

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



N° Ref :.....

Centre Universitaire

Abdelhafid Boussouf Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département de Science de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de master

En Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

**Conception in silico de nouveaux
inhibiteurs de l'acétylcholinestérase**

Présenté par :

- **KHALED Rima**
- **CHEFIRI Amel**

Devant le jury composé de :

- Présidente: Melle. **HADEF Sawsen** MAA C.U.Abelhafid Boussouf Mila
- Examinatrice: Mm. **BOUCHERIT Hanane** MAA C.U.Abelhafid Boussouf Mila
- Promotrice: Dr. **MERZOUG Amina** MCB C.U.Abelhafid Boussouf Mila

Année universitaire : 2018/2019

REMERCIEMENT

Nous tenons d'aborder à remercier ALLAH, le tout puissant qui nous avoir aidées tout au long de nos années d'étude, nous a donné la santé, le courage, la volonté pour nous à réaliser ce travail et de nous avoir éclairé le chemin de réussite.

Nous tenons également à exprimer vraiment notre profonde gratitude à notre promotrice Dr MERZOUG AMINA, Maître de conférences B au Centre Universitaire de Mila qui assurée la direction de ce travail,

Pour sa confiance, ses encouragements, son suivi.

Nous tenons à la remercier pour ses importants conseils, sa bonne humeur et sa modestie.

Aussi nous adressons nos profonds respects et remerciements aux membres du jury qui nous fait l'honneur en acceptant d'évaluer notre travail. A savoir l'examinatrice Mm BOUCHERIT HANANE, Maître assistant A au Centre Universitaire de Mila et la présidente de jury Mlle HADEF SAWSAN Maître assistant A au Centre Universitaire de Mila. Nous remercions également tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant nos années d'étude.

En fin nous exprimons notre plus profond remerciement à tous ce qui nous aide de près ou de loin à réaliser ce travail.

RIMA ET AMEL

DIDICACE

Je dédie humblement cette recherche, ce fruit de long baleine Tout d'abord à mes parents : A ma très chère mère ZAKIA, pour ses sacrifices, ses conseils, sa sagesse, son courage et son dévouement. Et je te dis que tu resteras toujours la plus adorable dans ma vie. A mon père NOUAR, pour son soutien moral et son apport matériel.

*A mes chères frères: ABDELRAHIM et ABDLGHANI A mes chères sœurs
Pour leurs encouragements et amours illimite AYA.*

A ma grand-mère MASOUDA et ma grand-père SAID.

A mes très chers neveux KHADIDJA, THOHA , ISRA , GHOFRANE , ROKIA ,SERADJ et Ayoub. A tous mes oncles surtout MOHAMED A mes tantes AZIZ , MOHAMMED ,OMAR et AHMED cousins et cousines a tout la famille CHEFIRI du coté de mon père et tout la famille SENNOUNE du coté de ma mère. A mes anciens amis: Ilham, SABIRA ,SOUAD,ASMA et WAFI et à tous mes collègues de promotion de master et spécialement HOUDA,AMINA,FADIA,NADJLA,ASMA et CHRIFA. Et bien sur a mon aimée, ma sœur et ma binôme RIMA.

AMEL

DIDICACE

Je remercie Allah le tout puissant, qui a donné la force et la patience pour l'accomplissement de ce travail.

C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je dédie ce modeste travail qui est le fruit de ma profonde reconnaissance :

A mon très chère père MOULOUD, pour leur amour, ses sacrifices sans limites, leurs conseils ainsi que leur soutien inconditionnel, à la fois moral et économique, qui m'a permis de réaliser les études que je voulais et par conséquent ce mémoire.

A ma très chère mère DAHBIA, que j'aime tant, sans lesquels je ne serai jamais arrivée là où j'en suis, pour leurs encouragements. Que DIEU vous protéger vous garde pour nous.

Un grande merci pour mes chère frères l'enseignant AHMED, MOHAMMED, YOUNES et mes chère sœurs le médecine SALWA et HADJER. Pour leur avis critique, leur soutien émotionnel et Pour avoir relu mon mémoire et donner des consiellles.

A tout ma familles :khalef ,bennacer et bourabbala

A mes belles amies :ASSIA, MANAR , CHAYMA,HOUDA, AMINA, RADIA ,FAYSA et a toutes les personnes qui ont une place spéciale dans mon cœur et ma vie.

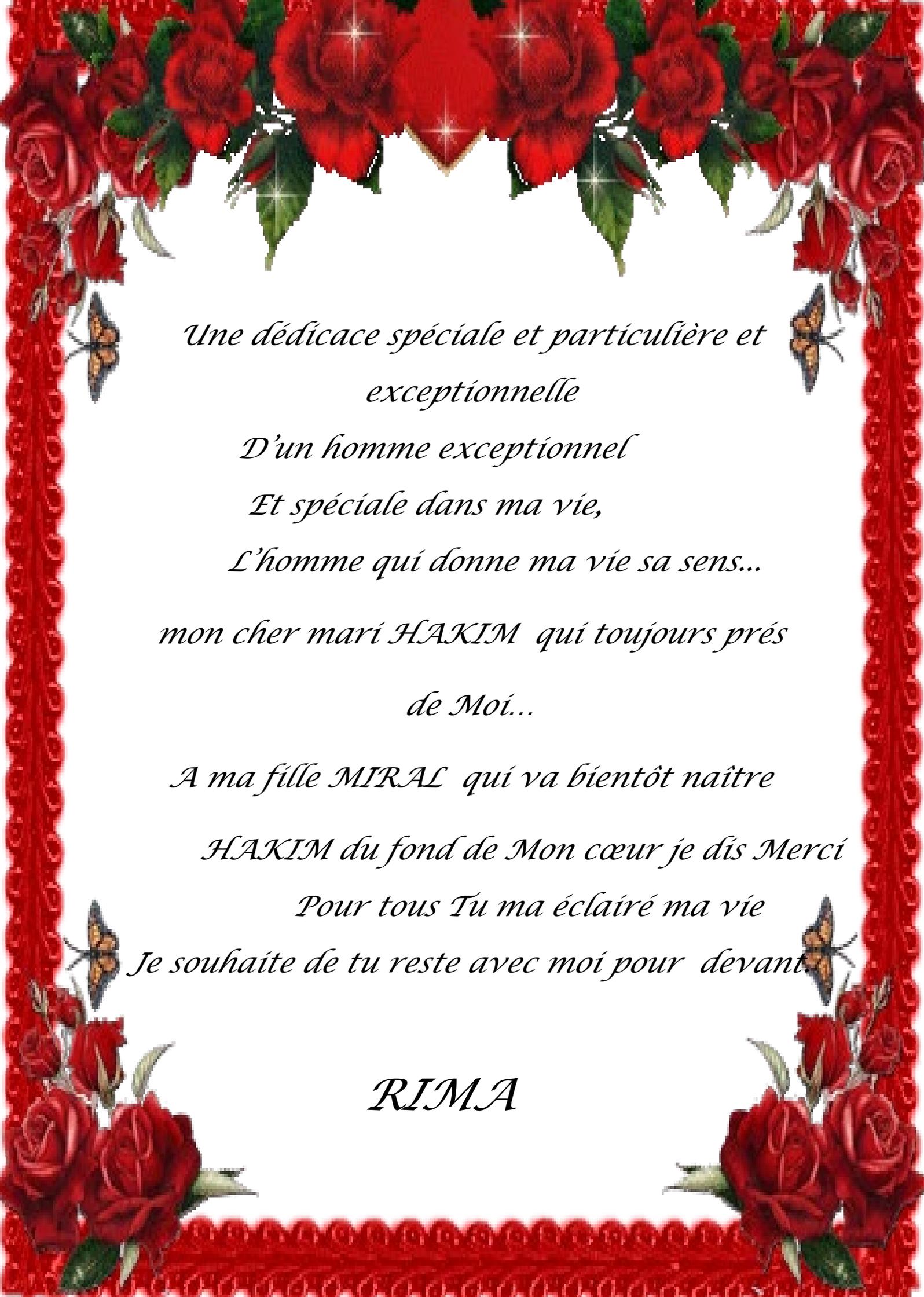
A Mes enseignants et mes amies de l'étude qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

A mon binôme :AMEL.

A tout ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Et a tous les étudiant de master II.

RIMA



*Une dédicace spéciale et particulière et
exceptionnelle*

D'un homme exceptionnel

Et spéciale dans ma vie,

L'homme qui donne ma vie sa sens...

mon cher mari HAKIM qui toujours près

de Moi...

A ma fille MIRAL qui va bientôt naître

HAKIM du fond de Mon cœur je dis Merci

Pour tous Tu ma éclairé ma vie

Je souhaite de tu reste avec moi pour devant.

RIMA

Thème : Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Résumé

La maladie d'Alzheimer est une affection dégénérative du cerveau, elle est associée à des troubles prédominants de la mémoire, des troubles cognitifs et/ou du comportement ayant un retentissement sur la vie quotidienne des patients.

Dans notre travail, nous sommes focalisés sur le traitement d'Alzheimer basé sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase humaine. Une enzyme sert à la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine.

Pour réaliser ce travail, en faisant appel à la méthode d'arrimage moléculaire par le programme FlexX. Avec un bon pourcentage de valeurs du RMSD (73 % inférieures à 2Å), la performance du programme FlexX est indiscutable. Ce programme a été utilisé pour étudier l'inhibition de l'AChE humaine par divers composés afin d'identifier le meilleur, qui est l'HLO. Le criblage virtuel d'une collection de 119 composés issus de la chimiothèque ZINC, similaires de l'HLO fait ressortir les composés ZINC00123616 et ZINC78954474 comme de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins envers l'AChE humaine.

L'étude des propriétés pharmacocinétiques de ces composés proposés montre qu'ils s'inscrivent parfaitement dans la marge des critères imposés par la règle de Lipinski.

Mots clés: acétylcholinestérase humaine, arrimage moléculaire, FlexX, maladie d'Alzheimer.

Title: In silico conception of new acetylcholinesterase inhibitors

Abstract

Alzheimer's disease is a degenerative disorder of the brain that associates with predominant memory disorders, cognitive disorders and / or behavior with repercussions on the daily life of patients.

In our work, we are focused on Alzheimer's treatment based on the inhibition of human acetylcholinesterase. An enzyme is used to regulate the transmission of nerve impulses by ensuring the rapid hydrolysis of acetylcholine, To carry out this work, we use the method of molecular docking by the FlexX program. With a good percentage of RMSD values (73% below 2 Å), the performance of the FlexX program is indisputable. This program has been used to study the inhibition of human AChE by various compounds in order to identify the best, which is HLO. The virtual screening of a collection of 119 compounds from the ZINC database, similar to HLO, brings out the compounds ZINC00123616; ZINC78954474 as new inhibitors theoretically more affine to human AChE.

The study of the pharmacokinetic properties of these proposed compounds shows that they fit perfectly within the margin of the criteria imposed by the Lipinski rule.

Keywords: human acetylcholinesterase, molecular docking, FlexX, Alzheimer's disease.

الموضوع: تصور نظري لمثبطات جديدة لأستيل كولين استراز

ملخص

مرض الزهايمر هو اضطراب تنكسي في الدماغ يربط بين اضطرابات الذاكرة السائدة ، والاضطرابات المعرفية و / أو السلوك مع تداعيات على الحياة اليومية للمرضى.

في بحثنا هذا سلطنا الضوء على علاج مرض الزهايمر الذي يعتمد على تثبيط انزيم الاستيل كولين استراز عند الإنسان. و هو إنزيم يعمل على تنظيم انتقال السيالة العصبية عن طريق ضمان التحلل السريع للأستيل كولين لتنفيذ هذا العمل قمنا باستخدام طريقة الالتحام الجزيئي بواسطة برنامج FlexX. مع وجود نسبة مئوية جيدة من قيم RMSD (73 ٪ أقل من 2 Å) مصداقية نتائج FlexX أمر لا جدال فيه. هذا البرنامج استعمل لدراسة تثبيط انزيم الاستيل كولين استراز عند الانسان بواسطة مركبات مختلفة من أجل تحديد الأفضل ، وهو HLO.

الفحص الظاهري لمجموعة 119 مركب مماثلة للمثبط HLO التي تحصلنا عليها من بنك المركبات الكيميائية ZINC ، جعلنا نختار المركبات ZINC00123616 و ZINC78954474 كمثبطات جديدة نظريا أكثر فعالية للاستيل كولين استراز لدى الإنسان.

دراسة الخواص الدوائية لهذه المركبات المقترحة تؤكد أنها تتناسب تمامًا مع المعايير التي تفرضها قاعدة Lipinski.

الكلمات المفتاحية: أستيل كولين إستراز عند الإنسان، الالتحام الجزيئي، مثبطات، مرض الزهايمر، FlexX

SOMMAIRE

Résumés

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des graphes

Introduction

CHAPITRE I : MALADIE D'ALZHEIMER

I. Définition.....	03
II. Les facteurs de risques conduisant à la maladie d'Alzheimer ...	04
III. Les facteurs protecteurs.....	07
IV. L'évolution de la maladie d'Alzheimer.....	08
V. Les signes et les symptômes de la maladie d'Alzheimer.....	09
VI. Le diagnostique de la maladie d'Alzheimer.....	09
VI.1.Epidémiologie.....	09
VI.2.Le diagnostique clinique	10
VI.2.1. L'examen clinique du patient.....	10
VI.2.2.Les tests cognitifs... ..	10
VI.2.3.L'imagerie cérébrale.....	11
VI.2.4.L'analyse de biomarqueurs du liquide céphalorachidien... ..	11
VII. Les traitements de la maladie d'Alzheimer.....	11
VII.1. Prise en charge médicamenteuse.....	11
VII.2. Prise en charge non médicamenteuse.....	12

CHAPITRE II: L'ACETYLCHOLINESTERASE ET SES INHIBITEURS

I. Introduction.....	14
II. Rôle physiologique.....	14

III. Structure de l'acétylcholinestérase.....	15
IV. Le site actif et la triade catalytique.....	16
V. Mécanisme catalytique.....	18
VI. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.....	19
VI.1. Les inhibiteurs irréversibles.....	20
VI.2. Les inhibiteurs réversibles.....	20

CHAPITRE III : DOCKING MOLECULAIRE

I. Définition ions protéine-ligand.....	25
II. Les interactions protéine-ligand	25
III. Les étapes de docking.....	28
IV. Présentation de la méthode du docking moléculaire	29
IV.1.Principe.....	29
IV.2. Obtention des structures.....	30
IV.3. Applications.....	30
IV.4. Le processus de scoring.....	31
V. Les programmes de docking.....	31
VI. Le programme FlexX.....	32
VI.1. La flexibilité conformationnelle du ligand.....	32
VI.2. Les types d'interactions ligand-récepteur.....	34
VI.3. La fonction de score.....	34
VII. Protocole de docking moléculaire... ..	34

CHAPITRE IV. MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. Matériels.....	36
I.1. Ordinateur.....	36
I.2. Programme utilisé (FlexX).....	36
I.3. Banques de données.....	36
I.3.1. La banque de données des protéines.....	36

I.3.2. La chimiothèque ZINC.....	37
II. Méthodes.....	37
II.1. Evaluation de programme FlexX.....	37
a. L'écart quadrique moyen.....	37
b. Analyse visuelle.....	38
II.2. Docking moléculaire.....	38
II.3. Règle de Christopher A. Lipinski.....	40

CHAPITRE V: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. Tests de fiabilité du programme FlexX.....	42
I.1. Le teste RMSD.....	42
I.2. Analyse visuelle.....	46
II. Etude des interactions AChE humaine– inhibiteurs.....	48
III. Proposition des nouveaux inhibiteurs de l'AChE humaine.....	53
III.1. Inhibition de l'AChE humaine par les similaires de l'HLO.....	53
III.1.1 Complexe 4M0E- composé ZINC00123616.....	59
III.1.2 Complexe 4M0E- composé ZINC78954474.....	60
IV. Prédiction de la similarité médicamenteuse.....	62
Conclusion.....	63

Références bibliographiques

LISTE DES ABREVIATIONS

ACh: acétylcholine.

AChE: acétylcholinestérase.

Å: Angström

BuChE: butyryl-cholinestérase.

DCL: la déficience cognitive légère.

FFMA: La forme familiale de la maladie d'Alzheimer.

LCR : liquide Céphalorachidien.

Log P: Le logarithme décimal du coefficient de partage octanol/eau

NMDA: N-méthyl-D-aspartat.

PDB: Protein Data Bank.

RMSD: Root Mean Square Deviation.

TMA: tétraméthylammonium.

3D: Tridimensionnelle.

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
Figure I.1	La différence entre le cerveau sain et le cerveau atteint d'Alzheimer	03
Figure I.2	Le mécanisme de la maladie d'Alzheimer	04
Figure I.3	Représentation graphique montrant le pourcentage des cas d'Alzheimer en fonction de l'âge.	05
Figure II.1	Le rôle de l'acétylcholinestérase	15
Figure II.2	Hydrolyse de l'acétylcholine	15
Figure II.3	Structure tridimensionnelle de l'acétylcholinestérase	16
Figure II.4	Vue détaillée du site actif de l'acétylcholinestérase	17
Figure II.5	Représentation schématique du mécanisme d'action de l'ACHé	19
Figure II.6	Structure chimique de la Rivastigmine	20
Figure II.7	Structure chimique de la Tacrine	21
Figure II.8	Structure chimique de la Donépézil.	22
Figure II.9	Structure chimique de la Glanthismine	22
Figure II.10	Structure chimique du Huperzine	23
Figure II.11	Structure des Monoterpènes connus	23
Figure III.1	Liaison ionique	26
Figure III.2	Forces de van der Waals	26
Figure III.3	Pont hydrogène	27
Figure III.4	Interactions hydrophobes	28
Figure III.5	Représentation schématique des étapes du docking moléculaire	28
Figure III.6	Superposition des différents points du site d'interaction avec le ligand	33
Figure III.7	Construction incrémentale d'un ligand au sein d'un récepteur	33
Figure III.8	Etapes typiques d'un docking moléculaire	35
Figure IV.1	Exemple de ligne de l'un de fichier PDB	37
Figure IV.2	Résultats données par FlexX	39

Figure V.1	Superposition de la conformation du ligand 4EY5 donnée par rayon-X (coloré par type d'atome) et celle simulée par FlexX (colore en vert)	46
Figure V.2	Superposition de la conformation du ligand 3DL4 donnée par rayon-X (coloré par type d'atome) et celle simulée par FlexX (colore en vert)	47
Figure V.3	Superposition de la conformation du ligand 4ARA donnée par rayon-X (coloré par type d'atome) et celle simulée par FlexX (colore en vert)	47
Figure V.4	La structure 3D de l'enzyme 4M0E	48
Figure V.5	Mode de liaison du HLO avec le site actif de la 4M0E	52
Figure V.6	Les acides aminés engagés dans les interactions hydrophobiques	53
Figure V.7	Mode de liaison du composé ZINC00123616 avec le site actif de la 4M0E	59
Figure V.8	Les acides aminés engagés dans les interactions hydrophobiques	60
Figure V.9	Docking de composé ZINC78954474 dans le site actif de l'AChE humaine	60
Figure V.10	Les acides aminés engagée dans les interactions hydrophobiques	61

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
Tableau III.1	Principaux programmes de docking moléculaire	32
Tableau IV.1	Valeurs seuils des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle de Lipinski	40
Tableau V.1	Valeurs de RMSD des 100 complexes protéine-ligand étudiés	42
Tableau V.2	Les valeurs d'énergies d'interactions des complexes 4M0E-inhibiteurs étudiés	49
Tableau V.3	Résultats de docking des similaires de l'HLO	54
Tableau V.4	Critères de la règle de Lipinski pour les molécules étudiées	62

LISTE DES GRAPHE

N°	Titre	page
Graphe V.1	Résultats en % obtenu par FlexX à divers intervalles de RMSD	45
Graphe V.2	Résultat global du RMSD en %	45

INTRODUCTION

Introduction

Avec le vieillissement de la population, la maladie d'Alzheimer est devenue un problème majeur de santé publique. C'est une maladie neuro-dégénérative des tissus cérébraux entraînant la perte progressive et irréversible des fonctions mentales. La maladie d'Alzheimer est la principale cause de démence chez les personnes âgées, elle touche environ 24 millions de personnes à travers le monde[1].

