



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمدة لخضر الوادي

Université d'Echahid Hamma Lakhdar-El OUED-

كلية علوم الطبيعة 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 : Toxicologie

THEME

Etude de l'activité antidiabétique et amarrage moléculaire de quelques dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques comme nouveaux inhibiteurs d' α -amylase

Présenté Par :

M^{elle} Youmbai Souhir et M^{me} Sahraoui Amina

Devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} . HOUMRI Nawel	M.A.A, Université d'El Oued.
Examinatrice :	M ^{me} . RAMDANE Farah	M.C.A, Université d'El Oued.
Promoteur :	Mr. LANEZ Elhafnaoui	M.C.B, Université d'El Oued.
Co-Promotrice :	M ^{me} . ADAIKA Aicha	Docteur, Université d'El Oued.

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Nous remercions **Allah** le tout puissant pour la patience qu'il nous a donné pour réaliser ce travail et atteindre notre objectif.

Nous voudrions exprimer nos profondes reconnaissances à **Pr. LANEZ Touhami** pour nous avoir accueillie dans son laboratoire et pour l'honneur qu'il nous fait de diriger cette mémoire et pour nous avoir proposé un sujet intéressant.

Nous remercions Monsieur **Lanez Elhafnaoui**, l'encadreur de notre mémoire; merci de nous avoir guidé tout au long de cette mémoire, de nous avoir permis de mieux appréhender l'utilisation de nombreux outils et méthodes nécessaires au bon déroulement de cette mémoire.

Madame **Adaika Aicha**, nous vous remercions sincèrement d'avoir accepté de nous aider dans l'accomplissement de cette mémoire et pour le temps que vous nous avez accordé tout au long de ce travail. Le chemin fut long et laborieux et nous vous remercions pour votre patience, vos précieux conseils et votre soutien.

Nous sommes très honorés que madame **Houmri Nawel** et madame **Ramdane Farah** aient accepté de juger cette mémoire. Qu'elles trouvent ici l'expression de nos plus vive considération et de nos sincère gratitude pour avoir participé à ce jury.

Nous ne pourrons jamais remercier suffisamment **Dr Saadi Hamza** pour son aide, conseils et humanité, soutien inconditionné dans les moments les plus difficiles et son aménité. Qu'il trouve ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A **Monsieur Abdeldjabar Messaoudi**, merci beaucoup pour votre inestimable aide apportée dans la réflexion scientifique et tous vos conseils.

Enfin, nous adressons nos remerciements à tous nos collègues et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avec mes vifs remerciements et ma profonde gratitude je vous dédie, mes chers parents, ce modeste travail. Je ne pourrais jamais être à la hauteur de vos sacrifices et patience. Je prie Dieu pour qu'il vous accorde santé et une longue vie.

A mes frères et ma sœur et toute ma famille ; toute ma gratitude pour leur confiance et support qu'ils m'ont accordé durant toute la durée de mon parcours académique.

*A monsieur le professeur **M.Laid Tedjani** ; qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et ma profonde gratitude et respect pour leur soutien ,confiance et leur encouragement.*

*A monsieur le **Dr.Saadi Hamza** ; il n'est pas facile de trouver les mots pour vous remercier pour le soutien de tous les jours et votre aide dans les moments difficiles. Merci pour vos conseils et la confiance que vous m'avez accordée quotidiennement tout en restant toujours présent pour discuter les problèmes rencontrés. Merci pour votre gentillesse, patience et votre qualité humaine ... et tellement plus ...*

*A **Dr Laiche Omar Touhami, Mme Hala Tedjani** ; Merci pour vos encouragements et soutien.*

*Mes remerciements sont adressés aussi à toutes les personnes qui m'ont aidé tout au long de mon cursus en particulier **Dr.Aicha Tedjani** , **Dr. Soltani Boubaker** et **Tlili Abdeldjabar** merci pour votre amitié et disponibilité.*

*A mes chères amis **Moufida ,Safa, Zahira , Hiba, Malika , Chahrazed et Ouissal** merci pour votre amitié et confiance et aussi pour tous les bons moments.*

Merci bien à tous.

Dédicace

A ma famille et ma belle-famille

Amina Sahraoui

Résumé

Notre travail a porté sur l'évaluation de l'affinité des DFC-BN, destinées à inhiber l'action catalytique de l'alpha amylase, impliqué dans la régulation enzymatique de métabolisme glucidique, chez les sujets diabétiques.

Nous nous sommes appuyés dans la première partie de notre travail sur la prédiction in silico des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des 3 composés Fc-BN sélectionnés à l'aide des serveurs : swissADME , admetSAR et Protox. Les résultats ont montré que tous ces composés ont des bonnes caractéristiques de druglikeness.

Par la suite, l'utilisation de la préparation enzymatique avec les DFC-BN, dans le milieu réactionnel, permet de déterminer les paramètres : IC_{50} et ΔG à partir desquels nous sommes arrivés à l'efficacité biologique des composés étudiés.

Les résultats obtenus par l'amarrage moléculaire (Docking) confirment les résultats in vitro ; elles présentent des valeurs négatives de ΔG ce qui traduit la bonne affinité des ligands avec la cible biologique. La formation des liaisons hydrogène, entre les dérivés ferrocéniques (et plus spécifiquement le Fc-Cy) et l'enzyme, confirme l'efficacité antidiabétique de ces dérivés et permet les considérer comme des futurs médicaments antidiabétiques.

Mots clés : DFC-BN , α -amylase , activité antidiabétique , Docking , swissADME .

Liste des abréviations

Ad : Adénine

Å : Ångström

AA :Acide aminé

Abs :Absorbance

ADME : Absorption ,D :Distribution ,M :Métabolisme

ADN :Acide DésoxyriboNucléique

ADO : Anti diabétiques Auroux

ADP :Adénosine diphosphate

ARN : Acide ribonucléique

ATP :Adénosine triphosphate

BHE :barrière hémato-encéphalique

Car :Carcinogénicité

cm : centimeter

Cy : Cytosine

Da :Dalton

DFc-BN :Dérivé ferrocénique base nucléique

DG :Diabète gestationnel

DL50 : Dose létale 50 %

DMSO : diméthylsulfoxyde

DNSA :Réactif 3,5-dinitrosalicylique

DT1:Diabète type 1

DT2: Diabète type 2

Fc-Ad :N1-FerrocenylméthylAdénine

Fc-Cy : N1-ferrocenylmethylcytosine.

Fc-Th :N1-Ferrocenylméthylthymine

G6P : glucose 6-phosphate

G6Pase : Glucose-6-Phosphatase

GLUT : transporteur au glucose

Hep :Hépatotoxicité

HPA :Alpha amylase pancréatique humaine

IC₅₀ : Concentration causant une inhibition de 50% d'une activité

IRS : Insulin Receptor Substrates

IUBMB : International Union of biochemistry and molecular biology.

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

Kcal : Kilocalorie

MODY: Maturity Onset Diabetes of Young

Mut :Mutagénicité

NADH: Nicotinamide adénine dinucleotide.

P :Probabilité.

PGC-1 α :peroxisome proliferator activator receptor γ coactivator-1 α

pH : potentiel hydrogène

PI3K :phosphatidylinositol-3 kinase

PKA: Protéines kinases A

PLC: phospholipase C

QSAR : Quantitative Structure Activity Relationship

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SGLT : co-transporteur glucose/sodium

SHC :Src homologous and collagen protein

SNC :Système nerveux central

UV :Ultra-violet

VTRS : Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes

ΔG : Energie libre de liaison

$^{\circ}C$: Degrés Celsius

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Les organes impliqués dans la régulation de la glycémie	07
Figure 2	Glycémie au cours d'une journée chez une personne non diabétique	08
Figure 3	Les voies métaboliques de la glycolyse	10
Figure 4	Les voies métaboliques de la glycogénogénèse	11
Figure 5	Voie de la néoglucogénèse	12
Figure 6	Sécrétion de l'insuline par les cellules β du pancréas	14
Figure 7	Voie de signalisation du glucagon	15
Figure 8	Diagramme en ruban de l'alpha amylase pancréatique humaine (HPA) et de ses sous-domaines en complexe avec un substrat octaose	17
Figure 9	La digestion enzymatique de l'amidon	19
Figure 10	Mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques	21
Figure 11	Sécrétion biphasique de l'insuline en réponse à un stimulus constant en glucose	24
Figure 12	Formule développée de l'acarbose.	27
Figure 13	L'alpha amylase en complexe avec l'acarbose	26
Figure 14	L'inhibition compétitive de l'alpha glucosidase (MGAM) par l'acarbose	26
Figure 15	La structure de résonance	29
Figure 16	Structure correcte de ferrocène	30
Figure 17	Ferrocène sous forme de poudre orange	30
Figure 18	Oxydation mono électronique réversible de la ferrocène	32
Figure 19	Spectre IR de ferrocène	33
Figure 20	Structure cristalline de ferrocène	34
Figure 21	Structure chimique de N1-ferrocenylmethylcytosine.	35
Figure 22	Structure chimique de N1-Ferrocenylméthylthymine.	36
Figure 23	Structure chimique de N1-FerrocenylméthylAdénine.	36
Figure 24	Page d'accueil du serveur SwissADME	41
Figure 25	Page d'accueil du serveur admetSAR	42
Figure 26	Page d'accueil du serveur Prottox	42
Figure 27	Les structures chimiques des DFC-BN étudiés	46
Figure 28	Tracé des œufs durs (Boiled-egg) des composés étudiés (SwissADME).	60

Figure 29	Droite de croissrment de pourcentage de l'inhibition en fonction de de la concentration de Fc-Ad.	63
Figure 30	Droite de $A_0/(A-A_0)$ en fonction de de $1/[Fc-Ad]$	64
Figure 31	Interaction de Fc-Ad avec l'alpha amylase	66
Figure 32	Interaction de Fc- Cy avec l'alpha amylase,	67
Figure 33	Interaction de Fc- Th avec l'alpha amylase.	68
Figure 34	Site d'interaction entre Fc-Ad et l' α -amylase.	70
Figure 35	Site d'interaction entre Fc-Th et l' α -amylase	70
Figure 36	Site d'interaction entre Fc-Cy et l' α -amylase	70
Figure 37	Site d'interaction entre le gliclazide et l' α -amylase	71
Figure 38	Site d'interaction entre l'acarbose et l' α -amylase	71
Figure 39	Droites de l'acarbose	93
Figure 40	Droites de Gliclazide	93
Figure 41	Droites de Fc-Cy	94
Figure 42	Droites de Fc-Th	94

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Structure SMILES des ferrocénylméthyl-bases nucléiques étudiées et les médicaments Acarbose et Gliclazide	47
Tableau 2	Classification des produits chimiques selon leurs toxicités	51
Tableau 3	Les propriétés physicochimiques des dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques et les médicaments :Acarbose et Gliclazide (SwissADME)	55
Tableau 4	Détails des différentes règles de ressemblance aux médicaments (Druglikeness) et de la biodisponibilité(Bioavailability)des DFC-BN et des médicaments Acarbose et Gliclazide(SwissADME).	57
Tableau 5	Les paramètres pharmacocinétiques des dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques et les médicaments :Acarbose et Gliclazide. (SwissADME)	59
Tableau 6	Prédiction de la toxicité des ferrocényl-méthyl-base nucléique et les médicaments Acarbose et Gliclazide(Protox ; admetSAR)	61
Tableau 7	Valeurs de l'absorbance de Fc-Ad obtenus à partir des données spectroscopique UV-Vis	62
Tableau 8	Valeurs des IC ₅₀ des composés étudiés obtenues par des données spectroscopiques UV-Vis	63
Tableau 9	Valeurs des K et ΔG des composés étudiés obtenues par des données spectroscopiques UV-Vis	64
Tableau 10	Différentes énergies libres ΔG de l'interaction Fc-BN et l'alpha amylase obtenus par docking	65
Tableau 11	Les bondes d'hydrogène de site d'interaction des molécules étudiés (PLIP).	69
Tableau 12	Donnés de Fc-Ad utilisés dans l'étude spectroscopique	95
Tableau 13	Donnés de Fc-Cy utilisés dans l'étude spectroscopique	95
Tableau 14	Donnés de Gliclazide utilisés dans l'étude spectroscopique	95
Tableau 15	Donnés de Fc-Th utilisés dans l'étude spectroscopique	96
Tableau 16	Donnés de l'acarbose utilisés dans l'étude spectroscopique	96
Tableau 17	Les matériels utilisés	97

Sommaire

Remerciements
Dédicaces
Résumé
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Introduction

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. Métabolisme glucidique et diabète

I. L'homéostasie glucidique	6
1. Définition	6
2. Les organes effecteurs de la régulation glycémique	6
3. Mécanismes de régulation glycémique postprandiale	8
A. L'absorption intestinale de glucose	8
B. Le devenir de glucose	9
4. Mécanismes de régulation glycémique en condition de jeûne	11
5. La régulation hormonale de la glycémie	13
a. Rôle de l'insuline.....	13
b. Rôle du glucagon.....	15
6. La régulation enzymatique de la glycémie	16
1. L'alpha amylase.....	16
a. Définition	16
b. Nomenclature	16
c. Les types	16
d. Lieu de synthèse	16
e. Structure	16
f. Caractéristiques physicochimiques d'alpha- amylase	17
g. Le rôle d'alpha-amylase	18

h. Mécanisme d'action	20
2. Alpha-glucosidase	20
II. Le diabète	21
1. Définition	21
2. Classification de diabète	22
2.1.Le diabète insulino dépendant (Diabète type 1)	22
2.2.Le diabète non insulino dépendant (Diabète type 2)	22
2.3.. Diabète gestationnel (DG)	22
2.4.Diabète du type MODY	22
3. Physiopathologie.....	22
3.1.Physiopathologie du DT1	22
3.2.Physiopathologie de DT2	23
4. Facteurs influençant le DT1.....	23
a. Facteurs environnementaux	23
b. Facteurs génétiques	23
c. Facteurs immunologiques	23
d. L'infection virale	23
5. Facteurs influençant le DT2	24
a. Facteurs génétiques	24
b. Facteur de l'environnement	24
c. Troubles de la sécrétion de l'insuline	24
d. Troubles de la sensibilité à l'insuline	24
6. Les traitements de diabète sucré (Les Anti Diabétiques Oraux)	25
6.1.Généralité	25
6.2.Vue générale sur le mode d'action des ADO (de l'Acarbose et de Gliclazide comme des exemples)	26
6.2.1. Mode d'action d'Acarbose.....	26
6.2.2. Mode d'action de Gliclazide	27

Chapitre II. Chimie de ferrocène et des dérivés ferrocéniques étudiés

I. Généralités sur les ferrocènes	29
1. Historique des ferrocènes	30
2. Définition du ferrocène.....	30
3. Liaisons et structures électroniques du ferrocène	31

4. Processus chimique de synthèse de ferrocène	31
5. Réactivité.....	31
5.1.Réaction de substitution	31
5.2.Acylation.....	32
6. Les propriétés du ferrocène	32
6.1.Propriétés physicochimiques	32
6.2.Propriétés électrochimiques	32
6.3.Propriétés spectrales.....	33
6.3.1. Infrarouge.....	33
6.3.2. Résonance Magnétique Nucléaire RMN.....	33
6.4.Structure Cristalline.....	34
7. La Chimie médicinal de ferrocène	34
7.1.L'activité anti-oxydante.....	34
7.2.L'activité anti-cancéreuse.....	35
7.3.L'activité anti-Toxoplasmose	35
7.4.L'activité antivirale.....	35
II. Les dérivés ferrocéniques étudiés.....	35
1. N1-Ferrocenylméthylcytosine	35
2. N1-Ferrocenylméthylthymine.....	36
3. N6-Ferrocenylmethyladenine	36

Chapitre III. Contexte théorique des différentes techniques expérimentales utilisées

1. Spectroscopie d'absorption dans le domaine UV-Visible	38
1.1.Principe de spectroscopie d'absorption dans l'UV visible	38
1.2.Loi de Beer-Lambert.....	38
2. L'amarrage moléculaire	39
2.1.Principe	39
2.2.Les étapes de docking	39
2.2.1. Amarrage avec AutoDock	39
2.2.2. Modélisation du potentiel énergétique	39
3. SwissADME.....	40
4. AdmetSAR.....	41

5. Protoc.	42
------------	----

PARTIE II : Partie Expérimentale

Chapitre 1. Matériel et méthodes

1. Réactifs utilisés	45
2. Etude de l'activité anti diabétique	46
2.1. Etude in silico par méthode bio-informatique	46
2.1.1. Evaluation des paramètres pharmacocinétique par SwissADME	46
2.1.1.1. Généralité sur un drug-like	47
2.1.1.2. Généralité sur les propriétés physicochimiques	48
2.1.1.3. Généralité sur la ressemblance aux médicaments (Druglikeness)	49
2.1.1.4. Généralité sur le profil pharmacocinétique (ADME) et prédiction de la toxicité	50
2.1.2. Etude des interactions moléculaires par l'Autodock Tools	52
2.2. Etude de l'activité antidiabétique in vitro Par spectroscopie UV-Visible	53

Chapitre 2. Résultats et discussion

1. Résultats et interprétation	55
1.1. Analyse et discussion des résultats obtenus par SwissADME	55
1.1.1. Propriétés physico-chimiques	55
1.1.2. Propriétés de ressemblance aux médicaments	56
1.1.3. Les paramètres pharmacocinétiques	58
1.1.4. Prédiction de la toxicité	61
1.2. Analyse et discussion des résultats obtenus In vitro	61
1.2.1. La détermination de l'absorbance	62
1.2.2. La détermination de l'IC50	62
1.2.3. La détermination de ΔG	64
1.3. Analyse et discussion des résultats obtenus par Docking	65
1.3.1. Détermination de ΔG des molécules étudiées	65
1.3.2. Détermination de site d'interaction des molécules étudiés	69

2. Discussion générale.....	72
<i>Conclusion et perspectives</i>	75
<i>Références bibliographiques</i>	77
<i>Annexes</i>	

Introduction générale



Le maintien d'une glycémie à une valeur normale est essentiel pour l'organisme vivant et en particulier pour le système nerveux central car le cerveau ne peut ni synthétiser ni stocker la quantité de glucose nécessaire pour son fonctionnement (**Cryer P.E. et Gerich J.E., 1985**). Le maintien de la glycémie dépend de la balance entre la production endogène et l'utilisation de glucose. Chez un individu normal, l'homéostasie glucidique s'établit en particulier sous le contrôle des hormones pancréatiques, l'insuline et le glucagon (**Gerich J.E., 1993**). Ces hormones sont des messagers primaires qui se fixent sur leur récepteur et activent, par l'intermédiaire de diverses cascades de transduction, les voies métaboliques impliquées dans la régulation de la glycémie (**Rouis Mohamed.,2014**) ,si un défaut de sécrétion ou d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées surviennent ; le taux de glycémie augmente et provoque de diabète.

En effet, cette dernière est une maladie potentiellement mortelle responsable dans le monde, chaque année, de près de 4,0 millions de décès (**IDF., 2017**). C'est une maladie considérée par l'OMS comme une épidémie et dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours de ces dernières années. Actuellement, près de 425 millions de personnes dans le monde sont atteintes de diabète. Si l'augmentation de la prévalence se poursuit, le nombre total de diabétiques atteindra 629 millions d'ici 2045, soit une augmentation de 48% (**WHO, 2003 ; United Nations, 2015 ; IDF., 2017**). En plus de ces chiffres alarmants, il faut tenir compte des personnes qui ignorent qu'elles sont diabétiques car le développement de la pathologie est silencieux et sournois (30 à 80 % des personnes atteintes non diagnostiquées) (**Beagley et al., 2014**).

Les patients diabétiques de type 1 comme ceux de type 2 sont habituellement traités initialement par le régime alimentaire et les exercices physiques. Mais si ces mesures ne suffisent pas à contrôler la glycémie, des médicaments antagonistes des récepteurs du glucagonlike peptide-1 (GLP-1), de l'insuline, des anti hyperglycémiant oraux tel que les sulfonylurées comme le Gliclazide qui stimule la sécrétion insulinique ou encore les inhibiteurs des enzymes régulatrices de la glycémie tel que l'acarbose qui agit comme inhibiteur d' α - amylase et d' α -glucosidase ou l'association de ces médicaments peut être prescrite (**Erika F. Brutsaert.,2020**).

L'un des objectifs essentiels de la communauté médicale est de présenter des nouveaux agents thérapeutiques, sachant que l'identification de ces molécules est un long processus, faisant intervenir de nombreuses connaissances scientifiques dans les domaines de la chimie bio organique et de pharmacologie.

Les dérivés ferrocéniques sont parmi les substances qui jouent un rôle important en tant que chimiothérapeutique potentielle en particulier. En plus, de leurs potentiels activités anti-oxydante (Adaika.,2020) ,anti-inflammatoire, antimicrobien, cytotoxique et de clivage de l'ADN dans les cellules cancéreuses. La stabilité, l'électro-activité et l'activité spectroscopique élevées font des candidats prometteurs pour de nombreuses applications biologiques (Majumder et al., 2002).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules antidiabétiques. A cet effet, nous avons sélectionné une série bioactive des Dfc-BN (Fc -Cy , Fc-Th Fc-Ad) en vue d'évaluer leur activité antidiabétique en tant que nouveaux inhibiteurs d'alpha-amylase. Le pourcentage d'activité inhibitrice et l'énergie libre de liaison de ces dérivés avec l'alpha-amylase ont été déterminées expérimentalement en utilisant une technique spectroscopique basée sur la spectroscopie UV-Visible. Les résultats obtenus ont été confirmés par l'amarrage moléculaire avec l'outil AutoDock Tools.

Ce travail est réparti en trois parties essentiels : La première comporte un aperçu bibliographique se devisant elle-même en trois chapitres (Métabolisme glucidique et diabète, chimie de ferrocène et de dérivés ferrocéniques-Bases nucléiques étudiés et contexte théorique des techniques expérimentales utilisées). La seconde partie contient les matériels et les méthodes quant à la dernière présente les résultats et discussion comprend la présentation des différents résultats obtenus et leurs interprétations.

Nous avons terminé ce travail par une conclusion générale et une annexe dont les résultats nous n'avons pas présentés dans les différents chapitres susvisés et que nous avons jugé utile à mentionner.

Enfin, nous espérons que ce modeste travail vaudra de la peine d'être lu par votre attention.

Partie I

Synthèse bibliographique

« Sans doute, c'est le savant qui fait la science, mais c'est aussi la science qui fait le savant, qui l'éduque ».

Bachelard

Chapitre 01

Métabolisme glucidique et diabète



I. L'homéostasie glucidique :

1. Définition :

Le concept fondamental de la constance du milieu intérieur est créé en 1850 par Claude Bernard définie, quelques années plus tard, sous le nom d'Homéostasie. Ce terme est défini par la capacité d'un organisme à maintenir ses paramètres physiques et chimiques à une valeur constante, même s'il est sous pression (M.Taveau.,2014).

L'organisme vivant nécessite en permanence de l'énergie afin de maintenir ses fonctions vitales. En vue de cette exigence, il met en jeu des mécanismes de métabolisation, de stockage et de gestion des substrats, l'ensemble de ces fins mécanismes est groupé sous le terme d'homéostasie énergétique.

Le glucose est la molécule énergétique la plus utilisée dans les conditions physiologiques, car il est immédiatement disponible(T.Duparc.,2012). La glycémie correspond à la quantité de glucose présente dans le sang. Cette dernière soit strictement contrôlée et maintenue en alentour de 5,5 mmol/l (1 g.l⁻¹) afin de garantir un apport énergétique constant aux différents tissus (M.Taveau.,2014) et pour éviter l'intégrité de l'organisme à risque (S. Nicolas.,2016). Pour cela, il existe tout un ensemble des mécanismes qui aide à atteindre cet équilibre. Cet ensemble porte le nom de l'homéostasie des glucides (T.Duparc.,2012).

2. Les organes effecteurs de la régulation glycémique :

Le maintien constant de la glycémie implique un équilibre subtil entre l'entrée et la sortie du glucose du sang. Schématiquement, le glucose sanguin a deux origines. Au cours d'un repas, l'absorption intestinale du glucose contenu dans le bol alimentaire est responsable d'une entrée massive de glucose dans le sang (S. Nicolas.,2016). En condition postabsorptive, le foie est généralement considéré comme le principal organe producteur de glucose chez les mammifères (Bergman et Mittelman.,1998). L'apparition de glucose dans la circulation sanguine va principalement être décelée par le pancréas. Son rôle dans la régulation de l'homéostasie glucidique est capital du fait de sa sécrétion d'hormones telles que l'insuline ou le glucagon par les îlots de Langerhans ce qui permet de stocker le glucose ou, au contraire, d'utiliser les stocks existants en fonction de l'état métabolique de l'organisme(T.Duparc.,2012).

En outre, au début des années 1990, il a été reconnu que le rein pouvait jouer un rôle capital, dans les conditions nutritionnelles, chez, le chien, le rat et l'homme (Minassian et Mithieux., 1994 ; Cersosimo et al., 1994 ; Ekberg et al., 1999). Les études effectuées chez l'homme et le rat ont prouvées, en condition postabsorptive, que la production rénale de glucose représente environ 25% de la production totale et sa capture est environ de 20% sur la captation totale de glucose (Stumvoll et al., 1995 ; Pillot et al., 2009).

Inversement, en période de jeûne certains organes comme le foie et dans une moindre mesure le rein et l'intestin vont pouvoir produire du glucose afin d'éviter l'hypoglycémie. Le glucose sanguin peut être consommé par l'ensemble des organes, c'est la source d'énergie principale des cellules. Le glucose excédentaire va être stocké dans le foie et les muscles sous forme de glycogène et dans le tissu adipeux sous forme de lipides (Figure 01) (S. Nicolas .,2016).

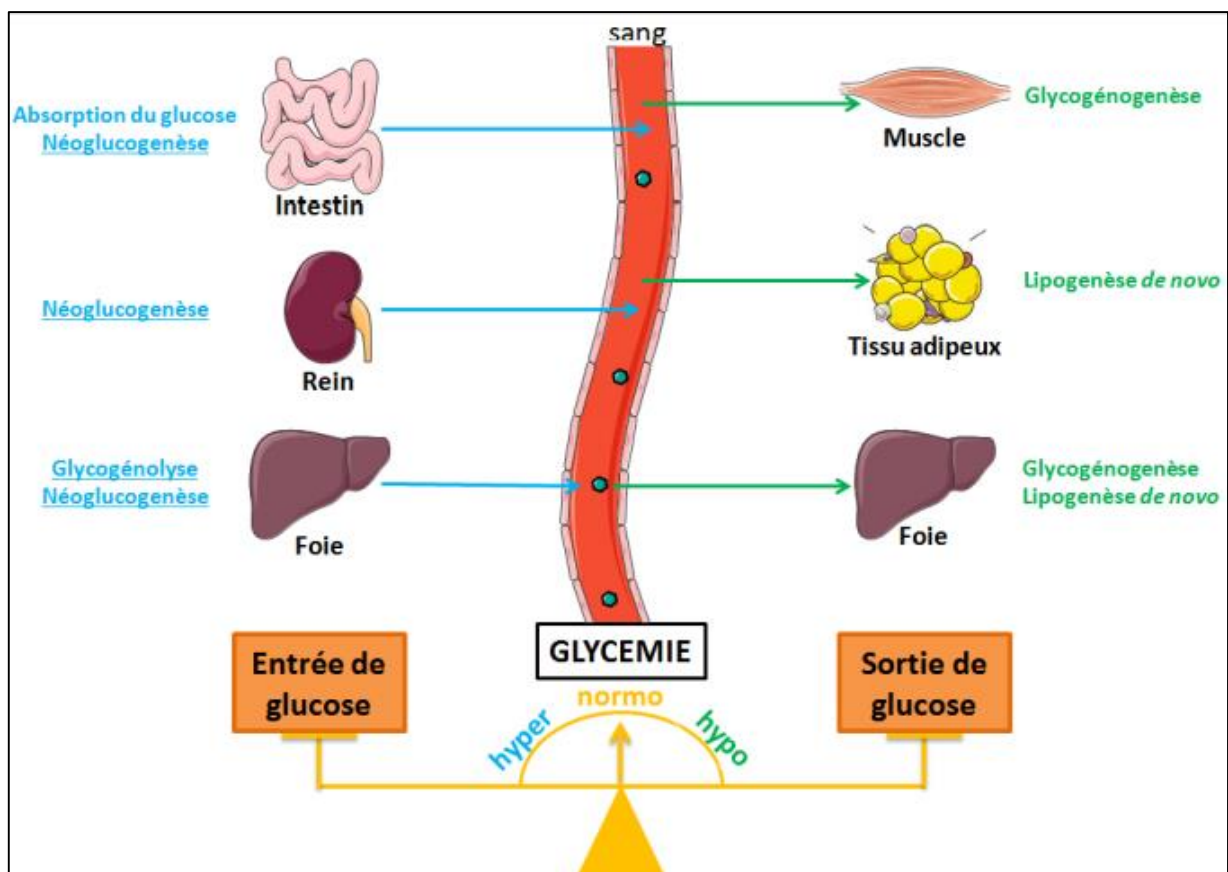


Figure 1. Les organes impliqués dans la régulation de la glycémie (S.Nicolas.,2016).

