

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biochimie et Biologie  
Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم: الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزينية

**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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Application du docking moléculaire par SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la Tau-Tubulin Kinase 1**

---

**Présenté par :** LEZZAR Iheb  
LAOUBI Oualid Imed

**Le 19/06/2023**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mr. BENSEGUENI A. (Professeur à UFM Constantine 1).

**Encadrant :** Mr. MOKRANI E.H (MCA à UFM Constantine 1).

**Examineur :** Mr. CHIKHI A (Professeur à UFM Constantine 1).

**Année universitaire  
2022 - 2023**

## *Remerciements*

*Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre gratitude envers Dieu pour nous avoir accordé la patience, la force et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*Nous souhaitons exprimer nos remerciements les plus sincères à notre encadrant, Mr. Mokrani El Hassen, Maître de Conférences A à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour son aide précieuse, sa confiance, ses conseils avisés et sa disponibilité. Son soutien nous a été d'une grande aide et Nous sommes très reconnaissants de l'avoir eu à nos côtés.*

*C'est avec un immense plaisir que nous remercions également Mr. Bensegueni Abderahman, Professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de notre mémoire. Ainsi que pour ses nombreux conseils tout au long de notre travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance envers  
Mr. Chikhi Abdelwahab, Professeur à l'université Frères Mentouri  
Constantine 1, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude à nos enseignants  
pour leur dévouement continu et leur engagement pour notre  
apprentissage. Grâce à leur expertise et à leur soutien indéfectible,  
nous avons acquis des connaissances précieuses et avons été guidés sur  
le chemin de la réussite.*

## *Theb.*

*À mes chers parents et à ma tante, je dédie avec une profonde gratitude et sincérité ce modeste travail de fin d'études. Aucune dédicace ne peut suffire à exprimer pleinement le respect, l'amour éternel et la considération que j'ai envers vous, pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mon bien-être. Je vous remercie infiniment pour tout le soutien et l'amour inconditionnel que vous m'avez apportés depuis mon enfance, et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours. Que ce travail humble soit la réalisation des souhaits que vous avez formulés, le fruit des innombrables sacrifices que vous avez consentis, bien que je ne puisse jamais vous en être assez reconnaissant.*

*Je tiens à exprimer mes vœux les plus sincères de réussite et de prospérité à tous mes amis qui ont été présents à chaque étape de l'élaboration de ce mémoire. Votre soutien et vos encouragements inébranlables ont été d'une valeur inestimable, et je suis convaincu que vous continuerez à exceller dans vos propres travaux.*

Introduction générale ..... 1

## Partie Bibliographique

### Chapitre 01 : Maladie d'Alzheimer.

1. Introduction..... 2

2. Épidémiologie..... 3

3. Physiologie de la maladie..... 4

    3.1 Production du peptideA $\beta$ ..... 4

    3.2 Hypothèse amyloïde..... 5

    3.3 Dégénérescences neurofibrillaires..... 5

4. Diagnostique et traitements de la maladie d'Alzheimer..... 6

    4.1 Diagnostique..... 6

        4.1.1 Essais en laboratoire..... 6

        4.1.2 État mental et tests neuropsychologiques..... 7

        4.1.3 Imagerie cérébrale..... 7

    4.2 Traitements De la Maladie de l'Alzheimer..... 8

        4.2.1 Médicaments..... 8

            4.2.1.1 Inhibiteurs des cholinestérases..... 8

            4.2.1.2 Mémantine (Namenda)..... 9

            4.2.1.3 Lecanemab..... 9

### Chapitre 02 : Tau Tubulin Kinase 1

1. Introduction..... 11

## Table de matière

<b>2. Structure.....</b>	<b>11</b>
<b>3. Site actif de la TTBK1.....</b>	<b>14</b>

### **Chapitre 03 : Docking moléculaire**

<b>1. Introduction.....</b>	<b>15</b>
<b>2. Etapes du docking moléculaire.....</b>	<b>15</b>
2.1 Docking.....	15
2.2 Scoring.....	15
<b>3. Les outils du docking moléculaire.....</b>	<b>16</b>
3.1 Ligand.....	16
3.2 Récepteur.....	17
<b>4. Logiciel de docking.....</b>	<b>17</b>
4.1 Surflex.....	17

### **Partie Pratique**

#### **Chapitre 04 : Matériel et méthodes**

<b>1. Matériel.....</b>	<b>19</b>
1.1 Microordinateur.....	19
1.2 Programmes.....	19
1.2.1 Surflex.....	19
1.2.2 Biovia Discovery studio visualizer.....	19
1.2.3 VMD (Visual Molecular Dynamics).....	20
1.3 Bases des données.....	20
1.3.1 Protein Data Bank (PDB).....	20

## Table de matière

1.3.2 PubChem.....	20
1.3.3 SwissADME.....	20
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>21</b>
2.1 Root-Mean-Square Deviation .....	21
2.2. Analyse visuelle de la superposition.....	21
2.3. Préparation de l'enzyme.....	22
2.4 Préparation du ligand de référence.....	23
2.5 Docking moléculaire par Surflex.....	23
2.6 Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques.....	23
2.7 Analyse visuelle de l'interaction.....	23
2.8 Prédiction des propriétés ADME.....	24
2.8.1 Propriétés physicochimiques.....	24
2.8.1.1 Règle de Lipinski.....	24
2.8.1.2 Règle de Veber.....	24
2.8.1.3 Solubilité dans l'eau.....	25
2.8.1.4 Accessibilité à la synthèse.....	25
2.8.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	25
2.8.2.1 Absorption gastro-intestinale.....	25
2.8.2.2 Perméabilité BBB.....	25
2.8.2.3 Inhibition des cytochromes P450.....	25
 <b>Chapitre 05 : Résultats et Discussion</b>	
<b>1. Test de fiabilité.....</b>	<b>26</b>

## Table de matière

1.1 RMSD.....	26
1.2 Analyse visuelle.....	28
2. Etude des interactions du complexe TTBK1-2KC.....	28
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1.....	30
3.1 Criblage virtuel.....	30
3.2 Etude des interactions du complexe TTBK1-S193.....	31
3.3 Etude des interactions du complexe TTBK1-S6.....	32
3.4 Etude des interactions du complexe TTBK1-S646.....	33
3.5 Comparaison entre les similaires et le composé de départ.....	34
4. Prédiction des propriétés ADME.....	35
4.1 Propriétés physico-chimiques.....	35
4.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	37
Conclusion et perspectives.....	38

## Références Bibliographiques

## Annexe

## Résumé

## Listes des Figures

<b>Figure 01 :</b>	Intervention de la voie non-amyloïdogène dans l'activité $\alpha$ -sécrétase.....	<b>4</b>
<b>Figure 02 :</b>	Sites de production de l'A $\gamma$ .....	<b>5</b>
<b>Figure 03 :</b>	Images de scanner cérébral pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer...	<b>8</b>
<b>Figure 04 :</b>	Alignement multiples des séquences de la TTBK1.....	<b>12</b>
<b>Figure 05 :</b>	Structure de l'apo TTBK1.....	<b>13</b>
<b>Figure 06 :</b>	Principe d'une simulation par Docking moléculaire.....	<b>16</b>
<b>Figure 07 :</b>	Structure 3D du complexe 4NFN .....	<b>22</b>
<b>Figure 08 :</b>	Résultats du test RMSD présentés en pourcentage à deux intervalles.....	<b>27</b>
<b>Figure 09 :</b>	Superposition de la pose de référence du ligand <b>2KC</b> (colorée en bleu) et sa pose simulée (colorée en vert).....	<b>28</b>
<b>Figure 10 :</b>	Structure chimique de l'inhibiteur <b>2KC</b> . .....	<b>29</b>
<b>Figure 11 :</b>	Diagramme des interactions TTBK1- <b>2KC</b> .....	<b>30</b>
<b>Figure 12 :</b>	Diagramme des interactions TTBK1- <b>S193</b> .....	<b>32</b>
<b>Figure 13 :</b>	Diagramme des interactions TTBK1- <b>S6</b> . .....	<b>33</b>
<b>Figure 14 :</b>	Diagramme des interactions TTBK1- <b>S646</b> .....	<b>34</b>

## Listes des Tableaux

<b>Tableau 01</b> :	Principaux programmes de docking moléculaire.....	<b>18</b>
<b>Tableau 02</b> :	Principales caractéristiques du complexe 4NFN.....	<b>22</b>
<b>Tableau 03</b> :	Valeurs RMSD (Å) des quatre complexes TTBK1-Inhibiteur.....	<b>27</b>
<b>Tableau 04</b> :	Classement, numéro d'accèsion et affinité des dix meilleurs inhibiteurs de la TTBK1 issus du criblage virtuel.....	<b>31</b>
<b>Tableau 05</b> :	Tableau récapitulatif des interactions formées entre les composés <b>2KC</b> , <b>S193</b> , <b>S6</b> et <b>S646</b> à l'égard du site actif de la TTBK1.....	<b>35</b>
<b>Tableau 06</b> :	Propriétés physico-chimiques de la galantamine ainsi que les composés <b>2KC</b> , <b>S193</b> , <b>S6</b> et <b>S646</b> .....	<b>36</b>
<b>Tableau 07</b> :	Propriétés pharmacocinétique de la galantamine ainsi que les composés <b>2KC</b> , <b>S193</b> , <b>S6</b> et <b>S646</b> .....	<b>37</b>

## Listes des abréviations

**3D** : Trois dimensions.

**2D** : Deux dimensions.

**ADME** : Absorption (A), Distribution (D), Métabolisme (M), Élimination (E).

**ATP**: Adenosine Triphosphate.

**BBB**: Blood-Brain Barrier.

**Bp** : Paire de base.

**CYP1A2** : Cytochrome P450 1A2.

**CYP2C19**: Cytochrome P450 2C19.

**CYP2C9**: Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9.

**CYP2D6**: Cytochrome P450 2D6.

**CYP3A4**: Cytochrome P450 3A4.

**CYP450**: Cytochrome P450.

**DFG**: Aspartate-Phénylalanine-Glycine.

**DNF**: Dégénérescences neurofibrillaires.

**FDA**: Food and Drug Administration.

**FDG**: Fluorodésoxyglucose.

**HBA**: Hydrogen Bond Acceptor.

**HBD**: Hydrogen Bond Donor.

**IRM** : Imagerie par résonance magnétique.

**LOGP** : Coefficient de Partage Eau/Octanol.

**MA** : Maladie d'Alzheimer.

**NCBI** : National Center for Biotechnology Information.

**NIH**: National Institute of Health.

**NFT** : Neurofibrillarytangles.

## Listes des abréviations

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**PDB** : Protein Data Bank.

**RMSD**: Root Mean Square Deviation.

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.

**SIB** : Institut suisse de bioinformatique.

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism.

**TEP / PET** : Tomographie par Émission de Positrons.

**TDM** : Tomographie informatisée.

**TPSA** : Topological Polar Surface Area.

**TTBK1** : Tau Tubulin Kinase 1.

**VMD** : Visual Molecular Dynamics

*Introduction*

*générale*

## Introduction générale

L'Alzheimer est une maladie neurodégénérative qui affecte la mémoire, le langage, le raisonnement et les activités quotidiennes. Elle est causée par l'accumulation anormale de deux protéines dans le cerveau : la bêta-amyloïde et la protéine Tau. Ces protéines forment des plaques et des enchevêtrements qui endommagent et tuent les neurones. [1]

L'une des enzymes impliquées dans la régulation de la protéine tau est la TTBK1 (Tau Tubulin kinase 1). Cette enzyme phosphoryle la protéine Tau et favorise la dissociation des microtubules, ce qui entraîne une instabilité du cytosquelette neuronal et une formation d'enchevêtrements. Il est important de noter que le résidu Lys63 est responsable de l'activité catalytique de l'enzyme. [2]

L'inhibition de la TTBK1 pourrait donc être une stratégie thérapeutique potentielle pour ralentir ou prévenir la progression de la maladie d'Alzheimer. [3] L'objectif essentiel de notre travail est d'identifier de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1 par docking moléculaire. C'est une approche informatique visant à prédire le mode d'interaction d'un ligand (ici c'est l'inhibiteur) à l'égard de sa cible (la TTBK1 dans notre cas). Pour cela, nous avons utilisé le logiciel Surflex qui fonctionne avec un algorithme de fragmentation/reconstruction pour optimiser le positionnement et l'orientation des ligands dans le site actif de la cible.

Avant de se lancer dans le travail de recherche de nouveaux inhibiteurs de la cible d'intérêt, nous avons jugé utile de tester la fiabilité du programme de docking Surflex. Dans ce contexte, l'écart quadratique moyen (*Root Mean Square Deviation ou RMSD*) a été calculé pour 100 complexes protéine-ligand pris de manière arbitraire via la banque de données PDB. Ce test a été conforté par une analyse visuelle permettant de vérifier visuellement la superposition des poses de ligands de référence et simulées.

Dans un deuxième temps, un criblage virtuel mené sur une collection de 1242 similaires chimiques de **2KC** un puissant inhibiteur de la TTBK1, va nous permettre de révéler les inhibiteurs les plus actifs théoriquement sur la cible enzymatique étudiée. Ces inhibiteurs prometteurs vont faire l'objet, dans une troisième partie, d'une étude prédictive de leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant leur profil ADME.

*Partie*

*Bibliographique*

*Chapitre 1 :*

*Maladie*

*D'Alzheimer*

## 1) Introduction

L'Alzheimer est la maladie neurodégénérative la plus répandue. Il s'agit d'une maladie cérébrale irréversible, caractérisée par une détérioration des facultés cognitives et de la mémoire, causée par la dégénérescence progressive des neurones. La maladie d'Alzheimer affecte aussi le comportement, l'humeur, les émotions et la capacité d'accomplir les activités normales de la vie quotidienne. Elle a été découverte en 1906 par le chercheur allemand Alois Alzheimer dont elle porte le nom. Il a identifié les deux manifestations de cette maladie à savoir :

- Les « **plaques** » : qui sont les dépôts de la protéine bêta amyloïde ou A-bêta. Lorsqu'elles s'agrègent dans le cerveau, ces protéines forment des plaques qui bloquent le transfert de signaux entre les neurones, entraînant la mort des cellules cérébrales.
- Les « **enchevêtrements** » : il s'agit d'amas fibreux de la protéine tau. Cette protéine du cerveau ressemble à des rails parallèles. Les nutriments et autres éléments importants sont transportés le long de ces rails pour maintenir les neurones en vie. Dans un cerveau en bonne santé, les protéines tau permettent aux nutriments d'atteindre leur destination. Dans les zones malades du cerveau, elles s'affaissent et s'enroulent, formant des enchevêtrements qui empêchent les nutriments d'atteindre les neurones, entraînant la mort des cellules. [1]

D'un point de vue clinique, la maladie d'Alzheimer affecte progressivement et insidieusement les fonctions cognitives de l'individu (mémoire, langage, raisonnement, apprentissage, résolution de problèmes, prise de décision, perception, attention...) aboutissant à une perte de l'autonomie. Les symptômes cliniques sont considérés comme étant liés à l'altération neuronale qui touche principalement l'hippocampe, siège de la mémoire, et les aires néocorticales donnant à la maladie d'Alzheimer son surnom : maladie de la mémoire.