De nombreuses études indiquent que les lésions engendrées lors de la maladie d'Alzheimer touchent principalement les voies cholinergiques. Il en résulte une diminution parfois massive des taux de neurotransmetteurs circulant dans le cerveau. Le déficit en acétylcholine peut atteindre jusqu'à 90% dans les stades sévères de la maladie [2]. Pour compenser le déficit en acétylcholine, les médecins font habituellement appel aux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Ces molécules empêchant la dégradation de l'acétylcholine au niveau de la fente synaptique, ils ont montré leur efficacité en soulageant quelques symptômes liés à la maladie d'Alzheimer[3]. C'est à cette approche du traitement par inhibition de l'acétylcholinestérase que nous nous intéressons dans le présent travail.

Notre travail concerne l'étude des interactions entre l'acétylcholinestérase humaine et divers inhibiteurs, dans le but de mieux comprendre les mécanismes d'action de cette enzyme et de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs lutter contre la maladie Alzheimer en faisant appel à une approche *in silico* de modélisation des interactions enzyme-inhibiteur appelée la méthode de docking moléculaire.

Récemment, la méthode de docking moléculaire a gagné beaucoup d'intérêt dans des nombreuses stratégies de développement de médicaments, elle permet d'identifier des nouvelles substances thérapeutiques sur la base de la structure d'une cible protéique[4].

Introduction

L'objectif du présent travail est :

- ❖ Dans un premier temps, de tester la performance du programme de docking moléculaire FlexX utilisé dans cette étude.

- ❖ Dans un deuxième temps, de mettre en évidence les meilleurs inhibiteurs de l'acétylcholinestérase humaine et d'élucider les mécanismes d'interaction entre ces inhibiteurs et l'enzyme étudié.

- Enfin, de contribuer à la développement de nouveaux inhibiteurs plus puissants envers l'acétylcholinestérase humaine.

CHAPITRE I:
MALADIE D'ALZHEIMER

I. Définition

La maladie d'Alzheimer se définit comme une affection dégénérative du cerveau qui associe à des troubles prédominants de la mémoire, des troubles cognitifs et/ou du comportement ayant un retentissement sur la vie quotidienne des patients(figure I.1). Cette démence dont l'étiologie n'est pas encore connue, est associée à des lésions histologiques caractéristiques qui la définissent : les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires.

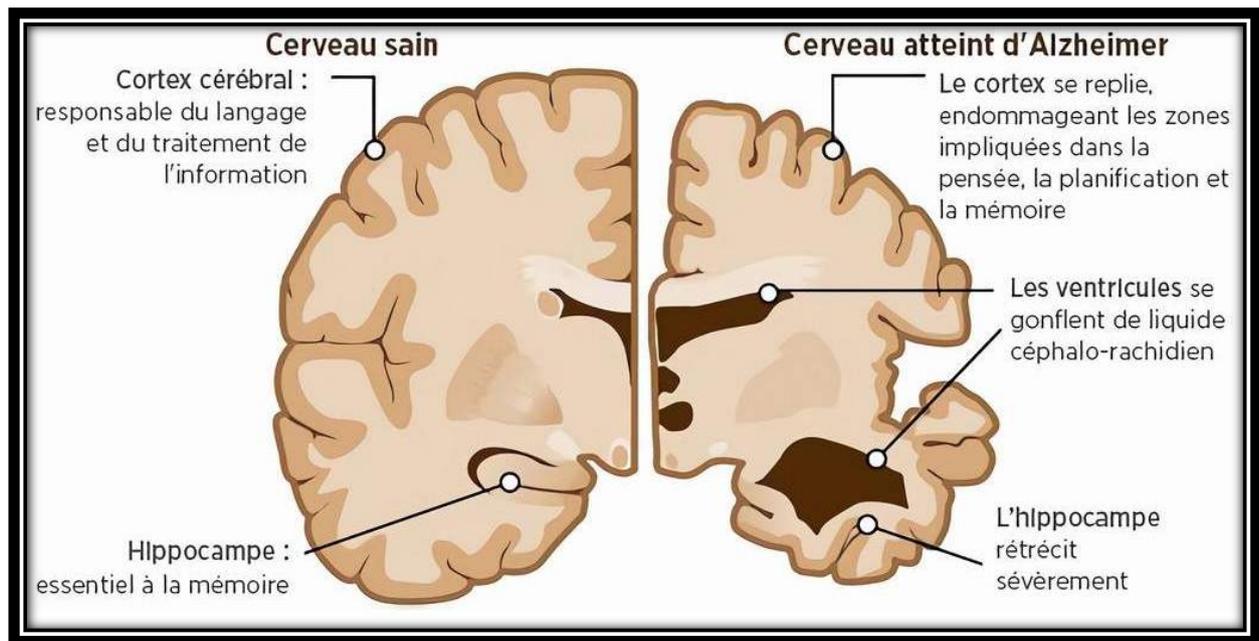


Figure I.1. la différence entre le cerveau sain et le cerveau atteint d'Alzheimer [2].

Les mécanismes de cette affection dont les lésions se développent longtemps, impliquent une cascade complexe d'événements. L'idée émerge que ces deux lésions fréquentes au cours du vieillissement ont un effet synergique et provoquent un processus dégénératif qui porte atteinte, progressivement mais inexorablement, aux fonctions supérieures au sein des aires corticales associatives et en particulier à la mémoire, au jugement et aux fonctions intellectuelles. Les plaques séniles qui sont observées au cours du vieillissement normal et les dégénérescences neurofibrillaires qui sont parfois observées dans d'autres démences dégénératives ne sont pas spécifiques de la maladie d'Alzheimer(figure I.2). C'est leur association chez un même patient qui est caractéristique de cette maladie éminemment complexe et spécifiquement humaine pour laquelle il n'existe pas de modèle animal qui reproduise complètement la pathologie humaine.

Cette affection survient tardivement dans la vie, à l'exception de rares cas d'apparition précoce dus à la présence de mutations génétiques familiales [5].

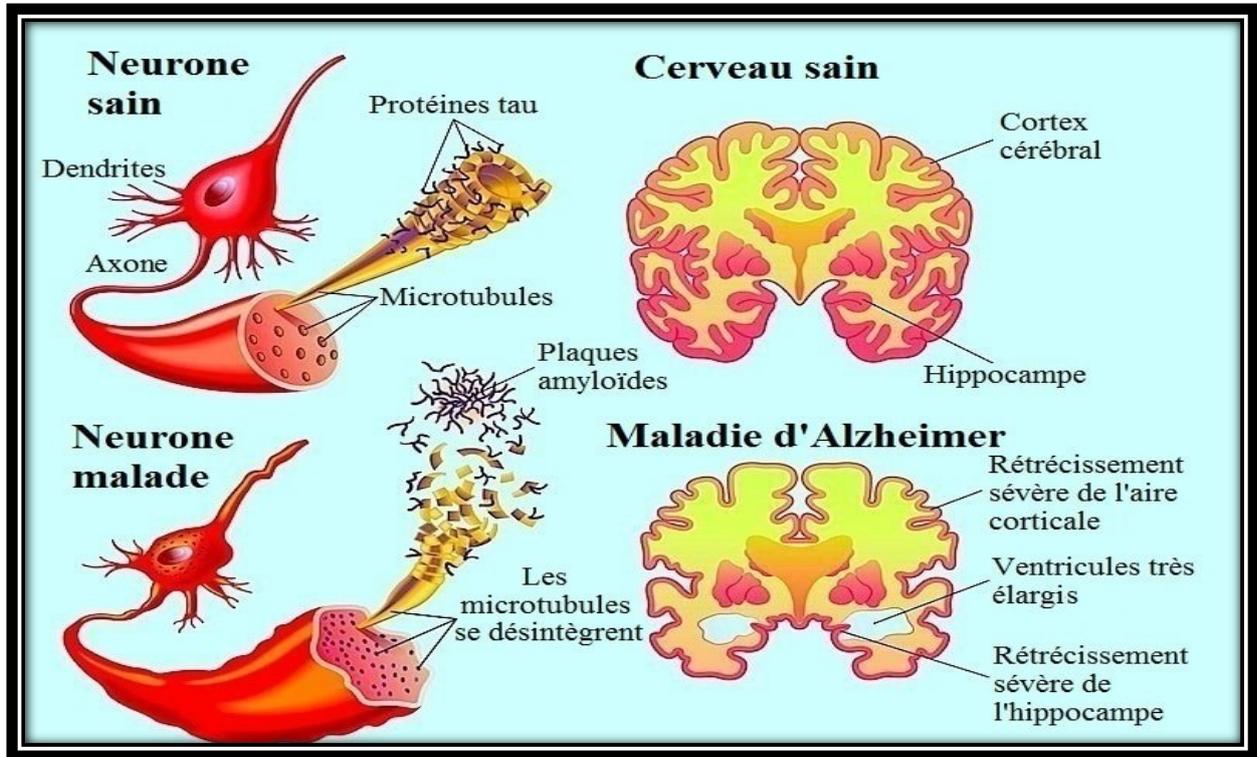


Figure I.2. le mécanisme de la maladie d'Alzheimer [1].

I. Les facteurs de risques conduisant à la maladie d'Alzheimer

II.1. L'âge

En vieillissant, les mécanismes naturels de réparation de l'organisme sont moins efficaces. Ce changement se produit dans le cerveau à différents rythmes selon les personnes et ces différences contribuent à la susceptibilité d'une personne de développer la maladie d'Alzheimer avec l'âge [6] (voir la figure I.3).

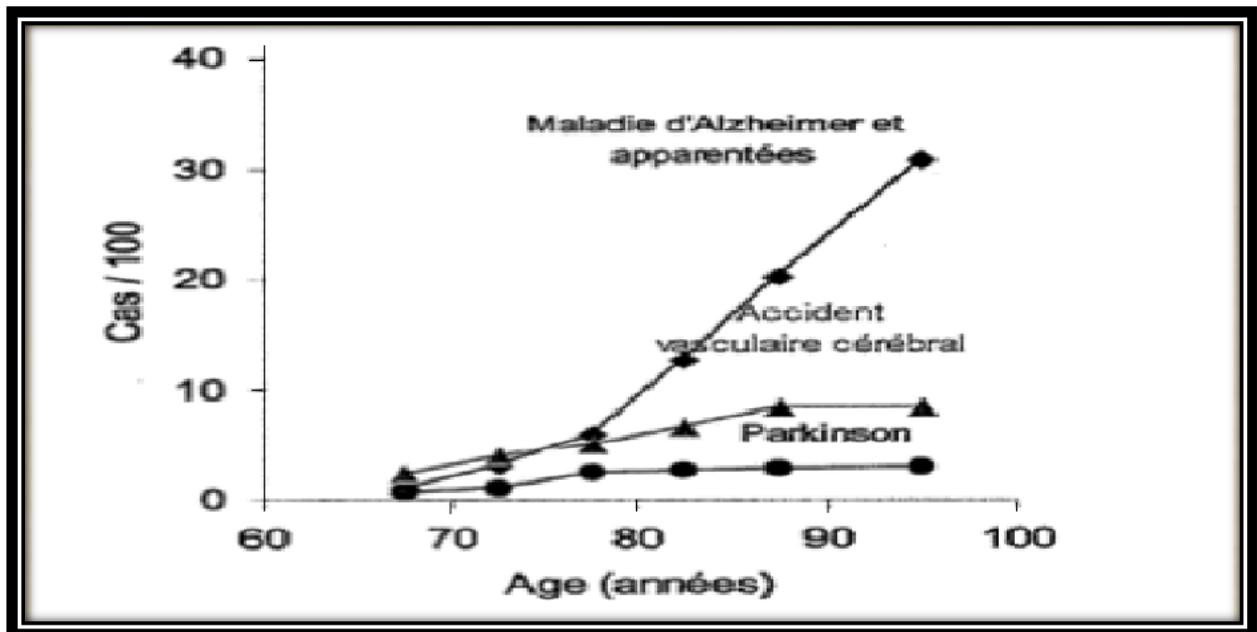


Figure I.3. Représentation graphique montrant le pourcentage des cas d'Alzheimer en fonction de l'âge [6].

II.2. Les antécédents familiaux et la génétique

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

II.3. Le Sexe

Deux fois plus de femmes que d'hommes ont la maladie d'Alzheimer. Certains pensent que ceci est attribuable en grande partie aux changements hormonaux qui surviennent à la ménopause, particulièrement la diminution de l'œstrogène, une hormone importante.

Auparavant, on prescrivait souvent de l'œstrogène pour soulager les symptômes de la ménopause et réduire le risque de développer la maladie d'Alzheimer. Toutefois, une étude clinique à grande échelle assez récente recommandait d'interrompre le traitement hormonal substitutif en raison de ses effets secondaires potentiellement dangereux. Plusieurs chercheurs cliniques considèrent cependant que ce type de traitement devrait faire l'objet d'études plus poussées dans le contexte de la maladie d'Alzheimer[7].

II.4. Les maladies cardiovasculaires

Tous les facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (comme l'hypertension et l'hypercholestérolémie) sont aussi des facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer et de la maladie cérébro-vasculaire. Les accidents vasculaires cérébraux, généralement détectés lors d'examens ultérieurs, sont aussi des facteurs de risque bien établis pour la maladie d'Alzheimer et la maladie cérébro-vasculaire[7].

II.5. Le diabète

On sait depuis plusieurs années que le diabète de type 2 est un facteur de risque de la maladie d'Alzheimer. On savait aussi que le glucose était moins bien assimilé dans le cerveau des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, une situation similaire aux diabétiques de type 2, dont l'organisme assimile mal le glucose[7].

Les chercheurs ont en effet découvert que chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, la production d'insuline dans le cerveau est réduite et que les neurones y sont moins sensibles (la production de l'insuline dans le cerveau est indépendante de la production de l'insuline dans le pancréas, le principal organe de production d'insuline). L'insuline aide à l'absorption du glucose dans les neurones, et la régulation des neurotransmetteurs, comme l'acétylcholine, qui sont cruciaux pour la mémoire et l'apprentissage. Pour cette raison, la diminuer de niveau d'insuline dans le cerveau affecte la cognition.

II.6. Le syndrome de Down

Le cerveau de la plupart des adultes atteints du syndrome de Down qui atteignent la quarantaine développera les changements anormaux caractéristiques de la maladie d'Alzheimer (plaques et écheveaux)[7].

II.7. La déficience cognitive légère

Dans la déficience cognitive légère (DCL), le niveau de détérioration cognitive et/ou des troubles de la mémoire est supérieur à celui enregistré dans le processus normal de vieillissement, mais il n'est pas suffisamment avancé pour qu'on puisse parler d'Alzheimer ou de maladie apparentée. On estime que 85 % des personnes qui ont reçu un diagnostic de DCL, généralement au début de la quarantaine ou de la cinquantaine, développeront la maladie d'Alzheimer dans les dix années suivantes, ce qui fait de la DCL un facteur de risque important. Les chercheurs savent maintenant que les changements cérébraux anormaux qui caractérisent la maladie d'Alzheimer peuvent commencer à apparaître chez les personnes qui ont reçu un diagnostic de DCL au moins 20 ans avant tout signe visible d'Alzheimer ou de maladie apparentée[3]. L'imagerie cérébrale pourrait permettre de repérer les personnes atteintes de DCL les plus à risque de développer la maladie[7].

II.8. Les lésions à la tête

Les lésions à la tête, notamment les commotions à répétition, sont considérées par la plupart des cliniciens comme des facteurs de risque de développement ultérieur de la maladie d'Alzheimer[7].

III . Les Facteurs protecteurs

À côté des facteurs de risque, des facteurs susceptibles de protéger ou retarder l'apparition des symptômes de la maladie d'Alzheimer ont été identifiés.

- Exercice physique régulier
- Régime alimentaire de type méditerranéen
- Caféine à dose modérée (1 à 2 tasses journalières)
- Facteurs psychosociaux : haut niveau d'éducation, activité intellectuelle stimulante, relations sociales riches, activités variées (jardinage, danse, lecture...)[8].

IV. L'évolution de la maladie d'Alzheimer

Les symptômes de la maladie et leur ordre d'apparition varient d'une personne à l'autre. La durée de la maladie d'Alzheimer est également variable. Cependant, toutes les personnes atteintes traversent trois principaux stades : léger, modéré et avancé[9].

➤ **Au stade léger**

À ce stade, les lésions sont assez importantes pour empêcher le fonctionnement normal de certaines régions du cerveau. Chaque région est associée à une ou plusieurs fonctions, comme la mémoire, l'humeur ou la coordination des mouvements.

Donc, les premiers symptômes qui apparaissent peuvent être différents d'une personne à l'autre. Tout dépend de la région du cerveau qui est attaquée en premier.

Habituellement, dans cette phase, le malade commence à avoir des troubles de mémoire (surtout pour les événements récents). De plus, l'humeur et le comportement commencent à changer. La personne peut perdre patience ou devenir triste sans raison apparente. Peu à peu, d'autres symptômes apparaissent, comme les troubles du langage.

Toutefois, ces problèmes n'empêchent pas le malade de faire ses activités quotidiennes. Par contre, elle se rend compte de ce qui se passe. Cette phase dure en moyenne de deux à quatre ans[9].

➤ **Au stade modéré**

Le deuxième stade survient lorsque différents troubles empêchent la personne de faire ses activités normales. Elle a de plus en plus de problèmes de mémoire et de comportement. De plus, de nouveaux troubles commencent à apparaître. Elle a de la difficulté à utiliser le téléphone, à faire ses courses ou à prendre ses médicaments. Avec le temps, elle arrive difficilement à faire des activités comme se laver, manger, marcher ou s'habiller toute seule. Ce n'est qu'à ce moment qu'on peut identifier la maladie d'Alzheimer[9].

➤ **Le stade avancé**

À ce stade, la personne atteinte n'est plus capable de s'exprimer de façon compréhensible. Elle ne reconnaît plus toujours ses proches et ne sait plus se servir d'ustensiles pour manger. Elle passe son temps clouée dans un fauteuil ou à marcher sans but. Avec le temps, la personne peut avoir de la difficulté à rester debout ou assise. Elle ne reconnaît plus personne. Elle ne peut plus manger par elle-même ou utiliser les toilettes[9].

V . Les signes et les symptômes de la maladie d'Alzheimer

Bien que les signes et les symptômes de la maladie peuvent varier d'une personne à l'autre, et commence toujours par une phase asymptomatique, au fur et à mesure qu'elle affecte les régions du cerveau, elle va entraîner la perte de certaines fonctions ou habiletés[2]. La durée moyenne de son évolution est de 5 à 9 ans, à terme, la maladie provoque une détérioration de l'état général [10].