3. Mécanismes de régulation glycémique postprandiale

A. L'absorption intestinale de glucose

Après les repas chez une personne non diabète, le glucose provenant de la digestion des glucides de l'alimentation traverse les parois de l'intestin avec les autres nutriments et passe dans le sang. Au début on a assisté à une légère augmentation de la glycémie (quelques dixièmes) et qui revient très vite à environ 1 g.l^{-1} , ce qui montre que le glucose en excès est retiré très vite du sang (**Figure 2**) (**Rouis.,2014**).



Figure 2. Glycémie au cours d'une journée chez une personne non diabétique (**Rouis.,2014**).

Le glucose est rarement présent sous forme de monomère dans le bol alimentaire. Celui-ci est essentiellement structuré en glucides complexes tels que l'amidon, ou sous forme de disaccharides comme le saccharose ou le lactose. Pour être absorbés par le tractus intestinal, ces polymères vont devoir être dégradés par un ensemble d'enzymes contenues dans la salive, les sucs pancréatiques et intestinaux. Ces enzymes ne sont pas capables de cliver l'ensemble des polysaccharides. C'est le cas des fibres alimentaires qui échappent à la digestion enzymatique dans l'intestin grêle et arrivent intactes dans le côlon (**Nicolas.,2016**).

Bien avant de l'utilisation ou le stockage du glucose par les différents organes, ce dernier doit être assimilé en franchissant la membrane plasmique cellulaire. Toutefois, le glucose est une molécule polaire, hydrophile et de taille relativement importante l'empêchant de franchir librement les membranes plasmiques cellulaires. Son entrée dans la cellule sera alors facilitée par l'intermédiaire de transporteurs spécifiques classés en deux catégories (**Baly D.L. et Horuk R., 1988 ; Bell G.I. et al, 1990**) : Les transporteurs au glucose (GLUT) et les co-transporteurs glucose/sodium (SGLT) (**Taveau .,2014**).

✓ **Les co-transporteurs glucose/sodium :**

Les SGLT assurent le transport du glucose contre son gradient de concentration en couplant son entrée avec celle du sodium. Le taux de sodium entrant sera régulé par la présence d'une pompe ATPase Na^+ / K^+ située sur la membrane basolatérale. Il s'agit donc de transporteurs actifs secondaires fonctionnant comme des symports. Chez l'homme, il a été décrit la présence de cinq membres de la famille des SGLT permettant le transport du glucose et autres hexoses (**Wright E.M. et al, 2011**). Ces co-transporteurs sont notamment exprimés au niveau de la membrane apicale des entérocytes et au niveau des cellules épithéliales du tubule proximal du rein. Parmi ces membres, on retrouve le SGLT1 qui est présent dans les deux organes alors que le SGLT2 est présent uniquement dans le rein. Cependant, la réabsorption rénale de glucose se fait principalement par l'intermédiaire du SGLT2.

✓ **Les transporteurs GLUTs :**

Contrairement aux SGLT, les GLUT sont des transporteurs permettant le transport du glucose suivant son gradient de concentration par une diffusion facilitée ne nécessitant pas d'énergie. Cependant, certains d'entre eux peuvent transporter d'autres sucres tels que le galactose et le fructose. Bien qu'il ait été généralement considéré que ces transporteurs induisaient l'entrée du glucose dans la cellule, ils sont aussi capables de le faire sortir : une particularité favorable du foie pour la régulation de la glycémie (**Uldry M. et Thorens B., 2004**).

B. Le devenir de glucose :

Après son entrée dans la cellule, le glucose sera phosphorylé par une hexokinase donnant ainsi du glucose-6-phosphate. Cette molécule pourra alors suivre 4 voies différentes en fonction de la demande énergétique des cellules:

✓ **La glycolyse:**

L'ensemble du processus biochimique se déroule dans le cytoplasme de la cellule, à partir de glucose transformé en G6P pour aboutir notamment à la formation de deux molécules de pyruvate et deux molécules d'ATP. Le pyruvate sera ensuite amené à la mitochondrie où il rentrera dans le cycle de Krebs, qui permettra la synthèse de 3 trois équivalents réduits (NADH , H^+) générant par la suite 11 autres molécules d'ATP après passage dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Le stock d'ATP produit sera alors disponible pour l'établissement de multiples réactions biochimiques nécessaires à la vie cellulaire (**Figure 3**) (**Duparc.,2012**).

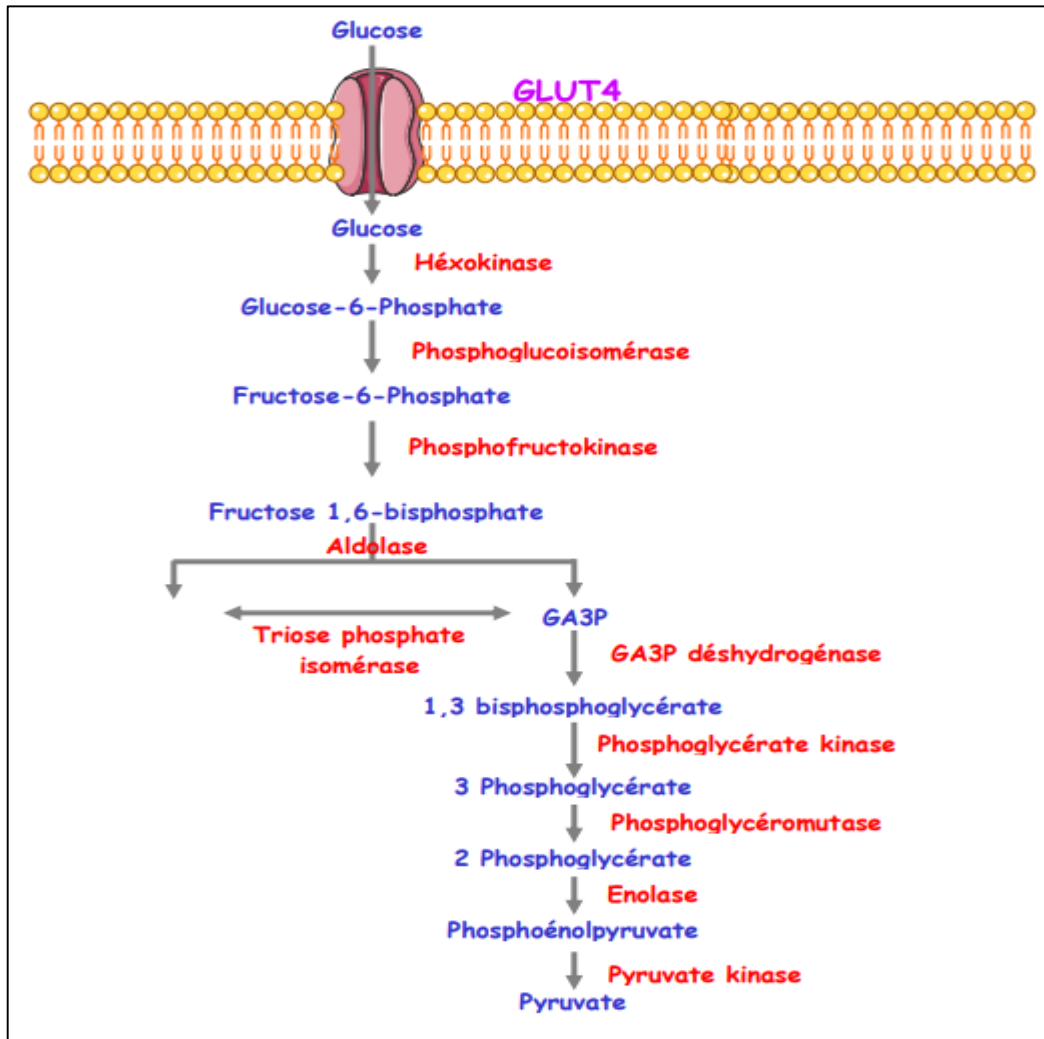


Figure 3. Les voies métaboliques de la glycolyse (Dray.,2009).

✓ La glycogénogénèse:

Le glucose en excès dans la circulation sanguine n'est, en conditions physiologiques, pas éliminé par l'organisme. Il est mis en réserve sous deux formes possibles : le glycogène ou les lipides. Le foie et les muscles sont les deux seuls organes capables de réaliser un stockage du glucose sous forme de molécules de glycogène. Il s'agit un polymère de glucose où les molécules sont liées en α (1-4) et branchées en α (1-6) tous les 8 à 12 résidus. Cette voie métabolique débute par la transformation d'un glucose-6-phosphate en glucose-1-phosphate pour aboutir à la génération d'une chaîne de molécules de glycogène via l'action de la glycogène synthase (**Figure 4**) (Duparc.,2012).

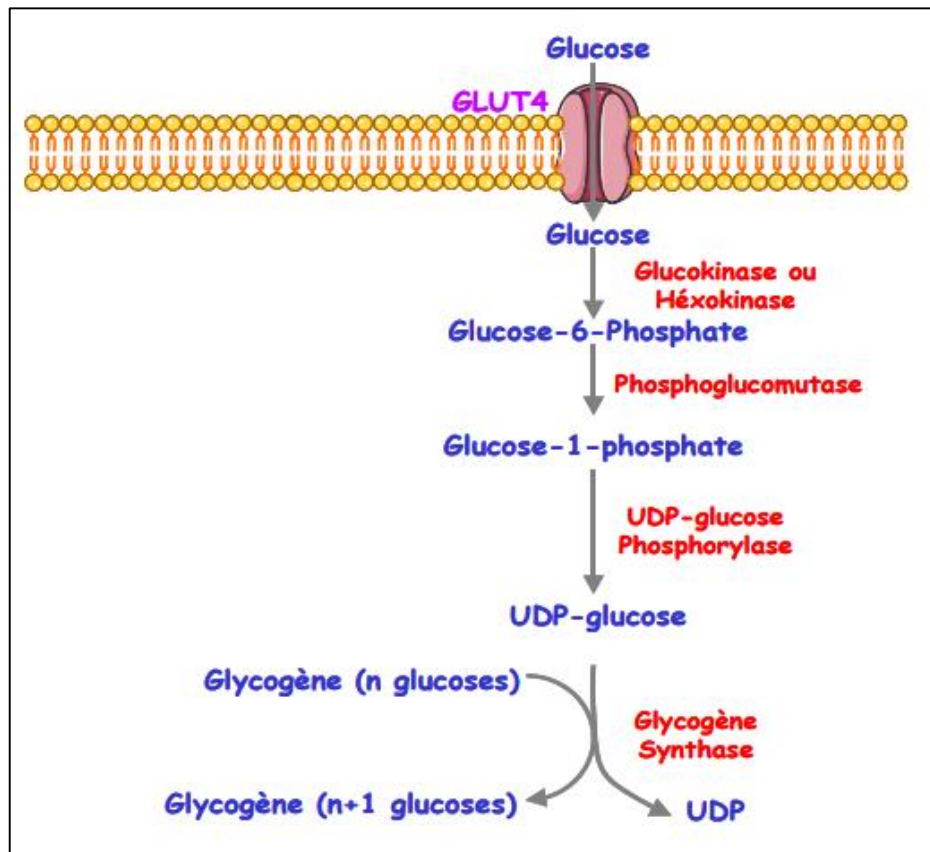


Figure 4. Les voies métaboliques de la glycogénogénèse(Dray.,2009).

✓ La lipogenèse :

La capacité de stockage énergétique sous forme de glycogène étant limitée, une autre forme de réserve existe : les lipides. Le stockage de glucose sous cette forme est également possible dans uniquement deux organes : Le tissu adipeux principalement et le foie, en second lieu (Aarsland.,1997). Le processus biochimique impliqué se nomme la lipogenèse. Cette voie utilise le pyruvate résultant de la glycolyse en le transformant en citrate au sein de la mitochondrie puis en acétyl-Coenzyme A dans le cytosol. Ce produit sera ensuite transformé en palmitate, qui sera envoyé au niveau du réticulum endoplasmique, et à partir duquel des acides gras plus longs pourront être formés. Ces derniers seront, à terme, fixés à un squelette de glycérol pour former des triglycérides, forme finale de stockage (Duparc.,2012).

4. Mécanismes de régulation glycémique en condition de jeûne :

La production endogène de glucose permet de maintenir la glycémie entre les repas et en période de jeûne. Cette production fera intervenir deux voies métaboliques : La glycogénolyse et la néoglucogénèse. Toutefois, seuls le foie, le rein et l'intestin sont capables de produire du glucose car ils sont les seuls organes à disposer de la glucose 6-phosphatase permettant la production du glucose à partir du glucose 6-phosphate (Taveau .,2014).

✓ **La glycogénolyse hépatique:**

Pour continuer à approvisionner l'organisme en glucose à distance des repas, le foie mobilise ses stocks de glycogène accumulés en période postprandiale. Cette voie métabolique est appelée glycogénolyse. Contrairement à ce qu'on pourrait penser ce n'est pas la voie inverse de la glycogénogenèse décrite précédemment mais bien une voie distincte. L'étape limitante de cette voie est catalysée par la glycogène phosphorylase qui clive le glycogène pour libérer un glucose-1-phosphate. Ensuite, la phosphoglucomutase converti le glucose-1-phosphate en glucose-6-phosphate. Enfin, la G6Pase (Glucose-6-Phosphatase) permet l'hydrolyse du glucose-6-phosphate en glucose qui quitte la cellule et participe au maintien de la glycémie. Le glucose ainsi produit peut alors être utilisé par les organes qui en ont besoin. Le stock de glycogène n'est néanmoins pas illimité et d'autres mécanismes vont devoir se mettre en place pour maintenir la glycémie lors d'un jeûne plus long (Simon.,2016).

✓ **La néoglucogénèse:**

Lorsque les stocks de glycogène ont été utilisés, l'organisme est capable de synthétiser du glucose à partir de substrats non glucidiques. Cette voie porte le nom de néoglucogénèse (Figure 5). Seuls trois organes, le foie, les reins (Benoy MP *et al.*,1937) et l'intestin (Croset M *et al.*,2001), sont capables de réaliser cette opération. Les substrats de départ sont principalement le pyruvate issu de la glycolyse (45%), le glycérol (30%) et les acides aminés (30 %) (Duparc.,2012).

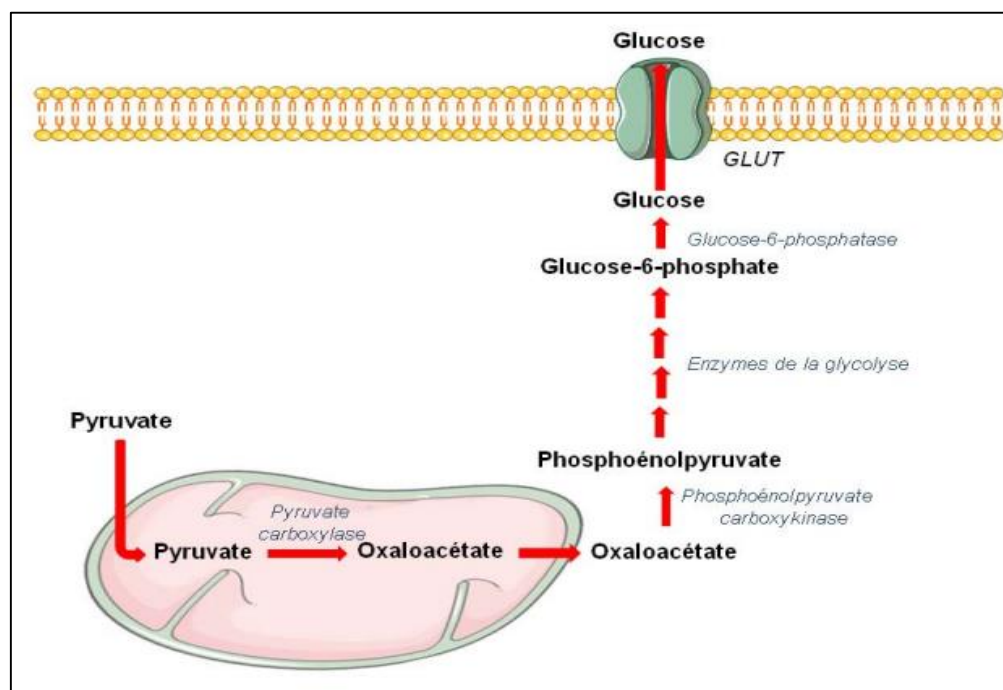


Figure 5. Voie de la néoglucogénèse (Duparc.,2012).

5. La régulation hormonale de la glycémie :

La régulation de l'homéostasie glucidique se fait via la coordination des activités du système nerveux qui stimule ou inhibe les sécrétions hormonales et endocrinien. Cependant, il est généralement entendu que la régulation du glucose sanguin est sous le contrôle du système endocrinien (**Annie Lé Gar.,2001**).

Ainsi, la concentration de glucose sanguin est régulée par l'insuline et par les hormones de contre-régulation. Bien que le glucagon, l'adrénaline, le cortisol et l'hormone de croissance possèdent tous une activité biologique capable de s'opposer à l'action de l'insuline, le glucagon semble encore être la principale hormone responsable de la défense contre l'hypoglycémie (**Cryer 1997, 1999 ; Butler et al.,1989 ; Tuttle et al.,1988**). En l'absence de glucagon, l'adrénaline devient importante. Le cortisol et l'hormone de croissance tiennent plutôt un rôle lors de la récupération suite à une hypoglycémie aiguë. L'insuline et le glucagon sont donc les hormones principales de la régulation du glucose sanguin. De plus, selon **Lins et al en1983**, le ratio insuline / glucagon est crucial puisqu'une faible diminution de la concentration d'insuline rend le foie plus sensible aux effets du glucagon qui augmente la production de glucose se traduisant par une hyperglycémie, et ce, même avec une augmentation minimale de la glucagonémie (**Annie Lé Gar.,2001**).

a. Rôle de l'insuline

L'insuline est considérée comme la principale hormone pancréatique permettant de réguler finement la glycémie. Elle favorise le stockage du glucose sous forme de glycogène dans le foie et le muscles et stimule le stockage des lipides dans le tissu adipeux. L'insuline est la seule hormone hypoglycémisante et elle est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas.

✓ Le glucose est un stimulateur de l'insulino-sécrétion pancréatique :

A la surface des cellules β pancréatiques est exprimé un transporteur au glucose non insulino-dépendant : GLUT2. Ce transporteur assure le transfert facilité du glucose depuis le compartiment sanguin vers l'intérieur de la cellule β . C'est la détection directe du glucose par le pancréas qui conduira à une augmentation de la sécrétion calcium dépendante de l'insuline. La première étape consiste en la métabolisation du glucose entrant afin d'augmenter le rapport ATP/ADP. Le taux élevé d'ATP intracellulaire entraînera la fermeture du canal K^+ sensible à l'ATP par fixation de l'ATP sur la protéine Kir 6.2 (**Cook D.L. et al., 1984**). La résultante est une dépolarisation membranaire de la cellule β suivie par l'ouverture de canaux Ca^{2+} voltage-dépendants (**Satin L.S. et Smolen P.D., 1994**). L'augmentation intracellulaire de calcium conduira à l'exocytose des vésicules contenant l'insuline par l'intermédiaire du complexe SNARE (**Henquin J-C., 2000**) (**Figure 6**).

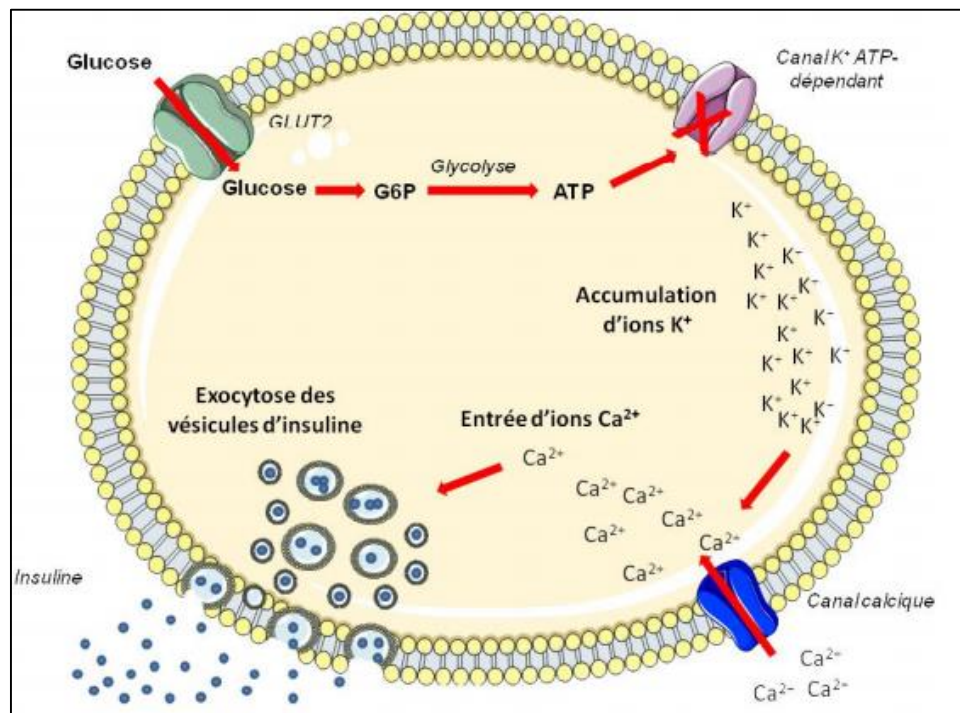


Figure 6. Sécrétion de l'insuline par les cellules β du pancréas (Duparc.,2012).

✓ Voies de signalisation de l'insuline :

Une fois sécrétée dans la circulation systémique, les effets anaboliques de l'insuline résultent de sa liaison sur un récepteur spécifique situé à la surface cellulaire de trois tissus cibles : le muscle, le foie et le tissu adipeux. Ce récepteur dispose d'une activité tyrosine kinase permettant son autophosphorylation suivie par la phosphorylation, sur des résidus tyrosines, de protéines substrats (IRS : Insulin Receptor Substrates) et de protéines adaptatrices de la famille SHC (src homologous and collagen protein) (Van Obberghen E. et al, 2001). Les deux voies majeures de la signalisation sont celles de la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) impliquée dans les effets métaboliques, et la voie des MAP kinases impliquée dans les processus de croissance, prolifération et de différenciation cellulaires. La transmission du signal insulinémique dans la cellule met en jeu les IRS1 et IRS2 (White M.F., 2002). Par l'intermédiaire de cette signalisation, l'insuline est capable d'induire la translocation du transporteur GLUT4 à la surface membranaire des cellules musculaires et adipocytaires (Saltiel A.R. et Kahn C.R., 2001 ; Bryant N.J. et al., 2002). Dans le foie, la voie insulinémique activera directement un ensemble de protéines et facteurs de transcriptions impliqués dans les voies métaboliques du glucose.

b. Rôle du glucagon:

Le récepteur au glucagon est une glycoprotéine membranaire de 63 kDa (Yengar R *et al.*,1984) qui appartient à la famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à une protéine G. Il est présent dans un grand nombre de tissus comme le foie, le rein, l'intestin, le cerveau, le tissu adipeux, le cœur et le pancréas (Burcelin Ret *et al.*,1995).

✓ Voies de signalisation de Glucagon :

La fixation du glucagon à son récepteur va entraîner le recrutement et l'activation de la petite protéine G associée au récepteur. Au moins deux types de protéines G sont connus pour être associés à ce récepteur : $G_{\alpha s}$ et G_q (Wakelam MJ.,1986).

Le récepteur au glucagon peut être couplé soit à une protéine G_s soit une protéine G_q . Dans le premier cas, la fixation du glucagon va entraîner l'activation de l'adénylate cyclase. La conséquence en sera l'activation de la PKA qui permettra, d'une part, d'initier la glycogénolyse et, d'autre part, d'activer le facteur de transcription PGC-1 α . Dans le cas d'un couplage avec une protéine G_q , la fixation du glucagon entrainera une augmentation de libération intracellulaire de calcium via l'activation de la PLC. Cette augmentation des taux de calcium participera, au même titre que PGC-1 α , à l'augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la régulation des différentes voies métaboliques (Duparc.,2012).

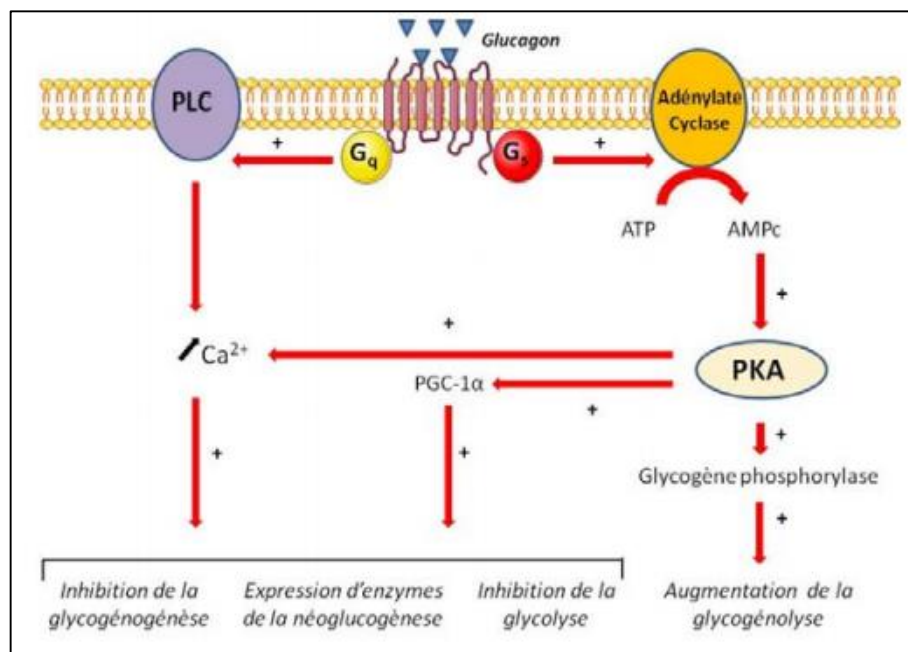


Figure 7. Voie de signalisation du glucagon (Duparc., 2012).

6. La régulation enzymatique de la glycémie :

1. L'alpha amylase:

a. Définition :

L' α -amylase comme toutes les enzymes est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires (Nouadri, 2011). Elle est une enzyme ubiquitaire, synthétisée chez tous les êtres vivants (Merabti, 2006). C'est une endo-enzyme, de masse moléculaire comprise entre 40 et 70 kDa (Panchal, 1990), qui hydrolyse au hasard les liaisons osidiques (1,4) de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et du glycogène à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaînes. Elle provoque la libération du glucose, du maltose et surtout d' α -dextrines (Kelly et al., 1997).

b. Nomenclature :

- Nom codifié : EC 3.2.1.1
- Nom commun : alpha -amylase
- D'autres nom (s): glycogénase, α -amylase; endoamylase; Taka-amylase A, maxilase.
- Nom systématique : 1,4 – alpha -D-glucane-4-glucano hydrolase (Schamburg et Slzmann, 1991 ; Dauter et al., 1999 ; Nouadri., 2011).

c. Les types :

Plusieurs types d'amylase existent, alpha (3.2.1.1), bêta (3.2.1.2) et gamma (3.2.1.3) (Yamamoto, 1995). La bêta-amylase et la gamma-amylase (glucoamylase) sont généralement d'origine végétale ou microbienne quoique la glucoamylase ait été retrouvée chez certains mammifères ou espèces aquatiques (Shetty., 2006).

d. Lieu de synthèse :

Chez l'homme, l'amylase est largement présente dans les sécrétions salivaires (amylase S) et pancréatiques (amylase P). Les amylases humaines S et P sont codées par les gènes Amy 1 et Amy 2A, respectivement, qui sont situés sur le chromosome 1 (Nishide et al., 1986 ; Horii et al., 1987 ; Tricoli et Shows., 1984).

L'amylase humaine S est constituée principalement de deux familles ; Les amylases de la famille A sont des protéines glycosylées de 62 kDa, alors que les amylases de la famille B sont des protéines non glycosylées de 55 kDa (Karn et Malacinski., 1978).

e. Structure :

L'alpha amylase pancréatique humaine (HPA) est une protéine monomère liant le calcium et le chlorure (Brayer et coll., 1995). Comme la séquence et la structure de l'alpha amylase salivaire sont semblables à celles de l'amylase pancréatique, elles ne sont pas traitées séparément. La protéine HPA de 496 acides aminés est composée de trois domaines (Figure 8).

Le domaine A (de couleur orange et rouge) est le plus grand des 3 domaines, et a un β/α -baril central parallèle à huit brins (de couleur orange et rouge ; résidus 1-99 et 169-404), le site actif (Asp197, Glu233 et Asp 300) et un site de liaison chlorure (résidus Arg195, Asn298 et Arg337).

Le domaine B (couleur bleu ciel ; résidus 100-168) est le plus petit des 3 domaines et est situé sur une boucle étendue entre le troisième brin β et α -hélice du noyau β -baril du domaine A. Il se compose d'un site de liaison au calcium (résidus Asn100, Arg158 et Asp167; His201 du domaine A).

