



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجية الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Etude *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour le
traitement de la maladie d'Alzheimer.

Présenté et soutenu publiquement par :

Le : 29/ 09 / 2020

- MERAIHIA Amira Djihane
- ZERMANE Chourouk

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. CHIKHI A.

Professeur - UFM Constantine.

Rapporteur : BENSEGUENI A.

Professeur - UFM Constantine.

Examineur : Mr. MOKRANI E.H.

Maître Assistant A - UFM Constantine.

Année universitaire

2019/2020

«Remerciement»

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Le temps passe très vite, cinq ans déjà passé, dans le bloc des sciences entre les amphis, les laboratoires. Nous ont permis de grandir et de nous nous épanouir sur le plan scientifique, intellectuel et personnel.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadreur le professeur *BENSEGUENI .A* . Nous le remercions chaleureusement pour nous avoir judicieusement orienté a réalisé le présent travail. Nous n'oublierons jamais la confiance et la sympathie qu'il a manifestée à notre égard.

Nous adressons nos vif respect et remerciements à *Mr. CHIKHI A.* professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine 1 .Nous sommes très Honoré de l'avoir comme président du jury de notre mémoire.

Et nous tenons à adresser notre profonde gratitude et notre grande reconnaissance à Mr MOKRANI EH. Maitre-assistant 'A' à Université des Frères Mentouri Constantine pour sa patience et ces nombreux conseils pour mener a bien la partie pratique de ce travail malgré ses nombreuses occupations. Nous le remercions vivement d'avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie du Jury de soutenance.

Enfin, nous adresserons nos plus sincères remerciements à Nos chers parents. Nos vives considérations vont à l'ensemble de nos enseignants, à toute l'administration ainsi que tout le corps technique et administratif de la faculté Science de la Nature et de la Vie.



Dédicace Amira Djihane

Je dédis ce modeste travail

A mes très chers parents **Djamel** et **Saida** source d'amour et d'affection

A mes chères sœurs **Wafa** et **Chiraz**

A mes très chers frères **Ahmed** et **Amine**

A toute ma famille source d'espoir et de motivation

A toutes mes copines **Hala**, **Hadjer**, **Karima**, **Kenza** et **Imen** qui m'ont toujours
encouragé et cru en moi

A mon adorable binôme **Chourouk**

A mon encadreur le professeur **BENSEGUENI.A**

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux allégués, et le fruit de votre soutien
infaillible.

Merci d'être toujours la pour moi.....





Dédicace Chourouk

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie ce travail à :

Mes parents qui m'ont toujours encouragé dans la poursuite de mes études, ainsi que pour leur aide, leur compréhension et leur soutien.

A la reine de la famille ***Salima***

A qui je dois la réussite pour l'éducation qu'elle m'a prodigué, Tu es mon réconfort et ma certitude. Mon guide dans l'existence. Un compagnon de vie si sage depuis ma naissance. A celle qui m'a toujours procuré de la douceur et de l'amour. Tu es une merveilleuse mère et une femme extraordinaire. J'ai de la chance d'avoir une mère comme toi. Merci d'être plus forte que tout.

À mon superbe père **Abdelghani**

Qui n'a jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, pour son soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études. J'espère te rendre fier par ce mémoire.

A mes adorables sœurs **Houda et Malak**

Houda, Merci de me suivre et de m'encourager au cours des années. Tu me fais toujours sentir que tu es derrière moi et que tu crois en moi. ton support fait une grande différence dans ma vie chère médecin.

Malak, ma petite sœur adorée. la douce au cœur j'aimerais te remercier d'être la plus aimante et attentionnée du monde. Personne ne me comprend mieux que toi.

Puisse dieu vous garde, éclairer votre route et vous aider à réaliser vos vœux les plus chères.

A ma grand mère chérie **Menouba**

Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie pleine de bonheur et santé dans les deux vies.

A la mémoire de **Mes Grand-pères et ma grande mère**

J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que dieu ait vos âmes, sa sainte miséricorde.

A mes chers **oncles, tantes, a mes chers cousins, cousines**

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond, et mon affection la plus sincère.

À mon binôme **DjiDji**

à celle qui a cru en moi et m'a toujours encouragé et qui n'a jamais cessé de me soutenir tout le long de ce travail. Un grand MERCI.

A mes **amies** que j'ai vécu avec eux des beaux moments au cours de mon cursus à l'université: Roumeissa , Yousra, Ghada ,Nawel , Bouteina ,Kaouter,Aymen,Bassem ,Skander,Tayeb.

A tous mes **collègues** de la promotion de biochimie appliquée 2020.



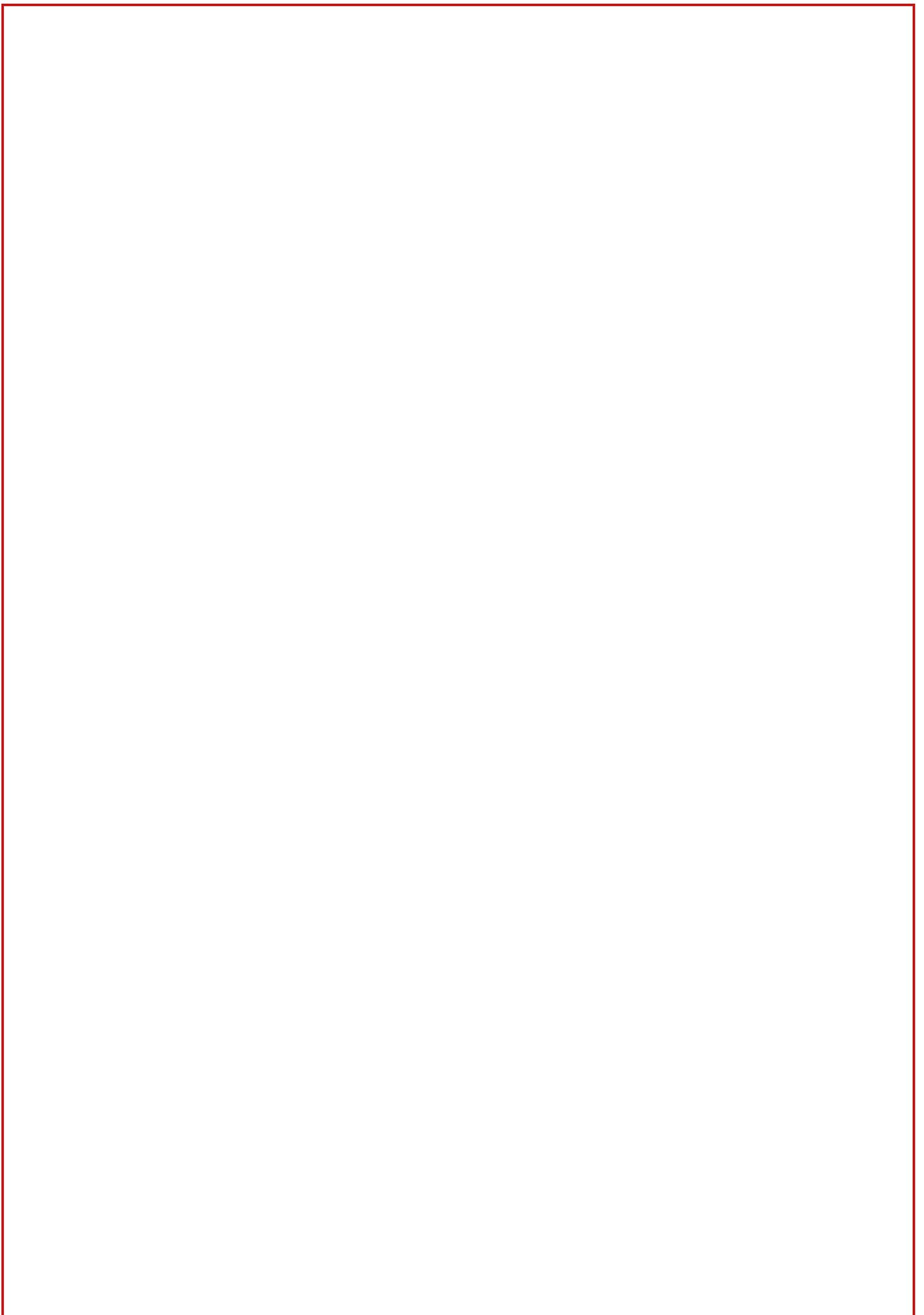


Table des matières

Introduction	1
--------------------	---

Partie théorique

Chapitre 1 : LA MALADIE D'ALZHEIMER

1. Définition	3
2. Prévalence et incidence	3
3. Les causes.....	4
4. Mécanisme physiopathologique	5
5. Symptômes de la maladie d'Alzheimer	6
5.1 Une perte de la mémoire.....	6
5.2 Une désorientation spatio-temporelle.....	6
5.3 Des troubles du comportement	6
5.4 Une altération du langage.....	7
5.5 Difficultés dans la réalisation d'action de la vie courante	7
5.6 Perte d'objets	7
5.7 Changement de personnalité.....	7
6. Les facteurs de risque de l'Alzheimer	7
6.1 L'âge.....	7
6.2 Les antécédents familiaux et la génétique	7
6.3 Le sexe	7
6.4 Les maladies cardiovasculaires	8
6.5 Le diabète.....	8
6.6 Le syndrome de Down	8
6.7 La déficience cognitive légère(DCL).....	8
6.8 Les habitudes alimentaires	9

6.9 Le niveau de scolarité	9
6.10 D'autres facteurs	9
6.11 Le tabagisme et obésité et certains médicaments	9
7. Le diagnostic	10
8. Pronostic.....	10
9. Traitements médicamenteux et comportementaux.....	10

Chapitre 2 :L'ACETYLCHOLINESTERASE ET SES INHIBITEURS

1. Introduction	13
2. Structure de l'AChE	12
3. Le site actif et la triade catalytique	12
4. Mécanisme catalytique.....	13
5. Implication de l'AChE dans la maladie d'Alzheimer	14
6. les inhibiteurs de L'acétylcholinestérase	15
6.1I nhibiteurs irréversibles	15
6.2 Les inhibiteurs réversibles.....	15
6.2.1 Tacrine(Cognex)	15
6.2.2 Donépézil(Aricept)	16
6.2.3 Galantamine(Reminyl).....	16
6.2.4 Huperzine	17
6.2.5 Rivastigmine(Exelon®)	17
6.2.6 Lesmonoterpènes.....	18

Chapitre 3 : LE DOCKING MOLCULAIRE

1. Introduction	20
2. Principe dedocking	20
3. Outils du docking moléculaire.....	21
3.1. Le récepteur	21
3.2. Les ligands.....	21

3.3. Programmes (Logiciels)	21
4. Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité.....	23
4.1 Algorithme de fragmentation/reconstruction.....	23
4.2.Simulation par trajectoire	24
5. Programme utilisé: AutoDock.....	24

Partie pratique

Chapitre 4 : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel.....	25
1.1. Microordinateur	25
1.2. Le réseau WEB	25
1.3. Banques de données	25
1.3.1.PDB (Protein Data Bank).....	25
1.3.2.Pubchem.....	26
1.4 Programmes utilisés	26
1.4.1 Titan.....	26
1.4.2 VMD (VisualMolecularDynamics)	27
1.4.3 AutoDock.....	27
1.4.4 Biovia Discoverystudiovisualizer	28
1.4.5 OpenBabel.....	28
1.5. ExcelMicrosoft2010.....	29
1.6. SwissADME	29
1.7. PreADMET	29
2. Méthodes.....	30
2.1. Le Choix de la protéine (la cible)	30
2.2. Préparation de la cible	31
2.3. Préparation des ligands	31
2.4. Calcul des grilles potentiel.....	31

2.5. La recherche des solutions d'amarrage	32
2.6. Analyse des résultats	33
2.7. Les tests de fiabilité du programme de docking	33
2.7.1 Le test RMSD.....	33
2.7.2 L'analyse visuelle.....	33
2.7.3 Le coefficient de corrélation	33
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de L'AChE.....	34
3.1. Criblage virtuel d'une collection de similaires	34
3.2. Modification par substitution.....	34
4. Les propriétés ADMET	34
4.1. Propriétés physico-chimiques.....	35
4.1.1 La règle de Lipinski.....	35
4.1.2 La règle de Veber	35
4.1.3 La solubilité dans l'eau	35
4.1.4 Accessibilité à la synthèse	35
4.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	36
4.2.1. L'absorption gastro-intestinale	36
4.2.2 LA BBB perméabilité	36
4.2.3 Inhibition de CYP450.....	36
4.3. Les tests de toxicité.....	36
4.3.1 Le test d'AMES	36
4.3.2. Le test de la cancérogénicité pour les souris et les rats.....	37
4.3.3. Le test de hERG inhibition.....	37
4.3.4 Les tests de toxicité aigue.....	37

Chapitre 5 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Tests de fiabilité du programme de docking.....	39
1.1 Le test RMSD (Root Mean Square Deviation)	39

1.2. L'analyse visuelle	40
1.3. Le coefficient de corrélation(r).....	41
1.4. Conclusion.....	43
2. Inhibition de l'AChE par divers inhibiteur.....	43
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'AChE	44
3.1. Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques.....	44
3.2. Substitution du composé X23.....	45
3.2.1 Mono-substitution	46
3.2.1 Bi-substitution	48
4. L'évaluation des propriétés ADMET	50
4.1. Propriétés physico-chimiques	50
4.2. Propriétés pharmacocinétiques.....	51
4.3. Les tests de toxicité.....	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	54

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Listes des figures

- ❖ **Figure N°1**: Comparaison d'un cerveau normal âgé (gauche) et du cerveau d'un patient atteint d'une maladie d'Alzheimer (droite).....3
- ❖ **Figure N°2** : Mécanismes pathologiques. .5
- ❖ **Figure N°3** : Hydrolyse de L'acétylcholine par acétylcholinestérase..... 11
- ❖ **Figure N°4** : Structure tridimensionnelle de l'Acétylcholinestérase12
- ❖ **Figure N°5** : Vue détaillée du site actif de l'AChE 13
- ❖ **Figure N°6** : Mécanisme général d'hydrolyse par une sérine hydrolase14
- ❖ **Figure N°7** : Structure chimique de la Tacrine 16
- ❖ **Figure N°8** : Structure chimique de la Donépézil16
- ❖ **Figure N°9** : Structure chimique de la Galantamine17
- ❖ **Figure N°10** : Structure chimique du Huperzine..... 17
- ❖ **Figure N°11** : Structure chimique de la Rivastigmine18
- ❖ **Figure N°12** : Unité d'isoprène..... 18
- ❖ **Figure N°13** : Structures des Monoterpènes connus19
- ❖ **Figure N°14** : Principe générale d'un programme de docking..... 20
- ❖ **Figure N°15** : Comparaison des programmes de docking les plus cités22
- ❖ **Figure N°16** : Modèle clé-serrure..... 23
- ❖ **Figure N°17** : Interface d'accueil duPDB 25
- ❖ **Figure N°18** :L'interface d'accueil du PubChem.....26
- ❖ **Figure N°19** :L'interface graphique du Titan version (1.0.1)..... 26
- ❖ **Figure N°20** :L'interface graphique du VMD Version (1.9.2) 27
- ❖ **Figure N°21**:L'interface graphique AutoDockTools.....27
- ❖ **Figure N°22** :L'interface graphique de DiscoverystudioVisualizer28
- ❖ **Figure N°23** :L'interface de logiciel OpenBabel Version (2.0.2)..... 28
- ❖ **Figure N°24** :Le logiciel Excel..... 29
- ❖ **FigureN°25**:L'interface graphique de SwissADME..... 29
- ❖ **Figure N°26** :L'interface graphique PreADMET30
- ❖ **Figure N°27**:Positionnement de la boîte dans le site actif de 4M0E avec ses

coordonnées et ses dimensions	32
❖ Figure N°28 : Les différentes fonctions ajoutées	34
❖ Figure N°29 : Schéma explicatif de test d'Ames	37
❖ Figure N°30 : Résultats en pourcentage des valeurs de RMSD obtenus par «AutoDock».....	39
❖ Figure N°31 : Superposition des trois ligands des complexes (3GHU , 2ZVG , 2AID) et ceux calculés par docking moléculaire avec Autodock.....	40
❖ Figure N°32 : Courbe de régression linéaire entre les valeurs de LogIC50 et les énergies d'interactions des inhibiteurs étudiés	42
❖ Figure N°33 : Mode d'interaction du composé 45 dans le site actif de l'AChE.....	43
❖ Figure N°34 : Diagrammes à deux dimensions (2D) des interactions AChE-composé 45	44
❖ Figure N°35 : Mode d'interaction du composé X23 dans le site actif de l'AChE.....	45
❖ Figure N°36 : Diagrammes à deux dimensions (2D) des interactions AChE-composé X23	45
❖ Figure N°37 : Représentation des radicaux R1, R2 et R3 dans la structure de base du composé X23	46
❖ Figure N°38 : Mode d'interaction du composé M32 dans le site actif de l'AChE.....	48
❖ Figure N°39 : Diagrammes à deux dimensions (2D) des interactions AChE-composé M32	48

Liste des tableaux

❖ <u>Tableau N°1</u> : les Principaux programmes de docking moléculaire.....	22
❖ <u>Tableau N°2</u> : Code PDB des complexes AChE humaine/Inhibiteur avec leur résolution	30
❖ <u>Tableau N°3</u> : différents valeurs de RMSD et ses descriptions.....	40
❖ <u>Tableau N°4</u> : Energie d'interaction, IC50 ainsi que les valeurs de Log IC50 des 46 inhibiteurs de l'AChE étudiés.....	41
❖ <u>Tableau N°5</u> : Structure et énergie d'interaction des 45 composés issus de la mono- substitution	46
❖ <u>Tableau N°6</u> : Structure et énergie d'interaction des 30 composés issus de la bi- substitution	49
❖ <u>Tableau N°7</u> : Comparaison des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques du M32 , M68 et M78 ainsi que le Donépezil	50
❖ <u>Tableau N°8</u> : Le profil ADME relative des composés candidats obtenus à partir de serveur swissADME.....	50
❖ <u>Tableau N°9</u> : Le profil ADME relative des composés candidats obtenus a partir de serveur SwissADME	52
❖ <u>Tableau N°10</u> : Le profil de toxicité relative des composés candidats obtenus a partie de serveur PreADMET	53

Liste des abréviations

- ❖ **2D**: Deux dimensions.
- ❖ **3D**: Trois dimensions.
- ❖ **ΔG** : Energies d'interaction.
- ❖ **Å** : Angström.
- ❖ **ACh**: Acétylcholine.
- ❖ **AChE**: Acétylcholinestérase.
- ❖ **ADMET** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité.
- ❖ **ADT** : AutoDockTools.
- ❖ **AGL** : Algorithme Génétique Lamarkien.
- ❖ **AVC**: Accident Vasculaire Cérébral.
- ❖ **BBB** : Barrière hémato-encéphalique.
- ❖ **BChE**: Butyrylcholinestérase.
- ❖ **CYP 450** : CytochromeP450.
- ❖ **Da** : Dalton.
- ❖ **DCL** : Déficience Cognitive Légère.
- ❖ **Dlg**: Docking Log file.
- ❖ **Dpf**: Dock Parameters File.
- ❖ **ERO** : espèce réactif de l'oxygène.
- ❖ **FFMA** : Forme Familial de la Maladie d'Alzheimer.
- ❖ **GI absorption** : Absorption gastro-intestinale.
- ❖ **Glg**: Grid Logfile.
- ❖ **Gpf**: Grid Parameters File.
- ❖ **Go** : Giga byte.
- ❖ **hERG**: human Ether-à-go-go-Related Gene.
- ❖ **IC50** : Inhibitory Concentration50.
- ❖ **Kcal** : Kilo calorie.
- ❖ **LogP**: Coefficient de Partition octanol/eau.
- ❖ **L** : Litre.
- ❖ **Mg** : Milligramme.
- ❖ **μM** : Micro Molaire.
- ❖ **n.LF**: Nombre de Liaison Flexible.
- ❖ **n.OHNH**: Nombre de donneur d'Hydrogène.
- ❖ **n.ON**: Nombre d'Accepteur d'Hydrogène.
- ❖ **OMS**: Organisation Mondiale de la Santé.
- ❖ **PDB** : Protein Data Bank (banque de donnée protéique).
- ❖ **PM** : Poids Moléculaire.
- ❖ **PPM** : Partie Par Million.
- ❖ **r**: Coefficient de corrélation linéaire.
- ❖ **RMSD** : Root Mean Square Deviation.
- ❖ **SNC** : Système Nerveux Central.
- ❖ **Sp**: Domaine d'espace.

- ❖ **TPSA** : Surface Polaire Topologique.
- ❖ **TS** :Thrombospondine.
- ❖ **UCSF** : Université de Californie à San Francisco.
- ❖ **VMD**: Visual Molecular Dynamics.

➤ **Liste d'acides aminés**

- ❖ **Ala** : Alanine.
- ❖ **Asp**: Asparagine.
- ❖ **Leu** : Leucine.
- ❖ **Gly** : Glycine.
- ❖ **Glu** : Glutamine.
- ❖ **His** : Histidine.
- ❖ **Trp** : Tryptophane.
- ❖ **Try** : Trypsine.
- ❖ **Phe** : Phénylalanine.
- ❖ **Ser** : Sérine.



PARTIE THEORIQUE





INTRODUCTION



La conception d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux. Le temps nécessaire à la découverte d'un nouveau médicament est estimé, en moyenne, entre 12 et 14 ans avec un coût moyen allant de 800 millions jusqu'à 1 milliard de dollars. [1]

Avec le développement de l'outil informatique, des méthodes de modélisation moléculaire *in silico*, telle que le docking moléculaire, ont pris une place capitale dans le processus du *drug design*. En effet, cette approche consiste à rechercher le mode d'interaction le plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur, ce qui est plus facile à mettre en œuvre, plus rapide pour un coût bien moindre que les méthodes expérimentales classiques. [2]

La conception d'un nouveau médicament pour traiter la maladie d'Alzheimer (MA) reste encore d'actualité. La maladie d'Alzheimer (MA) occupe aujourd'hui une place de plus en plus grandissante au sein de notre société. Ceci est notamment imputé au vieillissement de la population dans la mesure où le risque de développer cette pathologie augmente avec l'avancée dans l'âge. La maladie d'Alzheimer (MA) est la principale maladie neurodégénérative associée à l'âge et la sixième cause de décès. [3]

De nombreuses études indiquent que les lésions engendrées lors de la maladie d'Alzheimer touchent principalement les voies cholinergiques. Il en résulte une diminution parfois massive des taux de neurotransmetteurs circulant dans le cerveau. Le déficit en acétylcholine peut atteindre jusqu'à 90% dans les stades sévères de la maladie et concerne le néocortex, l'hippocampe, le noyau basal de Meynert, le striatum et le thalamus. [4]

Pour compenser le déficit en Acétylcholine, les médecins font habituellement appel aux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Ces molécules empêchant la dégradation de l'acétylcholine au niveau de la fente synaptique ont montré leur efficacité en soulageant quelques symptômes liés à la maladie d'Alzheimer [5], il n'existe aucun traitement guérissant la maladie d'Alzheimer, ni même permettant d'arrêter son évolution (les pertes de mémoires, les problèmes de langage et de raisonnement). Trouver un traitement curatif est devenu primordial. Il existe déjà des médicaments qui ont été créés pour retarder sa progression mais leur efficacité reste limitée.

Dans le présent travail, nous avons utilisé le programme AutoDock afin d'étudier par docking moléculaire, les mécanismes d'inhibition de l'AChE et ce dans la perspective de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de cette enzyme. Dans ce but, nous avons tenté, au préalable, de tester la fiabilité du programme AutoDock au moyen de trois tests. Le premier test consiste à calculer la déviation en angströms ou RMSD, entre la pose du ligand conçue par le logiciel et celle déterminée expérimentalement. Le deuxième test nous a permis d'avoir une

meilleure appréciation des résultats de RMSD obtenus avec AutoDock et ce par analyse visuelle. Le dernier test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les scores théoriques du docking des molécules retenues dans cette étude et les valeurs expérimentales de leurs IC50.

Dans une deuxième partie, nous nous sommes attachés à mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de l'AChE par plusieurs inhibiteurs provenant de la littérature en faisant appel au docking moléculaire. L'inhibiteur le plus puissant nous servira, dans une troisième partie, comme structure de départ pour la conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs encore plus puissants et sélectifs vis-à-vis de l'AChE. Enfin, l'utilisation des serveurs SwissADME et PreADMET nous permettra de se renseigner sur les propriétés d'absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité (ADMET) des composés nouvellement proposés.

Le présent manuscrit est divisé en deux grandes parties ; une partie théorique composée de trois chapitres, où le premier comprend des généralités sur la maladie de l'Alzheimer. Dans le deuxième chapitre, une importance particulière sera accordée à l'AChE ainsi que ses inhibiteurs. Le troisième chapitre traitera le docking moléculaire et ces outils dans l'étude des interactions protéine- ligand. Concernant la partie pratique, les différents matériels et méthodes utilisés dans notre étude seront détaillés dans un quatrième chapitre.

Dans le dernier chapitre, nous exposerons l'essentiel de nos résultats avec une discussion. Ce travail sera clôturé par une conclusion et quelques perspectives.



Chapitre 1

LA MALADIE D'ALZHEIMER



1. Définition

La maladie d'Alzheimer est une pathologie neurodégénérative incurable, découverte en 1906 par le docteur Alois Alzheimer. Elle se caractérise par une perte progressive des cellules nerveuses. De plus, on observe un déficit de la production de neurotransmetteurs, responsables des échanges d'informations entre ces cellules. Ceci amène à une diminution progressive des fonctions cérébrales, telles que le langage, la planification, les capacités pratiques ainsi que l'orientation dans le temps et l'espace [6].

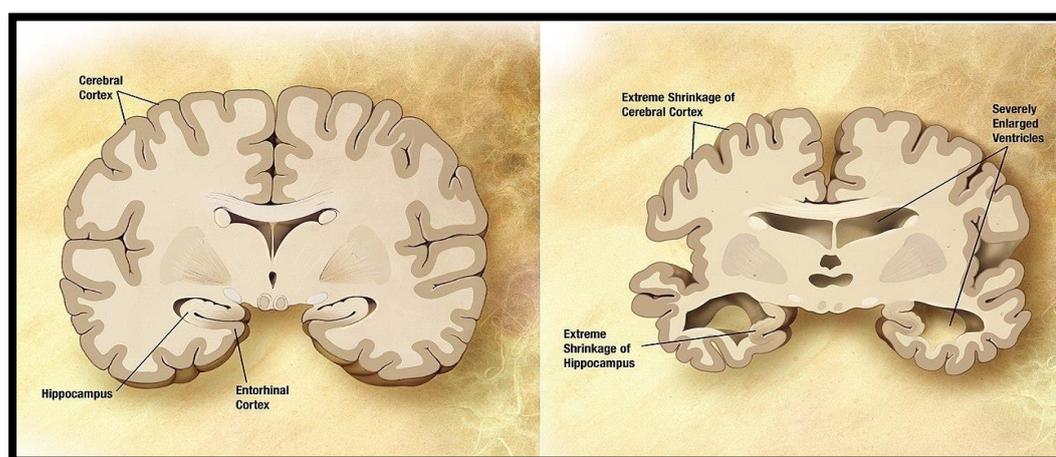


Figure N°1 : Comparaison d'un cerveau normal âgé (gauche) et du cerveau d'un patient atteint d'une maladie d'Alzheimer (droite).

