

République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Frères Mentouri – Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée  
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Bioinformatique

Thème :

---

**Docking moléculaire in silico et propriétés ADMET de certains  
composants d'huile de graines de *Lepiduum Sativum* contre  
L'Acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer**

---

Présenté et soutenu :

Le : 23/09/2021

Par :

KERBOUA LAOUAR Amina

&

KERROUCHI Roumeissa

**Jury d'évaluation:**

Président :

Mr. Lotfi BELKHIRI

Pr. UFM Constantine 1

Promoteur :

Mr. Adel KRID

Pr. UFM Constantine 1

Examineur :

Mr. Rafik MENACER

MCB CRSP Constantine.

Année universitaire : 2020/2021

# *Remerciement*

Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour voir réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier vivement nos parents pour leur soutien et encouragement dans notre parcours scolaire.

En guise de reconnaissance, Nous vous remercions beaucoup, très sincèrement, le docteur KRID Adel , nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances et compétences, de ses précieux conseils et de son suivi tout au long de notre mémoire.

Nous remercions s'adressent à tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie – université des frères Mentouri Constantine 1 en général et particulièrement la responsable de bioinformatique madame BOUHALOUF .H et professeur HAMIDECHI.A pour sa motivation professionnelle, ses conseils et critiques constructives, ses corrections, sa gentillesse et ses patiences ainsi pour le temps qu'ils ont consacré à nous.

Nous remercions vont également toute l'équipe du centre de recherche en sciences pharmaceutiques -Constantine, qui nous' ont ouvert les portes des structures dont ils avaient la responsabilité et qui ont tout mis à nos disposition pour, nous permettre de travailler dans les meilleures conditions.

Je tiens à remercier les membres du jury Mr. Lotfi BELKHIRI et Mr. Rafik MENACER pour leur présence, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques qu'ils m'adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer notre travail.

## *Dédicace*

Je présente cette dédicace à mon défunt Père " **Salah**", qui me manque dans les plus beaux moments de ma vie et qui a toujours voulu me voir dans ce lieu et être fier de moi, Merci pour chaque moment que j'ai vécu avec vous et pour tout ce que vous m'avez donné.

A la personne la plus chère de mon cœur, ma Mère " **Naima** " qui était et joue toujours le rôle de mère et de père dans ma vie qui a ouvert pour ma réussite avec son amour, son soutien, tous les sacrifices qu'elle a consentis et ses précieux conseils à toutes ses aider.

A mon chère frère : **kheirdine**

A mes chères sœurs : **Oumaima ,Amira ,kaouther**

A mon chère neveu : **Mouhamed Djawad**

A mon chère amie : **Rachid**

À ma cher collègue dans ce travail **Roumeissa** on a passé des bons moments ensemble que dieu garde notre amitié pour toujours.

À tous mes amis **Aya, Roumeissa, anfel, fareil ,jasmine ,wafa, Rahma** pour la motivation et le soutien inconditionnel qu'elles m'ont offert durant toute la période du mémoire, sans elles ce travail n'aurait pas été accompli. Merci beaucoup

*AMINA*

*Dédicace*

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail et avec un énorme plaisir, un cœur ouverts et une immense joie, que je dédie mon travail.*

*A la personne la plus chère de mon cœur ma Mère*

*A mes chers frères et mes sœurs*

*A ma famille*

*A mon cher neveu Nor el Islem*

*À ma cher collègue dans ce travail Amina*

*À tous mes amis Asma, Mayada, Boutheina,*

*Souhir, Roumeissa, Anfel, Fereil,*

*Yasmine, Wafa, Rahma*

*Merci beaucoup*

**Table des matières**

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

**Introduction général .....1**

**Chapitre 01 :Le docking moléculaire**

**1. Introduction.....3**

**2. Les outils nécessaires pour faire un docking.....4**

**2.1 Récepteur.....4**

**2.2 Ligand .....4**

**3. Les interactions Protéine- ligand (complexe protéine-ligand).....4**

**3.1 Les liaisons hydrogènes :.....5**

**3.2 Les interactions de Van Der Walls.....5**

**3.3 Les interactions hydrophobes .....5**

**3.4 Les interactions électrostatiques.....5**

**4. Les programmes de Dock.....5**

**4.1 Autodock tools.....5**

**4.2 Autodock vina.....6**

**4.3 Chimera software.....6**

**4.4 BIOVIA *Discovery Studio Visualizer*.....6**

**4.5 PLIP :(Protein-Ligand Interaction Profiler).....6**

**4.6 PubChem.....6**

**4.7 PDB :(protein-data-bank).....6**

**5. Fonction de score.....7**

**Chapitre 02 : Pathologie d'Alzheimer**

**1. La maladie d'Alzheimer.....8**

**1.1 Les symptômes de la maladie .....8**

**1.2 Traitement d'Alzheimer.....10**

**2. Cholinestérase .....11**

**2.1 Butyrylcholinestérase (BuChE) : .....11**

2.2 Acétylcholinestérase (AChE) .....	12
2.2.1 Structure de AChE .....	13
2.2.2 Le Site actif d'AChE.....	14
2.2.3 Mode d'action d'ACHE .....	15
3 .Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEIs) .....	16
3.1 Inhibiteurs pseudo-irréversibles .....	16
3.2 Inhibiteurs irréversibles.....	16
3.3 Inhibiteurs analogues à l'état de transition .....	16
3.4 Les inhibiteurs réversibles .....	17
3.4.1 Les aminoacridines .....	17
3.4.2 Les N-Benzylpiperidines.....	17
3.4.3 Les alcaloïdes .....	17
4. <i>Lepidium sativum</i> .....	19
4.1 Classification systématique .....	19
4.2 Méthode d'extraction d'huile de L. S .....	19

### **Chapitre03 : Matériel et méthode**

1. Matériel .....	21
1.1 Un microordinateur.....	21
1.2 Programmes et logiciels .....	21
1.3 Bases des données.....	21
2. Méthodes .....	21
2.1 Préparation de la protéine (récepteur).....	21
2.2 Préparation des ligands .....	21
2.3 Grid BOX.....	22

### **Chapitre 04 : Résultats et discussion**

1. Résultats et discussion .....	24
1.1. La simulation de docking moléculaire.....	24
1.2. La superposition des ligands.....	24
2. Analyse de docking moléculaire .....	26
2. 1.Complexe AChE – $\alpha$ -amyrin .....	27
2.1.1 Interactions hydrophobiques .....	28
3. Complémentarité géométrique .....	30
Conclusion .....	33

## Références bibliographiques

Annexe

Résumé

### List des figures

Figure 01: Représentation des étapes du docking.....	5
Figure 02 : La maladie d'Alzheimer.....	8
Figure 03:Les symptômes de la maladie .....	9
Figure 04:Site actif de la Butyrylcholinestérase (BuChE).....	12
Figure 05: Mécanismes d'action d'ACHE.....	13
Figure 06: structure 3D d'AChE.....	14
Figure 07 : Le Site actif d'AChE.....	15
Figure 08 : Cycle catalytique de l'hydrolyse de l'Acétylcholine.....	16
Figure09: <i>Lepidium sativum</i> .....	19
Figure10: structure 3D d'AChE.....	21
Figure11: structure 2D d'E20.....	21
Figure12: structure 2D d'alpha amyryn .....	21
Figure13:Positionnement de laGrid Box dans le site actif d'AChE.....	22
Figure14: l'exécution des calculs de docking moléculaire.....	23
Figure 15: validation de re-docking couleur rouge X-ray, couleur bleu résultat Dock.....	24
Figure 16: superposition de ligand E20.....	25
Figure 17 : interactions entre E20 et AChE.....	25
Figure18 : interaction de complexe AChE- a-amyryn.....	27
Figure19 : Incorporation a-amyryn_ACHE .....	31
Figure20 : Complémentarité géométrique.....	32

## List des tableaux

<b>Table : 01 : Les inhibiteurs de AChE.....</b>	<b>18</b>
<b>Tableau 02 : Interactions hydrophobiques.....</b>	<b>26</b>
<b>Tableau 03 : <math>\Pi</math>-stacking.....</b>	<b>26</b>
<b>Tableau 04 : <math>\Pi</math>-cation interactions.....</b>	<b>26</b>
<b>Tableau 05 : l'énergie de docking.....</b>	<b>27</b>
<b>Tableau 06: les interactions hydrophobiques du complexe AChE-<math>\alpha</math> –amyrin .....</b>	<b>28</b>
<b>Tableau 07: Interactions entre les ligands et le récepteur.....</b>	<b>29</b>



## List des abréviations

**CADD** : Computer Aided Drug Design

**LB-CADD** : Computer Aided Drug Design à base de ligands

**ADN** : acide désoxyribonucléase

**RMN** : résonance magnétique nucléaire

**PDB**: Protein Data Bank

**DOCK**: docking moléculaire

**MA**: Maladie d'Alzheimer

**USFDA**: États-Unis Food and Drug Administration

**APP**: Amyloïd Protein Precursor

**BChE** : butyrylcholinestérase

**ACh** : acétylcholine

**AChE** : acétylcholinestérase

**AChEI** : inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

**PAS** : site anionique périphérique

**AA** : Acide Aminé

**BBB**: blood brain barrier

**L. S**: Lepidium sativum

**RMSD**: Root Mean Square Deviation

**ADT**: AutoDock Tools

**ADMET**: Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicité

**A°** : Angstrom

**3D** : Trois dimensions

**PLIP** :Protein-Ligand Interaction Profiler

**ALa** : alanine

**Arg** : arginine

**Asn**: asparagine

**Asp** : acide aspartique

**Cys** : cystéine

**Glu** : acide glutamique

**Gln** : glutamine

**Gly**: glycine

**His**: histidine

**Iso** :isoleucine

**Leu** : leucine

**Lys** : lysine

**Met** : méthionine

**Phe** : phénylalanine

**Pro**: proline

**Sér**: sérine

**The**: thréonine

**Trp**: tryptophane

**Tyr:** tyrosine

**Val :** valine

# **Introduction**

## **Général**

## Introduction général

---

La conception de médicaments assistée par ordinateur (**Computer Aided Drug Design**) est une technique qui utilise des approches informatiques pour découvrir, développer et analyser des médicaments ainsi que des molécules biologiquement actives similaires. La découverte de médicaments assistée par cette technique et qui est basée sur la structure tridimensionnelle des ligands (LB-CADD) implique l'analyse de ces derniers pour interagir avec une cible d'intérêt. Ces méthodes utilisent un ensemble de structures de référence collectées à partir de composés connus pour interagir avec la cible d'intérêt et analysent leurs structures 2D ou 3D. L'objectif fondamental de ces méthodes est la prédiction de la nature et des forces de liaison d'une molécule donnée à une cible généralement protéique. Les méthodes de chimie quantique telles que, les méthodes dites *ab initio*, semi empiriques, mécanique moléculaire, dynamique moléculaire et la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), sont fréquemment utilisées pour fournir des paramètres optimisés afin de prédire la conformation des molécules et de modéliser les changements de conformations au sein de la cible biologique lors de leurs fixation. Ces données fournissent également une estimation des propriétés électroniques (potentiel électrostatique, polarisabilité, etc...) du candidat (médicament) qui influent sur l'affinité entre les deux entités chimiques. Les outils CADD et bioinformatiques offrent des avantages tels que des économies au niveau financier (coûts), des délais de commercialisation en gagnant du temps lors du développement de nouvelles molécules thérapeutiques, une connaissance approfondie des interactions entre les récepteurs et les médicaments, l'accélération de la découverte et du développement de médicaments[1.2.3]. Le développement et la découverte de tout médicament prennent de nombreuses années. Ce processus de découverte est assigné selon plusieurs étapes : la détermination de la maladie, détermination du ou des récepteurs cibles spécifiques, la détermination du ou des composés actifs (LEAD), ainsi que la prédiction des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (ADME) de ces candidats chimiques.

C'est dans ce contexte que nous avons entamé notre étude qui se porte sur l'étude *in silico* par le biais du Docking moléculaire, des interactions entre des molécules majoritairement composantes de l'huile de graines de *Lepidium Sativum* et acétylcholinestérase qui représente une cible potentielle dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Ce manuscrit se présente en trois chapitres. Le premier est consacré aux différents aspects de la simulation par le docking moléculaire ainsi qu'aux interactions non covalentes qui régissent les systèmes protéine-ligands.

## **Introduction général**

---

Le second chapitre est focalise sur la maladie d'Alzheimer ainsi qu'aux molécules étudiées.

Enfin, le dernier chapitre présente les principaux résultats obtenus lors des calculs de modélisation et de simulation.

# **Chapitre 01**

## **Le docking moléculaire**

# Chapitre 01 :docking moléculaire

---

## 1. Introduction :

La bioinformatique est un domaine qui regroupe plusieurs disciplines (pluridisciplinaire) telles que la génétique, la biologie moléculaire, la chimie et en particulier la chimie computationnelle, ...etc.), Le but principal de recherche, consiste au développement de méthodes et de modèles pour l'analyse, le stockage et la visualisation des données biologiques, principalement les macromolécules (ADN, ARN, protéines et autres). Le mécanisme biologique est basé sur les interactions entre les protéines qui on peut être étudié par des techniques biochimiques et biophysiques tels que la cristallographie aux rayons X, résonance magnétique nucléaire(RMN) mais ces techniques ne suffisant pas pour détailler ces interactions [4].

Le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est une approche *in silico* pour but de prédire et à simuler la position la plus favorable d'un ligand au sein de la protéine (cible)[6]il est plus utiles dans le domaine d'industrie pharmaceutique, de développement des médicaments et des biomolécules a avantage de considérablement moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales et grâce à ses outils que nous pouvons comprendre l'interaction ligand avec la cible pour soit inhiber ou activer, il existe plusieurs programmes de docking moléculaire tels que : AutoDock Tools, Vina, Chimera... L'amarrage moléculaire est l'un des méthodes dans le domaine de la modélisation qui permettent de :

- ❖ Représenter et de visualiser la forme des molécules dans l'espace
- ❖ Simuler leurs mouvements et leurs comportements.
- ❖ Prédire la structure 3D de ces protéines en se basant sur la structure 3D déjà connue de protéines similaires.
- ❖ prédire l'effet d'un changement de un – ou plusieurs- acide(s) aminé(s) sur la structure 3D d'une protéine.
- ❖ Il est ainsi possible de prédire l'effet d'une mutation sur l'activité d'une protéine et/ou sur sa capacité à interagir avec un médicament

La modélisation moléculaire s'appuie sur la connaissance de la position des atomes et des liaisons entre les atomes de chaque acide aminé pour « dessiner » la structure 3D d'une protéine [5].



### 2. Les outils nécessaires pour faire un Docking :

#### 2.1 Récepteur :

Les structures 3D des différentes protéines sont disponible et accessibles gratuitement dans la banque de donnée PDB. Les coordonnées atomiques des structures se trouvent dans un format (.pdb) donc il suffit de consulter la PDB et d'inscrire le nom de la structure pour télécharger le fichier du récepteur au format *pdb* indispensable à l'opération de DOCK [6].

#### 2.2 Ligand :

Pour faire un docking la structure du ligand doit être en 3D, il existe deux méthodes pour recevoir un ligand :

- 1) Par les bases de données de structures chimiques appelées chimio-thèques tels que PubChem, ZINC ... qui comportent plusieurs informations sur les différents ligands (structure, activité, propriétés physicochimiques), la structure dans ces bases est enregistré avec les formats : SMILES, SDF, MOL2 et PDB.
- 2) A l'utilisation des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et sauvegarder sous formats (pdb, mol, mol2...) avec des logiciels de modélisation moléculaire comme HyperChem, Avogadro, Arguslab ...etc. [7].

### 3. Les interactions Protéine- ligand (complexe protéine-ligand) :

La reconnaissance moléculaire est un critère essentiel impliquant une complémentarité spatiale entre le ligand et Son récepteur. Cette complémentarité est importante car elle permet de laisser entrer le ligand mais elle ne suffit pas pour qu'il reste au sein de la protéine. Dans ce contexte, une complémentarité chimique Protéine-ligand est indispensable faisant intervenir le plus souvent des **interactions non covalentes** telles que : la liaison hydrogène, ionique, hydrophobes...etc.

