



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 Constantine 1 Frères  
Mentouri**  
**Faculté des Sciences de la Nature et  
de la Vie**  
**Département : de Biochimie et de Biologie Cellulaire et Moléculaire**  
قسم : الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**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 :

---

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

---

Présenté par : DIB Lamis

Le : 13/06/2024

GUERRAICHE Aya Nour El Houda

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Mr MOKRANI E.H. MCA-Constantine 1-Université Frères Mentouri.  
**Encadrant :** Mme DEMMAK R.G. MCA-Constantine 3-Université Salah Boubnider.  
**Examineur :** Mme. TENIOU S. MCB-Constantine 1-Université Frères Mentouri.

**Année universitaire :  
2023 - 2024**

# Tables des matières

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## **PARTIE BIBLIOGRPHIAQUE**

### **CHAPITRE 1 : La maladie d'Alzheimer**

1. Historique de la maladie .....	3
2. Les symptômes d'Alzheimer.....	7
3. Les stades de la maladie d'Alzheimer.....	9
4. Les facteurs de risque de la maladie.....	10
5. Le diagnostic.....	12
6. Le traitement de la maladie d'Alzheimer.....	12
7. Les thérapies non médicamenteuses pour améliorer les conditions de vie....	13

### **CHAPITRE 2 : L'Acétylcholinestérase**

1. Généralités.....	15
2. Structure tridimensionnelle.....	15
3. Le site actif et la triade catalytique.....	16
4. Le mécanisme d'action.....	17
5. Rôles physiologiques.....	18
5.1. Les rôles classiques.....	19
5.2. Les rôles non classiques.....	19
6. Les inhibiteurs de l'Acétylcholinestérase.....	20
6.1. Les inhibiteurs réversibles de l'Acétylcholinestérase.....	20
6.1.1. Galantamine.....	20
6.1.2. Donépézil.....	21
6.1.3. Tacrine.....	21
6.1.4. Huperzine.....	22
6.2. Les inhibiteurs irréversibles.....	23
6.2.1. Les Organophosphates.....	23
6.2.2. Rivastigmine.....	23

## **CHAPITRE 3 : Le Docking moléculaire**

1. Définition de docking moléculaire.....	24
2. Principe de docking .....	24
3. Les différents niveaux de docking moléculaire .....	25
4. Les outils de docking moléculaire .....	25
4.1. Récepteur .....	25
4.2. Ligand .....	25
4.3. Programmes de docking moléculaire .....	26
5. Les programmes de docking moléculaire.....	27
6. Surflex-dock .....	28

## **PARTIE PRATIQUE**

### **CHAPITRE 4 : Matériel et méthodes**

1. Matériel.....	29
1.1. Micro portable .....	29
1.2. Programmes.....	29
1.2.1. Surflex.....	29
1.2.2. Open Babel.....	29
1.2.3. Viewerlite 4.2.....	30
1.2.4. Biovia Discovery Studio Visualizer.....	30
1.3. Serveurs.....	31
1.3.1. ADMETlab 2.0.....	31
1.3.2. SwissADME.....	32
1.4. Banques de données.....	32
1.4.1. PDB.....	32
1.4.2. PubChem.....	33
2. Méthodes.....	34
2.1. Préparation des molécules pour le docking moléculaire.....	34
2.1.1. Préparation de l'enzyme (récepteur).....	34
2.1.2. Préparation de ligand .....	35

2.2. Docking avec surflex.....	36
2.3. Visualisation des résultats.....	37
2.4. Interaction entre le ligand et les acides aminés du site actif.....	38
2.5. Filtrage ADMET.....	38
2.5.1. Propriétés physicochimiques.....	38
2.5.2. Propriétés pharmacocinétiques .....	39
2.5.3. Test de toxicité.....	40

## **CHAPITRE 5 : Résultats et discussion**

1. Test de fiabilité du programme Surfex.....	41
1.1. Test RMSD.....	41
1.2. L'analyse visuelle.....	42
2. Recherche des nouveaux inhibiteurs de l'AChE.....	43
2.1. Criblage virtuel des similaires.....	43
2.2. Etude des interactions.....	45
2.2.1. Etudes des interactions du ligand 1YL.....	46
2.2.2. Etude des interactions du composé 1.....	47
2.2.3. Etude des interactions du composé 2.....	48
3. Filtrage ADMET.....	49
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>52</b>

« Références bibliographiques »

« Annexes »

Résumés

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : Les principaux programmes de Surflex.....	27
<b>Tableau 02</b> : Valeurs d’RMSD des 3 complexes étudiés et superpositions des ligands de référence obtenus de la PDB (couleur rose) et le final-0 calculé par Surflex (couleur bleu foncé) .....	42
<b>Tableau 03</b> : Caractéristique de l’enzyme.....	43
<b>Tableau 04</b> : Les 09 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures..	44
<b>Tableau 05</b> : Les paramètres du filtrage ADME-3T.....	50

## Listes des figures

<b>Figure 1</b> : Structure tridimensionnelle de l'Acétylcholinestérase.....	16
<b>Figure 2</b> : Vue détaillée du site actif de l'AChE. ....	17
<b>Figure 3</b> : Représentation schématique du mécanisme d'action de l'AChE...18	
<b>Figure 4</b> : L'hydrolyse de l'acétylcholine (ACh) par l'Acétylcholinestérase...19	
<b>Figure 5</b> : Structure chimique de la galantamine. ....	21
<b>Figure 6</b> : Structure chimique de la donépézil. ....	21
<b>Figure 7</b> : Structure chimique de la Tacrine. ....	22
<b>Figure 8</b> : Structure chimique de l'huperzine. ....	22
<b>Figure 9</b> : Structure chimique de la Rivastigmine. ....	23
<b>Figure 10</b> : : principe du docking moléculaire, illustration de l'interaction entre une molécule (ligand) et une protéine (Target) au niveau de son site actif (Rectangle).....	24
<b>Figure 11</b> : comparaison des programmes du docking moléculaire les plus cités. ....	26
<b>Figure 12</b> : l'interface de Open Babel. ....	29
<b>Figure 13</b> : l'interface graphique de Viewer Lite. ....	30
<b>Figure 14</b> : Interface graphique de Biovia Discovery studio visualizer. ....	31
<b>Figure 15</b> : l'interface de ADMETlab 2.0. ....	31
<b>Figure 16</b> : l'interface de SwissADME. ....	32
<b>Figure 17</b> : l'interface d'accueil du PDB. ....	33
<b>Figure 18</b> : Interface d'accueil du Pubchem. ....	33
<b>Figure 19</b> : Structure tertiaire du complexe 4M0E. ....	34
<b>Figure 20</b> : Position du ligand 1YL dans le site actif.....	34
<b>Figure 21</b> : Structure de la chaîne A du code 4M0E. ....	35
<b>Figure 22</b> : Structure 3D du ligand 1YL. ....	36
<b>Figure 23</b> : Résultat du Docking par Surflex. ....	37

<b>Figure 24</b> : Résultats en pourcentage des valeurs du RMSD obtenus par « Surfex ».	41
.....	41
<b>Figure 25</b> : Structure 3D du composé 1. ....	45
<b>Figure 26</b> : Structure 3D du composé 2. ....	45
<b>Figure 27</b> : Analyse visuelle du mode d'interaction par Biovia Discovery studio de ligand 1YL avec les acides aminés de l'Acétylcholinestérase en schéma 2D. ....	46
<b>Figure 28</b> : Analyse visuelle du mode d'interaction par Biovia Discovery studio de composé 1 avec les acides aminés de l'Acétylcholinestérase en schéma 2D. ....	47
<b>Figure 29</b> : Analyse visuelle du mode d'interaction par Biovia Discovery studio de composé 2 avec les acides aminés de l'Acétylcholinestérase en schéma 2D. ....	48

## LISTE DES ABREVIATIONS

**2D:** Deux dimensions.

**3D:** Trois dimensions.

**Å :** Angström.

**ACh:** Acétylcholine.

**AChE:** Acétylcholinestérase.

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

**BBB :** Barrière hémato-encéphalique.

**GI absorption :** Absorption gastro-intestinale.

**hERG:** human Ether-à-go-go-Related Gene.

**LogP:** Coefficient de Partition octanol/eau.

**MA :** Maladie d'Alzheimer.

**PDB :** Protein Data Bank (banque de donnée protéique).

**PM :** Poids Moléculaire.

**RMSD :** Root Mean Square Deviation.

**TPSA :** Surface Polaire Topologique.

### ❖ Liste d'acides aminés

**GLN :** Glutamine.

**GLU :** Glutamate.

**HIS :** Histidine.

**PHE :** Phénylalanine.

**SER :** Sérine.

**TRP :** Tryptophane.

**TYR :** Tyrosine.

**VAL :** Valine.



## REMERCIEMENT

### **« 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.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers notre rapporteur, Mme Demmak. R.G. Maitresse de Conférences A à l'université Salah Boubnider Constantine 3) pour son soutien tout au long de la préparation du mémoire. Nous lui remercions beaucoup pour son temps, ses conseils, pour ses qualités humaines et scientifiques, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce travail.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de notre jury Monsieur MOKRANI E.H. (Maitre de Conférences A à l'université Frères Mentouri Constantine 1), qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et de fournir ses avis d'expert sur ce travail. Leurs critiques et commentaires sont précieuses pour approfondir nos connaissances dans ce domaine.*

*Nous remercions beaucoup madame TENIOU S. (maitresse de Conférence B à l'université Frères Mentouri Constantine 1) pour son aide précieuse dans la réalisation de ce travail modeste, malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuses occupations. Nous la remercions vivement d'avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie du Jury de soutenance.*

*Enfin, nous exprimerons notre remerciement la plus sincère envers Nos chers parents. Nous adressons nos sincères salutations à toute personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

## *Dédicace Famis*

*"Louange à Allah qui a complété sur nous Sa grâce et nous a soutenus jusqu'à ce que nous atteignions ce moment grandiose."*

*À ma chère mère, toi qui as été et resteras toujours la lumière de ma vie, toi qui m'as appris la patience et la persévérance, ma chère mère, je ne trouve pas les mots pour te rendre justice. Tes prières et ta veille à mes côtés lorsque j'avais besoin de soutien ont été la principale raison de mon succès. Merci pour ton amour inconditionnel et pour tous les sacrifices que tu as faits pour moi.*

*À mon cher père, toi le pilier sur lequel j'ai toujours pu m'appuyer, toi qui m'as toujours soutenu et encouragé à avancer. Mon cher père, merci pour chaque mot d'encouragement et chaque instant que tu as passé pour mon bien-être.*

*À mon cher frère **Khaled**, compagnon d'enfance et d'adolescence, toi qui as toujours été à mes côtés dans les moments difficiles comme dans les moments heureux. Merci pour ta présence constante, ton soutien et ton encouragement continus. Tu as été le frère sur lequel je pouvais toujours compter en toute chose.*

*"À mes sœurs **Wissal** et **Eline**, fleurs de la maison et lumières de la famille, vos présences innocentes ont toujours apporté joie et bonheur dans nos vies. Merci pour vos rires innocents et votre beau soutien d'enfants. Vous avez toujours été une source de joie dans nos vies."*

*Louanges à Dieu comme il convient à la grandeur de son visage et à la grandeur de sa puissance. Je te loue, Seigneur, pour cette réalisation et je te remercie pour chaque moment passé à réaliser ce rêve.*

*"Je dédie ma graduation à ma collègue de recherche **Aya** qui m'a aidé à accomplir ce travail de recherche."*

*"À moi-même, pour ma résilience, ma croissance personnelle et mon amour-propre. Je mérite tout le respect et la reconnaissance pour le chemin que j'ai parcouru. Bravo à moi !"*

# Dédicace AYA

*Celui qui a dit "Je suis à la hauteur", il l'a atteinte.*

*Le voyage n'a pas été court, et il ne devait pas l'être. Le rêve n'était pas proche et le chemin n'était pas parsemé de facilités, mais je l'ai fait et je l'ai atteint. Louange à Dieu par amour, gratitude et reconnaissance, par Sa grâce, aujourd'hui je regarde un rêve attendu depuis longtemps qui est devenu une réalité dont je suis fière.*

*À mon ange pur et ma force après Dieu, ma première et éternelle soutien, "**Maman**", je te dédie cet accomplissement qui, sans tes sacrifices, n'aurait jamais vu le jour. Je suis reconnaissante que Dieu t'a choisie pour être ma mère, toi le meilleur soutien et la meilleure compensation.*

*À celui qui a consacré sa vie pour moi et dont les prières étaient une lumière éclairant mon chemin, mon amie et guide qui m'a soutenue sans limites et m'a donné sans rien attendre en retour, "**Papa**".*

*À ceux dont il a été dit : "Je renforcerai ton bras par ton frère",*

*À celui qui a tendu la main sans relâche à mes moments de faiblesse, "**mon frère Djamel**", que Dieu te maintienne toujours à mes côtés comme un pilier solide.*

*À celle qui a cru en mes capacités et la sécurité de mes jours, "**ma sœur Malak**"*

*À celle qui me rappelle ma force et me soutient comme mon ombre, "**ma sœur Yakine**".*

*À tous ceux qui se sont réjouis de ma réussite et qui ont été d'une aide précieuse, à ma compagne de ce parcours, "**Lamis**", je vous remercie infiniment et je demande à Dieu de vous récompenser avec la meilleure des récompenses.*

*Et enfin, à moi-même, qui a affronté les défis et surmonté les obstacles, moi qui n'ai jamais abandonné et qui ai continué à battre pour réaliser mes rêves. Merci pour chaque moment de fatigue, chaque heure de veille, chaque effort fourni et chaque objectif atteint.*

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **Chapitre 1 : La maladie d'Alzheimer**

## Introduction

La maladie d'Alzheimer (MA) est la forme la plus courante de démence, et représente environ 60 à 70 % des cas. Cette maladie pose un défi majeur pour la santé publique mondiale, ainsi que pour les individus atteints et leurs proches. Il ne s'agit pas d'une maladie nouvelle ou inconnue, mais elle est de plus en plus visible et répandue aujourd'hui. Ceci étant principalement dû à l'évolution des recherches dans le domaine des maladies mentales, mais aussi à l'amélioration de l'espérance de vie globale car en effet, le vieillissement de la population est principalement lié à cette maladie neurodégénérative (1).

La MA est un trouble cérébral dégénératif qui se manifeste par des problèmes de mémoire prédominants, des problèmes cognitifs et/ou du comportement qui impactent la vie quotidienne des patients. Les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires sont les deux types de lésions liées à cette démence (2). Plusieurs recherches montrent que les dommages causés par la maladie d'Alzheimer affectent principalement les voies cholinergiques. Il y a alors une baisse parfois considérable des niveaux de neurotransmetteurs circulants au sein du cerveau. Le manque d'acétylcholine peut s'élever jusqu'à 90% dans les phases avancées de la maladie (3).

Les médecins utilisent généralement des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour compenser le manque d'acétylcholine. Ces molécules ont démontré leur efficacité en évitant la dégradation de l'acétylcholine au niveau de la fente synaptique, ce qui a permis de soulager certains symptômes associés à la maladie d'Alzheimer (4).

À mesure que l'outil informatique s'est développé, des techniques de modélisation moléculaire *in silico*, comme le docking moléculaire, ont acquis une importance primordiale dans le processus de conception des médicaments. Effectivement, cette méthode vise à trouver le meilleur mode d'interaction d'un ligand avec son récepteur, ce qui est plus simple à mettre en place, plus rapide et à un coût beaucoup plus faible que les méthodes expérimentales traditionnelles (5).

Le programme Surflex a été employé dans cette étude pour étudier les mécanismes d'inhibition de l'AChe en utilisant un docking moléculaire, dans le but de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de cette enzyme.

Dans ce manuscrit, on peut distinguer deux grandes parties : une partie théorique qui comprend trois chapitres, dont le premier aborde les aspects généraux de la maladie d'Alzheimer. L'AChe et ses inhibiteurs seront abordés de manière spécifique dans le deuxième chapitre. Le docking moléculaire et ces outils seront abordés dans le troisième chapitre pour étudier les interactions entre les protéines et les ligands. En ce qui concerne la partie pratique, les divers équipements et techniques employés dans notre étude seront exposés en détail dans le quatrième chapitre.

Le chapitre final présentera l'essentiel de nos résultats à travers une discussion. La fin de ce travail sera marquée par une conclusion et quelques perspectives.

## 1. Historique de la maladie

La maladie d'Alzheimer est la démence sénile la plus répandue dans les pays développés. Cette maladie n'est pas nouvelle ou inconnue, mais plus visible et plus fréquente aujourd'hui, non seulement en raison de l'évolution de la recherche sur les maladies mentales, mais aussi en raison de l'allongement de l'espérance de vie. C'est une maladie neurodégénérative qui affecte le cerveau et qui se développe pendant dix ans. La forme sporadique, non familiale, qui concerne 90 à 95 % (ou plus) des cas et dont l'incidence augmente à partir de 65 ans et s'accroît après 80 ans, et la forme héréditaire, qui apparaît avant 65 ans, voire avant 50 ans (6).

Lorsqu'on parle de cette maladie, les premières choses qui nous viennent à l'esprit sont les troubles de la mémoire, progressives, insidieuses et irréversibles. Effectivement, ces problèmes de mémoire sont les plus impactant. Toutefois, cette maladie se traduit par d'autres troubles qu'il convient de rappeler pour saisir comment les chercheurs, les écrivains ou autres personnalités des siècles derniers ont tenté de la décrire. Elle est également liée à des troubles de l'exécution et à des difficultés d'orientation des patients, à la fois dans le temps et dans l'espace. En outre, il est possible de constater, mais plus rarement, des problèmes de langage ou de vision élaborée. La progression et le tableau clinique de cette dégénérescence varient en fonction des patients. La diffusion de la maladie se traduit par des symptômes : par des troubles graduels de la parole, de l'écriture, du mouvement, du comportement, de l'humeur et du sommeil... (7).

Cette maladie est associée à la formation de plaques de protéine  $\beta$ -amyloïde entre les neurones et à l'accumulation de la protéine Tau qui forme des enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires. Le dysfonctionnement des neurones et leur mort fonctionnelle sont progressivement causés par la formation de plaques amyloïdes et les enchevêtrements neurofibrillaires. Les lésions pourraient se propager d'une zone du cerveau à une autre en se contaminant de près, tout comme pour le prion : des formes agrégées et toxiques de peptide amyloïde ou de protéine Tau seraient excrétées par des neurones dans les espaces extracellulaires et attaqueraient les neurones voisins (8).



L'évolution de la pathologie est liée à un contexte culturel, politique et religieux important, et les progrès cognitifs sont incessants. Comme souvent dans le domaine scientifique, des représentations d'autorité ont émergé au fil du temps, favorisant des progrès remarquables en médecine, mais par leur influence indéniable, elles ont également entravé les nouvelles idées, en particulier dans le domaine des maladies mentales. Il est possible de mentionner Hippocrate, Galien et Aristote, qui demeurent ainsi la source de référence pendant de nombreux siècles, continuant à répéter leurs erreurs. Ses textes et leurs explications anatomiques ou physiologiques, considérés comme les pères de la médecine, de la pharmacie et de la philosophie, ne sont pas contestés avant le XVIIIe siècle. Dans sa conception de la sensation, Aristote ne reconnaît donc presque aucune fonction au cerveau (9).

