

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM
FACULTÉ DES SCIENCE DE LA VIE DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de fin d'étude

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME

FILIÈRE : SCIENCE BIOLOGIQUE.

OPTION : PHYSIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOPATHOLOGIE.

***Evaluation du pouvoir antidiabétique de
substances naturelles par modélisation
moléculaire.***

Présenté par : *HABBEDDINE Hassina.*

Soutenu devant le jury :

Président : *Pr. SAKER Meriem*

Encadreur : *Mr CHERRAK Sabri*

Examinatrice : *Pr. GUERMOUCHE Baya*

Année universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENTS

LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE A ÉTÉ POSSIBLE GRÂCE AU CONCOURS DE PLUSIEURS PERSONNES À QUI JE VOUDRAIS TÉMOIGNER TOUTE MA GRATITUDE.

JE VOUDRAIS TOUT D'ABORD ADRESSER TOUTE MA RECONNAISSANCE AU DIRECTEUR DE MON MÉMOIRE MR CHERRAK SABRI POUR SA PATIENCE, SA DISPONIBILITÉ ET SURTOUT SES JUDICIEUX CONSEILS, QUI ONT CONTRIBUÉ À ALIMENTER MA RÉFLEXION.

JE DÉSIRE AUSSI REMERCIER LES PROFESSEURS DE L'UNIVERSITÉ D'ABOU BEKR BELKAID, QUI M'ONT FOURNI LES OUTILS NÉCESSAIRES À LA RÉUSSITE DE MES ÉTUDES UNIVERSITAIRES.

JE TIENS À REMERCIER SPÉCIALEMENT MES PARENT, HABBEDDINE HASSAN ET NASRI SALIMA QUI TOUT AU LONG DE MA VIE M'ONT ENCOURAGÉ POUR ALLER VERS L'AVANT ET DE NE JAMAIS ABANDONNER.

JE VOUDRAIS EXPRIMER MA RECONNAISSANCE ENVERS MON MARI KENADIL MOHAMMED EL AMIN POUR SA PATIENCE ET SON ENCOURAGEMENT PENDANT CE PARCOURS.

UN GRAND MERCI À MA GRANDE SŒUR HABBEDDINE FARAH ET À MON FRÈRE ANES QUI ONT TOUJOURS CRUS EN MOI.

ENFIN, JE TIENS À TÉMOIGNER TOUTE MA GRATITUDE AUX AMIES ET COLLÈGUES PENDANT CES DEUX DERNIÈRES ANNÉES.

DÉDICACE

A MES CHERS PARENTS QUI ONT CONTRIBUÉ À MA RÉUSSITE
DEPUIS MON ENFANCE PAR LEUR AMOUR, LEUR TENDRESSE, LEUR
SACRIFICE ET LEUR PRIÈRE.

A MON ADORABLE MARI POUR SA PATIENCE ET SA MOTIVATION
PERMANENTE.

A MA GRANDE SŒUR POUR M'AVOIR APPRIS TANT DE CHOSES ET
À MON FRÈRE POUR SON SOUTIEN.

AU AMIES ET COLLÈGUES POUR LEUR AIDES PENDANT CES DEUX
DERNIÈRES ANNÉES.

ET ENFIN À MA CHÈRE BELLE MÈRE **الله** **يرحمها** POUR SES CONSEILS
ET SON AMOUR ET QUI M'A CONSIDÉRÉ COMME SA PROPRE FILLE.

Table des matières

INTRODUCTION :	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE 1: PHYSIOPATHOLOGIE DU DIABÈTE	5
A. Définition du diabète :	6
B. Les groupes du diabète :	7
C. Les types de diabète sucré :	8
D. Complications liées au diabète :	10
E. Différents traitements du diabète :	12
CHAPITRE2: LES SUBSTANCES NATURELLES QUI INFLUENCENT LE DIABÈTE	14
A. La berbérine :	17
B. La betalaine :	21
C. Aloé Vera :	22
CHAPITRE 3: LES ENZYMES QUI INFLUENCENT LE DIABÈTE	24
A. Définition des enzymes :	25
B. Les différentes classes d'enzymes :	25
C. Les enzymes métaboliques et diabète :	25
MATÉRIELS ET MÉTHODES	33
RÉSULTATS	36
DISCUSSION	46
CONCLUSION :	51
RÉSUMÉ	53
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	56

Liste des Tableaux

<u>Tab. 1 comparaison du diabète de type 1 et 2 (J, -P. Belon, physiologie., 2015).</u>	9
<u>Tab. 2 Tableau des différentes substances naturelles antidiabétiques :</u>	15
<u>Tab. 3 Tableau : masse des ligands plus leur ID :</u>	45
<u>Tab. 4 : les valeurs pharmacocinétiques des ligands :</u>	45

Table des figures

Fig. 1 ANATOMIE DU PANCRÉAS (by openStax collège via Wikimedia Commons)...	7
Fig. 2 : Schéma démontrant le déclenchement u diabète de type 1.	8
Fig. 3 facteurs de risque du diabète gestationnel (Giphar., 2021)	10
Fig. 4 : Différentes anomalies liées au diabète. (Mayo Clinic. Diabetic retinopathy. March 20, 2015 [vu le 30 Mars 2015)	12
Fig. 5. Berberis aristata.....	18
Fig. 6 La berbérine sèche.....	18
Fig. 7 Structure de la berbérine	19
Fig. 8 Photo démontrant le pigment de la betanine	21
Fig. 9 Aloe Vera	23
Fig. 10 schémas illustrant les activateurs de l'AMPK et ses trois sous unités.....	29
Fig. 11 illustrations de la fixation du ligand 54741983 avec la protéine en 3D par Chimera.....	38
Fig. 12 les résidus d'acides aminées du site de fixation par discovery studio.....	39
Fig. 13 fixation du ligand 66911238 avec la protéine par Chimera en 3D.	40
Fig. 14 résidus de site de fixation avec le deuxième ligand.....	40
Fig. 15 Illustration en 3D de la fixation du ligand 68309769 avec la protéine par Chimera.....	41
Fig. 16 Image montrant les différents résidus du. Site de fixation du ligand avec la protéine.....	42
Fig. 17 Illustration en 3D de la fixation du ligand 88553766 avec la protéine 4CFF par Chiméra.....	43
Fig. 18 Image de Discovery studio montrant les résidus du site de fixation du ligand avec la protéine.....	43

INTRODUCTION

En Algérie, le diabète représente un énorme danger pour la population, en 2015 il y a eu une prévalence entre 8 à 12% indiquant le nombre de diabétiques.

Il est classé quatrième dans la liste des maladies mortelles. Son estimation d'augmentation est de 6,7 millions en 2030 en Algérie. **(M-A Chami, al., 2015)**

Le diabète une fois provoqué déclenche avec lui beaucoup de complications : cardiovasculaires, inflammatoires, hypertensions, rénales... **(Jean., L 2013)**

Cependant, des recherches ont été faites pour lutter contre cette pandémie diverses études ont été faites : amarrage, in vivo par induction du diabète par streptozotocine sur des rats, et études sur des personnes diabétiques... il existe trois types de diabète : diabète de type 1 insulino-dépendant ou diabète juvénile, diabète de type 2 insulino-résistant et diabète gestationnel. Le diabète de type 1 apparaît dès le jeune âge qui s'identifie par une destruction des cellules bêta de Langerhans, le diabète de type 2 n'est pas sensible à l'insuline et le diabète gestationnel est momentané pendant la grossesse.

C'est un déséquilibre métabolique au niveau enzymatique qui induit des cascades de maladies à cause d'une alimentation non équilibrée, une sédentarité, une génétique transmise, un environnement malsain.

Une alimentation riche en lipide va épuiser les cellules bêta de Langerhans et les empêcher de fonctionner normalement. Les premières molécules à être affectées par ceci après les organes sont les enzymes métaboliques dont leur fonction va être déséquilibrée ou altérée et inhibée. Donc, la meilleure des choses à faire est de réactiver ces enzymes par des substances artificielles ou naturelle. **(Tenenbaum et al., 2018)**

En revanche, il est difficile de concevoir le devenir d'une substance médicinale et de l'agréer de la certifier autant que remède efficace contre telle ou telle maladie, mais le monde de l'informatique nous a offert une application, un outil indispensable pour les recherches bio-informatiques qui le Docking moléculaire connu aussi sous le nom de modélisation moléculaire, ce moyen technologique consiste à fusionner deux molécules dont un est un ligand (une substance naturelle par ex) et l'autre une protéine (une enzyme comme AMPK) en 3D grâce à des paramètres tel que autoDock, ces molécules sont extraites à partir d'une banque de protéine tel que PDB. **(Y. Mahjoub., 2010)**

Bien sûr les meilleurs activateurs d'enzymes qui existent dans le monde entier sont des substances naturelles qui collaborent très bien avec les constituants du corps humain et ils sont économiques en plus de ça.

Il existe beaucoup de plantes antidiabétiques rien qu'en Algérie telles que : le gattilier, le chardon de marie, la cannelle, la curcumine... ainsi que des substances naturelles : le pollen, le miel... alors pourquoi ne pas en tirer profit et se baser sur la phytothérapie ?

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1:

PHYSIOPATHOLOGIE DU DIABÈTE

A. Définition du diabète :

Le diabète vient du mot grec << diabètes >> qui veut dire : qui traverse tout simplement car auparavant, au temps des grecs les chercheurs déterminaient qu'une personne est diabétique par la gustation d'urine d'où la nomination du diabète sucré, puisque l'urine était sucrée et aussi ils ont remarqué que dès que la personne diabétique buvait, quelques minutes après elle urinait. Contrairement à l'urine sucrée il y a une urée sans goût autrement dit insipide un marqueur d'un autre type de diabète qui a une relation directe avec les reins conséquence d'une anomalie au niveau de l'hypothalamus ou à la résistance des reins à la vasopressine. (**SHERWOOD, 2^E édition, 2016**).

Le diabète est défini comme une pathologie métabolique endocrinienne dû soit à une carence en insuline minime ou totale. (Alexis **Guerin-Dubourg, 2014**).

En 2014, 8,5 millions de la population adulte à partir de 18 ans étaient diabétiques, en 2015 le diabète a causé la mort de 1,6 millions de personne dans le monde, et en 2012 2,2 millions de décès. (**OMS., 2016**)

Le diabète se traduit par une augmentation de la glycémie dans le sang en dessous de la norme poste prandial. Un intervalle normal de glycémie à jeun est de 0.70g/l et 1.10g/l ou après une heure 30 du repas. (**Fédération française des diabétiques., 2017**).

La glycémie étant stable tout va bien, le corps est en équilibre, mais, si le taux de sucre augmente ou diminue dans le sang on parle d'hyperglycémie et hypoglycémie respectivement. Et comme mentionné auparavant ceci est dû soit à une sécrétion d'insuline mais avec une concentration moindre soit à une résistance à cette dernière.

L'insuline est une hormone de 6KD avec une durée de vie courte 5 min environ, c'est une hormone peptidique importante dans l'homéostasie métabolique, elle entre en jeu dans les trois réactions primordiales de l'organisme : glucidique, lipidique et peptidique. (**J, -P. Belon, physiologie., 2015**).

L'insuline est produite par les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas.

Le pancréas est la deuxième plus grosse glande du corps, déterminé aussi comme un organe, avec un poids de 60 à 80 g et 12 à 15 cm de long, 2 à 4 cm de largeur et 1 cm d'épaisseur.