Le domaine C (couleur rose ; résidus 405-496) se produit au terminus C et sa fonction n'est pas complètement comprise. Il se compose d'une structure β anti parallèle et est connecté au domaine A (PDB ID *5td4*; Zhang et al., 2016).

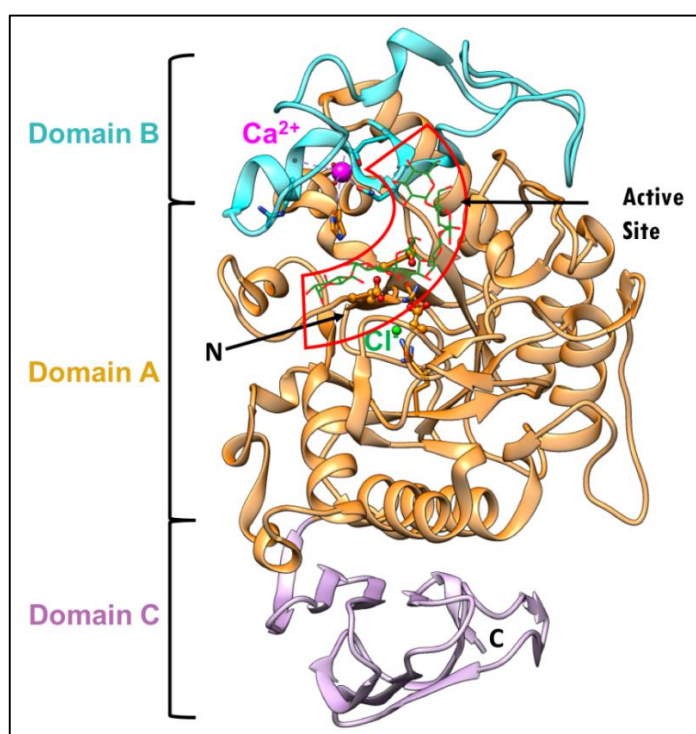


Figure 8. Diagramme en ruban de l'alpha amylase pancréatique humaine (HPA) et de ses sous-domaines en complexe avec un substrat octaose (PDB ID *5td4*; Zhang et al., 2016).

f. Caractéristiques physicochimiques d'alpha- amylase :

✓ Poids moléculaire :

Le poids moléculaire des α - amylases varie d'une origine à l'autre et d'une espèce à l'autre. Il est compris entre 40.000 et 90.000 daltons (Schombury et Salzmann., 1991). Celui des α -amylases levuriennes, s'échelonne entre 40.000 et 70.000 daltons (Panchal., 1990).

✓ Température optimum :

Selon l'origine et les espèces, les alpha amylases ont des températures optimales comprises entre 40°C et 90°C (Schombury et Salzmann., 1991). En effet, l'alpha amylase bactérienne est réputé pour sa grande thermostabilité, celle de *Bacillus amyloliquefaciens* est caractérisée par un optimum de température qui, selon les applications va de 70°C à 90°C, alors que l'optimum de l'alpha amylase fongiques se situe entre 50°C et 70°C (Sicard., 1982 ; Panchal., 1990).

✓ PH optimum :

L'alpha -amylase est très sensible au pH. Par conséquent, le choix du pH optimum est très essentiel pour la production de cette enzyme (McMahon et al., 1999). Selon Kindle, (1983), l'optimum d'activité peut être obtenu à des pH compris entre 4 et 8. Les α -amylases bactériennes, ont un optimum supérieur à la neutralité, alors que les fongiques, ont des pH optimums compris entre 4 et 6 (Larpent et al., 1992). Pour les levures, l'enzyme requiert selon les espèces des pH entre 4 et 6 (Panchal., 1990 Avwioroko., 2015).

✓ Effecteurs :

La régulation de l'activité enzymatique peut être assurée par des composés appelés effecteurs (activateurs ou inhibiteurs) qui agissent directement ou indirectement sur le site actif de l'enzyme (Garrett et Grisham., 2000).

Les inhibiteurs sont généralement des molécules de structure voisine du substrat, qui ne donnent pas de réaction ou réagissent beaucoup plus lentement que le substrat. L'étude de l'effet d'inhibiteur est utilisée pour déterminer le mécanisme catalytique d'une réaction enzymatique, de mieux connaître la spécificité d'une enzyme ainsi qu'obtenir des données physiques et chimiques concernant le site actif de l'enzyme (Garrett et Grisham., 2000).

Les ions Cu^{2+} , Fe^{2+} , et Hg^{2+} sont donc des inhibiteurs compétitifs (analogues structuraux aux activateurs (Mercier., 1985).

Les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} sont des activateurs de l'alpha amylase car ils font partie du site actif où ils participent à la stabilité structurale de l'enzyme (Mercier, 1985). Cependant, à une concentration supérieure à 20mM, le calcium devient inhibiteur (Boel et al., 1990).

✓ Spécificité du substrat :

Le substrat naturel de l'alpha-amylase est l'amidon (Pandey et al., 2000 ; Alais et al., 2008). Dans la molécule d'amidon, les unités de glucose sont reliées par des liaisons osidiques α (1-4) en formant ainsi des chaînes hélicoïdales d'amylose, sur lesquelles de courtes chaînes de même constitution se branchent par des liaisons osidiques α (1-6) (Mercier., 1985). La production d' α -amylase par certaines souches fongiques (*Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.* Et *Penicilium sp.*) est contrôlée par l'amidon ; Il s'agit d'une induction de l'enzyme par son substrat naturel (Leveau et Bouix., 1993 ; Nouadrimm., 2011).

g. Le rôle d'alpha-amylase :

La principale source de glucides pour l'homme est la digestion de l'amidon qui commence dans la bouche. La salive contient de l' α amylase, qui hydrolyse toutes les liaisons glycosidiques α (1-4) sauf les plus extrêmes et celles proches de points de branchement. Quand la nourriture mâchée complètement parvient à l'estomac, ou l'acidité inactive l' α -amylase, la longueur moyenne des chaînes d'amidon est passée de plusieurs milliers à moins de huit unités de glucose. La digestion de l'amidon continue dans l'intestin grêle sous l'influence de β -amylase agissant à partir d'extrémité non réductrice, et l' α -amylase pancréatique, qui est semblable à l' α -amylase salivaire. Cette enzyme dégrade l'amidon en un mélange du disaccharide maltose, du trisaccharide maltotriose, formé de trois résidus glucose réunis par des liaisons α (1-4) et d'oligosaccharides appelés dextrines qui présentent des branchements α (1-6). Ces oligosaccharides sont hydrolysés en monosaccharides par des enzymes spécifiques contenus dans les membranes de la bordure en brosse de la muqueuse intestinale : une α (1-6) glucosidase, qui détache un par un les résidus glucoses des oligosaccharides (**Figure 9**) (Voet.D et Voet.J., 2005).

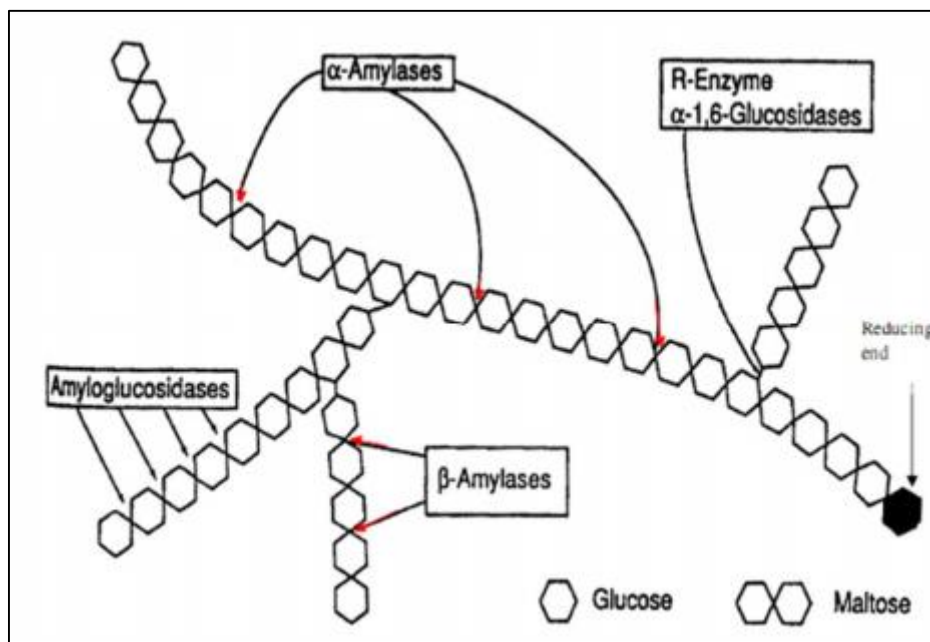


Figure 9 . La digestion enzymatique de l'amidon (Tormo *et al.*, 2004).

h. Mécanisme d'action :

L'activité catalytique de l'enzyme implique la participation des trois acides aminés du site actif : Asp 231 (nucléophile catalytique), Glu 261 (donneur catalytique de l'hydrogène) et Asp 328 (l'aide de catalyse) (Kolli et al., 2015).

L'activité des α -amylase reste essentiellement dépendante du pH et de la température. Le pH modifie la charge électrique des acides aminés présents sur le site catalytique, ce qui rend impossible les réactions de transferts d'atomes, nécessaires à la rupture des liaisons osidiques. La température favorise la formation du complexe enzyme/amidon (Faiveley., 2010).

Le mode d'action des α -amylases est peu connu et fondé sur des probabilités (Sales et al., 2012), il a été décrit en 4 étapes :

Etape 1, Formation du complexe enzyme/substrat : L'enzyme se fixe par affinité sur l'intérieur de la chaîne ou sur les extrémités réductrices, les chaînes d'amidon déformées par le complexe enzyme/substrat et stabilisées par un grand nombre de liaisons hydrogènes entre les acides aminés du site de fixation de l'enzyme et les groupements polaires (OH) de la chaîne carbonée (Faiveley., 2010).

Etape 2, L'attaque de la liaison α (1-4) : Au niveau de la liaison osidique située sur le site catalytique, l'acide glutamique est à l'origine de l'attaque, sous sa forme protonée (au pH optimal de l'enzyme), il fournit un atome d'hydrogène à l'atome d'oxygène de la liaison osidique à couper situé sur le carbone C4 de la chaîne, ce qui entraîne une rupture de la liaison osidique.

L'acide aspartique est en revanche ionisé au pH optimal de l'enzyme, forme électro-négative, il établit une liaison covalente avec le carbone anomérique ou C1, ce qui permet alors la libération de la première partie de la chaîne carbonée (Khacheba., 2008; Sales et al., 2012).

Etape 3, le retour à l'état initial de l'enzyme, cette étape est assurée par une molécule d'eau qui va hydroxylé le carbone anomérique, pour cliver la liaison covalente entre ce dernier et l'acide aspartique. L'acide glutamique, chargé négativement, capte un proton de la molécule d'eau, le groupement OH restant, instable, se fixe sur le carbone anomérique ou C1 après le clivage de la liaison entre C1 et l'acide aspartique, cette réaction rend possible l'éjection de la deuxième partie de la chaîne carbonée c'est l'étape 4 (Figure 10) (Khacheba, 2008 ; Devin, 2010; Sales et al., 2012). Donc l'acide glutamique semble jouer un rôle important dans la catalyse, ce résidu serait un donneur de proton et aurait donc une fonction de catalyseur général acide ou électrophile, de même, l'acide aspartique jouerait le rôle de catalyseur général basique ou nucléophile sur les transferts réactionnels permettant la rupture de la chaîne, c'est réaction nucléophile (Muralikrishna., 2005 ; Faiveley., 2010 ; Sales et al., 2012).

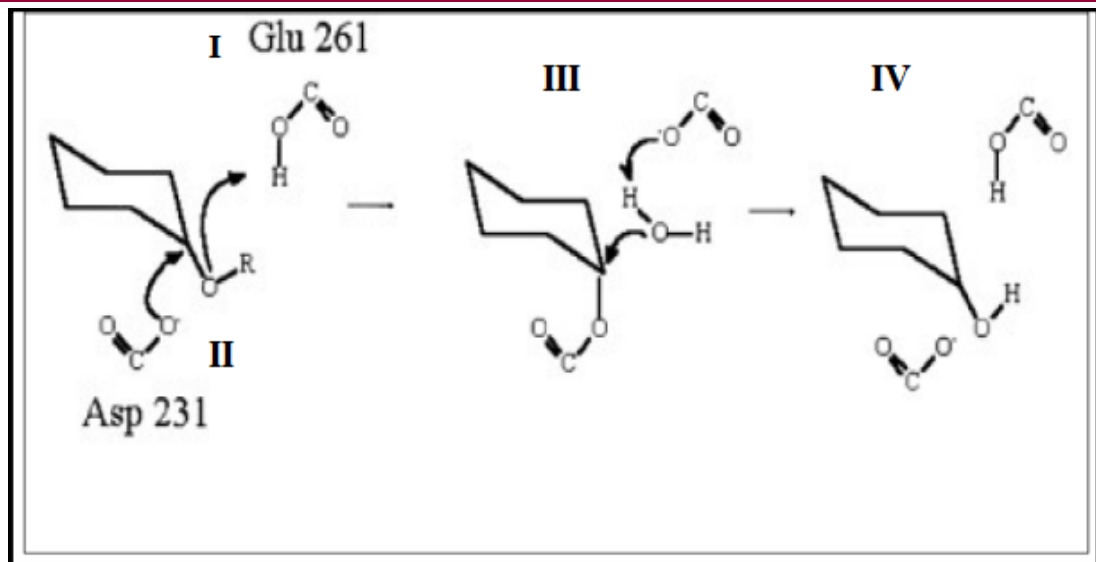


Figure 10. Mécanisme catalytique des hydrolases glycosyliques (Nielsen *et al.*, 2001).

2. Alpha-glucosidase

D'après la nomenclature IUPAC-IUBMB, les α -glucosidases (EC 3.2.1.20, α -D-glucoside glucohydrolase) sont définies comme des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques d'un substrat (comme chez les malto-oligosaccharides ou le glycogène par exemple) pour libérer un α -D-glucose. Elles peuvent également catalyser des réactions de trans-glycosylation pour synthétiser des composés α -D-glucosylés (Kato *et al.*, 2002 ; Ferrer *et al.*, 2005 ; Seo *et al.*, 2011).

II. Le diabète :

1. Définition :

Le diabète est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologies diverses, caractérisé par une hyperglycémie chronique, accompagnée par une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de sécrétion et/ou d'action de l'insuline (DeFronzo *et al.*, 2015). Il correspond à une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L (7 mmol/L) ou une glycémie supérieure à 2 g/L (11,1 mmol/L) à n'importe quel moment ou lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale à deux reprises (deux heures après le début d'un repas ou après ingestion de glucose orale de 75 g) (Sachon *et al.*, 2004 ; ADA, 2007).

2. Classification de diabète :

2.1. Le diabète insulino-dépendant (Diabète type 1) :

Ce type de diabète est une maladie que l'on appelle "auto-immune". La personne fabrique des anticorps qui ont la caractéristique d'attaquer ses propres cellules pancréatiques, en l'occurrence celles qui fabriquent de l'insuline. Le résultat en est la destruction des îlots de Langerhans où se fabrique l'insuline. Lorsque 90% des îlots sont détruits, le diabète apparaît (OMS., 1999). Il est appelé également le diabète maigre à cause de l'amaigrissement du patient, se déclenche avant l'âge de 40ans (Perlemuter et al., 2000).

2.2. Le diabète non insulino dépendant (Diabète type 2) :

Il survient le plus souvent après 50 ans représentant ainsi 85 à 90% des diabètes (Grimaldi et al., 2005). Dans ce cas le pancréas produit certes encore suffisamment d'insuline au début, mais celle-ci est sécrétée trop lentement et au mauvais moment et n'agit pas suffisamment à cause de l'excès pondéral (résistance à l'insuline) (OMS., 1999).

2.3. Diabète gestationnel (DG) :

Le diabète gestationnel est observé chez 3% des femmes enceintes, il peut être considéré comme transitoire. Il s'agit d'une intolérance au glucose conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable (Rodier., 2001). Généralement, ce diabète guérit spontanément après l'accouchement. Il peut, cependant, constituer un facteur de risque pour un diabète de type 2 (DNID) ultérieur. Les causes de sa survenue demeurent en grande partie inexplicables (Buysschaert., 2006).

2.4. Diabète du type MODY :

Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) ce sont des diabètes qui se développent chez l'enfant et le jeune adulte avant 30ans. Ils ressemblent au diabète type 2 dans leur expression clinique, mais la surcharge pondérale n'est pas un élément déterminant. Ce sont des formes héréditaires de diabète sucré transmises sous le mode autosomique dominant conduisant à un dysfonctionnement des cellules β (Buysschaert., 2006). Les MODY sont mono géniques et caractérisés par une sévérité variable (Hennen., 2001).

3. Physiopathologie:

3.1. Physiopathologie du DT1 :

Ce type du diabète est provoqué par les mécanismes auto immunes de destruction des cellules β . Les LT produisent des anticorps dirigés contre des antigènes exprimés à la surface des cellules β . La réaction anticorps-antigènes jointe à l'action directe des LT (Killers) entraîne la destruction de ces cellules (Perlemuter et Thomas., 2006).

3.2. Physiopathologie de DT2 :

Chez les personnes souffrant d'un diabète de type 2, l'organisme devient résistant à l'insuline. La production de l'insuline continue, mais l'organisme ne répond plus aussi bien à ses effets. Après un certain temps, la capacité du pancréas à produire de l'insuline diminue progressivement. C'est pour cette raison que le contrôle du diabète de type 2 nécessite une augmentation graduelle des types de médicaments lors du traitement. Que ce soit en raison du manque de l'insuline ou de l'incapacité à utiliser correctement cette hormone par l'organisme (**Favier et al., 2005**).

4. Facteurs influençant le DT1:

a. Facteurs environnementaux :

Il a été démontré que l'absence d'exposition à des organismes pathogènes au cours de la période d'enfance, limite la maturation du système immunitaire et augmente la susceptibilité à développer une maladie auto-immune (**Kekreja et Maclaren., 2002**).

b. Facteurs génétiques :

Plus de 20 régions différentes du génome humain représentent une certaine liaison avec le diabète de type 1 telles que la région codant pour le HLA sur le chromosome 6p21 et la région codant pour le gène de l'insuline sur le chromosome 11p 15 (gène appelé maintenant DSID2, ou en anglais IDDM2). Les types de HLA associés au diabète varient selon les populations étudiées (**Arfa et al., 2008**).

c. Facteurs immunologiques :

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune lente médiée par les lymphocytes T. Des études familiales ont prouvé que la destruction des cellules β par le système immunitaire (des auto-anticorps dirigés contre le pancréas) se fait sur nombreuses années (**Langlois., 2008**). L'hyperglycémie et les signes classiques du diabète n'apparaissent que quand 80% des cellules β ont été détruites (**Dubois., 2010**). Le DT1 peut être associé à d'autres affections auto-immunes dont des maladies thyroïdiennes, la maladie cœliaque, et certaines formes d'anémies (**Carneir et Dumont., 2009**).

d. L'infection virale :

Plusieurs virus (dont les virus coxsackie, de la rubéole, le cytomégalo virus, le virus Epstein-Barr et les rétrovirus) ont été associés au déclenchement du diabète de type 1. Les virus peuvent infecter les cellules bêta directement et les détruire ou susciter indirectement la destruction des cellules bêta en exposant les auto-Ag, en activant des lymphocytes autoréactifs, en simulant des séquences moléculaires d'auto-Ag qui stimulent une réponse immunitaire ou par d'autres mécanismes (**Erika F. Brutsaert., 2020**).

5. Facteurs influençant le DT2 :

a. Facteurs génétiques :

L'évidence de l'implication des facteurs génétiques dans le déclenchement du diabète de type 2 a été démontrée par les études familiales : la concordance se situe entre 60 et 100% pour les jumeaux monozygotes. Elle est d'environ de 40% pour les individus apparentés au premier degré des sujets diabétiques de type 2 (**Simonis-Bik et al., 2010**).

b. Facteur de l'environnement :

L'obésité, en particulier l'obésité androïde, la sédentarité, le tabagisme et l'âge augmentent considérablement le risque de survenue du diabète de type 2 (**Raverot., 2005**).

c. Troubles de la sécrétion de l'insuline :

La sécrétion de l'insuline est assurée par les cellules β des îlots de Langerhans pancréatiques. Dans les conditions physiologiques, la sécrétion de l'insuline est caractérisée par une cinétique dite biphasique (**Figure11**).

Elle est stimulée par une augmentation aiguë et transitoire de la concentration extracellulaire du glucose. Le niveau maximum de la sécrétion est atteint au bout de quelques minutes (pic précoce). Lorsque la concentration élevée est prolongée, un deuxième pic apparaît (pic tardif). Cette phase dure tant que le stimulus reste appliqué (**Magnan et Ktorza., 2005**).

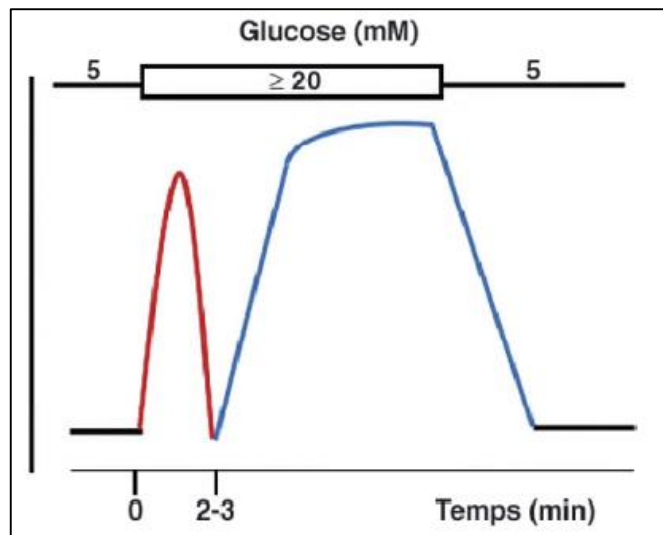


Figure 11. Sécrétion biphasique de l'insuline en réponse à un stimulus constant en glucose (**Magnan et Ktorza.,2005**)

d. Troubles de la sensibilité à l'insuline :

La diminution des effets de l'insuline sur les tissus insulino-sensibles (tissus musculaires, tissus adipeux, foie) provoque une hyperproduction de glucose par le foie, expliquant l'hyperglycémie à jeun et une partie des hyperglycémies interprandiales (Henri., 2011). L'insulino-résistance est donc caractérisable au niveau des tissus périphériques, en particulier, du transport du glucose dans le muscle et dans le tissu adipeux et de la production hépatique de glucose.

Cette insulino-résistance est aggravée par l'hyperglycémie et l'excès d'acides gras libres circulants ou de triglycérides stockés en excès dans le muscle. L'excès de la production hépatique de glucose est aussi majoré par les taux élevés d'acides gras circulants (Halimi., 2006).

6. Les traitements de diabète sucré (Les Anti Diabétiques Oraux) :**6.1. Généralité :**

En général, les anti diabétiques oraux (ADO) sont prescrits après un échec des règles hygiéno-diététiques 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 néoglucogenèse 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 hypoglycémiants (Carbutamide, Glipizide, Glibenclamide, Gliclazide, glibornuride, glimépiride) :** 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 β cellulaire, en diminuant l'insulino-résistance par action sur les récepteurs PPAR γ .
- **Les inhibiteurs des enzymes de l'absorption des glucides (Acarbose,) :** Ralentissent l'absorption digestive des glucides complexes.
- **Les glinides (Répaglinide) :** 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 (Bédou Denis., 2019).

6.2. Vue générale sur le mode d'action des ADO (de l'Acarbose et de Gliclazide comme des exemples) :

6.2.1. Mode d'action d'Acarbose :

L'acarbose (commercialisée en Algérie sous le nom de Acorbay 50mg) est un oligosaccharide complexe qui inhibe l'activité des α -glucosidases de la bordure en brosse de l'intestin grêle. Il n'accroît pas l'insulinosécrétion. L'action antihyperglycémique de ce médicament résulte de l'inhibition compétitive et réversible de l' α -amylase pancréatique et des hydrolases des α -glucosides liées à la membrane intestinale.

L' α -amylase pancréatique transforme les amidons complexes en oligosaccharides dans la lumière de l'intestin grêle, tandis que les α -glucosidases liées à la membrane intestinale transforment les oligosaccharides, trisaccharides et disaccharides en glucose et autres monosaccharides dans la bordure en brosse de l'intestin grêle.

La plupart des inhibiteurs des α -amylase, vont interagir avec les sites actifs d'une manière analogue au substrat, le mécanisme d'inhibition se produit à travers le blocage direct du centre actif de plusieurs sous-sites de l'enzyme (**Tormo et al., 1998**).

Chez les patients diabétiques, cette inhibition enzymatique retarde l'absorption du glucose et atténue la hausse postprandiale de la glycémie, ce qui améliore l'équilibre de la glycémie. Parce que l'acarbose a un mécanisme d'action différent, son effet favorable sur l'équilibre de la glycémie s'ajoute à celui des sulfonylurées, de la metformine et de l'insuline quand on l'associe à un de ces médicaments (**Bayer Inc., 2014**).

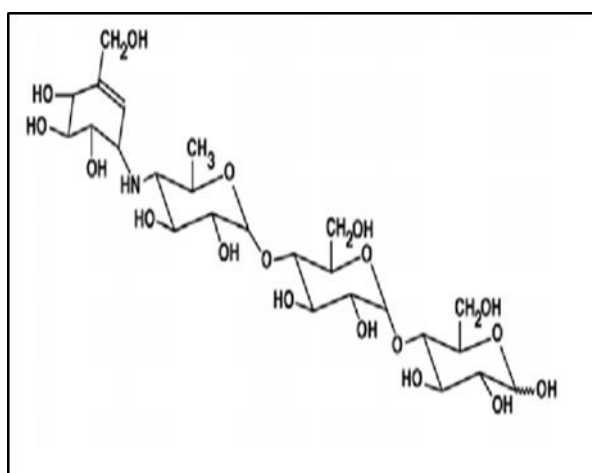


Figure 12.Formule développée de l'acarbose.

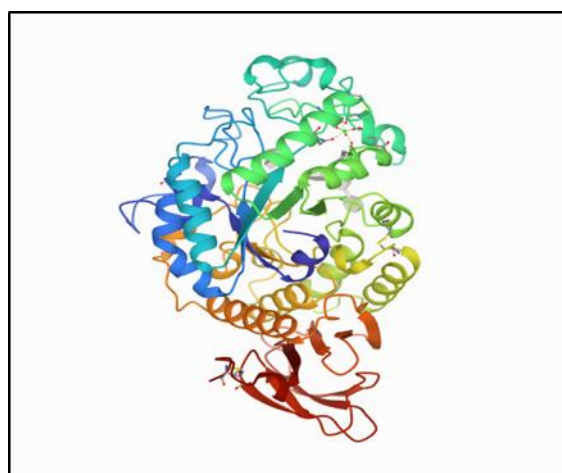


Figure 13.L'alpha amylase en complexe avec l'acarbose(PDB.,1998).

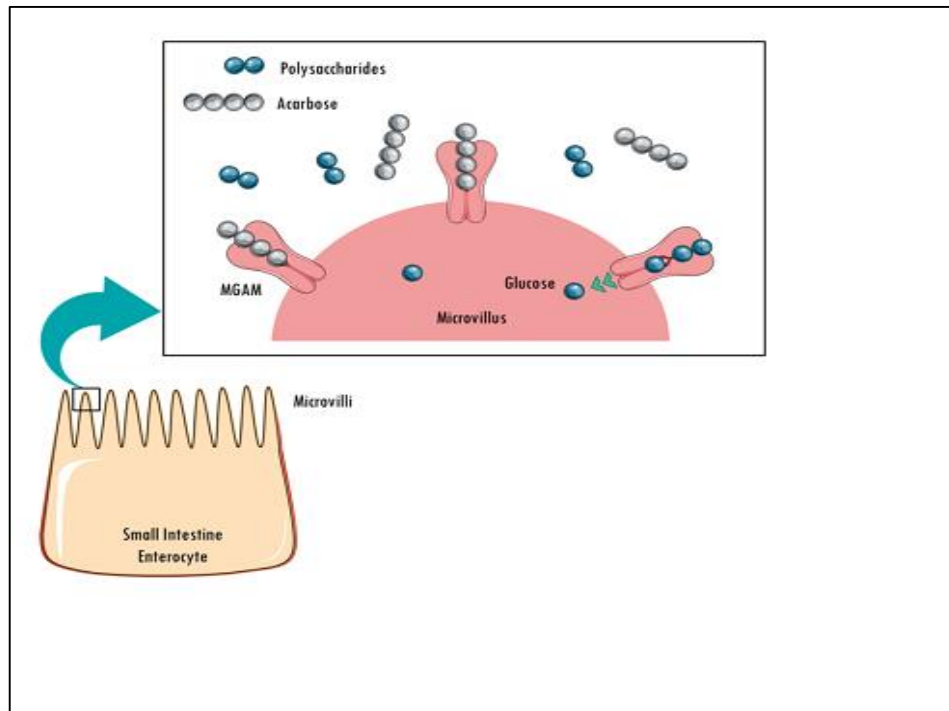


Figure 14. L'inhibition compétitive de l'alpha glucosidase (MGAM) par l'acarbose (Bischoff, 1991).