Les liaisons non covalentes sont des qui ont lieu pour des distances plus élevées que les liaisons covalentes. Bien que ce type d'interactions soit énergétiquement beaucoup plus faible par rapport à une liaison covalente (C-C ou C-N par exemple), leur portée est bien plus grande car assurant l'évolution des biomolécules, et notamment les changements conformationnels. En effet, les liaisons non covalentes peuvent être créées et rompues plus facilement

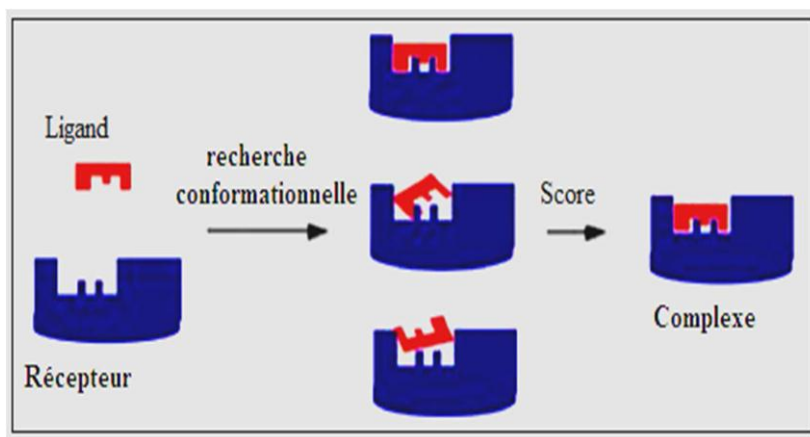


Figure 01: Représentation des étapes du docking

### 3.1 Les liaisons hydrogènes :

Cette liaison intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur). Elle agit à très courte distance (0,8 à 2,8 Å). Les liaisons hydrogènes sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité.

### 3.2 Les interactions de Van Der Walls :

Elles résultent de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisant à la présence d'une force attractive pour des distances de 3-4 Å. Les interactions de Van Der Walls sont généralement faibles. Leur importance provient du nombre cumulé de liaisons créées.

### 3.3 Les interactions hydrophobes :

Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent donc pas s'hydrater, pour cette raison, on les nomme substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence.

### 3.4 Les interactions électrostatiques :

Sont des liaisons ioniques faibles résultant de l'interaction entre dipôles de charges opposées et conduisant à la création d'une force attractive.

## 4. Les programmes de Dock :

### 4.1 Autodock tools :

Est une interface graphique permettant de configurer et d'exécuter AutoDock - un logiciel d'accueil automatisé conçu pour prédire comment des petites molécules, telles que des substrats ou des candidats médicaments, se lient à un récepteur de structure 3D connue.

<http://mgltools.scripps.edu/> [8].

## Chapitre 01 :docking moléculaire

---

### 4.2 Autodock vina :

AutoDock Vina est un programme open source pour faire de l'amarrage moléculaire. Pour son entrée et sa sortie, Vina utilise le même format de fichier de structure moléculaire PDBQT utilisé par AutoDock , les fichiers PDBQT peuvent être générés et visualisés à l'aide de MGLTools <http://vina.scripps.edu/download.html> [9].

### 4.3 Chimera software :

UCSF Chimera est un programme pour la visualisation et l'analyse interactives des structures moléculaires et des données associées, y compris les cartes de densité, les trajectoires et les alignements de séquences. Il est disponible gratuitement pour une utilisation non commerciale. Utilisateurs commerciaux. [chimera-1.11.2-mac\\_x11.dmg](#) [10].

### 4.4 BIOVIA *Discovery Studio Visualizer* :

Une application de modélisation moléculaire gratuite et riche en fonctionnalités pour l'affichage, le partage et l'analyse des données sur les protéines et les petites moléculaires <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download> [11].

### 4.5 PLIP :(Protein-Ligand Interaction Profiler) :

Identification facile et rapide des interactions non covalentes entre les macromolécules biologiques et leurs ligands. <https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index> [12].

### 4.6 PubChem :

PubChem est la plus grande collection au monde d'informations chimiques librement accessibles. Recherchez des produits chimiques par nom, formule moléculaire, structure et autres identifiants. Trouvez des propriétés chimiques et physiques, des activités biologiques, des informations sur la sécurité et la toxicité, des brevets, des citations de la littérature et plus encore. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> [13].

### 4.7 PDB :(protein-data-bank) :

La Protein Data Bank (PDB) est l'unique archive mondiale de données structurales de macromolécules biologiques. Il comprend des données obtenues par cristallographie aux rayons X et spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) soumises par des biologistes et des biochimistes du monde entier. Actuellement, PDB est sous la tutelle de la WorldwideProtein Data

## Chapitre 01 :docking moléculaire

---

Bank (wwPDB), un réseau de quatre organisations – Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) PDB

<https://www.rcsb.org/> [14].

### 5. Fonction de score :

La prédiction de la conformation du ligand dans le site actif de la protéine est le plus grand défi du design des drogues basé sur la structure.

Le rôle des algorithmes de docking désignés à exécuter cette tâche est divisé en deux parties essentielles :

- Trouver toutes les conformations, translations, rotations du ligand dans le site actif de la protéine en un temps d'exécution très petit.
- Calculer l'énergie utilisée pour évaluer les interactions entre la protéine et le ligand, et classer les solutions [15, 16, 17,18].

L'énergie d'interaction est convertie en score d'amarrage à l'aide de l'analyse des fonctions de notation, qui est la somme de différentes para-métrisations d'énergie représentant les interactions entre la protéine et le ligand :

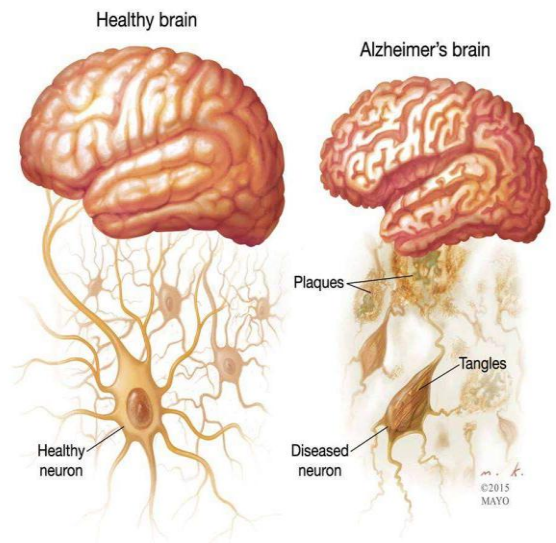
- Forces électrostatiques : ce sont des interactions électrostatiques courantes qui se produisent lorsqu'il y a des charges
- Forces électrodynamiques : le type commun est celui des interactions de Van Der Waals
- Forces stériques : lorsque les molécules sont proches, ce type de forces apparaît et affecte la réactivité chimique.
- Forces de réaction du solvant : le ligand et/ou la protéine sont tous deux affectés par les molécules de l'environnement qui se trouvent dans le solvant, de sorte que des réactions chimiques peuvent se produire créant de telles forces [19].

# **Chapitre 02**

## **Pathologie d'Alzheimer**

### 1. La maladie d'Alzheimer :

Alzheimer est un type de démence qui provoque des troubles de la mémoire, de la pensée et du comportement ; une destruction des cellules nerveuses se produit dans les régions du cerveau liées à la mémoire et au langage. Avec le temps, la personne atteinte a de plus en plus de difficulté à mémoriser les événements, à reconnaître les objets et les visages, à se rappeler la signification des mots et à exercer son jugement, La **maladie d'Alzheimer** touche environ 1 % des personnes âgées de 65 ans à 69 ans, 20 % des personnes ayant de 85 ans à 89 ans et 40 % des personnes ayant de 90 ans à 95 ans



**Figure 02 : La maladie d'Alzheimer**

On estime que **1 homme sur 8** et **1 femme sur 4** en souffrira au cours de leur existence. Dans la mesure où les femmes vivent plus longtemps, elles sont plus susceptibles d'en être atteintes un jour.

Cette maladie a été signalée pour la première fois par le pathologiste

Alois Alzheimer en 1907 lors de l'autopsie d'une femme morte de démence .il se caractérise par l'apparition de lésions bien particulières, qui envahissent progressivement le cerveau et détruisent ses cellules, les neurones. Il s'agit d'un trouble neurologique caractérisé par une diminution significative des niveaux hippocampiques et corticale du neurotransmetteur acétylcholine, la région qui contrôle la mémoire, sont les premiers touchés. Les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (l'hypertension, l'hypercholestérolémie, l'obésité, le diabète, etc....) semblent également contribuer à son développement mais le **vieillessement** reste le principal facteur d'Alzheimer[20].

#### 1.1 Les symptômes de la maladie :

- Altération de la mémoire à court terme (événements, des heures ou des jours précédents, etc.)
- Difficulté à exécuter les tâches familières (fermer les portes à clé, prendre des médicaments...)
- Nouveaux problèmes d'expression orale ou écrite (trouver ses mots, discours moins compréhensible...)
- Difficulté à suivre une conversation, un cheminement de pensée.

## Chapire02 : Pathologie d'Alzheimer

- Perte graduelle du sens de l'orientation dans l'espace et dans le temps
- Troubles des gestes ou apraxie (à écrire, à utiliser des objets courants...)
- Difficulté à saisir les notions abstraites et à suivre un raisonnement
- Difficulté à reconnaître les objets, les visages des proches (agnosie)
- Atteinte progressive de la mémoire à long terme (perte des souvenirs d'enfance et de l'âge adulte)
- Changements d'humeur ou de comportement et de personnalité [21].

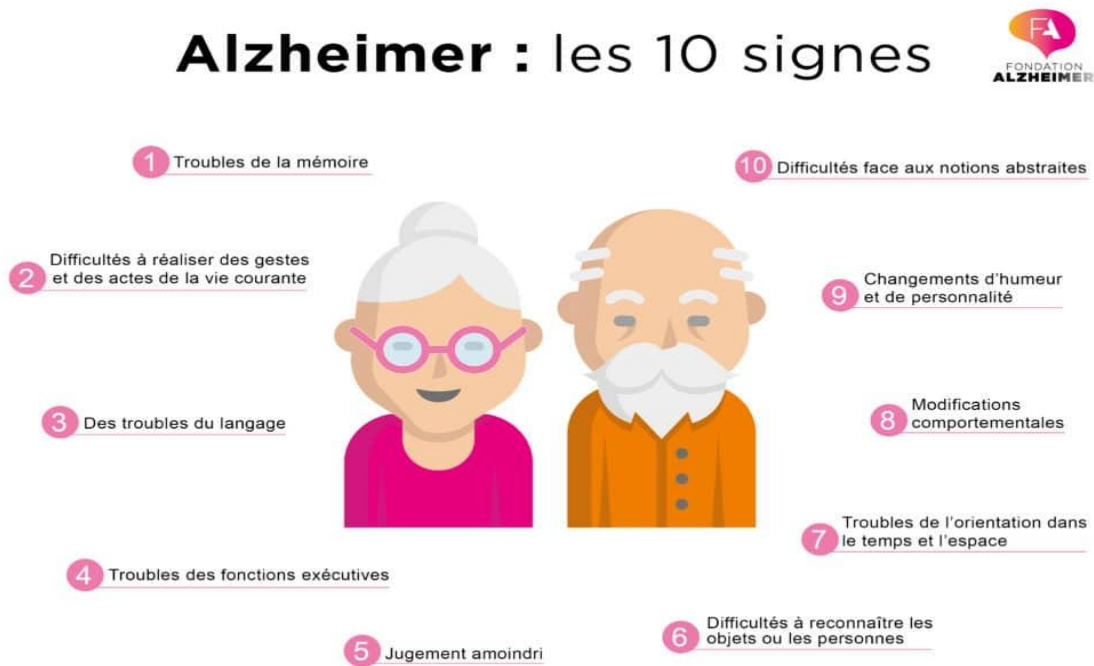


Figure 03: Les symptômes de la maladie

### 1.2 Traitement d'Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer (MA) se caractérise par la dégénérescence de la mémoire et des fonctions cognitives, causée par une perte de neurones cholinergiques dans le cerveau. Le risque de développer cette maladie augmente avec l'âge [22]. Les traitements qui permettent de ralentir le déclin des fonctions cognitives sont les suivants souhaitable, car la nature de la MA est progressive [23]. La maladie est associée à une diminution des taux d'acétylcholine (ACh) dans la zone synaptique du synaptique du cerveau [24]. Le rôle principal de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) est de mettre fin à la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses cholinergiques, par l'hydrolyse rapide de l'ACh [25].

Jusqu'à à ce jour, le traitement de la MA n'a toujours pas été identifié. Cependant, quelques médicaments ont été développés pour soulager les symptômes de la maladie et ralentir sa progression, améliorant ainsi la qualité de vie des patients. La progression de la maladie, améliorant ainsi la qualité de vie des personnes concernées [26]. Le donépézil, la galanthamine et la rivastigmine font partie des médicaments approuvés par les États-Unis Food and Drug Administration (USFDA). La recherche de nouveaux composés principaux pour le traitement de la maladie d'Alzheimer, et de nombreux chercheurs se sont intéressés aux sur les plantes comme sources de médicaments potentiels.

Les plus grandes méthodes dans le traitement de la maladie d'Alzheimer se focalisent sur deux aspects fondamentaux : traitement niveau des plaques séniles ou plaque amyloïdes, et traitement de la transmission cholinergique [27].

La première méthode s'agit de lésions extracellulaires de la maladie Ces plaques correspondent à l'accumulation d'un peptide anormal et neurotoxique de 42 acides aminés, le peptide bêta-amyloïde Ce peptide, provient d'un mauvais clivage de la protéine APP (Amyloïd Protein Precursor). Ceci participerait à l'entrée massive de calcium dans le neurone et activerait la microglie (réaction inflammatoire), ce qui entraîne la mort du neurone par nécrose ou par apoptose. Donc il est préalable de prévenir la formation de ce peptide ou au moins diminuer sa génération ou déposition. De ce fait il est demandé de bloquer ou inhiber l'APP qui est responsable de la formation des AB peptides

La deuxième méthode utilisée pour traiter l'Alzheimer est l'augmentation de l'acétylcholine dans le cerveau en utilisant des inhibiteurs de l'AChE qu'est une enzyme qui hydrolyse l'ACh en acétate et en choline dans le système nerveux central, mettant fin à la neurotransmission de l'ACh. L'effet inhibiteur sur l'activité de l'AChE augmente l'ACh dans la fente synaptique avec une sur activation



de la transmission cholinergique [28]. La perturbation de la neurotransmission cholinergique est impliquée dans différentes fonctions cérébrales.

### 2 .Cholinestérase :

Les vertébrés possèdent deux cholinestérases, l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE). Les cholinestérases catalysent une très simple réaction sont des enzymes catalysant l'hydrolyse ester de la choline (acétylcholine, butyrylcholine) en choline et acétate, cette réaction est nécessaire pour permettre aux récepteurs cholinergiques de revenir à leur état de repos après activation.

#### 2.1 Butyrylcholinestérase (BuChE) :

La butyrylcholinestérase est une sérine hydrolase des esters de choline, dont la butyrylcholine, la succinylcholine et l'acétylcholine<sup>1</sup>, dont l'acétylcholine. La butyrylcholinestérase a des propriétés uniques propriétés enzymatiques et est largement distribué dans le système nerveux, ce qui indique son possible implication dans la fonction neuronale comme le contrôle d'activités de l'Achetnonneurones. Le contrôle de la réaction d'hydrolyse d'ACh par BuChE est prouvé par le blocage de BuChE qui conduit l'élévation de la concentration de l'ACh dans le cerveau. Cette enzyme pourrait remplacer une partie des fonctions de l'AChE en cas de son absence dans le système cholinergique. Le taux de ce dernier est associé à la maladie d'Alzheimer tant qu'il est plus élevé également les plaques néritiques et les dégénérescences neurofibrillaires sont nombreuses (les caractéristiques neuropathologiques de la MA)[29].

**BuChE** à un résidu d'acide aminé sérine qui est essentiel pour son activité catalytique [30,31]. BuChE et AChE appartiennent à la fold-fold famille de protéines car elles contiennent une feuille  $\beta$  centrale qui est entourée d'hélices [32]. Cette structure est également trouvée dans d'autres protéines, y compris les curseurs d'hormones telles que la thyroglobuline et les cellules molécules d'adhésion telles que neuroligin [33]. Fonctionnellement, BuChE est connue pour catalyser l'hydrolyse de l'acétylcholine [34, 35, 36,37], bien que moins efficacement que l'AChE. Il a également été montré pour catalyser l'hydrolyse d'autres esters tels que la cocaïne, l'acide acétylsalicylique et l'héroïne [38-39]. De plus, BuChE est important dans le nettoyage d'origine naturelle (physostigmine) et synthétique anti cholinestérases (organophosphorées)<sup>1</sup>. Chaque sous-unité catalytique de BuChE humaine à 574 résidus d'acides aminés, et la MUTAGENÈSE DIRECTÉE SUR SITE a été utilisée pour identifier les résidus d'acides aminés spécifiques qui sont impliqués dans son activité catalytique et dans la liaison des inhibiteurs à l'enzyme [40-41]. BuChE contient une triade catalytique, composée de sérine 226, histidine 466 et acide glutamique 353 (les chiffres correspondent aux Enzyme humaine).

## Chapitre02 : Pathologie d'Alzheimer

BChE se trouve au niveau plasmatique et dans d'autres tissus comme la foie, l'intestin, les poumons, le cœur le cerveau les muscles. Il montre une grande similarité avec l'AChE, particulièrement à sa composition en acide aminés, sa structure tridimensionnelle et son site catalytique.