2. Prévalence et incidence

Les données existantes concernent principalement les démences toutes confondues.

C'est pourquoi nous avons séparé les données épidémiologiques propres à la maladie d'Alzheimer.

➤ La démence

La démence est un syndrome dans lequel on observe une dégradation de la mémoire, du raisonnement, du comportement et de l'aptitude à réaliser les activités quotidiennes [7]. L'OMS estime que 5 à 8% des personnes âgées de plus de 60 ans sont touchées par une démence au niveau mondial. On compte 50 millions de personnes atteintes de démence dans le monde et il apparaît chaque année près de 10 millions de nouveaux cas [7].

➤ Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est la plus fréquente des maladies neurodégénératives [8].

Elle représente 60 à 70% des cas de démences au sein de la population mondiale [7].

3. Les Causes

Les causes de la maladie d'Alzheimer sont aujourd'hui mal connues. Cependant, deux types de lésions cérébrales permettent de diagnostiquer la maladie d'Alzheimer : il s'agit des plaques amyloïdes, qui sont associées au peptide bêta-amyloïde, ainsi que les dégénérescences neurofibrillaires, associées à la protéine Tau phosphorylée [9].

Le peptide bêta-amyloïde est présent naturellement dans le cerveau. Il peut cependant s'accumuler suite à l'influence de certains facteurs génétiques et environnementaux, formant alors les plaques amyloïdes (ou plaques séniles). Cette accumulation peptidique anormale induirait une toxicité sur les cellules nerveuses, ainsi qu'une augmentation de la phosphorylation de la protéine Tau (protéine structurale des neurones). Une dégénérescence neurofibrillaire survient et entraîne à terme la mort des cellules nerveuses [10].

Le principal facteur de risque de la survenue de la maladie d'Alzheimer est l'âge. En effet, moins de 2% des cas surviennent avant l'âge de 65 ans, s'agissant principalement de formes familiales héréditaires [10]. Des facteurs génétiques sont également impliqués dans l'apparition de la maladie. Certaines mutations génétiques ont été mises en évidence. Par exemple, les gènes précurseurs de la protéine B-amyloïde et la forme E4 du gène de l'apolipoprotéine E sont des facteurs de risque reconnus dans la population [11].

Le stress oxydatif, un processus augmenté dans le cerveau avec le vieillissement, pourrait également jouer un rôle dans le développement de la maladie d'Alzheimer [12]. Celui-ci résulte d'un excès de génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou d'un déséquilibre du système oxydant. Le cerveau est un organe qui demande beaucoup d'oxygène et il est très riche en cellules lipidiques sensibles à la peroxydation. La forte production de ces ERO peut conduire à l'augmentation de l'oxydation de plusieurs composants dans le cerveau et ainsi contribuer au vieillissement cognitif [13].

Finalement, des facteurs de risque environnementaux ont également été mis en cause. Il s'agirait des traumatismes crâniens, de l'aluminium, de certains antécédents psychiatriques, d'un faible niveau d'éducation, de l'alcool, du tabac, de la ménopause et du déficit en œstrogènes pour les femmes [11].

4. Mécanisme physiopathologique

Cette pathologie chronique est causée par le développement de différents types de lésion cérébrale. On peut classer les lésions en deux groupes : celles qui consistent en des modifications positives (les deux principales sont les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires) et celles qui sont en rapport avec des modifications négatives (perte de neurones et de synapses) [10], principalement dans la zone corticale [14] entraînant une atrophie. (Voir figure N°2).



Figure N° 2 : Mécanismes pathologiques [15].

Le stress oxydatif est la résultante d'un déséquilibre entre la production cellulaire d'espèces réactives de l'oxygène et les mécanismes antioxydants [16]. Lorsque la production d'ERO est supérieure à la capacité antioxydante, on observe la survenue d'une peroxydation lipidique. Ayant beaucoup de cellules lipides et un besoin élevé en oxygène, ainsi qu'une grande capacité à produire des radicaux libres, le cerveau est très sensible aux dommages oxydatifs [16].

Lors de la maladie d'Alzheimer, la voie cholinergique du cerveau est rapidement atteinte. Le déficit engendré peut être de 90% dans les stades sévères de la maladie. Il conduit à la perte massive de neurotransmetteurs et affecte la conduction de l'influx nerveux dans le cerveau. Le déficit apparaît quand les transporteurs et les récepteurs de l'acétylcholine sont modifiés, compromettant alors la fonction de ce neurotransmetteur [17].

Le glutamate est un neurotransmetteur jouant un rôle dans l'apprentissage et la mémoire. Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, celui-ci peut être sécrété en excès et devenir pathologique [18]. Des troubles de la neurotransmission du glutamate induisent une activation chronique de ses récepteurs, ce qui conduit à la mort neuronale [19].

5. Symptômes de la maladie d'Alzheimer

Les symptômes de la maladie d'Alzheimer varient selon les individus : perte de mémoire, troubles du comportement...

Les signes caractéristiques de la maladie sont :

5.1 Une perte de la mémoire : Le symptôme initial le plus courant est une aggravation progressive, mal à retenir de nouvelles informations, à retrouver son chemin, même dans son quartier.

5.2 Une désorientation spatio-temporelle : Le sens de l'orientation de la personne diminue. Elle peut se perdre Ex : ne plus se souvenir des jours de la semaine.

5.3 Des troubles du comportement : L'entourage constate l'apparition d'une tendance dépressive chez la personne ou de manifestations d'anxiété, d'irritabilité, d'agitation, de dépression, de confusion, d'agressivité...

5.4 Une altération du langage : Problème de langage ou aphasie (trouble acquis de langage et difficulté de trouver ses mots).

5.5 Difficultés dans la réalisation d'action de la vie courante : apraxie (difficulté de mouvements).

5.6 Perte d'objets : La personne a tendance à placer des objets dans des endroits insolites (une montre dans la machine à laver) sans jamais les retrouver.

5.7 Changement de personnalité : La personne devient tout à fait différente de ce qu'elle était et perd son caractère propre : jalousie, idées obsessionnelles de préjudice, exubérance excessive [20].

6. Les facteurs de risque de l'Alzheimer

Parmi les facteurs de risque reconnus, citons :

6.1 L'âge

Plus on avance en âge plus on risque de développer cette pathologie qui se déclare en général autour de 60-70ans. Il s'agit là du facteur de risque le plus important donc le premier facteur de risque reste avant tout l'âge.

6.2 Les antécédents familiaux et la génétique

Un faible pourcentage (5 à 7 %) des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ont la forme « familiale » de cette maladie (FFMA) (autrefois appelée « forme précoce de la maladie d'Alzheimer »). À un moment donné de l'histoire familiale, certains gènes ont subi une mutation et ont développé les caractéristiques anormales qui causent la FFMA. Ces gènes héréditaires ont une grande influence: si l'un des parents a la FFMA, chacun des enfants aura une probabilité de 50% d'hériter la maladie. Si les deux parents ont la FFMA, tous leurs enfants développeront la maladie d'Alzheimer à l'âge adulte [21].

6.3 Le Sexe

Les femmes sont plus souvent touchées, peut-être en raison d'une espérance de vie plus longue que celle des hommes. Les changements hormonaux qui surviennent à la ménopause, particulièrement la diminution de l'œstrogène a été évoquée pour expliquer le phénomène [22].

6.4 Les maladies cardiovasculaires

Tous les facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (comme l'hypertension et l'hypercholestérolémie) sont aussi des facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer et de la maladie cérébro-vasculaire. Les AVC et les « mini-AVC », généralement détectés lors d'examens ultérieurs, sont aussi des facteurs de risque bien établis pour la maladie d'Alzheimer et la maladie cérébro-vasculaire [21].

6.5 Le diabète

On sait depuis plusieurs années que le diabète de type 2 (diabète adulte) est un facteur de risque de la maladie d'Alzheimer. Les diabétiques courent un risque environ deux fois plus élevé d'être concerné par la démence vasculaire ou la maladie d'Alzheimer que le reste de la population [23]. Même pour les non-diabétiques un taux élevé de glucose élève significativement le risque [24]. On savait aussi que le glucose était moins bien assimilé dans le cerveau des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, une situation similaire aux diabétiques de type 2, dont l'organisme assimile mal le glucose [21].

6.6 Le syndrome de Down

Le cerveau de la plupart des adultes atteints du syndrome de Down qui atteignent la quarantaine développera les changements anormaux caractéristiques de la maladie d'Alzheimer (plaques et écheveaux) [21].

6.7 La déficience cognitive légère (DCL)

Dans la DCL, le niveau de détérioration cognitive et/ou des troubles de la mémoire est supérieur à celui enregistré dans le processus normal de vieillissement, mais il n'est pas suffisamment avancé pour qu'on puisse parler d'Alzheimer ou de maladie apparentée.

On estime que 85 % des personnes qui ont reçu un diagnostic de DCL, généralement au début de la quarantaine ou de la cinquantaine, développeront la maladie d'Alzheimer dans les dix années suivantes, ce qui fait de la DCL un facteur de risque important. Les chercheurs savent maintenant que les changements cérébraux anormaux qui caractérisent la maladie d'Alzheimer peuvent commencer à apparaître chez les personnes qui ont reçu un diagnostic de DCL au moins 20 ans avant tout signe visible d'Alzheimer ou de maladie apparentée.

L'imagerie cérébrale pourrait permettre de repérer les personnes atteintes de DCL les plus à risque de développer la maladie [21].

6.8 Les habitudes alimentaires

Plusieurs études se sont penchées sur le rôle éventuel de l'alimentation comme cause de la maladie d'Alzheimer. Une alimentation riche en sucre et en graisses favoriserait le développement de la démence. En revanche, le soja, le lait et la consommation d'Omega 3 auraient un effet protecteur, alors qu'une carence en vitamines B 9 et B 12 est associée avec cette maladie. D'une manière générale, l'équilibre alimentaire est recommandé [25].

6.9 Le niveau de scolarité

Plus étonnant, ce facteur de risque a été mis en évidence dans plusieurs enquêtes statistiques: il semblerait que les personnes qui ont moins de 6 ans de scolarité courent un risque plus élevé de souffrir de la maladie d'Alzheimer. Si ce facteur ne constitue pas une cause de la maladie d'Alzheimer, un faible niveau socio-culturel a été évoqué dans plusieurs études.

6.10 D'autres facteurs

Le stress, la dépression et l'isolement (manque d'exercice du cerveau.) sont les causes de nombreux maux et peuvent favoriser la maladie d'Alzheimer. D'autres facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer ont été évoqués : Une méta-analyse met en avant la fragilité de constitution comme facteur de risque, l'inactivité physique a été longuement étudiée et semble pouvoir être retenue parmi les facteurs de risque [26].

6.11 Le tabagisme, obésité et certains médicaments

Comme les anxiolytiques et des somnifères ont été mis en cause. La survenue de la maladie d'Alzheimer serait majorée de 20 à 50 %. Outre ces différents facteurs de risques, les chercheurs continuent à chercher les causes de la perte progressive des neurones engendrée par la maladie d'Alzheimer. Ils examinent ainsi le cerveau et l'organisme humain : il pourrait en effet s'agir d'un virus à action lente, d'un déséquilibre chimique ou encore d'un déficit immunitaire [27].

7. Le diagnostic

Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer repose sur différents examens :

- Un entretien approfondi avec le patient et sa famille, afin de retracer l'historique d'apparition des troubles : Il peut s'appuyer sur des questionnaires dans lesquels la famille évalue l'intensité des troubles et leur retentissement sur la vie quotidienne (faire sa toilette, prendre ses repas, faire les courses, prendre les transports en commun...).
- Un examen clinique approfondi : Il élimine la présence d'autres causes pouvant expliquer les troubles neurologiques.
- Des tests psychométriques : Ils permettent d'explorer la mémoire, le langage, les fonctions exécutives, l'orientation dans l'espace et dans le temps... Ils sont réalisés par un psychologue ou un médecin.
- Des examens biologiques : Ils permettent de vérifier que ce ne sont pas des facteurs somatiques qui sont à l'origine des troubles cognitifs.
- Un scanner ou un IRM viennent en général compléter ces examens.

Le diagnostic est parfois difficile à établir en début de maladie, car les symptômes sont encore peu nombreux [28].

8. Pronostic

Le déclin cognitif chez les individus atteints de la maladie d'Alzheimer est inévitable, même avec la mise en place d'un traitement médicamenteux. Cependant, la rapidité d'évolution de la pathologie varie d'une personne à l'autre. Après un diagnostic posé à partir des premiers symptômes et autour de 70 ans, le délai moyen de survie est d'environ 7 ans [29].

9. Traitements médicamenteux et comportementaux

Le but du traitement est double: stabiliser ou au moins freiner la progression de la maladie et améliorer les troubles psycho-comportementaux souvent associés. A ce jour il n'existe aucun traitement guérissant la maladie d'Alzheimer, ni même permettant d'arrêter son évolution.

Actuellement les médicaments prescrits dans le cadre de la maladie d'Alzheimer sont des traitements symptomatiques. La première classe médicamenteuse concerne les anti- glutamates (mémantine), qui visent à bloquer les récepteurs de l'acétylcholine. Dans notre travail nous avons étudié la deuxième classe, les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (donépézil, galantamine, rivastigmine), qui empêchent la destruction de l'acétylcholine et corrigent ainsi le déficit observé dans le cerveau des personnes touchées par cette maladie.

Des thérapies non médicamenteuses sont également proposées et représentent un élément central dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Celles-ci ont pour but d'améliorer la qualité de vie de la personne malade en agissant sur plusieurs axes. Par exemple, ces thérapies aident entre autres à renforcer les capacités cognitives et la mémoire, à conserver son autonomie, à renforcer l'estime de soi, à améliorer l'humeur et à prévenir l'isolement. Les thérapies sont choisies selon l'histoire de la vie du patient, ses intérêts, sa personnalité et le stade de la maladie. Parmi les différentes interventions proposées, il existe notamment des activités pour le renforcement de la mémoire et la gestion du quotidien, des thérapies d'amélioration de la parole, des activités physiques telles que la danse et la randonnée, ou encore des activités créatives telles que l'art-thérapie ou la musicothérapie [30].



Chapitre 2

L'ACETYLCHOLINESTERASE ET SES INHIBITEURS



1. Introduction:

Les enzymes sont des protéines qui allient la capacité de reconnaître très spécifiquement des molécules, au pouvoir de catalyser efficacement leur transformation en composés utiles au métabolisme des organismes vivants.

Nous allons présenter dans ce qui suit l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme exprimée dans le système nerveux et sanguin des eucaryotes supérieurs et impliquée dans divers problèmes majeurs de santé publique (maladie d'Alzheimer, myasthénie, intoxication aux insecticides).

L'acétylcholinestérase (AChE) est la principale enzyme de la neurotransmission, responsable du métabolisme hydrolytique du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) en choline et acétate par une famille d'enzymes appelées cholinestérases. (Voir Figure N°3).

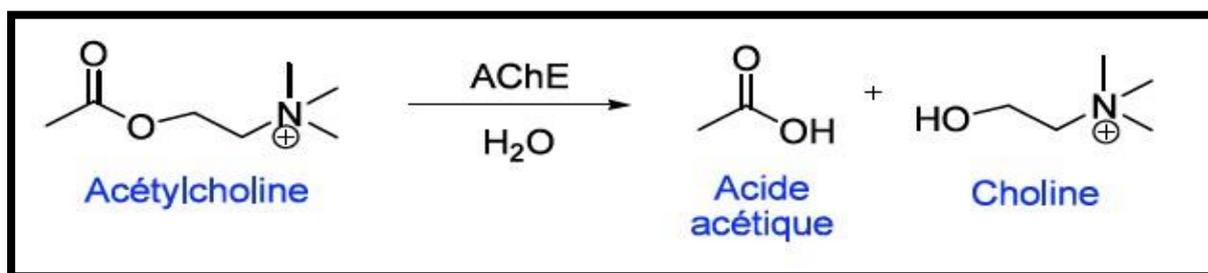


Figure N°3 : Hydrolyse de L'acétylcholine par acétylcholinestérase.

C'est une réaction nécessaire, elle permet aux neurones cholinergiques de retrouver leur état de repos et notamment aux muscles de cesser de se contracter après la transmission de l'influx nerveux. L'AChE est associée aux nerfs et aux muscles et se trouve au niveau des synapses dans les neurones et les cellules gliales du cerveau [31].

Cette substance chimique, présente chez les vertébrés, joue un rôle de neuromédiateur permettant la transmission de l'influx nerveux d'un neurone à l'autre en passant par les synapses et à partir des neurones vers les cellules musculaires, ce qui conduit ces dernières à se contracter. L'effet de l'acétylcholine disparaît lors de l'hydrolyse produite par l'acétylcholinestérase [32].

Les molécules d'Acétylcholine qui participent à la transmission d'un influx nerveux doivent être catalysées très rapidement, un temps inférieur à la seconde (mS), afin de restaurer l'excitabilité (synapses) neuronale et ainsi permettre la transmission de l'influx nerveux suivant. L'AChE est parmi les enzymes les plus rapides de la nature [33]. Avec un turn-over de 1000 à

20000 molécules par seconde selon l'espèce considérée. Son turn-over (kcat) est, en moyenne, de 10.000 molécules de substrat hydrolysées par seconde (entre 1000 et 20000 s⁻¹, selon l'espèce considérée).

2. Structure de l'AChE

L'AChE de *Torpedo californica* a été la première dont la structure primaire a été déterminée [34]. Quelques années plus tard, la structure primaire de l'AChE humaine a aussi été caractérisée [35]. Sussman et al. en 1991 ont été les premiers à caractériser par diffraction des RX la structure tridimensionnelle de l'AChE de *Torpedo californica* [36].

L'AChE exprimée dans l'organe électrique de *Torpedo californica* est un dimère. Chaque monomère est constitué de 11 feuillets β et de 15 hélices α , ainsi que d'une courte portion de feuillet β , à l'extrémité N-terminale, qui n'est engagée dans aucune interaction avec le reste de la structure. Le repliement global de l'enzyme est typiquement celui de la famille des α/β hydrolases [37]. Dans le dimère, les deux monomères sont liés, l'un à l'autre, par un «paquet» de 4 hélices α : deux hélices α de chaque monomère, dont l'hélice α C-terminale, participent à la mise en place d'un accollement inter-résidus très stable. Les cystéines C-terminales (Cys537) de chacun des deux monomères établissent entre elles un pont disulfure inter-chaînes qui stabilisera, covalamment, cette interface de dimérisation [38].

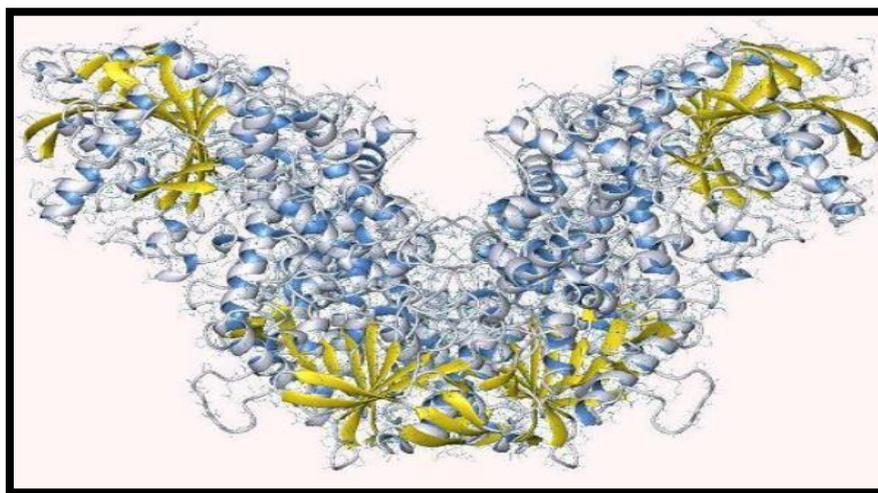


Figure N°4 : Structure tridimensionnelle de l'Acétylcholinestérase.

3. Le site actif et la triade catalytique

Le site catalytique de l'AChE est situé au fond d'une gorge profonde et étroite [36]. On distingue deux sous-sites : le site anionique et le site estérasiq. Le site estérasiq correspond au locus au niveau du quel la portion acétyle de la molécule d'ACh se fixe et forme l'intermédiaire tétraédrique.

Les acides aminés Glu334, His467 et la Ser203 (voir figure N°4) sont les composants principaux de la triade catalytique de cette enzyme. Cette triade est localisée à la base d'une gorge étroite de 20 Å de profondeur [39]. Cette gorge est alignée de 14 résidus aromatiques.

L'enzyme devra pouvoir stabiliser l'oxygène du carbonyle de l'ACh, qui se charge négativement lors de la formation de l'intermédiaire tétraédrique. De fait, une poche est présente dans le site actif de l'enzyme, qu'on nomme le trou « oxyanion », et qui est constituée des résidus Gly118, Gly119 et Ala201 (Voir la Figure). Ainsi on trouvera également, dans le sous-site estératique, une petite cavité hydrophobe nommée la « poche acyle », constituée des résidus Trp233, Phe288, Phe290 et Phe331 (voir figure N°5). Cette poche joue un rôle essentiel dans la sélectivité de substrat de l'AChE, qui ne pourra hydrolyser efficacement que les esters pouvant loger leur portion aliphatique dans cette poche [40]. Le site anionique est constitué des résidus Trp84, Glu199 et Phe330 (Voir Figure 5). La charge positive du ligand sera effectivement stabilisée par l'attraction électrostatique du résidu Glu199, mais le sera beaucoup plus effectivement par son interaction avec les électrons π des noyaux aromatiques environnant [41]. Les résidus Trp84 et Phe330 seront les plus importants contributeurs à cette énergie déstabilisation.

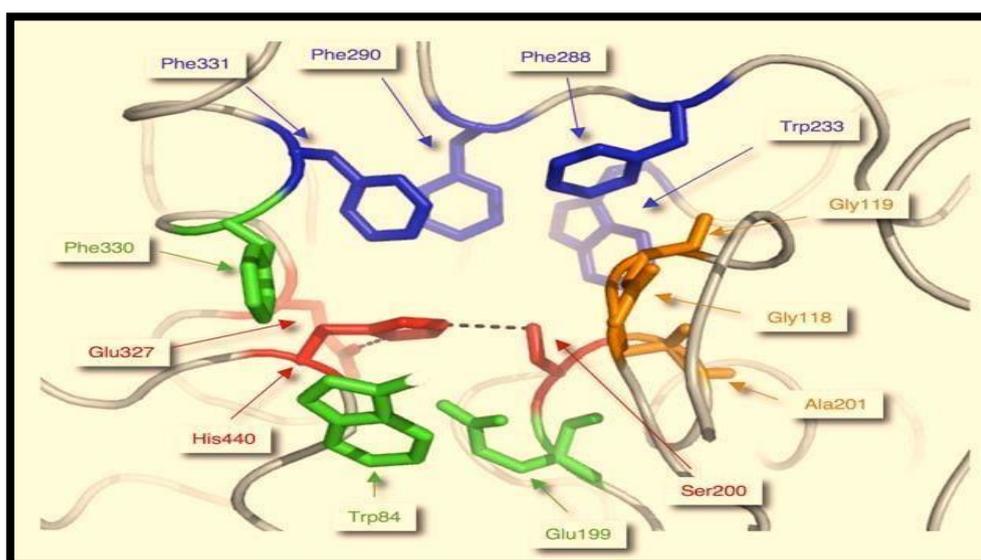


Figure N°5 : Vue détaillée du site actif de l'AChE.

4. Mécanisme catalytique

L'AChE (acétylcholine acétyl hydrolase – EC 3.1.1.7) est une carboxylestérase de type B, appartenant à la famille des sérines hydrolases [42] [43]. Cette famille comprend, entre autres, la trypsine, la chymotrypsine et l'élastase. Les sérines hydrolases sont considérées comme des enzymes relativement rapides et efficaces, on y trouvera en effet toujours une poche responsable de la stabilisation de l'intermédiaire tétraédrique, appelée « trou oxyanion », et une autre en charge de la spécificité de substrat, et nommée « poche acyle », dans le cas de l'AChE [44].

Toutes les enzymes de cette famille présentent une triade catalytique, impliquant une sérine, une histidine et un acide aspartique ou glutamique qui, quant à lui, sera toujours trouvé dans une poche inaccessible au solvant.

Le mécanisme catalytique des sérines hydrolases (Voir figure N°6), conservé, est le suivant :

- Formation du complexe michaëlien.
- Attaque nucléophile de la sérine catalytique sur le substrat.
- Formation du 1er intermédiaire tétraédrique.
- Libération du 1er produit (choline).
- Attaque nucléophile d'une molécule d'eau sur la sérine acylée.
- Formation du 2ème intermédiaire tétraédrique.
- Libération du 2ème produit (acétate).

