

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri  
FACULTE DE MEDECINE  
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري  
كلية الطب  
تيزي وزو

Département de Pharmacie  
N° D'ordre :

٢٠٢٣/٢٠٢٢

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté sous forme d'article et soutenu publiquement  
En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Le : 02/07/2023

*Sous le Thème*

**Conception, synthèse de nouveaux dérivés de la metformine et étude de leur affinité pour la PI3K par docking moléculaire**

Réalisé par :

Agred Thiziri  
Grim Thinhinane

Encadré par :

Promotrice : Dr Hadhoum Nadia

Membres du jury :

Dr Belazougui.O	Maitre assistante	faculté de médecine UMMTO	Président du jury
Dr Hadhoum.N	MCA	faculté de médecine UMMTO	Rapporteur
Dr Namani.A	Maitre assistante	faculté de médecine UMMTO	Examinatrice
Dr Lahmek.K	Assistante	faculté de médecine UMMTO	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2022/2023



# Conception, synthèse de nouveaux dérivés de la metformine et étude de leur affinité pour la PI3K par docking moléculaire

Thinhinane Grim<sup>1\*</sup> Thiziri Agred<sup>1\*</sup> Nadia Hadhoum<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Département de pharmacie, Faculté de Médecine, Université Mouloud Mammeri, 15000 Tizi-Ouzou, Algérie.

\*Auteurs correspondant : E-mail : [pharmacien996@gmail.com](mailto:pharmacien996@gmail.com)

## Résumé

Au cours des siècles, l'humanité a été confrontée à de nombreuses maladies graves qui ont laissé une empreinte significative dans le monde, notamment, le cancer. Des recherches ont démontré que la metformine, en tant qu'agent anticancéreux prometteur, possède une activité inhibitrice des kinases, ce qui bloque ainsi la voie de signalisation des PI3K fréquemment perturbée dans le cancer. Dans cette optique, Nous avons proposé quatre analogues de la metformine appartenant à la série 3-[imino (2', 4', 5'-trisubstitué-1'H-imidazol -1'- yl) methyl] 1,1-diméthyl guanidine.

En utilisant une méthode *in silico* du docking moléculaire, nous avons exploré comment ces nouvelles molécules pourraient se lier et interagir avec la PI3K, protéine enregistrée dans la banque de données sous le code 8EXL. Ainsi, nous avons évalué leur profil physico-chimique et pharmacocinétique (ADMET) à l'aide des logiciels spécialisés tels que admetSAR et SwissADME. Une fois que nous avons identifié les candidats prometteurs, ceux ayant la meilleure affinité pour la PI3K de classe I évaluée par docking moléculaire, nous avons réalisé une synthèse des deux composés (Comp1 et comp2) en faisant réagir la metformine avec un dérivé alpha-dicarbonylé et un aldéhyde substitué en présence de nitrate de cérium et d'ammonium, d'éthanol ainsi que l'acétate d'ammonium. La caractérisation des produits obtenus a été réalisée avec des techniques spectroscopiques, à savoir l'infrarouge IR et UV-visible ainsi que par chromatographie sur couche mince (CCM), de plus nous avons déterminé le point de fusion des composés synthétisés.

## Abstract

Over the centuries, mankind has been confronted with numerous serious diseases that have left a significant mark on the world, most notably cancer. Research has shown that metformin, as a promising anticancer agent, possesses kinase inhibitory activity, thus blocking the PI3K signaling pathway frequently disrupted in cancer. With this in mind, we have proposed four metformin analogues to 3-[imino (2', 4', 5'-trisubstituted-1'H-imidazol-1'-yl) methyl] 1,1-dimethyl guanidine series.

Using an *in silico* molecular docking method, we explored how these new molecules could bind and interact with PI3K, a protein registered in database under the code 8EXL. We assessed their physico-chemical and pharmacokinetic (ADMET) profiles using specialized software such as admetSAR and SwissADME. Once we had identified promising candidates, those with the best affinity for class I PI3K as assessed by molecular docking, we synthesized the two compounds (Comp1 et Comp2) by reacting metformin with an alpha-dicarbonyl derivative and a substituted aldehyde in the presence of cerium ammonium nitrate, ethanol and ammonium acetate. Characterization of the products obtained was carried out using spectroscopic techniques, namely IR and UV-visible infrared, as well as by thin-layer chromatography (TLC), and the melting points of the synthesized compounds were determined.

**Mots-clés :** Cancer, metformine, 8EXL, docking moléculaire, ADMET.

## 1. Introduction

**L**e XXI<sup>e</sup> siècle est confronté à des défis majeurs en matière de santé mondiale, avec une augmentation spectaculaire des maladies chroniques. Parmi celles-ci, on peut citer les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le diabète et les maladies grave considérées comme incurables, telles que le cancer <sup>(2)</sup>.

Le cancer est une maladie qui a existé depuis plus de 200 millions d'années. Contrairement à d'autres maladies qui peuvent être causées par des agents externes tels que les virus ou les bactéries, les facteurs déclencheurs du cancer sont principalement intrinsèques, tels que les mutations génétiques <sup>(3)</sup>. Les statistiques récentes du cancer sont alarmantes. Selon L'Organisation Mondiale de la Santé, en 2020 le cancer est la deuxième cause de mortalité dans le monde, responsable de près de 10 millions de décès<sup>(4)</sup>. Pour la même année, Global Cancer Observatory (GCO) estimait qu'en Algérie, un total de 58418 nouveaux cas de cancer et 32802 décès. Les cas de cancer les plus fréquents recensés par le GCO chez la population algérienne sont le cancer du poumon (15.2 %), le cancer de la prostate (13.2 %) et le cancer colorectal (12.7 %) chez les hommes, tandis que le cancer du sein (40.3 %), le cancer colorectal (9.9%) et le cancer de la thyroïde (5.7 %) sont les cas de cancers les plus fréquents chez les femmes <sup>(5)</sup>.

Le développement de la tumeur est la conséquence d'un déséquilibre entre la division et la croissance des cellules et la mort cellulaire programmée, également connus sous le nom d'apoptose. Dans des conditions normales, les protéines et les voies de signalisation dans l'organisme régulent efficacement la croissance, la différenciation et le développement des cellules. Cependant, lorsqu'il y a des altérations génétiques, ces dernières peuvent subir des changements oncogènes, ce qui peut perturber l'équilibre naturel de la division cellulaire. Ces changements peuvent entraîner une prolifération cellulaire incontrôlée et la formation de tumeur <sup>(6)</sup>.

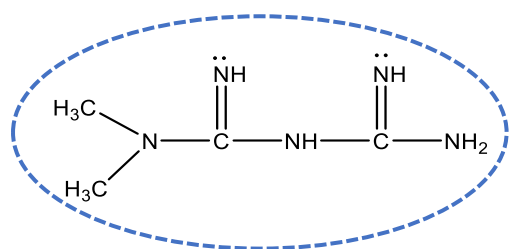
La prise en charge de cette maladie reste complexe malgré les progrès significatifs dans le développement des médicaments anticancéreux. De nombreux traitements anticancéreux présentent des effets indésirables et entraînent le développement de résistances chez les cellules tumorales, limitant ainsi leur efficacité <sup>(7)</sup>. Face à ce dilemme, la recherche se tourne vers des traitements plus ciblés et moins toxiques ou bien à un repositionnement de médicament.

Dans cette optique, un intérêt particulier a été porté à la metformine, un remède qui a manifesté un effet prometteur à l'encontre de ces tumeurs malignes, c'est un antidiabétique oral, de la classe des biguanides, prescrit en première intention aux patients atteints du diabète type 2

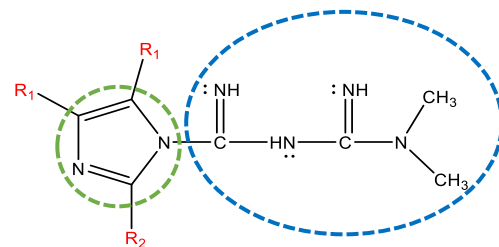
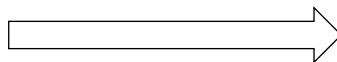
(DT2) en raison de son profil bénéfice/risque favorable <sup>(8)</sup>. En 2005, les premières études chez des personnes nouvellement atteintes de DT2 et admises en hôpital pour atteinte de tumeurs malignes ont suggéré l'utilisation potentiel de la metformine en cancérologie <sup>(9, 10)</sup>. Depuis, d'autres études épidémiologiques britanniques type observationnelles ont été menées, portant sur deux groupes de 4085 sujets avec un DT2, suivis pendant dix ans, les résultats ont montré que le groupe traité par la metformine avait une incidence de 7,3 % de cancers diagnostiqués, contre 11,6 % dans le groupe comparatif non traité par la metformine <sup>(11)</sup>.

