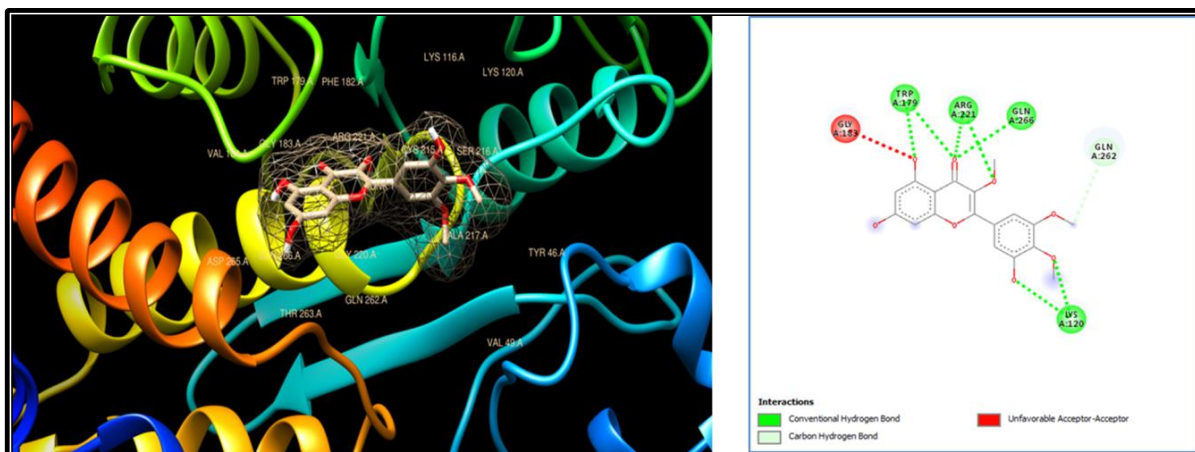


Figure 27: Représentation d'interaction du l'inhibiteur 3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-triméthoxyflavone dans le site actif de la PTP1B par UCFS Chimera(A) et les interactions par DSV(B).

2.1.4. Interactions entre le Myricetin 3,7,3',5'-tetraméthyl ether et le site actif

L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à -8.1 kcal/mole, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur est bien placée dans le site actif de la PTP1B où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 6 acides aminés suivants : Tyr46; Lys116; Lys120; Trp179; Arg221; Gln262; Gln266 (figure 28) en formant 7 liaisons hydrogènes entre l'oxygène du composé **Myricetin 3,7,3',5'-tetraméthyl ether** et les résidus Tyr 46; Lys116; Lys120; Trp179; Arg221; Gln266 du site actif de l'enzyme et une liaison entre l'oxygène du groupement carboxyle et l'acide aminé Trp179 de l'enzyme. Le complexe PTP1B-composé Myricetin 3,7,3',5'-tetraméthyl ether est stabilisé également par une interaction hydrophobique faisant intervenir le résidu Tyr46.

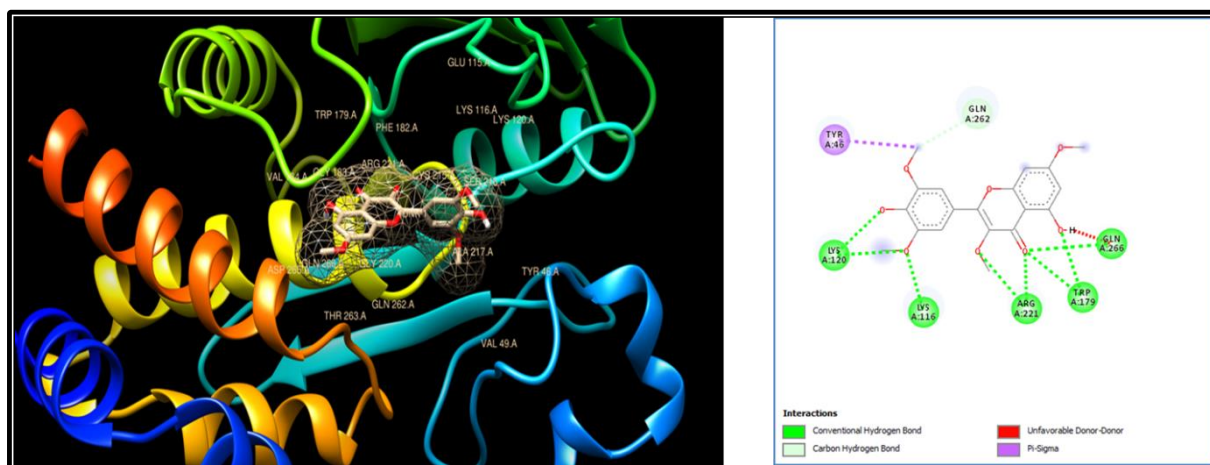


Figure 28: Représentation d'interaction du Myricetin 3,7,3',5'-tetraméthyl ether dans le site actif de la PTP1B par UCFS Chimera(A) et les interactions par DSV(B).

2.1.5. Interactions entre le 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-ethoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one et le site actif

L'énergie d'interaction calculée par Autodock est égale à -8.0 kcal/mole, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur est stable dans le site actif de la PTP1B où il contracte de nombreuses liaisons avec les acides aminés suivant: Tyr46; Lys116; Lys120; Trp179; Gly183; Arg221; Gln266; (figure 29) en formant 7 liaisons hydrogènes entre l'oxygène du composé 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-ethoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one et les résidus Lys116; Lys120; Trp179; Arg221; Gln266; Tyr46 et Gly183 de l'enzyme.

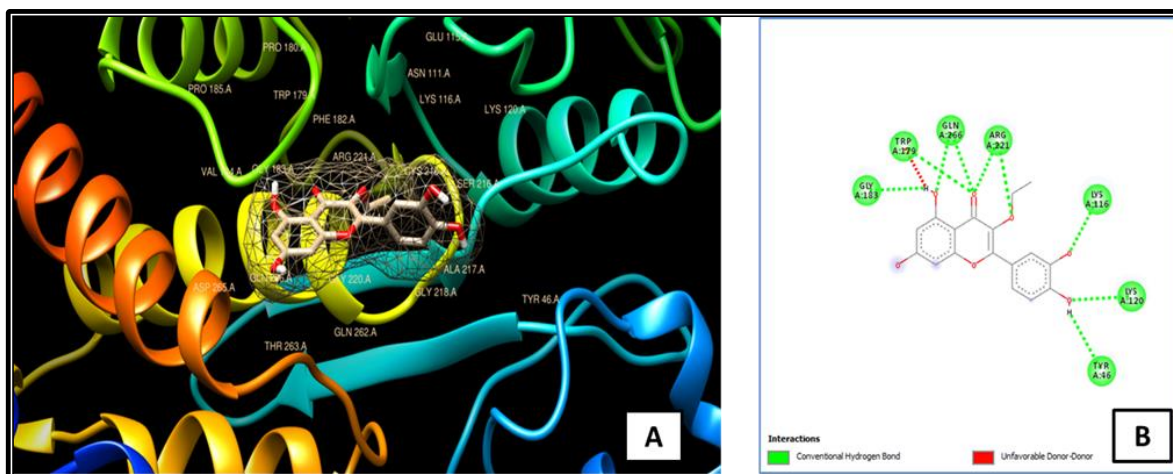


Figure 29: Représentation d'interaction du 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-ethoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one dans le site actif de la PTP1B par UCFS Chimera (A) et les interactions par DSV(B).

Le docking moléculaire de ces composés envers le site actif de la cible fait ressortir les cinq composés : Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether ; 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone; 3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-trimethoxyflavone ; Myricetin 3,7,3',5'-tetramethyl ether ; 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-ethoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one comme des meilleurs inhibiteurs de l'enzyme PTP1B avec des scores entre -8.3 à -8.0 Kcal/mole.

Après comparaison entre la structure du site actif de la protéine cible (PTP1B) représentée dans le chapitre 2 (Figure8) et la représentation des interactions de chaque complexe protéine-ligand obtenu dans notre étude par le docking, on constate que ces interactions ont lieu au niveau de mêmes acides aminés qui constituent le site actif de la PTP1B.

Des études récentes des chercheurs sur l'inhibition in silico de la PTP1B tel que Shrestha, Srijan Seong et al trouvent que l'inhibiteur (3-(3,5-dibromo-4-hydroxy-benzoyl)-2-ethyl-benzofuran-6-sulfonic acid (4-sulfamoyl-phenyl)-amide) se fixe sur des résidus (Ser216, Arg221, Ala217, Ile219, Gly220, Arg24, Arg254, Asp48, Tyr46, Cys215, Lys120, Thr263, Cln266, Val149, Met258, Gln262, Asp29, Arg24, Ser28)[92].

Presque les mêmes résultats aussi trouvés dans l'étude de Xiangyu Zhang, Hailun Jiang et leur équipe qui montre que l'hétérocycle de l'isothiazolidinone comme puissant inhibiteur de PTP1B, cet composé se fixe au centre du site actif par des liaisons (Cys215-Arg221) à proximité de huit donneurs. Six acides aminés (Gly220, Gly218, Cys215, Ile219, Arg221 et Ser216) liés aux anions oxygène et azote du sulfone [93].