La perte de mémoire croissante avec le passage du temps est souvent les premiers symptômes observés. Voici quelques signes qui apparaissent dans le stade précoce de la maladie[11]:

- L'incapacité de trouver des mots ou des difficultés de langue.
- Choses oublier : noms, des dates, des lieux et des visages.
- Perte d'intérêt à lancer des projets ou faire des choses.
- Difficulté à résoudre des problèmes ou de résoudre des puzzles à faire.
- Des difficultés à accomplir des tâches de tous les jours.
- Incapacité à mettre les choses en place sur une base quotidienne.
- Changements d'humeur et de comportement.
- Les troubles des conduites alimentaires et les difficultés de déglutition sont souvent à l'origine d'un amaigrissement important avec altération des défenses immunitaires. Cela favorise les complications infectieuses qui sont souvent à l'origine du décès.

VI . Diagnostique de la maladie d'Alzheimer

VI.1. Epidémiologie

La maladie d'Alzheimer est désormais en passe de devenir un véritable fléau qui ronge de plus en plus la santé des personnes âgées aux quatre coins du monde. Première cause de démence des sujets âgés, cette maladie est responsable de 75 % de l'ensemble des démences soit près de 35,6 millions de personnes[6]. Si rien n'est fait pour lutter contre cette maladie, cette prévalence devrait doubler d'ici à 2030 (65,7 millions) et tripler d'ici à 2050, dépassant les 110 millions de personnes atteintes[12]. En Algérie, près de 100000 personnes sont atteintes cette maladie. Une étude effectuée en 2004 par des neurologues et des psychologues a montré que parmi 3000 personnes, toutes âgées de plus de 65 ans, qui se sont présentées au Bab-El- Oued pour diagnostic, 30% souffraient de troubles de la mémoire[13].

VI.2. Le diagnostique clinique

Les moyens diagnostiques de plus en plus performants permettent d'identifier la maladie dès les premiers symptômes, au stade prédéméntiel. Cela permet au patient qui possède encore toutes ses capacités de faire des choix de vie et d'anticiper sur l'évolution de la maladie avec son entourage ; mais aussi de bénéficier d'une prise en charge adaptée pour atténuer les troubles comportementaux et prolonger l'autonomie et, le cas échéant, de participer à des essais cliniques[8].

Le diagnostic de la maladie Alzheimer repose sur le couplage de plusieurs examens :

- un examen clinique du patient,
- des tests cognitifs (de mémoire, exercices sur le langage, etc.),
- l'imagerie cérébrale,
- l'analyse de biomarqueurs du liquide céphalorachidien.

VI.2.1. L'examen clinique du patient

C'est toujours la première étape du diagnostic. Le plus souvent le patient ou son entourage se plaint de troubles de la mémoire. Mais d'autres troubles cognitifs peuvent aussi alerter : changement du comportement habituel, de la personnalité, difficultés à s'orienter, à exécuter des gestes quotidiens, à s'organiser, etc

Si le médecin traitant suspecte une origine pathologique, il oriente le patient vers un centre hospitalier spécialisé pour une consultation mémoire de proximité

Ces structures réunissent toutes les compétences nécessaires au diagnostic, à la prise en charge et au suivi des patients : médecins spécialistes de l'imagerie médicale, gériatres, neurologues, psychiatres, psychologues, infirmières, orthophonistes, ergothérapeutes, kinésithérapeutes, psychomotriciens, assistantes sociales, etc[8].

VI.2.2. Les tests cognitifs

Une évaluation cognitive globale (langage, raisonnement, calcul...) ainsi que des tests de mémoire spécifiques sont pratiqués. Ils permettent notamment d'identifier le trouble de la mémoire qui touche spécifiquement l'hippocampe, la zone de cerveau impliquée dans la mémoire, dans la maladie d'Alzheimer[8].

VI.2.3. L'imagerie cérébrale

- **L'imagerie par résonance magnétique** : elle est utilisée depuis plus de 30 ans, permet d'observer le volume du cerveau et de ses différentes régions. La maladie se caractérise par une atrophie de certaines structures cérébrales comme l'hippocampe, première région atteinte par la maladie et une réduction globale du volume cérébral[8].
- **La tomographie par émission de positons** est une méthode d'imagerie plus récente qui permet une évaluation plus précoce et plus spécifique. Elle permet de visualiser une baisse de la consommation de glucose dans certaines régions du cerveau, qui indique une diminution pathologique de l'activité des neurones dans ces régions. Les derniers développements de cette technique proposent de détecter les plaques amyloïdes, grâce à des radiotraceurs spécifiques (molécules radioactives injectées au patient via la circulation sanguine et qui se fixent sur les dépôts amyloïdes)[8].

VI.2.4. L'analyse de biomarqueurs du liquide céphalorachidien

Le liquide céphalorachidien, le fluide dans lequel baignent le cerveau et la moelle épinière, est recueilli par ponction lombaire. Des taux de peptide bêta-amyloïde inférieurs à la normale et de protéine Tau supérieurs à la normale sont des indicateurs précoces de la maladie.

Le diagnostic repose à la fois sur la clinique et sur la présence de biomarqueurs. Une personne peut en effet présenter des lésions typiques de la maladie d'Alzheimer sans en présenter les symptômes [8].

VII .Les traitements de la maladie d'Alzheimer

Actuellement, il n'existe aucun traitement guérissant la maladie d'Alzheimer, ni même permettant d'arrêter son évolution, mais il existe quelques médicaments susceptibles de retarder son évolution. Ils permettent d'atténuer les pertes de mémoires, les problèmes de langage et de raisonnement, ou bien tous simplement de ralentir au moins en apparence la progression de maladie.

VII.1. Prise en charge médicamenteuse

Deux approches pharmacologiques peuvent être envisagées compte tenu de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer : une stratégie de prévention et/ou de

protection permettant de prévenir ou de ralentir la progression de la maladie ; une approche pharmacologique de traitement symptomatique visant à restaurer une neurotransmission normale afin de pallier les symptômes cognitifs et non cognitifs.

Actuellement, seuls sont disponibles des médicaments répondant à la deuxième approche pharmacologique et jouant le rôle de stimulants de la cognition[8].

Le traitement symptomatique des troubles cognitifs comprend :

- **Tacrine** (COGNEX®) supprimée du marché, présentait une toxicité hépatocellulaire entraînant une augmentation des taux sériques d'alanine aminotransférase.
- Trois drogues appartenant à une même famille, celle des **inhibiteurs de la cholinestérase** qui sont le **donépézil** (AricepMC), la **galanthamine** (ReminylMC) et la **rivastigmine** (ExelonMC). Ces médicaments inhibent la dégradation de l'acétylcholine et s'opposent au déficit cholinergique associé à la détérioration cognitive. Plusieurs études ont montré un bénéfice sur les troubles de la mémoire et les fonctions cognitives et sur les troubles du comportement, ce qui permet de ralentir la perte d'autonomie du sujet[5].
- Une drogue appartenant à la famille des **antagonistes du récepteur NMDA** (N-méthyl-D-aspartat) qui est la **mémantine**[14].

Ces médicaments sont disponibles depuis plus de 20 ans ce qui a permis d'en étudier les bénéfices thérapeutiques potentiels, les limites et les effets secondaires. Ces médicaments retardent la perte des fonctions cognitives et peuvent même les améliorer. Ils ont un effet positif sur les activités quotidiennes et les troubles du comportement des patients[5].

VII.2. Prise en charge non médicamenteuse

La prise en charge passe aussi par les traitements non médicamenteux telle que :

- **Procédés cognitifs** : Par procédés cognitifs, on entend des mesures au cours desquelles les fonctions cognitives (mémoire, attention, parole, etc.) sont activées. Sous la direction de spécialistes, la performance cognitive du cerveau est entraînée, par exemple par l'intégration dans des conversations ou par l'entraînement ciblé de la performance cérébrale[15].
- **Ergothérapie** : Les fonctions quotidiennes et la capacité d'action de la personne concernée sont entraînées pour améliorer la qualité de vie. L'ergothérapie est adaptée aux besoins individuels des patients. Un soutien particulier doit être apporté à l'autonomie (p. ex. manger, s'habiller), aux activités de loisir (p. ex. rencontrer des amis, travaux manuels) et à la productivité (p. ex. écrire une rédaction, laver les fenêtres)[15].
- **Traitements artistiques** : Le traitement d'une maladie ne doit pas être fatigant ou ennuyeux. De nombreuses occupations de loisir agissent favorablement sur la démence[15].

- **Procédés sensoriels** : On entend des procédures thérapeutiques qui s'adressent directement à la perception sensorielle de la personne concernée. On trouve parmi ceux-ci, par exemple l'aromathérapie, le traitement par les massages et le contact ou également les thérapies multi sensorielles [15].
- **La stimulation cognitive** : Qui passe par des simulations de situations vécues (téléphone, toilette, trajet dans le quartier...). Effectuée par des psychologues, psychomotriciens ou orthophonistes, elle a pour but de ralentir la perte d'autonomie dans les activités de la vie quotidienne [16].
- **La rééducation orthophonique** : Elle vise à maintenir la communication avec le malade éprouvant des difficultés de langage et est aussi utilisée pour traiter les troubles de la déglutition [16].
- **La kinésithérapie** : Elle a pour but principal de prévenir le risque de chutes, mais peut également avoir des effets sur certains aspects du comportement [16].

CHAPITRE II :
L'ACETYLCHOLINESTERASE ET
SES INHIBITEURS

I. Introduction

La Cholinestérase est une famille d'enzymes qui catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) pour donner la choline et l'acide acétique[17]. C'est une réaction nécessaire pour permettre à un neurone cholinergique de revenir à son état de repos après son activation. Cette famille d'enzymes comporte deux grandes classes :

➤ Pseudo-cholinestérase

Aussi connu comme la cholinestérase plasmatique, butyryl-cholinestérase, ou acylcholineacylhydrolase, se trouve principalement dans le foie. Différent de l'acétylcholinestérase, la butyryl-cholinestérase hydrolyse la butyrylcholine plus rapidement que l'acétylcholine[18].

➤ Acétylcholinestérase

Elle se retrouve dans de nombreux types de tissus citons les nerfs, les muscles, les tissus centraux et périphériques, les fibres motrices et sensorielles, et cholinergique et enfin les fibres cholinergiques [18].

II. Rôle physiologique

L'acétylcholinestérase (AChE .EC : 3.1.1.7) est une protéine exprimée dans le système nerveux et sanguin des eucaryotes supérieurs. Le principal rôle biologique de l'acétylcholinestérase est la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques centrales et périphériques [19] (Figure II.1). Acétylcholine, substance chimique présente chez les vertébrés, qui joue un rôle de neuromédiateur permettant la transmission de l'influx nerveux d'un neurone à l'autre en passant par les synapses, et à partir des neurones vers les cellules musculaires, ce qui conduit ces dernières à se contracter. L'effet de l'acétylcholine disparaît lors de l'hydrolyse produite par l'acétylcholinestérase [20].

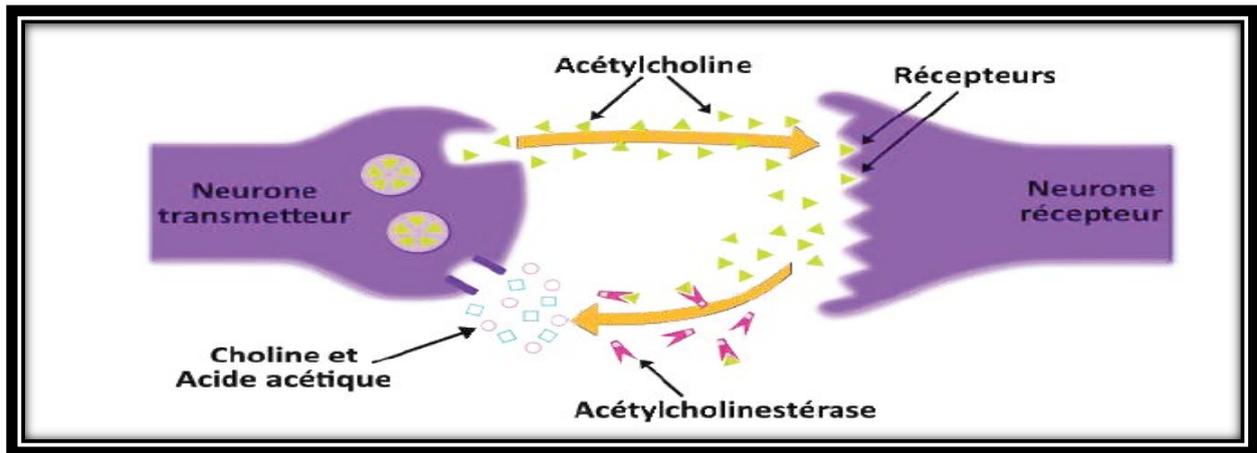


Figure II.1. Le rôle de l'Acétylcholinestérase [19].

Les molécules d'acétylcholine qui participent à la transmission d'un influx nerveux donné doivent être dégradées très rapidement, en quelques millisecondes, afin de restaurer l'excitabilité neuronale et ainsi permettre la transmission de l'influx nerveux suivant [21].

Cette fonction essentielle est assurée par l'acétylcholinestérase laquelle, en accord avec sa fonction, est parmi les enzymes les plus rapides de la nature [22].

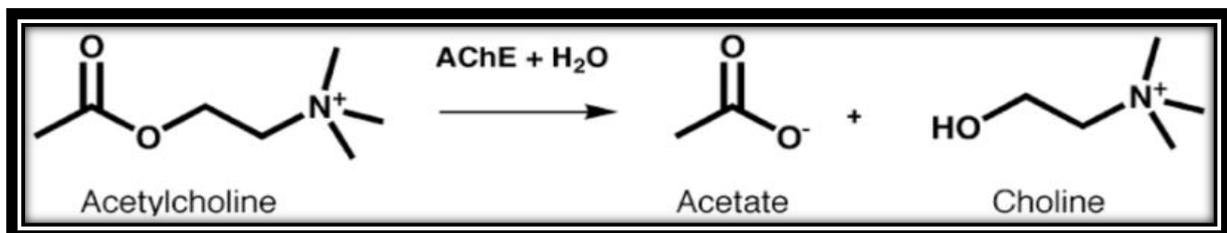


Figure II.2. Hydrolyse de l'acétylcholine (<http://www.alzheimer.ca/fr>).

III. Structure de l'acétylcholinestérase

La structure publiée en 1991 était celle du dimère entier d'AChE. Chaque monomère est constitué de 11 feuillets β et de 15 hélices α , ainsi que d'une courte portion de feuillet β , à l'extrémité N-terminale, qui n'est engagée dans aucune interaction avec le reste de la structure [23]. Dans le dimère, les deux monomères sont liés, l'un à l'autre, par un «paquet» de 4 hélices α : deux hélices α de chaque monomère, dont l'hélice α C-terminale, participent à la mise en place d'un accolement inter-résidus très stable. Les cystéines C-terminales (Cys537)

de chacun des deux monomères établissent entre elles un pont disulfure inter-chaînes qui stabilisera, covalamment, cette interface de dimérisation[19].

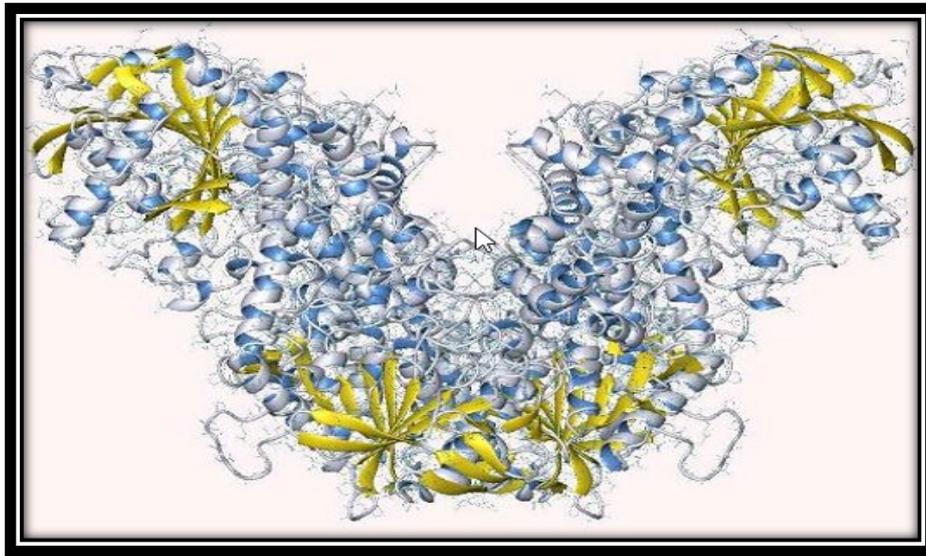


Figure II.3. Structure tridimensionnelle de l'acétylcholinestérase[23].

IV. Le site actif et la triade catalytique

Le site catalytique de l'AChE est situé au fond d'une gorge profonde et étroite [24]. On distingue deux sous-sites : le site anionique et le site estérasique. Le site estérasique correspond au locus au niveau duquel la portion acétyl de la molécule d'ACh se fixe et forme l'intermédiaire tétraédrique.

La triade catalytique est composée des résidus Ser200, Glu327 et His440 (Figure II.4). C'est au niveau de la sérine catalytique que se fixe la portion carbonyle de la molécule d'ACh. L'His440 se comporte comme un catalyseur acido-basique pour la formation et la décomposition de l'intermédiaire tétraédrique. Grâce à son noyau imidazole, elle établit deux liaisons hydrogènes avec la Ser200 et le Glu327 qui jouent, dans cette triade catalytique, le rôle de donneur et d'accepteur final de proton, respectivement [21].

L'enzyme devra pouvoir stabiliser l'oxygène du carbonyle de l'ACh, qui se charge négativement lors de la formation de l'intermédiaire tétraédrique. De fait, une poche est présentée dans le site actif de l'enzyme, qu'on nomme le trou « oxyanion », et qui est constituée des résidus Gly118, Gly119 et Ala201 (Figure II.4) [20].

Ainsi on trouvera également, dans le sous-site estératique, une petite cavité hydrophobe nommée la « poche acyle », constituée des résidus Trp233, Phe288, Phe290 et Phe331 (Figure II.4). Cette poche joue un rôle essentiel dans la sélectivité de substrat de l'AChE, qui ne pourra hydrolyser efficacement que les esters pouvant loger leur portion aliphatique dans cette poche [20].