6.2.2. Mode d'action de Gliclazide :

Le gliclazide en comprimés à libération modifiée est un agent hypoglycémiant de la classe des sulfonylurées. L'action hypoglycémiante du gliclazide en comprimés à libération modifiée est liée à une amélioration de la sécrétion insulinaire par la cellule bêta fonctionnelle du pancréas. Il potentialise la sécrétion d'insuline et en améliore la dynamique. L'augmentation des réponses postprandiales de sécrétion d'insuline et de peptide-C persiste après deux années de traitement. (Apotex Inc.,2017).

Chapitre II

*Chimie de ferrocène et des dérivés
ferrocéniques étudiés*

I. Généralités sur les ferrocènes :

1. Historique des ferrocènes :

Les composés organométalliques peuvent être définis comme des composés dans lesquels il existe au moins une liaison métal-carbone; Plus généralement, la chimie organométallique concerne les transformations des composés organiques par des métaux (**Bechki et al., 2013**). La chimie des organométalliques est restée pour une grande période, un champ d'investigation limité, à cause de l'instabilité des composés contenant des liaisons métal carbone synthétisés par les premiers chimistes. Malgré cet obstacle d'instabilité des organométalliques, les recherches ont continué grâce à plusieurs savants comme Werner, Victor Grignard, Sabastier, qui ont préparé des composés organométalliques, mais la grande évolution de la chimie organométallique se produisit au troisième quart du XX^{ème} siècle à la suite de la découverte du ferrocène (**Boukebbous., 2009**).

La chimie des métaux de transition était maîtrisée par les chimistes allemands avant la deuxième guerre mondiale. Cette discipline a été transférée aux anglais et aux américains après la deuxième guerre mondiale. En 1951, Kealy et Pauson ont publié pour la première fois dans un article célèbre au journal Nature, la synthèse de bis(cyclopentadiényl)fer ou ferrocène (**Kealy et Pauson., 1951**). Ils ont essayé de préparer le dihydrofulvalène par oxydation d'un réactif de Grignard de cyclopentadiényle suivant par l'équation suivante. Le composé obtenu à partir de cette réaction était un produit orange et thermiquement très stable (**Henni., 2017**).



La structure proposée par Pauson pour ce composé a une forme de résonance dans laquelle le fer est lié au cyclopentadiényle par une liaison sigma avec une formule ionique canonique comme le montre le schéma suivant :

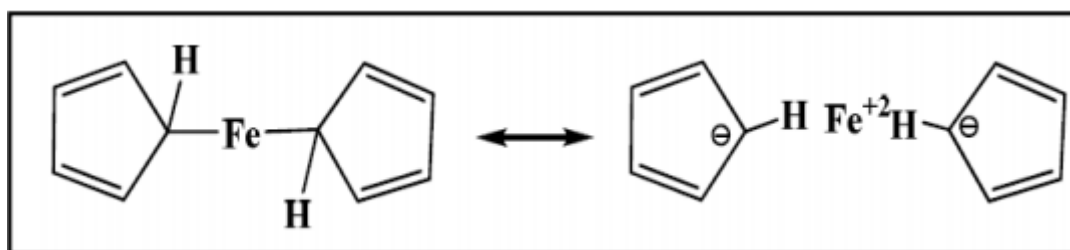


Figure 15: La structure de résonance proposée par **Kealy et Pauson., 1951**.

Alors que la formule correcte de complexe π (fer lié aux cinq carbones de chaque cycle), ne fut établie que l'année suivante par Wilkinson et Woodward. Indépendamment, Ernst Otto Fischer à Munich arriva à la même conclusion. La structure du ferrocène fut ensuite confirmée par spectroscopie de RMN et cristallographie aux rayons X (Boukebbous.,2009).

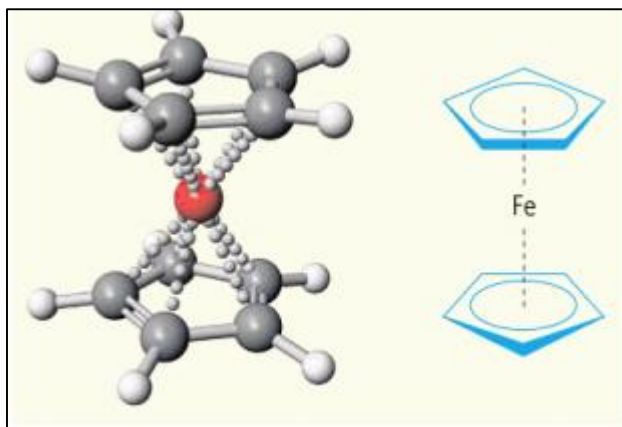


Figure 16 : Structure correcte de ferrocène (Woodward et al., 1952).

Les recherches sur la synthèse, les structures et les propriétés des dérivés du ferrocène ont été continuellement actives au cours des dernières décennies. De nombreux dérivés ferrocéniques ont été synthétisés et leurs propriétés et applications ont été étudiées à fond, ce qui a favorisé le développement de la théorie de la liaison chimique et de la chimie structurale (Yong-Hua., 2007).

2. Définition du ferrocène:

Le ferrocène est un composé organométallique de formule $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$. Il se présente sous forme d'un solide orange avec une odeur caractéristique (Cyril K., 2010). C'est le prototype des métallocènes. Il est composé de deux cycles pentadiényle entourant un centre métallique. Ils sont aussi appelés composés « sandwich » (Zerari, A., 2013).



Figure 17 : Ferrocène sous forme de poudre orange .

3. Liaisons et structures électroniques du ferrocène :

La longueur moyenne de la liaison C-C dans les deux cycles pentadiényle du ferrocène est de 1.389 Å, une valeur qui est très proche de celle du benzène (1.395 Å). En plus de la longueur de liaison C-C dans les cycles pentadiényle qui est différente pour chaque métallocène, une autre liaison caractéristique de chaque métallocène est celle de M-C. Pour le ferrocène, la longueur Fe-C est égale à 2.03 Å (Terki., 2007).

Le ferrocène est de loin le plus stable des métallocènes. 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 π à six sur chaque cycle. Ils sont donc aromatiques. Ces douze électrons π pour chaque cycle forment des liaisons covalentes avec le métal. Ajoutés aux six électrons de la couche d du fer, le complexe obéit à la règle des 18 électrons (Bioud et Lassoued., 2015).

4. Processus chimique de 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 OH^- en solvatant très efficacement le contre-ion Na^+ . Une amine suffisamment basique comme le diéthylamine peut être utilisée pour former l'ion cyclopentadiényle à partir du cyclopentadiène (Khalef., 2012).

5. Réactivité :

Les ferrocènes substitués peuvent être préparés directement ou indirectement. Dans la préparation indirecte, la molécule de ferrocène est utilisée comme un point de départ pour la synthèse des autres dérivés ferrocéniques, tandis que dans la synthèse directe, le ferrocène substitué est préparé par la réaction d'un composé dérivé de cyclopentadiène convenablement substitué avec le fer par des méthodes semblables à celles utilisées pour la préparation du ferrocène lui-même. Seulement, les bases fortes telles que le réactif de Grignard, les organothalliums, les réactifs de lithium ou de sodium, peuvent donner de bons rendements de dérivés ferrocéniques à partir de cyclopentadiènes substitués (G. M Sheldrick., 1998).

5.1. Réaction de substitution :

L'atome de fer qui se lie avec les radicaux cyclopentadiényles, a une influence directe sur les propriétés chimiques de ferrocène et sur le mécanisme de la substitution. On suppose que les substitutions électrophiles se produisent selon un processus réactionnel général, au cours duquel le groupement électrophile réagit d'abord avec l'atome de fer pour donner un intermédiaire cationique π -diénique ce mécanisme explique pourquoi dans le cas des substitutions électrophiles

les réactivités relatives des différents dérivés du ferrocène vont de pair avec la facilité d'oxydation de l'atome de fer (Hanzab, N et Houas, M., 2013).

5.2. Acylation :

L'acylation du ferrocène, selon Fridel et Crafts peut être effectuée dans des conditions très douces avec, par exemple l'anhydride acétique contenant de l'acide phosphorique comme catalyseur conduit au mono-acétylferrocène. Avec le chlorure d'aluminium comme catalyseur on peut obtenir un bon rendement soit de mono soit du 1,1-diacétylferrocène selon les proportions de réactif employé (Bechki, M.Kh., 2012).

6. Les propriétés du ferrocène :

6.1. Propriétés physicochimiques

Le ferrocène est un solide cristalin orange de masse molaire $186,04 \text{ g.mole}^{-1}$, très stable à l'air avec un point de fusion de $173 \text{ }^\circ\text{C}$ 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 $0,1 \text{ mg/ml}$ à 21°C , 100 mg/ml dans le DMSO à $19,5^\circ\text{C}$. 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).

6.2. Propriétés électrochimiques

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 (Bechki, 2012).

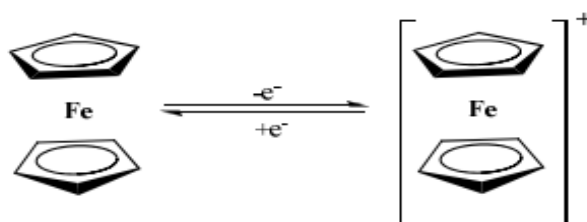


Figure 18. Oxydation mono électronique réversible de la ferrocène (Neghmouche et al., 2010).

La réversibilité de la réaction d'oxydo-réduction a été démontrée par voltamétrie cyclique, les paramètres électrochimiques tirés de voltamogramme de ferrocène montrent que le processus d'oxydo-réduction se fait d'une façon rapide, réversible et monoélectronique (Bechki, 2012).

6.3. Propriétés spectrales

6.3.1. Infrarouge

La spectroscopie infrarouge du ferrocène est relativement simple à cause de sa structure symétrique. Il présente une bande d'absorption à 3075 cm^{-1} équivalente à l'élongation de la liaison C-H aromatique. Il existe uniquement quatre bandes apparentes : Deux à 811 et 1002 cm^{-1} sont équivalentes à la vibration de flexion de C-H, et une à 1108 cm^{-1} équivalente à la vibration antisymétrique du cycle de pentadiényle. La bande d'absorption à 1411 cm^{-1} est équivalente à la vibration d'éloignement antisymétrique de C-C du cyclopentadiényle non substitué (Khalef, 2014).

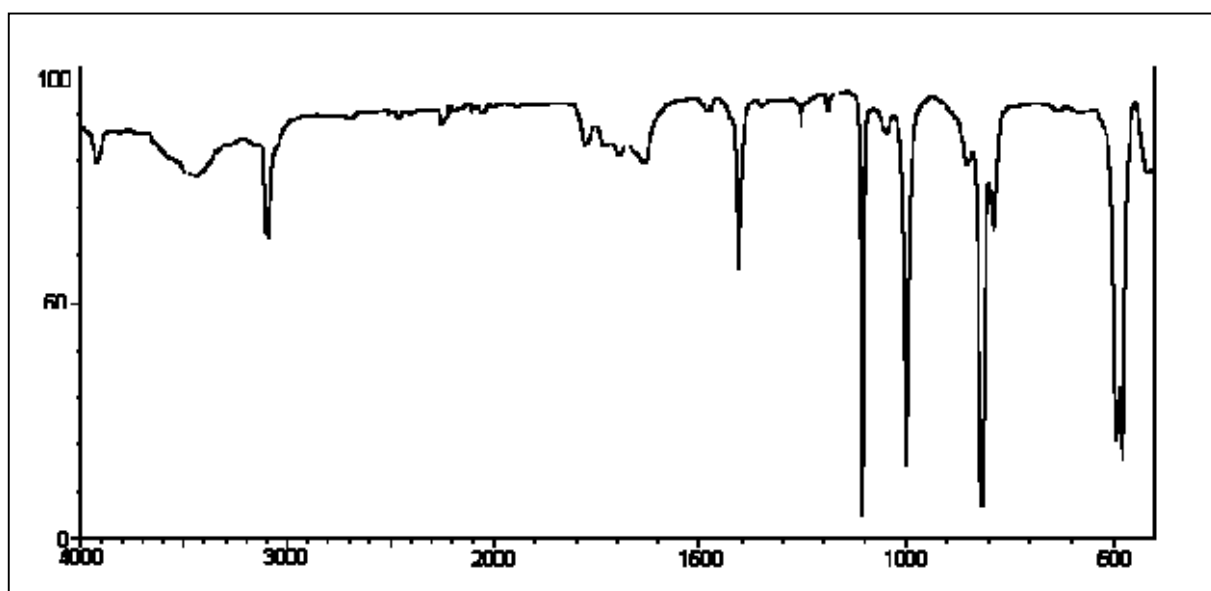


Figure 19. Spectre IR de ferrocène (Khalef, 2014).

6.3.2. Résonance Magnétique Nucléaire RMN

RMN ^1H

Le spectre RMN ^1H de la molécule de ferrocène est très simple, il présente un seul pic correspond aux dix protons de deux cycles de cyclopentadiényles à 4.15 ppm.

RMN ^{13}C

De même le spectre RMN ^{13}C de la ferrocène présente un seul pic à 68 ppm correspond aux dix atomes de carbone de deux cycles de cyclopentadiényles (Mahmoudi et Nemsii, 2009).

6.4. Structure Cristalline

La structure cristalline de ferrocène a été étudiée par **Wilkinson et al.** par diffraction des RX. C'est grâce à ces analyses que les longueurs des liaisons C-C, C-Fe, et C-H ont été déterminés exactement (**Khelef, A., 2014**).

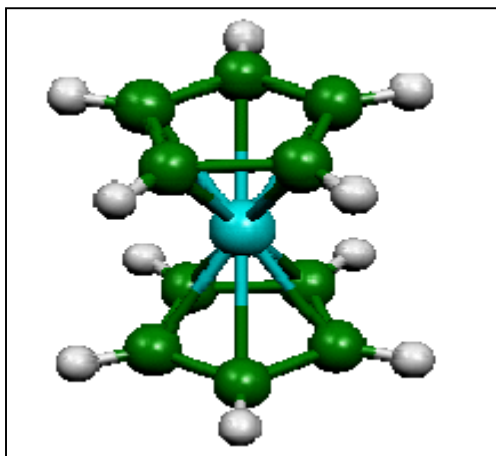


Figure 20. Structure cristalline de ferrocène (**Kopp., 2010**).

7. La Chimie médicinale de ferrocène :

Le ferrocène a attiré une attention particulière car il offre des propriétés attrayantes telles que la neutralité, la lipophilie, de bonnes propriétés redox, une stabilité chimique et une faible toxicité. De nombreux composés ferrocéniques présentent une fascinante activité antibactérienne, antifongique, cleavage d'ADN, cytotoxiques et activité antitumorale. L'utilisation du ferrocène dans la chimie médicinale est un domaine de recherche vigoureux, certains dérivés du ferrocène sont très actifs dans les dosages in vitro et in vivo (**Sansook., 2017**).

7.1. L'activité anti-oxydante

Les dérivés du ferrocène contenant des atomes d'azote sont connus pour avoir in vitro une capacité de piégeage des radicaux libres et une activité antioxydante. L'activité antioxydante des dérivés de ferrocène a d'abord été étudiée à la fin des années 1950, lorsque Acton et Silverstein ont rapporté la synthèse et l'évaluation antioxydant de certain nombre de ferrocénecarboxyamides N-substitués et de dérivés de ferrocénylamine. Zhang et Liu ont également étudié l'activité antioxydant 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'activité antioxydant (**Khelef et Lanez., 2015**).

7.2.L'activité anti-cancéreuse

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, M., 2010).

7.3.L'activité anti-Toxoplasmose

L'atovaquone est une molécule utilisée dans le traitement de la toxoplasmose. En raison de problèmes d'intolérance, de concentrations et d'effets secondaires de l'atovaquone, des recherches sur de nouvelles molécules restent nécessaires. Des tests biologiques à partir des homologues ferrocéniques de l'atovaquone ont été réalisés. Trois de ces dérivés ferrocéniques, possédant une chaîne alkyle de 6 à 8 carbones en R2, se sont révélés actifs sur des souches Toxoplasmas. De plus, ces nouveaux composés sont particulièrement efficaces sur des souches résistantes à l'Atovaquone (Baraméea et al., 2006).

7.4.L'activité antivirale

L'activité des dérivés ferrocéniques antiviral basé sur l'étude de l'effet de ces composés sur virus VIH, responsable des symptômes du syndrome d'immunodéficience; Il a été montré que les dérivés ferrocéniques entravent la multiplication du virus de SIDA en inhibant l'enzyme de transcriptase inverse, mais son effet inhibiteur sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte est plus important (Hemmami, 2017).

II. Les dérivés ferrocéniques étudiés :

1. N1-Ferrocenylméthylcytosine :

La synthèse de N1-Ferrocenylméthylcytosine (FcCy) a été obtenue à partir du sel quaternaire bien connu triméthyl ferrocéylméthyl-iodure d'ammonium et la base nitrogène cytosine dans l'eau bouillante. Le rapport molaire cytosine/sel quaternaire était de 2/1,3, et la durée de la réaction était de six heures. Le produit final a été lavé à l'eau et recristallisé à partir de diméthylformamide à produire du FcCy à 65% de rendement. Plus de détails sur la procédure de préparation sont présentés dans la section expérimentale (Houlton A et al., 1999).

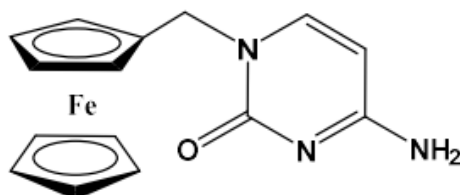


Figure 21. Structure chimique de N1-ferrocenylméthylcytosine.

2. N1-Ferrocenylméthylthymine

La synthèse de N1-Ferrocenylméthylthymine (FcTh) a été obtenue à partir du sel quaternaire bien connu triméthyl ferrocéylméthyl-iodure d'ammonium et la base azotée de thymine dans l'eau bouillante. Le rapport molaire cytosine/sel quaternaire était de 2/1,3, et la durée de la réaction était de six heures. Le produit final a été lavé à l'eau et purifié par chromatographie sur colonne éluant l'alumine avec un mélange de 9/1 chloroforme/méthanol, la fraction principale lorsque évaporé a donné FcTh en rendement de 25%. Plus de détails sur la procédure de préparation de ce composé sont présentés la section expérimentale (**Houlton A et al., 1999**).

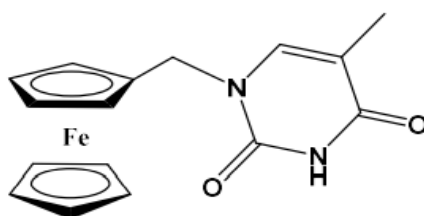


Figure 22. Structure chimique de N1-Ferrocenylméthylthymine.

3. N6-Ferrocenylmethyladénine :

La synthèse de N1-Ferrocenylmethyladénine (FcAd) a été obtenue à partir la deuxième fraction de la colonne décrite dans la procédure précédente pour la préparation de N6,9-bis(ferrocenylméthyl)adénine éluant avec 1 % méthanol/chloroforme (**Houlton A et al., 1999**).

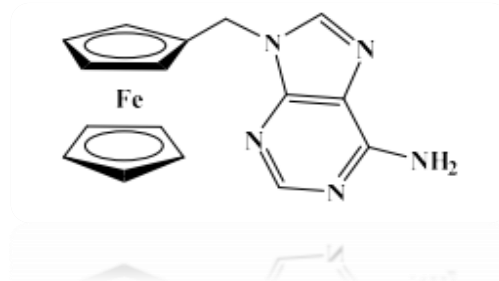


Figure 23. Structure chimique de N1-FerrocenylméthylAdénine.

Chapitre III

Contexte théorique des différentes techniques expérimentales utilisées



Notre étude vise à évaluer l'activité antidiabétique des dérivés N-ferrocényl-base nucléique *in vitro*, cette activité peut être étudié par différentes techniques d'analyse, parmi ceux-ci les plus utilisés dans ce type de test est la spectroscopie UV-Visible. Ainsi, l'étude *in silico* des différents paramètres physicochimiques, de Drug-likeness et de pharmacocinétique par l'outil bio-informatique SwissADME et aussi de l'interaction entre les DFC-BN et l'alpha amylase via Docking (L'amarrage moléculaire) qui permet de confirmer théoriquement nos résultats expérimentales.

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, É., 2008 et Gratien, E., 2008**).

1.1.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^{-1} soit 160 à 665 Kj.mol^{-1}). 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, A., 2012**).

1.2. Loi de Beer-Lambert

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

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

Avec ϵ_{λ} : coefficient d'absorption (ou d'extinction) molaire du composé à la longueur d'onde λ . L'unité du coefficient d'adsorption molaire est : $\text{Lmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, 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, J., Randon J. 2004 et Boutiti A., 2010**).

2. L'amarrage moléculaire :

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**). L'amarrage moléculaire (ou le docking moléculaire) est l'un des outils qui confère à résolu ces problèmes.

2.1. 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**).

2.2. Les étapes de Docking :

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

2.2.1. Amarrage moléculaire avec l'AutoDock Tools

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**).

2.2.2. 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 :

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

ΔG_{vdw} : énergie de dispersion / répulsion des atomes,

ΔG_{hbond} : énergie des liaisons d'hydrogène,

ΔG_{elec} : énergie des interactions électrostatiques,

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

ΔG_{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,

ΔG_{sol} : est un autre terme lié à l'entropie qui décrit les variations d'énergie du système lors de la désolvation du ligand au moment de la complexation au récepteur (**Lanez E., 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⁻¹ mol⁻¹) ; **T** : température absolue (298.15 K) (**Garrett, M. Met al., 1998**).

3. 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**).

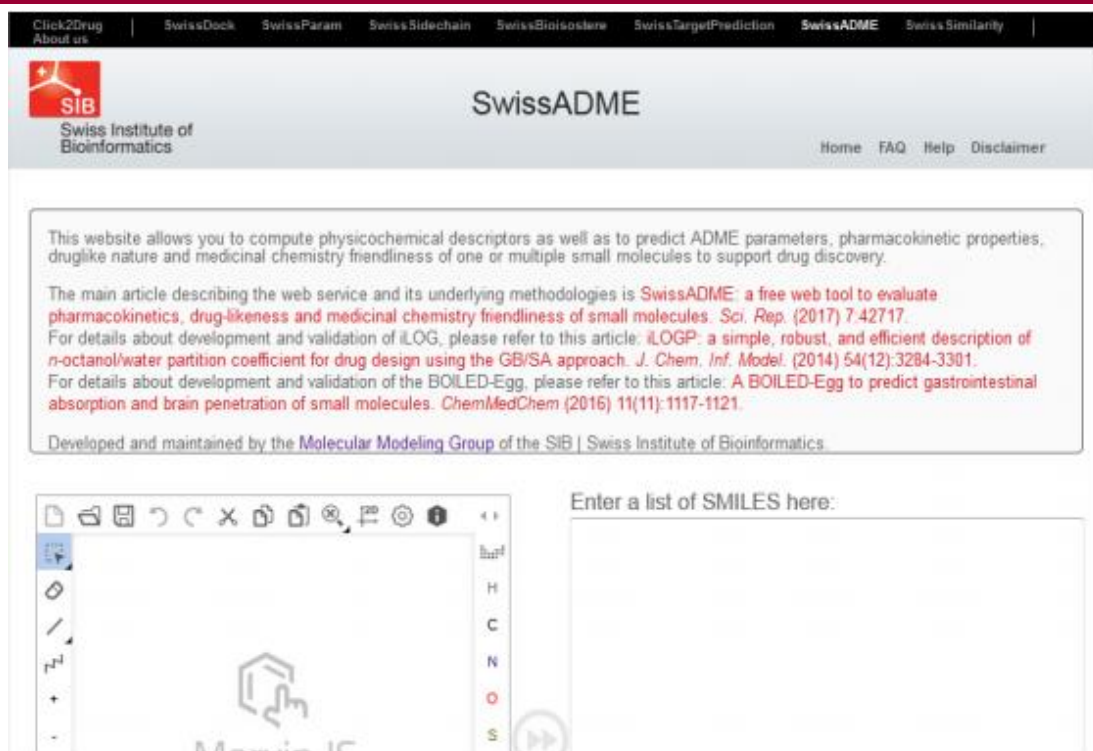


Figure 24. Page d'accueil du serveur SwissADME.

4. admetSAR

Le serveur de relations structure-activité ADMET, intitulé admetSAR, est une connaissance et un outil complets pour prédire les propriétés ADMET des médicaments candidats et des produits chimiques environnementaux. Dans notre serveur, plus de 200 000 points de données annotés ADMET pour environ 96 000 composés uniques ont été sélectionnés manuellement à partir de grandes littératures. Le serveur admetSAR fournit une interface conviviale pour rechercher facilement des profils chimiques, par CASRN, par nom commun et par recherche de similarité. La nouvelle version d'admetSAR (version 2.0) se concentre principalement sur la prédiction *in silico* des propriétés chimiques d'ADMET. Plus de 40 modèles prédictifs ont été mis en œuvre dans admetSAR pour de nouvelles propriétés chimiques ADMET dans le filtrage *in silico* (Cheng *et al.*, 2012).

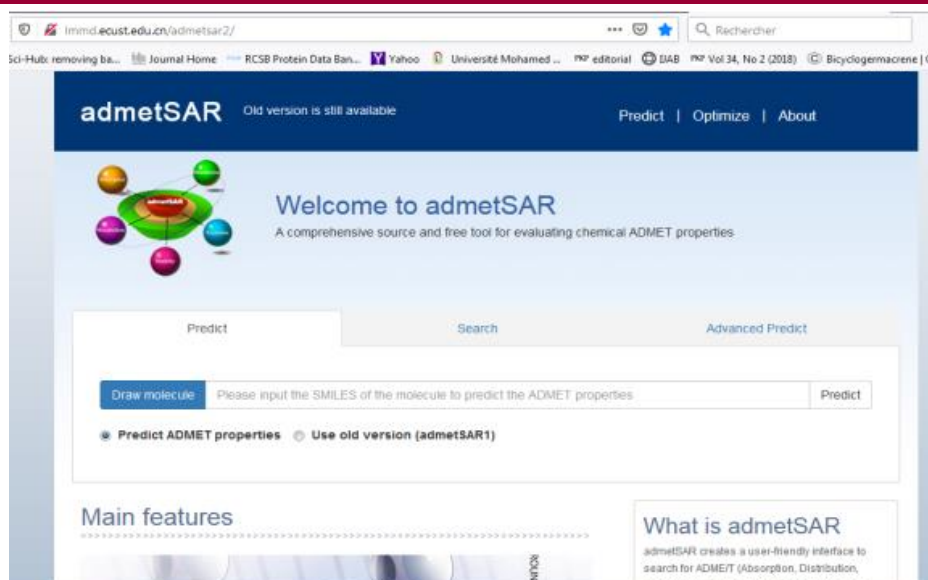


Figure 25. Page d'accueil du serveur admetSAR .

5. 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. 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 (P.Banerjee et al., 2018).

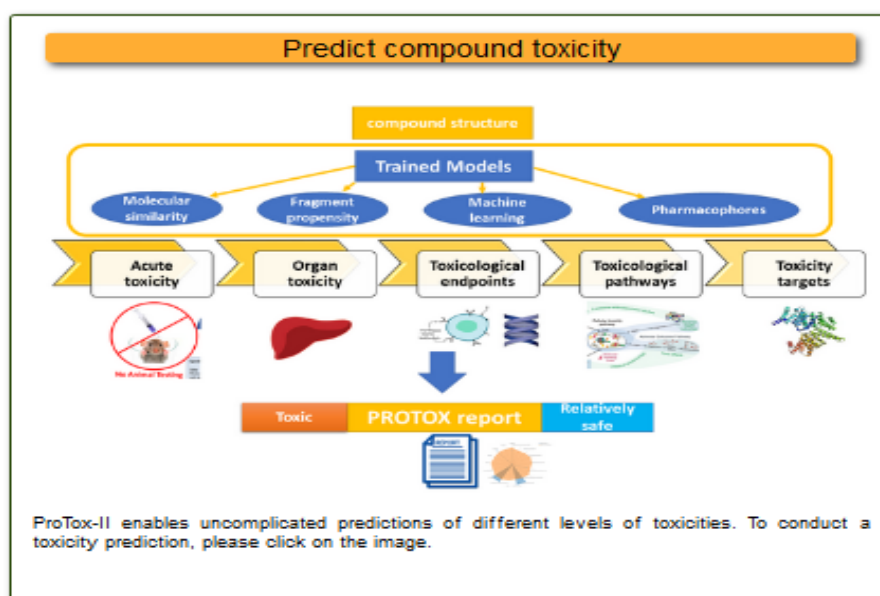


Figure 26. Page d'accueil du serveur Protox (P.Banerjee et al., 2018).