Ce petit organe situé entre le foie et l'intestin a deux fonctions métaboliques l'une exocrine responsable du suc pancréatique constitué de lobules composés d'actinus drainé par des canaux

excréto-sécréteurs et l'autre endocrine constituée des îlots pancréatiques formés de plusieurs types cellulaires sécrétant de l'insuline et du glucagon. (J, -P. Belon, physiologie., 2015)

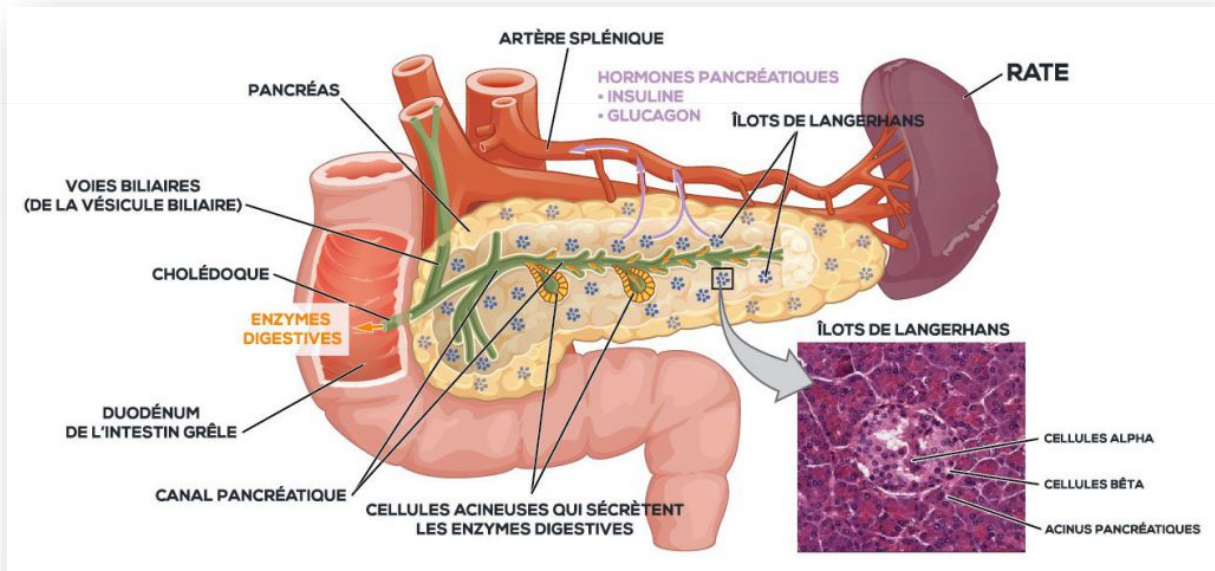


Fig. 1 ANATOMIE DU PANCRÉAS (by openStax collège via Wikimedia Commons)

B. Les groupes du diabète :

Il existe 5 groupes de diabète :

1. **Diabète auto-immune** : représente 6% de la population, le système immunitaire se met à produire des anticorps anti-insuline et attaque les cellules bêta de Langerhans ceci va les détruire et empêcher de produire de l'insuline comme il se doit, l'hormone est soit produite en petite quantité soit pas du tout. Ce type de diabète apparaît dans la vie précoce.
2. **Diabète insuline-déficient sévère** : représente 18% de la population, une carence en insuline précoce. Les patients obèses ont tendance à avoir la rétinopathie diabétique.
3. **Insuline-résistant sévère** : représente 15% de la population, l'insuline est sécrétée sauf qu'il y a moins d'affinité avec leur récepteur donc elle ne se fixera pas. Ces patients obèses ont tendance à être atteints de l'insuffisance rénale.
4. **Diabète modéré lié à l'obésité** : 22% de la population apparaît dès le jeune âge.

5. Diabète modéré lié à l'Age : 39 % de la population. (E.Ahlqvist et al. Consulté le 14 mars 2018.)

C. Les types de diabète sucré :

Il y a deux types de diabète sucré chronique en plus un qui apparaît parfois chez la femme au moment de la grossesse :

1. Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est une maladie auto immune due à une destruction des Cellules bêta des ilots de Langerhans par les lymphocytes T CD4 anti- cellules des d'ilots amenant au déclenchement d'une insulinopénie totale. Jusqu'à présent la cause est encore inconnue. (J. p. Belon. Al, physiologie., 2015).

Il représente seulement 20 % de la population. Environ 90% des cellules sont détruites, ce phénomène peut être la conséquence de deux facteurs : génétique et environnemental

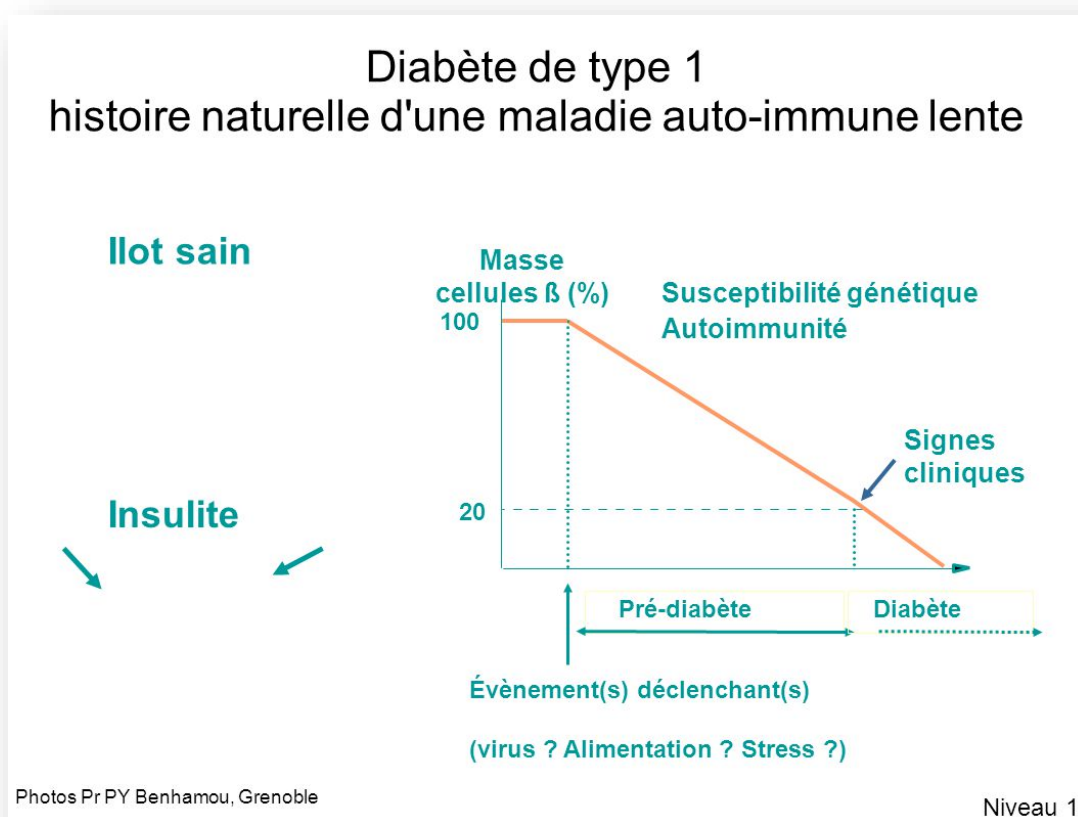


Fig. 2 : Schéma démontrant le déclenchement u diabète de type 1.

2. Diabètes de type 2 :

Tab. 1 comparaison du diabète de type 1 et 2 (J, -P. Belon, physiologie., 2015).

Caractéristiques	Diabète type 1	Diabète de type 2
Sécrétion d'insuline	Nulle ou presque nulle	Normale ou plus que normale
Age habituel du début	Enfant	Adulte
Pourcentage des diabétiques	10-20%	80-90%
Défectueuse basique	Destruction auto-immune des cellules beta	Sensibilité des cellules à l'insuline réduite
Traitement	Injection de l'insuline ; régime ; exercice physique	Régime et perte de poids ; exercice ; si besoin drogues hypoglycémiantes par voie orale.

Le diabète de type 2 est le plus répandu. Comme tous les types, il est reconnu par une hyperglycémie, les cellules bêta sont intactes synthétisent et sécrètent de l'insuline normalement sauf que son acceptation par les récepteurs des hépatocytes et des myocytes est moindre ou négative conduisant à un déséquilibre hormonal telle que les incertaines IGF-1 et GIP importants dans le métabolisme glucidique mais aussi digestif ; le diabète de type 2 est souvent lié à l'hypertension artérielle, à l'obésité, une alimentation mal équilibrée.(**Dr O. Braillard., 2017**)

3. Diabète gestationnel :

Ou diabète de grossesse il s'agit d'un trouble de la tolérance du glucose pendant le 6^{ème} mois ou 3^{ème} trimestre qui fait augmenter le sucre dans le sang car l'insuline perd un peu de son effet à cause de certaines hormones sécrétées par le placenta pendant la grossesse. Sans inquiétude ceci disparaît après l'accouchement si la femme n'a pas t'antécédents diabétiques mais elle doit être sous surveillance. (Feig D et al., 2018)



Fig. 3 facteurs de risque du diabète gestationnel (Giphar., 2021)

D. Complications liées au diabète :

Un taux élevé de glucose dans le sang à cause d'une mauvaise gérance de l'insuline injecté ou avalé peut conduire à l'apparition d'autres maladies liées aux vaisseaux telles que : micro angiopathie et macro angiopathie relation avec les petits et gros vaisseaux, une forte

concentration d'insuline dans le sang peut aussi agir négativement sur la croissance néfaste pour les jeunes diabétiques.

Un diagnostic de diabète à jeun est de :

- 70g/L à 1,10 g/L = normal
- 1,11g/L à 1,26g/L = suspect
- Supérieur à 1,26 g/L = anormal

Après 2 heures postprandial :

- Inférieur à 1,40 g/L = normal
- Entre 1,40 g/L et 2 g/L = suspect
- Supérieur à 2g/L = anormal

Le diabète de type 2, certain le considère comme une épidémiologie car son augmentation dans le monde persiste d'une façon énorme et emporte avec lui de nombreuses personnes jeunes et âgées à cause de effets malicieux dans l'organisme déclenchant pas mal de maladies et dysfonctionnements due à une dose élevée de glucose dans le sang depuis de longues années, des complications mortelles si elles ne sont pas gérées de façon adéquate :

- Les maladies cardiovasculaires,
- Infarctus du myocarde,
- Hypertension artérielle,
- Athérosclérose,
- Atteinte des nerfs sur tout celles des membres inférieurs,
- Infection rénale (première cause de dialyse en France),
- AVC
- Les personnes diabétiques peuvent arriver même au stade de coma diabétique,
- Baisse de la vue. **(CEED, aide aux jeunes diabétiques., 2019)**

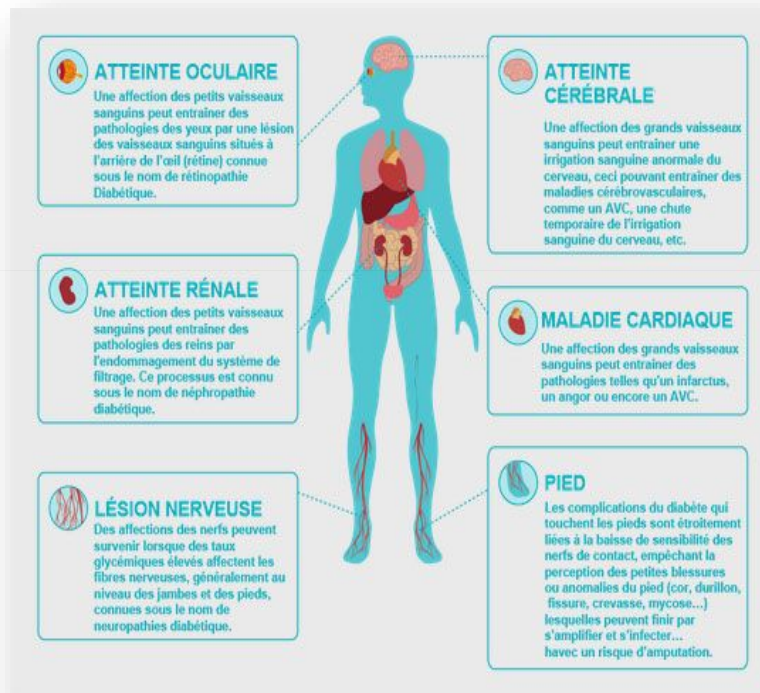


Fig. 4 : Différentes anomalies liées au diabète. (Mayo Clinic. Diabetic retinopathy. March 20, 2015 [vu le 30 Mars 2015])

E. Différents traitements du diabète :

a. Drogues/ médicaments pharmacologiques :

Au cours de ces dernières années, les chercheurs s'occupent plus d'innover les traitements antidiabétiques non seulement pour l'effet hypoglycémiant mais surtout pour la protection cardiaque et rénale, car le taux de mortalité des diabétiques est dû aux traitements qui ne favorisent pas le soutien de ces deux organes primordiaux.

Au cours de ces 10 dernières années, des praticiens ont montré que les sulfamides et les metformine (médicaments répandus pour la régulation de la glycémie) n'avaient aucun avantage dans la protection rénale et cardiaque au contraire ils pourraient être suspect de problèmes cardiovasculaires et insuffisance rénale.

En 2008, la FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) américaine a exigé que chaque nouveau médicament hypoglycémiant élaboré doit tout d'abord avoir l'effet protecteur sur les reins et le cœur. Même si une approche a été faite sur les hiazolidinediones avec un

résultat thérapeutique meilleur pour les diabétiques, ils n'ont pas été acceptés dans le marché pharmacologique.

Pendant ces cinq dernières années, deux types de drogues ont été mises en évidence par des praticiens qui avaient des avantages comme exigé par la FDA : hypoglycémifiants, perte de poids et évitant toutes maladies en relation avec le cœur et les reins ; la glyflozine iSGLT2 ; et les incrétonomémétiques ARGLP1 montrant des résultats plus efficaces mais les recherches restent en cours d'évolution. Désormais les recherches se basent plus sur la protection cardiaque et rénale. (SCHEEN AJ (1) ; PAQUOT N (2), 2020).