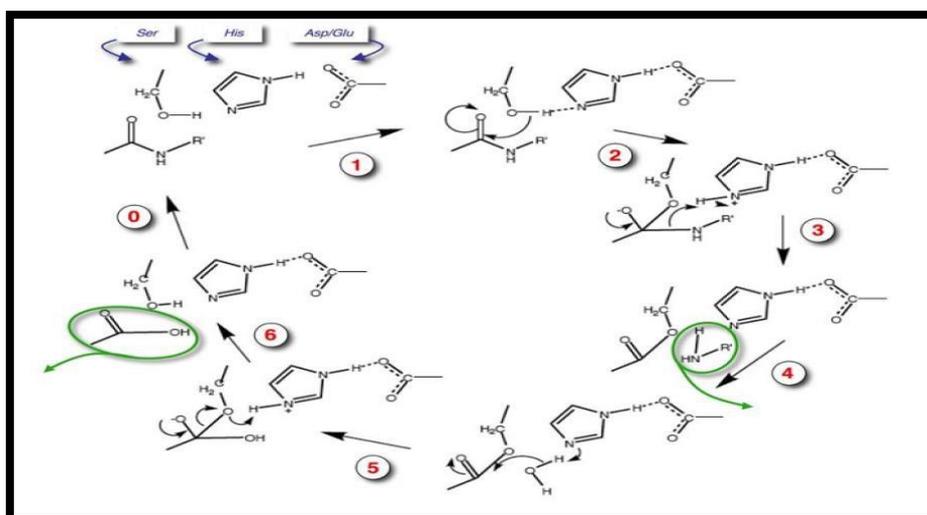


Figure N°6 : Mécanisme général d'hydrolyse par une sérine hydrolase

5. Implication de l'AChE dans la maladie d'Alzheimer

La cause la plus fréquente de démence sénile est probablement, de nos jours, la maladie d'Alzheimer (MA : Maladie d'Alzheimer) se manifeste, entre autres, par la détérioration des cellules nerveuses libérant une substance appelée Acétylcholine, dont le rôle est de transmettre les messages entre les cellules du cerveau. Le déficit en Acétylcholine chez les malades est aggravé par l'action d'une enzyme, l'Acétylcholinestérase (AChE), qui décompose rapidement l'Acétylcholine. Les traitements liés à la Rivastigmine, la Tacrine, le Donépézil ont pour but d'inhiber l'AChE pendant un temps suffisamment long pour que le taux d'Acétylcholine puisse se relever [45].

6. Les inhibiteurs de L'acétylcholinestérase

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont des substances anticholinestérasiques qui dégradent l'acétylcholine dans la fente synaptique et inactivent réversiblement ou irréversiblement l'enzyme. Ils ont été développés afin de réduire cette dégradation physiologique et renforcer ainsi la transmission synaptique cholinergique. Leur classement est en fonction de leur intensité, et de leur durée d'action. On distingue:

Les inhibiteurs de l'AChE ou les anti-cholinestérasiques empêchent l'enzyme cholinestérase de décomposer l'ACh, augmentant à la fois le niveau et la durée de l'action des neurotransmetteurs. Selon le mode d'action, les inhibiteurs de l'AChE peuvent être divisés en deux groupes: irréversibles et réversibles.

6.1 Inhibiteurs irréversibles

Les composés organophosphatés sont des molécules inhibant irréversiblement l'AChE. La metrifonate faisant partie de ce groupe présente une activité inhibitrice modérée vis-à-vis l'enzyme. A cause des effets secondaires engendrés par cette molécule (affaiblissement musculaire, problèmes respiratoires...etc.), elle a été retirée du marché [46].

Antidotes : pralidoxime, qui réactive l'acétylcholine, atropine qui bloque les récepteurs cholinergiques muscariniques.

Les inhibiteurs irréversibles ne sont pas utilisés en thérapies à cause de leurs effets toxiques.

6.2 Les inhibiteurs réversibles

Les inhibiteurs réversibles, ou qui inhibent l'enzyme d'une façon transitoire, tant que leur concentration est suffisante, sont utilisés en thérapie, et la plupart d'entre eux sont connus depuis longtemps.

6.2.1 Tacrine (Cognex)

La tacrine est une molécule employée dans le traitement des troubles de la mémoire chez les malades souffrant de la maladie d'Alzheimer et a permis, pour la première fois, d'obtenir un certain degré d'amélioration. Premier inhibiteur de l'AChE, mis à disposition, la tacrine est distribuée depuis 1993 aux États-Unis et depuis 1994 en France sous le nom de Cognex®. Ce médicament peut entraîner des effets indésirables liés à l'excès d'acétylcholine : nausées, vomissements, diarrhées, crampes abdominales, sécrétion excessive de salive.

Il semble en outre que la prise de doses très importantes de tacrine soit toxique pour les cellules du foie [47].

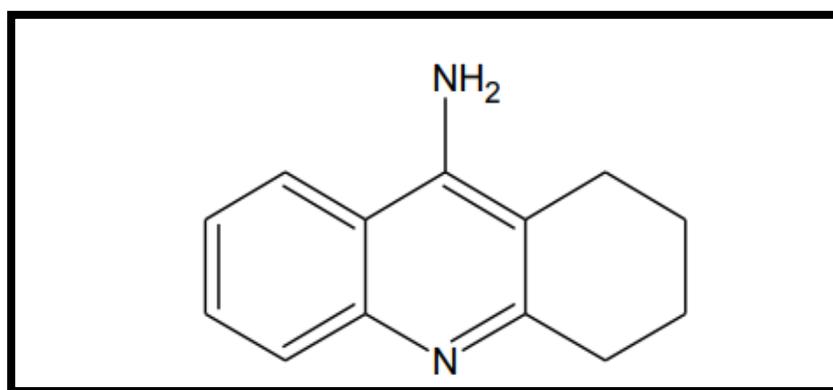


Figure N°7 : Structure chimique de la Tacrine.

6.2.2 Donépézil (Aricept)

Approuvé par la FDA en 1996, le donépézil, présent sous la forme de chlorhydrate de donépézil, est le deuxième inhibiteur de l'AChE mis sur le marché sous le nom de Aricept®. Selon une étude publiée dans *The New England Journal of Medicine*, le donépézil, traitement courant contre les phases précoces de la maladie d'Alzheimer, est aussi bénéfique dans ses formes plus sévères [48].

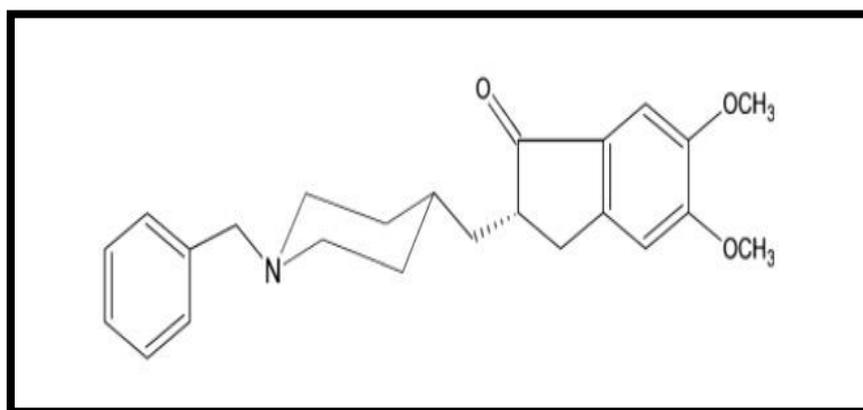


Figure N°8 : Structure chimique de la Donépézil.

6.2.3 Galantamine (Reminyl)

La galantamine (Reminyl) est un alcaloïde avec un amine tertiaire, a été approuvé dans plusieurs pays pour le traitement de la maladie d'Alzheimer [49]. Plusieurs dérivés ont été synthétisés et étudiés et ont montré un potentiel plus fort que celui de la galantamine [50].

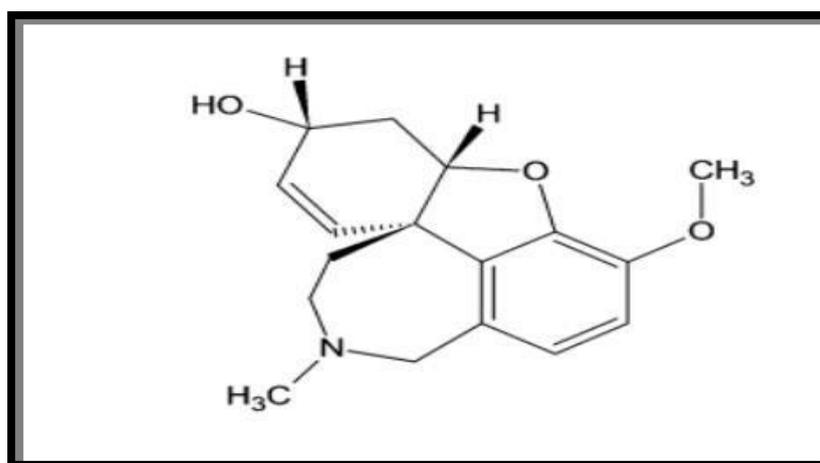


Figure N°9 : Structure chimique de la Galantamine.

6.2.4 Huperzine

C'est un autre alcaloïde inhibant l'AChE. Isolée à partir d'une herbe médicinale chinoise *Huperzia serrata*, cette molécule possède un très bon effet inhibiteur avec un degré de toxicité très bas. Elle a été prise comme composé lead dans le design de plusieurs dérivés [51].

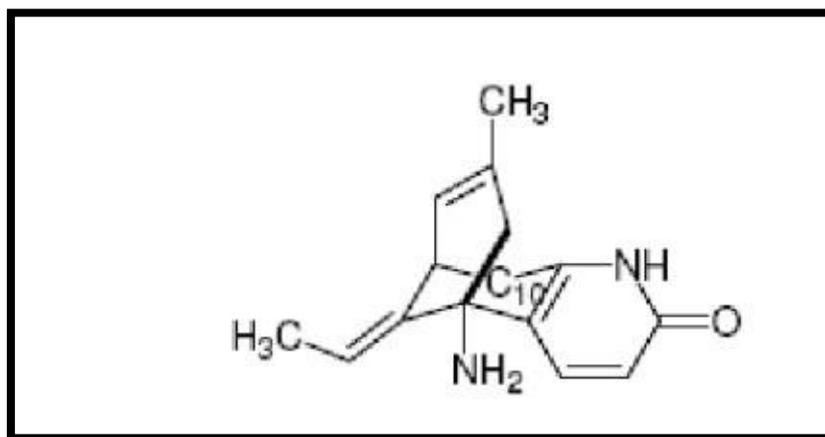


Figure N°10 : Structure chimique du Huperzine.

6.2.5 Rivastigmine : (Exelon®)

La rivastigmine est un inhibiteur irréversible de l'AChE. Commercialisé sous le nom de Exelon®, cette molécule agit aussi bien sur l'AChE ou la BuChE en formant un complexe lié par une liaison covalente entraînant une inactivation transitoire des enzymes. Chez le sujet sain jeune, une dose de 3 mg par voie orale entraîne une diminution d'environ 40 % de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) dans le LCR dans l'heure et demie après administration. L'activité enzymatique revient à son niveau initial 9 heures environ après le pic d'activité inhibitrice[48].

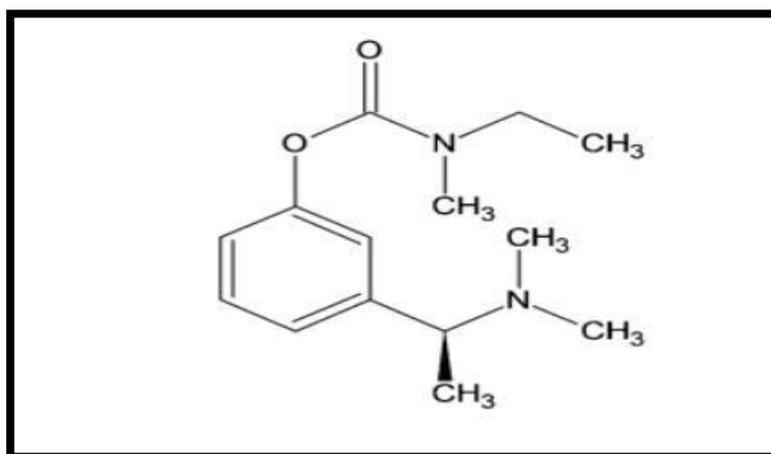


Figure N°11: Structure chimique de la Rivastigmine.

6.2.6 Les monoterpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprène C₅H₈ (Voir figure N°12), et ont pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire (C₅H₈)_n

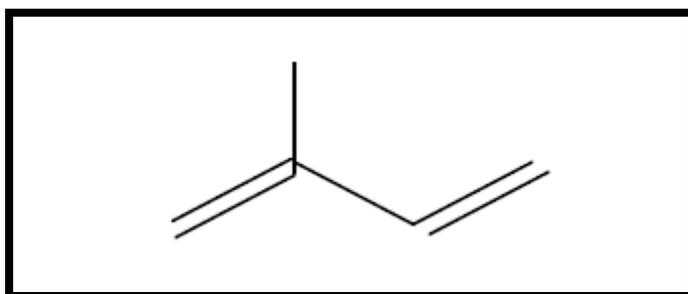


Figure N°12:Unité d'isoprène.

Les terpénoïdes peuvent être considérés comme des terpènes modifiés avec des groupes méthyles ajoutés ou enlevés, ou des atomes d'oxygène ajoutés. On utilise le terme

«Terpène» de façon plus large, en y incluant les terpénoïdes. Tout comme les terpènes, les terpénoïdes peuvent être classés selon leur nombre (n) d'unités isoprène. Pour n = 2: Les monoterpènes. Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques (Voir figure N°13) [52].

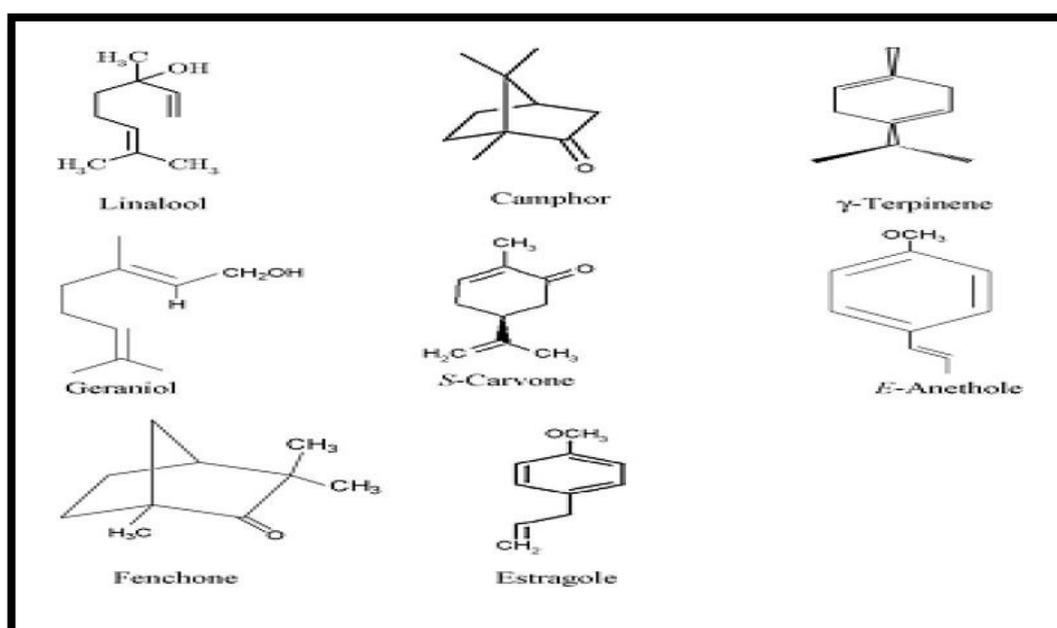


Figure N°13 : Structures des Monoterpènes connus.

A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques du monoterpène, en particulier leur pouvoir antifongique, antibactérien, antioxydant L'activité antioxydante de ces composés est exploitée dans la prévention et la lutte contre des maladies comme Alzheimer l'artériosclérose et le cancer.

De nouveaux travaux montrent l'effet inhibiteur de monoterpène sur l'acétylcholinestérase. Cette approche peut être utilisée dans l'invention de nouveaux médicaments d'origine naturelle, pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.



Chapitre : 3

DOCKING MOLECULAIRE



1. Introduction

La découverte d'un nouveau médicament est un processus extrêmement long et fastidieux qui dure, en moyenne, entre 12 et 14 ans pour un coût total de 800 millions à 1 milliard de dollars [1]. La méthode classique pour concevoir un nouveau médicament était basée sur le criblage à haut débit (high through put screening, HTS) où un grand nombre de composés sont testés *in vitro* sur une cible thérapeutique donnée (enzyme, récepteur...etc) afin d'identifier des touches ("hits" ou encore composés promoteurs) qui seront par la suite optimisés et testés *in vivo*.

Néanmoins, le criblage à haut débit s'est rapidement trouvé confronté à de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques, financiers et organisationnels. Si l'on teste un grand nombre de molécule sur une cible donnée, on finira sans nul doute par trouver une molécule active sur cette cible, mais quand et à quel prix ? C'est à ces deux questions que le développement de nouvelles approches telles que le criblage virtuel par docking moléculaire était nécessaire [53]. Le docking s'est développé pour devenir de nos jours un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives [54][55].

2. Principe de docking

Une simulation par docking s'accomplit en deux étapes essentielles :

- La première étape dite du docking permet au ligand d'adopter plusieurs conformations et plusieurs positions au niveau du site actif de la protéine afin de retenir celle la plus favorable.

- La deuxième étape dite du Scoring consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine pour donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées (Voir figure N°14)[56].

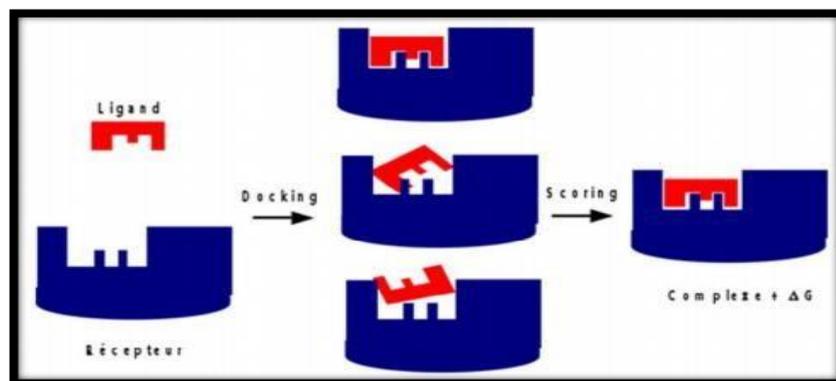


Figure N °14 : principe générale d'un programme de docking [57].

3. Outils du docking moléculaire

Les éléments indispensables pour réaliser un docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire le plus souvent de nature protéique appelé cible, un ligand et un programme de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi [58].

3.1. Le récepteur

Les structures 3D des différentes protéines sont disponibles et accessibles gratuitement dans la banque de données PDB. (« Protein Data Bank », en anglais). http://www.pdb.org/pdb/static.dop=general_information/pdb_statistics/index.html. Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques (protéines, ADN, ARN ...etc.). Cette banque de données a été établie en 1971 et contenait à l'époque sept structures. Actuellement, la PDB compte plus de 138 000 structures dont 124 000 ont été résolues par cristallographie au rayon X, 12 000 ont été définies par RMN et 2 000 qui restent par microscopie électronique. Il est à souligner que 93% des structures disponibles dans la PDB sont des protéines. Il est important de signaler que certaines protéines ne sont pas encore disponibles dans cette banque de données et si cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, il devient alors possible de construire la structure 3D de la cible souhaitée, en faisant appel à la modélisation par homologie [55].

3.2 .Les ligands

Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. Pour obtenir, il existe deux moyens : Le premier moyen consiste à utiliser des programmes de construction moléculaire 3D tels que ChemDraw, Arguslab, Titan, Marvin, Sybyl...etc, permettant de dessiner le ligand tout en minimisant son énergie afin d'optimiser sa géométrie. Le second

moyen d'obtenir un ligand 3D est souvent d'aspect commercial, consistant à consulter des banques de données de ligands appelées chimiothèques. Les chimiothèques virtuelles comportent un ensemble d'informations plus ou moins organisées et hiérarchisées regroupant des données de différents ligands (structure, activité, propriétés physico-chimiques...). Dans ce type de chimiothèques, la structure 3D de chaque composé est enregistrée dans de fichiers avec les formats SMILES, SDF, MOL2 et PDB. Parmi les chimiothèques virtuelles nous citons : La chimiothèque Nationale Française, la chimiothèque ZINC, PubChem...etc. [59]

3.3. Programmes (Logiciels)

Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Initié au début des années 1980, ce domaine s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs.

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM. (Voir figure N°15) [60].

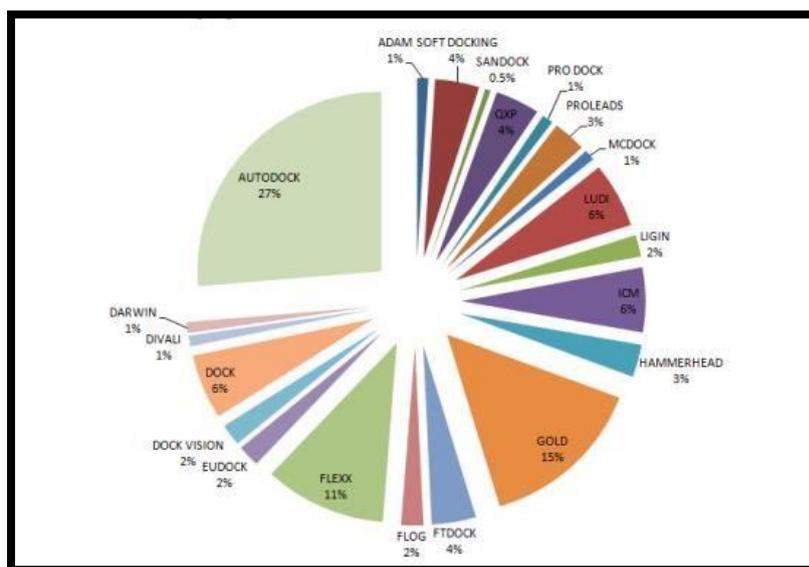


Figure N°15 : Comparaison des programmes de docking les plus cités [61].

Comme le montre la figure N°15, le programme AutoDock est le plus cité et le plus utilisé parmi les autres programmes de docking. Ce programme a été utilisé dans le présent travail afin de développer de nouveaux inhibiteurs de l'ACHé.

Le tableau suivant représente quelques exemples des programmes de docking [62].

Tableau N°1 : les Principaux programmes de docking moléculaire [63].

Nom	Editeur	Site internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/AutoDock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrodinger	http://www.schrodinger.com/products/glide.html
Golde	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandflit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

4. Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

Les méthodes de docking peuvent être classées en trois catégories selon la prise en compte de la flexibilité du ligand. La première catégorie considère le ligand et la protéine comme étant rigides, reflétant ainsi le principe du concept « clé-serrure » où seul le ligand (représentant la clé) qui possède la bonne taille et la bonne forme peut ouvrir une serrure, la protéine. (Voir figure N°16) [64]. Les premiers logiciels de docking se sont donc inspirés de ce concept. La seconde considère le ligand comme étant flexible tout en conservant la protéine rigide. L'utilisation de cette approche pour concevoir un nouveau médicament a permis d'obtenir des résultats plus précis. Ce type de docking reste plus employé aujourd'hui. La dernière catégorie permet de traiter la flexibilité du ligand et, de façon partielle, la protéine [65].

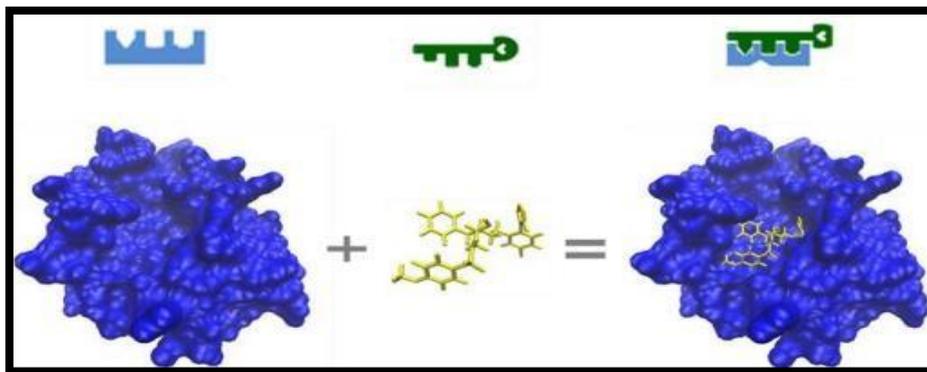


Figure N°16 : Modèle clé-serrure [66].

L'utilisation des programmes de docking a conduit à de nombreux succès dans le domaine de la découverte de nouvelles molécules bioactives [67]. Néanmoins, leurs algorithmes sont toujours en maturation. Actuellement, il existe une panoplie d'algorithmes de docking qu'on peut répartir en deux grandes catégories selon la méthode utilisée :

- L'ajustement de fragments.
- Simulation par trajectoire.

4.1. Algorithme de fragmentation/reconstruction

Dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Le docking commence par positionner les parties rigides du ligand qui est reconstruit par la suite de proche en proche explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles. Cette approche permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés. Parmi les programmes de « fragmentation incrémentale », figurent DOCK, FlexX et Surflex. Ce dernier utilise une sorte de ligand idéal composé de fragments comme NH, C=O et CH₃ placés par le module protomol pour sélectionner les poses de fragments qui formeront le plus de liaisons avec la protéine[68].

4.2. Simulation par trajectoire

La seconde approche est plus précise : à partir d'une position initiale aléatoire, à l'extérieur du site actif, le ligand considéré dans son entier explore le site étudié par la répétition successive de mouvements et d'évaluations de l'interaction ligand-récepteur [55]. L'autodock est utilisé dans cette approche.

5. Programme utilisé : AutoDock

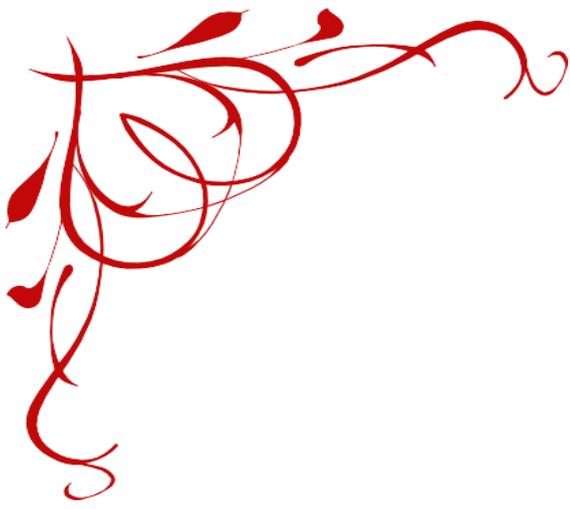
AutoDock est le programme d'amarrage le plus populaire grâce à sa grande précision et sa polyvalence ayant élargi son utilisation [69]. Ce programme permet de prédire l'interaction des ligands avec des cibles bio-macromoléculaires [70]. Développé par Morris, où la version actuelle

utilisant l'algorithme génétique Lamarckian et la fonction de notation empirique d'énergie libre fournira généralement des résultats d'amarrage reproductibles pour des ligands avec environ 10 liaisons flexibles [70][71].

Un format PDB étendu, appelé PDBQT, est utilisé pour les fichiers de coordonnées, qui incluent les charges partielles atomiques et les types d'atomes [70].