Une autre étude sur un ensemble analogues de la thiazolidine par Mahapatra et son équipe trouve que le composé 46 (un dérivé de benzylidene-thiazolidinedione avec un azote amidique non substitué dans le noyau TZD) est le meilleur inhibiteur par une fixation avec la PTP1B au niveau de son site actif en formant plusieurs liaisons hydrogène avec les résidus: tyr46, Phe182, Ser 216, Ala 217, Gly 218, Arg 221 [94].

On constate que nos résultats sont en accord avec ces études où nous avons trouvé que les meilleurs inhibiteurs sont fixés généralement sur les résidus contenus dans l'intervalle de «30 à 278».

3. L'évaluation des propriétés ADMET :

Plusieurs études soutiennent le fait qu'un bon candidat médicament doit posséder, en plus d'une activité élevée envers la cible, des propriétés ADMET compatibles avec une application biologique. Dans ce contexte, il était indispensable de conforter notre étude par évaluation de certaines propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant les critères ADMET des meilleurs composés issus de Myricetin 3,7,3'-triméthyl ether ; 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetraméthoxyflavone ; 3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-triméthoxyflavone ; Myricetin 3,7,3',5'-tetraméthyl ether ; 2-(3,4-Dihydroxyphényl)-3-éthoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one. Comme montre le tableau ci-dessous:

Tableau IX: Le profil ADMET relative des 24 composés candidats obtenus à partir de serveur SwissADME et leurs scores

| Ligand | PM (g/mol) | X log P3 | Log S | GI absorption | Nombre | Fraction CSP3 | TPSA(Å) |
|----------|------------|----------|-------|---------------|--------|---------------|---------|
| 5280682 | 344,3 | 3,61 | -4,46 | High | 4 | 0,17 | 98,36 |
| 482576 | 318,28 | 1,28 | -2,87 | High | 2 | 0,19 | 116,45 |
| 5281677 | 344,3 | 3,61 | -4,46 | High | 4 | 0,17 | 98,36 |
| 11256019 | 332,3 | 1,60 | -3,08 | High | 3 | 0,24 | 105,45 |
| 632128 | 358,3 | 2,92 | -4,03 | High | 5 | 0,21 | 87,36 |
| 5748580 | 374,3 | 3,12 | -4,24 | High | 5 | 0,21 | 107,59 |
| 11537442 | 342,3 | 2,53 | -3,90 | High | 2 | 0,17 | 98,36 |
| 13370459 | 330,29 | 3,08 | -4,12 | High | 3 | 0,12 | 120,36 |
| 13942543 | 358,3 | 2,92 | -4,03 | High | 5 | 0,21 | 87,36 |
| 14162697 | 344,3 | 2,59 | -3,82 | High | 4 | 0,17 | 98,36 |
| 14353345 | 332,3 | 1,60 | -3,08 | High | 3 | 0,24 | 105,45 |

| | | | | | | | |
|----------|--------|------|-------|------|---|------|--------|
| 21676154 | 360,3 | 2,79 | -4,02 | High | 4 | 0,17 | 118,59 |
| 25030197 | 360,3 | 1,46 | -3,18 | Low | 4 | 0,06 | 157,66 |
| 44257416 | 390,3 | 1,71 | -3,46 | High | 3 | 0,32 | 123,91 |
| 44259519 | 360,3 | 2,79 | -4,02 | High | 4 | 0,17 | 118,59 |
| 44259712 | 360,3 | 2,79 | -4,02 | High | 4 | 0,17 | 118,59 |
| 44259713 | 374,3 | 3,12 | -4,24 | High | 5 | 0,21 | 107,59 |
| 44259719 | 360,3 | 2,79 | -4,02 | High | 4 | 0,17 | 118,59 |
| 44592298 | 374,3 | 1,79 | -3,40 | Low | 5 | 0,11 | 146,66 |
| 44592398 | 374,3 | 1,79 | -3,40 | Low | 5 | 0,11 | 146,66 |
| 53462148 | 334,3 | 0,92 | -2,73 | High | 2 | 0,19 | 136,88 |
| 56658060 | 318,28 | 1,28 | -2,87 | High | 2 | 0,19 | 116,45 |
| 71723596 | 398,4 | 3,35 | -4,43 | High | 6 | 0,24 | 104,43 |
| 91669171 | 344,3 | 3,60 | -4,45 | High | 4 | 0,17 | 120,36 |

3.1. Propriétés physico-chimiques :

✓ La règle de Lipinski (règle des 5)

La règle de Lipinski, aussi connu sous le nom : Règle de 5, permet de vérifier la biodisponibilité orale d'un composé à partir de sa structure 2D. D'après cette règle, les composés qui ne valident pas au moins trois des cinq critères suivants sont susceptibles de poser des problèmes d'administration par voie orale [78] :

- Poids moléculaire (PM) \leq 500 Da.
- Coefficients de partage octanol-eau ($\log P$) \leq 5.
- Le nombre d'accepteur d'hydrogène (n.ON) \leq 10.
- Le nombre de donneur d'hydrogène (n.OH/NH) $H \leq$ 5.
- Le nombre de liaisons flexibles (n.LF) $<$ 15.

Le Tableau X montre que les composés Myricetin 3,7,3'-triméthyl ether ; 3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetraméthoxyflavone ; 3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-triméthoxyflavone ; Myricetin 3,7,3',5'-tetraméthyl ether ; 2-(3,4-Dihydroxyphényl)-3-éthoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one répondent aux règles de Lipinski, ce qui indique que ces composés peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes. Cependant, nous avons noté une forte solubilité de ces composés dans l'eau ainsi qu'un $\log P < 5$. Ceci démontre le caractère hydrophile de nos composés rendant leur solubilité dans les milieux aqueux facile.

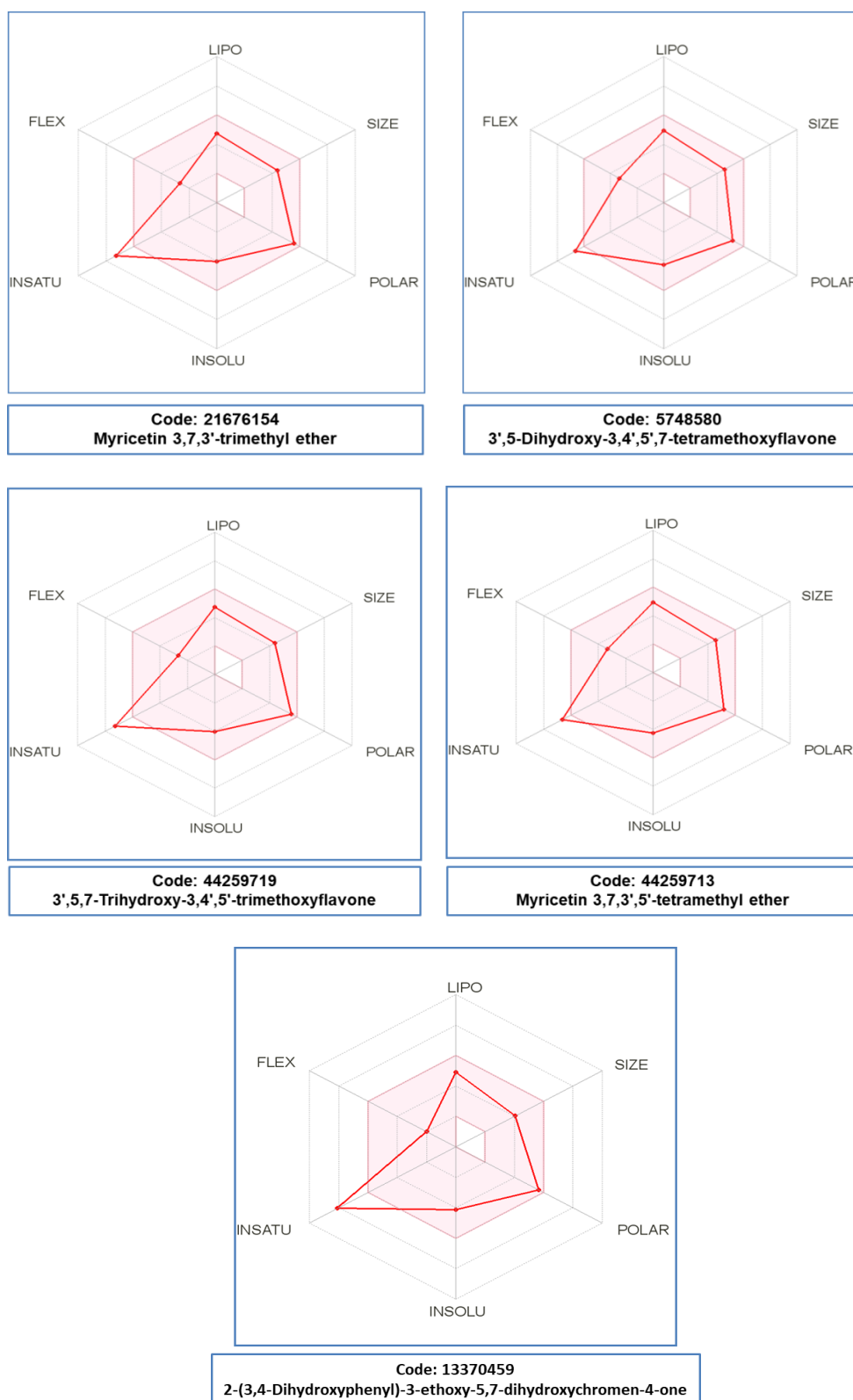


Figure 30: Diagrammes des 5 meilleurs composés selon la règle de Lipinski (à partir du serveur SwissADME).

