



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



*République Algérienne Démocratique et Populaire*

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

*Université Echahid Hamma Lakdhar- EL-Oued*

كلية العلوم الطبيعية والحياة

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

### **THEME**

---

**Evaluation in vitro et in silico de l'action inhibitrice de  
dérive N- ferrocenylmethyl-3-fluoromethylaniline sur l' $\alpha$ -  
amylase**

---

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> : Ben Amara Hala

M<sup>elle</sup> : Ben Amor Aya

M<sup>elle</sup> : Kaddouri Dalal

Devant le jury composé de :

Président      Mr. GHANIA Ahmed      MAA      Université d'El-Oued.

Examineur      Mr. LANEZ Elhafnaoui      MCB      Université d'El-Oued.

Promotrice      Mme. ADAIKAAicha      Dr.Pharmacochimie      Université d'El-Oued.

Année Universitaire : 2021-2022

## Remerciement

*Premièrement et dernièrement, tout le remercie à Dieu*

*Qui nous a donné la patience, le courage*

*Et la force pour réaliser ce travail.*

*Nous remercions Mme, ADAIKA Aicha notre encadreur de mémoire qui nous a permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions ...Merci aussi pour nous avoir fait partager votre expérience et votre culture scientifique et pour votre confiance. Travailler sous votre direction a été un plaisir et un honneur.*

*Nous remercions aussi monsieur LANEZ Touhami le directeur de laboratoire de valorisation et technologie des ressources saharienne pour nous avoir accueilli et nous a fourni tous les produits nécessaires dans son laboratoire pour réaliser ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi à Mr. GHANIA Ahmed qui nous avait fait l'honneur de présider ce Jury et à Mr. LANEZ Elhafnaoui d'avoir accepté d'examiner notre travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre haute considération.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à toutes les personnes du laboratoire VTRS et surtout à Mr Tliba Ali.*

*De plus, nous tenons à remercier le professeur Mr. LANEZ Elhafnaoui*

*Pour son aide précieux pour la réalisation de ce travail.*

*Nos vifs remerciements et notre gratitude à tous les enseignants du*

*Département des Sciences de la Nature et de Vie de l'Université*

*EChahid HAMMA LAKHDAR, El-Oued*

*A toute nos familles. Mercie pour votre soutien et vos encouragements, à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail. Trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.*

## Dédicace

*L'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:*

*A mon cher père BEN AMARA Djamel*

*A celui qui m'a appris la réussite et la patience..... A celui qui m'a appris que rien n'est impossible dans la vie..... Je vous dédie ce travail.*

*A ma chère maman BEN AMARA Thouraya*

*J'aimerai toujours te remercier pour tous ce que tu as fait jusqu'à notre jours-là pour assurer l'éducation et la formation de tous tes enfant .Je me rappelle vraiment de tous tes efforts avec moi dès mon jeune âge, chère mère j'avoue vraiment que tu as été pour moi la lumière qui me guide mes routes et qui m'emmène aux chemins de la réussite, c'est grâce à toi que je dois toute ma réussite. J'espère que mon travail sera le témoignage de ma gratitude et mon respect le plus profond.*

*A ma chère deuxième mère Hadia "tata"*

*Pour son encouragement, tendresse,*

*Amour et soutien durant mes études, vous trouverez ici le fruit de vos Sacrifice et je souhaite que j'ai réalisé l'un de vos rêve par ce modeste travail.*

*Puisse Dieu vous accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.*

*A mes chers frères : Zoubir, Ali, Mohammed et leurs épouses Amina, Houda ,Insaf. et leurs enfants Sidra , Djamel dine, Thouraya.*

*A ma chère sœur: Sara et son mari Abd razek et ses enfants Amir, Mayar et siwar.*

*A mon mari BEN KHALIFA Mohammed*

*À la source du soutien et de l'encouragement*

*Et je n'oublie pas de mentionner les meilleurs et le plus merveilleux encadreur ADAIKA Aicha.*

*Je me remercie également pour ma persévérance malgré les difficultés et les obstacles que j'ai rencontrés*

**Hala**



## Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des propriétés antidiabétiques destinées à inhiber l'action catalytique de  $\alpha$ -amylase, impliqué dans la régulation enzymatique de métabolisme glucidique par du dérivé ferrocénique FC3F, dans le but de corriger le phénomène de diabète postprandial élevé.

Dans la première partie de notre étude, nous nous sommes appuyés sur la prédiction théorique propriétés physicochimiques, pharmacologiques et toxicologiques du dérivé ferrocène grâce aux serveurs web SwissADME et Protox.

Nous avons obtenu des résultats indiquant que le composé possède des propriétés de type médicament.

Puis nous nous sommes tournés vers l'étude appliquée in vitro en utilisant deux méthodes d'étude électrochimique par voltamétrie cyclique et spectroscopie par UV vis, les résultats montrent un effet inhibiteur de notre composé sur l' $\alpha$  amylase comparé avec l'Acarbose comme contrôle positif, ce qui nous a permis de déterminer les indicateurs IC 50, K et  $\Delta G$ ,

En revanche, les résultats obtenus in silico par le Docking moléculaire révèle que ce dérivé se lie avec l' $\alpha$  amylase par des interactions électrostatique et forme

Liaisons hydrogène entre l'enzyme et l'inhibiteur cela confirment les résultats obtenus in vitro, en effet, cette interaction est traduite par les paramètres d'interaction.

Les valeurs de ces paramètres confirment la bonne interaction entre le dérivé de ferrocène et le composé biologique cible.

L'activité contre les glucocorticoïdes a été confirmée par la formation de liaisons hydrogène entre le dérivé de ferrocène et l' $\alpha$  amylase, ce qui permet son adoption comme futur médicament traitant le diabète.

**Mots clés :**  $\alpha$ -amylase, électrochimique, spectroscopie, FC3F, Acarbose, Protox, SwissADME, Docking.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

Fc-3F : N- ferrocenylmethyl-3-fluoromethylaniline.

UV : Ultraviolet.

Vis : Visible.

Fc : ferrocène.

PLIP : Protéine ligand interaction profile.

IC50 : concentration causant une Inhibition de 50 % d'une activité.

DNS : acide dinitrosalicylique.

Ipc: Infection Prevention and Control.

Epc: Electronic Power Control.

$\Delta G$ : Energie libre de liaison.

**Liste des figures**

Figure 01 : La répartition de la production et de la consommation de glucose en période post Métabolisme et contrôle de la glycémie. ....	8
Figure 02: Schéma de la régulation du métabolisme glucidique.....	9
Figure 03: Mécanisme de la sécrétion d'insuline dans les cellules $\beta$ pancréatiques).....	11
Figure 04 : Voie de signalisation du glucagon dans la cellule hépatique.....	12
Figure 05 : Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -amylase d'après.....	16
Figure 06 : La digestion enzymatique de l'amidon. ....	17
Figure 07 : La structure d'alpha-glucosidase .....	20
Figure 08: Physiopathologie du diabete de type 2.....	27
Figure 09 : La Structure de l'acarbose ref .....	28
Figure 10: Ferrocène sous forme de poudre .....	31
Figure 11 : La structure proposée par Pauson et Kealy 1951 à gauche et la structure Corrigée par Wilkinson et Fischer à droite.....	32
Figure 12 : La Synthèse du ferrocène.....	33
Figure 14 : Voltammogramme de ferrocène enregistré sur une électrode de platine dans l'acétonitrile $10^{-3}$ M en présence de tétrabutylammonium perchlorate $10^{-1}$ M à $V = 100$ mV/s .....	36
Figure 15 : Structures du tamoxifène (TAM), de l'hydroxytamoxifène (OHTAM), du ferrocifène (FcTAM) et de l'hydroxyferrocifène (FcOHTAM). ....	39
Figure 16 : Structure chimique de N-Ferrocenylmethyl N-3-trifluorométhylaniline Le dérivé N'-ferrocénylméthyl-N'-3 trifluorométhylaniline a été préparé à partir de la réaction De sel quaternaire de l'iodure de ferrocénylméthyltriméthylammonium (500 mg, 1,28 mmol) avec Le 3-trifluorométhylaniline (1 ml, 2,56 mmol) dans l'eau bidistillé a une température $110^{\circ}\text{C}$ Durant 6h.....	40
Figure 17 : Chemin réactionnel de synthèse de dérivé N-ferrocenylmethyl -3-trifluorométhylaniline ((1) : Sel quaternaire, (2) : La base 3-trifluorométhylaniline et (3) : Le Dérivé ferrocénique synthétisé).....	40
Figure 18 : Les étapes de docking moléculaire. ....	43

Figure 19. Page d'accueil du serveur SwissADME. ....	45
Figure 20 : Page d'accueil du serveur Prottox.....	46
Figure 21 : L'allure générale de la courbe voltampérométrique et ces grandeurs Caractéristiques. ....	48
Figure 22 : The Bioavailability Radar enables a first glance at the drug-likeness of a molecule. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Figure 23 : La classe de la toxicité de dérivé ferrocénique FC3F ...	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Figure 24 : Voltammogramme cyclique de l'amidon 2% en présence de l' $\alpha$ -amylase enregistré sur une électrode de carbone vitreux dans une solution tampon phosphate saline. À pH = 6.5, avec une vitesse de balayage de potentiel égale à 0.1 V/s.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Figure 25 : Voltammogramme cyclique d'une solution de réaction substrat enzyme ( $\alpha$ -amylase et amidon) en présence de différentes concentrations de l'inhibiteur : Fc3F et le témoin Acarbose (d) enregistré sur une électrode de carbone vitreux dans une solution tampon phosphate saline $10^{-1}$ M ( $KH_2PO_4$ / $K_2HPO_4$ ) à pH = 6.5, avec une vitesse de balayage de potentiel égale à 0.1 V/s. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Figure 26 : Courbes exponentiels des pourcentages d'inhibition obtenue à partir des données électrochimiques en fonction des concentrations des composés étudiées. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Figure 27 : Tracés de $\log_1[FC]$ en fonction de $\log ipip0 - ip$ utilisés pour calculer les constantes de liaison des dérivés ferrocénique étudiés avec l' $\alpha$ -amylase. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Figure 28 : Courbes exponentiels des pourcentages d'inhibition obtenue à partir des données, spectroscopiques en fonction des concentrations des composés étudiées. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Figure 29 : Tracés de $1FC$ en fonction de $AA0 - A$ utilisés pour calculer les constantes de liaison de Acarbose et de dérive ferrocénique étudiés avec l' $\alpha$ -amylase. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.
Tableau 13 : Valeurs des K et $\Delta G$ des composés étudiés obtenues par des données Spectroscopiques. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرّفة.

- Figure 30 : Structure tridimensionnelle de l'acarbose téléchargé depuis la Bank du Médicament avec le Numéro d'accès DrugBank : DB00284. ....خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- Figure 31 : Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -amylase pancréatique (PDB ID : 1OSE) téléchargé depuis Protéine Data Bank (<http://www.pdb.org>). ....خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- Figure 32 : Poses d'amarrage de FC3F et l'acarbose avec l' $\alpha$ -amylase (PDB ID : 1OSE) illustrant l'interaction de tous les ligands. ....خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- Figure 33 : Liaisons électrostatiques entre les ligands étudiés et les acides aminés de l' $\alpha$  amylase (PDB ID : 1OSE). (Les lignes en gris montrent les liaisons hydrophobiques, les lignes bleu indiquent les liaisons hydrogènes). ....خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- Figure 34: Medicament Acorbay.....105

## Liste des tableaux

Tableau 01 : Quelques propriétés des alpha-amylases.....	18
Tableau 02 : suivant donne les valeurs normales de la glycémie.....	25
Tableau 03 : Valeurs caractéristiques des paramètres électrochimiques de ferrocène.....	36
Tableau 04 : Structure SMILES et le médicament Acarbose.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 05 : Propriétés physicochimiques des composés étudiés et du l'acarbose . .	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 06 : Propriétés pharmacocinétiques de compose étudiés et du l'acarbose. ...	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 07 : Prédiction de la toxicité des composés étudiés et de l'acarbose	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 08 : Paramètres électrochimiques calculés à partir des voltammogrammes cycliques...	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 09 : valeurs de IC50 de dérivé Fc3F et de l'acarbose obtenu à partir de la voltammétrie cyclique. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 10 : Valeurs des K et $\Delta G$ des composés étudiés obtenues par des données de la voltammétrie cyclique. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 11 : Valeurs de l'absorbance des dérivés ferrocéniques étudiés et de l'acarbose obtenus à partir des données spectroscopique UV-Vis. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 12 : valeurs de l'IC50 des composés étudiés et de l'acarbose obtenu à partir d'UV Visible.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 15 : Comparaison des constants ( $M^{-1}$ ), énergies libres de liaison ( $KJ.mol^{-1}$ ) et les concentrations minimales inhibitrices (mg/ml) obtenues expérimentalement avec celles obtenues par amarrages moléculaires. ....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Tableau 16. Donnés de FC3F et Acarbose utilisés dans l'étude électrochimique .....	100
Tableau17. Les valeurs de I% en fonction de la concentration dans l'étude électrochimique .....	101
Tableau18. Valeurs de rapport $\log I_0/(I-I_0)$ en fonction $\log(I/[Fc])$ .....	102
Tableau 19. Donnés de FC3F et Acarbose utilisés dans l'étude spectroscopique.....	102
Tableau 20. Les valeurs de I% en fonction de la concentration dans l'étude spectroscopique.....	103

Tableau21. Valeurs de rapport  $(A/A_0-A)$  en fonction  $I/[Fc]$  .....104

## SOMMAIRE

<b>Remerciement</b>	-----
<b>Dédicace</b>	-----
<b>Résumé</b>	-----
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b>	-----
<b>Liste des figures</b>	-----
<b>Liste des tableaux</b>	-----
<b>SOMMAIRE</b>	-----
<b>Introduction</b>	-----

### *Chapitre I Métabolisme glucidique et Diabète*

<b>I. Généralités sur le métabolisme glucidique</b>	<b>6</b>
I.1. : Les organes responsables dans la régulation de la glycémie :	6
I.1.1. Organes producteurs de glucose	6
I.1.2. : Organes utilisateurs de glucose	7
I.2. Métabolisme et contrôle de la glycémie	9
I.3. La régulation hormonale de la glycémie :	9
I.3.1. L'insuline : structure, biosynthèse, sécrétion	9
I.3.2. Le glucagon : structure, biosynthèse, sécrétion	11
I.4. La régulation enzymatique de la glycémie :	13
I.4.1. Les enzymes amylolytiques	13
I.4.1.1. Les enzymes spécifiques des liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4) dont :	13
I.4.1.2. Les enzymes spécifiques des liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6)	13
I.4.1.3. Les enzymes spécifiques des liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6) et $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4)	13
I.4.2. L' $\alpha$ -amylase :	14
I.5. Le diabète :	20
I.5.1. Histoire du diabète :	20
I.5.2. Définition	21
I.5.3. Classification du diabète sucre :	21
I.5.3.1. Le diabète type 1 ou diabète insulino-dépendant (DID) :	21
I.5.3.2. Le diabète type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) :	22
I.5.3.3. Le diabète gestationnel	23
I.5.3.4. Autre type du diabète :	23
I.5.4. Critères de diagnostic :	24
I.5.4.1. Glycémie à jeun :	24
I.5.4.2. Glycémie postprandiale ou l'HGPO :	24
I.5.4.3. Hémoglobine glyquée HB1C :	24
I.5.5. Traitements du diabète	25
I.5.5.1. Traitements non médicamenteux	25
I.5.5.2. Traitements médicamenteux	26

### *Chapitre II Chimie de ferrocène et des dérivés ferrocéniques étudiés*

I- Généralités sur les ferrocènes-----	30
.1 Les métallocènes -----	30
2. Histoire-----	30
3. Définition-----	30
4. La chimie de ferrocène-----	31
.5 Liaisons et structures électroniques du ferrocène-----	32
6. Synthèse de ferrocène-----	32
7. Propriétés du ferrocène :-----	33
7.1. Propriétés physico-chimiques -----	33
7.2. Propriétés aromatiques-----	33
7.3. Propriétés spectroscopiques et électrochimique -----	34
.7.4 Quelques applications et utilisations du ferrocène et ses dérivés -----	37
8- Les dérivés ferrocéniques en chimie pharmaceutique -----	38
8.1 Propriété antibactérienne-----	38
8.2 Propriété antiparasitaire -----	38
8.3 Propriété anticancéreuse -----	38
8.4 Activité antioxydante -----	39

***Chapitre III Contexte théorique des différentes techniques expérimentales utilisées***

<b>1. L'amarrage moléculaire (Docking)-----</b>	<b>42</b>
1.2. Principe-----	42
1.3. Les étapes de docking-----	42
1.3.1. Le Docking -----	42
1.3.2. Le Scoring -----	42
1.4 Les différents types d'amarrage moléculaire -----	43
1.4.1. Modélisation du potentiel énergétique-----	43
1. Spectroscopie d'absorption dans le domaine UV-Visible :-----	44
2.1 Principe de spectroscopie d'absorption dans l'UV visible :-----	44
2.2. Loi de Beer-Lambert -----	45
<b>1- SwissADME :-----</b>	<b>45</b>
<b>2- Prottox :-----</b>	<b>46</b>

***Partie Pratique***

***Chapiter1: Matériels et méthodes***

<b>I. Matériels utilisés :-----</b>	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>
I.1. Produits chimiques et réactifs :-----	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>
I.1.1. Alpha Amylase :-----	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>
I.1.2. Substrat :-----	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>
I.1.3. Réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNS) :-	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>
I.1.4. Acarbose :-----	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>
I.1.5. Tampon phosphate saline (0.02 M, pH = 6.5) :-----	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>
I.1.6. Dérivés ferrocéniques étudiés :-----	<b>خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.</b>

- II. Méthodes utilise**----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.1. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-diabétique : ----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.1.1. Mode opératoire :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.1.2. Mesure voltammétriques :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.1.3. Mesure spectroscopique :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.2. Etude de l'activité anti diabétique : ----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.2.1. Etude *in silico* par méthode bio-informatique : --- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.2.1.1. Evaluation des paramètres pharmacocinétique par SwissADME : الإشارة : خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.3. Etude *in silico*----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.3.1. Etude des interactions moléculaires par l'Autodock Tools : الإشارة المرجعية : خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.3.2. Mode opératoire :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.4. Etude *in vitro*----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.4.1. Etude de l'activité antidiabétique Par spectroscopie UV-Visible ---- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.4.1.1. Mode opératoire :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- II.4.1.2. Méthode électrochimique----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.

### *Chapitre 2: Résultats et discussion*

- 1. Prédiction des propriétés ADMET** ----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 1.1 Propriétés physico-chimiques: ----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 1.2 Propriétés pharmacocinétiques :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 1.3 Prédiction de la toxicité :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 2. Étude de l'activité anti  $\alpha$ -amylase de dérivé Fc3F par méthode électrochimique, la voltamétrie cyclique** ----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 2.1 Détermination de Concentration inhibitrice de l'activité de l' $\alpha$ -amylase (IC50) : خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 2.2 Détermination de la constante et l'énergie libre de l'interaction avec l' $\alpha$ -amylase : خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 3. Étude de l'activité anti  $\alpha$ -amylase de dérivé Fc3F par la méthode spectroscopie électronique** : ----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 3.1 Détermination de l'efficacité inhibitrice de l'activité de l' $\alpha$ -amylase (IC50) :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 3.2 Détermination de la constante et l'énergie libre de l'interaction avec l' $\alpha$ -amylase : خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 4. Étude d'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par amarrage moléculaire** : --- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 4.1 Optimisation structurelle :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 4.2 Simulations d'amarrage :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
- 4.3 Détermination de site d'interaction de molécules étudiées :----- خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.

