



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

**UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN**

# THÈSE

Présentée à la :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

**DOCTORAT EN SCIENCES**

Spécialité : Chimie-Physique

Par :

**Mr AYACHI HICHAM**

Sur le thème

---

## **Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire : Cas du diabète de type 2**

---

Soutenue devant le jury composé de :

Mr T. BOUCHAOUR	Pr Université de Tlemcen	Président
Mme M. BENYAROU	Pr Université de Tlemcen	Directrice de Thèse
Mr S. GHALEM	Pr Université de Tlemcen	Co-directeur de Thèse
Mme S. TAIRI-KELLOU	Pr Université d'Alger (USTHB)	Examinatrice
Mr J. GOLEBIOWSKI	Pr Université de Nice (France)	Examineur
Mr H. ALLALI	Pr Université de Tlemcen	Examineur

# Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

- *A la mémoire de mon père ABDOU ESSALAMI, puisse Dieu l'accueillir dans son vaste paradis ;*
- *A ma mère, que Dieu nous la garde longtemps encore ;*
- *A ma femme AMEL et mes enfants INES et NAZIM ;*
- *A mon beau père BENDIABDELLAH Abdeslam et ma belle-mère ;*
- *A mon frère et son épouse et ma sœur et son époux ;*
- *A mes beaux-frères et ma belle-sœur ;*
- *A toute ma grande famille ;*
- *A tous ceux, qui, de près ou de loin, m'ont aidé à mener à bon terme la réalisation de ce travail.*

# Remerciements

C'est avec un réel plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant pour m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

La présente thèse a été réalisée au sein de laboratoire LASNABIO" Substances naturelles et bioactives", dans l'équipe de modélisation moléculaire de la faculté des sciences, Département de chimie, de l'université de Tlemcen

Je remercie tout d'abord Madame le professeur **M. BENYAROU** de l'université de Tlemcen, faculté des sciences. Qu'il me soit permis de lui exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude pour ses précieux conseils, sa disponibilité, sa patience et sa gentillesse et pour la bienveillante attention dont elle m'a entouré.

Je remercie Monsieur le professeur **S. GHALEM** de l'université de Tlemcen, faculté des sciences, et Directeur du laboratoire de recherche LASNABIO" Substances naturelles et bioactives", pour son aide et son soutien moral et pour m'avoir fait bénéficier de ses connaissances en chimie théorique et en modélisation moléculaire.

Je voudrais par ailleurs exprimer ma reconnaissance et mes remerciements à Monsieur le Professeur **T. BOUCHAOUR** de l'université de Tlemcen, faculté des sciences, qui a bien voulu présider ce jury.

J'adresse enfin mes vifs remerciements aux honorables membres du jury qui ont bien voulu évaluer mon travail : Madame le professeur **S. TAÏRI-KELLOU** de l'université d'Alger (USTHB), Monsieur le professeur **J. GOLEBIOWSKI** de l'université de Nice (France) et Monsieur le professeur **H. ALLALI** de l'université de Tlemcen.

Enfin, l'expression de ma reconnaissance va à tous les collègues de l'équipe de «Dynamiques des Biomolécules» du laboratoire de recherche LASNABIO et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Liste des abréviations

ADA: Association Américaine de Diabète

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

ADO: Antidiabétiques Oraux

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

MM: Mécanique Moléculaire

MM2: Mécanique Moléculaire 2

OPLS: Optimized Potentials for Liquid Simulations

GROMOS: Groningen Molecular Simulation Program Package

CHARMm: Chemistry at HARvard Molecular mechanics

SPASIBA: Spectroscopic Potentiel Algorithm for Simulating Biomolecular conformational Adaptability

Emo: Energy of Molecule

AMBER: Assisted Model Building with Energy Refinement

DM: Dynamique Moléculaire

DPP-4: Dipeptidyl Peptidase-4

MGA: Maltase - Glucoamylase

GSK-3: Glycogen Synthase Kinase-3

GLP-1: Glucagon-Like Peptide-1

GIP: Peptide Insulinotrope dépendant du Glucose

MOE: Molecular Operating Environment

GOLD: Genetic Optimisation for Ligand Docking

PDB: Protein Data Bank

VDW: Van Der Waals

2D: 2Dimension

3D: 3Dimension

Alo: Alogliptine

Lin: Linagliptine

Sit: Sitagliptine

Sax: Saxagliptine

Vil: Vildagliptine

Glu: Acide Glutamique

Asp: Acide Aspartique

Ala: Alanine

Asn: Asparagine

Cys: Cystéine

Gln: Glutamine

Gly: Glycine

His: Histidine

Ile: Isoleucine

Leu: Leucine

Lys: Lysine

Met: Méthionine

Pro: Proline

Phe: Phénylalanine

Pro: Proline

Ser: Serine

Thr: Thréonine

Trp: Tryptophane

Tyr: Tyrosine

Val: Valine

# Liste des tableaux

## CHAPITRE 3

**Tableau 1** : Les données cristallographiques pour les trois enzymes

## CHAPITRE 4

**Tableau 1** : Les résultats obtenus à l'aide du programme EMO

**Tableau 2** : Les distances entre les acides aminés qui forment les sites actifs et les groupes des inhibiteurs

**Tableau 3** : Bilan des énergies en (Kcal/mol)

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

**Tableau 5** : La dynamique moléculaire des enzymes seuls et ligands seuls

**Tableau 6** : Le bilan énergétique des quatre complexes (Kcal/mol)

**Tableau 7** : Les scores et les énergies pour les meilleures dix premières poses dans chaque sous-unité pour chaque ligand

**Tableau 8** : Les distances et les interactions de l'Alogliptine avec le site actif de la DPP-4

**Tableau 9** : Les distances et les interactions de la Linagliptine avec le site actif de la DPP-4

**Tableau 10** : Les distances et les interactions de la Saxagliptine avec le site actif de la DPP-4

**Tableau 11** : Les distances et les interactions de la Sitagliptine avec le site actif de la DPP-4

**Tableau 12** : Les distances et les interactions de la Vildagliptine dans le site actif de la DPP-4

**Tableau 13** : Apports énergétiques moyens pour former les complexes DPP4-Lin et DPP4-Sit (Kcal / mol) avec leurs erreurs standard de la moyenne (entre parenthèses)

**Tableau 14 :** Les énergies d'interaction entre linagliptine et les résidus clé de la DPP-4

**Tableau 15 :** Les énergies d'interaction entre la sitagliptine et résidus clé de la DPP-4

**Tableau 16 :** Les distances et les interactions de la linagliptine dans le site actif de la DPP-4

**Tableau 17 :** Les distances et les interactions de la sitagliptine dans le site actif de la DPP-4

# **Liste des figures**

## **CHAPITRE 1**

Figure 1 : Le diabète

Figure 2 : Le diabète de type 2

Figure 3 : Les complications du diabète de type 2

## **CHAPITRE 2**

Figure 1 : Schéma et forme fonctionnelle des termes liés d'un champ de forces classique

Figure 2 : Schéma et forme fonctionnelle des termes non liés d'un champ de force classique

Figure 3 : Le principe général d'un programme de docking

## **CHAPITRE 3**

Figure 1 : L'enzyme Dipeptidyl Peptidase-4 (3F8S)

Figure 2 : L'enzyme Maltase - glucoamylase (2QMJ)

Figure 3: L'enzyme Glycogène synthase kinase-3(3F7Z)

Figure 4 : La plante Stevia

Figure 5 : Le Rebaudioside A

Figure 6 : Le Stevioside

Figure 7 : Les gliptines

Figure 8 : Un modèle simplifié de Dipeptidyl peptidase-4

Figure 9 : Un modèle simplifié de Maltase glucoamylase

Figure 10 : Un modèle simplifié Glycogène synthase kinase-3

## CHAPITRE 4

Figure 1 : Une variation de l'énergie potentielle de la DPP-4 seule en fonction du temps

Figure 2 : Une variation de l'énergie potentielle de l'inhibiteur\_1 en fonction du temps

Figure 3 : Une variation de l'énergie potentielle de l'inhibiteur\_2 en fonction du temps

Figure 4 : Une variation de l'énergie potentielle du Complexe\_1 en fonction du temps

Figure 5 : Une variation de l'énergie potentielle du Complexe\_2 en fonction du temps

Figures 6 : Les distances séparant les acides aminés du site actif et les groupements des inhibiteurs

Figure 7 : Les dimensions de la cavité enzymatique

Figures 8 : Le Docking des 4 complexes

Figure 9: Les images des meilleurs poses (conformations)

Figures 10 : Les diagrammes d'interaction (protéine-ligand) des 4 complexes

Figure 11 : La formation des cinq complexes

Figure 12 : La formation des complexes dans chaque sous unité

Figure 13 : Le mode de liaison et l'orientation de l'Alogliptine dans le site actif de la DPP-4

Figure 14 : Le mode de liaison et l'orientation de la Linagliptine dans le site actif de la DPP-4

Figure 15 : Le mode de liaison et l'orientation de la Saxagliptine dans le site actif de la DPP-4

Figure 16 : Le mode de liaison et l'orientation de la Sitagliptine dans le site actif de la DPP-4

Figure 17 : Le mode de liaison et l'orientation de la Vildagliptine avec le site actif de la

DPP-4

Figure 18 : La dynamique moléculaire des deux complexes

Figure 19 : Le mode de liaison et l'orientation de la linagliptine dans le site actif de la DPP-4

Figure 20 : Le mode de liaison et l'orientation de la sitagliptine dans le site actif de la DPP-4

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
Références.....	5
<b>CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2</b>	
Introduction.....	6
1. Définition du diabète.....	8
2. Classification du diabète.....	9
3. Définition du diabète de type 2.....	10
4. Epidémiologie.....	11
5. Physiopathologie.....	12
6. Complications du diabète de type 2.....	13
7. Traitement du diabète de type 2.....	14
Références.....	15
<b>CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE</b>	
Introduction.....	18
1. La mécanique moléculaire.....	19
1.1. Principes théoriques.....	19
1.2. Champs de forces.....	20
1.3. Différents champs de forces en mécanique moléculaire.....	22
2. Dynamique moléculaire.....	23
2.1. Principe de la dynamique moléculaire.....	23
2.2. Un calcul de dynamique moléculaire.....	25
3. Docking moléculaire.....	26
3.1. Principe théoriques.....	26
3.2. Algorithme du docking.....	28
3.3. Fonctions de scores.....	28
Références.....	29
<b>CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES</b>	
1. Matériels.....	32
1.1. Présentation des enzymes.....	32
1.1.1. Dipeptidyl Peptidase-4(DPP-4).....	32
1.1.2. Maltase Glucoamylase(MGA).....	33
1.1.3. Glycogène Synthase Kinase-3(GSK-3).....	34
1.2. Présentation des inhibiteurs.....	35
1.2.1. Plante Stévia.....	35
a. Rebaudioside A.....	36
b. Stevioside.....	36
1.2.2. Les gliptines.....	37
1.3. Ressources informatiques.....	38

1.3.1. Ordinateurs.....	38
1.3.2. Logiciels utilisés.....	38
2. Méthodes.....	40
2.1. Traitement des enzymes.....	40
2.2. Traitement des ligands.....	42
2.3. Docking moléculaire.....	42
Références.....	43

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats et discussion.....	47
1. Résultats de la première étude.....	47
1.1. Minimisation de l'énergie.....	49
1.1.1. L'optimisation de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4).....	49
1.1.2. L'optimisation des substrats.....	50
1.2. La dynamique moléculaire.....	50
1.2.1. La dynamique moléculaire de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4).....	51
1.2.2. La dynamique moléculaire des inhibiteurs.....	52
1.3. Le docking moléculaire et construction des complexes.....	53
1.3.1. La dynamique moléculaire des complexes.....	53
1.3.2. Les distances séparant les acides aminés du site actif et les groupements des inhibiteurs.....	54
1.4. L'Énergie d'interaction.....	55
1.5. La cavité enzymatique.....	56
1.6. Conclusion.....	56
2. Résultats de la deuxième étude.....	57
2.1. Détermination du site actif des enzymes.....	58
2.2. L'optimisation des enzymes et des inhibiteurs.....	58
2.3. La dynamique moléculaire des enzymes seuls et des ligands seuls.....	58
2.4. Le docking moléculaire.....	59
2.5. Discussion.....	62
2.6. Résultats des distances.....	63
2.7. Conclusion.....	69
3. Résultats de la troisième étude.....	69
3.1. Préparation des ligands.....	71
3.2. Docking moléculaire et préparation des complexes.....	71
3.3. Résultats et discussion.....	71
3.4. Les distance et analyse visuelle des interactions.....	76
3.5. Simulation de la dynamique moléculaire.....	84
3.6. Résultats des simulations de la dynamique moléculaire.....	84
3.7. Énergie d'interaction entre les inhibiteurs et les résidus important de la DPP-4.....	85
3.8. Les distance et analyse visuelle des interactions.....	87
3.9. Conclusion.....	91
Références.....	92
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>95</b>



# INTRODUCTION GENERALE

## Introduction

Le Développement important des moyens informatiques (mémoire plus importante, calcul scientifique, infographie, ...) au cours de ces dernières années a permis à la chimie de s'enrichir d'outils informatiques spécialement dédiés à la description des molécules.

Les méthodes informatiques utilisées à l'heure actuelle ont deux objectifs :

➤ d'une part étudier la structure tridimensionnelle et les changements conformationnels d'une structure moléculaire,

➤ d'autre part simuler les mécanismes d'amarrage moléculaire ou *docking*.

Cependant, le défi que se lancent les modélisateurs, à savoir atteindre un niveau de prédiction, demeure pour le moment inaccessible.

La simulation se heurte en effet à des problèmes calculatoires (la taille des systèmes biologiques limite les méthodes informatiques) mais également à des problèmes de représentation des systèmes. Ainsi un nouvel outil est apparu permettant à tout chimiste de mieux appréhender les problèmes liés au domaine moléculaire: la Modélisation Moléculaire.

## 1. Modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire implique l'utilisation des méthodes de calculs théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, Docking, mécanique quantique *ab-initio* ou semi-empirique, ...) permettant de déterminer la représentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes d'une molécule et d'évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée [1]. La modélisation moléculaire associée à une représentation infographique des stéréochimies permet d'interpréter des phénomènes physico-chimiques, de suggérer des nouvelles expériences et d'analyser ainsi des résultats d'une façon plus critique que les expériences classiquement utilisées. Ces deux approches purement théoriques ou expérimentales sont complémentaires [2].

# INTRODUCTION GENERALE

Avec l'arrivée des méthodes théoriques de calcul et des ressources de computation plus accessibles, la chimie par ordinateur est maintenant accueillie comme un outil de plus en plus utile à la fois pour le milieu académique et l'industrie [3]. Aujourd'hui, la modélisation moléculaire nous permet de traiter des systèmes à plusieurs atomes (molécules de solvant explicite pouvant atteindre des dizaines de milliers d'atomes, grandes surfaces moléculaires et protéines). De ce fait, un phénomène de compétition entre la taille des systèmes moléculaires et la puissance des superordinateurs est apparu [4].

La modélisation moléculaire est aujourd'hui mieux intégrée comme outil complémentaire. D'ailleurs, en 1998, le prix Nobel de chimie a été décerné à John. A. Pople et Walter Kohn pour leurs travaux dans les domaines de la chimie informatique et de la modélisation moléculaire [5].

Les molécules peuvent adopter de nombreuses conformations dont certaines correspondent à l'interaction avec un site actif ou au comportement en solution. La stabilité relative de ces conformations peut être évaluée par le calcul de l'énergie potentielle qui leur est associée [6].

## **2. Les objectifs de la modélisation moléculaire**

Les objectifs de la modélisation moléculaire sont principalement:

- Visualisation infographique et dessin des molécules à partir des données structurales et par l'utilisation d'un système informatique.
- Utilisation des banques de données pour identifier les systèmes moléculaires.
- Obtention d'informations sur les mouvements dynamiques des molécules et sur leurs énergies [7].
- Reproduction et prédiction qualitative des propriétés des molécules et des macromolécules.
- Calcul du champ de force empirique pour déterminer les propriétés moléculaires et les distances inter atomiques.
- Corrélation entre propriété et structure moléculaire donnée.
- Évaluation de la validité d'une structure moléculaire.

## INTRODUCTION GENERALE

- Application de la représentation infographique à la reconnaissance des molécules issues de chimie organique, bio-organique et médicale ou de la science des matériaux [8].

Les enzymes ont fait l'objet de recherches intensives ayant permis de dévoiler les principes du fonctionnement cellulaire. Leur importance s'est encore accrue avec le lancement de projets de séquençage des génomes à grande échelle. De plus, leur intérêt va bien au-delà de la collecte de connaissances fondamentales puisqu'elles trouvent des applications dans des domaines variés tant biomédical (réactifs, kits de diagnostic, méthodes thérapeutiques) qu'industriel (mise en œuvre de technologies à base d'enzymes dans l'industrie agro-alimentaire) et les détergents [9].

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives. Plusieurs pathologies apparaissent grâce à l'usage intensif des produits synthétiques. C'est pour cela qu'il y a actuellement une tendance claire vers l'utilisation des produits naturels en tant que composés alternatifs pour la lutte contre les maladies et les organismes nuisibles. Par conséquent, la recherche de nouveaux produits naturels y compris des extraits végétaux, qui pourraient substituer les produits synthétiques, semble être importante [10].

En chimie médicinale, la découverte des petites molécules organiques susceptibles d'être optimisées et qui conduit à un futur médicament capable de moduler efficacement l'activité biologique d'une cible thérapeutique, reste un défi majeur. Nos activités du labo visent donc la découverte de ces petites molécules selon une approche originale basée sur l'utilisation de fragments moléculaires. Grâce à leur petite taille, ces fragments sont plus susceptibles de se lier de manière efficace dans le site actif d'une cible (enzyme, récepteur) et représentent donc une opportunité unique pour le développement [11].

## INTRODUCTION GENERALE

Notre recherche consiste à étudier l'inhibition des enzymes impliquées dans la maladie du diabète de type 2, avec des séries d'inhibiteurs (naturels et synthétiques). Cette étude a pour but de minimiser la formation des complexes et par suite retarder sa progression. Afin de rationaliser les propriétés [1] des inhibiteurs et de déterminer les processus réactionnels impliquant ces composés, nous nous sommes jugés utile d'optimiser et de modéliser les complexes formés par des méthodes de modélisation moléculaire et étudier au point de vue énergétique (les énergies d'interactions) et l'élucidation des mécanismes d'interactions (récepteur-ligand), en vue d'inhiber les enzymes impliquées dans cette maladie par la pseudo –expérience [2]. Alors notre but majeur dans cette démarche est d'essayer d'analyser l'évolution des conformations de la complexe protéine-ligand au cours du temps et de caractériser les différents types d'interaction en se basant sur le docking moléculaire, dont on s'intéresse à déterminer le mode d'interaction du complexe par la fixation de l'inhibiteur dans le site actif de l'enzyme, avec une meilleurs et forte complémentarité, donc une bonne inhibition.

Ces résultats aideront au développement d'un outil thérapeutique efficace pour lutter contre le développement de la maladie du diabète de type de type 2.

A cet effet :

La présente thèse se subdivise en quatre chapitres :

Dans le **premier chapitre**, nous avons effectué une recherche bibliographique portant sur le diabète de type 2.

Le **deuxième chapitre** concerne Les principales approches de la modélisation moléculaire.

- La mécanique moléculaire
- La dynamique moléculaire
- Le docking moléculaire

Le **troisième chapitre** porte sur une description du matériel utilisé, la démarche expérimentale et les méthodes employées.

Dans le **dernier chapitre** nous discutons les résultats obtenus.

Enfin une **conclusion générale** résume l'ensemble du travail réalisé et présente les perspectives d'études que nous envisagerons pour l'avenir.

## INTRODUCTION GENERALE

### References:

- [1] G. Náray-Szabó, I. Berente, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, Computer Modeling of Enzyme Reaction, P637-644, 2003.
- [2] D. Liotta. *Advances in Molecular Modeling, Ed, JAI Press, P1*, 1988.
- [3] J. Debord, Introduction à la modélisation moléculaire, P 37-41, 2004.
- [4] W. Van Gunsteren, Berendsen, H. J. C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, P992-998, 1990.
- [5] D. Morgan. Principles of CDK regulation. *Nature*; P374, 1995.
- [6] H. Dugas, Principes de base en modélisation moléculaire, Aspects théoriques et pratiques, Chapitre 3 introductions aux méthodes de minimisation d'énergie, Librairie de l'Université de Montréal, 1996.
- [7] J. Debord, *Introduction à la modélisation moléculaire*, P37-41, 2004.
- [8] A. Fortuné. Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance. Université Joseph Fourier - Grenoble I, P98, 2006.
- [9] D.A. Basketter et al.: Defining occupational and consumer exposure limits for enzyme protein respiratory allergens under REACH. *Toxicology*. P165-170, 2010.
- [10] A. Bendiabdellah. Etudes chimique et biologique des extraits de trois *Daucus* (*D.crinitus*, *D.muricatus* et *D.carotassphispanicus*) de la région de Tlemcen. Laboratoire des substances naturelles et bioactive (Lasnabio) ,2014.
- [11] R. Frédérick, Vers de nouveaux médicaments innovants. Médicinal Chemistry Research Group – Chimie médicinale (CMFA). Thème de recherche 2013-2014.
- [12] J.A. McCammon, S.C. Harvey, *Dynamics of Proteins and Nucleic Acids* Cambridge. Edition Cambridge University Press, 1987.

# CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

## DIABETE DE TYPE 2

### Introduction

Il y a seulement 30 ans, il n'existait aucun consensus sur la définition du diabète et chaque école avait ses propres critères de diagnostic, largement contradictoires [1]. Les critères de diagnostic du diabète, élaborés de 1980 à 1985 par des comités internationaux, ont permis l'essor de l'épidémiologie du diabète de type 2 sur une base standardisée.

Depuis, le comité international d'experts constitué dès 1995 à l'initiative de l'American Diabetes Association (ADA) a présenté une nouvelle classification et de nouveaux critères diagnostiques du diabète sucré [The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 1997]. Ces nouveaux critères et cette classification sont adoptés par les autorités sanitaires de chaque pays [2].

Dans la nouvelle classification, le changement principal est l'abaissement du seuil de diagnostic pour la glycémie à jeun de 1,40 g/L à 1,26 g/L alors que le seuil de 2,00 g/L après charge en glucose est maintenu.

En effet, le niveau 2,00 g/L après charge en glucose est admis et validé car, d'une part, il sépare clairement la bimodalité de la distribution des glycémies post hyperglycémie provoquée par voie orale et d'autre part, au-delà de 2,00 g/L, la prévalence des complications microvasculaires augmente considérablement. La glycémie à jeun 1,40 g/L utilisée dans les anciens critères n'était pas validée par des données épidémiologiques ; elle n'était pas équivalente à la glycémie de 2,00 g/L post hyperglycémie provoquée en ce qui concerne le diagnostic du diabète et la prévalence des complications microvasculaires.

Le terme diabète sucré dérive étymologiquement des deux racines grecques "diabètes" (passer à travers) et "mellitus" (miel). Il désigne un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou d'anomalies de l'action de l'insuline sur ses tissus cibles (insulinorésistance). Les cellules  $\beta$  pancréatiques représentent chez les mammifères, l'unique type cellulaire capable de synthétiser et de sécréter l'insuline. Il est clairement reconnu que la masse des cellules  $\beta$  est soumise à des variations chez l'adulte, avec des implications évidentes pour le diabète de type 2.

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

L'équilibre dynamique qui régit la masse des cellules  $\beta$  résulte de 3 processus :

- la réplication de cellules différenciées préexistantes,
- la différenciation en cellules  $\beta$  de cellules précurseur,
- la mort cellulaire programmée ou apoptose [3].

Ces processus sont nécessaires chez l'adulte au maintien de la masse des cellules  $\beta$  et leur équilibre conditionne les propriétés de plasticité du pancréas. La rupture de cet équilibre induit une perte de la masse des cellules  $\beta$  et conduit à l'altération de la production et de la sécrétion d'insuline. L'équipement en cellules  $\beta$  du pancréas endocrine adulte peut s'adapter aux modifications de la demande insulinique pour garantir un contrôle optimal de l'homéostasie glucidique. Dans la grande majorité des cas, la demande accrue en insuline est liée à une diminution de l'efficacité de l'action de l'insuline sur ses tissus cibles.

Le sujet obèse est un bon exemple. Les individus obèses, qui ne développent pas de diabète, présentent une augmentation de la masse des cellules  $\beta$  qui compense les demandes de l'organisme en insuline et l'insulinorésistance périphérique induite par l'obésité. Ces individus parviennent à maintenir une homéostasie glucidique face à un degré d'insulinorésistance. Néanmoins, cette élévation compensatrice de la masse des cellules  $\beta$  s'altère chez certains individus obèses qui développent un diabète de type 2 [4]. Ainsi, face à une insulinorésistance, le pancréas endocrine peut compenser en augmentant la masse de cellules  $\beta$  et la sécrétion d'insuline. Sur un terrain génétique particulier qui prédispose à l'apparition du diabète, ces mécanismes compensatoires deviennent inopérants, la cellule  $\beta$  ne peut répondre à la demande accrue, aboutissant à une aggravation de l'hyperglycémie. Cette hypothèse n'est pas unanimement acceptée, mais elle a le mérite d'expliquer pourquoi certains individus parviennent à maintenir une homéostasie glucidique face à un degré d'insulinorésistance qui, chez d'autres individus, entraîne un diabète [5].