La présence de cette maladie n'est pas le résultat du hasard, mais plutôt dans un contexte de grandes avancées scientifiques. La classification psychiatrique et l'observation clinique des troubles mentaux, qui apparaissent à la fin du XVIIIe siècle, vont évoluer au siècle suivant. Cette époque est un moment décisif en raison de nombreuses découvertes et avancées médicales, qui permettent des progrès considérables dans le domaine des troubles mentaux, en particulier les démences séniles. Pendant la révolution française, à l'initiative de Philippe Pinel (1745-1826), considéré comme un précurseur de la psychiatrie, les hommes et les femmes internés pour aliénation mentale, souvent maltraités et parfois enchaînés, sont de plus en plus libérés de leurs prisons et des institutions destinées à des fins de soins (1).

Par la suite, Aloïs Alzheimer se distingue. Psychiatre, neurologue et neuropathologiste bavarois, il travaille depuis 1888 à l'hôpital des maladies mentales et épileptiques de Francfort-sur-le-Main où il traite des psychoses. Il se concentre donc sur une patiente de 50 ans, Auguste Deter, hospitalisée en 1901 pour des problèmes de paranoïa, de troubles du sommeil et de la mémoire, d'agressivité et de confusion, en enregistrant ses observations et ses échanges avec la malade dans son dossier médical (10).

Auguste Deter présente une certaine démence, accompagnée de problèmes de mémoire graves, ainsi que des problèmes de compréhension, de désorientations et des troubles de l'orientation.

Alzheimer intègre la célèbre Clinique psychiatrique royale de Munich sous la direction d'Emil Kraepelin à partir de 1903, où il a un laboratoire d'histopathologie très bien équipé qui lui permet de continuer ses recherches. Auguste Deter meurt en 1906 et, après avoir appris sa mort, Alzheimer demande une autopsie à l'hôpital de Francfort pour étudier son cerveau. Il remarque tout d'abord une importante diminution du cerveau, notamment du cortex qui est responsable de la mémoire, du langage, du jugement et de la pensée en général. En outre, en utilisant l'imprégnation argentique pour colorer les coupes de tissu cérébral qu'il a réalisées, il y trouve les deux anomalies typiques : une dégénérescence des neurones (la dégénérescence neurofibrillaire) et un dépôt tumoral (10).

En 1911, Alzheimer constatera, chez un homme de 56 ans atteint de démence présénile et hospitalisé depuis plus de 3 ans dans la clinique du professeur Kraepelin, des changements histologiques similaires dans les sections de tissu cérébral du patient, mais avec seulement des plaques séniles. En 1906, Emil Kraepelin écrit la huitième édition de son traité de psychiatrie et, enthousiasmé par la découverte de son assistant, il y intègre la description du cas d'Auguste Deter qu'il classe dans une sous-catégorie des démences séniles (démence présénile) et suggère de l'appeler « maladie d'Alzheimer ». Selon lui, il s'agit d'une démence chez les jeunes, rare et dégénérative, laissant de côté le terme de « démence sénile » pour les démences vasculaires chez les personnes âgées. Il est donc surprenant de constater une individualisation aussi rapide (11).

Pendant des dizaines d'années, cette maladie neurologique est restreinte à une série de cas très précis. Aloïs Alzheimer décrit la dégénérescence cérébrale comme une démence rare, touchant des individus relativement jeunes. On parle plus souvent de démence sénile d'origine vasculaire pour les sujets plus âgés. À la suite de la première guerre mondiale, qui interrompt les études sur les maladies mentales, les symptômes de démence demeurent, pour la plupart des psychiatres de la première moitié du XXe siècle, le phénomène normal du vieillissement. Il y a donc une maladie précoce d'Alzheimer qui est clairement définie comme une maladie, ainsi que les problèmes de mémoire sénile, qui sont considérés comme une conséquence naturelle du vieillissement (12).

Ce n'est qu'en 1960 que cette forme de démence est considérée comme une maladie définitive. Effectivement, les chercheurs réalisent à la fin que la différence entre démences présénile et sénile n'a pas de sens, et que le diagnostic de la maladie d'Alzheimer est indépendant de l'âge. Ainsi, les avancées de la médecine permettent d'identifier une pathologie unique. Si elle se rencontre plus fréquemment chez les personnes âgées, elle n'est plus considérée comme la conséquence naturelle du vieillissement des personnes. Elle ne concerne pas de simples problèmes de mémoire qui se manifestent parfois avec l'âge. Il aurait fallu attendre les années 70 pour définir et reconnaître cette maladie (13).

Par conséquent, les scientifiques soulignent, avec beaucoup plus de précision, les divers mécanismes de la santé. Les avancées scientifiques offrent de nouveaux outils, méthodes et connaissances qui peuvent être utilisés pour explorer et comprendre le corps humain. Les chercheurs s'intéressent aujourd'hui à la maladie d'Alzheimer, qui étudie ainsi les interactions complexes qui détruisent les cellules nerveuses dans le cerveau de la personne atteinte de la maladie d'Alzheimer. Les plaques séniles sont causées par le peptide  $\beta$ -amyloïde ( $A\beta$ ) découvert en 1984 par le pathologiste américain George Glenner (1927-1995) (13).

La protéine Tau anormalement phosphorylée et accumulée dans les dégénérescences neurofibrillaires a été découverte l'année suivante par le Belge Jean-Pierre Brion (Université libre de Bruxelles) (14).

Jusqu'à présent, il n'y a pas de traitement qui puisse guérir la maladie d'Alzheimer ou stopper son développement. Les médicaments actuellement disponibles ne sont pas performants, leurs effets ne durent qu'un temps limité. De plus, à mesure que la maladie progresse, les traitements sont moins efficaces. Dans l'attente de nouveaux tests et d'éventuels essais sur l'Homme, l'attention est aujourd'hui portée sur la prévention. Plusieurs experts recommandent particulièrement un style de vie sain et une alimentation équilibrée. De plus, un cerveau entraîné et stimulé est plus résistant à l'émergence de la maladie. En outre, il semble également important de prévenir les problèmes vasculaires en évitant une attitude trop sédentaire, en pratiquant régulièrement une activité physique, en surveillant sa tension artérielle, sa glycémie ou sa cholestérolémie...Un style de vie équilibré et sain (1).

## 2. Symptômes et signes de la maladie

La maladie commence habituellement de manière discrète. Les symptômes se manifestent différemment d'une personne à l'autre. En général, leur importance s'accroît au fil du temps :

### + Pertes de mémoire qui perturbent la vie quotidienne

En particulier, l'oubli d'informations récemment acquises. Il peut aussi arriver de faire abstraction de dates ou d'événements importants, de solliciter la même information à plusieurs reprises (15).

### + Difficulté à planifier ou à résoudre des problèmes

Il est possible que certaines personnes ressentent des modifications dans leur aptitude à concevoir et à suivre un plan ou à utiliser les chiffres. Il est possible qu'elles rencontrent des difficultés à suivre une recette qui leur est familière ou à surveiller les factures mensuelles (15).

### + Difficulté à exécuter les tâches familières à la maison, au travail ou durant les loisirs

Les individus souffrant de la maladie d'Alzheimer rencontrent fréquemment des difficultés à accomplir les tâches quotidiennes. Il arrive parfois qu'elles rencontrent des obstacles pour se rendre à un endroit qu'elles connaissent bien. Confusion avec le temps ou le lieu, les individus souffrant de la maladie d'Alzheimer peuvent être incapables de reconnaître les dates, les saisons et le temps qui passe (15).

### + Difficulté à comprendre les images et les relations spatiales

Pour certains individus, l'apparition de troubles visuels peut être un indicateur de la maladie d'Alzheimer. Il est possible qu'elles rencontrent des problèmes pour lire, mesurer les distances et identifier les couleurs ou les contrastes (15).

### + Nouveaux problèmes d'expression orale ou écrite

Les individus souffrant de la maladie d'Alzheimer peuvent rencontrer des obstacles pour suivre ou participer à une conversation. Elles ont la possibilité de s'arrêter au milieu d'une conversation et de ne pas savoir comment la poursuivre, ou bien de se répéter. Elles peuvent

faire face à des problèmes de vocabulaire, éprouver des difficultés à trouver le mot approprié (15).

### + Objets égarés et perte de la capacité à reconstituer un parcours

Les individus souffrant de la maladie d'Alzheimer ont la capacité de stocker des objets dans des lieux inhabituels. Il est possible qu'ils perdent des objets et ne puissent pas revenir sur leurs pas pour les retrouver (15).

### + Jugement amoindri

Les individus atteints de la maladie d'Alzheimer peuvent ressentir des modifications dans leur perception ou leur capacité à prendre des décisions (15).

### + Retrait du travail ou des activités sociales

La maladie d'Alzheimer peut conduire les individus à se retirer de certaines activités de loisirs, sociales, sportives ou de certains projets professionnels. Elles peuvent rencontrer des difficultés

à suivre leur équipe sportive favorite ou à se souvenir de la manière de pratiquer leur passe-temps préféré (15).

### + Changements d'humeur et de la personnalité

La maladie d'Alzheimer peut entraîner des changements dans l'état d'esprit et la personnalité des individus. Elles peuvent prendre des formes de confusion, de soupçon, de dépression, de crainte ou d'anxiété (15).

## 3. Stades et évolution de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer se distingue par une progression lente de la lésion neuronale, ce qui entraîne l'apparition de symptômes secondaires et une aggravation progressive des symptômes. Par conséquent, on peut décrire plusieurs stades de la maladie en fonction de l'apparition des symptômes, de leur gravité et de leur influence sur la vie quotidienne (16) :

### ❖ Le stade asymptomatique

À ce stade, il n'y a pas de signes cliniques. Cependant, certains sujets normaux présentent déjà des marqueurs biologiques positifs (bêta-amyloïde et Tau), même à ce

stade. Cependant, il est inutile de les chercher car il n'y a aucun symptôme (la maladie n'est pas signalée) et il n'existe aucun traitement (16).

### ❖ **Le stade prodromal**

Les problèmes de mémoire du patient sont souvent isolés ou parfois liés à une désorientation dans l'espace ou à un manque de mots. Les biomarqueurs, tels que le bêta-amyloïde et le Tau, permettent de relier officiellement les symptômes observés à la maladie d'Alzheimer (16).

### ❖ **Le stade de démence**

Lorsque les troubles cognitifs et comportementaux affectent les activités de la vie quotidienne, on parle de démence : les patients ne sont plus capables de faire leurs propres choix. En médecine, c'est l'apparition d'une dépendance qui définit la démence. Il est actuellement question de troubles neurocognitifs importants (16).

Il existe trois stades distincts de la démence :

### ❖ **Le stade de démence légère**

Les problèmes de mémoire sont fréquents, entraînant l'oubli des faits récents, la tendance à poser la même question à plusieurs reprises ou à se répéter. Il y a également des problèmes d'orientation temporelle (confusion des dates) et spatiale (difficultés à se repérer même dans le quartier habituel), des problèmes d'attention, de raisonnement, des problèmes de mots. Il s'agit de pratiques complexes de la vie quotidienne comme l'utilisation de l'ordinateur ou d'un téléphone portable ; le sujet est généralement moins autonome pour prendre des médicaments, gérer ses finances, utiliser les transports en commun...(16)

### ❖ **Le stade de démence modérée**

Les fonctions cognitives sont de plus en plus affectées, avec des problèmes de langage et de compréhension, ainsi que des difficultés à produire des gestes. Il est essentiel d'accompagner les patients et d'apporter une assistance dans leur vie quotidienne. L'importance de la dépendance augmente (16).

### ❖ **Le stade de démence sévère**

Le patient est incapable de réaliser seul les tâches quotidiennes telles que les toilettes et les repas. Il est essentiel d'avoir une assistance omniprésente afin de

répondre aux besoins du patient. Ces étapes sont des points de référence théoriques. Il est connu que la maladie et ses symptômes évoluent de façon variable en fonction des patients (16).

#### 4. Les facteurs de risque

Parmi les éléments clairement repérés :

##### ➤ L'âge

L'âge représente le principal facteur de risque de développer l'Alzheimer. Malgré l'absence de l'Alzheimer dans le processus de vieillissement normal, il est évident que la maladie est plus courante avec l'âge. Selon les estimations, environ 5% des individus âgés de 65 ans et plus souffrent de la maladie, et ce nombre augmente d'environ 5% tous les 5 ans (17).

##### ➤ La génétique

L'influence de la génétique sur le risque de développer l'Alzheimer est importante. Cependant, il est crucial de noter que les individus atteints de maladie d'Alzheimer en raison d'une mutation génétique sont diagnostiqués à un jeune âge (avant 60 ans). Ces cas constituent une très faible part des diagnostics. Il est donc rare que les maladies diagnostiquées après 60 ans soient une cause majeure (17).

##### ➤ Les facteurs de risque cardiovasculaires

Selon les chercheurs, plus un individu présente un risque cardiovasculaire élevé, plus il est susceptible de contracter la maladie d'Alzheimer. De cette manière, l'hypertension artérielle peut entraîner l'émergence de problèmes cognitifs. Il est recommandé de surveiller son poids, sa consommation de sel, sa consommation d'alcool et son activité physique afin de la maintenir à un niveau normal. Le tabac et la nicotine jouent également un rôle défavorable au cerveau. Le cholestérol LDL élevé et le cholestérol LDL bas, le surpoids et enfin le diabète de type 2, qui se manifeste habituellement après l'âge de 45 ans (18).

##### ➤ Le niveau d'éducation et les activités cognitives

Les recherches ont démontré au fil des années que plus un cerveau est développé et sollicité, plus les connexions cérébrales sont stimulées et moins les

risques de développer une forme de démence sont élevés. On peut donc considérer un faible niveau d'éducation comme un facteur majeur de risque de cette maladie (18).

### ➤ **Les traumatismes crâniens**

Il semble également que les traumatismes passés au niveau du crane influencent le développement de la démence ultérieurement dans la vie. Parmi ceux qui se manifestent par des pertes de conscience de plus de 5 minutes qui pourraient entraîner une fragilisation du cerveau (18).

### ➤ **La dépression**

Parfois perçue comme un signe de la maladie d'Alzheimer, il semble que la dépression soit en fait un élément de risque de celle-ci. En effet, les épisodes de dépression ont pour effet d'accroître les niveaux de substances chimiques néfastes dans notre organisme. C'est de cette manière qu'ils peuvent entraîner un risque accru de contracter la maladie (18).

### ➤ **Les troubles du sommeil**

Étant donné la situation de la dépression, entre la maladie d'Alzheimer et les problèmes de sommeil, il arrive parfois de se demander qui est plus dangereux, la poule ou l'œuf...Il est bien connu que le cerveau tire parti de notre sommeil pour éliminer les déchets qui le polluent. Et en particulier, on observe une augmentation des protéines beta amyloïdes chez les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer. Cependant, il reste encore à déterminer plus précisément le lien (18).

### ➤ **Le stress**

Le stress chronique ne constitue pas une bénédiction pour la santé en général. L'hormone du stress, le cortisol, a une influence particulière sur la mémoire. Le stress a également des conséquences sur notre santé cardiovasculaire et a tendance à diminuer les défenses immunitaires qui nous aident à lutter contre la démence (18).

## **5. Le diagnostic**

Bien que la maladie d'Alzheimer n'ait pas de remède, il est possible de ralentir son développement. Il est donc primordial de pouvoir établir un diagnostic rapide pour pouvoir mettre en place la prise en charge de la maladie. Selon toutes les recherches, l'établissement d'un diagnostic précoce peut contribuer à maintenir un lien social et à



retarder la progression de la maladie. La maladie d'Alzheimer est diagnostiquée par plusieurs facteurs, dont la plainte subjective du patient et de son entourage (oublis, nature des oublis, rapport au temps, difficultés de gestion administrative, changements dans les habitudes de vie, nouvelle irritabilité ou troubles de l'humeur comme exemple) (19).

Le bilan neuropsychologique joue également un rôle essentiel dans la détermination du diagnostic. Certains examens sont sensibles et adaptés aux troubles cognitifs liés à la maladie d'Alzheimer. La présence de ces troubles suggérera une éventuelle entrée dans un processus de dégénérescence neuronale (19).

Finalement, les indicateurs biologiques constituent le troisième composant du diagnostic. Les hypothèses des neurologues pourraient être soutenues par le dosage des taux de protéines bêta-amyloïdes et tau dans le liquide céphalo-rachidien, l'analyse des IRM (structure anatomique et fonctionnelle du cerveau) et des TEP au 18FDG (métabolisme d'une cellule neuronale) ou avec des ligands radioactifs des lésions bêta-amyloïdes et tau. Les premiers tests sanguins des marqueurs des pathologies tau et amyloïdes sont apparus en 2023 (19).

### **6. Le traitement**

Il n'existe, à l'heure actuelle, aucun traitement capable de guérir la maladie d'Alzheimer ou de ralentir son évolution dans le cerveau. Cependant, il existe actuellement quatre médicaments symptomatiques : le Donépézil (Aricept), la Rivastigmine (Exelon), la Galantamine (Reminly) et la Mémantine (Exiba). L'objectif de ces traitements est de soulager les symptômes cognitifs de la personne atteinte. Cependant, ils ne sont pas à l'abri de la propagation de la maladie dans le cerveau, mais restent efficaces sur le plan clinique (20).

Ces médicaments, Donépézil (Aricept) ; la Rivastigmine (Exelon) ; la Galantamine (Reminly), sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Le neurotransmetteur acétylcholine est dégradé par l'acétylcholinestérase. Cependant, ce neurotransmetteur joue un rôle crucial dans le bon déroulement des neurones (20).

Ces médicaments, qui bloquent l'acétylcholinestérase, préviennent donc la détérioration du neurotransmetteur. Ils favorisent une augmentation de sa quantité au niveau de la synapse, qui est le point de jonction entre deux neurones. En d'autres

termes, en utilisant ses médicaments dès le début de la maladie, on ajoute constamment de l'acétylcholine pour combler le manque. Malheureusement, ce dernier ne cesse d'augmenter et, à un certain moment, les traitements ne sont plus suffisants et la maladie d'Alzheimer ne cesse de se développer (20).

De son côté, la Mémantine (Exiba) agit de manière similaire sur le Glutamate. Les récepteurs NMDA sont bloqués par la Mémantine. Ces récepteurs sont protégés contre l'excitotoxicité qui se produit dans la maladie d'Alzheimer. Le processus pathologique d'excitotoxicité consiste en une neurotoxicité et une destruction du neurone causée par une activation excessive du neurotransmetteur glutamate, qui excite le récepteur NMDA (20).