D'un point de vue physiologique, elle se caractérise par la présence entre les neurones de plaques constituées par une accumulation de la protéine  $\beta$ -amyloïde, et par la présence d'enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires dans le neurone causé par la protéine tau anormalement agrégée. [4]

## 2) Épidémiologie

Le nombre de personnes âgées de 60 ans ou plus passera de 900 millions à 2 milliards entre 2015 et 2050. Cela correspond à des taux allant de 12 % à 22 % de la population mondiale totale. Le vieillissement de la population se produit plus rapidement que par le passé. D'ici 2050, 80 % des personnes âgées vivront dans des pays à revenu faible ou intermédiaire. L'espérance de vie mondiale à la naissance en 2016 était de 72,0 ans (74,2 ans pour les femmes et 69,8 ans pour les hommes), allant de 61,2 ans dans la Région africaine de l'OMS à 77,5 ans dans la Région européenne de l'OMS. Le nombre de personnes atteintes de démence dans le monde en 2015 était estimé à 47,47 millions, atteignant 75,63 millions en 2030 et 135,46 millions en 2050. En 2010, 58 % de toutes les personnes atteintes de démence vivaient dans des pays à revenu faible ou intermédiaire, cette proportion étant anticipée pour atteindre 63 % en 2030 et 71 % en 2050. De 2015 à 2050, le nombre de personnes atteintes de démence en Amérique latine devrait quadrupler. En 2020, 89,28 millions de personnes atteintes de démence vivront dans des pays à revenu faible ou intermédiaire inférieur. Dans la région Asie-Pacifique, on estime que le nombre de personnes atteintes de démence passera de 23 millions de personnes en 2015 à 71 millions de personnes d'ici 2050. La prévalence de la démence en Afrique subsaharienne variait considérablement (fourchette : 2,29 % à 21,60 %) ; La maladie d'Alzheimer était le type de démence le plus répandu. En Égypte, la prévalence de la démence chez les personnes âgées de 65 ans et plus était de 5,9 %. [5]

En Algérie, plus de 200 000 cas ont été recensés à l'échelle Nationale entre 2017 et 2018. Une information émise par le professeur Souhila Amalou, neurologue spécialisée dans la maladie de l'Alzheimer de l'hôpital de Blida, à l'APS. Les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer auront bientôt leur centre d'accueil et de prise en charge qui sera érigé au CHU Frantz-Fanon à Blida. Une fois opérationnel, ce centre, unique du genre en Algérie et parmi les plus importants à l'échelle Maghrébine, "va adopter des méthodes modernes dans le traitement des malades", a souligné la spécialiste. Elle a expliqué que leur prise en charge se fera en journée seulement, en se basant sur deux méthodes de travail. La première s'appuie sur la prise de médicaments pour ralentir le développement de la maladie, alors que la deuxième méthode, dite psychique, se base sur l'exercice de nombreuses activités par le malade, dont le jardinage, la couture, la projection de films, et autres rencontres entre malades, afin de leur faire éviter les complications liées au fait de rester à la maison allongée sur leurs lits. [6]

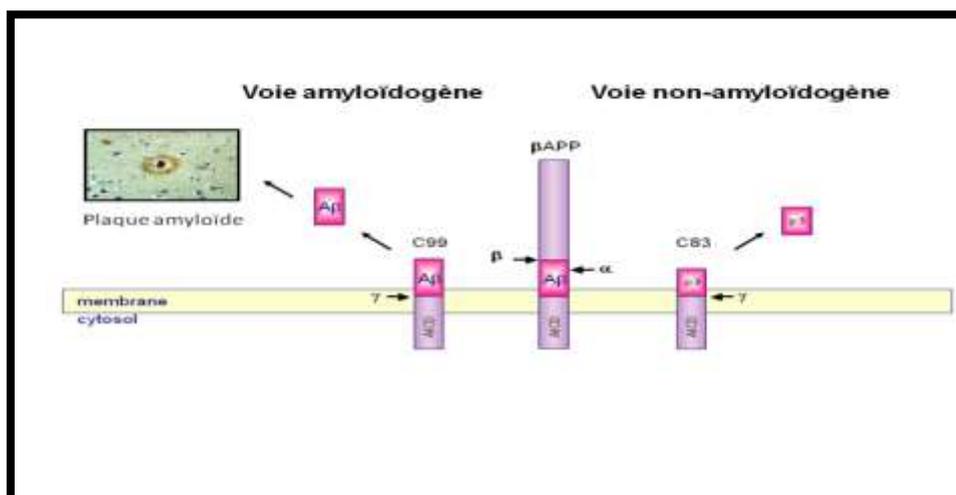
### 3) Physiologie de l'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie complexe dont les causes restent encore mal connues. Son diagnostic anatomopathologique repose sur la détection de 2 types de lésions :

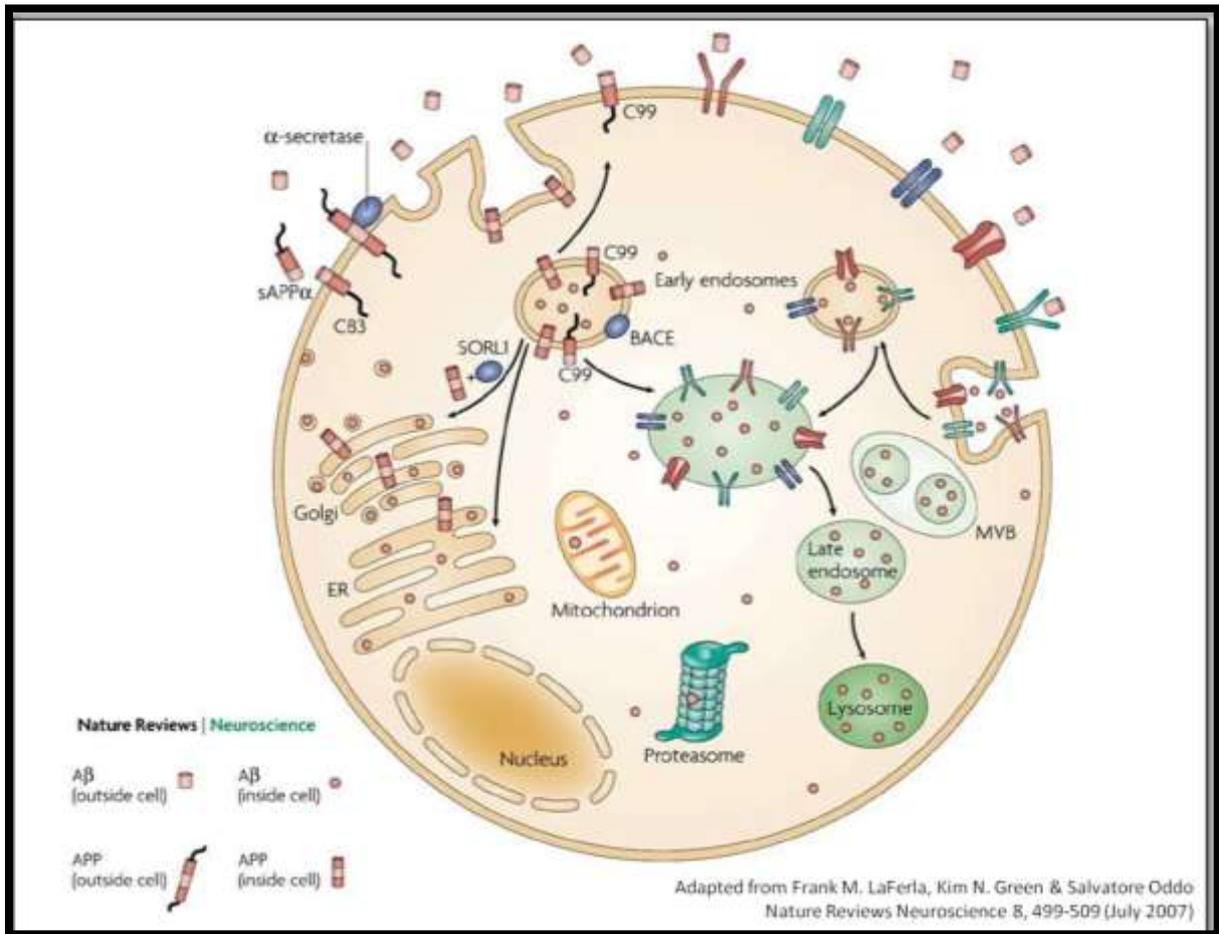
- Les **plaques séniles** constituées de l'accumulation de peptides amyloïde (**A $\beta$** )
- Les **dégénérescences neurofibrillaires** caractérisées par l'enchevêtrement de protéines Tau anormalement hyperphosphorylées.

#### 3.1 Production du peptide A $\beta$

Les peptides A $\beta$  sont produits à partir de leur précurseur, la protéine  $\beta$ APP (bêta-amyloïde précurseur de la protéine) dans une voie de protéolyse que l'on appelle la voie amyloïdogène (**Figure 1**). La première coupure est assurée par l'activité  $\beta$  sécrétase, la seconde par l'activité  $\gamma$ -sécrétase. Les clivages  $\beta$ - et  $\gamma$ -sécrétases se produisent dans des compartiments acides de la cellule (endosomes, lysosomes...). Les peptides A $\gamma$  ainsi produits, sont ensuite sécrétés à l'extérieur de la cellule (**Figure 2**). Les activités  $\beta$ - et  $\gamma$ -sécrétases impliquées dans la production des peptides A $\beta$  constituent des cibles thérapeutiques potentielles. Parallèlement à la voie amyloïdogène, il existe une voie non amyloïdogène qui fait intervenir l'activité  $\alpha$ -sécrétase Cette voie de protéolyse, largement majoritaire, se produit au niveau de la membrane plasmique et est considérée comme non pathogène car elle empêche la production de peptides A $\beta$ . [4]



**Figure 1 :** Intervention de la voie non-amyloïdogène dans l'activité  $\alpha$ -sécrétase



**Figure 2 :** Sites de production de l'A $\beta$

### 3.2 Hypothèse amyloïde

Un des mécanismes les plus répandus pour expliquer l'apparition d'une maladie d'Alzheimer est l'hypothèse de « la cascade amyloïde ». Cette hypothèse postule que l'accumulation dans le cerveau du peptide A $\beta$  est un événement essentiel et initiateur dans la maladie. [4]

### 3.3 Dégénérescences neurofibrillaires

La protéine microtubulaire Tau est le constituant des enchevêtrements fibrillaires qui s'accumulent dans le neurone pour former les dégénérescences neurofibrillaires (DNF). Lors de la maladie d'Alzheimer, les premières lésions apparaissent dans un noyau du tronc cérébral, le locus cœruleus, dès l'âge de 40 ans. Elles gagnent ensuite d'autres territoires du cerveau et en particulier une région essentielle à la mémoire, l'hippocampe. Les régions corticales temporales suivies par le cortex frontal et pariétal sont successivement touchées suivant un schéma de progression bien établi. Ce cheminement est étroitement corrélé avec

l'atteinte des fonctions cognitives et la démence. Cette progression est d'abord asymptomatique. C'est avec l'atteinte des régions polymodales associatives que les signes de démence apparaissent. Ces observations suggèrent une progression des lésions suivant des circuits neuronaux interconnectés. [4]

Une réponse immunitaire soutenue et inflammation ont été observées dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Certains experts ont proposé que l'inflammation soit la troisième caractéristique anatomopathologique de la maladie d'Alzheimer. [7]

## **4) Diagnostique et traitements de la maladie d'Alzheimer**

### **4.1 Diagnostique**

Une partie importante du diagnostic de la maladie d'Alzheimer consiste à pouvoir expliquer ses symptômes. Les commentaires d'un membre de la famille proche ou d'un ami sur les symptômes et leur impact sur la vie quotidienne sont utiles. Les tests de mémoire et de réflexion aident également à diagnostiquer la maladie d'Alzheimer. Des tests sanguins et d'imagerie peuvent exclure d'autres causes potentielles des symptômes. Par le passé, la maladie d'Alzheimer n'était diagnostiquée avec certitude qu'après la mort lorsque l'examen du cerveau au microscope révélait des plaques et des enchevêtrements. Les fournisseurs de soins de santé et les chercheurs sont désormais en mesure de diagnostiquer la maladie d'Alzheimer au cours de la vie avec plus de certitude. Les tests de biomarqueurs peuvent détecter la présence de plaques et d'enchevêtrements. Ils comprennent des types spécifiques de TEP (Tomographie par Émission de Positrons) et des tests qui mesurent les protéines amyloïdes et tau sérique et du liquide céphalo-rachidien. [8]

#### **4.1.1 Essais en laboratoire**

Des tests sanguins peuvent aider à éliminer d'autres causes potentielles de perte de mémoire et de confusion, comme un trouble de la thyroïde ou des niveaux de vitamines trop bas. Les tests sanguins peuvent également mesurer les niveaux de protéine bêta-amyloïde et de protéine tau, mais ces tests ne sont pas largement disponibles et la couverture peut être limitée. [9]

### 4.1.2 État mental et tests neuropsychologiques

Un bref test d'état mental peut être utile afin d'évaluer la mémoire et d'autres capacités de réflexion. Des formes plus longues de ce type de test peuvent fournir plus de détails sur la fonction mentale qui peuvent être comparés à des personnes d'un âge et d'un niveau d'éducation similaires. Ces tests peuvent aider à établir un diagnostic et servir de point de départ pour suivre les symptômes à l'avenir. [10]

### 4.1.3 Imagerie cérébrale

Les images du cerveau sont généralement utilisées pour identifier les changements visibles liés à des conditions autres que la maladie d'Alzheimer qui peuvent provoquer des symptômes similaires, tels que des accidents vasculaires cérébraux, des traumatismes ou des tumeurs. De nouvelles techniques d'imagerie peuvent aider à détecter des changements cérébraux spécifiques causés par la maladie d'Alzheimer, mais elles sont principalement utilisées dans les grands centres médicaux ou dans les essais cliniques.