**Discussion générale:** -----

**Conclusion** -----

*Références Bibliographiques* -----



# *Introduction*

## Introduction

La glycémie est la concentration plasmatique du glucose . Au cours de la journée , sa valeur varie en fonction des apports et des besoins énergétiques de l'individu . La glycémie est ajustée par l'action d'hormones sécrétées par des cellules du pancréas . Les îlots de Langerhans qui constituent les régions endocrines du pancréas, sécrètent dans le sang deux hormones protéiques aux actions antagonistes : l'insuline, sécrétée par les cellules B. et le glucagon, sécrété par les cellules alpha. Ces hormones agissent sur les cellules munies des récepteurs spécifiques, notamment au niveau du foie, des muscles et du tissu adipeux, importants consommateurs de glucose. L'insuline favorise la consommation cellulaire du glucose. Elle active les enzymes de la glycogénogenèse dans les cellules hépatiques et musculaires, et celles de la lipogenèse dans le tissu adipeux. Inversement, elle inhibe les enzymes de la glycogénolyse.

Le diabète est un problème de sante publique il est récemment devenu l'une des maladies les plus courantes dans le monde, où pour l'année 2000, on a 171 millions de personnes dans le monde souffraient du diabète (**Association. 2011**). Ce chiffre devrait passer à 366 millions d'ici 2030 .Sachant que, Le diabète est une maladie chronique liée à une défaillance de l'homéostasie glycémique ce qui provoque une hyperglycémie. Il entraîne une dégradation progressive de l'état du système cardio-vasculaire et le système nerveux. Cependant la plupart des medicamnet ont une activité inhibitrice de enzymes regulateurs de la glycemie comme l'alpha amylase . En effet, L' $\alpha$ -amylase comme toutes les enzymes est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires, de type endoglycanase de la classe des hydrolases qui agit sur les liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) de l'amidon. Elle est largement représentée chez les animaux, les végétaux et les micro-organismes (**Mercier, 1985**), l'activité biologique d'alpha amylase cause le diabète, c'est pour ce fait que nous devons choisir des molécules synthétisés qui a le pouvoir d'inhiber cette enzyme et donc aura un effet hypoglycémiant.

L'utilisation de composés organométalliques pour traiter le diabète est un domaine en pleine expansion de la biochimie organique. Parmi les composés les plus intéressants et les plus étudiés les dérivés du ferrocène. (**Görmen, M., 2010**).

Les dérivés du ferrocène font partie des substances qui jouent un rôle important en tant que potentiel chimiothérapeutique notamment. En outre, des antioxydants potentiels (**Adaika, .2020**), des anti-inflammatoires, des antimicrobiens, des cytotoxiques et un clivage de l'ADN dans les cellules cancéreuses. Leur grande stabilité, leur activité électrique et leur activité

spectrale en font des candidats prometteurs pour de nombreuses applications biologiques (Majumder et al, 2002).

Dans notre travail nous essayons de synthétiser des dérivés ferrocéniques qui peuvent donner une activité anti alpha amylase efficace et peuvent avoir moins des effets secondaires.

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité inhibitrice de l'alpha amylase par le produit synthétisé Fc3Faniline ainsi déterminer le type d'interaction entre le dérivé N-ferrocenylmethyl -3- trifluoromthylaniline et alpha amylase. Cette réaction peut être réalisée par deux approches in silico par le docking moléculaire, in vitro par deux méthodes spectroscopie UV-visible et électrochimie par voltamétrie cyclique. Cependant, l'Acarbose est un médicament antidiabétique inhibant l'alpha amylase a été utilisé comme un contrôle positif de notre réaction in vitro et in silico. Afin de vérifier la toxicité et les caractéristiques physicochimiques, pharmacocinétique et la toxicité de ce composé nous avons utilisé deux serveurs swissADMT et Prottox.

Notre travail est répartie en deux parties, La première partie comprend une aperçu bibliographique qui contient trois chapitres : le premier chapitre comporte une étude sur Métabolisme glucidique et Diabète, le deuxième chapitre concerne la Chimie de ferrocène et des dérivés ferrocéniques et le troisième chapitre présente un contexte théorique des techniques expérimentales utilisées. En revanche, La deuxième partie concerne la partie expérimentale, qui présente les matériels et les méthodes utilisés dans le premier chapitre et le deuxième chapitre s'intitule résultats et discussion comprenant la présentation des différents résultats obtenus et ses interprétations. En fin une conclusion générale et les perspectives.



*Chapitre I*  
*Métabolisme glucidique et*  
*Diabète*



## **I. Généralités sur le métabolisme glucidique**

Les glucides sont utilisés par les cellules afin de produire l'énergie nécessaire à la réalisation des différents processus physiologiques. De manière à être métabolisés par les cellules, les glucides doivent être convertis en glucose. Le glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ) est un monosaccharide qui est véhiculé via le sang vers les cellules de notre organisme afin de répondre aux différents besoins énergétiques. En période de repos, le glucose peut être mis sous forme de réserve appelée glycogène. Les réserves de glycogène se situent principalement au niveau des hépatocytes ainsi que des cellules musculaires.

Le glycogène emmagasiné au niveau du foie peut être catabolisé de nouveau en glucose pour se diriger vers la circulation sanguine en réponse à une baisse de la concentration glucidique dans le sang.

### **I.1. : Les organes responsables dans la régulation de la glycémie :**

Toutes les cellules de l'organisme consomment le glucose. Ce dernier est apporté à l'organisme suite à la digestion des aliments, puis transmis aux cellules par l'intermédiaire du sang, le reste du glucose est stocké dans l'organisme et libéré dans le sang au fur et à mesure des besoins.

#### **I.1.1. Organes producteurs de glucose**

La régulation de la glycémie est régie par un système physiologique complexe qui dépend de plusieurs organes. Avant de présenter le rôle des organes producteurs de glucose, nous proposons les deux manières de produire le glucose au sein de l'organisme :

- ↳ **La glycogénolyse** : c'est l'hydrolyse et la transformation du glycogène stocké dans le foie en glucose.
- ↳ **La néoglucogenèse** : c'est la synthèse de nouvelles molécules de glucose à partir des composés non glucidiques.

Ces deux mécanismes n'ont pas la même importance selon la période temporelle ou l'organe considéré. Trois organes du corps humain sont impliqués dans le processus de production du glucose : le foie, les reins et les intestins. Leurs rôles respectifs sont détaillés dans les sous paragraphes suivants :

##### **a. Le foie :**

Constitue la source prédominante de glucose dans l'organisme en dehors des prises alimentaires. En effet, lors d'un apport en nutriments par l'alimentation, le foie stocke le glucose sous une forme polymérisée, le glycogène, ce qui lui permet par la suite d'approvisionner les autres organes en glucose entre deux prises alimentaires. L'équilibre entre la production et la recapture de glucose par le foie est atteinte pour une glycémie de

8,33 mM. En dessous de cette concentration, sous l'influence du glucagon (qui est une hormone hyperglycémiant sécrétée par le pancréas endocrine), le foie produit du glucose d'abord par glycogénolyse, puis par néoglucogenèse (principalement à partir d'acides gras) lorsque les stocks de glycogène sont épuisés, tandis que pour des niveaux sanguins de glucose plus élevés, l'utilisation du glucose par le foie augmente, stimulée par l'insuline hypoglycémiant (également sécrétée par le pancréas endocrine), et sert de substrat à la glycogénogenèse (**Polakof, et al. 2011**).

En raison de sa fonction de production de glucose endogène, le foie est l'une des cibles principales des mécanismes de régulation de la glycémie, notamment de l'insuline et du glucagon (**Lebreton, 2014**).

#### **b. Le système rénal**

Les reins sont également des producteurs de glucose, en période post-absorptive, ils produisent environ 25% du glucose. Les reins n'ont pas de réserve en Glycogène, le seul mécanisme de production de glucose est la néoglucogenèse.

#### **c. l'intestin**

Le rôle de l'intestin dans la production du glucose est assez limité. En réalité, il ne peut produire le glucose que sous certaines conditions (diabète, jeûne prolongé...). Le mécanisme de production du glucose par l'intestin s'appelle la néoglucogenèse.

### **I.1.2. Organes utilisateurs de glucose**

Le glucose est une source principale d'énergie du milieu intérieur. Les principaux organes utilisateurs de glucose du corps humain ainsi leurs consommations respectives en glucose sont détaillées dans les sous-paragraphes suivants :

#### **a. Le cerveau**

Le cerveau consomme de l'oxygène et du glucose et produit de l'énergie et du dioxyde de carbone. En effet, le glucose est la principale source d'énergie du cerveau. Celui-ci consomme environ 50% de glucose produit par le foie en période post-absorptive, en conséquence, le cerveau est le plus grand consommateur de glucose.

#### **b. Les muscles squelettiques**

Possèdent leurs propres réserves de glycogène. Cependant, à la différence du foie, ils ne sont pas capables de libérer du glucose dans la circulation. En revanche, la capacité du tissu musculaire à rapidement augmenter son utilisation de glucose en fait un acteur important dans la régulation de la glycémie, notamment juste après un repas. Cet organe est en effet le principal utilisateur de glucose en période postprandiale juste après le foie

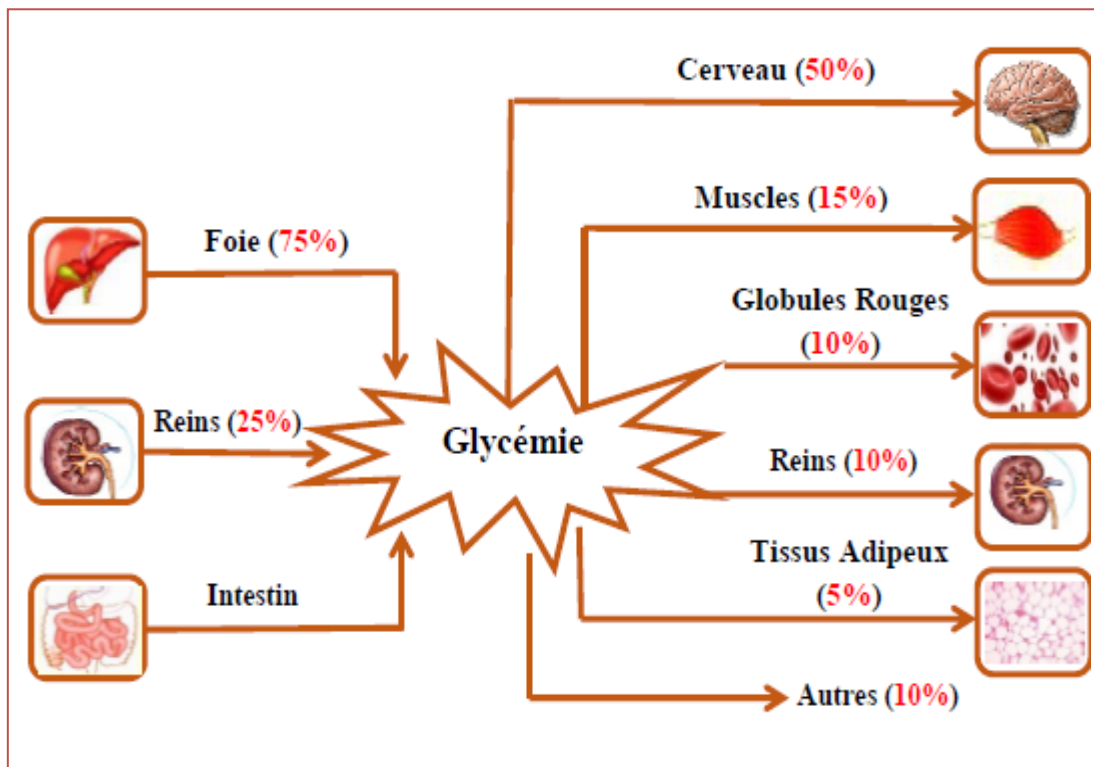
(~30% du glucose circulant). Le glucose capté par les muscles est alors soit utilisé immédiatement, soit utilisé comme substrat pour la glycogénogenèse afin d'entretenir ses réserves d'énergie (**Lebreton, 2014**). Enfin, les muscles squelettiques jouent un rôle additionnel dans la régulation de la glycémie en relargant dans la circulation sanguine des acides aminés qui seront utilisés par le foie pour la néoglucogenèse (**Spargo, et al, 1979 ; Yang, 2014**).

### c. Les globules rouges

Le glucose est la principale source d'énergie pour les globules rouges. En effet, L'hémoglobine qui est formée dans les globules rouges entre dans la circulation sanguine Pour se rattacher au glucose. De même, le glucose s'attache à l'hémoglobine avec une vitesse qui dépend de la concentration de glucose dans le sang. Ainsi, les globules rouges Consomment presque 10% de glucose dans le corps humain.

### d. Les reins

D'après leur action de filtration-réabsorption, les reins sont définis comme des grands Consommateurs d'énergie. En période post absorptive, les reins utilisent environ 10% du Glucose produit par le foie.



**Figure 01** : La répartition de la production et de la consommation de glucose en période post

Métabolisme et contrôle de la glycémie.

## I.2. Métabolisme et contrôle de la glycémie

Tous les organes ont besoin de sucre pour fonctionner et le cerveau en est le plus gros consommateur (environ 100 g par jour). Le glucose est une des principales sources énergétiques métaboliques et est dégradé dans le cycle de la glycolyse pour générer une molécule de pyruvate et de l'énergie sous forme d'ATP. Les sources de glucose sont majoritairement exogènes (origine alimentaire) mais aussi endogènes.

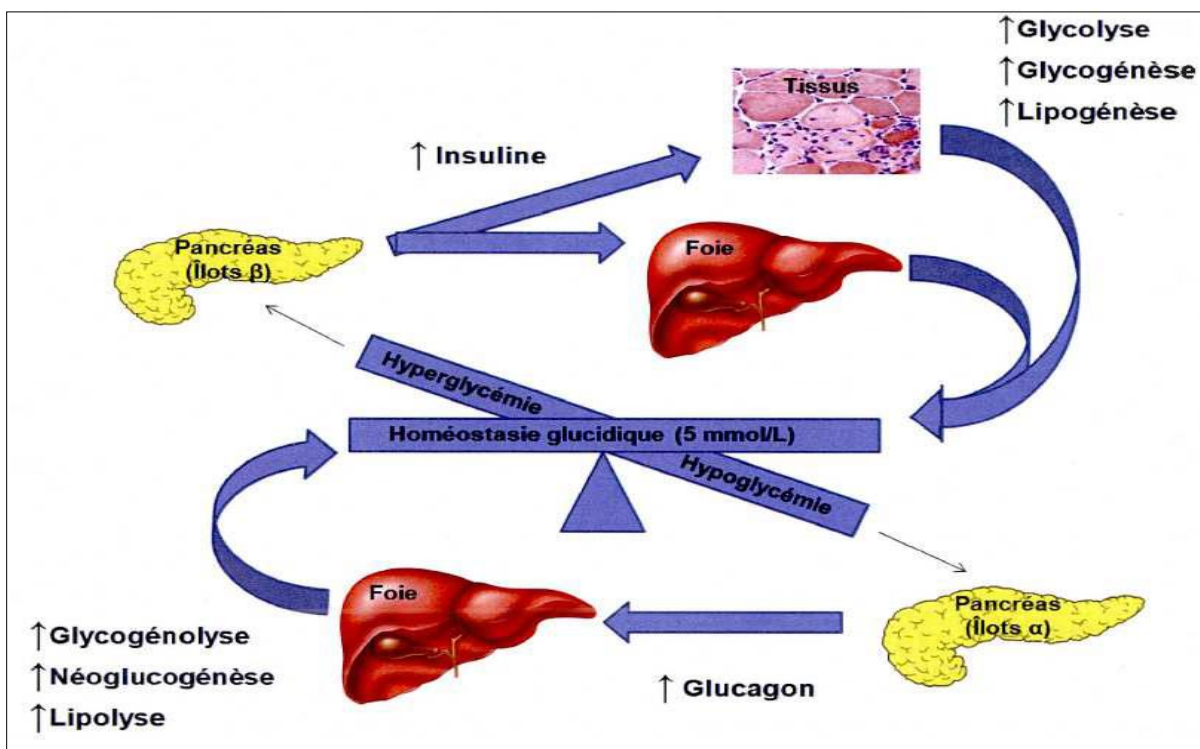


Figure 02 : Schéma de la régulation du métabolisme glucidique (Moore, *et al*, 2003)

## I.3. La régulation hormonale de la glycémie :

### I.3.1. L'insuline : structure, biosynthèse, sécrétion

L'insuline est une hormone régulatrice du taux de glucose dans le sang, sa fonction principale est d'empêcher l'hyperglycémie. Elle est considérée comme une clé pour ouvrir les cellules du corps et permettre au glucose d'être une source d'énergie pour les cellules (Thakkar, *et al*, 2016). L'insuline est un peptide de 51 acides aminés et se compose de deux chaînes polypeptidiques : une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés, qui sont unies par deux ponts disulfures et un pont disulfure intra-chaîne dans la chaîne A. L'insuline est synthétisée dans la cellule  $\beta$  sous forme de pré-pro-insuline inactive. Chez l'homme, elle est codée par un gène se trouvant sur le chromosome 11. Après la transcription en ARNm du gène codant la pré-pro-insuline, l'ARNm est exporté

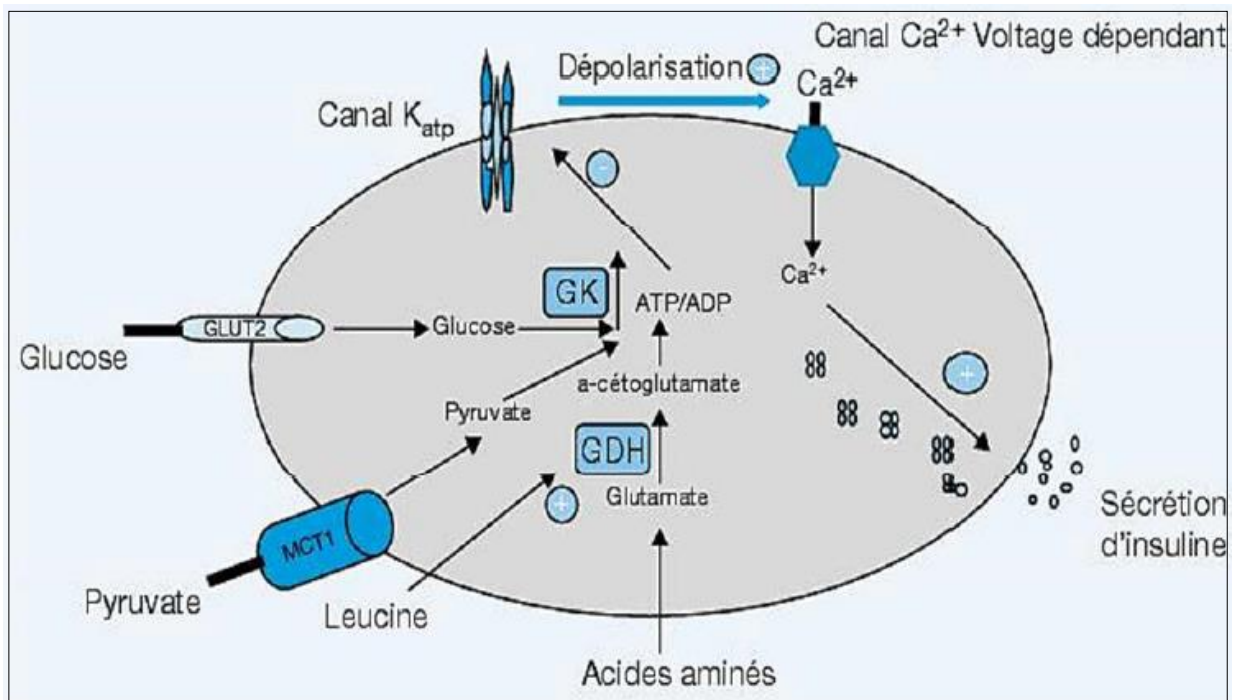
du noyau vers le cytoplasme pour atteindre les ribosomes se trouvant à la surface du réticulum endoplasmique (RE).