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

Le stress déclenche une cascade de réponses pouvant entre autres résulter en une hyperglycémie. Le tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), les interleukines 1 et 6 (IL-1, IL-6) stimulent l'axe hypothalamo-hypophysaire avec sécrétion de CRH (corticotropin releasing hormon). La CRH et les neurones du locus coeruleus de l'hypothalamus et du tronc cérébral régulent à leur tour la réponse au stress. En plus de l'ACTH (hormone corticotrope) et de la sécrétion de cortisol, des cytokines peuvent stimuler la sécrétion de cortisol directement au niveau des surrénales. La réaction sympatho-surrénalienne déclenche une sécrétion massive de catécholamines, d'adrénaline surtout, qui fait elle aussi augmenter le glucose plasmatique. Les conséquences en sont entre autres une gluconéogenèse hépatique augmentée avec production de lactate, une diminution de l'utilisation périphérique du glucose et une augmentation de la résistance à l'insuline, le tout amenant à l'hyperglycémie [6].

### **1. Définition du diabète**

Le diabète est une maladie qui survient lorsque l'organisme n'utilise ni ne conserve adéquatement les aliments pour les convertir en énergie. Cette énergie dont l'organisme a besoin est ce que l'on nomme le glucose, un type de sucre. Le glucose provient d'aliments contenant des glucides, par exemple les fruits, le lait, les féculents, le sucre et certains légumes. En présence de diabète, le taux de glucose dans l'organisme devient trop élevé.

C'est un groupe hétérogène de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion, d'action d'insuline, ou de ces deux anomalies [7].

L'hyperglycémie est associée le plus souvent à des symptômes externes plus ou moins évocateurs de la gravité de la maladie. En plus des complications aiguës (hyperglycémie, Acidocétose,...etc), l'hyperglycémie chronique dégénère sur des complications dégénératives plus ou moins graves [8].

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux [9]. Les différents types de diabète se manifestent tous cliniquement par une hyperglycémie, mais vont différer dans leurs manifestations aiguës ou chroniques, par leur sévérité et leur âge d'apparition [10]. Ils ont été classés en trois groupes, dont les deux principaux sont les diabètes de type 1 et les diabètes de type 2 [11].



**Figure 1 : Le diabète**

### **2. Classification du diabète**

La classification du diabète a été revue par l'Association américaine de diabète (ADA) en 1997 et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 1999. Actuellement, elle est fondée sur la physiopathologie des différentes formes cliniques et génétiques de la maladie, et non plus sur le traitement reçu (OMS 1999; ADA 2012) [12].

Le diabète est classé en trois principaux groupes :

- **Diabète de type 1**

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par un excès de sucre dans le sang. Dans 10 % des cas de diabète, il s'agit d'un diabète de type 1, dû à un arrêt de production d'insuline. Cette maladie, favorisée par une prédisposition génétique, apparaît dans l'enfance, à l'adolescence ou chez l'adulte jeune [13].

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

- **Diabète gestationnel**

Le diabète gestationnel est une augmentation anormale du taux de sucre dans le sang (hyperglycémie) qui se produit pendant la grossesse chez une femme qui n'était pas connue diabétique auparavant. Lorsque le taux de sucre de la mère augmente au-delà de certaines normes, la mère et l'enfant peuvent alors être à risque de présenter certaines complications si ce n'est pas pris en charge adéquatement. Pour plus de 80% des femmes, cette condition disparaîtra après la naissance du bébé.

Par contre, une femme ayant présenté un diabète gestationnel est plus à risque de développer un diabète de type 2 dans les années suivant la grossesse [14].

- **Diabète de type 2**

La maladie qui a fait l'objet de notre travail est le diabète de type 2. C'est une maladie répandue et connue dans le monde entier, aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en voie de développement.

### **3. Définition du diabète de type 2**

Le diabète de type 2 se définit par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L constatée à deux reprises ou une glycémie supérieure à 2 g/L à n'importe quel moment de la journée [15].

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant, appelé aussi diabète gras est une maladie assez mal définie qui survient typiquement après la quarantaine, tout particulièrement chez les personnes en surpoids ou qui ont des antécédents familiaux de la même maladie. Il évolue de façon insidieuse et reste longtemps asymptomatique c'est-à-dire sans signes cliniques. De ce fait, de nombreux diabétiques ignorent leur état [16].

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

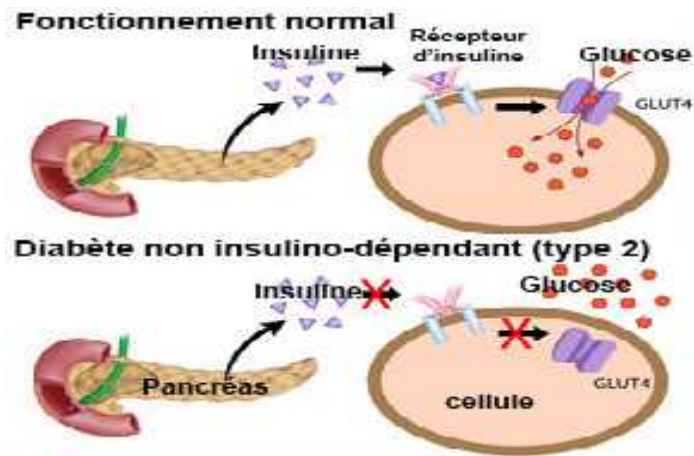


Figure 2 : Diabète de type 2

### 4. Epidémiologie

Le diabète est désormais en passe de devenir un véritable fléau qui ronge de plus en plus la santé des adultes et les jeunes aux quatre coins du monde. L'organisation mondiale de la santé (OMS) a annoncé que plus de 250 millions de personnes sont atteintes de diabète dans le monde dont 90% sont diabétiques de type 2. Longtemps considérée comme une maladie des pays riches, le diabète de type 2 voit sa prévalence augmenter de façon dramatique dans certains pays du tiers-monde. Selon cette même organisation, le nombre de diabétiques dépassera 366 millions d'ici 2030 si rien n'est fait pour enrayer l'épidémie [17].

Le diabète touche dans des proportions semblables les populations des pays du Sud méditerranéen et du Moyen-Orient (7 %) et de l'Amérique du nord (7,9%). En comparaison, la prévalence moyenne est de 2,4% en Afrique, 3,1% dans le Pacifique occidental et 5,6% en Asie du sud-est et en Amérique centrale et du sud [18].

Les données épidémiologiques internationales montrent donc des disparités importantes entre les différents pays et ethnies étudiés concernant la prévalence du diabète de type 2 [19].

Dans les pays du Maghreb, les dernières études menées par l'OMS évaluent l'incidence du diabète à 12% de la population. Dans cette optique, des chiffres alarmants ont été communiqués, lors de la célébration de la journée mondiale du diabète en 2010, indiquant la présence de près d'un million de diabétiques en Tunisie en 2010. Ce chiffre doublera d'ici 2020 [17].

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

Au Maroc, le diabète constitue un problème majeur de santé publique. D'après une enquête nationale effectuée en 2000, la prévalence de cette épidémie se situe aux alentours de 6,6% [20]. Le nombre de personnes atteintes de cette maladie, est estimé à 608 000 en 1995, et pourrait atteindre 1 747 000 personnes en 2025 uniquement pour les personnes âgées de plus de 20 ans [21].

Cela reste évidemment à étayer, mais cela nous ramène aussi à l'Algérie. Si les quelques éléments de l'étiologie rapportés plus haut valent également pour ce pays et ses voisins du Maghreb, ils ne peuvent expliquer pourquoi une frange de plus en plus importante d'individus sont atteints, alors qu'ils n'ont pas encore eu à connaître les effets d'une urbanisation ou d'un déséquilibre alimentaire prolongé [22]. Selon les déclarations du ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière, à l'occasion de la journée mondiale du diabète, l'Algérie compte, en 2010, plus de 2,7 millions de diabétiques et risque d'en comptabiliser près de 4,2 millions, en 2025, si des mesures de prévention ne sont pas prises [23]. Le diabète de type 2 occupe la quatrième place parmi les maladies non transmissibles et sa prévalence ne cesse d'augmenter. Elle est beaucoup plus élevée par rapport à celle mondiale (7.3% contre 3-5%) [24]. Ces chiffres alarmants expliquent en partie les raisons ayant motivé notre choix d'étudier le diabète de type 2 dans le cadre de la réalisation de notre travail de doctorat.

### **5. Physiopathologie**

Le diabète de type 2 apparaît généralement suite à un double problème : dans un premier temps, un état d'insulinorésistance vient s'installer, empêchant l'organisme d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. En fait, l'insulinorésistance peut mener à une aggravation du diabète. Chez les personnes insulinorésistantes, le glucose sanguin pénètre plus difficilement dans les cellules musculaires, adipeuses et hépatiques, où il doit être normalement stocké, ce qui cause une hyperglycémie. Dans ces circonstances, l'organisme doit produire une quantité de plus en plus importante d'insuline afin de maintenir une glycémie constante. On estime que 90 % des personnes atteintes de diabète de type 2 sont insulinorésistantes [25]. Après plusieurs années (10 à 20 parfois), le pancréas ne produit plus suffisamment d'insuline : c'est l'insulino-déficience [26].

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

### 6. Complications du diabète de type 2

Le diabète de type 2 apparaît enfin comme un enjeu très important pour la santé publique. Son coût est en grande partie imputable aux complications. Le diabète menace sérieusement la santé des Algériens, le pays compte aujourd'hui près de 5 millions de diabétiques et le taux de prévalence a augmenté de 8 à 16% durant les 15 dernières années. Ainsi ce diabète longtemps qualifié de « petit diabète » est en réalité un redoutable et silencieux « pourvoyeur de complications ». Les organes ainsi touchés sont [27, 28] :- Le système cardiovasculaire - Les yeux - Les nerfs - Les reins- Les pieds



**Figure 3** : les complications du diabète de type 2

L'excès chronique de sucre dans le sang peut endommager les vaisseaux sanguins ainsi que les nerfs. Si la prévention n'est pas efficace, les complications peuvent se traduire par une cécité, des atteintes des pieds pouvant conduire à des amputations, des infarctus et des accidents vasculaires cérébraux, des troubles de l'érection ou une insuffisance rénale. Mais un diagnostic précoce et une prise en charge adaptée permettent d'éviter de telles complications. Ces complications aggravent le diabète et diminuent l'espérance de vie des personnes atteintes de cette maladie. En fait, Les diabétiques voient leur risque de mourir prématurément multiplié par deux en comparaison des non diabétiques, leur espérance de vie serait réduite de 12 à 13 ans. Néanmoins, la majorité de ces complications peut être évitée, diminuée ou retardée si le diabète est dépisté et traité précocement et correctement [29].

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

### 7. Traitement du diabète de type 2

Le facteur le plus important du traitement du diabète de type 2 est l'aspect nutritionnel. Même si certaines personnes qui présentent ce type de diabète sont minces, la majorité (de 80 % à 90 %) sont obèses. Le fait de perdre du poids (même de 2 kg à 5 kg) peut contribuer à abaisser le taux de sucre sanguin, une alimentation saine et un programme d'exercices peuvent suffire à équilibrer la glycémie. Dans d'autres cas, le régime alimentaire et l'exercice ne suffisent pas à eux seuls ; la prise de médicaments devient alors nécessaire pour maintenir constant le taux de sucre sanguin [30].

L'objectif est de permettre le choix du meilleur traitement en termes de réponse/toxicité et de bénéfices/risques. La personnalisation d'un traitement demande plusieurs étapes en amont, comme la modélisation de chaque pathologie utilisant les méthodes de modélisation moléculaire et précisément le docking moléculaire. On pense qu'on peut prévenir le diabète avant de penser à le soigner.

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

### References:

- [1] A.J. Valleron, E. Eschwege, L. Papoz, Rosselin G.E. Agreement and discrepancy in the evaluation of normal and diabetic oral glucose tolerance test, *Diabetes*, p: 24, 585-93, 1975.
- [2] Alberti, Zimmet for the WHO Consultation Group. Definition and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1 : diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO Consultation. *Diabet Med*, p: 15, 539-53, 1998.
- [3] C.Weyer, C.Bogardus, D.M.Mott, R.E.Pratley. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus, *J. Clin. Invest.* P: 104,787-794, 1999.
- [4] S.Bonner-Weir Beta-cell turnover: its assessment and implications. *Diabetes*, 50 (Suppl 1): S20-S24, 2001.
- [5] C.R.Kahn *Diabetes. Causes of insulin resistance*, *Nature*, p: 373, 84-385, 1995.
- [6] S.K.Grinspoon, Biller B.M. Clinical review 62: Laboratory assessment of adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, p: 79, 923-31, 1994.
- [7] A.Cisse, A. Ndiaye, Lopez-Sall et al. Etude de l'activité antidiabétique de zizyphus mauritanialam(Rhamnacee) *Dakar médical*, Vol 45 : P105-107 ; 2000.
- [8] A.M. Tazi,S.A. khalil,N.chaouki,et al. prevalence of the mainCardiovascular risk factors in Morocco: results of a National survey. *J. Hypertens* 21: P897-903; 2000.
- [9] ADA (American Diabetes Association).*Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care*; 29: P43-47; 2006.
- [10] World Health Organization.*Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. WHO Series N° WK810. WoldHealthOrganization* 2006.
- [11] H. Fagherazzi-Pagel *Actualités sur le diabète de type 2. Dossier du CNRS (France) publié* endécembre 2002.
- [12] J.P.Boyle, A. A. Honeycutt, K. M. Narayan et al. projection of diabetes burden through 2050: impact of changing demography and disease in the US. *Diabetes care*, 24:P1936-1940; 2001.
- [13] Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm). *Diabète de type 1 (D1D)*. Site internet : Inserm. Paris ; 2014.

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

- [14] A. Gagné, L. Tremblay. Diabète et grossesse. Bibliothèque nationale du Québec, Canada 259-361 ; 2013
- [15] Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. Report of a WHO/IDF Consultation, P46; 2006.
- [16] F. Tournant, A. Heurtier, F. Bosquet, A. Grimaldi, Classification du diabète sucré, critères diagnostiques et dépistage dans. EMC Références. Diabète de type 2. Paris : Elsevier SAS, P 45-82 ; 2004.
- [17] C. Sachon, P. Cornet, A. Grimaldi. Diagnostic des diabètes dans. EMC Référence. Diabète de type 2. Paris : Elsevier SAS, P83-92 ; 2004.
- [18] British Heart Foundation. Estimated prevalence of diabetes and numbers of people with diabetes, selected countries, the World, 2003 and 2025.
- [19] Health Canada, Medical Services Branch. Diabetes among First Nations people: information from the 1991 Aboriginal Peoples Survey carried out by Statistics Canada. Ottawa, 1997.
- [20] A.M. Tazi, S. abir-khalil, N. chaouki, et al. (2003) prevalence of the main cardiovascular risk factors in Morocco: results of a National survey, *J.Hypertens* 21:897-903; 2000.
- [21] H. King, R., W.H. Herman (1998) Global burden of diabetes. *Diabetes Care* 21:1414-3; 1995-2025.
- [22] Malek R. Épidémiologie du diabète en Algérie : revue des données, analyse et perspectives. *Médecine des maladies Métaboliques*, 2(3), p : 298-302, 2008.
- [23] P. Froguel, R. Sladek, G. Rocheleau, J. Rung, C. Dina, G. Charpentier, al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, Feb 22; 445(7130):P1047-1053 ; 2007.
- [24] A. Boudiba, S. Mimouni-Zerguini. Améliorer la prévention et les soins du diabète en Algérie. *Diabètes Voice*; 53: 19-21, 2008.
- [25] Les facteurs de risques du diabète de type 2, 2011.
- [26] C. Ichai. Recommandations francophones pour le contrôle glycémique en réanimation. *Médecine des maladies Métaboliques*; 4: 478-489, 2010.
- [27] S. H. Golden the Cardiovascular Consequences of Type 2 Diabetes Mellitus. Allemagne: Edition: J. G. Regensteiner et al. 110-130, 2009.

## CHAPITRE 1 : DIABETE DE TYPE 2

- [28] S. Fosse, S. Jaqueminet, H. Duplan, A. Hartemann-Heurtier, G. Ha Van, A. Grimaldi et al. Incidence et caractéristiques des amputations de membres inférieurs chez les personnes diabétiques en France métropolitaine, 2003. Bull Epidemiohebd. Vol 10 : P71-73 ; 2006.
- [29] I. Roman, S. Fosse, A. Weill, A. Faguot-Compagna, D. Simon, M. Varroud-Vial. Prévalence des complications macrovasculaires et niveau de risque vasculaire des diabétiques. Etude Entred 2001. Bull EpidemioHebd. 12/13: P46-48; 2005.
- [30] V. Rigalleau, J. Lang, H. Gin. Étiologie et physiopathologie du diabète de type 2. EMC, Endocrinologie-Nutrition, 10-366-D-10, 2007.

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

### Les principales approches de la modélisation moléculaire

#### Introduction

La modélisation moléculaire est un domaine scientifique multidisciplinaire : elle exploite des lois de la chimie, de la physique et de la biologie dans des programmes informatiques spécifiques afin de calculer structures et propriétés d'entités chimiques et biochimiques (Protéines, acides nucléiques, complexes moléculaires, solides, cristaux etc..). Le but est la compréhension ou la prédiction des phénomènes auxquels s'intéressent ces disciplines [1].

Depuis les années 80, la modélisation moléculaire connaît un essor continu, non seulement comme outil scientifique précieux pour des domaines fondamentaux (tels que la chimie et la biologie) ou appliqués (tels que la pharmacie et les ingénieries), mais aussi comme une branche scientifique à part entière, consacrée à l'amélioration de la robustesse des logiciels et de l'efficacité des processeurs. Ce développement peut être attribué à deux facteurs principaux : le premier est l'évolution de l'informatique au cours des dernières décennies. Ceci a permis l'intégration de concepts de chimie théorique dans les algorithmes et le développement de machines de plus en plus puissantes, capables d'exécuter les lourds calculs numériques requis et de stocker les données générées. Le deuxième facteur est l'élucidation des structures tridimensionnelles de nombreuses protéines, grâce aux progrès de la génomique, et des techniques de cristallisation et résolution structurale par diffraction de rayons X. En effet, les structures tridimensionnelles de ces biomolécules sont le point de départ pour des simulations visant à comprendre leurs interactions, entre elles ou avec des petites molécules, ce qui est à la base d'un grand nombre de phénomènes chimiques, biologiques et biochimiques [2]. Ainsi, la modélisation moléculaire trouve de nos jours d'importantes applications, parmi lesquelles les trois exemples classiques suivants :

- L'étude des propriétés des matériaux : à partir de simulations moléculaires, un lien peut être établi entre les résultats de calculs menés à l'échelle microscopique (sur un échantillon représentatif d'atomes en interaction) et des propriétés mesurables à l'échelle macroscopique (sur les systèmes matériels réels que l'on souhaite maîtriser). Ainsi peuvent être étudiées les propriétés mécaniques des polymères, les propriétés électroniques de solides

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

cristallins ou encore les propriétés thermodynamiques et spectroscopiques d'une large gamme de composés d'intérêt scientifique et technologique [3].

- Le développement de nouveaux médicaments : le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteur (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement de la maladie, que ce soit une protéine d'un microorganisme pathogène ou du propre organisme humain. L'élucidation de la structure tridimensionnelle de protéines impliquées dans plusieurs pathologies a permis, via des simulations informatiques, la découverte d'inhibiteurs puissants pour ces protéines, en réduisant considérablement le nombre d'essais de *screening* nécessaires pour aboutir à un nouveau médicament (*rational drug design*) [4,5].

- La rationalisation de l'ingénierie enzymatique : le fondement et le même que celui du développement de médicaments : en permettant d'étudier les interactions entre les substrats (ligand) et les enzymes (récepteurs), la modélisation moléculaire apporte une meilleure compréhension de la sélectivité enzymatique, au niveau moléculaire. Ceci peut rendre possible, par la suite, le développement d'approches prédictives pour la sélectivité des enzymes natives vis-à-vis d'un substrat ou d'une classe de substrats donnée (*rational process design*) [6-8], ou encore, d'identifier des acides aminés dont la mutation ponctuelle permettrait de modifier la sélectivité ou la spécificité enzymatique (*site directed mutagenesis*) [9,10].

### 1. La mécanique moléculaire

#### 1.1. Principes théoriques

Dans les approches de mécanique moléculaire, quatre simplifications sont considérées de manière à permettre la description du système modélisé en appliquant des approximations empiriques, à partir des concepts de la mécanique classique :

- Chaque atome est considéré comme une particule sphérique, dotée d'un rayon (typiquement le rayon de Van Der Waals) et d'une charge électrique constante (généralement dérivés de calculs quantiques ou de déterminations expérimentales).

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

- Chaque liaison covalente est considérée comme un ressort, avec une distance d'équilibre : soit calculée par des méthodes quantiques, soit déterminée par des méthodes expérimentales (rayon X, RMN etc.).

- Les atomes non liés peuvent interagir via des interactions électrostatiques et de Van Der Waals.

- Les propriétés des atomes dans les molécules sont transférables à d'autres molécules structurellement corrélées.

Ces simplifications permettent d'exprimer l'énergie potentielle d'un système moléculaire en fonction des paramètres géométriques de celui-ci. L'expression mathématique correspondante est connue sous le nom « fonction de potentiel » ou « champ de forces », qui est la dénomination la plus couramment utilisée.

### 1.2. Champs de forces

Dans l'expression fonctionnelle des champs de forces classiques, l'énergie potentielle totale du système (E) est exprimée comme étant la somme des contributions énergétiques des termes liés et de celles des termes non liés [11] :

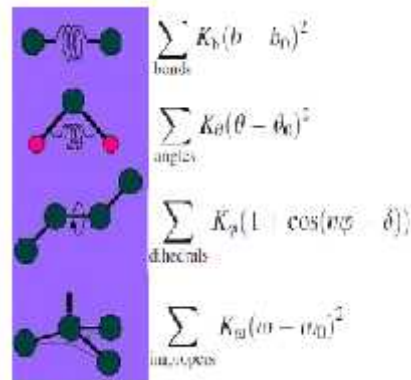
$$E_{\text{Totale}} = E_{\text{liés}} + E_{\text{non liés}}$$

Les termes liés correspondent aux liaisons covalentes (b), angles de valence ( ), angles de torsion ( ) et dièdres impropres ( ), soit :

$$E_{\text{liés}} = E_{\text{liaisons covalentes}} + E_{\text{angles de valences}} + E_{\text{torsions}} + E_{\text{impropres}}$$

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

Une représentation de la signification physique de chacune de ces composantes, ainsi que leurs formes fonctionnelles [12], est donnée dans la figure 1 :

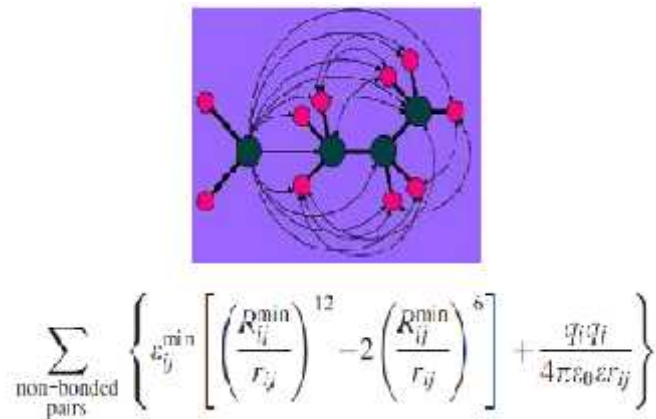


**Figure 1** : Schéma et forme fonctionnelle des termes liés d'un champ de forces classique

Les termes non liés, quant à eux, correspondent aux interactions de Van Der Waals [12], représentées par un terme de Coulomb, soit :

$$E_{\text{non liés}} = E_{\text{électrostatiques}} + E_{\text{Van Der Waals}}$$

Ces contributions sont illustrées dans la figure 2 :



**Figure 2** : Schéma et forme fonctionnelle des termes non liés d'un champ de force classique

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

### 1.3. Différents champs de forces en mécanique moléculaire

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais paramétrés de manières différentes [13] :

#### - MM2/MM3/MM4

MM2 est le premier champ de force développé par Allinger et col. [14-16]. Il a été conçu au début pour les molécules simples (alcane, alcène, alcyne non conjugués, amine...), mais ses versions améliorées MM3 (1989) [17] et MM4 (1996) [18] lui permettent de traiter des molécules organiques de plus en plus complexes.

#### - OPLS

Le programme OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations), comme l'indique son nom, est conçu pour optimiser le potentiel qui permet la description des propriétés de solvation. Il est écrit par W. L. Jorgensen et J. Tirado Rives [19].

#### - GROMOS

GROMOS (Groningen Molecular Simulation Program Package), est écrit par Van Gunsteren [20] et conçu spécialement pour les biomolécules en milieu aqueux en vue de l'étude des interactions entre les molécules d'eau et les groupements polaires des protéines.