✓ L'imagerie des structures cérébrales comprend :

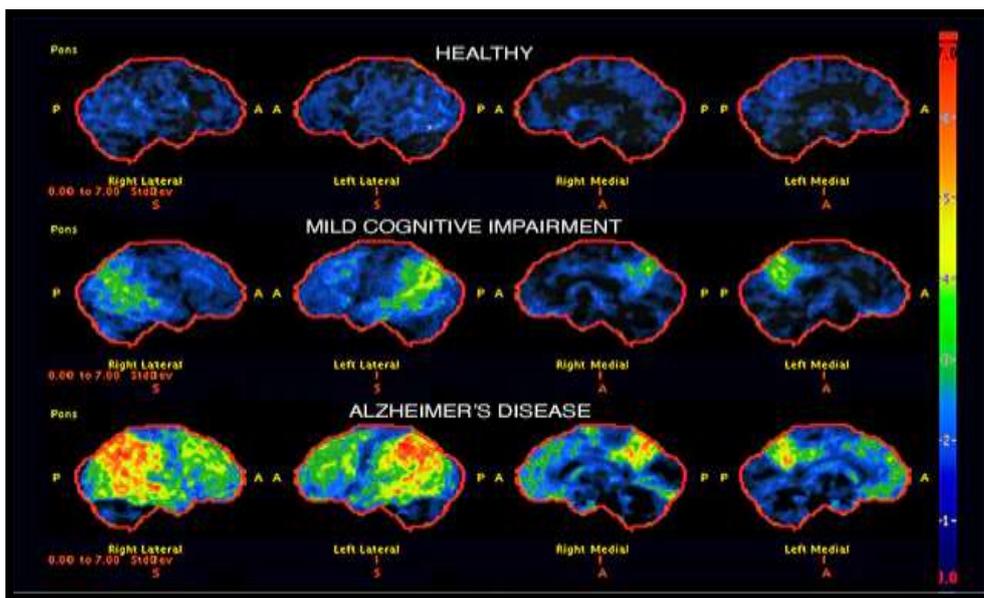
Imagerie par résonance magnétique (IRM). L'IRM utilise des ondes radio et un champ magnétique puissant pour produire des images détaillées du cerveau. Bien qu'ils puissent montrer un rétrécissement de certaines régions du cerveau associées à la maladie d'Alzheimer, les examens IRM excluent également d'autres conditions. Une IRM est généralement préférée à une tomographie pour évaluer la démence.

Tomographie informatisée (TDM). Un scanner, une technologie de rayons X spécialisée, produit des images en coupe du cerveau. Il est généralement utilisé pour exclure les tumeurs, les accidents vasculaires cérébraux et les blessures à la tête.

La tomographie par émission de positrons (TEP) peut capturer des images du processus de la maladie, après injection d'un traceur radioactif à faible concentration. L'imagerie TEP peut inclure :

Les scans d'imagerie TEP au fluorodésoxyglucose (FDG), montrent des zones du cerveau dans lesquelles les nutriments sont mal métabolisés. La découverte de modèles dans les zones de faible métabolisme peut aider à faire la distinction entre la maladie d'Alzheimer et d'autres types de démence.

L'imagerie TEP amyloïde peut mesurer la charge de dépôts amyloïdes dans le cerveau. Ce test est principalement utilisé dans la recherche, mais peut être utilisé si une personne présente des symptômes de démence inhabituels ou très précoces. L'imagerie Tau PET, qui mesure les enchevêtrements dans le cerveau, est généralement utilisée dans le cadre de la recherche. Dans des circonstances particulières, d'autres tests peuvent être utilisés pour mesurer l'amyloïde et la protéine tau dans le liquide céphalo-rachidien. Cela peut être fait si les symptômes s'aggravent rapidement ou si la démence affecte une personne à un âge plus jeune que ce qui est typique. [11]



**Figure 3 :** Images de scanner cérébral pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer.

## 4.2 Traitements De la Maladie de l'Alzheimer

### 4.2.1 Médicaments

Les médicaments contre la maladie d'Alzheimer peuvent aider à soulager les symptômes de la mémoire et d'autres changements cognitifs. Deux types de médicaments sont actuellement utilisés pour traiter les symptômes :

#### 4.2.1.1 Inhibiteurs des cholinestérases

Ces médicaments agissent en augmentant les niveaux de communication de cellule à cellule. Les médicaments préservent un messager chimique qui est épuisé dans le cerveau lors de la maladie d'Alzheimer. Ce sont généralement les premiers médicaments essayés. Les inhibiteurs des cholinestérases peuvent améliorer les symptômes liés au comportement,

comme l'agitation ou la dépression. Les médicaments sont pris par voie orale ou délivrés par un patch sur la peau. Les inhibiteurs des cholinestérases couramment prescrits comprennent le donépézil (Aricept, Adlarity), la galantamine (Razadyne) et le timbre transdermique de rivastigmine (Exelon).

Les principaux effets secondaires de ces médicaments sont la diarrhée, les nausées, la perte d'appétit et les troubles du sommeil. Chez les personnes atteintes de certains troubles cardiaques, les effets secondaires graves peuvent inclure un rythme cardiaque irrégulier. [12]

#### 4.2.1.2 Mémantine (Namenda)

Ce médicament agit dans un autre réseau de communication des cellules cérébrales et ralentit la progression des symptômes de la maladie d'Alzheimer modérée à sévère. Il est parfois utilisé en association avec un inhibiteur des cholinestérases. Les effets secondaires relativement rares comprennent les étourdissements et la confusion.

En juin 2021, la *Food and Drug Administration* (FDA) a approuvé l'aducanumab (Aduhelm) pour le traitement de certains cas de la maladie d'Alzheimer. Le médicament a été étudié chez des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer au stade précoce, y compris des personnes atteintes de troubles cognitifs légers dus à la maladie d'Alzheimer.

Ce médicament a été approuvé aux États-Unis, car il élimine les plaques amyloïdes dans le cerveau. Mais les études sur son efficacité à ralentir le déclin cognitif étaient mitigées et la couverture est limitée. Par conséquent, il n'est pas largement utilisé. [13]

#### 4.2.1.3 Lecanemab

Un autre médicament contre la maladie d'Alzheimer, le lecanemab (Leqembi), s'est révélé prometteur pour les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer légère et de troubles cognitifs légers dus à cette maladie. La FDA a approuvé le médicament en 2023.

Un essai clinique de phase 3 a révélé que le médicament ralentissait de 27 % le déclin cognitif chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer au stade précoce. Lecanemab agit en empêchant l'agglutination des plaques amyloïdes dans le cerveau. Cette étude était la plus importante à ce jour pour déterminer si l'élimination des amas de plaques amyloïdes du cerveau peut ralentir la maladie. Une autre étude examine l'efficacité du lecanemab pour les personnes à risque de maladie d'Alzheimer, y compris les personnes qui ont un parent au premier degré, tel qu'un parent ou un frère ou une sœur, atteint de la maladie. Parfois, d'autres

médicaments tels que des antidépresseurs peuvent être prescrits pour aider à contrôler les symptômes comportementaux associés à la maladie d'Alzheimer. [13]

Récemment, des recherches sont menées, pour développer de nouveaux traitements de la maladie d'Alzheimer par inhibition de la protéine tau-tubulines kinase (**TTBK**). Ces dernières sont une famille de kinases à sérine/thréonine et tyrosine récemment découvertes et impliquées dans la phosphorylation d'importants substrats tels que la protéine tau, la tubuline ou le TDP-43.

Il ya deux homologues, TTBK1 et TTBK2 dont le premier est impliqué dans la maladie d'Alzheimer. [19] Il s'agit d'une enzyme permettant la phosphorylation de diverses protéines dans le cerveau. Des études ont montré que la TTBK1 peut jouer un rôle dans la progression de la maladie d'Alzheimer. D'autres études précliniques ont montré que certains médicaments qui ciblent TTBK1 pourraient aider à réduire les plaques amyloïdes et les enchevêtrements neurofibrillaires dans le cerveau, qui sont des caractéristiques clés de la maladie d'Alzheimer. C'est à cette enzyme que nous nous intéressons dans le présent travail dont l'objectif est de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1 par docking moléculaire.

*Chapitre 2 :*

*Tau Tubulin*

*kinase 1*

## 1) Introduction

Tau-tubuline kinase 1 (TTBK1) est une enzyme appartenant à la superfamille des caséines kinase 1. Elle est spécifique aux neurones qui régulent la phosphorylation de la protéine tau. L'hyperphosphorylation de cette dernière est fortement impliquée dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer. Cette enzyme contient 1321 acides aminés, dont un domaine N-kinase terminal et un domaine polyglutamate unique (acides aminés 733-771). Plusieurs éléments de preuve ont impliqué la TTBK1 dans la progression de la MA. En effet, lorsqu'elle est surexprimée, cette enzyme favorise l'agrégation de la protéine tau. [14]

La surexpression de TTBK1 altère l'apprentissage spatial et diminue la fonction motrice in vivo. [15] De plus, par rapport à un cerveau normal apparié selon l'âge, l'expression de la protéine TTBK1 est augmentée dans la MA, où il a été démontré qu'elle est associée aux NFT par immunohistochimie. [16] De plus, des preuves croissantes suggèrent que la modulation de la phosphorylation de TTBK1 pourrait avoir un bénéfice thérapeutique. Deux populations génétiques distinctes ont été identifiées qui possèdent un polymorphisme mononucléotidique (SNP) pour une variante allélique mineure de TTBK1, et ce SNP a été associé à une diminution de l'incidence de la MA. [17]

## 2) Structure

Le gène de la TTBK1 est situé sur le chromosome humain 6p21.1 et est composé de 14 exons et 15 introns avec une longueur d'ADNc de 6932 bp ce qui correspond à 1321 acides aminés. Cette enzyme possède un domaine kinase et un domaine polyglutamate unique dans la région médiane de la séquence (Figure4). Des homologues humains de la TTBK1 ont été trouvés chez les souris, les nématodes *Caenorhabditis elegans* et *Drosophila melanogaster*, dont les régions non catalytiques ne sont pas homologues à celles TTBK1 humain (Figure4).

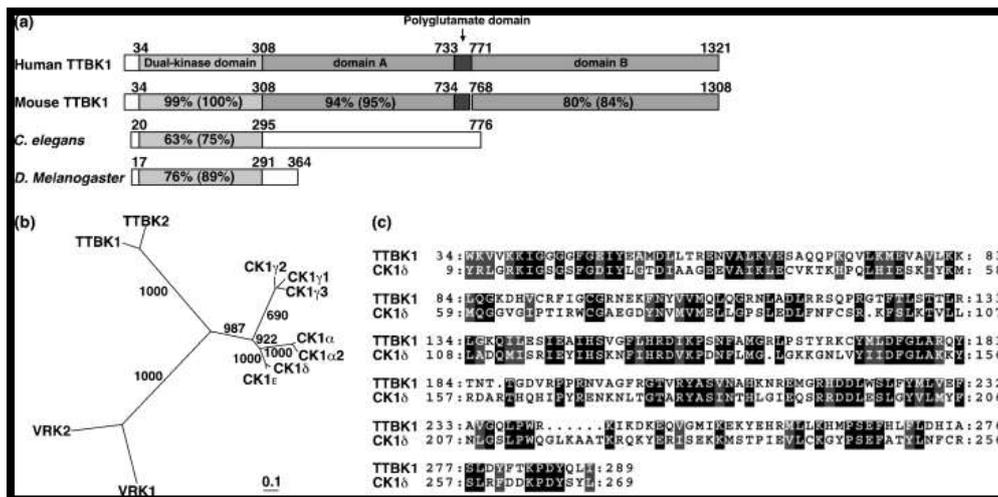


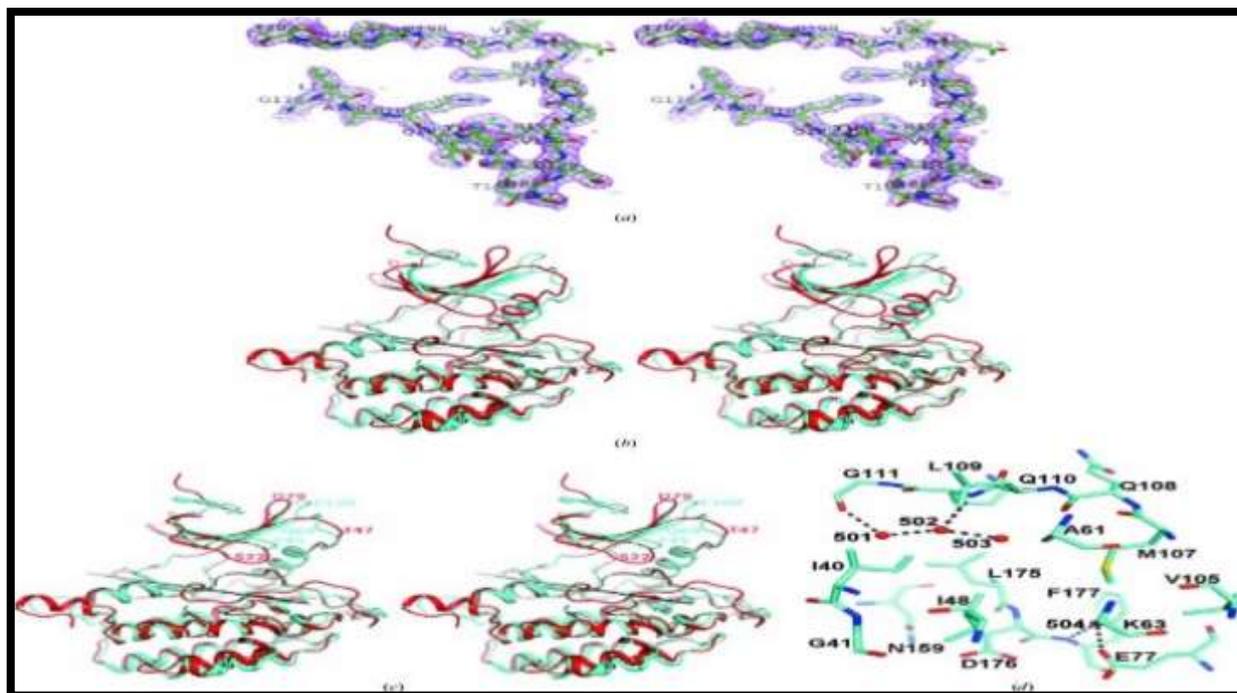
Figure 4 : Alignement multiples des séquences de la TTBK1.

La structure de la TTBK1 ressemble à celle des autres kinases protéiques qui sont caractérisées par un domaine N-terminal contenant en grande partie des brins  $\beta$  et un domaine C-terminal principalement  $\alpha$ -hélicoïdal relié par une région de « charnière » étendue (résidus 108–111).

Le domaine N-terminal contient la boucle P (résidus 40–49) et l’hélice  $\alpha$ C (résidus 72–84). Le domaine C-terminal contient, de son côté, le motif DFG (résidus 176–178) et la boucle d’activation (résidus 178–202), qui est traçable dans son intégralité (Figure 5a). La région charnière à l’interface entre les domaines N et C-terminal constitue le site de liaison des nucléotides d’adénine.