Les calculs AutoDock sont effectués en plusieurs étapes par les trois sous programmes:

- Préparation des fichiers de coordonnées avec AutoDockTools
- Pré-calcul des affinités atomiques avec AutoGrid,
- Ancrage des ligands avec AutoDock
- Analyse des résultats avec AutoDockTools [70].



Chapitre 4

MATERIEL ET METHODES



L'objectif essentiel de cette partie pratique est de rechercher de nouvelles molécules inhibitrices de l'Acétylcholinestérase en utilisant la technique de docking moléculaire par le logiciel Autodock.

1. Matériel

1.1. Microordinateur

Dans notre étude nous avons utilisé deux micro-ordinateurs :

Le premier : ACER ayant un processeur Intel(R) core™ i3-5005U CPU et une mémoire vive de 4.00Go, sous un système d'exploitation Windows 8.1 professionnel (32 bits).

Le deuxième : TOSHIBA ayant un processeur Intel(R) core™ i3-4005U CPU et une mémoire 4.00Go, sous un système d'exploitation Windows 7 professionnel (64 bits).

1.2. Le réseau WEB

Il constitue un outil indispensable dans notre étude pour le téléchargement des complexes protéiques et celui de ligands à partir des différentes banques de données.

1.3. Banques de données

1.3.1 PDB (Protein DataBank)

La structure 3D de l'enzyme acétylcholinestérase, faisant l'objet de ce travail, provient de la PDB « Protein Data Bank ». Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques permettant de consulter et de télécharger gratuitement les structures 3D des protéines biologiques via son site web : <http://www.rcsb.org/pdb/> RCSB PDB : Homepage [En ligne] <http://www.rcsb.org/>. [72].

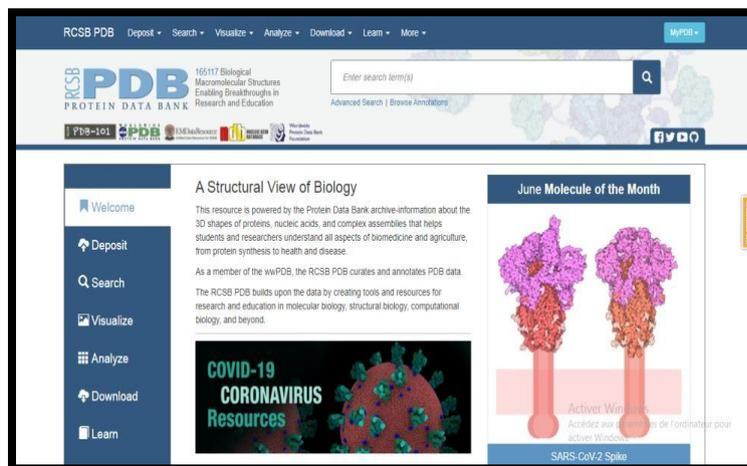


Figure N°17 : Interface d'accueil du PDB.

1.3.2. Pubchem

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (le National Center for Biotechnology Information). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux de notre ligand [73].

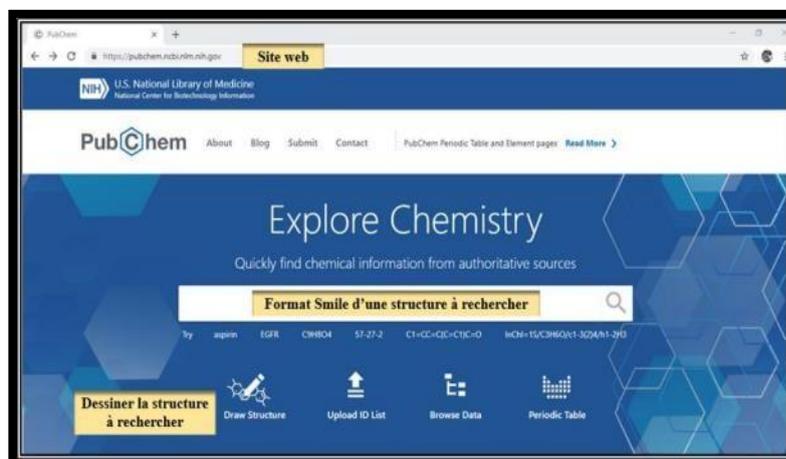


Figure N°18 : L'interface d'accueil du PubChem.

1.4. Programmes utilisés

1.4.1 Titan

La construction moléculaire a été menée à l'aide du programme Titan version 1.0.1. Ce programme nous a permis de construire des modèles 3D des ligands à partir de leur structure 2D provenant de la littérature. Ces modèles ont été optimisés géométriquement grâce à l'algorithme de minimisation de l'énergie inclus dans Titan [73].

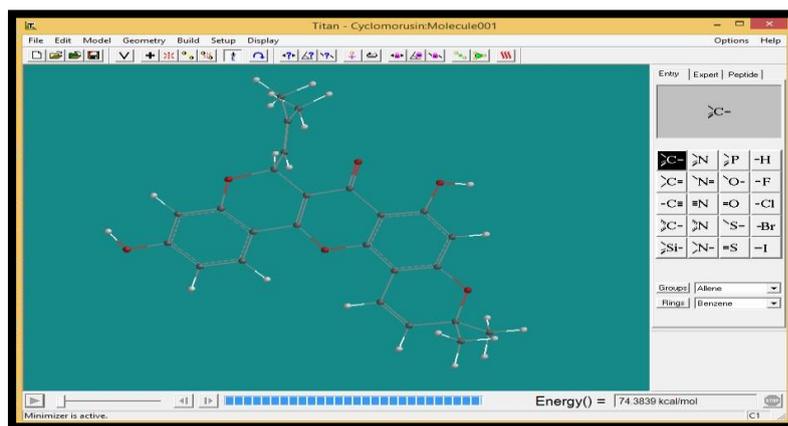


Figure N°19 : L'interface graphique du Titan version (1.0.1).

1.4.2. VMD (Visual Molecular Dynamics)

VMD version (1.9.2) est un programme de modélisation, de visualisation, et d'analyse de grands systèmes biomoléculaires utilisant des graphiques 3D et de scripts intégrés. Il permet aussi de séparer le complexe protéines-ligands étudié [73].

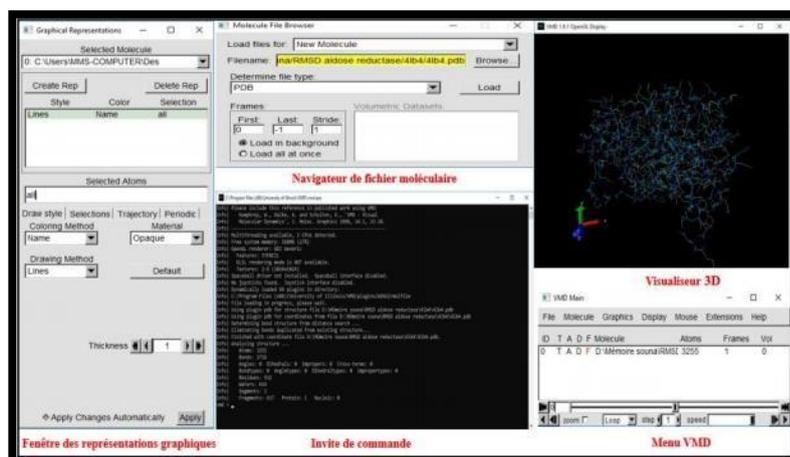


Figure N°20 : L'interface graphique du VMD Version (1.9.2).

1.4.3 AutoDock

Nous avons utilisé AutoDock version 4.2.6 afin de simuler les interactions Enzyme-inhibiteur. L'interface graphique AutoDock Tools version 1.5.6 a été simultanément utilisée afin de faciliter la simulation avec AutoDock tout en permettant de visualiser ses résultats [73].

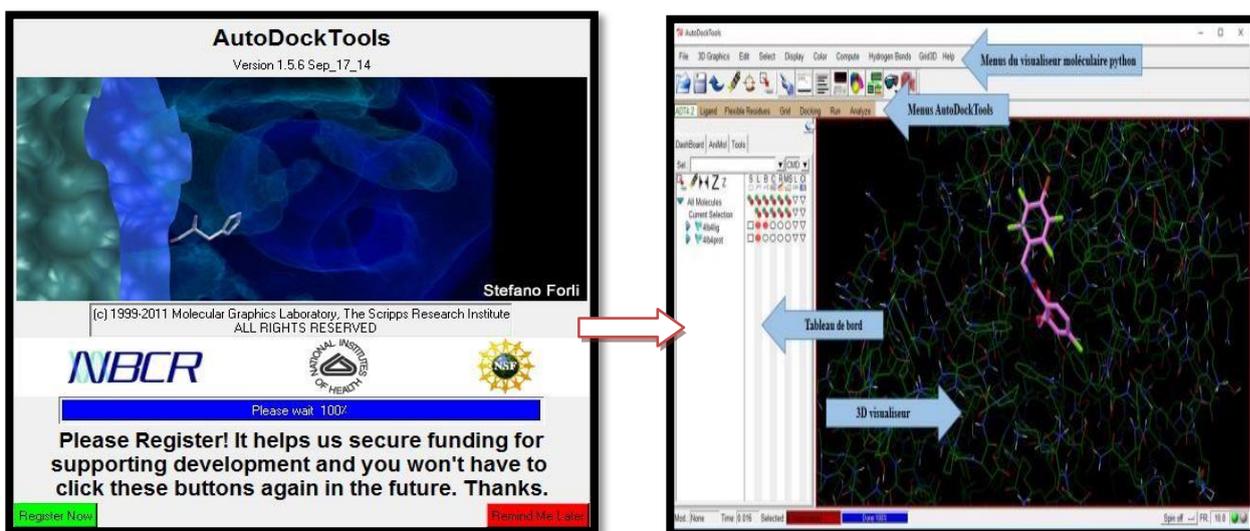


Figure N °21 : L'interface graphique AutoDock Tools.

1.4.4 Biovia Discovery studio visualizer

Nous avons utilisé Discovery Studio Visualizer version 4.0. Ce programme a été utilisé pour visualiser la superposition des résultats du RMSD calculés par autodock. Il est téléchargeable sur le site (<https://www.biovial-discovery-studio/visualization-download.php>)[73].

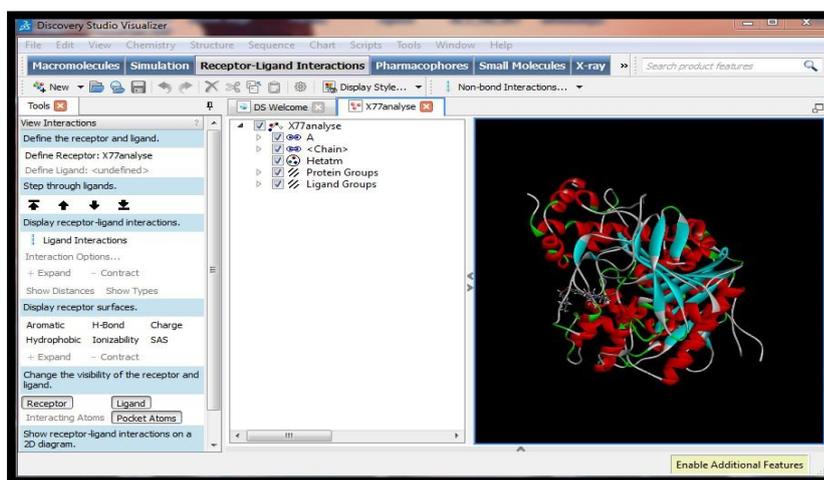


Figure N°22 : L'interface graphique de Discovery studio Visualizer.

1.4.5 Open Babel

Le programme « Open Babel » version (2.0.2) est un programme libre qui nous a facilité l'inter conversion des données chimiques d'un format à un autre de fichier de divers types (pdb, mol, mol2, sdf, smi...etc.) [73]

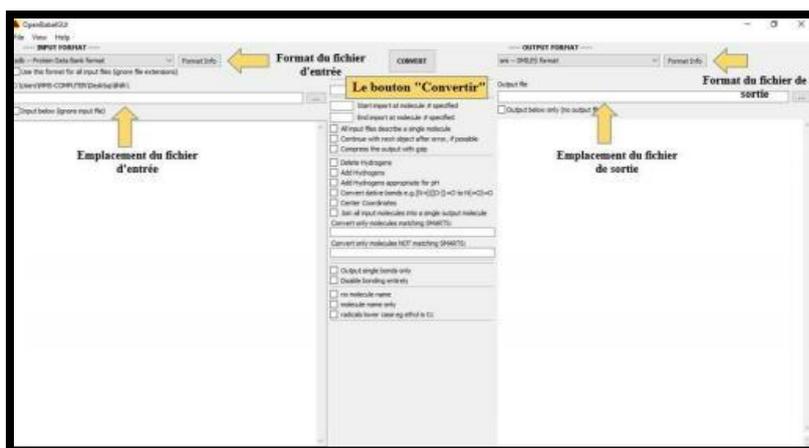


Figure N°23 : L'interface de logiciel Open Babel Version (2.0.2).

1.5. Excel Microsoft 2010

Il est utilisé pour tracer une courbe de corrélation et définir le coefficient de corrélation (r) entre le logarithme décimal de l'activité biologique que reflètent la concentration inhibitrice 50 (log IC50) et leurs scores et cela pour tester la fiabilité du programme AutoDock [73].

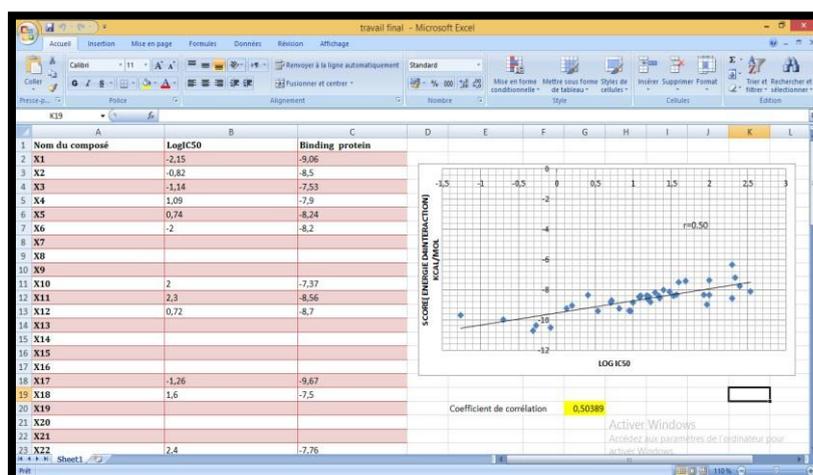


Figure N°24 : Le logiciel Excel.

1.6. SwissADME

Ce serveur permet de calculer des descripteurs physicochimiques ainsi que des propriétés pharmacocinétiques des composés. On peut consulter ce serveur via le lien: <http://www.swissadme.ch/>. [74].

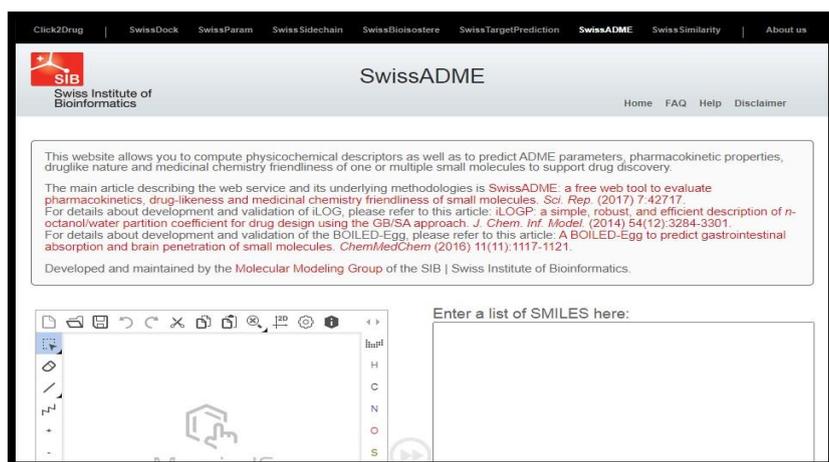


Figure N°25 : L'interface graphique de SwissADME.

1.7. PreADMET

C'est un serveur en ligne permettant de prédire les données ADMET. Dans notre travail, ce serveur a été utilisé pour prédire plusieurs critères régissant la toxicité potentielle de nos composés. On peut consulter ce serveur via le lien : <https://preadmet.bmdrc.kr/>. [75].

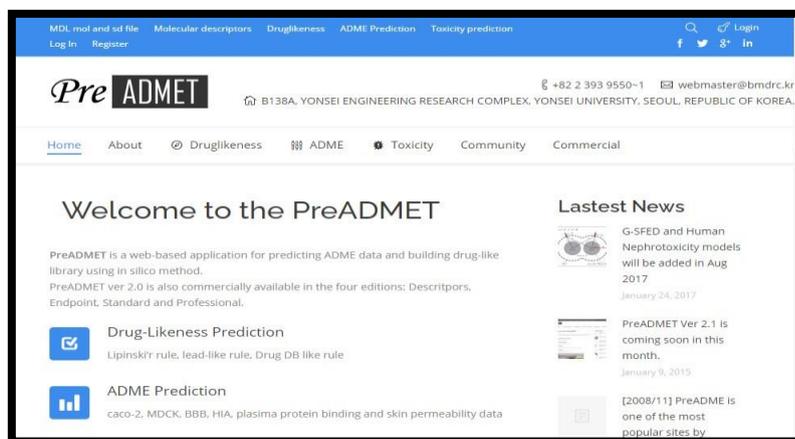


Figure N°26 : L'interface graphique PreADMET.

2. Méthodes

Le docking moléculaire par AutoDock a été réalisé en trois étapes complémentaires :

- La sélection et la préparation de la cible.
- La construction et la préparation des ligands.

➤ Le docking moléculaire.

2.1. Le Choix de la protéine (la cible)

La structure 3D de L'AChE, objet de notre étude, a été téléchargé sous format *pdb* via la banque de données Protein Data Bank. Cette dernière nous a proposé six structures cristallographiques de l'AChE humaine en complexe avec un inhibiteur. Le Code PDB de ces complexes ainsi que leurs résolutions sont représentés dans le tableau N°2.

Tableau N°2 : Codes PDB des complexes AChE humaine/Inhibiteur avec leur résolution.

Code PDB	Code d'inhibiteur	Résolution (Å)
4M0E	1YL	2.0
2JF0	P6G	2.50
5EHN	NAG	2.60
5EIH	PZ5	2.70
5OV9	PE4	2.40
2WLS	NAG	2.60

Parmi ces structures cristallographiques nous avons choisi celle portant le code **4M0E**, car il s'agit d'une structure correctement définie avec une résolution de 2.00 Å.

Le docking moléculaire par Autodock s'accomplit en cinq étapes complémentaires :

2.2. Préparation de la cible

Le complexe 4M0E obtenu via la PDB ne peut pas être utilisé directement en Docking moléculaire sans une préparation préalable. En effet, la protéine de ce complexe a été séparée de son ligand, co-cristallisé afin d'obtenir un récepteur avec un site actif libre. Par la suite, les molécules d'eau ainsi que les ligands étrangers, ayant servi à la cristallographie, ont été aussi éliminés. La cible ainsi préparée a été exportée sous le format *.pdb*.

Le sous programme AutoDock Tools nous a permis de préparer la cible par l'ajout des hydrogènes polaires puis fusion des non-polaires ensuite addition de la charge de type "Kollman" et enregistrement des modifications sous format *.pdbqt* (format propre à AutoDock).

2.3. Préparation des ligands

Dans notre étude, nous avons tiré 46 inhibiteurs de l'AChE à partir de la littérature. Ces molécules ont été dessinées avec le programme de construction moléculaire « Titan » puis enregistrées sous format *.pdb* après minimisation de leur énergie intramoléculaire.

Les ligands sont ensuite traités par le sous-programme Autodock Tools en contrôlant leurs mouvements tout en définissant automatiquement leurs atomes aromatiques, leurs liaisons flexibles ainsi que leurs angles de torsion. A l'instar de la cible l'ajout des hydrogènes polaires puis fusion des non- polaires ensuite enregistrement du ligand modifié sous format *.pdbqt*.

2.4. Calcul des grilles potentiel

Les grilles de potentiels sont calculées par le programme AutoGrid 4 selon les instructions du fichier de paramétrage qu'on lui fournit. Ce fichier de paramétrage est un fichier texte dont l'extension *gpf* (*Grid Parameters File*). Lors du docking moléculaire, le programme AutoDock utilise une boîte 3D englobant largement le site actif de la cible. Dans notre cas, le centre de cette boîte ($X = -17.171$, $Y = -42.504$, $Z = 25.612$) ainsi que ses dimensions ($40 \times 40 \times 40 \text{Å}$) sont proportionnels à la taille des ligands étudiés.

L'étape suivante consiste à exécuter les instructions contenues dans le fichier *.gpf* grâce au sous-programme AutoGrid4 qui sert à calculer le score entre les différents types d'atomes de la protéine et le ligand. Les résultats sont générés dans un fichier *.glg*.

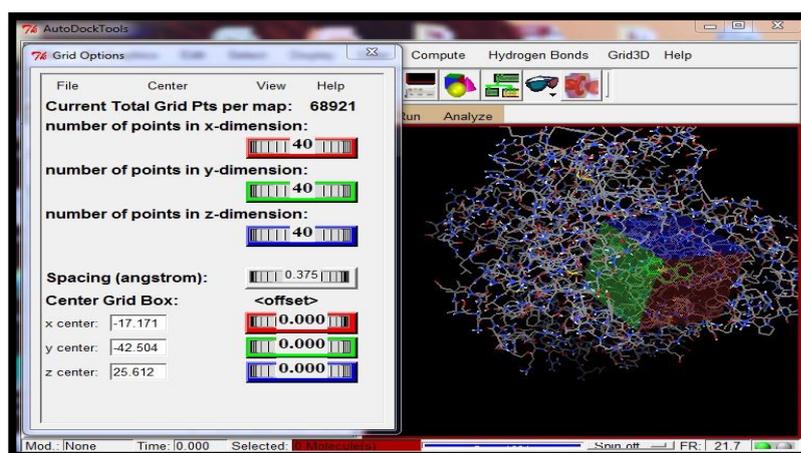


Figure N°27 : Positionnement de la boîte dans le site actif de **4M0E** avec ses coordonnées et ses dimensions.

2.5. La recherche des solutions d'amarrage

La recherche des solutions d'amarrage est réalisée par le programme AutoDock en fonction des paramètres qu'on lui transmet dans un fichier texte de format *.dpf* (*Dock Parameters File*). Ce fichier de paramétrage, fourni au programme, contient les informations suivantes :

- Les noms des fichiers contenant le ligand et les grilles de potentiels à utiliser.
- L'état initial du ligand (position, orientation et conformation aléatoire ou précisée).
- La méthode de recherche à utiliser avec les paramètres associés.

Dans le présent travail, l'algorithme génétique d'AGL a été utilisé avec ses paramètres par défaut:

- La taille de la population : 150.
- Le nombre maximum d'évaluations d'énergie : 2500000.
- Le nombre maximum de générations : 27000.
- Le niveau de sélection élitiste : le nombre des meilleurs individus qui survivent automatiquement à la génération suivante.
- La valeur standard est 1 ; le taux de croisement est 0.8.
- Le taux de mutation : 0.02.
- Le nombre de cycles à exécuter, c'est-à-dire le nombre de solutions souhaitées : 10.

2.6. Analyse des résultats

Les résultats de docking effectués par le programme AutoDock sont enregistrés dans un fichier *.dlg*. Ce fichier fournit les conformations spatiales des 10 meilleures positions du ligand

dans le site actif de l'enzyme, leurs scores ainsi que les valeurs de leur l'écart quadratique moyen (Root Mean Square Deviation ou le RMSD).

La lecture du fichier *.dlg* par l'interface graphique AutoDock permet la visualisation du mode d'interaction entre les meilleures conformations du ligand et le site actif tout en affichant les différents types des liaisons formées.

2.7. Les tests de fiabilité du programme de docking

Avant d'aborder l'étude des interactions AChE-inhibiteur, il était indispensable de valider le protocole de docking moléculaire décrit dans la section précédente. La performance du programme AutoDock a été jugée au moyen de 3 tests : le test par RMSD, l'analyse visuelle et le test de corrélation linéaire.

2.7.1. Le test RMSD

Il correspond à la moyenne de la déviation de chacun des atomes du ligand (ligand du calcul) par rapport à ceux de la molécule d'origine (ligand de référence).

La performance de docking est évaluée en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. La valeur seuil admise est une différence maximale de 2 Å [76] [77].

Dans notre cas, le test de fiabilité du programme AutoDock par RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand pris de manière arbitraire via la PDB.

2.7.2. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape complémentaire du test RMSD. Cette étape nous permet de vérifier la superposition du modèle de chaque ligand simulé par AutoDock vis-à-vis de sa pose de référence.

Les simulations sont fiables s'il y a une différence significative entre la pose du ligand générée par docking et celle déterminée expérimentalement.

2.7.3. Le coefficient de corrélation

Le coefficient de corrélation évalue le degré de similitude entre deux séries de variables attribués à une même série d'objets [78]. Ce test permet d'évaluer le degré de corrélation qui

existe entre les énergies d'interaction de 46 inhibiteurs simulés par AutoDock et les valeurs des IC50 déterminées expérimentalement des inhibiteurs étudiés. Plus le coefficient de corrélation est proche des valeurs extrêmes soit -1 ou 1, plus la corrélation linéaire entre les deux variables est forte, plus le logiciel est fiable.

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de L'AChE

3.1. Criblage virtuel d'une collection de similaires

À l'issue de l'étude de corrélation linéaire nous avons choisi, parmi les 46 inhibiteurs de l'AChE, un composé ayant présenté un faible score. Afin d'améliorer davantage aussi bien son affinité envers l'AChE que son profil ADMET, ce composé a été pris comme structure de départ pour obtenir une collection de composés similaires via la banque de données PubChem. Avec un pourcentage de similarité de 86%, cette banque de données nous a proposé 326 composés similaires de notre structure de départ. Cette collection de similaires a fait l'objet d'une campagne de criblage virtuel avec AutoDock.

3.2. Modification par substitution

Le composé similaire qui a le meilleur score sera sélectionné pour mener une étude de substitution afin d'améliorer d'avantage son score. 45 modifications par mono-substitutions et 30 modifications par bi-substitutions. Au total 75 substitutions ont été effectuées. Les groupements ajoutés sont représentés dans la figure N°28.

