REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINSTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par :

M^{me} NEDJARI Amina

Sous le thème

L'inhibition de la DPP-4 (Dipéptidyl peptidase-4) par des extraits des plantes naturelles impliquées dans la maladie du diabète de type 2, par modélisation moléculaire

---

Soutenu publiquement le 15 juin 2022 à Tlemcen devant le jury composé de :

M. MESSAOUDI Boulanouar	MCA	ESSA- Tlemcen	Président
M^{me} BOUKLI HACENE Faiza	MCB	Université de Tlemcen	Examinatrice
M. AYACHI Hicham	MCB	Université d' Ain Temouchent	Encadrant

Année Universitaire : 2021/ 2022

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma mère « Bellahrech .R » pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices

A mon père « Nedjari . S.M » pour son soutien, son affection et la confiance qu'il ma accordé

A mon cher mari « Ramdane.A » pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitudes.

A ma sœur « Fatiha » , mon frère «Mohammed El Amine », et ma petite fille « Nour »

A la mémoire de ma grand-mère « N.F » puisse Dieu l'accueillir dans son vaste paradis

A mon beau père « R.A » et ma belle mére « A.F »

A mes amis «Manel,Zehor,Widad »,

A ma belle famille, et tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail

Merci infiniment.

Remerciement

Il me fait grand plaisir d'ecrire ces lignes de gratitudes et d'appréciation à tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

En préambule à ce mémoire je remercie Allah qui ma aidé et ma donné la patience et le courage durant ces langues années d'étude.

Je remercie tout d'abord Mr « Ayachi Hicham » l'encadrant de ce mémoire , qui me permet de lui exprimer toute ma gratitude , pour les précieux conseils qi'il ma prodigués et sa disponibilité au long de cette période et sa patience à tous les problème, sa bienveillance à l'écoute, c'est agréable de travailler avec toi.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous mes professeurs, en particulier à M^me^ « kenniche Asiya » pour avoir continué avec nous jusqu'à la fin.

J'adresse également mes sincères remerciements aux membres du jury pour le bénéfice qu'il ont apporté à mes recherches en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir de leurs suggestions, je tiens à remercie M. « Messaoudi Boulanouar », d'avoir accepté de présider le jury. Je remercie aussi M^me^ « Boukli Hacène Faiza » qui m'honoré pour examiner mon travail.

Merci à tous ceux qui m'ont aidé à faire ce travail, mes parents, mon amie « Kheira », mes proches, mon cousin « Riad », mes voisins.

Sans oublier de remercier chaleureusement le laboratoire d'analyse scientifique « Cosna » de l' université de tlemcen

Merci

Liste des tableaux

CHAPITRE 03

Tableau 1 : Les données cristallographique pour l'enzyme DPP-4.

CHAPITRE 04

Tableau 1 : Les sites actifs de la Dipéptidyl peptidase-4.

Tableau 2 : Minimisation des énergies des 4 molécules (Kcal/mol).

Tableau 3 : Bilan énergétiques des trois complexes (Kcal/mol).

Tableau 4 : Bilan des distances et des énergies final, des trois complexes .

Liste des figures

CHAPITRE 01

Figure 1 : Une comparaison entre le diabète de type 1 et le diabète de type 2.

Figure 2 : Les complications du diabète.

Figure 3 : Traitement du diabète.

CHAPITRE 02

Figure 1: La simulation de docking.

CHAPITRE 03

Figure 1 : Structure de Dipéptidyl Peptidase-4 (3F8S).

Figure 2 : La plante sauge officinale.

Figure 3 : La structure de l'alpha- béta Thujone.

Figure 4 : La plante clou de girofle.

Figure 5 : La structure de la molécule d'eugénol.

Figure 6 : La plante gymnéma.

Figure 7 : La structure de l'acide gymnémique.

CHAPITRE 04

Figure 1 : La Dipéptidyl peptidase-4 (DPP-4).

Figure 2 : Modèle simplifié de Dipéptidyl peptidase-4.

Figure 3 : Les complexes : a / (DPP4+Acide gymnemique), b / (DPP4+Alpha-Béta Thujone), c/ (DPP4+Eugenol)

Figure 4 : Diagrammes d'interaction (protéine-ligand) des trois complexes.

Figure 5 : Variation de l'énergie des trois complexes en fonction du temps

Liste des abréviations

DT2 : Diabète de type 2

DID : Diabète Insulino-Dépendant

DNID **:**Diabète Non Insulino-Dépendant

ADA : Association Américaine de Diabète

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

MM : Mécanique Moléculaire

Emo : Energy of Molecule

DPP-4 : Dipeptidyl Peptidase-4

GLP-1 : Glucagon-Like Peptide-1

GIP : Peptide Insulinotrope dépendant du Glucose

MOE : Molecular Operating Environment

PDB : Protein Data Bank

VDW : Van Der Waals

2D : 2 Dimension

3D : 3 Dimension

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

AMBER : Assisted Model Building with Energy Refinement

GROMOS : Groningen Molecular Simulation Program Package

CHARMm : Chemistry at HAR vared Molecular mechanics

SPASIBA : Spectroscopic Potentiel Algorithm for Simulating Biomolecular conformational Adaptability

MQ : Méthodes Quantiques

DM : Dynamique Moléculaire

Dock : Docking

IR : Infrarouge

UV : Ultra-Violets

GOLD : Genetic Optimisation for Ligand Docking

ADCP2 :Adenosine Deaminase Complexing Protein 2

QSAR : Quantitative Structure−Activity Relationship

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE

Introduction…… **01**

Références ……. **03**

CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

1. Introduction……... **04**

2. Définition du diabète…… **05**

3. Classification du diabète **……** **05**

3.1/ Diabète de type 1 : (insulinodépendant DID…….. **05**

3.2/ Diabète de type 2 : (non insulinodépendant DNID)…….. **05**

3.3/ Diabète gestationnel…… **06**

4. Définition du diabète de type 2……. **07**

5. Symptômes du diabète déséquilibré ……. **07**

6.Complication ……. **07**

7.Les facteurs de risques……... **08**

8.Traitement ……. **08**

Références……. **09**

CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHE DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

1. Introduction…….. **11**

2.les méthodes de chimie quantique…….. **12**

3. les méthodes non quantique …….. **12**

3.1/ La mécanique moléculaire…… **12**

3.1.1/ Champ de Force en Mécanique Moléculaire…….. **12**

3.2/ Dynamique moléculaire…… **13**

3.2.1/ Calcule de la Dynamique Moléculaire …… **13**

3.3/ Docking moléculaire …… **14**

3.3.1/ Principes Théoriques ……. **14**

Références…….. **15**

CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

1. Matériels…… **17**

1.1/ Présentation de l'enzyme DPP-4…… **17**

1.1.1/ Dipéptidyl Peptidase-4(DPP-4) **……...** **17**

1.2/ Présentation des inhibiteurs…… **17**

1.2.1/ La plante Sauge officinale (Salvia officinalis) ……... **18**

a : α - β Thujone …….. **19**

1.2.2/ Le giroflier (clou de girofle)…… **19**

b : l'eugénol (l'huile essentiel extrait du giroflier) ……. **20**

1.2.3/ La gymnéma ……... **20**

C : l'acide gymnémique…… **21**
1.3/Ressources informatiques…… **21**
1.3.1/ Ordinateurs…… **21**
. 1.3.2/ Logiciels utilisés…… **21**
Références ……. **22**

CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats et discussion…….. **25**
2. Optimisation de l'enzyme et les inhibiteurs ……. **26**
3. Docking moléculaire et construction des complexes …….. **26**
4. Discussion…….. **29**
5. Résultats des distances …….. **29**
6. Dynamique moléculaire des complexes ……... **31**
7. Conclusion …….. **32**
Références ……. **33**
CONCLUSION GENERALE……...…… **34**

INTRODUCTION

Introduction :

La recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire. C'est une technique permettant, non seulement de représenter les propriétés et les réactions chimiques mais aussi de manipuler les modèles de structures en deux ou trois dimensions. Elle implique l'utilisation des méthodes de calcul théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, docking moléculaire) permettant de déterminer la représentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes d'une molécule et d'évaluer les propriétés physico-chimique de la molécule étudiée.

On peut étudier aussi par modélisation moléculaire les systèmes biologiques tels que les enzymes car ces dernières sont le moteur derrière les processus biochimiques. En effet, qu'il s'agisse d'un processus normal tel que la croissance d'une plante ou d'un processus anormal à l'origine d'une maladie, il y a fort à parier que celui-ci est dû à la présence d'une enzyme. En conséquence, les enzymes représentent des cibles tout à fait intéressantes dans le cadre de traitements médicamenteux [1].

Le terme conformation qualifie toute l'architecture tridimensionnelle d'une protéine ; ce terme ne doit pas être confondu avec celui de configuration qui précise une possibilité géométrique pour un ensemble particulier d'atome pour passer d'une configuration à une autre, il faut nécessairement rompre des liaisons covalentes et les réorganiser ; par contre les diverses conformations d'une protéine peuvent être obtenues sans aucune rupture de liaison covalente.

La composante clef de cette conformation est la recherche conformationnelle, dont l'objectif est d'identifier les conformations préférées d'une molécule, ces conformation préférés vont déterminer le comportement de ces molécules, cela exige d'habitude que nous localisions les conformations qui sont aux points minimaux sur la surface d'énergie potentiel [2].

Les méthodes de minimisations jouent un rôle crucial dans la recherche conformationnelle car elles donnent à la fois la rapidité et la précision des résultats, donc il faut bien choisir entre les méthodes proposées en considérant leur efficacité et le nombre d'opération qu'elles demandent pour atteindre la convergence minimale [3].

La minimisation de l'énergie potentielle d'une molécule consiste donc à résoudre un problème d'optimisation de géométrie, presque toutes les méthodes de minimisations ont au

moins un point en commun : le commencement à un endroit approximative de l'hyper surface énergie potentielle qui correspondre à une géométrie très approximative [4].