### **7. Les thérapies non médicamenteuses pour améliorer les conditions de vie**

Il est important de ne pas se limiter à une prescription uniquement médicamenteuse. Il existe des prises en charge non pharmacologiques destinées à stimuler les capacités cognitives et motrices du malade.

Précieuses dans l'amélioration des conditions de vie, ces approches non médicamenteuses sont :

- L'orthophonie** : dans le but de préserver le langage de la personne malade.
- La stimulation cognitive** : pour maintenir ses capacités cognitives le plus longtemps possible.
- la prise en charge psychologique** : pour une meilleure stabilité psychique du patient.
- la Kinésithérapie, l'ostéopathie, l'ergothérapie et la psychomotricité** : afin de préserver l'activité motrice et l'autonomie de la personne malade.
- La musicothérapie, l'aromathérapie, la stimulation multi sensorielle, la zoothérapie les massages, la luminothérapie** : elles viennent agir sur certains aspects du comportement.
- La prise en charge individuelle personnalisée** : cette thérapie résulte de l'analyse des troubles du comportement du patient, de sa personnalité, ses goûts et ses affinités, et de ses capacités restantes (21).

# **CHAPITRE 2 :**

## **l'Acétylcholinesterase**

## 1. Généralités

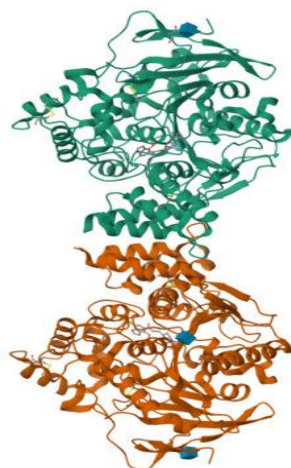
L'Acétylcholinesterase (AChE) est une enzyme essentielle de la neurotransmission qui se caractérise par sa rapidité. En effet, selon l'espèce, elle peut hydrolyser son substrat entre 1000 et 20000 fois par seconde. Les eucaryotes supérieurs expriment l'AChE (EC 3.1.1.7), qui est une protéine de la famille des cholinestérases, qui sont des enzymes capables d'hydrolyser les esters de choline (cholinesters), y compris l'acétylcholine (ACh) (22).

Le globule rouge et le tissu nerveux produisent principalement de l'acétylcholinestérase, qui se trouve au niveau des synapses et des jonctions neuromusculaires, ainsi que dans la substance grise, les poumons et la rate (23).

## 2. Structure tridimensionnelle

La structure primaire de l'AChE de *Torpedo californica* a été déterminée en premier lieu (24). Quelques années plus tard, il s'en est suivi l'identification de la structure primaire de l'AChE humaine (25). En 1991, Sussman et ses collègues ont été les premiers à décrire la structure tridimensionnelle de l'AChE de *Torpedo californica* à l'aide de la diffraction des Rayons X (26). Les structures primaires des différentes AChE sont très similaires : plus de 60 % des résidus sont identiques entre l'AChE de *Torpedo californica* et celle des mammifères, notamment au niveau du site actif.

L'AChE des mammifères est composée de 543 résidus. Elle se cristallise sous une forme homodimérique, comportant 12 feuillets  $\beta$  entourant 14 hélices  $\alpha$ . Etude théorique de la réactivation de l'AChE inhibée par le tabun. L'enzyme présente un repliement global qui est caractéristique de la famille des  $\alpha/\beta$  hydrolases (27). Les deux monomères sont reliés l'un à l'autre dans le dimère par un "paquet" de 4 hélices  $\alpha$  : deux hélices  $\alpha$  de chaque monomère, dont l'hélice  $\alpha$  C-terminale, contribuent à la formation d'un accollement inter-résidus très stable. Chacun des deux monomères possède des cystéines C-terminales (Cys537) qui créent un pont disulfure entre chaînes, ce qui stabilisera cette interface de dimérisation (28).



**Figure 1** : Structure tridimensionnelle de l'Acétylcholinestérase (27).

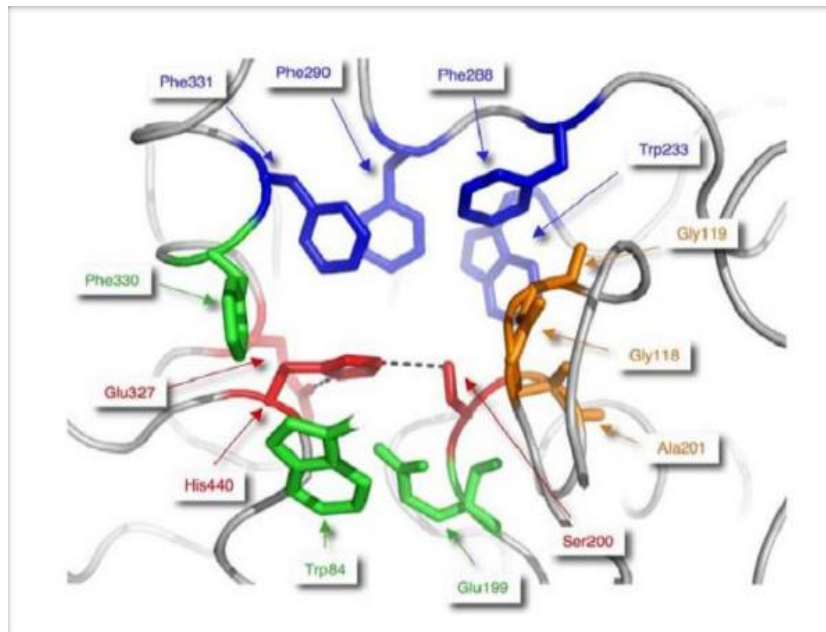
### 3. Le site actif et la triade catalytique

Au fond d'une gorge profonde et étroite se trouve le site catalytique de l'AChE (26). Le site anionique et le site estérasique sont deux sous-sites. L'intermédiaire tétraédrique est formé par la fixation de la partie acétyle de la molécule d'ACh dans le site estérasique. La triade catalytique de cette enzyme se compose principalement des acides aminés Glu334, His467 et Ser203. C'est à la base d'une gorge étroite de 20 Å de profondeur que se trouve cette triade

(29).

On retrouve 14 résidus aromatiques dans cette gorge. Le carbonyle de l'ACh, qui se charge négativement lors de la formation de l'intermédiaire tétraédrique, devra être stabilisé par l'enzyme. En réalité, on peut observer une poche dans le site actif de l'enzyme, appelée le trou « oxyanion », qui est composée des résidus Gly118, A et Ala 201. Il y aura également une petite cavité hydrophobe appelée la « poche acyle », qui est composée des résidus Trp233, Phe288, Phe290 et Phe331, dans le sous-site estérasique. La présence de cette poche est cruciale pour la sélectivité du substrat de l'AChE, car elle ne pourra hydrolyser efficacement que les esters qui peuvent loger leur portion aliphatique dans cette poche (30). On retrouve dans le site anionique des résidus de Trp84, Glu199 et Phe330. L'attraction électrostatique du résidu Glu199 stabilisera effectivement la charge positive du ligand, mais cela sera beaucoup plus efficace par son interaction avec les électrons  $\pi$  des noyaux aromatiques environnants (31).

Les substances résiduelles Trp84 et Phe330 seront les principales responsables de cette perturbation énergétique.



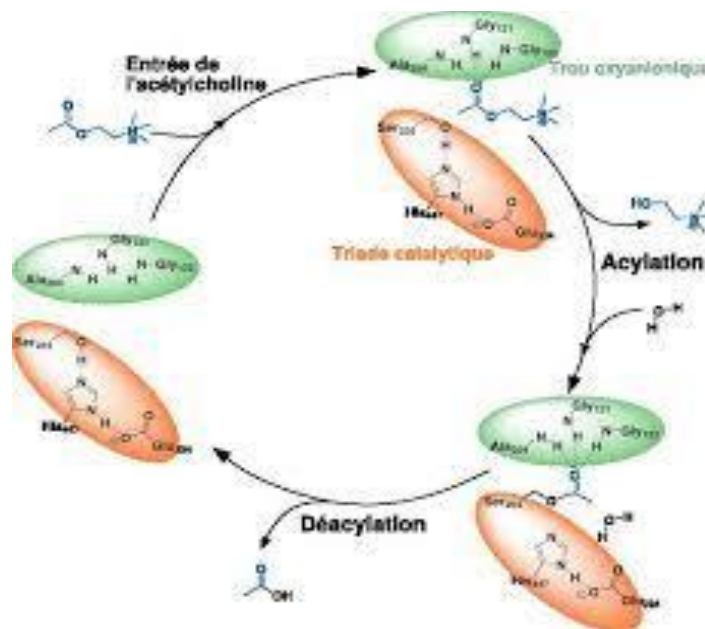
**Figure 2:** Vue détaillée du site actif de l'AChE (30).

#### 4. Le mécanisme catalytique

L'AChE est une enzyme de type B de carboxylestérases, de la famille des sérines hydrolases (32) (33). La famille de la trypsine, de la chymotrypsine et de l'élastase est composée de ces substances. Dans le cas de l'AChE, les sérines hydrolases sont perçues comme des enzymes relativement rapides et efficaces. On y retrouve toujours une poche qui assure la stabilisation de l'intermédiaire tétraédrique, connue sous le nom de « trou oxyanion », et une autre qui assure la spécificité du substrat, appelée « poche acyle » (30). Une triade catalytique est présente dans toutes les enzymes de cette famille, avec une sérine, une histidine et un acide aspartique ou glutamique qui, lui, sera toujours présent dans une poche inaccessible au solvant. Les sérines hydrolases conservent le mécanisme catalytique 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 3 :** Représentation schématique du mécanisme d'action de l'AChE (32).

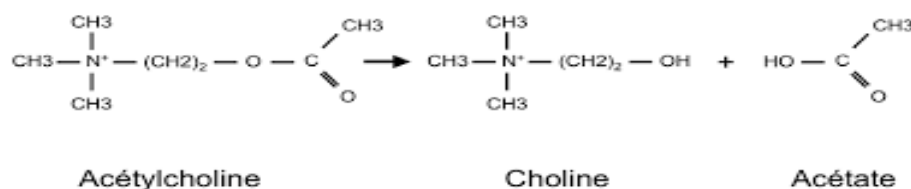
## 5. Rôles physiologiques

Les eucaryotes supérieurs expriment l'AChE dans leur système nerveux et sanguin. Si son rôle physiologique dans le système circulatoire reste encore à déterminer, son rôle principal dans le système nerveux est parfaitement défini. L'AChE est une protéine qui est sécrétée dans les synapses appelées cholinergiques, c'est-à-dire qui utilisent le neurotransmetteur ACh. On peut trouver de telles synapses dans les connexions neuromusculaires, ainsi que dans les régions du cortex qui sont responsables des fonctions cognitives (mémoire, orientation, jugement, etc (30).

### 5.1 Rôles classiques

L'AChE se manifeste dans divers tissus. Cependant, son rôle le plus connu est à la jonction neuromusculaire ou dans les synapses qui relient certains neurones. Le fonctionnement schématisé d'une synapse cholinergique se déroule en quatre étapes. La libération initiale du neurotransmetteur, l'ACh, se produit à travers la fente

synaptique, se lie de manière réversible au récepteur nicotinique et est finalement hydrolysée. C'est à cette dernière étape que l'AChE intervient. Son rôle cholinergique consiste à arrêter la transmission de l'influx nerveux au sein des connexions neuromusculaires et des synapses cholinergiques (34). L'hydrolyse de son substrat, l'acétylcholine (ACh), la transforme en acétate et choline, permet de réaliser cette action (22).



**Figure 4 :** L'hydrolyse de l'acétylcholine (ACh) par l'Acétylcholinestérase (35).

Le rôle de l'AChE demande une efficacité élevée. La transmission de l'influx nerveux au sein d'une synapse est un processus qui ne dure que quelques millisecondes. L'AChE, qui conclut cette série d'événements, doit donc être assez rapide pour rétablir les conditions nécessaires à la transmission d'un nouvel influx (22).

## 5.2 Rôles non-classiques

L'AChE a aussi d'autres fonctions que celle de stopper la transmission de l'influx nerveux au sein des synapses cholinergiques (34).

Le stress provoque un épissage alternatif qui génère une AChE dont l'extrémité C-terminale participe à la différenciation hématopoïétique. Il est possible que l'AChE joue le rôle d'une protéine d'adhésion lors de la formation et du maintien des synapses. Étant donné que l'AChE est très similaire à la neuroligin, une protéine d'adhésion neuronale, elle pourrait, tout comme celle-ci, avoir un impact sur l'autisme et certains retards mentaux (22).

L'AChE est également soupçonné de participer à la formation des neurites (les prolongements cellulaires des neurones, c'est-à-dire les axones et les dendrites) (22).

L'AChE joue un rôle très intéressant dans la maladie d'Alzheimer (MA). Anatomiquement, les symptômes neuropathologiques de la MA se caractérisent par la formation de plaques amyloïdes (appelées séniles) et de l'enchevêtrement de neurofibrilles qui entraînent la mort des neurones. On a démontré que l'AChE favorise



la formation de fibres du peptide A $\beta$ , ce qui entraîne la formation de plaques séniles (36).

## 6. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

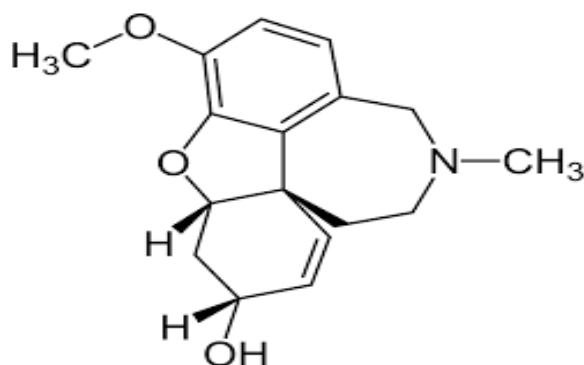
Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase constituent une catégorie de produits qui entravent la libération de l'acétylcholine. Leur action consiste à bloquer l'enzyme acétylcholinestérase qui se trouve dans les zones autour des neurones afin de réguler les niveaux d'acétylcholine dans le cerveau (23).

L'AChE cible une variété très étendue de molécules actives, incluant autant de toxines naturelles que de poisons fabriqués par l'homme. Les divers inhibiteurs de l'AChE peuvent interagir soit directement dans son site actif, et dans ce cas, en se liant de manière covalente (inhibition irréversible) ou non-covalente (inhibition réversible), soit au niveau de son site périphérique (inhibition réversible). De manière générale, l'inhibition irréversible de l'AChE entraînera la mort de l'individu concerné ; cependant, son inhibition réversible, si elle est maîtrisée, peut être avantageuse (30).

### 6.1 Les inhibiteurs réversibles

#### 6.1.1 Galanthamine

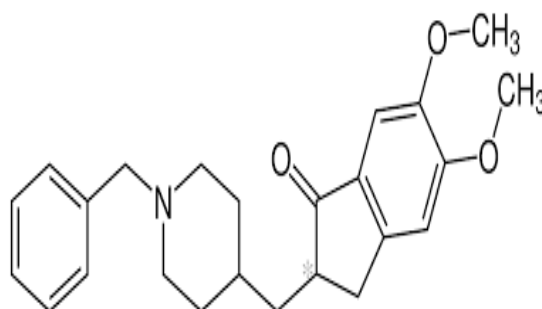
La galantamine, également connue sous le nom de Reminly, est un alcaloïde à base d'amine tertiaire qui a été validé dans de nombreux pays pour le traitement de la mémoire (37). Différents dérivés ont été fabriqués et analysés, démontrant un potentiel supérieur à celui de la galanthamine (38).



**Figure 5:** Structure chimique de la galantamine (37).

### 6.1.2 Donépézil

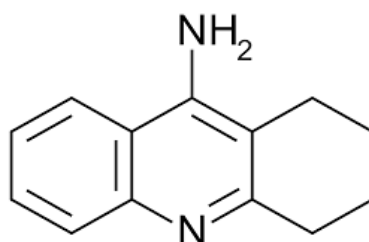
Le donépézil, sous la forme de chlorhydrate de donépézil, est le deuxième inhibiteur de l'AChE commercialisé sous le nom d'Aricept®, approuvé par la FDA en 1996. D'après une étude parue dans *The New England Journal of Medicine*, le donépézil, un médicament couramment utilisé pour traiter les phases précoces de la maladie d'Alzheimer, présente également des avantages dans ses formes les plus sévères (39).



**Figure 6 :** Structure chimique de la donépézil (39).

### 6.1.3 Tacrine

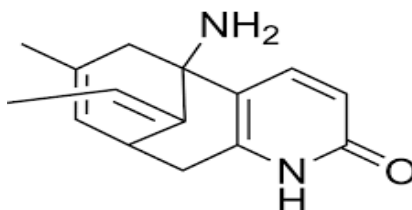
La Tacrine est un médicament utilisé pour traiter les problèmes de mémoire chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer et a été utilisé pour la première fois pour améliorer un certain degré. La Tacrine, le premier inhibiteur de l'AChE disponible, est commercialisée aux États-Unis depuis 1993 et en France depuis 1994 sous le nom de (Cognex®). L'excès d'acétylcholine peut provoquer des effets secondaires tels que des nausées, des vomissements, des diarrhées, des crampes abdominales et une sécrétion excessive de salive. De plus, il semble que la consommation de doses très élevées de Tacrine soit néfaste pour les cellules du foie (40).



**Figure 7 :** Structure chimique de la Tacrine (40).

### 6.1.4 Huperzine

Un autre alcaloïde inhibant l'AChE est l'huperzine. Il a été extrait d'une plante médicinale chinoise appelée *Huperzia serrata*. Cette molécule présente un effet inhibiteur remarquable avec un faible degré de toxicité, elle a été utilisée comme composé clé dans la conception de divers dérivés (41).



**Figure 8 :** Structure chimique de l'huperzine (41).

## 6.2 Les inhibiteurs irréversibles

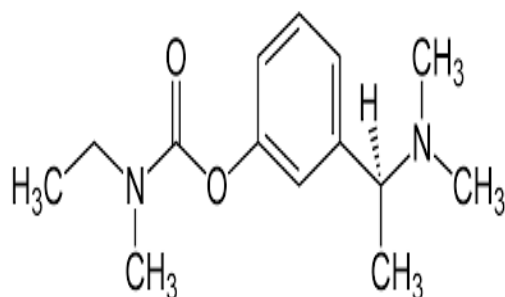
### 6.2.1 Les organophosphates

On retrouve principalement des molécules de la famille des organophosphorés (OP) ou des carbamates (CBM) parmi les inhibiteurs irréversibles de l'AChE. En effet, la majorité des insecticides utilisés aujourd'hui font partie de ces deux familles de molécules organiques (OP : chlorpyrifos, dichlorvos ou malathion ; CBM : propoxur). En réalité, ces deux catégories de molécules sont davantage des substrats de l'AChE que des inhibiteurs bien définis. Toutefois, la sérine catalytique est décarbonylée (CBM) et déphosphorylée (OP) sur des échelles de temps plus longues ; environ une minute pour la décarboxylation et une heure pour la déphosphorylation. En plus de cela, il y a une réaction secondaire de vieillissement dans certains OP, qui consiste en une déalkylation de la phosphonyl-enzyme, ce qui rend impossible la régénération de l'enzyme libre, ce qui rend l'enzyme inactivée de manière irréversible (30).