Lorsque le domaine C-terminal de 1CKi a été superposé au domaine C-terminal de TTBK1, une rotation supplémentaire de  $9^\circ$  a été nécessaire pour obtenir la meilleure superposition du domaine N-terminal de 1CKi sur TTBK1. Cette rotation supplémentaire a montré la sagesse de la recherche des domaines C-terminal et N-terminal séparément pendant le remplacement moléculaire (Figure 5b). Les autres grandes différences entre la structure de CK1 et de TTBK1 sont la position de la boucle P, qui est positionnée loin du site actif dans TTBK1 par rapport à CK1, et la boucle d’activation, qui est organisée différemment (Figure 5c).

La comparaison de la structure TTBK1 avec une apostructure CK1 (entrée PDB 4hok) révèle également des similitudes structurales : le motif DFG adopte la conformation DFG-IN, active et le résidu de *gatekeeper* est un Met (Met107 dans TTBK1) dans les deux cas. Derrière le résidu de portier se trouve une petite poche arrière partiellement hydrophobe délimitée par Met107, Val105, Lys63 et Leu81 (figure 5d).



**Figure 5 :** Structure de l'apo TTBK1.

On a signalé que le CK1 adopte une conformation DFG-out, stabilisée par Phe55 de l'hélice  $\alpha$ C, qui tourne et remplit la poche de phénylalanine dans la conformation inactive liée aux inhibiteurs. Cette stabilisation a été proposée pour expliquer la sélectivité observée entre les  $\delta$  et les isoformes pour certains inhibiteurs de CK1 malgré le fait que les deux partagent une poche d'ATP très conservée. Compte tenu de la séquence et des similitudes structurales avec CK1, il est possible que TTBK1 adopte également une telle conformation DFG-out. Toutefois, le résidu équivalent à Phe55 dans TTBK1 est une valine, qui n'est pas susceptible de stabiliser la forme DFG-out. Néanmoins, une telle conformation potentiellement inactive pourrait encore être induite dans TTBK1 par sa liaison à certains inhibiteurs. [18]

### 3) Site actif de la TTBK1

La TTBK1 est une sérine/thréonine kinase impliquée dans divers processus biologiques telles que la régulation de la prolifération cellulaire et la signalisation neuronale. La structure cristalline de la TTBK1 révèle que les résidus catalytiques Lys63 et Asp164 sont essentiels pour son activité kinase. La Lys63 est située dans le domaine N-terminal de l'enzyme et est impliquée dans la reconnaissance des substrats, tandis que l'Asp164 est située dans le domaine C-terminal et est impliquée dans la catalyse de la phosphorylation des substrats. Des études cinétiques ont montré que la mutation de ces résidus catalytiques réduit considérablement l'activité kinase de la TTBK1. [19]

*Chapitre 3 :*

*Docking*

*Moléculaire*

## 1) Introduction

Précédemment, un projet de développement d'un nouveau médicament était basé sur une méthode expérimentale, coûteuse et lente. Le criblage *in vitro* à haut débit consiste à tester expérimentalement l'activité d'un très grand nombre de ligand vis-à-vis d'une cible thérapeutique afin d'identifier des composés promoteurs. Cependant, cette approche s'est rapidement trouvée confrontée à de nombreux problèmes scientifiques, techniques, méthodologiques et financiers en particulier. Actuellement, les compagnies pharmaceutiques font recours aux approches de modélisation moléculaire par Docking qui sont devenues des alternatives qui permettent de rationaliser le processus du *drug design*. [20] En effet, le criblage virtuel par Docking moléculaire vise à simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour une cible thérapeutique donnée ce qui est plus simple à mettre en place, plus rapide pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. Aujourd'hui, ces approches sont devenues des étapes indispensables et cruciales dans de nombreux programmes de découverte de médicaments. Les industries pharmaceutiques consacrent près de 10% de leur budget à la recherche, sur les médicaments, assistée par ordinateur. [21]

## 2) Etapes du Docking moléculaire

Une stimulation par docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring (figure 6).

### 2.1 Docking

C'est l'étape de sélection consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine en l'orientant en plusieurs conformation et positions possibles.

### 2.2 Scoring

C'est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre les poses du ligand obtenues lors de la première étape à l'égard de la protéine. Cette étape donne lieu à un score. [22]

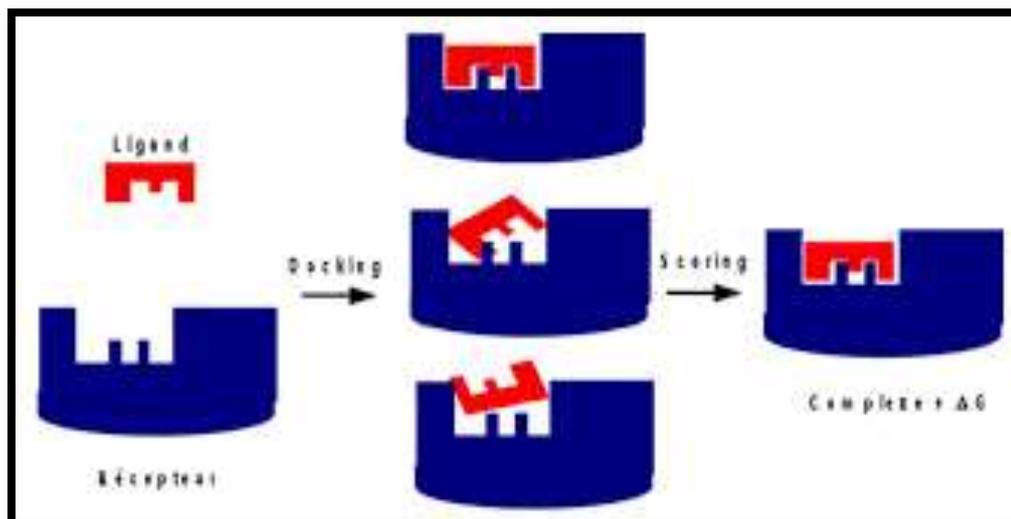


Figure 6 : Principe d'une simulation par Docking moléculaire.

### 3) Les outils du docking moléculaire

Les éléments indispensables pour pratiquer un Docking moléculaire se limitent en un récepteur macromoléculaire de nature protéique appelée « cible », une petite molécule appelée ligand et un programme de Docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur choisi.

#### 3.1 Ligand

Dans le domaine du Docking moléculaire, un ligand est une molécule qui se lie à une macromolécule. Selon le contexte, le ligand peut être une petite molécule organique ou inorganique. Il existe deux moyens pour obtenir la structure 3D d'un ligand donné :

- Le premier moyen consiste à utiliser des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, MarvinSketch, ChemSketch, afin de dessiner, optimiser et sauvegarder des ligands issus de la littérature.
- Le deuxième moyen consiste à la consultation des banques de données de ligands (chimiothèques) fournissant un nombre très important de structures 3D des ligands prêtes pour le Docking. Parmi les chimiothèques les plus utilisés, nous pouvons citer la PubChem, Zinc, Chempider.

### 3.2 Récepteur

En Docking moléculaire, le récepteur est souvent une protéine spécialisée capable de se lier spécifiquement et réversiblement à une autre molécule appelée ligand pour induire un effet biologique. Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB « *Protein Data Bank* ». [23]

Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de Docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ...etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, nous pouvons faire recours à la modélisation par homologie afin de prédire un modèle de la structure 3D de la cible souhaitée. [24]

## 4) Logiciels de Docking

Ce travail est axé sur le logiciel Surflex, sélectionné parmi de nombreux autres logiciels de docking moléculaire disponibles (voir tableau 1).

### 4.1 Surflex

Surflex est l'un des programmes de docking moléculaire les plus utilisés et performants. Ce logiciel a été utilisé dans le présent travail afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1. Il a été développé par la société BioPharmics. Il est basé sur une méthode de fragmentation/reconstruction permettant d'explorer un grand nombre de conformations de manière rapide et efficace, en optimisant simultanément les positions des atomes du ligand et de la cible. Le logiciel Surflex a été utilisé dans de nombreuses applications de découverte de médicaments, notamment dans la conception de nouveaux inhibiteurs de protéines, la prédiction de l'activité biologique et la conception de médicaments dirigés contre des cibles spécifiques. Il a été validé dans de nombreuses études, qui ont montré qu'il est capable de prédire avec précision les structures de complexes de ligands et de protéines et d'identifier des composés prometteurs pour la découverte de médicaments. [25]

**Tableau 1** : Principaux programmes de docking moléculaire

Nom	Editeur	Site Internet
AutoDock	Scripps	<a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/</a>
Dock	UCSF	<a href="http://dock.compbio.ucsf.edu/">http://dock.compbio.ucsf.edu/</a>
FlexX	BioSolveIT	<a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a>
Fred	OpenEyes	<a href="http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html</a>
Glide	Schrödinger	<a href="http://www.schrodinger.com/Products/glide.html">http://www.schrodinger.com/Products/glide.html</a>
Gold	CCDC	<a href="http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/">http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/</a>
ICM	Molsoft	<a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a>
LigandFit	Accelrys	<a href="http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html">http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html</a>
Surflex	Biopharmics	<a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>

*Partie*

*Pratique*

*Chapitre 4 :*

*Matériel*

*Et*

*Méthodes*

## 1) Matériel

Dans le but de proposer de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1, il s'est avéré crucial de s'initier aux approches de modélisation par docking moléculaire. Pour y parvenir, nous avons utilisé le matériel suivant.

### 1.1 Microordinateur

Dans cette étude, nous avons utilisé des programmes installés sous le système d'exploitation Windows 11 ; 64bits en utilisant un microordinateur présentant les performances suivantes :

- LENOVO, avec 8GB de RAM, 512 GB SSD de disque dure et une vitesse 2.10 GHz.

### 1.2 Programmes

Afin de réaliser la partie pratique de ce travail, nous avons utilisés plusieurs programmes dont :

#### 1.2.1 Surfex

Surflex-dock est un algorithme de docking rapide et performant. Les paramètres standards de Surfex ont été utilisés par défaut dans cette étude. [25]

Le docking moléculaire avec Surfex est réalisé en 3 étapes [26] :

- Génération d'une pseudo-molécule (protomol) qui servira de cible (site actif) aux différents ligands étudiés.
- Docking moléculaire d'un ou de plusieurs ligands
- La visualisation des résultats (Final-0).

#### 1.2.2 Biovia Discovery Studio Visualizer

BIOVIA Discovery Studio Visualizer est un logiciel gratuit de visualisation moléculaire et de modélisation 3D de haute qualité. Il permet aux scientifiques de visualiser des structures moléculaires complexes en 3D, ainsi que de réaliser des analyses et des simulations de propriétés moléculaires. Le logiciel est capable de lire et de traiter plusieurs formats de fichiers de modèles moléculaires, y compris les fichiers PDB (*Protein Data Bank*), les fichiers

MOL (Molfile) et les fichiers de trajectoire générés par des simulations de dynamique moléculaire. [27]

### 1.2.3 VMD (Visual Molecular Dynamics)

VMD (Visual Molecular Dynamics) est un logiciel gratuit de visualisation moléculaire utilisé pour analyser, représenter et simuler des structures moléculaires complexes telles que les protéines, les acides nucléiques et les lipides. VMD permet de visualiser des modèles moléculaires en 3D, ainsi que de réaliser des simulations de dynamique moléculaire et d'analyser les résultats de ces simulations. Le logiciel VMD est capable de lire et de traiter plusieurs formats de fichiers de modèles moléculaires, y compris les fichiers PDB et les fichiers de trajectoire générés par des simulations de dynamique moléculaire. [28]

## 1.3 Bases des données

### 1.3.1 Protein Data Bank (PDB)

La banque de données protéiques (*Protein Data Bank* ou PDB) est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures 3D des protéines d'intérêt pharmaceutique. Ces structures sont principalement déterminées par les deux méthodes ; la cristallographie à rayons X et la RMN. [29]

### 1.3.2 PubChem

C'est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la National Institute of Health (NIH). La PubChem est une chimiothèque englobant plusieurs millions de composés mis en ligne, gratuitement. [30]

### 1.3.3 SwissADME

SwissADME est une plateforme en ligne gratuite permettant de prédire les propriétés pharmacocinétiques et ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) des composés chimiques. Cette prédiction se fait à partir de la structure chimique d'un composé en utilisant des algorithmes prédictifs basés sur des modèles statistiques et des données expérimentales. SwissADME est développée et maintenue par l'Institut suisse de bioinformatique (SIB) et peut être utilisée gratuitement en ligne. [31]

## 2) Méthodes

Avant d'aborder la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1, il est indispensable de tester la fiabilité du logiciel Surflex. Pour ce faire, nous avons effectué deux tests de fiabilités :

- L'écart quadratique moyen ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*).
- L'analyse visuelle.

### 2.1 Root Mean Square Deviation

L'évaluation des résultats d'un programme de docking moléculaire est essentielle pour prédire avec précision la conformation et l'orientation d'un ligand dans un complexe protéine-ligand. Pour ce faire, il est courant de calculer la valeur de déviation quadratique moyenne ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*) afin de mesurer le décalage entre la conformation d'un ligand prédite par le programme de docking, et sa pose expérimentale de référence obtenue à partir de la PDB. [32]

Selon les références bibliographiques, si la valeur de RMSD est inférieure à 2 Å, la prédiction du positionnement d'un ligand au sein de sa cible est considérée fiable. Pour évaluer la performance d'un programme de docking moléculaire, il est courant de réaliser ce test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés. [33]

Dans notre étude, le test de fiabilité par RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand sélectionnés au hasard à partir de la PDB. Les valeurs de RMSD ont été calculées par le logiciel Surflex en utilisant la commande suivante :

**Surflex-dock rms final-0.mol2 ligand.mol2**

Si la valeur du RMSD est supérieure à 2 Å, le logiciel Surflex peut optimiser le positionnement d'un ligand au sein de son récepteur en utilisant la commande suivante :

**Surflex-dock oprms final-0.mol2 ligand.mol2**

### 2.2 Analyse visuelle de la superposition

L'analyse visuelle faisant suite au test par RMSD, est aussi une étape cruciale pour évaluer la performance d'un logiciel de docking moléculaire. Elle permet de donner un aperçu

sur les résultats numériques du RMSD en visualisant la superposition de la pose théorique et expérimentale d'un ligand. Dans notre cas, cette analyse visuelle a été menée sur le ligand **2KC**.