Un autre type de traitement existe celui de la pompe à insuline pour les patients diabétiques de type 2, des essais ont été faits pendant 6 mois et les résultats ont été en faveur de cette pompe. (L. Pantalone, al, 2016) Elle est inventée dans les années 1970, elle évite les injections pour les personnes atteintes du diabète de type 1, contrôle le diabète en contrôlant la glycémie et améliore le psychisme des patients. (L. Lichtenberger-geslin, al, 2013)

b. Traitement par substances naturelles :

Aujourd'hui, les chercheurs s'orientent de plus en plus vers la naturopathie, le traitement par des plantes, un moyen naturel évitant tous les effets indésirables....

CHAPITRE 2 :
LES SUBSTANCES NATURELLES QUI
INFLUENCENT LE DIABÈTE

Désormais, les thérapeutes, se projettent sur d'autres méthodes de traitement vu que plus de quatre millions de personnes meurent à cause de ces médicaments néfastes pour la santé cardiaque et rénale.

Plusieurs plantes ont été mises sous projection, afin d'établir des recherches, des études confirmant les dires de nos ancêtres.

Quelques-unes d'entre elles sont citées sur le tableau ci-dessous :

Tab. 2 Tableau des différentes substances naturelles antidiabétiques :

Substances naturelle antidiabétiques	Effets	Actions et Enzymes cibles	Références
La berbérine	Antibiotique, antiviral, antimycosique, antiinflammatoire, hypoglycémiant ...	AMPK	Vanhoebost, Elise, and Jean-Paul Thissen. "Apport de la berbérine dans le traitement du diabète de type 2."
La betaine	Antiinflammatoire, hypoglycémiant, protège les organes diminue le cholestérol, les LDL	AMPK/ SIRT1	Abedimanesh, Nasim, et al. "The anti-diabetic effects of betanin in streptozotocin-induced diabetic rats through modulating AMPK/SIRT1/ NF-κB signaling pathway." <i>Nutrition & Metabolism</i> 18.1 (2021) : 1-13.
Aloe Vera	Hypoglycémiant, antiinflammatoire, effet cicatrisant, antioxydant, antimicrobien.	AMPK/ PPAR-gamma/ les GLUT4 et les récepteurs des cellules beta	Haghani, Fatemeh, et al. "Aloe vera and Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus." <i>Revista Brasileira de Farmacognosia</i> (2022) : 1-14.
Cannelle	Protection antioxydant et régule la glycémie.		Benaraba, Rachida. <i>Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : étude expérimentale des</i>

			<i>effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (Polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III).</i> Diss. Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2007.
Curcumine	Antidiabétique ; antiinflammatoire, anticancéreux neuroprotecteur, antioxydant	Parmi les enzymes AKT	Meng, Bo, Jun Li, and Hong Cao. "Antioxidant and antiinflammatory activities of curcumin on diabetes mellitus and its complications." <i>Current pharmaceutical design</i> 19.11 (2013): 2101-2113.
Grain de pollen	Antidiabétiques, anticancéreux, immun modulateur, protège le cœur, antioxydant, stimulateur, antiinflammatoire et antimicrobien et action digestive	Régule les hormones déstabiliser par le diabète.	Kheira, PrésidenteMme Zerrouki, et al. "Contribution à l'étude de l'effet antidiabétique du miel saharien et du pollen Etude in vivo chez le rat «Wistar»."
Gingembre	Augment la sensibilisation à l'insuline diminue le cholestérol les TG et AG. Anti tumoral. Antiinflammatoire. Antioxydant. Antimicrobien et agit positivement pour le tube digestif.	Glucokinase/ phosphofructo kinase/ pyruvate kinase et les amylases.	Butin, Anne. <i>Le gingembre : de son utilisation ancestrale à un avenir prometteur.</i> Diss. Université de Lorraine, 2017.

Granule de jinlida	Régule les fonctions des cellules bêta et la sensibilité à l'insuline, en plus de ça elle réduit la masse corporelle.	Action sur les cellules bêta de Langerhans.	Lian, Fengmei, et al. "Effectiveness of traditional Chinese medicine Jinlida granules as an add-on therapy for type 2 diabetes: A system review and meta-analysis of randomized controlled trials." <i>Journal of diabetes</i> 11.7 (2019): 540-551.
Graine de datte	Effet hypoglycémiant. Basse le gras. Protège le foie les reins des dégats du diabète.		Imene, Benhalima, and Hammou Dehiba. "Contribution à l'évaluation de l'activité antidiabétique des dattes Algériennes (Phoenix dactylifera L.)- Etude in vivo."
Thé vert	Antioxydant et module le métabolisme de la glycémie et des lipides.	Stimule la sécrétion des GLUT4 et l'insuline.	Benaraba, Rachida. <i>Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : étude expérimentale des effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (Polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III)</i> . Diss. Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2007.

A. La berbérine :

Une substance alcaloïde thérapeutique, qu'on y trouve dans plusieurs plantes asiatiques telle que berberis aristata excrétée 678 avant J.C. joue un rôle important dans les maladies infectieuse, l'inflammation, eczéma

Son apparition dans le monde pharmaceutique n'est pas nouvelle, la berbérine est aussi bénéfique pour le diabète de type 2 en régulant le mécanisme glucidique, mais aussi tout ce qui suit : lipidique et protéique. Un pigment à ne pas négliger. (Vanhoebost. E., 2020)



Fig. 5. Berberis aristata



Fig. 6 La berbérine sèche

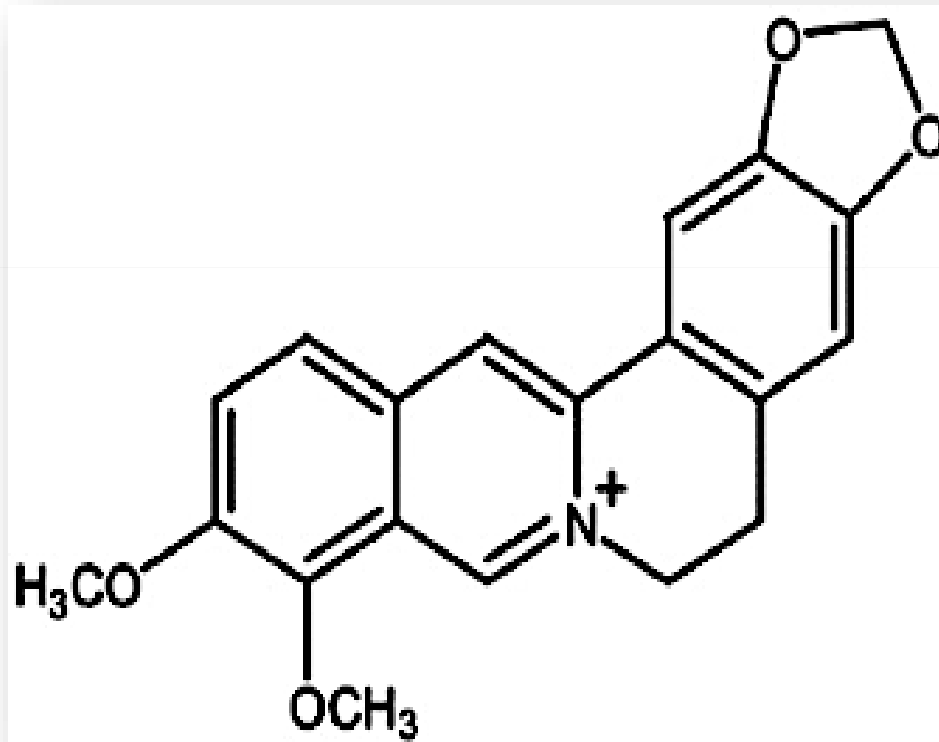


Fig. 7 Structure de la berbérine

a. Le devenir de la berbérine :

La berbérine est un alcaloïde isoquinoléique composé d'une base azoté hétérocyclique doué d'une propriété physiologique exceptionnelle en basculant tout le mécanisme du corps que ce soit glucidique, lipidique ou protéique ; agissant soit comme un élément toxique ou thérapeutique.

Cette matière agit principalement avec l'enzyme AMPK (une des enzymes les plus animés dans le métabolisme de l'organisme).

On l'a nommé comme étant l'activatrice de cette dernière puisque en se fixant sur son site allostérique elle va stimuler la phosphorylation de la thréonine numéro 172, qui par la suite va déclencher une cascade de phosphorylation des enzymes permettant leur activation ou non. Cette réaction est dépendante de l'AMP et est directe.

Par contre, il existe une autre activation indirecte toujours en apport avec l'ATP, cette fois ci la berbérine va permettre l'activation d'une autre enzyme LKB1 qui une fois activé, elle

va stimuler la phosphorylation de la sous unité alpha. Cette voie peut aussi être dépendante de la protéine calcium/ calmoduline protéine kinase beta CaMKK β : une augmentation intracellulaire dans la concentration du calcium provoque une cascade de phosphorylation.

L'AMPK est connu comme un régulateur important du métabolisme énergétique car son activation va lui permettre de réguler toute voie en rapport avec l'énergie tel que la voie glucidique, ceci est dépourvu chez les diabétiques de type 2 mais la berbérine est la substance idéale pour inciter l'enzyme à faire son travail correctement sans conséquences.

La berbérine a encore d'autres bienfaits pour lutter contre le diabète de type 2 :

- Stimulation de la berbérine par les GLP-1.
- A un effet négatif sur les enzymes hyper lipidiques en inhibant leur expression et activer leurs opposés afin de stimuler le catabolisme des acides gras, de permettre la différenciation des adipocytes et de réguler le glucose.
- Diminue la glycémie postprandiale en diminuant leur absorption par les intestins en inhibant l'alpha glucosidase.
- Inhibe la néoglucogenèse.
- Améliore la résistance à l'insuline en activant l'expression des récepteurs de l'insuline.
- Inhibe dipeptidyl peptidase 4 qui clive le GLP-1.
- Des recherches récentes ont prouvé que la flore intestinale a un pouvoir remarquable pour la prévention des maladies tel que le diabète, l'obésité ...donc, la berbérine est la substance idéale pour réparer le microbiote.
- Diminution des LDL.
- Diminution des TG.
- Contrôler l'arythmie.
- Calmer les inflammations surtout au niveau hépatique.
- Effet antioxydant.
- Effets antibiotiques, antimycosiques et antiviraux.
- Anticancéreux.
- Effet hypoglycémiant.
- Traitement de l'hypertension.
- Diminution de l'hyperlipidémie.
- Efficace pour l'insuffisance hépatique.

- Diminue le stress oxydatif.
- Diminution de l'albumine et augmente la filtration glomérulaire.
- Bénéfique pour toutes pathologies liées aux DT2. (Vanhoebost. E., 2020)

B. La betalaine :

Substance trouvée naturellement dans plusieurs plantes pour lesquelles leur couleur varie du mauve au jaune ; mais elle existe aussi en plus grande quantité dans la betterave en anglais beetroot dans son betalaine. (Abedimanesh et al., 2021)



Fig. 8 Photo démontrant le pigment de la betanine

C'est ce pigment rouge violet qui se trouve sur cette photo qui va intervenir dans la régulation de la glycémie dans le sang. Son pouvoir ne se résume pas qu'à ceci puisque sa principale cible c'est l'enzyme AMPK qui est une protéine précurseur de l'homéostasie énergétique : glycose, lipide et protéine ; et aussi elle collabore avec une certaine enzyme nommée SIRT1 ce sont des agonistes, une fois l'AMPK activée cette dernière va à son tour activer la SIRT1 une enzyme clé dans la réduction de l'inflammation car une fois synthétisée elle va inhiber l'expression du NF KB stimulatrice de l'inflammation. (Abedimanesh et al., 2021)

Des recherches ont été établis sur des rats en leur provoquant le diabète par streptozorocine ce qui veut dire destruction totale ou presque des cellules bêta de Langerhans puis de la betain a été ajouté à leur alimentation avec des dosages précis ni trop élevé ni moins élevé, pendant presque un mois ; un phénomène s'est produit et les résultats ont montré :

- Une régénération des cellules pancréatiques et une augmentation des cellules B immunoréactives donc une sécrétion de l'insuline.
- Protège et à rétabli les reins.
- Baisse du cholestérol, LDL, TG et augmente le HDL.
- Préviens le cœur des maladies cardiaques et coronariennes.
- Réduit le stress oxydatif en bloquant l'effet toxique des radicaux libres.
- Régénère et protège le foie.
- Répare le foie des lésions dû à l'augmentation des ASAT et ALAT par le diabète.
- Diminue les inflammations causées par le diabète. (**Abedimanesh et al., 2021**)

C. Aloé Vera :

Un petit arbuste vert de la famille des Xanthorrhoeaceae qu'on trouve dans les régions tropicales semi tropicales et arides.