Cette dernière a également montré des effets significatifs dans le traitement de plusieurs cancers solides, tels que le cancer colorectal (CCR) et le cancer de la vessie <sup>(12)</sup>, car il a été établi qu'en réduisant les taux circulants d'insuline et d'IGF-1 au niveau systémique, la metformine entrave l'induction de l'activité des voies de signalisation pi3k/akt/mTORC1 <sup>(13-15)</sup>. Dans ce cas la metformine va agir par inhibition de la voie de signalisation PI3K/ Akt, qui se trouve perturbée dans le cas des tumeurs et contribue à la prolifération anarchique des masses tumorales <sup>(16)</sup>.

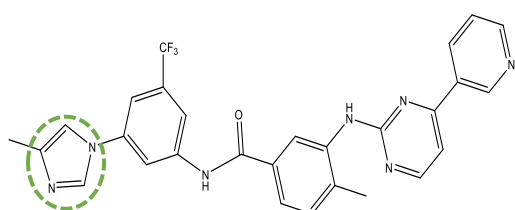
En se basant sur l'effet anticancéreux particulier de la metformine, nous nous sommes intéressés dans notre travail au développement de nouveaux analogues structuraux de cette dernière afin d'améliorer son effet antitumoral en insérant dans la structure un noyau imidazolé, structure hétérocyclique ayant déjà prouvé un intérêt particulier dans la prise en charge du cancer <sup>(17-19)</sup>. Une série de quatre molécules appartenant aux dérivés de 3-[imino (2', 4', 5'-trisubstitué-1'H-imidazol-1'-yl) methyl] 1,1-diméthyl guanidine a été évaluée in silico, pour prédire leur affinité pour la PI3K et les deux meilleurs ont été synthétisées et identifiées. La réaction chimique générale est représentée dans le schéma 1.



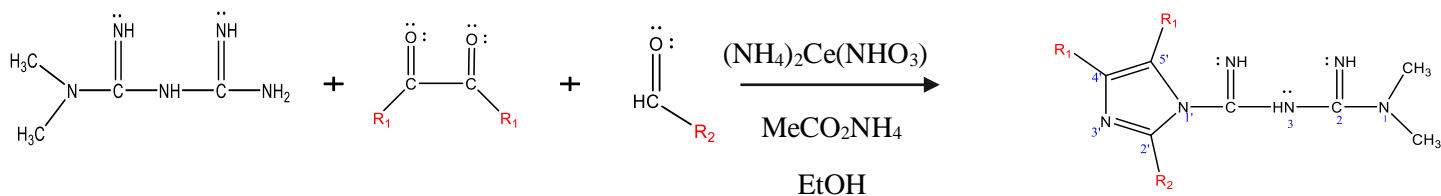
Metformine (anticancéreux par inhibition probable de la PI3K)



Composé obtenu



Nilotinib (médicament anticancéreux contenant de l'imidazole) <sup>(1)</sup>



Comp 1 :  $R_1$  : Phényle,  $R_2$  : H

Comp 2 :  $R_1$  : Phényle,  $R_2$  : Phényle

Comp 3 :  $R_1$  : H,  $R_2$  : H

Comp 4 :  $R_1$  : H,  $R_2$  : phényle

**Schéma 1** : Conception et synthèse de 3-[imino (2', 4', 5'-trisubstitué-1'H-imidazol-1'-yl) methyl] 1,1-dimethyl guanidine

## 2. Matériel et Méthodes

### • Docking moléculaire

En nous appuyant principalement sur les cibles connues de la metformine en tant qu'agent anticancéreux prometteur, une tendance à inhiber la voie des PI3K <sup>(20)</sup> a été observée. Une approche a été adoptée pour concevoir des composés dérivés de la metformine similaire aux inhibiteurs déjà connus. Pour cela, nous avons utilisé un logiciel de docking Autodock Vina <sup>(21, 22)</sup> afin de prédire le mode d'interaction, les énergies de liaison et les interactions avec les résidus du site actif. La structure de la protéine sélectionnée a été téléchargée depuis la base de données Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), disponible sous le code 8EXL et obtenue avec une résolution de 1,99 Å, elle correspond à la PI3K co-cristallisée avec le ligand tselisib <sup>(23)</sup>. Pour préparer le récepteur pour le docking moléculaire, nous avons utilisé Autodock Tools. Deux inhibiteurs de la PI3K, le tselisib et l'alpelisib ont été choisis comme références. Les composés synthétisés, la metformine et les médicaments de référence ont été dessinés à l'aide du logiciel ChemSketch. Le fichier PDB de chaque composé a été importés dans le logiciel Autodock Tools en tant que ligand. Le site actif a été identifié et les dimensions précises du gride ont été déterminées par le même programme, nous avons obtenu les valeurs suivantes pour le centre : X= -19, Y= 12, Z = 29, la taille du box étant de 50 Å. Toutes les simulations de docking ont été réalisées dans les mêmes conditions. Les poses et les énergies de liaison ont été prédites par Autodock Vina, et leur visualisation a été réalisée à l'aide du logiciel Biovia Discovery.

### • Prédiction *in silico* des paramètres ADMET

Les avancées en immuno-informatique ont ouvert la voie à la conception et la prédiction des propriétés de nouvelles molécules au préalable des essais *in vitro* et *in vivo*. Le profil pharmacologique et toxicologique à prédire revêtent une importance capitale pour la

présélection des candidats médicaments prometteurs. En utilisant les logiciels admetSAR <http://lmm.d.ecust.edu.cn/admetSar1/predict/>,<sup>(24)</sup> et SwissADME <http://www.swissadme.ch/>,<sup>(25)</sup> nous avons pu prédire les différentes propriétés ADMET de nos composés conçu in silico.

- ***Synthèse et caractérisation structurale de la série 3- [imino - (2',4',5'-trissubstitué-1'H-imidazol-1'-yl) méthyl] 1, 1-diméthyl guanidine***

Sur la base des données de la prédiction in silico de l'affinité des quatre composés proposés pour la cible ainsi que des propriétés pharmacocinétiques et de la toxicité, nous avons opté pour la synthèse des deux composés qui ont donné la meilleure affinité.

Dans une fiole de 100 ml, nous avons préparé un mélange à partir de 0.645 g de metformine (BIOCHEM) avec un dérivé alpha-dicarbonylé à savoir 2,10 g de benzile (BIOCHEM). A cela nous avons additionné un aldéhyde soit 0,37 ml de formaldéhyde (BIOCHEM) (Comp1) ou 1,02 ml de benzaldéhyde (SIGMA-ALDRICH) (Comp2) ainsi que 0,77 g d'acétate d'ammonium (BIOCHEM), dans 15 ml d'éthanol 96°(BIOCHEM). Le mélange réactionnel a été porté à ébullition pendant 4 heures après l'ajout de 0,82 g de nitrate de cérium et d'ammonium (CAN, ALDRICH) utilisé comme catalyseur et l'adaptation d'un réfrigérant à reflux. Les composés obtenus ont été purifiés par recristallisation dans l'éthanol<sup>(26, 27)</sup>. La caractérisation des deux composés synthétisés a été réalisée par des techniques spectrophotométriques ; UV-VISIBLE avec le DMSO comme solvant<sup>(28)</sup>, IR à l'aide de bromure de potassium pur et anhydre (KBr) pour la confection des pastilles<sup>(28)</sup>, CCM dans 2 phases mobiles afin d'avoir une bonne séparation :  $\phi_1$  (chloroforme/acétone) (36 ml / 4ml),  $\phi_2$  (méthanol/ammoniaque) (20 ml / 600  $\mu$ l), ainsi que la détermination du point de fusion.