Cette hyper surface de l'énergie potentielle est l'ensemble de point générés par la fonction de l'énergie potentiel, cette dernière qui est fonction de variable géométrique du système moléculaire étudié, elle sera représentée par une courbe de potentiel, l'ensemble de points générés par la fonction est plan [5].

Notre travail consiste à étudier l'inhibition de la DPP4 (dipéptidyl-peptidase-4) par les méthodes de modélisation moléculaire. Les inhibiteurs étudiés sont les dérivés des plantes naturelles.

References:

[1] R..H. GARRETT, Ch. M. GRISHAM, Biochimie,De Boeck University s.a. **2000,** pp.3.

[2] L.A. Eriksson (Eds.), Theoretical biochemistry, Processes and Properties of Biological Systems, Elsevier, Amsterdam, **2001**.

[3] G.Náray-Szabó (Eds.), Steric effects in biomolecules, Proceedings of International Symposium, Eger, Akadémiai Kiado/ Elsevier, Budapest/ Amsterdam, **1981**, pp.1982.

[4] G.Náray-Szabó, Imre Berente, Journal of Molecular Structure (Theochem), Computer Modeling of Enzyme Reaction, 666-667, **2003,** pp.637-644 .

[5] S. D. Ittle, L.K. Johnson, M. Brookhart, Chem. Rev, **2000**, 100.

CHAPITRE 01

Le Diabète De Type 02

1 / Iintroduction :

Le diabète à été décrit en 4000 avant Jésus-Christ dans les ouvrages de la Chine. Les premiers symptômes de cette maladie ont été identifiés dans l'antiquité par les Egyptiens et les Grecs, comme la soif et les mictions fréquentes .Le mot diabète vient du mot grec ‹ diabainine › qui signifie « passer par » [1-3].

Le diabète de type 2 est considéré aujourd'hui comme le problème chronique de cet ère. Cette maladie est liée au mode de vie et aux différentes habitudes alimentaires au cours des 30 dernières années, où elle a connu un développement important et touche plus de 350 millions de personnes dans le monde. La mortalité du diabète de type 2 est due à des complications entrainant des événements cardiovasculaire grave tels qu'un infarctus de myocarde ou un accident vasculaire cérébrale .Le risque d'événement cardiovasculaire est trois fois plus élève chez les patients diabétiques.

L'Hyperglycémie est considérer comme l'un des facteurs dangereux qui conduisent à l'apparition des maladies cardiovasculaires, et jusqu'à présent, il s'agit d'un grand effort en termes d'examen et de prévention pour empêcher le développement de cette épidémie dans le monde entier.

En effet, le traitement de l'hyperglycémie, de l'hypertension artérielle, ou encore de l'obésité, qui font partie des facteurs de risque couramment utilisés associés au syndrome métabolique, permet de réduire les décès liés au diabète de type 2 [4].

Réellement, il existe de nombreuses plantes qui sont utilisées dans le traitement traditionnel de cette maladie étudiée, mais peu d'entre elles qui ont des propriétés scientifiquement prouvées aident à la réduire, c'est donc un remède naturel [5].

Dans ce chapitre, nous fournissons une explication simple du diabète, sa classification, ses symptômes, ses complications et son traitement.



2/ Définition de diabète :

Le diabète est une augmentation du taux de glucose dans le sang « hyperglycémie » (plus de 1,26**g/l**) et aussi une affection chronique résultant soie à une insuffisance génétique ou acquise de la production d'insuline par le pancréas, soit du fait que cette insuline est insuffisamment actif. Cette carence entraine une élévation de la glycémie (hyperglycémie : concentration de glucose dans le sang) qui, à son tour, endommage de nombreux organe, en particulier les vaisseaux sanguine et les nerfs [6].

3/Classification de diabète :

La classification de diabète a été révisée par l'American Diabetes Association (ADA) en 1997 et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 1999. Actuellement, elle est basée sur la physiopathologie des différentes formes clinique et génétique de la maladie, et n'est plus en fonction du traitement reçu (OMS 1999 ; ADA 2012) [7].

Il ya trois classes :

3.1/ Diabète de type 1 : (insulinodépendant DID)

Le diabète de type 1 apparait dans environ 10% des cas de diabète, et cela est causé par des cellules qui arrêtent la production d'insuline, qui est généralement préféré par une prédisposition génétique chez les jeunes et les enfants [8].

3.2/ Diabète de type 2 : (non insulinodépendant DNID)

Le diabète de type 2 est connu comme une hyperglycémie chronique, c'est-à-dire qu'une glycémie à jeûne supérieure à 1,26 g/L est observée deux fois, ou une glycémie supérieure à 2 g/l à deux reprises [9].

Le diabète de type 2 ou diabète gras, est une maladie assez peu spécifique qui survient après l'âge de 40 ans, en particulier chez les personnes en surpoids ou ayant des antécédents familiaux de la même maladie. Elle se développe insidieusement et reste longtemps asymptomatique, c'est-à-dire sans signes clinique. En conséquence, de nombreux diabétiques ignorent leur état [10].

3.3/ Diabète gestationnel :

Le diabète gestationnel est un trouble de la tolérance glucidique qui conduise une hyperglycémie ,la prévalence de ce type de diabète est très variable ,mais elle augmente partout dans le monde , ce qui est lié à l'obésité et au diabète [11]. Il a été défini par l'ADA et l'OMS comme degré d'intolérance aux glucides qui apparait pendant la grossesse pour la première fois [12].



Figure 1: Une comparaison entre le diabète de type 1 et le diabète de type 2

4/ Définition de diabète de type 2 :

Le DT2 appelé DNID, est une maladie métabolique, elle se caractérise par une hyperglycémie chronique, c'est-à-dire une augmentation prolongée de la concentration de glucose dans le sang.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) propose une définition de DT2 en 2006 :

- Une glycémie> 1,26 g/L (7 mmol/L) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises
- La présence de symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associée une glycémie ≥ à 2 g/L (11,1 mmol/L)
-Une glycémie ≥ a 2 g/L (11,1 mmol/L) 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose [13,14].

Le DT2 est considéré comme une maladie secondaire en raison d'un manque de sécrétion d'insuline et /ou d'un défaut du fonctionnement de l'insuline et de son effet sur les tissus cibles. Un excès de poids dans la région abdominale est également observé chez tous les patients atteints de diabète de type 2. Les symptômes externes qui peuvent aidé au diagnostic ne peuvent pas toujours être remarqués, comme il l'a déjà mentionné dans l'OMS : une soif extrême, des mictions fréquentes et une perte de poids. Les médecins ne peuvent pas détecter immédiatement le DT2 et il n'est pas diagnostiqué car il est malin et apparait progressivement. Parfois, la survenue de complications causées par le DT2 peut être la principale raison de sa découverte [13-15].

5/ Symptômes de diabète déséquilibré :


Fatigue


Somnolence


langue sèche


soif importante

• Troubles de la vision

• Perte de poids

• Somnolence

• Envie fréquente d'uriner

• Soif intense

• Langue sèche

• Douleurs abdominales

• Malaise et nausées

• Fatigue

• Faiblesse

• Torpeur [16].

6/ Complication :

Les deux types de diabètes peuvent affecter différentes parties du corps et peuvent augmenter le risque de décès prématuré. Parmi ces complications potentielles figurent une crise cardiaque, un accident vasculaire cérébral, une insuffisance rénale, une perte de vision, une jambe à part entière, et des lésions nerveuses [17].

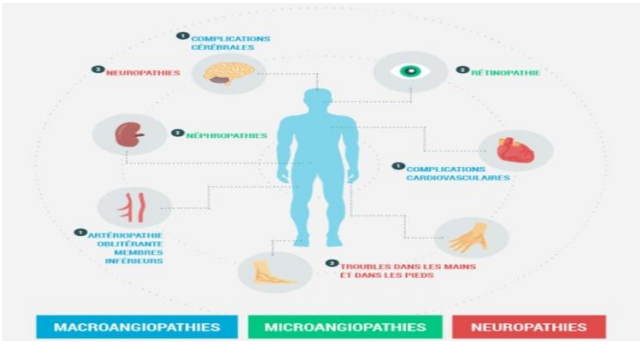


Figure 2 : Les complications du diabète

7/ Les facteurs de risque :

De nombreux facteurs peuvent contribuer à l'émergence du DT2. Certains facteurs de risque tels que : âge supérieure à 45 ans, antécédents de diabète gestationnel, faible poids à la naissance, antécédents familiaux de diabète (un parent ou un frère ou une sœur) et l'origine géographique ne peuvent être modifiés. Cependant, d'autres facteurs de risque sont modifiables, il s'agit du surpoids, du manque d'activité physique et de la consommation de tabac. Une mauvaise régulation du suce ou le prédiabète, l'hypertension et l'hypercholestérolémie sont également des facteurs de risque modifiables dans une certaine mesure selon les personnes, pouvant déclencher l'apparition d'un diabète de type 2 [13] [18].

8/ Traitement :

On peut le traiter dans un premier temps en suivant une alimentation équilibrée, ou une diète nutritionnelle, puis à un traitement avec des antidiabétiques, qui se font soit au niveau de la bouche, soit des injections, qui nécessitent un régime et une activité physique afin d'obtenir plus d'efficacité .

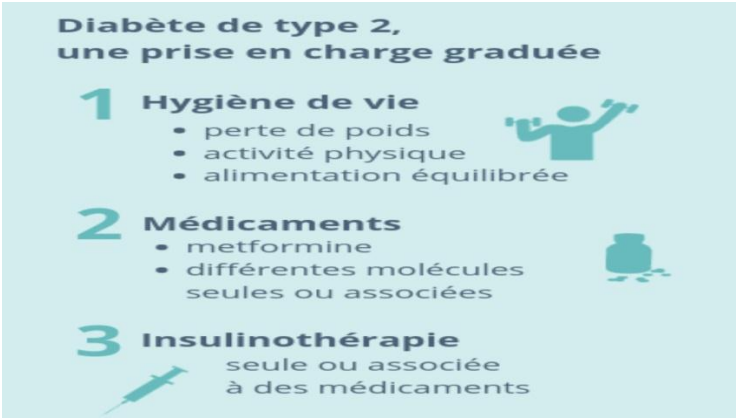


Figure 3 : Traitement de diabète de type 2

Références

[1] FFD. Les 90 ans de la découverte de l'insuline. 21 mars 2017. https://www.federationdesdiabetiques.org/information/recherche-innovationsdiabete/découverte-insuline.