3.2. Propriétés pharmacocinétiques :

Un bon candidat médicament doit être rapidement et complètement absorbé par voie gastro-intestinale, distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps, métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages[78].

Dans notre travail, à l'aide du serveur SwissADME, Nous avons trouvé que ces 5 inhibiteurs portent un GI absorption très élevés. Ce qui indique que ces composés sont capables de traverser la barrière gastro-intestinale pour accéder au sang.

À la lumière de ce travail, nous pouvons postuler que les composés *Myricetin 3,7,3'-trimethyl éther* et *3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone* possèdent avec un bon profil ADME et un pouvoir inhibiteur potentiellement élevé envers la cible, et peuvent par conséquent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de la PT1PB pour le traitement de l'obésité . Les informations que nous avons fournies seront très utiles lors de leur optimisation pour devenir des candidats médicament.

CONCLUSION

Conclusion

La découverte de nouveaux médicaments «*in-silico*» est l'une des stratégies les plus prometteuses visant à accélérer le processus de développement de médicaments. Le Docking moléculaire «Amarrage moléculaire», est l'une des premières étapes du processus de découverte de médicaments, il repose sur la sélection «*in-silico*» des meilleurs médicaments potentiels qui agissent sur une protéine cible donnée, il peut se faire «*in-vitro*», mais il est très onéreux.

L'un des principaux avantages conférés par le docking est qu'il permet aux chercheurs de trier (screen) rapidement les grandes bases de données de médicaments potentiels qui nécessiteraient autrement un travail fastidieux et de longue durée dans le laboratoire selon les méthodes traditionnelles de découverte de médicaments.

Les résultats de docking basé sur l'énergie de liaison entre les 24 inhibiteurs et le PTP1B ; montrent que les composés 21676154, 5748580, 44259719, 44259713, 13370459 sont les cinq meilleurs inhibiteurs de la PTP1B et que l'inhibiteur *Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether* qui porte le code 21676154 et *3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone* avec le code 5748580 présentent les meilleures énergies de liaison (-8.3 kcal/mole) par rapport aux autres inhibiteurs, ainsi que des propriétés physicochimiques et pharmaceutiques intéressantes et peuvent être donc proposés comme inhibiteurs potentiels de la PTP1B .