### **3. Résultats**

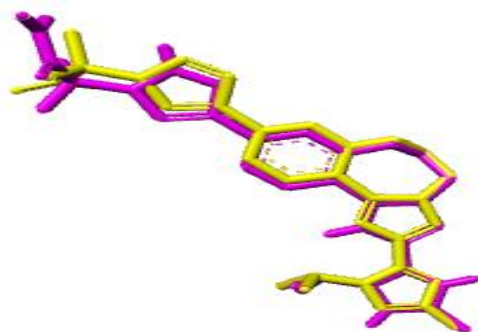
- ***Docking moléculaire***

Afin de confirmer la fiabilité du modèle de docking, nous avons effectué une simulation de docking moléculaire pour le ligand de référence, en utilisant le site actif de la PI3K. Les résultats ont montré un RMSD = 1.68 Å et la conformation obtenue par le docking était superposable avec la conformation expérimentale (ancrée au niveau du site actif). Le résultat de cette simulation est illustré dans la figure 1.

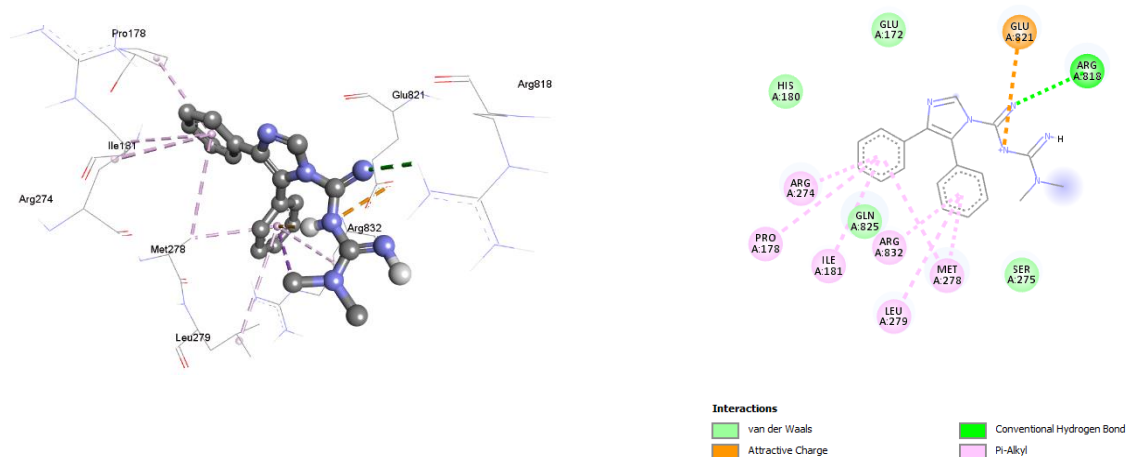
Le docking moléculaire de la metformine ainsi que des quatre molécules dérivées de cette dernière (Composé 1, Composé 2, Composé 3, Composé 4) conçues in silico a été réalisés dans

les mêmes conditions (préparation des ligands et dimensions du grid box), avec la cible sélectionnée la 8EXL. Les énergies de liaison obtenues sont représentées dans le Tableau I.

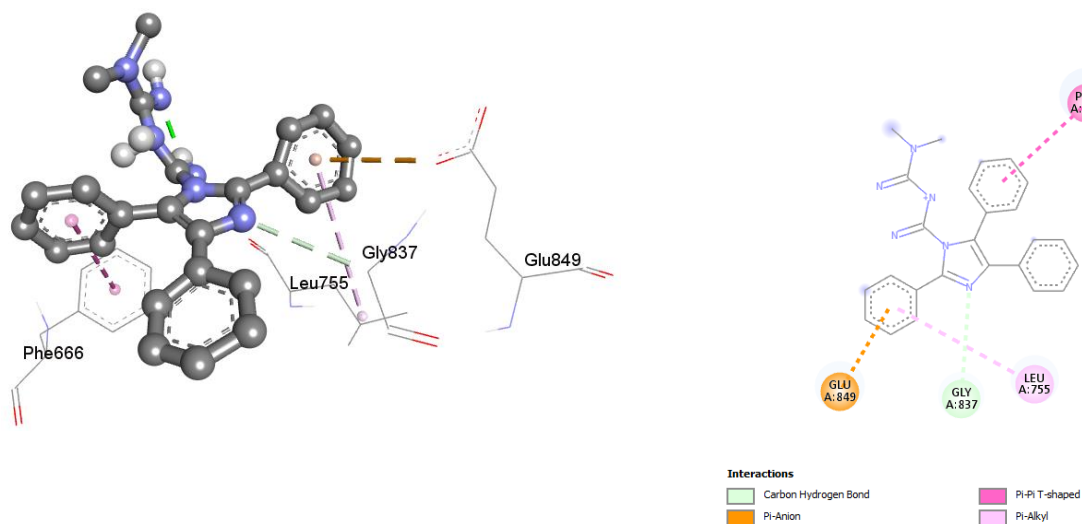
L'analyse des modes de liaison et des interactions ligand-protéine, effectuée à l'aide de Biovia Discovery, a révélé que toutes les molécules susdites formaient des liaisons hydrogène et des interactions avec les résidus d'acides aminés de la protéine décrites dans le Tableau I et illustrées dans les figures : 2 – 6.



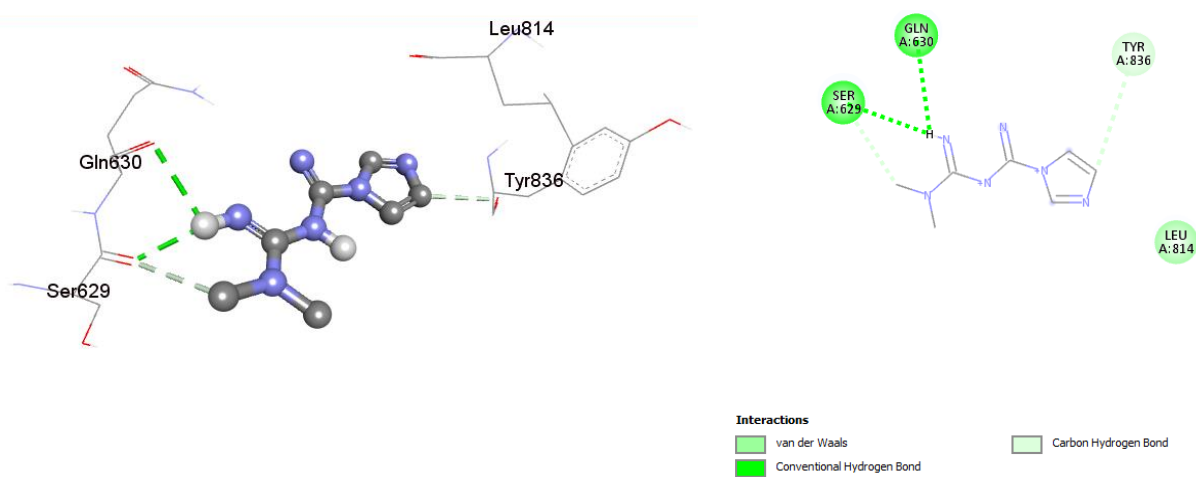
**Figure 1.** Résultat de la superposition du ligand expérimental ancré au niveau du site actif en jaune et le ligand de référence obtenu avec autodock vina