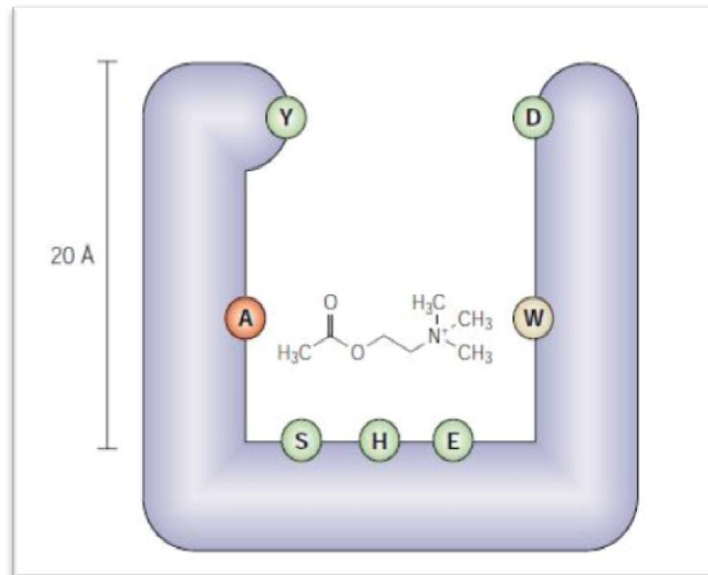


Figure 04: Site actif de la Butyrylcholinestérase (BuChE)

### 2.2 Acétylcholinestérase (AChE) :

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé pour la neurotransmission qui entraîne la destruction de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques centrales et périphériques, Elle est présente essentiellement au niveau des synapses dans le tissu nerveux et à la jonction neuromusculaire, dans la substance grise, les poumons et la rate. Elle est aussi présente de façon anormale dans le liquide amniotique au cours du défaut de fermeture du tube neural. L'AChE joue un rôle essentiel pour terminer l'activation des récepteurs dans les transmissions cholinergiques, intervenant dans les terminaisons parasympathiques, les jonctions neuromusculaires et les synapses cholinergiques du système nerveux central. Étant donné le rôle de la diminution des concentrations cérébrales en acétylcholine dans la physiopathologie des troubles cognitifs de la maladie d'Alzheimer, une des cibles d'action est de restaurer une transmission cholinergique proche de la normale. L'acétylcholine étant dégradée dans la fente synaptique par l'acétylcholinestérase, l'inhibition de cette enzyme par des inhibiteurs sélectifs (les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase) permet d'augmenter la concentration synaptique en acétylcholine (figure 5). L'augmentation des concentrations synaptiques en acétylcholine favorise son action sur ses récepteurs muscariniques et nicotiniques qui tous les deux sont impliqués dans la stimulation cognitive.

Les agents cholinergiques ayant besoin de récepteurs cholinergiques post-synaptiques pour apporter un bénéfice grâce à cette augmentation du signal en acétylcholine, ils pourraient être principalement efficaces aux stades précoces de la maladie d'Alzheimer, lorsque les cibles post-synaptiques sont encore présentes [42 ,43 ,44 ,45].

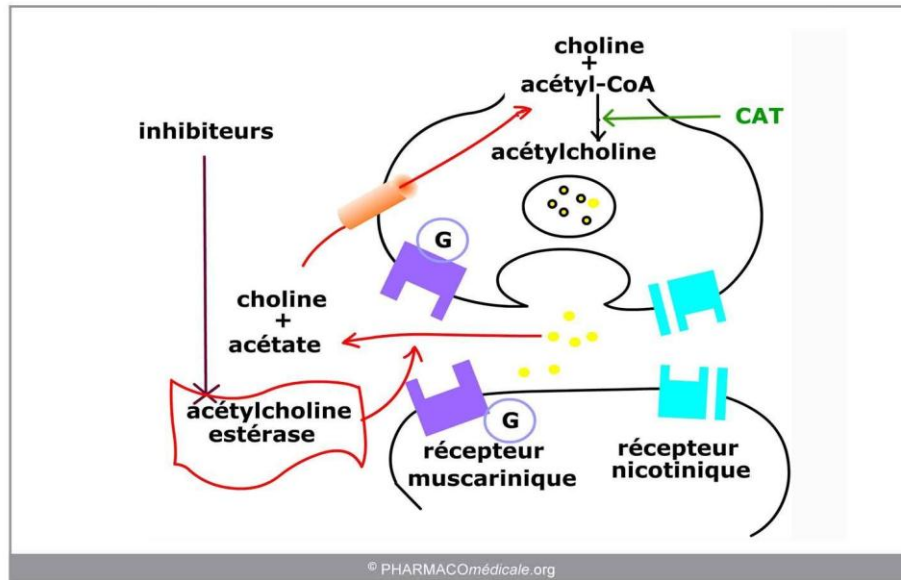
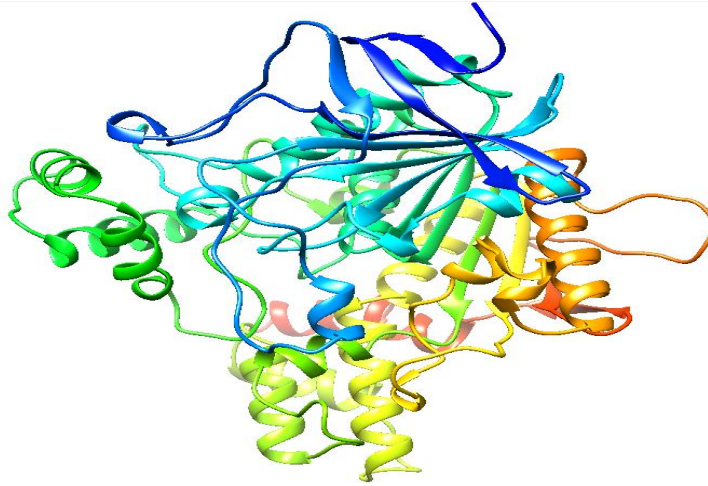


Figure 05: Mécanismes d'action d'ACHE

### 2.2.1 Structure de l'AChE :

L'AChE de *torpedocalifornica* a été la première dont la structure primaire a été déterminée.[46] Quelques années plus tard, la structure primaire de l'AChE humaine a aussi été caractérisée.[47] Sussman et al. en 1991 ont été les premiers à caractériser par diffraction des RX la structure tridimensionnelle de l'AChE de *torpedocalifornica*. [48] Les structures primaires des différentes AChE sont très proches : plus de 60% des résidus sont identiques entre l'AChE de *torpedocalifornica* et celle de mammifères, et en particulier au niveau du site actif.[49]

Le monomère de cette enzyme possède une forme ellipsoïdale, avec une dimension de 45x60x65 Å. Les sous-unités 543 résidus et constituée de 11 feuillets- $\beta$  standards entourés de 15  $\alpha$ -hélices, de même il est remarqué la présence de 3 courts standard feuillets- $\beta$  qui ne sont pas reliés par des ponts hydrogène au niveau du cœur de l'enzyme [50] comme il est représenté dans la figure 06 :



**Figure 06: structure 3D d'AChE**

### 2.2.2 Le Site actif d'AChE :

Il constitue trois acides aminés essentiels de la triade catalytique d'AChE qui sont Glu 327, His440 et la Ser200, cette triade se trouve au fond d'une gorge étroite de 20 Å qu'est alignée de 14 résidus aromatiques. la gorge contient Asp72 cet AA est localisé en bas et au bord tandis que Glu199 est situé exactement à la base de cette cavité c'est le site anionique qui est le plus proche du groupement triméthylamonium du substrat (ACh).

Les 14 résidus aromatiques (Tyr70, Trp84, Trp114, Tyr121, Tyr130, Trp233, Trp279, Phe288, Phe290, Phe330, Phe331, Tyr334, Trp432 et Tyr442) ont un rôle important dans la stabilisation du complexe et surtout les deux résidus Trp84 et Phe330 qui stabilisent la choline au site d'interaction de l'ammonium quaternaire du substrat. Ces deux acides aminés forment les principaux acides du site anionique. Alors que les AA Trp279 et Tyr70 sont introduits comme des résidus du site anionique périphérique (PAS) qui permet au ligand d'associer au site périphérique et d'empêcher l'accès du substrat dans la gorge, Ceci dit, la fonction catalytique de l'enzyme peut être régulée de façon allostérique par la liaison d'un ligand au niveau de ce site (PAS). Le blocage de ce dernier permet de freiner la production des plaques amyloïdes, c'est la nouvelle stratégie pour traiter la MA [51, 52, 53,54].

L'oxygène du groupement carbonyle du substrat est stabilisé via des liaisons hydrogène avec la fonction amide de chacun des résidus Gly118, Gly119 et Ala201.

L'AChE a un autre site c'est le site estérasique correspond au locus au niveau duquel la portion acétyle de la molécule d'ACh se fixe et forme l'intermédiaire tétraédrique. L'ACh est alors clivée, libérant ainsi la choline et l'intermédiaire enzyme acylé. Ensuite a lieu la dé-acétylation, qui régénère l'enzyme libre en libérant l'acétate [55].

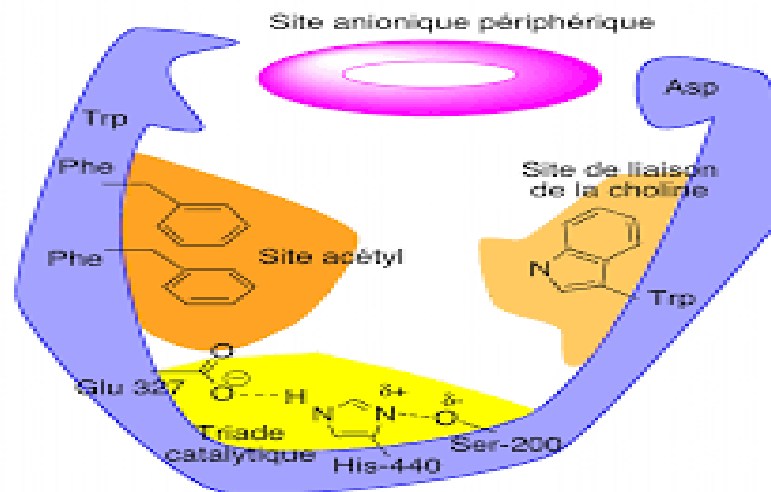


Figure 07 : Le Site actif d'AChE

### 2.2.3 Mode d'action d'ACHE :

Comme il est mentionné avant, la tâche de cette enzyme est l'hydrolyse du substrat l'acétylcholine. Cette hydrolyse s'effectue selon deux étapes : l'acylation et la dé-acylation.

Une fois l'acétylcholine stabilisée dans le site actif, l'acylation est produit par la transformation (transfère) du proton de la Ser200 vers la partie imidazole de la His440 en suit la Ser200 dé-protoné attaque le substrat. Ce proton va ensuite être capté par la choline qui quitte le site actif. Le complexe acyl-enzyme tétraédrique obtenu est stabilisé par le trou oxyanionique. Une molécule d'eau s'additionne alors sur ce complexe, et l'acide acétique est éliminé : c'est l'étape de dé-acylation

Les **inhibiteurs du cholinestérase** (donépézil, galanthamine, rivastigmine) sont prescrits dans les formes légères à modérément sévères de la maladie d'Alzheimer. Ils visent à restaurer une concentration normale d'acétylcholine (un messager chimique du cerveau) dans les zones touchées par la maladie [56,57].

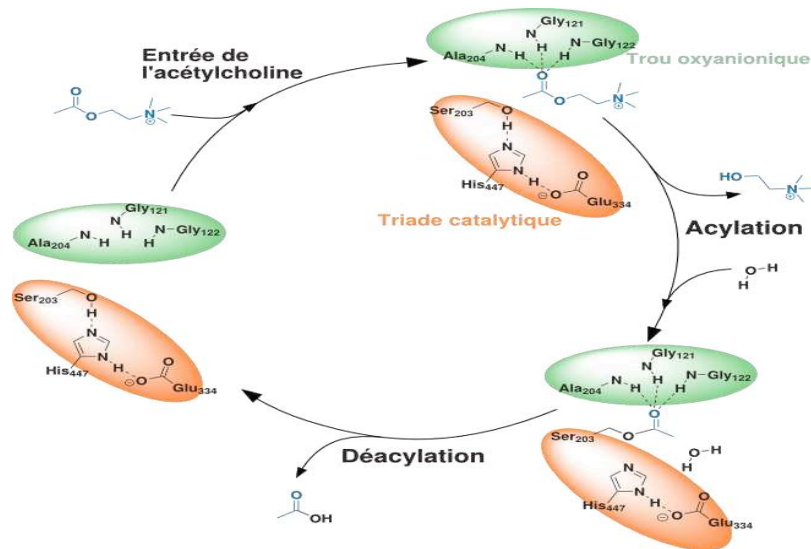


Figure 08 : Cycle catalytique de l'hydrolyse de l'Acétylcholine

### 3 .Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEIs) :

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont des substances qui inactivent réversiblement ou irréversiblement l'enzyme

#### 3.1 Inhibiteurs pseudo-irréversibles :

Cette classe d'inhibiteurs inclut les composés ayant un groupement fonctionnel carbamate. Ils sont carboxylates par la triade catalytique de l'AChE. La vitesse d'hydrolyse de ces complexes avec la Ser200 est plus lente que celle du complexe ACh-AChE. Le premier inhibiteur de cette classe qui a été étudié pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (AD) est la physostigmine, mais du fait que cet inhibiteur possède une courte durée de demi-vie, il a été rejeté. Afin de prouver son potentiel plusieurs analogues ont été étudiés. La Rivastigmine qui est un dérivé de la Miotine est un autre inhibiteur pseudo-irréversible possédant le groupement carbamate est moins potentiel que la physostigmine mais inhibe aussi la BChE. Ce dernier se caractérise par une longue durée de demi-vie in vivo et par sa bonne protection neurale, ce qui lui a permis d'être accepté dans le traitement de la maladie d'Alzheimer [58].

#### 3.2 Inhibiteurs irréversibles :

Les organophosphorés sont inclus dans ce groupe. Un des représentants de ce groupe est le métrifonate. Quoique son efficacité soit acceptable, son application comme médicament a été retirée due aux problèmes causés tels que l'affaiblissement musculaire et le problème de respiration chez une restreinte proportion de patients.

#### 3.3 Inhibiteurs analogues à l'état de transition :

Les Trifluorométhylcétones sont des inhibiteurs effectifs de ce groupe, possédant des interactions réversibles avec la Ser200 du site actif de l'enzyme, formant un hémicétaltétraédrique comme état

## Chapire02 : Pathologie d'Alzheimer

---

de transition [59]. En effet, parmi ces inhibiteurs, le m-(N, N, Ntriméthylamino) trifluoroacétophenone est un inhibiteur potentiel, mais sa nature ionique empêche sa capacité d'affranchir la barrière de sang au niveau du cerveau [bloodbrainbarrier (BBB)], cependant des dérivés plus lipophiliques et non-ioniques de ce ligand peuvent mieux fonctionner. L'un de ces inhibiteurs est le zifrosilone (MDL-73745) qui réagit comme inhibiteur de cette famille.

### 3.4 Les inhibiteurs réversibles :

Au contraire des trois classes d'inhibiteurs décrites avant, les inhibiteurs réversibles interagissent avec le site actif de l'enzyme et inhibent l'activité du substrat l'ACh. Dans ce groupe on distingue les aminoacridines, N-benzylpiperidines et les alcaloïdes.

#### 3.4.1 Les aminoacridines :

Le plus potentiel de ce groupe est la Tacrine (Cognex), qui a été le premier inhibiteur approuvé par la FDA en 1993. Il a été le composé lead pour la synthèse d'autres dérivés, comme le Valnacrine et le Suronacrine qui ont montré une toxicité réduite [60].

#### 3.4.2 Les N-Benzylpiperidines :

Donepezil (E2020) est le prototype de cette classe structurale qui a été le second médicament approuvé par la FDA dans le but de traiter la maladie d'Alzheimer dans un stade avancé. Il est potentiel, une demi-vie assez longue et il est sélectif pour l'AChE que la BChE.

TAK-147 est un autre dérivé de cette famille, qui possède un potentiel inférieur à celui du Donepezil et il est toujours sous tests cliniques. D'autres dérivés ont été introduites, où la partie indanone du Donepezil a été remplacée par des systèmes hétérocycliques [61], tels que les N-benzylpiperidinebenzisoaxazoles. L'un de ces derniers est le Morpholino substitué.