A l'avenir et comme perspectives, il serait intéressant de tester l'activité biologique du l'inhibiteur *3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone* nouvellement proposé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* pour confirmer les résultats théoriques réalisés *in silico*.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]: Amine H. La microalgue *Odontella aurita* prévient l'insulino-résistance et l'inflammation hépatiques induites par un régime hyper-lipidique: mise en évidence des mécanismes insulino-sensibilisateurs des acides gras polyinsaturés omega-3 au niveau neuronal: Université Paris Saclay (COMUE); Université Hassan II (Casablanca, Maroc ...; 2016.
- [2]: COCHIN EPerdrhdII. OB-RGRP, régulateur négatif du récepteur de la leptine chez la souris, pourrait devenir une nouvelle cible pour le traitement de l'obésité [Available from: <https://www.institutcochin.fr/linstitut/evenements/ob-rgrp-regulateur-negatif-du-recepteur-de-la?fbclid=IwAR3ITkX7FyowIPNyZiu9LG9BNWEkItJJGg81XSZbDgpaUqLAUVu23leh0ag#:~:text=L'%C3%A9tude%20d%C3%A9montre%2C%20chez%20la,leur%20sensibilit%C3%A9%20%C3%A0%20la%20leptine>].
- [3]: Smallwood S. La leptine: rôle physiologique dans la fonction somatotrope, transduction du signal et mécanismes d'internalisation: Université Claude Bernard-Lyon I; 2007.
- [4]: Carraz J. Comprendre et traiter l'obésité: approche pluridisciplinaire intégrative: Elsevier Masson; 2017.
- [5]: Keita B. Obésité chez le personnel du CHU Gabriel Touré. 2012.
- [6]: Ceppo F. Rôle de la kinase inflammatoire Tpl2 dans l'inflammation du tissu adipeux lors de l'obésité: Université Nice Sophia Antipolis; 2014.
- [7]: OMS. Rubrique « Thème de santé ». Obésité et surpoids [Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>].
- [8]: Masciangelo AGMJRMS. Poids de l'obésité: de l'épidémie aux coûts. 2005;1:30273.
- [9]: KAMBOUCHE D, DJEKAOUA D, BENLALDJ D. Prévalence de l'obésité et du surpoids chez les travailleurs Des résidences universitaires de Kharouba Mostaganem en 2017. 2017.
- [10]: PLANETOSCOPE. Décès dus à l'obésité et au surpoids dans le monde.
- [11]: Elwatan. L'obésité et le surpoids en hausse en Algérie : Les spécialistes redoutent l'explosion du diabète [Available from: <https://www.elwatan.com/a-la-une/lobesite-et-le-surpoids-en-hausse-en-algerie-les-specialistes-redoutent-lexplosion-du-diabete-16-02-2020>].
- [12]: Théry H, Caron PJCRf-bdgRf-bdg. Circulation, consommation mondiale des viandes et obésité: coïncidences ou co-incidences? 2019(40).
- [13]: Bonino MA, Bartoletti S, Niclauss N, Pataky Z, Toso C, Moenig SP, et al. Quand référer un patient en vue d'un traitement chirurgical de l'obésité. 2020;16(679):181-3.
- [14]: Le Corre C. Une «addiction au sucre» en cause dans l'obésité? 2020.
- [15]: TOUIL A. Etude de la prévalence de l'obésité dans la population de Ouled Mimoun (Tlemcen-Algérie).
- [16]: Basdevant AJCRB. L'obésité: origines et conséquences d'une épidémie. 2006;329(8):562-9.
- [17]: Vandewater EA, Shim M-s, Caplovitz AGJJoA. Linking obesity and activity level with children's television and video game use. 2004;27(1):71-85.
- [18]: Aboura I. Effet anti-inflammatoire et anti obésité des extraits polyphénoliques de feuilles de caroube" *Ceratonia siliqua*" et cladode de figuier de barbarie" *Opuntia ficus-indica*": Université Bourgogne Franche-Comté; 2018.
- [19]: Lyytikäinen P, Rahkonen O, Lahelma E, Lallukka TJJosr. Association of sleep duration with weight and weight gain: a prospective follow- up study. 2011;20(2):298-302.
- [20]: Patel SR, Hu FBJO. Short sleep duration and weight gain: a systematic review. 2008;16(3):643-53.
- [21]: Hu FB, Li TY, Colditz GA, Willett WC, Manson JEJ. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. 2003;289(14):1785-91.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [22]: Wharton S, Lau DC, Vallis M, Sharma AM, Biertho L, Campbell-Scherer D, et al. L'obésité chez l'adulte: ligne directrice de pratique clinique. 2020;192(49):E1757-E75.
- [23]: Abdullah A, Peeters A, de Courten M, Stoelwinder JJDr, practice c. The magnitude of association between overweight and obesity and the risk of diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. 2010;89(3):309-19.
- [24]: Guerville M. Axe intestin-cerveau et régulation de la satiété chez l'obèse: étude de l'origine de l'endotoxémie métabolique et de son rôle sur la physiologie du nerf vague dans un modèle d'obésité induite par un régime occidental chez le rat: Rennes, Agrocampus Ouest; 2016.
- [25]: Palma V. Dépistage de l'obésité adulte et des pathologies associées en médecine générale dans la ville du Port, d'avril 2013 à janvier 2014, dans le cadre du Plan Obésité à destination des populations d'Outre-mer.
- [26]: Cohen JC, Horton JD, Hobbs HHJS. Human fatty liver disease: old questions and new insights. 2011;332(6037):1519-23.
- [27]: Alexander JKJPicd. The cardiomyopathy of obesity. 1985;27(5):325-34.
- [28]: Basdevant A. Médecine et chirurgie de l'obésité: Lavoisier; 2011.
- [29]: Woods R, Thien FJT. Polyunsaturated fats and asthma. 2002;57(1):94-.
- [30]: Rosiek A, Maciejewska NF, Leksowski K, Rosiek-Kryszewska A, Leksowski LJIjoer, health p. Effect of television on obesity and excess of weight and consequences of health. 2015;12(8):9408-26.
- [31]: Bermeo S, Gunaratnam K, Duque GJCor. Fat and bone interactions. 2014;12(2):235-42.
- [32]: Hardouin P, Pansini V, Cortet BJBS. Bone marrow fat. 2014;81(4):313-9.
- [33]: Ackerman SE, Blackburn OA, Marchildon F, Cohen PJCor. Insights into the link between obesity and cancer. 2017;6(2):195-203.
- [34]: Larsson S, Wolk AJBjoc. Obesity and the risk of gallbladder cancer: a meta-analysis. 2007;96(9):1457-61.
- [35]: Larsson S, Wolk AJBjoc. Overweight, obesity and risk of liver cancer: a meta-analysis of cohort studies. 2007;97(7):1005-8.
- [36]: Vainio H, Bianchini F. Weight control and physical activity: Iarc; 2002.
- [37]: Discacciati A, Orsini N, Wolk AJAoo. Body mass index and incidence of localized and advanced prostate cancer—a dose–response meta-analysis of prospective studies. 2012;23(7):1665-71.
- [38]: Larsson SC, Wolk AJIjoc. Overweight and obesity and incidence of leukemia: a meta-analysis of cohort studies. 2008;122(6):1418-21.
- [39]: Wolin KY, Carson K, Colditz GAJTo. Obesity and cancer. 2010;15(6):556.
- [40]: Schlienger J-LJLPM. Conséquences pathologiques de l'obésité. 2010;39(9):913-20.
- [41]: Halsted CHJCoig. Obesity: effects on the liver and gastrointestinal system. 1999;15(2):154.
- [42]: Wendremaire M. Obésité et grossesse: étude de l'influence d'un marqueur de l'obésité sur les mécanismes cellulaires et tissulaires de l'accouchement dans un modèle d'explants myométriaux humains: Université de Bourgogne; 2012.
- [43]: Després J-P, Lemieux IJN. Abdominal obesity and metabolic syndrome. 2006;444(7121):881-7.
- [44]: de Ferranti S, Mozaffarian DJCc. The perfect storm: obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. 2008;54(6):945-55.
- [45]: Boirie YJomeu. Obésité: physiopathologie et conséquences. 2009;16.
- [46]: Hursting SD, Berger NAJJoCO. Energy balance, host-related factors, and cancer progression. 2010;28(26):4058.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [47]: Rondini EA, Harvey AE, Steibel JP, Hursting SD, Fenton JIJMc. Energy balance modulates colon tumor growth: interactive roles of insulin and estrogen. 2011;50(5):370-82.
- [48]: Margetic S, Gazzola C, Pegg G, Hill RJJoo. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. 2002;26(11):1407-33.
- [49]: Park J, Scherer PEJE-rc. Leptin and cancer: from cancer stem cells to metastasis. 2011;18(4):C25-C9.
- [50]: Morton G, Cummings D, Baskin D, Barsh G, Schwartz MJN. Central nervous system control of food intake and body weight. 2006;443(7109):289-95.
- [51]: Hursting SD, Dunlap SMJAotNYAoS. Obesity, metabolic dysregulation, and cancer: a growing concern and an inflammatory (and microenvironmental) issue. 2012;1271(1):82-7.
- [52]: Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JMJN. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. 1994;372(6505):425-32.
- [53]: Friedman JMJAjocn. Leptin at 14 y of age: an ongoing story. 2009;89(3):973S-9S.
- [54]: Maffei M, Fei H, Lee G-H, Dani C, Leroy P, Zhang Y, et al. Increased expression in adipocytes of ob RNA in mice with lesions of the hypothalamus and with mutations at the db locus. 1995;92(15):6957-60.
- [55]: Benoit SC, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SCJRpihr. Insulin and leptin as adiposity signals. 2004;59:267-86.
- [56]: Garofalo C, Surmacz EJJocp. Leptin and cancer. 2006;207(1):12-22.
- [57]: Gautron L, Elmquist JKJTJoci. Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance. 2011;121(6):2087-93.
- [58]: BAH COdK. «PARTICULARITÉ DE L'OBÉSITÉ EN MÉDECINE INTERNE DE L'HOPITAL DU POINT G.». 2006.
- [59]: Ziegler O, Debry GJEMCENPE. Traitement des obésités primitives. 1997.
- [60]: BASDEVANT A, LAVILLE M, ZIEGLER OJD, metabolism. Guide pratique pour le diagnostic, la prévention, le traitement des obésités en France. 1998;24:10-42.
- [61]: Gougis S, Basdevant AJMdloP, Flammarion Médecine Sciences. Traitement de l'obésité. Alimentation. 2004:228-45.
- [62]: Ziegler O, Guy-Grand BJBA, Guy-Grand B, Médecine de l, obésité. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. Traitement médicamenteux de l'obésité. 2004:253-61.
- [63]: Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rössner S, Lancet R-ESGJT. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. 2005;365(9468):1389-97.
- [64]: Tonks NKJNrMcb. Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease. 2006;7(11):833-46.
- [65]: Bergeron A. Caractérisation de l'oxydoréduction de la protéine tyrosine phosphatase 1B dans la signalisation du récepteur à l'EGF. 2017.
- [66]: Vu TH. Étude des acides gras du genre Stereocaulon et étude phytochimique du lichen *S. evolutum* Graewe: Université Rennes 1; 2014.
- [67]: Alonso A, Sasin J, Bottini N, Friedberg I, Friedberg I, Osterman A, et al. Protein tyrosine phosphatases in the human genome. 2004;117(6):699-711.
- [68]: Li L, Dixon JE, editors. Form, function, and regulation of protein tyrosine phosphatases and their involvement in human diseases. Seminars in immunology; 2000: Elsevier.
- [69]: Barford D, Flint AJ, Tonks NKJS. Crystal structure of human protein tyrosine phosphatase 1B. 1994;263(5152):1397-404.
- [70]: Frangioni JV, Beahm PH, Shifrin V, Jost CA, Neel BGJC. The nontransmembrane tyrosine phosphatase PTP-1B localizes to the endoplasmic reticulum via its 35 amino acid C-terminal sequence. 1992;68(3):545-60.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [71]: Yip S-C, Saha S, Chernoff JJTibs. PTP1B: a double agent in metabolism and oncogenesis. 2010;35(8):442-9.
- [72]: Tonks NKJFl. PTP1B: from the sidelines to the front lines! 2003;546(1):140-8.
- [73]: Thareja S, Aggarwal S, Bhardwaj T, Kumar MJMrr. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors: a molecular level legitimate approach for the management of diabetes mellitus. 2012;32(3):459-517.
- [74]: Maugein M. La rutine et ses dérivés: perspectives thérapeutiques et applications à l'officine: éditeur inconnu; 2015.
- [75]: Jean B. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.): Lavoisier; 2009.
- [76]: PUBCHEM. «RUTIN | C27H30O16 -PubChem». [En ligne]. [updated (consulté le 7 mai 2021)]. Available from: < <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/rutin#section=Top> >
- [77]: Lattab M, Guirous F, Hadjeras D. Synthèse des données bibliographiques se rapportant au sujet suivant: effets des polyphénols sur l'obésité.-Compte rendu de stage pratique réalisé au niveau du Laboratoire de recherche de biochimie analytique et biotechnologie (LABAB) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou: Université Mouloud Mammeri; 2016.
- [78]: ZEMOURI Rania DA. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'ADAMTS-5 pour le traitement de l'arthrose. . 2019.
- [79]: Empereur-Mot C. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel: courbes de prédictivité & Screening Explorer: Conservatoire national des arts et métiers-CNAM; 2017.
- [80]: BOUCHERIT H, CHIKHI A, BENSEGUENI A, MERZOUG A, HIOUAL K, MOKRANI EJRoIMS, et al. L'AMARRAGE MOLECULAIRE: UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LUTTER CONTRE LE DEVELOPPEMENT DE LA TUBERCULOSE. 2013;7(2):133-49.
- [81]: LARIBI A, RABAHI K. Etude in-silico de l'inhibition de la Xanthine oxydase: Université de Bouira; 2017.
- [82]: HAMIDA R, MOUFIDA M. Etude par Docking Moléculaire de l'activité inhibitrice des Furanocoumarines Contenues dans le Jus de Pamplemousse sur les Cytochromes CYP3A4. 2020.
- [83]: Martz F. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques: Université Paris Sud-Paris XI; 2014.
- [84]: kenza EHS. Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. 2016.
- [85]: PDB. Protein Data Bank [Available from: <https://www.rcsb.org/>].
- [86]: CAVARELLI J. Biocristallographie - De la détermination des phases à la structure cristallographique. 2018
- [87]: PUBCHEM. [PubChem [En ligne]]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> . .
- [88]: swissadme. [SwissADME [En ligne]]. Available from: <http://www.swissadme.ch/>.
- [89]: PUBCHEM. CID5280805 structure [Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=CID5280805%20structure&tab=similarity&mw_lte=400].
- [90]: Wiesmann C, Barr KJ, Kung J, Zhu J, Erlanson DA, Shen W, et al. Allosteric inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B. 2004;11(8):730-7.
- [91]: ZERDAOUI S, BOUNASLA S. Docking moléculaire de deux flavones naturels contre l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase: UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA; 2020.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [92]: Shrestha S, Seong SH, Park SG, Min BS, Jung HA, Choi JSJM. Insight into the PTP1B inhibitory activity of arylbenzofurans: An in vitro and in silico study. 2019;24(16):2893.
- [93]: Zhang X, Jiang H, Li W, Wang J, Cheng MJC, medicine mmi. Computational insight into protein tyrosine phosphatase 1b inhibition: a case study of the combined ligand-and structure-based approach. 2017;2017.
- [94]: Mahapatra MK, Bera K, Singh DV, Kumar R, Kumar MJJoBS, Dynamics. In silico modelling and molecular dynamics simulation studies of thiazolidine based PTP1B inhibitors. 2018;36(5):1195-211.