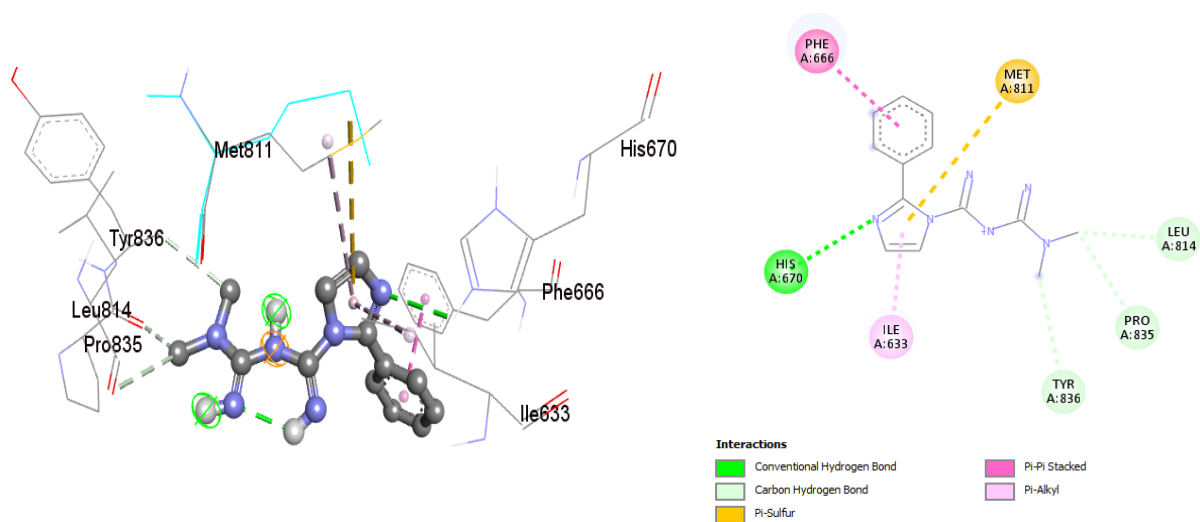
**Figure 2.** Interactions ligand-protéine du Comp1 avec la 8EXL en 3D et 2D



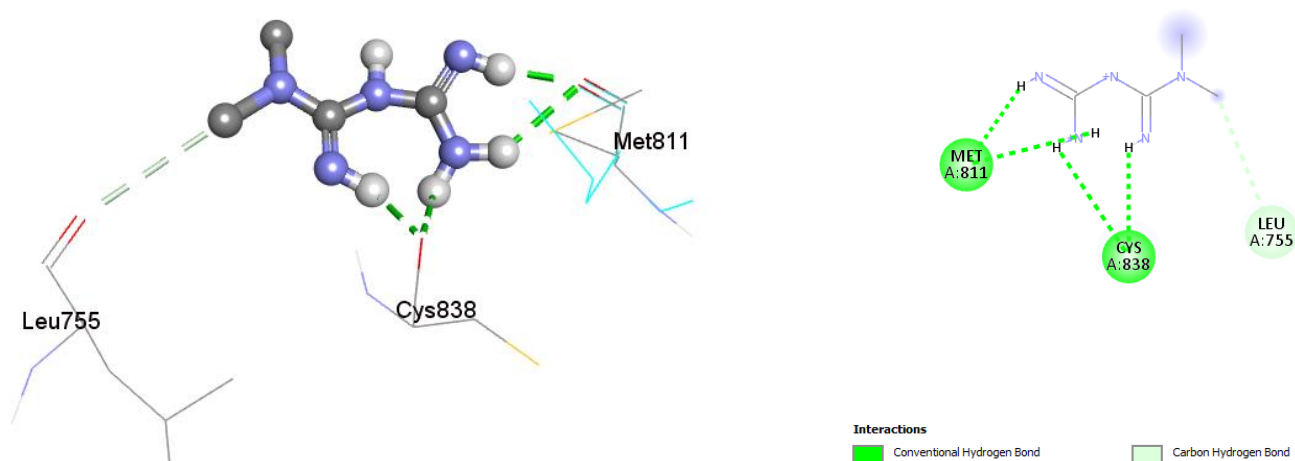
**Figure 3.** Interactions ligand-protéine du Comp2 avec la 8EXL en 3D et 2D



**Figure 4.** Interactions ligand-protéine du Comp3 avec la 8EXL en 3D et 2D



**Figure 5.** Interactions ligand-protéine du Comp4 avec la 8EXL en 3D et 2D



**Figure 6.** Interactions ligand-protéine de la Metformine avec la 8EXL en 3D et 2D

**Tableau I.** Energies et types de liaisons obtenus par Autodock Vina pour les composés proposés et les références

Molécules	Nombre de H-Bond	H-Bond	Résidus interactifs	Energie de liaison avec la 8EXL (Kcal.mol <sup>-1</sup> )
<b>Comp 1</b>	1	Arg818 (NH, d = 2.64 Å)	Pi-Cation : Glu821 Pi-Alkyl : Arg274, Pro178, Ile181, Arg832, Leu279, Met278.	-9.2
<b>Comp 2</b>	1	Gly837 (NH, d = 3.58 Å)	Pi-Anion : Glu849 Pi-Alkyl : Leu755 Pi-Pi T-shaped : Phe666	-9.9
<b>Comp 3</b>	4	Ser629 (C=O, d = 2.27 Å) Ser629 (C=O, d = 3.22 Å) Gln630(C=O, d= 2.57Å) Tyr836 (C=O, d = 3.54 Å)	-	-6.2
<b>Comp 4</b>	4	His670 (NH, d = 2.83 Å) Tyr836 (C=O, d = 3.44 Å) Pro835 (C=O, d = 3.20 Å)	Pi-Alkyl : Ile633 Pi-Pi Stacked : Phe666 Pi-Sulfure : Met811	-8.2

		Leu814 (C=O, d = 3.27 Å)		
<b>Metformine</b>	5	Met811 (C=O, d = 2.48 Å) Met811 (C=O, d = 1.91 Å) Cys838 (C=O, d = 2.63 Å) Cys838 (C=O, d = 2.23 Å) Leu755 (C=O, d = 3.66 Å)		-5.3
<b>Alpelisib</b>	4	Val851 (C=O, d = 3.39 Å) Val851 (NH, d = 2.28 Å) Val851 (CO, d = 3.72 Å) Ser884 (O, d = 3.33 Å)	Pi-Sigma : Ile848 Pi-Sulfur : Met922 Pi-Pi T-shaped : Trp780	-10.1
<b>Taselisib</b>	2	Cys838 (NH, d = 2.29 Å) Glu259 (O, d = 3.66 Å)	Pi-Alkyl : Lys271, Val254, Tyr272, Cys257 Pi-Sulfure : Cys257 Pi-Anion : Glu259	-9.0

- **Prédiction *in silico* des paramètres ADMET**

Les résultats ADMET ainsi que les paramètres des lois Lipinski, Veber et GSK, obtenus à l'aide des logiciels admetSar et SwissADME des composés conçus *in silico* (Comp1, Comp2, Comp3, Comp4) sont regroupés dans le Tableau II.

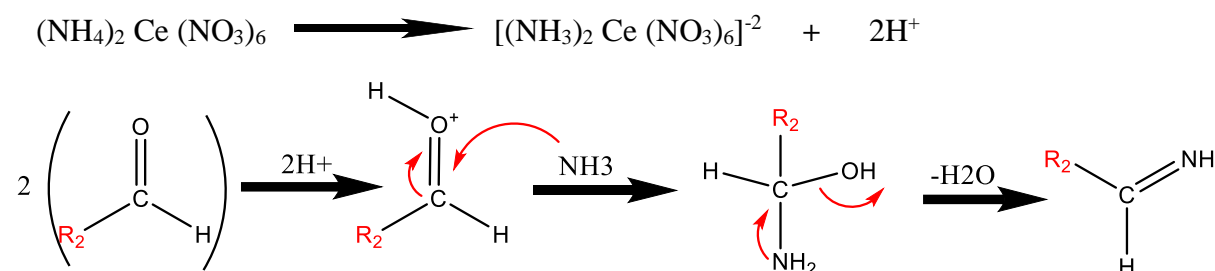
**Tableau II.** Paramètres physico-chimiques, pharmacocinétiques et toxicité des composés proposés