### 6.2.2 Rivastigmine

La rivastigmine est un puissant inhibiteur de l'AChE. Exelon® est une molécule qui agit sur l'AChE et la butyrylcholinesterase (BChE) en créant un complexe lié par une liaison covalente, ce qui provoque une inactivation temporaire des enzymes.

L'administration de 3 mg par voie orale chez le sujet sain jeune entraîne une réduction d'environ 40 % de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) dans le LCR dans l'heure et demie suivant l'administration. Le niveau initial d'activité enzymatique revient environ 9 heures après le pic d'activité inhibitrice (39).



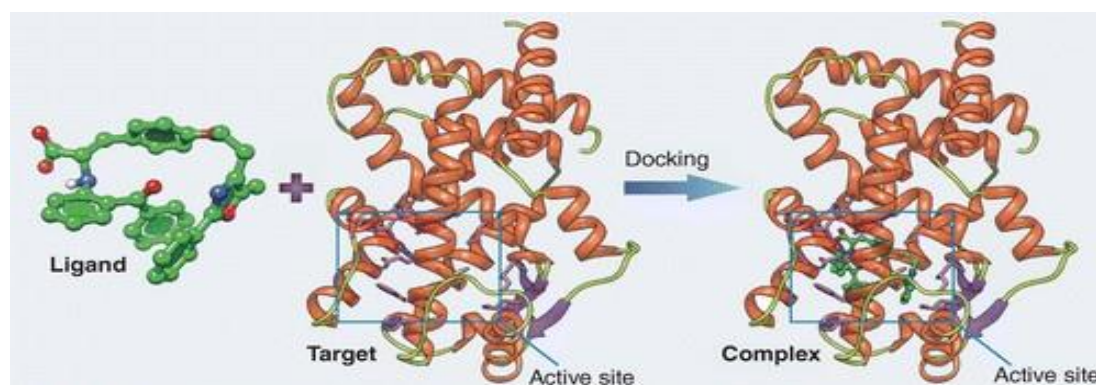
**Figure 9** : Structure chimique de la Rivastigmine (39).

# **Chapitre 3 : le Docking moléculaire**

## 1. Définition de docking moléculaire

Le docking moléculaire permet de prédire la structure tridimensionnelle des complexes moléculaires en simulant l'interaction entre une molécule cible, généralement une protéine, et un ligand, tel qu'un potentiel médicament. Le docking moléculaire permet d'identifier la position la plus favorable du ligand dans le site actif de la protéine cible, c'est-à-dire la plus stable, ce qui permet de prédire les interactions moléculaires et d'améliorer leur performance (42).

Le Docking rend la mise en œuvre, le coût et la rapidité beaucoup plus aisés que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales. Les outils de docking sont donc extrêmement bénéfiques dans les domaines de la biologie, de la pharmacie et de la médecine (43).



**Figure 10 :** principe du docking moléculaire, illustration de l'interaction entre une molécule (ligand) et une protéine (Target) au niveau de son site actif(Rectangle) (42).

## 2. Le principe de docking moléculaire

Il y a principalement deux étapes complémentaires dans le Docking : le Docking et le Scoring :

- La première étape, appelée **Docking**, consiste à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à étudier les différentes conformations, positions et orientations possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables.
- La deuxième étape, appelée **Scoring**, implique l'évaluation de l'affinité entre le ligand et la protéine afin de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de Docking.

Cette étape vise à obtenir le score de stabilisation le plus élevé (favorable) du complexe protéine-ligand (44).

### 3. Les niveaux de docking moléculaire

Il existe également trois types :

- **Le docking rigide** : Selon le modèle « clé-serrure », le ligand et le récepteur sont rigides dans leur forme la plus simple.
- **Le docking semi-flexible** : Grâce à cette flexibilité du ligand, les résultats sont plus précis, tandis que le récepteur reste rigide.
- **Le docking flexible** : traite la flexibilité des deux molécules, mais la flexibilité est limitée par des modèles (43).

### 4. Outils de docking moléculaire

Le docking moléculaire nécessite trois éléments essentiels : un récepteur protéique (la cible), un ligand et un programme de docking moléculaire.

#### 4.1. Le récepteur

Le récepteur est une substance qui permet de recevoir des informations. Ainsi, le récepteur est une molécule protéique spécialisée qui peut se lier de manière spécifique et réversible à une autre molécule connue sous le nom de ligand (45).

La structure 3D du récepteur a été obtenue en utilisant la base de données PDB (46). Cela regroupe les informations structurales des macromolécules biologiques telles que les protéines, l'ADN, l'ARN, etc (47).

#### 4.2. Le ligand

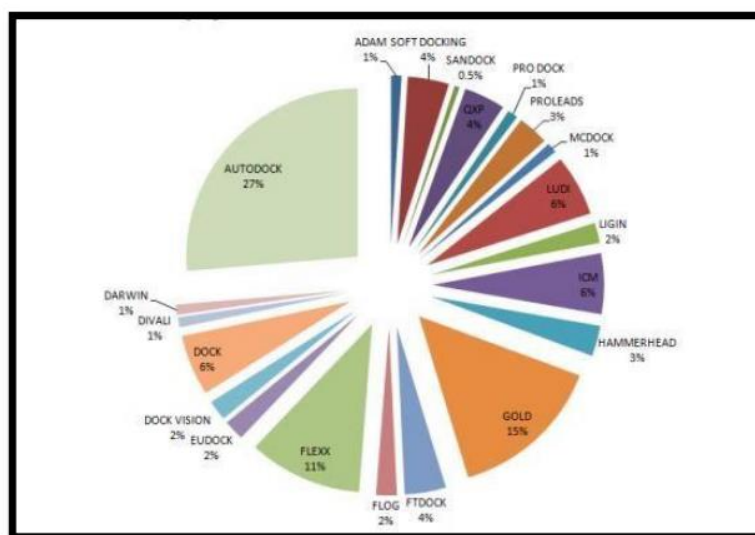
Il s'agit d'une molécule qui se lie de façon réversible à une macromolécule spécifique, qu'il s'agisse d'une protéine ou d'un acide nucléique, avec un rôle fonctionnel en général : La stabilisation structurelle, la catalyse, la modulation d'une activité enzymatique, la transmission d'un signal (48).

En docking moléculaire, la sélection du ligand revêt une importance capitale. Il est important de prendre cette décision en raison de la particularité du site actif de la cible, afin d'éviter de tester des molécules de manière inutile (49).

### 4.3. Programmes de docking moléculaire

L'objectif principal du docking moléculaire est de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Il a été créé au début des années 1980 et est devenu, aujourd'hui, un outil essentiel dans la recherche de produits biologiquement actifs (48).

Avec le temps, de nombreux programmes ont vu le jour avec différents algorithmes. Il y en a plusieurs disponibles. Les trois marques les plus souvent mentionnées représentent 53 % des citations totales trouvées dans la littérature, à savoir Auto Dock (27 %), GOLD (15 %) et FlexX (11 %) (50).



**Figure 11** : comparaison des programmes du docking moléculaire les plus cités (51).

### 5. Les programmes de docking moléculaire

Le tableau ci-dessous illustre certains exemples de programmes de docking (52).



Tableau 1 : les Principaux programmes de docking moléculaire.

NOM Editeur	Site Internet
<b>AutoDock Scripps</b>	<a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodoc/">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodoc/</a>
<b>Dock UCSF</b>	<a href="http://dock.compbio.ucsf.edu/">http://dock.compbio.ucsf.edu/</a> .
<b>FlexXBioSolveIT</b>	<a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a> .
<b>Fred OpenEyes</b>	<a href="http://www.eyesopen.com/products/applicatin/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/applicatin/fred.html</a>
<b>GlideSchrodinger</b>	<a href="http://www.schorodinger.com/products/glide">http://www.schorodinger.com/products/glide</a> .
<b>Golde CCDC</b>	<a href="http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/1">http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/1</a> .
<b>ICM Molsoft</b>	<a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a> .
<b>LigandFitAcces</b>	<a href="http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandfit">http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandfit</a>
<b>SurflexBiopharmes</b>	<a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>

## 6. Surflex-dock :

Le docking moléculaire est l'un des premières étapes dans la conception de médicaments, Un processus permet d'interagir le ligand avec son récepteur habituellement de nature protéique. Le Docking propose des hypothèses sur la position et la structure dont le ligand interagit avec sa cible. Il a des différents algorithmes avec différente fiabilité pour l'approche expérimentale de fixation.

Pour notre travail, nous avons utilisé le programme Surflex-dock. Ce dernier est un algorithme d'amarrage moléculaire flexible entièrement automatique en combinant la fonction de notation du système d'amarrage Hammerhead avec un moteur de recherche, il permet de générer rapidement des poses putatives appropriées pour les fragments moléculaires en utilisant une méthode de similarité moléculaire

basée sur la surface. Son principe repose sur la création d'un protomol ou pseudo-molécule comme cible sur laquelle aligner le ligand en l'incrémentant. Ceux-ci sont des fragments de molécules qui sont placés dans le site actif de manière optimale et redondante en fonction de critères morphologiques. Il convient de souligner que cette pseudo-molécule peut être formée à partir du ligand dans le site actif, à condition de posséder une structure, ou à partir du récepteur sans aucun type de structure (53).

# **Partie pratique**

# **Chapitre 4 : Matériel et méthodes**

## 1. Matériel

### 1.1. Micro portable

Au terme de notre recherche scientifique, nous avons utilisé des logiciels installés dans deux micros portables caractérisés par les performances suivantes :

-HP PROBOOK 640 G2 ayant un processeur Intel(R) Core(TM) i5-6300CPU et une mémoire vive de 8.00Go, sous un système d'exploitation Windows 10 Professionnel Éducation (64 bits).

-Dell ayant un processeur Intel® Pentium® Silver N5000 CPU et une mémoire vive de 8.00Go, sous un système d'exploitation Windows 10 Pro (64 bits).

### 1.2. Programmes

#### 1.2.1. Surflex

Il s'agit d'un dispositif de docking moléculaire qui peut fixer les ligands dans le lieu approprié (le bon site), mais dans une orientation différente de la structure cristalline. Ce logiciel propose des performances et une utilisation beaucoup plus rapide (54).

#### 1.2.2. Open Babel 2.3.0

Il s'agit d'un logiciel libre qui offre la possibilité de convertir des données chimiques d'un format à un autre, d'analyser ou de les stocker. Inclut les fichiers suivants : pdb, mol, mol2, sdf et bien d'autres (55).

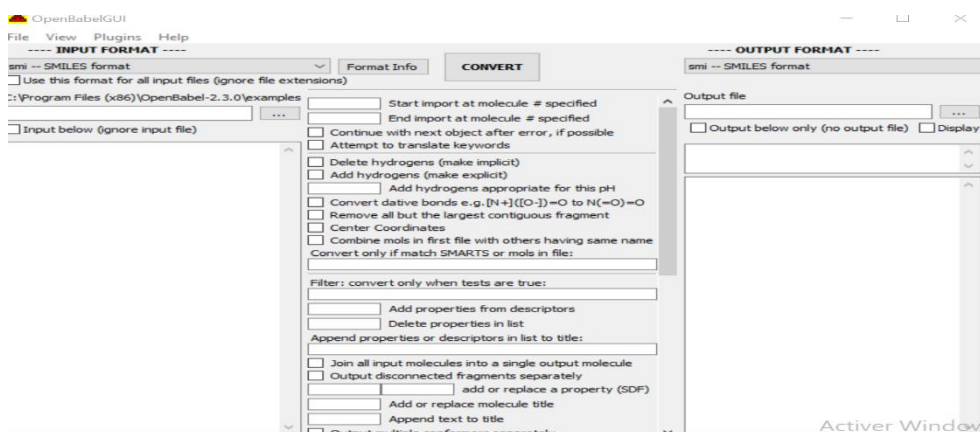


Figure 12 : l'interface de Open Babel

### 1.2.3 Viewerlite 4.2

Il s'agit d'un logiciel de visualisation libre (gratuit) qui permet de visualiser en 3D la structure d'une molécule biologique.

Viewerlite se distingue par :

- La mise en évidence des interactions chimiques (comme la liaison hydrogène).
- L'évaluation des distances entre les atomes.
- Les acides aminés sont annotés (nom, numéro).
- Sélection de teinte (en fonction des atomes, des structures...).
- La possibilité de dissimuler et de révéler les diverses molécules (56).

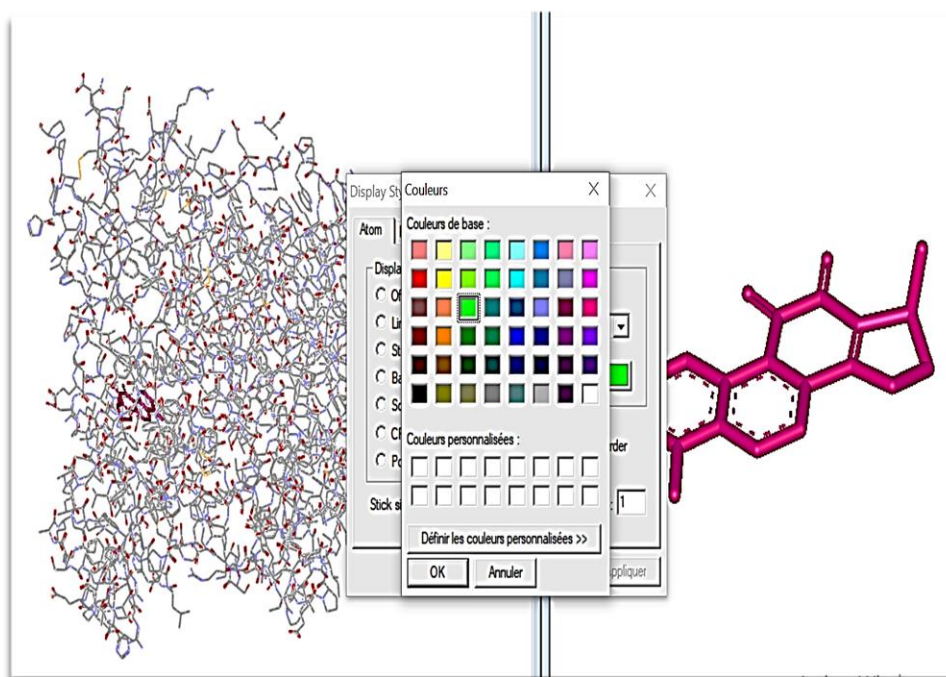


Figure 13 : l'interface graphique de Viewer Lite.

### 1.2.4. Biovia Discovery studio visualizer 24.0.1

Grâce à ce programme, nous avons pu préparer et visualiser à la fois l'enzyme et les ligands, dans le but d'analyser les interactions entre la protéine et le ligand. Biovia Discovery studio visualizer: Free Download: Dassault systems.(2024) (57).

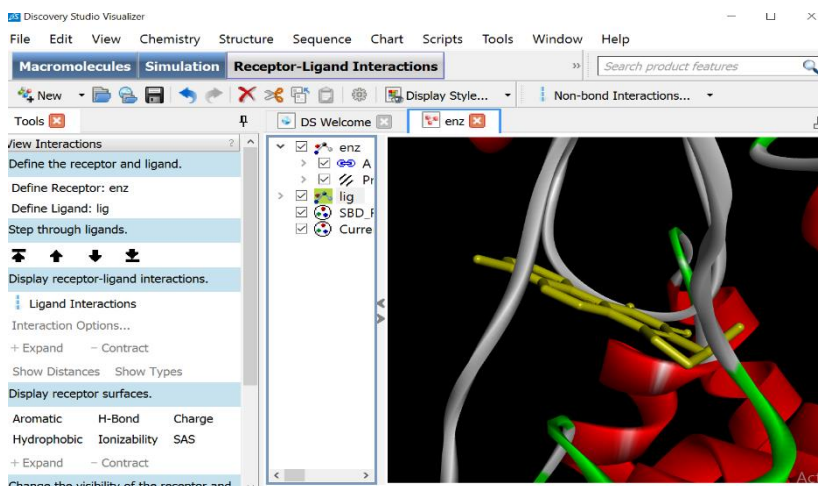


Figure 14 : Interface graphique de Biovia Discovery studio visualizer.

### 1.3. Serveurs

#### 1.3.1. ADMETlab 2.0

Il s'agit d'une amélioration de l'ADMETlab, qui est couramment employé pour évaluer de manière systématique les propriétés ADMET, ainsi que certaines propriétés physicochimiques (58).

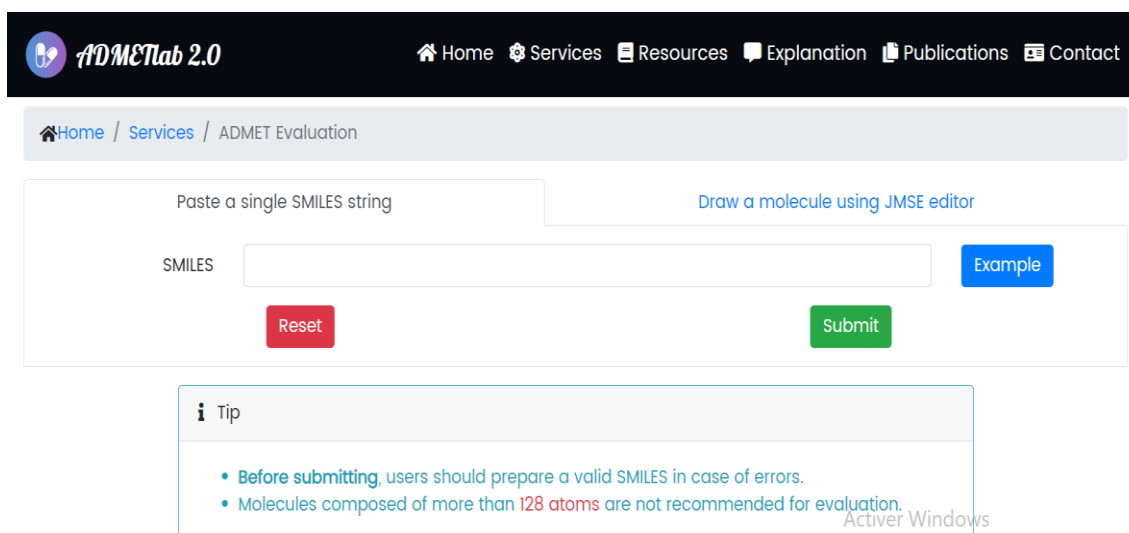
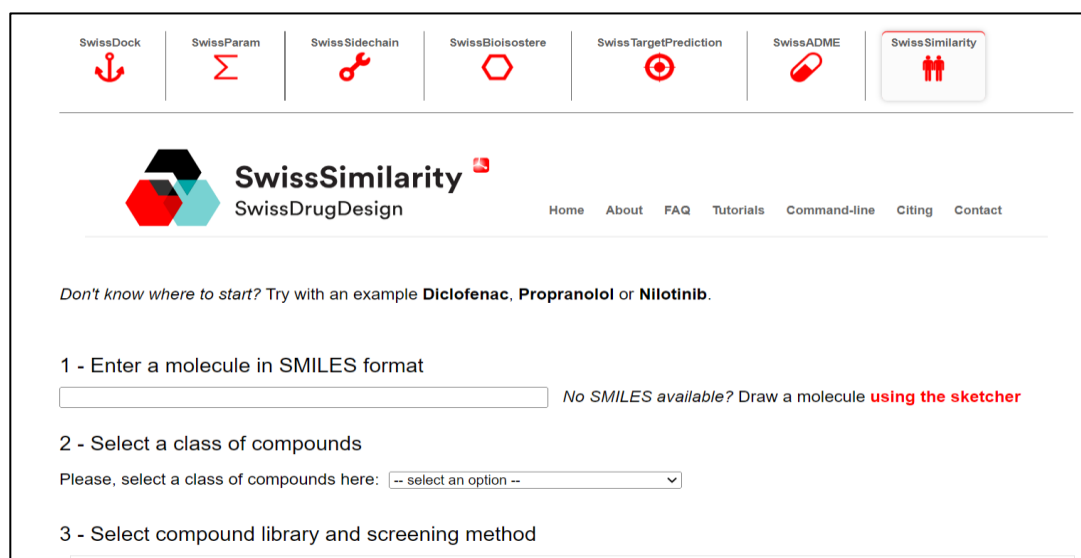


Figure 15 : l'interface de ADMETlab 2.0.