[2] Histoire du diabète. Dinno Sante, voir le diabète autrement. 20 mars 2017. https://www.dinnosante.fr/fre/17/histoire-du-diabete?mobile_bloc=comprendre_diabete

[3] A.S. Laouar. Le diabète dans l'histoire.03 avril. 2017.http://www.santetropicale.com/santemag/algerie/fascicule/fascicule_diabete_11.pdf

[4] A.Gu.-Dubourg « Etude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2 : identification de biomarqueurs de glycoxydation et de facteurs de risque de complications vasculaires » .PDF, page .18. L'université de la Réunion, Spécialité : BIOCHIMIE, Soutenue publiquement le mercredi 03 décembre 2014
Amphithéâtre Charpak, Saint Denis de La Réunion.

[5] Ollier.C.Le conseil en phytothérapie. Pays-Bas :Pro-officina, 2011. P. 178. Vol. 2.

[6] http://www.int, OMS, Aide-mémoire N◦ 138

[7] J.P.Boyle, A. A. Honeycutt, K. M. Narayanet al. projection of diabetes burden through 2050: impact of changing demography and desease in the US. Diabetes care, 24:P1936-1940; 2001.

[8] Ins. Nat de la santé et de la recherche médicale . Diabète de type 1 (DID). Site internet : Inserm. Paris ; 2014.

[9] Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. Report of a WHO/IDF Consultation, P46; 2006.

[10] F. Tournant, A. Heurtier, F. Bosquet, A. Grimaldi, Classification du diabète sucré, critère diagnostiques et dépistage dans. EMC Références. Diabète de type 2. Paris : Elsevier SAS, P 45-82 ; 2004.

[11] N. Prison, D. Maiter, O. Alexopoulou,(2016),ENDOCRINOLOGIE ET NUTRITION, Prise en charge du diabète gestationnel en 2016 ,135 (10) :661-668, page 661 .

[12] I.A of D and P.S.G.R on the Diagnosis and classification of Hyperglycemia in pregnancy .Diabetes Care 2010; 33: 676-682.

[13] HAS. Prévention et Dép. du D de type 2 et des maladies liées au diabète. 2014.

[14] A.Hartemann, A.Grimaldi. Guide pratique du diabète. Issy-Les-Moulineaux : Els Masson, 2013.p. 285.

[15] OMS. Centre des Medias : Diabète. Organisation Mondiale de la Sante. [Citation : 10 janvier 2017.] http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/fr/.

[16] Illustrations tirées du classeur « Le diabète expliqué », reproduites avec l'aimable autorisation du Réseau santé Nord Broye – RSNB www.reseau-sante-nord-broye.ch

[17] W.H.O www.who.int/diabetes/global-report, (2016), WHO/NMH/NVI/16.3,Rapport mondial sur le diabète, résumé d'orientation .

[18] Perlemuter.L, Selam.J-L, Collin de l'Horlet.G. Diabete et maladies métaboliques. Belgique : Masson, 2003. p. 407. Vol. 4.

[19] F. I. D Atlas du Diabète 6ème Edition. 2013.

http:/ /www.idf.org/ sites/ default / files/ FR_6E_At las_full.pdf.

[20] http://www.santenews-dz.com/algerie-le-taux-de-prevalence-du-diabte-est-de-14/

[10] F. Tournant, A. Heurtier, F. Bosquet, A. Grimaldi, Classification du diabète sucré, critère diagnostiques et dépistage dans. EMC Références. Diabète de type 2. Paris : Elsevier SAS, P 45-82 ; 2004.

CHAPITRE 02

Les Principales Approches de la Modélisation Moléculaire

1/ Introduction :

Pendant longtemps, la recherche s'est essentiellement basée sur des expériences scientifiques avec la difficulté de comprendre l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent enune fraction de milliseconde dans le tube à essai. Mais la puissance des outils informatiques a changé les données [1].

La modélisation moléculaire est uneméthode qui complète l'expérience, caractérisée par la rapidité et l'obtention de quantités qui dépassent les capacités du laboratoire, dans des conditions contrôlées telles que la pression, la température et la pureté, etc [2].

Cet outil informatique se caractérise par la prédiction de la structure et des propriétés chimique de molécules ou de système de molécules. Elle permet, actuellement, non seulement de développer des mécanismes de complexité et des profils énergétiques, mais également de justifier et prédire les conformations les plus stables et les intéractions ligands – substrats. Avec tout cela, la nature de ces systèmes moléculaires, pose plusieurs problèmes : malgré leur taille, qui peut supporter des millions d'atomes, ils compliquent les mécanismes et les processus chimiques qui s'y déroulent, et c'est pourquoi il faut toujours s'adresser à un spécialiste de domaine. Plusieurs approches ont été élaborées pour réaliser la modélisation moléculaire [3].

Les méthodes les plus courantes et les plus utilisées sont [4] :

- ♦ les méthodes quantiques (QM)
- ♦ La mécanique moléculaire(MM)
- ♦ La dynamique moléculaire(MD)
- ♦ Les méthodes QSAR, QSPR.
- ♦ Le Docking moléculaire

Récemment, les techniques de modélisation moléculaires ont été considérées comme une technique analytique au même titre que la RMN ou d'autres techniques spectroscopiques (IR, UV, dichroïsme,...) et interprétation des résultatsobtenus [5,6]

Dans ce qui suit, nous allons parler des différents types de méthodes de modélisation moléculaires (les méthodes quantiques, la mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire et le Docking moléculaire).

2/ Les méthodes de chimie quantique :

La chimie quantique est une branche de la chimie théorique spécialisée dans le calcul des propriétés structurales (géométries, fréquences de vibration, etc.), énergétiques (énergies de liaison, énergies d'excitation, etc) et réactionnelles (barrières d'activation, liaisons chimiques, etc) des systèmes moléculaires pour étudier leurs processus et leurs propriétés chimiques en appliquant les lois de la mécanique ondulatoire aux électrons.

Cette spécialisation a donné plusieurs significations claires aux phénomènes au niveau moléculaire ce qui a rendu les chimistes capables de concevoir de nouveaux outils pour la prédiction quantitative, des énergies et des structures de ces édifices**.**

Plusieurs algorithmes de calculs très précis sont utilisés pour réduire l'énergie totale en fonction des paramètres structuraux et pour obtenir la structure la plus stable des composés étudiés [7].

L'objectif de la mécanique quantique est principalement de déterminer l'énergie et la distribution électronique [8].

3/ Les méthodes non quantique :

3.1/ La mécanique moléculaire :

La mécanique moléculaire est une méthode d'analyse conformationnelle qui est basée sur des données de la mécanique classique de la structure moléculaire, ce qui nous permet de réduire l'énergie afin d'obtenir des conformations à basse énergie du système moléculaire.

Ces atomes sont considérés comme des points matériels qui sont reliés entre eux par différents types de force. Ces forces d'interaction sont représentées par des fonctions d'énergie potentielle qui permettent des minimisations de l'énergie **(E_p)**, qui peut être décrite comme étant la somme entre l'énergie interne du système **(E_{int})**, son énergie potentielle externe **(E_{ext})** et l'énergie des contrainte **(E_{ctr}) [**9].

$$E_p = E_{ext} + E_{ctr} + E_{int}$$

3.1.1/ Champ de Force en Mécanique Moléculaire :

On dit d'un champ de force qu'il s'agit d'un modèle mathématique qui représente l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire. Les champs de force expriment la moyenne des intéractions électroniques entre les atomes [11]. Fait référence à la fois, l'équation mathématique (fonction d'énergie potentielle) et les paramètres qui la composent [12].

Il existe dans la littérature de nombreux et différents types de champs de force empiriques permettant de modéliser des systèmes de nature différente :

- **CHARMM** [13,14]

-**AMBER**[15,16]

-GROMOS 96 (Groningen molecular simulation package) [17,18]

- SPASIBA :(Spectroscopic Potentiel Algorithm for Simulating biomolecular conforamtional Adaptability [19]

3.2/ Dynamique moléculaire :

La Dynamique Moléculaire utilise les lois et les règles de la mécanique classique, pour simuler les trajectoires des atomes en phase cristalline, en solution ou en phase gazeuse [20,21]. Les simulations de la dynamique moléculaire permettent de calculer les positions et les vitesses d'un système d'atomes [22].

En dynamique moléculaire classique [23,24], chaque atome de la molécule est étudié comme une masse ponctuelle dont le mouvement est déterminé par l'ensemble des forces entrainé sur lui par les autres atomes en fonction du temps.

3.2.1/ Calcul de la Dynamique Moléculaire :

Le calcul de la dynamique moléculaire se compose de trois phases distinctes :

Initialisation : la dynamique moléculaire nécessite un ensemble de coordonnées et vitesses initiales. La géométrie de départ utilisée provient d'une structure générée expérimentalement lorsque cela est possible, sinon elle est générée par un champ de force utilisé.

Thermalisation : Il faut chauffer le système pour l'examiné à la température souhaitée. On utilise comme structure initiale la structure minimisée. La surchauffe nécessite généralement 2 à 10 ps de simulation.

Equilibration : C'est une étape importante pendant laquelle la température de système est stabilisée, il y a alors un échange important entre l'énergie potentielle et l'énergie cinétique. Il s'agit d'une étape au cours de laquelle la température est régulièrement vérifiée et ramenée à la fenêtre souhaitée. La température de déviation se fait suivant un processus de relaxation ou la température est recalculée après chaque étape et ramenée à la température de référence [25].