### 2.3 Préparation de l'enzyme

La structure 3D de la TTBK1 faisant l'objet de notre étude, a été téléchargée à partir de la PDB sous le code **4NFN** (figure 7), où elle existe sous forme de complexe lié à un inhibiteur (**2KC**) avec une faible valeur de résolution de 1.42 Å. Les caractéristiques de cette protéine sont représentées dans le tableau N°2. Le fichier de la protéine nécessite une préparation préalable avant d'aborder l'étude par docking moléculaire. En effet, les molécules d'eau et l'inhibiteur liés à ce récepteur ont été éliminés par le logiciel VMD afin de ne conserver que la structure de l'enzyme avec un site actif libre.

**Tableau 2.** Principales caractéristiques du complexe **4NFN**.

Code PDB	Nombre de chaînes	Longueur	Code de l'inhibiteur	Résolution	Mutation	Score de Docking	RMSD
<b>4NFN</b>	2	283	<b>2KC</b>	1.42 Å	Absence	2.37	1.683 Å



**Figure 7 :** Structure 3D du complexe **4NFN**

## 2.4 Préparation du ligand de référence

Pour séparer le ligand **2KC** de sa protéine **4NFN**, nous avons utilisé le logiciel de visualisation moléculaire VMD. Nous avons sélectionné le ligand **2KC** à partir de la structure de la protéine et l'enregistré sous le format de fichier pdb afin de l'utiliser dans notre protocole de docking moléculaire.

## 2.5 Docking moléculaire par Surflex

Le programme de docking moléculaire Surflex a été utilisé pour prédire les conformations les plus optimales d'un ligand dans le site actif de sa protéine cible. Pour ce faire, différentes étapes ont été nécessaires. Tout d'abord, le site actif a été identifié par la construction d'une pseudo-molécule appelée "*protomol*". Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

**Surflex-dock proto ligand.mol2 protein.mol2 pl**

Ensuite, l'étape de docking a commencé par la fragmentation préalable du ligand. L'assemblage des fragments a permis de rechercher les conformations les plus optimales du ligand dans le site actif de la protéine. Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

**Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protein.mol2**

## 2.6 Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques

La banque de données PubChem fournit une liste de molécules similaires au ligand de référence, avec un taux de similarité spécifique. Dans notre cas, PubChem nous a proposé **1242** similaires chimiques dérivés du **2KC** avec un taux de similarité de **82%**. Nos similaires ont été téléchargés au format (.sdf). Puis En utilisant le logiciel Surflex, ces molécules ont fait l'objet d'un criblage virtuel sur l'enzyme cible pour déterminer leur capacité à se lier au site actif selon leur score de docking obtenu.

## 2.7 Analyse visuelle de l'interaction

Cette étape, réalisée à l'aide du programme Discovery, est cruciale car elle permet d'analyser et de quantifier les diverses interactions entre le ligand et les résidus du site actif étudié. Cela est essentiel pour comprendre la nature et la force des interactions moléculaires

impliquées dans la reconnaissance ligand-protéine et pour concevoir des ligands plus efficaces et spécifiques.

## 2.8 Prédiction des propriétés ADME

Dans cette étude, nous avons utilisé le serveur SwissADME comme outil de prédiction pour évaluer les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de nos molécules candidates. SwissADME est un serveur en ligne gratuit permettant de calculer plusieurs paramètres importants pour l'optimisation des candidats médicaments, tels que la solubilité dans l'eau, la perméabilité à travers les membranes cellulaires, le potentiel d'inhibition des enzymes du Cytochrome P450 et la toxicité potentielle. Ces informations sont importantes pour comprendre comment nos molécules interagissent avec leur cible. Dans ce travail, les 3 meilleurs similaires chimiques à l'issue du criblage virtuel ont fait l'objet de l'étude prédictive de leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques. La galantamine, médicament anti-Alzheimer, a été choisi comme standard pour comparaison.

### 2.8.1 Propriétés physicochimiques

#### 2.8.1.1 Règle de Lipinski

La règle de Lipinski, également appelée règle de cinq, est une règle empirique en chimie médicinale permettant de prédire la biodisponibilité orale d'un composé à partir de sa structure chimique. Cette règle a été énoncée par Christopher A. Lipinski en 1997. Selon cette règle, une molécule est biodisponible par voie orale si elle respecte au moins 3 de ces 5 critères [34] :

- Poids moléculaire inférieur à 500 daltons
- Le coefficient de partage octanol-eau (logP) doit être inférieur à 5
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBD) doit être inférieur à 10
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBA) doit être inférieur à 5
- Nombre de liaisons flexibles inférieur à 15.

#### 2.8.1.2 Règle de Veber

La règle de Veber énoncée par J. Veber en 2002, vient compléter la règle de Lipinski en permettant de vérifier la biodisponibilité par voie orale d'un composé. Selon cette règle, un composé possède une bonne biodisponibilité par voie orale s'il remplit les 4 critères suivants :

- 1- L'aire de surface polaire (PSA : *Polar Surface Area*) doit être inférieure ou égale à 140 Å<sup>2</sup>,
- 2- Le nombre de liaisons flexibles doit être inférieur ou égal à 15,
- 3- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes doit être inférieur ou égal à 10,
- 4- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égal à 5. [35]

### 2.8.1.3 Solubilité dans l'eau

La solubilité dans l'eau est la capacité d'une substance, appelée soluté, à se dissoudre dans l'eau et les milieux aqueux comme le sang pour former un mélange homogène appelé solution. [36]

### 2.8.1.4 Accessibilité à la synthèse

L'accessibilité à la synthèse est un facteur qui évalue la facilité avec laquelle une substance peut être synthétisée ou produite de manière expérimentale ou industrielle. Ce critère est prédit par le serveur SwissADME en chiffres allant de 1 (facile à synthétiser) à 10 (difficile à synthétiser).

## 2.8.2 Propriétés pharmacocinétiques

### 2.8.2.1 Absorption gastro-intestinale

L'absorption intestinale désigne le passage des substances que nous ingérons à travers les parois de l'intestin afin d'être diffusées dans l'organisme. [37]

### 2.8.2.2 La perméabilité BBB

La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB : *Blood-Brain Barrier*) représente la capacité d'une molécule à traverser la barrière hémato-encéphalique pour atteindre le système nerveux central. [38]

### 2.8.2.3 Inhibition des cytochromes P450

L'inhibition des enzymes du cytochrome P450 (CYP450) est le mécanisme le plus courant conduisant à des interactions médicamenteuses. [39] L'inhibition du CYP450 peut être classée comme réversible (y compris l'inhibition compétitive et non compétitive) ou irréversible (ou quasi-irréversible), telle que l'inhibition basée sur le mécanisme. Ainsi, un composé prédit comme inhibiteur des CYP450 peut empêcher le métabolisme des médicaments et provoquer, par conséquent, des interactions médicamenteuses

*Chapitre 5 :*

*Résultats*

*Et*

*Discussion*

Le but principal de notre mémoire de master est de développer des compétences en simulation informatique par docking moléculaire afin de contribuer à la conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la tau tubuline kinase 1, une cible thérapeutique pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Notre travail est divisé en trois parties. Dans la première partie, nous avons évalué la performance du programme de docking moléculaire Surflex. Dans la deuxième partie, nous avons étudié les interactions moléculaires impliquées dans l'inhibition de la TTBK1 afin de concevoir de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins pour cette cible. Enfin, la dernière partie de notre travail consiste à mener une étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des composés nouvellement proposés.

## 1) Test de fiabilité

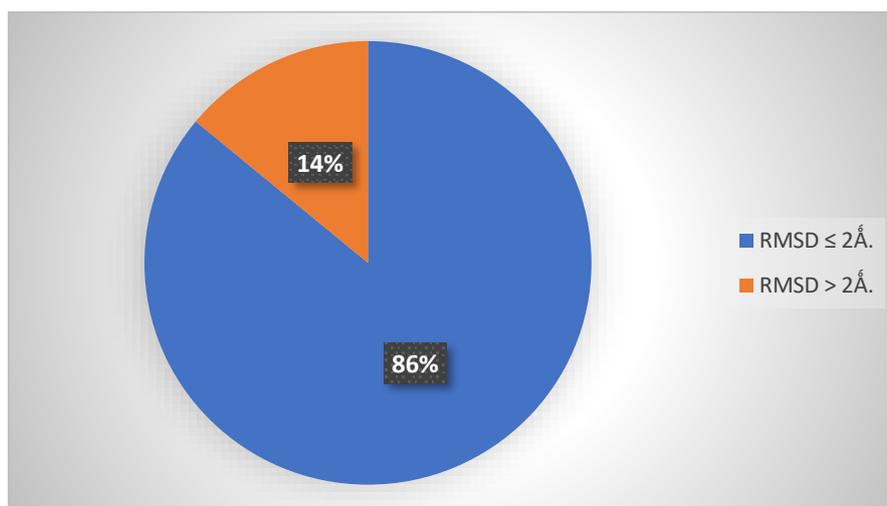
Avant d'aborder l'étude *in silico* de l'inhibition de la TTBK1 par docking moléculaire, il était essentiel de mesurer la fiabilité du logiciel Surflex à l'aide de l'écart quadratique moyen (RMSD) et de confirmer visuellement les résultats obtenus.

### 1.1 RMSD

L'écart quadratique moyen (RMSD) correspond à la moyenne des écarts de position de chaque atome de la pose de référence d'un ligand vis-à-vis de sa pose simulée. Les performances d'un programme de docking sont évaluées en termes de sa capacité à reproduire le mieux possible les complexes expérimentaux, c'est-à-dire en minimisant la valeur du RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation observée dans le complexe expérimental. La prédiction est acceptable si la valeur du RMSD ne dépasse pas les 2Å.

Dans notre travail, nous avons appliqué le test RMSD sur 100 complexes protéine-ligands téléchargés de manière aléatoire à partir de la base de données des protéines (PDB). Les complexes ont été séparés dans 100 dossiers contenant chacun deux fichiers distincts pour la suite de l'analyse (la protéine et son ligand de référence).

Les résultats de l'évaluation des 100 complexes en termes de RMSD sont présentés dans l'annexe N°1. La figure N°8 illustre la distribution en pourcentage des résultats pour les 100 complexes, selon deux intervalles de RMSD.



**Figure 8 :** Résultats du test RMSD présentés en pourcentage à deux intervalles.

D'après la figure 8, 86% des valeurs de RMSD obtenues suite au Docking moléculaire par Surfex sont inférieures ou égale à 2 Å alors que seulement 14% sont supérieurs à cette valeur seuil. Nos résultats sont en accord avec les travaux de CHIKHI A. et BENSEGUENI A. (2008) qui ont trouvé 63% des RMSD sont  $\leq 2 \text{ \AA}$ . On peut ainsi conclure que Surfex est un programme de docking moléculaire performant.

Afin de vérifier davantage la fiabilité du programme Surfex quant à l'étude *in silico* de l'inhibition de notre enzyme TTBK1, nous avons appliqué directement le test RMSD sur les 4 complexes TTBK1-Inhibiteur disponibles dans la PDB. Les résultats de ce test sont indiqués dans le tableau suivant :

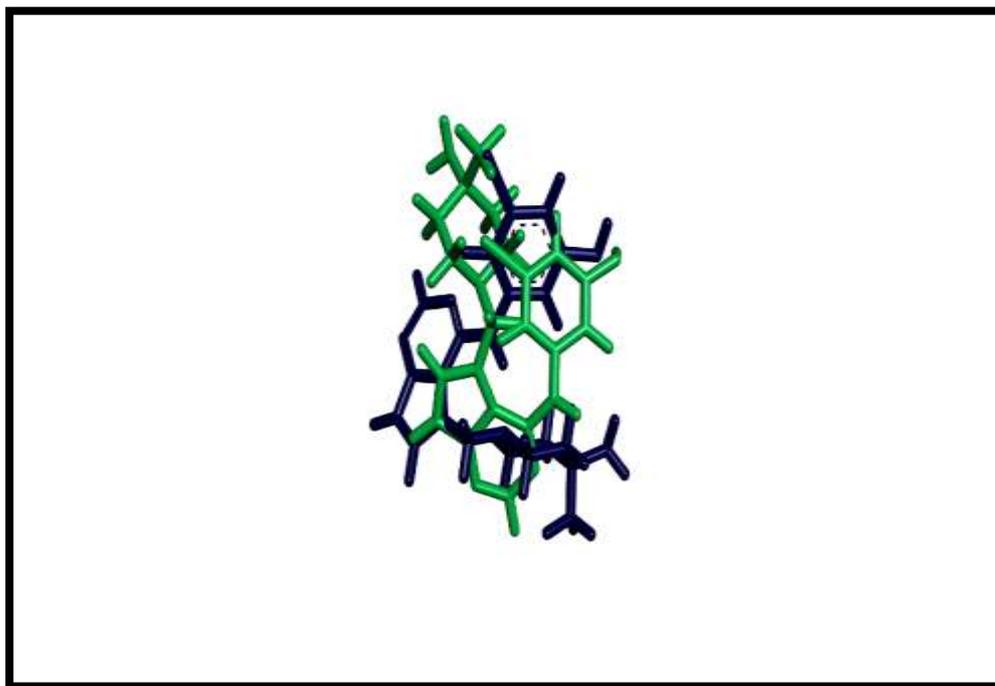
**Tableau 3 :** Valeurs RMSD (Å) des quatre complexes TTBK1-Inhibiteur.

Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD (Å)
4BTJ	ATP	1.803
4NFN	2KC	1.683
7JXX	VP7	1.281
4BTM	F8E	1.763

Les résultats du tableau N°3 montrent que le programme Surfex est bien adapté à l'étude *in silico* de l'inhibition de la TTBK1 et ce avec des valeurs de RMSD inférieur à 2 Å.

## 1.2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD, est aussi une étape utile pour juger la performance du logiciel Surflex. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD. Cette analyse a été menée sur l'inhibiteur **2KC** du complexe de la TTBK1 **4NFN**.