### 1.3.2. SwissADME

L'institut suisse de bio-informatique (SIB) gère SwissADME, un serveur en ligne qui offre des services et des ressources en bio-informatique aux chercheurs. En particulier, il offre une plateforme permettant d'évaluer la règle de cinq de Lipinski concernant la biodisponibilité orale des médicaments (propriétés physicochimiques), les propriétés pharmacocinétiques et la similitude d'un composé avec un médicament (59).



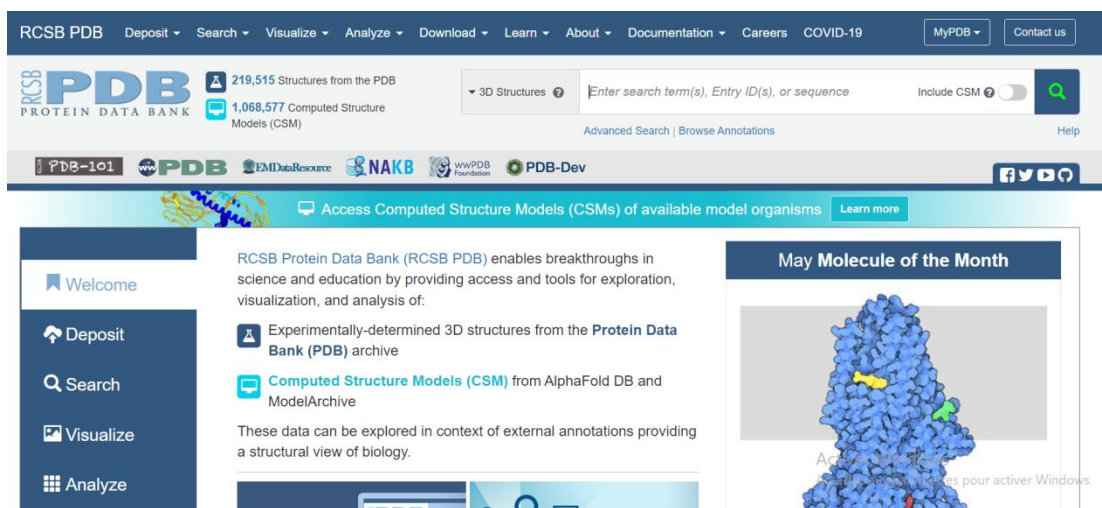
**Figure 16** : l'interface de SwissADME.

## 1.4. Banques de données

### 1.4.1. PDB

La Banque de Données des Protéines (PDB) est une ressource très connue qui conserve et partage des structures tridimensionnelles de macromolécules biologiques, en particulier des protéines. La structure de l'acétylcholinestérase cible choisie pour le docking moléculaire a été analysée à l'aide de la PDB (60).

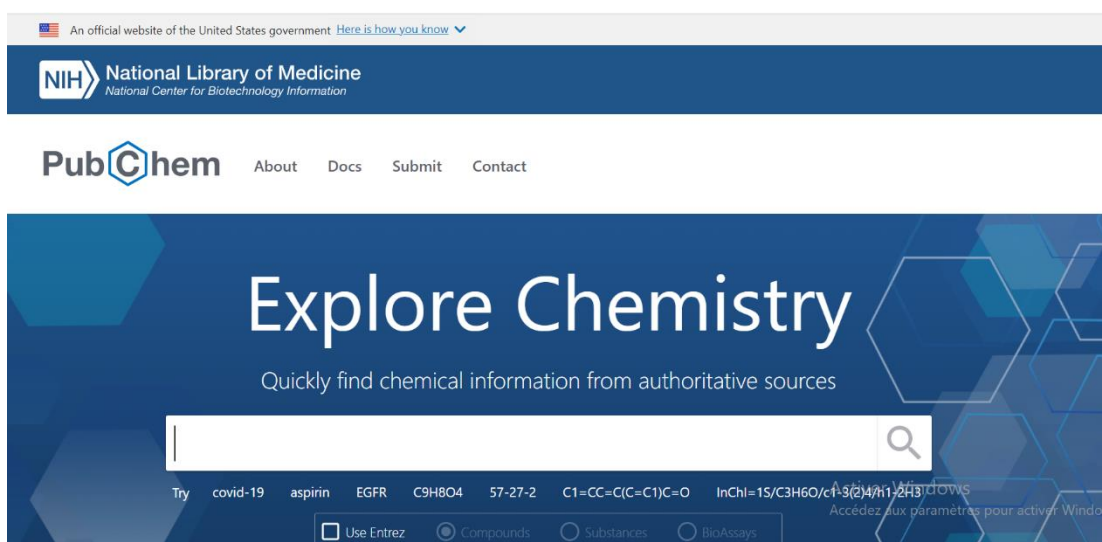




**Figure 17** : l'interface d'accueil du PDB.

## 1.4.2. PubChem

PubChem, une base de données publique et gratuite, Il s'agit d'une chimiothèque qui permet de rechercher et de télécharger les inhibiteurs des similaires de l'Acétylcholinesterase. Les diverses formes tridimensionnelles des modèles offerts par la PubChem peuvent être téléchargées sous la forme. sdf. Par la suite, ces fichiers ont été convertis au format pdb en utilisant le logiciel « Open Babel » (61).



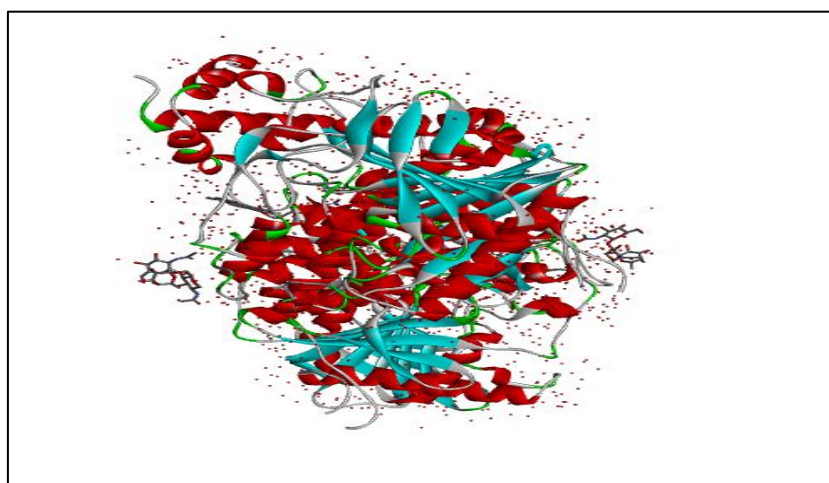
**Figure 18** : Interface d'accueil du Pubchem.

## 2. Méthodes

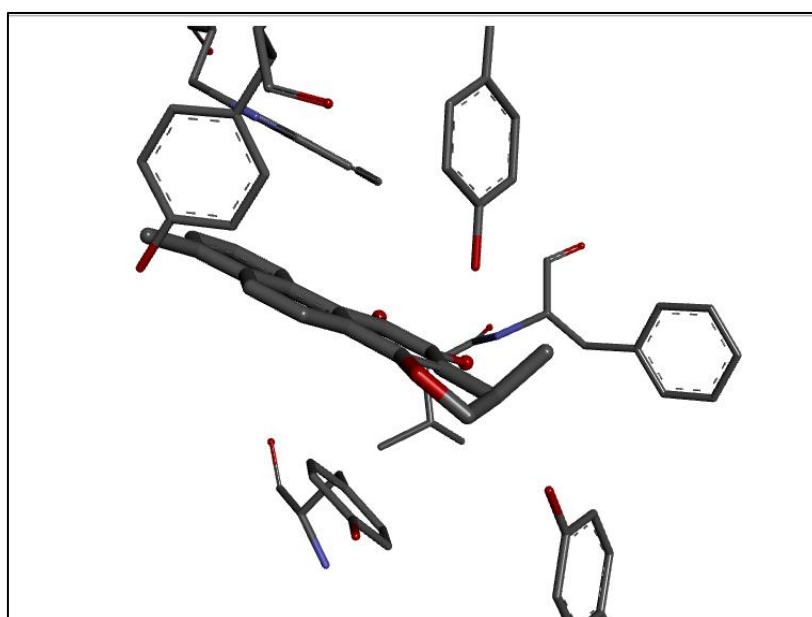
### 2.1. Préparation des molécules pour le Docking moléculaire

#### 2.1.1 Préparation de l'enzyme

Nous avons pu télécharger le complexe ligand-récepteur au format pdb grâce à la banque des données Protein Data Bank. Le complexe ligand-récepteur que nous avons sélectionné présente une résolution de l'acétyl cholinestérase « 2.00 Å » sous le code 4M0E. Cet ensemble comprend deux chaînes (A et B) associées à un inhibiteur (figures 19 et 20).



**Figure 19** : Structure tertiaire du complexe 4M0E.



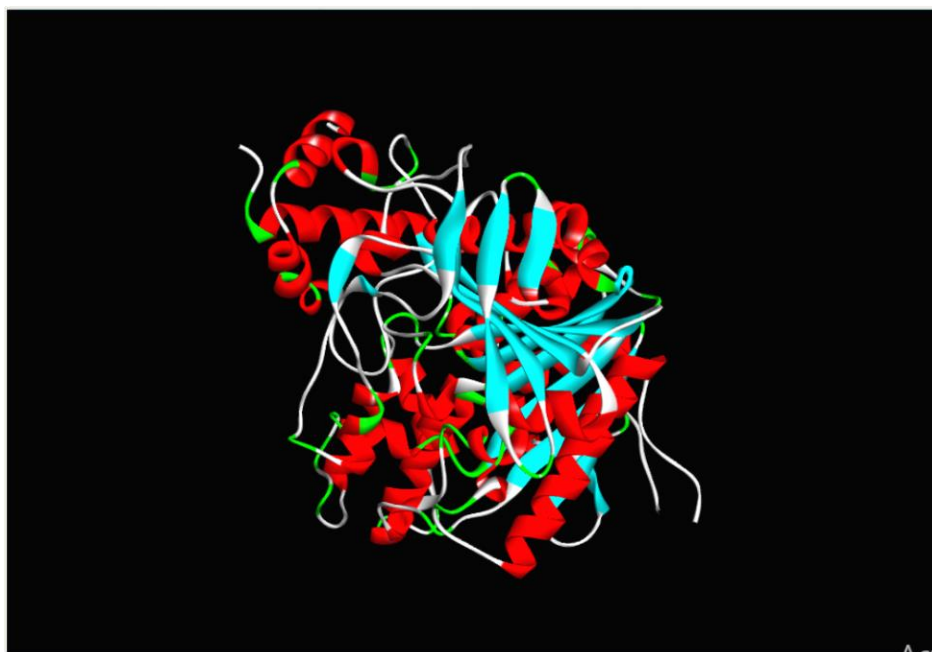
**Figure 20** : Position du ligand 1YL dans le site actif.

Les deux molécules (l'enzyme et le ligand) sont séparées dans des fichiers distincts.

Nous avons utilisé la chaîne A et on élimine la chaîne B.

Les molécules d'eau sont supprimées pour la chaîne A afin de préserver la structure de l'enzyme et de l'enregistrer sous format pdb.

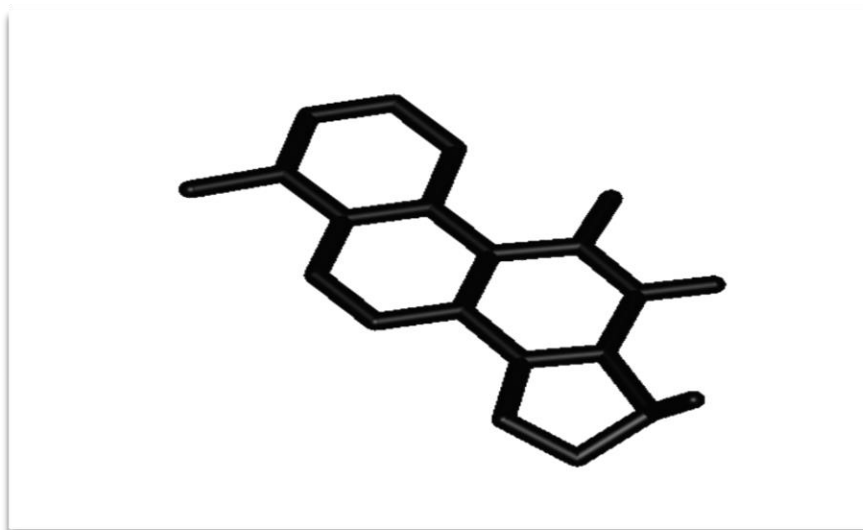
Le programme Surflex-dock exige le format mol2, donc nous avons convertie le format pdb au format mol2 grâce à Open Babel 2.3.0.



**Figure 21** : Structure de la chaîne A du code 4MOE.

### 2.1.2. Préparation de ligand

Les molécules d'eau et tous les autres composants sont également séparés pour le ligand. Ensuite, on les enregistre au format pdb et on les convertit en mol2 en utilisant Open Babel 2.3.0 (figure 22).



**Figure 22** : Structure 3D du ligand 1YL.

## 2.2. Docking avec Surfex

Surflex réalise le docking moléculaire en deux étapes complémentaires :

- **Génération du protomol**

Cette étape est réalisée afin d'identifier le site actif en créant des pseudo-molécules appelées « Protomol ».

On effectue cette étape en utilisant la commande suivante :

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

- **Docking du ligand**

Au début de l'étape du docking, le ligand est préalablement fragmenté. Les fragments obtenus sont assemblés afin de trouver les conformations optimales du ligand dans le site actif de l'enzyme.

Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

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

- **Calcul du RMSD**

Le RMSD est utilisé pour mesurer la distance moyenne entre les atomes des molécules en couches.

Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

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

• **Optimisation du RMSD**

Cette étape est supplémentaire, elle s'effectue par la commande suivante :

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

A la fin, Surflex permet de déterminer 10 positions optimales de chaque ligand dans le site actif étudié, classées en fonction de leur score : Final-0, Final-1.....Final-9.

```

Surflex licensed to SFDock0036 (Gerhard Vergoten, Univ. Lille) for internal use only.
Ligand: 21 atoms
Protomol: 201 atoms
Protein: 4243 atoms
Grid: 22 x 18 x 21 (8316).....[dock_mol:
0.000]Protomol has 197 live features, nt_thresh 294
Protomol has 131 protein-based features
Searching frag 0: Nconfs (raw) 1 [Bumps]
Nconfs 1
Frag 0: @@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@@...Polishing: .....
Times (total 0): search 0 align1 0 merge+chain 0 polish 0
Nconfs (final 54): 3 5 319 349
[ret_conf -7.88] [ret_conf -4.72] [ret_conf -3.15] [ret_conf -1.38] [ret_conf -2.67] [ret_conf -1.76] [ret_conf -4.50] [
ret_conf -5.08] [ret_conf -1.35] [ret_conf -10.27] [ret_conf -8.47] [ret_conf -3.86] [ret_conf -1.27] [ret_conf -5.64] [
ret_conf -0.39] [ret_conf -3.78] [ret_conf -5.96] [ret_conf -0.74] [ret_conf -7.64] [ret_conf -7.47] [ret_conf -14.03] [
ret_conf -6.55] [ret_conf 0.36] [ret_conf -5.35] [ret_conf -4.25] [ret_conf -4.41] [ret_conf -3.45] [ret_conf -0.09] [re
t_conf 0.24] [ret_conf 0.17] [ret_conf -12.25] [ret_conf -2.72] [ret_conf -4.79] [ret_conf -3.99] [ret_conf -4.24] [ret
_conf -6.57] [ret_conf -1.69] [ret_conf -13.88] [ret_conf -7.52] [ret_conf -3.16] [ret_conf -7.05] [ret_conf -0.20] [ret
_conf -6.42] [ret_conf -2.44] [ret_conf -4.91] [ret_conf 0.04] [ret_conf 0.60] [ret_conf -2.88] [ret_conf -4.68] [ret_co
nf -4.72] final-0: 1.63 (crash -1.33 (self 0.00))
final-1: 1.62 (crash -0.39 (self 0.00))
final-2: 1.61 (crash -0.45 (self 0.00))
final-3: 1.44 (crash -0.46 (self 0.00))
final-4: 1.27 (crash -0.23 (self 0.00))
final-5: 0.97 (crash -0.50 (self 0.00))
final-6: 0.95 (crash -0.16 (self 0.00))
final-7: 0.74 (crash -0.12 (self 0.00))
final-8: 0.74 (crash -0.12 (self 0.00))
final-9: 0.71 (crash -0.35 (self 0.00))
    
```

**Figure 23** : Résultat du Docking par Surflex.

**2.3. Visualisation des résultats**

Les ligands ayant une masse moléculaire plus élevée, plus le nombre d'atomes est élevé, plus ils ont la capacité de réaliser un plus grand nombre d'interactions différentes.

Les éléments à prendre en compte lors de la sélection :

- Localisation des composés dans la cavité analysée.
- La manière d'interagir (interactions ioniques, hydrophobes...etc).
- Interaction avec les substances essentielles de la cible.

## 2.4. Interactions entre le ligand et les acides aminés du site actif

Cela revêt une importance capitale car il permet de vérifier et de comparer les résultats du RMSD calculé ainsi que la superposition des molécules. De plus, il permet d'observer et de dénombrer les diverses interactions entre le ligand et les résidus du site actif.