3.3/ Docking moléculaire :

3.3.1/ Principes Théoriques :

Le Docking moléculaire vise à anticiper la structure d'un complexe moléculaire à travers des molécules isolées, cette combinaison est réalisée par plusieurs méthodes et techniques qui permettent d'étudier le schéma d'interaction entre deux molécules. C'est pourquoi nous constatons que ces programmes informatifs d'amarrage sont donc des outils très utiles en chimie, biologie, pharmacie et médecine, parce que toutes les molécules dans laquelle ils sont actifs sont des petites particules (ligand) qui intéragissent avec une cible biologique d'importance thérapeutique. Comme la plupart des récepteurs macromoléculaires sont des protéines, le terme Docking ou amarrage seul est largement utilisé pour désigner un « docking protéine-ligand »[25].

Le docking moléculaire vise à modéliser le type d'interaction d'un complexe composé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des directions dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [26].

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

• Le Docking (la première étape) est l'étape de sélection, consistant à mettre en ordre le ligand dans le site actif de la protéine et à comparer les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.

• Le Scoring (la deuxième) est l'étape de classification, qui inclure à clarifier l'affinité entre le ligand et la protéine et à attribuer un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [25].

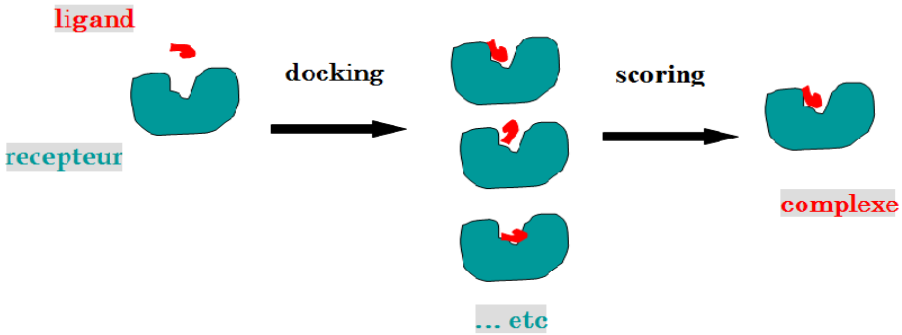


Figure 1: La simulation de docking

Références

[1] A.Lazreg ; M^me T-Mok, Ilham ; « Calculs théoriques de quelque acides aminés et étude de l'interaction entre un cation et ces biomolécules »2018; Université « DJILLALI LIABES » faculté des sciences exacts,SIDI BEL-ABBÈS,chapitre 2, p : 30.

[2] R.Lavery, La modélisation moléculaire. Paris : CNRS-Images de la Recherche. 1994, 199–204.

[3] J. Debord., Introduction à la modélisation moléculaire. 2004, pp.37-41.

[4] D. Liotta: "Advances in Molecular Modeling", Ed, 1988, Vol.1. JAI Press.

[5] M.F. Ruiz-López, et al. Comp. Chem.1, Wiley & sons, 1998,437- 448,

[6] R. Norel, et al, Biopolymers 34, 1994, 933-940 .

[7] A.Lazreg ; M^me T-Mok Ilham ; « Calculs théoriques de quelque acides aminés et étude de l'interaction entre un cation et ces biomolécules »2018; Université « DJILLALI LIABES » faculté des sciences exacts,SIDI BEL-ABBÈS,chapitre 2 ,p : 31

[8] J.Debord, Introduction A La Modélisation Moléculaire,37-41 ;2004

[9] A.Lazreg ; M^me T-Mok Ilham ; « Calculs théoriques de quelque acides aminés et étude de l'interaction entre un cation et ces biomolécules »2018; Université « DJILLALI LIABES » faculté des sciences exacts,SIDI BEL-ABBÈS,chapitre 2 ,p :45

[10] S.Mekelleche, Cours de post-graduation "2000-2001"; option; chimie théorique.

[11] F.Jensen ; Introduction To Computational Chemistry , John Wiley And Sons ,Chichester. 1999.

[12] G.L. Warren, C. Webster Andrews, A.M. Capelli, B. Clark, J. Lalonde, M.H. Lambert, M. Lindvall, N. Nevins, S.F. Semus, S. Senger, G. Tedesco, I.D. Wall, J.M. Woolven, C.E. Peishoff, M.S. Head. A Critical Assessment Of Docking Programs And Scoring Functions. Journal Of Medicinal Chemistry, 2006, 49, 5912-5931

[13] B. R. Brooks et al., CHARMM, J. Computational Chemistry, 1983, 4:187–217.

[14] B. R. Brooks et al., J Comput.Chem. 2009,30, 1545–1614.

[15] S. J. Weiner et al., J. Am.Chem. Soc., 1984, 106:765–784,.

[16] W. D. Cornell et al., J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 5179–5197.

[17] W. F. van Gunsteren et al. Angewandte Chemie International Edition in English, 1990, 29:992–1023.

[18] C.Oostenbrink et al., J. Comput. Chem. 2004,25, 1656–1676.

[19] H.Urey, C.Bradely , phys. Rev., Published 1 December 1931, 38,1969.

[20][21] D. Duhovny, R. Nussinov, H.J. Wolfson, Efficient Unbound Docking Of Rigid Molecules, 2002.

[22] N.Moitessier, P.Eglebienne, D.Lee, J. Lawandi, C.R. Corbeil. Towards The Development Of Universal, Fast And Highy Accurate Docking/Scoring Methods: A Long Way To Go. British Journal Of Pharmacology, 2008, 153.

[23][24] S.J. Teague. Implications Of Protein Flexibility For Drug Discovery. Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2 , 527-541.

[25] H.S Kenza , E : M. Nouria ; « Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire » ;2016, UNIVERSITÉ DE TLEMCEN ; Faculté des Sciences : Département de Chimie ;Chapitre 2 .

CHAPITRE 03

Matériels et Méthodes

Dans ce chapitre, nous tenons à présenter les différents matériaux utilisées dans le cadre de notre recherche.

1/ Matériels :

1.1/ Présentation de l'enzyme utilisé :

Nous avons utilisé la DPP4 comme enzyme pour effectuer ce travail, cette enzyme appelée Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4),elle est impliquée dans la maladie de diabète de type 2.

1.1.1/ Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) :

La DPP4, Dipeptidyl peptidase 4 est également référencer sous le nom d'ADCP **2 (Adenosine Deaminase Complexing Protein 2) et de CD26. et aussi (**3F8S) dans la banque de donnée PDB. La dénomination **CD26** est généralement utilisée pour référencer à son rôle dans la fonction immunitaire. La DPP4 est composée de 776 acides aminés, elle contient 2 plus grand chaine des acides aminés (chaine A et chaine B) [1]. Cette hormone agit pour décomposer deux hormones présentes dans l'intestin appelées incrétines (GLP1 et GIP), produit lorsqu'une personne mange, et ces hormones agissent pour stimuler la sécrétion d'insuline afin de réduire le taux de sucre dans le sang. Dans la maladie de DT2, soit il y a un manque de sécrétion d'insuline, soit cette insuline est inefficace et donc le taux de sucre dans le sang augmente[2]. Plusieurs médicaments ont été développés pour inhiber l'action de l'hormone DPP4, évitant ainsi la dégradation des deux hormones intestinales, augmentant ainsi la sécrétion d'insuline [3].

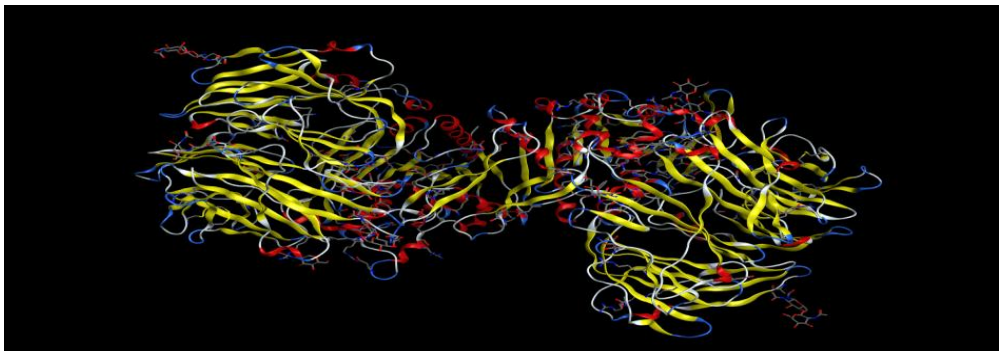


Figure 1 : Structure de Dipéptidyl Peptidase-4 (3F8S)

Enzymes	**Classification**	**Poids moléculaire (Kda)**	**Chaine**	**Longueurs (Å)**	**Angle (°)**	**Résolution (Å)**
la DPP-4 code PDB 3F8S	Hydrolase	25634,63	A, B	a= 65 ,43 b= 67,14 c=421,53	α = 90.00 β = 90.00 γ = 90.00	2,43

Tableau 1 : Les données cristallographique pour l'enzyme DPP-4

1.2/ Présentation des inhibiteurs :

Nous avons choisie pour l'inhibition de l'enzyme DPP-4,les inhibiteurs suivants :

1- α et β Thujone extrait de la plante (La sauge officinale)
2- L'eugénol extrait de la plante (clou de girofle)
3- L'acide gymnémique extrait de la plante indienne (gymnéma)

1.2.1/ Sauge officinale (Salvia officinalis) :

Il existe plusieurs centaines d'espèce de sauge dans le monde (environ 900 espèces) ; En Europe c'est la sauge (ou sauge grande) la plus couramment utilisées comme plante médicinale [4].

La sauge est une plante commune des pays du pourtour méditerranéen qui aime les endroits ensoleillés, elle se plante par semis au printemps. Les plantes sont remplacées tous les 3 ou 4 ans et les feuilles sont récoltées en été, la composition chimique de l'huile essentiel de la sauge a été déterminée par la méthode chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. L'huile essentiel de la sauge contient jusqu'à 50% de Thujone qui est responsable à l'abaissement de taux de sucre dans l'organisme, la sauge est distingué par une meilleure teneur en huile essentielle de ses feuilles, un excellent taux de feuilles, un rendement en huile essentielle nettement supérieur. Cependant, aucune toxicité aigüe ou chronique n'a été rapportée après utilisation avec les doses usuelles de feuille de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour) [5].