#### - CHARMM (Bio+)

CHARMM (Chemistry at HARvard Molecular mechanics), développé par Karplus et col [21,22], pour le calcul de biomolécules. Son concept est semblable à celui d'AMBER. Bien qu'au début, ce champ de force est conçu pour les acides aminés et les protéines, maintenant il traite d'autres biomolécules.

#### - SPASIBA

(Spectroscopic Potential Algorithm for simulating biomolecular conformational Adaptability), élaboré par Gérard Vergoten et col. (1995). Il combine le champ de force spectroscopique modifié d'Urey-Bradley-Shimanouchi [23] et le champ de force AMBER. Il permet de trouver les structures, les énergies de conformation et les fréquences vibrationnelles au minimum énergétique d'une molécule [24].

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

### - EMO

Le programme Emo (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaive [25,26], il est basé sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :

- Menu 1 : entrée de la molécule à l'aide d'un clavier.
- Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.
- Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire.

### - AMBER

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement), a été décrit par Kollman [27]. Le champ est paramétré pour les protéines et les acides nucléiques (UCSF, 1994). Il a été utilisé pour les polymères et pour d'autres petites molécules.

## 2. Dynamique Moléculaire

### 2.1. Principe de la dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire consiste à étudier la trajectoire d'une molécule en lui appliquant les lois de la mécanique classique newtonienne [28]. Une molécule est considérée comme un assemblage d'atomes dont les positions spatiales varient au cours du temps. Chaque atome est considéré comme une masse ponctuelle dont le mouvement est déterminé par l'ensemble des forces qui s'exercent sur elle [29]. Il en résulte un mouvement atomique correspondant à des oscillations autour d'un minimum d'énergie ou au passage d'un de ces minima à un autre. La dynamique moléculaire possède ainsi la faculté d'extraire la molécule d'un minimum local. Cette technique repose sur l'intégration des équations de mouvements de Newton pour chaque atome  $i$  :

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

$$\vec{F}_i(t) = m_i \cdot \vec{a}_i(t) \quad (1)$$

Où :

$m_i$  : Masse de l'atome i

$\vec{a}_i$  : Accélération de l'atome i

$\vec{F}_i$  : Force s'exerçant sur l'atome i

L'accélération étant dérivée des coordonnées  $\vec{r}_i(t)$  d'un atome i à un instant t, on en déduit que :

$$\vec{F}_i(t) = m_i \cdot \frac{d\vec{v}_i(t)}{dt} = m_i \cdot \frac{d^2\vec{r}_i(t)}{dt^2} \quad (2)$$

Si  $\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n$  sont les coordonnées des différents atomes à un instant t, on peut déterminer la force  $\vec{F}_i$  qui s'exerce à cet instant sur un atome i par dérivation par rapport à ses coordonnées spatiales de la fonction énergie potentielle  $E(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n)$

Pour obtenir la trajectoire des atomes en fonction du temps, on va réaliser une intégration numérique sur un court intervalle de temps des équations de mouvements. Ces équations de mouvements sont déterminées. Il faut, pour réaliser une simulation de dynamique moléculaire, partir d'une structure raisonnable du système (expérimentale ou modèle) que l'on veut étudier et on déterminera les coordonnées et vitesses initiales en procédant ainsi :

- Une minimisation d'énergie du système fournira le jeu de coordonnées de départ de la dynamique. Cette étape de minimisation nécessaire permet d'éviter qu'une énergie mécanique trop forte ne détériore l'assemblage moléculaire dès le début de la production de dynamique moléculaire.

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

- Les vitesses de départ des atomes sont attribuées aléatoirement à partir d'une distribution gaussienne de maxwell-Boltzman correspondant à la température T [30].

### 2.2. Un calcul de dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire requiert un jeu de coordonnées et vitesses initiales. La géométrie de départ utilisée provient d'une structure établie expérimentalement lorsque c'est possible, sinon elle générée à partir du champ de force utilisé. L'énergie du système est minimisée afin d'éliminer toutes les interactions fortement défavorables, qui, si elles étaient conservées, perturberaient la simulation. Les vitesses initiales sont attribuées selon la statistique de Boltzmann.

Une dynamique moléculaire se compose de trois phases distinctes :

#### **Thermalisation**

Il s'agit de chauffer le système pour l'amener à la température souhaitée.

On utilise comme structure initiale la structure minimisée.

On tire aléatoirement le jeu de vitesse initiale, soit à Zéro à des vitesses correspondants à quelques dizaines de Kelvin. On intègre ainsi les équations du mouvement en multipliant régulièrement les vitesses afin d'augmenter la température jusqu'à la température de référence (généralement 300K).

Une montée en température demande en général 2 à 10ps de simulation (200 à 1000 pas d'intégration  $\Delta t$ ).

#### **Equilibration**

C'est une phase importante au cours de laquelle on stabilise la température du système, il y a alors un échange important entre énergie potentielle et énergie cinétique. C'est une phase où on contrôle régulièrement la température que l'on ramène dans 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 par la formule :

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

$$d/dtT = \dagger^{-1} (T_0 - T)$$

Avec  $\dagger$  : temps de relaxation

$T_0$  : Température de référence

$T$  : Température du système

Durant la phase d'équilibration la valeur de  $\dagger$  doit être assez petite pour permettre un couplage efficace (généralement  $\dagger = 10$  fs) Cette phase peut durer de 10 à 20 ps.

### **Dynamique ou production**

C'est la phase réellement exploitable qui dure en moyenne de 60 à 100 ps. Au cours de cette simulation, on doit sauvegarder les conformations, énergies..., toutes les 0.05 ou 0.1 ps.

La dynamique la plus classique se fait à température constante avec un scaling des vitesses, mais un temps de relaxation plus grand (0.1 à 0.4 ps) pour permettre d'évaluer l'équilibre propre du système.

## **3. Docking Moléculaire**

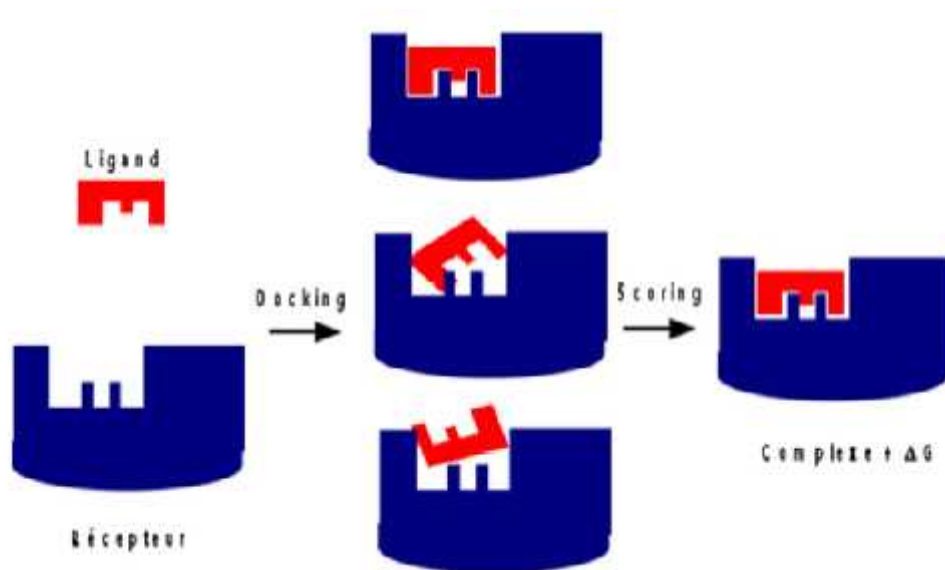
### **3.1. Principes théoriques**

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [31]. Le docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring.

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

- La première (le 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'interaction les plus favorables. Bien que pouvant être faite manuellement, cette étape est le plus souvent exécutée de manière automatisée à l'aide d'algorithmes de docking, ce qui améliore la vitesse et la précision des simulations.

- La deuxième (scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente. Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommées fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonnent ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables [31,32].



**Figure 3 :** Principe général d'un programme de docking

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

### 3.2. Algorithmes du docking

En principe, un docking peut être fait de façon manuelle, directement par le modélisateur, en plaçant le ligand dans le site actif de la protéine à l'aide d'une interface graphique. Ensuite, la géométrie de l'ensemble est optimisée de manière à corriger les problèmes stériques et obtenir un complexe énergétiquement stable. Cette approche est appliquée quand on a une idée précise du mode d'interaction réel du ligand [33]. Néanmoins, le plus souvent, le mode d'interaction réel n'est pas connu. Dans ce cas, tester manuellement toutes les conformations et orientations des ligands s'avère impossible d'un point de vue pratique, même en considérant la protéine comme un corps rigide. Pour contourner cette difficulté, les algorithmes de docking ont été conçus pour rechercher de façon objective, rapide et efficace les modes d'association protéine-ligand les plus favorables [34].

### 3.3. Fonctions de scores

La procédure de docking permet de générer une liste de complexes représentant les modes d'association favorables entre le ligand et le récepteur macromoléculaire. L'étape suivante consiste à évaluer ces complexes, afin de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel.

L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques : les interactions hydrophobes, les interactions électrostatiques et les liaisons hydrogène [35].

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

### References:

- [1] A.R. Leach. *Molecular Modelling: Principles and applications*, Prentice Hall, New Jersey, 2001.
- [2] J.G.S. Mala, S. Tekeuchi. *Understanding structural features of microbial lipases – an overview*. Analytical Chemistry Insights, 9-19; 2008.
- [3] H. Toulhoat. *Modélisation Moléculaire – Bases théoriques : des propriétés microscopiques aux propriétés macroscopiques*. Techniques de l'ingénieur J 1-013 ; 2007.
- [4] D. Joseph-McCarthy. *Computational approaches to structure-based ligand design*. Pharmacology & Therapeutics 84, 179-191; 2000.
- [5] W.J. Geldenhuys, K.E. Gaasch, M. Watson, D.D. Allen, C.J. Van Der Schyf. *Optimizing the use of open - source software applications in drug discovery*. Drug Discovery Today 11, 127-132; 2006.
- [6] P. Braiuca, C. Ebert, A. Basso, P. Linda, L. Gardossi. *Computational methods to rationalize experimental strategies in biocatalysis*. Trends in biotechnology 24, 419-425; 2006.
- [7] A.J. Mulholland. *Modeling enzyme reaction mechanisms, specificity and catalysis*. Drug Discovery Today 10, 1393-1402; 2005.
- [8] R. Wohlgemuth. *The locks and keys to industrial biotechnology*. New Biotechnology (2009).
- [9] Z. Qian, C.J. Fields, Y. Yu, S. Lutz. *Recent progress in engineering / hydrolase-fold family members*. Biotechnology Journal 2, 2007.
- [10] J. Damborsky, J. Brezovsky. *Computational tools for designing and engineering biocatalysts*. Current Opinion in Chemical Biology 13 26-34, 2009.
- [11] A. Soldera. *Modélisation moléculaire des polymères linéaires*. Techniques de l'ingénieur AF 6-042, 2007.
- [12] M.J. McQuaid, H. Sun, D. Rigby. *Development of COMPASS force field for molecules with aliphatic azide chains*. Journal of Computational Chemistry 25, 61-71; 2004.
- [13] S.M. Mekelleche. *Cours de post-graduation; option; chimie théorique: 2000-2001*.
- [14] J.E. Williams, P. Von, R. Schleyer. *Physic-Chemistry*, P19, 1968.
- [15] U. Burkett, N.L. Allinger, "Molecular Mechanics", J.A.C.S., Washington, P45. 1982.
- [16] M. Baaden, *Outils pour étudier la structure et la dynamique des peptides et des protéines*, (Institut de Biologie Physico-chimique, PARIS) CNRS UPR9080, P36. 2003.

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

- [17] J.S. Lomas, *l'actualité chimique, La Mécanique Moléculaire, une méthode non quantique pour le calcul de la structure et de l'énergie d'entité moléculaire*, P7. 1986.
- [18] D. Liotta, *Advances in Molecular Modeling*, Ed. JAI Press, P1. 1988.
- [19] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, John Wiley & Sons, Chichester. 2001.
- [20] G. Monard, *Introduction à la Modélisation Moléculaire*, Formation continue CNRS-Nancy. 2003.
- [21] J.P. Browen, N.L. Allinger, in: K.B. Boyd (Eds.) reviews in computational chemistry, *VCH*, New York, P2. 1991.
- [22] U. Brkert, N.L. Allinger, "*Molecular Mechanics*", ACS Monograph, ACS, Washington, D. C, P177. 1982.
- [23] P. Comba, T.W. Hambley, "*Molecular Modeling of Inorganic Compounds*", VCH, New York, 1995.
- [24] K.B. Lipkowitz, *Abuses of molecular mechanics: Pitfalls to avoid. J. Chem.*, 1070-1075. 1995.
- [25] S. Diego, Discover, user guide, ed. Biosym/MSI. 1995.
- [26] N.L. Allinger, K. Chen, J.A. Katzenellenbogen, S.R. Willson, G.M. Anstead, *J. Como.Chem.*, 747. 1996.
- [27] N.L. Allinger, *Adv. Phys. Org. Chem*, 1. 1976.
- [28] D. Frenkel, B. Smit, *Understanding molecular simulations: From algorithms to Applications*, Academic press: San, Diego, 1996.
- [29] J.C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R.D. Skeel, L. Kale, K. Schulten. *Scalable molecular dynamics with NAMD*. *Journal of Computational Chemistry* 26 1781-1802; 2005.
- [30] P. Rabinowitz, P.J. Davis. *Methods of Numerical Integration* 2007.
- [31] 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* 49, 5912-5931; 2006.
- [32] I. Helperin, B. Ma, H. Wolfson, R. Nussinov. *Principles of dockings: an overview of search algorithms and a guide to scoring functions*. *PROTEINS: Structure, function and Bioinformatics* 47, 409-443; 2002.

## CHAPITRE 2 : LES PRINCIPALES APPROCHES DE LA MODELISATION MOLECULAIRE

[33]B. Coupez, R.A. Lewis. *Docking and scoring – theoretically easy, practically impossible?* Current Medicinal Chemistry 13, 2995-3003; 2006.

[34] A.R. Leach, B.K. Shoichet, C.E. Peishoff. *Prediction of protein-ligand interactions. Docking and scoring: successes and gaps.* Journal of Medicinal Chemistry 49, 5851-5855; 2006.

[35]N. Foloppe, R. Hubbard. *Towards predictive ligand design with free-energy based computational methods?* Current Medicinal Chemistry 13, 3583-3608; 2006.

### MATERIELS ET METHODES

Dans ce chapitre, nous présentons le matériel utilisé ainsi que les méthodes qui ont été exploitées dans le cadre de notre travail.

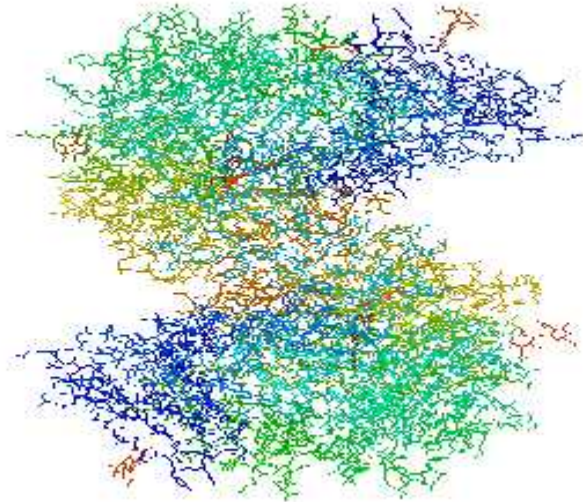
#### 1. Matériels

##### 1.1. Présentation des enzymes

Nous avons choisis trois enzymes pour effectuer ce travail. Ces enzymes sont : Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4), Maltase - Glucoamylase (MGA) et Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3). Les trois enzymes sont impliquées dans la maladie de diabète type 2.

##### 1.1.1. Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4)

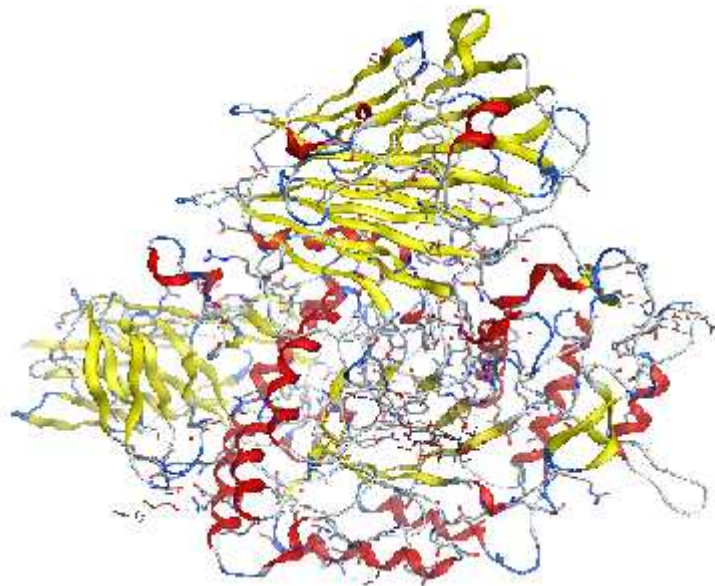
DPP-4 est le nom abrégé de l'enzyme appelée dipeptidylpeptidase 4, cette dernière décompose deux hormones intestinales appelées incrétines. Les incrétines sont produites dans l'intestin quand la nourriture est consommée, et ils stimulent la sécrétion d'insuline, ce qui abaisse le taux de glucose dans le sang. Dans la maladie connue sous le nom de diabète de type 2, il n'y a pas suffisamment d'insuline, ou alors il est moins efficace, et les niveaux de glucose dans le sang augmentent. Des médicaments pour traiter le diabète de type 2 ont été développés afin d'inhiber DPP-4, en empêchant la dégradation des incrétines et donc de prolonger la sécrétion d'insuline, ce qui augmente son effet [1]. La DPP-4 se trouve dans un certain nombre de sites différents dans le corps humain, y compris les cellules qui tapissent les petites artères dans l'intestin [2].



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

### 1.1.2. Maltase –glucoamylase (MGA)

Maltase - glucoamylase est une enzyme digestive de saccharides. Elle existe principalement dans la muqueuse et sa fonction est d'hydrolyser le maltose [3]. Exprimé dans le rein, l'intestin grêle et les granulocytes, Maltase–glucoamylase (MGA) est l'une des enzymes de la bordure en brosse membrane qui joue un rôle dans la digestion finale de l'amidon [4].

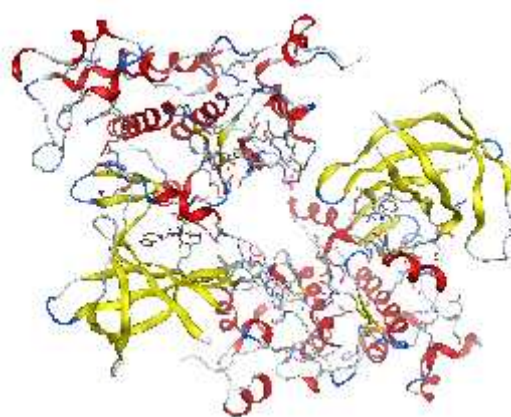


**Figure 2** : Maltase - glucoamylase (2QMJ)

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

### 1.1.3. Glycogène synthase kinase-3(GSK-3)

Glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) est un régulateur important de différentes voies de transduction du signal, les processus de régulation telles que la synthèse de glycogène insulino-dépendant, des microtubules fonction, la polarité cellulaire, l'adhésion cellulaire, la survie cellulaire [5], la synthèse des protéines et la fonction d'entrée de certains transcription facteurs. Une mauvaise signalisation GSK-3 a été associée à des maladies telles que la maladie d'Alzheimer, et le diabète de type 2[6].



**Figure 3:**Glycogène synthase kinase-3(3F7Z)

**Tableau 1 :** Les données cristallographique pour les trois enzymes

Enzymes	Classification	Poids moléculaire (KDa)	Chaîne	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	= 90.00 = 90.00 = 90.00	2.43
la MGA code PDB 2QMJ	Hydrolase	119848.38	A	a = 86.97 b = 109.37 c =109.27	= 90.00 = 90.00 = 90.00	1.90
la GSK-3code PDB 3F7Z	Transférèse	120139.01	A, B	a = 67.62 b = 117.23 c =67.35	= 90.00 = 102.71 = 90.00	2.40

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

### 1.2. Présentation des inhibiteurs

Nous avons choisi pour l'inhibition de nos trois enzymes, les inhibiteurs suivants:

- Rébaudioside A et le stéviolside (produits extraits de la plante *Stevia*).
- Des médicaments : la sitagliptine, linagliptine, saxagliptine, alogliptine et vildagliptine.

#### 1.2.1. Plante *Stévia*

*Stevia rebaudiana* est une plante de la famille des Astéracées (comme le pissenlit, la chicorée...). La *stevia* est originaire de la vallée de Rio Monday dans le nord-est du Paraguay. Les Indiens Guarani l'appelaient Ka'a-hée, ce qui signifie « herbe sucrée », et ils l'utilisaient pour sucrer les boissons amères comme le mate [7]. La particularité de cette plante est de renfermer dans ses feuilles des composés qui leur donnent un goût sucré. Pour cette raison la *stévia* est utilisée depuis des siècles en Amérique du sud pour sucrer les boissons et les aliments [8]. Les feuilles de *stévia* contiennent des glycosides, qui sont, pour une grande part, des Steviolosides et le Rébaudioside A. Cette molécule, jusqu'à 300 fois plus sucrée que le sucre, ne contient aucune calorie (car elle n'est pas métabolisée par l'organisme) [9]. Le *stéviolside* est très utilisée au Japon depuis la préférence donnée aux édulcorants naturels en 1970, mais aussi en Amérique latine, en Chine, en Corée. La production commerciale a principalement lieu en Amérique Centrale, aux États-Unis, en Thaïlande et en Chine [10].

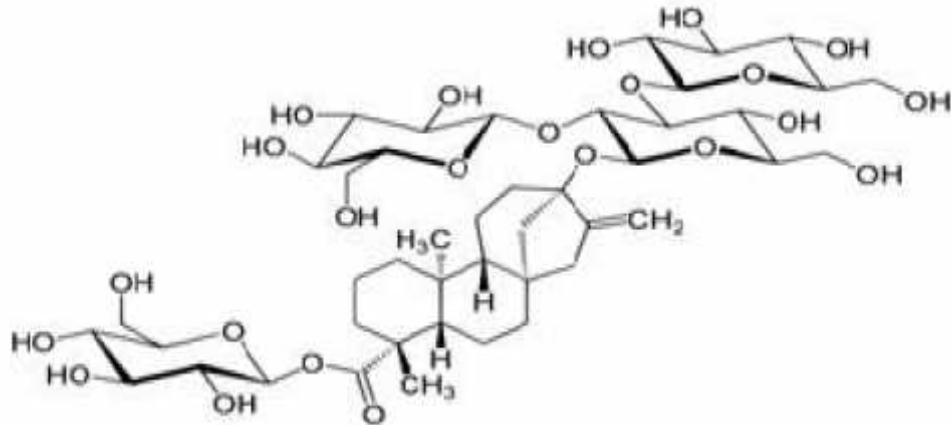


**Figure 4 :** plante *Stevia*

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

### a. Rebaudioside A (Inhibiteur 1)

Le rébaudioside A est un édulcorant intense d'origine naturelle. Il est obtenu par extraction des feuilles de *Steviarebaudiana* Bertoni. Il est utilisé pour donner une saveur sucrée aux denrées alimentaires ou utilisé dans les édulcorants de table [11,12].

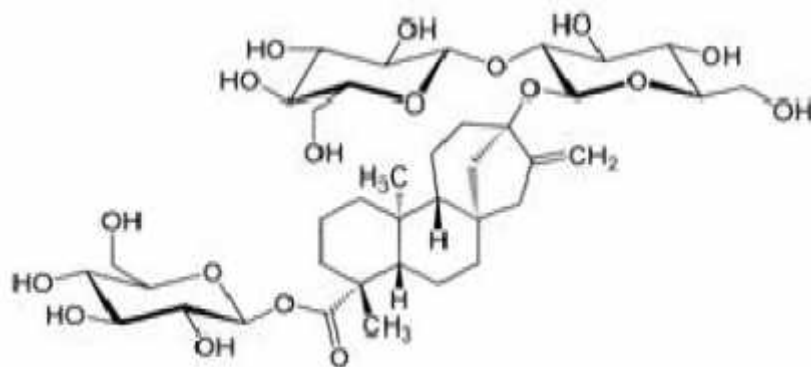


**Figure 5 :** Rebaudioside A

### b. Stevioside (Inhibiteur 2)

Stéviocide est un édulcorant naturel extrait des feuilles de *Steviarebaudiana* (Bertoni). Il s'agit d'un glycoside connu pour son pouvoir sucrant intense, et pour cette raison, leur utilisation comme édulcorant [13].