## 2.5. Filtrage ADMET

Chaque médicament doit se conformer à des critères qui contrôlent les caractéristiques d'absorption, de répartition, de métabolisme, d'élimination et de toxicité. Au cours de notre étude le filtrage ADMET a été réalisé en trois étapes en utilisant les serveurs SwissADME et ADMETlab 2.0 :

### 2.5.1. Propriétés physicochimiques

#### ➤ Règle de Lipinski

La règle de 5, selon Lipinski, un composé peut être administré par voie orale si au moins trois de ces cinq critères sont remplis :

- La masse moléculaire doit être  $< 500$ g/mol.
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène ( $\Sigma$  des groupements OH et NH) doit être  $\leq 5$ .
- Le nombre de liaisons hydrogènes acceptées ( $\Sigma$  des atomes P et N) doit être  $\leq 10$ .
- Le nombre de liaisons flexibles doit être  $\leq 15$
- Le logarithme décimal du coefficient de partage 1-octanol/eau, appelé LogP.

se situant entre -2 et 5. Le coefficient de partage reflète la nature hydrophile ou hydrophobe.(62)

#### ➤ Règle de veber

Deux critères supplémentaires proposés par Veber sont fréquemment utilisés en complément de la règle des 5. Cette règle permet aussi de vérifier la disponibilité orale d'un composé par voie orale.

En respectant la règle de Lipinski. Les conditions de ce principe sont :

- La surface polaire de la molécule TPSA  $\leq 140$ Å<sup>2</sup>.

- Nombre de liaisons à libre rotation  $\leq 10$ .(63)

### ➤ Solubilité dans l'eau

Le sang à un caractère hydrophile, et la capacité du candidat-médicament à se dissoudre dans l'eau est l'un des critères les plus cruciaux pour atteindre sa cible (64).

### ➤ Accessibilité à la synthèse :

Afin de déterminer si la synthèse est simple ou complexe. Le serveur SwissADME permet de simuler l'accessibilité à la synthèse chimique en utilisant des valeurs allant de 1 (très simple à synthétiser) à 10 (très difficile à synthétiser) (64).

## 2.5.2 Propriétés pharmacocinétiques

Une molécule efficace doit atteindre sa destination dans le corps avec une concentration adéquate et rester sous une forme bioactive pendant une période adéquate afin de provoquer les événements biologiques attendus. Les barrières buccales, gastriques, intestinales, pulmonaires, hépatiques, rénales, hémato-encéphaliques et de la peau sont les principales. Des méthodes de prédiction innovantes telles que les serveurs SwissADME et ADMETlab 2.0 offrent la possibilité d'évaluer divers critères : La perméabilité hémato-encéphalique et l'absorption gastro-intestinale...etc (64).

### ➤ L'absorption gastro-intestinale

Cette manifestation témoigne de la capacité d'un composé à franchir la barrière gastro-intestinale pour pénétrer dans le sang. De nombreux obstacles doivent être surmontés lors de l'administration de médicaments, tels que l'acidité du système digestif et la production continue de mucus qui assure la protection du tractus gastro-intestinal. Un médicament de qualité doit

être capable de traverser le système digestif (GI) afin d'atteindre sa cible (65).

### ➤ LA BBB perméabilité

La barrière hémato-encéphalique (BBB) assure une protection efficace du système nerveux central contre les agents pathogènes, les toxines et les hormones qui circulent 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 (66).

### **2.5.3. Les tests de toxicité**

Dans notre recherche, nous avons utilisé le serveur web ADMETlab 2.0 pour évaluer le profil de sécurité et simuler les niveaux d'effets toxiques potentiels d'un composé en effectuant plusieurs tests tels que :

#### ➤ **Le test de la cancérogénicité**

Des modèles animaux de rongeurs (rats et souris) sont utilisés pour les études de cancérogénicité. Ces recherches sont cruciales pour déterminer un composé potentiellement nocif pour l'être humain. En réalité, la plupart des agents cancérogènes connues chez l'homme sont également cancérogènes chez ces deux espèces (67).

#### ➤ **Le test de hERG inhibition**

Le gène hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) est le code d'un canal potassique qui génère de la tension, jouant un rôle essentiel dans la création du potentiel d'action du cœur. En cardiologie, le blocage de ce canal peut entraîner des fibrillations qui peuvent entraîner un arrêt cardiaque.



# **Chapitre 5 : Résultats et discussion**

## 1. Tests de fiabilité du programme SURFLEX

Au cours de ce travail, l'étude de l'inhibition de l'acétylcholinestérase par plusieurs molécules a été réalisée en aval. En amont, nous avons évalué la fiabilité du programme Surfex utilisé par la détermination du l'écart quadratique moyen (RMSD) suivie d'une visualisation des complexes formés. La fiabilité du programme Surfex a été évaluée en utilisant les tests suivants :

- RMSD (Root Mean Square Deviation).
- L'examen visuel

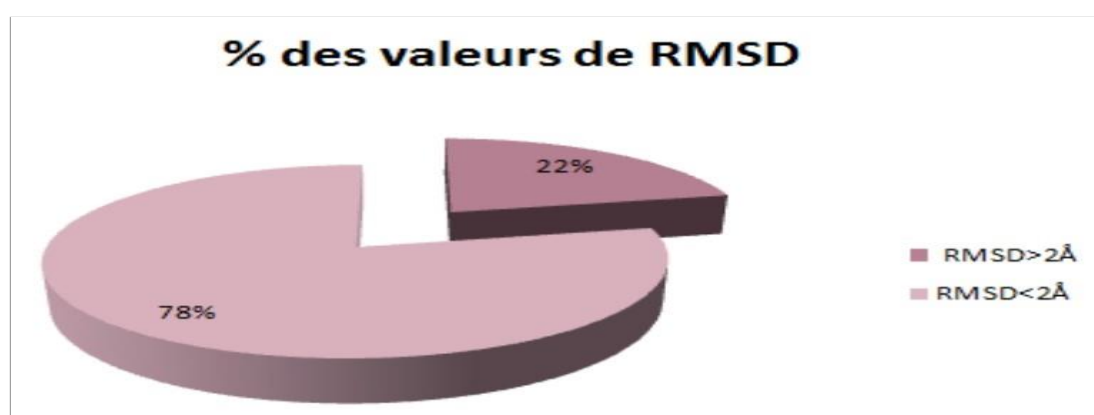
### 1.1. Test RMSD

Habituellement, on évalue la capacité d'un programme à accomplir cette tâche en utilisant la déviation quadratique moyenne ou RMSD de la position du ligand calculée par le logiciel par rapport au ligand de référence présent dans la PDB.

Si la valeur de la prédiction ne dépasse pas 2 angströms, elle est admissible. Le RMSD a été utilisé pour évaluer la fiabilité du programme Surfex en prenant au hasard 100 complexes protéines-ligands de la PDB.

Nous avons téléchargé les complexes au format pdb, puis ils ont été convertis au format mol2 par le programme Open Babel (2.3.0).

Les valeurs du RMSD des 100 complexes étudiés sont présentés dans l'annexe 01.



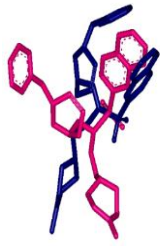

**Figure 24 :** Résultats en pourcentage des valeurs du RMSD obtenus par « Surfex ».

Selon cette figure, il est évident que 78% des valeurs du RMSD calculées sur les 100 complexes protéines-ligands sont inférieures ou égales à 2Å, tandis que seulement 22% sont supérieures à cette valeur. De ce fait, nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Teniou. S en 2012 qui révèle un pourcentage de RMSD inférieur à 2Å égal à 85,8 % pour 134 complexes (68). Cela nous permet de conclure que le logiciel Surflex est un outil de modélisation approprié pour étudier *in silico* l'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase.

### 1.2. L'analyse visuelle

L'analyse visuelle réalisée par Viewerlite 4.2 est la deuxième étape qui nous permet de vérifier la fiabilité du programme de docking moléculaire Surflex. En effet, le test RMSD est une étape cruciale pour confirmer la fiabilité du programme Surflex, il a été réalisé avec les inhibiteurs **JUB** et **1YL** du complexe **6R6W** et **4M0E** respectivement. Les valeurs de RMSD sont de 4,773 Å et 1,603 Å (tableau 2), et se traduit visuellement par une meilleure superposition du deuxième ligand de référence (**1YL**) (couleur rose) avec celui docké (couleur bleu).

**Tableau 2 :** Valeurs de RMSD des 2 complexes étudiés et superpositions des ligands de référence obtenus de la PDB (couleur rose) et le final-0 calculé par Surflex (couleur bleu foncé).

Le code PDB	Le PDB ligand	RMSD (Å)	Figures
<b>6RW</b>	<b>JUB</b>	4,773	
<b>4M0E</b>	<b>1YL</b>	1,603	

Les résultats obtenus à partir de l'analyse du RMSD et de l'évaluation visuelle indiquent que le programme Surflex est fiable et peut être employé sans craindre des erreurs lors de notre travail de docking moléculaire. Cela nous permet de générer par simulation d'autres inhibiteurs de l'enzyme acétylcholinestérase en toute confiance.

## 2. Recherche de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Dans notre étude, nous avons tenté d'introduire de nouveaux inhibiteurs théoriques plus performants contre l'acétylcholinestérase (code **4M0E**) que le ligand de référence **1YL**. Les caractéristiques du complexe 4M0E sont représentées dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Caractéristiques de l'enzyme

<b>Molécule</b>	<b>Acétylcholinestérase</b> (EC : <u>3.1.1.7</u> )
<b>Complexe</b>	4M0E
<b>Organisme</b>	Homo Sapiens
<b>Inhibiteur</b>	1YL
<b>N° de chaîne</b>	A et B
<b>Résolution</b>	2,00 Å

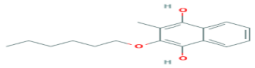
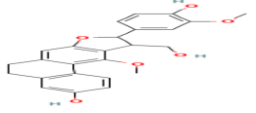
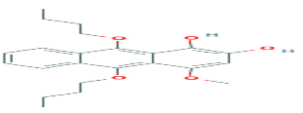
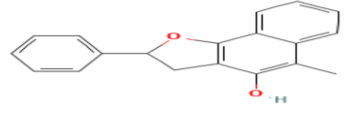
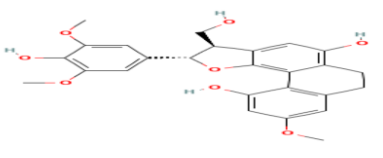
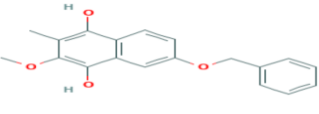
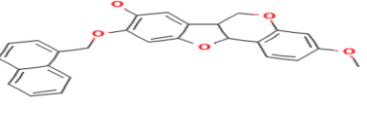
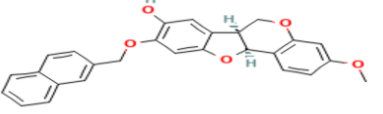
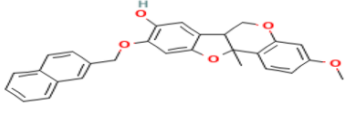
### 2.1. Criblage virtuel des similaires

Les 85 ligands similaires de notre complexe **4M0E** téléchargés de la chimiothèque PubChem ont été analysés virtuellement, montrant une homologie structurale de 92 % avec notre ligand de référence.

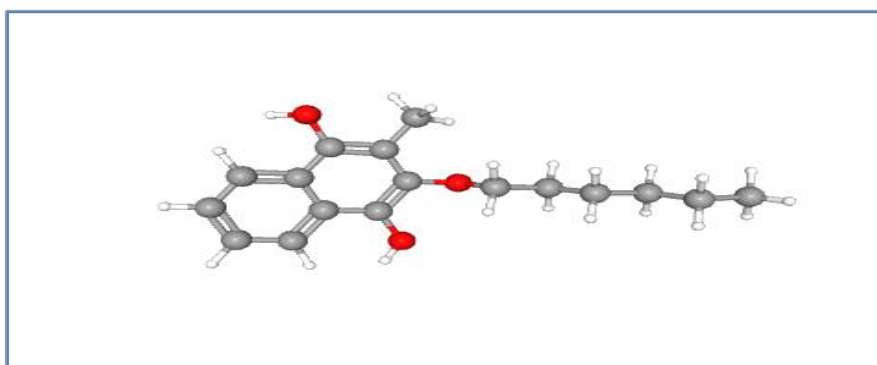
Grâce à l'utilisation du programme Surflex, nous avons réussi à simuler la formation de ces complexes et à évaluer leur affinité. Parmi les 85 similaires qui sont regroupés dans le tableau 2 des annexes, 09 ligands présentent une affinité supérieure à celle de notre ligand de référence (4,52). Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

## RESULTATS ET DISCUSSION

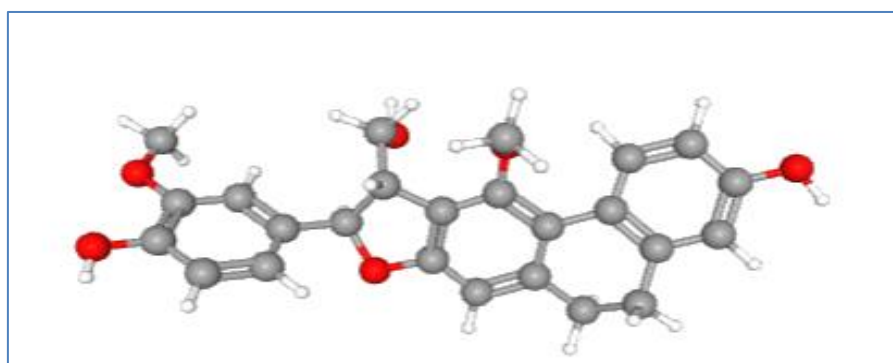
**Tableau 4 :** Les 09 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures.

N	Code CID	Affinités (M <sup>-1</sup> )	Structures
1	19886831	5,62	
2	90833490	5,05	
3	58825741	4,91	
4	71393153	4,89	
5	21589748	4,80	
6	19886652	4,76	
7	454885	4,71	
8	21146920	4,65	
9	49788998	4,55	

A partir des 9 similaires représentés dans le tableau ci-dessus, nous avons sélectionné les deux meilleurs similaires pour la suite de notre travail. A cet effet, les deux composés qui ont montré une meilleure affinité que le ligand de référence vis-à-vis de la chaîne A de l'acétylcholinesterase sont les composé 1 et 2 avec des affinités de 5,62 et 5,05 respectivement. Le composé 1 est le 5'-Demethoxycyrtonesin A et le composé 2 est le 2-Hexoxy-3-methylnaphthalene-1,4-diol (figures 25 et 26).



**Figure 25** : Structure 3D du composé 1

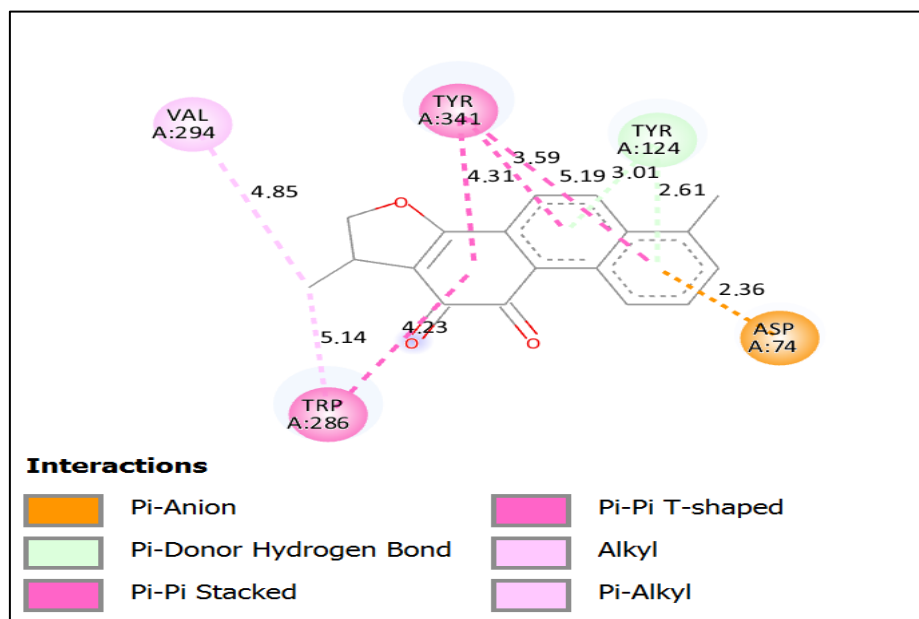


**Figure 26** : Structure 3D du composé 2

## 2.2. Étude des interactions

L'interface graphique "Show 2D" du programme Biovia Discovery Studio a été utilisée afin de visualiser et d'analyser le nombre et le type de liaisons qui composent le complexe.

### 2.2.1. Étude des interactions du ligand 1YL



**Figure 27** : Analyse visuelle du mode d'interaction par Biovia Discovery studio de ligand **1YL** avec les acides aminés de l'acétylcholinestérase en schéma 2D.

Les résultats du docking sont illustrés par le schéma graphique en deux dimensions qui présente des interactions hydrophobes réalisées par les alkyls hydrocarbonés apolaires, qui sont colorés en rose claire. Nous les retrouvons entre :

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides VAL 294 (Distance de 4,85Å) ; TRP 286 (Distance de 5,14Å) formant des interactions ALKYL et Pi-Alkyle.

Des interactions colorées en rose foncé :

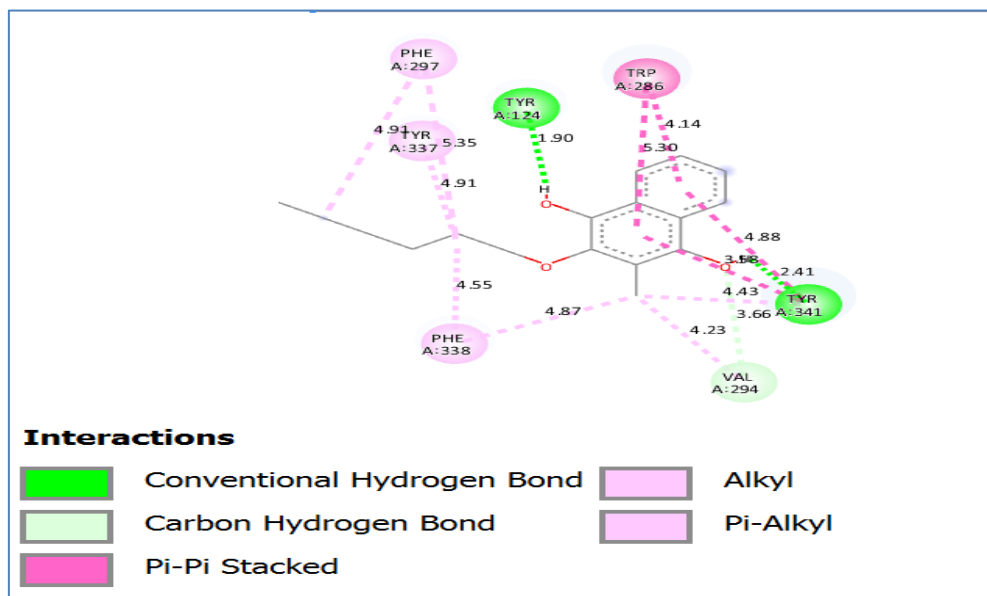
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides TRP 286 (Distance de 4,23Å) ; TYR 341 (Distance de 4,31Å) ; TYR 341 (Distance de 3,59Å) ; TYR 341 (Distance de 5,19Å) formant des interactions hydrophobe nommée Pi-Pi Stacking et Pi-Pi T-shaped.