Comme toutes les plantes médicinales, l'aloé Vera contient des molécules bioactives : alcaloïdes, anthraquinones et les enthones lui procurant un pouvoir thérapeutique au plusieurs vertus démontrées par des études faites sur des rats. Depuis plusieurs années, l'Aloé Vera a su prouver son rôle dans la thérapie naturelle, grâce à ses capacités anti-inflammatoires, anti-oxydantes et dans la régulation métabolique ; parmi elles le diabète puisqu'elle diminue la glycémie en régulant les enzymes glucidiques en protégeant les organes dites victimes du diabète : rein et le foie car elle renforce leur fonction ; elle a un impact positif sur les cellules bêta de Langerhans, mais aussi elle permet de réduire le taux de gras dans le corps. L'Aloé Vera peut aussi avoir un pouvoir antimicrobien. (**Fatemeh et al., 2022**)



Fig. 9 Aloe Vera

C'est la couche intermédiaire et la partie gélatineuse qui contiennent tous ces vertus médicinales vu que la première contient les molécules bioactives tel que ; anthraquinone et l'autre 99% d'eau et le 1% qui reste des lipides des protéines des acides aminés des vitamines et des glucomannanes qui font baisser le cholestérol et du coup aide à perdre du poids. **(FATEMEH.H, al, 2022).**

CHAPITRE 3 :
LES ENZYMES QUI INFLUENCENT LE
DIABÈTE

A. Définition des enzymes :

Ce sont des catalyseurs habituellement d'origine protéique important pour la vie.

Les différents types d'enzymes représentent un réseau de complexe soudé et équilibré participant à toutes les réactions biochimiques de l'organisme afin d'associer leurs molécules en protéines, en ADN, en CELLULES, en TISSU, pour le fonctionnement neuronal, musculaire, digestif et pour l'homéostasie énergétique.

Catalyseur car en leur présence les réactions se réalisent de façon rapide et distinctive puisque les enzymes sont spécifiques à leur propre substrat.

B. Les différentes classes d'enzymes :

Il en existe 6 :

- a) Les oxydoréductases : responsables des oxydation et réduction.
- b) Les transférases : transfert les groupements.
- c) Les hydrolases : coupure hydrolytique des liaisons.
- d) Les lyases : coupure de liaisons covalentes et autres.
- e) Les isomérase : changement de géométrie de la molécule.
- f) Les liages : qui intervient dans la formation de liaison en relation avec l'hydrolyse de l'ATP.(Murray,K et al , biochimie de haper, 2017)

C. Les enzymes métaboliques et diabète :

C'est une dégénérescence métabolique qui conduit à une résistance à l'insuline. Un déséquilibre enzymatique glucidique mène à une descente d'inhibition du mécanisme physiologique empêchant l'information émise par les cellules d'être acceptée et par la suite d'être traduite afin de subvenir au besoin de l'organisme qui est l'énergie.

Certaines enzymes nommées enzymes précurseurs de l'énergie participent à la prévention du diabète une fois activées.

Parmi elles, on retrouve :

1) **LES AMYLASES :**

Les amylases pancréatiques et salivaires sont des enzymes digestives dont leur rôle est d'hydrolyser les polysaccharides en disaccharide et monosaccharides. Leur rôle ne se présume pas qu'à cela, une recherche récente a prouvé que ces deux protéines ont une relation avec IMC (INDICE DE MASSE CORPOREL) et l'obésité puisqu'elles aident le corps à baisser le poids, d'éviter l'obésité et d'avoir une glycémie normale à jeun. De plus l'amylase salivaire permet de prévenir contre le diabète de types 2. (A. BONNEFOND, al ; 2015).

2) **LES SIRTUINES :**

C'est une famille d'enzymes de type désacétylase composé de sept adeptes chacune diffère selon l'emplacement subcellulaire, leur molécules cibles, et le type de tissu. Ils ont un rôle en commun celui de désacétylation des molécules et l'ajout d'un ADP ribose (pour SIRT 4/6).

Il y a des études récentes qui prouve que ces enzymes ont d'autre rôles importants pour les réactions métaboliques et pour l'homéostasie de l'organisme.

La localisation de leur synthèse diffère l'une par rapport à l'autre :

- SIRT1 : Elle est synthétisée dans le nucléole des myoblastes et puis peut être transporté dans le cytoplasme.
- SIRT2 : est cytoplasmique.
- SIRT 3/4/5 : ont une localisation mitochondriale.
- SIRT 6/7 : synthétisées et localisées dans le nucléole.

Dans cette étude, ce qui nous intéresse c'est la SIRT 1 car il a été démontré qu'elle participe en grande partie dans le contrôle métabolique en examinant le statut d'acétylation de certains régulateurs métaboliques tout en ayant un effet sur les réactions glucidiques, puisque pendant le jeûne SIRT 1 active la néoglucogenèse dans le foie en activant les facteurs de transcription hépatocytes nucléaires HNF-4, le cofacteur métabolique peroxyosome proliférateur activant R gamma, cofacteur 1-alpha par une désacétylation et désactive l'effet du glucagon pendant la 2 eme phase de cette réaction aussi par une désacétylation de la CREB- regulated transcription coactivator.

En cas d'hypoxie SIRT 1 désacétyle et inactive le facteur de transcription hypoxia inducible factor 1-alpha ce qui va permettre d'inhiber la glycolyse.

Le rôle de SIRT 1 est très important et vaste ; en étant activé par le resveratrol un polyphénol qu'on trouve dans les fruits de couleurs qui varient de rouge à bleu et violet, peut agir négativement ou positivement sur la néoglucogenèse par désacétylation de FOX O1. Cette enzyme intervient aussi dans le métabolisme lipidique en stimulant leur activation par l'ajout de beta oxydation hépatique et par inhibition de la lipogenèse hépatique grâce au pouvoir de désacétylation sur le facteur de transcription lipogénique sterol regulatory binding protein 1-c.

Participe aussi dans le transport du cholestérol aux tissus et favorise sa diminution et son catabolisme en acide biliaire.

Diminue les triglycérides et la lipolyse dans les tissus adipeux.

Permet à son associée << AMPK >> d'agir contre l'inflammation métabolique et contre l'insulinoésistance dans les myéloïdes et les tissus adipeux en entrant en réponse avec les acides gras, l'hypoxie et le stress du réticulum endoplasmique. Sus, ces facteurs sont activés chez les personnes obèses.

Dans le muscle squelettique et le tissu adipeux brun, augmente la dépense énergétique et la performance physique ainsi protège contre le diabète.

Pendant une hypoglycémie, SIRT 1 oxyde les acides gras.

Dans le **pancréas**, elle régule la sécrétion de l'insuline en bloquant la protéine découplant UCP2 ; un inhibiteur de la synthèse d'ATP nécessaire au blocage des canaux potassique ATP dépendant pour une dépolarisation de la membrane des cellules pancréatiques pour la sécrétion de l'insuline.

Protège les cellules béta pancréatiques contre les inflammations causées par les cytokines en inhibant le facteur NF-Kb par une désacétylation. Ainsi, protège le cœur des maladies coronariennes, l'une des pathologies qui touche beaucoup de diabétiques.

SIRT1 représente l'enzymes cible pour des fins thérapeutiques. **(Dali Youcef. N, 2013).**

3) **GLYCÉROL 3- PHOSPHATE-phosphatase :**

Effectivement, le diabète touche les cellules béta de Langerhans du pancréas et dérègle l'homéostasie énergétique notamment le cycle glycérolipide/ acide gras libre ; l'une des réactions les plus importantes.

Selon des études la glycérol 3 phosphate phosphatase mener sur le rat diminue le taux de glucose dans le foie à partir du glycérol et augmente le taux du bon cholestérol HDL. Cette enzyme régule le cycle glycérolipide/ acide gras car en cas de déséquilibre ce cycle est considéré comme l'un des facteurs de risque du diabète et des maladies métaboliques.

Participe aussi à la perte de poids.

Régule les réactions métaboliques.

GL/AG est un des signaux lipidiques pour la sécrétion de l'insuline stimulé par le glucose, donc dès qu'il y a une dérégulation de ce cycle :

La sécrétion de l'insuline est basse ou dérégulée.

La formation de glucotoxicité et glucolipotoxicité se réalise.

Néanmoins, l'enzyme glycérol 3 phosphate phosphatase intervient pour restaurer ceci.

Elle peut aussi moduler les cellules bêta pour une bonne sécrétion de l'insuline et répond au stress métabolique provoqué par le cycle GL/AG dérégulé. (Yves. M, al ; 2015)

D'autres enzymes existent bien évidemment ayant des rôles divers dans le diabète, mais le plus important des précurseurs de l'énergie, est l'enzyme AMPK.

4) L'ENZYME AMPK :

Adénosine monophosphate protéine kinase, est un hétérotrimérique composé de 3 sous unités : alpha, bêta et gamma chacune a son isoforme formant ainsi 12 isosformes de l'AMPK dont leur localisation dépend du tissu et de la localisation subcellulaire. (Rosa. M, al, 2017)

Les trois sous unités ont chacune un rôle ou des rôles :

Sous unité alpha :

- ✓ Contient un domaine Thréonine 172 qui permet l'activation indirecte de l'AMPK en se liant aux ligands.
- ✓ Un domaine : inhibiteur AID.
- ✓ Et un domaine : de liaison à la sous unité beta.

Sous unité beta :

- ✓ Contient la molécule de liaison CBM qui permet à l'AMPK de se lier au glycogène.
- ✓ Un domaine de liaison à la sous unité gamma.
- ✓ En cas de carence en glucose, elle permet aussi à l'enzyme de se transporter dans le cytoplasme vers les lysosomes et la membrane de mitochondries pour une mitophagie.

La sous unité gamma : est le site allostérique de l'AMPK (Marc. F, al, 2006) :

✓ Active l'AMPK après fixation de l'AMP. (Florian. J, 2020)

L'AMPK est activé par trois ligands ou activateurs, la calmoduline dépendent protein kinase (CaMKKB), la tumor suppressor liver kinase B1 (LKB1) et TGF beta activated kinase 1 (TAK1), le rapport AMP/ATP est aussi l'un des activateurs de cette protéine régulatrice. (Yaeni.K, al, 2015) (Séverine. O, al, 2018)

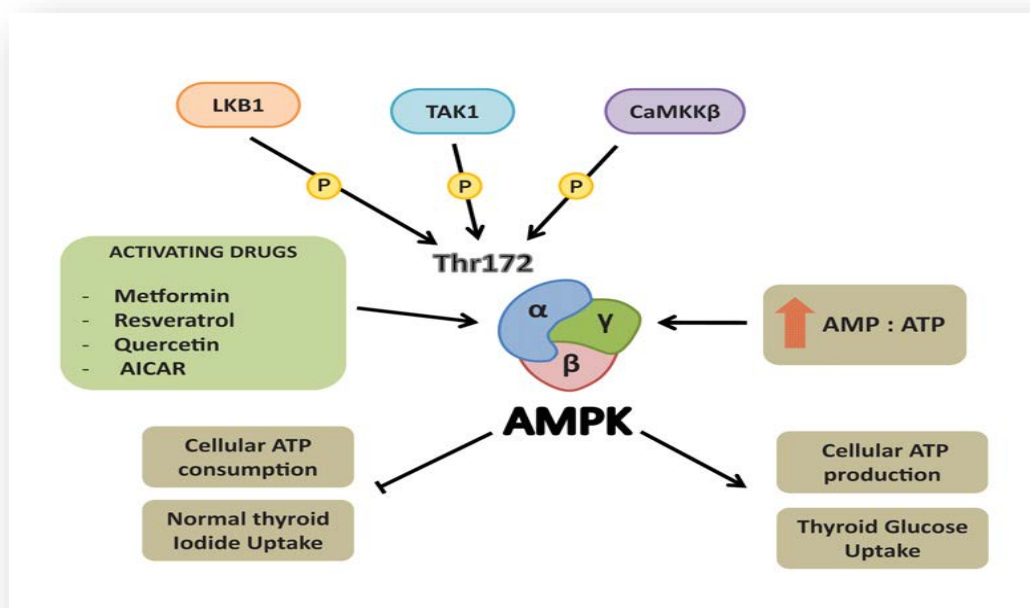


Fig. 10 schémas illustrant les activateurs de l'AMPK et ses trois sous unités

L'espace entre la sous unité alpha et bêta crée un nouveau site de liaison allostérique ADaM médicament allostérique et métabolite liant certains activateurs synthétiques connus de AMPK.