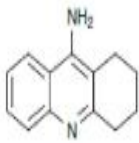
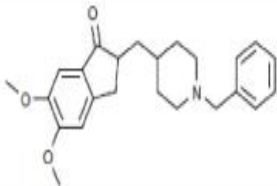
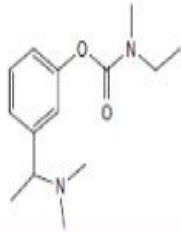
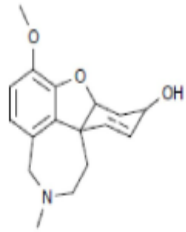
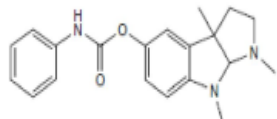
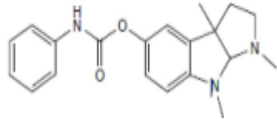
#### 3.4.3 Les alcaloïdes :

Galanthamine (Reminyl) est un alcaloïde avec amine tertiaire, a été approuvé dans plusieurs pays pour le traitement de la maladie d'Alzheimer [62]. Plusieurs dérivés ont été synthétisés et étudiés et ont montré un potentiel plus fort que celui de la galanthamine, comme P11012 et P11149 [63].

(-)-**Huperzine** est un autre alcaloïde, isolé à partir d'une herbe médicinale chinoise *Huperziaserrata*, et qui est un très bon inhibiteur potentiel avec un degré de toxicité très bas. Il a été pris comme composé lead dans le design de plusieurs dérivés.

## Chapire02 : Pathologie d'Alzheimer

**Table : 01 : Les inhibiteurs d'AChE**

Molécules	Structures	Mécanismes d'action	Indications	Années	Références
Tacrine (Cognex®)		Inhibiteur sélectif, rapidement réversible.	Le premier médicament spécifiquement commercialisé pour le traitement des déficits cognitifs de la MA.	1993	Davis et Powchik, 1995
Donépézil (Aricept®)		Inhibiteur sélectif, rapidement réversible, protège les neurones de rat contre l'apoptose induite par un dysfonctionnement du glutamate.	L'un des médicaments les plus utilisés pour le traitement des stades précoces et/ou modéré de la MA	1996	Giacobini, 2000; Takada-Takatori et al., 2006
Rivastigmine (Exelon®)		Inhibiteur lentement réversible de l'AChE et de la BChE	Traitement des formes légères à modérées de la MA.	2000	Liang et Tang, 2004
Galanthamine (Razadyne®, Reminyl®)		Inhibiteur sélectif, rapidement réversible. Modulateur de récepteurs nicotiques cholinergiques. Protège les neurones de rat contre l'apoptose induite par un dysfonctionnement du glutamate.	Traitement des formes légères à modérées de la MA. Amélioration de l'attention et de la mémoire.	2001	Bai et al., 2000; Caramelli et al., 2004; Takada-Takatori et al., 2006
Huperzine A		Inhibiteur réversible, puissant et sélectif avec un index thérapeutique mieux que la physostigmine et la tacrine.	Effets neuroprotecteurs multiples sur plusieurs sites moléculaires (transformation d'APP; neurotoxicité associée au Aβ; NGF; systèmes de neurotransmission).	En essais cliniques: phase IV en Chine, phase II aux états unies d'Amérique.	Bai et al., 2000; Zhang et Tang, 2006
Phenserine		Inhibiteur puissant et sélective de l'AChE	Longue durée d'action. Réduction de la fréquence de dose. Diminution de l'exposition aux médicaments du corps et minimise la dépendance de l'action du médicament.	En essais clinique: phase II.	Al-Jafari et al., 1998; Greig et al., 2000



### 4. *Lepidium sativum* :

*Lepidium sativum* appelé cressonn et teoucresson alénois est une plante annuelle appartenant à la famille des **Brassicales**. Elle est développée en quelques mois une plante haute de 20 à 50 cm au moment de la floraison. C'est une plante à la tige tendre et aux feuilles profondément découpées. Ses fleurs sont blanches et petites à quatre pétales, son fruit est une petite graine rougeâtre qui naît dans une petite capsule. Les graines sont allongées, ils ont une longueur de 2 à 3 cm et une couleur brun rouge. Cresson alénois contient beaucoup des bienfaits pour la santé tels que les vitamines (A, K, C, B2, B6, B9) et des minéraux (cuivre, fer, magnésium, phosphore, potassium, manganèse) et Une source de calcium bio disponible le cresson est un véritable allié santé. On lui prête de nombreuses vertus : prévention de certains cancers, santé oculaire, bien-être digestif, etc. L'huile de graines de *Lepidium sativum* a été examinée pour ses activités antimicrobiennes, antioxydants et anti-inflammatoires

#### 4.1 Classification systématique :

Règne: *Plantae*(plante)

Sous-règne: *Tracheobionta*(plante vasculaires)

Division: *Magnoliophyta*

Classe: *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Dilleniidae*

Ordre: *Capparaes*

Famille : *Brassicaceae*

Genre : *Lepidium*

Espèce : *Lepidium sativum*



Figure09:*Lepidium sativum*

#### 4.2 Méthode d'extraction d'huile de L. S :

Nous avons tamisé manuellement les graines et les bonnes sont sélectionnées et broyées à l'aide d'un broyeur électrique. Huile de graines broyées extraite à l'éther de pétrole (60-80 °C) pendant 12 h dans un appareil Soxhlet, selon une méthode décrite par AOCS. On sèche ensuite l'huile obtenue sur sulfate de sodium anhydre, et on la maintient à 4 °C.

L'analyse de l'huile a été réalisée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse et ses composants ont été identifiés à l'aide de la bibliothèque MS (NIST) [64, 65, 66, 67, 68,69]

# **Chapitre03**

## **Matériel et méthodes**

### 1. Matériel :

#### 1.1 Un microordinateur :

#### 1.2 Programmes et logiciels :

Autodock tools-1.5.6: <http://mgltools.scripps.edu/>.

Autodock vina\_1\_1\_2: <http://vina.scripps.edu/download.html/>.

Chimera software-1.11: [chimera-1.11.2-mac\\_x11.dmg/](http://www.cgl.ucsf.edu/chimera-1.11.2-mac_x11.dmg/).

BIOVIA *Discovery Studio Visualizer*: <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer/download>.

PLIP: <https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>.

#### 1.3 Bases des données :

Protein Data Bank http : <http://www.pdb.org/>

PubChem : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

### 2. Méthodes :

#### 2.1 Préparation de la protéine (récepteur) :

Le fichier du récepteur utilisé par Autodock vina doit être sous format (.pdb), en consultant la banque de données PDB et en téléchargeant l'enzyme AChE dans notre cas au format pdb. Nous avons choisi le complexe 1EVE (la cible avec Donépezil) qu'il s'agit d'une structure correctement définie avec une résolution de 2.50Å.

Avant de faire les calculs avec "vina" il faut séparer le récepteur de son ligand afin de l'obtenir avec un site actif libre. Ensuite en éliminant les molécules d'eau et rajoutant les hydrogènes dite polaires avec "Chimera" après en définissant les charges des atomes par l'intermédiaire du programme "Autodock tools" qui attribue des charges de type "Kollman" et dans la dernière étape en convertissant le format pdb à pdbqt (format propre dans ADT).



Figure10: structure 3D d'AChE

### 2.2 Préparation des ligands :

Les ligands utilisées dans ce travail en consultant PubChem et en les télécharger dans une autre étape en optimisant les molécules avec Chimera c'est une étape nécessaire et en les enregistrer sous format pdb. Depuis en définissant les angles de torsion des les molécules par ADT et en sauvegarder au format pdbqt.

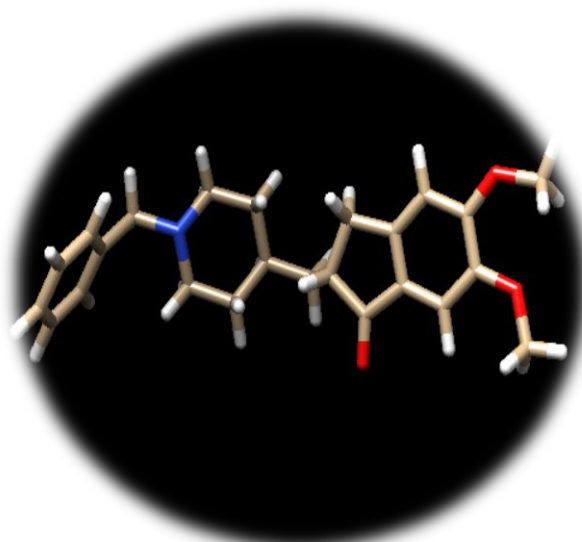


Figure11: structure 2D d'E20

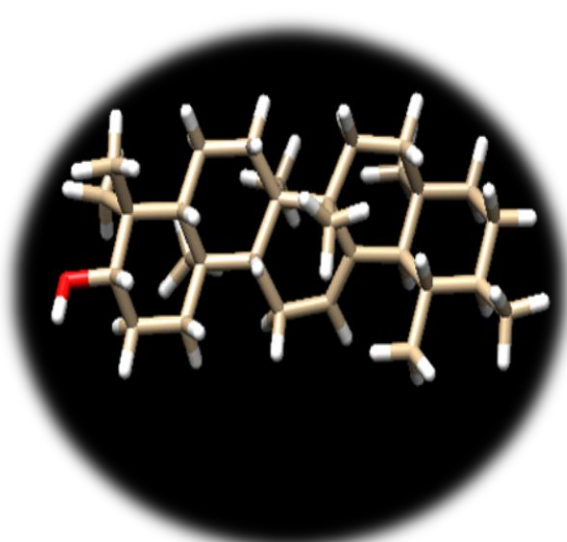
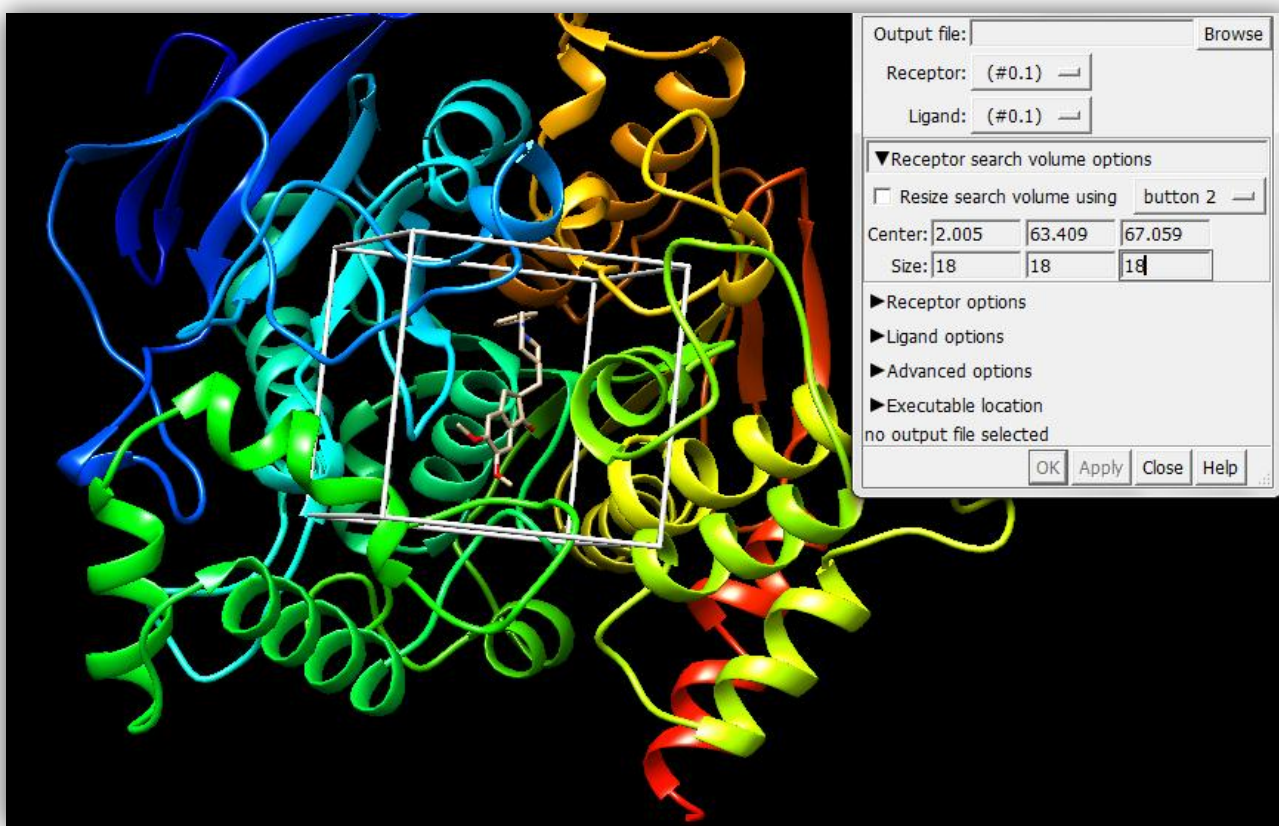


Figure12: structure 2D d' $\alpha$  amyrin

## Chapitre 03 : Matériel et méthode

### 2.3 Grid BOX :

Pour réaliser une recherche conformationnelle du ligand au sein du site actif de son récepteur, les codes de Dock doivent être définis cet espace ce qu'on dit "GRID BOX", à partir du ligand référence (E20) la Grid box définie par un volume de **18x18x18 Å<sup>3</sup>** et le centre de cette boîte déterminé par **x = 2.005 y = 63.409 z = 67.059**, la boîte est alors centrée sur le ligand référence et ses dimensions sont proportionnellement à la taille de tous les ligands étudiés ces informations sont ainsi enregistrées dans un fichier texte qui est obligatoire pour lancer les calculs de docking la figure suivante montre la boîte où s'effectue l'amarrage :



**Figure13:Positionnement de laGrid Box dans le site actif d'ACHÉ**

L'étape suivante c'est l'exécution des instructions pour calculer l'affinité entre les différents types d'atomes de la protéine et le ligand.

```

C:\Users\SDS INFO\Desktop\krid-memoire\CALCULS DOCKING>cd Molécule
C:\Users\SDS INFO\Desktop\krid-memoire\CALCULS DOCKING\Molécule>cd a-amyrin
C:\Users\SDS INFO\Desktop\krid-memoire\CALCULS DOCKING\Molécule\a-amyrin>vina --
config conf.txt --log log.pdbqt
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
#
# DOI 10.1002/jcc.21334
#
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
Detected 2 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 971692928
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
done.
Refining results ... done.

mode |   affinity | dist from best mode
     | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1    |    -11.2   |    0.000   |    0.000
2    |    -10.6   |    3.702   |    6.914
  
```

**Figure14: l'exécution des calculs de docking moléculaire**

Ces résultats sont générés dans un fichier txt avec l'extension pdbqt. Ce fichier contient les coordonnées atomiques des 10 meilleures positions du ligand au sein du site actif de l'enzyme (AChE), leur énergie et leurs différentes valeurs de RMSD.

# **Chapitre 04**

## **Résultats et discussion**

### 1. Résultats et discussion :

Notre démarche consiste d'abord de tester, dans un premier temps, la fiabilité du programme de docking moléculaire "AutoDock vina" utilisé dans cette étude. Dans un deuxième temps, nous sommes attachés à mieux comprendre les mécanismes d'interaction mis en jeu entre l'acétylcholinestérase et l'inhibiteur connue Donepezil. Ensuite nous allons étudier le mécanisme d'inhibition mis en place par l' $\alpha$ -amyrin ( $\alpha$ -amyrin) : un inhibiteur naturel

Dans une dernière partie, en nous appuyant sur les résultats précédents, nous avons tenté de modéliser de nouveaux inhibiteurs pouvant inhiber plus fortement l'acétylcholinestérase.

#### 1.1. La simulation de docking moléculaire :

Afin de valider nos calculs et savoir si sont correctes d'une part et est-ce que le code utilisé est fiable d'autre part, le re-docking de ligand référence E20 est une étape essentielle. Pour cela cette étape nous aboutit aux résultats suivants :

- 1- La simulation de docking moléculaire a été validée parce que l'énergie du complexe protéine-ligand (E20 avec l'AChE) est égale -11.1 kcal/mol
- 2- Ce calcul valide aussi par le biais RMSD qu'il doit être  $< 2\text{\AA}$  et après le re-docking RMSD = 0.0  $\text{\AA}$ .