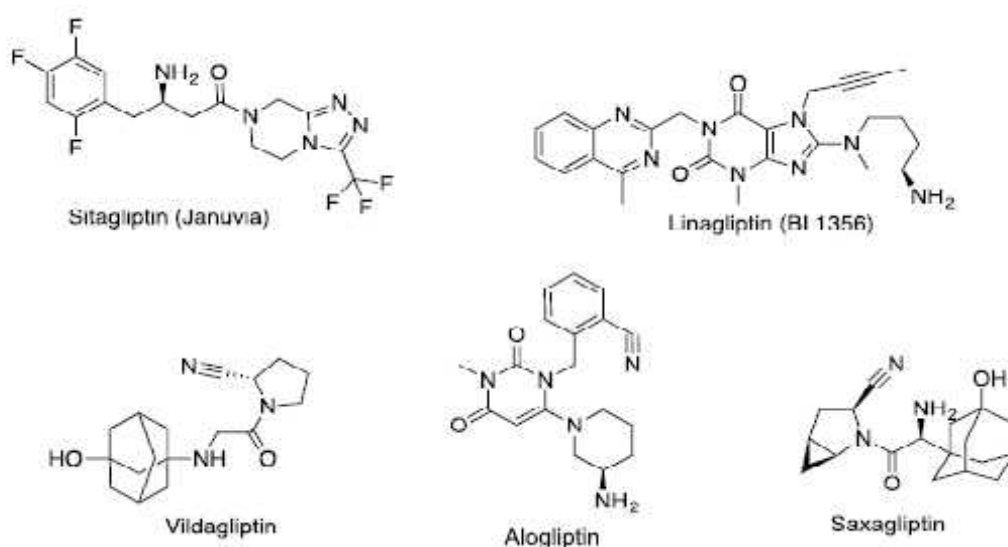
Stéviocide est un produit majeur de l'extraction de Stevia.



**Figure 6 :** Stevioside

### 1.2.2. Les gliptines (inhibiteur de la DPP-4)

Les gliptines sont des inhibiteurs compétitifs puissants et sélectifs de la DPP4 utilisés dans le traitement du diabète de type 2. Les plus connus sont la sitagliptine (Januvia), linagliptine, saxagliptine, alogliptine et vildagliptine (Galvus). Il est important de souligner que ces inhibiteurs sont des petites molécules stables qui peuvent être prises par voie orale, sous forme de comprimés. En inhibant la DPP-4, ces molécules entraînent une augmentation importante de la concentration de GLP-1 et de GIP ce qui provoque une augmentation de la sécrétion d'insuline et une diminution de la sécrétion de glucagon [14].



**Figure 7** : Les gliptines

### 1.3. Ressources informatiques

#### 1.3.1. Ordinateurs

Trois ordinateurs 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.
- Un processeurPentium(R) Dual-Core CPU E5700 @ 3,00 GHz avec 6,00 de mémoire RAM.

#### 1.3.2. Logiciels utilisés

- **Hyperchem 8.0**

Hyperchem 8.0 est un logiciel de modélisation moléculaire développé par Autodesk, et distribué par hyper cube, (Ontario, Canada) [15]. C'est un logiciel sophistiqué, qui est connu pour sa qualité, sa flexibilité et sa facilité d'usage. Unissant l'animation et la visualisation 3D, hyperchem peut faire des calculs de mécanique, de dynamique moléculaire et même quantiques.

- **Hexe 6.3**

Hexe est un logiciel de docking moléculaire développé par Dave Ritchie [16]. Il utilise une représentation des surfaces moléculaires des protéines par l'utilisation d'harmoniques sphériques.

- **Rasmol**

Le logiciel Rasmol :

- Fonctionne sous Windows
- Il est exploitable à partir d'un ensemble de deux fenêtres [17] :

Une fenêtre donnant l'accès à des macros commandes (menu) et à l'affichage de l'image et une deuxième dans laquelle, à la fois on récupère des informations

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

(Séquence, position, distance...) et on signifie les instructions en utilisant un langage simple de commande.

Il ouvre des fichiers de molécules assez volumineuses (plus de 1000 atomes).

- Un comporte des fonctions d'affichage des informations (nom de la molécule, sa séquence par chaîne, ses structures) qui sont lues dans le fichier PDB.
- Il permet d'avoir différents modes de visualisation du modèle moléculaire : sphères, bâtonnets, sphères et bâtonnets, ruban.

### ▪ EMO

Le programme Emo (Energy Of Molecule), est développé par B. Blaise [18-21], il est basé sur le champ de force MM2. Il est articulé autour de trois menus :

- Menu 1 : entrée de la molécule à l'aide d'un clavier.
- Menu 2 : manipulation géométrique sur la molécule.
- Menu 3 : minimisation de l'énergie par mécanique moléculaire.

### ▪ 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 tâches 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 dockner 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 [22]. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand co-cristallisateur.

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

### ▪ Origine

Origine est un logiciel de traitement et d'analyse de données scientifiques pour environnement Microsoft Windows développé par OriginLab [23].

Il permet notamment de tracer des graphes 2D et 3D et possède des fonctions d'analyse de pics. Il est aussi capable d'importer des fichiers de divers formats tels que Excel, ASCII, Mathematica ou Sigma Plot, et d'exporter les graphes sous format JPEG, GIF, Tiffetc

### ▪ GOLD (version 2016)

Le logiciel GOLD (*Genetic Optimisation for Ligand Docking*) est l'un des programmes de docking les plus réussis et largement utilisés. Il est basé sur trois parties majeures : un algorithme génétique pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site actif et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison. Ses principaux avantages sont sa fiabilité à prédire des structures cristallographiques pour des complexes de type protéine-ligand et l'emploi d'un algorithme génétique efficace [24]. De plus, le logiciel dispose d'une interface graphique simple d'emploi, et aisément scriptable et s'adapte particulièrement bien aux environnements de calcul parallèle.

## 2. Méthodes

### 2.1. Traitement des enzymes

Pour simplifier l'enzyme on doit procéder aux étapes suivantes :

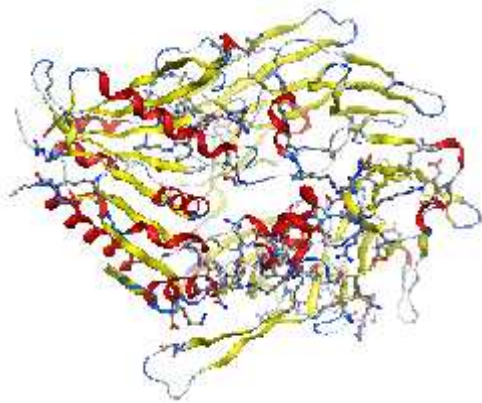
- Le téléchargement des enzymes à partir de la base de données : rcsb ; **Bookhaven Protein Data Bank** (chaque protéine à son code).
- Eliminer les molécules d'eau.
- Eliminer certains résidus, ceux ne participant pas à la réaction catalytique de l'enzyme.
- Eliminer les molécules de Co-cristallisation pour aboutir à un model simplifier.
- Identifier le site actif de chaque protéine.

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

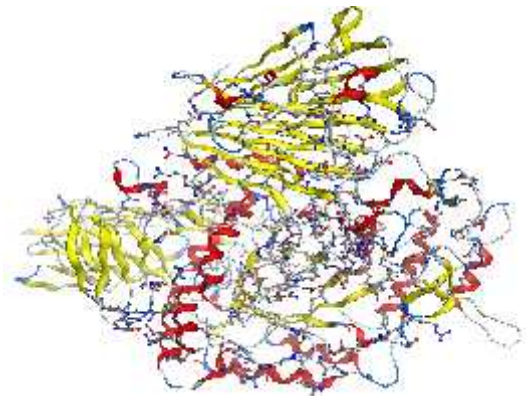
Le téléchargement des trois enzymes a été exécuté à partir de la base de données "Book haven Protein Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb))" [1]

- Dipeptidyl Peptidase-4 (code d'accès 3F8S) (Figure 1)
- Maltase - glucoamylase (code d'accès 2QMJ) (Figure 2)
- Glycogène synthase kinase-3 (code d'accès 3F7Z) (Figure 3)

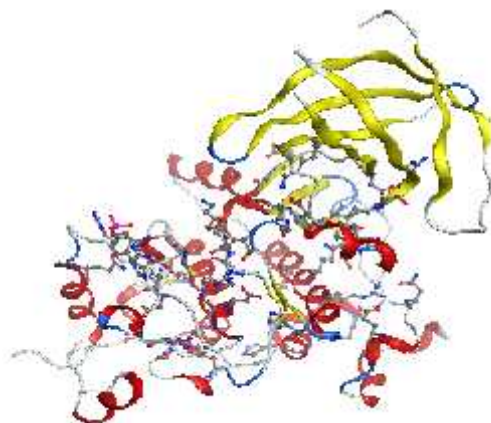
Avec l'effet réducteur de la modélisation moléculaire, le modèle de l'enzyme obtenu par l'élimination d'une chaîne de chaque enzyme et des molécules d'eau ainsi que les molécules de Co-cristallisation, nous a permis d'obtenir le modèle suivant :



**Figure 8 :** Modèle simplifié de Dipeptidyl peptidase-4



**Figure 9 :** Modèle simplifié de Maltase glucoamylase



**Figure 10 :** Modèle simplifié Glycogène synthase kinase-3

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

Après la préparation des enzymes, nous allons effectuer un calcul de mécanique moléculaire (optimisation de la géométrie moléculaire) et un calcul dynamique moléculaire pour les trois enzymes étudiées avec les différents logiciels utilisés : Hyperchem, MOE et Gold.

### **2.2. Traitement des ligands**

Les ligands sont des molécules qui sont capables de se loger dans le site actif de l'enzyme.

Ainsi nous commençons par dessiner nos molécules à l'aide des logiciels EMO, Hyperchem 8 et MOE puis nous les minimisons de manière à avoir la meilleure conformation possible. Ensuite nous allons effectuer un calcul de dynamique moléculaire pour chercher la conformation la plus stable.

### **2.3. Docking moléculaire**

Après la préparation des enzymes et les inhibiteurs nous arrivons à l'étape du docking moléculaire c.à.d. le positionnement des inhibiteurs dans le site actif de l'enzyme ; une fois que le complexe est formé nous allons effectuer un calcul de mécanique et dynamique moléculaire pour chercher la conformation la plus stable, et enfin l'analyse des résultats.

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

### References

- [1]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.
- [2]R.Sheikhpour, Incretins, dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and diabetes: New medicines for diabetes, Broché, P112, 2012.
- [3]R. Limei, Q. Xiaohang, C. XiaoFang, L. Wang, B.Fang, B.Gang, Y.Shen, Structural insight into substrate specificity of human intestinal Maltase –glucoamylase, Protein & Cell, Springer, P827-836, 2011.
- [4]R. Quezada-Calvillo, F. Rodriguez and B.J. Underdown, Partial characterization of murine intestinal maltase–glucoamylase, Biochemical and Biophysical Research Communications, P394–400, 2002.
- [5]S.E. Nikoulina, T.P. Ciaraldi, S. Mudaliar, P. Mohideen, L. Carter, and R. Henry, Potential Role of Glycogen Synthase Kinase-3 in Skeletal Muscle Insulin Resistance of Type 2 Diabetes, Diabetes, Vol 49, February 2000.
- [6]F. Lo Monte, T. Kramer, A. Boländer, B. Plotkin, H.E. Finkelman, A. Fuertes, J. Dominguez, and B. Schmidt, Synthesis and biological evaluation of glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) inhibitors: A fast and atom efficient access to 1-aryl-3-benzylureas, Elsevier, Bioorganic & Medicinal Chemistry, P 5610–5615, 2011.
- [7] N. Melina & G. Vuilleumier: Stevia une histoire aigre douce, Filière Nutrition et diététique Haute école de santé Genève, juin 2008.
- [8]M. Tadhani, C. Patel, & R. Subhash, In vitro antioxidant activities of Stevia rebaudiana leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 323-329, 2006.
- [9]D. Massin & F. Bellisle, Les édulcorants intenses: considérations toxicologiques et pondérales. *Lettre Scientifique de l'Institut Français pour la Nutrition*, (117), 1-7, 2007.
- [10]M.C. Carakostas, L.L. Curry, A.C. Boileau, D.J. Brusick, and Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages, *Food and Chemical Toxicology*: 10.1016/j.fct.2008.05.003, 2008.

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

- [11] J.M.C. Geuns "Stevia: six month beyond authorisation", EUPRINT, P226, 2012.
- [12] J.M.C. Geuns "Estevia y glicósidos de esteviol", EUPRINT, P307, 2010.
- [13] D. Sirshendu, S. Mondal, S. Banerjee. *Stevioside: Technology, Applications and Health*, John Wiley & Sons Inc, P248, 2012.
- [14] P. Allain, Les gliptines, sitagliptine et vildagliptine, antidiabétiques [En ligne] <http://www.pharmacorama.com/ezine/gliptines-sitagliptine-vildagliptineantidiabetiques.php>. Consulté le: [10-3-2011].
- [15] D. W. Ritchie, Evaluation of protein docking predictions using Hex 6.3 in CAPRI rounds 1 and 2. *Proteins*, 52(1):98–106, 2003.
- [16] Hyperchem (Molecular Modelling System) Hypercube, Inc. USA 2007.
- [17] H.J. Bernstein, RasMol 2.7.1, Molecular graphics, Biomolecular Structures Group, copyright © 1998-1999.
- [18] A. Bouraoui, M. Fathallah, B. Blaive, R. Gallo, *J.Chem.Soc. Perkin Trans.* 1211-1214, 1990.
- [19] A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo, "Modeling of Molecular Structures and Properties". Proceeding of an International Meeting Nancy, France, 11-15, ed, J.L. Rivail, *Studies in Physical and Theoretical chemistry*, 381-393, Septembre 1989.
- [20] A. Zinelabidine, A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 267-274. 1993.
- [21] B. Blaive, G. Legsai, R. Lai, *J. Mol. Struct.* 245-250, 1995.
- [22] Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada 10, 2012.
- [23] All rights reserved. No part of the contents of this book may be reproduced or transmitted in any form or by any means without the written permission of Origin Lab Corporation. Copyright © by Origin Lab Corporation First Edition, 2007.
- [24] G. Jones, P. Willett, R. C. Glen, A. R. Leach, R. Taylor. Development and validation of a Genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* 267: 727-48, 1997.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

La discussion que nous allons engager portera sur la nature des distances entre les résidus du site actif du récepteur et le ligand, aussi l'interprétation s'appuiera sur le nombre d'interactions efficaces caractérisées par les distances comprises entre 2.1 Å et 3.5 Å. la valeur fixée pour le logiciel est inférieure ou égale à 3.5 Å.

Sur la base des résultats effectués et après examen des valeurs des distances il ressort qu'il va falloir :

Tenir compte de certain paramètre en l'occurrence :

Les interactions :

- ✓ Liaison Hydrogène
- ✓ VDW
- ✓ Electrostatique
- ✓ Hydrophobe
- ✓ Hydrophile
- ✓ Lipophile

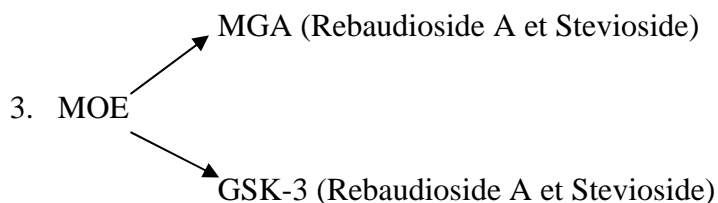
Il est à signaler qu'il faut tenir compte de l'ordre de la gouvernance des paramètres régissant la stabilité des complexes.

### Les points communs

- Enzyme DPP-4 (7 ligands) (GOLD et Hex6.3)
- Enzymes MGA et GSK-3 (2ligands) (MOE)

1. DPP-4 (GOLD) 5 ligands (analogues de januvia)

2. DPP-4 (Hex6.3) 2 ligands (extrait de stevia : Rebaudioside A et Stevioside)



## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Il s'agit de comprendre son mode de fonctionnement et donc définir quels sont les résidus mis en jeu, à savoir:

- L'affinité entre deux molécules.
- Les distances entre les résidus du site actif du récepteur et des ligands.
- 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 donc des outils très utiles en biologie, chimie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (substrat) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur, cible), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [1].

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

Au niveau ce chapitre, nous présentons la discussion des résultats obtenus. Il s'agit de l'étude des interactions entre différents inhibiteurs et différentes enzymes par les méthodes de la modélisation moléculaire. Nous avons englobé tous les résultats de calcul effectués dans ces ensemble d'approches 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 de l'inhibiteurs.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Trois approches ont été effectuées dans le cadre de cette thèse. Elles ont permis de produire des résultats jugés importants qui ont fait l'objet des publications dans des revues scientifiques:

**Etude 1:**«Study of Interaction between Dipeptidyl Peptidase-4 and Products Extracted From the Stevia Plant by Molecular Modeling».

**Etude 2:**« Study of Interaction between enzymes (maltase - glucoamylase (2QMJ) and glycogen synthase kinase-3 (3F7Z)) and Products Extracted from the Stevia Plant by Molecular Modeling ».

**Etude 3:**« Design of new inhibitors of dipeptidyl peptidase-4 in type 2 diabetes by computer simulation »

### I. Résultats et discussion

#### 1. Résultat de la première approche

Dans cette partie nous avons étudié l'approche de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) avec deux inhibiteurs Rebaudioside A et Stevioside.

La formation des complexes et le calcul des énergies d'interactions sont réalisés par les programmes EMO, Hyperchem8.0, Rasmol, Hex6.3, Origine.

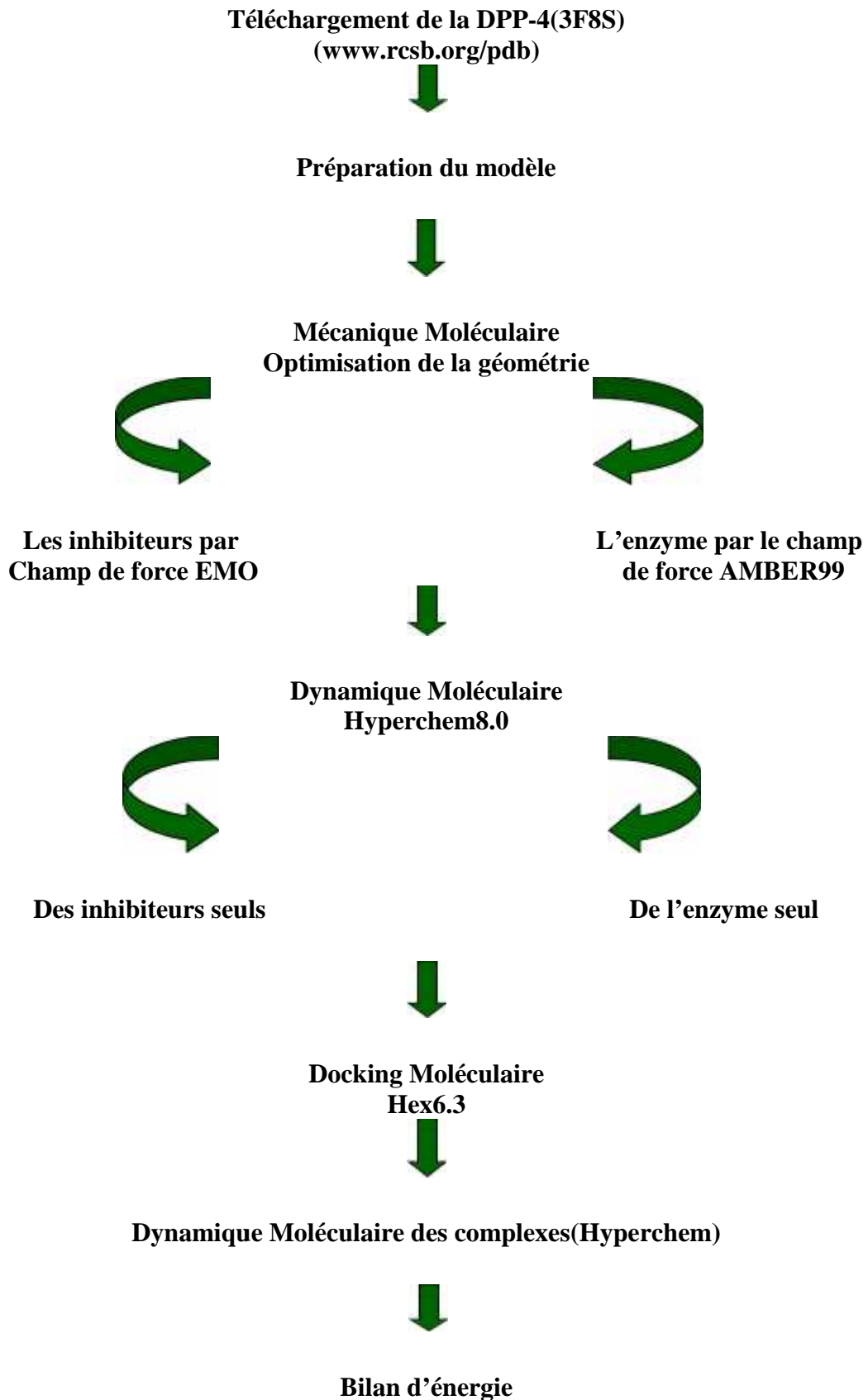
Les calculs exécutés pour cette étude sont :

- 1-Un calcul de mécanique moléculaire (optimisation de la géométrie moléculaire).
- 2- Un calcul de dynamique moléculaire effectué pour toutes les structures de départ (DPP-4 seule, inhibiteurs seuls).
  - a. Le positionnement des inhibiteurs dans le site actif de la DPP-4.
  - b. Une fois que le complexe (DPP-4-Inhibiteur) est formé, celui-ci va adopter la conformation la plus stable correspondant au niveau énergétique le plus faible et c'est cette conformation qui sera recherchée lors des simulations par dynamique moléculaire effectuée pour l'ensemble des complexes formés.

La discussion des résultats de calcul est basée sur les résultats de l'énergie d'interaction obtenus entre la DPP-4 et les inhibiteurs.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Les procédures de calculs sont rassemblées dans l'organigramme suivant :



## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 1.1. Minimisation de l'énergie

Les méthodes de minimisation ont deux rôles principaux :

- Le premier à un rôle d'auxiliaire d'autres méthodes, par exemple pour effectuer une analyse et avant d'entreprendre le calcul d'une trajectoire de dynamique moléculaire, il peut s'avérer nécessaire d'optimiser une structure, c'est à dire d'éliminer toutes les interactions stériques fortement défavorables [2].
- Le second rôle est celui de l'exploration de l'espace conformationnel. Cela permet d'avoir une estimation de la barrière de potentiel entre deux conformations.

L'objectif des méthodes de minimisation est extrêmement simple : étant donné une fonction d'une ou plusieurs variables indépendantes, il s'agit de trouver la valeur de la variable pour laquelle la fonction est la plus faible.

La minimisation de l'énergie d'une molécule est faite en deux étapes :

Tout d'abord, une équation décrivant l'énergie du système est exprimée en fonction des coordonnées des atomes. Puis cette équation sera définie et évaluée pour une conformation donnée. Ensuite, la conformation est ajustée à la valeur minimale de cette équation. Un minimum peut être obtenu après un ajustement, ou par contre, il peut être demandé plusieurs milliers d'itérations, dépendant de la nature de l'algorithme utilisé, du type d'équation utilisée et de la taille de la molécule.

La minimisation a été effectuée sur la DPP-4 seule, les ligands seuls et les complexes.

#### 1.1.1. L'optimisation de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)

L'optimisation de la géométrie de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) a été effectuée à l'aide du champ de forces Amber99 [3] implanté dans le logiciel Hyperchem8.0 version professionnelle.

La chaîne principale a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles. Cette approximation permet aux chaînes latérales des protéines de trouver plus facilement la position dans laquelle les interactions sont les plus favorables.

La valeur de l'énergie de l'enzyme après optimisation est :  $E_{Opt} = -4184.0639$  Kcal/mol

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 1.1.2. L'optimisation des substrats

La construction et l'optimisation des ligands étaient réalisées par le programme EMO (Energie d'une Molécule) [4].

-La minimisation de l'énergie stérique des ligands a été effectuée en utilisant l'optimisation «SCAN», qui permet :

- Un balayage de la surface d'énergie,
- Eliminer les conformères les moins probablement stables,
- Eviter les minima locaux.

-Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau suivant :

**Tableau 1** : Les résultats obtenus à l'aide du programme EMO

<b>Energie sterique (KJ/mol)</b>	<b>Elongation</b>	<b>Valence</b>	<b>Torsion</b>	<b>VDW.</b>	<b>Electro.</b>	<b>Solvant</b>	<b>Total</b>
<b>Inhibiteur 1 (Rebaudioside A)</b>	279.59	789.42	225.35	641.61	-157.3	.00	1778.66
<b>Inhibiteur 2 (Stevioside)</b>	39.50	146.04	191.59	308.52	-119.04	.00	566.17

### 1.2. La dynamique Moléculaire

La connaissance à un niveau atomique des aspects structuraux et dynamiques des systèmes organisés est particulièrement importante pour mieux comprendre les fonctions de ces édificesmoléculaires complexes. Dans de nombreux cas, l'obtention du détail microscopique par les techniques expérimentales conventionnelles s'avère impossible. Cependant, la véritable évolution des moyens informatiques amorcée depuis une dizaine d'années et le développement d'algorithmes performants, rendent possible l'étude d'assemblages supramoléculaires de complexité croissante par les méthodes de chimie théorique [5].

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Le principe de la dynamique moléculaire est de fournir de l'énergie cinétique au système pour franchir des barrières énergétiques.