**Figure 9 :** Superposition de la pose de référence du ligand **2KC** (colorée en bleu) et sa pose simulée (colorée en vert)

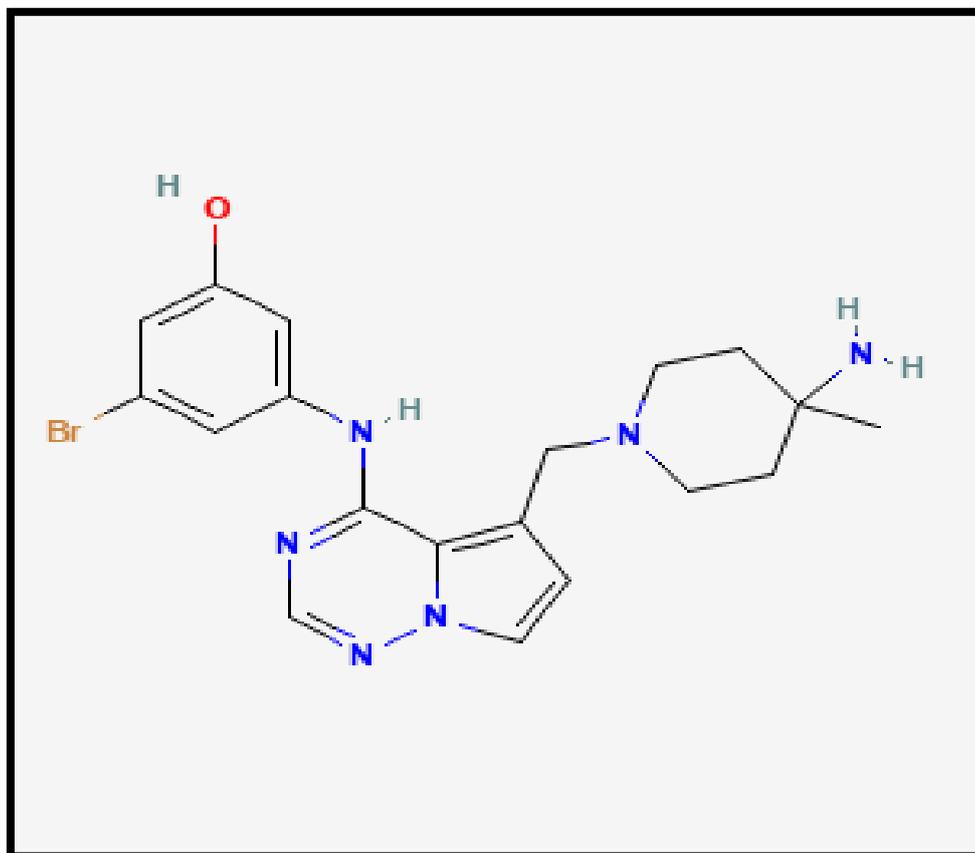
Il ressort de la figure 9 que la pose de référence du ligand **2KC** (colorée en bleu) présente une certaine superposition vis-à-vis de celle simulée par Surflex (colorée en vert). Il est utile de rappeler que la valeur du RMSD obtenue pour ce complexe est de 1.683 Å.

A la lumière du test RMSD conforté par une analyse visuelle, nous pouvons conclure que le programme Surflex est suffisamment fiable et performant afin de mener une étude *in silico* de l'inhibition de la TTBK1 par différents autres inhibiteurs.

## 2) Etude des interactions du complexe TTBK1-2KC

La TTBK1 est une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement de l'Alzheimer, raison pour laquelle il existe très peu d'études sur cette cible à travers la littérature. Le composé **3-({5-[(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)methyl]pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-**

yl}amino)-5-bromophenol, (figure10), est l'un des inhibiteurs les plus puissants de cette enzyme avec une  $IC_{50}$  de 120 Nm. [40]



**Figure 10 :** Structure chimique de l'inhibiteur **2KC**.

La structure cristallographique de ce composé existe dans la PDB sous le code **2KC** en complexe avec la TTBK1 sous le code **4NFN**. La reconstruction de ce complexe par docking moléculaire avec Surflex donne lieu à un score de  $2,37 M^{-1}$  et un RMSD de  $1,683 \text{ \AA}$ . Ce score de docking se traduit par la mise en place de deux liaisons hydrogène conventionnelles avec les résidus Gly77 et Lys 63 (Figure 11). Il est utile de rappeler que ce dernier résidu est essentiel pour l'activité catalytique de la TTBK1. [19] En plus de ces deux liaisons hydrogène, le composé **2KC** est stabilisé au sein du site actif de la TTBK1 grâce aux 10 interactions hydrophobiques (alkyl) qu'il forme avec les résidus Ile40, Ile48, Ala61, Lys63, Glu77, Val105 et Met107.

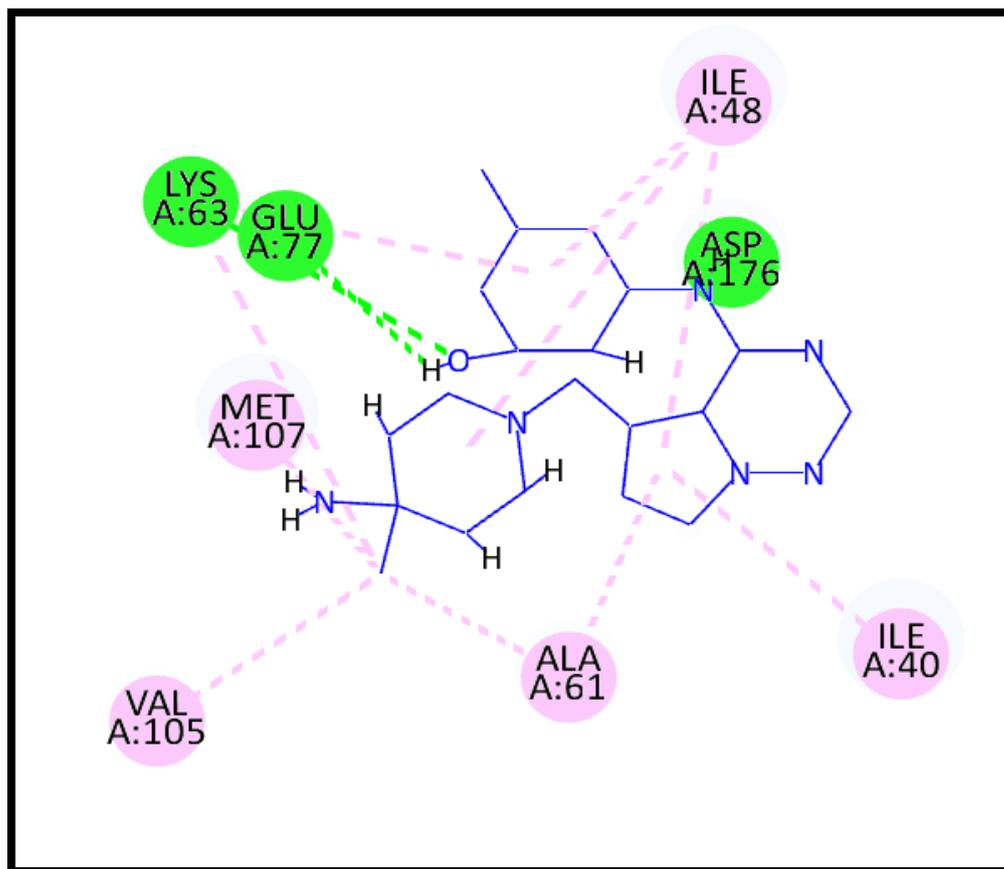


Figure 11 : Diagramme des interactions TTBK1-2KC.

### 3) Proposition de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1

#### 3.1 Criblage virtuel

Dans le cadre de cette étude, nous avons réalisé une opération de criblage virtuel à partir d'une collection de 1242 molécules similaires au ligand de référence **2KC**. Cette collection a été tirée de la chimiothèque PubChem, avec un taux de similarité de 82%. Le criblage virtuel de cette collection de similaires chimiques envers le site actif étudié fait ressortir 245 composés ayant une affinité bien meilleure que celle du composé de départ qui, à titre de rappel, égale à  $2,37 \text{ M}^{-1}$ . Les résultats des dix meilleurs similaires, classés par leur affinité sont représentés dans le tableau N°4.

Les composés **S193**, **S6** et **S646** se présentent comme meilleurs inhibiteurs de la TTBK1 avec des scores respectifs de 5.47, 5.14 et  $5.09 \text{ M}^{-1}$ . L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés à l'égard du site actif de la TTBK1 nous permettra d'élucider les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de cette enzyme.

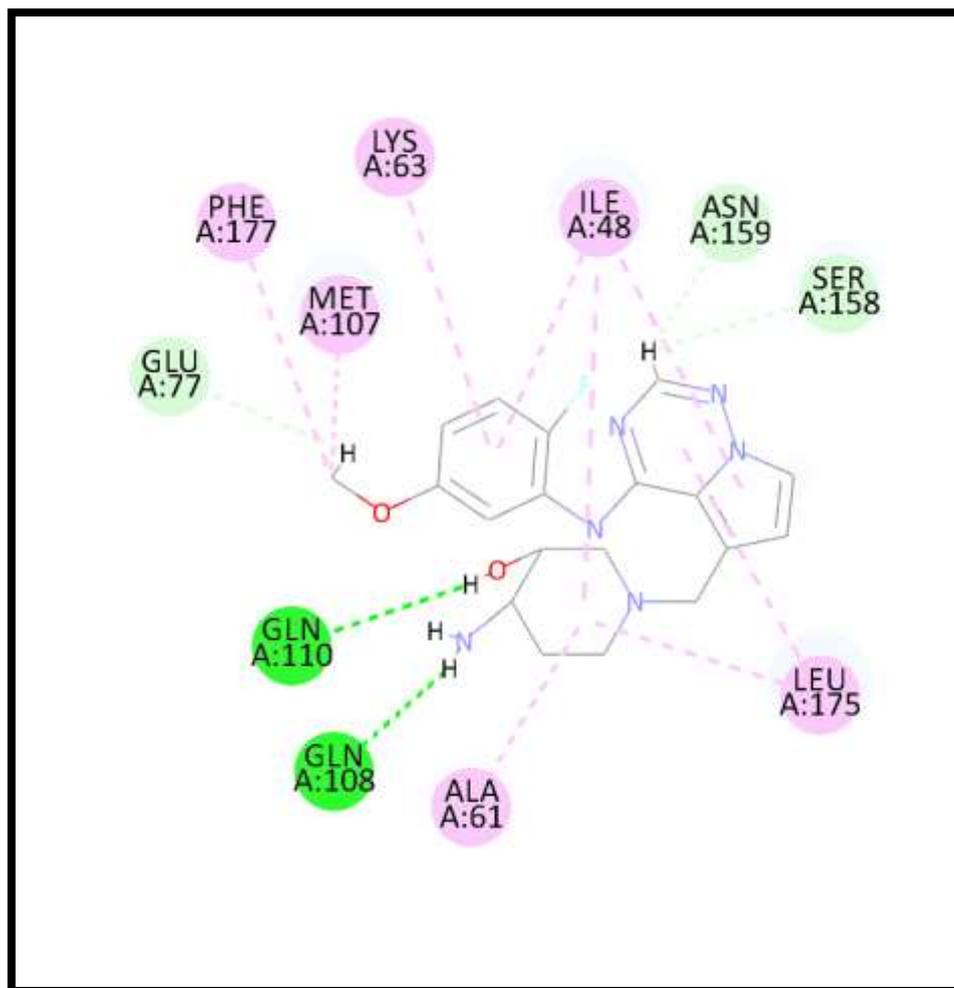
**Tableau 4.** Classement, numéro d'accension et affinité des dix meilleurs inhibiteurs de la TTBK1 issus du criblage virtuel.

N°	Similaire	Numéro d'accension	Affinité (M <sup>-1</sup> )
1	<b>S193</b>	66952827	5,47
2	<b>S6</b>	66952774	5,14
3	<b>S646</b>	145500671	5,09
4	<b>S601</b>	145501619	4.4
5	<b>S133</b>	155928777	4.36
6	<b>S177</b>	117770635	4.27
7	<b>S534</b>	155047452	4.27
8	<b>S594</b>	145502263	4.27
9	<b>S620</b>	143597993	4.26
10	<b>S198</b>	66952649	4.23

### 3.2. Etude des interactions du complexe TTBK1-S193

Le composé **S193** se présente comme meilleur inhibiteur de la TTBK1 obtenu dans cette étude avec un score de 5.47 M<sup>-1</sup>. Comme le montre la figure N°12, ce score s'explique par la présence de deux liaisons hydrogène conventionnelles avec les résidus Gln108 et Gln110 ainsi que 3 liaisons Carbone-Hydrogène avec les résidus Glu77, Asn159 et Ser158. En plus de ces liaisons hydrogène, le composé **S193** forme 9 interactions hydrophobiques (Alkyl) faisant intervenir les résidus Ile48, Ala61, Lys63, Met107, Leu175, Phe177.

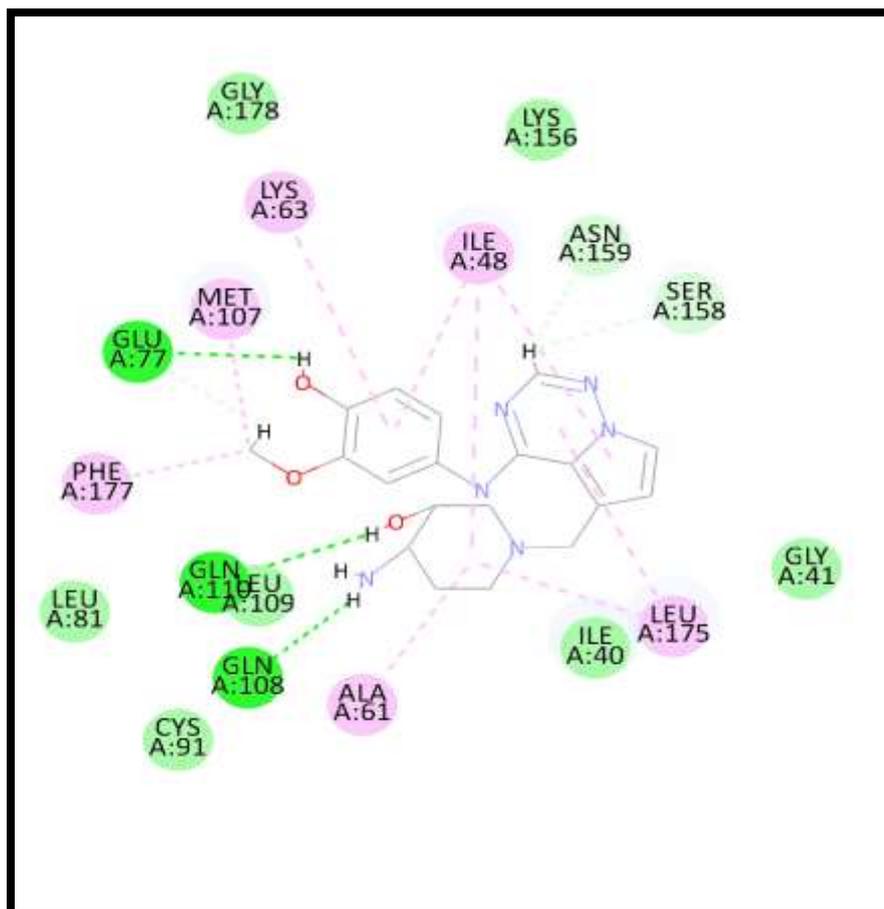
Il est à noter que les 5 liaisons hydrogène (2 liaisons hydrogène conventionnelles et 3 liaisons Carbone-Hydrogène) sont des liaisons courantes dans les interactions protéine-ligand, et leur présence suggère que l'inhibiteur peut former un complexe stable avec la protéine cible. De plus, la liaison de type alkyl formée avec le résidu Lys63 peut également contribuer à la stabilité de l'interaction entre l'inhibiteur et la protéine étant donné que ce résidu joue un rôle crucial dans l'activité catalytique de la TTBK1. [19]