Partie II

Partie Expérimentale

"La connaissance s'acquiert par l'expérience, tout le reste n'est que de l'information"

Einstein

Chapitre 1

Matériels et méthodes

Nous avons réalisé notre étude au niveau de laboratoire de recherche de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes (VTRS) à l'université d'Echahid Hamma Lakhdar à El-oued.

1. Réactifs utilisés:

1.1.Alpha Amylase

Une solution d'alpha amylase (commercialisé sous le nom de Megamylase avec une activité spécifique de 3000 (U. CEIP/cp) à une concentration de 0.5mg/ml a été préparée dans le tampon phosphate saline (à ph=6,9).

1.2.Acarbose

Une solution d'acarbose (commercialisé sous le nom de Acorbay 50mg) à différentes concentrations : (2mg, 4mg, 6mg, 8mg et 10 mg) par 1ml a été préparée dans le tampon phosphate saline (à ph=6,9).

1.3.Gliclazide

Une solution de Gliclazide (commercialisé sous le nom de Diamicon 30mg). Une gamme des concentrations croissantes a été préparée : (2mg, 4mg, 6mg, 8mg et 10 mg) par 1ml a été préparée dans le tampon phosphate saline (à ph=6,9).

1.4.Substrat

Comme substrat, nous avons utilisé l'amidon soluble 250mg d'amidon est dissous dans 25ml de l'eau distillé à une température de 50-70°C sous agitation.

1.5.Réactif chromogène 3,5-dinitrosalicylique (DNSA)

Dans un erlen meyer, 1 g de DNSA est dispersé dans 40 ml d'eau distillée. La solution obtenue est de couleur jaune opaque. En parallèle, nous avons préparé une solution de NaOH (2N) dans 20 ml d'eau distillée dans laquelle nous avons dissous 30 g de tartrate double de sodium et de potassium sous agitation. Une fois les deux solutions sont mélangées, le réactif devient limpide avec une couleur orange. Le volume final est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à +4°C (Kez Amel., 2018).

1.6. Les dérivés ferrocéniques étudiés:

Les DFc-BN étudiés ont synthétisé au laboratoire de Valorisation et Technologie des Ressources Sahariennes (VTRS), ils sont présentés dans la figure2 :

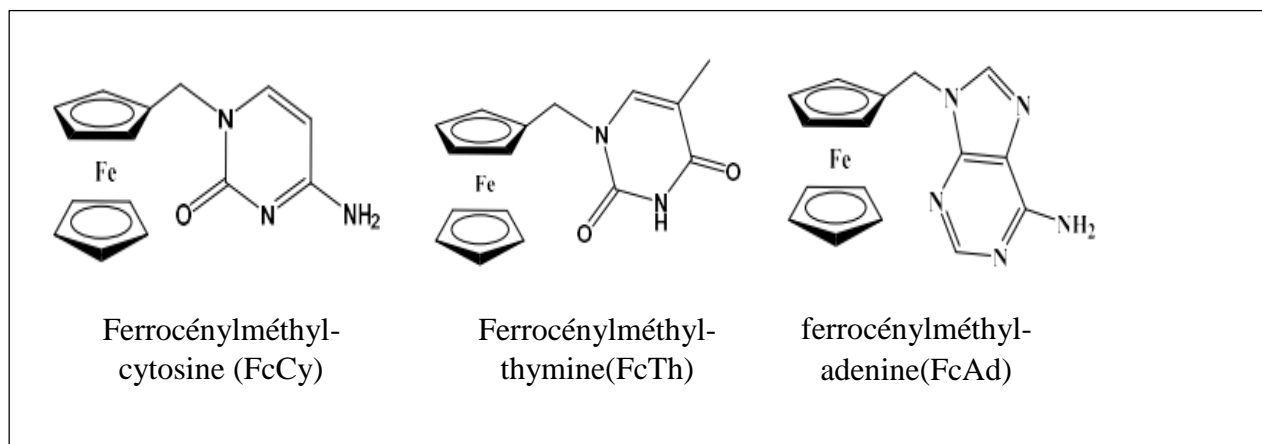


Figure27. Les structures chimiques des DFc-BN étudiés.

2. Etude de l'activité anti diabétique :

2.1. Etude in silico par méthode bio-informatique :

La structure des dérivés ferrocéniques a été préparée et optimisée avec le logiciel Gaussian 09, puis elle est enregistrée sous format pdb.

2.1.1. Evaluation des paramètres pharmacocinétique par SwissADME :

Pour évaluer l'activité antidiabétique in silico, nous avons d'abords déterminer les paramètres physicochimiques et pharmacocinétiques des dérivés ferrocéniques étudiés par l'outil SwissADME disponible à (<http://www.swissadme.ch>), pour ce fait les structures des dérivé ferrocéniques ont été obtenue sous forme SMILLE par le logiciel open Babel (**Tableau 1**).

La toxicité de ces dérivés ont été ensuite étudier à l'aide d'un serveur en ligne (ProTox-II16) qui donne les valeurs de la toxicité, de la cytotoxicité, de la mutagénicité, de la cancérogénicité et de l'immunotoxicité prévues. La Prédiction des propriétés de la toxicité des dérivés étudiés ont été fait par le serveur en ligne admetSAR : (<http://lmmmd.ecust.edu.cn/admetSar2>). Et Protox2 : (https://bioinformatics.charite.de/prottox_II).

Tableau 01. Structure SMILES des ferrocénylméthyl-bases nucléiques étudiées et les médicaments Acarbose et Gliclazide.

Composé	Structure SMILES
FcAd	<chem>[Fe][C@]1([CH]C=C[CH]1)Cn1c2c(c(ncn2)N)nc1.C1=CCC=C1</chem>
FcT	<chem>[Fe][C@@]1(Cn2c(=O)[nH]c(=O)c(c2)C)C=CC=C1.C1=CCC=C1</chem>
FcC	<chem>[Fe][C@@]1(Cn2c(=O)nc(N)cc2)C=CC=C1.C1=CCC=C1</chem>
Gliclazide	<chem>C1[C@H]2[C@H](CN1NC(=O)NS(=O)(=O)c1ccc(cc1)C)CCC2</chem>
Acarbose	<chem>C1(=C[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@H]1O)O)O)N[C@H]1[C@@H]([C@H]([C@H](O[C@H]2[C@@H]([C@@H]([C@H](O[C@H]3[C@@H]([C@H]([C@H](O)O[C@@H]3CO)O)O)O[C@@H]2CO)O)O)[C@@H]1C)O)O)CO</chem>

2.1.1.1. Généralité sur un drug-like :

Pour qu'une molécule soit un candidat médicament devenir un médicament, elle doit avoir une bonne activité biologique, une efficacité thérapeutique et absence ou peu de toxicité ainsi Il devrait posséder des propriétés qui lui permet d'avoir une très bonne biodisponibilité. Ce sont donc des molécules dites drug-like qui possèdent des propriétés ADME permettant une bonne absorption orale (règle de Lipinski) (Lipinski **CA.,2000** ; Lipinski **CA et al.,1997**), et ces sont aussi d'après Walters et Murcko (**Walters WP et al.,2002**) des molécules qui contiennent des groupes fonctionnels et/ou qui ont des propriétés physicochimiques similaires à la plupart des médicaments connus.

Après le passage avec succès des tests cliniques de la phase II, les chercheurs ont observé que les molécules « drug-like » (**Lipinski.,2004**) arrivent à satisfaire au moins trois des propriétés de Lipinski (**Lipinski et al.,1997**) suivantes :

- Poids moléculaire inférieur à 500 Dalton.
- LogP calculé inférieur à 5.

- Nombre d'accepteurs de liaison hydrogène inférieur ou égal à 10.
- Nombre de donneurs de liaison hydrogène inférieur ou égal à 5.

Des compléments ont été apportés, notamment par Veber (Veber et al.,2002) :

- Nombre de liaisons rotatives NROT : ($0 < \text{NROT} < 10$)
- Polarité TPSA : ($20 < \text{TPSA} < 130$)
- Saturation Csp3 : ($0.25 < \text{Fraction Csp3} < 1$)
- Solubilité (Log S) : ($-6 < \text{Log S} < 0$)

Rappelons que la règle de Lipinski est une technique qui permet d'identifier les composés qui ont des problèmes de perméabilité et d'absorption (Van De Waterbeemd et al.,1996). Elle a été établie à partir d'une liste de composés qui ont passé avec succès les tests cliniques de la phase II.

2.1.1.2. Généralité sur les propriétés physicochimiques :

Les propriétés physicochimiques d'un médicament ont un effet très important sur la pharmacocinétique. La mesure et le calcul de ces propriétés peuvent être utilisés pour prédire les propriétés ADMET. Ils aident par ailleurs à classer les composés à sélectionner (ALLAM., 2020).

A. Poids moléculaire (PM) :

L'une des propriétés physicochimiques essentielles à la recherche de nouveaux médicaments est le poids moléculaire (PM), qui peut être un grand différentiel par rapport aux processus intracellulaires, tels que l'absorption intestinale, la pénétration de la barrière hémato-encéphalique, le taux d'élimination et l'interaction avec les cibles moléculaires (Gleeson et al.,2011).

B. La lipophilie :

C'est une propriété physicochimique importante d'un médicament potentiel. Elle est donc importante dans la reconnaissance du ligand pour la protéine cible. Elle a un rôle dans la solubilité, l'absorption, la pénétration dans la membrane, la liaison aux protéines plasmatiques, la distribution, la pénétration dans le SNC et la diffusion dans d'autres tissus ou organes tels que le foie. Ce qui impacte sur les voies de clairance.

La lipophilie est la propriété physicochimique la plus largement utilisée pour prédire la pénétration de médicaments dans les systèmes biologiques (Testa B et al.,1996).

Log P est défini comme un logarithme de coefficient de partage dans un système octanol/eau. Il est mesuré par la distribution du composé neutre (non ionisé) entre la phase non aqueuse (octanol) et la phase aqueuse (eau) (Delaney JS.,2004).

Un médicament doit être caractérisé par une balance correcte entre ses propriétés hydrophiles et hydrophobes.

Pendant leur parcours à travers le corps, les molécules médicamenteuses doivent se dissoudre dans les milieux aqueux de cytoplasme et des liquides extracellulaires ainsi que dans le milieu apolaire de la membrane cellulaire (Rouahna.,2016).

C. Solubilité :

La solubilité aqueuse (Log S), un autre paramètre physicochimique de médicaments, elle reflète la biodisponibilité orale d'un composé. La solubilité des médicaments dans l'eau affecte de près leur activité biologique. Elle est l'un des paramètres importants pour atteindre une concentration précise de médicament dans la circulation systémique pour la réponse pharmacologique attendue. En effet, Une faible solubilité nuit à une bonne et complète absorption orale du composé par le tractus gastro-intestinal (Kararli T.,1989).

D. Polarité TPSA : ($20 < \text{TPSA} < 130$) :

La polarisabilité d'une molécule est définie par la capacité de son système électronique de se déformer par un champ électrique externe, il joue un rôle important dans la modélisation de nombreuses propriétés moléculaires et des activités biologiques (J. Wang et al., 2007). Une molécule très polarisée peut donner des attractions fortes avec d'autres molécules. La polarisabilité d'une molécule peut également améliorer sa solubilité aqueuse (S. Qaneinasab et al., 2011).

E. Réfraction molaire MR: ($0 < \text{MR} < 10$) :

La réfractivité molaire (MR) est un critère important dans la mesure des facteurs stériques. Elle est généralement désignée comme une simple mesure du volume occupé soit par un atome individuel ou par un groupe d'atomes (G.L. Patrick et al.,1995).

F. Le nombre de liaisons rotatives (NROT) :

Le nombre de liaisons rotatives a été défini comme une simple liaison, non pas dans un cycle, liée à un atome non terminal (c'est-à-dire non hydrogène). Sont exclues du compte les liaisons amide C-N en raison de leur barrière à l'énergie de rotation élevée (Marvin Sketch.,2015).

2.1.1.3. Généralité sur la ressemblance aux médicaments (Druglikeness) :

La biodisponibilité correspond à la vitesse et à l'importance du passage du principe actif (médicament ou métabolite) dans la circulation générale, gagnant ainsi le site d'action.

Les médicaments administrés par la voie orale doivent traverser la paroi intestinale et atteindre par la veine portale de foie ; Tous deux sont des sites fréquents de premier passage hépatique

(métabolisme qui survient avant qu'un médicament n'atteigne la circulation systémique). Ainsi, beaucoup de médicaments peuvent être métabolisés avant que ne soient atteintes des concentrations plasmatiques optimales. Une faible biodisponibilité est souvent rencontrée avec les formes orales de médicaments peu solubles dans l'eau et lentement absorbés. Une présence insuffisamment longue dans le tube digestif est une cause fréquente de faible biodisponibilité. Si le médicament ne se dissout pas rapidement ou s'il ne peut pénétrer la membrane épithéliale (p. ex., lorsqu'il est très ionisé et polaire), le temps au site d'absorption peut être insuffisant. Dans de telles circonstances, la biodisponibilité subit des variations considérables (**Jennifer Le.,2019**).

2.1.1.4. Généralité sur le profil pharmacocinétique (ADME) et prédiction de la toxicité

Le processus d'optimisation d'un candidat médicament bénéficierait d'une étude *in silico* de plusieurs propriétés ADME, avant que des expériences *in vitro* ne soient réalisées. Des chercheurs ont étudié de manière approfondie les propriétés liées à l'ADME, y compris l'inhibition du transporteur P-glycoprotéine (ABCB1 ou Pgp) ou des enzymes de la famille du cytochrome P450 (CYP) (**Launay-Vacher .,2006**) ; Une des spécificités du métabolisme est l'oxydation du médicament (de la phase I). Les principaux enzymes impliqués dans cette oxydation sont les isoformes du cytochrome P450 (CYP) humain (CYP1A2, le CYP2A6, le CYP2C9, le CYP2C19, le CYP2D6, le CYP2E1 et le CYP3A4, dont le CYP3A4). Les CYP2C9, CYP2C19 et CYP2D6 sont responsables d'environ 80% des réactions connues du métabolisme des médicaments oxydants (**Williams.,2004**).

En raison de l'importance du cytochrome P450 dans le métabolisme des médicaments, de nombreuses méthodes ont été développées pour prédire *in silico* les substrats et les inhibiteurs (**Ekins.,2001 ;Ekins.,2000**). Elles sont principalement basées sur les propriétés physicochimiques du composé ou basées sur la connaissance de la structure et du mécanisme des enzymes. L'inhibition des enzymes du cytochrome P450 est indésirable en raison du risque d'effets secondaires graves liés aux interactions médicamenteuses. Mais également il est nécessaire d'évaluer la perméabilité membranaire des cibles (par exemple : la membrane hépatocytaire, les cellules épithéliales gastro-intestinales, la paroi capillaire sanguine, le glomérule, les barrières organiques restrictives) et le volume de distribution ou la clairance rénale (**Launay-Vacher .,2006**).

Les paramètres pharmacocinétiques évalués dans cette étude sont l'absorption gastro-intestinale (Gastrointestinal absorption), pénétration de la barrière hémato-encéphalique (Blood-Brain Barrier penetration), perméation cutanée (Skin Permeation), association synthétique (synthetic associability) et prédiction des interactions des molécules ferrocénylméthyl-bases

nucléiques avec les cytochromes P450 (CYP) (interaction of molecules with cytochromes P450 (CYP)) et score de biodisponibilité (bioavailability score) .

La toxicité d'une substance peut être définie comme sa capacité de produire des effets nocifs à un organisme vivant. Elle varie selon la dose, la fréquence, la durée d'exposition, et le temps d'apparition des signes cliniques. Toute substance destinée à être mise sur le marché que ce soit un médicament ou un produit chimique doit subir trois types d'essais de toxicité pour évaluer sa nocivité. On distingue cliniquement trois formes essentielles de toxicité : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme ou subaiguë ou encore subchronique et la toxicité à long terme ou chronique.

La détermination de DL50 est nécessaire dans le cadre légal, elle permet la classification des produits chimiques selon leurs toxicités :

Tableau 2. Classification des produits chimiques selon leurs toxicités (Echelle de Hodge et Sterner) (Bensakhria, Ayoub.,2018).

DL50 Orale(Rat)	Indice de toxicité
Jusqu'à 1 mg/kg	1=Extremement toxique
De 1 à 50 mg/kg	2=Hautement toxique
De 50 à 500 mg/kg	3=Modérément toxique
De 500 à 5000mg/kg	4=Légèrement toxique
De 5000 à 15000 mg/kg	5=Presque pas toxique
Plus de 15000mg/kg	6=Relativement inoffensif

La détermination de la DL50 permet aussi l'évaluation du danger en cas de surdosage. Elle permet aussi la programmation des études de toxicité subaiguë et chronique chez les animaux, et des essais thérapeutiques chez l'homme. Elle a également pour rôle de faciliter le contrôle de qualité des produits chimiques, de l'index thérapeutique ou de la marge de sécurité qui est une valeur représentant le rapport entre la dose létale 50 et la dose efficace 50 (DL50/DE50). L'indice DL50 sert fréquemment pour exprimer le seuil de toxicité aiguë ainsi que pour classer et comparer les toxiques. Il a cependant une valeur très limitée, car il ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes réactionnels en jeu et la nature des lésions causées. Il s'agit donc d'une appréciation grossière et préliminaire, qui peut être influencée par plusieurs facteurs tels l'espèce animale, le sexe, l'âge, le temps, etc. (Bensakhria, Ayoub.,2018).

2.1.2. Etude des interactions moléculaires par l'Autodock Tools :

✓ Mode opératoire:

La procédure d'amarrage est constituée de deux étapes principales suivantes :

- ✓ Génération de carte d'interactions de la structure d'ADN (récepteur) en utilisant l'outil AutoGrid.
- ✓ Amarrage du ligand au récepteur avec AutoDock Tools.

Nous utiliserons l'interface graphique AutoDockTools (ADT) afin d'effectuer l'amarrage et visualiser les résultats. Les étapes sont décrites ci-dessous :

A. Préparation de l'accepteur

File → Read Molecule → select ADT-(molécule).pdb.

Edit → Delete Water

→ Hydrogens → Add → polar only

→ Charges → add Kollman charges

B. Chargement de récepteur et du ligand

Ligand → Input → Open → ligand.pdb

→ Torsion Tree → Detect Root

→ Output → Save as pdbqt

C. Configuration des paramètres de l'AutoGrid

Grid → Macromolecule → Choose → select ADT-(molécule) → écrire

ADT-(molecule) pre.pdbqt → enregistrer

Grid → Set Map Types → Choose Ligand → select Ligand

Grid-Grid Box-Set number of points in x, y and z-dimension to 60 and set Spacing (Angstrom) to 1.000.

Grid → Output → Save GPF → écrire grid.gpf → enregistrer

D. Exécution de l'AutoGrid

Run → AutoGrid

E. Exécution de l'AutoDock

Docking → Macromolecule → Rigid Filename → select ADT-(molecule)pre.pdbqt

Docking → Ligand → Choose → select Ligand

Docking → Search Parametres → Genetic Algorithm → set Number of GA Runs

Docking → Output → Lamarckian GA (4.2) → save output as dock.dpf

Run → Autodock

2.2. Etude de l'activité antidiabétique *in vitro* Par spectroscopie UV-Visible

✓ Mode opératoire:

Ce test a été réalisé en utilisant une procédure modifiée de McCue et Shetty (**P. P. McCue et al., 2004**). Un total de 250 μL des DFC-BN (0.3 mg/ml à 10 mg/ml) a été placé dans un tube et 250 μL de tampon phosphate de sodium saline 0.02 M (Ph=6.9) contenant une solution d' α -amylase (0.5 mg/ml) était ajoutée. Cette solution a été pré incubée à 25 °C pendant 10 min, après quoi 250 μL de solution d'amidon à 1% dans 0.02 M de sodium du tampon de phosphate saline (Ph =6.9) a été ajouté à intervalles réguliers et puis incubé à 25 °C pendant 10 min. La réaction a été terminée par l'ajout de 500 μL du réactif acide dinitrosalicylique (DNS).

Les tubes ont ensuite été incubés dans de l'eau bouillante pendant 5 minutes et refroidis à température ambiante. Le mélange réactionnel a été dilué avec 5 ml d'eau distillée et l'absorbance a été mesurée à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un contrôle a été préparé en utilisant la même procédure en remplaçant les DFC-BN avec de l'eau distillée. L'activité inhibitrice de la α -amylase était calculé en pourcentage d'inhibition :

$$\% \text{Inhibition} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{extracts}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \right) \times 100$$

Les concentrations d'extraits entraînant une inhibition de 50% l'activité enzymatique (IC50) a été déterminée graphiquement.

L'interaction entre l' α -amylase et les composés étudiés a traduit par le constant de liaison et l'énergie libre de liaison.

Chapitre 2

Résultats et discussion



« L'homme de science ne vise pas un résultat immédiat. Il ne s'attend pas à ce que les idées qu'il avance soient facilement acceptées. Son travail est comme celui d'un cultivateur, pour l'avenir. Son devoir est de jeter les bases pour ceux qui sont à venir et de montrer la voie. Il vit, travail et espère. »

Nikola Tesla

1. Résultats et interprétation

1.1. Analyse et discussion des résultats obtenus par SwissADME :

1.1.1. Propriétés physico-chimiques :

Le tableau 3 présente les résultats des paramètres physicochimiques des composés étudiés.

Tableau3. Les propriétés physicochimiques des dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques et les médicaments :Acarbose et Gliclazide (SwissADME)

Copposé	MW (≤ 500 g/mol)	HBA (≤ 10)	HBD (≤ 5)	NROT	LogP (≤ 5)	MR	Log S	TPSA ($< 140\text{\AA}^2$)	Csp3
FcAd	334.18	3	1	2	1.25	82.35	-3.78	69.62	0.31
FcTh	325.16	2	1	2	1.63	80.55	-3.60	54.86	0.25
FcCy	310.15	2	1	2	1.16	77.17	-3.00	60.91	0.20
Gliclazide	323.41	4	2	5	1.72	86.93	-2.91	86.89	0.53
Acarbose	645.60	19	14	9	-6.12	136.69	2.56	321.17	0.92

D'après le tableau 3, tous les dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques analysés ont montré des poids moléculaires avec une variabilité acceptable ($150 < PM < 500$) g.mol⁻¹, plus spécialement le ferrocénylméthyl-thymine qui représente le poids moléculaire le plus proche à celle de Gliclazide (PM(Gliclazide)=323.41 g/mol), égale à 310.15 g/mol. Ainsi, ces composés ont des nombres d'accepteurs d'hydrogène inférieur à 10 et nombre de donneur d'hydrogène inférieur à 5, ce qui révèle qu'ils peuvent traverser facilement les membranes cellulaires. En revanche les valeurs de LogP montrent que tous les dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques ont des valeurs optimales comprises entre 0 et 3, ainsi que tous les composés présentent des valeurs Log S entre -6 et 0, ce qui expliquent la bonne biodisponibilité orale de ces composés, ces résultats indiquant qu'ils ont une capacité d'absorption raisonnable et modérément solubles dans les milieux physiologiques extra et intracellulaires avec un pouvoir de traverser les bicouches phospholipidiques des membranes cellulaires étaient en excellent accord avec les règles les plus importantes de la ressemblance avec les médicaments. Cependant, le métabolisme est minimisé à cause de la faible fixation avec les enzymes métaboliques.

Nous remarquons ainsi que les valeurs de nombre de liaison rotative sont tous inférieure à 10 cela indique que ces ligands ne changent que légèrement leur conformation lors de la liaison avec une protéine. Concernant les résultats de TPSA, nous avons constaté que tous les dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques de la série étudiée ont des valeurs inférieures à 140 Å² ce qui montre la bonne prédiction de la biodisponibilité orale et le transport à travers les membranes. Par conséquent, tous les composés étudiés sont en accord avec la règle de Veber.

1.2. Propriétés de ressemblance aux médicaments :

Lipinski, Ghose, Veber, Egan et Muegge ont montré un score de 55%, indiquant une bonne biodisponibilité. De même, ces composés n'ont montré aucune alerte pains, suggérant que ces composés ont de bonnes propriétés de ressemblance avec les médicaments. Tous les composés Fc-BN présentaient un score d'accessibilité synthétique est de valeur égale à 0.55, suggérant que ces composés sont facilement synthétisables.

Les résultats des différentes règles de ressemblance aux médicaments des dérivés ferrocénylméthyl-base nucléique sont affichés dans le tableau 4.

Tableau 4. Détails des différentes règles de ressemblance aux médicaments (Druglikeness) et de la biodisponibilité (Bioavailability) des DFC-BN et des médicaments Acarbose et Gliclazide (SwissADME).

Paramètre	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge	Bioavailability	Alerts
Composé	Violation	Violation				Score	Pains
FcAd	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	0.55	0
FcT	Oui ;0	Oui	Oui	Oui	Oui	0.55	0
FcC	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	0.55	0
Gliclazide	Oui ;0	Oui	Oui	Oui	Oui	0.55	0
Acarbose	Non;3 MW>500, NorO>10, NHorOH>5	Non;4 MW>480, WLOGP<- 0.4, MR>130, #atoms>70	No;1 TPSA>140	No;1 TPSA>131.6	No;5 MW>600, XLOGP3<-2 TPSA>150, H-acc>10, H-don>5	0.17	0

1.3. Les paramètres pharmacocinétiques :

Une molécule est dite moins perméable à la peau si la valeur du Log Kp est plus négative. D'après les résultats de l'ADMET (**Tableau 5**), toutes les molécules se révèlent être les Kp les moins perméables à la peau.

L'absorption de la molécule dans l'intestin s'explique par le paramètre gastro-intestinal (GI), elle est rapportée comme élevée ce qui signifie que toutes les molécules sont fortement absorbées dans l'intestin HIA.

La BHE protège les cellules nerveuses en régulant finement les échanges entre le sang et le cerveau et en limitant l'accès du SNC aux molécules potentiellement toxiques, telles que les médicaments. Or, un accès considérablement réduit au compartiment cérébral d'un médicament candidat diminuera les risques d'effets secondaires indésirables de ce dernier au niveau de SNC, ce qui augmentera en conséquence ses chances de succès (**Wager et al., 2012**).

L'analyse des molécules par le paramètre de barrière hémato-encéphalique (BHE) qui protège le système nerveux central (SNC), montre que tous les composés ont été prédits comme perméables à la membrane hémato-encéphalique.

Le composé Fc-Ad est un substrat de la P-gp. Il est d'une grande importance dans la conception de médicaments de cribler des composés qui sont des substrats de la P-gp à un stade précoce pour éviter les interactions médicament-médicament.

Le tableau 5 exprime que le composé Fc-Ad était le substrat inhibiteur de CYP2D6, ce que révèle qu'il est le dérivé le plus toxique que les autres dérivés qui ne représentent aucun effet inhibiteur pour les enzymes métaboliques. L'inhibition des enzymes de cytochromes P450 est indésirable en raison du risque des effets secondaires grave lié aux interactions médicamenteuses (**Alaam., 2020**).

Les résultats des paramètres pharmacocinétiques des composés étudiés sont montrées dans le tableau 5.

Tableau 5. Les paramètres pharmacocinétiques des dérivés ferrocénylméthyl-bases nucléiques et les médicaments :Acarbose et Gliclazide. (SwissADME)

Paramètre	Absorption GI	Perméation BHE	CYP 1A2 inhibition	Cyp 2C19 Inhibition	CYP 2C9 Inhibition	CYP 2D6 Inhibition	CYP 3A4 Inhibition	Log Kp (cm/s)	P-gp
Composé									
Fc-Ad	Haute	Oui	Non	Non	Non	Oui	Non	-6.44	Oui
Fc-Th	Haute	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	-6.30	Non
Fc-Cy	Haute	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	-6.71	Non
Gliclazide	Haute	Non	Non	Non	Non	Non	Non	-7.22	Oui
Acarbose	Basse	Non	Non	Non	Non	Non	Non	-16.29	Oui

Le tracé des œufs durs (Boiled-egg) entre WLOGP et TPSA pour prédire l'absorption gastrointestinale et la pénétration cérébrale des molécules sélectionnées a été montré dans la figure 28. On peut voir sur le tracé que les trois dérivés Fc-Ad, Fc-Cy et Fc-Th pénètrent la BHE (région jaune) mais ils n'ont pas dans la région d'absorption GI. Le médicament Gliclazide exerce un HIA élevé (dans le blanc). Le modèle œuf bouilli représente également la prédiction des substrats (P-gp) et des non-substrats (P-gp) de la glycoprotéine de perméabilité (P-gp).