La traduction de la pré-pro-insuline se réalise à l'entrée du RE. La molécule subit alors un remodelage, acquiert sa structure quaternaire avec ses deux ponts disulfures et perd sa séquence signal. La pro-insuline ainsi obtenue est constituée de 86 acides aminés ayant un poids moléculaire de 9 kDa. Dans l'appareil de Golgi, sous l'action d'une protéase spécifique, la pro-insuline est clivée pour donner le peptide-C (31 acides aminés ayant un poids moléculaire de 3 kDa) et un peptide bicatenaire, l'insuline d'une taille finale de 51 acides aminés et de poids moléculaire de 6 kDa. Ces deux peptides sont stockés dans des granules jusqu'à sécrétion (**Auberval, 2010**).

La sécrétion de l'insuline se produit en deux phases : la première phase est indépendante du niveau de glucose dans le sang, c'est ce qu'on appelle le taux basal d'insuline, et la deuxième phase est la réponse à l'augmentation de la glycémie. Une concentration plus élevée de glucose dans les cellules conduit à une activité de glycolyse plus élevée en augmentant les niveaux d'ATP (molécule qui fournit l'énergie nécessaire aux cellules).

Cela déclenche la libération d'une insuline préalablement synthétisée et stockée dans les vésicules sécrétoires (**Lodish, 2008**). Ainsi, une augmentation du niveau de glucose, généralement causée par l'ingestion d'un repas, entraînera une augmentation de la sécrétion d'insuline. En outre, l'insuline favorise la synthèse du glycogène et son stockage au niveau du foie.

D'autres facteurs aident à la sécrétion d'insuline comme les niveaux des acides aminés, des acides gras et plusieurs autres hormones.



**Figure 03:** Mécanisme de la sécrétion d'insuline dans les cellules  $\beta$  pancréatiques (Palladino *et al*, 2009).

### I.3.2. Le glucagon : structure, biosynthèse, sécrétion

Le glucagon est une hormone catabolique constituée de 29 acides aminés. Elle est sécrétée par les cellules  $\alpha$  pancréatiques. Lorsque le glucose plasmatique s'abaisse au-dessous des valeurs normales, la sécrétion de glucagon augmente, et induit la production de glucose hépatique pour élever la glycémie (Ives, 2004). La biosynthèse du glucagon débute par la transcription de son gène situé sur le chromosome 2 humain, d'une séquence de 9,4 kb (Lefebvre, 1995) en un ARNm codant pour le proglucagon, un peptide de 160 acides aminés. Le proglucagon est également synthétisé dans d'autres organes, principalement l'intestin (dont les cellules endocrines du pancréas sont issues du point de vue phylogénétique) et le cerveau. Dans ces organes, le proglucagon est clivé en d'autres peptides, les plus connus étant les incertines GLP-1 et GLP-2 produites par les cellules L intestinales (Whalley, *et al*, 2011).

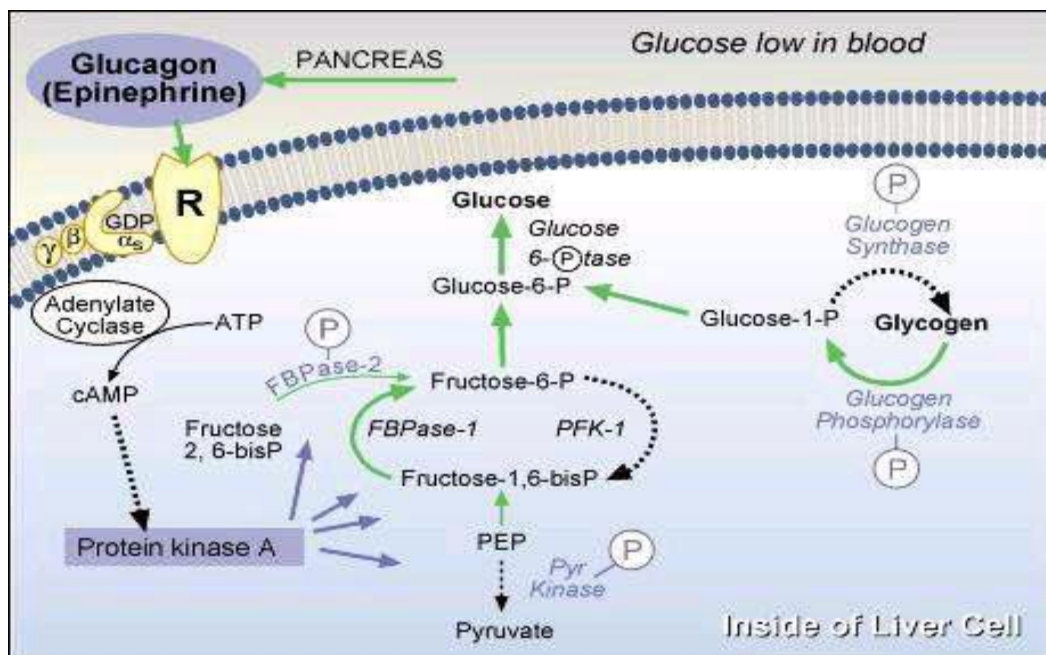
Le glucagon est produit par les cellules  $\alpha$  du pancréas, uniquement lorsque la glycémie diminue.

De manière significative au-dessous de 0,65 g/L. En effet, dans un état de normoglycémie ou d'hyperglycémie, le glucose empêche les cellules  $\alpha$  de sécréter du glucagon dans le sang. Mais lorsqu'il y a une hypoglycémie, la sécrétion d'insuline est bloquée et l'inhibition des cellules  $\alpha$  est levée. La libération du glucagon par les cellules  $\alpha$  résulte d'une

entrée massive de calcium dans la cellule suite à une dépolarisation membranaire L'hormone rejoint les cellules cibles du foie par les vaisseaux sanguins et se fixe sur les récepteurs spécifiques des hépatocytes. Il existe également des récepteurs au niveau rénal, cervical, adipeux et musculaire ainsi que sur les cellules s. Le glucagon se fixe sur son récepteur couple aux protéines G.

La sous-unité  $\alpha$  de la protéine G va stimuler l'adénylate cyclase et augmenter la production intracellulaire d'AMPc, induisant une activation des protéines kinase (PKA). Cela provoque une accélération de la glycogénolyse d'où une augmentation de la [G6P] intracellulaire.

Le foie va hydrolyser le Glucose-6-Phosphate en glucose grâce à la Glucose-6-Phosphatase. Le Mécanisme entraîne une libération du glucose stocke dans le foie qui en contient environ de 50 g à 100 g. Le glucagon accroît la capture des acides aminés par les hépatocytes et favorise ainsi la Néoglucogénèse à partir des acides aminés. De plus, le tissu adipeux va fournir des acides gras libres nécessaires aux muscles par lipolyse et celui-ci va les utiliser pour fabriquer des corps cétoniques, autre substrat énergétique en l'absence de glucose. La glycémie est ainsi rétablie à un taux normal.



**Figure 04 :** Voie de signalisation du glucagon dans la cellule hépatique. (Auberval, 2010)

#### I.4. La régulation enzymatique de la glycémie :

##### I.4.1. Les enzymes amylolytiques

L'hydrolyse enzymatique de l'amidon s'effectue par 2 types d'enzymes amylolytiques de Genre glycosyl hydrolases.

##### I.4.1.1. Les enzymes spécifiques des liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4) dont :

- **L' $\alpha$ - amylase (E.C.3.2.1.1) :** dont l'action est toujours de type endomoléculaire et conduit à la formation de D-glucose, D-maltose et une Petite quantité de maltodextrines (Scriban, 1993).
- **L' $\beta$ -amylase (E.C.3.2.1.2) :** La 1 $\rightarrow$ 4 $\beta$ -D- glucane, malto-hydrolase est Une exoenzyme saccharifiant. Elle hydrolyse les chaînes d'amylose et D'amylopectine à partir de l'extrémité non réductrice en libérant du  $\beta$ -maltose. L'hydrolyse de l'amylopectine est bloquée au niveau des points de branchement  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6), ce qui conduit à la production de 50% à 60% de maltose. Le reste Est formé de dextrine limite (Vallier, *et al*, 1977).
- **L' $\gamma$ -amylase (glucoamylase) (E.C.3.2.1.3) :** est une enzyme  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) glucane glucanohydrolase qui hydrolyse complètement l'amytopectine en D glucose et Capable également d'hydrolyser les liaisons  $\alpha$  (1-3) pour former le maltose (Scriban, 1993).

##### I.4.1.2. Les enzymes spécifiques des liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6)

- **L'Iso amylase (E.C. 3.2.1.68) :** est une enzyme déramifiante ; elle hydrolyse les liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6) présentes dans les polysaccharides tels que de l'amylopectine.
- **La pullulanase (E.C. 3.2.1.41) :** est également une enzyme déramifiante spécifique à l'hydrolyse des liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6) de pullulan. Elle est incapable d'hydrolyser totalement l'amylopectine qui est beaucoup plus ramifiée que le glycogène (Scriban, 1993).

##### I.4.1.3. Les enzymes spécifiques des liaisons $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6) et $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4)

- **L'amyloglucosidase (E.C.3.2.1.31) :** encore appelée glucoamylase, scinde rapidement non seulement les liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) des extrémités non réductrices mais aussi les liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6) de l'amylopectine en libérant du  $\beta$ - D- glucose (Mercier, 1985).

## **I.4.2. L' $\alpha$ -amylase :**

### **A- définition :**

L' $\alpha$ -amylase comme toutes les enzymes est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires (Nouadri, 2011), Elle est une enzyme clé dans le système digestif et catalyse l'étape initiale d'hydrolyse de l'amidon en maltose et finalement en glucose (Eichler, *et al*, 1984). C'est une endo-enzyme, de masse moléculaire comprise entre 40 et 70 kDa (Panchal, 1990). Elle est présente dans la salive Produite par les glandes salivaires et dans le suc pancréatique issu du pancréas, mais n'est que peu présente dans le sang (Sine, 2010).

### **B- Différentes origines**

L' $\alpha$ -amylases de différentes origines (bactérienne, fongique, animale et végétale), n'affecte pas l'activité amylolytique. Les  $\alpha$ -amylases sont abondantes dans tous les règnes, elles ont été isolées par extraction à partir des tissus végétaux et animaux ou par fermentation par des cellules microbiennes (Nouadri, 2011).

#### ✓ **Origine animale:**

Les amylases d'origine animale sont généralement extraites à partir de la salive et du pancréas des mammifères (French, 1975). Les  $\alpha$ -amylase animales sont incapables d'hydrolyser la liaison  $\alpha$  (1 $\rightarrow$  6) de l'amylopectine ou du glycosyl oligosaccharides, l'hydrolyse complète de l'amylose et de l'amylopectine par les  $\alpha$ -amylases animales donne respectivement du maltose et du D-glucose pour l'amylose et du glucose, maltose et des dextrans limitent pour l'amylopectine (Coolbear, *et al*, 1992).

#### ✓ **L'origine végétale :**

Les  $\alpha$ -amylases végétales possèdent une importance primordiale dans le métabolisme glucidique où elles participent à la conversion de l'amidon en le réduisant en sucres réducteurs qui sont la source énergétique nécessaire à la germination et elles sont généralement incapables d'hydrolyser le maltose (Octávio, *et al*, 2000).

Ces enzymes végétales sont généralement obtenues par extraction à partir des céréales notamment le blé, l'orge, le son ou le riz (Srinivasa, *et al*, 2004).

#### ✓ **Origine microbienne :**

##### • **L' $\alpha$ -amylase fongique :**

La production industrielle d'enzymes à partir des microorganismes fongiques, parmi les genres *Aspergillus* et *Penicillium*, existe depuis longtemps du fait que la première production d'  $\alpha$ -amylase a été réussie par Takamine en 1894. L' $\alpha$ -amylase fongique est d'une

thermostabilité assez faible, son optimum d'action se situe entre 50°C et 55°C (Fogarty, *et al*, 1994).

#### *L' $\alpha$ -amylase bactérienne :*

Ce type d'enzyme est exo-cellulaire, obtenu principalement par fermentation de *Bacillacées*. Historiquement la première enzyme a été produite à partir de souches de *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* ou *B. subtilis* fermentant en surface (Mc tigue *et al*, 1995).

#### C- Nomenclature :

- a. Nom codifié : EC 3.2.1.1
- b. Nom commun :  $\alpha$ -amylase
- c. Non systématique :  $\alpha$ -(1-4) D-glucane glucanohydrolase.
- d. Synonymes : glycogénase, endoamylase, maxilase, taka-amylase A. (Schomburg & Salzmann, 1991 ; Dauter *et al.*, 1999 ; Nouadri, 2011).

#### D- Structure :

Les  $\alpha$ -amylases sont également considérées comme des glycoprotéines renfermant 478 acides aminés répartis en 3 domaines globulaires (Nouadri, 2011).

- **Le domaine A :** formé d'un cylindre concentrique d'hélice alpha contenant 8 feuillets bêta parallèles, possède la plus grande taille. Il est composé des résidus 1 à 99 et 169 à 404 (Brayer *et al*, 1995). Dans ce domaine se retrouve le site actif contenant l'Asp 197, Glu 233 et l'Asp 300, trois acides aminés clé de l'action catalytique de l'enzyme ainsi que le site de liaison de l'ion chlorure (Whitcomb *et Lowe*, 2007). En effet, un ion chlore, activateur allostérique de l'amylase, forme des interactions avec Arg 195, Asn298 et l'Arg337 (MacGregor, *et al*. 2001).
- **Le domaine B :** est formé d'une boucle de 64 résidus d'acide aminé reliant A- $\beta$ 3 avec A- $\alpha$ 3 et constitue une sorte de « couvercle » au-dessus du site actif.
- **domaine C :** est constitué d'un tonneau de 8 feuillets  $\beta$  antiparallèles (Kadziola *et al*, 1994).
- Le site actif (site de liaison) de l' $\alpha$ -amylase se situe dans une longue fente située entre l'extrémité carboxyle du domaine A et B.
- Le calcium (Ca<sup>2+</sup>) est situé entre les domaines A et B (sphère bleu) et peut agir dans la stabilisation de la structure.
- Le site de liaison au substrat contient 5 sous-sites avec le site catalytique positionné au sous-site 3. Le substrat peut se lier au premier résidu de glucose dans le sous-site

1 ou 2, ce qui permet au clivage de se produire entre le premier et le deuxième ou le deuxième et le troisième résidu de glucose.



**Figure 05** : Structure tridimensionnelle de l'α-amylase d'après. (Kraulis P. J. 1991).

#### **E-Mode d'action :**

En général, les α-amylases peuvent agir par différents modes d'action. Selon les conditions (température, pH, taille et structure du substrat), l'enzyme peut utiliser l'un ou l'autre mécanisme et même une combinaison entre plusieurs mécanismes (Mazur & Nakatani, 1993 ; Nielson *et al*, 2001).

- **Une attaque aléatoire**, en coupant les liaisons (α-1,4) à partir de l'extrémité non réductrice.

Il en résultera, principalement, la formation de glucose, de maltose et surtout d'α-dextrines (Scriban, 1999).

- **Attaque préférée** : l'α-amylase montre une préférence pour certaines liaisons dans le substrat.
- **Attaque répétitive ou multiple** : elle implique le déplacement de l'enzyme tout au long de la chaîne du substrat, pour hydrolyser les liaisons glucosidiques sans se dissocier du substrat (Berry et Paterson, 1990).

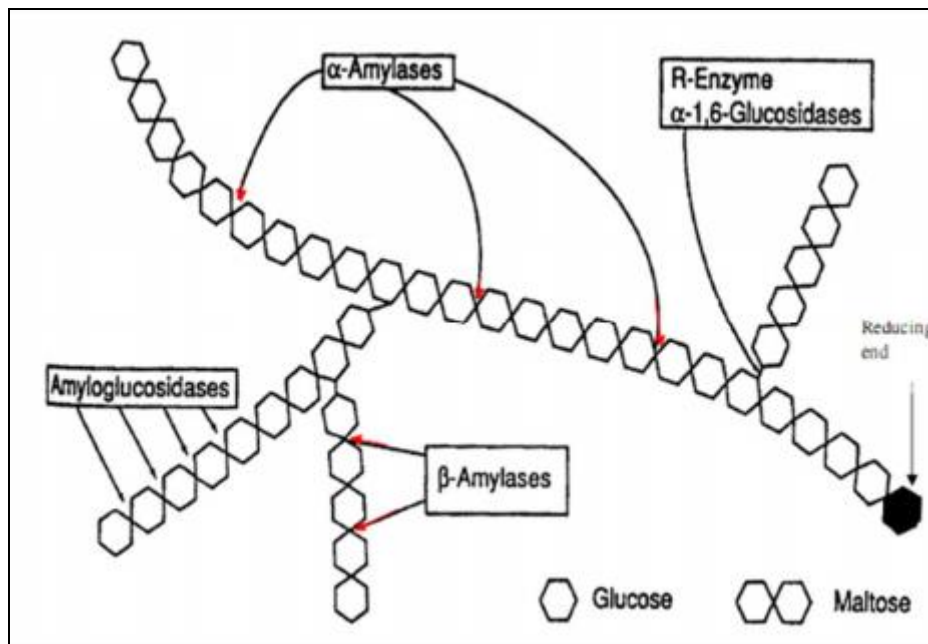


Figure 06 : La digestion enzymatique de l'amidon. (Tormo et al, 2004).

#### F- Caractéristiques générales

##### • Température optimal :

En général, les  $\alpha$ -amylases ont une température optimale comprise entre 25°C et 70°C, avec une grande stabilité thermique pour les  $\alpha$ -amylases bactériennes (**Larpen-Gourgaud Et Sanglier, 1992**). (**Vertiani et al. 1998**) signalent que la température optimale des  $\alpha$ -amylases Bactériennes, varie de 50°C à 90°C. Cependant la température optimale des  $\alpha$ -amylases Fongiques varie de 40°C à 60°C.

##### • PH optimal :

Les  $\alpha$ -amylases sont généralement stables dans une gamme de pH de 4 à 9, avec un Optimum variant de 4 à 5 pour les  $\alpha$ -amylases fongiques, et un optimum supérieur à la Neutralité, soit 6 à 8.5 pour les  $\alpha$ -amylases bactériennes (**Larpen-Gourgaud et Sanglier, 1992**).

Le pH optimal pour l'amylase pancréatique et salivaire varie selon les auteurs, mais une majorité convient qu'il se situe autour de 6,9 avec une variation pouvant s'échelonner de 6,5 et 7,2 (**Ishikawa et al, 1993**).

**Tableau 01 : Quelques propriétés des alpha-amylases (Khacheba, 2008).**

Enzymes D'origine	Exemples	PH optimal	Temperature optimales (C°)
• <i>Animal</i>	<b>Salive humaine</b>	<b>6.9</b>	<b>40</b>
	Pancréas de porc	6.9	37
<i>Végétal</i>	Malt d'orge	4.7-5.4	50-55
	Blé	4.6	60-66
<i>Microbienne</i>	<i>Bacillus coagulans</i>	5.2	57
	<i>Aspergillus oryzae</i>	5.5-6.9	40

### 1- Inhibition d'alpha-amylase :

Dans le processus digestif des hydrates de carbone diététiques complexes, l' $\alpha$ -glucosidase et l' $\alpha$  amylase jouent un rôle important. Donc, l'inhibition des deux enzymes peut retarder la digestion des oligosaccharides et des disaccharides, et retarder l'absorption du glucose ainsi que réduire les taux de glucose dans le plasma, aboutissant finalement à la suppression de l'hyperglycémie postprandiale (Lebovitz, 1997).