La sous unité alpha contient un domaine inhibiteur nommé AID et un motif régulateur alpha RIMs : segments régulateurs flexibles déclenchant des changements de conformation en réponse à la liaison à AMP avec la sous unité gamma et protège le résidu Thr 172 de la phosphorylation par des phosphatases. (Rosa. M, 2017)

L'APMK est fortement exprimé dans les reins mais aussi les muscles le foie et le tissu adipeux.

Adénosine monophosphate protein activated kinase est le précurseur majeur de l'énergie.

Car son rôle est de maintenir l'équilibre de toutes les réactions métaboliques.

Les études ont prouvé que l'inflammation, le vieillissement, les maladies cardiovasculaires, le diabète de types deux, une diminution de la biogénèse de la mitochondrie ont été associés à une altération de l'AMPK. (**Yaeni. K, 2015**)

Désormais elle est la cible thérapeutique pour différentes maladies, car ses fonctionnalités sont vastes et larges

L'AMPK, régule le métabolisme du stress oxydatif car elle stimule l'expression des enzymes anti oxydantes : SOD/ THIOREDOXINE et PEROXIDOXINE en activant la voie des FOXOa3.

Cette famille des FoxO constitué de 4 membres participe à d'autres mécanismes une fois activé par AMPK par exemple active la biogénèse mitochondriale important processus pour lutter contre le vieillissement.

L'AMPK évite les apoptoses et supprime les tumeurs.

Elle participe aussi dans les réactions anabolismes des acides gras et le cholestérol à partie de l'acétyl coA en activant les enzymes ACC (acétyl coenzyme A carboxylase) et HMGCR (hydroxylméthyl glutaryl coenzyme A réductase) mais en cas d'appauvrissement d'ATP AMPK va inhiber leur synthèse puisque cette dernière nécessite de l'énergie qui est sous forme ATP dans notre organisme.

L'accumulation des lipides dans les reins plus précisément dans les cellules tubulaires provoque le diabète néphropathique, ainsi l'AMPK est la molécule parfaite pour résoudre ce problème. (**Yaeni. K, 2015**)

AMPK joue le même rôle dans le foie inhibe l'enzyme ACC pour arrêter la lipogénèse provoquée par l'insuline et l'oxydation des AG. (**Fan. Y, 2015**)

L'AMPK participe aussi au métabolisme protéique en régulant leur traduction dans le cytoplasme soit par fixation du facteur mTor soit en l'inactivant par phosphorylation. (Yaeni. **K, 2016**)

Si ce facteur n'est pas régulé et n'est pas contrôlé par AMPK, l'expression des protéines est accrue ce qui va provoquer des anomalies au niveau de la cellule :

Augmentation de matrice extracellulaire, une augmentation de l'expression du collagène, et ceci finit par une apoptose. (Fan. **Y, 2015**)

Cette enzyme participe aussi au métabolisme glucidique et peut même jouer le rôle de l'insuline, dans l'absorption du glucose par stimulation de l'expression et le transport des Glut 4 un des transporteurs du glucose de l'intestin vers les tissus périphériques : les organes et muscles.

Ce régulateur, stimule aussi l'hexokinase qui a un rôle important dans le stockage du sucre, en phosphorylant ce dernier il n'aura pas le pouvoir de sortir de la cellule (glycogénogenèse). (Yaeni. **K, 2015**)

AMPK permet d'activer l'autophagie qui a un mécanisme semblable au recyclage procurant à la cellule de se débarrasser de toutes les toxines issues des surplus du glucose, acides aminés et des acides gras.

Ce mécanisme on le trouve dans toutes les cellules, il peut être provoqué par de l'exercice physique ou le jeun qui va activer l'AMPK ou des polyphénols comme : resveratrol du flavonoïdes ex.... pour améliorer la sensibilité à l'insuline. (Fan. **Y, 2015**)

Donc, l'autophagie peut améliorer la résistance à l'insuline, un avantage pour les personnes diabétiques.

Néanmoins, elle peut être inactivée dû à l'inactivation de l'AMPK en cas de déséquilibre métabolique car un surdosage de substance énergétique dans le corps peut inhiber cette enzyme, c'est un cercle vicieux, comme le cas des protéines, si le facteur mTor n'est pas régulé est puis devient actif plus que son temps normal il va produire une surproduction des protéines qui

deviendront cytotoxiques (agrégats, organites dysfonctionnels) ce qui va engendrer des pathologies métaboliques mais aussi cardiaque et rénale car il influence même le rôle de l'autophagie qui devient inactive par sa présence.

Parmi ces pathologies :

Néphropathie diabétique :

- ✓ Hyper filtration.
- ✓ Des lésions glomérulaires.
- ✓ Protéinurie.
- ✓ Lésion tubulaire interstitiel.
- ✓ En fin insuffisance rénale.

Cardiomyopathie diabétique :

Dysfonctionnement ventriculaire.

AMPK active l'autophagie en inhibant le facteur mTor soit par phosphorylation de l'enzymes ULK1 par contre si elle est affectée par une dérégulation et par augmentation de l'ATP ceci ne nous pourra pas se réaliser et il est très probable de développer ces maladies. **(Fan. Y, 2015)**

Une hyper insulinémie due à la résistance à l'insuline inactive aussi l'AMPK car ceci va phosphoryler les résidus Ser485 et Sér491 des sous unités alpha.

L'inflammation et le stress oxydatif aussi inhibe l'AMPK à cause du TNF-alpha qui stimule PP2C et qui va ensuite favoriser la résistance à l'insuline. **(Florian. J, 2020)**

La cause exacte de l'inactivation de cette enzyme est encore inconnue mais les chercheurs la considèrent comme la cible thérapeutique unique pour lutter contre ces maladies mortelles.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le but de ce travail est de rassembler un maximum d'activateurs à partir des sites data Bank afin de comprendre l'activation de AMPK et connaître les résidus qui entourent son site actif allostérique pour pouvoir remédier d'autres activateurs naturels thérapeutiques qui participent à son activation directe.

I. Base des données :

a. La protéine AMPK

La structure cristallographique de l'AMPK a été issue du site research collaboratory of structure bioinformatics RCBS (<https://www.rcsb.org>) de la base des données de la banque des protéines protein data bank PDB et a été télécharger sous forme PDB avec le code ID : 4CFF.

La protéine est un hétérotrimérique d'origine homo sapiens composée de 6 chaînes A, B, C, D, E, F et trois ligands : C1V, AMP, STU, des activateurs situés entre le site kinase et celui de la liaison aux glucides.

b. Les ligands :

Les ligands ont été prélevé à partir du site PUBCHEM du site national center for biotechnology information NCBI (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Les ligands sont similaires au C1V. on a trouvé 23 qui lui ressemble qui peuvent se fixer au même site allostérique.

Certains avaient des masses moléculaires identiques, donc on est passé aux filtrages afin de ne pas avoir les mêmes résultats qui se répètent au final on a eu 12 ligands différents avec leur code ID téléchargé en format PBD.

c. Modélisation moléculaire/ DOCKING :

La protéine avec l'ID 4CFF a été recopiée sur le logiciel CHIMERA UCSF pour pouvoir l'étudier et créer la boîte afin de lier les ligands sur le site voulu et d'analyser leur affinité avec la molécule en prenant en compte les résultats de la variation d'énergie libre de la réaction ΔG . **Seulement les 4 meilleurs résultats ont été pris pour étudier leurs propriétés pharmacocinétiques.**

Avant ce travail, La protéine a été modifiée, les trois chaînes F, C, D ont été supprimée par le schéma suivant :

Select-→ chain f-→ ACTIONS→ atoms/bonds→ delete.

Même chose pour les activateurs AMP, STU on a gardé seul C1V pour pouvoir faire la boîte et puis a été remplacé par les 12 ligands synthétiques.

On a choisi que la molécule soit neutre.

Les atomes d'hydrogène manquants ont été ajoutés.

La boîte a été faite ainsi :

- ✓ Surface binding analysis
- ✓ Dockprep

Les ligands ont été fixés par ce schéma :

- ✓ Surface binding analysis
- ✓ Dock
- ✓ Autodockvina
- ✓ Remplir la boîte avec les tailles obtenues par dockprep
- ✓ Lancer le docking.

Les résultats ont été enregistrés en cliquant sur file save sessions.

d. Propriétés pharmacocinétiques :

Les propriétés pharmacocinétiques des 4 meilleurs ligands ont été obtenus à partir du site SwissADME (<http://www.swissadme.ch>).

e. Discovery studio :

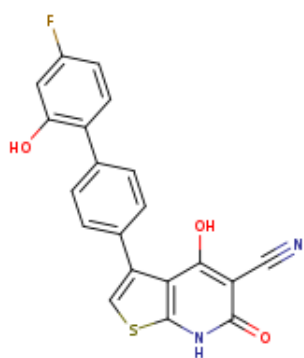
Les liaisons entre protéines et ligands ont été observées à partir de Discovery studio.

RÉSULTATS

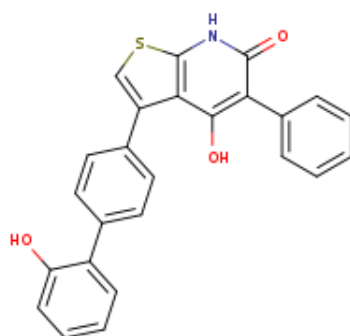
II. La structure cristallographique de la protéine 4CFF :

Structure cristallographique issue de RCSB PDB de la protéine AMPK dont ID est 4 CFF : la protéine a une structure hétérotrimérique avec trois sous unité bien illustré dans cette figure avec les liaisons ente eux. (<https://www.rcsb.org/structure/4CFF>)

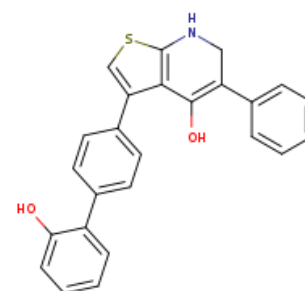
a. La structure des ligands par pubchem :



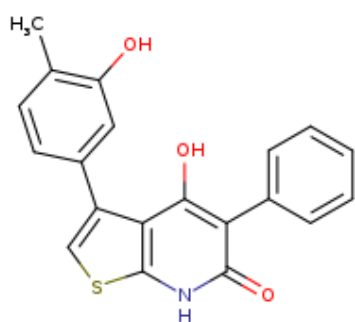
ID: 54689832



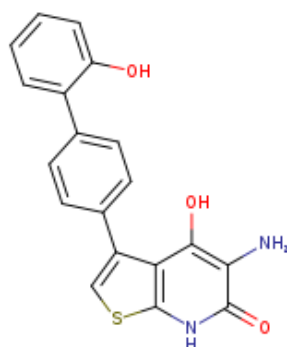
ID: 54741983



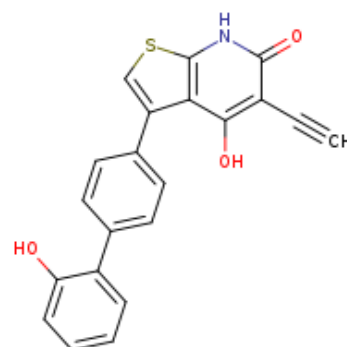
ID: 66911238



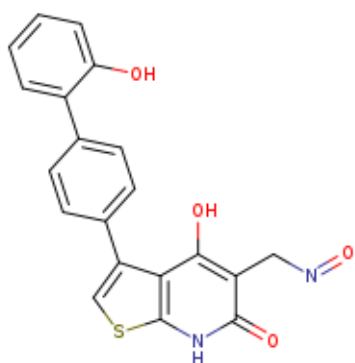
ID: 66936729



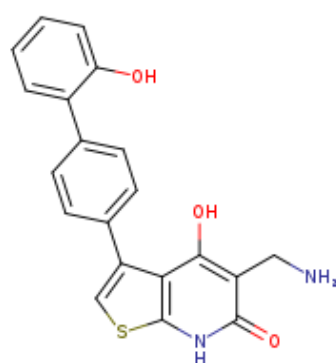
ID: 68309769



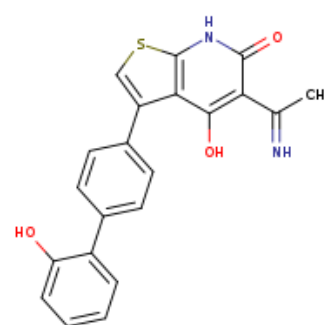
ID: 88553766



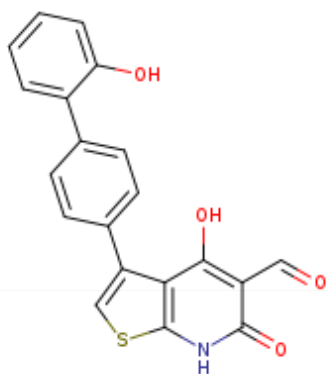
ID: 91520361



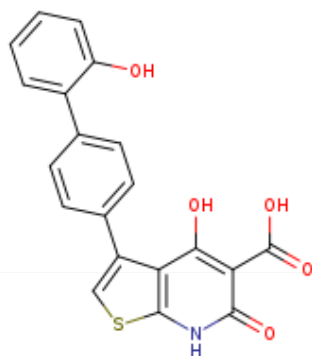
ID: 118796340



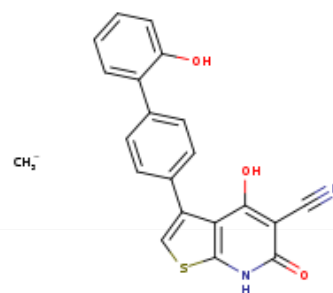
ID: 135594051



ID: 136653169



ID: 54689895



ID: 159583913

On remarque que tous les ligands ont un cycle pyrimidique.