Figure 2 : La plante sauge officinale

a / α - β Thujone

La Thujone est une cétone monoterpène qui existe en deux formes stéréo-isomères :

1- (-)-3-thuyone ou alpha Thujone
2- (+)-3-thuyone ou beta Thujone

La Thujone est présente dans la nature comme un mélange d'isomères αet βestle constituant primaire des huiles essentielles dérivées d'une variété de plantes. Bien que la Thujone elle même soit interdit en tant qu' additif alimentaire aux États-Unis, il apparait dans de nombreux autres substances aromatisâtes naturelles approuvées additifs et arômes alimentaires [6].

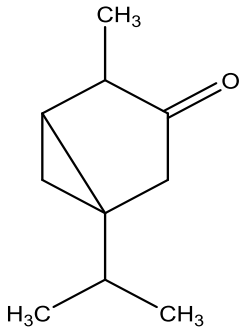


Figure 3 : La structure d'alpha et beta Thujone

1.2.2/ Le giroflier (clou de girofle) :

Le giroflier est une plante connue de tous, du moins son bouton floral, le clou degirofle. Mais peu de personnes connaissent ses véritables propriétés [7-9].



Figure 4 : Clou de girofle

Idéalement, un giroflier a besoin d'un sol de bord de la mer volcanique à alluvial, surtout pour une hauteur avec de fortes précipitations bien reparties tout au long de l'année et plus de soleil lorsque les infloréscences apparaissent [10].

Des clous de girofle, on peut extraire une huile essentielle contenant de l'**eugénol** (entre 75 et 85 % en masse) et de l'**acétyleugénol** (de 4 à 10 % en masse).

b / l'eugénol (l'huile essentiel extrait du giroflier) :

L'eugénol appartient aux phénylpropanoïdes (molécules dérivées du phénylpropane), mais il est rattaché au groupe des phénols monoterpéniques car ses propriétés s'en rapprochent [11]. Possède un pouvoir anesthésiant par ailleurs l'eugénol peut être obtenu par le biais des deux voies desynthèse. Eugénol ou 2-methoxy-4-(propényl)-phénol est une molécule parfumant que l'on retrouve dans environ 30٪ des produits du commerce, cosmétique et produits ménagers confondus. Eugénol est un liquide jaune ombré claire, retiré de l'essence de girofle (de 80 à 90٪).

L'huile essentielle de girofle est présente dans les différentes parties de la plante, elle peut être obtenue par distillation à la vapeur d'eau des clous de girofle [12].

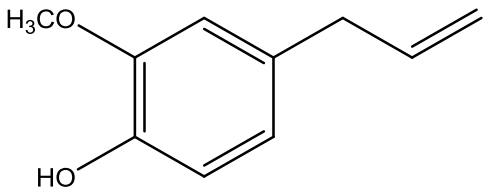


Figure 5: Formule de la molécule d'eugénol

1.2.3/ La gymnéma :

Depuis 1990, Baskaran et al [13], ont étudiés l'activité anti-hyperglycémique de l'extrait de cette plante. La gymnéma est une plante originaire d'Inde, actuellement cultivée un peu partout dans les zones tropicales d'Afrique. En médecine ayurvédique, cette plante appelée également gurmar.(Littéralement destructeur de sucre**),** est utilisée comme un coupe-faim ou pour ses vertus antidiabétiques.

La gymnéma se caracterise par l'abaissement de la glycémie et c'est une herbe médicinale traditionnelle qui a de nombreuses applications thérapeutiques dans la medecine indienne ancienne , par exemple elle réduit la glycémie et le cholesterole [14].



Figure 6 : La plante gymnéma

C / l'acide gymnémique :

Daisya et al [15], ont montrés dans leur étude qu'après 45 jours de traitement avec un extrait acétonique de gymnéma (l'acide gynémique) administré à des rats diabètiques, le taux d'insuline augmente par rapport aux rats non traités.

L'acide gymnémique est un hétéroside de la famille des glycosides tri terpéniques de formule brute (C_{43} H_{66} O_{14}). Plus de 20 homologues de l'acide gymnémique ont été isolés de la plante. Parmi eux c'est l'acide gymnémique qui possède le pouvoir inhibiteur du goût sucré le plus puissant [16].

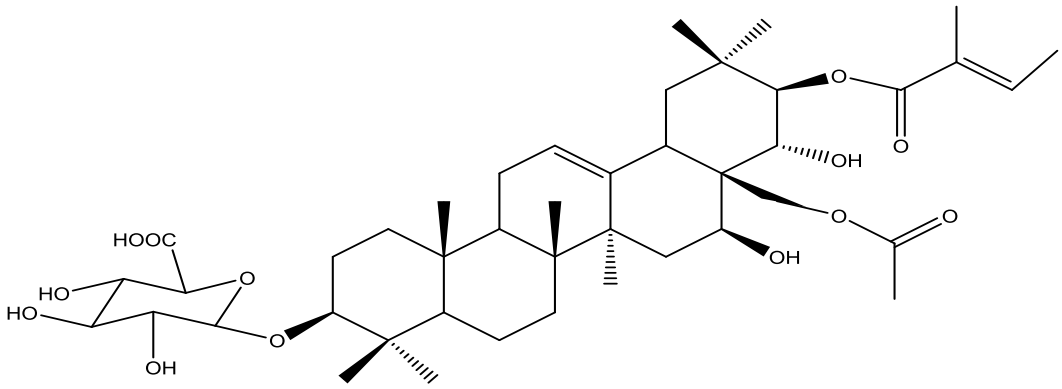


Figure 7 : La structure de l'acide gymnémique

1.3/ Ressources informatiques :

1.3.1/ Ordinateurs :

Deuxordinateurs ont été utilisés pour l'exécution et l'analyse de ces travaux :

- Un processeur Intel(R) Core (TM) 2 Duo CPU E8400 @ 3,00 GHz, équipé avec 2 Go de mémoire RAM.

- Un processeur Pentium(R) Dual Core-CPU T4400 @ 2,20 GHz 1,03 GHz avec 1,93 de mémoire RAM

. 1.3.2/ Logiciels utilisés :

- **MOE** (version 2013) :

MOE, Molecular Operating Environment, est un package c'est-à-dire un ensemble de Plusieurs logiciels destinés à la découverte et à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs taches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir les

meilleures conformations de ces molécules. Il permet également de docker plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. MOE présente une forme de docking flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement [18]. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand Co-cristallisateur.

Referénces:

[1] Matteuci E, Giampietro O. Dipeptidyl Peptidase-4 (CD26): Knowing the Function before inhibiting the enzyme. Current Medicinale Chemistry 2009; 16:2943-51.

[2] F.P Miller, A.F Vandome, J.M Brewster, Dipeptidyl Peptidase-4: Cluster of Differentiation, Protein, Gene, Development of Dipeptidyl Peptidase-4, Broché, P80, 2010.

[3] R.Sheikhpour, Incretins, DPP-4 inhibitors and diabetes: New medicines for diabetes, Broché, P112, 2012.

[4] J.Walker B., Sytsma, K J., Treutlein, J., Wink, M ., (2004). Salvia (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of Salvia and tribe Mentheae. Am. J. Bot. 91, 1115–1125.

[5] M.A, Février (1990). « Nos plantes médicinales ». Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie.

[6] NIH , Public Health Service, U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, (CAS NO. 76231-76-0), NTP TECHNICAL REPORTON THETOXICOLOGY AND CARCINOGENESIS "STUDIES OF α,β-THUJONE" ,November 2011; NIH Publication No. 12-5912

[7] H.Perier de la bathie .Flore de Madagascar et des Comores, 152ème famille, Myrtacées.Paris : Firmin-Didot et Cie ; 1953.

[8] A .MSHOFF GJH. Myrtacées.Paris : MNHN ; 1966.

[9] F.DUPONT, JL. GUIGNARD. botanique : les familles des plantes. 15e éd.Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson ; 2012.

[10] P.MAILHEBIAU. La nouvelle aromathérapie : caractérologie des essences et tempéraments humains.Toulouse : Ed. Nouvelle Vie ; 1989.

[11] M. WERNER, VON BRAUNSCHWEIG R.L'aromathérapie : principes, indications, utilisations.Paris : Ed. Vigot ; 2008.

[12] P.MAILHEBIA, SOULIER JM, AZEMAR J.Collège d'aromathérapie Philippe Mailhebiau :étude et prescription de la médecine aromatique.

[Avesnelles] : Nouvelles Presses Internationales ; 1992. 16.

[13] Baskaran,K., Ahamath, B. K. ,Shanmugasundaram,K R., & Shanmugasundaram,K, E. R.B.(1990). Antidiabetic effect of a leaf extracts from Gymnéma Sylvester in non-insulinodependent diabetes mellitus patients. Journal of ethnopharmacology, 30(3),295-305.

[14] Gop, SM, Rakesh, CK, Murthy, TN et Dayananda, KS (2012). Évaluation phytochimique préliminaire d'extraits de feuilles de Gymnema sylvestre, Phyllanthus amarus,

Phyllanthus reticulatus de Siddarabetta, district de Tumkur, Karnataka. Journalinternational de pharmacognosie et de recherche phytochimique, 4 (3), 109-111

[15] P. Daisy,., Eliza, J., & Farook, K. A. M. M. (2009). A novel dihydroxy gymnémique triacetate isolated from Gymnema sylvestre possessing normoglycemic and hypolipidemic activity on STZ-induced diabetic rats. Journal of ethnopharmacology, 126(2), 339-344.

[16] A.D Kinghorn and CM compadre, alternative Sweeteners : second edition,revised and expanded , new york, l O'Brien N abors, 1991 (ISBN 0-8247-8475-8)

[17] Hyperchem (Molecular Modeling System) Hypercube, Inc. USA 2007.

[18] Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada10, 2012.

CHAPITRE 04

Résultats et Discussion

Introduction :

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu:

- L'affinité entre deux molécules.
- Les distances entre les acides aminés du site actif de l'enzyme et ceux des inhibiteurs.
- L'énergie d'interaction.

De même, la découverte de nouvelles drogues activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisation moléculaire comme la Mécanique, Dynamique et le Docking moléculaire ont été développées.

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

Le docking reste une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et par suite la conception des médicaments. Les approches dans le cadre du docking sont basées sur le concept "clé-serrure".