Des médicaments capables d'inhiber l'activité de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$ -amylase peuvent retarder la digestion des hydrates de carbone, réduisant ainsi l'hyperglycémie postprandiale (He, 1998). L'Acarbose, le voglibose et le miglitol sont largement utilisés, isolément ou en combinaison avec des sécrétagogues d'insuline, pour les patients atteints de diabète de type II. Cependant, ces inhibiteurs causent plusieurs effets secondaires, tels que les troubles du foie, les flatulences et les crampes abdominales. En outre, certains d'entre eux peuvent augmenter l'incidence des tumeurs rénales, des lésions hépatiques et de l'hépatite Aiguë (Shobana, et al, 2009). Le règne végétal est un vaste domaine pour rechercher des Agents hypoglycémiant oraux efficaces qui ont des effets secondaires légers ou pas. Plus de 1200 espèces végétales ont été enregistrées pour être employées empiriquement dans le Monde entier pour leur présumée activité hypoglycémique. Par conséquent, les inhibiteurs Naturels de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$  amylase provenant de sources végétales offrent une Stratégie attrayante pour le contrôle de l'hyperglycémie (Tundis, et al, 2010).

Au cours des dernières années, un nombre croissant d'enquêtes ont évalué l'efficacité Possible des inhibiteurs d' $\alpha$ -amylase dans le traitement du diabète (Buisson, et al, 1987).

**2- Les bêta-amylases**

Sont présentes dans les levures, les moisissures, les bactéries et les plantes, en particulier dans les graines. Ce sont les principaux composants d'un mélange appelé diastase qui est utilisé dans l'élimination des agents d'encollage féculents des textiles et dans la conversion des grains de céréales en sucres fermentescibles. La bêta-amylase a un pH optimal de 4,0 à 5,0.

**3- Les gamma-amylases**

Sont connues pour leur efficacité à cliver certains types de liaisons glycosidiques dans des environnements acides. Le pH optimal de la gamma-amylase est de 3,0.

**4- Mode d'action Alpha-glucosidase**

D'après la nomenclature IUPAC-IUBMB, les  $\alpha$ -glucosidases (EC 3.2.1.20,  $\alpha$ -D-glucoside glucohydrolase) sont définies comme des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons  $\alpha$ -1,4-glycosidiques d'un substrat (comme chez les malto-oligosaccharides ou le glycogène par exemple) pour libérer un  $\alpha$ -D-glucose. Elles peuvent également catalyser des réactions de trans-glycosylation pour synthétiser des composés  $\alpha$ -D-glucosyles (**Kato et al, 2002 ; Ferrer et al, 2005 ; Seo et al, 2011**). L'activité de trans-glycosylation des  $\alpha$ -glucosidases est utilisée dans l'industrie pour produire des oligosaccharides et des sucres conjugués dans le but d'améliorer leurs propriétés chimiques et leurs fonctions physiologiques (**Kren & Martinkova, 2001 ; Murata & Usui, 2006**).

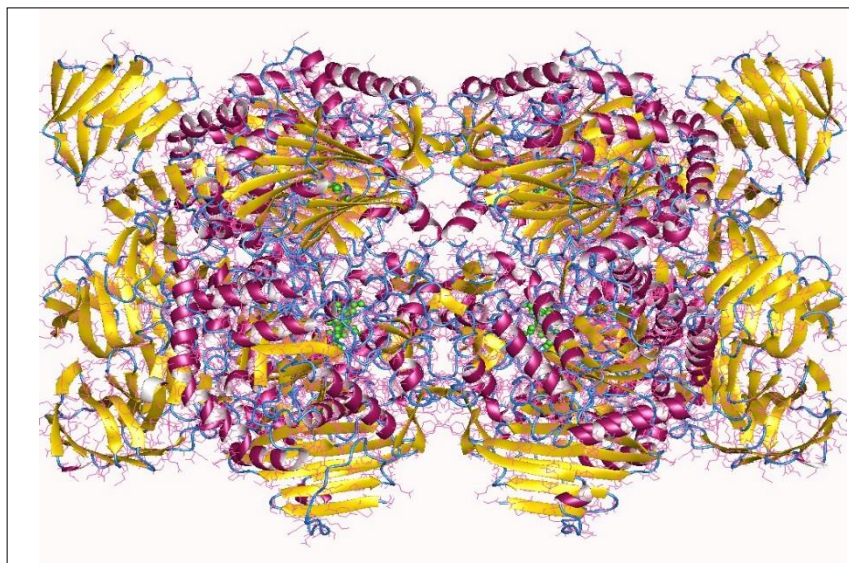
Ces enzymes sont retrouvées dans six familles différentes de glycoside hydrolases répertoriées dans la base de données CAZy : GH4, 13, 31, 63, 97 et 122 (**Comfort et al, 2008**)

**4-1- Les inhibiteurs des alpha-glucosidases**

Il existe deux principes actifs : l'acarbose (Glucor®) et le miglitol (Diastabol®), ils permettent de réduire le pic d'hyperglycémie post prandiale en inhibant les 1.3 alphas-glucosidases intestinal (enzymes permettant de dégrader les disaccharides en sucres simples) présents essentiellement dans la partie proximale de l'intestin grêle au niveau de la bordure en brosse (**Bories, 2012; Hennen, 2001; Oroudji, 2005**).

Ces deux principes actifs agissent au niveau local dans l'intestin grêle et ne sont pratiquement pas absorbés. Leur effet est modéré puisque l'HbA1c baisse en moyenne de 0,5 à 0,8 %. (**Blicklé, 2003**). Ces molécules ont un effet neutre sur le poids. Par ailleurs, elles sont responsables d'effets secondaires sur le tractus digestif (flatulences, douleurs abdominales, selles molles) dues à l'augmentation des processus de fermentation et des effets osmotiques au niveau de gros intestin. Cependant, son emploi est limité (**Grailot, et al, 2012 ;Hennen, 2001 ; Oroudji, 2005**).

#### 4-2- La Structure



**Figure 07 :** La structure d'alpha-glucosidase

([www.google.com/.wikipedia.org%2Fwiki%2FAlpha glycosidase](http://www.google.com/.wikipedia.org%2Fwiki%2FAlpha%20glycosidase))

#### I.5. Le diabète :

##### I.5.1. Histoire du diabète :

Le diabète sucré est aujourd'hui considéré comme une maladie dégénérative majeure dans le monde, menaçant d'une manière croissante, la santé publique (**Saha et al. 2012**). Il est mieux défini dans le traité indien Sushruta Samhita qui daterait de 500 ans av. J.-C. (**Bhattacharya & Sushrutha, 2009**). Le terme « diabète » vient du grec ancien et signifie passer au travers en référence à deux symptômes caractéristiques de la maladie, la soif (polydipsie) et le besoin fréquent d'uriner (polyurie). Le terme latin « mellitus » signifiant sucré comme le miel a été ajouté par le médecin anglais Thomas Willis après avoir noté le goût sucré des urines de patients diabétiques (**Willis, 1674**). Ce n'est que 275 ans avant J.-C. que le terme « diabète », signifiant « qui passe à travers », fut utilisé par le grec Démétrios d'Apnée. Cette maladie ne fut décrite et étudiée qu'au premier siècle après J.-C. (**Delluc, et al, 2003**). Jusqu'à présent, le diabète est une maladie encore mal connue étant donné son

étiologie complexe. Le diabète est devenu la 4ème ou la 5ème cause de mortalité dans la plupart des pays développés selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et contrairement aux idées reçues, sa progression est fulgurante dans les pays en voie de développement et notamment en Afrique.

### **I.5.2. Définition**

Le diabète sucré est une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie Chronique (taux de sucre dans le sang trop élevé appelé glycémie) résultant d'un défaut de La sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (**Drouind, et al ,1999**). Cette hyperglycémie chronique liée au diabète est associée à d'importantes séquelles à long terme, particulièrement à des lésions, des anomalies et une insuffisance de divers organes, surtout les reins, les yeux, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (**Saha, et al, 2012**).

### **I.5.3. Classification du diabète sucre :**

La classification du diabète proposés par l'OMS tient compte à la fois de l'étiologie de la pathologie diabétique et de la nécessité vitale ou non du traitement insulinique et il faut noter que les termes diabète insulino-dépendant et diabète non insulino-dépendant ne sont plus utilisés et sont remplacés respectivement par diabète type 1 et diabète type 2 (**Tournant et al, 1998**).

#### **I.5.3.1. Le diabète type 1 ou diabète insulino-dépendant (DID) :**

Le diabète de type 1 (DT1) est appelée diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète maigre Ou diabète juvénile puisqu'il apparait chez l'enfant ou le jeune adulte, il représente 5 à 10% de Tous les cas de diabète (**Association, 2006**) est une maladie majoritairement auto-immune (90 % des cas). Il est le résultat de la destruction des cellules des ilots de Langerhans du pancréas. Dans des cas rares, ce type de diabète est considère comme étant idiopathique, ou les causes restent encore inconnues. La destruction des cellules s conduites à une carence quasi complète de l'insuline et par conséquent, une élévation de la glycémie sanguine Lorsque cette hyperglycémie se manifeste cliniquement, près de 80 % des cellules sont ravagées.

C'est une maladie silencieuse qui débute souvent vers le jeune Age (enfance ou adolescence) et se manifeste la plupart du temps vers la vingtaine. Elle est diagnostiquée par une glycémie élevée ainsi que par la présence d'auto-anticorps (contre les ilots pancréatiques et contre l'insuline) dans la circulation sanguine (**Spinas & Lehmann, 2001**). Cette affection

se caractérise par une soif intense (polydipsie), un appétit anormalement augmenté (polyphagie) et une émission d'urine excessive (polyurie).

### **1.5.3.2. Le diabète type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) :**

Le diabète de type 2 est appelé diabète non insulino-dépendant (DNID) ou diabète gras ou Diabète de la maturité .Il touche généralement les adultes plus âgés, mais est de plus en plus souvent observé chez des enfants, des adolescents et des adultes (**Beers et al, 2006**) Chez les personnes atteintes de diabète de type 2, l'organisme est capable de produire de l'insuline, mais soit la quantité produite est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang. Bien que les raisons de l'apparition du diabète de type 2 soient encore inconnues, il existe plusieurs facteurs de risque importants, entre autres l'obésité, une alimentation peu équilibrée, l'inactivité physique, un âge avancé, des antécédents familiaux de diabète impliquant des éléments génétiques (**Vazquez et al, 2007 ; Forouzanfar et al. 2015**).

#### **1- Physiopathologie de diabète de type 2 :**

Plusieurs facteurs interviennent dans l'étiopathogénie du diabète de type 2. Il est probable qu'un individu hérite la susceptibilité de développer un diabète de type 2, et qu'un ou plusieurs facteurs environnementaux sont déterminants pour en favoriser l'expression. Clinique (**DeFronzo, et al. 1997**).

#### **2- Facteurs environnementaux :**

- **L'obésité :**

Elle augmente considérablement le risque de survenue d'un diabète de type 2. Particulièrement lorsqu'il s'agit d'une obésité androïde (**Raverot, 2005**).

- **Sédentarité :**

L'inactivité physique est source d'insulino-résistance. Des études ont montré que l'augmentation modérée de l'activité physique (30 à 45 minutes de marche par jour) dans un groupe à risque prévenait ou retardait l'apparition d'un diabète de type 2 (**Raverot, 2005**).

- **Malnutrition foetale :**

Des études ont montré que le risque de diabète de type 2 est plus important chez les enfants dont le poids de naissance est petit.

- **Le régime alimentaire :**

Une alimentation riche en certains types de lipides défavorise la sensibilité à l'insuline.

- **Autres facteurs :**

La prévalence augmente avec l'âge, du fait de l'augmentation de la masse grasse et de l'insulinorésistance (**Raverot, 2005**) et selon certains auteurs le tabagisme est considéré comme un facteur déclencheur de cette maladie (**Magis et al, 2002**).

### **I.5.3.3. Le diabète gestationnel**

Le diabète gestationnel, aussi appelé le diabète de grossesse, se définit par une intolérance au glucose qui se développe ou qui est dépistée au cours de la grossesse (**Centres for Disease Control and Prevention, 2011**). Le diabète gestationnel apparaît généralement à un stade plus avancé de la grossesse, souvent vers le 2ème ou 3ème trimestre. Ce trouble survient parce que l'action de l'insuline est inhibée, probablement par les hormones de croissance et placentaires ; ce qui provoquerait une insensibilité à l'insuline (également appelée insulino-résistance). Comme le diabète gestationnel apparaît généralement plus tard au cours de la grossesse, le fœtus est déjà bien formé, même si son développement n'est pas terminé (**Hunt & Schuller, 2007 ; ASPC, 2011**). Le risque immédiat pour le bébé n'est donc pas aussi important que pour les enfants dont la mère était atteinte de diabète de type 1 ou de type 2 avant la grossesse. Néanmoins, un diabète gestationnel non maîtrisé peut avoir des conséquences graves à la fois pour la mère et le bébé (**Hunt & Schuller, 2007 ; Ali & Dornhorst, 2011 ; Negrato & Gomes, 2013**).

### **I.5.3.4. Autre type du diabète :**

- **Le LADA (latent auto-immune diabetes in adults) :**

Il apparaît généralement chez les adultes de 30 à 50 ans, et comme le diabète type 1, il comporte une composante auto-immune, présence d'auto anticorps dans le sang. Il se caractérise par la destruction des cellules bêta.

- **Le MODY (maturity on set diabetes of the young):**

Est une forme de diabète rare qui se déclare généralement avant l'âge de 20 ans et chez les individus de poids normale, bien que ces caractéristiques correspondent habituellement au diabète type 1 ce dernier ressemble d'avantage au diabète type 2, il est en rapport avec une anomalie de régulation de la sécrétion d'insuline (**Fehaima, 2017**).

➤ **Le diabète secondaire à la prise des médicaments :**

Certains traitements des maladies peuvent faire apparaître le diabète de façon Temporaire ou permanente,

➤ **Diabète secondaire a certaines maladies :**

- Les maladies pancréatiques (fibrose kystique, cancer du pancréas, pancréatite, Pancréatectomie).
- Maladie endocriniennes (syndrome de cushing, acromégalie hyperthyroïdie).
- Syndrome génétique (syndrome de down, ataxie de Friedrich, syndrome de Turner).
- Infection virales (rubéole congénitale, cytomegalovirus)

**I.5.4. Critères de diagnostic :**

**I.5.4.1. Glycémie à jeun :**

La glycémie est dosée presque uniquement par la méthode spécifique au glucose Oxydase qui est la plus précise et remplace les autres méthodes. Normalement les valeurs de la Glycémie plasmatique à jeun sont comprises entre 0,80 g/L (3.85 mMol/L) et 1,20 g/L (6,6 mMol/L). Après les repas, les valeurs ne dépassent pas 1,60 g/L (8,8 mMol/L) quels que soient L'horaire du dosage et la nature du repas (**Perlemuter et al, 2003**).

**I.5.4.2. Glycémie postprandiale ou l'HGPO :**

L'Hyperglycémie Provoquée par Voie Orale (HGPO) consiste en un dosage de la glycémie au Temps zéro puis toutes les 30 minutes pendant 2 heures chez un sujet au repos ayant ingéré 75 g de glucose (**Perlemuter et al, 2003**).

Le test de l'HGPO doit être fait en dehors d'une prise médicamenteuse hyperglycémiant, D'une affection aigue ou d'un stress majeur. La détermination d'une l'hyperglycémie à jeun Diabétique et une glycémie à la 2ème heure de l'HGPO, supérieure ou égale à 2g/l sont satisfaisantes pour établir un diagnostic sur le plan épidémiologique. En pratique clinique, on a rarement besoin de recourir à l'HGPO pour poser le diagnostic de diabète (**Drouin et al, 1999**).

**I.5.4.3. Hémoglobine glyquée HB1C :**

L'hémoglobine se trouve dans les globules rouges du sang. Elle a la particularité de capter Une partie du sucre présent dans le sang. La part de l'hémoglobine qui capte le sucre est appelée « Hémoglobine glyquée » (Mario and Lasnier, 2006).

La glycémie varie tout au long de la journée en fonction de l'apport alimentaire, de l'activité Physique réalisée et la prise des médicaments. L'hémoglobine glyquée, en revanche, n'est pas Influencée par ces facteurs. Elle est le reflet du taux moyen de sucre dans le sang (glycémie) sur une durée d'environ 3 mois, ce qui correspond à la durée de vie moyenne d'un globule rouge, c'est l'indicateur clé de l'équilibre du diabète. Elles s'expriment en pourcentage, plus les glycémies ont été élevées pendant cette période, plus le taux d'hémoglobine glyquée n'est élevé (Mario and Lasnier, 2006).

**Tableau 02 :** suivant donne les valeurs normales de la glycémie

<u>Valeurs normales ou cibles chez les personnes non diabétiques</u>	
<b>A jeun</b>	Entre 70 et 99 mg/dL
<b>Après les repas</b>	Entre 70 et 140 mg/dL
<u>Valeurs normales ou cibles chez les personnes diabétiques</u>	
<b>A jeun</b>	Entre 70 et 130 mg/dL
<b>1 à 2 heures après le début du repas</b>	Au-dessous de 180 mg/dl

### **I.5.5. Traitements du diabète**

Les traitements du diabète sont de deux types, les non médicamenteux (traitement hygienodietetiques) et les medicamenteux (antidiabetiques oraux (ADO) et insulinothérapie).

#### **I.5.5.1. Traitements non médicamenteux**

La réduction pondérale et la pratique régulière de l'activité physique (adaptée et contrôlée) ont Un effet favorable sur le contrôle de la glycémie, ce dernier ayant un effet favorable sur L'insulinoresistance. Des mesures hygiéno-dietetiques doivent être mises en œuvre des que l'HbAc est supérieure à 6. Une alimentation équilibrée est conseillée, avec une diminution des apports en graisses saturées, des sucres et de l'alcool. Une activité physique adaptée aux possibilités de chaque patient est recommandée chez le diabétique de type 2 (DT2) car elle contribue à une amélioration de la situation métabolique (insulinosensibilité,

niveau glycémique, pression artérielle, profil lipidique etc...) et pourrait être utile pour le contrôle du poids (**Anaes, 2000**).