#### 1.2. La superposition des ligands :

La figure suivante montre la validation de re-docking le ligand en couleur rouge c'est le cristallisé par les rayons X et le ligand en couleur bleu c'est le résultat de re-docking

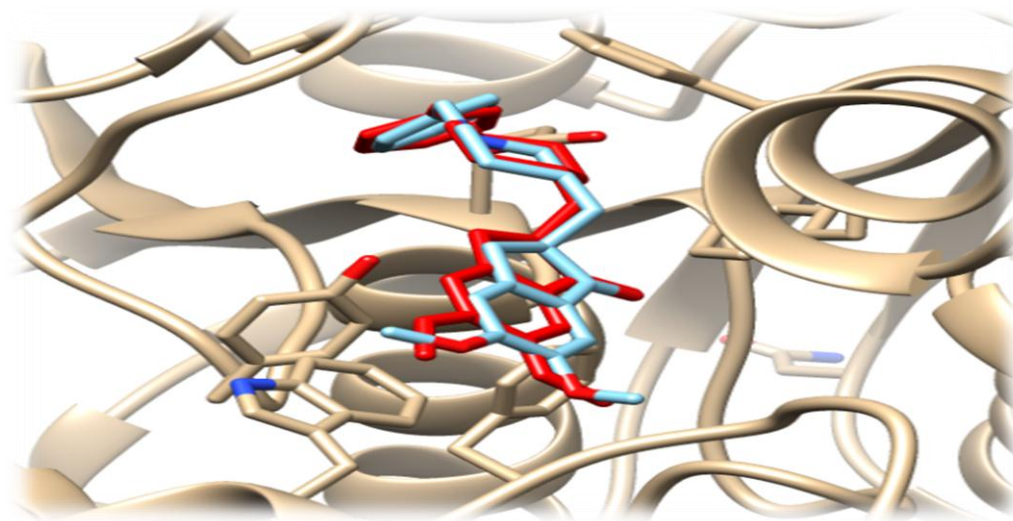
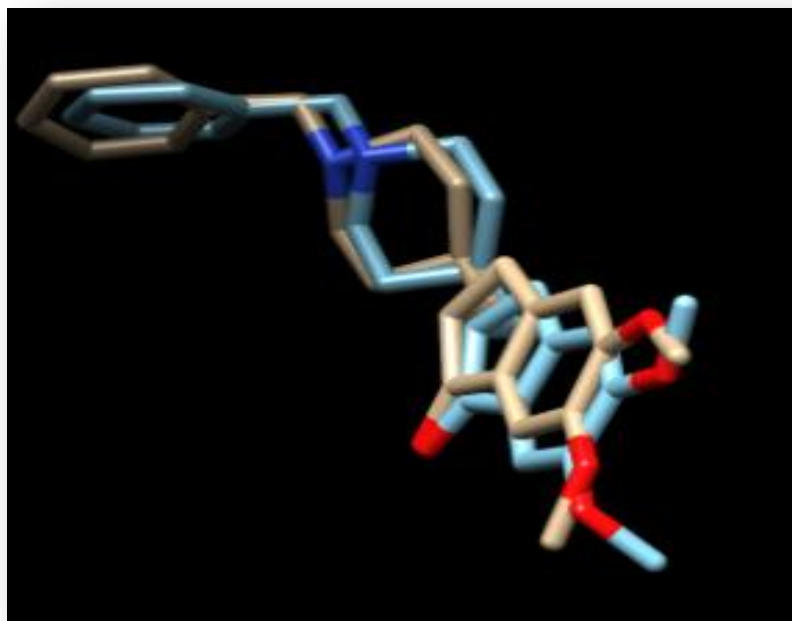


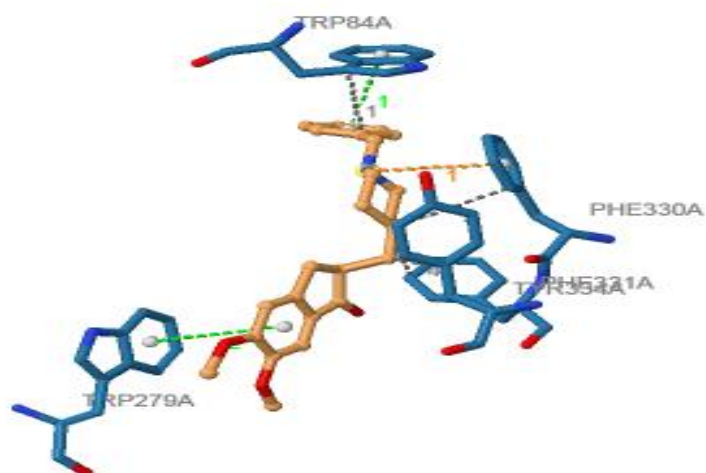
Figure 15: validation de re-docking couleur rouge X-ray, couleur bleu résultat Dock.





**Figure 16: superposition de ligand E20.**

On remarque que les résidus du site actif de la protéine et qui interagissent avec le ligand E20 sont Tyr 334, Trp 84 et 279, Phe 330 et 331. Ces interactions sont présentées sur l'image suivante :



**Figure 17 : interactions entre E20 et AChE.**

## Chapitre04 : Résultats et discussions

**Tableau 02 : Interactions hydrophobiques**

Index	Résidu	AA	Distance	Ligand Atome	Protéine Atome
1	84A	Trp	3.75	4273	641
2	330A	Phe	3.86	4266	2568
3	331A	Phe	3.57	4267	2582
4	334A	Typ	3.77	4265	2605

**Tableau 03 :  $\Pi$ -stacking**

index	Résidu	AA	Distance	Angle	offset	Stacking type	Ligand Atome
1	84A	Trp	3.87	12.58	0.65	P	4273 ,4274,4275,4276,4277,4278
2	279A	Trp	4.07	9.13	1.78	P	4256 , 4257 , 4258 , 4259 , 4260 , 4261

**Tableau 04 :  $\Pi$ -cation interactions**

Index	Résidu	AA	Distance	offset	Protéine charged	Ligand group	Ligand Atome
1	330A	Phe	4.11	0.91	X	tertamine	4269

### 2. Analyse de docking moléculaire :

Dans ce travail nous avons fait le docking de 12 molécules concernées au récepteur AChE humaine ou leurs énergies de liaison ont été calculées. Lorsque l'énergie de liaison étant la plus faible l'affinité du ligand pour cette cible étant plus élevée

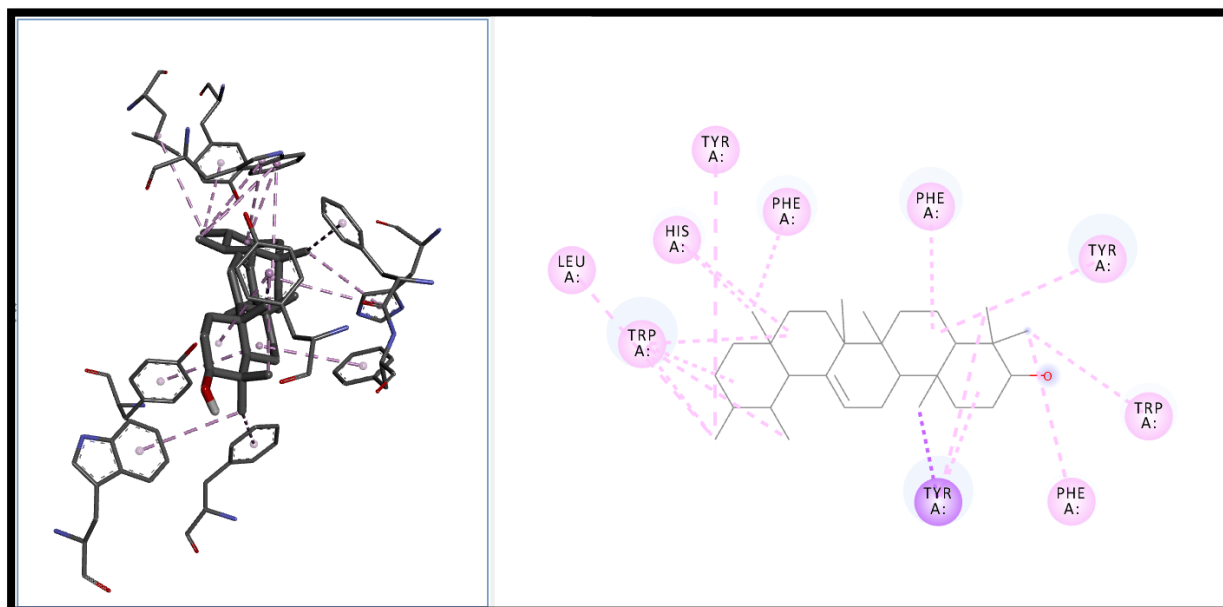
Le tableau ci-dessous résume les valeurs des énergies des molécules par l'AutoDock Vina :

**Tableau 05 : l'énergie de docking**

Molécules	Energies (kcal/mol)
<b><math>\alpha</math>-amyrin</b>	<b>-11.2</b>
<b>E20(Donepezil)</b>	<b>-11.1</b>
<b><math>\beta</math>-amyrin</b>	-9.9
<b>9, 12,15-octadecatrienoic</b>	-7.7
<b>7, 10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester</b>	-7.6
<b>11-Octadecenoic acid, methyl ester</b>	-7.4
<b>9-octadecenoic acidmethyl ester</b>	-7.3
<b>7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester</b>	-7.2
<b>9,12-octadecadienoic acid</b>	-7.1
<b>11-eicosenoic acidmethyl ester</b>	-7.1
<b>15-Tetracosenoic acid, methyl ester</b>	-7.1
<b>Hexadecanoicacid</b>	-6.9

### 2. 1.Complexe AChE – $\alpha$ -amyrin :

Dans le but de développement et de trouver des nouveaux inhibiteurs plus efficaces de l'enzyme acétylcholinestérase(AChE), et a partir le docking et l'étude de 12 ligand en remarquant que le meilleur inhibiteur c'est l'  $\alpha$ -amyrin avec une énergie d'interaction = -11.2 kcal /mol, donc ce complexe est le plus stable par 11 liaisons hydrophobique des résidus sont : Trp84, Trp279, Phe290, Phe330, Phe331 et Tyr334, Tyr121. ( Voir figure 18)



**Figure18 : interaction de complexe AChE- a-amyrin**

### 2.1.1 Interactions hydrophobiques :

**Tableau 06: les interactions hydrophobiques du complexe AChE- $\alpha$ -amyrin**

Index	Résidu	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84	TRP	3	4284	640
2	84	TRP	3,05	4279	646
3	84	TRP	3,91	4263	643
4	84	TRP	3,57	4278	648
5	121	TYR	3,65	4276	950
6	290	PHE	3,82	4264	2261
7	330	PHE	3,93	4271	2567
8	331	PHE	3,01	4264	2582
9	334	TYR	3,37	4277	2607
10	334	TYR	3,37	4275	2605
11	334	TYR	3,14	4282	2604

En observant qu'il y a des interactions hydrophobiques communes dans le complexe 1EVE et le complexe formé avec  $\alpha$ -amyrin. Ces acides aminés en commun sont Tyr334, Trp84, Phe330 et Phe331. Les interactions observées sont à des distances entre 3 et 4Å.

Le Trp 84 est un acide aminé essentiel dans le mode d'inhibition de l'AChE qui est présent dans le site anionique de la cible ne forme pas d'interactions avec l'homologue  $\beta$ -amyrin. Cette interaction est observée avec les autres ligands dockés avec la cible. Et les interactions hydrophobiques communes pour les autres ligands sont formées à partir des acides aminés Tyr334, Phe330 et Phe331.

Sauf six ligands ont pu former des interactions de type liaisons hydrogène. Ces molécules sont : *7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester* (Tyr121, Ser122), *9,12-octadecadienoic acid* (Ser200, Gly118, Gly119), *9, 12,15-octadecatrienoic* (Phe288, Arg289), *9-octadecenoic acidmethyl ester*

## Chapitre04 : Résultats et discussions

(Ser200), 11-eicosenoic acidmethyl ester (Tyr121,Ser122), 15-Tetracosenoic acid, methyl ester (Tyr121).

Il est à noter que dans la formation des liaisons hydrogènes trois acides aminés mentionnés en vert qui sont potentiellement présents pour les ligands déjà mentionnés plus haut.

L'acide aminé His 440 est le seul résidu qui est responsable de la formation des interactions de type pont salin. Les molécules concernées par cette interaction sont 9,12-octadecadienoic acid, 9-octadecenoic acidmethyl ester, 15-Tetracosenoic acid, methyl ester,hexadecanoicacid.

Le tableau suivant résume les différentes interactions observées entre la cible AChE et les ligands étudiés.

**Tableau 07: Interactions entre les ligands et le récepteur**

Molécules	Énergie Kcal/m	Interaction																
		Hydrophobique										Hydrogen bonds						Salt bridge
		Trp		Tyr				Phe				Leu	Tyr	Ser		Phe	Arg	
84	279	334	70	121	290	330	331	282	121	122	200	288	289	118	119	440		
7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester	-7.6	++	-	++	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester	-7.2	++	+	++	+	-	+	++	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
9,12,15-octadecatrienoic acid	-7.7	++	+	++	-	+	++	++	++	-	-	-	-	+	+	-	-	-
9,12-octadecadienoic acid	-7.1	++	-	+	-	-	+	++	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+
9-octadecenoic acidmethyl ester	-7.3	+	+	++	+	-	+	++	++	-	-	-	+	-	-	-	-	+
11-eicosenoic acidmethyl ester	-7.1	++	+	++	+	-	+	++	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-

## Chapitre04 : Résultats et discussions

11-Octadecenoic acid, methyl ester	-7.4	++	+	++	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15-Tetracosenoic acid, methyl ester	-7.1	++	+	++	+	-	-	++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>α</i> -amyrin	-11.2	++	-	++	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>β</i> -amyrin	-9.9	-	+	++	-	-	-	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Behenic acid, methyl ester	-7.0	++	-	++	-	-	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hexadecanoic acid	-6.9	++	-	++	-	-	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+

+: interaction Hydrophobique     
 +: interaction Hydrogène     
 +: interaction Salt bridges

### 3. Complémentarité géométrique :

L'aspect clef-serrure est un aspect essentiel dans le phénomène de reconnaissance moléculaire. Cette dernière est représentée d'une manière qualitative par la complémentarité géométrique.

Sur les figures suivantes, nous présentons le mode d'incorporation et la complémentarité géométrique du complexe *α*-amyrin et l'AChE.

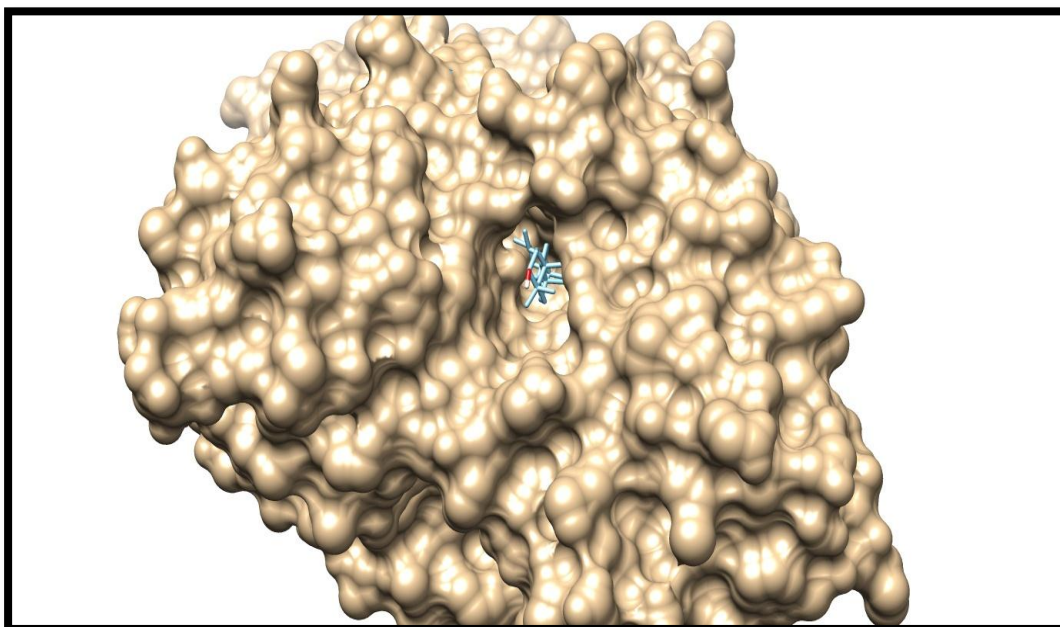
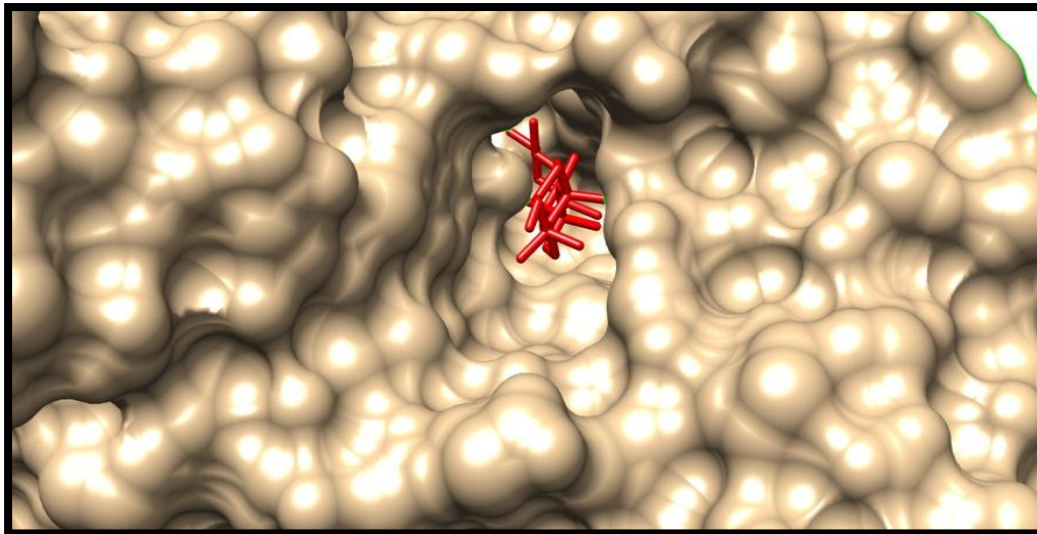


Figure19 : Incorporation  $\alpha$ -amyrin\_ACHE



Figure20 : Complémentarité géométrique



# **Conclusion**

## Conclusion

---

La modélisation par la technique du docking moléculaire nous permet d'élucider les interactions protéine-ligand. Autodock vina, nous a permis de reproduire la conformation géométrique du donepezyl et donc ce logiciel présente une fiabilité dans ce domaine de modélisation.