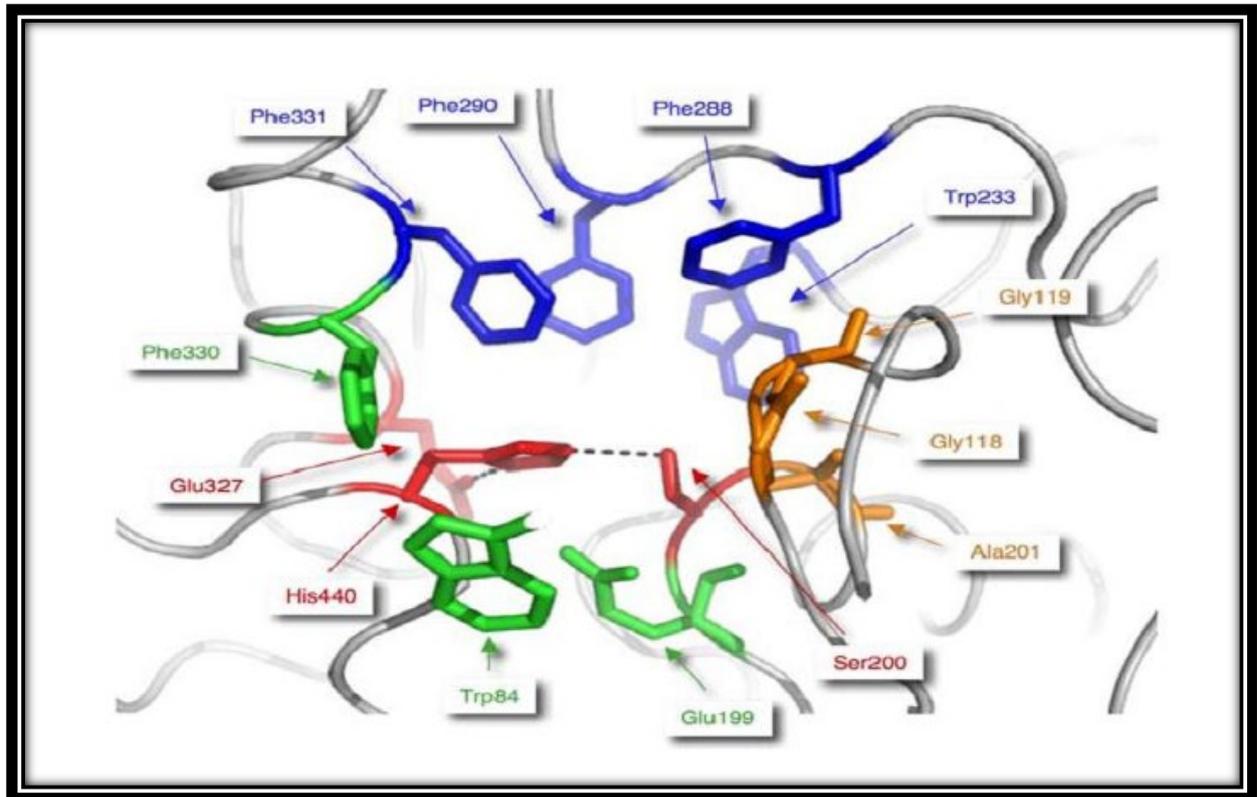


Figure II.4. Vue détaillée du site actif de l'acétylcholinestérase[21].

Le site anionique tient son nom plus de l'histoire que de sa réalité propre. En effet, l'AChE portant une charge positive, il avait été postulé que le site actif de l'AChE puisse être constitué par un amas de résidus acides (chargés négativement au pH physiologique) qui aurait eu la charge de stabiliser le substrat durant la catalyse. En réalité, ce site au niveau duquel la portion tétraméthylammonium (TMA) du substrat sera stabilisée est plutôt aromatique qu'anionique ; il est constitué des résidus Trp84, Glu199 et Phe330. La charge positive du ligand sera effectivement stabilisée par l'attraction électrostatique du résidu

Glu199, mais le sera beaucoup plus effectivement par son interaction avec les électrons des noyaux aromatiques environnant. Ce sous-site anionique est capital pour la catalyse : on estime que plus de 50% de l'énergie de stabilisation du substrat lui est directement imputable.

Les résidus Trp84 et Phe330 seront les deux plus importants contributeurs à cette énergie de stabilisation [25].

V .Mécanisme catalytique

L'AChE est une carboxylestérase , appartenant à la famille des sérines hydrolases [26,27].

Cette famille comprend, entre autres, la trypsine, la chymotrypsine et l'élastase. Les sérines hydrolases sont considérées comme des enzymes relativement rapides et efficaces, on y trouvera en effet toujours une poche responsable de la stabilisation de l'intermédiaire tétraédrique, et une autre en charge de la spécificité de substrat, et nommée « poche acyle », dans le cas de l'AChE .

Le mécanisme catalytique des sérines hydrolases (Figure II.5), conservé, est le suivant :

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

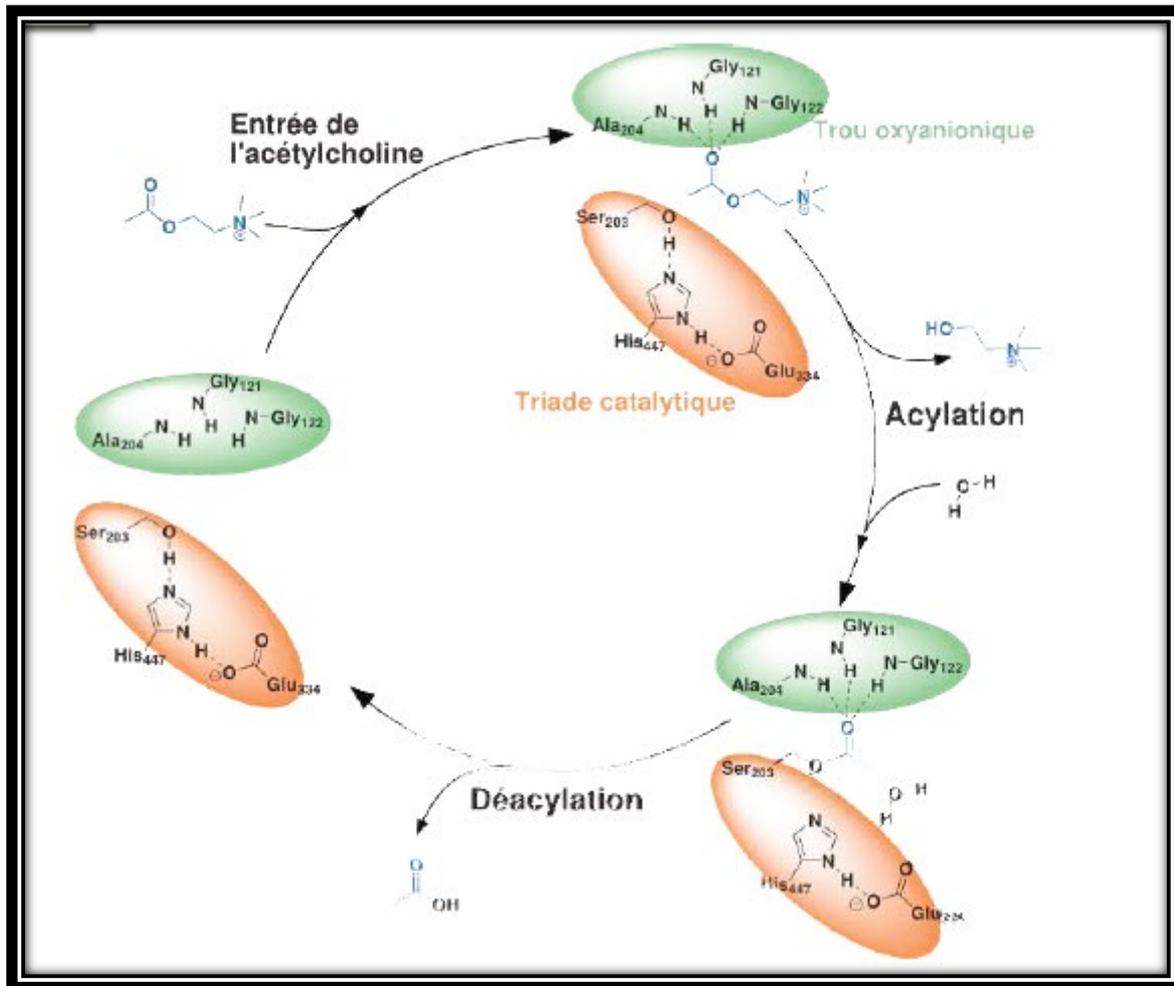


Figure II.5. Représentation schématique du mécanisme d'action de l'AChE [26].

VI. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Avec le vieillissement, le taux d'acétylcholine commence à décliner naturellement conduisant à des pertes de plasticité cérébrale et des difficultés d'apprentissage. En effet, les neurones cholinergiques sont connus à mourir à un rythme accéléré. L'utilisation des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase s'est avérée très efficace pour stimuler la capacité de mémoire chez ces individus en compensant la faible activité cholinergique naturellement. A l'heure actuelle, un bon nombre d'inhibiteurs de l'AChE sont mis en évidence pouvant être classés selon leur origine et/ou mécanisme d'inhibition [28].

VI.1. Les Inhibiteurs irréversibles

Les organophosphates sont des molécules inhibant irréversiblement l'AChE. La metrifonate faisant partie de ce groupe présente une activité inhibitrice modérée vis-à-vis l'enzyme. A cause des effets secondaires engendrés par cette molécule (affaiblissement musculaire, problèmes respiratoires...etc.), elle a été retirée du marché [29].

La rivastigmine (Figure II.6) est un inhibiteur irréversible de l'AChE, commercialisé sous le nom de Exelon®. Cette molécule agit aussi bien sur l'AChE ou la BuChE en formant un complexe lié par une liaison covalente entraînant une inactivation transitoire des enzymes. Chez le sujet sain jeune, une dose de 3 mg par voie orale entraîne une diminution d'environ 40 % de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) dans le LCR dans l'heure et demie après administration [30].

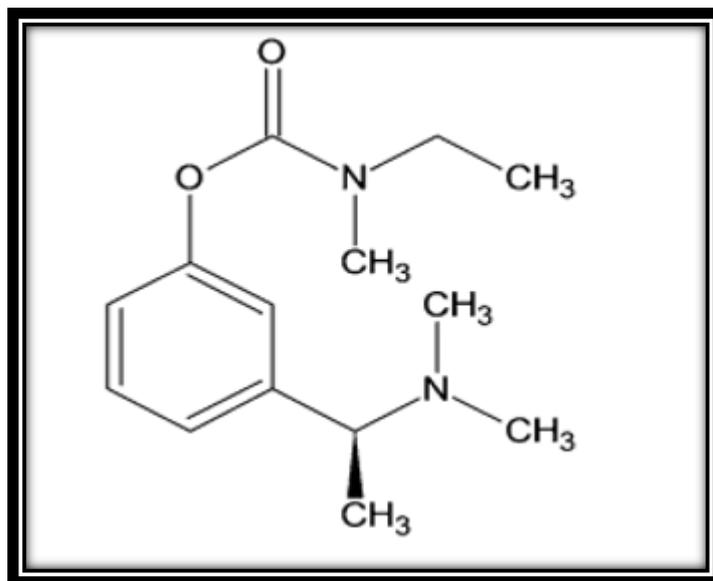


Figure II.6. Structure chimique de la Rivastigmine [30].

VI.2. Les inhibiteurs réversibles

Ce sont des molécules capable d'inhiber l'AChE en faisant intervenir des liaisons faibles de type hydrogène, interactions hydrophobiques, Van der Waals...etc.

VI.2.1. Tacrine (Cognex)

La tacrine (Figure II.7) est une molécule employée dans le traitement des troubles de la mémoire chez les malades souffrant de la maladie d'Alzheimer et a permis pour la première

fois d'obtenir un certain degré d'amélioration. Premier inhibiteur de l'AChE mis à disposition, la tacrine est distribuée depuis 1993 aux États-Unis et depuis 1994 en France sous le nom (Cognex®). Ce médicament peut entraîner des effets indésirables liés à l'excès d'acétylcholine : nausées, vomissements, diarrhées, crampes abdominales, sécrétion excessive de salive. Il semble en outre que la prise de doses très importantes de tacrine soit toxique pour les cellules du foie [31].

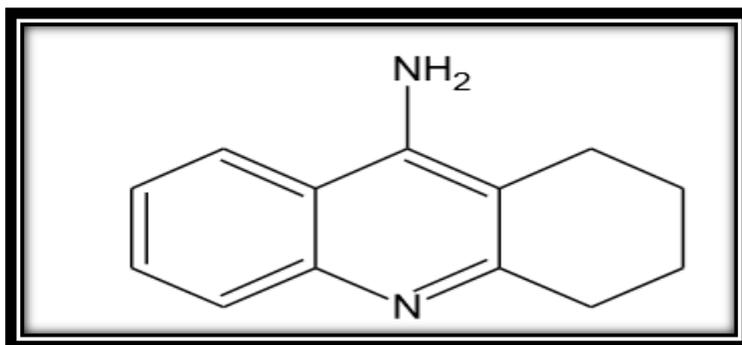


Figure II.7. Structure chimique de la Tacrine [31].

VI.2.2. Donépézil (Aricept)

Approuvé par la Food and Drug Administration en 1996. Le donépézil (Figure II.8), présent sous la forme de chlorhydrate de donépézil, est le deuxième inhibiteur de l'AChE mis sur le marché sous le nom de Aricept®. Selon une étude publiée dans *the New England Journal of Medicine*, le donépézil, traitement courant contre les phases précoces de la maladie d'Alzheimer, est aussi bénéfique dans ses formes plus sévères [30].

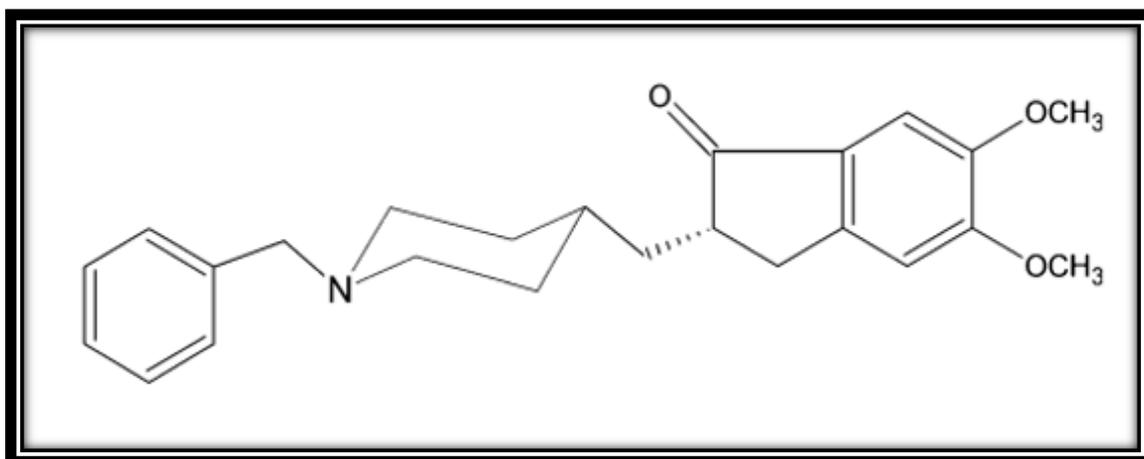


Figure II.8. Structure chimique de la Donépézil [30].

VI.2.3. Galanthamine (Reminyl)

Galanthamine (Figure II.9) est un alcaloïde avec amine tertiaire, il a été approuvé dans plusieurs pays pour le traitement de la maladie d'Alzheimer [32]. Plusieurs dérivés ont été synthétisés et étudiés et ont montré un potentiel plus fort que celui de la galanthamine [33].

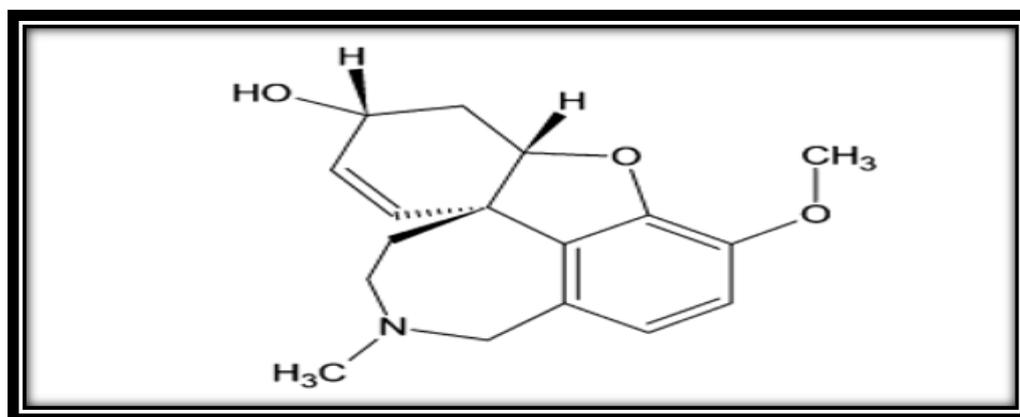


Figure II.9. structure chimique de la Galanthamine [32].

VI.2.4. Huperzine

L'huperzine (Figure II.10) est un autre alcaloïde inhibant l'AChE. Il a été isolé à partir d'une herbe médicinale chinoise *Huperziaserrata*. Cette molécule possède un très bon effet inhibiteur avec un degré de toxicité très bas, elle a été prise comme composé lead dans le design de plusieurs dérivés [34].

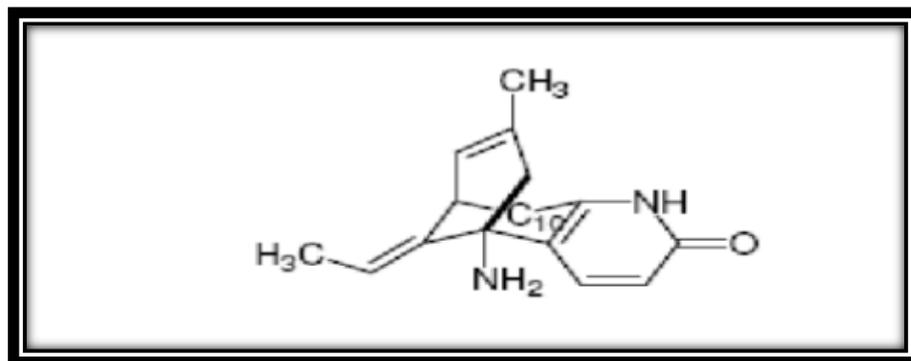


Figure II.10. Structure chimique du Huperzine [34].

VI.2.5. Les monoterpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprène C_5H_8 , et ont pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à dire $(C_5H_8)_n$.

Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques (Figure II.11).

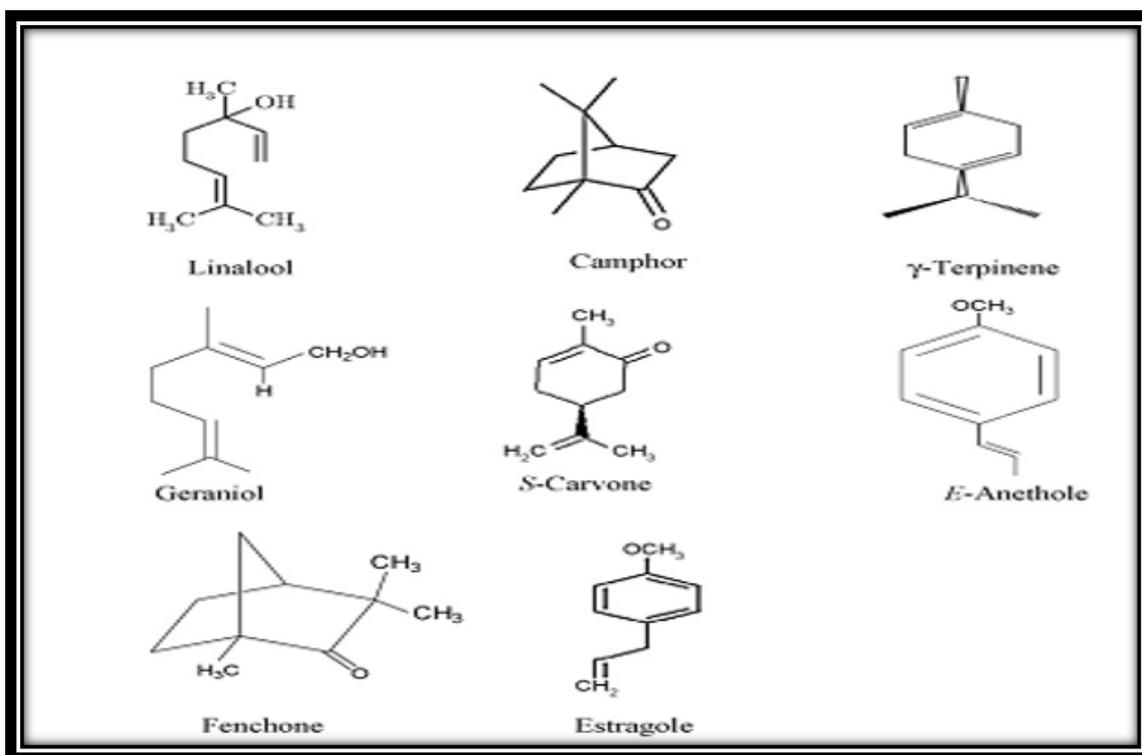


Figure II.11. Structure des Monoterpènes connus [35].