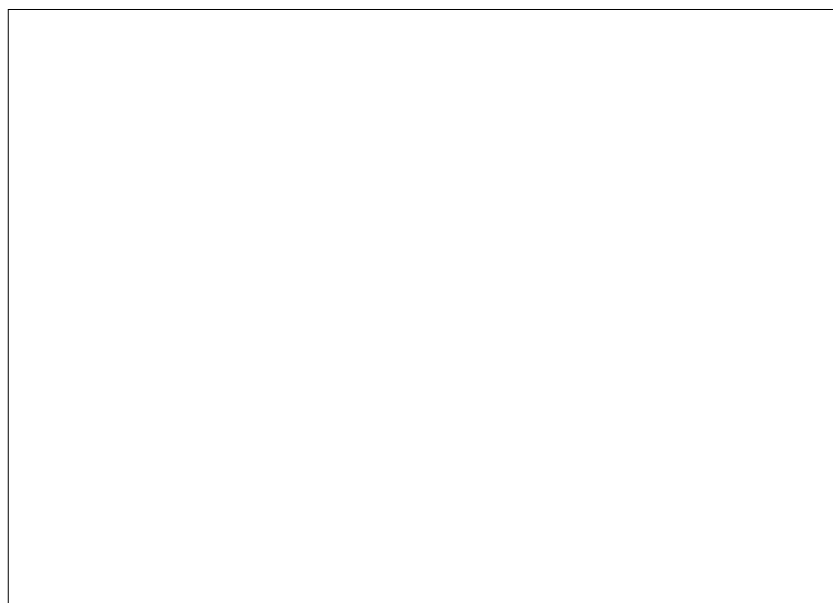
### **I.5.5.2. Traitements médicamenteux**

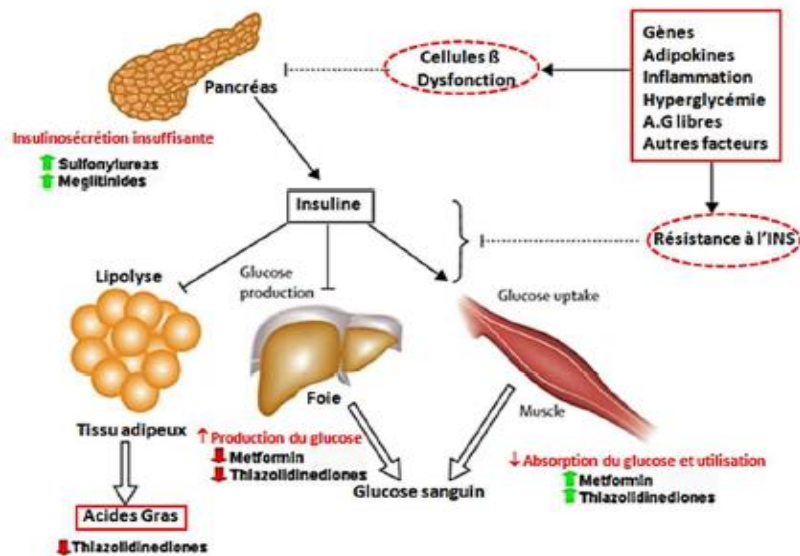
#### **5- Antidiabétiques oraux (ADO)**

En général, les ADO sont prescrits après un échec des règles hygiéno-dietétiques durant 3 à 6 mois. Il existe 5 classes d'ADO, le traitement étant adapté à chaque patient diabétique

- Les biguanides (*metformine*) : ils réduisent l'insulinorésistance en favorisant l'action de l'insuline sur les tissus-cibles, en inhibant la néoglucogénèse hépatique et en diminuant l'absorption intestinale de glucose. Ils sont indiqués chez des patients en surcharge pondérale et sont préconisés chez des patients sans surcharge pondérale ou en association avec un autre ADO.
- Les sulfamides hypoglycémisants (*carbutamide, glipizide, glibenclamide, gliclazide, glibornuride, glimepiride*) : ils stimulent la sécrétion d'insuline.
- Les glitazones (*pioglitazone et rosiglitazone*) : ce sont des molécules qui améliorent la sensibilité à l'insuline et la fonction cellulaire, en diminuant l'insulinorésistance par action sur les récepteurs PPAR $\gamma$ .
- Les inhibiteurs des alpha-glucosidases (*acarbose, miglitol*) : ralentissent l'absorption digestive des glucides complexes.
- Les glinides (*repaglinide*) : ce sont des insulino-sécréteurs qui stimulent le pic précoce d'insulino-sécrétion

Les ADO sont administrés majoritairement à des patients diabétiques de type 2, mais certains ADO sont administrés chez des patients diabétiques de type 1, comme les biguanides et les inhibiteurs des alpha-glucosidase, pour retarder l'absorption des glucides par l'intestin.





**Figure 08:** Physiopathologie du diabète de type 2 (Negrato & Gomes, 2013).

## 6- Acarbose

L'acarbose est le premier inhibiteur de l' $\alpha$ -glucosidase utilisé en thérapeutique pour régulariser la digestion et l'absorption des glucides.

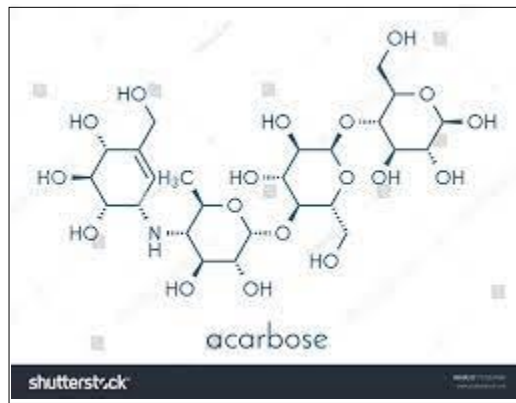
### 2.1 Structure-nomenclature

L'acarbose est le : *O*-4,6-didésoxy-*N*-[(1*S*, 4*R*, 5*S*, 6*S*)-4, 5,6-trihydroxy-3(Hydroxyméthyl)-2-cyclohexén-1-ylamino]- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\alpha$ -D-glucopyranosyl  
1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranose.

- L'acarbose est ainsi constitué d'un cyclitol en C7.
- Renfermant une double liaison éthylénique.
- Avec trois hydroxyles en 4, 5 et 6.
- Une fonction alcool primaire en position allylique sur le carbone 3.

Ce cyclitol est relié par son carbone 1 à l'azote d'un amino-sucré : le 4,6-didésoxy-4-aminoglucose.

L'ensemble cyclitol et viosamine est appelé : acarviosine, Acarviosine est liée par son C-1 hémiacétalique au C-4 d'un maltose.



**Figure 09** : La Structure de l'acarbose

([https://www.google.com/search?q=acarbose&rlz=1C1GGRV\\_frDZ902DZ902&sxsrf](https://www.google.com/search?q=acarbose&rlz=1C1GGRV_frDZ902DZ902&sxsrf))

*Chapitre II*  
*Chimie de ferrocène et*  
*des dérivés*  
*ferrocéniques étudiés*



## **I- Généralités sur les ferrocènes**

### **1. Les métallocènes**

Les métallocènes sont des complexes cyclopentadiényles de formule générale  $Cp_2M$ : deux anions cyclopentadiényles s'associent à un métal de transition (bloc *d*) central dans son état d'oxydation II. Les deux anions cyclopentadiényles sont parallèles avec des longueurs et des forces de liaisons égales. Ces complexes possèdent une structure sandwich. Le plus connu est le ferrocène dont le nom de « métallocène » en est dérivé. ( **Chavain, 2008**).

### **2. Histoire**

La découverte du ferrocène pour la première fois accidentellement en 1951. En 1951, Pauson et Kealy obtinrent une poudre orangée, d'une remarquable stabilité au lieu du fulvalène désiré, Puis, grâce aux résultats d'analyses aux rayons X, Fischer proposa en 1952 une structure en double cône, alors que Wilkinson et Woodward proposèrent la structure « sandwich ».

Ces nouveaux résultats générèrent un engouement sans précédent pour la chimie des métaux de transition. En 1973, Fischer et Wilkinson reçurent le prix Nobe pour leurs travaux réalisés indépendamment sur les composés organométalliques.

### **3. Définition**

Le ferrocène est un composé organométallique de formule  $Fe(C_5H_5)_2$ . Il se présente sous forme d'un solide orange avec une odeur caractéristique (**Cyril K., 2010**). Ils sont aussi appelés composés sandwich sa structure est d'une stabilité due au caractère aromatique du cyclopentadiényle. (**Zerari, A., 2013**).

Le ferrocène fait partie de la famille des métallocènes .Il est composé de deux cycles pentadiényle entourant un centre métallique. La croissance rapide de chimie organométallique est souvent attribuée à l'excitation résultant de la découverte du ferrocène et de ses nombreux analogues.

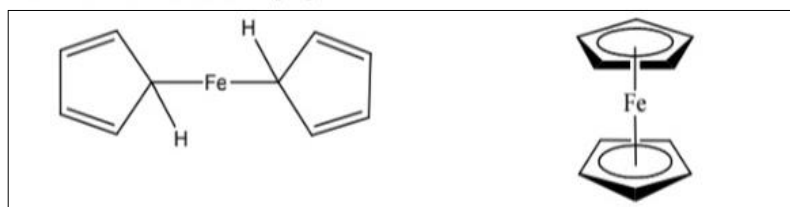


**Figure 10:** Ferrocène sous forme de poudre

#### 4. La chimie de ferrocène

Le chimiste anglais Geoffrey Wilkinson et le physicien allemand Ernst Fischer, qui ont joué un rôle essentiel dans la correction de la structure de ferrocène proposée par Kealy et Pauson. À la place, ils obtiendront une poudre légèrement orangée, d'une "remarquable stabilité" (LOWNJ, 1995). Cette stabilité fut accordée au caractère aromatique du cyclopentadiényle mais la structure "en sandwich" ne fut pas découverte à cet instant. La structure correcte du ferrocène a été élucidée une année après sa découverte par Geoffrey Wilkinson et Robert Burns Woodward (Baguyel, 1991). En effet, la détermination de sa structure sandwich a été faite par Wilkinson en se basant sur sa réactivité Woodward a confirmé le caractère aromatique du composé en effectuant des réactions de substitution électrophiles aromatiques, telles que l'acylation de Friedel-Craft avec du trichlorure d'aluminium, sur le composé. (Werner, 2012) (Görmen, 2010). Indépendamment, Ernst Otto Fischer arriva à la même conclusion et commença à synthétiser d'autres métallocènes, comme le nickelocène et le cobaltocène (Khaled, 2014).

Les deux anneaux cyclopentadiényle (Cp) de ferrocène peuvent être orientés dans deux extrêmes de conformation éclipsée (D<sub>5h</sub>) ou décalée (D<sub>5d</sub>). L'énergie de rotation autour de l'axe Fe-Cp est très petite (~ 4 kJmol<sup>-1</sup>) et les structures à l'état fondamental du ferrocène peuvent présenter l'une ou l'autre de ces conformations (Ron, 2001). Cependant, la structure du ferrocène met en jeu un nouveau type de liaison totalement inconnu en chimie organique classique. C'est l'avènement d'une nouvelle ère de la chimie organométallique et le développement de la chimie moléculaire des métaux de transitions (Laszlo, et Hoffmann, 2000) (Chem, 2011).



**Figure 11** : La structure proposée par Pauson et Kealy 1951 à gauche et la structure corrigée par Wilkinson et Fischer à droite.

## 5. Liaisons et structures électroniques du ferrocène

L'atome de fer dans le ferrocène est à l'état d'oxydation +2. Chaque cycle pentadiényle est donc chargé une fois négativement, amenant le nombre d'électrons  $\pi$  à six sur chaque cycle. Ils sont donc aromatiques. Ces douze électrons - six pour chaque cycle - forment des liaisons covalentes avec le métal. Ajoutés aux six électrons de la couche  $d$  du fer, le complexe est à la règle des 18 électrons. La distance des liaisons C-C des cycles est de 1,40 Å. Les liaisons Fer-carbone font 2,04 Å. La diffraction par rayons X et la diffraction électronique en phase gazeuse indiquent que la conformation la plus stable est celle dans laquelle les deux cycles sont pratiquement éclipés (Cyril, 2010).

## 6. Synthèse de ferrocène

L'acidité du cyclopentadiène est suffisante pour réagir avec l'hydroxyde de sodium dans le DMSO et produire l'anion cyclopentadiényle. Le DMSO est un solvant dipolaire aprotique exaltant la basicité de l'ion  $\text{OH}^-$  en solvatant très efficacement le contre-ion  $\text{Na}^+$ .

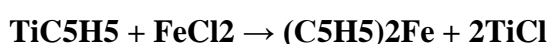
Une amine suffisamment basique comme le diéthylamine peut être utilisée pour former l'ion cyclopentadiényle à partir du cyclopentadiène (Khalef, 2012).

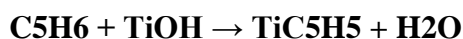
### 6-1 Réaction du cyclopentadiène avec le chlorure ferreux

La réaction directe du cyclopentadiène avec le chlorure ferreux en présence de diéthylamine, peut être adoptée pour synthétiser l'ion cyclopentadiényle à partir de cyclopentadiène, et même une diamine peut jouer le rôle d'un accepteur de HCl (Bechki, 2012).

### 6-2 Réaction du cyclopentadiénylthallium avec le chlorure ferreux

Le cyclopentadiénylthallium peut être utilisé également comme un produit de départ pour la préparation du ferrocène (Mahmoudi, & Nemesi, 2009).





### 6-3 Réaction du réactif de Grignard du cyclopentadiène avec le chlorure ferreux

Le réactif de Grignard du cyclopentadiène, intermédiaire facilement obtenu, a été utilisé par Kealy et Pauson pour leur préparation historique du ferrocène. Cette technique a été développée par Pauson en 1955.



Le succès de cette méthode est due à la solubilité du chlorure ferrique dans les solvants organiques. Aucune réaction ne se produit si l'halogénure ferreux est insoluble dans le solvant, mais des rendements élevés de ferrocène sont obtenus si l'ion ferreux est "solubilisé" par chélation, comme dans le complexe d'acétylacétone-dipyridine. Dans la réaction de Grignard, un excès du réactif est nécessaire (Bechki, 2012).

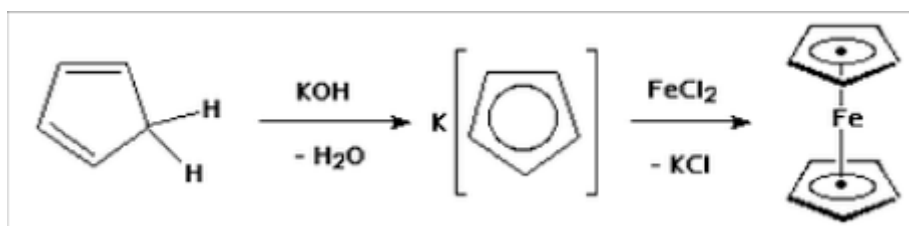


Figure 12 : La Synthèse du ferrocène.

## 7. Propriétés du ferrocène :

### 7.1. Propriétés physico-chimiques

Le ferrocène est un solide cristalin orange de masse molaire 186,04 g.mole<sup>-1</sup>, très stable à l'air avec un point de fusion de 173 °C et point d'ébullition 249°C. Il possède un moment dipolaire nul, ce qui explique sa solubilité dans une majorité de solvants organiques (Alavi, 2013 ; Khalef, 2014) (éthanol, dichlorométhane, cyclohexane), sa solubilité dans l'eau est d'environ 0,1 mg/ml à 21°C, 100 mg/ml dans le DMSO à 19.5°C. Il est stable à haute température, jusqu'à 400°C (Henni, 2017).

A température ambiante, le ferrocène est le plus stable des métallocènes, d'une odeur de camphre. Les études ont montré qu'il est sensible à l'exposition prolongée à l'air et à la lumière. Le ferrocène forme avec l'acide nitrique dilué et l'acide sulfurique concentré des solutions rouges foncées avec une fluorescence bleue (Khalef, 2014).

### 7.2. Propriétés aromatiques

D'après la règle de Hückel, les espèces carbocycliques possédant  $(4n + 2)$  électrons  $\pi$  dans un système délocalisé, doivent présenter des propriétés aromatiques.

Une caractéristique d'un système aromatique dérivé des espèces carboxyliques de  $C_5H_5$  est que le noyau doit être plan. Cette planéité est conservée dans les complexes de métaux de transition dérivés de l'espèce  $C_5H_5$ , où tous les atomes de carbone annulaires participent à la liaison avec le métal de transition. On doit donc s'attendre à ce que dans leurs complexes, les ligands continuent à présenter les propriétés chimiques caractéristiques des composés aromatiques, en particulier, la propriété de subir, en présence d'électrophiles, des réactions de substitution plutôt que des réactions d'addition.

(Woodward, et col.1958) ont remarqué que le ferrocène n'est pas hydrogéné dans les conditions normales et qu'il ne subit pas la réaction de Diels-Alder, qui est caractéristique des diènes conjugués. Il peut, cependant, être facilement acétylé dans les conditions de Fridel et Crafts. Ceci révèle les propriétés aromatiques du cycle  $\pi$ -cyclopentadiényle. (Lanez, 2012). Le ferrocène possède une réactivité plus grande qu'un composé aromatique Ordinaire. C'est pourquoi, on le qualifie d'aromatique activé.

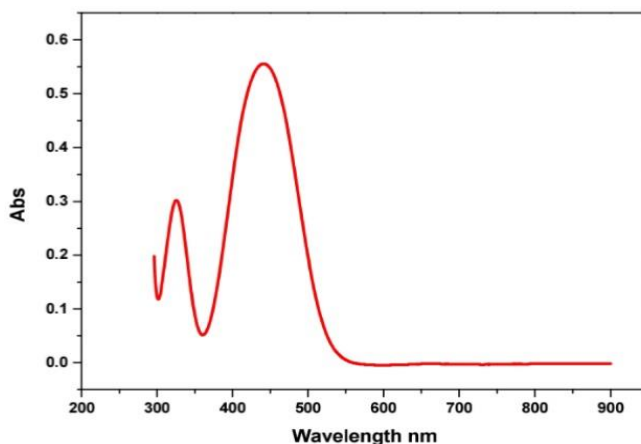
- **Stabilité**

La stabilité cinétique des composés organométalliques peut être associée à la Présence d'une couche électronique complète, souvent de symétrie essentiellement sphérique, autour de l'atome de métal. Dans les métaux de transitions, le concept de la couche extérieure complète demeure, mais peut s'appliquer de différentes manières la plus classique de celle-ci étant lorsque la couche complète comporte 18 électrons c'est-à-dire  $ns^2$ ,  $np^6$  et  $(n-1) d_{10}$ . Naturellement, une faible densité en électrons devra être comblée si l'on doit former des composés organométalliques thermiquement stables.

Généralement, les composés organométalliques sont thermodynamiquement Instables vis-à-vis de l'oxydation, certains sont aussi cinétiquement instables à l'oxydation à température ambiante. Les complexes «sandwichs» bis- $\pi$ -cyclopentadiényle sont assez stables Thermiquement et plusieurs fondent par décompositions vers  $173\text{ }^\circ\text{C}$ . Ils sont stables vis-à-vis de l'hydrolyse, cependant leur stabilité vis-à-vis de l'oxydation varie fortement avec la nature du métal. A la température ambiante, le ferrocène ne réagit pas avec l'oxygène. (Lanez, 2012).

### 7.3. Propriétés spectroscopiques et électrochimique

D'après le spectre d'absorption UV-Vis du ferrocène mentionné sur la figure 13, montre qu'il y a deux pics :  $\lambda_{\text{max1}} = 441\text{nm}$  et  $\lambda_{\text{max2}} = 324\text{nm}$



**Figure 13** : Spectre d'absorption Uv-Vis du ferrocène dissout dans le méthanol  
(Henni, 2017)

La spectroscopie infrarouge du ferrocène est relativement simple à cause de sa structure symétrique. Il présente une bande d'absorption à  $3075\text{ cm}^{-1}$  équivalente à l'élongation de la liaison C-H aromatique. Il existe uniquement quatre bandes apparentes : deux à  $811$  et  $1002\text{ cm}^{-1}$  sont équivalentes à la vibration de flexion de C-H, et une à  $1108\text{ cm}^{-1}$  équivalente à la vibration antisymétrique du cycle de pentadiényle. La bande d'absorption à  $1411\text{ cm}^{-1}$  est équivalente à la vibration d'éloignement antisymétrique de C-C du cyclopentadiényle non substitué. (Gulam, F. M., Manohar, V. L. 2014) (Gasser, G., Ott, I., Metzler-Nolte, N. 2011)

Le spectre de résonance nucléaire magnétique d'hydrogène et  $^1\text{H}$  de carbone  $^{13}\text{C}$  du Ferrocène.

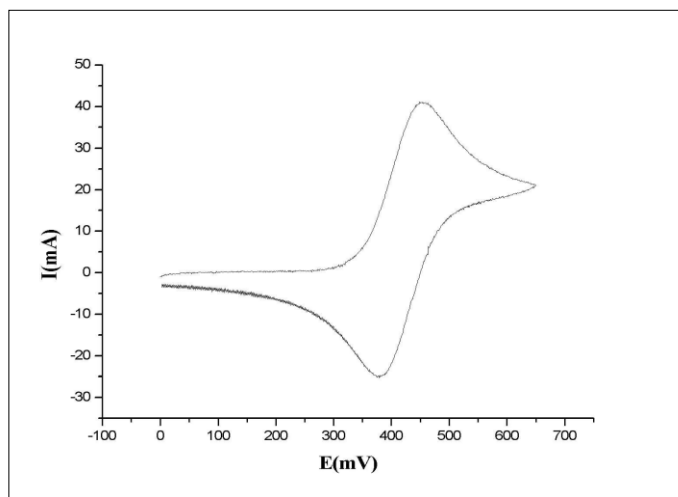
**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\text{CDCl}_3$  7,26;**  $\sigma = 4.26(\text{s}, 5\text{H}, \text{C}_4)$ ,  $4.29(\text{s}, 2\text{H}, \text{C}_2 \text{ ou } \text{C}_3)$ ,  $4.56(\text{s}, 2\text{H}, \text{C}_3 \text{ ou } \text{C}_2)$ .

**RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\text{CDCl}_3$  77.16;**  $\sigma = 68.03 (5\text{C}, \text{C}_4)$ ,  $76.73 (2\text{C}, \text{C}_3 \text{ ou } \text{C}_2)$ ,  $77.58 (2\text{C}, \text{C}_2 \text{ ou } \text{C}_3)$ .

Propriétés Electrochimiques : Beaucoup d'études et des analyses par des méthodes électrochimiques ont été effectuées sur les propriétés oxydo-réductrices de ferrocène. D'une manière générale, le comportement cathodique habituel de ferrocène en milieux organiques

tel que le dichlorométhane, l'acétonitrile et le DMF peut être décrit par une réduction réversible à un électron, conduisant au ion ferrocérium (Khelef, 2014).

La réversibilité de la réaction d'oxydoréduction a été démontrée par voltamétrie cyclique, les paramètres électrochimiques tirés de voltammogramme de ferrocène montrent que le processus d'oxydoréduction se fait d'une façon rapide, réversible et mono électronique (Khelef, 2014).



**Figure 14 :** Voltammogramme de ferrocène enregistré sur une électrode de platine dans l'acétonitrile 10<sup>-3</sup> M en présence de tétrabutylammonium perchlorate 10<sup>-1</sup> M à V =100 mV/s.

Les valeurs des paramètres électrochimiques tirées de voltammogramme de la figure 14 sont regroupées dans le tableau 01. Ces valeurs renseignent sur les critères de rapidité et de réversibilité (Khelef, 2014).

**Tableau 03 :** Valeurs caractéristiques des paramètres électrochimiques de ferrocène (Khelef, 2014).

<b>E<sub>pa</sub></b> <b>(mV)</b>	<b>E<sub>pc</sub></b> <b>(mV)</b>	<b>I<sub>pa</sub></b> <b>(μA/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>I<sub>pc</sub></b> <b>(μA/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>E<sup>1/2</sup></b> <b>(mV)</b>	<b>ΔE<sub>p</sub></b> <b>(mV)</b>
<b>439</b>	<b>362</b>	<b>16.9</b>	<b>-16.69</b>	<b>380</b>	<b>77</b>

#### 7.4. Quelques applications et utilisations du ferrocène et ses dérivés

Il peut être utilisé comme un facteur de protection dans le polyéthylène.

- ❖ **La protection** : Quelques dérivés du ferrocène peuvent être utilisés dans la protection des fines couches des pôles photo électrochimiques.
- ❖ **La polymérisation** : L'ajout du ferrocène fixe la polymérisation de la matière cellulosique et lui donne une certaine rigidité, contre la chaleur et l'air.
- ❖ **Insecticides** : Certaines dérivés du ferrocène, sont utilisés comme insecticides.
- ❖ **l'amélioration de la stabilité thermique** : Le ferrocène est utilisé dans l'amélioration de la stabilité thermique, du plastique et du caoutchouc.
- ❖ **La catalyse**
- ❖ **L'application biologique et pharmaceutique** : (Fabrication des médicaments telle que : La pénicilline, céphalosporine, et réfamycines)
- ❖ **Lutte contre certaines bactéries (Bechki, 2012).**
- ❖ **Effet anti-tumoral** : Le ferrocène a un effet anti-tumoral chez des souris portant des métastases pulmonaires établies de mélanome B-16, l'effet anti-tumoral maximal a été atteint à des doses de 0,05 à 0,2 mg / kg et ils ont constaté que des doses inférieures ou supérieures ne sont pas efficaces (Görmen, 2010). (Boudebia, & Boutera, 2017)

Le ferrocène est utilisé, comme matière à ajouter au carburant, des puissants réacteurs puisque elle permet aux propriétés d'oxydation, d'augmenter l'énergie de la réaction, thermique ce qui donne au réacteurs une énergie supplémentaire de propulsion équivalent à 40% ,Comme, il peut être (le ferrocène) associé dans différents types de combustion, étant donné qu'il joue un rôle important dans la réduction de la fumée, le contrôle de la pollution et l'allongement de la durée de vie des réacteurs de propulsion. (Zelnkova, T.N, Pashenko, T.E.1978)

- Il peut être utilisé comme un facteur de protection dans le polyéthylène (Pannell, K.H.Roezll, J.1988).
- Quelques dérivés du ferrocène peuvent être utilisés dans la protection des fines couches des pôles photoélectrochimiques. (Fisther, A.B, Kinney, J.B, Staley, R.H. Zrighion M.S, J.Am, Chem.Soc, 1990)
- L'ajout du ferrocène fixe la polymérisation de la matière cellulosique et lui donne une certaine rigidité, contre la chaleur et l'air. (Pohishachuk. Volf. Ausr. Pat, 1980)
- Certains dérivés du ferrocène sont utilisés comme insecticides. (Crabtree, Angew chem, 1993)

- Le ferrocène est utilisé dans l'amélioration de la stabilité thermique, du plastique et du caoutchouc.
- l'application biologique et pharmaceutique (fabrication des médicaments telle que : La pénicilline, céphalosporine, et rifamycines).
- La lutte contre certaines bactéries.

## **8. Les dérivés ferrocéniques en chimie pharmaceutique**

Le Fc est très stable dans les environnements non-oxydants. Cette molécule est lipophile et facilement fonctionnalisable. Sa relative faible toxicité (1320 mg/kg par voie orale et 500 mg/kg par voie intra-péritonéale chez le rat) en fait un composé intéressant dans le développement de molécules médicinales.

### **8.1 Propriété antibactérienne**

Le Fc a été utilisé dans le remplacement de groupements fonctionnels dans des Médicaments existants. Néanmoins, les résultats sont contrastés. En effet, dans certaines molécules comme les amphétamines, l'activité de la molécule initiale a été complètement perdue.

Cependant, le spectre thérapeutique d'autres molécules, comme la pénicilline a été amélioré grâce à l'introduction du Fc. En effet, une diminution de la toxicité et une augmentation de l'activité antibactérienne sur des souches résistantes à la pénicilline de *Staphylococcus aureus* ont été observées. (Dubar, 2012).

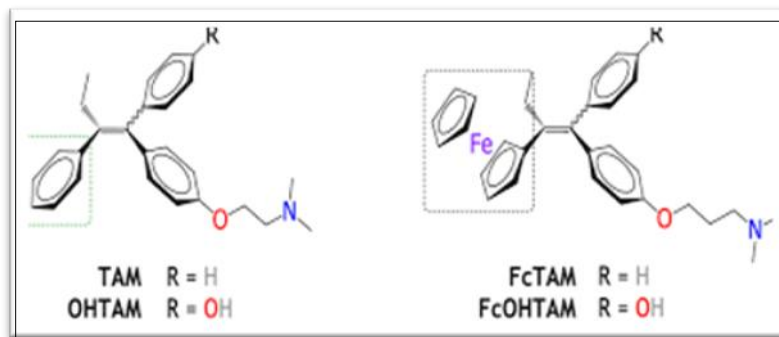
### **8.2 Propriété antiparasitaire**

La Fc est un dérivé ferrocénique de la chloroquine ; cette dernière est un Antipaludique découvert dans les années 1930 qui connaît beaucoup de problèmes de Souches résistantes. La ferroquine est au contraire active sur plusieurs de ces souches, ce qui est en fait l'antipaludique numéro un de Sanofi-aventis. La ferroquine est en phase II de tests cliniques. (Delhaes, et col. 2001).

### **8.3 Propriété anticancéreuse**

Un autre exemple de molécule ferrocénique biologiquement active est le ferrocifène, dérivé ferrocénique du tamoxifène. Les métabolites actifs de ces deux molécules sont présentés. Le tamoxifène est un antagoniste de certains récepteurs à oestrogènes situés dans le sein, et à ce titre il enrayer la prolifération du cancer du sein hormono-dépendant ; la prolifération de celui-ci est rythmée par la détection d'oestrogènes par ces récepteurs. Le spectre thérapeutique du tamoxifène est limité, à l'inverse de celui de son analogue

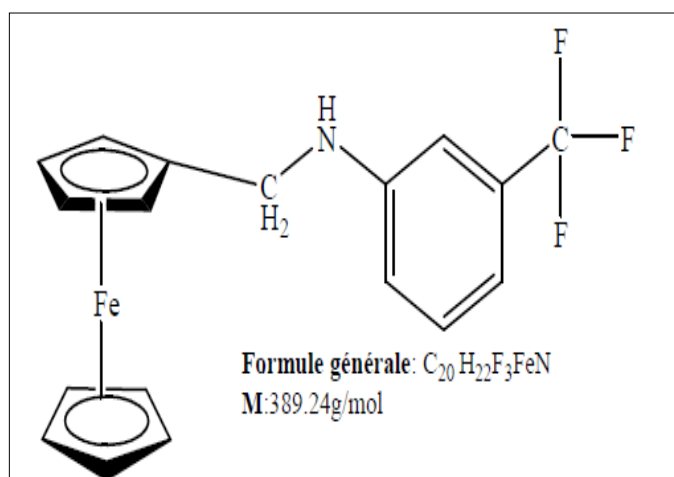
ferrocénique qui est actif sur tout type de cancer du sein. (Top, et col. 2003) .La source de l'activité de ces dérivés ferrocénique semble être les propriétés redox du ferrocène, qui permettent une oxydation intramoléculaire produisant ainsi de métabolite toxique. (Hillard, et col. 2006).



**Figure 15 :** Structures du tamoxifène (TAM), de l'hydroxytamoxifène (OHTAM), du ferrocifène (FcTAM) et de l'hydroxyferrocifène (FcOHTAM).

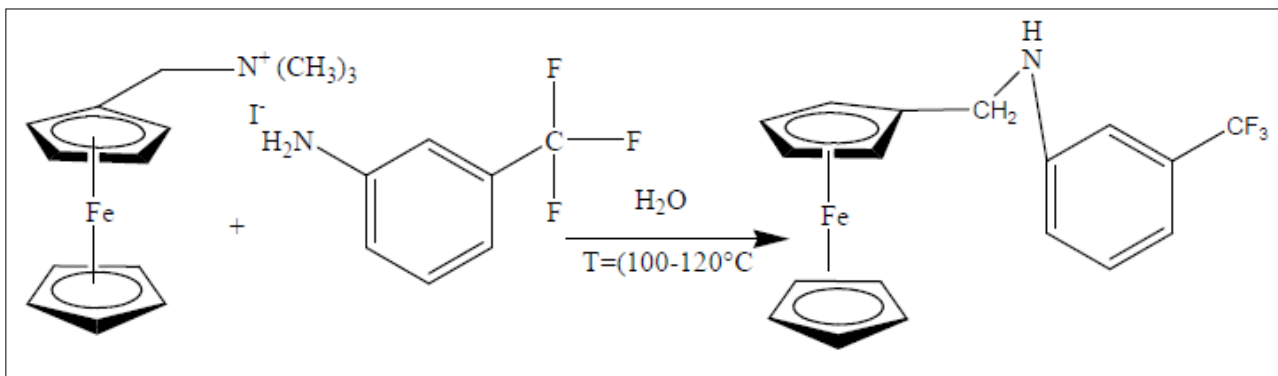
#### 8.4 Activité antioxydante

Les dérivés du ferrocène contenant des atomes d'azote sont connus pour avoir une capacité de piégeage des radicaux libres et une activité antioxydante in vitro. L'activité antioxydante des dérivés du ferrocène a d'abord été étudiée à la fin des années 1950, lorsqu'Acton et Silverstein ont rapporté la synthèse et l'évaluation antioxydante d'un certain nombre de ferrocénecarboxyamides N-substitués et de dérivés de ferrocénylamine. Zhang et Liu ont également étudié l'activité antioxydante des ferrocénylhydrazones et ont découvert qu'ils présentaient une activité antioxydante intéressante. Depuis lors, un grand nombre de composés ferrocéniques ont été synthétisés et évalués en termes d'activités antioxydantes (Khelef, et Lanez, 2015) (Hemmami, 2017).



**Figure 16 :** Structure chimique de N-Ferrocenylmethyl N-3-trifluorométhylaniline Le dérivé N'-ferrocénylméthyl-N'-3 trifluorométhylaniline a été préparé à partir de la réaction De sel quaternaire de l'iodure de ferrocénylméthyltriméthylammonium (500 mg, 1,28 mmol) avec Le 3-trifluorométhylaniline (1 ml, 2,56 mmol) dans l'eau bidistillé a une température 110°C Durant 6h.

Selon le chemin réactionnel de synthèse illustré dans le schéma suivant :



**Figure 17 :** Chemin réactionnel de synthèse de dérivé N-ferrocenylmethyl -3-trifluoromthylaniline ((1) : Sel quaternaire, (2) : La base 3-trifluorométhylaniline et (3) : Le Dérivé ferrocénique synthétisé)

Le produit de synthèse donne une masse de 72 mg (rendement : 31,30%) de poudre solide d'une Couleur orange avec une Rf 0.888. Le composé est recristallisé à partir d'un mélange d'éthanol.

– Eau pour donner des cristaux orange avec un point de fusion de 71,7 ° C.

Le ferrocène se comporte comme la plupart des composés aromatiques, permettant la synthèse de dérivés substitués. Les propriétés semblables entre le ferrocène et le benzène ont contribué au développement de la chimie de cette molécule, et ont facilité la réalisation d'une grande variété de réactions de substitution sur le ferrocène. (Bechki, 2012).

# *Chapitre III*

## *Contexte théorique des différentes techniques expérimentales utilisées*



## **1. L'amarrage moléculaire (Docking)**

Depuis le début des années 1980, l'amarrage moléculaire est devenu la méthode la plus importante utilisée pour étudier l'interaction d'une petite molécule (ligand) avec une macromolécule (récepteur) ou plus clairement utilisée pour prédire l'affinité de liaison entre deux molécules. (ADAIKA, 2020) La première problématique de la biologie structurale est le repliement des macromolécules dans une structure tridimensionnelle biologiquement active. La compréhension de la communication moléculaire pour échanger des informations, s'activer ou s'inhiber est la seconde problématique, enjeu majeur de la biologie intégrée (Brut, 2009).

### **1.2. Principe**

Le docking est utilisé pour prédire la structure du complexe intermoléculaire résultant de l'association entre au moins deux molécules. Il permet aussi de connaître la façon dont un ligand (petite molécule) interagisse avec un récepteur (macromolécule) et de calculer l'énergie de liaison entre eux. Il permet aussi de déterminer quel ligand candidat interagira le mieux avec un récepteur cible (Asses, 2011 ; Lanez, 2016).

### **1.3. Les étapes de docking**

Le processus du docking est itératif et chaque passe de calcul s'articule en deux étapes :

#### **1.3.1. Le Docking**

Est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la molécule et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (EL Hadj, 2016 ; LANEZ, 2016).

#### **1.3.2. Le Scoring**

Est une méthode mathématiques pour le classement, utilisées pour estimer la puissance d'interaction et l'affinité de liaison entre deux molécules et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées (EL Hadj, 2016 ; LANEZ, 2016).

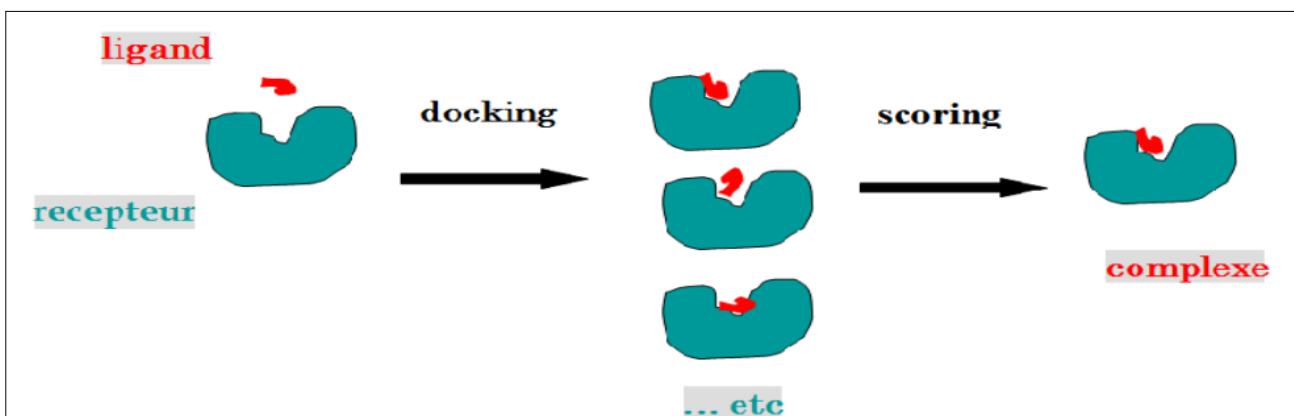


Figure 18 : Les étapes de docking moléculaire (EL Hadj, 2016).

Différentes méthodes d'étude expérimentale telle que la voltamétrie cyclique et la spectroscopie électronique permettent généralement d'étudier les interactions récepteur-ligand et de déterminer l'énergie de liaison, mais pour comprendre comment un récepteur interagisse avec un ligand il faut faire appel à des méthodes prédictives procédant par simulation, complémentaires à ces approches expérimentales (Lanez, 2016).

#### 1.4. Les différents types d'amarrage moléculaire

Il existe trois grands types de docking moléculaire. Le docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système récepteur-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Cependant, il est tout à fait concevable que les structures de récepteur et du ligand soient modifiées durant le processus de docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de docking flexible et le dernière type le docking semi-flexible. Sont employés pour construire de façon incrémentielle le ligand au sein du site actif du récepteur. L'espace des conformations du ligand est alors restreint au voisinage d'un ensemble initial d'états simplifiés (Teniou, 2011 ; Asses, 2011 ; Chaouech, 2014).

##### 1.4.1. Modélisation du potentiel énergétique

Pour calculer l'énergie libre du complexe ligand-récepteur, Autodock Tools utilise les termes d'un champ de force traditionnel auxquels sont ajoutés deux termes liés à l'entropie. L'énergie est donnée par l'Équation suivante :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{vdw}} + \Delta G_{\text{Hbond}} + \Delta G_{\text{elec}} + \Delta G_{\text{conform}} + \Delta G_{\text{tor}} + \Delta G_{\text{sol}} \text{ (Garrett, et al, 1998)}$$

$\Delta G_{\text{vdw}}$  : énergie de dispersion / répulsion des atomes,

$\Delta G_{\text{hbond}}$  : énergie des liaisons d'hydrogène,

$\Delta G_{\text{elec}}$  : énergie des interactions électrostatiques,

$\Delta G_{\text{conform}}$  : énergie de déviations à partir de géométrie covalente

$\Delta G_{\text{tor}}$  : est un terme qui traduit l'augmentation d'énergie du système due à la restriction des rotors libres du ligand et à la restriction des rotations et translations du ligand lors de la complexation au récepteur,

$\Delta G_{\text{sol}}$  : est un autre terme lié à l'entropie qui décrit les variations d'énergie du système lors de la désolvatation du ligand au moment de la complexation au récepteur (**Lanez, 2016**).