Des autres interactions en bleu clair :

- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides TYR 124 (Distance de 3,01Å) et TYR 124 (Distance de 2,61Å) formant des interactions hydrogènes nommée Pi-Donor Hydrogen Bond.

Une dernière interaction du type Pi-Anion reliant le cycle du ligand à la charge négative COO<sup>-</sup> d'ASP 74 (Distance de 2,36Å) (figure 27).

### 2.2.2. Étude des interactions du composé 1



**Figure 28** : Analyse visuelle du mode d'interaction par Biovia Discovery studio du composé **1** avec les acides aminés de l'acétylcholinestérase en schéma 2D.

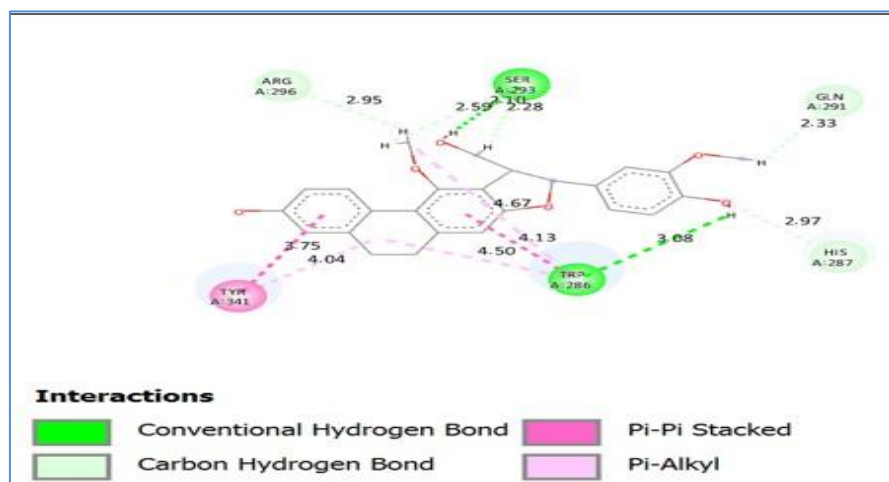
Selon la visualisation des résultats du docking, il est observé que le composé **1** établit plusieurs interactions avec le site actif de l'AChE que nous retrouvons entre :

- Le cycle du ligand et la terminaison formant avec les radicaux des aminoacides TYR 337 (Distance de 4,91Å) ; PHE 297 (Distance de 5,35Å) ; PHE 297 (Distance de 4,91Å) ; PHE 338 (Distance de 4,55Å) et VAL 294 (Distance de 4,23Å) et TYR 341 (Distance de 4,43 Å) colorés en rose claire des interactions nommées Pi-Alkyle et Alkyl.
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides TRP 286 (Distance de 5,30Å) et TRP 286 (Distance de 4,14Å) ; TYR 341 (Distance de 4,88Å) ; TYR 341 (Distance de 3,58Å) colorés en rose foncé formant des interactions hydrophobes nommées Pi-Pi Stacking.
- Le cycle du ligand et la terminaison formant avec les radicaux des aminoacides TYR 141 (Distance de 1,90Å) ; TYR 341 (Distance de 2,41Å) colorés en vert des liaisons hydrogènes conventionnelles.



- Le cycle du ligand et la terminaison formant avec le radical de l'acide aminé VAL 294 (Distance de 3,66Å) formant des interactions nommées des liaisons carbone-hydrogène colorée en bleu clair (figure 28).

### 2.2.3. Étude des interactions du composé 2



**Figure 29** : Analyse visuelle du mode d'interaction par Biovia Discovery studio du composé **2** avec les acides aminés de l'Acétylcholinestérase en schéma 2D.

Selon la visualisation des résultats du docking, il est observé que le composé **2** établit plusieurs interactions avec le site actif de l'AChE que nous retrouvons entre :

- Le cycle du ligand formant avec les radicaux des aminoacides TYR 341 (Distance de 4,04Å) ; TRP 286 (Distance de 4,50Å) ; TRP 286 (Distance de 4,67Å) colorés en rose claire des interactions nommées Pi-Alkyl.
- Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides TYR 341 (Distance de 3,75 Å) et TRP 286 (Distance de 4,13Å) colorés en rose foncé formant des interactions hydrophobes nommées Pi-Pi Stacking.

Des interactions colorées en vert foncé :

- Les cycle du ligand formant des liaisons hydrogènes conventionnelles avec les radicaux des aminoacides SER 293 (Distance de 2,10Å) et TRP 286 (Distance de 3,08Å).

D'autres interactions :

Les cycles du ligand et les radicaux des aminoacides ARG 296 (Distance de 2,95Å) ; SER 293 (Distance de 2,59 Å) ; SER 293 (Distance de 2,28 Å) ; GLN 291

(Distance de 2,33 Å) et HIS 287 (Distance de 2,97Å) colorés en vert clair formant des interactions nommées des liaisons carbone-hydrogène (figure 29).

Il est à souligner que ni le ligand, ni les deux composés n'ont formé des interactions avec la triade catalytique de l'AChE, c'est-à-dire avec les trois résidus Glu334, His 467 et Ser 203. Ces résultats sont en accord avec ceux de Meraihia A.D et Zermane C en 2020, qui ont travaillé sur la même enzyme mais en utilisant le logiciel AutoDock.(69)

### 3. Filtrage ADMET

En plus de présenter une activité élevée envers la cible, un candidat médicament efficace doit également exhiber des propriétés ADMET qui sont adaptées à une utilisation biologique. C'est pourquoi, il était essentiel de compléter cette étude en utilisant la méthode de filtrage ADMET, afin de nous fournir des informations sur les caractéristiques physicochimiques, pharmacocinétiques et la toxicité potentielle (ADMET) des molécules proposées. Cela nous permettrait de déterminer si les composés **1** et **2** peuvent être utilisés comme médicaments en utilisant le serveur « SwissADME et ADMETlab 2.0».

**Tableau 5** : Le profil ADMET des deux composés.

Propriétés ADMET	Ligand de référence 1YL	Composé 1	Composé 2
<b>Formule</b>	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>
<b>PM (g/mol)</b>	280.110g/mol	274,35g/mol	420,45g/mol
<b>Solubilité</b>	Modérément soluble	Modérément soluble	Modérément soluble
<b>Accepteur de H</b>	3	3	6
<b>Donneur de H</b>	2	2	3
<b>Liaisons flexibles</b>	0	6	4
<b>Log p</b>	5.110	5.069	4,398
<b>Règle de Lipinski</b>	Accepté	Acceptée	Acceptée
<b>TPSA</b>	49.690	49,69	88,38
<b>Règle de veber</b>	Valide	Valide	Valide
<b>Accessibilité à la synthèse</b>	2,95	2,44	4,55
<b>GI absorption</b>	Elevé	Elevé	Elevé
<b>BBB perméabilité</b>	Positive	Positive	Négative
<b>Cancérogénicité</b>	Positive	Négative	Négative
<b>Test hERG</b>	Négatif	Négatif	Négatif

**PM** : poids moléculaire, **Log P** : coefficient de partage du composé Eau/octanol, **TPSA** : surface totale polaire, **GI absorption** : absorption gastro intestinale, **BBB** : **pénétration** : pénétration de la barrière hémato-encéphalique.

Le tableau ci-dessus montre que le ligand ainsi que les deux composés répondent aux règles de Lipinski et de Veber ; ce qui indique que ces composés peuvent être administré par voie orale sans poser de problèmes. Néanmoins, nous avons noté une solubilité modérée des deux composés dans l'eau ainsi qu'un LogP relativement élevé ; ce qui dénote du caractère moyennement hydrophobe des deux composés. L'accessibilité à la synthèse du composé **1** est de 2,44 donc plus facile à synthétiser que le composé **2** qui a présenté une accessibilité à la synthèse de 4,55 ce qui veut dire qu'il est moyennement facile à synthétiser. Nous avons également noté que l'absorption gastro-intestinale (GI absorption) est élevée pour les deux composés ce que signifie que ces derniers sont capables de traverser le système digestif afin d'atteindre leurs cibles. Au cours de ce travail un autre critère très important a été évalué ; il s'agit de la pénétration de la barrière hémato-encéphalique ou BBB pénétration surtout pour les composés dont la cible est localisée dans le système nerveux central. Les résultats montrent que la BBB pénétration est négative pour le composé **2** tandis qu'elle est positive pour le composé **1** et le ligand de référence, de ce fait, ces derniers pénètrent le cerveau pour réagir sur cet organe cible. Concernant la toxicité, le tableau 5 montre que le test hERG est négative pour le ligand de référence et les deux composés, par conséquent, ces derniers ne provoquent pas des effets secondaires cardiaques et montre que la cancérogénécité est positive pour le ligand de référence et négative pour le composé **1** et **2** ce que signifie que ces deux composés sont non cancérogènes.

En conclusion, le composé **1** a été choisi comme nouvel inhibiteur potentiel de l'AChE, présentant une affinité et un profil ADMET meilleur que celui du composé **2** et du ligand de référence. Toutefois, nous devons compléter ces résultats théoriques par des tests expérimentaux pour que cette molécule devienne un candidat médicament.

**« Conclusion et perspectives »**

## Conclusion

Notre travail de master avait pour objectif principal de présenter de nouveaux inhibiteurs de la cible enzymatique l'acétylcholinestérase qui pourraient être utilisés pour traiter la maladie d'Alzheimer. Nous avons utilisé une méthode *in silico* de docking moléculaire en utilisant le programme Surflex.

De prime abord, nous avons tenté de vérifier si ce programme est capable de prédire l'emplacement exact d'un ligand au niveau de son récepteur. Dans cette situation, nous avons utilisé le test du RMSD (Root Mean Square Deviation) afin d'évaluer la différence entre la géométrie du ligand simulée par Surflex et sa conformation de référence présente dans la PDB. Parmi les 100 complexes sélectionnés de manière arbitraire de la PDB, 78 % ont montré un RMSD inférieur à 2 Å. La superposition des ligands ayant des valeurs de RMSD inférieures à 2 Å est bonne selon l'analyse visuelle, tandis que la superposition devient mauvaise pour des valeurs de RMSD supérieures à 2 Å. De ce fait, ce test démontre que le logiciel Surflex est extrêmement efficace et peut être utilisé avec certitude pour simuler les interactions entre les inhibiteurs de l'ACHé.

Afin d'évaluer leur affinité envers l'ACHé, 85 structures ayant un taux de similarité de 92% à notre ligand de référence **1YL** ont été téléchargées de la chimiothèque « Pubchem » pour chercher de nouveaux inhibiteurs théoriques de l'ACHé plus efficaces que notre ligand de référence **1YL**. Parmi les 85 composés, 09 ont montré des affinités plus élevées que notre ligand.

Grâce aux résultats du criblage virtuel, On a trouvé 2 composés avec une bonne affinité qui sont les composés **1** et **2**, qui peuvent être considérés comme des inhibiteurs efficaces de notre cible enzymatique. Nous avons également effectué une analyse approfondie des différentes interactions qui interviennent : les liaisons carbone-hydrogène, le Pi-Alkyl et le Pi-Pi Stacking et les liaisons hydrogènes conventionnelles. Ces mêmes inhibiteurs inhibent l'ACHé avec une affinité de  $5,62 \text{ M}^{-1}$  et  $5,05 \text{ M}^{-1}$ , des valeurs bien supérieures à celle du ligand de référence, qui est de  $4,52 \text{ M}^{-1}$ . Ils remplissent tous les critères de la règle de cinq de Lipinski, ce qui confirme la biodisponibilité orale. Grâce au critère pharmacocinétique « BBB

pénétration », nous avons déduit que le composé 1 est un bien meilleur candidat que le composé 2.

Enfin, l'étude *in silico* portant sur l'évaluation des différentes propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité a montré que le composé 1 possède un bon profil ADMET,

Particulièrement une bonne absorption gastro-intestinale, une BBB perméabilité élevée et une toxicité basse et des effets secondaires cardiaques faibles.

Étant donné que notre étude ici n'est qu'à l'état initial, nous pourrions effectuer une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* pour confirmer nos résultats théoriques et vérifier l'efficacité de notre approche *in silico*.

# **Références Bibliographiques**



1. Folliot C. La maladie d'Alzheimer au fil des siècles. 2021 [cité 25 Mai 2024]; Disponible sur: [https://www.revuebiologiemedicale.fr/images/Biologie\\_et\\_histoire/RBM363\\_BIO-HIST\\_ALZHEIMER.pdf](https://www.revuebiologiemedicale.fr/images/Biologie_et_histoire/RBM363_BIO-HIST_ALZHEIMER.pdf)
2. livre\_vert\_-alzheimer\_2006.pdf [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: [https://op17.fr/wp-content/uploads/2012/04/livre\\_vert\\_-alzheimer\\_2006.pdf](https://op17.fr/wp-content/uploads/2012/04/livre_vert_-alzheimer_2006.pdf)
3. Escourolle F, Hauw JJ, Duyckaerts C. Neuropathologie du vieillissement cérébral. *Gérontologie Société*. 2001;2497(2):19-31.
4. Gustafson L. Physostigmine and tetrahydroaminoacridine treatment of Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl*. 1993;149(Rand):39-41.
5. Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase bêta par criblage virtuel et RMN [Internet] [PhD Thesis]. Toulouse 3; 2008 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2008TOU30082>
6. Folliot C. La maladie d'Alzheimer au fil des siècles. *Rev Biol MédicaleN* [Internet]. 2021 [cité 25 mai 2024];363(59). Disponible sur: [https://www.revuebiologiemedicale.fr/images/Biologie\\_et\\_histoire/RBM363\\_BIO-HIST\\_ALZHEIMER.pdf](https://www.revuebiologiemedicale.fr/images/Biologie_et_histoire/RBM363_BIO-HIST_ALZHEIMER.pdf)
7. Atri A. The Alzheimer's disease clinical spectrum: diagnosis and management. *Med Clin*. 2019;103(2):263-93.
8. Šerý O, Povová J, Míšek I, Pešák L, Janout V. Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. *Folia Neuropathol*. 2013;51(1):1-9.
9. Fabiani-Salmon JN, Bercovici P. L'incroyable histoire de la médecine. les Arènes BD; 2022.
10. Hippus H, Neundörfer G. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 31 mars 2003;5(1):101-8.
11. Graeber MB, Kösel S, Egensperger R, Banati RB, Müller U, Bise K, et al. Rediscovery of the case described by Alois Alzheimer in 1911: historical, histological and molecular genetic analysis. *neurogenetics*. 1 mai 1997;1(1):73-80.
12. Fan X, Markram H. A brief history of simulation neuroscience. *Front Neuroinformatics*. 2019;13:32.
13. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;120(3):885-90.
14. Brion JP, Couck AM, Passareiro E, Flament-Durand J. Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. *J Submicrosc Cytol*. 1985;17(1):89-96.
15. Alzheimer's Association [Internet]. [Cité le 25 mai 2024]. 10 symptômes d'Alzheimer | France. Disponible sur: [//www.alz.org/fr/10-signes-et-symptomes-d-alzheimer.asp](http://www.alz.org/fr/10-signes-et-symptomes-d-alzheimer.asp)

16. Stades et évolution de la maladie d'Alzheimer - Recherche Alzheimer [Internet]. Fondation Recherche Alzheimer. [Cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://alzheimer-recherche.org/la-maladie-alzheimer/quest-maladie-dalzheimer/evolution-de-maladie/>
17. Quels sont les facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer? [Internet]. Eugeria. 2019 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://info.eugeria.ca/quels-sont-les-facteurs-de-risque-de-la-maladie-dalzheimer/>
18. Maladie d'Alzheimer : 6 facteurs qui augmentent les risques [Internet]. [Cité le 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sante/questions-reponses/maladie-alzheimer-maladie-alzheimer-6-facteurs-augmentent-risques-15238/>
19. Diagnostic de la maladie d'Alzheimer [Internet]. Fondation Recherche Alzheimer. [cité le 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://alzheimer-recherche.org/la-maladie-alzheimer/symptomes-et-diagnostic/diagnostic/>
20. Les traitements de la maladie d'Alzheimer. Vaincre Alzheimer [Internet]. Fondation Vaincre Alzheimer. [Cité le 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://www.vaincrealzheimer.org/la-maladie/traitements/>
21. Amieva H, Robert PH, Grandoulier AS, Meillon C, De Rotrou J, Andrieu S, et al. Group and individual cognitive therapies in Alzheimer's disease: the ETNA3 randomized trial. *Int Psychogeriatr.* 2016;28(5):707-17.
22. Sanson B. La dynamique structurale de l'acétylcholinestérase: étude réalisée par cristallographie aux rayons X et une méthode spectroscopique complémentaire. [Internet] [PhD Thesis]. Université Joseph-Fourier-Grenoble I; 2009 [cité le 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-00873140/>
23. Lauwerys R, Haufroid V, Hoet P, Lison D. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 2007 [cité 25 Mai 2024]; Disponible sur: <https://dial.uclouvain.be/pr/boreal/object/boreal:201740>
24. Schumacher M, Camp S, Maulet Y, Newton M, MacPhee-Quigley K, Taylor SS, et al. Primary structure of *Torpedo californica* acetylcholinesterase deduced from its cDNA sequence. *Nature.* 1986;319(6052):407-9.
25. Soreq H, Ben-Aziz R, Prody CA, Seidman S, Gnatt A, Neville L, et al. Molecular cloning and construction of the coding region for human acetylcholinesterase reveals a G + C-rich attenuating structure. *Proc Natl Acad Sci.* déc 1990;87(24):9688-92.
26. Sussman JL, Harel M, Frolow F, Oefner C, Goldman A, Toker L, et al. Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo californica* : A Prototypic Acetylcholine-Binding Protein. *Science.* 23 août 1991;253(5022):872-9.
27. Ollis DL, Cheah E, Cygler M, Dijkstra B, Frolow F, Franken SM, et al. The  $\alpha/\beta$  hydrolase fold. *Protein Eng Des Sel.* 1992;5(3):197-211.
28. Barnard EA. Neuromuscular Transmission—Enzymatic Destruction of Acetylcholine. In: Hubbard JJ, éditeur. *The Peripheral Nervous System* [Internet]. Boston, MA: Springer US;