ANNEXES

ANNEXE 1

Tableau I : Résultats des énergies d'interactions des 24 inhibiteurs avec le site actif de la PTP1B.

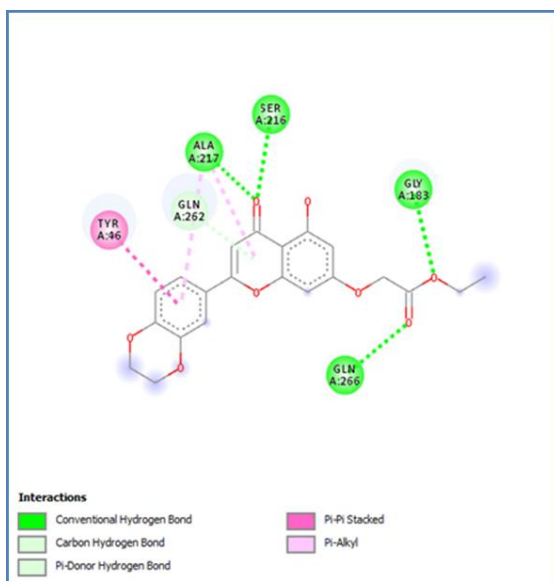
| CODE | INHIBITEUR | FORMULE | PM g/mol | ΔG | INTERACTIONS |
|----------|--|--|-------------|------|---|
| 5280682 | Ayanin | C ₁₈ H ₁₆ O ₇ | 344.3 | -8.0 | Lys A:120; Lys A:116; Arg A:221; Gln A:266; Trp A:179 |
| 91669171 | 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-propoxychromen-4-one | C ₁₈ H ₁₆ O ₇ | 344.3 | -8.0 | Gli A:183; Gln A:266; Trp A:179; Arg A:221; Cys A:215; Lys A:116; LysA:120 |
| 44259519 | Apuleidin | C ₁₈ H ₁₆ O ₈ | 360.3 | -8 | LYS A:120; Lys A:116; Arg A:221; Trp A:179; Gln A:266 |
| 44259712 | Myricetin 3,3',5'-trimethyl ether | C ₁₈ H ₁₆ O ₈ | 360.3 | -8.0 | Gln A:183; Gln A:266; Arg A:221; Trp A:179; Lys A:120; Lys A:116; Tyr A:46 |
| 5281677 | Pachypodol | C ₁₈ H ₁₆ O ₇ | 344.3 | -7.9 | Tyr A :46; Lys A :120; Gly A:183; Gln A:266; Trp A:179; Arg A:221; Gln A:262 |
| 53462148 | Hovenitin I | C ₁₆ H ₁₄ O ₈ | 334.28 | -7.7 | Lys A :116; Tyr A :46; Arg A:221; Gln A:266; Trp A:179; Ser A:216; Gln A:262 |
| 44592298 | Methyl 2-[2-hydroxy-5-(3,5,7-trihydroxy-4-oxochromen-2-yl)phenoxy]acetate | C ₁₈ H ₁₄ O ₉ | 374.3 | -7.7 | Tyr A:46; Ala A:217; Gln A:262; Glu A:115; Trp A:179; Gln A:266; Ser A:216; Gly A:183; Thr A:263; Arg A:221 |
| 71723596 | Ethyl 2-[2-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl)-5-hydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetate | C ₂₁ H ₁₈ O ₈ | 398.4 | -7.7 | Gln A:266; Gly A:183; Ser A:216; Ala A:217; Gln A:262; Tyr A:46 |
| 11537442 | Boeravinone G | C ₁₈ H ₁₄ O ₇ | 342.3 | -7.6 | Glu A:115; Gln A:266; Gly A:183; Ser A:216; Arg A:221; Cys A:215 |

ANNEXES

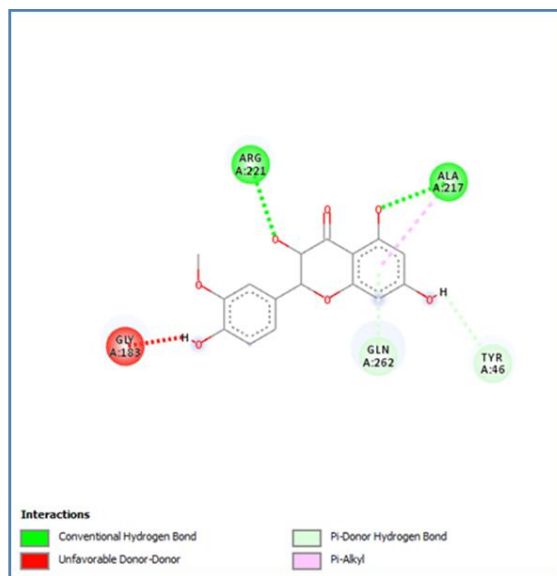
| | | | | | |
|-----------------|--|--|--------|------|---|
| 25030197 | 2-[2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetic acid | C ₁₇ H ₁₂ O ₉ | 360.3 | -7.6 | Lys A:120; Arg A:221; Trp A:179; Gln A:266; Asp A:265; Gly A:183 |
| 44592398 | Methyl 2-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetate | C ₁₈ H ₁₄ O ₉ | 374.3 | -7.6 | Gly A:183; Trp A:179; Arg A:221; Gln A:266; Lys A:116; Lys A:120 |
| 11256019 | 3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethoxyflavanone | C ₁₇ H ₁₆ O ₇ | 332.3 | -7.5 | Lys A:120; Arg A :221; Gln A:266; Gly A:183; Trp A:179 |
| 14353345 | 3,4',5-Trihydroxy-3',7-dimethoxyflavanone | C ₁₇ H ₁₆ O ₇ | 332.3 | -7.5 | Gln A:266; Trp A:179; Arg A:221;Lys A:116; Lys A:120 |
| 56658060 | Dihydroisorhamnetin | C ₁₆ H ₁₄ O ₇ | 318.28 | -7.5 | Ala A:217; Arg A:221; Tyr A:46; Gln A:262; Gly A:183 |
| 482576 | Dihydrotamarixetin | C ₁₆ H ₁₄ O ₇ | 318.28 | -7.2 | Arg A:221; Gly A:183; Asp A:181;Gln A:262; Ala A:217 |
| 14162697 | Quercetin 3,5,3'-trimethyl ether | C ₁₈ H ₁₆ O ₇ | 344.3 | -6.5 | Lys A:120; Lys A:116; Gly A:183; Trp A:179; Glu A:115; Arg A:221 |
| 632128 | 2-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,5,7-trimethoxy-4H-chromen-4-one | C ₁₉ H ₁₈ O ₇ | 358.3 | -6.5 | Arg A:221; Gln A:266; Gly A:183; Asp A:181; Pro A:180; Val A:184 |
| 13942543 | 3,5,7,3'-Tetramethoxy-4'-hydroxyflavone | C ₁₉ H ₁₈ O ₇ | 358.3 | -6.5 | Lys A:120; Lys A:116; Trp A:179; Glu A:115; Gln A:262; Tyr A:46; Arg A:221; Gln A:266 |
| 44257416 | Clitoriacetal | C ₁₉ H ₁₈ O ₉ | 390.3 | -6.4 | Arg A:221; Lys A:216; Asp A:181; Ser A:216; Tyr A:46 |

ANNEXE 2

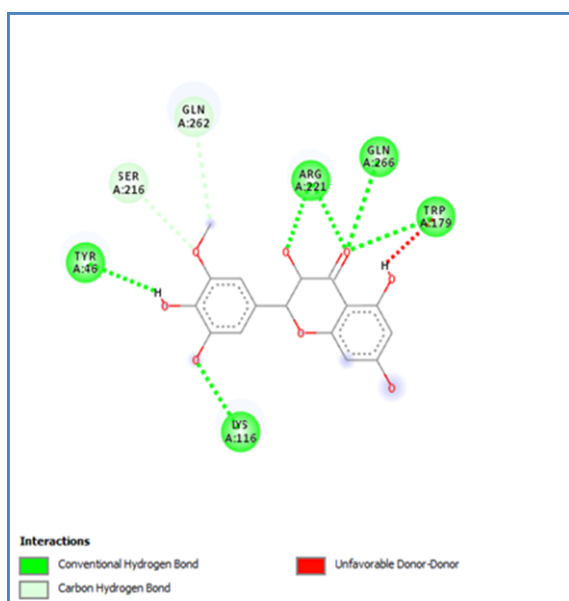
Les 24 ligands représentés avec la structure 2D dans le site actif de la PTP1B réalisé par DSV.