<b>Paramètres</b>	<b>Comp 1</b>	<b>Comp 2</b>	<b>Comp 3</b>	<b>Comp 4</b>
<b>MW (g/mol)</b>	329.39	405.49	177.19	256.31
<b>nHA</b>	2	2	2	4
<b>nHD</b>	0	0	0	3
<b>nRot</b>	2	3	0	1
<b>TPSA (Å<sup>2</sup>)</b>	80,79	80,79	80,79	80,79
<b>Alog P</b>	1.54	3.21	-1.79	1.42
<b>Solubilité dans l'eau (logS)</b>	-3.32	-3.04	-1.77	-2.32
<b>SA score</b>	3.51	3.95	2.79	2.91
<b>Perméabilité Caco-2</b>	Oui	Oui	Oui	Oui
<b>Absorption intestinale (%)</b>	98	99	97	98
<b>Biodisponibilité orale (%)</b>	52	51	52	60
<b>Pgp substrat</b>	Non	Non	Non	Non
<b>Pgp inhibiteur</b>	Oui	Oui	Non	Non
<b>BHE</b>	Oui	Oui	Oui	Non
<b>LPP (%)</b>	86.7	99.4	25.2	61.4
<b>Localisation</b>	Mitochondriale	Mitochondriale	Mitochondriale	Mitochondriale
<b>OCT2 inhibiteur</b>	Non	Non	Non	Non
<b>Inhibiteur de CYP1A2</b>	Oui	Oui	Non	Oui
<b>Inhibiteur de CYP2C19</b>	Oui	Oui	Non	Non
<b>Substrat de CYP2C9</b>	Non	Non	Non	Non
<b>Inhibiteur de CYP2C9</b>	Oui	Non	Non	Non
<b>Substrat de CYP2D6</b>	Non	Non	Non	Non
<b>Inhibiteur de CYP2D6</b>	Oui	Oui	Non	Non
<b>Substrat de CYP3A4</b>	Non	Oui	Non	Non
<b>Inhibiteur de CYP3A4</b>	Oui	Oui	Non	Non
<b>hERG</b>	Oui	Oui	Non	Non
<b>Hépto-toxicité</b>	Oui	Oui	Oui	Oui
<b>Néphrotoxicité</b>	Non	Oui	Non	Non
<b>AMES</b>	Non	Oui	Oui	Non
<b>Cancérogénicité</b>	Non	Non	Non	Non

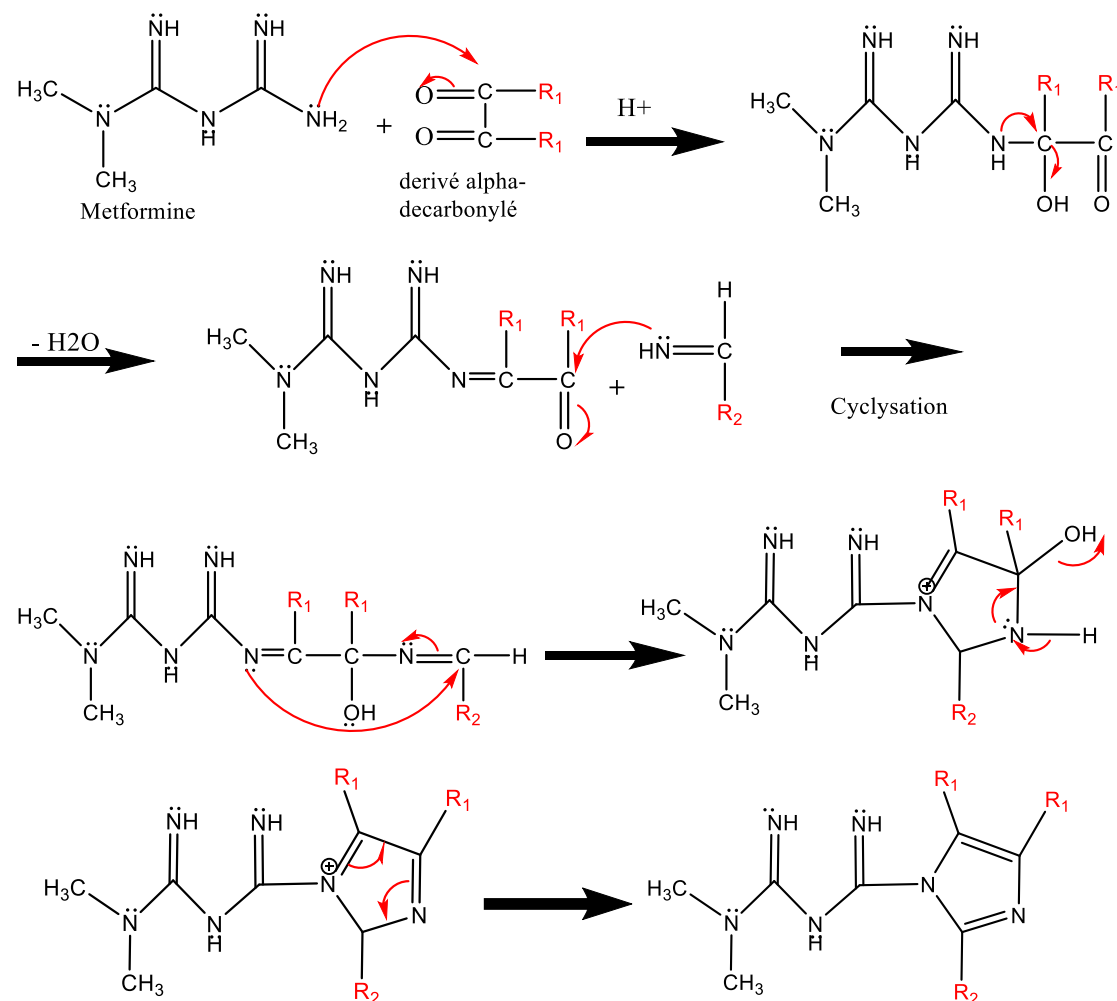
- **Synthèse et caractérisation structurale des dérivés de la série 3- [imino - (2',4',5'-trisubstitué-1'H-imidazol-1'-yl) méthyl] 1, 1-diméthyl guanidine**

Le Tableau III présente les résultats de synthèse des deux composés, ainsi que leur caractérisation structurale. Parallèlement, le schéma 2 expose le mécanisme réactionnel proposé pour cette synthèse.

- **Protonation de l'aldéhyde par le catalyseur CAN et l'acétate d'ammonium**

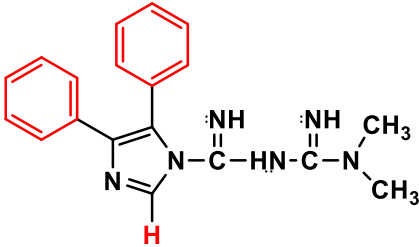
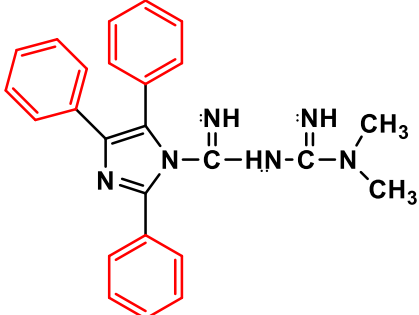


- **Condensation avec le benzile et la metformine**



**Schéma 2. Mécanisme réactionnel**

**Tableau III.** Propriétés physicochimiques, caractéristiques spectroscopiques de UV-visible et IR des deux composés synthétisés.