Le passage par une relation empirique de type QSAR est nécessaire pour relier la structure des complexes et l'énergie libre de liaison. Le modèle empirique utilisé dans AUTODOCK est une régression linéaire multiple des différents termes de l'équation d'énergie libre. Chaque terme est ainsi pondéré par un coefficient dérivé d'un jeu étendu de complexes récepteur-inhibiteur pour lesquels la constante d'inhibition  $K_i$  est connue. La relation entre la constante d'inhibition et l'énergie libre de liaison est donnée par l'équation suivante :

$$\Delta G = RT \ln K_i$$

Où **R**: constante des gaz parfaits (1.987 cal K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>) ; **T** : température absolue (298.15 K) (**Garrett, al, 1998**).

## 1. Spectroscopie d'absorption dans le domaine UV-Visible :

Les domaines de longueurs d'onde considérés ici sont, pour la radiation ultraviolette (UV), compris entre 190 et 400 nm et entre 400 et 800 nm pour la radiation du domaine visible (**Biemont, et Gratien, 2008**).

### 2.1 Principe de spectroscopie d'absorption dans l'UV visible :

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (environ de 13000 à 50000 cm<sup>-1</sup> soit 160 à 665 KJ.mol<sup>-1</sup>). L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons. Plus généralement, ils provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules (**Baudouin, 2012**).

## 2.2. Loi de Beer-Lambert

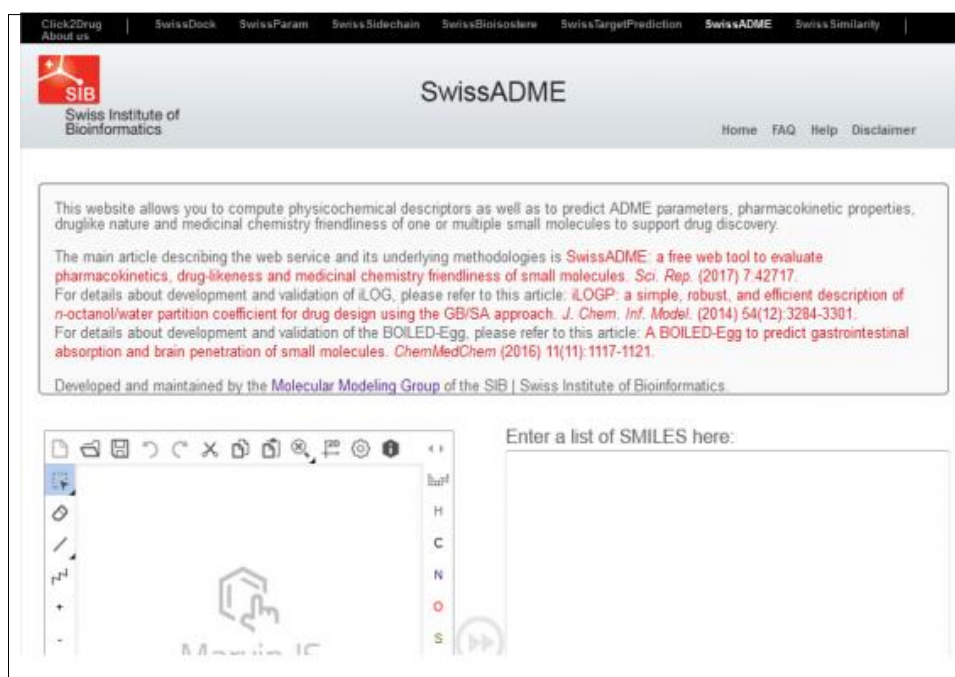
L'absorbance d'un rayonnement monochromatique est proportionnelle à la longueur du trajet d'absorption ( $\ell$ ) et à la concentration de l'espèce dans le milieu (C). On exprime générale, la concentration en mol L<sup>-1</sup> et la longueur en cm on a donc la relation :

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot \ell \cdot C$$

Avec  $\epsilon_{\lambda}$  : coefficient d'absorption (ou d'extinction) molaire du composé à la longueur d'onde  $\lambda$ . L'unité du coefficient d'adsorption molaire est : Lmol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, C'est une grandeur qui dépend de l'espèce chimique considérée, de la longueur d'onde d'analyse, du solvant et de la température (Mesplede, et Randon, 2004) (Boutiti, 2010).

### 1- SwissADME :

Les modèles bio-informatiques constituent des alternatives valables aux expériences. Ici, nous présentons le nouvel outil web SwissADME qui donne un accès gratuit à un pool de modèles prédictifs rapides mais robustes pour les propriétés physico-chimiques, la pharmacocinétique (ADME), la ressemblance avec les médicaments et la convivialité de la chimie médicinale. Une saisie et une interprétation simples et efficaces sont assurées grâce à une interface conviviale via le site Web (<http://www.swissadme.ch>). Spécialistes, mais aussi un non-expert en chiminformatique ou en chimie computationnelle peut prédire rapidement des paramètres clés pour une collection de molécules pour soutenir leurs efforts de découverte de médicaments (Daina et al, 2017).



**Figure 19:** Page d'accueil du serveur SwissADME.

## 2- Protox :

ProTox-II fournit un serveur Web gratuit pour la prévision de la toxicité *in silico* pour les toxicologues, les organismes de réglementation, les chimistes computationnels et médicaux, et tous les utilisateurs sans connexion à [http://tox.charite.de/protox\\_II](http://tox.charite.de/protox_II). Le serveur Web prend structure chimique deux-dimensionnelle en tant qu'intrant et indique le profil de toxicité possible du produit chimique pour 33 modèles avec des scores de confiance, et un tableau radar de toxicité globale avec trois composés les plus semblables ayant une toxicité aiguë connue. (Banerjee *et al*, 2018).

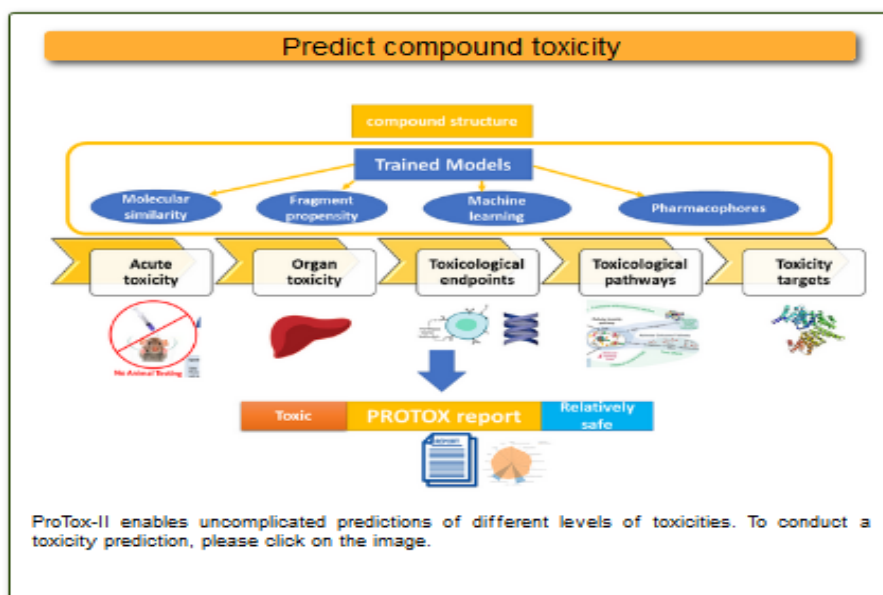


Figure 20 : Page d'accueil du serveur Protox (P.Banerjee *et al*, 2018).

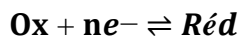
## 3. La méthode d'analyse électrochimique

### 3.1 La voltammétrie cyclique

La voltampérométrie cyclique est la technique la plus utilisée pour acquérir de l'information à propos des réactions électrochimiques. La puissance de cette technique provient du fait qu'elle permet, par exemple, d'obtenir rapidement des informations sur la thermodynamique des processus rédox et sur la cinétique des systèmes électrochimiques. Elle est basée sur un balayage linéaire aller-retour du potentiel, permettant ainsi le tracé des courbes  $i = f(E)$  pour l'oxydation et la réduction d'un composé (Bouaoud, 2014).

### 3.2 La loi de nernst

Elle s'applique pour un couple redox unique (Ox/Red) présent dans l'électrolyte et dont l'équilibre électrochimique entre les deux espèces s'écrit :



A l'équation de Nernst relie le potentiel standard ( $E^\circ$ ) du couple redox mis en jeu avec le potentiel d'équilibre de l'électrode ( $E$ ) et les activités des espèces respectives :

$$\mathbf{E_{eq} = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \left( \frac{a_{Ox}}{a_{Red}} \right)} \text{ (Chatillon, 2013)}$$

Avec :

$E^\circ$  : le potentiel standard du couple Ox/Red.

$R$  : la constante des gaz parfaits ( $R = 8,314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ ).

$F$  : constante de Faraday ( $9,65.10^4 \text{ C/mol}$ ).

$T$  : température absolue (en K).

$n$  : nombre d'électron.

$a_{Ox}$  et  $a_{Red}$  les activités des espèces Ox et Red en solution.

Si la force ionique de la solution reste inchangée au cours de l'expérience et que les composés se comportent idéalement en solution. L'équation devient :

$$\mathbf{E_{eq} = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \left( \frac{C_{Ox}}{C_{Red}} \right)}$$

$C_{Ox}$  et  $C_{Red}$  les concentrations des espèces Ox et Red en solution.

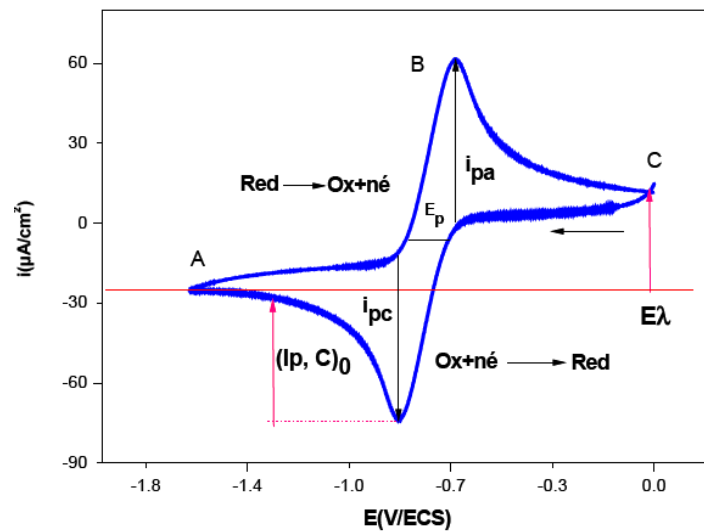
La relation de Nernst, à 25°C, s'écrit alors :

$$\mathbf{E_{eq} = E^\circ + \frac{0,059}{n} \log \left( \frac{[Ox]}{[Red]} \right)} \text{ (Madani, 2012)}$$

### 3.3 Le principe de voltammétrie cyclique

Le principe de la voltammétrie cyclique consiste à faire balayer le potentiel d'une façon cyclique : c'est-à-dire le balayage s'effectue vers les potentiels cathodiques en réalisant une réduction, puis on inverse le sens pour réaliser une oxydation (Mouats, 2010).

La détermination expérimentale de la relation entre le courant et le potentiel d'électrode se traduit par l'obtention des figures appelées voltamogrammes (Moulay, 2012).



**Figure 21** : L'allure générale de la courbe voltampérométrique et ces grandeurs Caractéristiques (**Lanez, 2016**).

$i_{pa}$ ,  $i_{pc}$  : courants de pic anodique et cathodique.

$E_{pa}$ ,  $E_{pc}$  : potentiels de pic anodique et cathodique (**Bouzi, 2011**).

Les coordonnées  $(E_p, i_p)$  du pic de voltammétrie donnent des indications sur :

- Le mécanisme de la réaction électrochimique
- La concentration des espèces

La courbe enregistrée lors d'une expérience de voltampérométrie cyclique présente l'allure d'un pic et non d'une vague. L'observation d'un maximum trouve son origine dans l'établissement d'une couche de diffusion pénétrant ensuite dans le volume de la solution. En effet, arrivée à une valeur de potentiel  $E_p$ , pour laquelle le transfert de masse est maximal, l'intensité du courant évolue selon  $t^{1/2}$  car le transfert de masse ne parvient plus à compenser la consommation de substance électroactive à la surface de l'électrode (**Moulay, 2012**).

# *Conclusion*

## Conclusion

Les études effectuées dans ce travail s'appuient sur l'utilisation d'outils biologiques et bio informatiques pour vérifier l'activité antidiabétique des FC3F.

Pour retracer le rôle de l' $\alpha$ -amylase dans la régulation enzymatique, nous proposons d'abord dans ce travail, de mener une étude *in silico* à l'aide de swissADME, qui vise à évaluer les différentes propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de druglikeness du dérivé ferrocène. Ensuite nous avons travaillé *in vitro* pour déterminer l'interaction entre le composé étudié et l'amylase et évaluer son activité inhibitrice Et enfin nous avons confirmé son efficacité biologique obtenue *in vitro* par docking moléculaire grâce à l'Autodock Tools.

Les résultats obtenus après une étude bioinformatique indiquent que le composé étudié possède de bonnes propriétés qui permettent le considérer comme un bon candidat en tant que médicament.

L'expérience *in vitro* par méthode spectroscopique et électrochimique a confirmé les perspectives bioinformatiques en montrant que le FC3F a un effet sur l'amylase, en étant capable de se lier et d'inhiber l'enzyme cible grâce à sa bonne affinité, traduite par K et  $\Delta G$ . en revanche la valeur d'IC50 montre que ce produit a une activité comparé avec l'Acarbose médicament anti diabétique.

Il a également été montré d'après la visualisation obtenue par les outils Autodock que le FC3F se lie avec l' $\alpha$ -amylase, qui forme avec elle des liaisons électrostatiques, avec le site actif de cette enzyme, ce type de liaison génère des complexes de type inhibiteur enzymatique.

Nous concluons finalement que notre dérivé a la capacité d'inhiber l'alpha AMYLASE et nous espérons que l'ensemble des résultats obtenus au cours de notre étude constituera une première étape dans la recherche de substances biologiquement actives dans le traitement du diabète.

En Perspectives, à la lumière de ces résultats, il convient de faire ce qui suit :

- l'effet de ce composé dans l'hyperglycémie.
- Les études portent sur la cinétique enzymatique pour déterminer le type d'interaction.

- Tester l'efficacité de ce composé par son interaction avec l'enzyme Alpha glucosidase.
- Faire une étude in vivo pour évaluer l'effet inhibiteur de ce composé sur l'alpha amylase chez les rats rendu diabétique.

*Références  
Bibliographiques*

## Liste des références

**Ali S. & Dornhorst A, 2011.** Diabetes in pregnancy: health risks and management. *Postgraduate Medical Journal*, 87(1028): 417-427. Doi: 10.1136/pgmj.2010.109157.

alkalophilic *Bacillus sp.* IMD 370. *Enzyme and Microbial Technology*. (17), p p 570-573.

**Anaes, 2000.** - Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. *In* Service des Recommandations et Références Professionnelles. Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé, Paris.

**ASPC, 2011.** Le diabète au Canada : Perspective de sante publique sur les faits et chiffres. Ottawa. p. 134.

**Asses, Y. 2011.** Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c Met. Thèse de doctorat. - Université Henri Poincaré – Nancy I.

**Association, 2011** «American Diabetes Association Diabetes basics : Diabetes statistics. American Diabetes».

**Association, Allen. D et Roses, 2006.** On the discovery of the genetic association of Apolipoprotein E genotypes and common late - onset Alzheimer disease.

**Baguley, B.C. 1991** DNA intercalating anti-tumour agents. *Anti-Cancer Drug Design* 6, 1-35.

**Bechki, M. K. 2012.** Etude de comportement électrochimique de 1-(ferrocenyl) ethanolet nitrophenyle ferrocenes. Mémoire de magister. Université Kasdi Marbah Ouargla.

**Beers, M.H. et Porter R.S. & Jones T.V., 2006.** - The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. Merck. p. 3000.

**Berry, D. et Paterson A, 1990.** Enzymes in food industry. *In*: Sucking C.J. (ed.), *Enzyme Chemistry impact and application*. Edition champman and hall London, 2nd edition, pp. 306 - 351.

**Bhattacharya, S.K. & Sushrutha I., 2009.** - Our proud heritage. *Indian journal of plastic surgery*, 42: 223-225.

**Biemont, É. 2008.** Spectroscopie moléculaire : Structures moléculaires et analyse spectrale, Edition De Boeck Supérieur, Pais, 428p. Binding Free Energy Function, *Journal of Computational Chemistry*, Vol. 19, No. 14, 1639-1662.

**Blicklé, J. 2003.** *Les études de prévention médicamenteuse du diabète de type 2 doivent-elles nous amener à changer nos prescriptions ?* Diabetes & Metabolism, 29(5), 547-553.

**Bories, T. 2012.** *Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'Eure.*

**Boudebia, O. et Boutera, S. 2017.** Evaluation in silico, in vitro et in vivo de l'activité biologique de dérivé N-ferrocényl-méthyltrishydroxylméthylaminométhane. Mémoire de master. Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED. 97p.

**Boutiti, A. 2010.** Étude phytochimique de l'espèce *globularia alypum*. Grade de magister. Université Mentouri Constantine., p41.

**Bouzidi, B. 2011.** Dépôt par électrodéposition et caractérisation des matériaux destinés à la fabrication de cellules photovoltaïques à base de couches minces. Mémoire magister. Université Ferhat ABBAS-Sétif 1. P15.

**Brayer, G.D. Y. Luo, S.G. 4 1995.** Withers Prot. Sci., pp. 1730-1742

**Brut, M. 2009.** Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : Les Modes Statiques. Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. P90.

**Chatillon, Y. 2013.** Méthodes électrochimiques pour la caractérisation des piles à combustible de type PEM en empilement. Thèse de doctorat. L'université de lorraine. P24.

**Chavain, N. 2008.** Thèse de doctorat, Lille 1.

**Chem, J. 2011.** Organometallic anticancer compound. *Journal of Medicinal Chemistry*; 54(1): 3–25. Comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental, occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, **386**: 2287–2323. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S01406736\(15\)00128-2](http://dx.doi.org/10.1016/S01406736(15)00128-2).

**Coolbear, T. Daniel R.M. et Morgan H.W. 1992.** The enzymes from extreme *thermophils*: bacterial sources, thermostabilities and industrial relevance. *Advanced Biochemistry and Engineering Biotechnology*. (45): 57–97.

**Crabtree, R.H. 1993.** -Transition Metal complexes of B. and .*Angew chem. Lnt. Ed...* engl, 23,789.

**Cyril, K. 2010.** Conception de matériaux dendritiques chiraux mésomorphes pour l'élaboration de commutateurs électroactifs basés sur le couple ferrocène/ferrocénium. Thèse pour l'obtention du titre de docteurs Science. Université de Neuchâtel. France.

**Daina, A. Michielin, O. et Zoete, V. 2017.** SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7, 42717.

**Dauter, Z. Dauter, M. Brzozowski, .A.M. Christensen, .S. Borchert, T.V, Beier, .L Wilson Delluc G. Delluc B. & Roques M. 2003.** - La nutrition préhistorique. *In Ellipses*. p. 223.

**Davies G.J. et K.S. 1999.** X-ray structure of Novamyl, the five-domain "maltogenic" alphaamylase from *Bacillus stearothermophilus*: maltose and acarbose complexes at 1.7Å resolution. *Biochem*. (38): 8385-8392.

**DeFronzo, R.A. Ferrannini, E. Alberti K.G.M.M., Zimmet P. & Alberti G. 2015.** – International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 volumes Set. John Wiley & Sons. p. 1228.

**Delhaes, L et col. 2001.** *Parasitol. Res*87 (3), 239-244.

**Disease Control and Prevention 2011–2014.** Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers.

**Drouin, P, blicklé, JF, Charbonelle, B, Eschwege, E, et Guillausseau, PJ. 1999.** Diagnostic et classification du diabète sucré : les nouveaux critères. *Diabètes & Métabolisme*, 25, 72-83.