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

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques du monoterpène, en particulier leur pouvoir antifongique, Antibactérien, antioxydant

L'activité antioxydante de ces composés est exploitée dans la prévention et la lutte contre des maladies comme Alzheimer l'artériosclérose, et le cancer.

Des nouveaux travaux montrent l'effet inhibiteur de monoterpène sur l'acétylcholinestérase [35], cette approche peut être utilisée dans l'invention des nouveaux médicaments d'origine naturelle, pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

CHAPITRE III :
DOCKING MOLECULAIRE

I. Définition

Le docking ou amarrage protéine-ligand est un problème de biologie structurale qui, à partir des structures tridimensionnelles (3D) des protéines et de leurs propriétés physico-chimiques, consiste à prédire comment les protéines et les ligands s'associent entre elles pour former des complexes fonctionnels au niveau de la cellule. La connaissance de la structure des complexes protéine-ligand permet aux chercheurs de mieux comprendre les mécanismes clefs mis en jeu lors d'une interaction entre eux, ce qui constitue un enjeu scientifique majeur, autant en termes fondamentaux (expliquer une fonction cellulaire) que pour la recherche appliquée (inhiber spécifiquement une fonction cellulaire).

Actuellement, les méthodes employées pour étudier le docking combinent des phases automatiques [36], prenant en compte les paramètres topologiques ainsi qu'énergétiques (physico-chimiques) des protéines et des phases de visualisation moléculaire permettant d'évaluer les résultats obtenus [37]. La phase automatique est coûteuse en temps de calcul, et fournit un grand nombre de solutions de docking potentielles difficilement discriminables juste sur la base des paramètres évalués. C'est pourquoi une phase d'analyse visuelle manuelle par un expert est nécessaire afin d'obtenir un résultat pertinent. Néanmoins cette analyse est très lourde en terme de quantité d'information qu'il faut prendre en compte simultanément (manipulation d'objet 3D, caractéristiques physico-chimiques, données biologiques, etc.).

II. Les interactions protéine-ligand

Les liaisons faibles permettent le repliement des molécules stables en raison du grand nombre de liaisons intramoléculaires accumulées. Elles interviennent aussi bien entre atomes d'une même molécule, qu'entre atomes de molécules voisines, ou encore entre molécules et solvant. Au niveau du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles [38].

II.1. Les liaisons ioniques

Une liaison ionique se crée entre deux atomes d'électronégativités très différentes (Figure III.1). Un atome cède un ou plusieurs électrons de valence à l'atome le plus électronégatif, qui porte alors une charge entière négative. Celui qui a cédé le ou les électrons portés une charge entière positive [39].

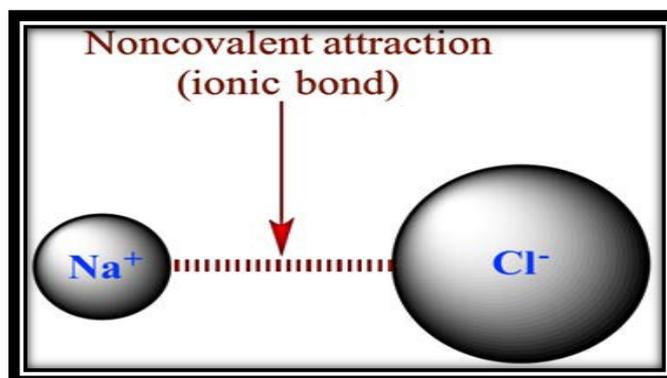


Figure III.1. Liaison ionique[39].

II.2. Les forces de Van Der Waals

Les interactions de Van Der Waals sont extrêmement faibles et se manifestent à des distances courtes. Les interactions entre les nuages électroniques de deux atomes adjacents conduisent à la présence d'une force attractive pour une distance de 4 Å (Figure III.2). De part leur grand nombre, ces interaction jouent un rôle important dans la stabilisation de la structure des protéines et favorise le compactage[40]. Les interactions de van der Waals, contribuant à la stabilisation du système avec une énergie comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol [41].

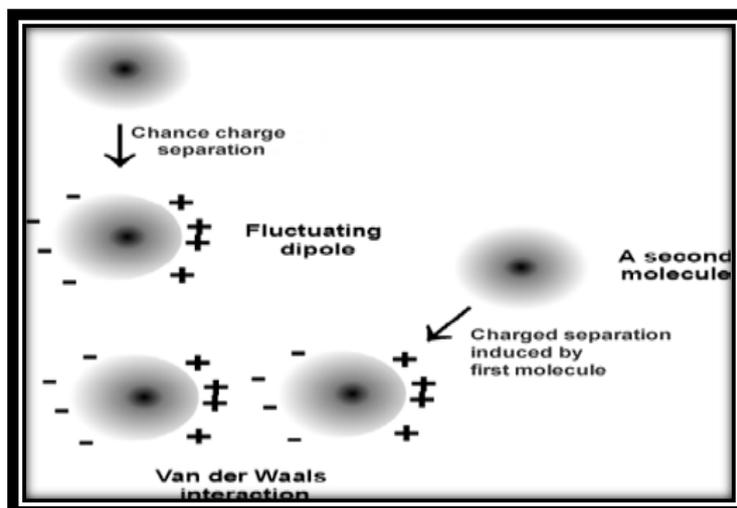


Figure III.2. Forces de van der Waals[40].

II.3. La liaison hydrogène

Cette liaison, également appelée pont hydrogène, intervient lorsqu'un atome d'hydrogène lié par covalence à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électronégatif (l'accepteur, généralement un atome d'azote ou d'oxygène) (Figure III.3).

Ce type de liaison, pouvant être intra ou intermoléculaire, explique en grande partie l'arrangement spatial des macromolécules mais aussi l'importance de l'effet structurant de l'eau. Sa force est de l'ordre de 12 à 30 kJ/mol, Elle est assez élevée pour avoir des conséquences importantes et assez faible pour être réversible [41].

La liaison hydrogène est donc un élément essentiel dans la structure et la dynamique des complexes protéine-ligand, elle contribue à leur stabilité et joue un rôle important à la détermination de leur énergie [42].

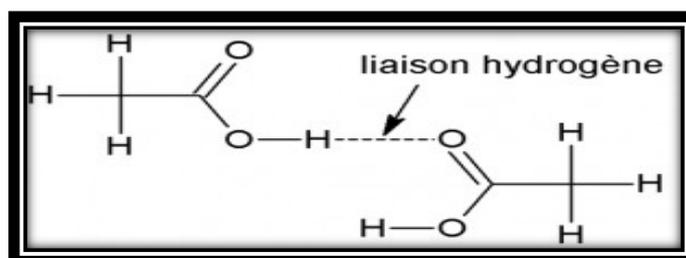


Figure III.3. Pont hydrogène[41].

II.4. Les interactions hydrophobes

Les molécules ou groupes non polaires ne sont pas capables de former de liaisons hydrogène et ne peuvent donc pas s'hydrater : on les nomme pour cette raison substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à minimiser les contacts avec l'eau. La force des interactions hydrophobes est de l'ordre de 20 à 30 kJ/mol.

Une molécule hydrophobe rompt localement le réseau de liaisons hydrogène du solvant et crée un état énergétiquement défavorable en diminuant le désordre. Les molécules d'eau se réorganisent alors autour des molécules hydrophobes de manière à minimiser l'énergie[38].

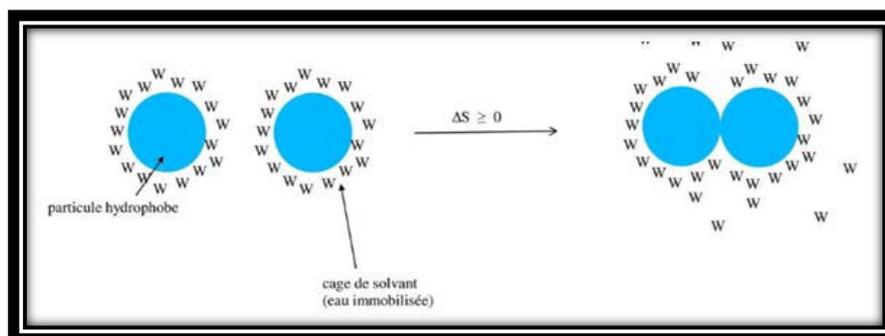


Figure III.4 Interactions hydrophobes [38].

III. Les étapes de docking

Le docking moléculaire s'accomplit au deux étapes complémentaires (Figure III.5). Tous d'abord, les orientations adoptées par le ligand lors de l'arrimage dans le récepteur sont explorées par un algorithme de recherche. L'étape suivante consiste à évaluer ces conformations par un calcul de l'énergie libre d'association ou de leur affinité vis-à-vis son récepteur grâce à une fonction mathématique appelée fonction de score[43].

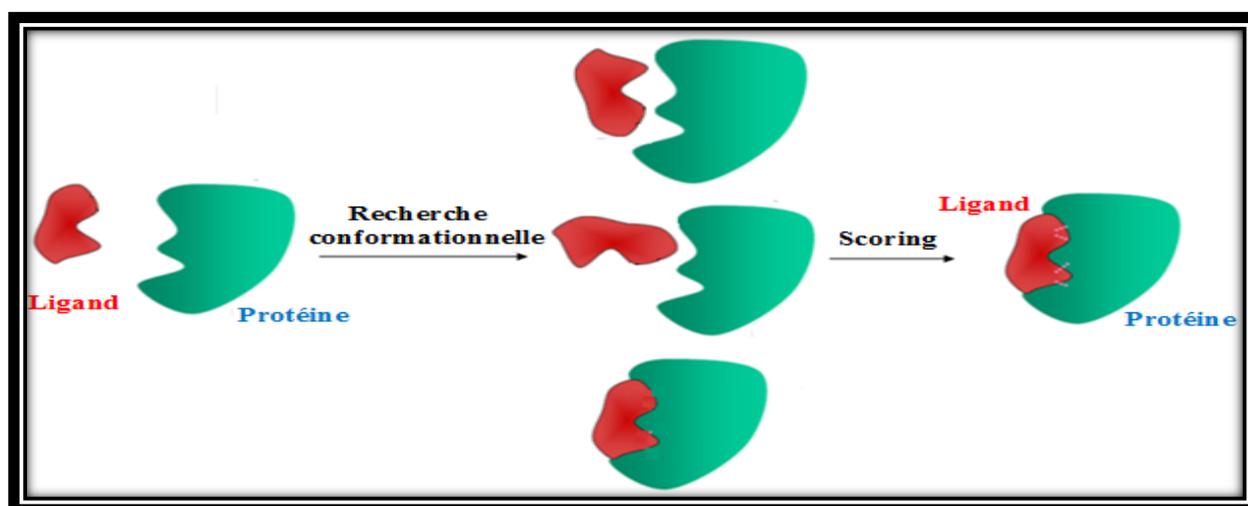


Figure III.5. Représentation schématique des étapes du docking moléculaire [43].

Le docking peut être interprété de manière qualitative par observation du ligand dans la cavité de la protéine mais également de manière quantitative par traitement des données provenant des fonctions de score.

IV. Présentation de la méthode du docking moléculaire

IV.1. Principe

Le plus important problème pour l'étape de docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est en fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique, et déterministe[36].

IV.1.1.L'approche combinatoire

Cette approche est basée sur des grilles de valeurs pour chaque degré de liberté, et chacune de ces grilles est explorée de manière combinatoire au cours de la recherche. En raison de l'effet combinatoire, le nombre d'évaluations augmente bien plus rapidement que le nombre de degrés de liberté. Pour cela, des critères de fin sont imposés pour éviter à l'algorithme de parcourir des portions de l'espace qui ne mèneraient qu'à de mauvaises solutions. Dans un premier temps le ligand est découpé en parties rigides et flexibles. Entre les points où des rotations sont possibles, une ou plusieurs «ancres» rigides sont définies, ensuite une première partie rigide est mise en interaction avec le récepteur puis les parties flexibles sont ajoutées de manière successive avec une exploration des angles de torsion. Le plus important est le choix des fragments de base à placer en premier dans le site car il est très difficile pour les algorithmes de compenser une mauvaise position initiale. Les différentes implémentations changent par la manière dont le premier segment rigide est placé dans le site et dans les procédures d'élimination quand le nombre d'angles de rotation augmente. Cette méthode a été incorporée dans plusieurs programmes dont Dock [44] et FlexX[45]. Le programme FlexX positionne l'ancre à partir d'une modélisation des interactions chimiques et effectue une sélection automatique des fragments de base [46,47]. Les fragments sont ajoutés de manière incrémentale. Chaque angle possible est construit et les angles qui produisent des recouvrements avec le récepteur ou des conflits internes sont rejetés. A chaque ajout, le calcul de l'énergie est pratiqué et les molécules partiellement construites sont classées. Cette procédure est répétée jusqu'à la construction complète de la molécule.

IV.1.2.L'approche stochastique

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Habituellement il s'agit de modifier un degré de liberté à chaque fois. Un des principaux algorithmes stochastiques est la méthode de Monte Carlo [48]. Cette méthode a été incorporée dans plusieurs programmes dont GOLD [49], et AutoDock[50].

IV.1.3.L'approche déterministe

Dans l'approche déterministe, l'état initial détermine les mouvements à effectuer pour générer l'état suivant. Cet état devant être d'énergie égale ou inférieure à celle de l'état initial [51]. Le problème des systèmes déterministes est qu'ils peuvent facilement rester piégés dans un minimum local car leurs capacités à surmonter des barrières énergétiques sont faibles. Il s'agit de l'approche la plus simple et la plus directe.

IV.2. Obtention des structures

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la *Protein Data Bank*[52], un grand nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permet d'avoir une information pertinente. Quand la méthode expérimentale n'est pas possible ou n'a pas été encore réalisée, la solution à envisager en premier est une approche par modélisation comparative [53].

IV.3. Applications

Il y a deux principales applications au programme de docking. La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction. La seconde consiste à optimiser des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer les performances des différents programmes de docking pour chaque application. L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD (root-mean-square deviation) du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal. La valeur admise est une différence maximale de 2 angströms au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non adéquate [54.55]. En général, les erreurs de docking sont dues à un échantillonnage insuffisant ou à une fonction de score inadéquate.

IV.4. Le processus de scoring

IV.4.1.Principe

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. Le principe thermodynamique est le suivant [56] :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{complexe}} - \Delta G_{\text{ligand}} - \Delta G_{\text{protéine}}$$

Un score ne prédit donc en rien une activité mais bien une affinité [57].

L'utilisation des fonctions de scoring est double. Tout d'abord, elles permettent de déterminer la conformation qui représentera au mieux le ligand concerné. Cette conformation est appelée «première pose». L'autre utilisation des scores est de pouvoir classer les premières poses de chaque ligand afin d'établir un classement final des molécules les plus prometteuses.

IV.4.2. Familles de fonctions de scoring

Les fonctions de scoring peuvent être classées dans deux grandes catégories: les fonctions empiriques et les fonctions basées sur la connaissance appelées *knowledge-based*.

a. Les fonctions de scoring empiriques

Les termes représentant chacun des types d'interactions connues dans le complexe (liaison hydrogène, contact hydrophobe, interaction ionique, et parfois les contributions entropiques) sont additionnées. La plupart des programmes de docking implémentent ce type de fonction de score témoignant de leur efficacité en termes de rapport précision/rapidité [58].

b. Les fonctions de type connaissances

Ces fonctions proviennent de l'analyse des structures tridimensionnelles de complexes ligand-protéine déterminés de manière expérimentale [51]. Des règles définissant la géométrie préférentielle des interactions sont déduites de ces structures grâce à des moyens statistiques [59].

V. Les programmes de docking

Au fil des années, on note l'apparition d'un nombre important de programmes de docking moléculaire (commerciaux ou non) avec une grande diversité des algorithmes de recherche et des fonctions de score (Tableau III.1).

Tableau III.1 Principaux programmes de docking moléculaire[59].

Nom	Editeur	Site Internet
Auto Dock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
Flex X	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/flexX/
Fred	Open Eyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
Ligand Fit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

VI. Le programme FlexX

FlexX est un programme bioinformatique pour prédire l'affinité, le mode et la force d'interaction protéine-ligand. Il est capable d'arrimer des ligands de nature organique dans un environnement constitué d'acides aminés. La technique employée par FlexX est la construction incrémentale du ligand au sein du site actif. L'étape limitant de ce processus est le choix du fragment servant de base à la reconstruction.

Cet algorithme permet de prendre en compte la liberté conformationnelle de la molécule et d'autre part d'induire un maximum d'interactions avec le site de fixation. Nous avons choisi cet algorithme en raison de sa rapidité à traiter une molécule avec une bonne précision.

Lors du docking moléculaire, le programme FlexX tient compte de trois paramètres importants [60] : La flexibilité conformationnelle du ligand, le niveau ou le type d'interaction entre la protéine et son ligand et enfin la fonction de score utilisée pour classer les solutions ou les résultats de docking par évaluation de leur énergie d'interaction.

VI.1. La flexibilité conformationnelle du ligand

La stratégie utilisée dans le programme FlexX pour le traitement de la flexibilité du ligand est la construction incrémentale, elle est divisée en trois étapes complémentaires : le choix du fragment de base, le placement du fragment de base, et enfin la reconstruction du ligand.

• Choix du fragment de base

La première étape, après division du ligand en fragments rigides et parties flexibles, est le choix d'un fragment rigide capable d'établir un nombre de liaisons suffisant avec la protéine.

• Placement du fragment de base dans le site de liaison

La deuxième étape est le positionnement du fragment de base dans le site actif, pour cela différents points susceptibles d'établir des liaisons avec le fragment sont générés. Puis, des jeux de deux ou trois points significatifs du site d'interaction sont extraits, formant des lignes ou des triangles. Enfin, le fragment est superposé à chaque ligne ou triangle (Figure III.6).

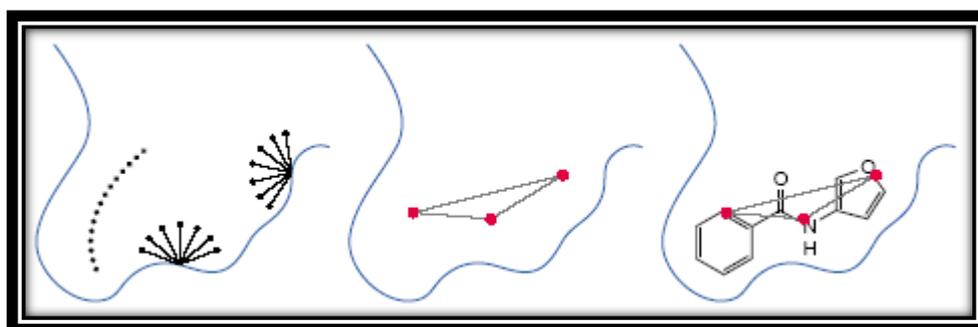


Figure III.6. Superposition des différents points du site d'interaction avec le ligand [4].