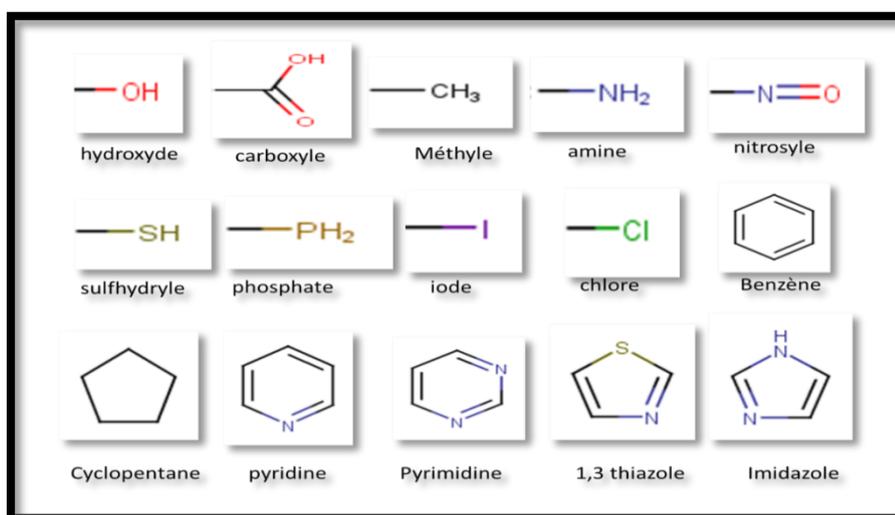


Figure N°28 : Les différentes fonctions ajoutées.

4. Les propriétés ADMET

Dans notre travail, nous avons utilisé le serveur SwissADME accessible sur (<http://www.swissadme.ch>) afin de simuler les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant les paramètres ADME des meilleurs inhibiteurs obtenus. Parmi ces critères, nous décrivons ici la règle de Lipinski [79], la règle de Veber [80]. l'inhibition des cytochromes P450, l'absorption gastro-intestinale, le passage à la barrière hémato-encéphalique, l'accessibilité à la synthèse chimique ...etc.. Par la suite, plusieurs critères de toxicité ont été simulés via le serveur PreADMET. (<https://preadmet.bmdrc.kr/toxicity/>).

4.1. Propriétés physico-chimiques

4.1.1. La règle de Lipinski

Chaque médicament potentiel doit se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. La règle de Lipinski, aussi connue sous le nom : Règle de 5, permet de vérifier la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D.

Les critères sont :

- Poids moléculaire (PM) ≤ 500 Da.
- Coefficients de partage octanol-eau ($\log P$) ≤ 5
- Le nombre d'accepteur d'hydrogène (n.ON) ≤ 10 .
- Le nombre de donneur d'hydrogène (n.OH/NH) ≤ 5 .
- Le nombre de liaisons flexibles (n.LF) ≤ 15 . [79]

4.1.2. La règle de Veber

Deux autres critères introduits par Veber sont souvent employés en complément avec la règle des 5. Cette règle permet également de confirmer la biodisponibilité orale d'un composé répondant à la règle de Lipinski. Les critères de cette règle sont :

- La surface polaire de la molécule TPSA ≤ 140 Å²

- Nombre de liaisons à libre rotation ≤ 10 . [80].

4.1.3. La solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau est une grandeur correspondant à la masse maximale de soluté pouvant être dissout dans un litre de solution. À une température donnée, l'unité de solubilité est généralement exprimée en mg / L (milligrammes par litre) ou en ppm (parties par million) [81].

4.1.4. Accessibilité à la synthèse

Après avoir examiné un panel de substances pour en déterminer leur activité, l'une des questions les plus importantes à répondre concerne l'accessibilité synthétique relative aux composés les plus intéressants. Bien que l'accessibilité synthétique ne soit pas le seul facteur à prendre en compte lors de la définition des priorités pour le suivi, elle constitue l'un des facteurs les plus importants et décisifs dans le succès ou l'échec de nombreux efforts d'optimisation [82]. Dans notre travail, l'accessibilité à la synthèse chimique a été évaluée en valeurs allant de 1 (très facile à synthétiser) jusqu'à 10 (très difficile à synthétiser).

4.2. Propriétés pharmacocinétiques

4.2.1. L'absorption gastro-intestinale

Ce phénomène indique la capacité d'un composé à traverser la barrière gastro-intestinale pour accéder au sang. L'administration de médicaments doit surmonter de nombreux obstacles, notamment l'environnement gastrique acide et la sécrétion continue de mucus qui protège le tractus gastro-intestinal. Un bon candidat médicament doit pouvoir traverser le tractus gastro-intestinal (GI) pour atteindre sa cible [83].

4.2.2. LA BBB perméabilité

Le système nerveux central est bien protégé par la barrière hémato-encéphalique (Blood Brain Barrier) (BBB) des agents pathogènes, des toxines et des hormones circulant dans le sang. En raison de cette barrière, de nombreux médicaments potentiels pour le traitement de maladies du système nerveux central ne peuvent atteindre le cerveau à des concentrations suffisantes [84].

4.2.3. Inhibition de CYP450

La connaissance de l'interaction des molécules avec les cytochromes P450 (CYP) est également essentielle car cette superfamille d'isoenzymes est l'un des éléments clé dans l'élimination des médicaments par biotransformation métabolique. Elles existent sous plusieurs iso-formes (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4). La prédiction de l'interaction de nos meilleurs inhibiteurs avec ces iso-formes a été également essentielle puisque l'inhibition de ces iso-enzymes est certainement l'une des principales causes des interactions médicamenteuses entraînant des effets toxiques ou indésirables [85].

4.3. Les tests de toxicité

Dans notre étude nous avons fait recours au serveur web PreADMET afin de déterminer le profil de sécurité et aussi de simuler les degrés des effets toxiques potentiels d'un composé grâce à plusieurs tests qui sont :

4.3.1. Le test d'Ames

Le test d'Ames est un test de mutation génique [86]. Pour tester la mutagenicité d'un composé. Il a été développé dans les années 1970 par Ames et ses collègues [87]. Ce test consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques (délétion, substitution et addition) chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* qui sont auxotrophes pour l'histidine (His-) [88]. Les cellules mutantes provoquent une mutation permettant un retour à la croissance sur un milieu sans histidine, induisant ainsi une réversion de la mutation au niveau de la souche testée et devient (His+) [89]. C'est habituellement un écran préliminaire avant l'expérimentation animale (Voir figure N°29).

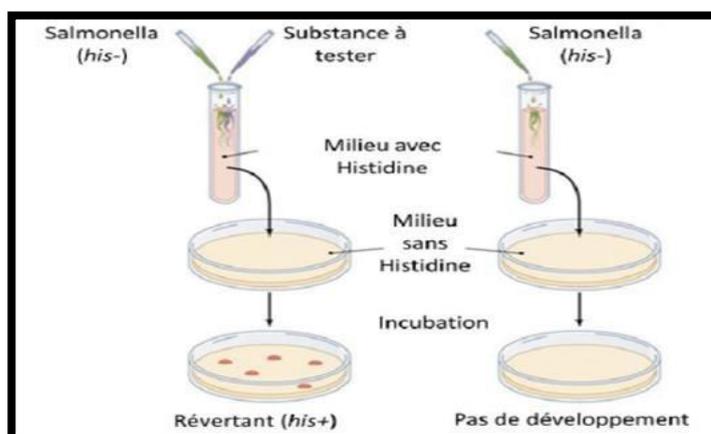


Figure N°29 : Schéma explicatif de test d'Ames [90].

4.3.2. Le test de la cancérogénicité pour les souris et les rats

Les études de cancérogenèse se font sur des modèles animaux de rongeurs (les rats et les souris). Ces études jouent un rôle essentiel dans l'identification de composé potentiellement dangereux pour l'homme. En fait, presque tous les agents cancérogènes connus chez l'homme sont également cancérogènes chez ces deux espèces [91].

4.3.3. Le test de hERG inhibition

hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) code pour un canal potassique générateur de tension qui est un composant clé dans la formation du potentiel d'action cardiaque. Le blocage de ce canal entraîne des fibrillations en cardiologie qui peut aboutir à un arrêt cardiaque.

4.3.4. Toxicité aigue

Les tests de toxicité aigüe permettent d'évaluer le degré auquel une molécule peut nuire à un organisme vivant. Ces tests se font habituellement sur différents organismes aquatiques tels que :

➤ **Les algues (*algae*)**

Ce test permet d'évaluer la toxicité chronique des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce.

➤ **Les crustacés (*Daphnia magna*)**

Les daphnies sont des petits crustacés vivant principalement en eau douce (rivière, étang, lac), espèces utilisées comme modèle biologique en toxicologie [92].

➤ **Le test de la toxicité aigue sur le Medaka**

C'est un petit poisson qui permet d'évaluer d'oestrogenicité des composés perturbateurs du système endocrinien [93].

➤ **Le test de la toxicité aigue sur Minnow**

Pimephales promelas est une espèce de poisson utilisée pour l'évaluation de la toxicité aigue ; les poissons sont petits et faciles à cultiver en laboratoire grâce à leur cycle de vie court et leur taux de fertilisation et d'éclosion élevés [94].



Chapitre 5

RESULTATS ET DISCUSSION



1. Tests de fiabilité du programme de docking

Avant de se lancer dans le travail de recherche *in silico*, on doit vérifier si le protocole que nous venons de développer est correct ; nous avons jugé utile d'évaluer d'abord la performance du programme AutoDock par trois tests différents :

- l'écart quadratique moyen ou le RMSD (root mean square deviation).
- L'analyse visuelle.
- Le coefficient de corrélation (r).

1.1. Le test RMSD (Root Mean Square Deviation)

Ce test a été réalisé sur une série de 100 complexes protéine-ligand tirés de façon aléatoire de la PDB. Au cours de ce test, nous avons évalué la capacité d'AutoDock à prédire l'emplacement correct de chaque ligand au sein du site actif de la protéine. La prédiction est acceptable si les valeurs de RMSD ne dépassent pas 2Å [95]. La liste des complexes étudiés avec leurs valeurs de RMSD est représentée dans l'annexe-1. Les résultats du RMSD sont illustrés dans la figure N°30.

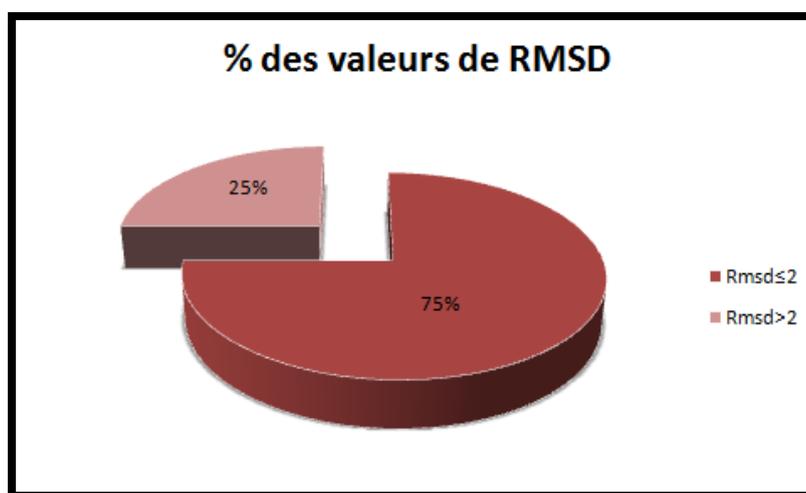


Figure N°30 : Résultats en pourcentage des valeurs de RMSD obtenus par « AutoDock ».

Il ressort de la figure N°30 que 75% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égale à 2 Å alors que seulement 25% sont supérieures à cette valeur seuil. Conformément au travail de Krid. Y [96] révélant un taux de RMSD de 73% inférieur à 2Å. Ce qui montre la pertinence de nos résultats, donc le programme AutoDock simule correctement les interactions Protéine-Ligand.

1.2. L'analyse visuelle

L'évaluation de la fiabilité par le test RMSD ne s'accomplit qu'après vérification que les ligands (expérimental et prédit) sont superposables atome par atome. À propos des prédictions par le logiciel de docking : Autodock, nous avons choisi trois résultats de docking de différents complexes dont le premier est à RMSD inférieur à 2 Å ; le deuxième est aux alentours de 2 Å ; quant au troisième, il est nettement supérieur à 2 Å. Les poses des ligands simulés par Autodock (en jaune) et les pose de références issues de la PDB (en bleu). (Voir figure N°31).

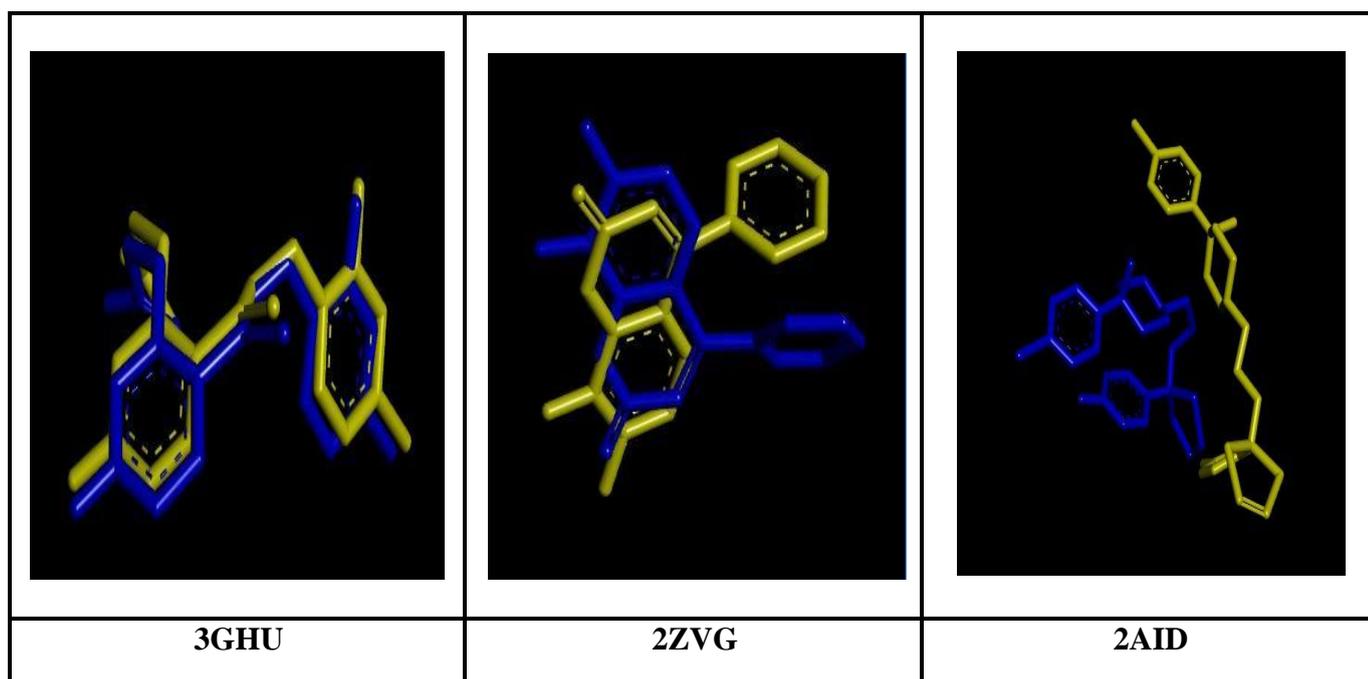


Figure N°31 : Superposition des trois ligands des complexes (**3GHU**, **2ZVG**, **2AID**) et ceux calculés par docking moléculaire avec Autodock.

Tableau N°3 : différents valeurs de RMSD et ses descriptions.

N°	Complexe	RMSD (Å)	Description du RMSD
1ier	3GHU	0.65	Meilleur
2ème	2ZVG	1.65	Intermédiaire
3ème	2AID	4.47	Mauvais

1.3. Le coefficient de corrélation(r)

Ce test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les énergies d'interaction (ΔG) des inhibiteurs simulés avec AutoDock et les valeurs expérimentales de leurs IC50. Au total, 46 inhibiteurs de l'AChE issus de la littérature avec des IC50 connus ont été utilisés pour réaliser ce test. À l'aide du programme Excel, nous avons tracé la courbe de régression linéaire. À cause de valeurs très divergentes des IC50, nous nous sommes servis des valeurs de LogIC50 pour tracer cette courbe (Voir figure N°32). Les résultats des énergies d'interaction ΔG fournis par AutoDock des inhibiteurs étudiés ainsi que les valeurs de leurs IC50 et Log IC50 sont représentés dans le tableau N°4.

Tableau N°4 : Energie d'interaction, IC50 ainsi que les valeurs de Log IC50 des 46 inhibiteurs de l'AChE étudiés.

Composé	IC50 (μM)	Log IC50	Score (Kcal/mole)	Référence
1	0.007	-2,154	-9,06	[97]
2	0.15	-0,823	-8,5	[97]
3	0.072	-1,142	-9.6	[97]
4	0.0483	-1.316	-7,9	[97]
5	5.5	0.74	-8,24	[97]
6	0.01	-2	-8,2	[97]
7	100	2	-7,37	[98]
8	2.5	0.379	-8,56	[98]
9	5.35	0,728	-8,7	[99]
10	0.055	-1,259	-9,67	[100]
11	40	1,602	-7,5	[101]
12	256	2,408	-7,76	[100]
13	200	2,301	-7.52	[101]
14	1.6	0,204	-9,04	[101]
15	3.5	0,544	-8.6	[102]
16	9.4	0,973	-9,36	[102]
17	26.69	1,426	-7,42	[103]
18	6.7	-0.826	-9,23	[103]
19	15.6	1.193	-8,59	[103]
20	16.25	1,21	-8,45	[103]
21	12.35	1,09	-8,49	[103]
22	100.2	2	-7.24	[103]
23	85.6	1,932	-8,33	[103]
24	30.4	1,482	-8,13	[103]
25	37.8	1,577	-8,32	[103]

26	19.8	1,296	-8,18	[103]
27	22.3	1,348	-8,41	[103]
28	219.9	2,342	-7,2	[102]
29	93.6	1,971	-8,97	[103]
30	347.6	2,541	-8,11	[102]
31	2.6	0,414	-8,35	[102]
32	15.21	1,182	-8,38	[104]
33	12.16	1,084	-8,46	[104]
34	33.7	1,527	-8,4	[104]
35	22.76	1,357	-8,55	[104]
36	17.02	1,23	-8,8	[103]
37	12.87	1,109	-8,39	[103]
38	10.03	1.001	-9,15	[103]
39	8.98	0.953	-8,84	[103]
40	25.58	1,407	-8,01	[105]
41	0.5270	-0,278	-10,35	[106]
42	0.1998	-0,699	-9,96	[106]
43	0.4868	-0,312	-10,69	[106]
44	5.2260	0,718	-8,83	[106]
45	0,8243	-0,083	-10,49	[106]
46	1,3470	0.129	-9.23	[106]

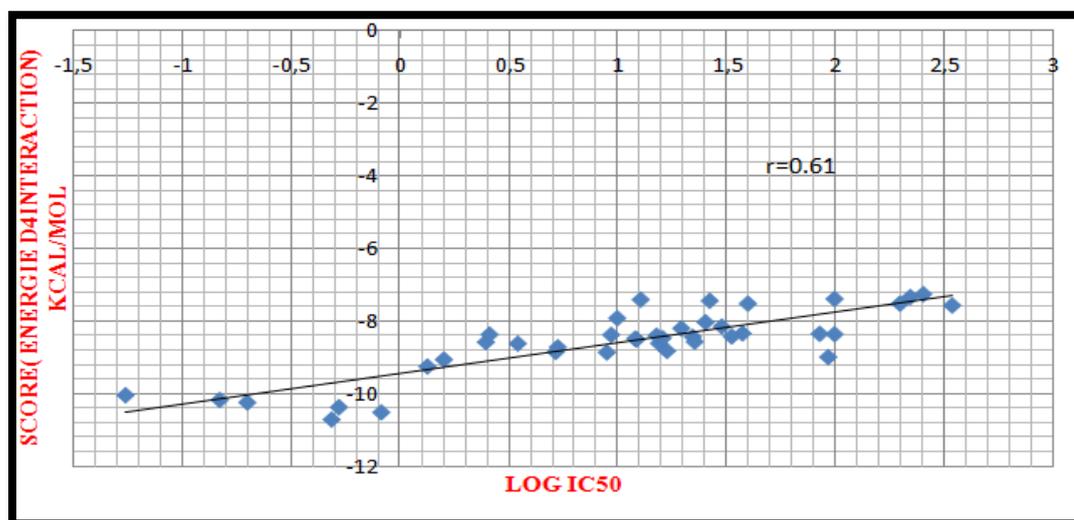


Figure N°32 : Courbe de régression linéaire entre les valeurs de LogIC50 et les énergies d'interactions des inhibiteurs étudiés.

L'analyse par régression linéaire (figure N°32) montre qu'il existe une forte corrélation entre les deux paramètres analysés (les énergies d'interaction et les valeurs de Log IC50 des inhibiteurs étudiés) et ce avec un coefficient de corrélation « r » égal à 0.61. Cette valeur supérieure à 0.5 signifie qu'il y'a une corrélation. Ces résultats sont en accord avec les travaux de BENSEGUENIA en 2007 montrant qu'un programme de docking moléculaire est aussi performant quand la valeur absolue du coefficient de corrélation linéaire(r) dépasse 0.5 [107].

1.4. Conclusion

À la lumière des résultats obtenus avec les tests de fiabilité par RMSD, analyse visuelle et régression linéaire, le programme Autodock peut être considéré comme assez performant, nous pouvons donc utiliser ce programme sans trop risque d'erreurs, pour étudier *in silico* l'inhibition de l'AChE par différents inhibiteurs.

2. Inhibition de l'AChE par divers inhibiteurs

Le test de corrélation linéaire décrit précédemment nous a permis de révéler, parmi les 46 inhibiteurs étudiés, le composé **45** comme l'un des meilleurs inhibiteurs de l'AChE tant sur le plan expérimental (IC50 = 0,8243 μ M [106]) et théorique par docking moléculaire qui a donné l'un des meilleurs scores dans cette étude soit (-10.49 kcal/mole).

L'analyse visuelle montre que le composé **45** est bien positionné dans le site actif de l'AChE (figure N°33) en formant une seule liaison hydrogène au sein du site actif (figure N°34). La liaison est située entre le Phe295 et l'oxygène (O) de la fonction carboxyle (COOH) avec une distance égale à 2.04 Å. Le complexe AChE- composé **45** est stabilisé également par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus Trp286, Tyr337, Tyr124, Gly11, Tyr341, Asp74.

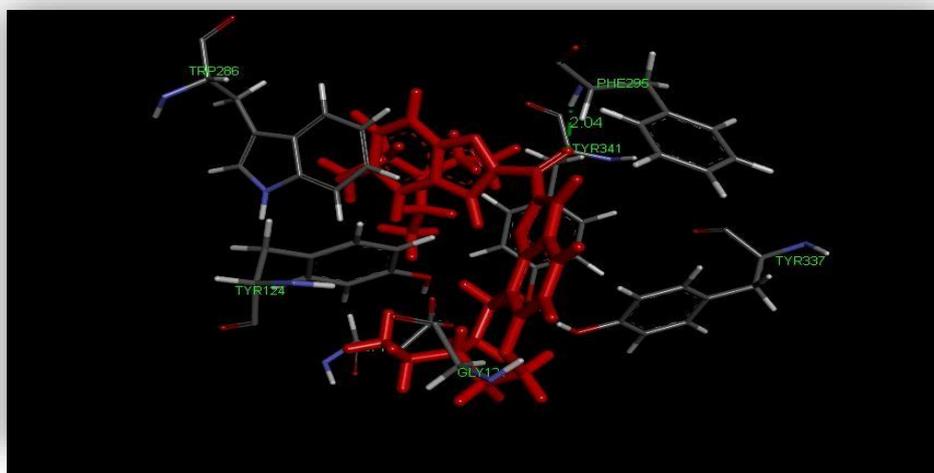


Figure N°33 : Mode d'interaction du composé **45** dans le site actif de l'AChE.

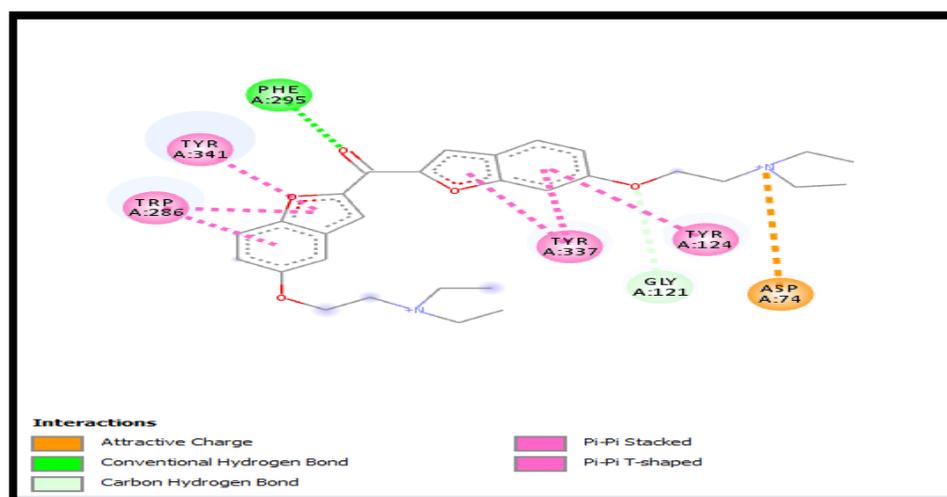


Figure N°34: Diagrammes à deux dimensions (2D) des interactions AChE-composé 45.

3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'AChE

3.1. Criblage virtuel d'une collection de similaires chimiques

Le composé **45** a été utilisé comme structure de départ pour rechercher via la PubChem des composés similaires. Cette chimiothèque nous a proposé une collection de 326 similaires avec un taux de similarité allant jusqu'au 86 %. Dans l'espoir d'améliorer le score de l'inhibiteur de départ (-10.49 Kcal/mol), une série de calculs de Docking moléculaire a été menée sur la collection de similaires chimiques. Les résultats obtenus sont illustrés dans l'annexe-3.

Plusieurs similaires présentant une énergie d'interaction inférieure à -10.49 Kcal/mol ont été observés. Le composé **X23** présente le meilleur score envers l'enzyme (-11.66Kcal/mole).

L'analyse visuelle montre que ce composé est bien positionné au sein du site actif de l'AChE (Voir figure N°35) en formant 2 liaisons hydrogènes. La première liaison est formée entre le groupement amine (NH₂) de l'inhibiteur et le Trp286 du composé **X23** avec une distance égale 2.11Å. La deuxième liaison est formée entre l'hydrogène de l'inhibiteur et le Tyr337 avec une distance égale 1.91Å. (Voir figure N°36).

De même, plusieurs interactions hydrophobiques sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Leu289, Tyr72, Phe297, Tyr341, Tyr124, Phe338 du site actif de l'enzyme.