Dans ce chapitre, nous présentons et discutons les résultats de notre étude. Il s'agit à étudier les interactions entre les différents inhibiteurs et l'enzyme DPP4 par des méthodes de la modélisation moléculaire. Nous avons englobé tous les résultats de calcul effectués dans ces trois études et la discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interactions, fonction de score et les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs.

Trois études ont été effectuées dans le cadre de ce mémoire :

Etude 1:« Etude de l'interaction entre dipeptidyl peptidase-4 et l'acide gymnémique par modélisation moléculaire ».

Etude 2:«Etude de l'interaction entre dipeptidyl peptidase-4 et l'alpha-béta thujone par modélisation moléculaire ».

Etude 3 :«Etude de l'interaction entre Dipéptidyl peptidase-4 et l'eugénol par modélisation moléculaire».

1. Résultats et discussion :

Le téléchargement de l'enzyme a été effectué à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb) [1].

- Dipéptidyl Peptidase-4 (code d'accès 3F8S)

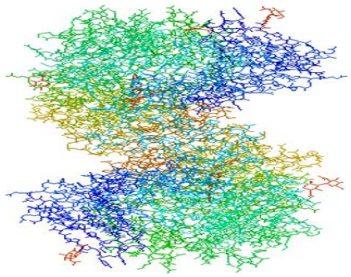


Figure 1 : La Dipéptidyl peptidase-4 (DPP-4)

Avec l'effet réducteur de la modélisation moléculaire, nous avons simplifié le modèle de l'enzyme ont éliminant une chaine de l'enzyme et les molécules d'eau ainsi que les molécules de Co-cristallisations, ceci nous a permis d'obtenir le modèle suivant :

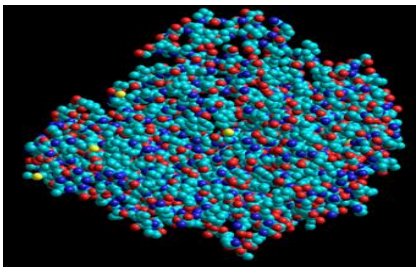


Figure 2 : Modèle simplifié de Dipéptidyl peptidase-4

La formation des complexes et le calcul des énergies d'interactions sont réalisés par le programme **MOE.**

L'enzyme est constituée de plusieurs sites actifs. [2].

Tableau 1 : Les sites actifs de la Dipéptidyl peptidase-4

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	155	4.39	40	85	1:(LYS122 GLN123 TRP124 ARG125 SER127 THR129 GLN153 ASN170 LYS190 GLU191 ASP192 TYR195 ILE198 THR199 ASP200 TRP201 GLU204 TYR211 TYR238 PHE240 LYS250 THR251
2	110	2.24	28	55	1:(VAL207 PHE208 TRP215 CYS301 ASP302 VAL303 THR304 GLY355 ARG356 PHE357 ARG358 PRO359 SER360 GLU361 HIS363 TYR372 LYS373 ILE374 ARG382 ILE405 GLY406 ILE407)
3	55	1.96	19	50	1:(ARG125 HIS126 GLU204 GLU205 GLU206 SER209 TYR547 SER630 TYR631 VAL656 TRP659 TYR662 TYR666 ASN710 VAL711 HIS740)
4	50	0.99	20	27	1:(LYS71 ASN74 ILE76 LEU90 ASN92 SER93 PHE95 ASP96 PHE98 HIS100 SER101 ILE102 TYR105 ILE114 LEU116)
5	73	0.83	23	47	1:(PRO475 GLY476 MET509 PRO510 SER511 LYS512 GLN527 ILE529 ASP545 LYS554 ASP556 VAL558 PHE559 ARG560 ASN562 ALA564 THR565 VAL575 SER577)
6	40	0.78	13	25	1:(TYR381 THR401 TRP402 ASN420 GLY424 MET425 PRO426 THR522 LYS523 TRP525 TYR585 GLN586 ILE590)
7	27	0.52	7	20	1:(GLU347 MET348 SER349 TRP353 VAL354 GLY355 ILE374 ILE375 SER376 ARG382 ASP588 HIS592)
8	29	0.52	19	33	1:(ASP104 TYR105 SER106 LEU115 GLU117 TYR128 TYR132 TRP154 VAL155)
9	27	0.51	10	16	1:(ARG318 ILE319 GLN320 ASN321 GLY352 TRP353 ASN595 ARG596 GLU668 ARG669 TYR670 MET671 GLY672)
10	24	0.49	12	16	1:(LEU702 ILE703 HIS704 PHE713 SER716 ALA717 SER720 ALA732 MET733 TRP734)
11	37	0.38	13	35	1:(LYS122 TRP124 ARG125 TRP201 GLU205 ASP709 ASN710 ASP739 HIS740 GLY741)
12	10	0.34	14	21	1:(PHE222 VAL270 VAL271 ASN272 THR283 ILE285 TYR330 GLY335 TRP337)
13	22	0.19	11	21	1:(LEU57 TYR58 SER59 LEU60 ARG61 LEU69 TYR70 LYS71 TYR105)
14	26	0.16	11	18	1:(SER93 THR94 PHE95 ASP96 GLU97 PHE98 TYR135 ARG140 GLN141 LEU142)
15	19	0.13	9	21	1:(ILE185 THR186 TRP187 THR188 ASN196 TYR225 GLN227 PHE269 ALA282 SER284)
16	20	0.12	7	14	1:(VAL639 LEU640 GLY641 SER642 GLY643 SER644 GLY645 VAL646 PHE647 ASN694 GLN697 VAL698)
17	31	0.07	11	17	1:(ILE346 GLU347 MET348 ILE375 PHE387 ASP393 CYS394 PHE396)
18	24	0.06	3	14	1:(MET348 SER349 THR350 THR351 GLY352 SER376 ASN377 GLU378 GLU379 GLY380 ASP588 HIS592)
19	27	0.04	9	16	1:(VAL341 ALA342 GLN344 HIS345 ILE346 PHE387 LYS391 LYS392 ASP393 CYS394)
20	23	0.02	8	13	1:(HIS345 TYR386 PHE387 GLN388 LYS391 LYS392 ASP393 CYS394 THR395)
21	14	-0.01	9	12	1:(ILE236 GLU237 TYR238 THR706 ASP708 HIS712 PHE713 GLN714)
22	14	-0.03	12	21	1:(LEU449 ASN450 CYS454 TYR457 LEU470 LEU479 THR481 HIS483)
23	17	-0.18	10	18	1:(SER419 ASN420 GLU421 TYR422 MET425 GLY428 ARG429 ASN430 GLN455 THR557)
24	7	-0.20	8	14	1:(TYR58 TYR68 GLN72 PHE79 ARG492 VAL493 LEU494)
25	20	-0.33	13	20	1:(LYS56 LEU57 TYR58 TYR70 LYS71 GLN72 GLU73 LEU494 GLU495)
26	8	-0.37	9	16	1:(THR365 SER370 TYR372 TYR386 LEU436 TYR439)
27	18	-0.40	7	9	1:(ASN621 LYS622 ARG623 ILE624 GLY645 VAL646 PHE647 LYS648)
28	15	-0.41	10	19	1:(TYR241 THR706 PHE713 TRP734 THR736)
29	11	-0.46	8	19	1:(ARG429 TYR456 SER552 GLN553 ALA555 ASP556 TYR585)
30	11	-0.47	7	17	1:(LEU57 TYR58 SER59 SER458 GLN469 ARG471 TYR480)
31	12	-0.55	5	16	1:(ASN103 ASP104 GLU117 TYR120 TYR128)
32	15	-0.58	9	22	1:(GLN508 PRO531 PRO532 HIS533 ASP535 LYS538 TYR540 ASN572)
33	13	-0.60	12	18	1:(LEU477 ASP501 LEU504 GLN505 MET509 PHE559)
34	12	-0.62	5	5	1:(PHE695 LYS696 GLN697 VAL698 GLU699 VAL728 ASP729)
35	8	-0.62	9	13	1:(ILE397 THR398 LYS399 ILE434 TYR439 THR440 VAL442)
36	8	-0.76	7	16	1:(LEU519 ASN520 ARG581 GLU604 ASP605 GLU608)
37	13	-0.81	4	9	1:(THR351 ASP588 LYS589 ILE590 HIS592 ALA593)
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

2. Optimisation de l'enzyme et les inhibiteurs:

- L'optimisation de la géométrie de l'enzyme DPP4 a été effectuée à l'aide du **champ de forces MMFF94x** implanté dans le logiciel **MOE (Molecular Operating Environment)** [3]. La chaîne principale a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent souples. Cette approximation permet aux chaînes latérales des protéines de trouver plus facilement la position dans laquelle les interactions sont les plus favorables.
- La construction et l'optimisation des ligands étaient faites par le logiciel **MOE (Molecular Operating Environment)** [3].

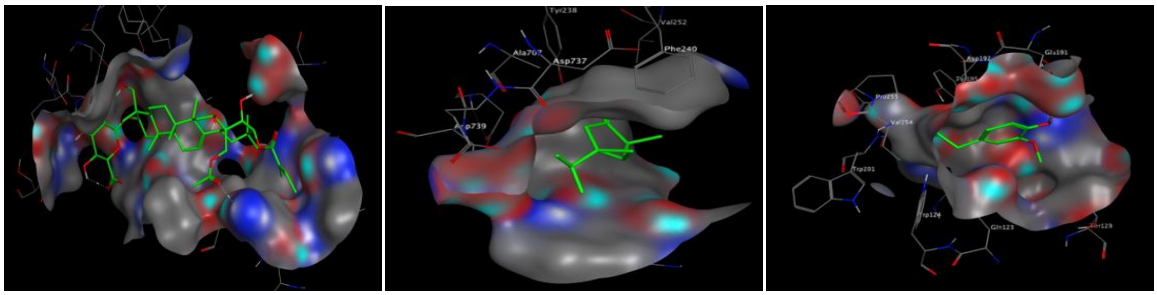
3. Docking moléculaire et construction des complexes :

L'étape suivante, après la construction des ligands, est de positionner ces molécules dans le site actif de l'enzyme DPP4. Pour cela, nous avons utilisé le module Dock (Docking Moléculaire) à l'aide du logiciel MOE (Molecular Operating Environment) [3].