A partir de cette étude et les résultats de docking moléculaire des douze ligands, on distingue que le meilleur est l' $\alpha$ -amyrin avec une énergie de -11.2 Kcal /mol.

Les complexes 1EVE et AChE -  $\alpha$ -amyrin ayant des interactions hydrophobiques communes sont Tyr334, Trp84, Phe330 et Phe331 à une distance entre 3 et 4 Å.

On note que l'acide aminé Trp84 est un résidu essentiel pour l'inhibition de l'AChE et il présente sur le site anionique de l'enzyme par contre ce résidu forme des liaisons avec tous les ligands sauf le  $\beta$ -amyrin il ne forme aucune interaction.

L'acide aminé His 440 est le seul résidu qui est responsable de la formation des interactions de type pont salin pour quatre ligands parmi les douze.

# **Références bibliographiques**

[1] Kumar, A., & Jha, A. (2017). Stratégies de développement de médicaments. Agents anticandidaires, 63-71. doi:10.1016/b978-0-12-811311-0.00007-7

[2] Dutta S et Sachan K : Conception de médicaments assistée par ordinateur, une nouvelle approche dans la conception et la découverte de médicaments. Revue internationale de la revue et de la recherche en sciences pharmaceutiques 2010 ; 4(3) : 146-151.

[3] Zhong WZ et Zhou SF : science moléculaire pour le développement de médicaments et la biomédecine. Int. J. Mol. Sci. 2014 ; 15 : 20072-20078.

[4] Xiao X, Min JL, Lin WZ et Liu Z : Médicament - cible : prédire les interactions entre les composés médicamenteux et les protéines cibles dans les réseaux cellulaires via l'approche d'optimisation des jeux de données de référence. J. Biomol. Structurer. Dyna. 2015 ; 33 : 2221-2233.

[6] Martin L. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK. thèse de doctorat d'université : Bioinformatique .Montpellier : Université Montpellier 2. France .2006. 149 p

[7] Monge A. Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche < in silico > de nouveaux composés bioactifs . thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique .Orléans : Université d'Orléans. France. 2006. 154 p

[15] Sharp K.A, Honig B. 1990. Electrostatic interactions in macromolecules .Annu.Rev. Biophys. Chem. 19 : 301-332.

[16] Williams D. H., Cox J.P.L., Doig A. J., Gardner M., Gerhard U., Kaye P. T., Lai A. R., Nicholls I. A., Salter C. J., Mitchell R. C. 1991. Toward the semi quantitative Estimation of binding constants. Guides for peptide-peptide binding in aqueous solution. J. Am. Chem. Soc., 113: 7020-7030.

[17] Trotov M., Abagyan R. 1997. Flexible protein-ligand docking by global energy Optimization in internal coordinates. Proteins Struct.Funct. Genet, 1 : 215-220.

[18] Kramer B., Rarey M., Lengauer T. 1997. CASP2 experiences with docking flexible ligands using FlexX. Proteins Struct.Funct.Genet, 1: 221-225.

[19] T. K. – A. L. – A. Z. a. al., "Molecular docking with special reference to flexible docking approach," JSM Chem, 2018.

- [20]. Hindawi Publishing Corporation Bio Med Research International Volume 2015, Article ID 870389: Virtual Screening of Acetylcholinesterase Inhibitors Using the Lipinski's Rule of Five and ZINC Databank
- [22]. R.L. Nussbaum, C.E. Ellis, Alzheimer's disease and Parkinson's disease, N. Engl. J. Med. 348 (2003) 1356–1364.
- [23]. J. Coyle, P. Kershaw, Galanthamine a cholinesterase inhibitor that allosterically modulates nicotinic receptors: effects on the course of Alzheimer's disease, Biol. Psychiatry 49 (2001) 289–299.
- [24]. R.M. Lane, S.G. Potkin, A. Enz, Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia, Int. J. Neuropsychopharmacol. 9 (2006) 101–124.
- [25]. P.K. Mukherjee, V. Kumar, M. Mal, P.J. Houghton, Acetylcholinesterase inhibitors from plants, Phytomedicine 14 (2007) 289–300
- [26]. KRID ADEL, mémoire de MAGISTER EN CHIMIE THEORIQUE, Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant, Université Mentouri CONSTANTINE, 2008.
- [27] : G.V. Ferrari, M.A. Canales, L.M. Weiner, I. Silman, N.C. Inestrosa, Biochemistry, 40, 10447-10457, 2001.
- [28] A. Enz, R. Amstutz, H. Boddeke, G. Gmelin, and J. Malanowski, "Brain selective inhibition of acetylcholinesterase: a novel approach to therapy for Alzheimer's disease," *Progress in Brain Research*, vol. 98, pp. 431–438, 1993.
- [29] isolement et caractérisation d'inhibiteur naturel d'acétylcholinestérase Mr : BENAMAR Houari  
16 Octobre 2016
- [30]. Silver, A. *The Biology of Cholinesterases* (Elsevier, Amsterdam, 1974). One of the first and most complete presentations of the biology of cholinesterases. This book is a classic in the field
- [31]. Cohen, J. A. & Oosterbaan, R. A. in *Cholinesterases and Anticholinesterase Agents* (ed. Koelle, G. B.) 299–373 (Springer, Berlin, 1963).
- [32]. Millard, C. B. & Broomfield, C. A. A computer model of glycosylated human butyrylcholinesterase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **189**, 1280–1286 (1992).
- [33]. Tsigelny, I., Shindyalov, I. N., Bourne, P. E., Sudhof, T. C. & Taylor, P. Common EF-hand motifs in cholinesterases and neuroigin suggest a role for Ca<sup>2+</sup> binding in cell associations. *Protein Sci.* **9**, 180–185 (2000).

- [34]. Giacobini, E. in *Cholinesterases and Cholinesterase Inhibitors* (ed. Giacobini, E.) 181–226 (Martin Dunitz Ltd, London, 2000).
- [35]. Mesulam, M.-M. *et al.* Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* **110**, 627–639 (2002).
- [36]. Li, B. *et al.* Abundant tissue butyrylcholinesterase and its possible function in the acetylcholinesterase knockout mouse. *J. Neurochem.* **75**, 1320–1331 (2000).
- [37]. Mesulam, M.-M., Guillozet, A., Shaw, P. & Quinn B. Widely spread butyrylcholinesterase can hydrolyze acetylcholine in the normal and Alzheimer brain. *Neurobiol. Dis.* **9**, 88–93 (2002).
- [38]. Lockridge, O., Mottershaw-Jackson, N., Eckerson, H., & La Du, B. N. Hydrolysis of diacetylmorphine (heroin) by
- [39]. Masson, P. *et al.* Butyrylcholinesterase-catalyzed hydrolysis of aspirin, a negatively charged ester, and aspirin-related neutral esters. *Biochim. Biophys. Acta* **1387**, 41–52 (1998).
- [40]. Radic, Z., Pickering, N. A., Vellom, D. C., Camp, S. & Taylor P. Three distinct domains in the cholinesterase molecule confer selectivity for acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. *Biochemistry* **32**, 12074–12084 (1993)
- [41]. Vellom, D. C. *et al.* Amino acid residues controlling acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase specificity. *Biochemistry* **32**, 12–17 (1993).
- [42]. Lockridge, O. *et al.* Complete amino acid sequence of human serum cholinesterase. *J. Biol. Chem.* **262**, 549–557 (1987). This paper provided the complete amino acid sequence of BuChE.
- [43]. Taylor, P.; Radic, Z.; Hosca, N. A.; Camp, S.; Marchot P.; Berman, H. A.; *Toxicol. Lett.* **1995**, 82, 453.
- [44]. Giacobini, E.; *Pharmacol. Res.* **2004**, 50, 433.
- [45]. Taylor, P. *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 4025.
- [46]. Quinn, D. M. *Chem. Rev.* **1987**, 87, 955
- [47]. Schumacher, M.; Camp, S.; Maulet, Y.; Newton, M.; MacPhee-Quigley, K; Taylor, S. S.; Friedmann, T.; Taylor, P.; *Nature* **1986**, 319, 407.
- [48]. Soreq, H.; Ben-Aziz, R.; Prody, C. A.; Seidman, S.; Gnatt, A.; Neville, L.; Lieman-Hurwitz, J.; Lev-Lehman, E.; Ginzberg, D.; Lapidot-Lifson, Y.; Zakut, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1990**, 87, 9688.
- [49]. Sussman, J. L.; Harel, M.; Frolow, F.; Oefner, C.; Goldman, A.; Toker, L.; Silman, I. *Science*

1991, 253, 872.

[50]. Delfino, R. T.; Ribeiro, T. S.; Figueroa-Villar, J. D. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 407

[51]. J. L. Sussman, M. Harel, I. Silman. *Chem. Biol. Interactions.*, **1993**, *87*, 187-197

[52] E. A. Barnard, *The Peripheral Nervous System*, Plenum Press, New York., **1974**, pp, 201-224.

[53] J. L. Sussman, M. Harel, I. Silman. *Chem. Biol. Interactions.*, **1993**, *87*, 187-197

[54] J. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, *Science*, **1991**, *253*, 872-879

[55] P. Taylor, Z. Radic, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1994**, *34*, 281-320

[56]. Jacques-Philippe Colletier, Étude Des Relations Structure – Dynamique – Fonction Au Sein De L'acétylcholinestérase, Thèse Doctorat, Université Joseph Fourier, 2006.

[57] Mr : KRID ADEL, *Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant* 2008

[58]. Etude théorique de la réactivation de l'AChE inhibée par le tabun Ophélie Kwasnieski , HAL Id: tel-00796723 , Submitted on 4 Mar 2013

[59] L. S. Schneider, *Curr. Opin. Invest. Drugs*, **2000**, *2*, 427-437

[60] P. Camps, D. Munoz-Torro, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **2002**, *2*, 11-25

[61] E. Rose, J. Aleu, J. Marsal, C. Solsona, *Eur. J. Pharmacol.*, **2000**, *390*, 7-13

[62] A. Martinez, E. Fernandez, A. Castro, S. Conde, I. Rodriguez-Franco, J. E. Banos, A. Badia, *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, *35*, 913-922

[63] J. J. Sramek, E. J. Frackiewicz. N. R. Cutler, *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **2000**, *9*, 2393-2402

[64] P. Camps, D. Munoz-Torro, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **2002**, *2*, 11-25

[69]. Chemical composition and antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Lepidium sativum* seed oil Fulwah Yahya Alqahtania,†, Fadilah Sfouq Aleanizya, Amany Z. Mahmoud a,b, Nida Nayyar Farshoric, Rihaf Alfaraja, Ebtessam Saad Al-sheddic, Ibrahim A. Alsarrad

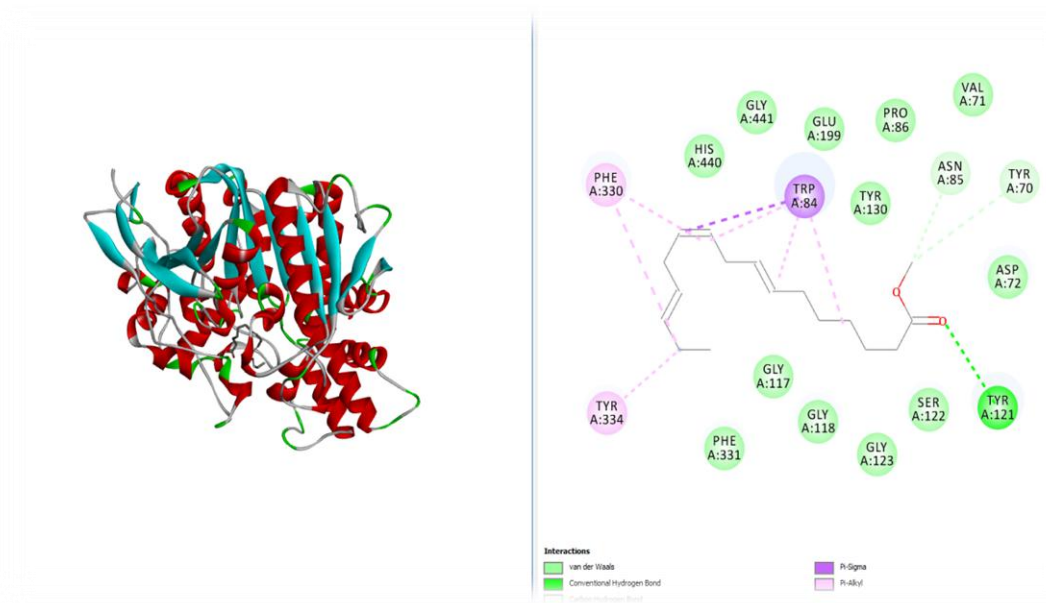
# **Références web**



- [5] Site web: <https://www.precisionmed.ch/cest-quoi-la-modelisation-moleculaire/>
- [8] Site web: <http://mgltools.scripps.edu/>
- [9] Site web: <http://vina.scripps.edu/download.html>
- [10] Site web: [chimera-1.11.2-mac\\_x11.dmg](#)
- [11] Site web: <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>
- [12] Site web: <https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>
- [13] Site web: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [14] Site web: <https://www.rcsb.org/>
- [21] <https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=cressonnu>
- [65] <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/stimulants-de-la-cognition-les-points-essentiels>
- [66] <https://www.aujardin.info/plantes/lepidium-sativum.php>
- [67] <https://www.crstra.dz/plantes/lepidium-sativum.php>
- [68]. <https://www.aquaportail.com/fiche-plante-3760-lepidium-sativum.html>

# **Annexe**

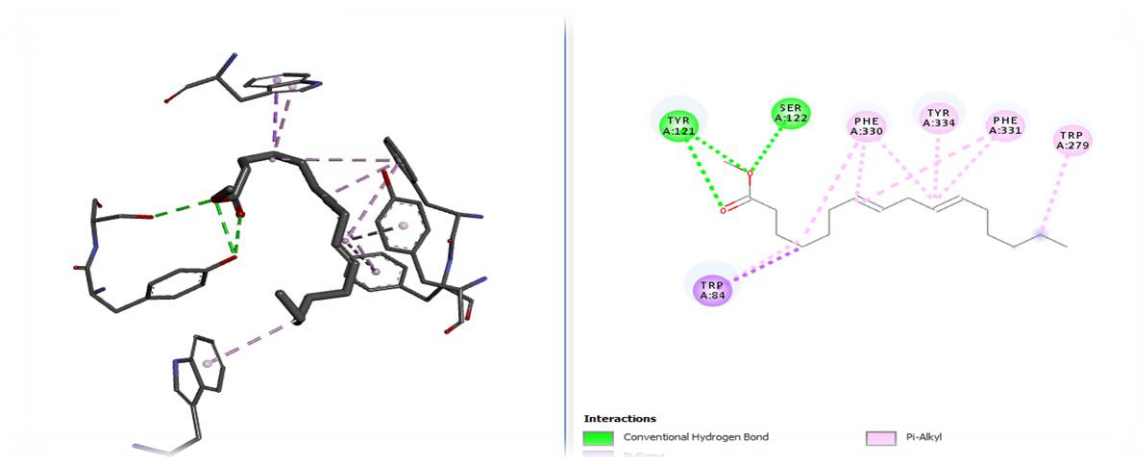
- 7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester



▼ Hydrophobic Interactions ....