En tenant compte de la marge d'erreurs de 2 Kcal/mole du programme AutoDock, l'amélioration de l'énergie d'interaction dans le cas du composé **X23** n'était pas significative. Par conséquent nous avons procédé à une modification de la structure de départ du composé **X23** en y introduisant des groupements fonctionnels dans différentes positions et ce dans l'espoir de

proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants en présentant un meilleur profil ADME.

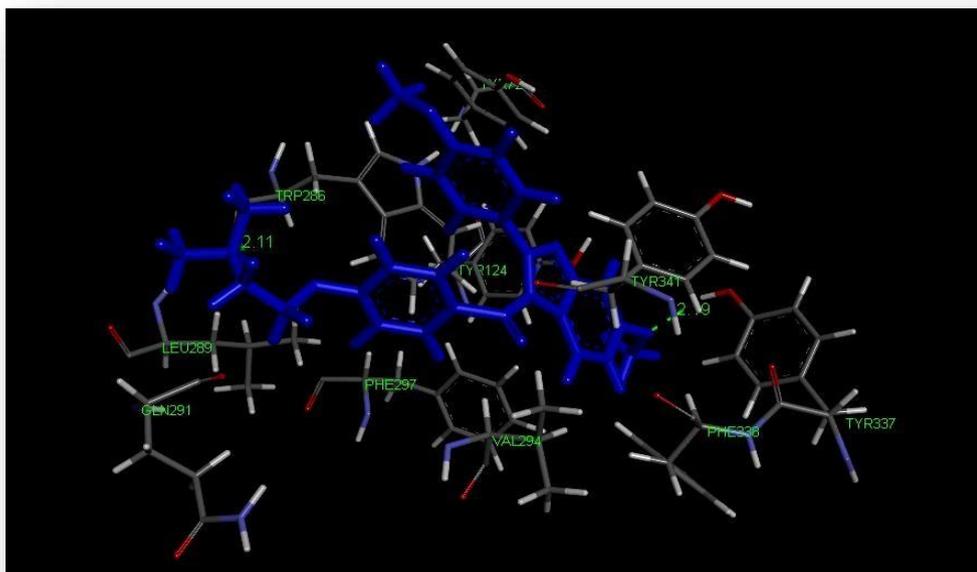


Figure N°35 : Mode d'interaction du composé **X23** dans le site actif de l'AChE.

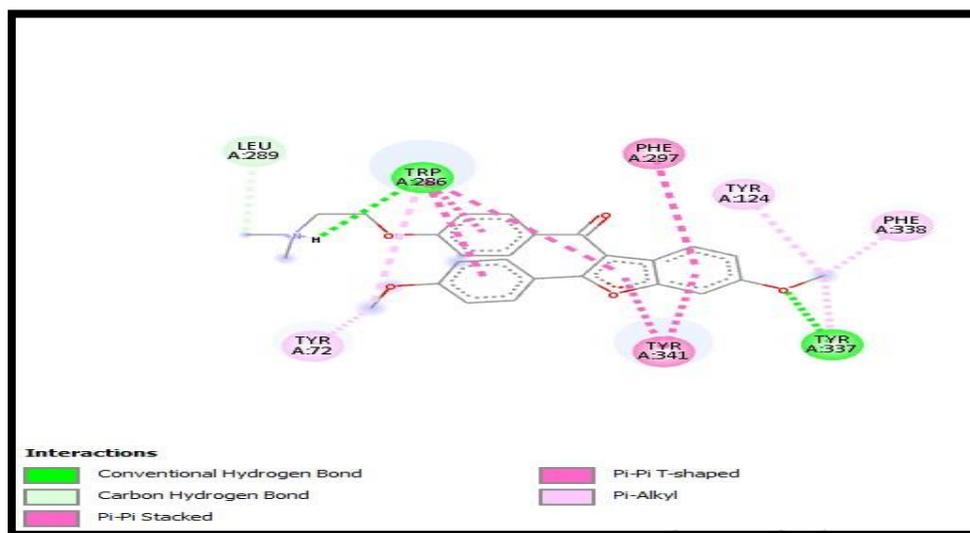


Figure N°36 : Diagrammes à deux dimensions (2D) des interactions AChE-composé **X23**.

3.2. Substitution du composé X23

Rappelons que dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'AChE, nous avons pris le composé **X23** comme structure de départ auquel nous avons introduit de nouveaux groupements présentant la capacité d'établir des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme. Comme illustré dans la figure N°37 ces groupements ont été introduits sur les positions R1, R2 et R3 de la molécule de départ. Le but de ces substitutions consiste soit en la

création de nouvelles interactions avec les résidus du site actif soit en l'amélioration des interactions déjà existantes de façon à diminuer leur énergie d'interaction vis-à-vis de la cible.

3.2.1. Mono-substitution

Dans un premier temps, nous avons introduit un seul groupement chimique sur une seule des trois positions illustrées sur la figure N°37. Au total, 45 composés issus de la mono-substitution ont fait l'objet d'une campagne de docking moléculaire à l'égard de l'AChE. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°5.

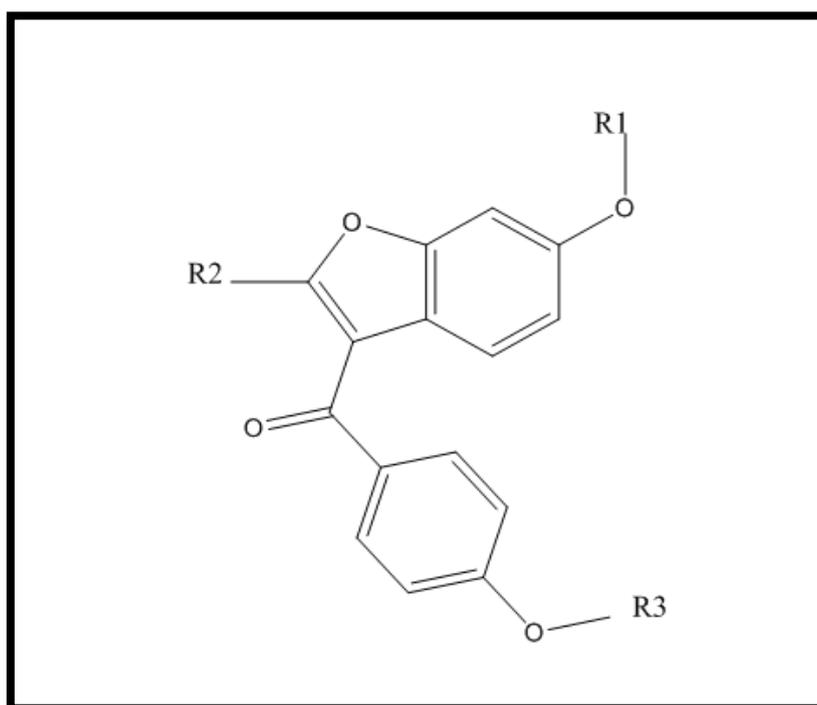


Figure N°37 : Représentation des radicaux R1, R2 et R3 dans la structure de base du composé X23.

Tableau N°5 : Structure et énergie d'interaction des 45 composés issus de la mono- substitution.

Composé monosubstitué	R1	R2	R3	ΔG Score AutoDock (Kcal/mol)
M1	OH			-11.03
M2		OH		-10.10
M3			OH	-10.81
M4	COOH			-10.23
M5		COOH		-10.10
M6			COOH	-8.98
M7	CH3			-9.36

M8		CH3		-9.39
M9			CH3	-10.84
M10	NH2			-10.69
M11		NH2		-9.62
M12			NH2	-10.77
M13	NO			-11.29
M14		NO		-10.12
M15			NO	-11.46
M16	SH			-10.85
M17		SH		-9.93
M18			SH	-10.65
M19	PH2			-10.58
M20		PH2		-9.95
M21			PH2	-10.54
M22	I			-11.56
M23		I		-10.54
M24			I	-10.86
M25	CL			-11.24
M26		CL		-9.88
M27			CL	-10.50
M28	Benzène			-11.41
M29		Benzène		-11.70
M30			Benzène	-11.41
M31	Cyclopentane			-11.65
M32		Cyclopentane		-11.88
M33			Cyclopentane	-10.99
M34	Pyridine			-11.23
M35		Pyridine		-10.43
M36			Pyridine	-11.85
M37	Pyrimidine			-10.99
M38		Pyrimidine		-10.42
M39			Pyrimidine	-10.75
M40	1,3 thiazole			-11.58
M41		1,3 thiazole		-10.32
M42			1,3 thiazole	-11.20
M43	Imidazole			-11.74
M44		Imidazole		-10.45
M45			Imidazole	-10.46

Il ressort du tableau N°5 que le composé **M32** présente la meilleure valeur de l'énergie d'interaction soit (-11.88 Kcal/mole). Ce score résulte de la mise en place de trois liaisons

hydrogènes avec le site actif de l'enzyme. Comme le montre la figure N°39, la première liaison est constatée entre l'oxygène de la liaison carboxyle de C=O du composé **M32** et le résidu Phe395 avec une distance égale à 2.64 Å. La deuxième liaison est constatée entre l'oxygène de la fonction carboxyle de C=O du composé **M32** et le résidu Arg296 avec une distance égale à 2.26 Å, la troisième liaison est constatée entre l'oxygène de la fonction alcool de C-O du composé **M32** et le résidu tyr337 avec une distance égale à 2.08 Å. De plus, de nombreuses interactions hydrophobiques participent à la stabilité du complexe AChE-**M32**. Ces interactions font intervenir les résidus Tyr124, Phe338, Ser293, Glu292, Gly342, Tyr341, Trp286 du site actif de l'enzyme.

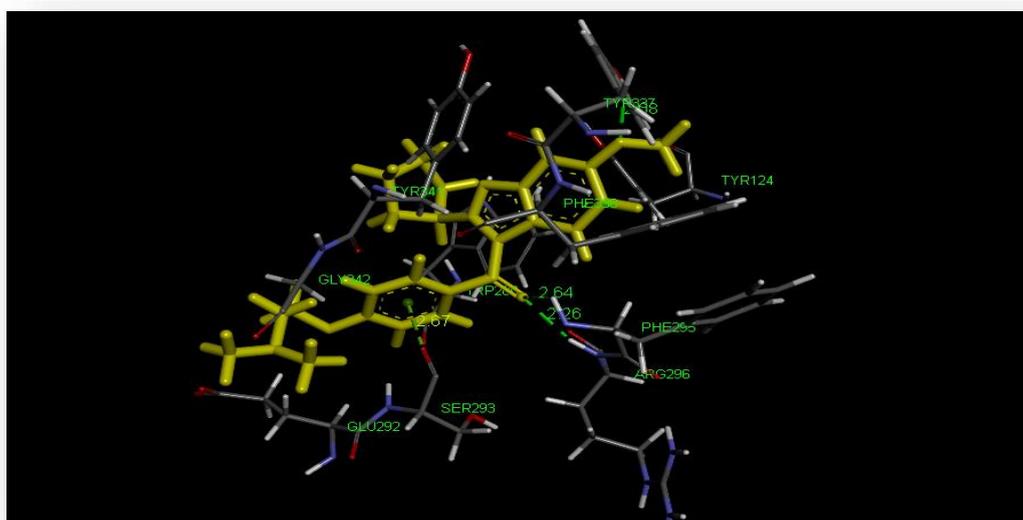


Figure N°38 : Mode d'interaction du composé M32 dans le site actif de l'AChE

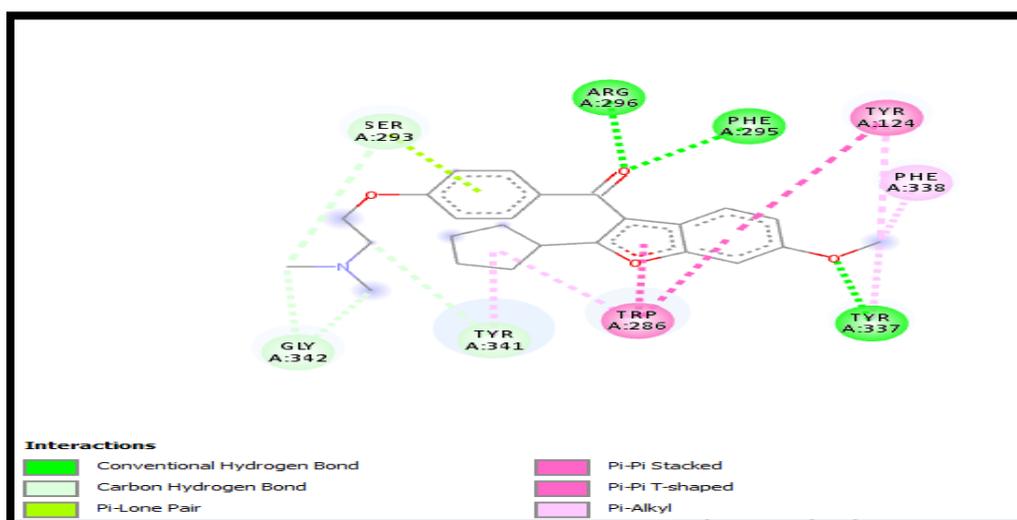


Figure N°39 : diagrammes à deux dimensions (2D) des interactions AChE-composé **M32**.

3.2. 2. Bi-substitution

Dans un deuxième temps, nous avons procédé à une bi-substitution en prenant comme structure de départ le composé **M32** issu de la mono-substitution au quel nous avons introduit les mêmes groupements fonctionnels que précédemment. Le docking moléculaire des 30 composés issus de la bi-substitution fait ressortir le composé **M68 et M70** comme meilleurs inhibiteurs de l'AChE obtenus dans cette étude avec des énergies d'interactions respectives égale à -12.37 kcal/mole et -12.08 kcal/mole (Voir tableau N°6).

Tableau N°6 : Structure et énergie d'interaction des 30 composés issus de la bi-substitution.

Composé bi- substitué	R1	R3	ΔG Score AutoDock (Kcal/mol)
M46	OH		-10.88
M47		OH	-10.54
M48	COOH		-10.41
M49		COOH	-9.34
M50	CH3		-10.73
M51		CH3	-10.21
M52	NH2		-11.25
M53		NH2	-10.38
M54	NO		-11.70
M55		NO	-10.87
M56	SH		-11.35
M57		SH	-10.42
M58	PH2		-11.03
M59		PH2	-10.47
M60	I		-11.41
M61		I	-10.64
M62	CL		-11.25
M63		CL	-10.45
M64	Benzène		-11.67
M65		Benzène	-11.59
M66	Cyclopentane		-11.36
M67		Cyclopentane	-11.20
M68	Pyridine		-12.37
M69		Pyridine	-11.15
M70	Pyrimidine		-12.08
M71		Pyrimidine	-11.61
M72	1,3 thiazole		-11.81
M73		1,3 thiazole	-11.03
M74	Imidazole		-11.10
M75		Imidazole	-11.23

Les composés **M68** et **M70** issues de la bi-substitution ne peuvent pas être proposé comme des nouveaux inhibiteurs a cause de leur GI absorption et BBB perméabilité faible. Pour cela nous avons proposé le **M32** comme nouveau inhibiteur car il répond aux règles de Lipinski et de Veber avec une GI+BBB perméabilité élevées à l’instar du standard = Donépézil . Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau N°7.

Tableau N°7 : Comparaison des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques du **M32, M68** et **M78** ainsi que le Donépézil.

Propriété	Standard= Donépézil	M32	M68	M70
Règle de lipinski	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
Règle de veber	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
GI absorption	Elevée	Elevée	Faible	Faible
BBB perméabilité	Elevée	Elevée	Faible	Faible

4. L’évaluation des propriétés ADMET du composé M32

Un bon candidat médicament doit posséder, en plus d’une activité élevée envers la cible, des propriétés ADMET compatibles avec une application biologique. Dans notre étude, il était indispensable d’évaluer certaines propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques contenant les critères ADMET des meilleurs composés issus de la mono-substitution et de la bi-substitution .Leurs propriétés ont été comparées envers celles du Donépézil. Ce médicament, disponible dans le marché, empêche la destruction de l’acétylcholine et corrigent ainsi le déficit observé dans le cerveau des personnes touchées par la maladie d’Alzheimer.

4.1. Propriétés physico-chimiques

Le composé **M32** ayant présenté le meilleur effet inhibiteur potentiel envers l’AChE a fait l’objet d’une étude computationnelle concernant ses propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques à l’aide du serveur SwissADME. Donépézil, médicament disponible sur le marché pour le traitement symptomatique de la maladie d’Alzheimer, a été utilisé comme molécule de référence. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°8.

Tableau N°8 : Le profil ADME relative des composés candidats obtenus à partir de serveur swissADME.

Propriétés	Standard=Donépézil	Composé M32
Formule	C24H29NO3	C25H31NO4
PM (g/mol) Poids moléculaire	379.49	409.52
nLF nombre de liaisons flexibles	6	8
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	4	5
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	0	0
Log P	4.00	4.21
TPSA Å²	38.77	48.00
Règle de Lipinski	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
Règle de Veber	Parfaitement conforme	Parfaitement conforme
Solubilité dans l'eau	Peu soluble	Peu soluble
Accessibilité à la synthèse	3.62	4.32

PM : poids moléculaire, **Log P** : coefficient de partage du composé Eau/octanol, **n-ON** accepteur : nombre d'accepteur d'hydrogène, **n-OHNH** donneur : nombre de donneur d'hydrogène, **TPSA** : surface totale polaire.

Le Tableau N°8 montre que le composés **M32**, à l'instar de Donépézil, répond aux règles de Lipinski et de Veber ; ce qui indique que ce composé peut être administré par voie orale sans poser de problèmes. Cependant, nous avons noté une faible solubilité de ce composé dans l'eau ainsi qu'un LogP élevée. Ceci démontre le caractère hydrophobe de notre composé rendant sa

solubilité dans les milieux aqueux difficile. Ce problème peut être résolu lors de l'optimisation de ce composé. Par ailleurs, l'une des questions les plus importantes à répondre lors de l'optimisation concerne l'accessibilité synthétique de ce composé. Ce critère a été évalué par un chiffre allant de 1 à 10. La difficulté de synthèse d'un composé est augmentée avec l'augmentation de sa valeur. Les résultats obtenus dans notre cas montre que la synthèse chimique de composés **M32** semble être réalisable sur le plan expérimental.

4.2. Propriétés pharmacocinétiques

Un bon candidat médicament doit être rapidement et complètement absorbé par voie gastro-intestinale, distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps, métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages [108]. Dans notre travail nous avons prédit plusieurs propriétés pharmacocinétiques du composé **M32** ainsi que le Donépézil à l'aide du serveur SwissADME

. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau N°9.

Tableau N°9 : Le profil ADME relative des composés candidats obtenus a partir de serveur SwissADME.

Propriétés	Standard=Donépézil	M32
GI absorption	Elevée	Elevée
BBB perméabilité	Elevée	Elevée
CYP1A2 inhibition	Négative	Négative
CYP2C19 inhibition	Négative	Négative
CYP2C9 inhibition	Négative	Positive
CYP2D6 inhibition	Positive	Positive
CYP3A4 inhibition	Positive	Positive

GI : Gastro Intestinal ; **BBB** : Blood Brain Barrier ; **CYP** : famille de Cytochrome P450.

Il ressort du tableau N°9 que le composé **M32** a présenté une forte absorption gastro-intestinale ce qui rend possible son accès au sang. Cependant, ils présentent une forte capacité à traverser la barrière hémato- encéphalique. Ce critère est très important pour les composés dont la cible se trouve dans le système cerveau central. Les résultats montrent également que le composé **M32** ainsi que le Donépézil présentent un effet inhibiteur vis-à-vis 2 isoformes

(CYP2D6 et CYP3A4) parmi les 5 isoformes de Cytochrome P450, mais n'ont aucun effet sur les 2 isoformes (CYP1A2 et CYP2C19). Un effet inhibiteur potentiel du CYP2C9 a été également constaté dans le cas du **M32**. L'inhibition de ces enzymes peut être une source importante d'interactions médicamenteuses indésirables étant donné que les changements dans l'activité enzymatique CYP peuvent affecter le métabolisme des médicaments. Cependant ces effets inhibiteurs du composé **M32** peuvent être levés lors de l'étape d'optimisation de la molécule.

4.3. Les tests de toxicité

À l'aide du serveur PreADMET, nous avons simulé la toxicité potentielle des composés **M32**. Le Donépézil a été utilisé comme molécule de référence. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°10.

Tableau N°10 : Le profil de toxicité relative des composés candidats obtenus à partir de serveur PreADMET.

Paramètre	Standard=Donépézil	M32
Test d'Ames	Mutagène	Non-mutagène
Cancérogénicité pour les souris	Négative	Négative
Cancérogénicité pour les rats	Négative	Négative
hERG_inhibition	Risque moyen	Risque moyen
algae_at	0.0104476	0.0126614
daphnia_at	0.0239157	0.0296792
medaka_at	0.0011081	0.00167771
minnow_at	0.00212956	0.000902801

Les résultats du tableau N°10 montrent que le composé **M32** contrairement au Donépézil, a un effet non-mutagène. De plus le composé **M32** n'a aucun effet cancérigène sur les souris et les rats. Nous avons également noté un risque moyen d'inhibition du gène hERG par ces molécules. Rappelons que la forte inhibition de ce gène peut causer des problèmes cardiaques plus au moins graves. Cependant, les résultats obtenus des tests de toxicité aiguë sur les différentes espèces aquatiques sont prometteurs. En effet, les valeurs obtenues sont comparativement les mêmes que celles observées dans le cas de la molécule de référence

Donépézil. Ces tests nous renseignent sur le degré auquel une molécule peut nuire à un organisme.

En conclusion, le composé **M32** a été choisi comme nouvel inhibiteur potentiel de l'AChE, avec un bon profil ADME. Les informations obtenues quant à sa toxicité potentielle seront très utiles pour une application biologique. Les résultats obtenus théoriquement dans cette étude doivent être vérifiés expérimentalement pour que cette molécule devienne un candidat médicament.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES



L'objectif primordial de notre travail de master était de proposer par docking moléculaire avec AutoDock, de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase : cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Au préalable, nous avons testé la performance du programme AutoDock utilisé dans ce travail. Pour cela nous avons fait recours à 3 tests :

Le premier test consiste à calculer le RMSD permettant d'évaluer la déviation de la pose du ligand simulée par AutoDock avec celle déterminée expérimentalement. Sur les 100 complexes pris arbitrairement de la PDB, 75% ont présenté de faibles valeurs de RMSD parfaitement dans les normes (inférieur à 2 Å). L'analyse visuelle faisant suite à ce test nous a permis d'avoir une meilleure appréciation des valeurs numériques de RMSD et confirmer la superposition des 3 complexes qui ont un RMSD inférieur, égal et supérieur à 2 Å. Le dernier test consiste à évaluer le degré de corrélation existant entre les énergies d'interaction (ΔG) des inhibiteurs simulés avec AutoDock et les valeurs expérimentales de leurs IC₅₀. Avec un coefficient de corrélation égal à 0.61 et des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å, le programme AutoDock est suffisamment fiable pour étudier *in silico* l'inhibition de l'AChE. Ces tests nous prouvent que le programme AutoDock 4.2.6 est hautement performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour simuler les interactions de l'AChE-inhibiteurs.

Dans la perspective de développer de nouveaux inhibiteurs plus affins et plus sélectifs de l'AChE, nous avons étudié profondément l'interaction du composé **45** vis-à-vis du site actif de l'enzyme. Ce composé présente de très faibles valeurs de son IC₅₀ (0,8243 μM) et de son énergie d'interaction (-10.49 Kcal/mol).

Afin d'améliorer davantage son énergie d'interaction, nous avons pris le composé **45** comme structure de départ, la PubChem nous a proposé 326 composé avec un taux de similarité allant jusqu'à 86%. Le docking moléculaire de ces composés similaires révèle le composé **X23** comme meilleur inhibiteur de cette cible avec une énergie d'interaction égale à (-11.66 Kcal/mol).

Par la suite, une série de substitutions structurales a été menée sur le composé **X23**. Nous avons effectué au total 75 substitutions en introduisant des groupements chimiques réactifs susceptibles d'établir de nouvelles liaisons hydrogène avec la cible. Le docking moléculaire de ces composés révèle le composé **M32** comme nouvel inhibiteur potentiel de l'AChE avec une énergie d'interaction égale à (-11.88 Kcal/mol).

Enfin, l'étude *in silico* portant sur l'évaluation des différentes propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques et de toxicité a montré que le composé **M32** possède un bon profil ADMET, particulièrement une bonne absorption gastro-intestinale et une BBB perméabilité élevée.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ne sont que préliminaires. Il conviendrait dans les perspectives d'avenir d'approfondir notre recherche en testant expérimentalement l'activité anti-AChE.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- [1] Empereur-Mot C. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer. Thèse de doctorat d'université : Bioinformatique. Paris : Conservatoire National Des Arts et Métiers. France. 2017. 206p.
- [2] Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat d'université : Biologie structurale. Toulouse : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2008. 258 p.
- [3] Milap A. Nowrangi, MD* Psychiatr Clin N Am 43 (2020) 383–397 <https://doi.org/10.1016/j.psc.2020.02.012>
- [4] JJ Hauw., B. Dubois. M.Verny. CH. Duychkaerts. La maladie d'Alzheimer. Pathologie. Science. 199; 162 : 162. [3]
- [5] L Gustafson. Physostigmine ant tetraaminoacridine treatment of Alzheimer's disease. Acta Neurologica Scandinavica .1993 ; 88 :149.
- [6] Otaegui-Arrazola A, Amiano P, Elbusto A, Urdaneta E, Martínez-Lage P. Diet, cognition, and Alzheimer's disease: food for thought. Eur J Nutr. 2014;53(1):1-23
- [7] Organisation Mondiale de la Santé. La démence [En ligne]; consulté le 03 mars 2020]. Disponible : <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.
- [8] Scheltens P, Blennow K, Breteler MM, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. Lancet. 2016; 388(10043):505-17.
- [9] Constanza A, Kövari E, Bouras C, Giannakopoulos P. Maladie d'Alzheimer : de la pathogénie aux perspectives cliniques. RevMed [En ligne]. 2012 [consulté le 10 mars 2020]; 8(354):1770-1774. Disponible : <https://www.revmed.ch/RMS/2012/RMS-354/Maladie-dAlzheimer-de-la-pathogenie-aux-perspectives-cliniques>.
- [10] Inserm. (maladie d'Alzheimer), une maladie neurodégénérative de mieux en mieux comprise [En ligne]. 2014 [mise à jour le 4 juillet 2014; consulté le 07 avril 2020]. Disponible : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/alzheimer-maladie>
- [11] Leuba G, Savioz A. Facteurs de risque dans la maladie d'Alzheimer. RevMed [En ligne]. 2000 [consulté le 15 avril 2020]; 4(2287). Disponible : <https://www.revmed.ch/RMS/2000/RMS2287/20293>
- [12] Huang W-J, Zhang X, Chen W-W. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. Biomed Rep. 2016;4(5):219-522.
- [13] Crichton GE, Bryan J, Murphy KJ. Dietary Antioxidants, Cognitive Function and Dementia - A Systematic Review. Plant Foods Hum Nutr. 2013;68(3):279-92.
- [14] Xu, Y.; Yan, J.; Zhou, P.; Li, J.; Gao, H.; Xia, Y.; Wang, Q. Neurotransmitter receptors and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Prog Neurobiol, 97, 1-13.2012.