**Figure 12 :** Diagramme des interactions TTBK1- S193

### 3.3. Etude des interactions du complexe TTBK1-S6

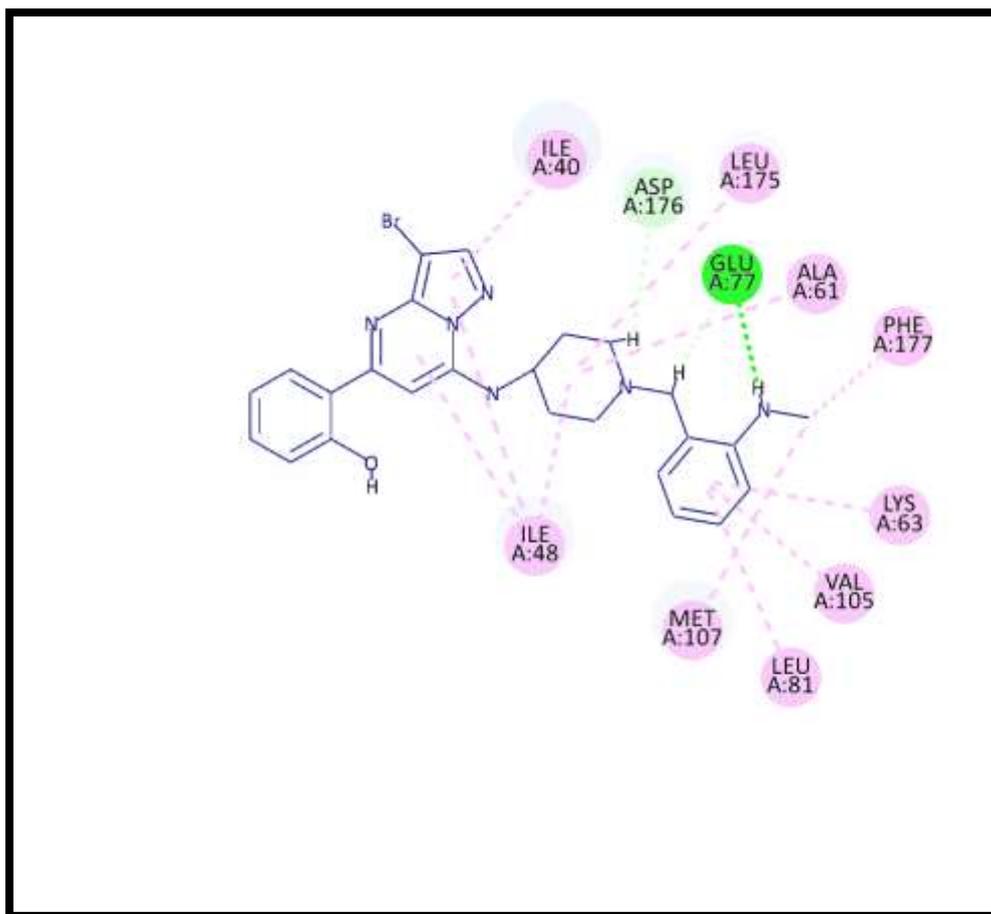
Le composé **S6** est le deuxième meilleur inhibiteur de la TTBK1 obtenu dans cette étude avec un score de  $5.14 \text{ M}^{-1}$ . L'analyse visuelle montre que ce composé se lie sélectivement à la TTBK1 grâce à la formation de 3 liaisons hydrogène conventionnelles avec les résidus Glu77, Gln110 et Gln108. On constate également la présence de 3 liaisons Carbone-Hydrogène entre le composé **S6** et les résidus Glu77 Ser158 et Asn159 (Figure 13). En outre, le complexe TTBK1-**S6** est également stabilisé grâce aux 9 interactions hydrophobiques de type alkyl faisant intervenir les résidus Ile48, Ala61, Lys63, Met107, Leu175 et Phe177.



**Figure 13 :** Diagramme des interactions TTBK1-S6.

### 3.4 Etude des interactions du complexe TTBK1-S646

L'analyse visuelle du mode d'interaction du composé **S646** à l'égard du site actif de la TTBK1 (Figure 14), révèle la présence d'une seule liaison hydrogène conventionnelle impliquant le résidu Glu77. De plus, ce composé établit deux autres liaisons Carbone-Hydrogène avec les résidus Glu77 et Asp176. De nombreuses interactions hydrophobes participent à la stabilité du composé **S646** au sein du site actif de la TTBK1. Ces interactions impliquent les résidus Ile40, Ile48, Ala61, Lys63, Leu81, Val105, Met107, Leu175 et Phe177.



**Figure 14 :** Diagramme des interactions TTBK1-S646.

### 3.5 Comparaison entre les similaires et le composé de départ

Afin de mettre en clair les éléments susceptibles d'expliquer le potentiel inhibiteur plus élevé des 3 similaires (**S193**, **S6** et **S646**) que le composé de départ (**2KC**), il nous a semblé utile de procéder à une étude comparative des interactions impliquées par chaque composé à l'égard du site actif de la TTBK1.

Il se dégage clairement du tableau 5 que, relativement au composé de départ, le nombre plus important de liaisons hydrogène (conventionnelles et Carbone-Hydrogène) formées par les 3 similaires à l'égard du site actif de l'enzyme leur confère une meilleure stabilité et par conséquent une meilleure activité inhibitrice.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que les composés similaires **S193**, **S6** et **S646** sont potentiellement plus actifs que le composé de départ **2KC**, non seulement en termes de score docking, mais aussi en termes de nombre et de type d'interactions formées avec le site

actif étudié. Ces observations peuvent être utiles lors de la conception de nouveaux médicaments et de molécules à visée thérapeutique.

**Tableau 5 :** Tableau récapitulatif des interactions formées entre les composés **2KC**, **S193**, **S6** et **S646** à l'égard du site actif de la TTBK1.

Composé	Score (M <sup>-1</sup> )	Nombre totale de liaisons	Liaison Hydrogène conventionnelle	Liaison Carbone-Hydrogène	Interactions hydrophobiques (Alkyl)
<b>2KC</b>	2.37	12	2	0	10
<b>S193</b>	5.47	14	2	3	9
<b>S6</b>	5.14	15	3	3	9
<b>S646</b>	5.09	14	1	2	11

#### 4) Prédiction des propriétés ADME

##### 4.1 Propriétés physico-chimiques

Pour qu'un composé puisse être considéré comme inhibiteur potentiel de la TTBK1, il doit remplir certaines conditions, telles que l'absorption et la distribution dans le corps humain. Les règles de Lipinski et de Veber, fournissent un moyen fiable afin de déterminer si un composé peut être considéré comme ayant un potentiel médicamenteux. Plusieurs serveurs web, tel que SwissADME, permettent de calculer ces paramètres. Dans ce travail, les 3 meilleurs composés **S193**, **S6** et **S646** à révéler l'issue du criblage virtuel ont fait l'objet d'une étude prédictive de leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques. La galantamine, étant un des médicaments anti-Alzheimer commercialisé en Algérie, a été utilisé comme standard pour comparaison. Les résultats obtenus de l'étude prédictive des propriétés physicochimiques sont présentés dans le tableau N°6.

**Tableau 6** : Propriétés physico-chimiques de la galantamine ainsi que les composés **2KC**, **S193**, **S6** et **S646**.

Propriétés	Standard Galantamine (ID : 9651)	2KC	S193 (ID : 66952827)	S6 (ID : 66952774)	S646 (ID : 145500671)
Formule	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> BrN <sub>6</sub> O	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> FN <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>25</sub> H <sub>27</sub> BrN <sub>6</sub> O
PM (g/mol) Poids moléculaire	287.35	431.33	386.42	384.43	507.43
nLF nombre de liaisons flexibles	1	4	5	5	6
nON nombre d'accepteur d'hydrogène	4	5	7	7	4
nOHNH nombre de donneurs d'hydrogène	1	3	3	4	3
Log P	1.92	2.38	1.42	0.76	3.90
TPSAÅ <sup>2</sup>	41.93 Å <sup>2</sup>	91.71 Å <sup>2</sup>	100.94 Å <sup>2</sup>	121.17 Å <sup>2</sup>	77.72 Å <sup>2</sup>
Règle de Lipinski	YES	YES	YES	YES	YES
Règle de Veber	YES	YES	YES	YES	YES
Solubilité dans l'eau	Soluble	Moderately soluble	Moderately soluble	Soluble	Poorly soluble
Accessibilité à la synthèse	4.57	3.45	4.17	4.12	3.55

Il ressort du tableau 6 que les 3 nouveaux inhibiteurs de la TTBK1 ainsi que le composé de départ et le standard répondent parfaitement aux règles de Lipinski et de Veber prouvant ainsi leur bonne biodisponibilité par voie orale. De plus, les composés **S193** et **S6** ont présenté une bonne solubilité dans l'eau ce qui est en faveur d'un bon potentiel de solubilité dans le sang et ce contrairement au composé **S646** qui présente une faible solubilité dans l'eau. Toutefois, il sera possible de contourner ce problème lors de l'optimisation de ce composé en tenant compte de la valeur faible de son accessibilité à la synthèse chimique de

3.55. Rappelons que ce critère a été simulé en chiffre allant de 1 (facile à synthétiser) jusqu'à 10 (très difficile à synthétiser).

### 4.2 Propriétés pharmacocinétiques

**Tableau 7 :** Propriétés pharmacocinétique de la galantamine ainsi que les composés **2KC**, **S193**, **S6** et **S646**.

Propriétés	Standard Galantamine (ID : 9651)	2KC	S193 (ID :66952827)	S6 (ID : 66952774)	S646 (ID :145500671)
GI absorption	+	+	+	+	+
BBB perméabilité	+	+	+	-	+
CYP1A2 inhibition	-	-	-	-	+
CYP2C19 inhibition	-	-	-	-	+
CYP2C9 inhibition	-	-	-	-	-
CYP2D6 inhibition	+	-	+	+	+
CYP3A4 inhibition	+	+	+	+	+

Il ressort du tableau 7 que tous les composés étudiés ont présenté une absorption gastrointestinale élevée, ce qui indique qu'ils peuvent facilement passer dans les liquides circulants (circulation générale) à partir de leurs sites d'administration. Les composés **S193** et **S646** ont également présenté une bonne capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique assurant ainsi leur capacité à atteindre leur lieu d'action au niveau du Système Nerveux Central et ce contrairement au composé **S6**. Concernant l'inhibition des CYP, le meilleur profil a été obtenu avec les composés **S193** et **S6** qui n'inhibent que les deux isoformes CYP2D6 et CYP3A4 et ce à l'instar de la galantamine. Il est à souligner que les problèmes pharmacocinétiques rencontrés avec le **S6** (incapable de traverser la barrière hémato-encéphalique) et le composé **S646** (inhibition de 4 isoformes de CYP) peuvent être contournés lors de l'optimisation de ces composés étant donné leur faible valeur d'accessibilité à la synthèse chimique (voir tableau 6).

*Conclusion*

*Et*

*Perspectives*

## Conclusion et Perspectives

En conclusion, cette étude *in silico* par docking moléculaire avec le programme Surflex avait pour but de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs potentiels de la TTBK1 pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Au préalable, la fiabilité du programme de docking moléculaire utilisé dans ce travail a été évaluée par le test RMSD qui a été appliquée sur 100 complexes protéine-ligand tirés arbitrairement de la PDB. Les résultats obtenus montrent que la valeur du RMSD du modèle conçu par Surflex vis-à-vis du ligand de référence ne dépasse pas 2 Å dans les 86% des complexes étudiés. Ce test a été conforté par une analyse visuelle révélant une bonne superposition de la conformation optimale du ligand simulé par Surflex et la géométrie du même ligand résolue expérimentalement.

Dans un deuxième temps, l'étude par docking moléculaire d'un puissant inhibiteur de la TTBK1 (le composé **2KC**) nous a permis d'élucider les mécanismes d'interaction de cette molécule à l'égard du site actif étudié. Ce composé a été pris par la suite comme structure de départ pour le criblage d'une collection de 1242 similaires chimiques obtenus de la PubChem avec un taux de similarité égale à 82%. Le criblage virtuel de cette collection de similaires chimiques envers le site actif étudié fait ressortir les composés **S193**, **S6** et **S646** comme meilleurs inhibiteurs de la TTBK1 avec des scores respectifs de 5.47, 5.14 et 5.09 M<sup>-1</sup>. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés a révélé un nombre plus important de liaisons formées par ces 3 composés avec le site actif étudié que celles constatées dans le cas du composé de départ **2KC** ce qui leur confère une meilleure stabilité et par conséquent une meilleure activité inhibitrice.

Dans un troisième temps, une étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques menée sur les composés **S193**, **S6** et **S646** nous a permis de se renseigner sur le profil ADME de ces composés.

En bref, ces résultats pourraient fournir des pistes prometteuses pour la recherche de nouveaux traitements de la maladie d'Alzheimer et d'autres maladies neuro-dégénératives. Bien qu'ils s'avèrent intéressants, les résultats obtenus dans cette étude restent des prédictions théoriques réalisées *in silico*. Il serait toutefois souhaitable de réaliser une application expérimentale *in vitro* ou *in vivo* afin de vérifier davantage leur fiabilité et efficacité.