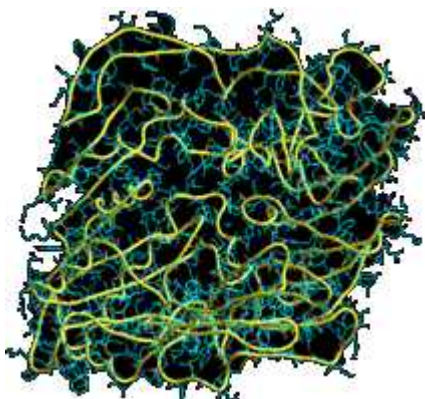
En général, l'algorithme de la plus grande pente ou «steepest descent» est utilisé au début, pendant 100 à 200 pas. Après l'algorithme de gradient conjugué ou «Conjugate Gradient» peut être utilisé pour compléter la minimisation jusqu'à la convergence. La convergence dans l'algorithme de «SteepestDescent» est lente, mais cette méthode est extrêmement robuste. Cet algorithme est surtout utilisé lorsque les conformations sont éloignées de leur minimum d'énergie. L'algorithme du gradient conjugué est la méthode de choix pour les grands systèmes moléculaires, puisqu'il présente l'avantage de la convergence rapide.

La dynamique moléculaire a été effectuée sur la Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) seule, les ligands seuls et les complexes.

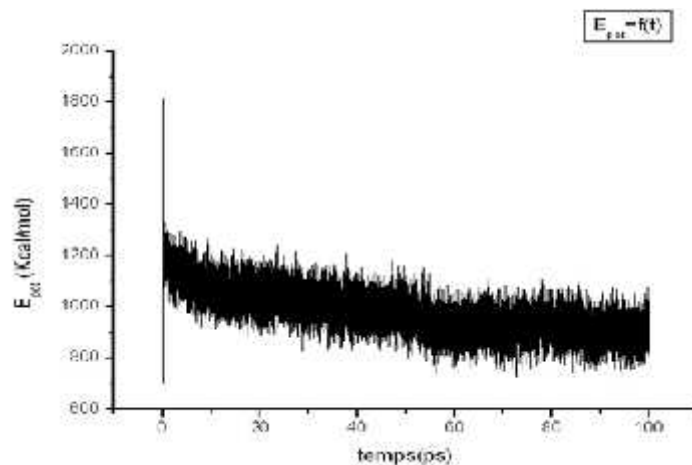
### 1.2.1. La dynamique moléculaire de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)

Nous avons commencé la dynamique par une initialisation du système : à  $t=0$  nous avons  $r(t)=0$ , c'est-à-dire la structure initiale, précédemment minimisée. Puis nous avons chauffé le système jusqu'à 300 K pendant 1000 pas avec un pas d'intégrations de 1 fs.

A 300 K, il y a une équilibration : les vitesses sont réajustées pour conserver la température constante (il y a échange entre l'énergie cinétique et l'énergie potentielle). Ensuite, il y a production de conformations. Le temps de simulation de la dynamique moléculaire est de 100 ps [6].



DPP-4

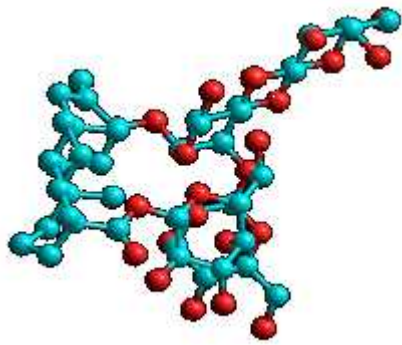


**Figure 1** : Une variation de l'énergie potentielle de la DPP-4 seule en fonction du temps

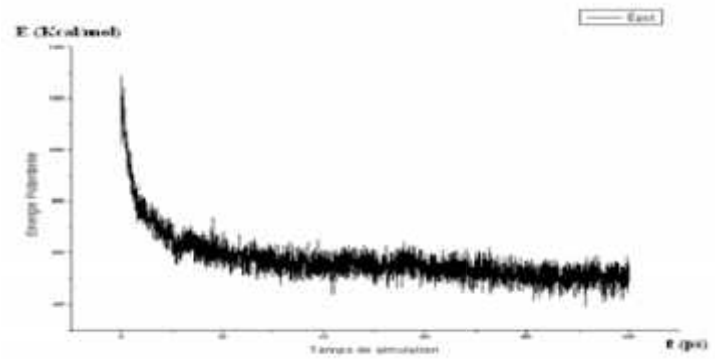
## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 1.2.2. La dynamique moléculaire des inhibiteurs

#### a. Inhibiteur\_1 (Rebaudioside A)

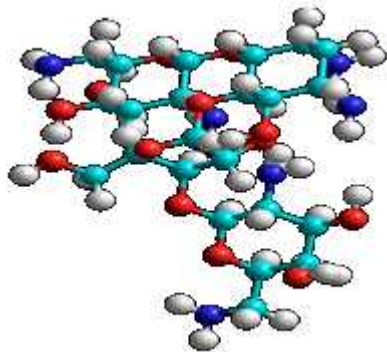


Inhibiteur\_1

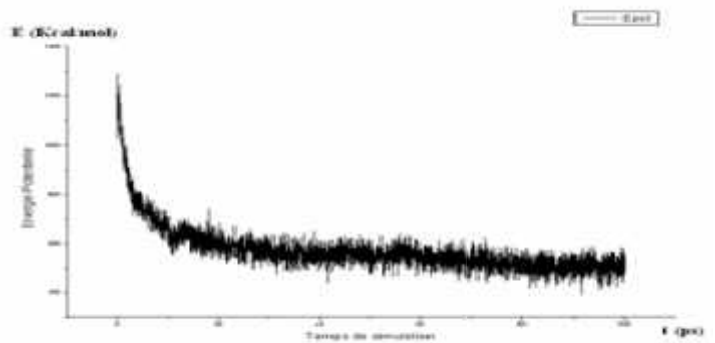


**Figure 2 :** Une variation de l'énergie potentielle de l'inhibiteur\_1 en fonction du temps

#### b. Inhibiteur\_2 (Stevioside)



Inhibiteur\_2



**Figure 3:** Une variation de l'énergie potentielle de l'inhibiteur\_2 en fonction du temps

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 1.3. Le Docking moléculaire et construction des complexes

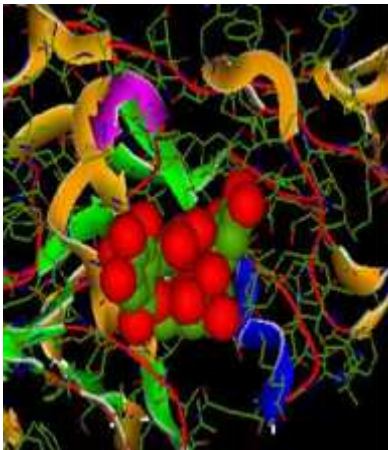
L'étape suivante, après la construction des ligands et le positionnement de ces molécules dans le site actif de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Pour cela, nous avons utilisé le Docking Moléculaire à l'aide du logiciel Hex6.3 [2].

Une fois que le complexe ligand- récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est à dire avec le niveau énergétique le plus faible.

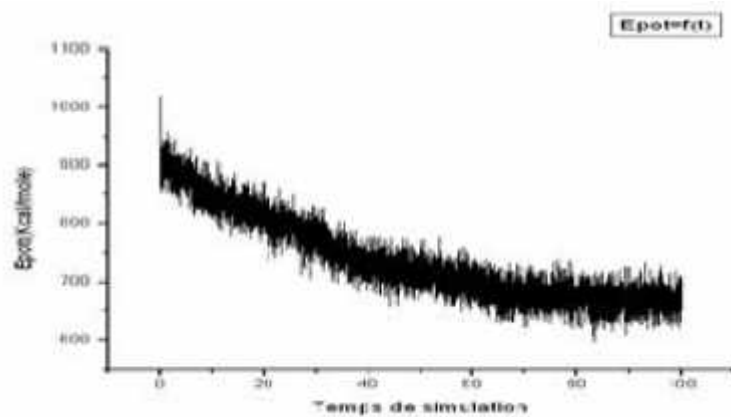
#### 1.3.1. La Dynamique moléculaire des complexes

Une fois tous les complexes formés, nous allons effectuer une optimisation de la géométrie et un calcul de dynamique moléculaire permet l'obtention de la conformation la plus stable.

#### c. Complexe\_1 (DPP-4+Inhibiteur\_1)

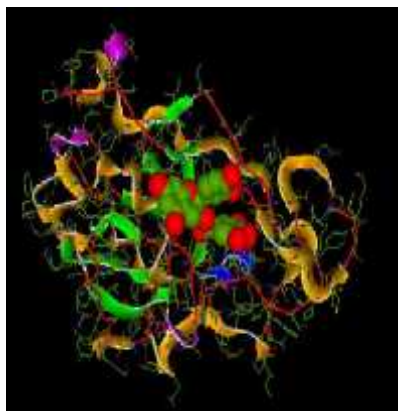


Complexe\_1

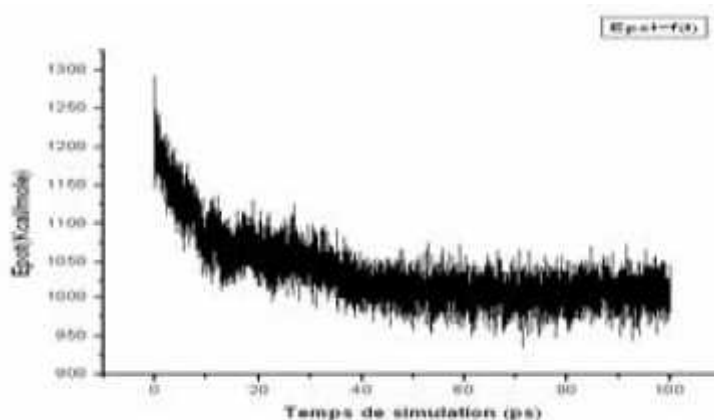


**Figure 4:** Une variation de l'énergie potentielle du Complexe\_1 en fonction du temps

### d. Complexe\_2 (DPP-4+Inhibiteur\_2)



Complexe\_2



**Figure 5:** Une variation de l'énergie potentielle du

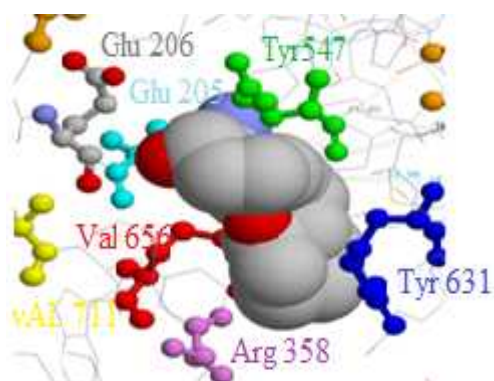
Complexe\_2 en fonction du temps

### 1.3.2. Les distances séparant les résidus du site actif et les groupements des inhibiteurs

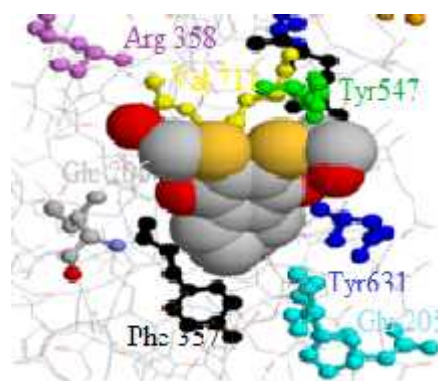
Nous avons mesuré les distances entre les deux inhibiteurs et les acides aminés qui constituent le site actif. Les distances mesurées varient entre 2.71 Å et 37.74 Å pour l'ensemble des complexes étudiés.

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 [7].

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



Inhibiteur\_1



Inhibiteur\_2

**Figures 6 :** Les distances séparant les acides aminés du site actif et les groupements des inhibiteurs

**Tableau 2 :** Les distances entre les acides aminés qui forment les sites actifs de la DPP-4 et les inhibiteurs

Distances (Å)	Tyr 547	Tyr 631	Val 656	Trp 659	Val 711	Tyr 662	Tyr 666	Glu 206	Glu 205	Phe 357	Arg 358
<b>Inhibiteur 1 (Rebaudioside A)</b>	10.94	18.35	23.43	37.74	12.78	33.17	32.57	23.71	30.13	23.87	12.38
<b>Inhibiteur 2 (Stevioside)</b>	3.04	4.50	7.41	12.45	2.65	11.67	10.52	3.89	4.24	2.71	5.37

### 1.4. L'Énergie d'interaction

Dans le but d'établir des corrélations entre les énergies d'interaction et les activités, et pour envisager par quel type de forces la nature des interactions Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)-substrat est gouvernée, on fait souvent référence à une décomposition de l'énergie potentielle totale de la molécule en plusieurs termes (Énergie électrostatique, Energie de VDW,...) [8].

Les énergies d'interaction entre les différents substrats étudiés et Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) sont obtenues à l'aide de la relation suivante :

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

$E_{interactions} = (E_{potentielle\ totale\ complexe\ Dipeptidyl\ peptidase-4\ (DPP-4)\text{-}substrat}) - (E_{potentielle\ totale\ Dipeptidyl\ peptidase-4\ (DPP-4)\ seule} + E_{potentielle\ totale\ Substrat})$

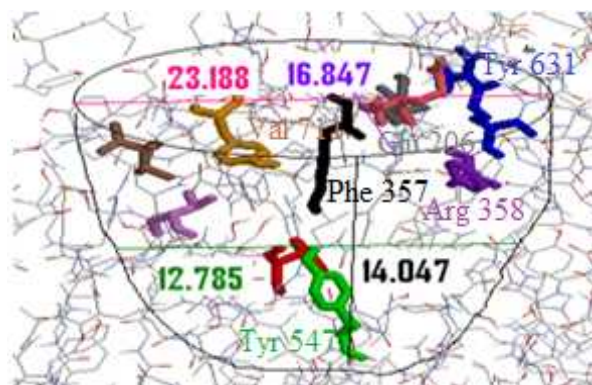
Il faut tenir compte également des interactions de Van Der Waals puisque c'est les interactions entre atomes non liés qui stabilisent les complexes Enzyme-Inhibiteur.

**Tableau 3 : Bilan des énergies en (Kcal/mol)**

	$E_{complex\ total}$ E-S	$E_{total\ substrate}$ S	$E_{vdw\ du\ complex}$ E-S	$E_{vdw\ substrate}$ S	$E_{intera}$ VDW	$E_{intera}$ Total
<b>Inhibiteur 1 (Rebaudioside A)</b>	8730.77	1778.66	-149.97	641.61	-1281.41	6623.34
<b>Inhibiteur 2 (Stevioside)</b>	2386.80	566.17	-574.33	308.52	-1372.67	1491.86

### 1.5. La cavité enzymatique

Signalons que nous ne pouvons discuter de complémentarité croissante ou décroissante que dans l'intervalle des dimensions de la poche du site actif, présentant dans notre cas une géométrie de 14.047 Å de profondeur, une ouverture de 23.188 Å et 16.847 Å, cette poche rétrécie atteignant une largeur 12.785 Å [9].



**Figure 7 : Les dimensions de la cavité enzymatique**

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 1.6. Conclusion

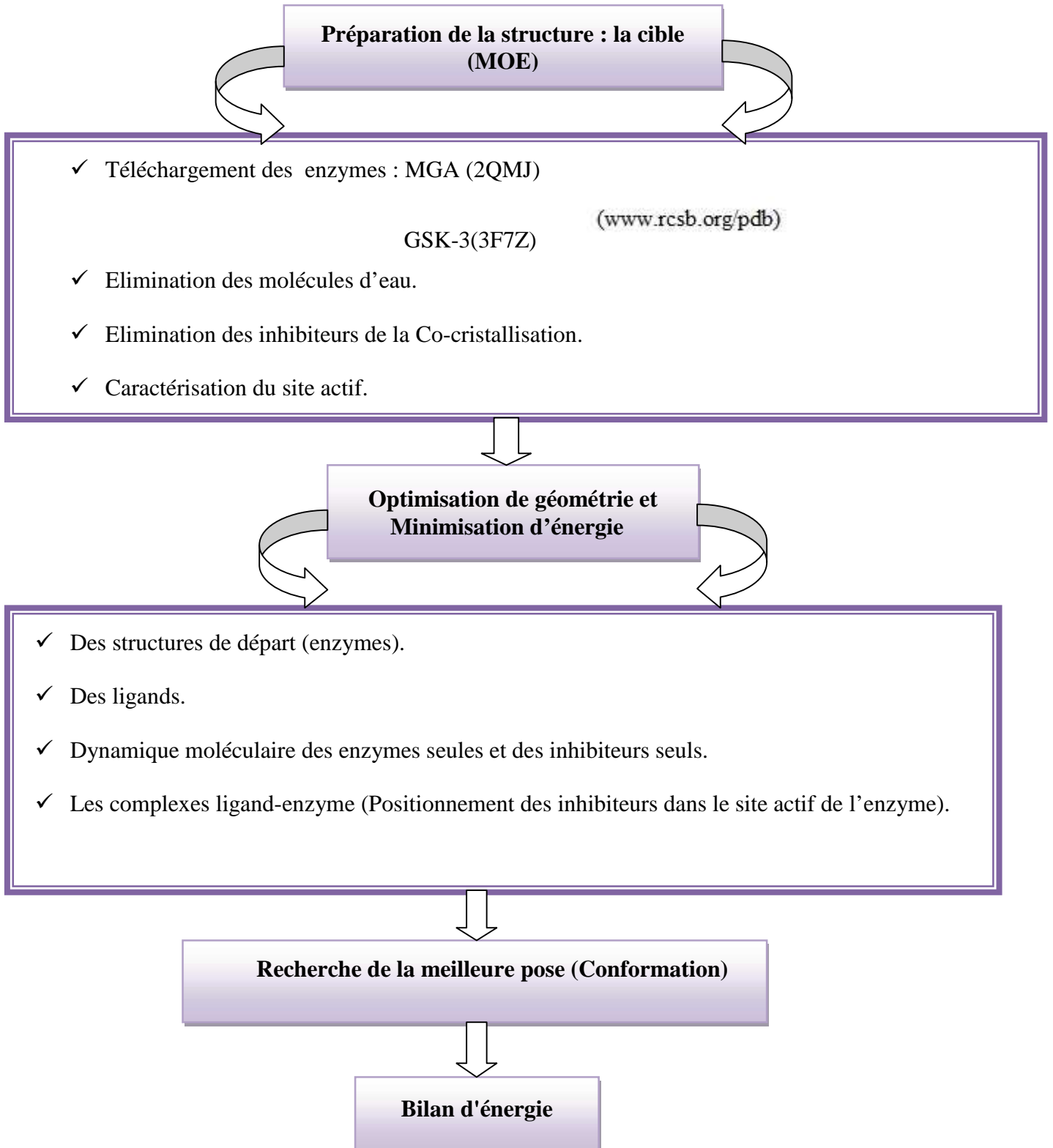
- En se basant sur l'énergie d'interaction totale, on remarque que l'inhibiteur 2 (1491.86 Kcal/mol) est plus actif que l'inhibiteur 1 (6623.34 Kcal/mol).
- Pour l'énergie d'interaction de Van Der Waals (généralement retenue pour expliquer les interactions entre atomes non liés qui stabilisent le complexe Enzyme-Substrat), l'inhibiteur 2(-1372.67 Kcal/mol) est plus stable que l'inhibiteur 1 (-1281.41Kcal/mol).
- On peut conclure que l'inhibiteur 2 est plus stable que l'inhibiteur 1. Donc l'inhibiteur 2 serait probablement le meilleur pour l'inhibition de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4).

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 2. Résultats de la deuxième approche

Dans cette partie nous avons étudié l'approche de Maltase – glucoamylase et Glycogène synthase kinase-3 avec les inhibiteurs : Rebaudioside A et Stevioside.

Les procédures de calculs sont rassemblées dans l'organigramme suivant :



## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Détermination du site actif des enzymes

Les enzymes sont constituées de plusieurs sites actifs. Le logiciel MOE nous a permis d'identifier et présenter les résidus qui forment le site actif en utilisant le module « Site Finder » qui comprend un outil pour la détection de la cavité enzymatique, ainsi que le site le plus favorable « en couleur bleu » [10,11].

### 2.2. L'optimisation des enzymes et des inhibiteurs

- L'optimisation de la géométrie des deux enzymes a été exécutée à l'aide du **champ de forces MMFF94x** implémenté dans le logiciel **MOE (Molecular Operating Environment)** [12].

La chaîne principale a été maintenue rigide, tandis que les chaînes latérales restent flexibles. 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)** [12].

**Tableau 4 : Minimisation d'énergies**

Molécules	2QMJ	3F7Z	Rebaudioside A	Stevioside
Energies (Kcal/mol)	-903.757	-811.887	132.534	113.532

### 2.3. La dynamique moléculaire des enzymes seuls et des ligands seuls

La dynamique moléculaire à l'aide de MOE des différentes entités (enzymes et ligands) nous a permis d'atteindre la convergence vers la conformation la plus stable.

**Tableau 5 : La dynamique moléculaire des enzymes seules et ligands seuls**

Molécules	2QMJ	3F7Z	Rebaudioside A	Stevioside
Energies (Kcal/mol)	-2911.9216	-552.8135	242.6503	268.8654

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.4. Le Docking moléculaire

Le docking moléculaire permet de positionner les ligands au sein du site actif du récepteur des différentes enzymes (MGA, GSK-3) [12].

Le complexe ligand- récepteur formé, adoptera la conformation la plus stable, engendrant un niveau énergétique le plus faible.

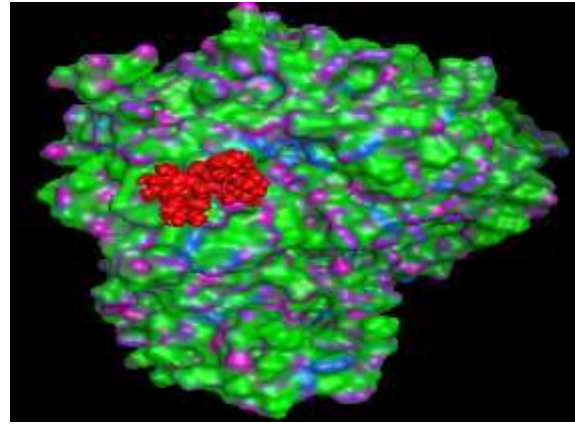
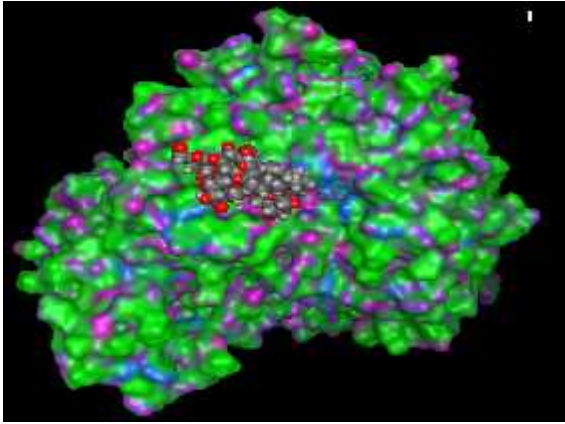
La recherche de la conformation la plus favorable entre de ligand (flexible) et le récepteur (rigide) [13].

Pour chaque ligand, un certain nombre de conformations appelées poses sont générés [12] :

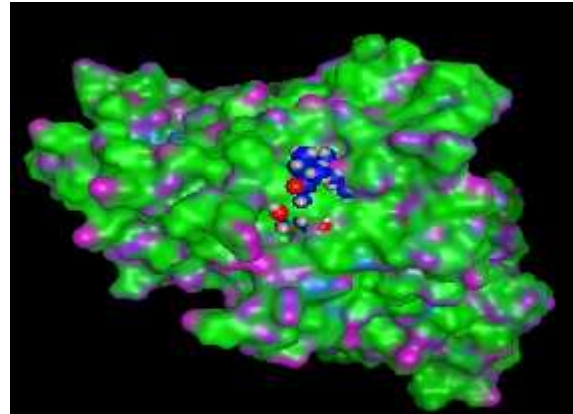
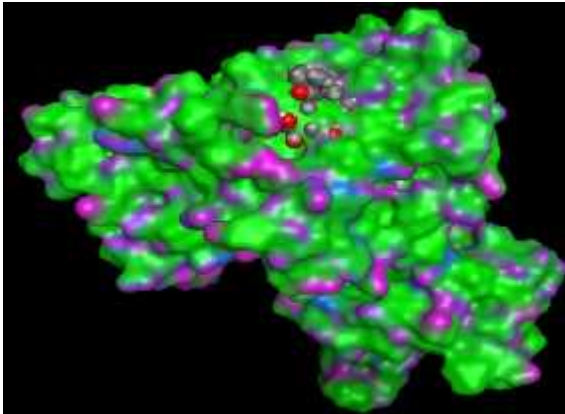
- Le premier complexe génère 28 conformations (poses),
- Le deuxième complexe génère 29 conformations (poses),
- Le troisième complexe génère 30 conformations (poses),
- Le quatrième complexe génère 30 conformations (poses).