[15] <http://www.mutualistes.com/alzheimer-un-nouveau-medicament>

[16] Salim S. Oxidative Stress and Psychological Disorders. *Curr Neuropharmacol*. 2014; 12(2):140-147.

[17] Barré L, Gourand F, Levacher V, Marsais F. Maladie d'Alzheimer : inhibiteur de l'acétylcholinestérase, nouveau concept de médicament, apport de l'imagerie TEP. *Médecine Nucléaire*. 2007;31(9):490-492.

[18] Fondation pour la Recherche sur l'Alzheimer. Les traitements médicamenteux de la maladie d'Alzheimer [En ligne]. Paris; 2018 [consulté le 19 avril 2020]. Disponible : <http://alzheimerrecherche.org/la-maladie-alzheimer/prise-charge-traitements/medicamenteux/>

[19] Danysz W, Parsons CG. Alzheimer's disease, B-amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - searching for the connections. *Br J Pharmacol*. 2012; 167(2):324-352.

[20] E. B. De Oliveira: "Simulation moléculaire appliquée à l'acétylation de flavonoïdes catalysés par des lipases : influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la régiosélectivité de la bioconversion", Thèse de doctorat d'université : Procédés biotechnologiques et alimentaires. Nancy : Institut National Polytechnique de Lorraine. France. p 187. 2009.

[21] Société d'Alzheimer Canada. La maladie d'Alzheimer et les facteurs de risque. [En ligne]. <http://www.alzheimer.ca/fr>. Consulté le : [01/05/2020].

[22] LAPRE, E. « EVALUATION DE LA STIMULATION COGNITIVE ET DE L'ACTIVITE PHYSIQUE SUR LE FONCTIONNEMENT EXECUTIF » ; these de DOCTORAT d'université : Sciences Humaines et Sociales Option : Psychologie .UNIVERSITE DE BORDEAUX. France., 2010.

[23] T. Ohara, Y. Doi, T. Ninomiya, Y. Hirakawa, J. Hata, T. Iwaki, S. Kanba et Y. Kiyohara, « *Glucose tolerance status and risk of dementia in the community* », *Neurology*, vol. 77, septembre 2011

[24] P.K. Crane, R .Walker, R.A Hubbard et a l. « Glucose Levels and Risk of Dementia », *N Engl J Med*, Vol .369, 2013.

[25] un rapport du GCBH propose des recommandations alimentaires pour protéger le cerveau de la maladie. Ces conseils se fondent sur une large étude de la littérature scientifique 2018.

[26] https://fr.wikipedia.org/wiki/Maladie_d%27Alzheimer#cite_note-97. Consulté le : [05 mai 2020].

[27] le poisson en général pourrait améliorer la résistance du cerveau à la démence Université de Pittsburgh, 2011

- [28] <http://www.maisons-de-retraite.fr/La-sante-des-seniors/Maladie-d-Alzheimer>. Consulté le : [18 mai 2020].
- [29] Le Manuel MSD. Maladie d'Alzheimer .Kenilworth; 2018 [consulté le 02 juin 2020]. Disponible: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/troublesneurologiques/syndrome-confusionnel-et-d%C3%A9mence/maladie-d-alzheimer>
- [30] Laura Franscini et Sarah Palma , Nutrition et Alzheimer : les polyphénols et les caroténoïdes ont-ils un effet sur le développement de la maladie d'Alzheimer ? Travail de Bachelor.
- [31] Giacobini, E.; Pharmacol. Res. 2004, 50, 433.
- [32] H. Blanche cotte, Tacrine, Dossier CNIMH; 16 (4): 55-83, 1995
- [33] G.A. Alles, Hawes RC (1940) Cholinesterases in the blood of man. J Biol Chem, 133, 375- 390
- [34] Schumacher, M.; Camp, S.; Maulet, Y.; Newton, M.; MacPhee-Quigley, K; Taylor, S. S.; Friedmann, T.; Taylor, P.; Nature 1986, 319, 407
- [35] 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.
- [36] Sussman, J. L.; Harel, M.; Frolow, F.; Oefner, C.; Goldman, A.; Toker, L.; Silman, I. Science 1991, 253, 872.
- [37] D.L. Ollis, E. Cheah, M. Cygler, B. Dijkstra, F. Frolow, S.M. Franken, M. Harel, S.J. Remington, I. Silman, J. Schrag et al. The alpha/beta hydrolase fold. Protein Eng, 5, 197-211, 1992
- [38] E. A. Barnard, the Peripheral Nervous System, Plenum Press, New York, , p: 201-224, 1974.
- [39] HALLIWELL B. Free radicals, antioxidants, and human disease : curiosity, cause, or consequence ? Lancet, 1994, 344 : 721-724
- [40] C. Jacques-Philippe, Etude des relation structure-dynamique-fonction au sien de l'acétylcholinestérase, These de doctorat, Université jiseph fourier, Grenoble, 2007.
- [41] D.A. Dougherty, Cation-pi interactions in chemistry and biology: a new view of benzene, Phe, Tyr, and Trp. Science, 271, 163-168, 1996.
- [42] D.M. Quinn, Acetylcholinesterase - Enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition-states. Chem Rev, 87, 955-979, 1987. 21: P.
- [43] Taylor and Z. Radic, The cholinesterases: from genes to proteins. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 34, 281-320, 1994.

- [44] Jacques-Philippe Colletier. Etude des relations structure-dynamique-fonction au sein de l'acétylcholinestérase. Biochimie [q-bio.BM]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Français. fftel-00263679f
- [45] S. BOUCHAGRA, MAA, Université d'EL-Oued, Etude des interactions Enzyme-Ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase
- [46] Krid Adel .Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Mémoire de magister d'université : Chimie théorique. Constantine: Université les frères Mentouri . Algérie.2008.79.
- [47] Ronald J Polinsky., Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of alzheimer's disease. Clinical Therapeutics.1998; 20:634–647.
- [48] M Harry., Greenblatt. Hay Dvir .israel silman. L Joel . Sussman. acetylcholinesterase. journal of molecular neuroscience.2003;20:369-383.
- [49] J.J. Sramek, E.J. Frackiewicz, N.R. Cutler, Exp. Opin. Invest. Drugs, 9, 2393-2402, 2000.
- [50] P. Camps, D. Munoz-Torro, Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2, 11-25, 2002.
- [51] Emanuele Perolaa., Luciano Cellaia. Dorian Lambaa. Luigi Filocamob. Mario Brufanib Long chain analogs of physostigmine as potential drugs for Alzheimer's disease: new insights into the mechanism of action in the inhibition of acetylcholinesterase. Biochimica et Biophysica Acta (BBA).1997; 1343: 41–50.
- [52] Farouk CHIBAT et Abdelaziz GUECHIRI. Contribution à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase par docking moléculaire.
- [53] Criblage virtuel par docking moléculaire bioinfopharma.ustrasbg.fr/labwebsite/publications/paper99.pdf. Consulté le [27 mai 2020].
- [54] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase – Substances Antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie. 2007. 90p.
- [55] Mokrani EL. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Mémoire du magister d'Université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2012. 75p
- [56] Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de Mycobacterium Tuberculosis par diverses molécules. Mémoire du magister d'Université : Technologies des explorations biochimiques. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2012. 70p.

- [57] Halperin I., Ma B., Wolfson H et al. Principles of Docking: An Over view of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*.2002;47: 409-443.
- [58] Benhamoud A., Boufrah M. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs De la BêtaLactamase de classe C par Docking Moléculaire. Mémoire de master d'Université : Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2017. 64p.
- [59] Judith. k, Drug desing in silico criblage virtuel de protéines a visee therapeutique . thèse de doctorat Université de Bordeaux faculté des sciences chimiques . 2011, p43
- [60] Laouar Iman. Etude des interactions Enzyme-Ligand. Cas des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.Master academique En CHIMIE. Chimie Organique Analytique. Université d'EL-Oued. Algérie.2015. 51p
- [61] Comparaison des programmes de docking les plus cités.
- [62] Taylor R.D., Jewsbury P.J., Essex J.W." A review of protein-small molecule docking methods". *J. Comput Aided Mol. Des*.2002;16:151-166.
- [63] Criblage virtuel par docking moléculaire [En ligne] <http://bioinforma.ustrasbg.fr/labwebsite/publications/paper99.pdf>. Consulté le : [29-04-2020].
- [64] Vuorinen A and Schuster D. Methods for generating and applying pharmacophoremodels as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods*. 2015; 71: 113-134.
- [65] Sotriffer C., Klebe G., Stahl M., Böhm H.-J. Docking and Scoring Functions/Virtual Screening. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 2003; 1: 281–331.
- [66] Durham T. B., Klimkowski V. J., Rito C. J., Marimuthu J., Toth J. L., Liu C., et al. Identification of Potent and Selective Hydrantoin Inhibitors of Aggrecanase-1 and Aggrecanase-2 That Are Efficacious in Both Chemical and Surgical Models of Osteoarthritis. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014; 57(24): 10476-10485
- [67] Bravo J. Development and Validation of Target-Based Drug Design Tools: Virtual Screening of Monoamine Oxidase Inhibitors. Thèse de doctorat d'université: Sciences pharmaceutiques. Genève : Université de Genève. Suisse. 2009. 215 p.
- [68] Mahdjoub . Y , Développement d'une application distribuée en utilisant la plateforme Jini « Application docking moléculaire » thèse de Magister Université des Sciences et des Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf , 2008 . p13
- [69] B. L. Dong, Q. H. Liao, and J. Wei, "Docking and molecular dynamics study on the inhibitory activity of N, N-disubstituted-trifluoro-3-amino-2-propanols-based inhibitors of cholesteryl ester transfer protein," *J. Mol. Model.*, vol. 17, no. 7, pp. 1727–1734, 2011.

[70] R. B. and A. J. O. Garrett M. Morris, David S. Goodsell, Michael E. Pique, William “Lindy” Lindstrom, Ruth Huey, Stefano Forli, William E. Hart, Scott Halliday, “AutoDock Version 4.2.5,” Citeseer, pp. 1–66, 2012.

[71] J. Koca, Z. Jirouskova, R. Svobodova Varekova, and J. Vanek, “Electronegativity Equalization Method: Parameterization and Validation for Organic Molecules Using the Merz-Kollman-Singh Charge Distribution Scheme,,” J. Comput. Chem., vol. 30, no. 7, pp. 1174–1178, 2009.

[72] <http://www.rcsb.org/pdb/> RCSB PDB : Homepage [En ligne]. Consulté le : [16 mars 2020] <http://www.rcsb.org/>.

[73] Centre national de la recherche scientifique. PubChem. [En ligne]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le [02 mai 2020].

[74] SwissADME [En ligne] <http://www.swissadme.ch/>. Consulté le [02 mai 2020].

[75] PreADMET | Prediction of ADME/Tox – Just another BMDRC Sites site [En ligne] <https://preadmet.bmdrc.kr/>. Consulté le [02 mai 2020].

[76] M. Vieth, J. D. Hirst, A. Kolinski, and C. L. Brooks, “Assessing energy functions for flexible docking,” J. Comput. Chem., vol. 19, no. 14, pp. 1612–1622, 1998.

[77] H. A. Gabb, R. M. Jackson, and M. J. E. Sternberg, “Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information,” J. Mol. Biol., vol. 272, no. 1, pp. 106–120, 1997.

[78] H. Abdi, “The Kendall Rank Correlation Coefficient,” *Encycl. Meas. Stat.*, pp. 1–7, 2006

[79] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, “Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, pp. 4–17, 1997.

[80] Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of medicinal chemistry*. 2002; 45: 2615-2623.

[81] Water Solubility - ChemSafetyPro.COM [En ligne] https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Water_Solubility.html. Consulté le: [29 mai 2020]

[82] Predicting Synthetic Accessibility | Depth-First [En ligne] <https://depthfirst.com/articles/2010/10/28/predicting-synthetic-accessibility/>. Consulté le : [15 mai 2020].

[83] L. M. Ensign, R. Cone, and J. Hanes, “Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: The gastrointestinal mucus barriers,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, no. 6, pp. 557–570, 2012.

[84] S. Wohlfart, S. Gelperina, and J. Kreuter, “Transport of drugs across the blood-brain barrier by nanoparticles,” *J. Control. Release*, vol. 161, no. 2, pp. 264–273, 2012.

[85] Le métabolisme d'un médicament [En ligne] http://udsmmed.ustrasbg.fr/pharmaco/pdf/DCEM1_Pharmacologie_chapitre_5_Metabolisme_des_medic.pdf. Consulté le : [09 juin 2020].

[86] G. Fabrice, "Performances des tests d'Ames et micronoyaux triton, appliqués à l'étude de la génotoxicité d'effluents complexes et des interactions entre polluants," Thèse de doctorat d'université: Toxicologie de l'environnement de l'université de Metz, Lorraine, France, 2002

[87] B. N. Ames, W. E. Durston, E. Yamasaki, and F. D. Lee, "Carcinogens are Mutagens: A Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection.," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 70, no. 8, pp. 2281–2285, 1973.

[88] S. I. LAGHA and K. SMALI, "Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait éthanolique des graines de Pistacia lentiscus sur le cancer secondaire induit par le cyclophosphamide sur un modèle animal," Mémoire de master d'université: Biochimie Appliquée. Université Abderrahmane Mira, Bejaïa., 2016.

[89] B. Rainer et al., "Suitability of the Ames test to characterise genotoxicity of food contact material migrates," *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.*, vol. 10, pp. 1–14, 2018.

[90] Déroulement d'un test d'Ames. Copyright © 2006 Pearson Education ... [En ligne] https://www.researchgate.net/figure/Deroulement-dun-test-dAmes-Copyright-C-2006-PearsonEducation-Inc_fig3_285061897. Consulté le [12 juin 2020].

[91] M. A. R. O. N. Pot, "Rodent Carcinogenicity Bioassay : Past , Present , and Future," *Toxicol. Pathol.*, vol. 22, no. 2, 1994.

[92] F. Zeman, "Toxicité d'un mélange binaire sur la daphnie *Daphnia magna*," thèse de doctorat d'université: Evolution, Ecologie, Ressources génétiques, Paléontologie. Université Montpellier II, France., 2008.

[93] I. Joon Kang et al., "Effect of 17 β -estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)," *Chemosphere*, vol. 47, no. 1, pp. 71–80, 2002.

[94] J. Zha, Z. Wang, N. Wang, and C. Ingersoll, "Histological alternation and vitellogenin induction in adult rare minnow (*Gobiocypris rarus*) after exposure to ethynylestradiol and nonylphenol," *Chemosphere*, vol. 66, no. 3, pp. 488–495, 2007.

[95] Gabb J., Jackson R. M., Sternberg M. J. E. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 1997; 272: 106-120.

[96] Krid. Y, "Thème Conception in silico de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l' Enzyme de Conversion de l'Angiotensine," Mémoire de master d'université: Biochimie moléculaire et santé. Université Mentouri, Constantine, Algérie., 2013

[97] Chibat.F, Guechiri.A thème "contribution à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase par docking moléculaire" .Mémoire de Master

d'université :biochimie et biologie de santé, université mentouri constantine.Algerie.2015.

[98]Mirjana B Čolović,^{1,*} Danijela Z Krstić,^{2,*} Tamara D Lazarević-Pašti,¹ Aleksandra M Bondžić,¹ and Vesna M Vasić. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*. Vol 11(3): 315–335.

[99] Gilles BOCQUENÉ.theme “ L'ACETYLCHOLINESTERASE, MARQUEUR DE NEUROTOXICITE. APPLICATION A LA SURVEILLANCE DES EFFETS BIOLOGIQUES DES POLLUANTS CHEZ LES ORGANISMES MARINS ”.THE SE DE DOCTORAT d'université : L'ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE.France. 1996.

[100] Hunter Jennifer M MB CGB PHD FRCA. Anticholinesterases and anticholinergic drug. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*. Volume 4, Issue 5, October 2004, Pages 164-168 .

[101]Aurélie Urbain, theme “Isolement de xanthones et coumarines inhibitrices de l'acétylcholinestérase, respectivement à partir de *Gentianella campestris* (L.) Börner et *Gentianella amarella* (L.) Börner ssp. *acuta* (Michx.) J.M.Gillett (*Gentianaceae*), et *Peucedanum ostruthium* (L.) Koch (*Apiaceae*) ”,these de doctorat d'université : Sciences Pharmaceutiques.université de Geneve.2007.

[102]Maria A.Telpoukhovskaia. Brian O. Patrick , Christina Rodriguez-Rodriguez and Chris Orvig.*In silico* to *in vitro* screening of hydroxypyridinones as acetylcholinesterase inhibitors. ELSEVIER.University of british colombia,2036 Main Mall, Vancouver,BC,V6T.Cannada.

[103] Uriarte-Pueyo* and M.I. Calvo. Flavonoids as Acetylcholinesterase Inhibitors. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Navarra, Irunlarrea s/n, 31008 Pamplona, Navarra, Spain. *Current Medicinal Chemistry*, 2011, 18, 5289-5302.

[104]Ntemafack Augustin,Vijay K. Nuthakki,Mohd. Abdullaha,Qazi Parvaiz ,Hassan Sumit G. Gandhi and ,Sandip B. Bharate .article ;“Discovery of Helminthosporin, an Anthraquinone Isolated from *Rumex abyssinicus* Jacq as a Dual Cholinesterase Inhibitor.hd. Abdullah.*ACS Omega* 2020, 5, 3, 1616–1624.

[105] Imen Boualia1 | Chamseddine Derabli1 | Raouf Boulcina1,2 | Chawki Bensouici3 | Muhammet Yildirim4 | Arzu Birinci Yildirim5 | El Hassen Mokrani6 | Abdelmadjid Debache.. Synthesis, molecular docking studies, and biological evaluation of novel alkyl bis(4-amino-5-cyanopyrimidine) derivatives.ARCH PHARM. Laboratory of Synthesis of Molecules with Biological Interest, Mentouri–Constantine University, Constantine, Algeria.2019.

[106] El Hassen Mokrani, Abderrahmane Bensegueni, Ludovic Chaput, Claire Beauvineau, Hanane Djeghim, and Liliane Mouawad. Identification of New Potent Acetylcholinesterase Inhibitors Using Virtual Screening and In Vitro Approaches. Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 69451 Weinheim, 2019.

[107] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2007. 76p.

[108] Stryer L., Berg J. M., Tymoczko J. L. Le développement des médicaments. Médecine Sciences. Biochimie (7ème éd). 2013; 36: 1029–1054.



ANNEXES



Annexe -1 : Tableau RMSD de 100 complexes Protéine – ligand.

N°	Code PDB des complexes	Code PDB des ligands	RMSD
1	1A9M	U0E	3.02
2	1BZS	BSI	1.12
3	1DIF	A85	1.03
4	1DTT	FTC	1.03
5	1E66	HUX	0.49
6	1B6P	P17	3.78
7	1EBW	BEI	2.28
8	1EBY	BEB	2.67
9	1EC1	BEE	2.88
10	1EC2	BUJ	2.81
11	1H22	E10	2.04
12	1H23	E12	1.60
13	1IJR	CC0	2.09
14	1MSM	JE2	2.62
15	1NDV	FR0	0.77
16	1NDY	FR3	1.33
17	1NDZ	FR5	1.80
18	1O5R	FR9	1.60
19	1ODY	LP1	4.00
20	1OHR	1UN	2.88
21	1PMN	984	1.20
22	1PRO	A88	2.83
23	1QBT	146	2.71
24	1QON	I40	0.64
25	1SM2	STU	0.28
26	1SM2	STO	0.17
27	1T40	ID5	0.45
28	1U04	CMU	0.82
29	1U65	CP0	1.67
30	1UML	FR4	1.29

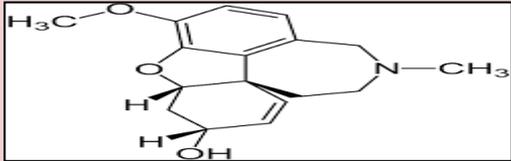
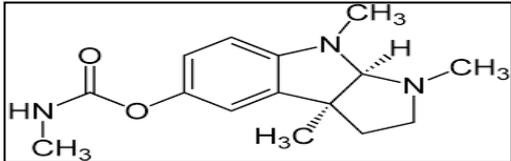
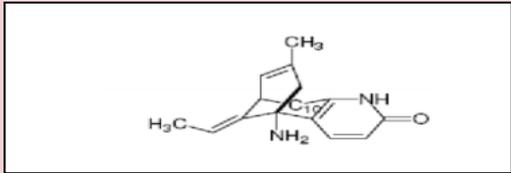
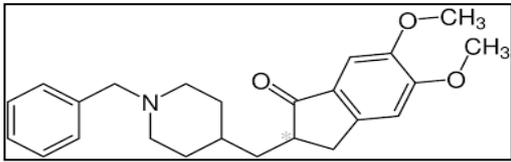
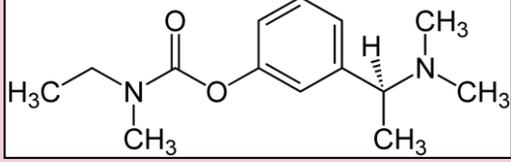
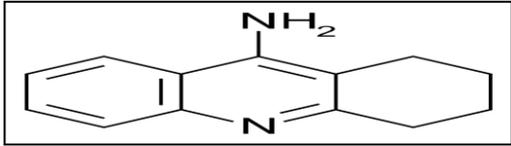
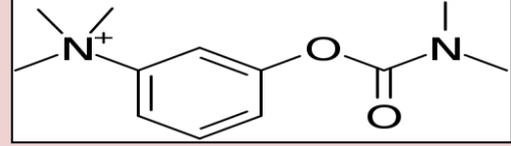
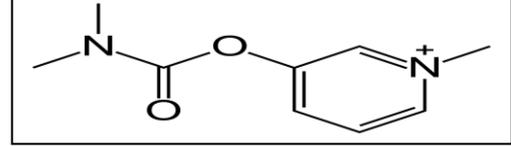
ANNEXES

31	1NDY	FR3	1.33
32	1W4L	FR4	1.29
33	1Z3N	3NA	0.54
34	1ZGB	A1E	2.60
35	1ZS0	EIN	0.87
36	1ZVX	FIN	1.15
37	2AID	THK	4.47
38	2BQV	A1A	2.70
39	2BPV	1IN	2.66
40	2CBZ	ATP	2.53
41	2CBZ	ATP	0.97
42	2FDU	D1G	0.87
43	2FDW	D3G	1.02
44	2FSW	D3G	1.03
45	2FZ8	ZST	0.46
46	2FZ9	ZST	0.43
47	2HVN	ZST	0.47
48	2HVO	ZST	0.55
49	2IKI	388	0.91
50	2JBJ	G88	1.39
51	2PDX	ZST	0.46
52	2PDY	FID	0.72
53	2R3H	SCE	1.59
54	2R3J	SCJ	1.30
55	2R3R	SCX	1.21
56	2R7B	253	0.65
57	2V11	C80	1.70
58	2ZVJ	KOM	1.65
59	3AID	ARQ	2.99
60	3CKT	YDP	2.84
61	3DPE	AXB	0.65
62	3E62	5B1	1.01
63	3GHU	LDT	0.65
64	3GHT	LDT	0.80
65	3GHS	LDT	0.71

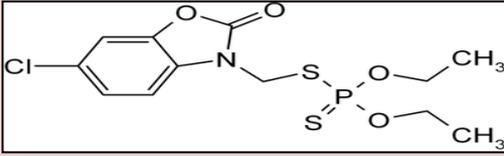
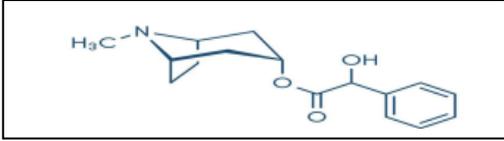
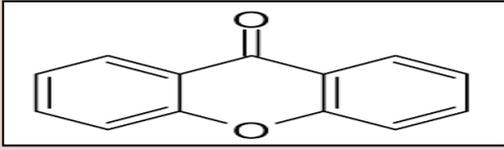
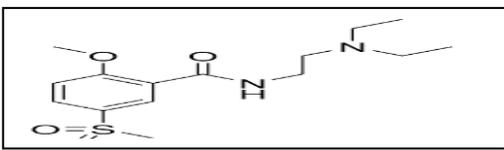
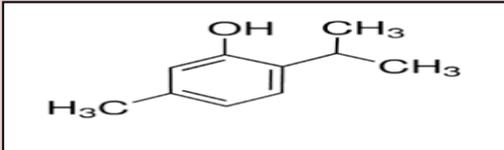
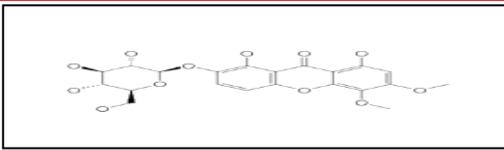
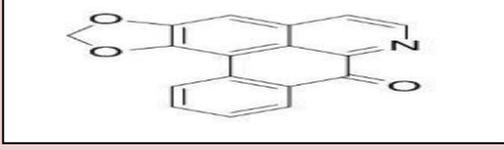
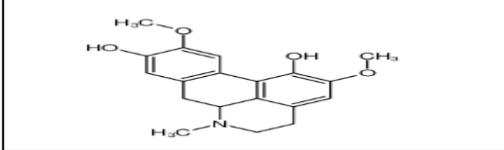
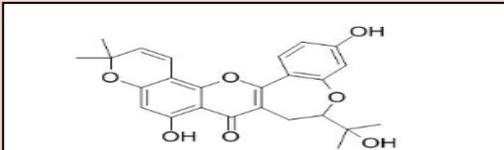
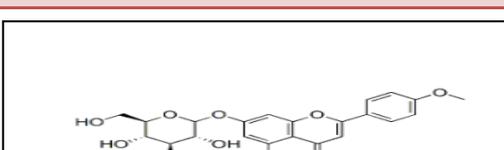
ANNEXES

66	3KOO	24D	1.00
67	3KXZ	925	1.82
68	3LJT	LA3	1.51
69	3M64	393	0.95
70	3M8Q	DJZ	0.45
71	4ANP	3QI	0.58
72	4AYX	ACP	1.27
73	4BDT	HUW	0.40
74	4D0W	VVQ	0.66
75	4ey7	E20	0.59
76	4GL7	1N1	0.65
77	4GS6	1FM	1.07
78	4JIA	1K3	1.32
79	4JP9	1M5	0.52
80	4RCD	3LL	1.07
81	4WK7	3PQ	0.96
82	4WKE	3PU	0.93
83	4WKI	3PW	0.62
84	4XKX	43K	1.33
85	4Y2H	49K	0.59
86	4Y30	49L	1.55
87	4YTF	4HZ	0.75
88	5A0C	JJV	0.61
89	5AX3	5ID	2.82
90	5BOY	4UE	2.02
91	5BVE	4VG	0.46
92	5E2I	DME	1.90
93	5H8X	7FY	0.96
94	5I3V	68M	3.04
95	5I12	H27	2.61
96	5IKQ	JMS	0.57
97	5IKR	ID8	0.56
98	5JS3	6FQ	1.66
99	5L3A	6DP	3.30
100	5TQ8	7GS	0.59

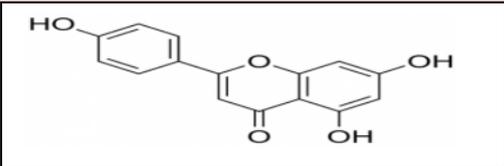
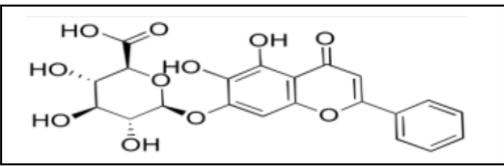
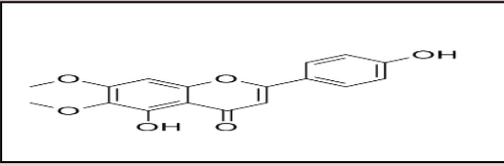
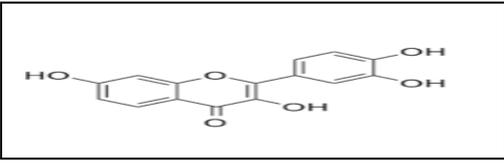
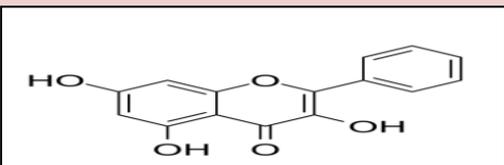
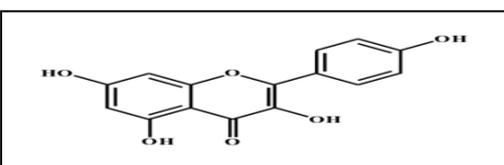
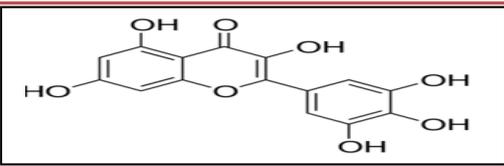
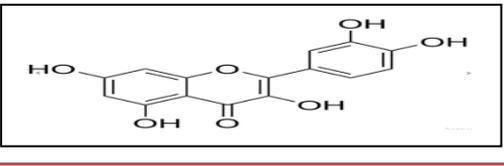
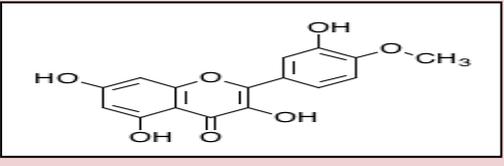
Annexe-2 : 46 inhibiteurs de l'AChE utilisée dans le test de corrélation.