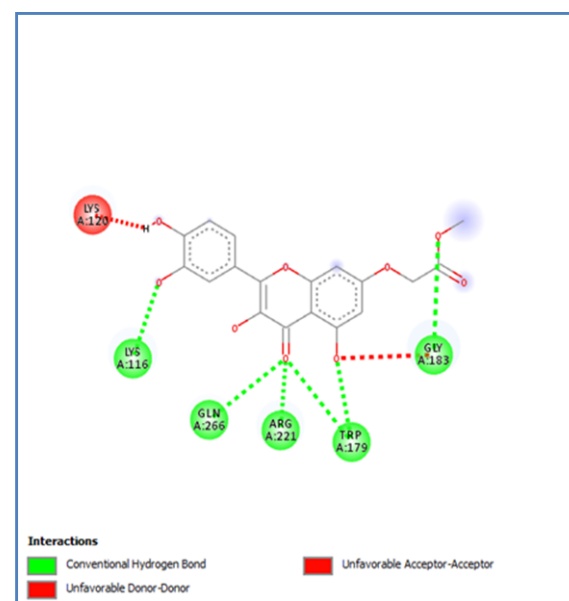
71723596:
Ethyl 2-[2-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl)-5-hydroxy-4-oxochromen-7-yl] oxyacetate



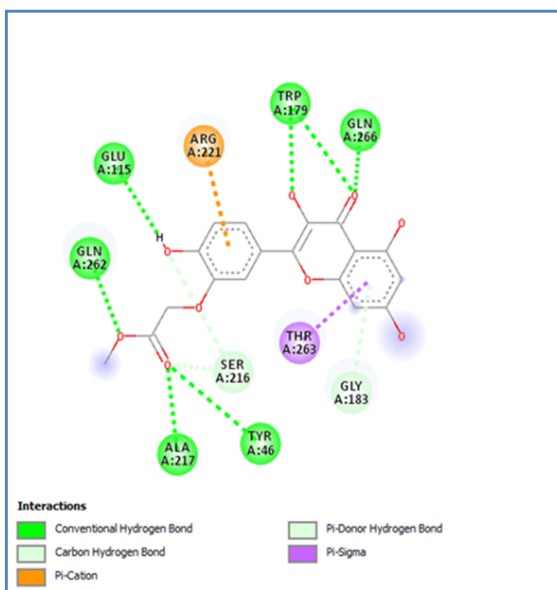
56658060: Dihydroisorhamnetin



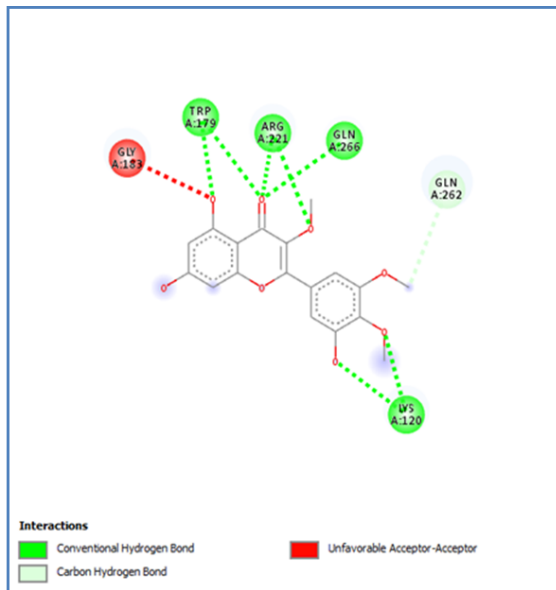
53462148:
Hovenitin I



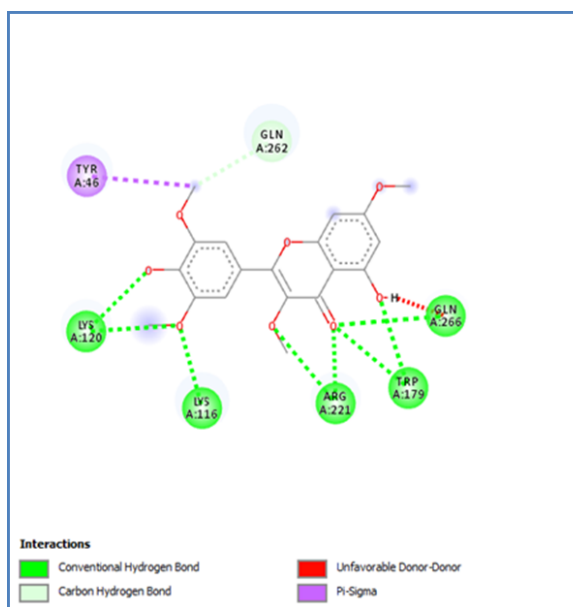
44592398:
Methyl 2-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetate



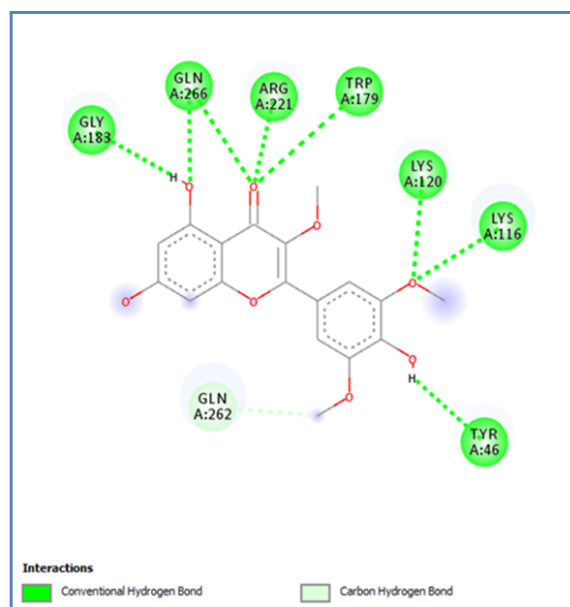
44592298:
Methyl 2-[2-hydroxy-5-(3,5,7-trihydroxy-4-oxochromen-2-yl)phenoxy]acetate



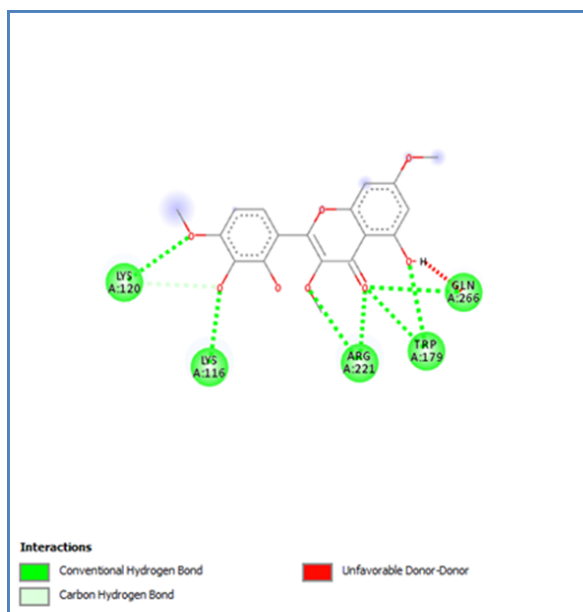
44259719:
3',5,7-Trihydroxy-3,4',5'-trimethoxyflavone



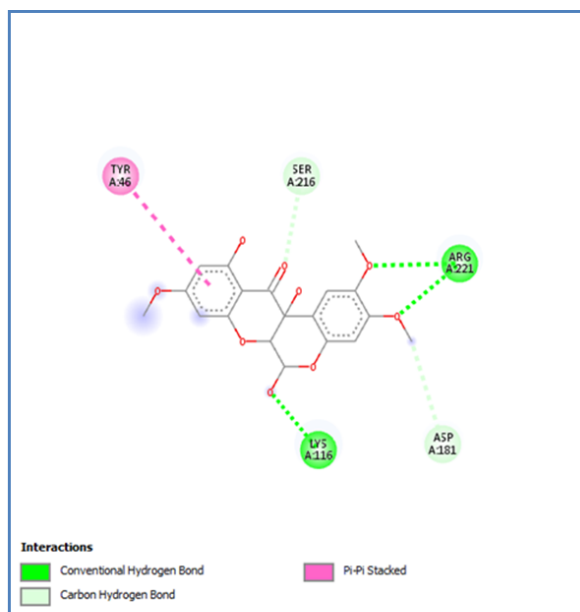
44259713:
Myricetin 3,7,3',5'-tetramethyl ether