La recherche de modes de liaison est généralement contrainte à une petite région spécifique du récepteur appelé site actif. Nous avons ensuite relevé le meilleur score c'est-à-dire celui qui a l'énergie la plus basse correspond aux meilleures interactions entre le ligand et le site actif de l'enzyme. Les résultats sont regroupés dans le tableau 6.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



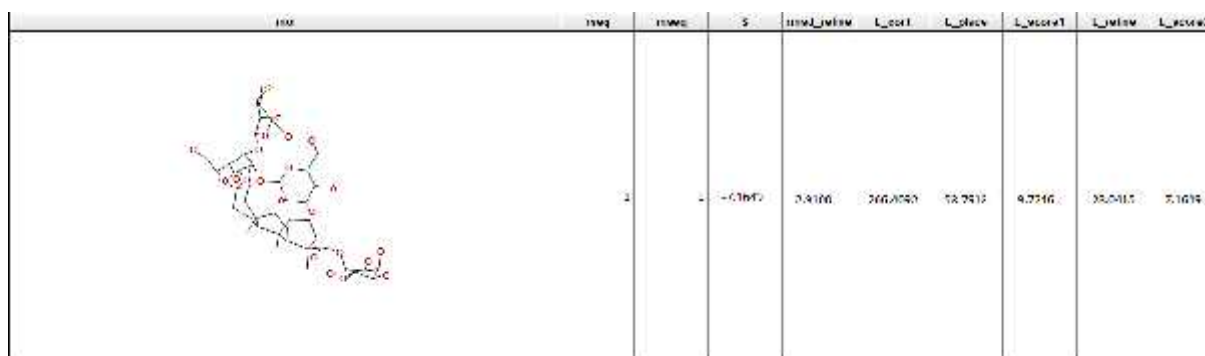
**Figure a:** Complexe-1(Rebaudioside A+2QMJ) **Figure b:** Complexe-2(Stevioside+2QMJ)



**Figure c:** Complexe-3(Rebaudioside A+3F7Z) **Figure d:** Complexe-4 (Stevioside+3F7Z)

**Figures 8 :** Le Docking des 4 complexes

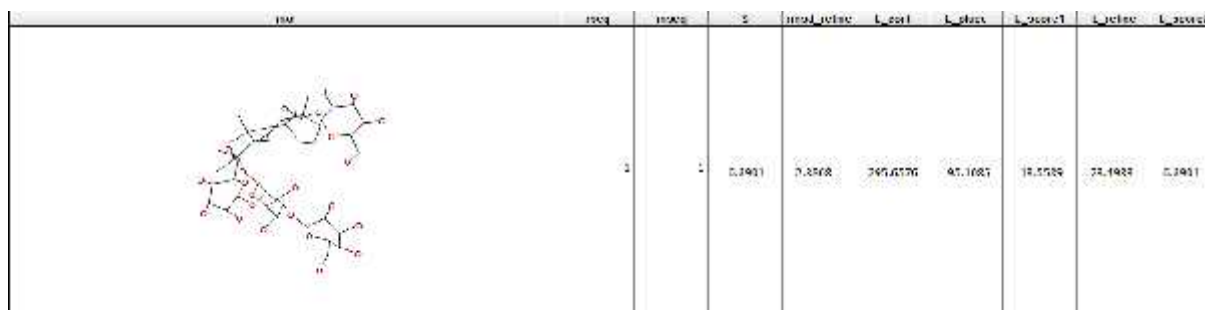
## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure e :** 2qmj+ rebaudioside A



**Figure f :** 2qmj+stevioside



**Figure g :** 3f7z+rebaudioside A



**Figure h :** 3f7z+stevioside

**Figure 9:** Images des meilleurs poses (conformations)

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 6** : Le bilan énergétique des 4 complexes (Kcal/mol)

Molécules	S	Rmsd_Ref ine	E_Conf	E_Place	E_Scor1	E_Refine	E_Scor2	Nbre de poses
Complexe-1	-4.5423	5.9517	-322.7267	-29.8450	-9.2586	-13.4819	-4.5423	28
Complexe-2	-4.7515	2.9395	-367.7993	-28.0340	-13.5570	-16.8141	-4.7515	29
Complexe-3	-7.1649	2.9100	266.4092	-53.7913	-9.7746	-28.0415	-7.1649	30
Complexe-4	-6.3901	2.3868	295.6576	-95.1085	-13.5589	-23.4983	-6.3901	30

- 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 [14].

### 2.5. Discussion

- L'ensemble des molécules a été modélisé à l'aide du logiciel MOE (Molecular Operating Environment) et du champ de forces MMFF94x. Chaque modèle a été relaxé en énergie afin de trouver sa conformation énergétique minimale.

- Le bilan énergétique des quatre complexes est représenté dans le tableau. Il est à noter que les deux inhibiteurs interagissent avec les deux enzymes.

- Sur la base des résultats d'amarrage, le complexe 1 présente 28 poses avec le meilleur score celui du numéro 25 (énergie la plus faible -4.5423 Kcal/mol). Le complexe 2 présente 29 poses avec le meilleur score celui du numéro 16 (énergie la plus faible -4.7515 Kcal/mol).

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Le complexe 3 présente 30 poses avec le meilleur score celui du numéro 12 (énergie la plus faible -7.1649Kcal/mol). Le complexe 4 présente 30 poses avec le meilleur score celui du numéro 1 (énergie la plus faible -6.3901 Kcal/mol).

Ces résultats montrent que l'orientation des ligands joue un rôle très important pour le positionnement des ligands dans le site actif de l'enzyme, on peut conclure que l'introduction de groupes volumineux provoque un réarrangement de la conformation à l'intérieur de la cavité du site actif, ce qui sera probablement la complémentarité et par conséquent l'activité [9].

- Les résultats suivants ont révélé que le complexe 3 a l'énergie la plus faible (-7.1649Kcal/mol) est plus actif que le complexe 4 (-6.3901Kcal/mol), plus actif que le complexe 2 (-4.7515 Kcal/mol), plus actif que le complexe 1 (-4.5423 Kcal/mol) [15].

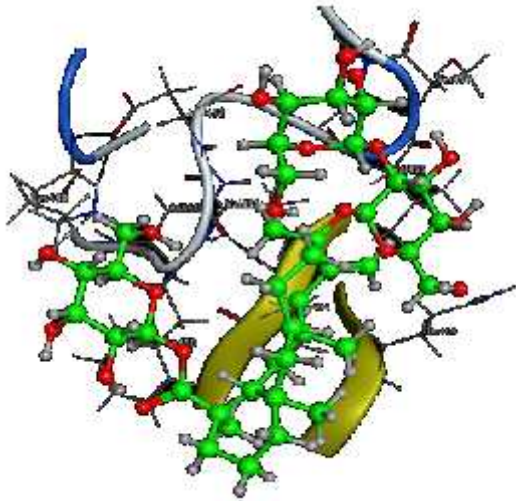
### **2.6. Résultats des distances**

- Une méthode moléculaire 2D de l'écran a été attribuée au logiciel MOE (Molecular Operating Environment), qui est conçue 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 algorithmique de disposition, et les résidus de protéines sont disposés autour d'elle afin d'indiquer des liens de proximité spatiale [16-18].

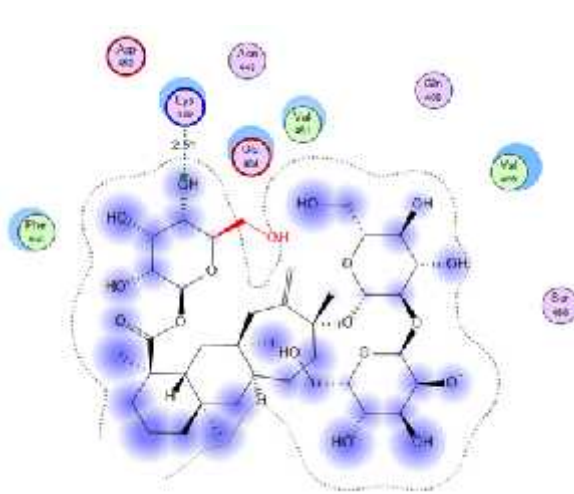
- Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55Å sont faibles [7].



## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



**Image en 3D**



**Image en 2D**

### Ligand Interactions Report

Mon Mar 17 15:53:37 2014 (MOE 2012.10)

2QMJ: HYDROLASE / untitled

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
059_100	NZ_LYS_480	(A) H-acceptor	2.51	0.0

**Figure j** : Diagramme d'interaction du complexe 2(2QMJ+Stevioside)

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

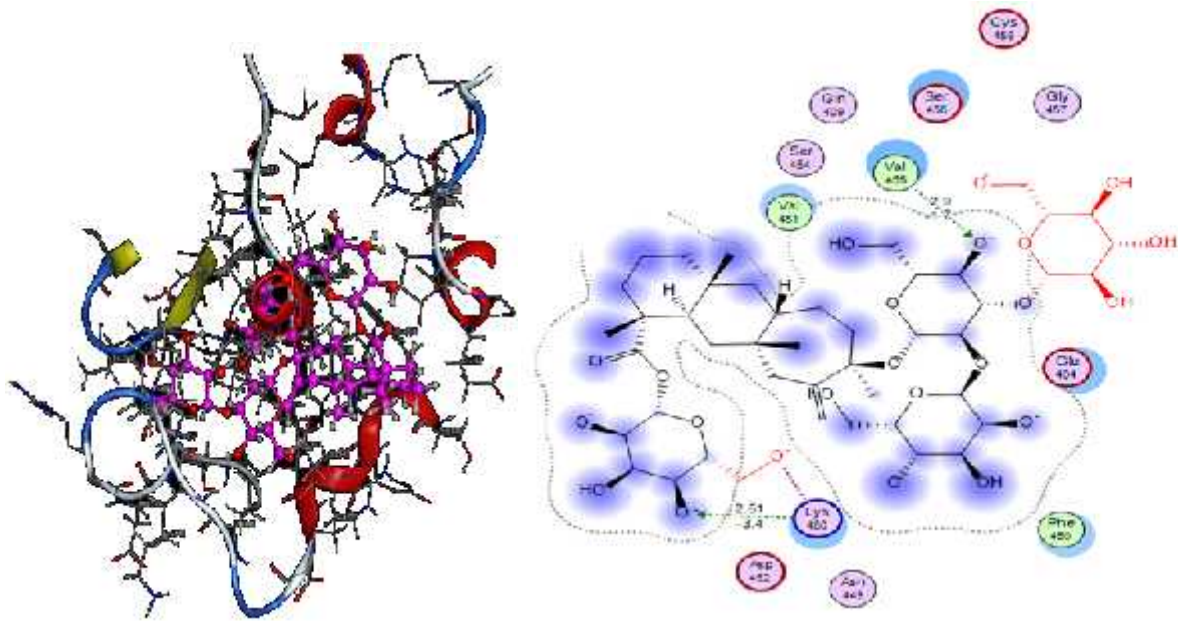


Image en 3D

Image en 2D

### Ligand Interactions Report

Thu Mar 13 18:44:22 2014 (MOE 2012.10)

3F7Z: TRANSFERASE / 3F7Z: TRANSFERASE

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
C8 1	O VAL 455 (A)	H-donor	2.93	-1.7
C1 9	O LYS 480 (A)	H-donor	2.51	-3.4

Figure k : Diagramme d'interaction du complexe-3(3F7Z+ Rebaudioside A)

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

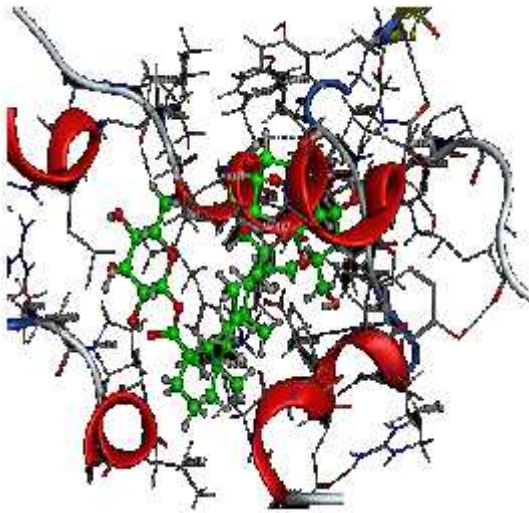


Image en 3D

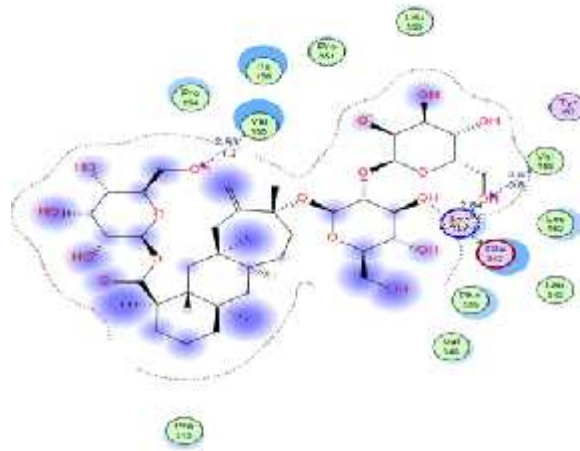


Image en 2D

### Ligand Interactions Report

Mon Mar 17 15:24:18 2014 (MOE 2012.10)

3F7Z: TRANSFERASE / untitled

Ligand	Receptor	Interaction	Distance	E (kcal/mol)
O11 1	OE2 GLU 342 (A)	H-donor	2.41	3.7
O28 32	N VAL 158 (A)	H-acceptor	3.20	-0.6
O28 32	N LYS 159 (A)	H-acceptor	2.64	-2.7
O62 106	N VAL 155 (A)	H-acceptor	2.93	-1.2

Figure 1 : Diagramme d'interaction du complexe 4 (3F7Z+ Stevioside)

Figures 10 : Les Diagrammes d'interaction (protéine-ligand) des 4 complexes

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Il ressort qu'après l'examen des différents diagrammes révèlent l'existence de plusieurs interactions responsable de l'affinité entre enzyme-substrat, et par suite les stabilités relatives.

- Le complexe 1 : le Rebaudioside A a une interaction unique type liaison hydrogène groupe hydroxyle avec le résidu Lys 480, avec une distance de 2.51 Å (interaction forte), ce qui suggère que le Rebaudioside A peut inhiber l'enzyme (2QMJ) interférer avec le résidu Lys 480 [19,20].

- Le complexe 2 : le Stevioside a une interaction unique avec le résidu Lys 480, et distance de 2.51 Å (interaction forte), ce qui suggère que le stevioside peut inhibé l'enzyme (2QMJ) interférer avec le résidu Lys 480 [19,20].

- Le complexe 3 : le Rebaudioside A a une interaction avec le résidu Val 455, et distance de 2.9 Å (interaction forte), ce qui suggère que le Rebaudioside A peut inhiber l'enzyme (3F7Z) interférer avec le résidu Val 455 [19,20].

La présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du Rebaudioside A et le résidu Lys 480. Le C = O du ligand a également été identifié en tant qu'élément formant la liaison hydrogène avec le résidu Lys 480 (distance 2.51Å) [19,20].

- Le complexe 4 : le Stevioside a des interactions avec les résidus : Glu 342, Val 158, Lys 159, Val 155 et les distances de 2.4 Å, 3.2 Å, 2.64 Å, 2.93Å respectivement (pour le 1<sup>er</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> interactions forte, pour le 2<sup>ème</sup> interaction moyenne), ce qui suggère que le Stevioside peut inhiber l'enzyme (3F7Z) et interférer avec les résidus Glu 342, Val 158, Lys 159, Val 155 [21].

La présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du Stéviroside et le résidu Val 155 (distance 2.93Å) [21].

La présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du Stéviroside et le résidu Glu 342 (distance 2.4 Å) [21].

La présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du Stéviroside et le résidu Val 158 (distance 3.2 Å) [21].

La présence d'une liaison hydrogène entre le groupe hydroxyle du Stéviroside et le résidu Lys 159 (distance 2.64Å) [21].

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.7. Conclusion

- Les résultats obtenus lors du docking ont montré que les deux inhibiteurs ont des interactions avec les résidus des deux enzymes ; et par conséquent l'existence d'une affinité [22].
- Le complexe 2 présente une énergie (- 4.7515 Kcal/mol) plus faible que le complexe 1 (- 4.5423 Kcal/mol), et unique interaction pour les deux.
- Le complexe 3 présente une énergie (-7.1649 Kcal/mol) plus faible que le complexe 4 (- 6.3901 Kcal/mol), mais ce dernier à des interactions plus importante et plus forte, ceux qui suggère que le stéviolside inhibe les deux enzymes (MGA et GSK-3) mieux que le rebaudioside A, donc le stéviolside est plus stable que le rebaudioside A.
- Les résultats obtenus a l'aide des deux approches (logiciels Hex6.3 et MOE) révèlent que le stéviolside est un bon inhibiteur pour les enzymes, donc le stéviolside peut être probablement un bon inhibiteur pour le traitement du diabète de type 2, et reste à vérifier sa toxicité.

### 3. Résultats de la troisième approche

Dans cette partie nous avons étudié l'approche de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) avec les inhibiteurs suivants: la linagliptine (BI 1356), la sitagliptine (januvia), la vildagliptine, l'alogliptine et la saxagliptine.

L'ensemble des opérateurs de calcul sont exécutés par le logiciel GOLD.

Les procédures de calculs sont rassemblées dans l'organigramme suivant :

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### Préparation de la structure : la cible GOLD

- ✓ Téléchargement de l'enzyme DPP-4(3F8S) ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb))
- ✓ Elimination des inhibiteurs de la Co-cristallisation.
- ✓ Caractérisation du site actif de l'enzyme

### Optimisation de géométrie et Minimisation d'énergie

- ✓ La structure de départ (enzyme).
- ✓ Les ligands sont optimisés avec AM1 dans le logiciel Hyperchem8.0
- ✓ Les complexes ligand-enzymes (Le positionnement des inhibiteurs dans le site actif de l'enzyme, au cours du docking).
- ✓ Dynamique moléculaire des complexes

### Recherche de la meilleure pose (Conformation)

### Bilan d'énergie

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. Préparation des ligands

Les ligands retenus dans ce travail sont dessinés avec le logiciel Hyperchem8.0. Une étape d'optimisation de la géométrie devient alors nécessaire. Pour cela, nous avons appliqué la méthode semi-empirique (AM1) [23]. Les molécules ainsi obtenues sont enregistrées au format *pdb* ou *mol*.

### 3.2. Docking moléculaire et préparation des complexes

Cette étape consiste la préparation des ligands, et le positionnement de ces molécules dans le site actif de l'enzyme (3F8S). Pour cela, nous avons utilisé le logiciel GOLD [24], le complexe ligand- récepteur se forme, celui-ci va adopter a la conformation la plus stable, correspondant au niveau énergétique le plus faible.

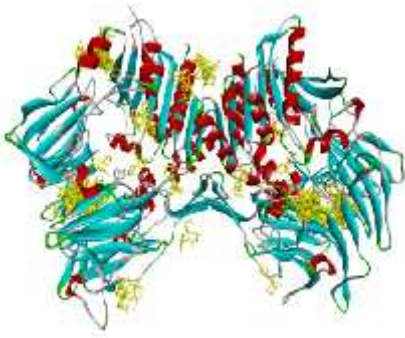
### 3.3. Résultats et discussion

Le docking moléculaire a été réalisé pour déterminer les sites d'interactions probables avec l'enzyme en explorant la structure pour chaque ligand.

Différentes poses d'inhibiteurs amarrés à la DPP-4 sont obtenues.

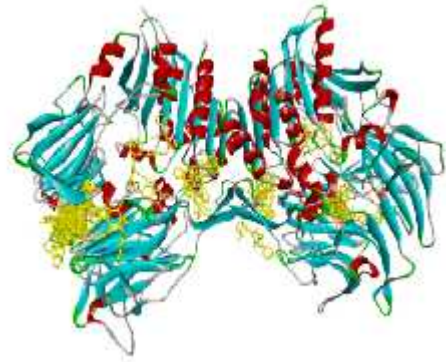
La gamme d'affinité des poses de différents ligands a été obtenue à des fins de comparaison.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



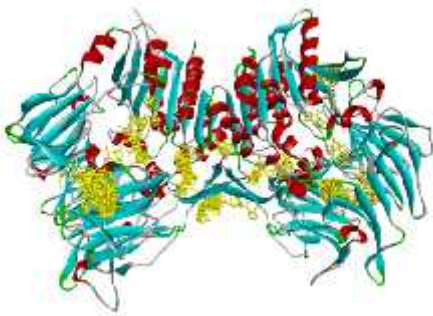
DPP4-Alogliptine

-5.2 kcal/mol et -7.4 kcal/mol



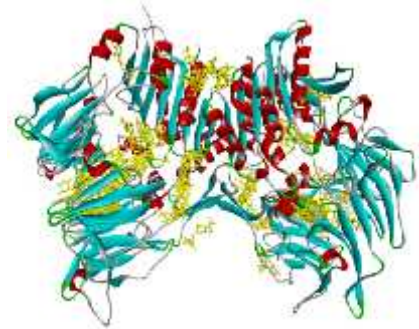
DPP4-Linagliptine

-5.8 kcal/mol et -8.8 kcal/mol



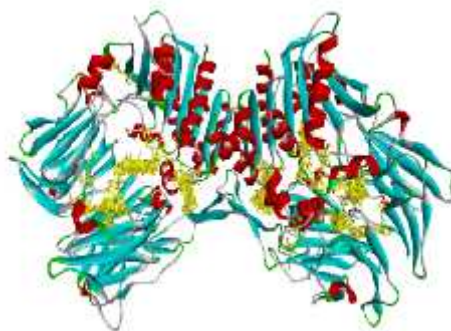
DPP4-Saxagliptine

-5.1 kcal/mol et -7.2 kcal/mol



DPP4-Sitagliptine

-5.7 kcal/mol et -8.6 kcal/mol



DPP4-Vildagliptine

-5.3 kcal/mol et -7.5 kcal/mol

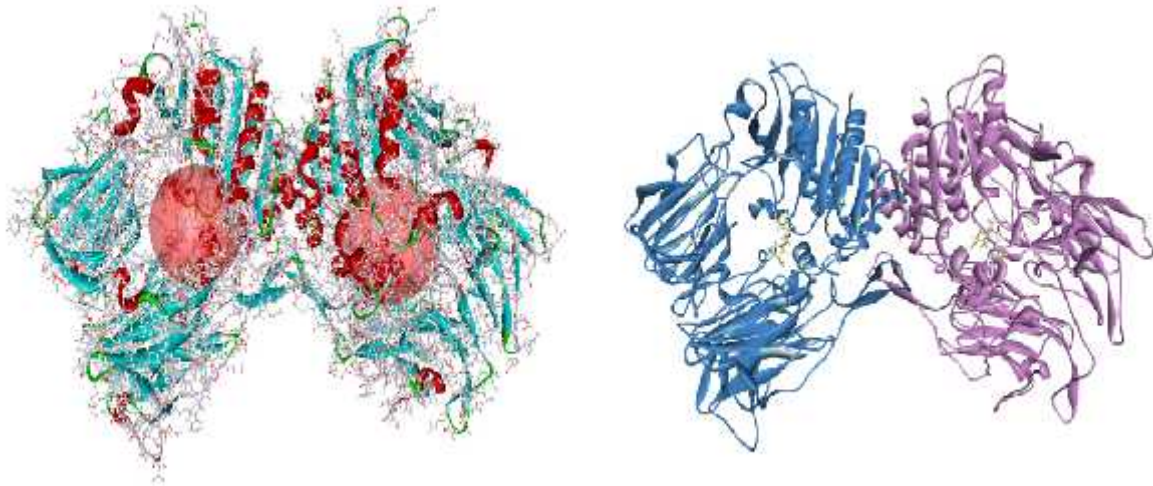
**Figure 11** : La formation des cinq complexes

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus révèlent que les complexes (1, 2, 3, 4 et 5) obéissent à un ordre croissant suivant l'activité [25].

Le complexe 2 (-5.8 kcal/mol et -8.8 kcal/mol) < le complexe 4 (-5.7 kcal/mol et -8.6 kcal/mol) < le complexe 5 (-5.3 kcal/mol et -7.5 kcal/mol) < le complexe 1 (-5.2 kcal/mol et -7.4 kcal/mol) < le complexe 3 (-5.1 kcal/mol et -7.2 kcal/mol).

Le docking moléculaire "flexible" a été réalisé pour l'amarrage des inhibiteurs du meilleur site (emplacement avec la plus haute affinité) des deux sous-unités de l'enzyme DPP-4 en utilisant le programme GOLD [26].