b. Modélisation moléculaire de la protéine et les ligands par Chimera UCSF :

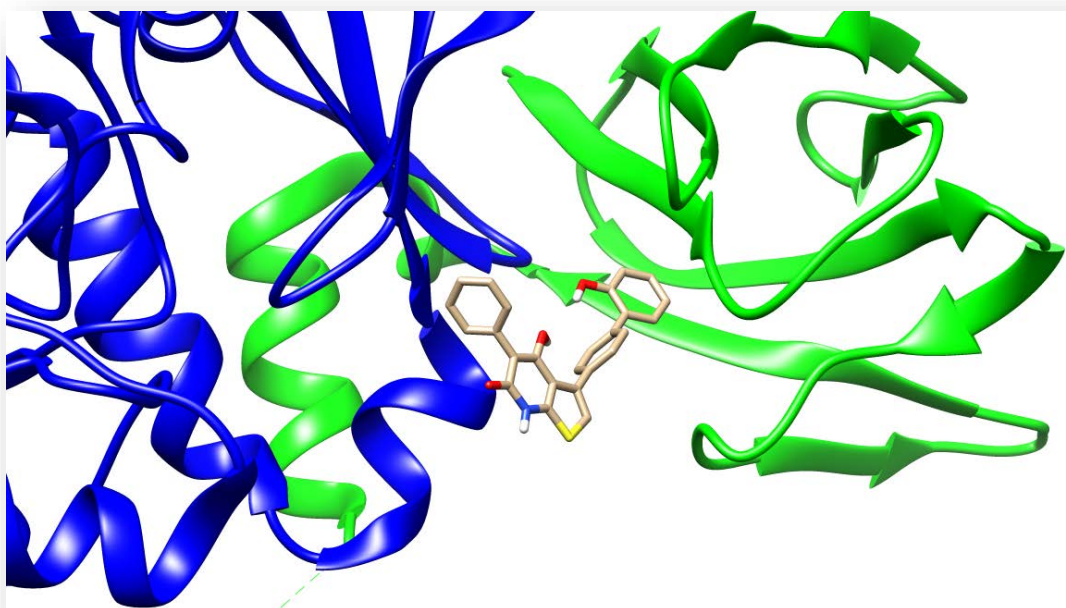


Fig. 11 illustrations de la fixation du ligand 54741983 avec la protéine en 3D par Chimera.

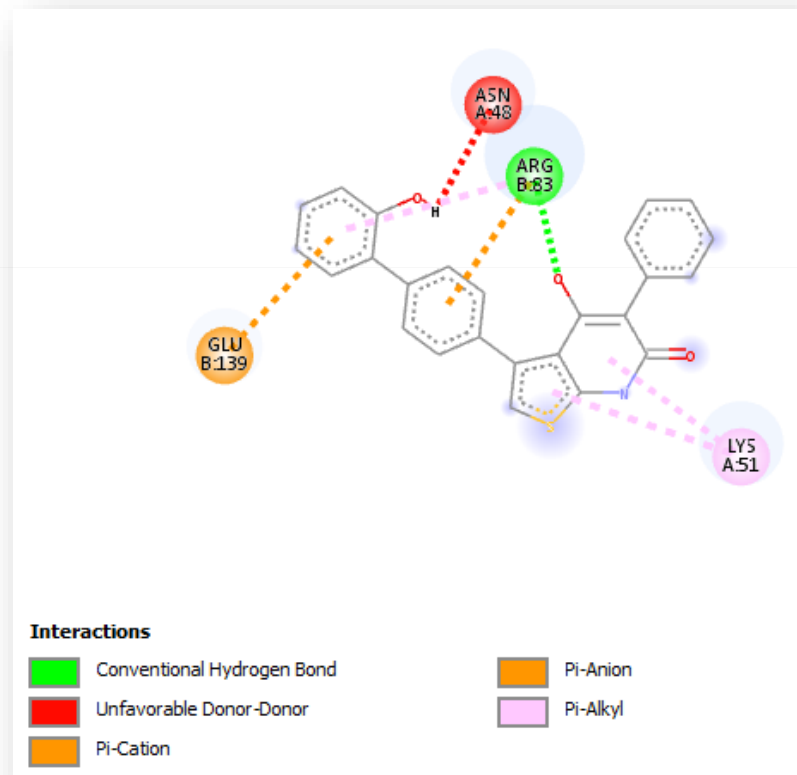


Fig. 12 les résidus d'acides aminés du site de fixation par discovery studio

La première figure est une illustration 3D du résultat du docking entre la protéine et le ligand dont ID : 54741983 fait par le logiciel Chimera UCSF. La fixation est faite sur le site allostérique de C1V entre les chaînes A et B un des site probable ADaM (un site qui vient d'être découvert par les chercheurs) le degré de l'énergie libre est de $\Delta G = - 8,4$.

La deuxième image nous montre que ce site de fixation contient 4 acides aminés entre la protéine et le ligand 54741983 qui sont : Asn A 48, Arg B 83, Lys A 51 et Glu B 139.

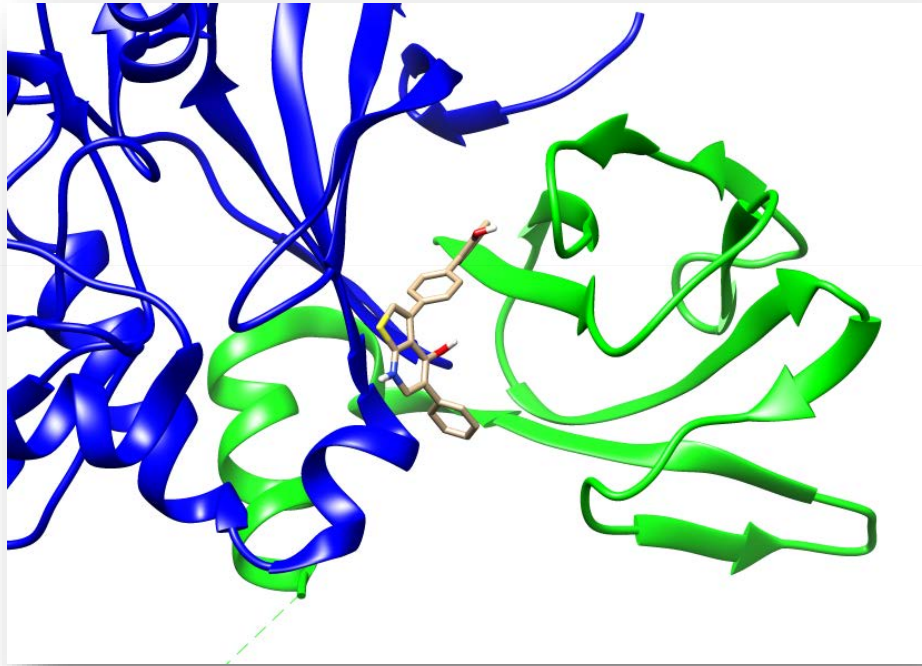


Fig. 13 fixation du ligand 66911238 avec la protéine par Chimera en 3D.

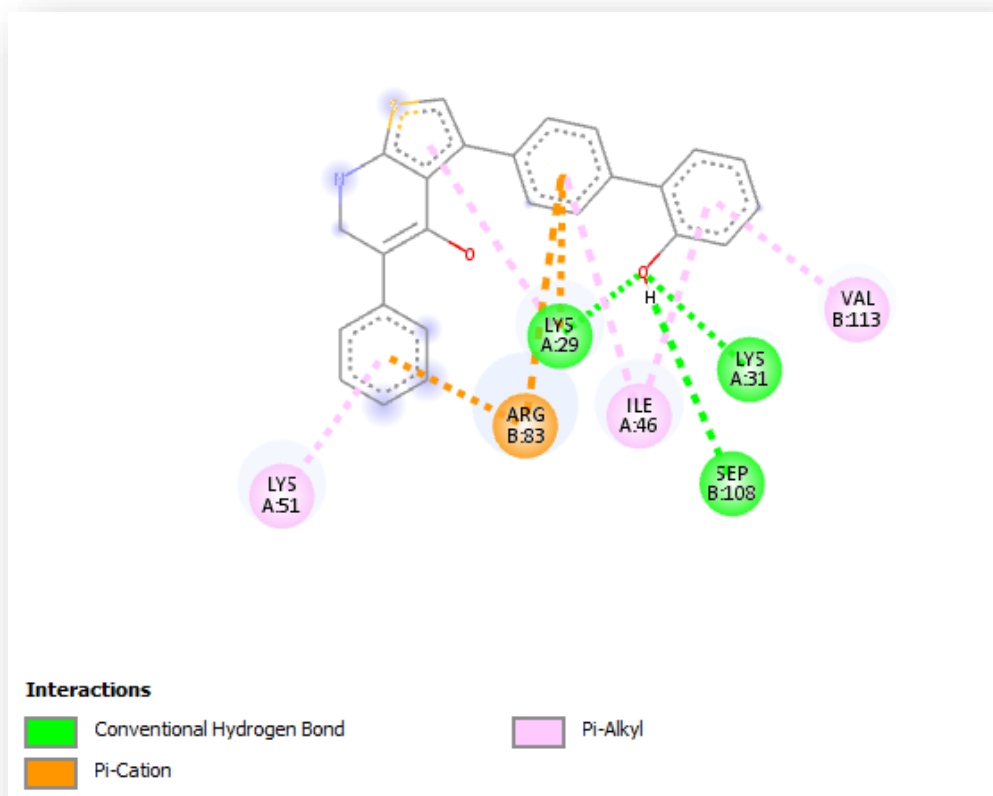


Fig. 14 résidus de site de fixation avec le deuxième ligand.

Ici la fixation diffère un peu de celle de la première on remarque que le ligand est un peu décalé vers le haut et il est plus centré, le résultat de la variation de l'énergie libre est plus rapide que la première $\Delta G = -9,2$. Même les résidus diffèrent par rapport aux nombres il y a plus d'acide aminé que celles du premier site : Lys A51, Arg B83, Lys A29, Ile A46, Sep B108, Lys A31, Val B113.



Fig. 15 Illustration en 3D de la fixation du ligand 68309769 avec la protéine par Chimera.

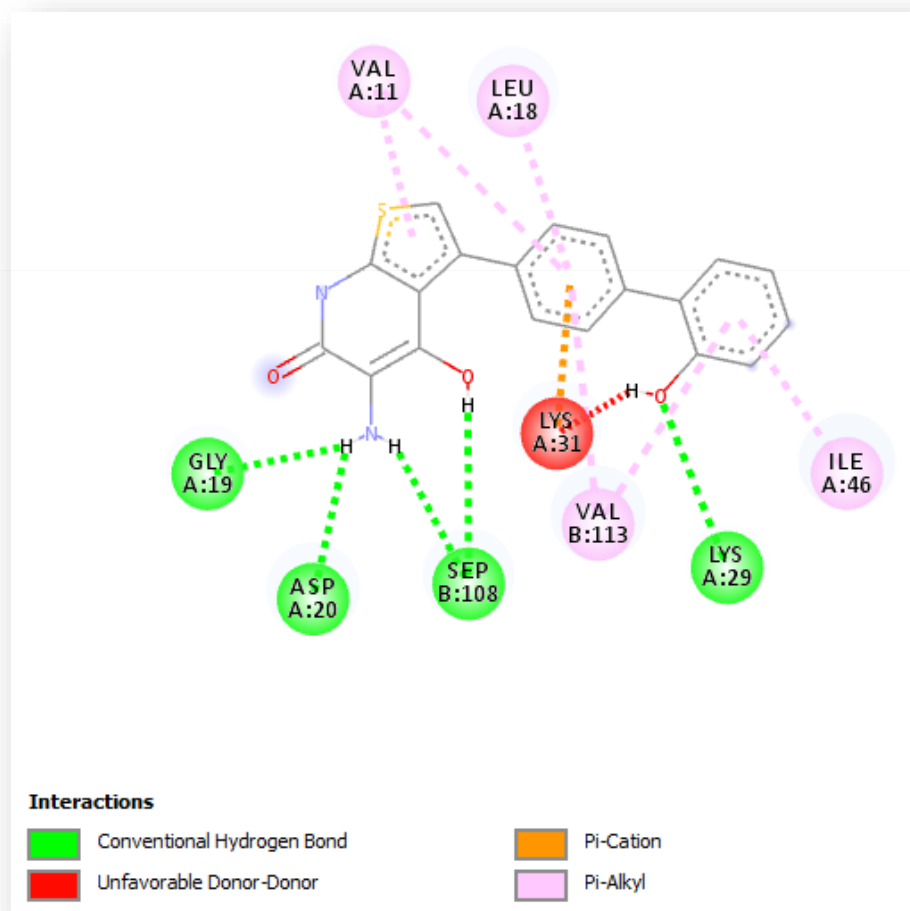


Fig. 16 Image montrant les différents résidus du. Site de fixation du ligand avec la protéine.