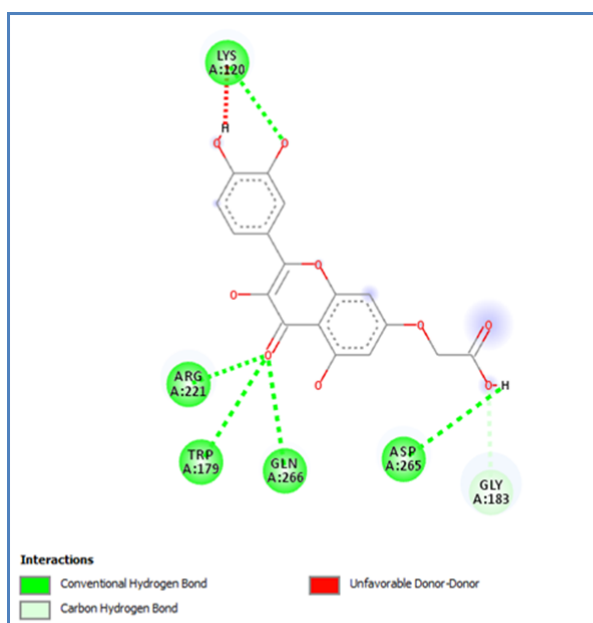
44259712:
Myricetin 3,3',5'-trimethyl ether



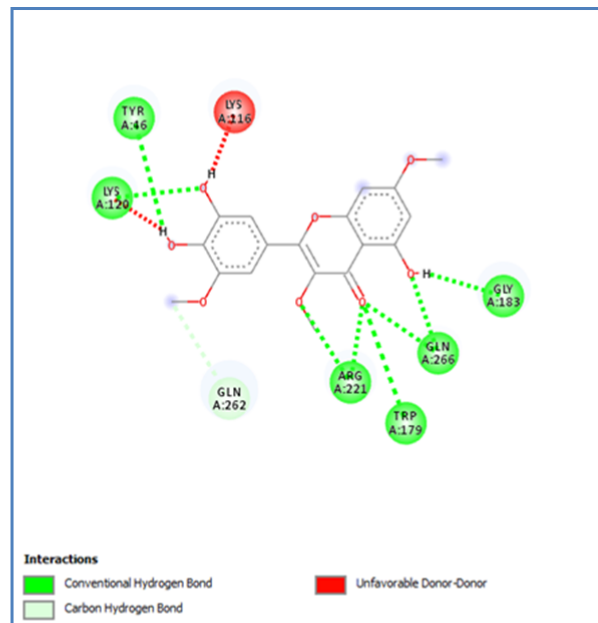
44259519:
Apuleidin



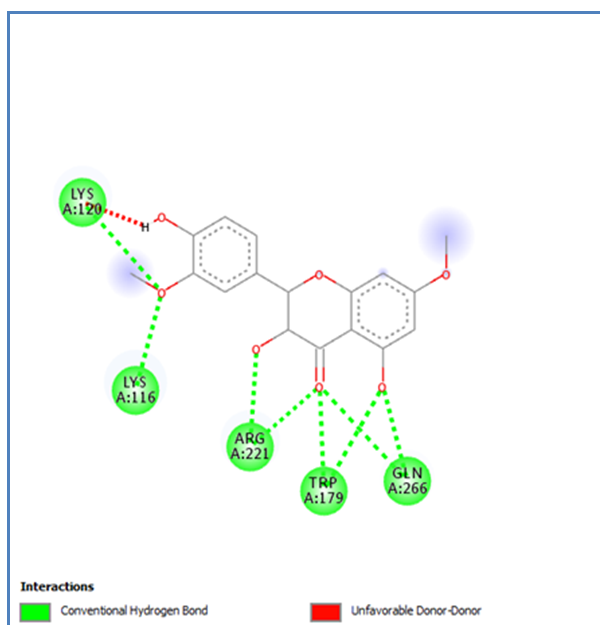
44257416:
Clitoriacetal



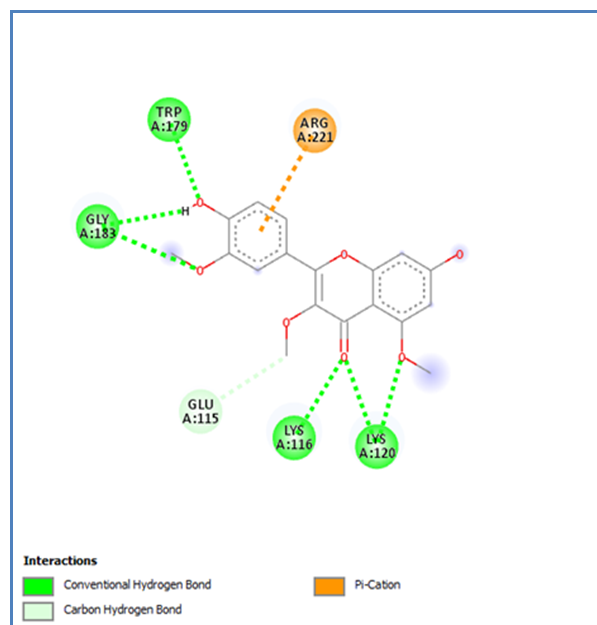
25030197:
2-[2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5-dihydroxy-4-oxochromen-7-yl]oxyacetic acid



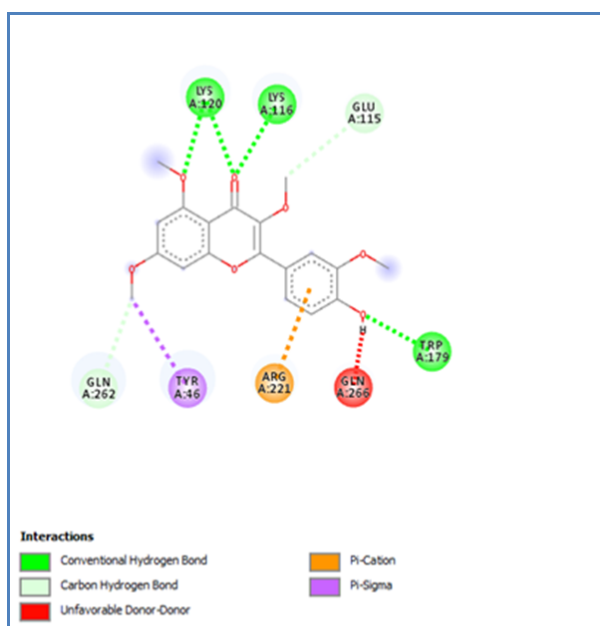
21676154:
Myricetin 3,7,3'-trimethyl ether



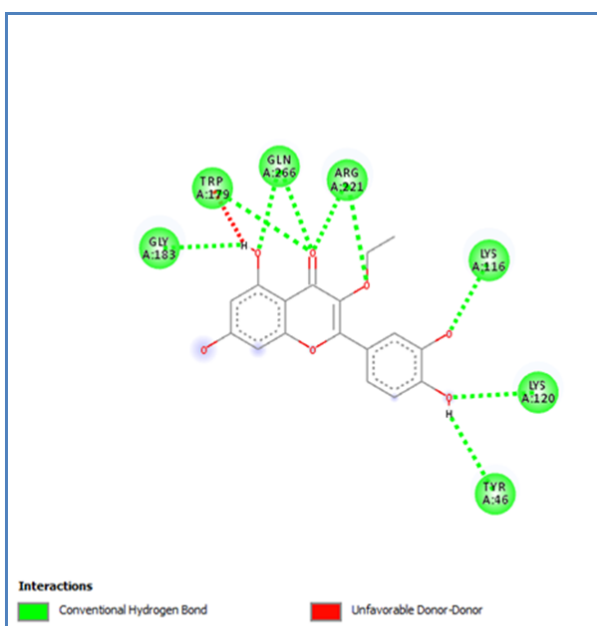
14353345:
3,4',5-Trihydroxy-3',7-dimethoxyflavanone



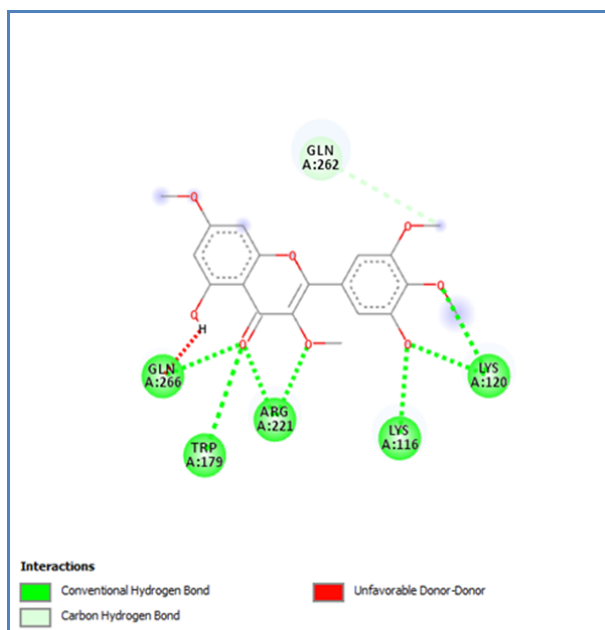
14162697:
Quercetin 3,5,3'-trimethyl ether