Structures des ligands synthétisés		
Nomenclature	3- [imino - (4',5'-diphenyl-1'H-imidazol-1'-yl) méthyl] 1, 1-diméthyl guanidine	3- [imino - (2',4',5'-triphenyl-1'H-imidazol-1'-yl) méthyl] 1, 1-diméthyl guanidine
Aspect physique	Poudre cristalline jaunâtre	Poudre cristalline jaunâtre
Rendement (%)	38	28
Transmittance T %	3312 (ν N-H) 3062 (ν =C-H) 2935 (ν CH <sub>3</sub> ) 2892 (ν CH <sub>3</sub> ) 1673 (ν C=C) 1660 (ν C=C) 1592 (ν C=N) 1576 (ν C=N) 872 (=C-H, déformation) 705 (=C-H, déformation)	3313 (ν N-H) 3062 (ν =C-H) 2850 (ν CH <sub>3</sub> ) 2807 (ν CH <sub>3</sub> ) 1659 (ν C=C) 1676 (ν C=C) 1592 (ν C=N) 1576 (ν C=N) 875 (=C-H, déformation) 730 (=C-H, déformation)
λ max (nm)	263.90 π-π* (C = C ou C = N)	264.87 π-π* (C = C ou C = N)

<b>Rf :</b> $\phi_1$ (chloroforme /acétone)	0.65	0.66
$\phi_2$ (méthanol/ ammoniaque)	0.90	0.91
<b>Point de fusion (°C)</b>	90	92

#### 4. Discussion

- *Docking moléculaire*

Après la superposition des conformations optimisée du Taselisib avec celle qui est co-cristallisée, et le calcul du RMSD, une correspondance parfaite a été observée (figure1), indiquant que le logiciel est capable de prédire correctement le mode de liaison, l'énergie et les interactions avec le récepteur. Ces résultats confirment la fiabilité du protocole de docking proposé dans notre étude <sup>(29)</sup>.

La fonction de score d'Autodock Vina a été estimée à l'aide de l'énergie totale correspondant à la somme des énergies des liaisons de Van der Waals, les liaisons hydrogènes et les interactions électrostatiques. Le meilleur score dans le docking moléculaire correspond à l'énergie la plus faible <sup>(30)</sup>.

L'analyse par docking moléculaire à l'aide d'Autodock vina a révélé des résultats significatifs pour nos molécules. La metformine a montré un score de -5.3 Kcal/mol, indiquant une liaison favorable et spontanée avec la cible <sup>(31)</sup>. De plus, les composés proposés (comp1, comp2, comp3, comp4) ont également formé des liaisons spontanées avec la protéine cible, avec des scores respectifs de -9.2 Kcal/mol, -9.9 Kcal/mol, -6.2 Kcal/mol et -8.2 Kcal/mol (Tableau I). Cependant, comp 1 et comp 2 ont présenté les énergies les plus faibles, ce qui en fait d'eux des molécules prometteuses pour la synthèse. Le comp 2, en particulier, a donné une énergie totale de -9.9 Kcal/mol, suggérant qu'il est capable de former un complexe comp2/8EXL stable.

Comparativement aux ligands de référence, le taselisib a montré une énergie de liaison de -9.0 Kcal/mol et l'alpelisib -10.1 Kcal/mol (Tableau I), nos résultats démontrent que le Comp2 présente une affinité nettement supérieure à celle du taselisib et presque comparable à celle de l'alpelisib.

L'analyse des modes de liaison de la metformine et des composés proposés, obtenus à l'aide du logiciel Discovery a révélé l'implication des acides aminés suivants : Arg818, Gly837, Met811, Cys838, Leu755, Ser629, Glu630, Tyr836, His670, Pro835, Leu814, dans la formation d'interactions de type hydrogène. Le comp1 a formé une liaison hydrogène de distance de 2.64 Å, tandis que la metformine a formé uniquement des liaisons hydrogène avec des distances variables allant de 1.99 Å à 3.66 Å. Les molécules référence, alpelisib et tselisib, ont montré des distances de liaisons de 3.33 Å à 3.72 Å et de 2.29 Å et 3.66 Å respectivement.

Il convient de noter que la liaison hydrogène formée par le Comp1 et celle formée par la metformine (à une distance de 2.63 Å) sont plus fortes que celles observées avec les molécules de référence, qui présentent des liaisons plus faibles (32). La formation de ces liaisons fortes confère une stabilité au complexe Ligand/cible. De plus, les deux dérivés de la metformine Comp1 et Comp2 ont formé des liaisons p-p T-shaped, p-p Stacked, p-alkyl, p-p, p-anion et p-Sulfure avec les acides aminés de la PI3K suivants, Arg274, Arg832, Pro178, Ile181, Leu279, Met287, Glu821, Phe666, Leu755, Glu849. Ces interactions supplémentaires suggèrent une stabilité du complexe formé avec la cible, pour les dérivés de la metformine.

- ***Prédiction in silico des paramètres ADMET***

Les résultats de la prédiction ADMET obtenus pour les composés proposés étaient confrontés à ceux de la metformine ainsi qu'à ceux d'un inhibiteur connu de notre cible (pi3k), pris comme référence à savoir l'alpelisib. Les données sont représentées dans le Tableau II.

L'analyse des résultats des composés proposés dans notre étude affirme que la règle de Lipinski<sup>(33, 34)</sup> et la règle de Veber<sup>(35)</sup> étaient respectées pour ces composés. De plus, tous les composés à l'exception du comp2, satisfaisaient la règle de GSK<sup>(35)</sup>, ceci prédit une possibilité d'administration de ces composés par voie orale. Initialement, les composés proposés ont présenté une bonne solubilité dans l'eau se situant dans la plage de valeurs de  $-6$  à  $0 \log S$ <sup>(36)</sup> ainsi qu'un  $Alog P < 4$ <sup>(37)</sup>, ce qui indique un caractère hydrophile des quatre composés proposés rendant ainsi leur solubilité dans les milieux aqueux facile. De plus, leurs poids moléculaires sont inférieurs à la limite de 400 g/mol requise par la règle de GSK<sup>(37, 38)</sup> pour un profil ADMET favorable, mis à part le comp2 qui a un poids moléculaire de 405.49 g/mol. Tous les composés obtenus sont polaires avec une valeur de Surface polaire topologique<sup>(35)</sup> (TPSA) identique de 80.79 Å<sup>2</sup> et présentent un nombre de liaisons rotatives (nRot) inférieur à 10 indiquant une bonne flexibilité des composés<sup>(35)</sup>. Quant aux scores d'accessibilité synthétique (SA score)<sup>(37)</sup>, ils sont inférieurs à 6 pour l'ensemble des composés rendant ainsi leur synthèse chimique possible.

L'analyse des résultats a révélé une moyenne perméabilité dans les cellules d'adénocarcinome humain (Caco-2) pour nos quatre composés. Cependant, la metformine ne présentait pas de perméabilité et ce selon les normes attribuant « - » à une faible absorption et « + » à une bonne absorption ([Metformin: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online](#)). L'ensemble des composés évalués ont démontré une absorption intestinale supérieure à celle de la metformine<sup>(39)</sup> et de l'alpelisib<sup>(40)</sup>. Tandis que la biodisponibilité orale, étant comprise entre 51% et 60%, était considérée bonne pour la série des composés proposés face à 68%<sup>(40)</sup> de l'inhibiteur et 40% à 60% de la metformine<sup>(39)</sup>, cependant celle de l'alpelisib s'élevait si prit avec ou après un repas<sup>(40)</sup>. Comp1 et 3 étaient compris dans la fourchette d'acceptation de la barrière hémato-encéphalique (BHE) tandis que le comp2 et 4 tout comme la metformine et l'alpelisib ne possédaient pas un profil de perméabilité à travers la BHE, car ils se trouvaient au voisinage de la fourchette qui est comprise entre 0.73 et 0.91<sup>(40)</sup>. De plus, ni les composés obtenus ni la metformine n'étaient identifiés comme un substrat de la Pgp, donc ils ne sont pas soumis au phénomène d'efflux. Tandis que comp1 et 2 parallèlement à l'alpelisib<sup>(41)</sup>, étaient des inhibiteurs de la glycoprotéine P (Pgp) contrairement aux comp3 et 4 avec la metformine qui ne l'étaient pas. La distribution des composés obtenus était prédite essentiellement dans les mitochondries avec un pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques (LPP) élevé pour comp1 et 2, moyen pour comp4 et faible pour comp3. Nos produits étaient identifiés comme non-inhibiteurs des transporteurs de cations organiques rénaux (OCT2) de même que la metformine et l'alpelisib<sup>(41)</sup> donc absence de néphrotoxicité excepté pour comp2 qui a été prédit néphrotoxique. La totalité de nos composés, à l'exception du comp2 métabolisé par le CYP3A4, était prédite comme étant non métabolisée par les cytochromes évalués, de même pour la metformine, tandis que l'inhibiteur était métabolisé par les CYP2C9 et CYP3A4 (temps dépendant)<sup>(41)</sup>. Les composés 1 et 2 ont été prédits comme ayant des interactions médicamenteuses au niveau des cytochromes : CYP3A4, CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, CYP2C9 (uniquement avec comp1). Cependant, les composés 3 et 4 ne présentaient pas d'interactions au niveau d'aucun des cytochromes (à l'exception du comp4 au niveau du CYP1A2), tout comme la metformine, en revanche l'alpelisib déjà commercialisé est un inhibiteur des CYP2C19 et CYP3A4 (temps dépendant)<sup>(40, 41)</sup>. Comp1 et 2 étaient prédits inhibiteurs des canaux potassiques hERG (gène humain apparenté à l'éther-a-go-go) ce qui pourrait entraîner une cardiotoxicité. En revanche, comp3 et 4 n'ont pas montré cette propriété ainsi que la metformine qui n'est pas cardiotoxique<sup>(42)</sup>. En ce qui concerne l'hépatotoxique, nos composés ont montré des résultats positifs, ce qui est tout à fait le contraire de l'alpelisib qui n'est pas hépatotoxique<sup>(40, 41)</sup> et la metformine qui est rarement hépatotoxique<sup>(43)</sup>.