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84A	TRP	3.39	4260	640
2	84A	TRP	3.62	4259	646
3	84A	TRP	3.56	4269	641
4	330A	PHE	3.76	4270	2572
5	330A	PHE	3.64	4272	2570
6	330A	PHE	3.51	4269	2571
7	330A	PHE	3.65	4274	2568
8	331A	PHE	3.73	4274	2582
9	334A	TYR	3.97	4272	2608
10	334A	TYR	3.68	4273	2606

- **7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester**



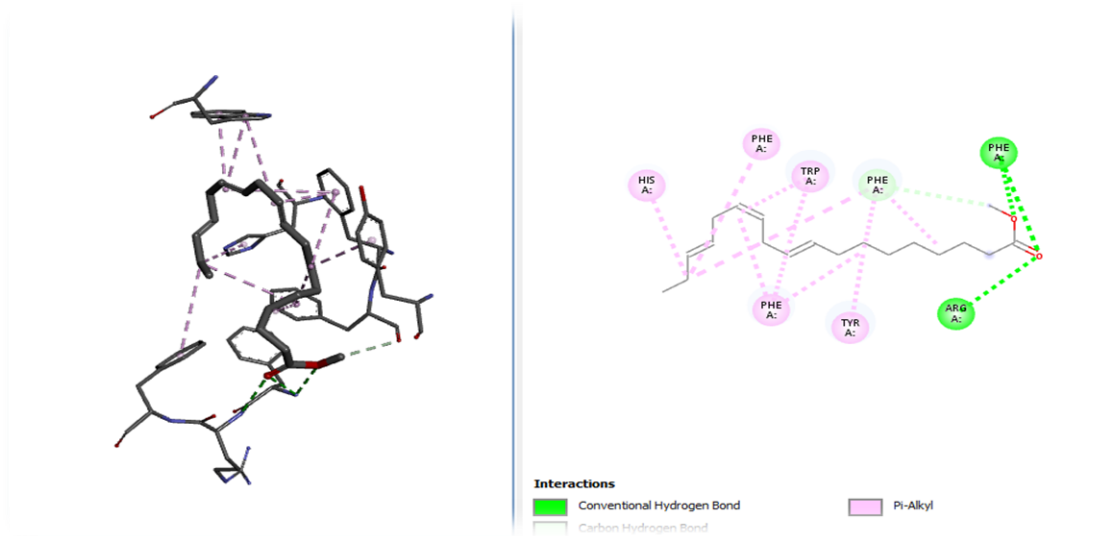
▼ Hydrophobic Interactions ....

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	70A	TYR	3.99	4274	534
2	84A	TRP	3.65	4262	640
3	84A	TRP	3.65	4260	643
4	279A	TRP	3.66	4272	2167
5	290A	PHE	3.72	4271	2261
6	330A	PHE	3.73	4267	2568
7	330A	PHE	3.72	4257	2570
8	330A	PHE	3.71	4259	2571
9	330A	PHE	3.60	4256	2567
10	330A	PHE	3.79	4258	2569
11	331A	PHE	3.63	4270	2580
12	334A	TYR	3.65	4267	2608
13	334A	TYR	3.73	4269	2605

▼ Hydrogen Bonds —

Index	Residue	AA	Distance H-A	Distance D-A	Donor Angle	Protein donor?	Side chain	Donor Atom	Acceptor Atom
1	121A	TYR	2.70	3.04	102.33	✓	✓	952 [O3]	4264 [O2]
2	122A	SER	3.42	3.85	109.20	✓	✓	958 [O3]	4264 [O2]

- 9,12,15-octadecatrienoic



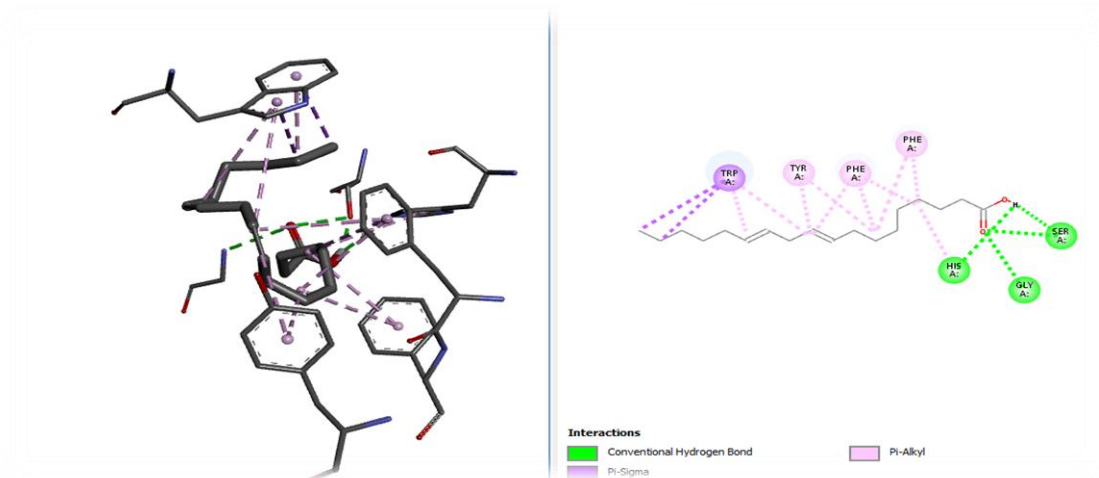
▼ Hydrophobic Interactions \*\*\*\*

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84A	TRP	3.65	4269	641
2	84A	TRP	3.56	4271	643
3	121A	TYR	3.89	4276	950
4	279A	TRP	3.80	4261	2167
5	290A	PHE	3.77	4261	2261
6	290A	PHE	3.68	4276	2263
7	330A	PHE	3.75	4269	2572
8	330A	PHE	3.60	4268	2570
9	330A	PHE	3.95	4270	2571
10	330A	PHE	3.66	4256	2568
11	331A	PHE	3.73	4276	2582
12	331A	PHE	3.93	4275	2583
13	331A	PHE	3.44	4258	2580
14	334A	TYR	3.73	4256	2606
15	334A	TYR	3.59	4258	2604

▼ Hydrogen Bonds —

Index	Residue	AA	Distance H-A	Distance D-A	Donor Angle	Protein donor?	Side chain	Donor Atom	Acceptor Atom
1	288A	PHE	2.45	3.02	115.88	✓	✗	2231 [Nam]	4264 [O2]
2	289A	ARG	2.31	3.19	147.68	✓	✗	2242 [Nam]	4264 [O2]

- **9,12-octadecadienoic acid**



▼ **Hydrophobic Interactions** ....

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84A	TRP	3.49	4269	640
2	84A	TRP	3.93	4273	646
3	84A	TRP	3.57	4274	643
4	84A	TRP	3.74	4275	649
5	290A	PHE	3.65	4262	2263
6	330A	PHE	3.72	4267	2570
7	330A	PHE	3.75	4257	2568
8	330A	PHE	3.64	4259	2567
9	331A	PHE	3.37	4260	2583
10	334A	TYR	3.95	4257	2606

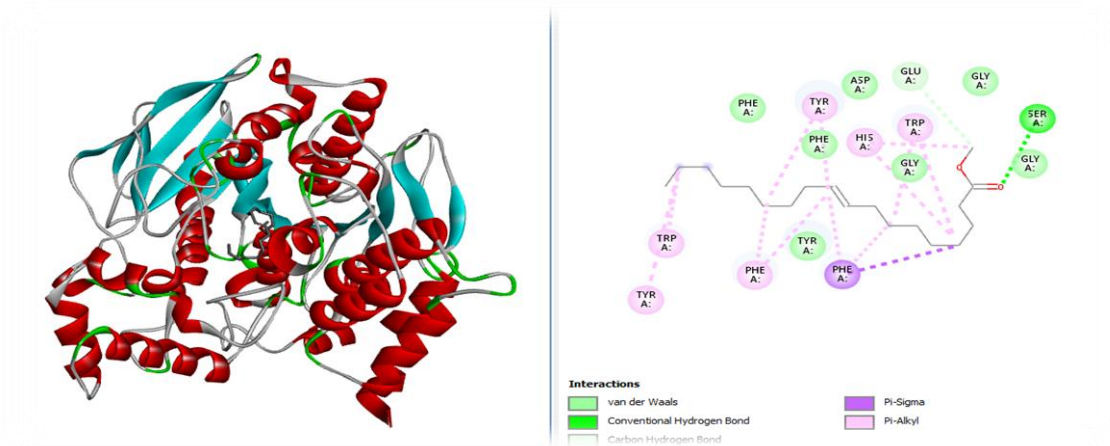
▼ **Hydrogen Bonds** —

Index	Residue	AA	Distance H-A	Distance D-A	Donor Angle	Protein donor?	Side chain	Donor Atom	Acceptor Atom
1	118A	GLY	2.57	3.18	120.70	✓	✗	922 [Nam]	4264 [O2]
2	119A	GLY	2.64	3.23	118.36	✓	✗	926 [Nam]	4264 [O2]
3	200A	SER	2.32	3.12	139.62	✓	✓	1558 [O3]	4264 [O2]

▼ **Salt Bridges** ....

Index	Residue	AA	Distance	Protein positive?	Ligand Group	Ligand Atoms
1	440A	HIS	4.33	✓	Carboxylate	4265, 4264

- 9-octadecenoic acidmethyl ester



▼ Hydrophobic Interactions ----

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	70A	TYR	3.74	4276	534
2	84A	TRP	3.69	4258	641
3	279A	TRP	3.63	4275	2167
4	290A	PHE	3.75	4272	2261
5	330A	PHE	3.67	4256	2570
6	330A	PHE	3.65	4258	2572
7	330A	PHE	3.48	4268	2568
8	330A	PHE	3.54	4260	2571
9	331A	PHE	3.61	4271	2580
10	331A	PHE	3.53	4261	2583
11	334A	TYR	3.74	4267	2608
12	334A	TYR	3.66	4270	2604

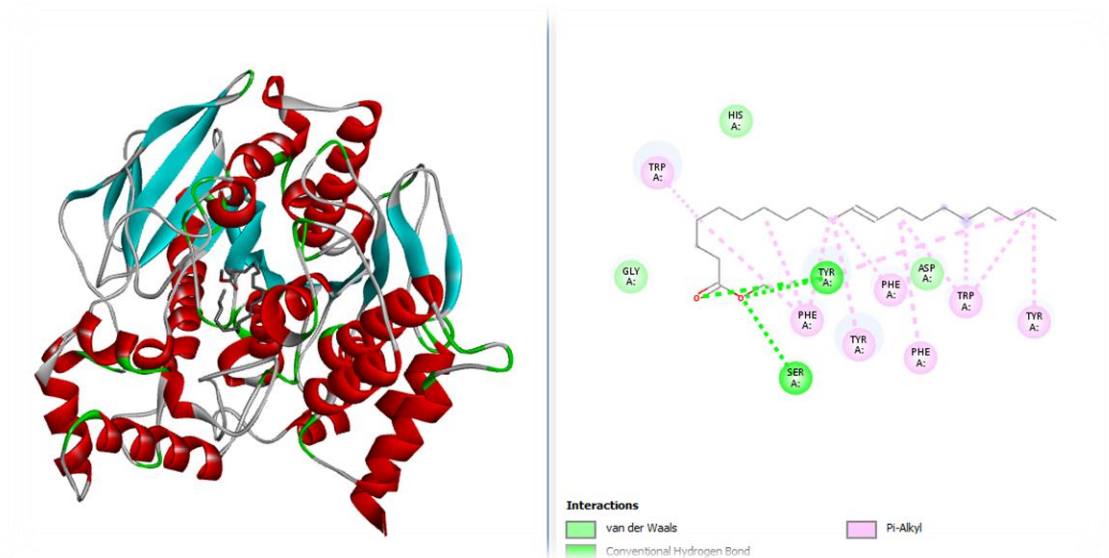
▼ Hydrogen Bonds —

Index	Residue	AA	Distance H-A	Distance D-A	Donor Angle	Protein donor?	Side chain	Donor Atom	Acceptor Atom
1	200A	SER	2.14	3.05	155.59	✓	✓	1558 [O3]	4264 [O2]

▼ Salt Bridges .....

Index	Residue	AA	Distance	Protein positive?	Ligand Group	Ligand Atoms
1	440A	HIS	4.53	✓	Carboxylate	4265, 4264

- **11-eicosenoic acidmethyl ester**



▼ **Hydrophobic Interactions** ....

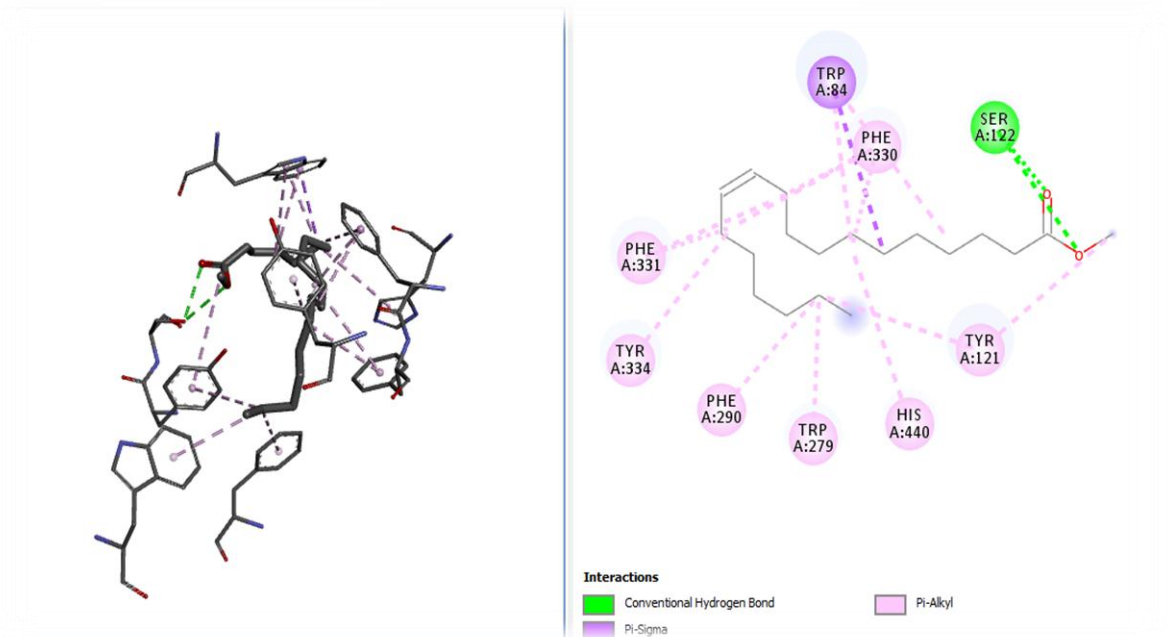
Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	70A	TYR	3.36	4266	534
2	84A	TRP	3.90	4274	640
3	84A	TRP	3.64	4272	643
4	84A	TRP	3.70	4271	641
5	279A	TRP	3.60	4264	2165
6	279A	TRP	3.94	4260	2167
7	290A	PHE	3.58	4260	2261
8	330A	PHE	3.71	4269	2570
9	330A	PHE	3.62	4270	2571
10	330A	PHE	3.66	4256	2568
11	331A	PHE	3.75	4256	2582
12	334A	TYR	3.70	4267	2609
13	334A	TYR	3.73	4257	2605

▼ **Hydrogen Bonds** —

Index	Residue	AA	Distance H-A	Distance D-A	Donor Angle	Protein donor?	Side chain	Donor Atom	Acceptor Atom
1	121A	TYR	2.72	3.06	102.79	✓	✓	952 [O3]	4276 [O2]
2	122A	SER	3.43	3.85	108.42	✓	✓	958 [O3]	4276 [O2]



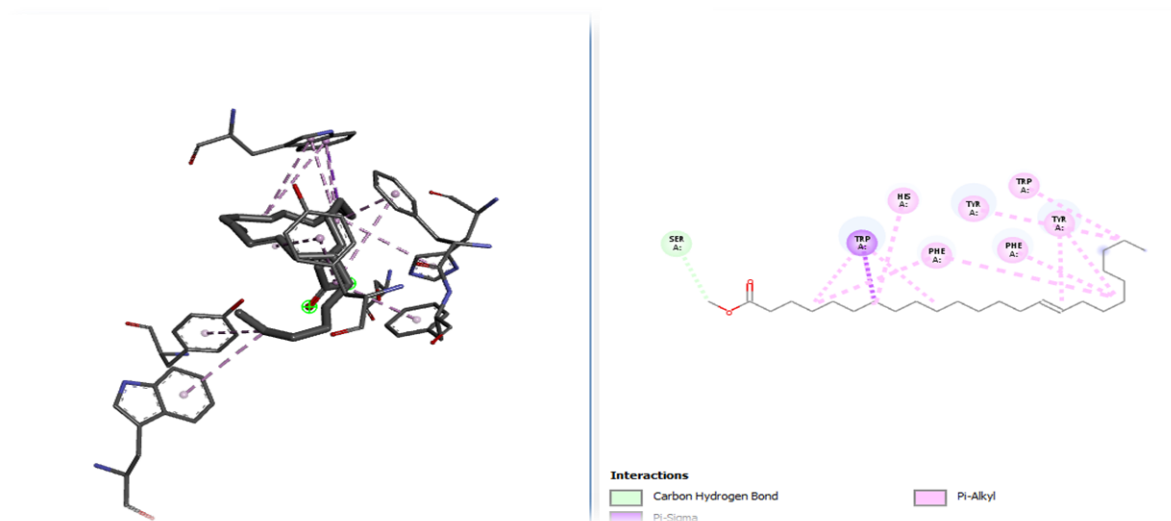
- **11-Octadecenoic acid, methyl ester**



▼ **Hydrophobic Interactions** ....