**Figure 12** : La formation des complexes dans chaque sous unité

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 7 :** Les scores et les énergies pour les meilleures dix premières poses dans chaque sous-unité pour chaque ligand

<b>GOLD Dock</b>	<b>Chaîne A</b>			<b>Chaîne B</b>	
<b>Inhibiteurs</b>	<b>Pose</b>	<b>Score</b>	<b>G (kcal/mol)</b>	<b>Score</b>	<b>G (kcal/mol)</b>
<b>Alogliptine</b>	1	24.2833	-27.4694	28.7907	-32.3351
	2	24.1473	-26.4602	25.6575	-29.6252
	3	22.515	-24.641	25.0776	-29.6319
	4	22.4706	-24.6843	24.6586	-28.2412
	5	21.8998	-27.3105	24.593	-27.8472
	6	21.3756	-24.0187	24.5284	-27.1429
	7	21.2324	-24.2125	24.3619	-30.7246
	8	21.049	-23.2733	21.9342	-24.1572
	9	20.4129	-23.3047	21.0769	-23.7653
	10	19.7975	-22.1733	19.7646	-23.1044
<b>Linagliptine</b>	1	28.2722	-32.7574	28.7251	-31.6731
	2	26.8367	-30.6977	27.9524	-32.92
	3	26.4032	-29.8275	26.7342	-30.032
	4	26.2052	-31.6235	25.1695	-29.1058
	5	26.1985	-28.4223	24.8875	-27.4681
	6	26.0207	-28.1417	24.5765	-26.6135
	7	25.545	-26.862	23.8981	-26.651
	8	25.0193	-28.5349	23.2427	-29.3263
	9	24.1693	-27.2149	22.7775	-29.0569
	10	23.0544	-25.0351	19.869	-21.891

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

	1	18.45	-23.635	20.8745	-35.039
	2	18.1415	-24.0851	18.6849	-30.4527
	3	17.2761	-25.2972	18.4761	-27.1952
	4	16.9608	-24.1166	18.0928	-24.4242
	5	16.6856	-23.3534	17.8877	-26.3579
<b>Saxagliptine</b>	6	16.2364	-22.2317	17.5671	-23.6264
	7	16.2027	-23.9342	17.4301	-24.3478
	8	15.7268	-22.9351	17.2628	-25.4686
	9	15.1668	-27.0645	17.0553	-24.0509
	10	15.1369	-21.7267	16.0404	-23.5718
	1	20.7784	-23.2586	18.6236	-21.7163
	2	20.5068	-23.8304	18.5445	-21.2497
	3	20.2044	-22.2315	17.4931	-19.4522
	4	18.6215	-20.1657	16.7882	-23.3579
	5	18.4644	-24.8575	16.679	-19.4241
<b>Sitagliptine</b>	6	17.2034	-19.3484	16.0987	-18.2694
	7	16.636	-18.6934	16.0786	-17.6279
	8	16.2925	-22.4862	15.9459	-18.7672
	9	15.954	-19.0062	15.711	-22.0504
	10	14.7677	-16.3363	14.6111	-17.7776

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

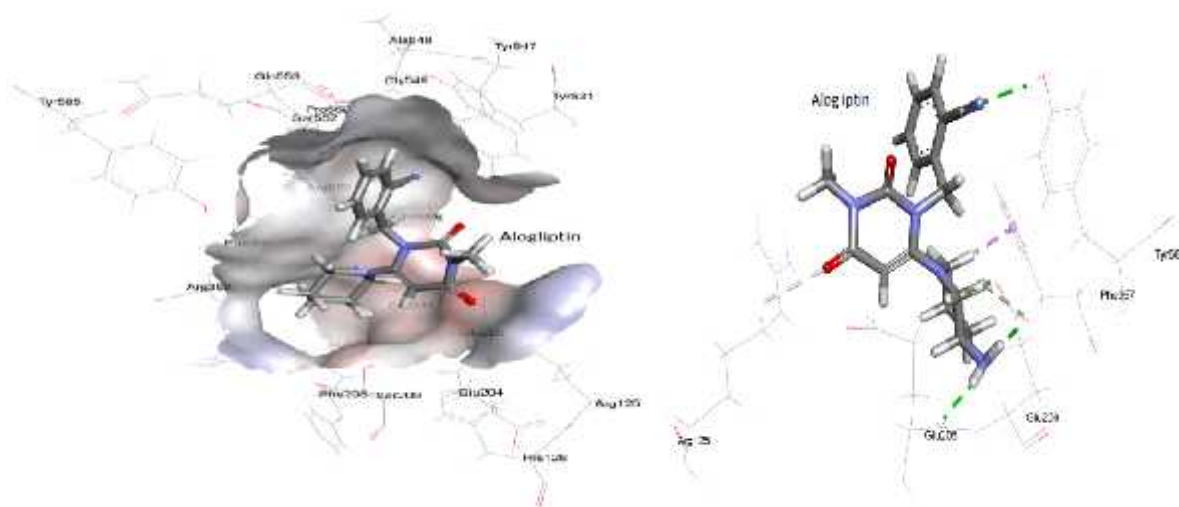
<b>Vildagliptine</b>	1	20.8674	-24.5488	19.9771	-24.886
	2	20.7926	-24.271	18.8996	-23.4751
	3	19.8731	-23.7655	18.8895	-24.095
	4	19.7862	-23.8709	18.854	-23.1711
	5	19.5386	-29.3869	18.6019	-22.9466
	6	19.2019	-22.8798	18.3059	-21.6862
	7	19.1024	-23.0849	17.961	-24.862
	8	18.3083	-23.2181	17.7288	-23.4625
	9	18.2478	-22.4864	17.5509	-22.0521
	10	17.4971	23.9798	15.6392	-19.8865

Le tableau précédant montre les énergies d'interactions des dix meilleures poses.

En raison de la similarité seulement les résultats de la sous-unité A ont été extraites et publiés.

### 3.4. Les distances et analyse visuelle des interactions :

En complément de l'examen des résultats obtenus ; une analyse visuelle des interactions de chaque molécule avec la DPP-4 a été pratiquée.



**Figure 13 :** Le mode de liaison et l'orientation de l'Alogliptine dans le site actif de la DPP-4

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

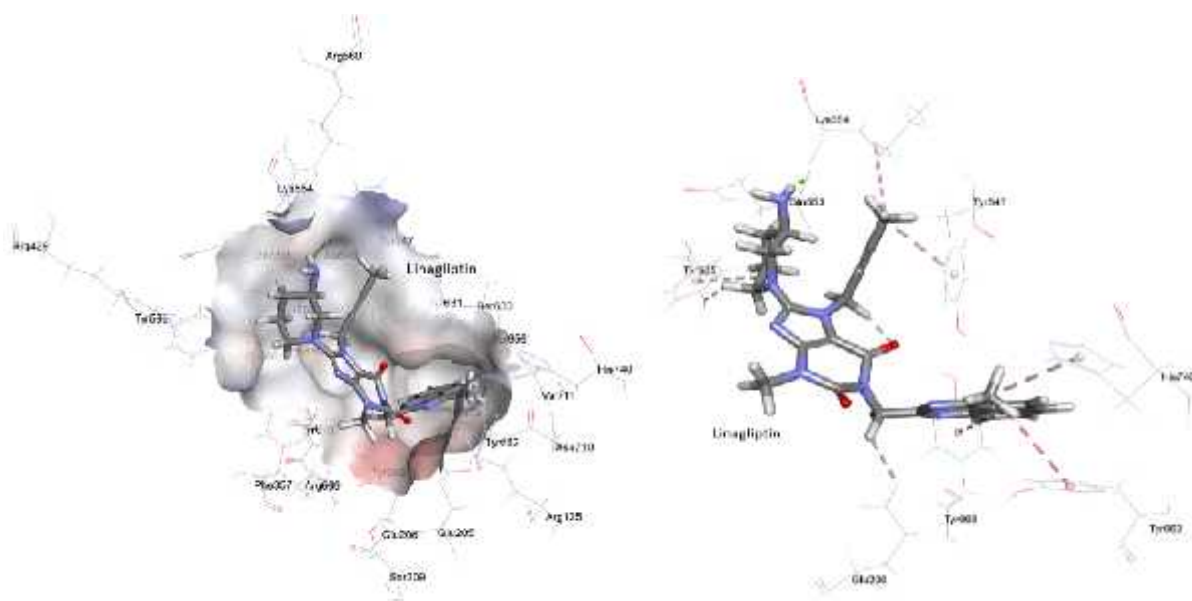
**Tableau 8 :** Les distances et les interactions de l'Alogliptine avec le site actif de la DPP-4

DPP4-Alogliptine; atomes		Distance Å	Catégorie
Alogliptine:N9	TYR666:HH	2.16486	Liaison Hydrogène
Alogliptine:H37	GLU206:OE1	1.78679	Liaison Hydrogène
Alogliptine:H38	GLU205:O	2.12623	Liaison Hydrogène
Alogliptine:O14	ARG125:HD2	2.81983	Liaison Hydrogène
Alogliptine:H29	GLU206:OE1	2.61532	Liaison Hydrogène
Alogliptine:H30	GLU206:OE2	2.61598	Liaison Hydrogène
Alogliptine:H34	PHE357	2.31898	Hydrophobique

Nous observons la présence de six liaisons hydrogène formées entre l'alogliptine et les résidus de la DPP-4, en plus d'une interaction hydrophobe [21].

- La première liaison hydrogène est observée entre amine N9 tertiaire et l'hydrogène du résidu Tyr666 (Alog-N9 ... H-Tyr666;  $d = 2.16486\text{Å}$ ).
- La deuxième d'hydrogène entre H37 avec Oxygène-E1 en Glu206 (Alog-H37 ... O-Glu206;  $d = 1.78679\text{Å}$ ).
- Une troisième liaison hydrogène est formée entre l'H38 et de l'oxygène du résidu Glu205 (Alog-H38 ... O-Glu205;  $d = 2.12623\text{Å}$ ).
- Une quatrième liaison hydrogène est observée entre le O14 dans le groupe amide et l'd'hydrogène du résidu Arg125 (Alog-O14 ... H-Arg125;  $d = 2.81983\text{Å}$ ).
- Une cinquième liaison hydrogène est observée entre H29 et le l'oxygène OE1 du résidu Glu206 (Alog-H29 ... O-Glu206;  $d = 2.61532\text{Å}$ ).
- La dernière liaison d'hydrogène formée entre le H30 et l'oxygène OE2 en Glu206 (Alog-H30 ... O-Glu206;  $d = 2.61598\text{Å}$ ).
- Enfin Alogliptin est stabilisée par une interaction hydrophobe formée par le résidu Phe357 et l'hydrogène de l'atome de carbone du cycle secondaire dans aminopipéridine d'alogliptine.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 14** : le mode de liaison et l'orientation de la Linagliptine dans le site actif de la DPP-4

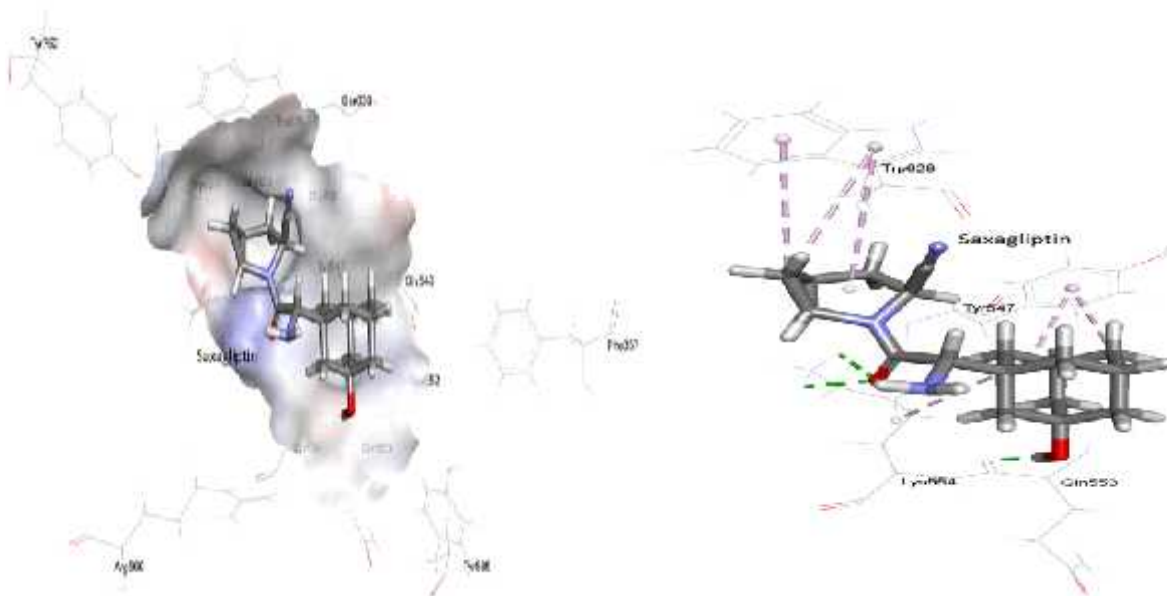
**Tableau 9** : Les distances et les interactions de la Linagliptine avec le site actif de la DPP-4

DPP4-Linagliptine ; atomes		Distance Å	Catégorie
Linagliptine:H62	GLN553:O	1.97445	Liaison Hydrogène
Linagliptine:H44	GLU206:OE2	3.0248	Liaison Hydrogène
Linagliptine:H48	Linagliptine:O21	2.44889	Liaison Hydrogène
Linagliptine:H60	TYR585:OH	2.38776	Liaison Hydrogène
Linagliptine	TYR662	4.38016	Hydrophobique
Linagliptine	TYR666	4.3712	Hydrophobique
Linagliptine:C28	LYS554	5.42691	Hydrophobique
Linagliptine:C28	TYR547	3.84795	Hydrophobique
Linagliptine	TYR585	4.86534	Hydrophobique
Linagliptine:C11	HIS740	4.10283	Hydrophobique

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Nous observons quatre liaisons hydrogène formées par l'hydrogène de 48, 44, 60 et 62 de la linagliptine [21].

- La première liaison hydrogène est observée entre le H62 et O en Gln553 (Linag-H62 ... O-Gln553;  $d = 1.97445\text{\AA}$ ).
- Une deuxième liaison hydrogène H44 avec O-Glu206 (Linag-H44 ... O-Glu206;  $d = 3.0248\text{\AA}$ ).
- Une troisième liaison hydrogène est formée entre H48 liagliptine avec O21 linagliptine (Linag-H48...O21 Linag ;  $d = 2.44889\text{\AA}$ ).
- La dernière liaison hydrogène entre le H60 et un oxygène O du résidu Tyr585 (Linag-H60 ... O-Tyr585;  $d = 2.38776\text{\AA}$ ).
- Enfin linagliptine est stabilisée par des interactions hydrophobes formées par des résidus Tyr662, Tyr666, Lys554, Tyr547, Tyr585 et His740.



**Figure 15 :** Le mode de liaison et l'orientation de la Saxagliptine dans le site actif de la

DPP-4

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

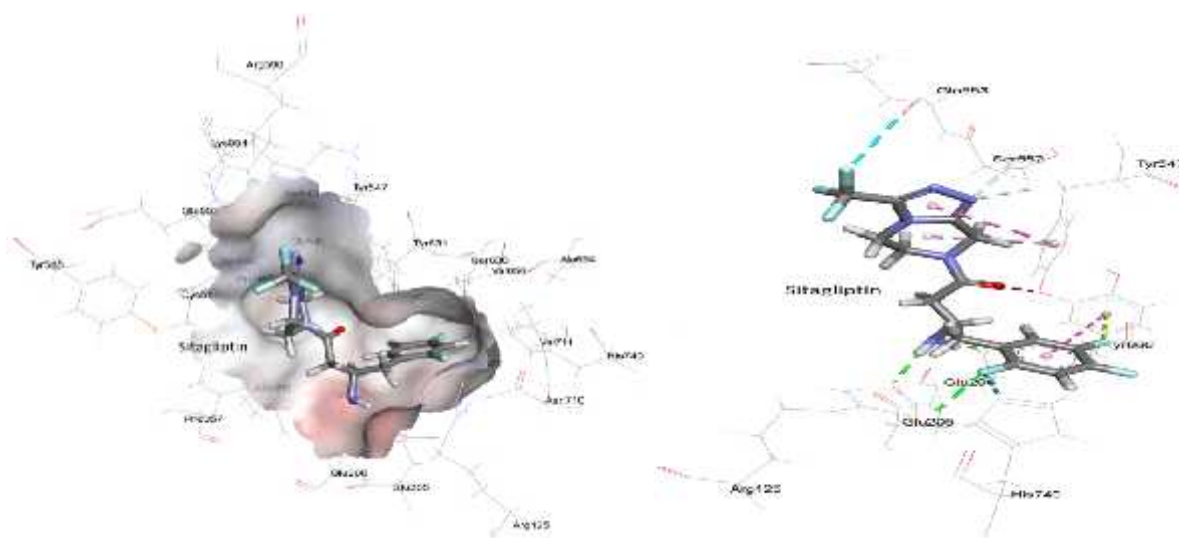
**Tableau 10** : Les distances et les interactions de la Saxagliptine avec le site actif de la DPP-4

DPP4-Saxagliptine; atomes		Distance Å	Catégorie
Saxagliptine:O4	LYS554:HZ2	2.46342	Liaison Hydrogène
Saxagliptine:O4	LYS554:HZ3	2.42285	Liaison Hydrogène
Saxagliptine:H48	GLN553:O	1.78317	Liaison Hydrogène
Saxagliptine	LYS554	5.49211	Hydrophobique
Saxagliptine	TYR547	3.68343	Hydrophobique
Saxagliptine:C16	TYR547	3.6753	Hydrophobique
Saxagliptine	TRP629	5.4418	Hydrophobique
Saxagliptine:C10	TRP629	5.12641	Hydrophobique

Nous observons la présence de trois liaisons hydrogène formées entre la saxagliptine et les résidus de la DPP-4 en plus des interactions hydrophobes [21].

- La première liaison hydrogène est observée entre oxygène O4 et hydrogène du résidu Lys 554 (Saxa-O4 ... H-Lys554 d = 2.46342Å).
- Une deuxième liaison hydrogène est formée entre Oxygène O4 et hydrogène dans les résidus Lys554 (Saxa-O4 ... H-Lys554; d = 2.42285Å).
- Une troisième liaison hydrogène est observée entre l'oxygène dans le résidu Gln553 et l'hydrogène H48 (Saxa-H48 ... O-Gln553; d = 1.78317Å).
- Enfin Saxagliptine est stabilisée par des interactions hydrophobes formées par les résidus Lys554, Tyr547 et Trp629.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 16 :** Le mode de liaison et l'orientation de la Sitagliptine dans le site actif de la DPP-4

**Tableau 11 :** Les distances et les interactions de la Sitagliptine avec le site actif de la DPP-4

DPP4-Sitagliptine; atomes		Distance Å	Catégorie
Sitagliptine:F9	ARG125:HH22	2.54763	Liaison Hydrogène; Halogène
Sitagliptine:H36	GLU206:OE2	1.99329	Liaison Hydrogène
Sitagliptine:H37	GLU205:OE2	2.06458	Liaison Hydrogène
Sitagliptine:N22	SER552:HB1	2.6533	Liaison Hydrogène
Sitagliptine:N22	SER552:HB2	2.91259	Liaison Hydrogène
Sitagliptine:H40	Sitagliptine:F27	2.97471	Liaison Hydrogène
Sitagliptine:H41	Sitagliptine:F26	2.51025	Liaison Hydrogène
Sitagliptine:F28	GLN553:O	3.34157	Halogène
Sitagliptine:F9	HIS740:NE2	3.44377	Halogène
Sitagliptine:F7	TYR666	2.91379	Halogène
Sitagliptine	TYR666	5.29474	Hydrophobique
Sitagliptine	TYR547	4.19266	Hydrophobique
Sitagliptine	TYR547	4.70766	Hydrophobique

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

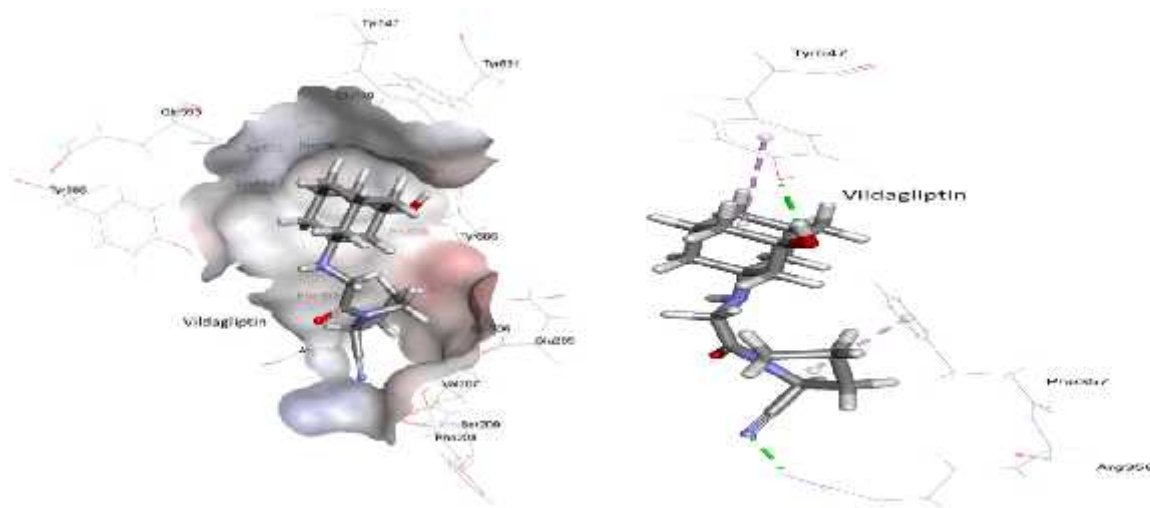
Nous observons la présence de sept liaisons hydrogène formées entre la sitagliptine et les résidus de la DPP-4 en plus des interactions hydrophobes [21].

- La première liaison hydrogène est observée entre le fluor F9 et l'hydrogène du résidu Arg 125 (Sita-F9 ... H-Arg125  $d = 2.54763 \text{ \AA}$ ).
- Une deuxième liaison d'hydrogène est formée entre H36 et OE2 du résidu Glu206 (Sita-H36 ... O-Glu206;  $d = 1.99329 \text{ \AA}$ ).
- Une troisième liaison d'hydrogène est observée entre l'oxygène OE2 du résidu Glu205 et l'hydrogène H37 (Sita-H37 ... O-Glu 205;  $d = 2.06458 \text{ \AA}$ ).
- Une quatrième liaison est formée entre l'hydrogène HB1 du résidu Ser552 et l'azote N22 (Sita-N22... HB1-Ser552 ;  $d=2.6533 \text{ \AA}$ ).
- La cinquième liaison d'hydrogène formée entre HB2 du résidu Ser552 et l'azote N22 (Sita-N22... HB2-Ser552 ;  $d=2.91259 \text{ \AA}$ ).
- Une sixième liaison d'hydrogène formée entre H40 et F27 (H40-Sita...F27-Sita ;  $d=2.97471$ ).
- Une septième liaison d'hydrogène formée entre H41 et F26 (H41-Sita...F26-Sita ;  $d=2.51025 \text{ \AA}$ ).

On remarque aussi la présence de trois liaisons halogénée :

- La première entre le fluor F28 et l'oxygène O du résidu Gln553 (Sita-F28...O-Gln553 ;  $d=3.34157 \text{ \AA}$ ).
- La deuxième entre le fluor F9 et l'azote NE2 du résidu His740 (Sita-F9...NE2-His740 ;  $d=3.44377 \text{ \AA}$ ).
- La troisième liaison entre le fluor F7 et le résidu Tyr666 (Sita-F7...Tyr666 ;  $d=2.91379 \text{ \AA}$ ).
- Enfin Sitagliptine est stabilisée par des interactions hydrophobes formées par les résidus Tyr666 et Tyr547.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 17** : Le mode de liaison et l'orientation de la Vildagliptine avec le site actif de la DPP-4

**Tableau 12** : Les distances et les interactions de la Vildagliptine dans le site actif de la DPP-4

DPP4-Vildagliptine ; atomes		Distance Å	Catégorie
Vildagliptine:N7	ARG358:HH12	2.09505	Liaison Hydrogène
Vildagliptine:H47	TYR547:OH	2.05703	Liaison Hydrogène
Vildagliptine	PHE357	4.38135	Hydrophobique
Vildagliptine	TYR547	4.60128	Hydrophobique

Nous observons la présence de deux liaisons hydrogène formées entre la vildagliptine et les résidus de la DPP-4 en plus d'une interaction hydrophobe [21].

La première liaison d'hydrogène est observée entre N7 et l'hydrogène H12 du résidu Arg358 (Vilda-N7 ... H-Arg358 ;  $d = 2.09505\text{Å}$ ).

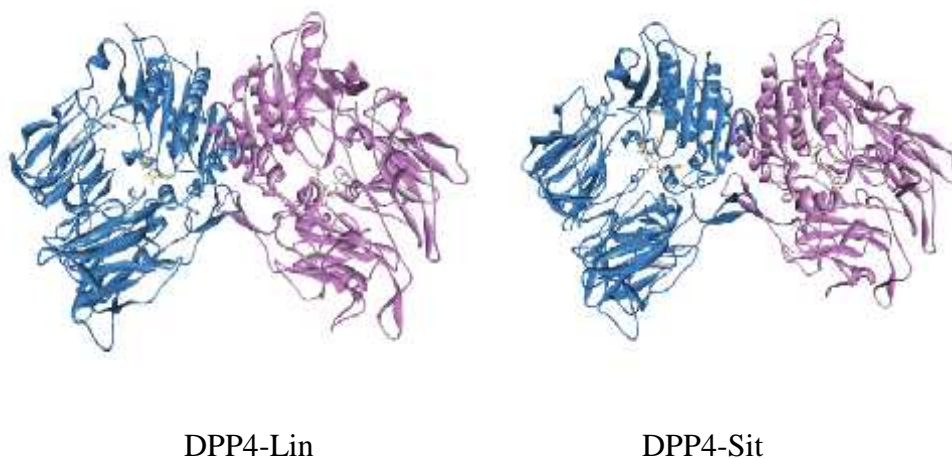
Une deuxième liaison hydrogène est formée entre H47 et Oxygène du résidu Tyr547 (Vilda-H47 ... O-Tyr547 ;  $d = 2.05703\text{Å}$ ).