• Reconstruction de ligand

Cette dernière étape consiste à rajouter progressivement au fragment de base, tous les parties flexibles préalablement découpés pour reconstruire le ligand (Figure III.7). La construction incrémentale peut représenter comme un arbre où les points de premier niveau correspondent aux solutions obtenus lors de la recherche des positions pour le premier fragment.

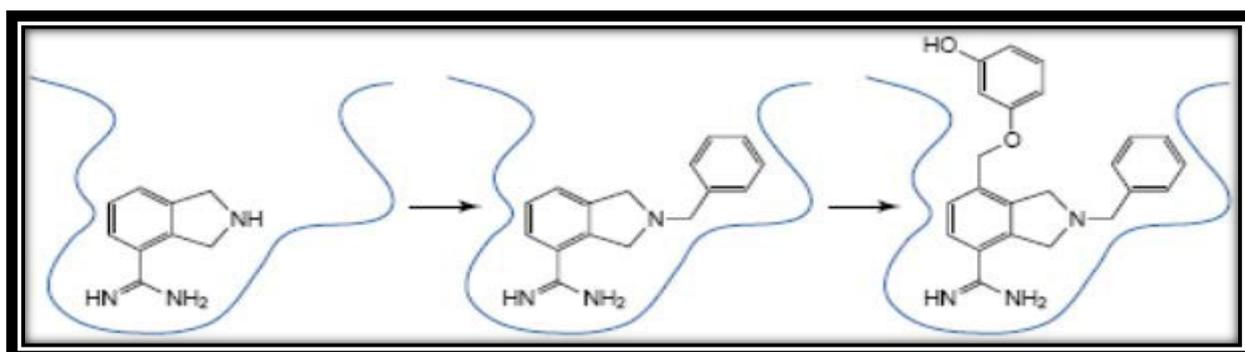


Figure III.7. Construction incrémentale d'un ligand au sein d'un récepteur [4].

VI.2. Les types d'interactions ligand-récepteur

Le programme FlexX repose sur la détection des interactions formées entre le ligand et le récepteur telles que les ponts d'hydrogène et salines, les contacts hydrophobiques spécifiques tels que les interactions entre le centre d'un cycle aromatique et les atomes d'un autre cycle, d'un amide ou des groupements méthyle et les interactions hydrophobiques non spécifiques entre les atomes de carbone aliphatique ou aromatique qui sont issus des distances favorisées de l'interaction.

VI.3. La fonction de score

La fonction de score utilisée dans FlexX (équation III.1) dérive de l'équation de Böhm [61], c'est une estimation de l'énergie d'interaction protéine-ligand:

$$\Delta G = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{rot}} \times N_{\text{rot}} + \Delta G_{\text{hb}} \sum_{\text{ponts}} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{\text{io}} \sum_{\text{intionic}} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{\text{aro}} \sum_{\text{intaro}} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{\text{lipo}} \sum_{\text{contlipo}} f^*(\Delta R)$$

Équation III.1 Fonction de score utilisée par FlexX [61].

ΔG est la variation d'énergie libre globale de complexation. ΔG_0 est l'entropie conformationnelle du ligand. ΔG_{rot} représente la perte d'entropie du ligand lors de la complexation au récepteur, il est basé sur le nombre des liaisons acycliques libres du ligand. $f(\Delta R, \Delta \alpha)$ est une fonction de pénalité qui sert à mesurer la déviation de la distance et de l'angle du liaison.

VII. Protocole de docking moléculaire

La première étape consiste au téléchargement la structure chimique de la cible à traiter (Figure III.8), qui peut être issue d'une des trois méthodes expérimentales suivantes : la résonance magnétique nucléaire, la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. En ce qui concerne le ligand il peut être obtenu à partir des bases de composés chimiques. La troisième étape consiste à déterminer les résidus d'acides aminés du site actif, qui intervient dans le processus de reconnaissance de ligand. La dernière étape est le docking moléculaire de ligand avec le site actif de la protéine cible et de prédire son mode d'interactions[62].

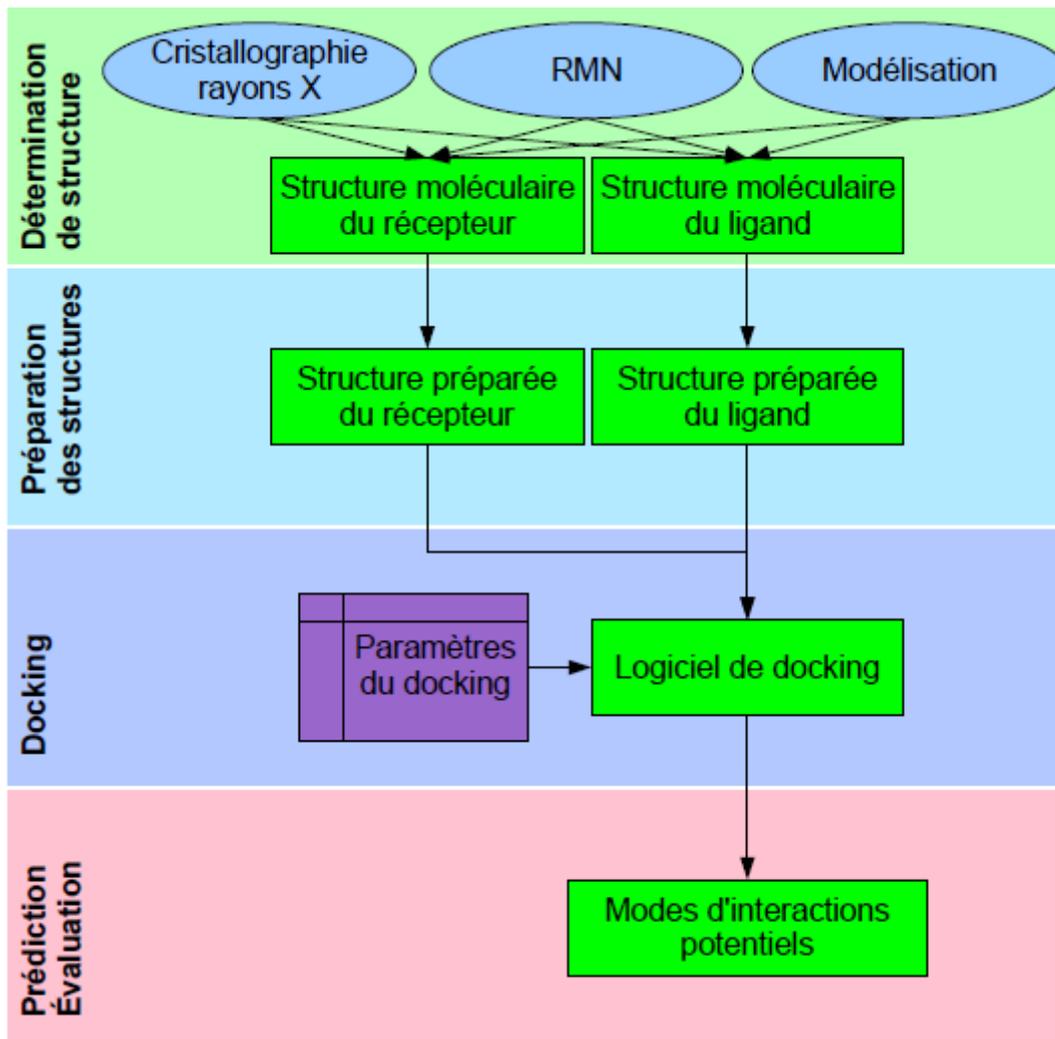


Figure III.8. Etapes typiques d'un docking moléculaire[62].

CHAPITRE IV :
MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Matériels

I.1. Ordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé deux microordinateurs puissants HP et DELL avec une mémoire vive de 2GO. Le programme utilisé a été installé sous le système d'exploitation Windows10 dans HP et Windows7 dans DELL.

I.2. Programme utilisé (FlexX)

En ce qui concerne le programme du docking moléculaire, nous avons utilisé le programme FlexX dans sa version la plus récente (2.3.2. 2017). Il s'agit d'un programme informatique commercialisé très réputé utilisant un algorithme incrémentale, qui le permet l'exploration d'un espace conformationnel très important. C'est l'un des meilleurs logiciels de docking moléculaire [63]. Il permet de simuler les interactions protéine ligand, il s'est avéré efficace dans de nombreux processus d'identification de molécules à activité thérapeutique [64-66]. Plusieurs agents thérapeutiques ont été découverts avec FlexX et sont sur le marché [67].

I.3. Banques de données

I.3.1. La banque de données des protéines

La *Protein Data Bank* (PDB) est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques y compris les protéines et les acides nucléiques. Elle a été créée en 1971 au *Brookhaven National Laboratory* (Upton, USA) et contenait à l'origine 7 structures. A ce jour, la PDB réunit plus de 140135 structures protéiques (<http://www.rcsb.org/pdb/statistics/holdings.do>) issues de classes et d'organismes très divers. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X, résonance magnétique nucléaire et microscopie électronique, leur consultation est gratuite et peut se faire directement depuis le site internet de la banque (<http://www.rcsb.org/>).

La banque contient des fichiers pour chaque modèle moléculaire. Ces fichiers décrivent la localisation exacte de chaque atome de la macromolécule étudiée, c'est-à-dire les coordonnées cartésiennes de l'atome dans un repère à trois dimensions (Figure IV.1).

```
ATOM 2 CA MET A 1 -5.725 -8.816 21.543 1.00 C
```

Figure IV.1 Exemple de ligne de l'un de fichier PDB.

I.3.2. La chimiothèque ZINC

La chimiothèque ZINC est une base de données américaine de molécules chimique, gérée par John Irwin dans le laboratoire Shoichet au département de chimie pharmaceutique de l'Université de Californie à San Francisco, USA.

C'est une base prête à l'emploi qui contient plus de 35 millions de composés de divers formats (sdf, mol2 et smile...) destinés au docking moléculaire dont les structures tridimensionnelles sont gratuitement accessibles via son site d'interne (<http://zinc.docking.org>) et les molécules sont disponibles commercialement auprès de divers fournisseurs (Ambinter, eMolecules, Mcule, Molport, ...). Cette base de données permet une recherche par vendeur et les composés sont bien annotés, sous forme de descripteurs chimiques et en termes de propriétés physico-chimiques (<http://zinc.docking.org/>), elle constitue une source majeure de composés bioactifs.

II. Méthodes

II.1. Evaluation de programme FlexX

Avant de débiter notre étude, nous avons essayé de tester la capacité de FlexX (2.3.2. 2017) à prédire l'emplacement correct d'un ligand au niveau de sa protéine cible en utilisant le test RMSD et l'analyse visuelle :

a. L'écart quadratique moyen

La fiabilité d'un programme de docking est évaluée en termes de capacité à reproduire des complexes protéine-ligand déterminés expérimentalement. La valeur de déviation quadratique moyenne ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*) entre la conformation et l'orientation du ligand déterminée par le programme de docking et sa pose dans le complexe expérimental ne doit pas dépasser les 2 angströms, au-delà de laquelle la prédiction est considérée comme non adéquate [68,69]. Ce test a été réalisé sur 100 complexes enzymes-inhibiteurs tirés de la PDB .

b. Analyse visuelle

L'analyse visuelle est une étape complémentaire au test RMSD. Elle permet une meilleure appréciation des résultats obtenus par ce dernier et aide donc à juger de la performance du programme de docking utilisé.

II.2. Docking moléculaire

FlexX utilise la protéine sous le format .pdb et les ligands sous le format .mol2 ou le format .sdf. Le complexe protéine-ligand est téléchargé directement à partir de la PDB en introduisant son code, il apparaît sur l'écran et les étapes suivantes de docking sont nécessaires :

a. Préparation du récepteur

- 1-Sélectionner la ou les chaînes respectives de récepteur ;
- 2-Sélectionner les cofacteurs et les coenzymes ;
- 3-Déterminer le site actif à partir de ligand de référence ;
- 4-Sélectionner les molécules d'eau ;
- 5-Enregistrer le récepteur préparé .

b. Arrimage d'un ligand dans le site actif

Le choix de l'option docking dans le menu permet de sélectionner le ligand à étudier et lancer le docking .

c. Visualisation et traitement des résultats

Après quelques secondes à quelques minutes, selon la taille du ligand, nous pouvons observer sur l'écran le ligand qui vient se placer dans le site actif de l'enzyme, ainsi qu'un tableau de solutions contenant tous les résultats obtenus (score, match, RMSD...ect.), et une figure de l'interaction pour chaque solution possible (Figure IV.2). FlexX donne l'énergie d'interaction en kJ/mol .

Chaque solution possède six scores :

$$\text{-Total-score} = \text{Match-score} + \text{Lipo-score} + \text{Ambig-score} + \text{Clash-score} + \text{Rot-Score} + \Delta G_0.$$

- Match-score = représente les énergies des liaisons hydrogène et des ponts salins formés entre le ligand et les résidus du site actif.
- Lipo-score = énergie des interactions hydrophobiques.
- Ambig-score = énergie des contacts lipo-hydrophiliques.
- Clash-score = énergie d'encombrement stérique.
- Rot-score = la perte d'entropie du ligand lors de la complexation au récepteur.
- ΔG_0 = l'entropie conformationnelle du ligand.

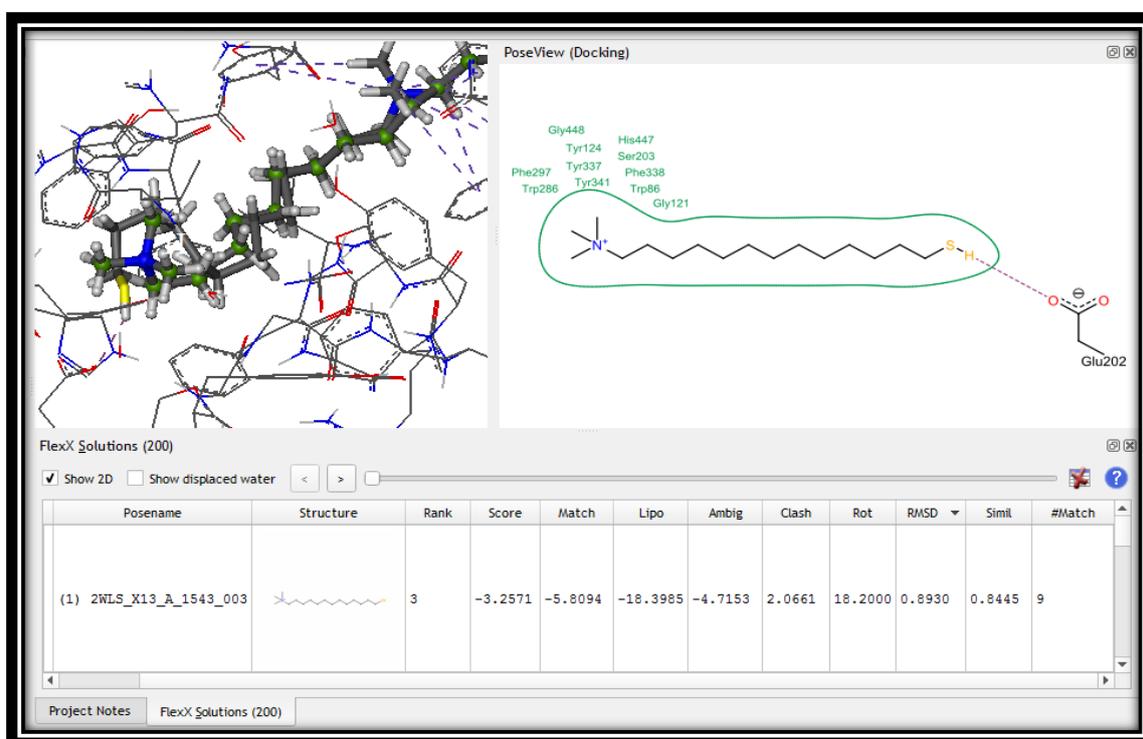


Figure IV.2 Résultats données par FlexX.

II.3. Règle de Christopher A. Lipinski

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, brevetable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. La liste des aspects à inclure est très longue mais on admet communément que les molécules validant au moins deux conditions de la règle de Lipinski sont des candidats potentiels.

Lipinski en 1997 a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle. Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finales de développement [70]. Les critères de cette règle sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV.1 Valeurs seuils des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle de Lipinski :

Propriétés physico-chimiques	Critère de la règle de Lipinski
Poids moléculaire en Daltons	≤ 500
Coefficient de partage octanol/eau (log P)	$-2 \leq \log P \leq 5$
Nombre de donneurs de liaisons hydrogène	≤ 5
Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène	≤ 10

LogP est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanole et dans l'eau. $\text{LogP} = \text{Log} (\text{Coct}/\text{Ceau})$. Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule.

En effet, en complément de ces règles, d'autres critères sont pris en compte dans la sélection de molécules potentiellement candidates [71]:

- Nombre de fonctions routables doit être ≤ 15 ;
- La surface polaire du composé doit être inférieure à 140 \AA^2 ;

- Nombre d'halogènes ≤ 7 ;
- Nombre de cycles ≤ 6 ;
- Pas de grands cycles de plus de 7 membres ;
- Au moins un atome d'azote ou d'oxygène dans la molécule.

CHAPITRE V :
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. Tests de fiabilité du programme FlexX

Pour vérifier si le protocole que nous venons de développer est correct, nous avons jugé utile d'évaluer d'abord la performance du programme FlexX (2.3.2.2017) par les deux tests suivants :

- L'écart quadratique moyen ou le test RMSD.
- L'analyse visuelle.

I.1. Le test RMSD

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer les performances des différents programmes de docking pour chaque application. L'aptitude d'un algorithme à trouver l'emplacement correct du ligand par rapport à son récepteur est habituellement déterminée au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal [72,73].

Les écarts quadratiques moyens entre les positions des ligands de 100 complexes protéine-ligand cristallographiques tirés de la PDB et celles des ligands amarrés par le programme FlexX (2.3.2. 2017), ont été calculés et présentés dans le tableau V.1. Une prédiction correcte est définie par un RMSD inférieur ou égale à 2Å entre le mode de liaison prédit et la structure cristalline [4].

Tableau V.1. Valeurs de RMSD des 100 complexes protéine-ligand étudiés .