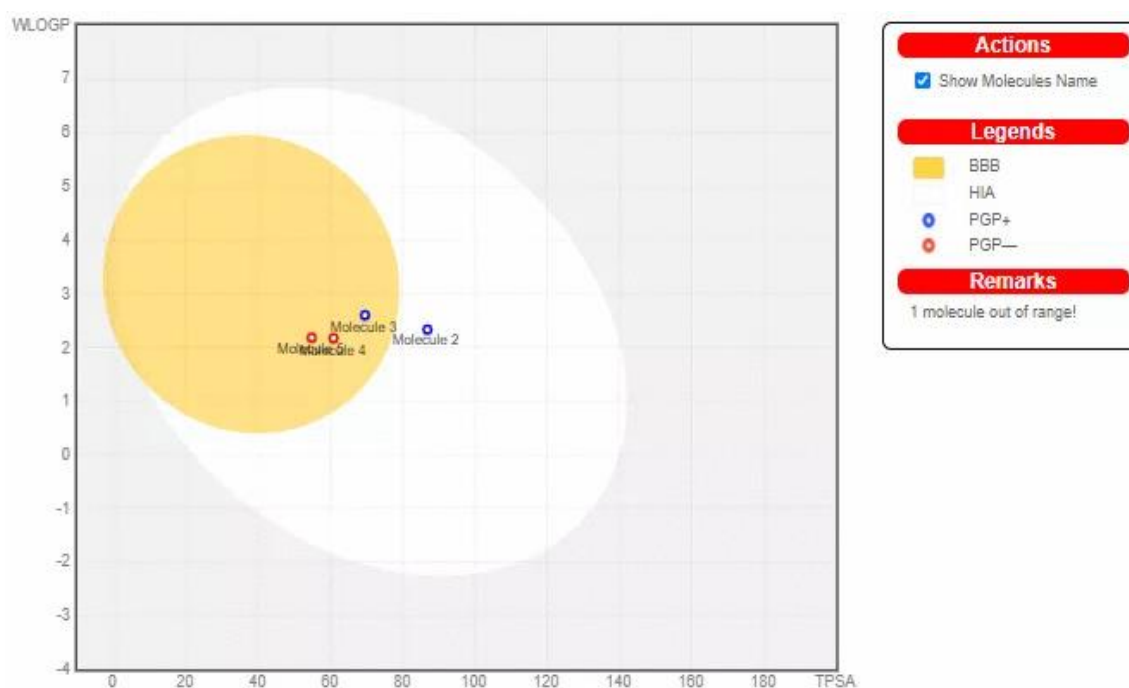


Figure 28. Tracé des œufs durs (Boiled-egg) des composés étudiés (SwissADME).

Molécule 2 :Gliclazide ; Molécule 3 : Fc-Ad ; Molécule 4 :Fc-Cy ; Molécule 5 :Fc-Th .

1.4. Prédiction de la toxicité :

Les résultats de la prédiction de la toxicité des DFC-BN sont présentés à partir le tableau 6.

Tableau 6. Prédiction de la toxicité des ferrocényl-méthyl-base nucléique et les médicaments Acarbose et Gliclazide (Protox ; admetSAR)

Composé	Hep	Car	Mut	Cyt	AOT	LD ₅₀ (mg/kg)	PIGC50 (ug/l)
Fc-Ad	Inactive (P=0.66)	Active (P=0.59)	Active (P=0.76)	Inactive (P=0.90)	III	160	1.75
Fc-Th	Inactive (P=0.76)	Inactive (P=0.57)	Active (P=0.55)	Inactive (P=0.87)	III	1000	1.912
Fc-Cy	Inactive (P=0.62)	Inactive (P=0.53)	Inactive (P=0.66)	Inactive (P=0.81)	III	1160	1.569
Gliclazide	Inactive (P=0.62)	Inactive (P=0.79)	Inactive (P=0.79)	Inactive (P=0.66)	III	1750	1.641
Acarbose	Active (P=0.65)	Inactive (P=0.84)	Inactive (P=0.76)	Inactive (P=0.70)	IV	24000	0.193

La toxicité est l'un des paramètres les plus importants pour établir le ADME des molécules étudiées. Les résultats obtenus et présentés montrent que le Fc-Ad a des activités carcinogènes et mutagènes, par contre en marque l'absence des activités toxiques de Fc-Cy.

Les résultats de LD₅₀ expriment que tous les composés étudiés sont légèrement toxiques sauf le Fc-Ad qui est modérément toxique.

1.2. Analyse et discussion des résultats obtenus *In vitro* :

Les résultats de l'absorbance, de l'IC₅₀, des constantes de liaison K et des énergies libres de liaison (ΔG) de l'adduit Fc-BN-Amylase ont été déterminés par l'étude de la variation d'absorbance de l'interaction en absence et en présence d'une concentration croissante des Dfc-BN. Cette étude du comportement spectroscopique a été réalisée par la technique de la spectroscopie UV-Visible dans une solution tampon phosphate saline (KH₂PO₄/K₂HPO₄) 0.1M à pH = 6.9, la longueur d'ondes était de 540 nm.

1.2.1. La détermination de l'absorbance :

Exemple sur les résultats de l'absorbance de l'amidon en fonction de la concentration croissante de Fc-BN est présenté dans le tableau suivant (Les résultats des autres Fc-BN étudiés se trouvent dans l'annexe) :

Tableau 7 . Valeurs de l'absorbance de Fc-Ad obtenus à partir des données spectroscopique UV-Vis.

C final (mg/ml)	Abs (Fc-Ad)	Abs (Contrôle)
1.778	0.515	0.535
2.667	0.46	0.535
3.556	0.398	0.535
4.444	0.294	0.535

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une relation proportionnellement inverse entre l'absorbance et les concentrations croissantes des divers DFC-BN étudiés ce qui traduit leur activité inhibitrice de l'alpha amylase.

1.2.2. La détermination de l'IC₅₀ :

D'après les résultats de l'absorbance il est possible de calculer le pourcentage d'inhibition par la formule :

$$\% \text{Inhibition} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{extracts}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \right) \times 100$$

En tant qu'exemple, la figure 28 présente la droite de taux (pourcentage) d'inhibition de Fc-Ad.

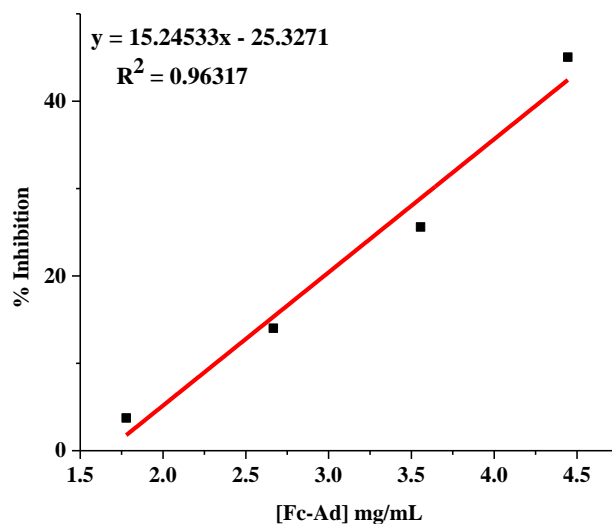


Figure 29. Droite de régression de pourcentage de l'inhibition en fonction de la concentration de Fc-Ad.

Les valeurs obtenues de la concentration inhibitrice 50 de l'interaction DFC-BN avec de l'alpha amylase sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8. Valeurs des IC₅₀ des composés étudiés obtenues par des données spectroscopiques UV-Vis.

Composé	IC ₅₀
Fc-Ad	4.940
Fc-Cy	2.735
FC-Th	3.638
Gliclazide	6.131
Acarbose	1.233

Pour l'ensemble des inhibiteurs, une seule concentration de substrat permet d'évaluer rapidement, la valeur expérimentale CI₅₀ dans les conditions utilisés (**Yves Landry et Jean-Pierre Gie.,2014**). Cette mesure d'IC₅₀ permet de réaliser une analyse semi-quantitative de l'interaction DFC-BN-Alpha amylase, on détermine la concentration en inhibiteur nécessaire pour inhiber 50% du signal à 540 nm.

D'après les résultats obtenus on peut classer les IC₅₀ des DFC-BN étudiés comme suit : IC₅₀ (Fc-Cy) < IC₅₀ (Fc-Th) < IC₅₀ (Fc-Ad) ; ce qui montre que le Fc-Cy est le dérivé qui a une IC₅₀ plus proche à celle de l'acarbose.

1.2.3. La détermination de ΔG :

L'énergie libre de liaison ΔG de l'alpha amylase avec les DFc-BN a été déterminé par l'étude du comportement spectroscopique en absence et en présence d'une concentration croissante des DFc-BN.

D'après les résultats de l'absorbance il est possible de calculer l'énergie libre de liaison ΔG par la formule :

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\varepsilon_0}{\varepsilon - \varepsilon_0} + \frac{\varepsilon_0}{\varepsilon - \varepsilon_0} \frac{1}{K [Fc]}$$

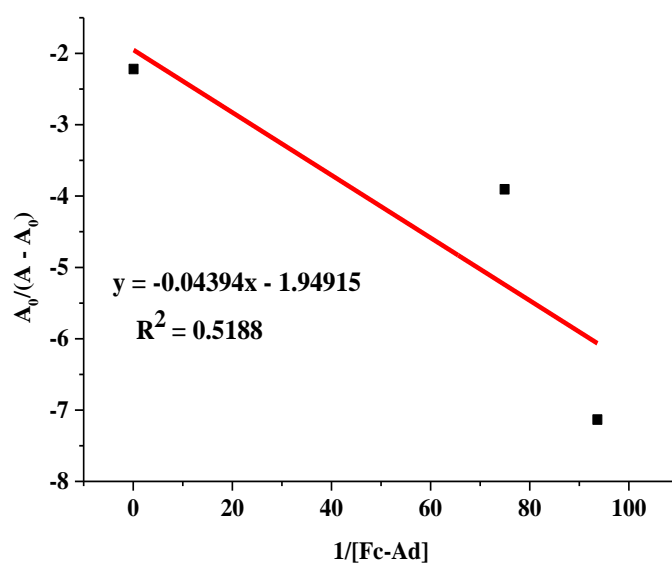


Figure 30. Droite de $A_0/(A - A_0)$ en fonction de de $1/ [Fc-Ad]$.

Les valeurs obtenues de l'énergie libre de la liaison l'interaction DFc-BN avec de l'alpha amylase sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 9. Valeurs des K et ΔG des composés étudiés obtenues par des données spectroscopiques UV-Vis.

Composé	K(mol ⁻¹)	ΔG (Kcal.mol ⁻¹)
Fc-Ad	44359.4	-6.34
Fc-Cy	71.10	-4.80
Fc-Th	175.204	-3.06
Gliclazide	15728.66	-5.72
Acarbose	71.1018	-2.52

Selon les valeurs des énergies libres de liaison ΔG il est remarquable que la plus stable conformation est celle de FcAd avec l' α -amylase avec une valeur de ΔG plus négative : $-6.34 \text{ Kcal.mol}^{-1}$, ce qui traduit la bonne interaction entre le Fc-Ad et l' α amylase.

1.3. Analyse et discussion des résultats obtenus par Docking :

1.3.1. Détermination de ΔG des molécules étudiées :

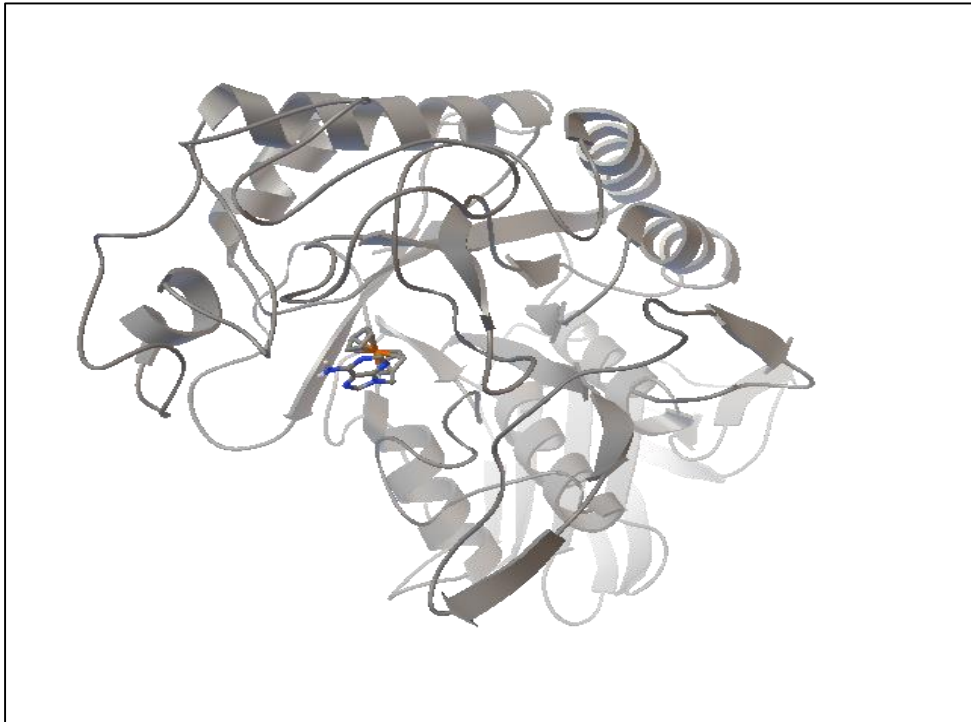
L'amarrage moléculaire par le logiciel Autodock Tools de l'interaction de DFC-BN avec l' α amylase permet d'obtenir le paramètre de cette interaction à savoir : l'énergie libre de liaison ΔG .

Tableau 10. Différentes énergies libres ΔG de l'interaction Fc-BN et l' α amylase obtenus par docking.

Composé	ΔG	Run
Fc-Ad	-5.32	41
Fc-Th	-5.49	13
Fc-Cy	-5.03	8
Gliclazide	-5.98	31
Acarbose	-0.94	7

Les résultats des ΔG des DFC-BN obtenus par docking sont plus négatives que l'acarbose, ce qui montre qu'il y a des bonnes interactions avec l' α amylase.

(A)



(B)

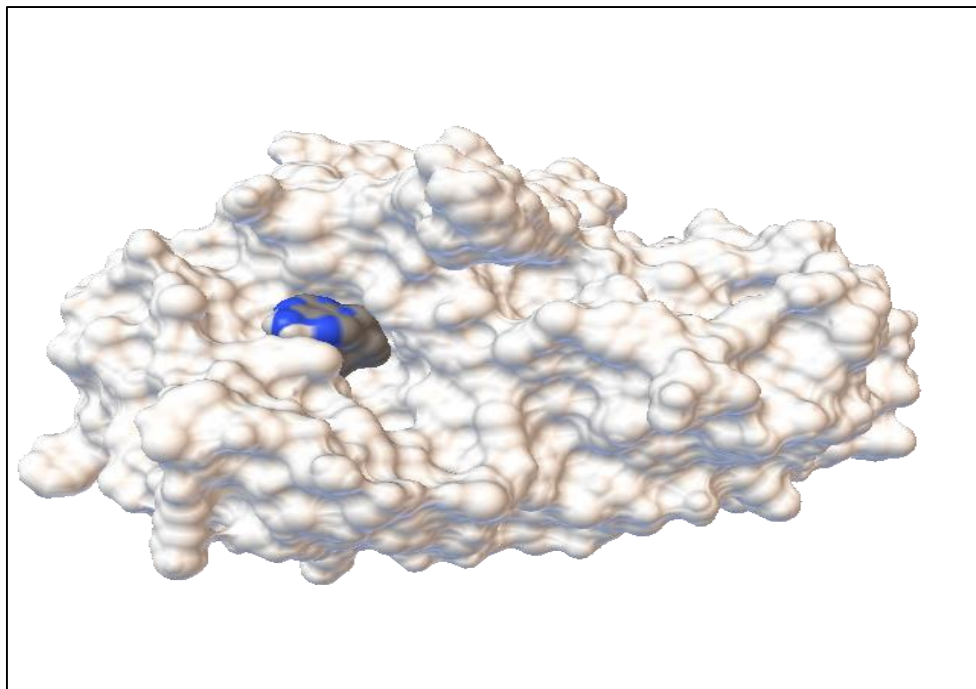


Figure 31 : Interaction de Fc-Ad avec l'alpha amylase, **(A)** : Amarrage moléculaire de l'interaction Fc-Ad-Alpha amylase, **(B)** : Vue en surface de Fc-Ad amarré avec de l'alpha amylase, Il montre que le Fc-Ad est attaché par liaison H.

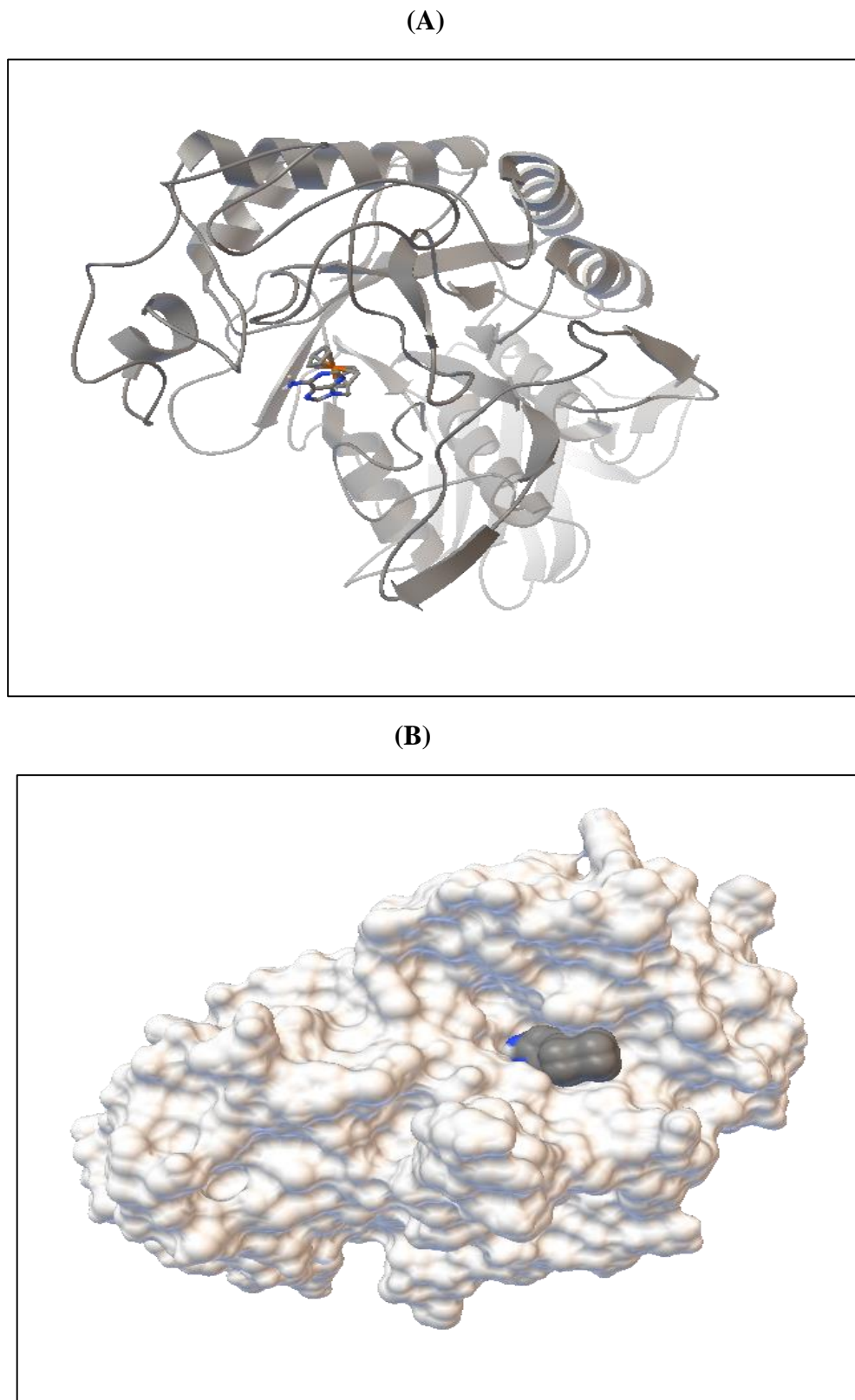
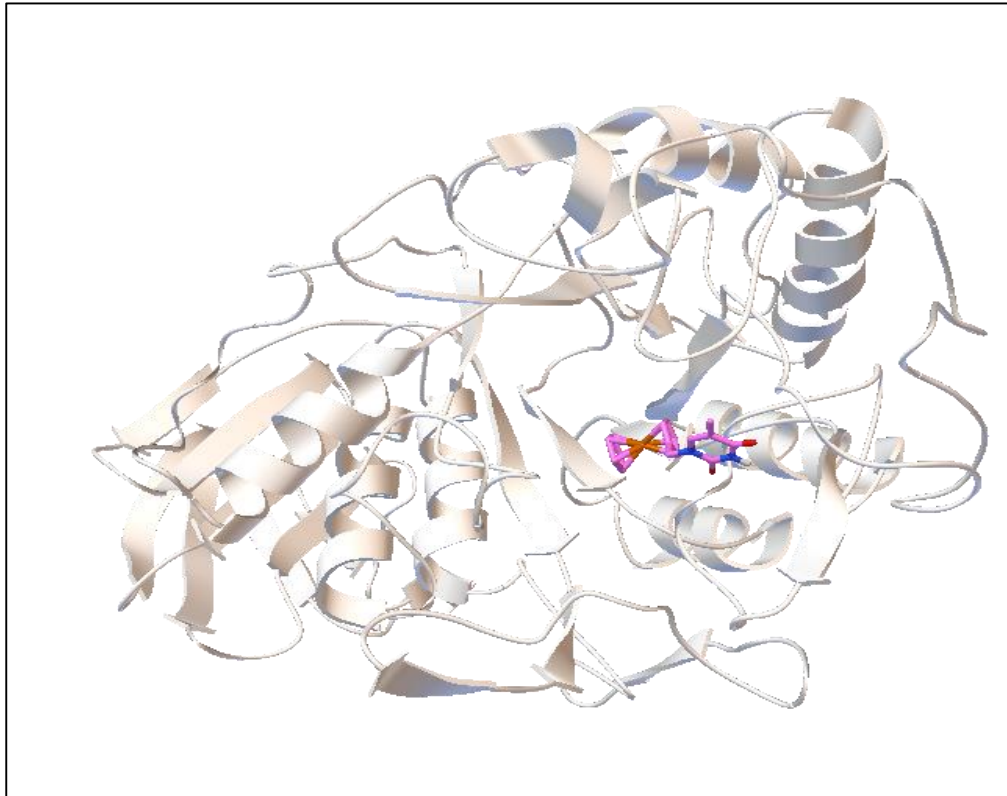


Figure 32 : Interaction de Fc- Cy avec l'alpha amylase, (A) : Amarrage moléculaire de l'interaction Fc-Cy-Alpha amylase, (B) : Vue en surface de Fc-Cy amarré avec de l'alpha amylase, Il montre que le Fc-Cy est attaché par liaison H.

(A)



(B)

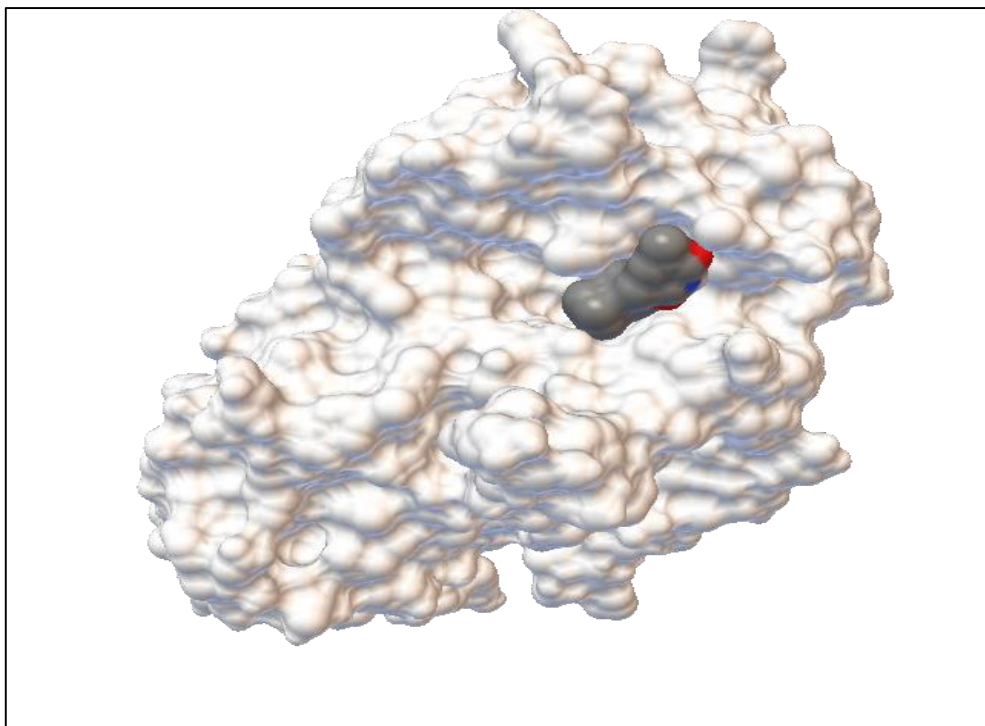


Figure 33 : Interaction de Fc- Th avec l'alpha amylase, (A) : Amarrage moléculaire de l'interaction Fc-Th-Alpha amylase, (B) : Vue en surface de Fc-Th amarré avec de l'alpha amylase, Il montre que le Fc-Th est attaché par liaison H.

1.3.2. Détermination de site d'interaction des molécules étudiés :

Pour déterminer le site et le type de liaison formé entre les DFc-BN et l' α -amylase, nous avons utilisé la banque de donnée PLIP (Proteine ligand interaction profile).

Les résultats obtenus sont affichés dans les tableaux et les figures suivants.

Tableau 11. Les bondes d'hydrogène de site d'interaction des molécules étudiés (PLIP).

Fc-Ad				
Index	Résidu	AA	Distance H-A	Distance D-A
1	63A	GLN	2.98	3.74
2	163A	THR	2.06	2.95
3	163A	THR	2.52	3.25
Fc-Th				
Index	Résidu	AA	Distance H-A	Distance D-A
1	63A	GLN	1.87	2.86
2	63A	GLN	2.69	3.04
3	106A	ALA	2.83	3.61
Fc-Cy				
Index	Résidu	AA	Distance H-A	Distance D-A
1	195A	ARG	2.81	3.79
2	197A	ASP	1.77	2.73
Gliclazide				
Index	Résidu	AA	Distance H-A	Distance D-A
1	362A	ASN	2.36	3.35
2	362A	ASN	2.37	3.39
3	368A	LYS	3.73	3.23
4	381A	ASP	2.49	3.41
Acarbose				
Index	Résidu	AA	Distance H-A	Distance D-A
1	151A	TYR	3.72	4.09
2	195A	ARG	2.88	3.78
3	197A	ASP	2.18	2.97
4	200A	LYS	3.19	3.95
5	201A	HIS	2.47	3.30
6	233A	GLU	3.09	4.10
7	240A	GLU	2.84	3.66
8	299A	HIS	2.39	3.35
9	300A	ASP	2.81	3.36

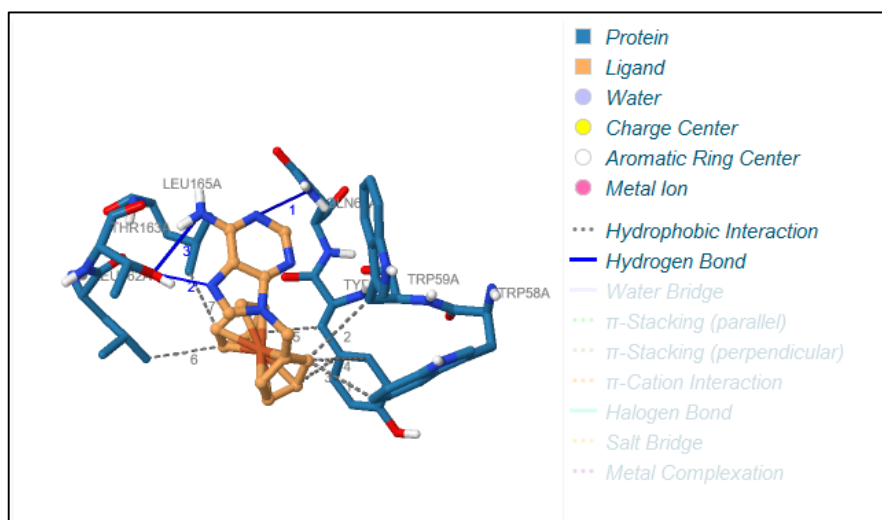


Figure34. Site d'interaction entre Fc-Ad et l' α -amylase.