Enfin vildagliptine est stabilisée par des interactions hydrophobe formées par les résidus Phe357 et Tyr547.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.5. Simulation de la dynamique moléculaire

Nous avons étudié la simulation par dynamique moléculaire des ligands la linagliptine et la sitagliptine. Nous avons choisis ces deux molécules parce que la linagliptine a une bonne affinité à la DPP-4 et la sitagliptine est commercialisé).



**Figure 18** : La dynamique moléculaire des deux complexes

### 3.6. Résultats des simulations de la dynamique moléculaire

**Tableau 13** : Apports énergétiques moyens pour former les complexes DPP4-Lin et DPP4-Sit (Kcal / mol) avec leurs erreurs standard de la moyenne (entre parenthèses)

Complexe	DPP4-LIN	DPP4-SIT
$E_{ele}$	-18.41 (3.30)	-17.77 (3.06)
$E_{vdw}$	-49.41 (2.26)	-25.28 (1.96)
$E_{sur}$	-6.83 (0.16)	-3.76 (0.44)
$E_{sol}$	49.44 (5.82)	28.81 (4.40)
$G_{PB}$	-18.38 (4.73)	-14.24 (2.94)
$G_{GB}$	-28.15 (2.02)	-14.70 (1.87)

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

On se base sur l'énergie d'interaction de Van Der Waals (généralement retenue pour expliquer les interactions entre atomes non liés qui stabilisent le complexe Enzyme-Substrat), l'inhibiteur 1 (- 49.41 Kcal/mol) est plus stable que l'inhibiteur 2 (- 25.28 Kcal/mol).

### 3.7. Énergie d'interaction entre les inhibiteurs et les résidus importants de la DPP-4

**Tableau 14 :** Les énergies d'interaction entre la linagliptine et les résidus importants de la DPP-4

Les residus	Energie d'interaction Kcal/mol
Leu 45	-9.5668
Leu 49	-20.562
Tyr 48	-17.383
Leu 567	-0.5185
Trp 563	-34.962
Tyr 566	-3.2955
Ala 654	-2.7636
Ile 651	-5.5098
Ser 630	-1.1091
Trp 627	-5.9096
Trp 629	-22.335
Glu 738	-14.926
Tyr 735	-32.372
Ile 759	-15.017
Lys 760	-11.472

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Les énergies d'interactions entre la linagliptine et les résidus de la DPP-4 réactifs (en bleu) dans la structure moyenne extraite des trajectoires moléculaires de simulation de dynamique. Étant donné que les résidus réactifs sont impliqués dans des interactions hydrophobes, par conséquent, les données montrent qu'ils sont des résidus importants impliqués dans la liaison et l'interaction effective entre le médicament et la protéine [27-28].

**Tableau 15** : Les énergies d'interaction entre la sitagliptine et les résidus importants de la DPP-4

Les résidus	Energie d'interaction Kcal/mol
Leu 45	-10.137
Leu 49	-17.459
Tyr 48	-16.129
Trp 563	-34.842
Ile 651	-5.7177
Trp 627	-5.7696
Trp 629	-25.355
Val 653	-3.7730
Ile 703	-7.0264
Leu 701	-6.0111
Glu 738	-18.131
Met 733	-6.6414
Tyr 735	-34.594
Ile 759	-15.458
Lys 760	-12.216



## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

La figure 19 montre le mode de liaison pour la linagliptine en utilisant le diagramme d'interaction du ligand 2D et 3D avec des résidus spécifiques [27]. On remarque dans le diagramme que le ligand est bien entré dans la cavité formant des interactions importantes avec les résidus du site actif ; et par conséquent une bonne complémentarité.

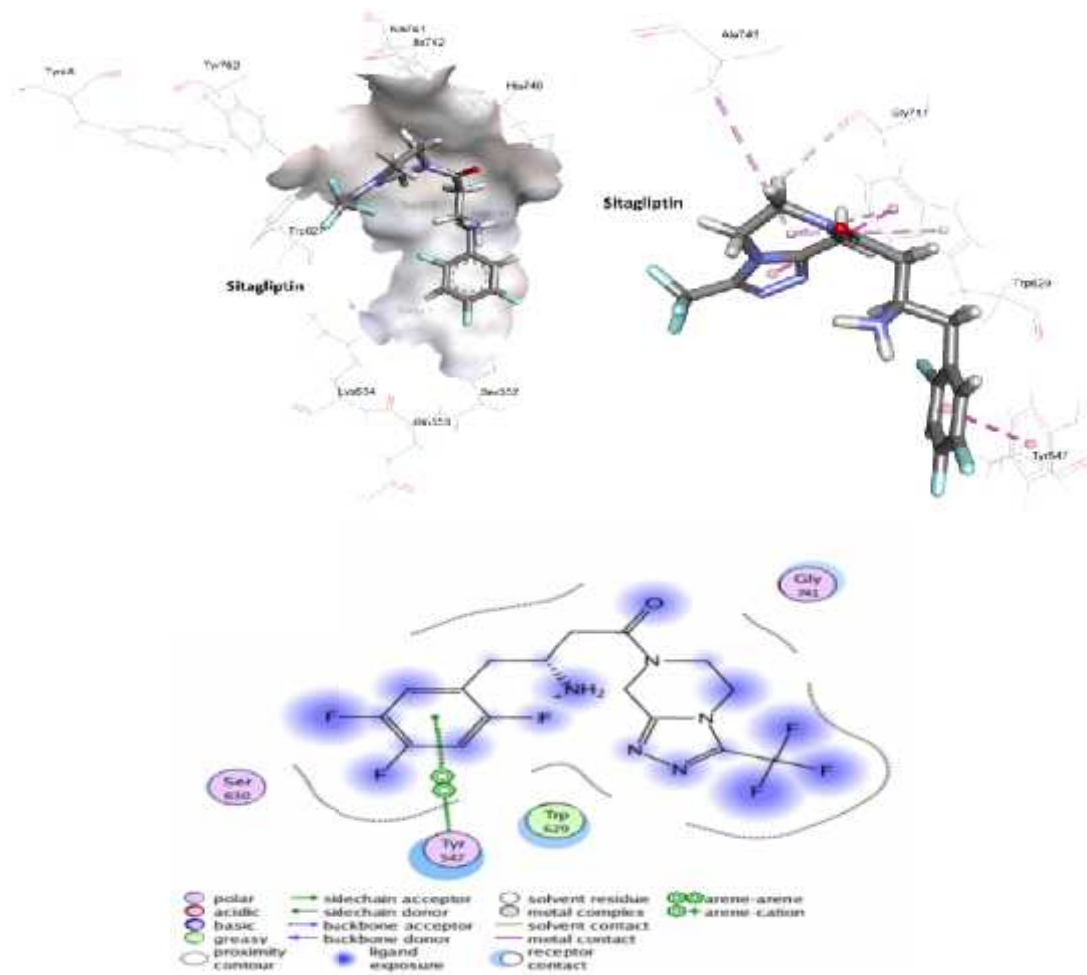
**Tableau 16 :** Les distances et les interactions de la linagliptine dans le site actif de la DPP-4

DPP4-Linagliptine ; atomes		Distance Å	Catégorie
LIN:H13	GLU205:OE1	2.85342	Liaison Hydrogène
LIN:H27	TYR662	2.34606	Liaison Hydrogène
LIN	TYR547	3.78932	Hydrophobique
LIN	TYR547	3.94605	Hydrophobique
LIN	TYR547	5.68019	Hydrophobique
LIN:C13	PRO550	4.20283	Hydrophobique
LIN:C13	PHE357	5.47279	Hydrophobique
LIN:C12	TYR547	4.47858	Hydrophobique
LIN:C12	TRP629	4.79209	Hydrophobique
LIN	TYR666	4.29016	Hydrophobique
LIN:C12	HIS740	4.94588	Hydrophobique
LIN:C20	HIS740	5.0297	Hydrophobique

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Nous observons la présence de deux liaisons hydrogène formées entre la linagliptine et les résidus de la DPP-4, et des interactions hydrophobes [21].

- La première liaison hydrogène est observée entre l'hydrogène H13 et l'oxygène OE1 du résidu Glu205 (Lina-H13 ... OE1-Glu205 ;  $d = 2.85342\text{\AA}$ ).
- Une deuxième liaison hydrogène est formée entre l'hydrogène H27 et le résidu Tyr662 (lina-H36 ... Tyr662 ;  $d = 2.34606\text{\AA}$ ).
- Enfin la linagliptine est stabilisée par des interactions hydrophobes formées par les résidus Tyr547, Pro550, Phe357, Trp629, Tyr666 et His740.



**Figure 20 :** le mode de liaison et l'orientation de la sitagliptine dans le site actif de la DPP-4

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

La figure 20 montre le mode de liaison de la sitagliptine en utilisant le diagramme d'interaction du ligand 2D et 3D avec des résidus spécifiques [27]. On remarque dans le diagramme que le ligand est bien entré dans la cavité formant des interactions importantes avec les résidus du site actif ; et par conséquent une bonne complémentarité.

**Tableau 17** : Les distances et les interactions de la sitagliptine dans le site actif de la DPP-4

DPP4-Sitagliptine ; atomes		Distance Å	Catégorie
SIT:H6	GLY741:O	2.68959	Liaison Hydrogène
SIT	TYR547	3.95149	Hydrophobique
SIT	TRP629	4.96471	Hydrophobique
SIT	ALA743	5.42169	Hydrophobique
SIT	TRP629	5.10137	Hydrophobique
SIT	TRP629	4.65452	Hydrophobique

- Nous observons la présence d'une liaison hydrogène formée entre l'hydrogène H6 de la sitagliptine et l'oxygène du résidu Gly741 (Sita-H6...Gly741 ;  $d = 2.68959 \text{ \AA}$ ) [21].
- La Sitagliptine est stabilisée par des interactions hydrophobes formées par les résidus Tyr547, Trp629 et Ala743.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.9. Conclusion

D'après les calculs il ressort que pour :

- Le complexe linagliptine-DPP-4 possède un score de 28.2722 et une énergie libre  $G = - 32.7574$  Kcal/mol. L'énergie de VDW est égale à  $- 49.41$  Kcal/mol, son énergie électrostatique est de  $-18.41$  kcal/mol.
- Le complexe sitagliptine-DPP-4 possède un score de 20.7784 et une énergie libre  $G = - 23.2586$  Kcal/mol. L'énergie de VDW est égale à  $- 25.28$  Kcal/mol, son énergie électrostatique est de  $-17.77$  kcal/mol.
  
- D'après les énergies le complexe linagliptine-DPP-4 est plus stable que le complexe sitagliptine-DPP-4
- Le nombre d'interactions du complexe sitagliptine-DPP-4(huit interactions fortes et deux moyennes) est plus élevé que celui du complexe linagliptine-DPP-4( quatre interactions fortes), on conclut que l'inhibiteur sitagliptine est bien fixé par les résidus du site actif du récepteur.
- En se basant sur le nombre d'interaction il a été confirmé que la sitagliptine « januvia produit commercialisé » est le meilleur inhibiteur de la DPP-4 pour le traitement du diabète de type 2.
- En se basant sur l'énergie de VDW, la linagliptine peut être probablement un inhibiteur de la DPP-4 dans le traitement du diabète de type 2, et reste à vérifier sa toxicité.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

### Références :

- [1] D. Frenkel, B. Smit. Understanding molecular simulations: From algorithms to Applications, Academic press: San, Diego, 1996.
- [2] D. Ritchie. Macromolecular Docking Using Spherical Polar Fourier Correlations, Department of Computing Science, University of Aberdeen, copyright © 1996-2005.
- [3] R. G. Ewan, Y. xiong, J. Melanie, L. Andrea, L. Regan. Design of stable  $\alpha$ -Helical arrays from an Idealized TPR Motif, *Elsevier science Ltd*, 11, P497-508, 2003.
- [4] A. Zinelabidine, A. Bouraoui, M. Fathallah, F. M'Henni, B. Blaive, R. Gallo, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, P267-274. 1993.
- [5] 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.
- [6] S. Sari, W. Medjahed, J.K. Mulengi, S. Ghalem. Approach of the Interaction Enzyme – Substrate by Molecular modeling. *Asian journal of chemistry*. Vol.19, N°.3, P2117-2124. 2007.
- [7] A. Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Pérez:” Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A”, *G L Y C O B I O L O G Y*, 1, 631–642. 1991.
- [8] H. Ayachi, M. Merad, and S. Ghalem. Study of interaction between ribonuclease-antibiotic by molecular modeling. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, P1-5, 2012.
- [9] W. Soufi, M. Merad, F. Boukli, S. Ghalem. The Complementarity Effect for Cdc25 Phosphatase Inhibitors. *Advances in Molecular Imaging*, P17-23. 2011.
- [10] Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada 10, 2013.
- [11] H. Yamaguchi, T. Akitaya, Y. Kidachi, K. Kamiie, T. Noshita, H. Umetsu and K. Ryoyama. Homology modeling and structural analysis of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2. *Eur J Med Chem.*; Vol46, P 25–30. 2011.
- [12] M.A. Ajay, J. Murcko. Computational methods to predict binding free energy in ligand-receptor complexes. *J. Med. Chem* 38, P4953-4967. 1995.
- [13] H. J. Böhm, M. Stahl. Rapid empirical scoring functions in virtual screening applications, *J. Med. Chem Res* 9, P445-462. 1999.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

- [14] A.M. Manikrao, N.S. Mahajan<sup>1</sup>, R.D. Jawarkar, D.T. Mahajan, V.H. Masand<sup>2</sup>, 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.
- [15] P.Labute, C. Williams, M. Feher, E.Sourial, J. M. Schmidt. Flexible Alignment of Small Molecules, *J. Med. Chem.* 44, P1483-1490. 2001.
- [16] (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.
- [17] A.M. Clark, P.Labute. Detection and Assignment of Common Scaffolds in Project Databases of Lead Molecules; *J. Med. Chem.* 52, P469-483. 2008.
- [18] H. Ayachi, M. Merad, and S. Ghalem. Study of Interaction between DipeptidylPeptidase-4 and Products Extracted from the Stevia Plant by Molecular Modeling. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, n° 18, P87-90. 2013.
- [19] H. Yamaguchi, Y. Kidachi, K. Kamiie, T. Noshita and H. Umetsu. Structural insight into the ligand receptor interaction between glycyrrhetic acid (GA) and the high-mobility group proteins B1 (HMGB1)-DNA complex, *Bioinformatics* 8(23), *Open Access*, P1147-1153. 2012.
- [20] 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.
- [21] M.M. I. Rana, I. A. Ola Salem\*, G. Samia Abdel-Moty and N. Abdel-Hamid Kafafy. Synthesis, Molecular Modeling Study and Anti-inflammatory Activity of Novel Benzimidazole Derivatives with Promising Cyclooxygenase Inhibitory Properties. *Der Pharma Chemica*, 8(17):213-231, 2016.
- [22] H. Yamaguchi, K. Kamiie, Y. Kidachi, T. Noshita, H. Umetsu, Y. Fuke, K. Ryoyama. Structural insight into the ligand-receptor interaction between 6 (methylsulfinyl) hexylisothiocyanate and Multidrug resistance-associated protein 1 nucleotide-binding domain 1. *International Journal of Computational Bioinformatics and In Silico Modeling. Open Access*, Vol. 3, No. 1, P310-314. 2014.
- [22] R.G. Ewan, Y. xiong, J. Melanie, L. D'andrea, and L. Regan. Design of stable  $\alpha$ -Helical arrays from an Idealized TPR Motif. Elsevier science Ltd. Vol 11, 497-508; 2003.

## CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

- [23] M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, and J. J. P. Stewart .AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Model. *Journal of the American Chemical Society*. 107:3902-3909; 1985.
- [24] G. Jones, P. Willett, R. C. Glen, A. R. Leach, R. Taylor. Development and validation of a Genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol*; 267: 727-48. 1997.
- [25] P. Labute, C. Williams, M. Feher, E. Sourial, J. M. Schmidt. Flexible Alignment of Small Molecules, *J. Med. Chem.* 44, P1483-1490; 2001.
- [26] <http://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/csd-discovery/components/gold/>  
<https://sourceforge.net/projects/smina/files/>
- [27] Z. Zhang, M. Wallace, J. Feng, S. L. Gwaltney. Design and Synthesis of Pyrimidinone and Pyrimidinedione Inhibitors of Dipeptidyl Peptidase IV. *Journal of Medicinal Chemistry* 54(2):510-24, 2011.
- [28] H. BOUCHERIT, A. CHIKHI1, A. BENSEGUENI, A. MERZOUG, K. S. HIOUAL, EL H. MOKRANI. L'AMARRAGE MOLECULAIRE : UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LUTTER CONTRE LE DEVELOPPEMENT DE LA TUBERCULOSE. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 7, N°2, p : 133-149. 2013.
- [29] S. Teniou. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. these de Biochimie et Microbiologie option Technologie des Explorations Biochimiques. 57-67, 2012.

## CONCLUSION GENERALE

### CONCLUSION GENERALE

Les récentes difficultés de l'industrie pharmaceutique ne semblent pouvoir se résoudre que par l'optimisation de leur processus de développement des médicaments. Cette dernière implique de plus en plus de techniques dites "haut-débit", particulièrement efficaces lorsqu'elles sont couplées aux outils informatiques permettant de gérer la masse de données produites. Notre travail de recherche avait pour but essentiel d'acquérir des compétences en simulation informatique, en particulier la modélisation moléculaire pour contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs des cibles enzymatiques jouant un rôle prometteur dans le traitement du diabète de type 2.

Pour étudier ces interactions, nous avons choisi des programmes de docking moléculaire, qui utilisent un algorithme génétique. Ces programmes ont été développés pour aider à la mise au point de molécules à activité thérapeutique. Il s'agit de calculs entre des composés de petit poids moléculaire (inhibiteurs) et des récepteurs protéiques de types enzymatiques.

La littérature récente tend à remettre en cause leur fiabilité, affirmant l'émergence d'un besoin pour des approches plus précises du mode d'interaction. Cette précision est essentielle au calcul de l'énergie de liaison, qui est directement liée à l'affinité du principale actif à la protéine cible, et indirectement liée à son activité biologique. Une prédiction précise est d'une importance toute particulière pour la découverte et l'optimisation de nouvelles molécules actives.

Dans le cadre de l'étude des mécanismes régissant l'évolution de la maladie du diabète de type 2, nous nous sommes intéressés aux interactions moléculaires entre trois enzymes étudiées et les différents inhibiteurs, à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire. Les outils informatiques retenus pour mener à bien cette étude sont : la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et le Docking moléculaire.

## CONCLUSION GENERALE

Cette étude comprend quatre chapitres :

- Dans le premier chapitre, on part du constat que le diabète de type 2 est désormais en passe de devenir un véritable fléau qui ronge de plus en plus la santé des adultes et les jeunes aux quatre coins du monde. Nous abordons cette maladie à travers les points suivants :
    - Définition du diabète de type 2,
    - Epidémiologie et Physiopathologie,
    - Complications du diabète de type 2, et son Traitement.
  - Dans le deuxième chapitre, nous avons décrit les principales approches de la modélisation moléculaire. Nous avons, tout d'abord, montré l'intérêt du DOCKING pour lequel il est primordial de considérer la flexibilité du ligand.

Nous avons ensuite introduit la notion de mécanique moléculaire qui est un outil puissant utilisé pour mieux comprendre les petits systèmes moléculaires et pour répondre à certaines questions concernant la structure électronique de molécules.

La définition du champ de force est aussi rapportée. Le champ de force représente l'une des approximations en modélisation moléculaire ; il a pour objectif de décrire des classes entières de molécules avec une précision relativement probable.

Puis il a été abordée la notion de dynamique moléculaire en amont du DOCKING afin d'introduire l'information de variabilité structurale de la cavité.

Par ailleurs, les fonctions de Scoring ont été décrites ainsi que la manière dont l'information doit en être interprétée.
  - Dans le troisième chapitre, nous avons présenté les matériels utilisés ainsi que les méthodes qui nous ont permis d'exploiter nos données.
  - Le quatrième chapitre, a été consacré aux résultats obtenus ainsi qu'à la discussion et à l'interprétation de ces derniers. Nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre les trois enzymes étudiées et les différents inhibiteurs par visualisation des différents types de liaisons mises en jeu.
- Dans la première étude, nous avons étudié l'approche de Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) avec deux inhibiteurs Rebaudioside A et Stevioside. Les résultats montrent que les valeurs obtenues relatives aux énergies d'interaction prévoit par quel type et nature de forces les interactions Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)-substrat sont gouvernées.

## CONCLUSION GENERALE

On fait souvent référence à une décomposition de l'énergie potentielle totale de la molécule en plusieurs termes (Énergie électrostatique, Energie de VDW,...).

Enfin en nous basant sur l'énergie d'interaction totale, on a remarqué que l'inhibiteur 2 est plus actif que l'inhibiteur 1. Les distances mesurées entre les groupements des inhibiteurs et ceux des chaînes latérales dans les deux cavités, ce qui permet de conclure que le stéviolside présente une meilleure inhibition pour ralentir l'évolution de l'enzyme étudiée.

- Dans la deuxième étude, nous avons abordé l'approche de Maltase – Glucoamylase et Glycogène synthase kinase-3 avec les inhibiteurs : Rebaudioside A et Steviolside.

Les résultats obtenus lors du docking ont montré que les deux inhibiteurs ont des interactions avec les résidus des deux enzymes ; et par conséquent l'existence d'une affinité.

- Le complexe 2 présente une énergie plus faible que le complexe 1 et unique interaction pour les deux.

- Le complexe 3 présente une énergie plus faible que le complexe 4, mais ce dernier à des interactions plus importante et plus forte, ceux qui suggère que le stéviolside inhibe les deux enzymes (MGA et GSK-3) mieux que le rebaudioside A, donc le stéviolside est plus stable que le rebaudioside A.

- Les résultats obtenus a l'aide des deux approches (logiciels Hex6.3 et MOE) révèlent que le stéviolside est un bon inhibiteur pour les enzymes, donc le stéviolside peut être probablement un bon inhibiteur pour le traitement du diabète de type 2, et reste à vérifier sa toxicité.

- Dans la troisième étude, nous avons traité de l'approche de la DPP-4 avec des inhibiteurs: la linagliptine, la sitagliptine, la vildagliptine, l'alogliptine et la saxagliptine.

D'après les calculs il ressort que pour :

- D'après les énergies le complexe linagliptine-DPP-4 est plus stable que le complexe sitagliptine-DPP-4

- Le nombre d'interactions du complexe sitagliptine-DPP-4 est plus élevé que celui du complexe linagliptine-DPP-4, on conclut que l'inhibiteur sitagliptine est bien fixé par les résidus du site actif du récepteur.

- En se basant sur le nombre d'interaction il a été confirmé que la sitagliptine « januvia produit commercialisé » est le meilleur inhibiteur de la DPP-4 pour le traitement du diabète de type 2.

- En se basant sur l'énergie de VDW, la linagliptine peut être probablement un inhibiteur de la DPP-4 dans le traitement du diabète de type 2, et reste à vérifier sa toxicité.

## Résumé

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter les données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking"). L'emploi initial du "docking" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand. Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type d'interaction. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de nouveaux médicaments.

Notre travail consiste à étudier l'inhibition des différentes enzymes impliquées dans la maladie du diabète de type 2 avec des différents inhibiteurs par les méthodes de modélisation moléculaire. Nous avons choisis des programmes du docking moléculaire pour notre travail: Hex6.3, MOE et GOLD.

**Mots clés :** Le diabète de type 2, Le Rebaudioside A, Le Stéviolside, Les gliptines et modélisation moléculaire.

## Abstract

Research in biology can not currently do without computer tools to process the data produced and optimize its advances. One of these tools is molecular modeling and more specifically molecular stowage (more commonly known as "docking"). The initial use of molecular "docking" was to predict and reproduce protein-ligand complexes. Docking is the basis for molecular recognition and the type of interaction. With each target protein of known structure the docking proves to be the key in the design of new drugs.

Our work consists in studying the inhibition of the different enzymes involved in the disease of type 2 diabetes with different inhibitors by molecular modeling methods. We have chosen molecular docking programs for our work: Hex6.3, MOE and GOLD.

**Key words:** Type 2 diabetes, Rebaudioside A, Steviolside, Gliptins and molecular modeling.

فيما يخص الأبحاث البيولوجية لا يمكن القيام بها حاليا بدون استعمال أدوات الكمبيوتر عليها و بالتالي تحسين هذه الأخيرة بواسطة تقنيات النمذجة الجزيئية وبالتدقيق الالتحام الجزيئي عليها م الجزيئي هو الاعتراف و الاستنساخ المركبات بروتين- . هو الجزيئي بروتين الهدف هيكل بيرهن على أن تكون تصميم أدوية جديدة.

نبحثنا يحتوي تثبيط مختلف الأنزيمات المشاركة  
النمذجة الجزيئية. تم اختيار برامج في هذا الصدد أهمها : كسا6.3, غولد

الكلمات المفتاحية : نوع2, ريبيوديوزيد, دا, وزيدس, تيفي و غليبتين, النمذجة

الجزيئية