Ici, le ligand 68309769 est plus centré vers le haut, le résultat de la variation de l'énergie libre été légèrement différente $\Delta G = -9,0$ et même les résidus prélevés du site Discovery studio étaient différentes, on trouve 9 acides aminés dans le site de fixation : Val A11, Leu A18, Gly A19, Asp A20, Sep B108, Lys A31, Val B113, Lys A29, Ile A46.

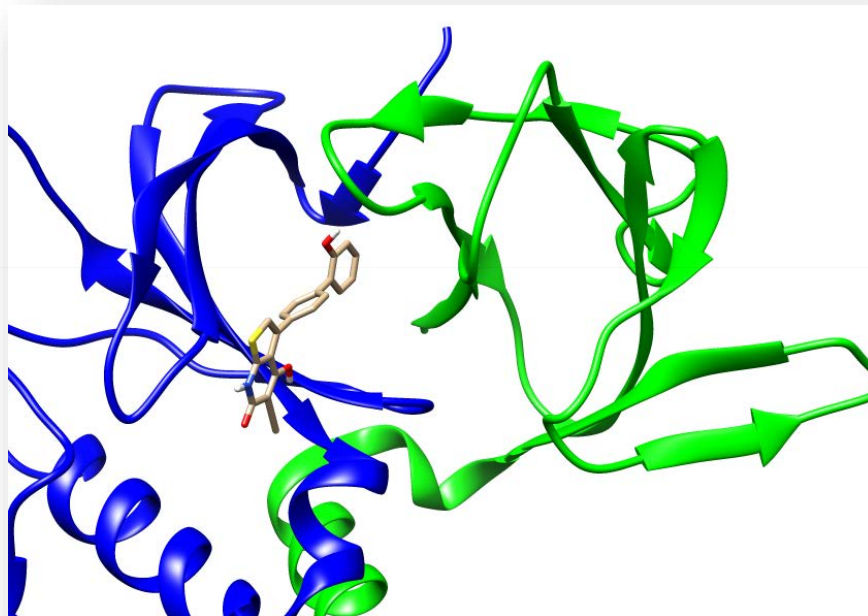


Fig. 17 Illustration en 3D de la fixation du ligand 88553766 avec la protéine 4CFF par Chiméra.

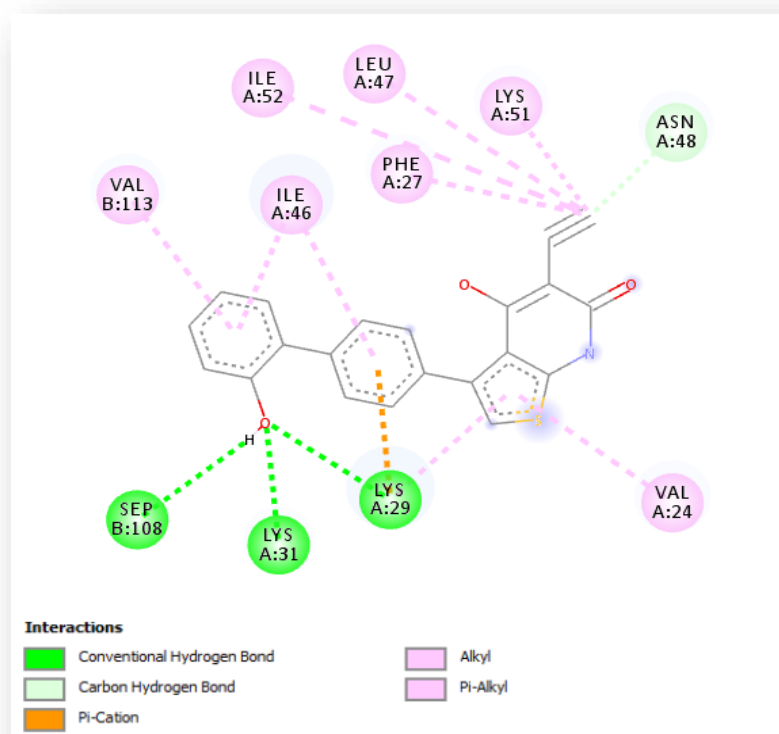
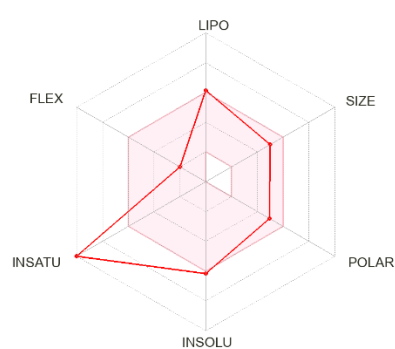


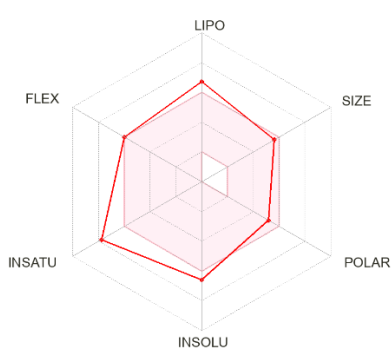
Fig. 18 Image de Discovery studio montrant les résidus du site de fixation du ligand avec la protéine.

On remarque que le ligand est dirigé plus vers la partie gauche du site avec une variation de l'énergie différente de celle des premiers $\Delta G = -9,4$. Les acides aminés sont plus présents sur le site par rapport aux autres on y trouve 11 acides aminés : ILE A52, Leu A47, Lys A51, Asn A48, Val B113, Ile A46, Phe A27, Sep B108, Lys A31, Lys A29, Val A24.

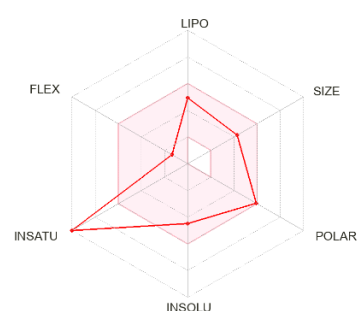
c. Propriétés pharmacocinétiques des quatre ligands :



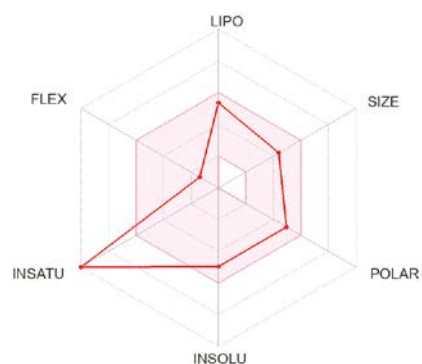
54741983



66911238



68309769



88553766

Tab. 3 Tableau : masse des ligands plus leur ID :

Les ligands	Masses moléculaires (g/mol)
54689832	378,4
54741983	411,5
66911238	397,5
66936729	349,4
68309769	350,4
88553766	359,4
91520361	378,4
118796340	364,4
135594051	376,4
136653169	363,4
54689895	379,4
159583913	375,4

Tab. 4 : les valeurs pharmacocinétiques des ligands :

ID ligans	Poids moléculaire g/mol	Fraction Csp3	N rotatable bonds	TPSA	La lipophilie iLOGP	Hydrophile LOG S (ESOL)	Lipinski
<u>54741983</u>	411,5	0,00	3	101.56 Å ²	3,32	-6,16	<u>Yes</u>
<u>66911238</u>	397,5	0,04	3	80.73 Å ²	3,56	-6,30	<u>Yes</u>
<u>68309769</u>	350,4	0,00	2	127.58 Å ²	2,55	-4,48	<u>Yes</u>
<u>88553766</u>	359,4	0,00	2	101.56 Å ²	3,24	-4,97	<u>Yes</u>

DISCUSSION

AMPK est une enzyme clé de l'homéostasie énergétique de l'organisme en maintenant la concentration de l'ATP stable. AMPK est activée par la fixation de AMP sur le site allostérique de la sous unité gamma. L'AMP est l'ADP protégé le résidu THR 172 de la phosphorylation. AMPK a incité les chercheurs à faire plus de recherches et d'étude pour comprendre son mode d'activation et de sa fonction à cause de ses qualités qui sont énormes. Elle est représentée comme étant une molécule thérapeutique pour lutter contre les maladies métaboliques comme le diabète de type 2 allant jusqu'au maladies tumorales. Mais le problème avec cette enzyme est un surplus de glucose dans le sang, elle peut devenir inactive. C'est pour cette raison que les chercheurs cherchent à éviter cela. **(Bing. X, 2013)**

Il existe plusieurs substances naturelles qui activent directement l'AMPK par contre, la base structurelle du site de liaison à cette protéine est encore en cours de développement pour se lancer sur de nouveaux traitements.

Cette étude d'analyse et la pratique informatique réalisé pour ce travail de mémoire était dans le but de connaître justement les résidus qui entourent ce site allostérique de cette enzyme afin de se projeter sur de nouveaux traitements bénéfiques et sans effets indésirables.

L'étude a été faite sur ordinateur par le processus de modélisation moléculaire par le logiciel Chimera.

1) Modélisation de la protéine :

Tout d'abord la structure tridimensionnelle de la protéine a été prélevée à partir de la base des données PDB, répertoire des structures 3D créé en 1971 par Edgar Meyer et par Walter Hamilton, puis sa responsabilité a été transférée à RCSB research collaboration for structural bioinformatics en 1998. PDB contient plus de 50000 structures de protéine en 3D avec un pouvoir de rotation de protéine dans plusieurs sens et sa composition en acides aminés, molécules types de liaisons, nombre de sous unités.... **(Murray. K, al, 2013)**

Ensuite la structure de la protéine avec un code ID : 4CFF a été copiée et transférée dans le logiciel Chimera USCF pour promouvoir l'amarrage moléculaire.

La modélisation moléculaire, amarrage ou docking est l'un des outils de conception de médicaments par ordinateur, une utilisation de programme qui permet l'assemblage de ligands aux protéines. La fixation des ligands synthétiques est faite dans un site spécial en tenant compte de la composition des molécules (hydrogène, soufre ...) d'acides aminés : hydrophobes, hydrophiles, polaires, apolaires, de types de liaisons... l'amarrage nous donne la capacité de connaître la base structurelle du site de fixation. (Murray, K, al, 2013)

Autodock vina :

Autodock vina est l'un des outils de la modélisation les plus utilisés en raison de sa fiabilité et de sa rapidité. C'est le premier outil de l'amarrage à être utilisé. Autodock vina permet de calculer l'affinité qui existe entre a molécules et les ligands en faisant des calculs de la variation de l'énergie libre pour des buts scientifiques et thérapeutiques. (Shidi. T, al, 2022)

Sur cette étude, AMPK a été testé avec 12 ligands synthétiques prélevés de PUBCHEM, avec une structure presque identique et des moléculaires différents ne dépassant pas 500g/mol. Seul 4 ont été pris car leur fraction d'énergie libre été plus rapide par rapport aux autres :

Le premier ligand 54741983 avec un $\Delta G = -8,4$

Le deuxième ligand 66911238 avec un $\Delta G = -9,2$

Le troisième 68309769 avec un $\Delta G = -9,0$

Et le quatrième 88553766 avec un $\Delta G = -9,4$

Donc ces quatre ligands représentent nos meilleurs résultats en raison de leur forte affinité avec l'enzymes.

La lecture au diagramme de base :

Après cela, on est passé à la lecture du diagramme de base par le site Discovery studio qui indique exactement les acides aminés qui entourent le site de fixation du site allostérique et le type de liaisons avec les ligands :

Par rapport au ligand 1 :

On a pu remarquer quatre acides aminés : ASN-A48, GLU-B138, LYS-A51, ARG-B83. Plus des liaisons hydrogènes, alcalines et de type cation

Par rapport au ligand 2 :

On a pu remarquer 7 acides aminés : LYS-A51, ARG-B83, LYS-A29, ILE-A46, pSER-B108, LYS-A31, VAL-B 113, avec les mêmes types de liaisons.