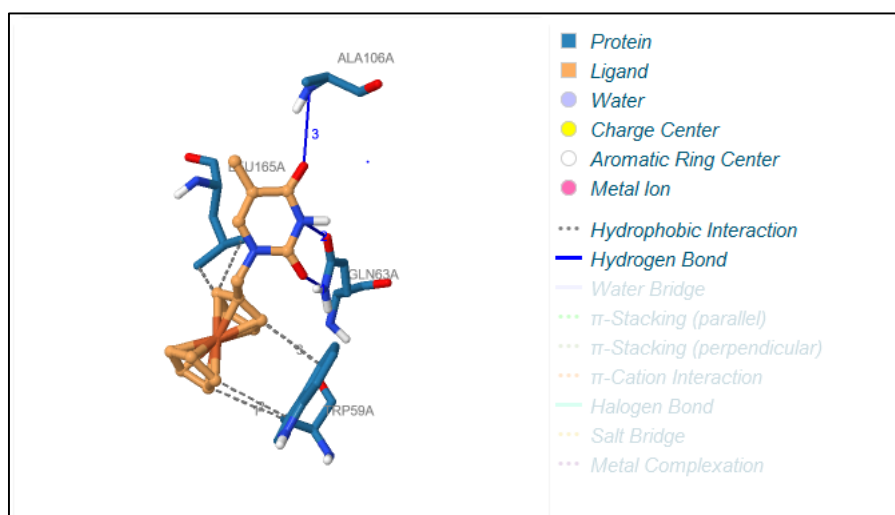


Figure35. Site d'interaction entre Fc-Th et l' α -amylase.

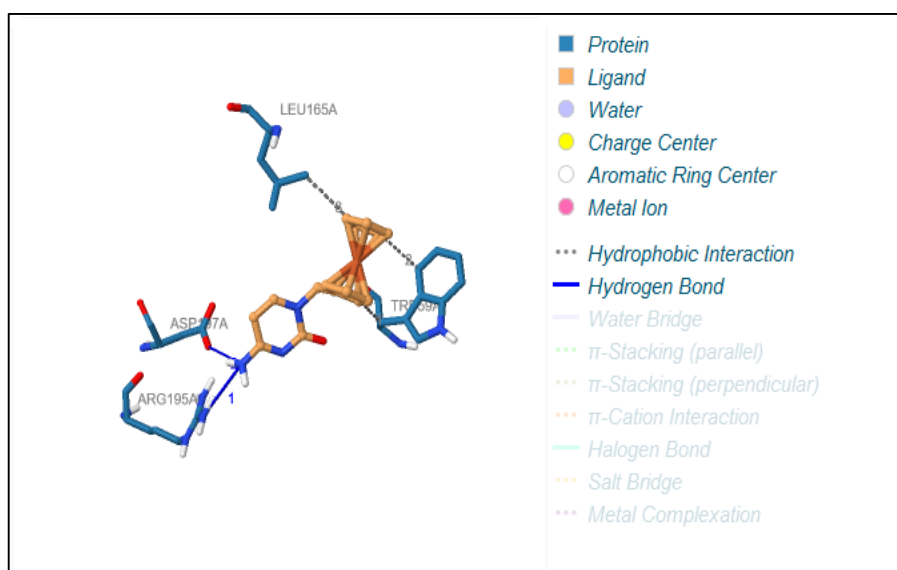


Figure36. Site d'interaction entre Fc-Cy et l' α -amylase.

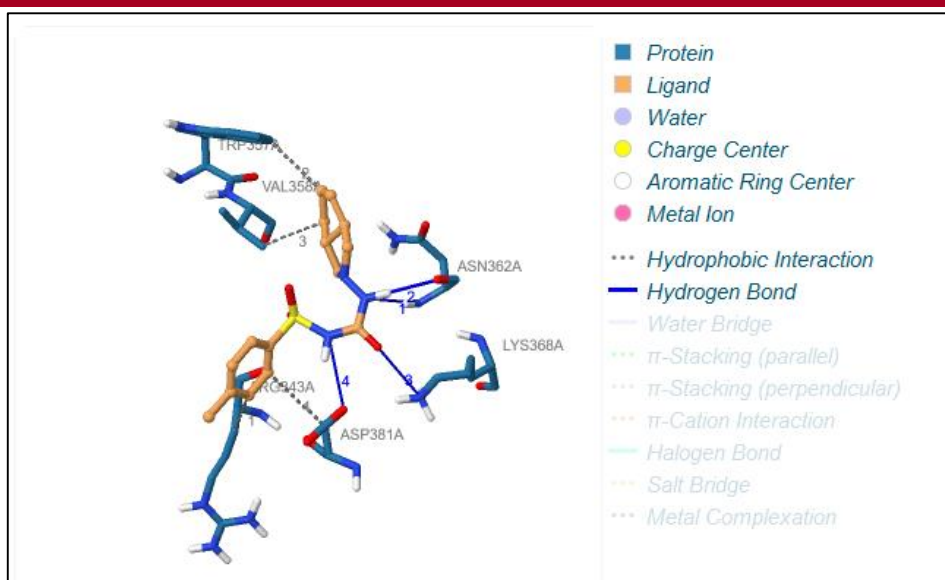


Figure 37. Site d'interaction entre le gliclazide et l' α -amylase.

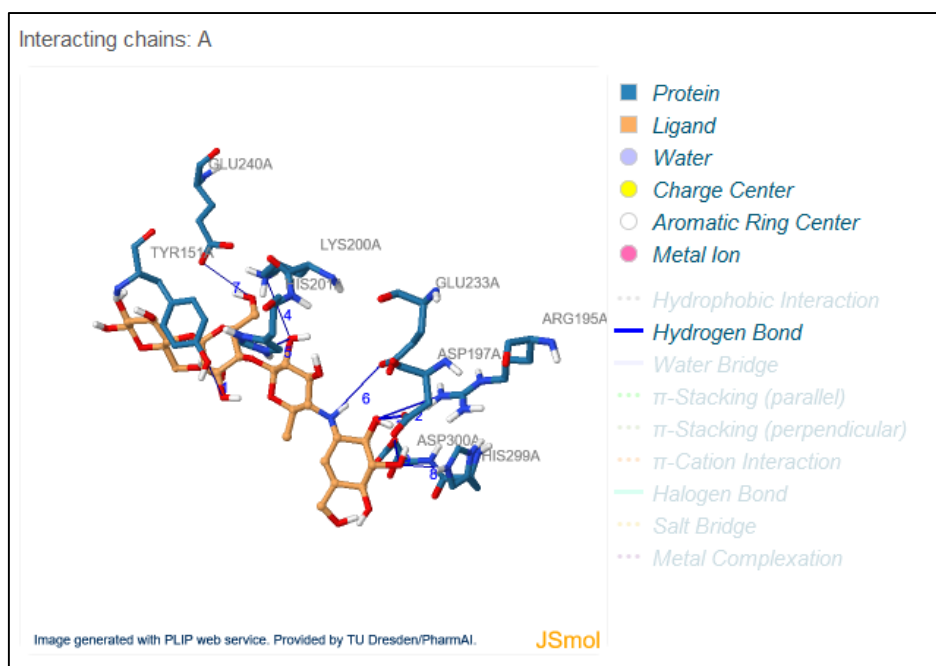


Figure 38 . Site d'interaction entre l'acarbose et l' α -amylase.

L'analyse des données a montré que tous les composés sélectionnés ont formé des liaisons électrostatiques de type hydrogénique avec l'enzyme cible, il est remarquable que le Fc-Cy est la seule molécule qui a interagit avec les acides aminés de site catalytique, plus précisément, au niveau de la chaîne A de l'ARG 195 et celle de l'ASP 197.

Discussion générale

2. Discussion générale

L'étude *in silico*, par les serveurs swissADME, admetSAR et Protox des paramètres physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des DFc-BN montre que tous ces composés sélectionnés réponds aux règles de Lipinski et de Veber, ce qui exprime qu'ils ont des bonnes caractéristiques pour devenir des candidats médicamenteux réussites. En effet, l'analyse pharmacocinétiques de ces principaux candidats a montré qu'ils sont solubles ou moyennement solubles dans l'eau ($0 < \text{Log P} < 3$ et $-6 < \text{Log S} < 0$), ce qui assure une bonne absorption gastro-intestinale. Ainsi que Toutes ces molécules sont flexibles avec moins de 9 liaisons rotatives. Ces composés sont également métabolisés d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages. Il est révélé ainsi par la prédiction de toxicité que nos composés ne peuvent pas induire des effets néfastes pour l'organisme ce qui est confirmé grâce au valeurs de LD50 qui sont inférieurs à ceux des médicaments témoins.

Dans l'ensemble ; les prévisions d'ADMET ont confirmé les propriétés pharmacocinétiques et de ressemblance aux médicaments des trois candidats principaux sélectionnés.

In vitro, par la méthode spectroscopique, l'étude de la variation d'absorbance en absence et en présence d'une concentration croissante de DFc-BN donne des valeurs négatives de l'énergie libre de Gibbs (ΔG (Fc-Ad)=-6.34 Kcal/mol ; ΔG (Fc-Cy)=-4.80 kcal/mol ; ΔG (Fc-Th)=-3.06 kcal/mol), cela indique la spontanéité de la réaction entre les DFc-BN et l' α -amylase par interaction physique. Cette étude a permis aussi de révéler l'activité inhibitrice de ces dérivés pour l' α -amylase à partir des résultats de pourcentage d'inhibition IC_{50} (IC_{50} (Fc-Cy)=2.735 < IC_{50} (Fc-Th)=3.638 < IC_{50} (Fc-Ad)=4.940).

Notre travail est complété par l'étude *in silico* via l'amarrage moléculaire permettant la génération de multiples conformations d'un ligand. La sélection d'orientation de ce ligand est basée sur la position de la conformation la plus appropriée dans la cible moléculaire pour former un complexe stable. Ceci en examinant et en modélisant diverses interactions possibles entre le ligand et le macromolécule cible. Ces étapes peuvent être répétées plusieurs fois jusqu'à ce qu'une étape satisfaisante soit obtenue.

Cette étude théorique a confirmé l'interaction spontanée des DFc-BN étudiés avec l' α -amylase traduite par les valeurs négatives de ΔG (ΔG (Fc-Ad)=-5.32 kcal/mol ; ΔG (Fc-Cy)=-5.03 kcal/mol ; ΔG (Fc-Th)=-5.49 kcal/mol). En effet, lorsque le dérivé ferrocénique base nucléique se lie à l' α -amylase il provoque des changements conformationnels en formant des liaisons électrostatiques de type hydrogénique ce qui freine l'activité biologique de l'enzyme cible.

D'après les résultats obtenus nous avons trouvé que la molécule de choix pour considérer comme candidat médicamenteux réussit est le Fc-Cy , car il a prouvé théoriquement qu'il ne présente pas des risques cancérogènes, ni mutagènes ni hépatotoxiques.

Les résultats de Fc-Cy obtenus in vitro sont également positives. Ils mirent en évidence que la valeur d'IC₅₀ était la plus proche à celle de l'acarbose.

Les potentialités biologiques de cette molécule proposée sont enfin vérifiées, grâce à l'amarrage moléculaire, par la détermination de sa valeur de ΔG , sa haute capacité de fixation au niveau de site catalytique de l'enzyme cible ; en formant deux liaisons d'hydrogène avec deux acides aminés composants le site actif de l' α -amylase (ARG 195 A et ASP 197 A) ce qui est comparable au site d'interaction de l'acarbose avec ce même enzyme

Conclusion et perspectives

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

Vu le rôle crucial de l' α -amylase dans la régulation enzymatique de l'homéostasie glucidique, nous suggérons dans **la première étape** de ce travail, de réaliser une étude *in silico* à l'aide de swissADME qui vise à évaluer les divers propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de druglikeness des dérivés ferrocéniques étudiés. **Par la suite**, nous avons travaillé *in vitro* afin de déterminer l'interaction entre les composés étudiés et l' α -amylase et d'évaluer leur activité inhibitrice. **En fin**, nous avons confirmé leur efficacité biologique obtenue *in vitro* à l'aide de l'autodock Tools.




Les résultats obtenus après l'étude bio informatique indiquent que les composés étudiés ont des bonnes caractéristiques donnent l'espoir pour les considérer comme des bons candidats médicamenteux.

Les travaux effectués *in vitro* confirment les perspectives bio informatiques en montrant que les DFC-BN ont une action sur l' α -amylase, en effet ils sont capables de se lier à l'enzyme cible et le inhiber grâce à ses bonne affinité traduite par les valeurs de l'IC₅₀ et ΔG .

Il a été montré aussi, d'après la visualisation obtenu par le logiciel Autodock Tools, que les DFC-BN se fixent à l' α -amylase avec lequel ils forment des liaisons électrostatiques. En effet le Fc-Cy interagit avec les AA de site actif. Ce type de liaison engendre des complexes du type enzyme-inhibiteur.

On conclut que nos dérivés ayant un potentiel d'inhibition de l' α -amylase et nous espérons que l'ensemble des résultats obtenus au cours de notre investigation, constitue une première étape dans la recherche des substances biologiquement actives visés à traiter les sujets diabétiques.

En Perspectives, à la lumière de ces résultats, il est nécessaire d'effectuer :

-  Des études s'intéressent à la cinétique enzymatique
-  Des études électrochimiques et *in vitro* sont nécessaires pour déterminer le type d'inhibition.
-  Testes de l'effet de ces composés *in vivo* sur l'hyperglycémie postprandiale.

Références bibliographiques

Liste des références

Aarsland A, Chinkes D, Wolfe RR. (1997). Hepatic and whole-body fat synthesis in humans during carbohydrate overfeeding. *Am J Clin Nutr* 65: 1774-1782.

ADAIKA Aicha.(2020). Synthèse, caractérisation, étude in vitro de l'activité biologique et analyse in silico et in vivo de quelques dérivés N-ferrocényl méthyltrishydroxyméthylaminométhanes et N-ferrocénylméthyltrifluorométhylanilines. Thèse de doctorat . Université d'Echahid Hamma Lakhdar -El OUED-.P:142.

ADA, American Diabetes Association. (2014). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2014, 37: S14–S80.

ADA.(2007). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 30(1): S4-S41.

Alavi, S. (2013). Synthèse et évaluation biologique de dérivés de l'amino-benzosubérone, inhibiteurs puissants et sélectifs de l'Amino-peptidase N ou CD13. Thèse de doctorat. Université de Haute-Alsace. P104.

Annie Lé garé. (2001). Changement des propriétés des récepteurs hépatiques du glucagon induit par l'entraînement en endurance. Thèse de doctorat. Université du Québec à Trois-Rivières. P:3

APOTEX INC.(2017). Monographie de produit Apo-Gliclazide (Gliclazide),p :18

Arfa L., Abid A., Kéfi R., Nouira S., (2008). Base génétique du diabète. XI éme congrès de la Société Tunisienne de médecine interne .www.stmi.org.tn. Janvier 2011.

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

Baly D.L. and Horuk R.(1988). The biology and biochemistry of the glucose transporter. *Biochim Biophys Acta.* 947(3): 571-90.

Baramaea, A. Coppinc, A. Mortuairec, M. Pelinskia, L. Tomavoc, S. & Brocarda, J. (2006). Synthesis and in vitro activities of ferrocenic aminohydroxynaphthoquinones against *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14: 1294-1302.

Baudouin, A. (2012). La spectroscopie., l'université Lyon1 .,rapport de Formation pour professeurs du 2nd degré, CEPEC, Craponne.

Bayer Inc.(2014). Monographie de produit de GLUCOBAY.

- Bechki, M Kh., (2012).** Etude du comportement électrochimique de 1-(ferrocenyl)ethanol et nitrophenyleferrocenes, Mémoire Du Magister Université KasdiMerbah – Ouargla, Algérie, p83 .
- Bechki, M. K. (2012).** Etude de comportement électrochimique de 1- (ferrocenyl)ethanol et nitrophenyleferrocenes. Mémoire de magister. Université Kasdi Marbah Ouargla.
- BÉDOU Kouassi Denis.(2019).** Evaluation de l'activité inhibitrice des fruits de BAUHINIA THONNINGII (FABACEAE) sur deux glycosidase et essai de traitement du diabète chez le rat WISTAR.Thèse de doctorat. l'Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY.P :56 ,57.
- Bell G.I., Kayano T., Buse J.B., Burant C.F., Takeda J., Lin D., Fukumoto H. and Seino S.(1990).** Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care*. 13(3): 198-208.
- Benoy MP, Elliott KA (1937).** The metabolism of lactic and pyruvic acids in normal and tumour tissues: Synthesis of carbohydrate. *Biochem J* 31: 1268-1275.
- Bensakhria, Ayoub.(2018).** Chapitre 2:Toxicité aigue .Université Católica San Antonio de Murcia,Murcia, Espagne .Disponible à : https://www.researchgate.net/publication/326019643_TOXICITE_AIGUE
- Bergman R.L. et Mittelman S.D.,(1998).** Central role of the adipocyte in insulin resistance. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 9(2-4): 205-21.
- Biemont, É. (2008).** Spectroscopie moléculaire: Structures moléculaires et analyse spectrale, EditionDe Boeck Supérieur, Pais, 428p.
- Bioud, M et Lassoued, N. (2015).** Schéma D'élaboration d'une Molécule à Visée Thérapeutique et Application Biologique .Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine. P10.
- Bischoff, H. (1991)** .Effect of Acarbose on Diabetic Late Complications and Risk Factors – New Animal Experimental Results. *Akt Endokr Stoffw* 12, 25-32.
- Boukebbous K.(2009).**étude de complexes métalliques des ligands soufrés, Azotés et d'autres molécules halogénés . Mémoire de magister, Université mentouri ,constantine.p14.
- Boutiti, A. (2010).** étude phytochimique de l'espèce globulariaalypuml., grade de magister., Université Mentouri Constantine., p41.
- 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.

- Bryant N.J., Govers R. and James D.E. (1984).** Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002, 3(4): 267-77.
- Burcelin R, Li J, Charron MJ. (1995).** Cloning and sequence analysis of the murine glucagon receptor-encoding gene. *Gene* 164: 305-310.
- Butler, P.C., & Rizza, R.A. (1989).** Regulation of carbohydrate metabolism and response to hypoglycemia. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 18, 1-25.
- Buysschaert M. (2006).** Diabétologie clinique : 3ème édition. De Boeck & Larcier Bruxelles. 15-79.
- Carneir M., Dumont C., (2009).** Maladie de Biermer chez une adolescente diabétique. *Archive de Pédiatrie.* Vol.16 (4): 357-59.
- Cédric Dray. (2009).** Rôle et Régulation de l'Apeline au cours de la Résistance à l'Insuline associée à l'Obésité. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. P :18,20
- Cersosimo E, Judd R.L. and Miles J.M.(1994).** Insulin regulation of renal glucose metabolism in conscious dogs. *J Clin Invest.* 93(6): 2584-9.
- Cheng F., Li W., Zhou Y., Shen J., Wu Z., Liu G., Tang Y. 2012.** admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2012, 52, 3099–3105.
- Cook D.L., Ikeuchi M. and Fujimoto W.Y. (2000).** Lowering of pHi inhibits Ca²⁺-activated K⁺ channels in pancreatic B-cells. *Nature.* 311(5983): 269-71. Henquin J-C.
- Croset M, Rajas F, Zitoun C, et al. (2001)** Rat small intestine is an insulinsensitive gluconeogenic organ. *Diabetes* 50: 740-746.
- Cryer, P.E. (1997).** Hierarchy of physiological responses to hypoglycemia: relevance to clinical hypoglycemia in type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus. *Horm. Metab. Res.*, 29,92-96.
- Cryer, P.E. (1999).** Hypoglycemia is the limiting factor in the management of diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 15,42-46.
- Cyril, K. (2010).** Conception de matériaux dendritiques chiraux mésomorphes pour l'élaboration de commutateurs électroactifs basés sur le couple ferrocène/ferrocenium. Thèse pour l'obtention du titre de docteur ès Science. Université de Neuchâtel. France.

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

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

Daniel F. Veber, Stephen R. Johnson, Hung-Yuan Cheng, Brian R. Smith, Keith W. Ward, and Kenneth D. Kopple.(2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry* 45(12), 2615–2623.

Dauter. Z., Dauter. M., Brzozowski .A.M., Christensen .S. Borchert T.V., Beier .L., Wilson K.S.et Davies G.J.(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.

Dauter. Z., Dauter. M., Brzozowski .A.M., Christensen .S. Borchert T.V., Beier .L., Wilson K.S.et Davies G.J.(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.

Deborah L. Baly, Richard Horuk,.(1988). The biology and biochemistry of the glucose transporter. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes, Volume 947, Issue 3.P 571-590.*

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

Delaney JS.(2004). ESOL: estimating aqueous solubility directly from molecular structure. *Journal of chemical information and computer sciences.* 44(3):1000-5.

Dubois LD., (2010). Progrés physiopathologiques dans le diabète de type1. *Revue du praticien. Vol.60. P : 165-69.*

Duparc Thibaut .(2012).Communication inter-organes dans le contrôle du métabolisme glucidique : Mise en évidence de l'implication du monoxyde d'azote et de l'apeline dans l'hypothalamus.Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. P 7,8,11, 17,18,21,24.

Ekberg K., Landau B.R., Wajngot A., Chandramouli V., Efendic S., Brunengraber H. and Wahren J. (1999). Contributions by kidney and liver to glucose production in the postabsorptive state and after 60 h of fasting. *Diabetes*. 48(2): 292-8.

Ekins S, Waller CL, Swaan PW, Cruciani G, Wrighton SA, Wikel JH.(2000). Progress in predicting human ADME parameters in silico. *Journal of pharmacological and toxicological methods*. 44(1):251-72

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.

Erika F. Brutsaert. (2020). Traitement médicamenteux du diabète sucré.Le manuel MSD.Disponible à (<https://www.msmanuals.com/fr/>).

Erika F. Brutsaert.(2020).Diabète sucré. New York Medical College.Le manuel MSD. Disponible à: (<https://www.msmanuals.com/fr/professional/troubles-endocriniens-et-metaboliques/diabete-sucree-et-troubles-du-metabolisme-glucidique/diabete-sucree>).

Faiveley, M. (2010). Procédés biochimiques et chimiques en agroalimentaire. Produits d'origine végétale. Fabrication des bières. Techniques-ingénieur. ENILBIO poligny. France.

Favier F, Fianu A, Naty N, Le Moullec N, Papoz L. (2005). Essai de prévention primaire du diabète de type 2 et du syndrome métabolique à la Réunion : *Revue Médicale de l'Assurance Médicale*. 36 (1) : 5-13.

Franco O. L., Rigden D. J., Melo F. R., Bloch C., Silva J. C. P. et Crossi de Sa M. F.(2000). Activity of wheat amylase inhibitors towards bruchid α -amylase and structural explanation of observed specificities. *Eu. J. Biochem*. 267 : 2166-2173.

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 Binding Free Energy Function, *Journal of Computational Chemistry*, Vol. 19, No. 14, 1639-1662.

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 ParisTech, 2010. Français, 244p.

Graeme I Bell, Toshiaki Kayano, John B Buse, Charles F Burant, Jun Takeda, Denis Lin, Hirofumi Fukumoto, Susumu Seino.(1990). Molecular Biology of Mammalian Glucose Transporters. 13 (3) 198-208.

Gratien, E. (2008). Spectroscopie ultraviolet-visible et infrarouge des molécules clés atmosphériques.,Thèse du doctorat., université du Paris 12_Val de Marne,27p.

Grimaldi A, Jacqueminet S, Heurtier A, Bosquet F, Masse-Bœuf N, Halbron M, Sachon C.(2005). Guide pratique du Diabète. 3ème édition Masson. Paris. 19-102.

Gulam, F. M., Manohar, V. L. (2014). Synthesis of ferrocene based organometallic compounds and antimicrobial activity. *Journal of applied chemistry.* 7: 27-32.

Halimi S. (2006).Metformin: 50 years old, fit as a fiddle, and indispensable for its pivotal role in type 2 diabetes management. *Diabetes Metabolism.* 32:555–6

Hanzab, N., Houas, M. (2013). Synthèse, séparation et identification de quelques propriétés physico-chimiques de ferrocenyl-2- nitrobenzène mono et bis-substitué. Mémoire de master. Université de Kasdi Marbah Ouargla .P:01.

Hanzab, N., Houas, M. (2013). Synthèse, séparation et identification de quelques propriétés physico-chimiques de ferrocenyl-2- nitrobenzène mono et bis-substitué., mémoire du master académique, Université de KasdiMarbah Ouargla., Algérie, 24p.

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 en chimie,Université Echahid Hamma Lakhdar, ELOUED,p13.

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. P :185.

Henni, M., (2017). Synthèse, caractérisation et évaluation in vitro de l'activité biologique et du pouvoir mutagène de quelques N-(ferrocenylmethyl) aminobenzonitrile . Thèse du doctorat, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED, Algérie. P :4.

Henri M. (2011). Obésité et insulino-résistance : Etude longitudinale avec un traceur du transport du glucose, le [125I]-6-déoxy-6-iodo-D-glucose. Thèse doctorat. Université de Grenoble.

Horii, A., Emi, M., Tomita, N., Nishide, T., Ogawa, M., Mori, T., Matsubara, K. (1987). Primary structure of human pancreatic α -amylase gene : its comparison with human salivary α -amylase gene. *Gene*, 60, 57-64

Houlton A, Isaac CJ, Gibson AE, Horrocks BR, Clegg W, Elsegood MRJ.(1999). Synthesis, structure and redox properties of ferrocenylmethyl nucleobases.,1999,18: 3229-3234. <https://doi.org/10.1039/A905168F>

Houlton A, Isaac CJ, Gibson AE, Horrocks BR, Clegg W, Elsegood MRJ.(1999). Synthesis, structure and redox properties of ferrocenylmethyl nucleobases. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1999,18: 3229-3234. <https://doi.org/10.1039/A905168F> .

J. E. et Stutzenberger F. J. (1997). Amylolytic activity of *Thermomonospora fusca*. *World J. of Microbiol ET Biotechnol.* 13 (6) : 637-642.

J. E. et Stutzenberger F. J. (1997). Amylolytic activity of *Thermomonospora fusca*. *World J. of Microbiol ET Biotechnol.* 13 (6) : 637-642.

Jennifer Le (2019). Biodisponibilité des médicaments. Le Manuel MSD. Disponible à : (<https://www.msdmanuals.com/fr/professional/pharmacologie-clinique/pharmacocin%C3%A9tique/biodisponibilit%C3%A9-des-m%C3%A9dicaments>). Consulté le:4/9/2021 à:1.12 am.

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

Karn, R.C., Malacinski, G.M. (1978). The comparative biochemistry, physiology, and genetics of animal alpha-amylases. *Advances in Comparative Physiology and Biochemistry*, 7, 1-103

Kealy, T. J., Pauson, P. L., (1951). A New Type of Organo-Iron Compound, dans *Nature*, vol. 168, 1951, p. 1039.

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 de Abou Bekr Belkaid. P.21 ,22.

Khalef, A. (2012). Etude du comportement électrochimique de 1-(ferrocenyl)ethanol et nitrophenyleferrocenes. Mémoire de magister. Université de Mohamed Khider , Biskra. P :8.

Khalef, A. (2014). Synthèse et étude du comportement anodique de quelques Nferrocenyl-N-phenylalkanamides et N'-ferrocenyl-N'-phenylalkanehydrazides et étude structurale de leurs phases cristallines. Thèse de doctorat. Université de Mohamed KhiderBiskra. P :6-12.

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

Kolli Narimane , Zatout Rokaya.(2015). Production de l'alpha amylase par certaines souches fongiques sur différents substrats.Mémoire de master. Université des frères Mentouri Canstantine.P : 5,6,9.

Kopp, C.(2010).Conception de matériaux dendritiques chiraux mésomorphes pour l'élaboration de commutateurs électro actifs basés sur le couple « ferrocèneferrocénium ». Thèse de doctorat, Université de Neuchatel, Faculté des sciences.

Kukreja A., Maclaren NK., (2002). NKT Cells and Type-1 diabetes and the "Hygiene Hypothesis" to explain the rising incidence rates diabetes. *Technology & Therapeutics.*, 4(3): 323-33.

Lanez, E. (2016). Etude in silico et in vitro de l'interaction de quelques amides ferrocéniques avec l'ADN. Mémoire de master. Université Mohamed Khider – Biskra.

Langlois A., (2008). Optimisation de la revascularisation des ilots pancréatiques au cours de la transplantation, approche génétique ou pharmacologique . Thèse de doctorat . Université Louis Pasteur. Strasbourg. France.

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

Lipinski C A , F Lombardo, B W Dominy, and P J Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 46(1-3), 3–26 (2001).

Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997;23(1):3-25

Lipinski CA. (2004). Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 1(4):337-41

Lipinski CA.(2000). Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of pharmacological and toxicological methods.* 44(1):235-49.

Loubna ALLAM.(2020). Conception et evaluation des molécules anticancereuses par approches in silico inhibiteur des Kinases AKT1 et LMTK3.Thèse de doctorat. Université Mohammed V Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat. P :98,99,100.

Lins, P., Wajngot, A., Adamson, U., Vranic, M. & Ependic, S. (1983). Minimal increases in glucagon levels enhance glucose production in man with partial hypoinsulinemia. *Diabetes*, 1983, 32, 633-636.

Magnan C, Ktorza A. (2005).Production and secretion of insulin by the pancreatic β -cell. *EMC Endocrinologie.* 2: 241-264.