Pour conclure, Selon la prédiction in silico réalisée, tous les composés étaient prédits comme étant dépourvus de tout effet cancérigène, néanmoins le composé 2 ainsi que le composé 3 étaient prédit positive au test d'AMES révélant ainsi un profil mutagène tandis que le reste des composés (1 et 4), la metformine et l'alpelisib<sup>(41)</sup> sont non cancérigènes avec une test d'AMES négatif pour la metformine<sup>(40)</sup>.

- ***Synthèse et caractérisation structurale de la série 3- [imino - (2',4',5'-trissubstitué-1'H-imidazol-1'-yl) méthyl] 1, 1-diméthyl guanidine***

Les composés 1 et 2 ont été obtenus grâce à la réaction de « Debus-Radziszewski », se produisant en une seule étape<sup>(26, 27)</sup> selon le mécanisme réactionnel illustré dans le schéma 2. Les résultats de la caractérisation des composés synthétisés sont illustrés dans le tableau II. Ces produits obtenus avec des rendements de 38% pour le comp1 et 28% pour le comp2, se présentent sous forme de poudres cristallines jaunâtres. Les composés 1 et 2 se distinguent par leurs températures de fusion respectives de 90° et 92°.

L'étude par chromatographie sur couche mince, dans les deux phases mobiles choisies  $\phi_1$ (chloroforme/acétone)  $\phi_2$ (méthanol/ ammoniaque), a permis de mettre en évidence pour chaque produit, une seule tache de migration, correspondante à notre composé, dans les 2 phases mobiles. Les rapports frontaux calculés étaient similaires entre les 2 composés et différents entre phase. L'analyse de l'absorption dans l'UV-visible a révélé un seul maximum d'absorption pour chacun des composés synthétisés, qui s'avère superposable à celui de la metformine, le  $\lambda$  max de cette dernière se situait autour de 232 nm indiquant ainsi la présence d'une transition  $\pi$ - $\pi^*$ <sup>(44)</sup>. A 263.90 nm, un maximum d'absorption était observé pour le comp1 ; correspondant à la transition électronique  $\pi$ - $\pi^*$  du C=C aromatique ou C=N. De même pour le second composé, un seul maximum d'absorption à 264.87 nm.

La spectroscopie IR a permis de confirmer le type de liaisons ainsi que les groupements fonctionnels présents dans les deux composés obtenus par synthèse chimique des composés 1 et 2. Après analyse des spectres enregistrés, nous avons pu scinder chaque spectre en deux régions principales. Initialement, La région des groupements fonctionnels allant de 4000  $\text{cm}^{-1}$  à 1500  $\text{cm}^{-1}$ , faisait apparaître une vibration d'élongation à 3312  $\text{cm}^{-1}$  et 3313  $\text{cm}^{-1}$ , pour le comp1 et le comp2 respectivement, correspondant à la fonction amine secondaire ( $\nu_{\text{N-H}}$ ). La bande 3062  $\text{cm}^{-1}$ , identique pour le comp1 et le comp2, est due à l'élongation ( $\nu_{\text{=C-H}}$ ) aromatique. Les bandes de vibration à 2935  $\text{cm}^{-1}$  et 2892  $\text{cm}^{-1}$  pour le comp1 et 2807  $\text{cm}^{-1}$  et 2850  $\text{cm}^{-1}$  pour le comp2 étaient caractéristiques de l'élongation asymétrique et symétrique du CH<sub>3</sub>. Deux bandes à 1673  $\text{cm}^{-1}$ , 1660  $\text{cm}^{-1}$  (comp1) ainsi qu'à 1659  $\text{cm}^{-1}$ , 1676  $\text{cm}^{-1}$  (comp2)

étaient associées à la vibration d'élongation de la liaison C=C. Deux bandes similaires pour les deux composés, correspondent à la vibration de valence de la liaison C=N, elles étaient observées à  $1592\text{ cm}^{-1}$  et  $1576\text{ cm}^{-1}$ . Ensuite, dans la région de l'empreinte digitale de  $400\text{ cm}^{-1}$  à  $1500\text{ cm}^{-1}$ , des bandes de vibration de déformation angulaire en dehors du plan des liaisons (=C-H) du phényle étaient à  $872\text{ cm}^{-1}$  et  $705\text{ cm}^{-1}$  pour comp1 et à  $875\text{ cm}^{-1}$  et  $730\text{ cm}^{-1}$  pour comp2.

En conclusion, l'analyse du spectre d'absorption dans l'infrarouge des deux composés synthétisés comparés à celui de la metformine, a révélé la présence de l'ensemble des bandes caractéristiques liées à leurs structures essentiellement, nous citons celles du groupement fonctionnel de l'amine secondaire qui prend la place de l'amine primaire, ainsi que l'apparition d'une vibration d'élongation de la liaison C=C et l'élongation ( $\nu$  =C-H) aromatique, affirmant ainsi la structure chimique de nos composés <sup>(45)</sup>.

## 5. Conclusion

Dans les maladies du cancer, la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR est fréquemment la plus perturbée. Avec la mise en évidence des effets anticancéreux de la metformine agissant sur cette cible, nous avons synthétisé deux composés ayant montré *in silico*, des résultats satisfaisants concernant l'affinité pour la cible ainsi qu'un profil pharmacocinétique acceptable pour le comp1 et le comp2 en introduisant l'amine primaire de la metformine dans un imidazole substitué par des phényles. L'activité anticancéreuse des composés prédite *in silico*, était évaluée contre la protéine cible en les comparant avec deux inhibiteurs connus de la PI3K à savoir le taselisib et l'alpelisib. L'analyse du docking moléculaire par autodock vina a permis d'expliquer cette activité, en montrant un score plus élevé pour les composés 1 et 2 comparés à 3 et 4, du même pour le taselisib et presque similaire avec l'alpelisib (médicament approuvé par la FDA en 2019 contre le cancer du sein), et en s'appuyant sur la visualisation des résultats du docking réalisé par le logiciel Discovery qui a montré que les quatre composés ainsi que la metformine ont formé chacun des liaisons H avec la PI3K. Le composé 2 a été prédit comme étant le plus actif et ayant un pouvoir inhibiteur prometteur avec un profil pharmacocinétique acceptable. Le docking moléculaire a prédit qu'il pouvait se lier librement à la protéine cible en générant des liaisons hydrogène, des interactions Pi-Pi, Pi-Alkyl, p-anion. D'autres études *in vitro* ainsi qu'une analyse par RMN et Spectrométrie de Masse seraient nécessaires pour confirmer l'étude chimoinformatique et la structure des composés synthétisés