Composés	structures
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

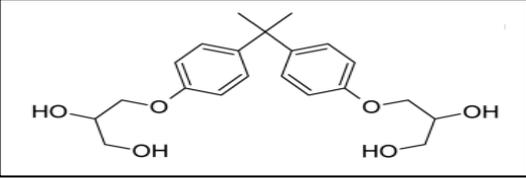
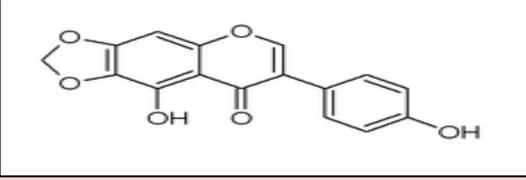
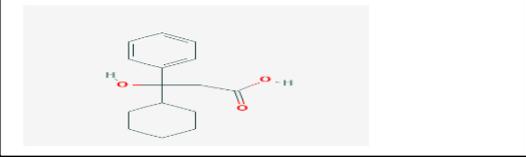
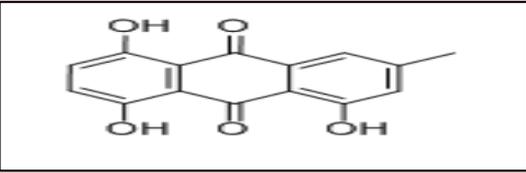
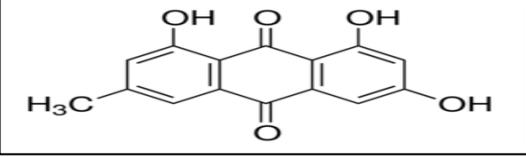
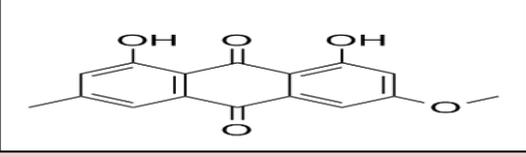
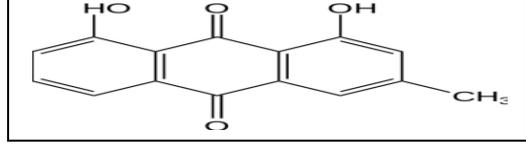
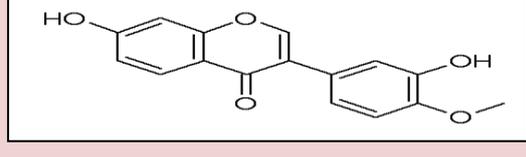
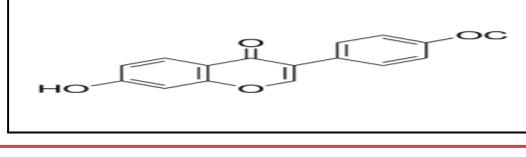
ANNEXES

9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	

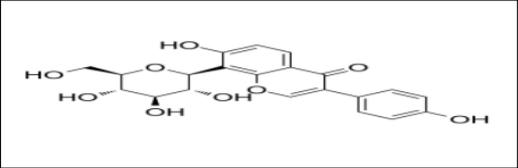
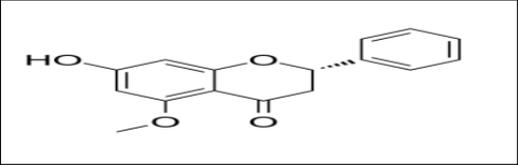
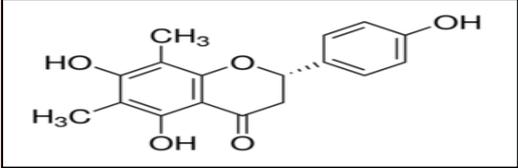
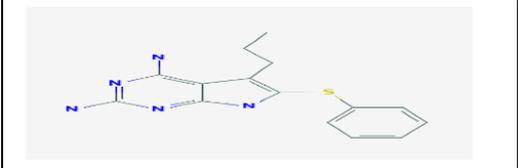
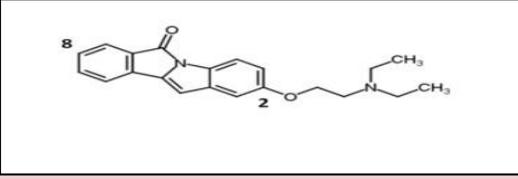
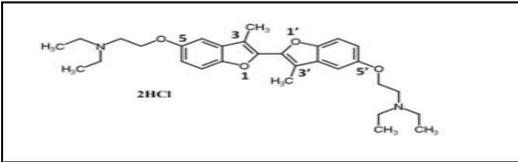
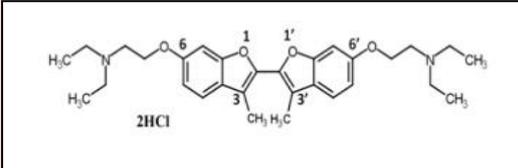
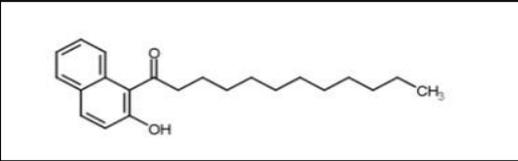
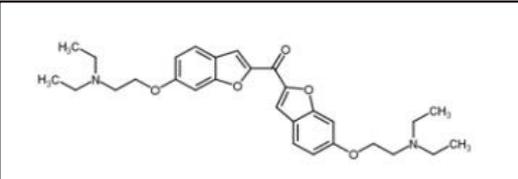
ANNEXES

19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	

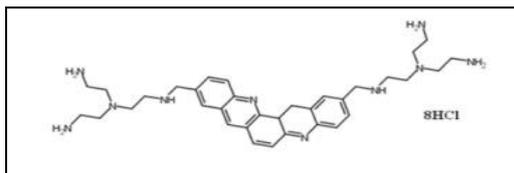
ANNEXES

28	 <p>Chemical structure of a bisphenol A derivative with two hydroxyethyl groups.</p>
29	 <p>Chemical structure of a coumarin derivative with a hydroxyethyl group and a hydroxyl group.</p>
30	 <p>Chemical structure of a cyclohexane derivative with a hydroxyl group and a carboxylic acid group.</p>
31	 <p>Chemical structure of a flavone derivative with two hydroxyl groups and a methyl group.</p>
32	 <p>Chemical structure of a flavone derivative with two hydroxyl groups, a methyl group, and a methoxy group.</p>
33	 <p>Chemical structure of a flavone derivative with two hydroxyl groups and a methoxy group.</p>
34	 <p>Chemical structure of a flavone derivative with two hydroxyl groups and a methyl group.</p>
35	 <p>Chemical structure of a coumarin derivative with a hydroxyl group and a methoxy group.</p>
36	 <p>Chemical structure of a coumarin derivative with a hydroxyl group and an acetoxy group.</p>

ANNEXES

37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	
44	
45	

46



ANNEXES

Annexe-3 : Numéros d'accèsion et scores des 322 similaires de la.

N° de Composé	Numéro d'accèsion	Score (Kcal/mole)
X1	CID-71198	-8.52
X2	CID-6433971	-9.61
X3	CID-23620646	-8.26
X4	CID-44428908	-10.20
X5	CID-44552830	-11.39
X6	CID-45261910	-10.42
X7	CID-45261926	-10.52
X8	CID-45265050	-9.97
X9	CID-45265084	-10.67
X10	CID-54583855	-10.79
X11	CID-9824765	-10.22
X12	CID-9827584	-12.05
X13	CID-9847689	-11.46
X14	CID-9847690	-11.92
X15	CID-9866658	-11.78
X16	CID-9892240	-12.91
X17	CID-9911273	-10.87
X18	CID-10021601	-10.52
X19	CID-10091464	-11.06
X20	CID-16721067	-10.89
X21	CID-133998	-10.31
X22	CID-6445770	-10.24
X23	CID-9803568	-11.66
X24	CID-10020774	-10.48
X25	CID-24838037	-8.56
X26	CID-44428907	-10.90
X27	CID-45265065	-11.07
X28	CID-118723579	-10.50
X29	CID-118723587	-10.19
X30	CID-118723591	-10.39
X31	CID-6434428	-10.27
X32	CID-6434438	-10.26
X33	CID-6435304	-9.02
X34	CID-6445755	-10.08
X35	CID-6445762	-9.09
X36	CID-6445763	-9.56
X37	CID-6445764	-10.58

ANNEXES

X38	CID-6445766	-9.86
X39	CID-6445767	-10.92
X40	CID-6445768	-11.18
X41	CID-38604	-9.03
X42	CID-38605	-9.91
X43	CID-38606	-9.40
X44	CID-38607	-9.16
X45	CID-38608	-9.17
X46	CID-650137	-8.92
X47	CID-6433976	-9.10
X48	CID-6434298	-8.59
X49	CID-6434302	-8.62
X50	CID-6434426	-9.78
X51	CID-38587	-8.88
X52	CID-38588	-9.16
X53	CID-38589	-10.19
X54	CID-38595	-8.56
X55	CID-38603	-8.54
X56	CID-89497965	-11.60
X57	CID-90083464	-8.68
X58	CID-90083469	-9.05
X59	CID-90083471	-7.87
X60	CID-102007577	-10.06
X61	CID-118723580	-10.41
X62	CID-89497841	-10.62
X63	CID-89497852	-11.86
X64	CID-89497853	-9.45
X65	CID-89497861	-11.12
X66	CID-89497868	-10.64
X67	CID-89497921	-11.93
X68	CID-89497936	-12.53
X69	CID-89497942	-11.61
X70	CID-88394024	-11.98
X71	CID-70668372	-11.17
X72	CID-70668384	-11.27
X73	CID-70668387	-11.77
X74	CID-70668391	-11.00
X75	CID-70668408	-10.13
X76	CID-70668409	-11.28
X77	CID-70668428	-10.84
X78	CID-72625954	-8.83

ANNEXES

X79	CID-88036644	-10.11
X80	CID-88036865	-10.50
X81	CID-118723588	-9.77
X82	CID-59272433	-9.21
X83	CID-60027697	-8.84
X84	CID-67633736	-5.29
X85	CID-67744084	-10.88
X86	CID-67744112	-9.92
X87	CID-68392116	-9.29
X88	CID-68404399	-7.84
X89	CID-69553054	-8.35
X90	CID-70668335	-12.00
X91	CID-92299917	-9.54
X92	CID-57439388	-10.94
X93	CID-57439389	-11.38
X94	CID-57439390	-11.19
X95	CID-57439392	-10.67
X96	CID-57439394	-8.93
X97	CID-57439395	-9.36
X98	CID-92148019	-8.73
X99	CID-58008416	-10.08
X100	CID-58192953	-9.66
X101	CID-91938982	-9.17
X102	CID-57439367	-10.10
X103	CID-138399472	-8.62
X104	CID-57439370	-9.32
X105	CID-141034720	-10.75
X106	CID-57439378	-9.93
X107	CID-57439380	-9.87
X108	CID-57439382	-10.28
X109	CID-57439383	-10.03
X110	CID-57439384	-9.42
X111	CID-24996412	-9.96
X112	CID-24996413	-8.89
X113	CID-24996415	-8.98
X114	CID-24997050	-9.96
X115	CID-44552828	-10.73
X116	CID-53916142	-10.38
X117	CID-53942453	-11.27
X118	CID-54170653	-9.73
X119	CID-118723592	-10.39

ANNEXES

X120	CID-22743056	-12.54
X121	CID-118723610	-10.40
X122	CID-22743060	-11.58
X123	CID-22743061	-12.21
X124	CID-22743071	-10.92
X125	CID-24821259	-9.65
X126	CID-24821334	-11.28
X127	CID-24995766	-8.99
X128	CID-24995767	-9.00
X129	CID-24996082	-8.75
X130	CID-21487984	-11.09
X131	CID-21487999	-11.15
X132	CID-21488069	-11.23
X133	CID-21544668	-6.30
X134	CID-21544682	-9.27
X135	CID-21544692	-10.21
X136	CID-21544699	-9.20
X137	CID-22001264	-11.19
X138	CID-22001266	-10.77
X139	CID-20034491	-7.92
X140	CID-20034493	-7.71
X141	CID-20034496	-10.00
X142	CID-21435275	-9.86
X143	CID-21435337	-10.32
X144	CID-21435381	-10.54
X145	CID-21435391	-9.81
X146	CID-21487898	-11.30
X147	CID-21487929	-11.64
X148	CID-124556691	-9.45
X149	CID-129779589	-9.44
X150	CID-141034716	-10.02
X151	CID-12331737	-8.40
X152	CID-12840353	-8.76
X153	CID-13393491	-9.18
X154	CID-12968239	-10.26
X155	CID-12968240	-9.96
X156	CID-13133913	-10.91
X157	CID-14256720	-8.75
X158	CID-14721983	-10.95
X159	CID-19996137	-8.60
X160	CID-21487967	-7.25

ANNEXES

X161	CID-20034489	-6.92
X162	CID-9827583	-10.05
X163	CID-10175258	-7.62
X164	CID-11152050	-9.28
X165	CID-11153757	-10.36
X166	CID-11164585	-8.89
X167	CID-11176995	-8.76
X168	CID-11201148	-9.38
X169	CID-13454371	-9.81
X170	CID-11616588	-9.40
X171	CID-11740442	-10.39
X172	CID-33455	-9.72
X173	CID-201141	-11.17
X174	CID-434275	-9.54
X175	CID-435362	-9.73
X176	CID-435464	-9.09
X177	CID-6451695	-7.89
X178	CID-6452586	-9.09
X179	CID-142954495	-11.97
X180	CID-143652320	-10.13
X181	CID-143754992	-8.79
X182	CID-141472542	-10.74
X183	CID-141472543	-11.08
X184	CID-141472546	-12.70
X185	CID-141472548	-10.75
X186	CID-141472549	-11.80
X187	CID-141472550	-12.25
X188	CID-141472552	-12.25
X189	CID-141472562	-11.29
X190	CID-141828907	-10.98
X191	CID-12583705	-9.13
X192	CID-141231683	-11.70
X193	CID-141231685	-10.72
X194	CID-141231700	-11.16
X195	CID-141231705	-11.99
X196	CID-13004039	-9.14
X197	CID-141231720	-11.74
X198	CID-141398778	-9.63
X199	CID-141398779	-8.27
X200	CID-141398783	-8.63
X201	CID-141472540	-12.40

ANNEXES

X202	CID-76307978	-10.34
X203	CID-90678270	-9.52
X204	CID-118753265	-9.52
X205	CID-129779588	-9.28
X206	CID-129839970	-10.54
X207	CID-13393488	-9.46
X208	CID-141034712	-9.59
X209	CID-141034715	-9.01
X210	CID-141034719	-10.73
X211	CID-45028087	-9.74
X212	CID-69552776	-8.87
X213	CID-69552792	-9.14
X214	CID-69552863	-8.62
X215	CID-70500704	-11.74
X216	CID-70500708	-10.81
X217	CID-70897098	-8.20
X218	CID-71103623	-9.82
X219	CID-74258288	-10.15
X220	CID-33457	-9.29
X221	CID-33459	-10.27
X222	CID-988882	-9.40
X223	CID-12919425	-8.16
X224	CID-13393489	-8.82
X225	CID-13455085	11.27
X226	CID-13455086	-11.33
X227	CID-13760920	-9.27
X228	CID-24204523	-10.02
X229	CID-37215	-8.80
X230	CID-37227	-8.65
X231	CID-37229	-8.54
X232	CID-37235	-8.44
X233	CID-38578	-8.64
X234	CID-38580	-9.30
X235	CID-38584	-9.31
X236	CID-38586	-8.31
X237	CID-38589	-7.74
X238	CID-38600	-7.42
X239	CID-38602	-9.39
X240	CID-38624	-8.75
X241	CID-38805	-9.85
X242	CID-40253	-8.69

ANNEXES

X243	CID-40261	-9.57
X244	CID-40263	-9.71
X245	CID-43491	-11.01
X246	CID-44500	-7.66
X247	CID-57111	-8.54
X248	CID-200327	-11.13
X249	CID-201142	-10.77
X250	CID-218470	-9.53
X251	CID-218477	-8.11
X252	CID-435361	-9.03
X253	CID-1208344	-9.70
X254	CID-3029186	-10.02
X255	CID-3029187	-10.28
X256	CID-3084274	-8.13
X257	CID-4086467	-9.61
X258	CID-4189723	-8.77
X259	CID-4911839	-9.97
X260	CID-4915930	-9.05
X261	CID-5295487	-9.43
X262	CID-6433973	-8.14
X263	CID-6433975	-10.62
X264	CID-6433977	-10.02
X265	CID-6433987	-9.31
X266	CID-6434287	-10.83
X267	CID-6434289	-9.09
X268	CID-6434291	-9.64
X269	CID-6434293	-10.11
X270	CID-6434295	-8.23
X271	CID-6434297	-10.18
X272	CID-6434299	-9.27
X273	CID-6434301	-10.54
X274	CID-6434303	-9.29
X275	CID-6434305	-9.24
X276	CID-6434307	-9.99
X277	CID-6434309	-10.12
X278	CID-6434311	-8.92
X279	CID-6434313	-9.56
X280	CID-6434315	-9.45
X281	CID-6434317	-9.31
X282	CID-6434319	-9.77
X283	CID-6434321	-10.14

ANNEXES

X284	CID-6434430	-9.35
X285	CID-6434432	-9.98
X286	CID-6434434	-10.28
X287	CID-6434436	-9.28
X288	CID-6445765	-10.78
X289	CID-6445769	-11.07
X290	CID-6912205	-8.70
X291	CID-6912206	-10.53
X292	CID-6913750	-8.65
X293	CID-10024366	-10.44
X294	CID-10247219	-10.85
X295	CID-10337021	-10.41
X296	CID-10886051	-13.26
X297	CID-11017141	-13.82
X298	CID-11049856	-10.64
X299	CID-11082251	-9.17
X300	CID-11397144	-9.79
X301	CID-138399239	-9.60
X302	CID-138399472	-10.36
X303	CID-138400256	-10.33
X304	CID-138400412	-9.45
X305	CID-141034711	-11.25
X306	CID-141034712	-11.36
X307	CID-141034715	-11.55
X308	CID-141034716	-9.33
X309	CID-141034717	-9.88
X310	CID- <u>141034718</u>	-10.02
X311	CID-141398783	-10.36
X312	CID-141472540	-10.55
X313	CID-141472542	-10.63
X314	CID-141472543	-11.46
X315	CID-141472546	-9.55
X316	CID-141472548	-9.89
X317	CID-141472549	-9.77
X318	CID-141472550	-10.28
X319	CID-141472552	-11.45
X320	CID-141472562	-11.02
X321	CID-141828907	-11.06
X322	CID-142806040	-11.50
X323	CID-142954495	-10.66
X324	CID-143652320	-11.56

ANNEXES

X325	CID-143754992	-11.65
X326	CID-141828907	-10.25



Résumés



Résumé

La maladie d'Alzheimer (MA) occupe aujourd'hui une place de plus en plus grandissante au sein de notre société et la principale maladie neurodégénérative associée à l'âge et la sixième cause de décès. Dans ce travail, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'AChE ; cible thérapeutique de l'Alzheimer. Pour atteindre notre objectif, nous avons fait recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme AutoDock. Par docking moléculaire d'une collection de 326 similaires chimiques ainsi d'une collection de 75 composés issus de la substitution, l'énergie d'interaction a pu être améliorée de -10.49 Kcal/mole (composé de départ) jusqu'à -11.88 Kcal/mole dans le cas du composé **M32**.

Enfin, l'application des filtres ADMET nous renseigne de manière positive sur le composé **M32** qui se présente comme un nouvel inhibiteur potentiellement plus actif envers l'AChE.

Mots clés : AChE, Alzheimer, AutoDock, Docking moléculaire, Inhibiteur, Energie d'interaction.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is an increasingly important part of our society today and the main neurodegenerative disease associated with age and the sixth leading cause of death. In this work, we have tried to propose new inhibitors of AChE; Alzheimer's therapeutic target. To achieve our goal, we used the molecular docking approach using the AutoDock program. By molecular docking of a collection of 326 similar chemicals as well as a collection of 75 compounds derived from substitution, the interaction energy could be improved from -10.49 Kcal / mole (starting compound) to -11.88 Kcal / mole in the case of compound **M32**. Finally, the application of ADMET filters informs us positively about the compound **M32** which presents itself as a new inhibitor potentially more active towards AChE.

Key words: AChE, Alzheimer, AutoDock, Molecular Docking, Inhibitor, Interaction energy.

المخلص

مرض الزهايمر (AD) هو جزء متزايد الأهمية من مجتمعنا اليوم و المرض التنكسي العصبي الرئيسي المرتبط بالعمر و السبب الرئيسي السادس للوفاة. في هذا العمل، حاولنا اقتراح مثبطات جديدة لAChE؛ الهدف العلاجي لمرض الزهايمر. لتحقيق هدفنا ، استخدمنا نهج الإرساء الجزيئي باستخدام برنامج AutoDock. من خلال الإرساء الجزيئي لمجموعة من 326 مادة كيميائية مماثلة بالإضافة إلى مجموعة من 75 مركب مشتق من الاستبدال، يمكن تحسين طاقة التفاعل من -10.49- سعرة حرارية/مول (مركب البداية) إلى -11.88- سعرة حرارية/مول في حالة المركب M32. أخيرا يخبرنا تطبيق مرشحات ADMET بشكل إيجابي عن المركب M32 الذي يقدم نفسه كمثبط جديد يحتمل أن يكون أكثر نشاطا تجاه AChE.

الكلمات المفتاحية: AChE: الزهايمر ، AutoDock الإرساء الجزيئي، المثبط، طاقة التفاعل.

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par : MERAIHIA Amira Djihane

ZERMANE Chourouk

Thème: Etude *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée

Résumé :

La maladie d'Alzheimer (MA) occupe aujourd'hui une place de plus en plus grandissante au sein de notre société et la principale maladie neurodégénérative associée à l'âge et la sixième cause de décès. Dans ce travail, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'AChE ; cible thérapeutique de l'Alzheimer. Pour atteindre notre objectif, nous avons fait recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme AutoDock. Par docking moléculaire d'une collection de 326 similaires chimiques ainsi d'une collection de 75 composés issus de la substitution, l'énergie d'interaction a pu être améliorée de -10.49 Kcal/mole (composé de départ) jusqu'à -11.88 Kcal/mole dans le cas du composé **M32**. Enfin, l'application des filtres ADMET nous renseigne de manière positive sur le composé **M32** qui se présente comme un nouvel inhibiteur potentiellement plus actif envers l'AChE.

Mots clés : AChE, Alzheimer, AutoDock, Docking moléculaire, Inhibiteur, Energie d'interaction.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée.

Jury d'évaluation :

Président du jury: Mr. CHIKHI A.

Professeur - UFM Constantine.

Rapporteur: BENSEGUENI A.

Professeur - UFM Constantine

Examineur: Mr.MOKRANI E.H.

Maître Assistant A - UFM Constantine.

Date de soutenance : 29 /09/ 2020