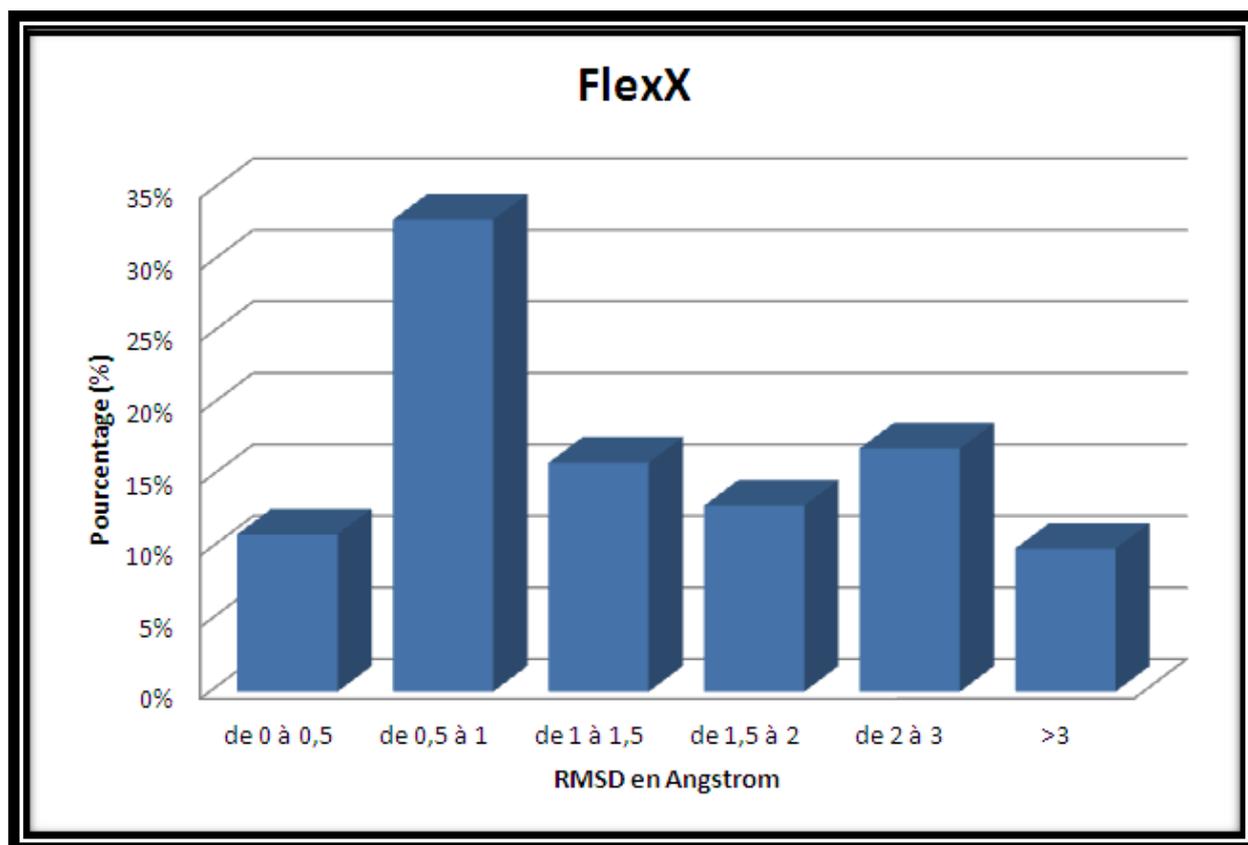
Code de l'enzyme	inhibiteur	RMSD	Code de l'enzyme	inhibiteur	RMSD
4M0E	1YL	0,9502	2HA3	CHT	2,5355
5FOG	GCB	0,7738	2J3Q	TFL	0,6751
1AX9	EDR	0,5188	2JEY	HLO	1,0675
2ACK	EDR	0,3768	2JFO	HBP	2,0238
2WHR	K27	0,3881	2VQ6	FP1	1,2423
3M3D	PG4	1,3365	2WLS	X13	0,8930
1DX6	GNT	0,5148	6CQW	HI6	0,8212

1E66	HUX	0,5944	6CQU	HI6	4,3540
1GPN	HUB	0,6544	6CQV	HI6	2,8438
2C58	ETM	0,6814	6EZH	C6H	1,7114
2JEZ	HLO	0,7767	6EZG	C6H	2,5989
3ZLU	1KA	1,5215	5OV9	PE4	2,7692
6EWK	RMO	0,5662	1N5M	GMN	1,5301
2XUD	DME	1,3136	1J07	DCU	2,2569
1ACL	DME	1,7168	1J06	AE3	2,9054
1ACJ	THA	0,5243	3DL7	P6G	0,9210
5E4J	DME	1,5373	2JGK	P6G	2,6636
5DLP	SO4	0,9518	2JGJ	AE3	2,8217
5EIE	ACT	0,4865	2JGF	P6G	4,1626
1Q84	TZ4	0,5954	2JGL	P6G	2,7171
3ZV7	PEG	0,6458	2JGI	AE3	5,0399
1N5R	1CY	0,8627	6CQZ	VX	1,5635
2X8B	SO4	0,6766	6CQX	7PE	2,5366
5EIH	ACT	0,4289	5HQ3	MES	1,5038
5EHQ	5O2	1,0668	5E2I	PEG	1,4563
1GQS	SAF	0,6484	5EIE	PG4	2,6792
1VOT	HUP	0,4708	5EIA	PG4	4,7369
2C4H	PGE	1,4454	5EHZ	5NZ	1,6242
2C5G	ETM	0,6527	5EHN	P6G	3,0123
2HA0	P6G	1,5995	2HA2	SCK	1,1327
2XU0	TZ4	2,5338	2HA5	ACT	0,3527
2XUP	TZ5	1,2976	2XI4	AFT	0,5179
2XUQ	TZ4	1,3917	5FPP	HI6	0,6425
2XUQ	TZ4	1,3917	5HF5	EDO	0,5691
3DL4	P6G	5,9637	5HF6	EDO	0,5898
3ZLT	PGO	2,9450	5HF8	EDO	0,8023
3ZLV	HI6	0,3776	5HF9	HI6	1,3671

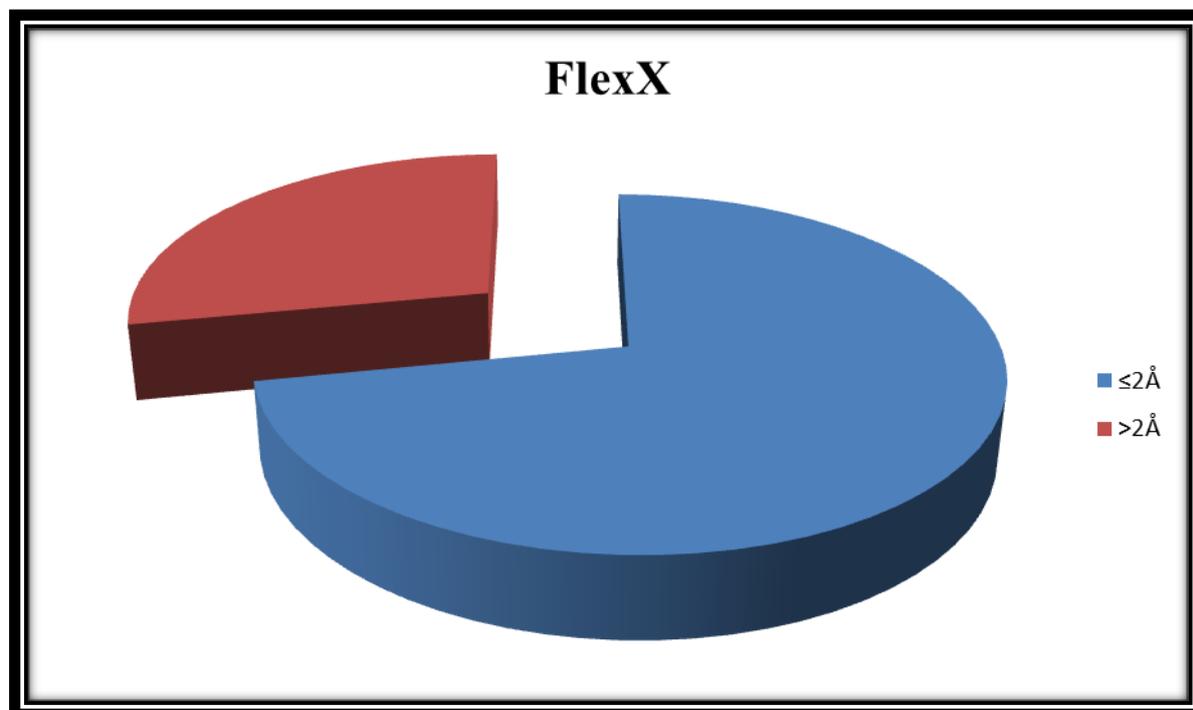
4A23	C56	0,4103	5HFA	FP1	0,7177
4ARA	C56	1,0888	4EY7	GNT	0,3916
4ARB	C57	0,7511	4EY8	E20	0,7238
4B7Z	PEG	1,5925	4TVK	SO4	0,3913
4B8O	PEG	1,7046	4W63	TJH	1,0833
4B81	PEG	2,0632	4X3C	HIB	3,9986
4B82	B3Z	1,6736	5BWB	TNH	3,6490
4B83	B3V	1,1221	5BWC	4VV	1,8078
4B84	Z5K	2,0024	5DTJ	HBP	0,9884
4B85	B3W	1,4123	5E4T	5GB	2,4733
4BCO	SO4	0,7938	5EHX	MBT	0,7210
4BDT	HUW	0,5076	5EI5	AE4	3,1581
4EY5	HUP	0,3100	4EY6	AA7	3,0474

La valeur de RMSD du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du cristal ne dépasse pas 2 Å dans la plupart des complexes étudiés (Tableau V.1).

Les deux graphes suivants montrent les résultats obtenus lors de l'évaluation de programme FlexX pour sa capacité à reproduire les modes d'interaction expérimentaux des composés vis-à-vis de leurs récepteurs, les résultats sont montrés en pourcent (%), à divers intervalles de RMSD.



Graphe V.1. Résultats en % obtenu par FlexX à divers intervalles de RMSD.



Graphe V.2. Résultat global du RMSD en %.

Nous remarquons d'après ces résultats que le programme FlexX reproduit bien les données expérimentales, en effet, 73% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égale à 2Å (Graphe V.2), la majorité des bonnes RMSD se situe dans l'intervalle de 0.5 à 1Å (Graphe V.1), et que seulement 27 % des résultats sont supérieurs à 2Å. Conformément aux travaux de Merzoug (2018), Hioual et al (2014) et Chikhi (2007) [66,74,75,43].

I.2. Analyse visuelle

La visualisation des résultats de docking moléculaire faisant suite au test RMSD est aussi une étape importante pour juger la fiabilité du programme FlexX. Elle permet de visualiser les résultats décrite par les valeurs numériques de RMSD .

Les résultats de docking des trois complexes, le 4EY5 (le meilleur), le 4ARA (l'intermédiaire) et le 3DL4 (le plus mauvais), sont montrés dans les figures suivantes. La meilleure conformation du ligand générée par le docking (colorée en vert) est superposée à la pose expérimentale du ligand de référence (colorée par type d'atome).

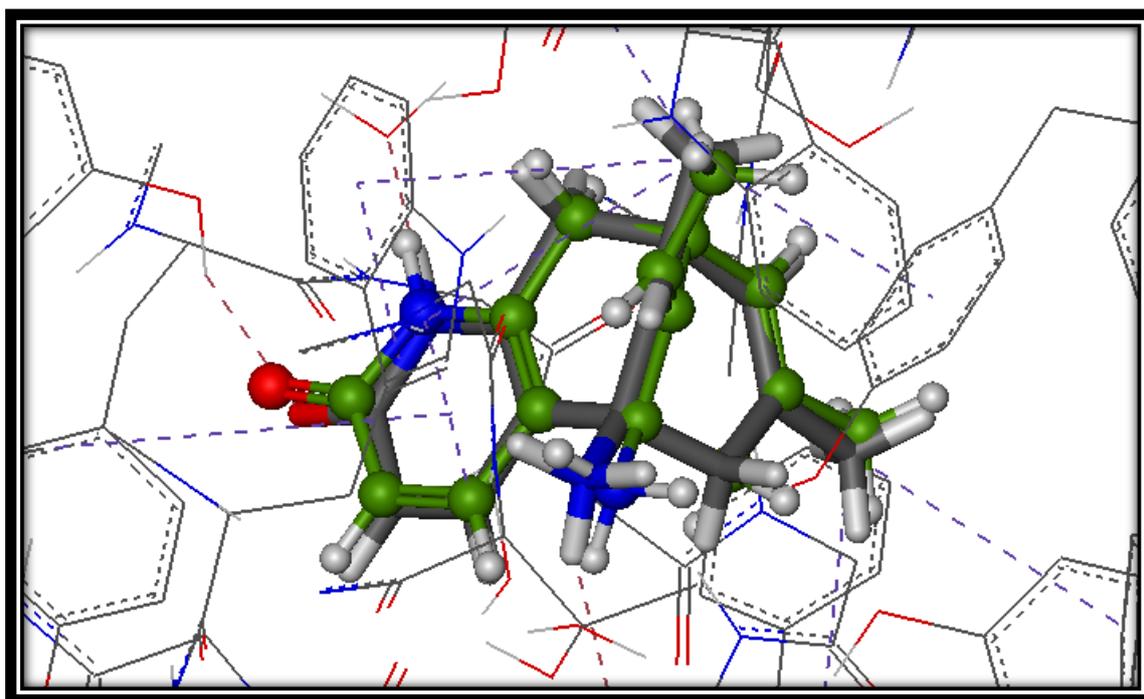


Figure V.1 : Superposition de la conformation du ligand HUP donnée par rayon- X (coloré par type d'atome) et celle simulée par FlexX (colore en vert).

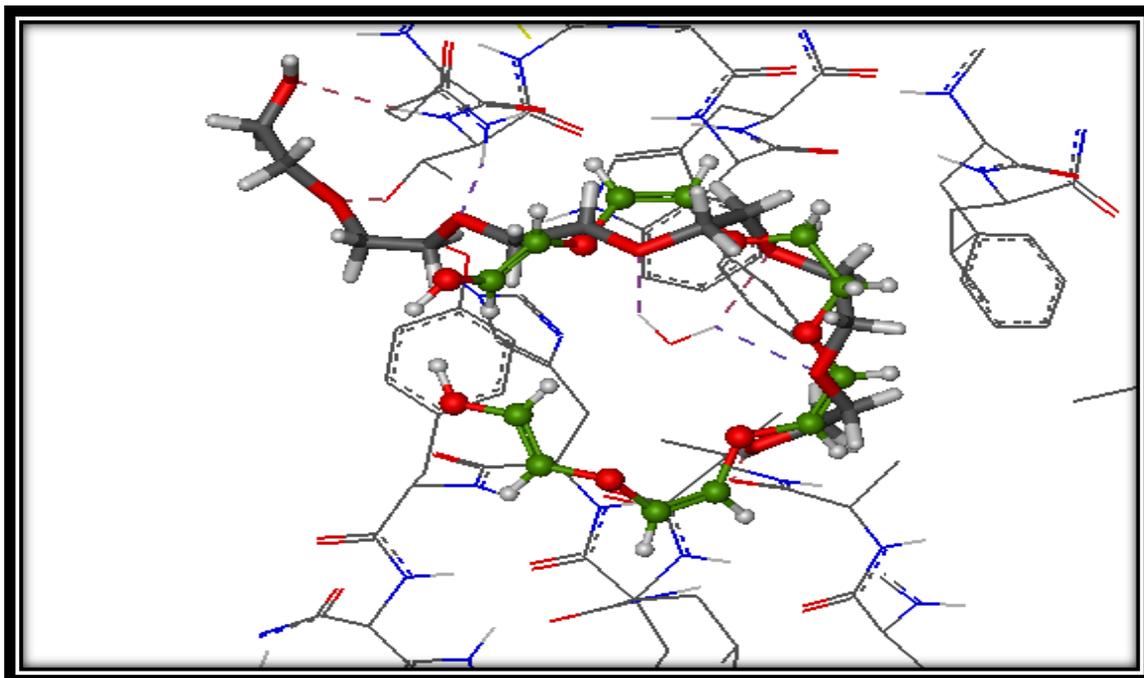


Figure V.2 : Superposition de la conformation du ligand C56 donnée par rayon-X (coloré par type d'atome) et celle simulée par FlexX (colore en vert).

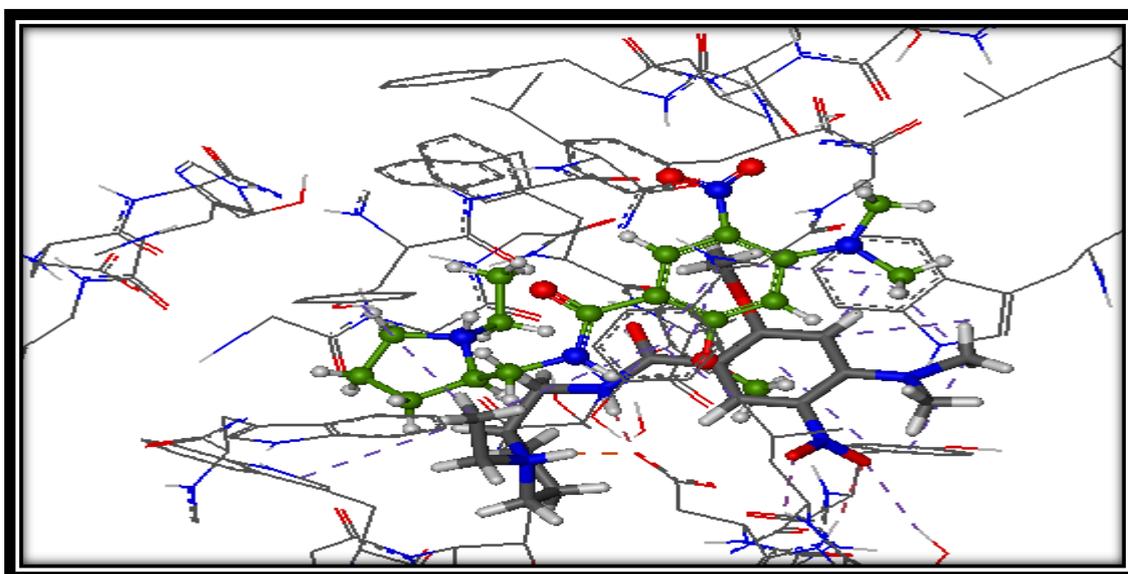


Figure V.3 : Superposition de la conformation du ligand P5G donnée par rayon-X (coloré par type d'atome) et celle simulée par FlexX (colore en vert).

Dans le premier cas, avec un RMSD de 0.3100 Å, la superposition de la conformation optimale du ligand obtenue par docking moléculaire avec la géométrie du même ligand donnée par diffraction des rayons-X est maximale (Figure V.1); dans le deuxième cas, avec un RMSD de 1.0888 Å, elle l'est moins (Figure V.2); alors que dans le troisième cas, avec un RMSD de 5.9637Å elle ne l'est pas du tout (Figure V.3).

Les résultats des deux tests utilisés dans cette étude pour évaluer la qualité de programme FlexX (2.3.2. 2017), nous a permet de conclure que le programme FlexX est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant.