*Références*

*Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

- [1] Association Alzheimer Canada., [En ligne]. <https://www.alzheimer.ca/fr/Home/A-propos-de-la-maladie-d%E2%80%99Alzheimer/Qu-est-ce-que-la-maladie-d-Alzheimer>. [Accès le 26-03 -2023].
- [2] Liu F., Gong C X., Tau exon 10 alternative splicing and tauopathies. *Molecular Neurodegeneration*.2008 ; **3**(8) : 3-8.
- [3] Ding, Y., Qiao, A., Wang, Z., Goodwin, J. S., Lee, E. S. Retinoic acid attenuates beta-amyloid deposition and rescues memory deficits in an Alzheimer's disease transgenic mouse model. *Journal of Neuroscience*.2019: 6203-6215.
- [4] fondation recherche alzheimer [En ligne]. Available: <https://alzheimer-recherche.org/>. [Accès le 13-03-2023]
- [5] Bearbi S ., Ali Pacha L. Epidemiology of dementia in developing countries. *Journal of the Neurological Sciences*.2019 ;**405** (73).
- [6] SanteDZ. [En ligne]: <https://www.sante-dz.com/blocnotes/2018/9/21/21-septembre-journee-mondiale-de-la-maladie-dalzheimer>. [Accès le 26-04-2023].
- [7] Kinney JW., Bemiller SM., Murtishaw AS. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018 : 575-590.
- [8] Jankovic J. Alzheimer's disease. *Bradley and Daroff's Neurology in Clinical Practice*. 2022 ; **8**.
- [9] Livingston G., Jonathan H ., Andrew S. Dementia prevention, intervention, and care 2020. *The Lancet*. 2020 ; **396**(10248) : 413–446.
- [10] Chen L., Xiaoqian N., Yuye W. Plasma tau proteins for the diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*.2022; **14**.
- [11] World Health Organization. [En ligne]. Available: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/alzheimers-disease/diagnosis-treatment/drc-20350453>. [Accès le 04-04-2023]
- [12] National Institute on Aging. [En ligne]. Available: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-medications-fact-sheet>. [Accès le 15-04-2023].
- [13] Food and Drug Administration (FDA). [En ligne]. Available: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-treatment-alzheimers-disease>. [Accès le 20-04-2023].

- [14] Tomizawa K., Omori A., Ohtake, A. Tau-tubulin kinase phosphorylates tau at Ser-208 and Ser-210, sites found in paired helical filament-tau. *FEBS Letters*.2001;**492**(3) : 171-258.
- [15] Susan E K., Chiehying J C ., Kimura S R .The structure of human tau-tubulin kinase 1 both in the apo form and in complex with an inhibitor.*Structural Biology Communications*.2010;**70**(17) : 173-181.
- [16] Mondragón-Rodríguez S., Basurto-Islas G., Santa-Maria I., Mena R., Binder L I., Avila J., *et all*. Cleavage and conformational changes of tau protein follow phosphorylation during Alzheimer's disease. *the International Journal of Experimental Pathology*.2008; **89** (2) : 81-90
- [17] Vázquez-Higuera J L., Mateo I., Sánchez-Juan P., Rodríguez-Rodríguez E., Pozueta A., Calero M., *et all*.Genetic variation in the tau kinases pathway may modify the risk and age at onset of Alzheimer's disease.*Journal of Alzheimer's Disease*.2011; **27**(2) : 291-297.
- [18] Long A M., Zhao H., Huang, X. Structural basis for the potent and selective inhibition of casein kinase 1 epsilon. *Journal of Medicinal Chemistry*.2012; **55**(22) : 10307–10311.
- [19] Nozal V., Martinez A. Tau tubulin kinase 1 (TTBK1), a new player in the fight against neurodegenerative diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*.2019; **161** : 39–47
- [20] Hoffer L. Développement et validation du logiciel S4MPLE. Application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du Fragment-Based Drug Design. thèse de Doctorat : Chémoinformatique. Strasbourg. Université de strasbourg. France.2013.
- [21] Meslamani J. Développement de nouvelles méthodes de criblage in silico en chémogénomique thèse de Doctorat : Chémoinformatique. Strasbourg. Université de strasbourg. France.2012.
- [22] Ayachi H. Compréhension Du Mécanisme Enzyme-substrat Par Modélisation Moléculaire.thèse de Doctorat : Chimie. Telemcen: Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. Algérie. 2017.
- [23] Chang W M .,Christian A., Sebastian B ., Bruce E T. Virtual Screening for HIV Protease Inhibitors: A Comparison of AutoDock 4 and Vina. *PLOS ONE*.2010; **5**(8) : 11955.
- [24] Mokrani EH. 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.
- [25] Jain N A ., Surfex: fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *Journal of Medicinal Chemistry*.2003;**46**(04) : 499-511.

- [26] Chikhi A ., Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase –substances antibactériennes à l’aide de techniques de ‘‘docking’’ (arrimage) moléculaire.*Thèse de doctorat en Microbiologie*.Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine-1. Algérie. 2007. 126p.
- [27] BIOVIA Discovery Studio Visualizer [En ligne]. Available: <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer>. [Accès le 01-05-2023].
- [28] Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: visual molecular dynamics. *Journal of molecular graphics*.1996; **14**(1) : 33-38.
- [29] The Protein Data Bank.[En ligne]. Available: <https://www.rcsb.org/>. [Accès le 08-05-2023].
- [30] PubChem substance and compound databases[En ligne]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. [Accès le 20-03-2023].
- [31] Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*.2017; **7**.
- [32] Leach A R., Shoichet B K., Peishoff C E. Prediction of protein-ligand interactions. Docking and scoring: successes and gaps. *journal of medicinal chemsitry*.2006; **49** (20) : 5851-5856.
- [33] Eric W B., Yang Z. DockRMSD : un outil open-source pour la cartographie des atomes et le calcul RMSD des molécules symétriques par isomorphisme de graphe. *Journal de Cheminformatics*. 2019 ; **11**(40).
- [34] Lipinski C A ., Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*.2004 ; **44** (1) : 235-249.
- [35] Veber D F. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2002; **45**(12) :2615-2623.
- [36] Nagwa. [En ligne]. Available: <https://www.nagwa.com/fr/explainers/126185381216/>. [Accès le 28-05-2023].
- [37] ooreka [En ligne]. Available: <https://digestion.ooreka.fr/astuce/voir/480921/absorption-intestinale#:~:text=L%E2%80%99absorption%20intestinale%20d%C3%A9signe%20le%20passage%20des%20substances%20que,digestif%20vers%20le%20sang%20ou%20la%20lymphe%20%3A>. [Accès le 28-05-2023].
- [38] Pardridge W M.,Drug transport across the blood-brain barrier. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*.2012 ;**32**(11) : 1959-1972.

- [39] Lynch T., Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *American Family Physician*. 2007 ; **76**(3) : 391-396.
- [40] Kiefer S E., Chang C J., Kimura S R., Gao M., Xie D., Zhang Y., *et all*. The structure of human tau-tubulin kinase 1 both in the apo form and in complex with an inhibitor. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*. 2014 ; **70**(2) : 173-181.

## ANNEXE

**Annexe 1** : Résultats de RMSD sur les 100 complexes utilisés pour tester la fiabilité de programme Surfex.

N°	Code PDB des complexes	Code PDB des ligands	RMSD (Å)
1	2KI5	AC2	57,2
2	5EUL	TBR	10,52
3	4MPC	PV2	3,337
4	2RJP	886	3,245
5	1KE5	LS1	2,632
6	5VDK	8X7	2,38
7	2XBU	5GP	2,349
8	1FVV	107	2,304
9	3ZM5	IGM	2,266
10	3GC8	B45	2,227
11	1AGW	SU2	2,165
12	3QTQ	X35	2,095
13	4MKC	4MK	2,069
14	1K1J	FD2	2,018
15	5ANL	RBQ	1,99
16	5OS1	ADP	1,974
17	1YKR	628	1,964
18	2XFP	FAD	1,961
19	2HBU	UN9	1,954
20	2AN5	SAH	1,936
21	5KKC	6V0	1,93
22	4UJB	8BQ	1,912
23	2Z5X	FAD	1,907
24	2ZE2	T27	1,906
25	5ECV	5M2	1,896
26	5ETX	5RS	1,88
27	3B50	SLB	1,866
28	1EKO	I84	1,857
29	1R0P	KSA	1,845
30	3DOK	GWJ	1,837
31	4BTM	F8E	1,818
32	3VF3	0GS	1,81
33	1AZS	FKP	1,809
34	2XEY	YVQ	1,804
35	4BTJ	ATP	1,803
36	4MP7	PFT	1,785
37	1X8B	824	1,771
38	2FS9	C4A	1,77
39	1MQB	ANP	1,764
40	4BTK	DTQ	1,763
41	5W8H	9Y1	1,746
42	2RJQ	BAT	1,74
43	5F12	FMN	1,734

## ANNEXE

44	3BIZ	61E	1,733
45	3VEU	0GO	1,714
46	5I38	KOJ	1,701
47	6FW0	FAD	1,696
48	4NFN	<b>2KC</b>	1,683
49	3I5A	C2E	1,681
50	3B8Z	294	1,666
51	3MJW	WYF	1,658
52	2GS7	ANP	1,657
53	3FFI	3OB	1,631
54	9HVP	E09	1,629
55	1G36	R11	1,601
56	4JTZ	1NW	1,58
57	5LO1	70L	1,576
58	1FGI	SU1	1,565
59	3PI5	3P5	1,555
60	2C2S	34B	1,555
61	1AIM	ZYA	1,547
62	1ZXC	IH6	1,532
63	2BAN	357	1,504
64	3K5G	BJC	1,5
65	3KOO	24D	1,499
66	5URS	8LA	1,495
67	3QJ9	QJ9	1,477
68	5CCY	TMP	1,461
69	2XF0	4UB	1,442
70	4Y83	49B	1,434
71	3VP3	BP8	1,431
72	2QDH	M2P	1,399
73	3NNU	EDB	1,346
74	2IU8	UD1	1,291
75	5V5N	EDH	1,232
76	3VV6	B00	1,204
77	3E9K	3XH	1,172
78	2WOM	ZZE	1,127
79	3G5E	Q74	1,118
80	2V35	J54	1,116
81	3C56	PH4	1,111
82	3DRR	R8E	1,095
83	1BQM	HBY	1,084
84	5C7H	NDP	0,992
85	5TFT	P6U	0,927
86	5EQQ	5RS	0,895
87	2R4B	GW7	0,891
88	3QTB	D5M	0,814
89	3FEE	QUS	0,78
90	2ZJF	BSU	0,731

**ANNEXE**

91	3C6T	M14	0,709
92	1AH3	NAP	0,642
93	3FMR	TN4	0,595
94	4EY7	E20	0,262
95	3HVG	EV0	0,222
96	4CDL	LLK	0,2
97	2IVT	AMP	0,188
98	2JBJ	G88	0,165
99	3L54	LXX	0,088
100	1OF1	SCT	0,077

## Résumé

### **Application du Docking moléculaire par SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la Tau-Tubulin Kinase 1**

La maladie d'Alzheimer est une affection neuro-dégénérative qui touche principalement les personnes âgées, altérant leur mémoire et d'autres fonctions cognitives. La Tau-Tubulin Kinase 1 (TTBK1) est une nouvelle cible thérapeutique visant à traiter la maladie d'Alzheimer en bloquant la voie de phosphorylation de la protéine Tau. Dans ce travail, le programme de docking moléculaire Surflex, a été utilisé afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1. En effet, le criblage virtuel d'une collection de 1242 similaires chimiques du composé **2KC** fait ressortir les composés **S193**, **S6** et **S646** comme meilleurs inhibiteurs de la TTBK1 avec des scores respectifs de 5.47, 5.14 et 5.09M<sup>-1</sup>. L'étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques, renseigne de manière positive sur le profil ADME de ces composés qui peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme.

**Mot clés :** ADME, Alzheimer, Docking, Surflex, TTBK1.

## Abstract

### **Application of Molecular Docking by SURFLEX for the demonstration of new inhibitors Tau-Tubulin Kinase 1.**

Alzheimer's disease is a neurodegenerative condition that primarily affects elderly individuals, impairing their memory and other cognitive functions. Tau-Tubulin Kinase1 (TTBK1) is a novel therapeutic target aimed at treating Alzheimer's disease by blocking the phosphorylation pathway of the tau protein. In this study, the Surfex molecular docking program was used, to propose new inhibitors of TTBK1. Specifically, virtual screening of a collection of 1242 structurally similar compounds to the **2KC** compound highlighted **S193**, **S6**, and **S646** as the top TTBK1 inhibitors, with respective scores of 5.47, 5.14, and 5.09 M<sup>-1</sup>. Predictive analysis of the physicochemical and pharmacokinetic properties yielded positive insights into the ADME profile of these compounds, suggesting their potential as novel enzyme inhibitors.

**Key-words** : ADME, Alzheimer's, docking, Surfex, TTBK1.

## ملخص

### تطبيق الالتحام الجزيئي بواسطة SURFLEX مثبطات جديدة لـ Tau-Tubulin Kinase 1

مرض الزهايمر هو حالة تنكسية عصبية تؤثر بشكل رئيسي على كبار السن، مما يؤدي إلى تدهور ذاكرتهم ووظائفهم الإدراكية الأخرى. تعد (TTBK1) Tau-Tubulin Kinase 1 هدفاً علاجياً جديداً يهدف إلى علاج مرض الزهايمر عن طريق حجب مسار فسفرة بروتين Tau. في هذا العمل، تم استخدام برنامج Surfex للتمازج الجزيئي لاقتراح مثبطات جديدة لـ TTBK1 في الواقع، يبرز الفحص الافتراضي لمجموعة من 1242 من المواد الكيميائية المشابهة للمركب 2KC المركبات S193 وS6 وS646 كأفضل مثبطات لـ TTBK1 بنقاط M-1 5.47 و 5.14 و 5.09 على التوالي. تقدم دراسة التنبؤية للخصائص الفيزيوكيميائية والصيدلانية معلومات إيجابية حول الملف الشخصي ADME لهذه المركبات التي يمكن اقتراحها كمثبطات جديدة لهذا الإنزيم.

**كلمات مفتاحية:** ADME، الزهايمر، التحسين، سيرفلكس، تي تي بي كي 1.

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : LEZZAR Iheb  
LAOUBI Oualid Imed

## Application du docking moléculaire par SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la Tau-Tubulin Kinase 1

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

La maladie d'Alzheimer est une affection neuro-dégénérative qui touche principalement les personnes âgées, altérant leur mémoire et d'autres fonctions cognitives. La Tau-Tubulin Kinase 1 (TTBK1) est une nouvelle cible thérapeutique visant à traiter la maladie d'Alzheimer en bloquant la voie de phosphorylation de la protéine tau. Dans ce travail, le programme de docking moléculaire Surfex, a été utilisé afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la TTBK1. En effet, le criblage virtuel d'une collection de 1242 similaires chimiques du composé **2KC** fait ressortir les composés **S193**, **S6** et **S646** comme meilleurs inhibiteurs de la TTBK1 avec des scores respectifs de 5.47, 5.14 et 5.09M<sup>-1</sup>. L'étude prédictive des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques, renseigne de manière positive sur le profil ADME de ces composés qui peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de cette enzyme.

**Mots-clés :** ADME, Alzheimer, Docking, Surfex, TTBK1.

**Laboratoires de recherche :** Laboratoire de Biochimie Appliquée (UFMC1).

**Président du jury :** Mr. BENSEGUENI A. (Professeur à UFM Constantine 1).

**Encadrant :** Mr. MOKRANI E.H (MCA à UFM Constantine 1).

**Examineur :** Mr. CHIKHI A (Professeur à UFM Constantine 1).