Le complexe ligand- récepteur se forme, celui-ci va s'adapter à la conformation la plus stable, c'est à dire avec le niveau énergétique le plus faible.

Le but de l'application Dock est la recherche de conformations de liaison favorables entre des ligands de taille moyenne et une cible macromoléculaire rigide, qui est habituellement une enzyme [4]. Pour chaque ligand, un certain nombre de conformations appelés poses sont générés (Pour le premier complexe 10 conformations ont été générées. Pour le deuxième 10 conformations, et pour le troisième 10 conformations) ; afin de déterminer les modes de liaison favorables [3].

La recherche de mode de liaison est généralement contrainte à une petite région spécifique du récepteur appelé le site actif. Nous avons ensuite relevé le meilleur score c'est-à-dire celui qui a l'énergie la plus basse correspond a la meilleure interaction entre le ligand et le site actif de la protéine, et les résultats sont présentés dans les figures et les tableaux suivants respectivement :



(a) **(b)** **(c)**

Figure 3 : Les complexes : a / (DPP4+Acide gymnemique), b / (DPP4+Alpha-Béta Thujone) c/ (DPP4+Eugenol).

Nous avons regroupés les meilleurs scores des trois complexes c'est-à-dire ceux qui ont l'énergie la plus faible dans le tableau suivant:

Tableau 6: Bilan énergétiques des trois complexes (Kcal/mol)

Molécules	S	Rmsd_Refine	E_Conf	E_Place	E_Scor1	E_Refine	E_Scor2	Nbre de poses
Complexe-1	-6,6210	2,2397	212,2562	-62,7505	-11,0883	-17,0814	-6,6210	10
Complexe-2	-3,8198	0,9413	45,4246	-36,6645	-6,3192	-10,7310	-3,8198	10
Complexe-3	-4,7436	2,3618	34,7029	-56,2042	-10,0795	-12,7731	-4,7436	10

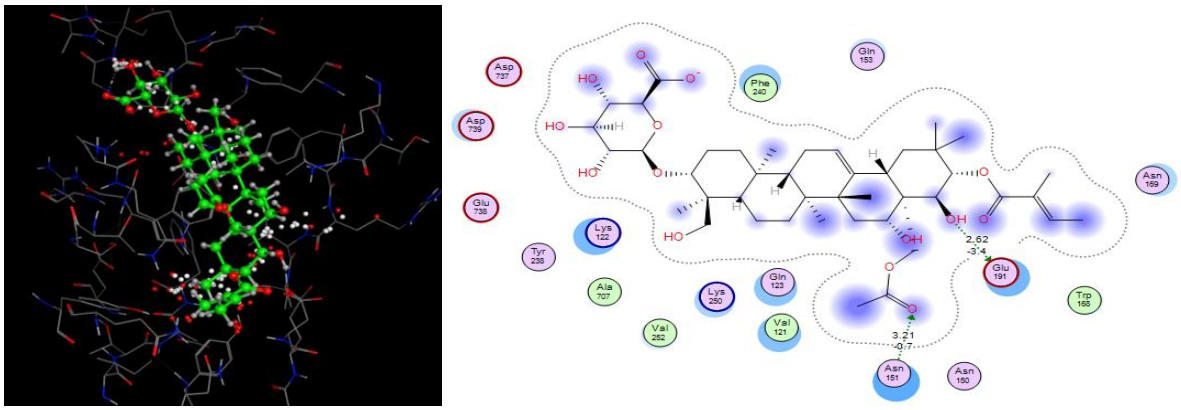
S: le score final ; c'est le score de la dernière étape, **rmsd_refine :** l'écart quadratique moyen entre la pose avant de raffinement et de la pose après raffinement, **E_conf:** l'énergie du conformère, **E_place :** score de la phase de placement, **E_scor1** : score de l'étape de la première notation , **E_refine** : score de l'étape de raffinement et nombre de conformations générées par ligand, **E_scor2** :score de l'étape de la première notation, **Nbre de poses :** Nombre de conformations [5].

5. Résultats des distances :

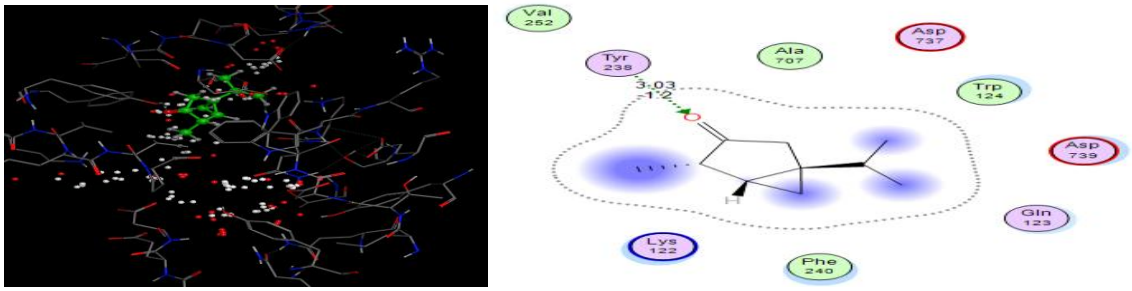
- Une méthode moléculaire 2D de l'écran a été attribuée au logiciel MOE (Molecular Operating Environment), qui est conçu pour visualiser les sites actifs des complexes (protéine-ligand). Le ligand est disposé et rendu à l'aide d'une version améliorée de la représentation 2D algorithme de disposition, et les résidus de protéines sont disposés autour d'elle afin d'indiquer des liens de proximité spatiale [8,9].

- Les interactions comprises entre 2,5 Å et 3,1Å sont considérés comme fortes et celles comprise entre 3,1Å et 3,55Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3,55Å sont faibles [10].

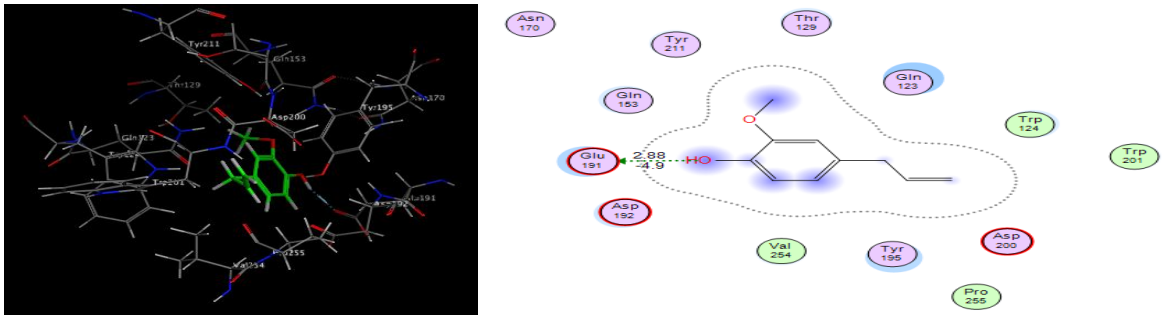
Images 3D **Images 2D**



a : complexe-1 (DPP4+Acide gymnémique)



b : complexe-2 (DPP4+Alpha-Béta Thujone)



c : complexe-3 (DPP4+Eugénol)

Figure 4 : Diagramme d'interaction (protéine-ligand) des trois complexes

Comme le montre les figures (a, b et c), le positionnement des ligands dans le site actif de l'enzyme, ces résultats ont révélés que plusieurs interactions moléculaires ont été considérés comme étant responsables de l'affinité. Le ligand a été orienté de telle sorte dans le voisinage des résidus.

	Complexe 1	**Complexe 2**	**Complexe 3**
Type de liaison	Hydrogène avec Glu 191	Liaison avec Tyr 288	Hydrogène avec Glu 191
Distance (A)°	2,2	3,03	2,88
Energie (Kcal/mol)	-3,4	-1,2	-4,9

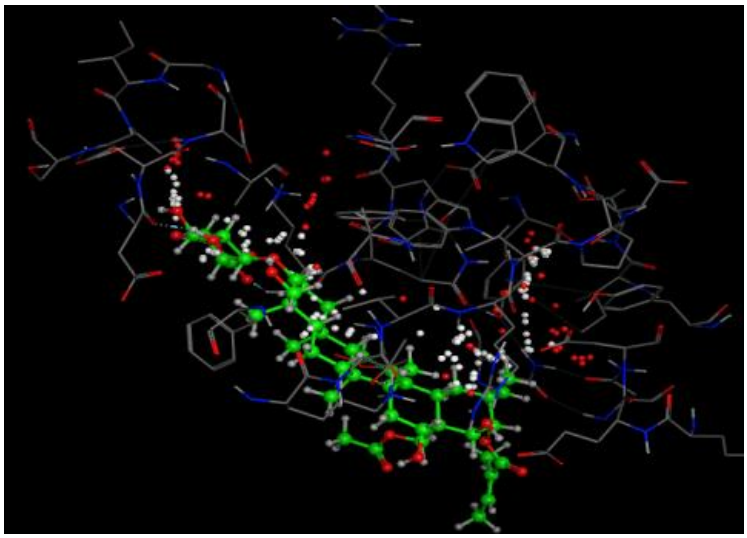
Tableau 7 : Le bilan des distances et des énergie pour les trois complexe.

6. Dynamique moléculaire des complexes :

Une fois tous les complexes sont formés, nous allons effectuer une optimisation de la géométrie et un calcul de dynamique moléculaire pour chercher la conformation la plus stable.