Par rapport au ligand 3 :

On a pu remarquer 9 acides aminés : VAL-A11, LEU-A18, GLY-A19, ASP-A20, p-SER-B108, LYS-A31, VAL-B113, LYS-A29, ILE-A46. Avec les mêmes types de liaisons.

Par rapport au ligand 4 :

On a pu remarquer 11 acides aminés : VAL-B113, ILE-A52, LEU-A47, LYS-A51, ASN-A48, ILE-A46, PHE-A27, pSER-B108, LYS-A138, LYS-A29, VAL-A24. Avec une liaison en plus des autres carbone-hydrogène.

Une étude a eu presque les mêmes résultats avec les acides aminés surtout pour : ARG83, pSER108 et ASN48, expliquant que ARG83 est très important pour une bonne liaison avec les médicaments et la liaison avec ASN48 crée une interaction d'empilement sur elle-même. **(Bing, X, al, 2013)**

Une autre étude, a eu les mêmes résultats que celle-ci, l'amarrage a montré une affinité similaire à ceux réalisés pour ce travail : LEU47, LYS51, ASN48, ARG83, LYS31, PHE27 et LYS29. **(Simon. W, al, 2018)**

On peut conclure et dire que ces résidus sont importants et impliqués dans l'activation de l'AMPK par leur liaison avec les activateurs de cette dernière pour des fins thérapeutiques.

Et enfin, on est passé à l'étude physico et pharmacocinétique des ligands pour évaluer leur capacité médicamenteuse c'est-à-dire leur devenir dans le corps par le site SwissAdME : par un paramètre ADME (A : absorption, D : distribution, M : métabolisme, E : excrétion), un excellent paramètre pour éviter les échecs. **(Antoine, D, al, 2017)**

Les paramètres sont les suivants :

Fraction Csp3 : c'est le rapport de carbone hybride sur les carbones total de la molécule et doit être moins de 0,25.

N. rotatable bonds : le nombre de liaison qui permet une rotation libre sur elle-même et ne doit pas dépasser les 9. **(Veber. F, al, 2002)**

TPSA : polarité calculée par la technologie topologie en considérant le soufre et le phosphore, et doit être entre 20 et 130 ce paramètre permet de déduire si cette molécule est absorbable et accessible au cerveau.

La lipophilie : entre -0,7 et 6.

Hydrophilicité : moins de -6.

P-gb : permet de savoir si la molécule est le substrat de la glycoprotéine de perméabilité aux surfaces biologiques, sa suppression conduit à de graves maladies comme le cancer.

Log-K : perméabilité cutanée : plus le log K est positif moins la molécule est perméable dans la peau.

Lipinski : évaluation globale de la molécule si elle peut être considérée comme médicament ou non.

La ligne rouge sur le graphe ne doit pas dépasser la surface rose pour une biodisponibilité orale.

Et le poids doit être entre : 150 et 500 g/mol. (Antoine, D, al, 2017)

Les ligands ont de bonnes propriétés pharmacocinétiques.

CONCLUSION

Effectivement, les substances naturelles connues pour être antidiabétiques ont un effet positif sur les diabétiques et améliorent leur santé en général car elles permettent d'activer des enzymes responsables de la régulation du glucose dans le sang, cette activation est la clé pour exterminer cette pathologie et par conséquent rétablir tout ce qui a été altéré.

La résolution de cette problématique a été prouvée grâce à la méthode bio-informatique qui est le Docking moléculaire puisqu'il a bien illustré l'assemblage des ligands (provenant de la data base des protéines : PDB) avec l'enzyme AMPK l'une des enzymes les plus importantes pour le corps. Ceci a permis de détecter les sites d'activation de cette enzyme par ses ligands qui jouent le rôle des substances naturelles. On a remarqué que pour les 4 ligands étudiés les résidus de l'assemblage sont presque les mêmes qui se répètent. Cependant les recherches concernant AMPK sont encore en cours de développement.

Avant tout ces substances peuvent être considérées comme médicaments que si les logiciels tels que swissAdme confirment que leur devenir dans le corps est possible par une étude physicochimique et pharmacocinétique.

RÉSUMÉ

Résumé :

Le diabète est une pathologie très dangereuse qui se caractérise par une difficulté ou une absence totale de la régulation de la glycémie. Il en existe 3 types principaux : diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1 dont le traitement et administration de l'insuline par injection. Le diabète de type 2 non insulino-dépendant dont le traitement est fait par voie orales, par des médicaments comme : sulfamide ou metformine. Et le diabète gestationnel qui est momentané. Le traitement pharmaceutique qui concerne de diabète de type 2 n'est pas aussi efficace tel qu'on le croit car ils ne protègent pas les organes vitaux comme que le cœur et les reins des complications causés par le diabète comme l'hypertension artérielle, les maladies cardiaques...

Désormais, l'évaluation des substances naturelles antidiabétiques est l'objectifs des chercheurs scientifiques. Bien que la phytothérapie existe depuis longtemps sauf qu'elle n'a pas été sous les projecteurs assez souvent jusqu'au jours ou la moralité scientifique a pris conscience du danger que ces médicaments qui peuvent provoquer.

Le rôle de ces substances et d'activer certaines enzymes qui interviennent dans la régulation de la glycémie comme l'AMPK.

L'interaction de l'AMPK a été faite avec des ligands provenant de la banque des protéines jouant les rôles de ces substances antidiabétiques à partir du Docking moléculaire afin de connaître l'emplacement et le types des résidus qui se trouvent dans le site actif et qui permet l'assemblage de la protéine avec ces substances.

Abstract :

Diabetes is a very dangerous pathology that is characterized by difficulty or complete absence of blood sugar regulation. There are 3 main types: insulin-dependent diabetes or type 1 diabetes whose treatment is administration of insulin by injection. Non-insulin-dependent or type 2 whose treatment is done orally, with drugs such as: sulfonamide, metformin. And gestational diabetes which is temporary. Pharmaceutical treatment for type 2 is not as effective as believed because they do not protect vital organs such as the heart and kidneys from complications caused by diabetes like high blood pressure, heart diseases

From now on, the evaluation of naturals antidiabetic substances is the objective of Scientifics researchers. Although herbal medicines have been around for a long time, it has not been in the spotlight often enough until the days when Scientifics morality became aware of the danger that these drugs can cause. The role of these substances is to activate certain enzymes involved in the regulation of blood sugar such as AMPK. The interaction of AMPK

was made with ligands from the library of proteins playing the roles of these antidiabetics substances from molecular docking in order to know the location and types of residues found in the active site and which allows the assembly of the protein with these substances.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chami, M-A., et al. "Diabète sucré du sujet âgé: la première enquête algérienne." *Médecine des maladies Métaboliques* 9.2 (2015): 210-215.
- Schlienger, Jean-Louis. "Complications du diabète de type 2." *La presse médicale* 42.5 (2013): 839-848.
- Tenenbaum, Mathie, et al. "Physiopathologie du diabète." *Revue Francophone des Laboratoires* 2018.502 (2018): 26-32.
- Youcef, Mahdjoub. *Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini «Application docking moléculaire»*. Diss. Université mohamed bouafia des sciences et de la technologie d'oran, 2010.
- Sherwood, Lauralee, Hillar Klandorf, and Paul Yancey. *Physiologie animale*. De Boeck Supérieur, 2016.
- Guérin-Dubourg, Alexis. *Étude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2: identification de biomarqueurs de glycoxydation et de facteurs de risque de complications vasculaires*. Diss. Université de la Réunion, 2014.
- mondiale de la Santé, Organisation. "Rapport mondial sur le diabète." (2016).
- des Diabétiques, Fédération Française. "Qu'est-ce que le diabète." *En ligne*. Disponible: <https://www.federationdesdiabetiques.org/information/diabete>. [Accès le 09 02 2017] (2017).
- Belon, Jean-Paul, and Bernard Lacour. *Physiologie*. Elsevier Masson, 2015.
- DeSaix, Peter, et al. "Anatomy & Physiology (OpenStax)." (2013).
- *Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables*. *The Lancet*. E.Ahqvist et al. Consulté le 14 mars 2018.
- Braillard, Olivia, and A. dos Santos Bragança. "Prise en charge thérapeutique du diabète de type 2." *Hôpitaux Universitaires de Genève* (2017).
- Feig D, Berger H, Donovan L et al. Diabetes Canada 2018 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Diabetes and Pregnancy. *Can J Diabetes* 2018; 42 (Suppl 1): S255-S282.
- <http://ceed-diabete.org/fr/le-diabete/diabete-et-complications/>
- <https://www.pharmaciengiphar.com/maladies/diabete/diabete-gestationnel-quel-taux-glycemie-chez-femme-enceinte>
- Mayo Clinic. Diabetic retinopathy. March 20, 2015 [vu le 30 Mars 2015]

- Scheen, André, and Nicolas Paquot. "Une révolution dans le traitement du diabète de type 2: des antidiabétiques dotés d'une protection cardio-rénale indépendamment du contrôle glycémique!." *Revue Médicale de Liège* 75.5-6 (2020).
- Arce, Karla M., and Kevin M. Pantalone. "Not all diabetes in infants is type 1: a case report." *Diabetes Therapy* 7.2 (2016): 369-375.
- Lichtenberger-Geslin, L., et al. "La pompe à insuline améliore-t-elle la qualité de vie et la satisfaction des enfants et adolescents diabétiques de type 1?." *Archives de pédiatrie* 20.3 (2013): 248-256.
- Vanhoebost, Elise, and Jean-Paul Thissen. "Apport de la berbérine dans le traitement du diabète de type 2."
- Abedimanesh, Nasim, et al. "The anti-diabetic effects of betanin in streptozotocin-induced diabetic rats through modulating AMPK/SIRT1/NF- κ B signaling pathway." *Nutrition & Metabolism* 18.1 (2021): 1-13.
- Haghani, Fatemeh, et al. "Aloe vera and Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus." *Revista Brasileira de Farmacognosia* (2022): 1-14.
- Botham, Kathleen M., et al. *Biochimie de harper*. De Boeck Supérieur, 2017.
- Bonnefond, A., et al. "O52 L'activité enzymatique plasmatique de l'amylase pancréatique est associée à une diminution de l'indice de masse corporelle et protège du risque de diabète dans la cohorte DESIR." *Diabetes & Metabolism* 41 (2015): A15.
- Dali-Youcef, N. "«SIRTuinement vôtre»: fonctions métaboliques et perspectives thérapeutiques des sirtuines." *Médecine des Maladies Métaboliques* 7.3 (2013): 237-246.
- Mugabo, Yves, et al. "Identification of a mammalian glycerol-3-phosphate phosphatase: Role in metabolism and signaling in pancreatic β -cells and hepatocytes." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113.4 (2016): E430-E439.
- Marín-Aguilar F, Pavillard LE, Giampieri F, Bullón P, Cordero MD. Adenosine Monophosphate (AMP)-Activated Protein Kinase: A New Target for Nutraceutical Compounds. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan 29;18(2):288. doi: 10.3390/ijms18020288. PMID: 28146060; PMCID: PMC5343824.
- Foretz, Marc, et al. "Régulation du métabolisme énergétique par l'AMPK-Une nouvelle voie thérapeutique pour le traitement des maladies métaboliques et cardiaques." *médecine/sciences* 22.4 (2006): 381-388.

- Juszczak, Florian, et al. "Critical role for AMPK in metabolic disease-induced chronic kidney disease." *International Journal of Molecular Sciences* 21.21 (2020): 7994.
- Olivier, Séverine, Marc Foretz, and Benoit Viollet. "Promise and challenges for direct small molecule AMPK activators." *Biochemical pharmacology* 153 (2018): 147-158.
- Kearney, Alper Y., et al. "8-Chloroadenosine sensitivity in renal cell carcinoma is associated with AMPK activation and mTOR pathway inhibition." *PLoS One* 10.8 (2015): e0135962.
- Xiao, Bing, et al. "Structural basis of AMPK regulation by small molecule activators." *Nature communications* 4.1 (2013): 1-10.
- Shidi, Tang, et al. "Accelerating AutoDock VINA with GPUs." (2022).
- Mok, Simon WF, et al. "A method for rapid screening of anilide-containing AMPK modulators based on computational docking and biological validation." *Frontiers in pharmacology* 9 (2018): 710.
- Daina, Antoine, Olivier Michielin, and Vincent Zoete. "SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules." *Scientific reports* 7.1 (2017): 1-13.
- Veber, Daniel F., et al. "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates." *Journal of medicinal chemistry* 45.12 (2002): 2615-2623.