- 1974 [cité 25 Mai 2024]. p. 201-24. Disponible sur: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-8699-9\\_9](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-8699-9_9)
29. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*. 1994;344(8924):721-4.
  30. Colletier JP. Etude des relations structure-dynamique-fonction au sein de l'acétylcholinestérase [Internet] [PhD Thesis]. Université Joseph-Fourier-Grenoble I; 2006 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-00263679/>
  31. Dougherty DA. Cation- $\pi$  Interactions in Chemistry and Biology: A New View of Benzene, Phe, Tyr, and Trp. *Science*. 12 janv 1996;271(5246):163-8.
  32. Quinn DM. Acetylcholinestérase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chem Rev*. 1 oct 1987;87(5):955-79.
  33. Taylor P, Radic Z. The Cholinestérases: From Genes to Proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. avr 1994;34(1):281-320.
  34. Silman I, Sussman JL. Acetylcholinestérase: 'classical' and 'non-classical' functions and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol*. 2005;5(3):293-302.
  35. Société Alzheimer du Canada [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Société Alzheimer du Canada. Disponible sur: <https://alzheimer.ca/fr/home>
  36. del Monte-Millán M, García-Palomero E, Valenzuela R, Usán P, de Austria C, Muñoz-Ruiz P, et al. Dual binding site acetylcholinestérase inhibitors: potential new disease-modifying agents for AD. *J Mol Neurosci MN*. 2006;30(1-2):85-8.
  37. Sramek JJ, Frackiewicz EJ, Cutler NR. Review of the acetylcholinestérase inhibitor galanthamine. *Expert Opin Investig Drugs*. oct 2000;9(10):2393-402.
  38. Camps P, Muñoz-Torrero D. Cholinergic drugs in pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *Mini Rev Med Chem*. 2002;2(1):11-25.
  39. Greenblatt HM, Dvir H, Silman I, Sussman JL. Acetylcholinestérase: A Multifaceted Target for Structure-Based Drug Design of Anticholinestérase Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J Mol Neurosci*. 2003;20(3):369-84.
  40. Polinsky RJ. Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinestérase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Clin Ther*. 1998;20(4):634-47.
  41. Perola E, Cellai L, Lamba D, Filocamo L, Brufani M. Long chain analogs of physostigmine as potential drugs for Alzheimer's disease: new insights into the mechanism of action in the inhibition of acetylcholinestérase. *Biochim Biophys Acta BBA-Protein Struct Mol Enzymol*. 1997;1343(1):41-50.
  42. Heutte D. Coup de cœur RECHERCHE : le docking moléculaire [Internet]. EBI. 2024 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://www.ebi-edu.com/coup-de-coeur-recherche-3/>

43. Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives [PhD Thesis]. PhD thesis, Université Joseph Fourier Grenoble 1, France; 2007.
44. Boucherit H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Mém Magistère En Biol Cell Moléculaire Univ Mentouri Constantine Algér 110p. 2012;
45. Définition | Récepteur [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-recepteur-243/>
46. Martin L. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif: une application sur la protéine kinase FAK [Internet] [PhD Thesis]. Montpellier 2; 2006 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2006MON20219>
47. Mokrani EH, Bensegueni A. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. [Internet] [PhD Thesis]. Université Frères Mentouri-Constantine 1; 2012 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <http://41.111.178.106/handle/123456789/4245>
48. Shibata D, Slusarenko A, Casey R, Hildebrand D, Bell E. Lipoxygenases. *Plant Mol Biol Report*. 1994;12:S41-2.
49. Monge A. Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche «in silico» de nouveaux composés bioactifs. [Internet] [PhD Thesis]. Université d'Orléans; 2006 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-00122995/>
50. Merzoug A, Chikhi A, Bensegueni A, Boucherit H, Okay S. Virtual Screening Approach of Bacterial Peptide Deformylase Inhibitors Results in New Antibiotics. *Mol Inform*. mars 2018;37(3):1700087.
51. Sousa SF, Fernandes PA, Ramos MJ. Protein–ligand docking: Current status and future challenges. *Proteins Struct Funct Bioinforma*. oct 2006;65(1):15-26.
52. Thiriot E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques: Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des Méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A [Internet] [PhD Thesis]. Université Henri Poincaré-Nancy 1; 2009 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748459>
53. Jain AN. Surflex: fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *J Med Chem*. 2003;46(4):499-511.
54. Miteva MA, Lee WH, Montes MO, Villoutreix BO. Fast Structure-Based Virtual Ligand Screening Combining FRED, DOCK, and Surflex. *J Med Chem*. 1 sept 2005;48(19):6012-22.
55. Babel O. Open Babel: The Open Source Chemistry Toolbox. *Main\_Page*; 2011.
56. ViewerLite 4.2 [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://viewerlite.updatestar.com/fr>

57. Free Download: BIOVIA Discovery Studio Visualizer - Dassault Systèmes [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>
58. ADMETlab 2.0 [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://admetmesh.scbdd.com/>
59. SwissADME [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <http://www.swissadme.ch/>
60. Burley SK, Berman HM, Kleywegt GJ, Markley JL, Nakamura H, Velankar S. Protein Data Bank (PDB): The Single Global Macromolecular Structure Archive. In: Wlodawer A, Dauter Z, Jaskolski M, éditeurs. Protein Crystallography [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2017 [cité 25 Mai 2024]. p. 627-41. (Methods in Molecular Biology; vol. 1607). Disponible sur: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-7000-1\\_26](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-7000-1_26)
61. PubChem. PubChem [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
62. Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase–Substances antibactériennes a l'aide de techniques de "docking"(arrimage) moléculaire [PhD Thesis]. Thèse de doctorat d'université: Biochimie appliquée. Constantine: Université ...; 2007.
63. Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J Med Chem.* 1 juin 2002;45(12):2615-23.
64. cours\_docking-MOKRANI.pdf [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: [https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2020/cours\\_docking-MOKRANI.pdf](https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2020/cours_docking-MOKRANI.pdf)
65. Ensign LM, Cone R, Hanes J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(6):557-70.
66. Wohlfart S, Gelperina S, Kreuter J. Transport of drugs across the blood–brain barrier by nanoparticles. *J Controlled Release.* 2012;161(2):264-73.
67. Boorman GA, Maronpot RR, Eustis SL. Rodent Carcinogenicity Bioassay: Past, Present, and Future. *Toxicol Pathol.* mars 1994;22(2):105-11.
68. Teniou S, Bensegueni A. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. [Internet] [PhD Thesis]. Université Frères Mentouri-Constantine 1; 2012 [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <http://41.111.178.106/handle/123456789/4247>
69. Meraihia A.D et Zermane C en 2020 - Recherche Google [Internet]. [cité 25 Mai 2024]. Disponible sur: <https://www.google.com/search?hl=fr&q=Meraihia+A.D++et+Zermane+C+en+2020+>

**« Annexe »**



**Annexe 1 : Tableau RMSD de 100 complexes Protéine-ligand**

<b>N°</b>	<b>Code PDB du complexe</b>	<b>Code PDB du ligand</b>	<b>Valeur de RMSD (Å°)</b>
01	1MX1	THA	5,931
02	2FY3	CHT	0,607
03	2ZB2	A46	0,966
04	4B0O	15F	5,592
05	4B0P	MF5	0,913
06	4BDS	THA	0,207
07	4BDT	HUW	0,082
08	4EY4	NAG	1,532
09	4EY5	HUP	1,289
10	4E6	GNT	0,080
11	4EY7	E20	0,425
12	4M0F	1YK	1,215
13	4PQN	2W6	1,573
14	4TPK	3F9	1,439
15	441	3C8	1,199
16	4XII	40V	1,674
17	5DYW	5HF	1,95
18	5H8X	5XT	0,605
19	5HF9	HI6	1,245



20	5LKR	6YC	1,661
21	5NN0	92H	1,462
22	5W6O	9X1	1,009
23	6CQU	HI6	1,219
24	6CQV	HI6	0,257
25	6CQW	HI6	3,035
26	6CQY	HI6	1,250
27	6DE4	G6Y	1,883
28	6EP4	DME	1,074
29	6EQP	BUW	1,659
30	6ESY	TFX	2,021
31	6I0B	9A5	1,302
32	6O4W	E20	2,251
33	6OR	LND	0,959
34	6O5S	LND	1,601
35	6O5V	LND	1,672
36	6O50	EBW	1,242
37	6O52	EBW	0,991
38	6QAA	HUN	1,457
39	6QAB	HUQ	1,800
40	6QAD	HUZ	1,394
41	6QAE	HUK	1,391
42	6R6V	JU5	1,302
43	6R6W	JUB	4,773

44	6SAM	L34	3,930
45	6U3P	PQY	1,431
46	6U34	PQV	0,594
47	6WUV	NAG	1,111
48	6XTA	O0Z	1,353
49	7E3D	PE8	0,935
50	7E3H	E20	0,239
51	8DT4	3VI	0,394
52	3LII	SO4	10,855
53	2X86	SXM	1,038
54	7D9O	H0L	0,806
55	4EY8	NAG	1,166
56	4MOE	1YL	2,00
57	1B41	NAG	0,363
58	7RB6	NWA	0,754
59	6NTO	7PE	1,289
60	6O66	LND	1,525
61	5HF6	NAG	1,027
62	6WUY	HI6	1,893
63	7RB7	3VI	0,043
64	6WVC	7PE	1,436
65	7RB5	NWA	1,382
66	5HQ3	MES	2,143
67	5HF5	PE8	1,413

68	5HF8	NAG	0,354
69	5HFA	NAG	1,589
70	6F25	CVZ	1,316
71	8DT7	3VI	1,108
72	6WVO	PE8	1,435
73	8DT5	LND	1,668
74	6H18	ZN	0,394
75	6NTG	HI6	1,405
76	6NEA	HLO	1,173
77	8DT2	DEP	0,818
78	7AMZ	RNZ	1,725
79	7D9P	H0R	0,249
80	60YX	AA	0,626
81	7XN1	PE8	1,399
82	6U37	PQV	1,338
83	6ZWE	QRH	2,892
84	7BO4	A87	1,540
85	7BO3	SIA	1,426
86	7AWI	S78	1,527
87	7AWH	S8K	1,916
88	8CGO	XB8	1,669
89	7AWG	S6Q	1,923
90	7D9Q	H1R	1,253
91	8AI7	M8K	1,666

<b>92</b>	8AM1	LWL	1,341
<b>93</b>	8AM2	N0C	1,887
<b>94</b>	7VQG	HEM	0,378
<b>95</b>	5I1C	MES	2,070
<b>96</b>	1JVQ	NAG	0,405
<b>97</b>	8PX8	I0U	1,166
<b>98</b>	6K05	CQF	2,042
<b>99</b>	6W7S	MES	0,598
<b>100</b>	8T5G	THA	0,639

**Annexe 2 : Tableau des 85 similaires issu de la pubchem.**

<b>Numéro</b>	<b>Code CID</b>	<b>L'affinité</b>
01	11454109	1,79
02	76316033	4,19
03	101631691	2,14
04	454885	4,71
05	468915	4,51
06	468916	3,21
07	21589748	4,80
08	162898484	2,87
09	454886	2,91
10	71737846	4,52
11	90833490	5,05
12	101103387	3,33
13	129892404	3,69
14	134873832	2,58
15	135045854	1,65
16	168011857	-37,92
17	14415885	3,07

<b>18</b>	162898483	2,87
<b>19</b>	10489626	3,28
<b>20</b>	10822591	3,65
<b>21</b>	19872831	3,02
<b>22</b>	19873084	3,15
<b>23</b>	19873133	4,11
<b>24</b>	19873136	3,15
<b>25</b>	19886564	2,88
<b>26</b>	19886581	3,46
<b>27</b>	19886615	3,26
<b>28</b>	19886648	3,47
<b>29</b>	19886652	4,76
<b>30</b>	19886711	3,96
<b>31</b>	19886714	3,13
<b>32</b>	19886722	3,93
<b>33</b>	19886737	4,25
<b>34</b>	19886743	2,23
<b>35</b>	19886754	3,68
<b>36</b>	19886770	3,92
<b>37</b>	19886805	3,38
<b>38</b>	19886831	5,62
<b>39</b>	19886905	3,83

40	19886912	4,33
41	19886919	3,78
42	21284398	4,48
43	57315337	4,13
44	58825741	4,91
45	6765551	2,97
46	71167409	2,40
47	90427900	3,63
48	91341355	1,13
49	118629500	3,45
50	140144374	3,68
51	141154843	3,95
52	141154484	4,23
53	141896051	4,51
54	146318987	3,18
55	154453186	3,45
56	163406321	-9,98
57	163839595	-67,14
58	163987158	-74,26
59	163999598	-38,66
60	164021934	-91,34
61	164056760	-28,52

<b>62</b>	164141590	-130,61
<b>63</b>	165082121	-56,31
<b>64</b>	166799468	-46,77
<b>65</b>	9954189	3,99
<b>66</b>	10248948	2,96
<b>67</b>	21146920	4,65
<b>68</b>	46947494	3,25
<b>69</b>	49788997	3,32
<b>70</b>	49788998	4,55
<b>71</b>	71356689	3,82
<b>72</b>	71393153	4,89
<b>73</b>	72967684	2,05
<b>74</b>	76072213	2,19
<b>75</b>	101924674	2,39
<b>76</b>	102144133	1,91
<b>77</b>	102144134	1,56
<b>78</b>	163043134	3,61
<b>79</b>	163043135	2,57
<b>80</b>	169864209	-25,42
<b>81</b>	170275847	-99,59
<b>82</b>	170279062	-36,76
<b>83</b>	170279109	-38,92



<b>84</b>	170279273	-37,75
<b>85</b>	170280999	-50,77

## **Résumés**

## Résumé

Notre travail, s'inscrit dans le cadre de la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Le logiciel de docking moléculaire Surflex permet de simuler les interactions entre une cible enzymatique et différents ligands. Avec un pourcentage de 78% des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2Å, cela nous a permis de conclure que le programme Surflex est assez performant et qu'on peut l'utiliser en toute confiance pour étudier profondément le mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase. Dans cette étude, nous avons réalisé un docking basé sur la structure de la cible enzymatique avec le programme Surflex-dock d'une collection de 85 similaires du ligand de référence **1YL**; afin de découvrir de nouveau inhibiteur potentiel de l'acétylcholinestérase plus affins et plus sélectifs que la **1YL**. Deux similaires : composé **1** avec une affinité de 5,62 M<sup>-1</sup> et composé **2** avec une affinité égale à 5,05 sont considérés comme les meilleurs inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase. Enfin, l'application du filtrage ADMET nous indique les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des deux composés et il en ressort que le composé **1** est un bien meilleur candidat pour inhiber l'AChE que le composé **2**.

## Abstract

Our work is part of the in-silico research of new potential inhibitors of acetylcholinesterase; therapeutic target validated for the treatment of Alzheimer's disease. The molecular docking software Surflex allows to simulate the interactions between an enzymatic target and different ligands. With a percentage of 78% of RMSD values less than or equal to 2Å, this allowed us to conclude that the Surflex program is quite efficient and that it can be used with confidence to deeply study the inhibition mechanism of acetylcholinesterase. In this study, we performed a docking based on the enzymatic target structure with the Surflex-dock program of a collection of 85 similar 1YL reference ligand; in order to discover new potential inhibitors of acetylcholinesterase more refined and more selective than 1YL. Two similar compounds: compound 1 with an affinity of 5.62 M<sup>-1</sup> and compound 2 with an affinity of 5.05 are considered to be the best potential inhibitors of acetylcholinesterase. Finally, the application of DMI filtering indicates the physicochemical and pharmacokinetic properties of both compounds and it appears that compound 1 is a much better candidate to inhibit AChE than compound 2.

## الملخص

عملنا هو جزء من أبحاث السيليكو للمثبطات المحتملة الجديدة للأستيل كولينستراز ؛ تم التحقق من صحة الهدف العلاجي لعلاج مرض الزهايمر. يسمح برنامج الالتحام الجزيئي Surfex بمحاكاة التفاعلات بين هدف إنزيمي وروابط مختلفة. مع نسبة 78٪ من قيم RMSD أقل من أو تساوي 2Å، سمح لنا ذلك باستنتاج أن برنامج Surfex فعال للغاية وأنه يمكن استخدامه بثقة لدراسة آلية تثبيط الأستيل كولينستراز بعمق. في هذه الدراسة، قمنا بالالتحام بناءً على بنية الهدف الإنزيمية مع برنامج Surfex-dock لمجموعة من 85 ربيطة مرجعية 1YL مماثلة ؛ من أجل اكتشاف مثبطات محتملة جديدة للأستيل كولينستراز أكثر تكريرا وانتقائية من 1YL. مركبان متشابهان: المركب 1 ذو التقارب M-1 5.62 والمركب 2 ذو التقارب 5.05 يعتبران أفضل مثبطات محتملة للأستيل كولينستراز. أخيراً، يشير تطبيق ترشيح DMI إلى الخصائص الفيزيائية الكيميائية والحركية الدوائية لكلا المركبين ويبدو أن المركب 1 مرشح أفضل بكثير لتثبيط AChE من المركب 2.

**Année universitaire :** 2023-2024

**Présenté par :** Dib Lamis  
Guerraiche Aya Nour Elhouda

**Thème :** Recherche *in silico* des nouveaux inhibiteurs de l'Acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine :** Science de la Nature et de Vie

**Filière :** Sciences Biologique

**Spécialité :** Biochimie appliquée

Notre travail, s'inscrit dans le cadre de la recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Le logiciel de docking moléculaire Surflex permet de simuler les interactions entre une cible enzymatique et différents ligands. Avec un pourcentage de 78% des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2Å, cela nous a permis de conclure que le programme Surflex est assez performant et qu'on peut l'utiliser en toute confiance pour étudier profondément le mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase. Dans cette étude, nous avons réalisé un docking basé sur la structure de la cible enzymatique avec le programme Surflex-dock d'une collection de 85 similaires du ligand de référence **1YL**; afin de découvrir de nouveau inhibiteur potentiel de l'acétylcholinestérase plus affins et plus sélectifs que la **1YL**. Deux similaires : composé **1** avec une affinité de 5,62 M<sup>-1</sup> et composé **2** avec une affinité égale à 5,05 sont considérés comme les meilleurs inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase. Enfin, l'application du filtrage ADMET nous indique les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des deux composés et il en ressort que le composé **1** est un bien meilleur candidat pour inhiber l'AChE que le composé **2**.

**Mots-clefs :** Docking moléculaire, Acétylcholinestérase, le site actif, la maladie d'Alzheimer, Surflex, inhibiteur.

**Laboratoires de recherche :** laboratoire de Biochimie appliquée (Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Président du jury :** Mr MOKRANI E.H MCA à Université Constantine 1.

**Encadrant :** Mme DEMMAK R.G. MCA à Université Salah Boubnider Constantine 3.

**Examineur(s) :** Mme. TENIOU S. MCBA à Université Constantine 1.