## Références

1. Sharma P, LaRosa C, Antwi J, Govindarajan R, Werbovets KA. Imidazoles as Potential Anticancer Agents: An Update on Recent Studies. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2021;26(14).
2. Lemire M, Leveque A, Litvak E, Richard L, Roy DA, Slama S. Les maladies chroniques: le défi du 21e siècle; Canada2013.
3. Hausman DM. What is cancer? *Perspectives in biology and medicine*. 2019;62(4):778-84.
4. santé Omdl. Cancer 2022 [Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer#:~:text=%C3%80%20'origine%20de%20pr%C3%A8s,le%20cancer%20de%20la%20prostate>].
5. Observatory GC. Algeria 2021 [Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/12-algeria-fact-sheets.pdf>].
6. Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C, González-Barón M. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer treatment reviews*. 2004;30(2):193-204.
7. Kamarudin MNA, Sarker MMR, Zhou JR, Parhar I. Metformin in colorectal cancer: molecular mechanism, preclinical and clinical aspects. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*. 2019;38(1):491.
8. Flory J, Lipska K. Metformin in 2019. *Jama*. 2019;321(19):1926-7.
9. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *Bmj*. 2005;330(7503):1304-5.
10. Foretz M, Viollet B. Les nouvelles promesses de la metformine. *Med Sci (Paris)*. 2014;30:82-92.
11. Beck E, Scheen AJ, editors. Quels bénéfices antitumoraux attendre de la metformine? *Annales d'endocrinologie*; 2013: Elsevier.
12. Shen Z, Xue D, Wang K, Zhang F, Shi J, Jia B, et al. Metformin exerts an antitumor effect by inhibiting bladder cancer cell migration and growth, and promoting apoptosis through the PI3K/AKT/mTOR pathway. *BMC urology*. 2022;22(1):79.
13. Foretz M, Viollet B. Les nouvelles promesses de la metformine-Vers une meilleure compréhension de ses mécanismes d'action. *médecine/sciences*. 2014;30(1):82-92.
14. Zhao Y, Sun H, Feng M, Zhao J, Zhao X, Wan Q, et al. Metformin is associated with reduced cell proliferation in human endometrial cancer by inhibiting PI3K/AKT/mTOR signaling. *Gynecological Endocrinology*. 2018;34(5):428-32.
15. Nikolopoulou A, Galli-Vareia I, Stravodimou A, Sarivalasis A, Zaman K. [New therapeutic strategies in advanced stage breast and tubo-ovarian cancers]. *Revue medicale suisse*. 2019;15(651):1027-31.
16. Xiao Q, Xiao J, Liu J, Liu J, Shu G, Yin G. Metformin suppresses the growth of colorectal cancer by targeting INHBA to inhibit TGF- $\beta$ /PI3K/AKT signaling transduction. *Cell death & disease*. 2022;13(3):202.
17. Bhatnagar A, Sharma P, Kumar N. A review on "Imidazoles": Their chemistry and pharmacological potentials. *Int J PharmTech Res*. 2011;3(1):268-82.
18. Claudiani S, Apperley JF. The argument for using imatinib in CML. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2018;2018(1):161-7.
19. Ho CY, Chang AC, Hsu CH, Tsai TF, Lin YC, Chou KY, et al. Miconazole induces protective autophagy in bladder cancer cells. *Environmental toxicology*. 2021;36(2):185-93.
20. Zhao Y, Sun H, Feng M, Zhao J, Zhao X, Wan Q, et al. Metformin is associated with reduced cell proliferation in human endometrial cancer by inhibiting PI3K/AKT/mTOR signaling. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*. 2018;34(5):428-32.
21. Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2. 0: New docking methods, expanded force field, and python bindings. *Journal of chemical information and modeling*. 2021;61(8):3891-8.
22. TIFOURAK D. Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse. 2019.

23. bank RPD. 8EXL: Crystal structure of PI3K-alpha in complex with taselisib 2023 [Available from: <https://www.rcsb.org/structure/8EXL>.
24. Rana KM, Maowa J, Alam A, Dey S, Hosen A, Hasan I, et al. In silico DFT study, molecular docking, and ADMET predictions of cytidine analogs with antimicrobial and anticancer properties. *In silico pharmacology*. 2021;9(1):42.
25. Tripathi P, Ghosh S, Talapatra SN. Bioavailability prediction of phytochemicals present in *Calotropis procera* (Aiton) R. Br. by using Swiss-ADME tool. *World Scientific News*. 2019(131):147-63.
26. Castro-Grijalba A, Reyes-Gallardo EM, Wuilloud RG, Lucena R, Cárdenas S. Synthesis of magnetic polymeric ionic liquid nanocomposites by the Radziszewski reaction. *RSC advances*. 2017;7(68):42979-85.
27. Feldman AK, Colasson B, Fokin VV. One-pot synthesis of 1, 4-disubstituted 1, 2, 3-triazoles from in situ generated azides. *Organic letters*. 2004;6(22):3897-9.
28. Warad I, Ali O, Al Ali A, Jaradat NA, Hussein F, Abdallah L, et al. Synthesis and spectral identification of three Schiff bases with a 2-(piperazin-1-yl)-N-(thiophen-2-yl methylene) ethanamine moiety acting as novel pancreatic lipase inhibitors: Thermal, DFT, antioxidant, antibacterial, and molecular docking investigations. *Molecules*. 2020;25(9):2253.
29. Ramírez D, Caballero J. Is it reliable to take the molecular docking top scoring position as the best solution without considering available structural data? *Molecules* (Basel, Switzerland). 2018;23(5):1038.
30. Ye J, Li L, Hu Z. Exploring the molecular mechanism of action of Yinchen Wuling powder for the treatment of hyperlipidemia, using network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation. *BioMed research international*. 2021;2021.
31. Lamara KO, Makhloufi-Chebli M, Benazzouz-Touami A, Terrachet-Bouaziz S, Hamdi N, Silva AM, et al. Selectivity control in the reaction between 2-hydroxyarylaldehydes and 4-hydroxycoumarin. Antioxidant activities and computational studies of the formed products. *Journal of Molecular Structure*. 2021;1231:129936.
32. Imberty A, Hardman KD, Carver JP, Perez S. Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. *Glycobiology*. 1991;1(6):631-42.
33. El-Azab AS, Al-Omar MA, Alaa A-M, Abdel-Aziz NI, Magda A-A, Aleisa AM, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel quinazoline derivatives as potential antitumor agents: molecular docking study. *European journal of medicinal chemistry*. 2010;45(9):4188-98.
34. Wang J, Krudy G, Hou T, Zhang W, Holland G, Xu X. Development of Reliable Aqueous Solubility Models and Their Application in Druglike Analysis. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2007;47(4):1395-404.
35. Elbatoul A, mon cher binôme Khadidja A. Dédicace.
36. Wang J, Hou T. Recent advances on aqueous solubility prediction. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*. 2011;14(5):328-38.
37. Akli A, Belakhdar H, Boursila F, Tali I. Etude par docking moléculaire de l'affinité de nouveaux analogues de la rivastigmine pour l'acétylcholinestérase. 2022.
38. Haque MA, Marathakam A, Rana R, Almeahmadi SJ, Tambe VB, Charde MS, et al. Fighting Antibiotic Resistance: New Pyrimidine-Clubbed Benzimidazole Derivatives as Potential DHFR Inhibitors. *Molecules*. 2023;28(2):501.
39. Scheen AJ. Clinical Pharmacokinetics of Metformin. *Clinical Pharmacokinetics*. 1996;30(5):359-71.
40. Leenhardt F, Alexandre M, Jacot W. Alpelisib for the treatment of PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2021;22(6):667-75.
41. Food U, Administration D. FDA approves alpelisib for metastatic breast cancer. *Case Med Res*. 2019:2-3.
42. Zilinyi R, Czompa A, Czegledi A, Gajtko A, Pituk D, Lekli I, et al. The cardioprotective effect of metformin in doxorubicin-induced

cardiotoxicity: the role of autophagy.

Molecules. 2018;23(5):1184.

43. Shurrah NT, Arafa E-SA. Metformin: A review of its therapeutic efficacy and adverse effects. Obesity medicine. 2020;17:100186.

44. nadia I. METFORMINE CHLORYDRATE : controle de la qualité et etude de la stabilité dans des conditiations de stress

[memoire de fin d"etude]2020.

45. Michel DALIBART LS. Spectroscopie dans l'infrarouge. <https://www.techniques-ingenieur.fr/>. 2000.