Mahmoudi, N. & Nems, A.(2009).Etude du comportement anodique de Nphényl-N-benzoylferrocénylméthylamine. Mémoire de licence académique. Centre Universitaire d'EL-OUED,Algérie. P :48.

Majumder, K., Butcher, R, J., Bhattacharya, S. (2002). Chemistry of Some Amino Acid Complexes of Ruthenium. Synthesis, Characterization, and DNA Binding Properties. *Inorgniaue Chemistry.* *Inorgqniaue Chemistry*, 41 (17), 4605–4609. DOI: 10.1021/ic010775o.

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

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

Minassian C. et Mithieux G.,(1994) .Differential time course of liver and kidney glucose-6 phosphatase activity during fasting in rats. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 109(1): 99-104.

Neghmouche, NS., Khelef, A. et Lanez, T. (2010). Investigation of diffusion of ferrocene and ferricenium in aqueous and organic medium using voltammetry techniques. *Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 01(76-82).

Nishide, T., Nakamura, Y., Emi, M., Yamamoto, T., Ogawa, M., Mori, T., Matsubara, K. (1986). Primary structure of human salivary alpha-amylase gene. *Gene*, 41, 299-304.

Organisation mondiale de la santé. (1999). Definition,diagnosis and classification of diabete mellitus and its complication . Report of a WHO consultation (PDF) Geneve,66.

- Ouadjed Amina.(2017).** Recherche d'effet inhibiteur des extraits bruts de Marrubium Vulgare L. vis-à-vis de l' α -amylase. Mémoire de Master.Université Abou Bekr Belkaid.P :15
- Ouadjed Khadidja Imene.(2017).** Etude Épidémiologique sur l'Effet de Diabète type 2 dans l'évolution de la Maladie d'Alzheimer.Mémoire de master. Université Abdelhamid Ben Badis ,Mostaganem.P:2
- P. P. McCue and K. Shetty.(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.
- PDB, Protein Data Bank. (2008).** Human pancreatic alpha-amylase complexed with nitrite. DOI : 10.2210/pdb2QMK/pdb.
- Perlemuter L, Collin de l'Hortet G, Sélam, JL.(2000).** Diabète et maladies métaboliques. 3ème édition Masson. Paris. 149-180.
- Perlmutter L., Thomas J., (2006).** Diabétologie, Affections Métaboliques: Soins Infirmiers. Ed : Masson Elsevier. Paris. 09. P : 30/ 172.
- Pillot B , Soty M., Gautier-Stein A., Zitoun C. and Mithieux G.(2009).** Protein feeding promotes redistribution of endogenous glucose production to the kidney and potentiates its suppression by insulin. *Endocrinology*. 150(2): 616-24.
- Priyanka Banerjee, Andreas O Eckert, Anna K Schrey and Robert Preissner.** ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals.. *Nucleic Acids Res.* 2018 Jul 2; 46(Web Server issue): W257–W263.(Doi: 10.1093/nar/gky318).
- Raverot G. (2005).** Diabète sucré de types 1 et 2 de l'enfant et de l'adulte: Edition La Collection Hippocrate. 11-233.
- Rodier M.(2001).** Définition et classification du diabète. Médecine nucléaire imagerie fonctionnelle et métabolique. Edition Centre Hospitalier Universitaire-Nimes. 25(2): 91-93.
- ROUAHNA Yasmina .(2016).** Étude multivariée de plusieurs séries de composés hétérocycliques à intérêt thérapeutique, Thèse de doctorat. Université Mohamed Khiker Biskra : p 71-72.
- Rouis Mohamed. (2014).** Etude, conception, et implémentation d'un système de régulation de la glycémie sur une carte microcontrôleur pour les diabètes type 1. Mémoire de Magister. Université zain Achour,Djelfa.P :6
- Sachon C., Cornet P. & Grimaldi A. (2004).** Diagnostic du diabète. In Diabète de type II. coordonné par Grimaldi A. , EMC référence, Elsevier, Paris. P : 83-101.

Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D. (2012). α -Amylase inhibitors : a review of raw material and isolated compound from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 141-183.

Saltiel A.R. and Kahn C.R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 414(6865): 799-806.

Sansook, S. (2017). Biological Evaluation of Ferrocene Derivatives. Doctorat thesis. University of Sussex. P:06-09.

Satin L.S., Tavalin S.J. and Smolen P.D.(1994).Inactivation of HIT cell Ca^{2+} current by a simulated burst of Ca^{2+} action potentials. *Biophys J*. 66(1): 141-8.

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

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

Sheldrick, G. M. (1998). SHELX: applications to macromolecules. In *Direct Methods for Solving Macromolecular Structures*, edited by S. Fortier, pp. 401–411. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Simenela AA, Morozovaa EA, Snegura LV, Zykovaa SI, Kachalab VV, Ostrovskayac LA, Bluchterovac N V, and Fomina M M.(2009). Simple route to ferrocenylalkyl nucleobases. Antitumor activity in vivo. *Applied Organometallic Chemistry*. 2009,23: 219–224. <https://doi.org/10.1002/aoc.1500>.

Simon Nicolas.(2016). Modulation de l'homéostasie glucidique par transfert de microbiote intestinal chez la souris conventionnelle. Thèse de doctorat. Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).P : 43 ,44.

Simonis-Bik AM, Eekhoff EM, Moor MH, Kramer M, Boosmsma D, Heine RJ. (2010).Gene variants in the novel type 2 diabetes loci CDC123/CAMK1D, THADA, ADAMTS9, BCL11A, and MTNR1B affect different aspects of pancreatic beta-cell function. *Diabetes*. 2010; 59: 293-301.

Stumvoll M, Chintalapudi U., Perriello G., Welle S., Gutierrez O. and Gerich J. (1995).Uptake and release of glucose by the human kidney. Postabsorptive rates and responses to epinephrine. *J Clin Invest*. 96(5): 2528-33.

TAVEAU Christopher.(2014). Rôle de la vasopressine dans les troubles du métabolisme glucidique : possible impact dans le développement du diabète. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie .P :44.

Terki, B. (2007). Synthèse, cyclisation, étude électrochimique et structurale de quelque N-acyl-N'alkylferrocenyl méthyle hydrazide, P :144

Testa B, Carrupt P-A, Gaillard P, Billois F, Weber P.(1996). Lipophilicity in molecular modeling.Pharmaceutical research. 13(3):335-43.

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

Tricoli, J.V., Shows, T.B. (1984). Regional assignment of human amylase to p22-p21 of chromosome 1. *Somatic Cell and Molecular Genetics*, 10, 205-210.

Turner, J.R.(2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature reviews. Immunology* 9, 799-809 .

Tuttle, K.R., Marker, IC., Dalsky, G.P., Schwartz, N.S., Shah, S.D., Clutter, W.E., Holloszy, J.O. & Cryer, P.E. (1988). Glucagon, not insulin, may play a secondary role in defense against hypoglycemia during exercise. *Am. J. Physio/.*, 254, E713- E719.

Uldry M. and Thorens B.(2004). The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters. *Pflugers Arch.* 447(5): 480-9.

Van De Waterbeemd H, Camenisch G, Folkers G, Raevsky OA.(1996). Estimation of Caco-2 cell permeability using calculated molecular descriptors. *Quantitative Structure-Activity Relationships.*1996, 15(6):480-90.

Van Obberghen E., Baron V., Delahaye L., Emanuelli B., Filippa N., Giorgetti-Peraldi S., Lebrun P., Mothe-Satney I., Peraldi P., Rocchi S., Sawka-Verhelle D., Tartare Deckert S. and Giudicelli J. (2001). Surfing the insulin signaling web. *Eur J Clin Invest.* 31(11): 966-77.

Voet, D. & Voet, J. G. (2005). *Biochimie.* Bruxelles. Editions de Boeck Université. 2^{ème} édition. pp. 1600.

Wager, T. T., Liras, J. L., Mente, S., and Trapa, P. (2012). Strategies to minimize CNS toxicity: in vitro high-throughput assays and computational modeling. *Expert opinion on drug metabolism and toxicology*, 2012,8(5), 531–42.

- Wakelam MJ, Murphy GJ, Hruby VJ, Houslay MD .(1986).** .Activation of two signal-transduction systems in hepatocytes by glucagon. *Nature* 323: 68-71.
- Walters WP, Murcko MA.(2002).** Prediction of 'drug-likeness'. *Advanced drug delivery reviews*.2002, 54(3):255-71.
- White M.F. (2002).** IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 283(3): E413-22.
- 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_i/AUC) ratios. *Drug Metabolism and Disposition*. 2004,32(11):1201-8.
- Woodward, R. B., Rosenblum, M., & Whiting, M. C.(1952).** A new aromatic system, *journal of the American chemical society*, Vol 74(13),p3458–3459.DOI: 10.1021/ja01133a543.
- Wright E.M., Loo D.D. and Hirayama B.A.(2011).** Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev*. 91(2): 733-94.
- Yengar R, Herberg JT. (1984).** Structural analysis of the hepatic glucagon receptor. Identification of a guanine nucleotide-sensitive hormone-binding region. *J Biol Chem* 259: 5222-5229.
- Yong-hua, G. (2007).** Etudes de synthèse électrochimiques et de fluorescence de nouveaux dérivés de la 1,2,4,5-tétrazines en tant que sondes moléculaires pour des anions et des composés riches en électrons et étude de synthèses électrochimiques de sels de ferrocène à base de pyridinium. Thèse de doctorat, Ecole normale supérieure de Cachan- ENS, Cachan .p183.
- Yves Landry Jean-Pierre Gies.(2014).** Pharmacologie des cibles à la thérapeutique Cours et fiches thérapeutiques.3^{ème} édition. Paris. P :8.
- Zerari, A (2013).** Synthèse, Séparation et Identification de mnitrophenylferrocene mono et bis-substitue. Mémoire master, Université KASDI MARBAH, Ouargla.P:3-4.
- Zhang, X., Caner, S., Kwan, E., Li, C., Brayer, G.D., Withers, S.G.(2016)** .Starch binding sites on the Human pancreatic alpha amylase D300N variant complexed with an octaose substrate.DOI: 10.2210/pdb5TD4/pdb.

Annexes

Annexe des droites de : (A) Droite de régression de pourcentage de l'inhibition en fonction de la concentration du composé / (B) Droite de $A_0/(A - A_0)$ en fonction de $1/[Composé]$.

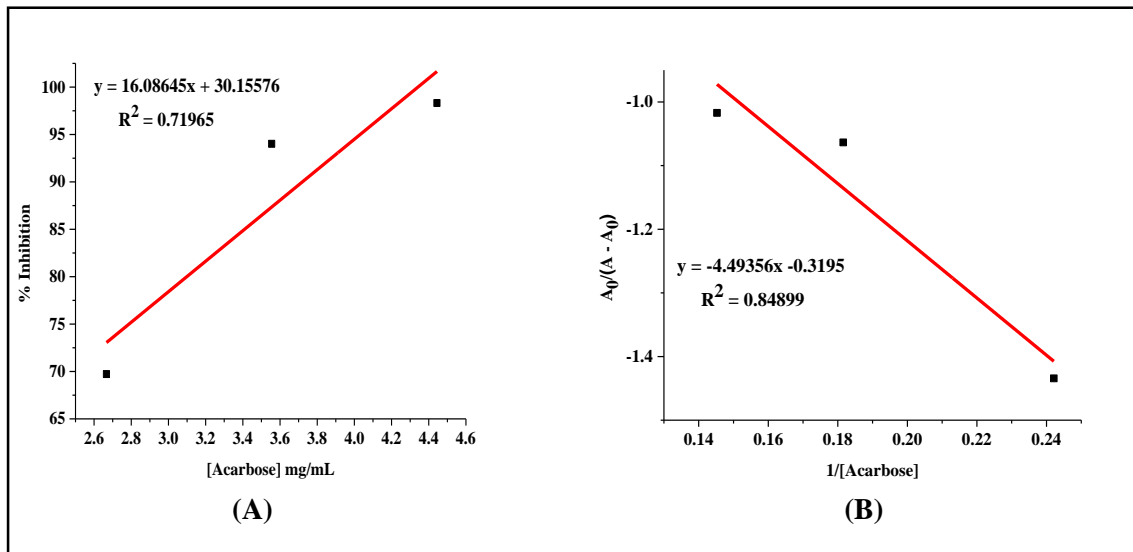


Figure 39. Droites de l'acarbose.

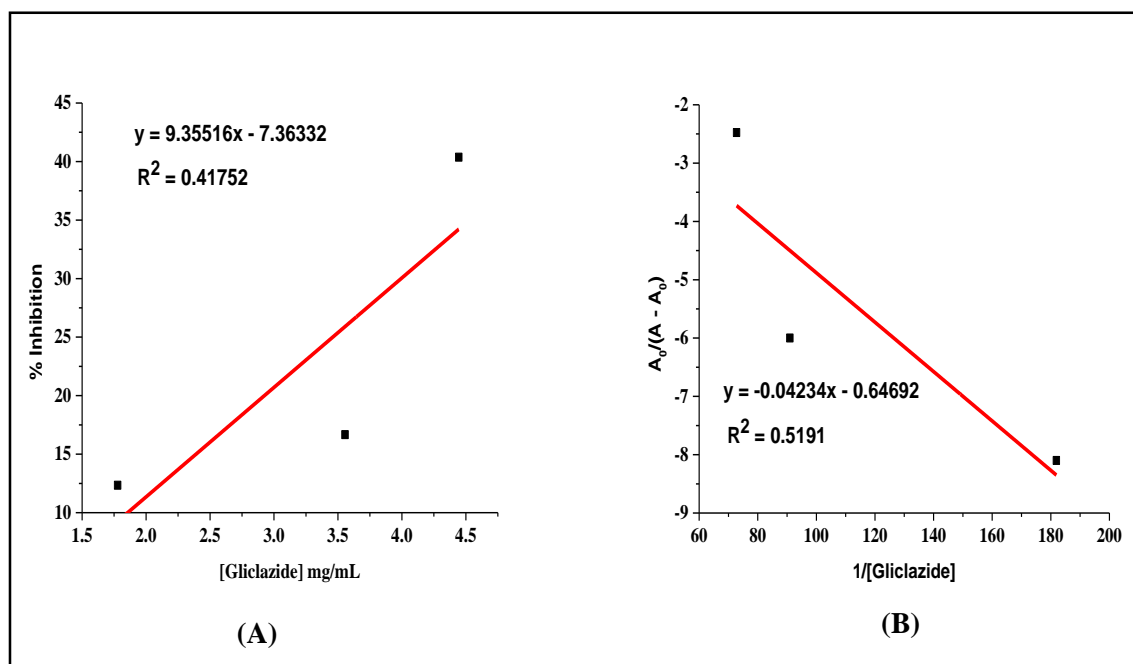


Figure 40. Droites de Gliclazide.

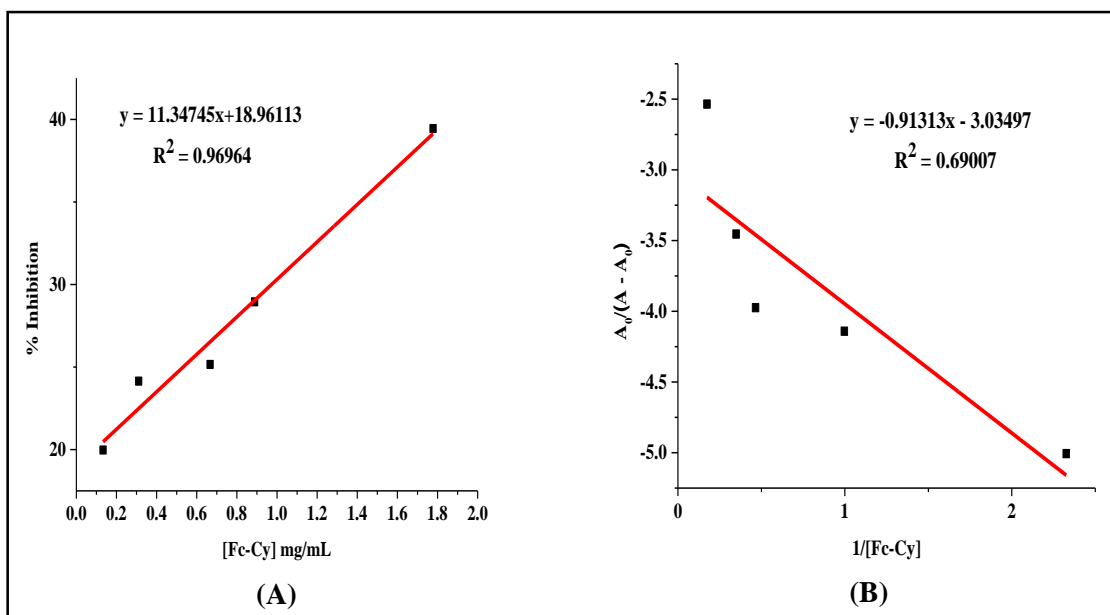


Figure 41. Droites de Fc-Cy.

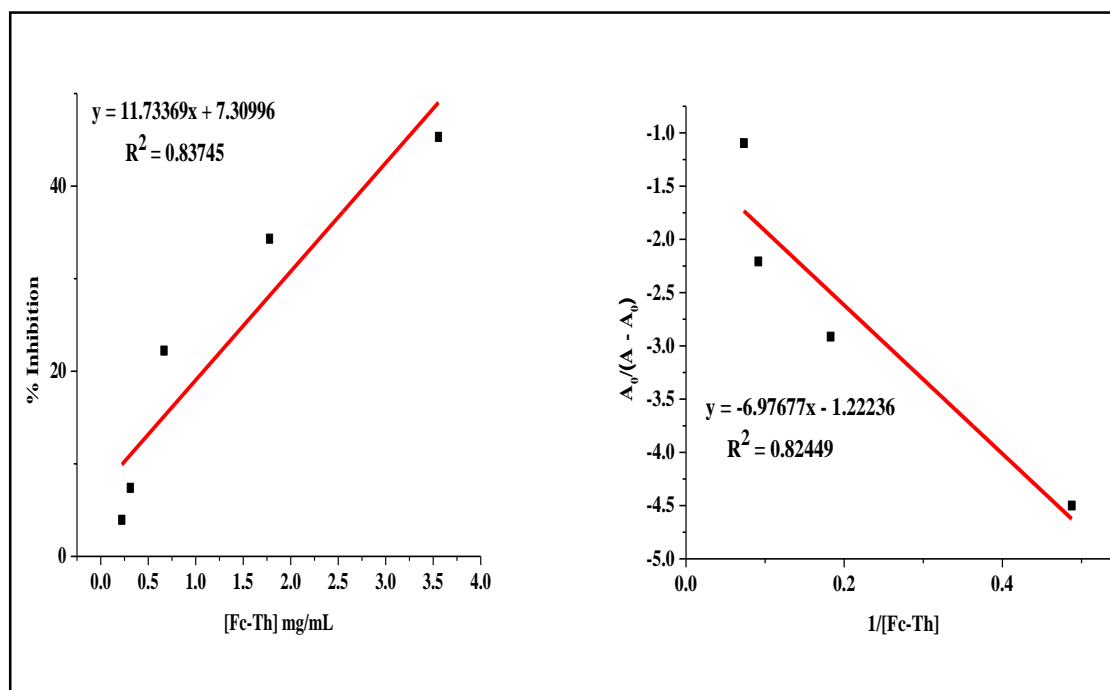


Figure 42. Droites de Fc-Th.

Tableau 12. Donnés de Fc-Ad utilisés dans l'étude spectroscopique.

m (mg)	m (g)	M (g/mol)	V final (mL)	V final (L)	C final (M)	C final (mM)	C final mg/mL	Abs (Contrôle)	Abs (Fc-Ad)	1/[Fc-Ad]	A0/A-A0	% Inhibition
4	0.004	333	2.25	0.00225	0.005	5.339	1.778	0.535	0.515	0.19	-26.750	3.738
6	0.006	333	2.25	0.00225	0.008	8.008	2.667	0.535	0.46	0.12	-7.133	14.019
8	0.008	333	2.25	0.00225	0.011	10.677	3.556	0.535	0.398	0.09	-3.905	25.607
10	0.01	333	2.25	0.00225	0.013	13.347	4.444	0.535	0.294	0.07	-2.220	45.047

Tableau 13. Donnés de Fc-Cy utilisés dans l'étude spectroscopique.

m (mg)	m (g)	M (g/mol)	V final (mL)	V final (L)	C final (M)	C final (mM)	C final mg/mL	Abs (Contrôle)	Abs (Fc-Cy)	1/[Fc-Cy]	A0/A-A0	% Inhibition
0.3	0.0003	310.15	2.25	0.00225	0.0004299	0.429899511	0.1333333333	0.791	0.633	2.326125	- 5.0063291	19.9747155
0.7	0.0007	310.15	2.25	0.00225	0.0010031	1.003098859	0.3111111111	0.791	0.6	0.996911	- 4.1413613	24.1466498
1.5	0.0015	310.15	2.25	0.00225	0.0021495	2.149497555	0.6666666667	0.791	0.592	0.465225	- 3.9748744	25.1580278
2	0.002	310.15	2.25	0.00225	0.002866	2.86599674	0.8888888889	0.791	0.562	0.348919	- 3.4541485	28.9506953
4	0.004	310.15	2.25	0.00225	0.005732	5.73199348	1.7777777778	0.791	0.479	0.174459	- 2.5352564	39.4437421

Tableau 14. Donnés de Gliclazide utilisés dans l'étude spectroscopique

m (mg)	m (g)	M (g/mol)	V final (mL)	V final (L)	C final (M)	C final (mM)	C final mg/mL	Abs (Contrôle)	Abs (Glic)	1/[Glic]	A0/A-A0	% Inhibition
4	0.004	323.41	2.25	0.00225	0.005497	5.49697838	1.7777777778	0.81	0.71	181.9181	-8.1	12.345679
8	0.008	323.41	2.25	0.00225	0.010994	10.99395676	3.5555555556	0.81	0.675	90.95906	-6	16.6666667
10	0.01	323.41	2.25	0.00225	0.0137424	13.74244595	4.4444444444	0.81	0.483	72.76725	- 2.4770642	40.3703704

Tableau 15. Donnés de Fc-Th utilisés dans l'étude spectroscopique.

m (mg)	m (g)	M (g/mol)	V final (mL)	V final (L)	C final (M)	C final (mM)	C final mg/mL	Abs (Contrôle)	Abs (Fc-Th)	1/[Fc-Th]	A0/A-A0	% Inhibition
0.5	0.0005	325.16	2.25	0.00225	0.0006834	0.683424229	0.222222222	0.81	0.778	1.46322	-25.3125	3.95061728
0.7	0.0007	325.16	2.25	0.00225	0.0009568	0.95679392	0.311111111	0.81	0.75	1.045157	-13.5	7.40740741
1.5	0.0015	325.16	2.25	0.00225	0.0020503	2.050272686	0.666666667	0.81	0.63	0.48774	-4.5	22.2222222
4	0.004	325.16	2.25	0.00225	0.0054674	5.46739383	1.777777778	0.81	0.532	0.182903	-	34.3209877
8	0.008	325.16	2.25	0.00225	0.0109348	10.93478766	3.555555556	0.81	0.443	0.091451	-	45.308642
10	0.01	325.16	2.25	0.00225	0.0136685	13.66848458	4.444444444	0.81	0.071	0.073161	-	91.2345679
											2.9136691	
											2.2070845	
											1.0960758	

Tableau 16. Donnés de l'acarbose utilisés dans l'étude spectroscopique.

m (mg)	m (g)	M (g/mol)	V final (mL)	V final (L)	C final (M)	C final (mM)	C final mg/mL	Abs (Contrôle)	Abs (Acar)	1/[Acar]	A0/A-A0	% Inhibition
4	0.004	645.6	2.25	0.00225	0.0027537	2.753683051	1.777777778	0.535	0.37	0.36315	-	30.8411215
6	0.006	645.6	2.25	0.00225	0.0041305	4.130524577	2.666666667	0.535	0.162	0.2421	-	69.7196262
8	0.008	645.6	2.25	0.00225	0.0055074	5.507366102	3.555555556	0.535	0.032	0.181575	-	94.0186916
10	0.01	645.6	2.25	0.00225	0.0068842	6.884207628	4.444444444	0.535	0.009	0.14526	-	98.3177573
											3.2424242	
											1.4343164	
											1.0636183	
											1.0171103	

Tableau 17. Les matériels utilisés.

Les matériels	
Etuve	Bain de glace.
Portoir pour tubes spéciaux de centrifugation.	Micropipettes ajustables avec des embouts stériles.
Vortex.	Barreau Magnétique.
Balance analytique (Shanghai Sunrise Instrument précision 0. 1mg).	Agitateurs magnétiques à plaque chauffante.
Bain marie de type MEMMERT	UV spectrophotomètre (UV-1800 SHIMADZU) cuves de Quartz.
Verreries (bucher, erlenmeyer, éprouvette, tubes à essai, Pipette graduée...).	pHmètre 210 MeterLAB.

Résumé

Notre travail a porté sur l'évaluation de l'affinité des DFC-BN, destinées à inhiber l'action catalytique de l'alpha amylase, impliqué dans la régulation enzymatique de métabolisme glucidique, chez les sujets diabétiques.

Nous nous sommes appuyés dans la première partie de notre travail sur la prédiction *in silico* des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des 3 composés Fc-BN sélectionnés à l'aide des serveurs : swissADME , admetSAR et Prottox. Les résultats ont montré que tous ces composés ont des bonnes caractéristiques de druglikeness.

Par la suite, l'interaction de l'alpha amylase avec les DFC-BN, dans le milieu réactionnel, permet de déterminer les paramètres : IC_{50} et ΔG , les résultats montrent que ces dérivés ferrocéniques ont une interaction électrostatique avec l'enzyme ainsi, la valeur de l' IC_{50} a montré une activité inhibitrice très importante en les comparant avec l'acarbose.

En revanche, Les résultats obtenus par l'amarrage moléculaire (Docking) confirment les résultats *in vitro*. D'ailleurs, elles présentent des valeurs négatives de ΔG ce qui traduit la bonne affinité des ligands avec la cible biologique. La formation des liaisons hydrogène, entre les dérivés ferrocéniques (et plus spécifiquement le Fc-Cy) et l'enzyme, confirme l'efficacité antidiabétique de ces dérivés et permet de les considérer comme des futurs médicaments antidiabétiques.

Mots clés : DFC-BN , α -amylase , activité antidiabétique ,Docking , swissADME .

Abstract

Our work focused on the evaluation of the affinity of the DFc-BN, intended to inhibit the catalytic action of the alpha amylase, involved in the enzymatic regulation of carbohydrate metabolism, in diabetic subjects.

We used, in the first part of our work, the in silico prediction of the physicochemical, pharmacokinetic and toxicological properties of the 3 Fc-BN compounds selected, using the servers: swissADME , admet SAR and Protox. The results showed that all these compounds have good druglikeness characteristics.

Subsequently, using the enzyme preparation with the DFc-BN, in the reaction medium, makes it possible to determine the parameters: IC_{50} and ΔG from which we arrived at the biological efficacy of the compounds studied.

The results obtained by molecular docking (Docking) confirm the results in vitro; they showed negative ΔG values which reflect the good affinity of the ligands with the biological target. The formation of hydrogen bonds, between ferrocenic derivatives (more specifically the Fc-Cy) and the enzyme, confirms the antidiabetic efficacy of these derivatives and allows them to be considered as future anti-diabetic drugs.

Keywords: DFc-BN , α -amylase , antidiabetic activity ,Docking , swissADME .

الملخص

إن عملنا يركز على تقييم مدى شراهة المركبات الفيروسيوية-قواعد آزوتية ، التي تستهدف تثبيط الفاعلية الانزيمية للألفا أميلاز المشارك في التنظيم الإنزيمي لأبيض الكربوهيدرات، لدى مرضى السكري.

اعتمدنا في أول جزء من عملنا على التنبؤ النظري بالخصائص الفيزيوكيميائية،الصيدلانية والسمية للثلاث مركبات فيروسيوية المختارة وهذا بفضل الخوادم SwissADME ,admeSAR ,Protox .

النتائج المحصل عليها تشير الى أن كل المركبات ذات خصائص جيدة شبيهة بالدواء.

تبعاً لما سبق، استعمال المستحضر الإنزيمي مع المركبات الفيروسيوية-قواعد آزوتية في وسط التفاعل، يسمح بتحديد المؤشرات ΔG و IC_{50} و التي من خلالها خلصنا إلى الفاعلية البيولوجية للمركبات المدروسة.

النتائج المحصل عليها عبر Docking تؤكد تلك المحصل عليها عملياً، إذ تشير الى قيم ΔG سالبة ما يترجم التفاعل الجيد للمركبات الفيروسيوية مع المركب البيولوجي الهدف.

تشكيل روابط هيدروجين بين المشتقات الفيروسيوية (و بالتحديد IC_{50}) مع الأنزيم ، يؤكد الفاعلية ضد سكرية لها وتسمح باعتمادها كأدوية مستقبلية تعالج السكري.

الكلمات المفتاحية : المشتقات الفيروسيوية-قواعد آزوتية، ألفا أميلاز، فاعلية ضد سكرية ، Docking ، SwissADME.