6.1. Complexe-1 (DPP4+Acide gymnémique) :

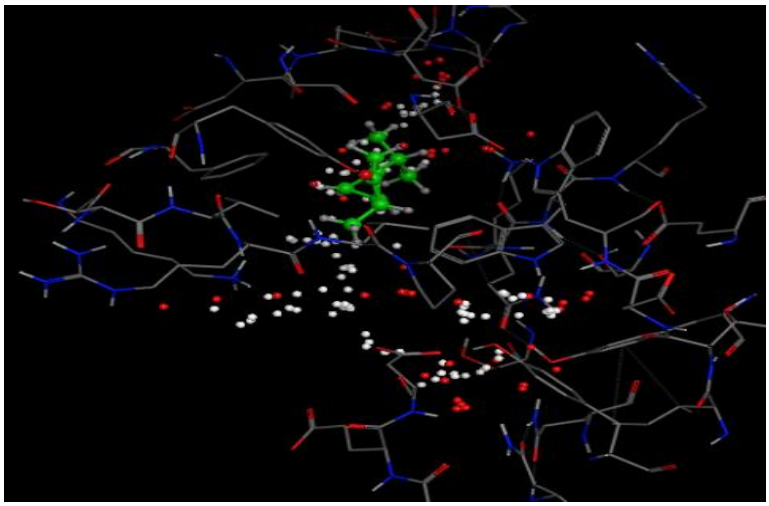
E= - 6.492Kcal/mol



(a)

6.2. Complexe-2 (DPP4+Alpha-Béta thujone) :

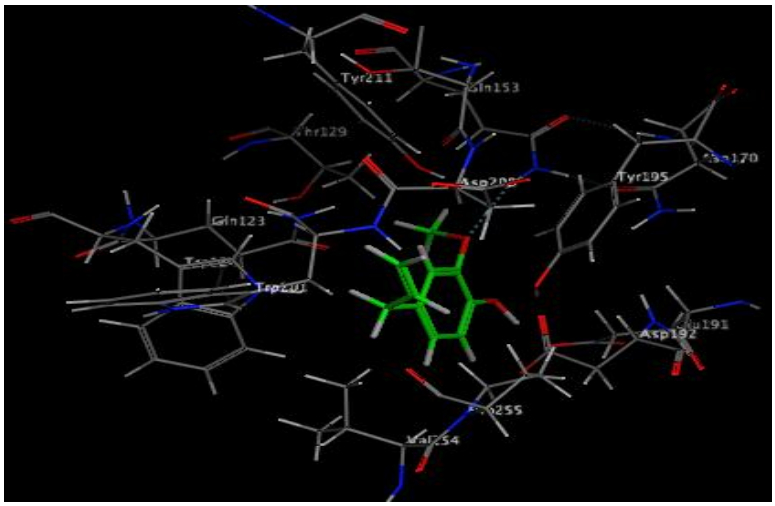
E=-12.3656 Kcal/mol



(b)

6.3. Complexe-3 (DPP4+Eugenol) :

E=- 4.4283 Kcal/mol



(c)

Figure 5 : Variation de l'énergie des trois complexes en fonction du temps

Ces résultats ont montrés que les trois inhibiteurs ont des intéractions avec les résidus de l'enzyme. On peut dire qu'il y a une affinité entre les inhibiteurs et l'enzyme.
Les résultats montrent que les trois inhibiteurs présentent une meilleure inhibition à la DPP4 ; ainsi que l'inhibiteur 1 (acide gymnémique) a l'énergie d'interaction la plus faible correspond à la géométrie la plus stable et par conséquent, il peut être probablement le meilleur inhibiteur pour le traitement du diabète de type 2.

Références

[1] D. Frenkel, B. Smit. Understanding molecular simulations: From algorithms to Applications, Academic press: San, Diego, 1996.

[2] Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada10, 2013.

[3] M.A. Ajay, J. Murcko.Computational methods to predict binding free energy in ligand-receptor complexes.J. Med.Chem 38,P4953-4967.1995.

[4] H. J. Böhm, M. Stahl. Rapid empirical scoring functions in virtual screening applications, J.Med. Chem Res 9,P445-462.1999.

[5] A.M. Manikrao, N.S. Mahajan1, R.D. Jawarkar, D.T. Mahajan,V.H. Masand2, T. ben.Hadda.Docking Studies of few C-3 Substituted Azapteridines as Hepatitis C Virus RNA-Dependent RNA Polymerase inhibitors.Scholars Research Library, J. Comput.Method.Mol. Design, P35-45. 2011.

[6] W. Soufi, M. Merad, F. Boukli, S. Ghalem.The Complementarity Effect for Cdc25 Phosphatase Inhibitors.Advances in Molecular Imaging, P17-23. 2011.

[7]P.Labute, C. Williams, M. Feher, E.Sourial, J. M. Schmidt.Flexible Alignment of Small Molecules, J. Med. Chem. 44, P1483-1490. 2001.

[8] (a) A.M. Clark,P.Labute; M. Santavy, "2D Structure Depiction", J. Chem.46, Inf. Model 2006.P 1107-1123; (b) Chemical Computing Group Journal 2005.

[9]A.M. Clark, P.Labute.Detection and Assignment of Common Scaffolds in Project Databases of Lead Molecules; J. Med. Chem. 52, P469-483.2008.

[10] I. Abdelli, S. Sari, C.Z. Cherif, S. Ghalem. Theoretical Study of the Inhibition of Beta-Secretase.Asian journal of chemistry.Vol.19, N°.7, P5407-5416, 2007.

[11] H. Yamaguchi, Y.Kidachi, K. Kamiie, T.Noshitaand H. Umetsu. Structural insight into the ligand receptorinteraction between glycyrrhetinic acid (GA) andthe high-mobility group proteins B1 (HMGB1)-DNAcomplex, Bioinformation 8(23), Open Access, P1147-1153.2012.

[12] A. A. Abd El-wahab, H. M. Abdel-Rahman, G. S. Alkaramany and M. A. El-Gendy. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of substituted 1, 2, 4-triazole-3-acetic acid derivatives. Scholars Research Library Der PharmaChemica,vol 3,P540-552, 2011.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Dans ce mémoire, une étude des interactions moléculaires entre la DPP4 (Dipéptidyl Peptidase-4) et des inhibiteurs obtenus à partir des plantes naturelles, ont été réalisée grâce à des outils de modélisation moléculaire.

Ce travail nous a permis de faire un classement et aussi de visualiser les interactions établies entre ligand et l'enzyme.

Dans le but de déterminer les interactions protéine-ligand, nous avons effectué des calculs de mécaniques, dynamique et docking moléculaire à partir des structures des complexes pour rechercher la conformation la plus stable correspondante à l'énergie la plus faible qu'adopte le complexe formé. Afin de générer les trajectoires des différents systèmes, nous avons utilisé le **champ de forces MMFF94x** implanté dans le logiciel **MOE (Molecular Operating Environment).**

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que l'interaction des groupements encombrants engendre un réarrangement conformationnelle au sein de la poche du site actif qui probablement augmentera la complémentarité et par conséquence l'activité.

Nous avons mesuré les distances entre les groupements de chaque inhibiteur et ceux des chaines latérales des acides aminés constituants le site actif, ainsi que les énergies.

Les résultats ont montrés que les trois inhibiteurs ont des interactions avec les résidus de l'enzyme, on peut dire qu'il y a une affinité entre les inhibiteurs et l'enzyme.

Les résultats montrent que les trois inhibiteurs présentent une meilleure inhibition a la DPP4 ; ainsi que l'inhibiteur 1(acide gymnémique) a l'énergie d'interaction la plus faible correspond à la géométrie la plus stable et par conséquent, il peut être probablement le meilleur inhibiteur pour le traitement du diabète de type 2.

Il est à noter que la connaissance moléculaire des complexes enzyme-substrat est hautement difficile, et que notre contribution à la compréhension des processus reste certainement à compléter par l'utilisation des logiciels beaucoup plus performants que ceux que nous avons utilisés.

Résumé

La connaissance des enzymes est capitale, car ce sont elles qui catalysent la plupart des réactions chimiques des organismes vivants. L'altération des enzymes par des inhibiteurs spécifiques permet de bloquer les voies biochimiques. Seul un site particulier de la protéine enzymatique entre en contact avec son substrat : c'est le site actif. Celui-ci est encore divisible en deux régions particulières. Le site de fixation permet à l'enzyme de « s'accrocher » à la molécule, et de positionner cette dernière de façon optimale, tandis que le site catalytique déclenche le processus réactionnel.
Notre travail consiste à une étude d'interaction moléculaire entre la DPP-4 et les substrats, Les différents outils de la modélisation moléculaire sont utilisés pour mener à bien ce travail (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire et docking moléculaire) ou le docking permet de prévoir comment une petite molécule (drogue) peut se lier à un récepteur (protéine) dont la structure 3D est connue.

Mots clés : Interaction E-S, conformations, modélisation moléculaire.

Abstract

The knowledge of the enzymes is capital, because they catalyzed the majority of the chemical reactions of the living organisms. The deterioration of the enzymes by specific inhibitors makes it possible to block the biochemical ways. Only a particular site of the enzymatic protein comes into contact with its substrate: it is the active site. This latter still divisible in two particular areas. The fixing site; let the enzyme well get attached to the molecule, and positioned in an optimal way, while the catalytic site activates the reactional process.

Our work consists of a study of the molecular interaction between DPP-4 and the substrates. The various molecular numerical models are used to achieve this work (mechanics molecular, dynamic molecular, and docking molecular) where the docking makes it possible to predict how a small molecule (drug) can bind to a receiver (protein) of which the structure 3D is known

Keywords : Interaction (enzyme-substrate), conformations**,** molecular modeling

ملخص:

إن المعرفة المعمقة للأنزيمات مهمة لأنها المسؤولة عن تحفيز أغلب التفاعلات الكيميائية في الأنظمة الحية. تثبيط هذه الإنزيمات بواسطة مثبطات خاصة تسمح بكبح وعرقلة المسارات البيوكيميائية، حيث أن جزءا خاصا من البروتين يدخل في الإتصال مع المادة المعرقلة (جزء نشيط).

في هذا العمل نهتم بدراسة التفاعل الجزيئي بين أنزيم دي بي بي 4 وبعض الكوابح باستعمال وسائل النمذجة الجزيئية (الميكانيكا الجزيئية ، و الديناميكا الجزيئية والالتحام الجزيئي).

الكلمات المفتاحية : التفاعل الجزيئي، الهيكلة، النمذجة الجزيئية.