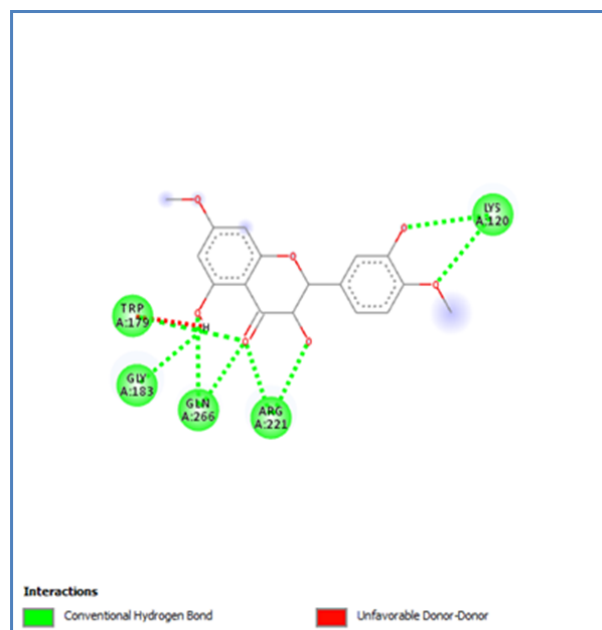
13942543:
3,5,7,3'-Tetramethoxy-4'-hydroxyflavone



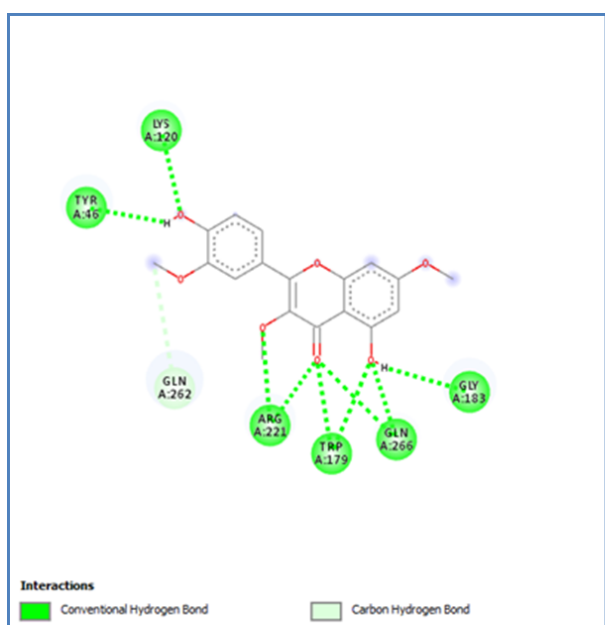
13370459:
2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-ethoxy-5,7-dihydroxychromen-4-one



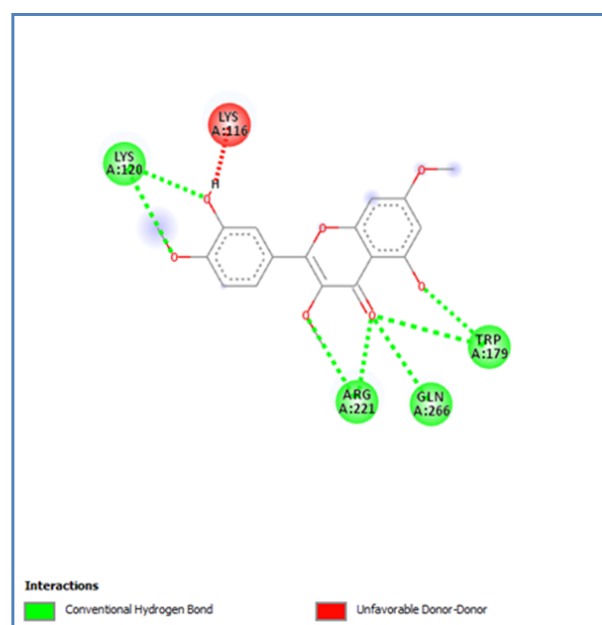
5748580:
3',5-Dihydroxy-3,4',5',7-tetramethoxyflavone



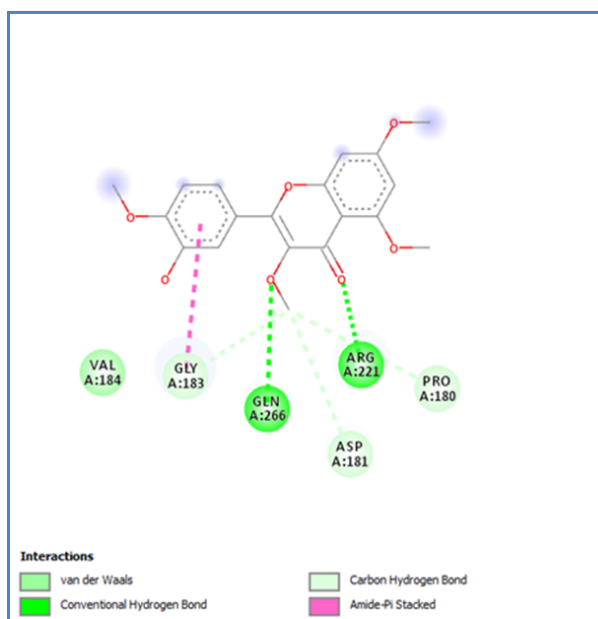
11256019:
3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethoxyflavanone



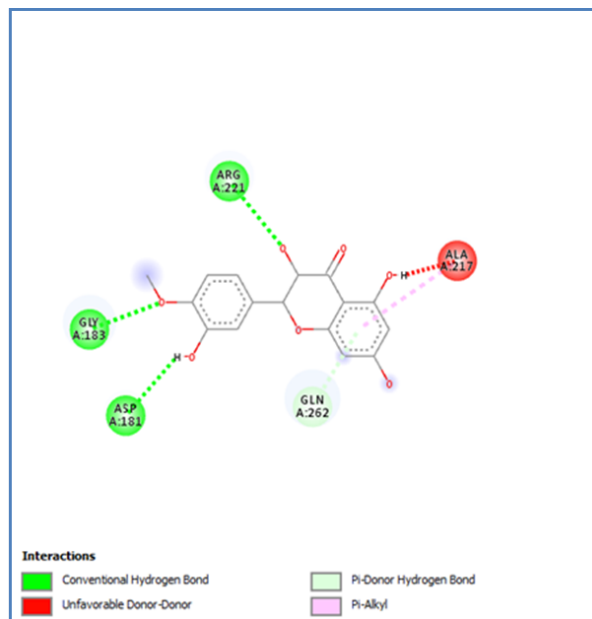
5281677:
Pachypodol



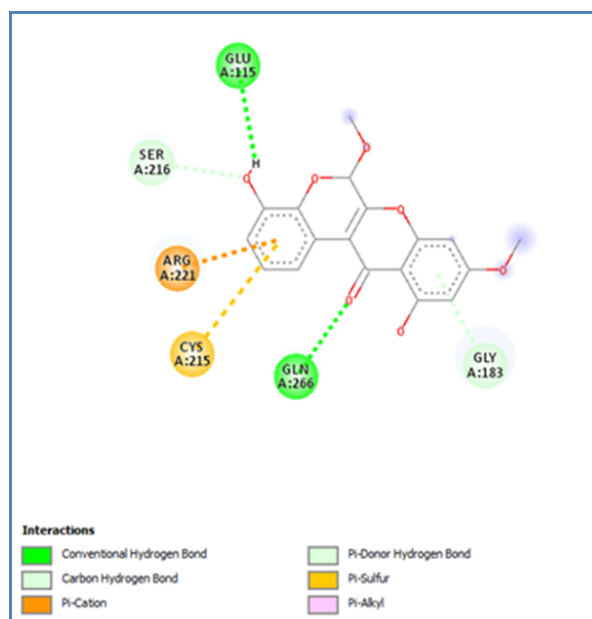
5280682:
Ayanin



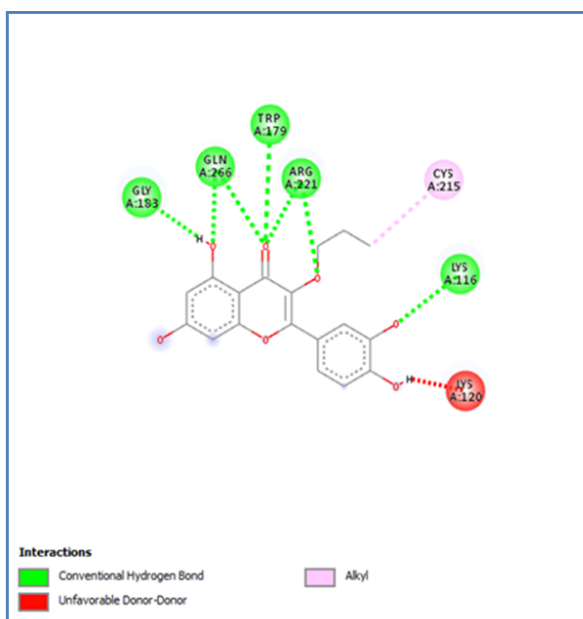
632128:
2-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,5,7-
trimethoxy-4H-chromen-4-one



482576:
Dihydrotamarixetin



11537442:
Boeravinone G



91669171:
2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-
propoxychromen-4-one