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84A	TRP	3.45	4262	640
2	84A	TRP	3.61	4260	646
3	84A	TRP	3.67	4256	641
4	84A	TRP	3.82	4258	648
5	279A	TRP	3.67	4276	2167
6	290A	PHE	3.74	4275	2261
7	330A	PHE	3.55	4256	2571
8	330A	PHE	3.46	4270	2568
9	330A	PHE	3.82	4269	2567
10	330A	PHE	3.61	4268	2569
11	331A	PHE	3.74	4272	2580
12	331A	PHE	3.66	4269	2582
13	334A	TYR	3.79	4273	2604
14	334A	TYR	3.70	4271	2605

- 15-Tetracosenoic acid, methyl ester



Hydrophobic Interactions \*\*\*\*

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	70A	TYR	3.88	4282	534
2	84A	TRP	3.63	4270	640
3	84A	TRP	3.53	4258	646
4	84A	TRP	3.62	4262	643
5	84A	TRP	3.57	4260	648
6	279A	TRP	3.86	4281	2167
7	330A	PHE	3.55	4276	2568
8	330A	PHE	3.54	4262	2571
9	331A	PHE	3.66	4278	2580
10	334A	TYR	3.53	4275	2609
11	334A	TYR	3.66	4279	2604
12	334A	TYR	3.60	4276	2606

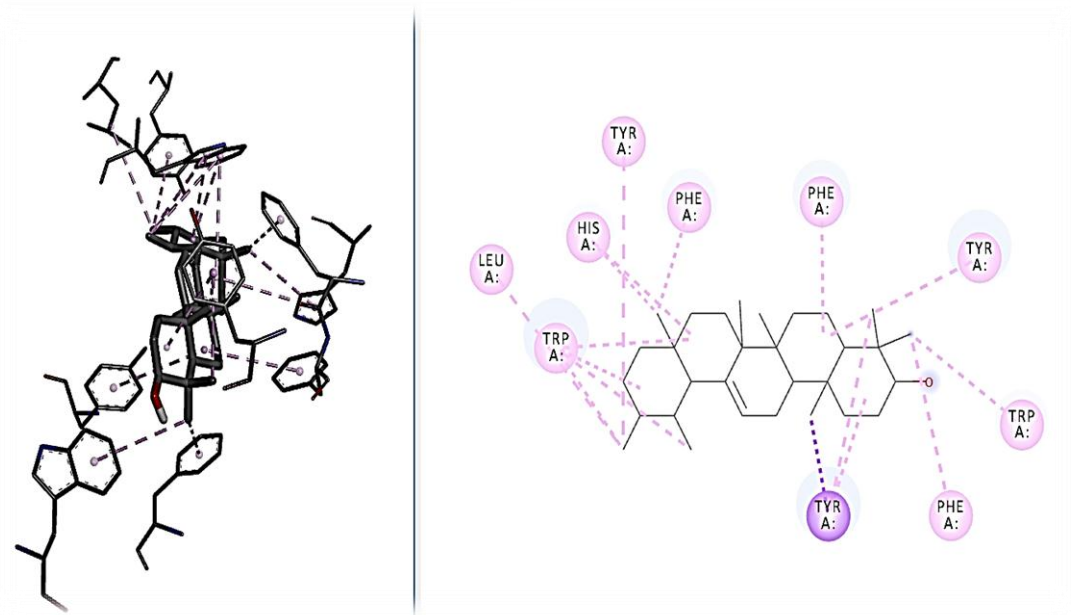
Hydrogen Bonds —

Index	Residue	AA	Distance H-A	Distance D-A	Donor Angle	Protein donor?	Side chain	Donor Atom	Acceptor Atom
1	121A	TYR	2.92	3.69	140.17	✓	✓	952 [O3]	4267 [O2]

Salt Bridges \*\*\*\*

Index	Residue	AA	Distance	Protein positive?	Ligand Group	Ligand Atoms
1	440A	HIS	5.39	✓	Carboxylate	4267, 4268

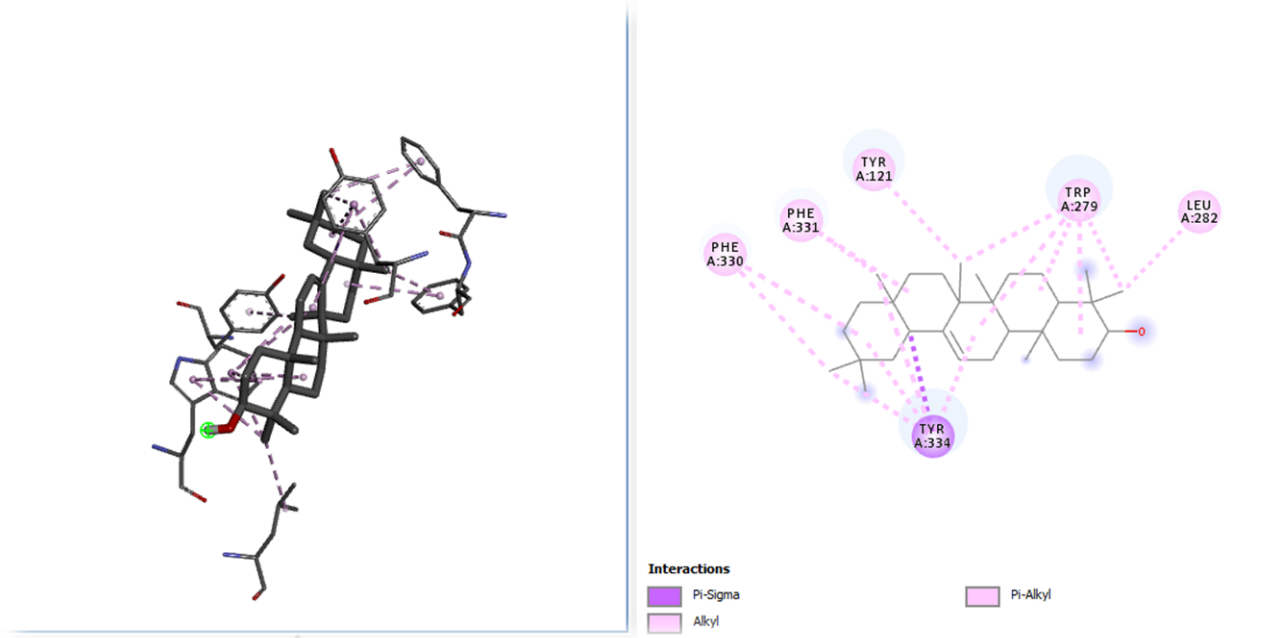
- **a-amyrin**



▼ Hydrophobic Interactions \*\*\*\*

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84A	TRP	3.00	4284	640
2	84A	TRP	3.05	4279	646
3	84A	TRP	3.91	4263	643
4	84A	TRP	3.57	4278	648
5	121A	TYR	3.65	4276	950
6	290A	PHE	3.82	4264	2261
7	330A	PHE	3.93	4271	2567
8	331A	PHE	3.01	4264	2582
9	334A	TYR	3.37	4277	2607
10	334A	TYR	3.37	4275	2605
11	334A	TYR	3.14	4282	2604

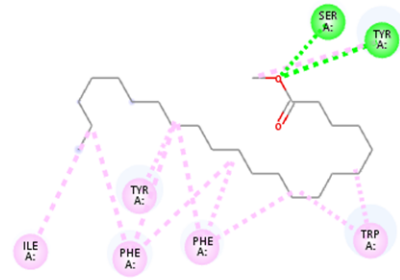
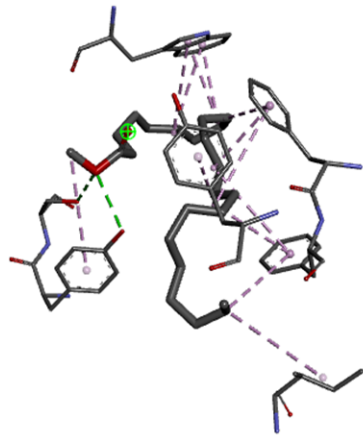
- **b-amyrin**



▼ Hydrophobic Interactions \*\*\*\*

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	279A	TRP	2.97	4275	2167
2	279A	TRP	3.61	4261	2166
3	282A	LEU	3.25	4282	2189
4	290A	PHE	3.70	4267	2261
5	331A	PHE	3.39	4283	2580
6	334A	TYR	2.72	4272	2607
7	334A	TYR	3.79	4285	2609

- **Behenicacid, methyl ester**



**Interactions**

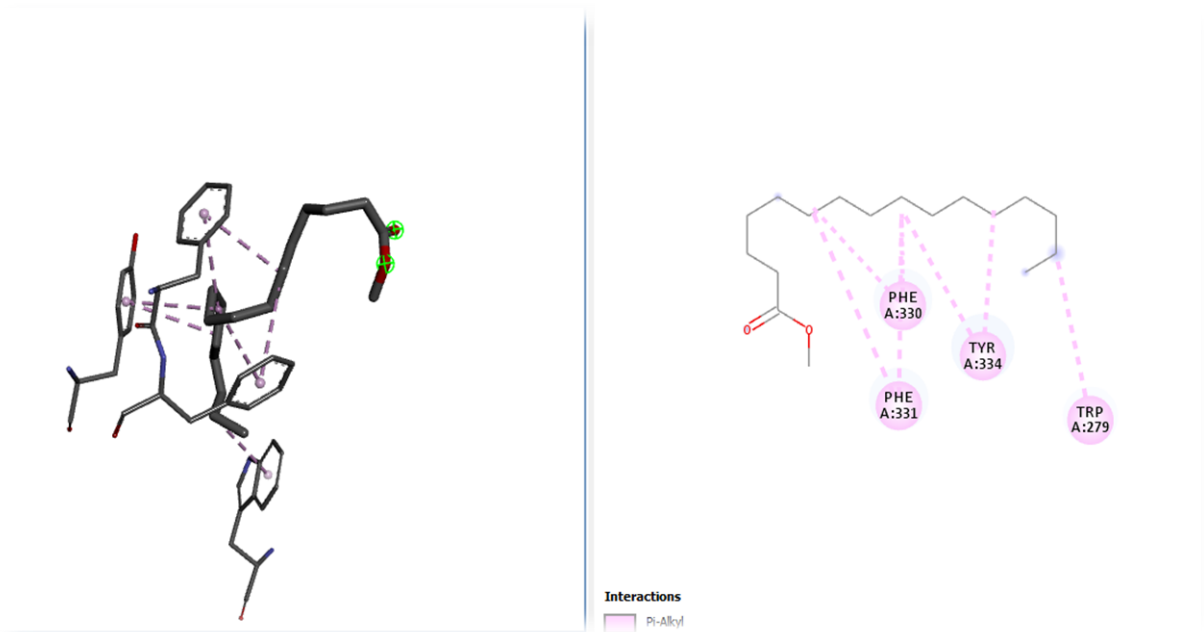
■ Conventional Hydrogen Bond  
■ Alkyl

■ Pi-Alkyl

▼ **Hydrophobic Interactions** .....

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84A	TRP	3.31	4274	640
2	84A	TRP	3.58	4272	646
3	84A	TRP	3.61	4256	641
4	84A	TRP	3.95	4270	648
5	84A	TRP	3.92	4269	643
6	290A	PHE	3.73	4265	2261
7	330A	PHE	3.97	4258	2569
8	330A	PHE	3.56	4269	2571
9	330A	PHE	3.57	4260	2568
10	331A	PHE	3.59	4259	2582
11	334A	TYR	3.60	4262	2607
12	334A	TYR	3.75	4268	2604
13	334A	TYR	3.76	4261	2605

- hexadecanoic acid



▼ Hydrophobic Interactions ....

Index	Residue	AA	Distance	Ligand Atom	Protein Atom
1	84A	TRP	3.61	4268	643
2	84A	TRP	3.93	4270	648
3	290A	PHE	3.73	4265	2261
4	330A	PHE	3.71	4268	2571
5	330A	PHE	3.76	4258	2568
6	330A	PHE	3.65	4266	2569
7	330A	PHE	3.57	4257	2567
8	331A	PHE	3.49	4257	2582
9	334A	TYR	3.60	4261	2607
10	334A	TYR	3.67	4260	2609
11	334A	TYR	3.64	4259	2608
12	334A	TYR	3.64	4258	2606

## **Abstract**

Alzheimer's disease is a degenerative disease and a type of dementia that causes problems with memory, thinking and behavior.

In this manuscript, we are focused on the treatment of Alzheimer's based on the inhibition of acetylcholinesterase as an enzyme involved in the regulation of the transmission of nerve impulses by ensuring the rapid hydrolysis of the acetylcholine. For this, the molecular docking technique was applied to predict the mode of interactions between molecules from the plant *Lipidum Sativum* and AChE.

Of these molecules, only alpha amyryn exhibited interaction energy similar to the drug Aricept (Donepezyl). This molecule is incorporated into the active site of the enzyme via hydrophobic interactions. The amino acid His 440 was seen as the residue that formed the most interactions.

**Keywords:** Docking, Alzheimer's, Acetylcholinesterase, Alpha amyryn, Lipidum Sativum, Donepezil, Interactions Protein ligand.

## المُلخَص:

مرض الزهايمر هو مرض تنكسي ونوع من الخرف يسبب مشاكل في الذاكرة والتفكير والسلوك في هذه المخطوطة ، نركز على علاج مرض الزهايمر على أساس تثبيط أستيل كولينستراز باعتباره إنزيمًا يشارك في تنظيم انتقال النبضات العصبية عن طريق ضمان التحلل المائي السريع للأستيل كولين

لهذا تم تطبيق تقنية الالتحام الجزيئي للتنبؤ بطريقة التفاعلات بين الجزيئات من النبات حب الرشاد و إنزيم الاستيل كولين استراز

من بين هذه الجزيئات، أظهر ألفا أميرين طاقة تفاعل مماثلة لعقار Aricept (Donepezyl).

يتم دمج هذا الجزيء في الموقع النشط للإنزيم عبر التفاعلات الكارهة للماء. يُنظر إلى الحمض الأميني His 440 على أنه البقايا التي شكلت معظم التفاعلات.

الكلمات الرئيسية: الإرساء ، الزهايمر ، أستيل كولينستراز ، ألفا أميرين ، ليبيدويم ساتيفوم ، Donepezil ، التفاعلات بروتين مادة تفاعل



## Résumé

La maladie d'Alzheimer est une maladie dégénérative et un type de démence qui provoque des troubles de la mémoire, de la pensée et du comportement.

Dans ce manuscrit, nous sommes focalisés sur le traitement d'Alzheimer basé sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase en tant qu'est un enzyme impliquée sur la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine. Pour cela, la technique du docking moléculaire à été appliquée afin de prédire le mode d'interactions entre les molécules issue de la plante *Lipidum Sativum* et l'AChE.

Parmis ces molécules, seule la alpha amyryn a présenté une énergie d'interactions similaire au médicament Aricept (Donepezyl). Cette molécule s'incorpore au sein du site actif de l'enzyme via des interactions hydrophobiques. L acide aminé His 440 a été observé comme le résidu ayant formé plus d'interactions.

**Mots clés :** Docking, Alzheimer, Acétylcholinestérase, Alpha amyryn, *Lipidum Sativum*,

Donepezil, Interactions Protéine ligand.

Présenté par : **KARBOUA LAOUAR Amina**  
**KERROUCHI Roumeissa**

Date de Soutenance : 23/09/2021

**Intitulé : Docking moléculaire in silico et propriétés ADMET de certains composants d'huile de graines de *Lepidum Sativum* contre l'Acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer**

**Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du Diplôme de Master en Bioinformatique**

**Résumé:**

La maladie d'Alzheimer est une maladie dégénérative et un type de démence qui provoque des troubles de la mémoire, de la pensée et du comportement.

Dans ce manuscrit, nous sommes focalisés sur le traitement d'Alzheimer basé sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase en tant qu'est un enzyme impliquée sur la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine. Pour cela, la technique du docking moléculaire à été appliquée afin de prédire le mode d'interactions entre les molécules issue de la plante *Lepidum Sativum* et l'ACHé.

Parmis ces molécules, seule le alpha amyryn a présenté une énergie d'interactions similaire au médicament Aricept (Donepezyl). Cette molécule s'incorpore au sein du site actif de l'enzyme via des interactions hydrophobiques. L acide aminé His 440 a été observé comme le résidu ayant formé plus d'interactions.

**Mots clés : Docking, Alzheimer, Acétylcholinestérase, Alpha amyryn, *Lepidum Sativum*, Donepezyl , Interactions Protéine ligand.**

**Devant le jury :**

**Président : Mr. BELKHIRI Lotfi Pr. UFM Constantine 1**

**Promoteur : Dr. KRID Adel Pr. UFM Constantine 1**

**Examineur : Dr. MENACER Rafik Pr. UFM Constantine**

**Année Universitaire 2020/2021**