**Dubar, F. 2012.** Thèse de doctorat, Lille 1.

**Eichler, H.G., Korn A., and Gasic S. 1984** .The effect of a new specific  $\alpha$ -amylase inhibitor on post-prandial glucose and insulin excursions in normal and Type 2 (non-insulindependent) diabetic patients, *Diabetologia.*; 26(4) : 278–281.

**Ekins, S, Wrighton, S. 2001.** Application of in silico approaches to predicting drug–drug interactions: A commentary. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 44 :1-5.

**EL Hadj, S. K. 2016.** Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Mémoire de master. Université de telemcen. P19-20.

**Fehaima, S. (2016-2017).** Qualité de vie et diabète [Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention du Diplôme de Docteur en médecine]. CHU Tlemcen-service de médecine interne ; Année universitaire, Tlemcen.

**Fisther, A.B, Kinney, J.B. Staley, R.H. Zrighion, M.S. J. Am, Chem. Soc, 1990** 101, 6501.

**Fogarty, W. M. ET Kelly, C. T., 1994.** Microbial Enzymes and Biotechnology *Applied Science*, London, New York. (43):71-132.

**Forouzanfar, M. Alexander L., Anderson H. & et al., 2015.** - Global, regional and national

**FRENCH, D. ENAS, N. DANIAL, M. 1975.** Chemistry and biochemistry of starch in p.309-321. MTP International review of science biochemistry of carbohydrates serie 15. Butterworth Park Press.

**Garrett, M. M., David, S.G, Robert, S. H., Ruth, H., William, E. H., Richard, K. B., Arthur, J. O. 1998.** Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical

**Gasser, G. Ott, I., Metzler-Nolte, N. 2011.** “Organometallic anticancer compounds,” *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 54, no. 1, pp. 3–25.

**Gleeson, MP. Hersey, A. Montanari, D. Overington J. 2011.** Probing the links between in vitro potency, admet and physicochemical parameters. *Nat Rev Drug Discov.* 10(3):197-208.

**Görmen, M. 2010.** Synthèse de composés organométalliques de la série du ferrocénophane et évaluation de leurs activités antiprolifératives sur les cellules du cancer du sein et de la prostate, *Cancer. Chimie Paris Tech*, 2010. Français, 244p.

**Graillet, D., Quipourt, V., Bouillet, B., Petit, J. M., & Manckoundia, P. 2012.** *Diabète de Type 2 chez le sujet âgé : quelles spécificités ?* La Revue de Médecine Interne, 33(10), 575-579.

**Gulam, F. M., Manohar, V. L. 2014.** Synthesis of ferrocène based organometallic compound and antimicrobial activity. Journal of applied chemistry. 7: 27-32. mdc.201000286.

**Hemmami, H. 2017.** Synthèse, caractérisation et évaluation in vitro de l'activité biologique et du pouvoir mutagène de quelques N-(ferrocenylmethyl) nitroaniline. Thèse de doctorat. Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED. 169p.

**Hennen, G. 2001.** *Endocrinologie*. Bruxelles : DeBoeck université.

**Henni, M. 2017.** Synthèse, caractérisation et évaluation in vitro de l'activité biologique et du pouvoir mutagène de quelques N-(ferrocenylmethyl) amino-benzonitrile. Thèse de doctorat. Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED. 185p.

**Hillard, E et col. Angew. Chem. Int. Ed. 2006.** 45. 285-290.

**Hunt, K.J. & Schuller, K.L. 2007.** - The increasing prevalence of diabetes in pregnancy. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, **34(2)**: 173-199, vii. Doi: 10.1016/j.ogc.2007.03.002.

**Ives, C. 2004** «Human beings as Chaotic Systems» Life Science Tehcnology, pp. 1-7.

**Jennifer, Le 2019.** Biodisponibilité des médicaments. Le Manuel MSD. Disponible à: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/pharmacologie-clinique/pharmacocinetique/biodisponibilit%C3%A9-des-m%C3%A9dicaments>). Consulté le : 4/9/2021 À : 1.12 am

**Kadziola, A. Abe J. Svensson, B. And Aser R. 1994.** Crystal and molecular structure of barley- amylase. J. Mol. Biol. 239:pp. 104-121.

**Kararli, T. 1989.** Gastrointestinal absorption of drugs. Critical reviews in therapeutic drug carrier systems.vol 6(1):39-86. chemaxon.com).

**Kez Amel. 2018.** Recherche d'effet inhibiteur d'extrait brut et des extraits purifiés de *Pestacia lentiscus L.* vis-à-vis l'activité de l'alpha amylase.Mémoire de master.Université d'Abou Bekr Belkaid.P.21 ,22.

**Khelef, A et Lanez, T. 2015.** In vitro assays of the antioxidant activities of ferrocène derivatives bearing amine, amide or hydrazine groups. *Der Pharma Chemica*. 7(6) :318-323.

**Khacheba, I. 2008.** Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l'alpha – Amylase. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie. Université Amar Telidji – Laghouat.

**Khelef, A. 2014.** Synthèse et étude du comportement anodique de quelques Nferrocenyl-

**Kraulis, P. J. 1991.** - MOLSCRIPT: A program to produce both detailed and schematic plots of protein structures. *Journal of Applied Crystallography*, **24(5)**: 946-950. Doi: 10.1107/s0021889891004399.

**Lanez, .T. 2012.** Thèse de doctorat, El Oued.

**Larpent-gourgaud M. et Sanglier, J. J. 1992.** Biotechnologies, principes et méthodes. Ed Doin., pp 574-581.

**Laszlo, P., et Hoffmann, R. 2000.** Ferrocène: Ironclad History or Rashomon Tale. *Angewandte chemistry*. (39) 123-124.

**Launay-Vacher V, Izzedine H, Karie S, Hulot JS, Baumelou A, Deray G. 2006.** Renal tubular drug transporters. *Nephron Physiology*. 103(3):p97-p106.

**LOWN, J. W. 1995.** Design and developement of sequence selective lexitropsin DNA minor groove binders. *Drug Development Res*. 34, 145-183.

**MacGregor, E.A., Janecek S. & Svensson B. 2001.** - Relationship of sequence and structure to Specificity in the alpha-amylase family of enzymes. *Biochimica ET Biophysica Acta*, **1546(1)** : 1-20.

**Madani, Z. 2012.** Influence des groupements hydroxyéthyl et l'iodure de méthyltriméthylammonium sur la diffusion du ferrocène et ferrocénium. Mémoire de magister. Université Kasdi Marbah Ouargla. P32-33.

**Magis, D., Geronooz, I. & Scheen, A. 2002.** Tabagisme, insulinoresistance et diabete de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 57(9).

**Mahmoudi, N et Nemsy, A. 2009.** Etude de comportement anodique de N-phényl-N-benzoylferrocénylméthylamine. Mémoire de Licence. Université Echahid Hamma Lakhdar El-oued.

**Maria, F. AND. G P. S. 2000.** Activity of wheat  $\alpha$ -amylase inhibitors towards birched  $\alpha$ -amylases and structural explanation of observed specificities. *Eur. J. Biochem.* 2 (67):66-73.

**Mario, and Lasnier .2006.** Les hardés d'interprétation du dosage de l'hémoglobine Alc. p 39-43.

**Marvin Sketch 15.8.31 (2015),** Chemaxon (<http://www.chemaxon.com>).

**Mazur, A. K. et Nakatani, H. 1993.** Multiple attack mechanism in the porcine pancreatic amylase hydrolysis of amylose and amylopectine. *Arch. Bioch. Biophysics.* Vol., 306 (1), pp 29-38.

**Mc Tighe, Kelly C.T., Doyle, E.M. et Fogarty, W.M., 1995.** The alkaline amylase of the

**McCue, P. P. and Shetty, K. 2004.** "Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro," *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, vol. 13, no. 1, pp. 101– 106.

**MERCIER C. (1985).** Les Enzymes amylolytiques P.110-140. In mouranche A.Coste C. Hydrolases et dépolymérisés. Edition Gauthier-Villars.

**Mesplede, J. Randon, J. 2004.** 100 manipulations de chimie générale et analytique .Editions Bréal p249.

**Negrato, C.A. & Gomes, M.B. 2013.** - *Historical facts of screening and diagnosing diabetes in pregnancy. Diabetology & Metabolic Syndrome*, 5(1): 22. doi: <http://10.1186/1758-5996-5-22>.

**Negrato, C.A. & Gomes, M.B. 2013.** - Historical facts of screening and diagnosing diabetes in Pregnancy. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 5(1) : 22. doi: <http://10.1186/1758-5996-5-22>.

**Nielson, J-E. Borchert, T-V et Vriend, G. 2001.** The determinant of  $\alpha$ -amylase pH-activity Profiles. *Protein Engineering.* Oxford University Press. 14 (7), pp.505-512.

**Nouadri, T. 2011.** L' $\alpha$ -amylase de *Penicillium camemberti* PL21 : Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation. Diplôme de Doctorat, Université Mentouri, Constantine, p 19.

**O'Boyle, N. M. et al. Open Babel. 2011.** An open chemical toolbox. *J. Cheminform.* 3, 33

**Octávio, L. F. Daniel, J.R., Francislete, R. M. Carlos Bloch, J.R. Carlos.** N-phenylalkanamides et N'-ferrocenyl-N'phenylalkanehydrazides et étude structurale de leurs phases cristallines, Thèse de doctorat. Université Mohamed Khider –Biskra. Algérie, 156p.

**Oroudji, M. B. 2005.** *Correlations entre les spécificités de morphologiques de la Seine-Saint-Denis et les difficultés de la mise à l'insuline en ambulatoire des diabétiques de type 2 : enquête auprès des médecins généralistes de la Seine-Saint-Denis.*, Pierre et Marie Curie.

**Panchal, C.J. 1990.** Yeats strain selection. Marcel Dekker (ed) USA, p : 189.

**Pannell, K.H. Roetzl, J.M. 1988.** *Macromolecules* 21,276 .Paris, pp.149-159.

**Perlemuter, L, Collin de l'Hortet, G. Sélam, JL. 2003.** Diabète et maladies métaboliques. 3ème édition Masson. Paris. 149-180.

**Pohishachuk, B.O. Volf, L. Aussr.Pat. ,1980.** 76386

**Raverot, G. 2005.** *Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte : Edition La Collection Hippocrate. 11-233.*

**Robb F-T., 1998.** Protein thermostability above 100 °C a key role for ionic interaction. *Proc.Nat.Sci. USA*, 95, pp.12300-12305.

**Ron, D. 2001.** Fifty years of ferrocène chemistry. *Chemical and Engineering News* .vol 79. N° 49. P 37–38. DOI: 10.1021/cen-v079n049.p037.

**Saha, S k, Haque E, Islam D, Matiar Rahman, Islam R, Parvin A, Rahman S., 2012.**

**Schomburg, D and Salzmann, M. 1991.** *Enzyme Hand book* 4. Classe 3: Hydrolases Springer-Verlag (ed). Berlin Heidelberg. Germany. P : 1-12.

**Scriban, R. 1999.** *Biotechnologie.* 5eme édition. Technique ET Documentation. Lavoisier.

**Scriban, S. 1993.** Biotechnologie 4eme Edition .Techniques et Documentation Lavoisier. Paris ; p. 225-250.

**Spinas, G.A. & Lehmann, R. 2001.** Diabete sucre : Diagnostic, classification Et pathogeneses. *CURRICULUM Forum Medical Suisse*, (20): 519-525.5

**Srinivasa, Rao M. Reddy, G. Venkateswara, Rao G and Sambasiva, Rao K. R.S. 2004.** Studies on the extraction and characterisation of thermostable  $\alpha$ -amylase from pericarp of *Borassus indica*. *African Journal of Biotechnology*. (4), pp.289-291.

**Top, S. et col. 2003.** Chem, Eur., 5223-5236.

**Tormo, M. A., Gil-Exojo, I. de Tejada, A. R. & Campillo, J. E. 2004.** Hypoglycaemic and anorexigenic activities of  $\alpha$ -amylase inhibitor from white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Wistar rats. *British journal of nutrition*, 92(05), 785-790.

**Tournant institutionnel et scandale. (octobre 1998 - mars 1999).** La démission de la Commission européenne.

**Vallier, p. bata, j. colabert, l. 1977.** Optimal conditions of alpha-amylase production by *Aspergillus oryzae* in liquid media .Ann.Microbial.128 (3):359-71.

**Vazquez, G., Duval, S. Jacobs D.R. Jr. & Silventoinen K., 2007.** - Comparison of body mass index, waist circumference, and waist/hip ratio in predicting incident diabetes: a meta-analysis. *Epidemiologic Reviews*, 29: 115-128. Doi: 10.1093/epirev/mxm008.

**Vertiani C., Maeder D-I., Yip K-S, Stilman T-J., Britten K-L., Rice D-H, Klump H. et Werner, H. 2012.** At Least 60 Years of Ferrocène: The Discovery and Rediscovery of the Sandwich Complexes. *Angewandte chemistry*. 51. 2–9. DOI: 10.1002/anie.201201598.44545.

**Whitcomb, D.C. et Lowe, M.E. 2007.** Human Intestinal Digestive Enzymes. *Digestive Diseases and Sciences*, 52, 1-17.

**Williams, JA, Hyland R, Jones BC, Smith DA, Hurst S, Goosen TC, et al. 2004.** Drug-drug interactions for UDP-glucuronosyltransferase substrates: a pharmacokinetic explanation for typically observed low exposure (AUC<sub>i</sub>/AUC) ratios. *Drug Metabolism and Disposition*. 2004 32 (11):1201-8.

**Willis, T. 1974.** - Pharmaceutice rationalis, sive, Diatriba de medicamentorum operationibus in humano corpore. [Oxford]: E. Theatro Sheldoniano, Prostant apud Robertum Scott

Bibliopolam Londinensem, M. DC. LXXIV [1674]. pp. [1]-[6] at end. Available from <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:001562974>.

**Woodward, R. B. et col. 1958.** *J. Am. Chem. Soc*80 (20), 5443–5449.

**Youmbai, S. 2021.** Etude de l'activité antidiabétique et amarrage moléculaire de quelques dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques comme nouveaux inhibiteurs d' $\alpha$ -amylase.

**Zelnkova, T.N, Pashenko, T.E. 1978.** Past massy 5720.

**Zerari, A. 2013.** synthese, separation et identification de m nitrophenyl ferrocène mono Et bis-substitue., Mémoire Du Master Académique Université Kasdi Marbah Ouargla, Algérie,n

22





## Abstract

This work is part of the evaluation of the antidiabetic properties to inhibit the catalytic action of  $\alpha$ -amylase, involved in the enzymatic regulation of carbohydrate metabolism by the ferrocene derivative FC3F, in order to correct the phenomenon of high postprandial diabetes.

In the first part of our study, we relied on the theoretical prediction of physicochemical, pharmacological and toxicological properties of the ferrocene derivative through the SwissADME and Protox web servers.

We obtained results indicating that the compound has drug-like properties. Then we turned to the in vitro applied study using two electrochemical study methods by cyclic voltammetry and UV vis spectroscopy, the results show an inhibitory effect of our compound on alpha amylase compared with Acarbose as a positive control, which allowed us to determine the IC 50, K and G indicators, On the other hand, the results obtained in silico by molecular docking reveals that this derivative binds with apha amylase by electrostatic interactions and forms 3 hydrogen bonds between the enzyme and the inhibitor, which confirms the results obtained in vitro, in fact, this interaction is reflected by the interaction parameters.

The values of these parameters confirm the good interaction between the ferrocene derivative and the biological target compound.

The activity against glucocorticoids was confirmed by the formation of hydrogen bonds between the ferrocene derivative and alpha amylase, which allows its adoption as a future drug treating diabetes.

keywords:  $\alpha$ -amylase· electrochemical· spectroscopy· FC3F,Acarbose, Protox, SwissADME, Docking.

## Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des propriétés antidiabétiques destinées à inhiber l'action catalytique de  $\alpha$ -amylase, impliqué dans la régulation enzymatique de métabolisme glucidique par du dérivé ferrocénique FC3F, dans le but de corriger le phénomène de diabète postprandial élevé.

Dans la première partie de notre étude, nous nous sommes appuyés sur la prédiction théorique propriétés physicochimiques, pharmacologiques et toxicologiques du dérivé ferrocène grâce aux serveurs web SwissADME et Protox.

Nous avons obtenu des résultats indiquant que le composé possède des propriétés de type médicament.

Puis nous nous sommes tournés vers l'étude appliquée in vitro en utilisant deux méthodes d'étude électrochimique par voltamétrie cyclique et spectroscopie par UV vis, les résultats montrent un effet inhibiteur de notre composé sur l' $\alpha$  amylase comparé avec l'Acarbose comme contrôle positif, ce qui nous a permis de déterminer les indicateurs IC 50, K et  $\Delta G$ , En revanche, les résultats obtenus in silico par le Docking moléculaire révèle que ce dérivé se lie avec l' $\alpha$  amylase par des interactions électrostatique et forme

Liaisons hydrogène entre l'enzyme et l'inhibiteur cela confirment les résultats obtenus in vitro, en effet, cette interaction est traduite par les paramètres d'interaction.

Les valeurs de ces paramètres confirment la bonne interaction entre le dérivé de ferrocène et le composé biologique cible.

L'activité contre les glucocorticoïdes a été confirmée par la formation de liaisons hydrogène entre le dérivé de ferrocène et l' $\alpha$  amylase, ce qui permet son adoption comme futur médicament traitant le diabète.

**Mots clés :**  $\alpha$ -amylase, électrochimique, spectroscopie, FC3F, Acarbose, Protox, SwissADME, Docking.

## المخلص

يعد هذا العمل جزءًا من تقييم الخصائص المضادة لمرض السكر التي تهدف إلى تثبيط العمل التحفيزي للأميلاز، المتضمن في التنظيم الإنزيمي لاستقلاب الكربوهيدرات بواسطة مشتق ferrocene FC3F، بهدف تصحيح ظاهرة مرض السكري بعد الأكل.

في الجزء الأول من دراستنا، اعتمدنا على التنبؤ النظري للخصائص الفيزيائية والكيميائية والصيدلانية والسمية لمشتق الفيروسين باستخدام خوادم الويب SwissADME وProtox.

لقد حصلنا على نتائج تشير إلى أن المركب له خصائص شبيهة بالدواء. ثم انتقلنا إلى الدراسة المطبقة في المختبر باستخدام طريقتين للدراسة الكهروكيميائية عن طريق قياس الفولتمتر الدوري والتحليل الطيفي بواسطة الأشعة فوق البنفسجية، وأظهرت النتائج تأثيرًا مثبطًا لمركبنا على ألفا أميليز مقارنة مع أكاربوز كعنصر تحكم إيجابي، مما سمح لنا بتحديد المؤشرات IC 50 و K و G.

من ناحية أخرى، تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في السيليكو عن طريق الالتحام الجزيئي أن هذا المشتق يرتبط مع alpha amylase عن طريق التفاعلات الكهربائية ويشكل 3 روابط هيدروجينية بين الإنزيم والمثبط، وهذا يؤكد النتائج التي تم الحصول عليها في المختبر، في الواقع، يتم ترجمة هذا التفاعل بواسطة معاملات التفاعل.

تؤكد قيم المعاملات أنه التفاعل بين مشتق الفيروسين والمركب البيولوجي المستهدف تفاعل جيد. وتم تأكيد النشاط ضد الجلوكوكورتيكويدات من خلال تكوين روابط هيدروجينية بين مشتق الفيروسين وألفا أميليز، مما يسمح باعتماده كدواء مستقبلي لعلاج مرض السكري.

**الكلمات المفتاحية:** الفا اميلاز. التحليل الطيفي. الكهروكيميائية. FC3F. أكاربوز. Protox. SwissADME. الالتحام الجزيئي.