II. Etude des interactions Acétylcholinesterase humaine– inhibiteurs

II.1. La structure de 4M0E

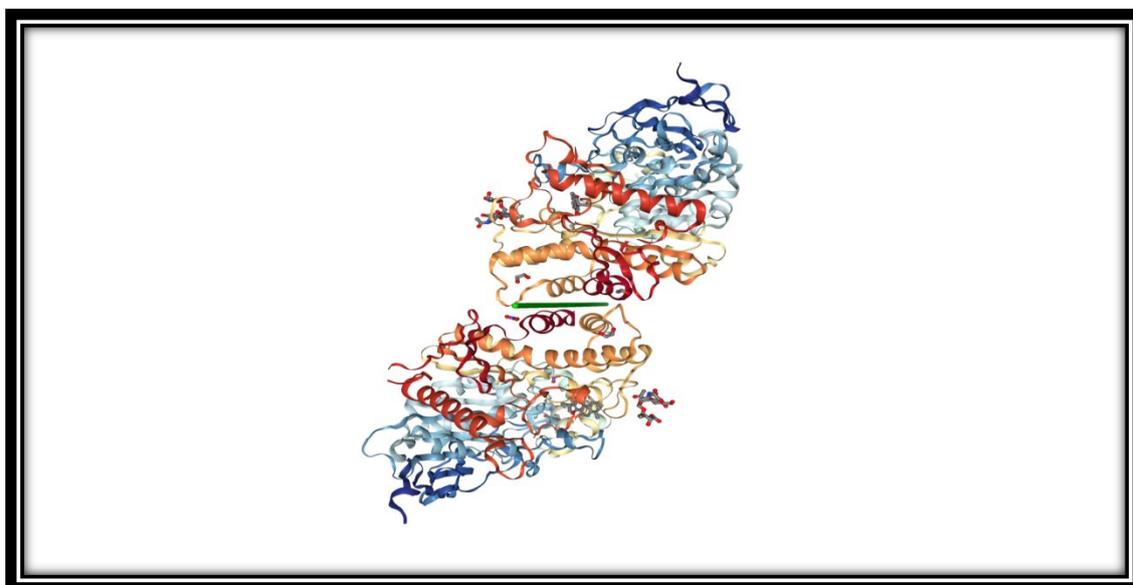


Figure V.4. La structure 3D de l'enzyme 4M0E

La structure de 4M0E a au total 2 chaines identiques A , B ; chaque chaine contient 542 acides aminés. D'après le programme FlexX, les résidus du site actif sont: Tyr72 ; Asp74 ; Gly121 ; Gly122 ; Tyr124 ; Trp286 ; His287 ; Leu289 ; Gln291 ; Glu292 ; Ser293 ; Val294 ; Phe295 ; Arg296 ; Phe297 ; Tyr337 ; Phe338 ; Tyr341 ; Gly342 et His447.

II.2. Résultats de docking

Le programme FlexX nous a permis de prédire l'énergie d'interaction entre l'AChE humaine et leurs inhibiteurs, et de visualiser le nombre et le type de liaisons mises en jeu. Les résultats des énergies d'interaction des inhibiteurs étudiés sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau V.2 Les valeurs d'énergies d'interactions des complexes 4M0E-inhibiteurs étudiés.

Ligand	Nom chimique	Score (kj/mol)
4VV	(Z,Z)-[heptane-1,7-diylbis(1H-imidazol-1-yl-2-ylidene)]bis(N-hydroxymethan amine)	-15,8172
5GB	1-[5-(2,4-dichlorophenoxy)pentyl]-1H-imidazole	-13,6516
5GZ	4-(2-chloro-6-nitrophenoxy)-N-[2-(diethylamino) ethyl]benzene sulfonamide	-24,95
ZN4	1-(4-chlorophenyl)-N-[2-(diethylamino)ethyl]methanesulfonamide	-20,7391
TZ5	3,8-diamino-6-phenyl-5-[6-[1-[2-[(1,2,3,4-tetrahydro-9-acridinyl) amino]ethyl]-1H-1,2,3-triazol-5-yl] hexyl]-phenanthridinium	-10,5999
TNH	N-[6-(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-ylamino)hexyl]pyridine-3-carboxamide	-21,7430
TJH	2-({2-[(6-chloro-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)amino]ethyl} amino)-5-hydroxy naphthalene-1,4-dione	-30,7445
SOF	2-(biphenyl-4-yloxy)-1-[4-(4-ethylpiperazin-1-yl)piperidin-1-yl] ethanone	-24,0018
Q4Q	N-[2-(diethylamino)ethyl]-1-(4-methylphenyl)methanesulfonamide	-21,5731
PE4	2-{{2-[2-(2-{{2-[2-(2-ethoxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-ethoxy}-ethanol	-12,0153
P15	2,5,8,11,14,17-hexaoxonadecan-19-ol	-9,3975
HUW	Huprine W	-16,1830
HUP	Huperzine A	-14,6125
HTB	N-(1-benzofuran-2-ylmethyl)-N'-(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl)heptane-1,7-diamine	-7,1524
HI6	4-(aminocarbonyl)-1-[(2-[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridinium-1-yl)methoxy)methyl] pyridinium	-28,3230
HBP	1,7-heptylene-bis-N,N'-syn-2-pyridiniumaldoxime	-20,0967
EFS	ethyl dihydrogen phosphate	-12,8749
E20	1-benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-indanon-2-yl)methyl] piperidine	-27,5948
C57	4-(dimethylamino)-N-{{(2S)-1-ethylpyrrolidin-2-yl} methyl}-2-methoxy-5-nitrobenzamide	-26,4061
C56	4-(dimethylamino)-N-{{(2R)-1-ethylpyrrolidin-2-yl} methyl}-2-methoxy-5-nitrobenzamide	-31,7773
B3Z	N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-fluoranyl-benzenesulfonamide	-19,4197

B3W	4-chloranyl-N-[2-(diethylamino)ethyl]benzenesulfonamide	-17,4707
B3V	N-[2-(diethylamino)ethyl]-3-methoxy-benzenesulfonamide	-23,5786
AA7	N,N'-DI-1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-ylheptane-1,7-diamine	-3,1715
A36	N-[2-(diethylamino)ethyl]-1-(4-fluorophenyl)methanesulfonamide	-23,1579
ATJ	ethyl hydrogen phosphonate	-13,1162
ETM	2-(trimethylammonium)ethyl thiol	-7,9629
HLO	1-[(2,4-bis[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridinium-1-yl)methoxy)methyl]-4-carbamoylpyridinium	-34,7418
MF2	cis-2,6-dimethylmorpholinooctylcarbamylose roline	-12,6524
NTJ	R-ethyl N,N-dimethylphosphonamidate	-14,2055
OBI	1,1'-(oxydimethylene)bis(4-formylpyridinium) dioxime	-25,9574
PGE	Triethylene glycol	-11,3268
TFL	2-[4-(dimethylamino)phenyl]-6-hydroxy-3-methyl-1,3-benzothiazol-3-ium	-23,8970
FP1	N-hydroxy-1-(1-methylpyridin-2(1H)-ylidene)methanamine	-19,4458
GC8	2-(2,4-dichlorophenoxy)-N-[4-(1-piperidinylmethyl)phenyl] acetamide	-19,7172
NHG	bis-noreseroline	-19,8947
PZ5	5-hept-6-ynyl-6-phenyl-phenanthridin-5-ium-3,8-diamine	-15,0158
Z5K	N-[2-(diethylamino)ethyl]-3-(trifluoromethyl)benzenesulfonamide	-13,9569
A1E	(5R)-5- {[10-(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-ylamino) decyl]amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-2(1H)-one	-6,4493
A2E	(5S)-5- {[10-(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-ylamino) de cyl]amino}-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-2(1H)- one	-4,6047
A8B	N-quinolin-4-yl-N'-(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-yl) octane-1,8-diamine	-11,7649
A8N	N-9-(1',2',3',4'-tetrahydroacridinyl)-1,8-diaminooct ane	-11,8723
GB	methylphosphonic acid ester group	-12,0604
GL8	galanthamine derivative	-13,8893
GMN	2,2',2''-[1,2,3-benzene-triyltris(oxy)]tris[N,N,N-tri ethylethanaminium]	-15,4150
GNT	(-)-galanthamine	-15,6246
HUX	3-chloro-9-ethyl-6,7,8,9,10,11-hexahydro-7,11-meth anocycloocta[b]quinolin-12-amine	-13,8401
I40	9-(3-iodobenzylamino)-1,2,3,4-tetrahydroacridine	-18,5550
NAF	M-(N,N,N-trimethylammonio)-2,2,2-trifluoro-1,1-dihydroxyethylbenzene	-16,1984
NDG	2-(acetylamino)-2-deoxy-A-D-glucopyranose	-20,7377
NWA	4,4-dihydroxy-N,N,N-trimethylpentan-1-aminium	-10,2082
PRM	3,8-diamino-5[3-(diethylmethylammonio)propyl]-6-phenylphenanthridinium	-9,1282
SAF	3-[(1S)-1-(dimethylamino)ethyl]phenol	-19,0554
SCU	N,N,N-trimethyl-2-[(4-oxobutanoyl)oxy] ethana minium	-11,1420
THA	Tacrine	-15,2270

K27	4-carbamoyl-1-(3-{4-[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridinium-1-yl}propyl)pyridinium	-22,1019
ACH	Acetylcholine	-11,9886
AT3	Acetylthiocholine	-9,8184
X13	N,N,N-trimethyl-13-[(methylsulfonyl)sulfanyl]tridecan-1-aminium	-1,4202
DME	decamethonium ion	4,6489
H34	(1-{4-[(7S,11S)-12-amino-3-chloro-6,7,10,11-tetrahydro-7,11-methanocycloocta[B]quinolin-9-yl]butyl}-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol	-11,8740
NAG	N-acetyl-D-glucosamine	-18,5179
P6G	hexaethylene glycol	-10,9246
SCK	2,2'-[(1,4-dioxobutane-1,4-diyl)bis(oxy)]bis(N,N,N-trimethylethanaminium)	-12,2243
VXA	methylphosphonic acid ester group	-12,0419
AE4	3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol	-8,9338
1PE	pentaethylene glycol	-11,7707
DEP	diethyl phosphonate	-14,0186
VX	O-ethylmethylphosphonic acid ester group	-15,0290
EFS	ethyl dihydrogen phosphate	-12,8749
5G8	1-[5-(2,4-dichlorophenoxy)pentyl]-1H-imidazole	-13,6516
G6X	2-{6-[(4aS,6R,8aS)-6-hydroxy-3-methoxy-5,6,9,10-tetrahydro-4aH-[1]benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepin-11(12H)-yl]hexyl}-1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide	-10,9728
G3X	(4aS,6R,8aS)-3-methoxy-11-(3-piperidin-1-ylpropyl)-5,6,9,10,11,12-hexahydro-4aH-[1]benzofuro[3a,3,2-ef][2]benzazepin-6-ol	-11,8505
AFT	aflatoxin B1	-22,8637
FP1	N-hydroxy-1-(1-methylpyridin-2(1H)-ylidene)methanamine	-17,4727
BMA	beta-D-mannose	-14,4306
CHT	choline ion	-8,5180
DCU	3,8-diamino-5,10'-(trimethylammonium)decyl-6-phenylphenanthridinium	-21,2847
E10	(S,S)-(-)-N,N'-DI-5'-[5',6',7',8'-tetrahydro-2'(1'H)-quinolonyl]-1,10-diaminodecane dihydrochloride	-11,0574
EDR	edrophonium ion	-15,4352
FBQ	1-[3-({(4-amino-5-fluoro-2-methylquinolin-3-yl)methyl}thio)methyl]phenyl]-2,2,2-trifluoroethane-1,1-diol	-20,3385
FUL	beta-L-fucose	-16,2992

D'après les 82 composés étudiés, le composé HLO présente la meilleure énergie d'interaction avec l'AChE humaine ($\Delta G = -34.7418$ kJ/mol), suivi par le C56 ($\Delta G = -31.7773$ kJ/mol) ; il présente donc le meilleur effet inhibitrice, c'est pour cela nous l'avons choisi comme modèle afin d'interpréter leurs différentes interactions établies avec l'enzyme.

II.3. Complexe 4M0E-HLO

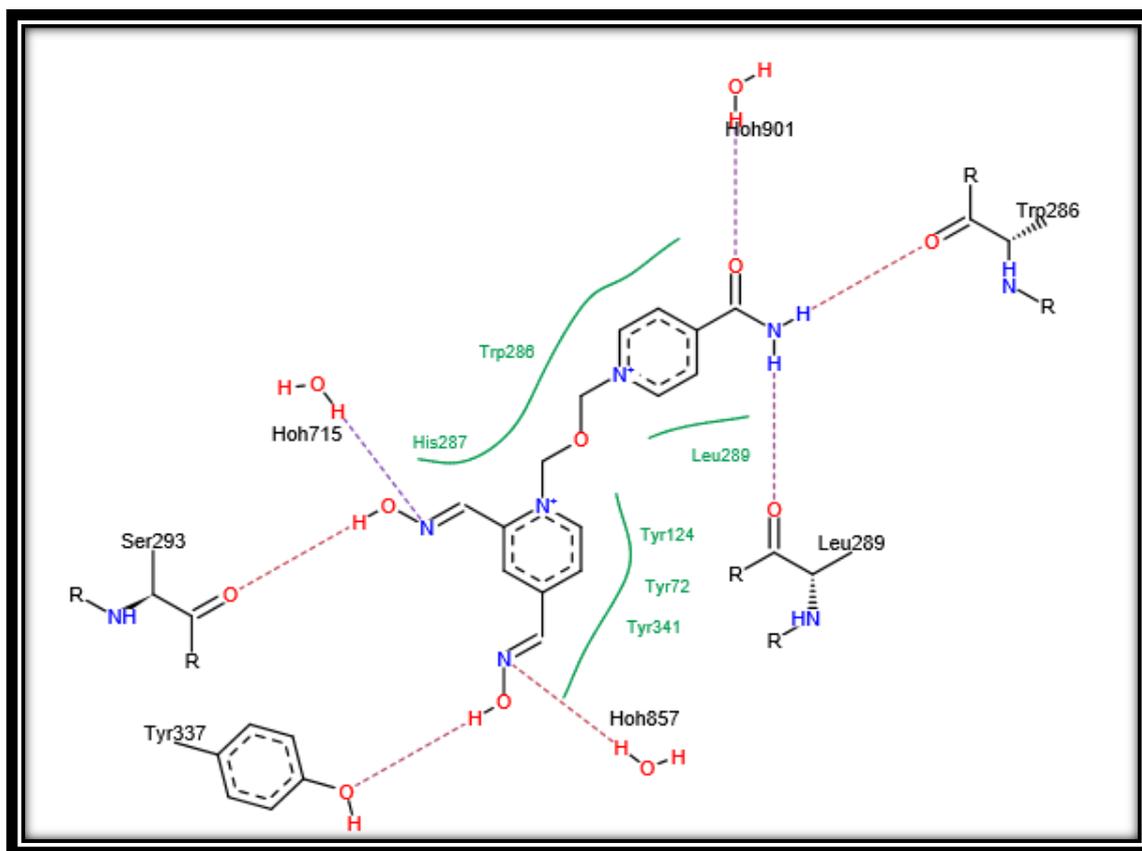


Figure V.5. Mode de liaison du HLO avec le site actif de la 4M0E.

L'analyse visuelle montre que le composé HLO forme quatre liaisons hydrogène avec les résidus de site actif (Figure V.5). Il forme deux liaisons par leurs groupements hydroxyle, une avec la fonction carbonyle de Ser293 et l'autre avec la fonction hydroxyle de Tyr337, et trois liaisons avec 3 molécules d'eau présentant dans le site actif (H_2O_{901} , H_2O_{715} et H_2O_{857}).

Enfin, deux liaisons entre la fonction amine de l'inhibiteur et les carboxyles de Trp286 et de Leu289.

Il est très important de souligner que cet inhibiteur est stabilisé également au sein du site actif de l'AChE humaine par des interactions hydrophobiques avec les résidus Tyr72, Tyr124, Trp286, His287, Leu289 et Tyr 341 (Figures V.5 et V.6).

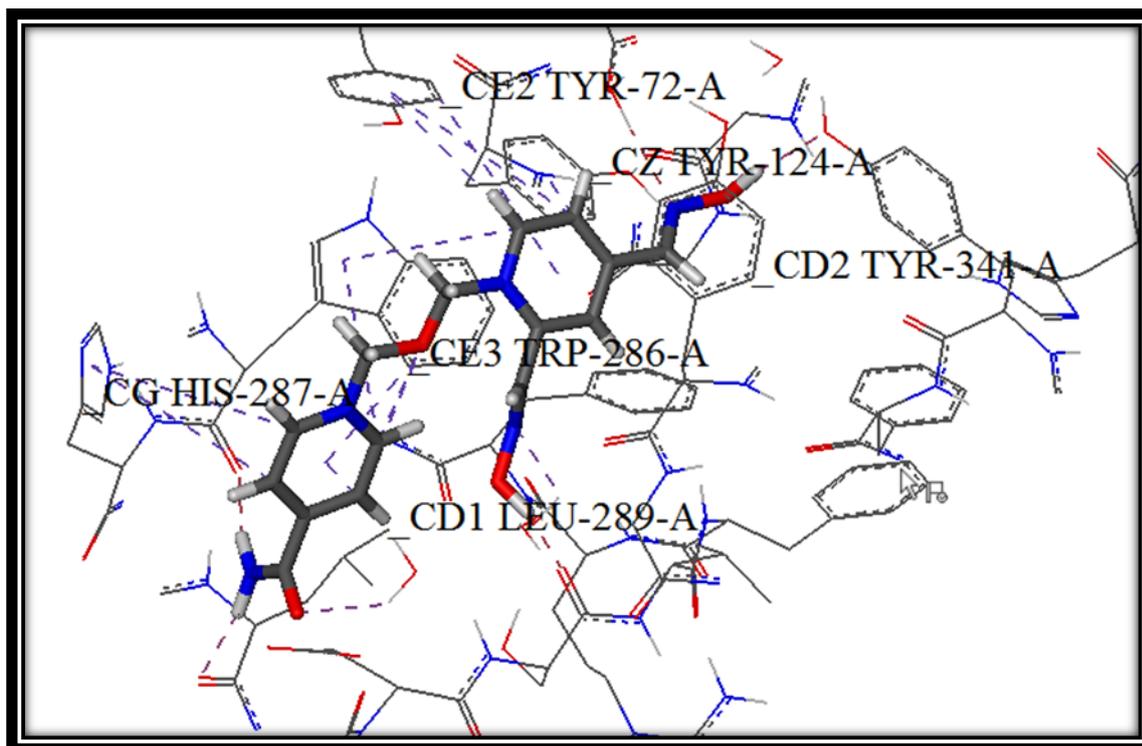


Figure V.6. Les acides aminés engagés dans les interactions hydrophobes.

III. Proposition des nouveaux inhibiteurs de l'AChE humaine

Afin de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs plus affins de l'AChE humaine dérivés du l'HLO, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, leurs mécanismes d'inhibition et d'essayer d'améliorer leurs affinités et leurs énergies d'interaction avec le 4M0E pour cela nous avons réalisé le docking moléculaire d'une collection de similaires de l'HLO. Ces composés chimiques proviennent de la banque de donnée ZINC (<http://zinc.docking.org>).

III.1. Inhibition de l'AChE humaine par les similaires de l'HLO

Le docking avec FlexX, nous a permis de calculer les énergies d'interactions d'une série de 119 similaires de l'HLO provenant de la chimiothèque ZINC, et de comparer leurs scores avec le ligand initial. Les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau V.3 Résultats de docking des similaires de l'HLO.

Le code	Le nom chimique	Score (Kj/mol)
HLO	1-[(2,4-bis[(E)-(hydroxyimino)methyl]pyridinium-1-yl)methoxy)methyl]-4-carbamoylpyridinium	-34,7418
ZINC00005077	LS-187228 (((4-(Iminocarbonyl)pyridinio) methoxy) methyl)-2-((hydroxyimino)methyl)pyridinium dichloride;	-27.3784
ZINC05033416	N-hexyl-2-(hydroxyiminomethyl)-1-methyl-pyridine-4-carboxamide	-22.2578
ZINC01863576	trimethyl-[3-[[1-methyl-2-[(E)-oxidoimino methyl]pyridin-1-ium-4-carbonyl]amino]propyl]ammonium	-22.6564
ZINC19913394	N-[2-(benzyl-methyl-amino)ethyl]-2-[(E)-hydroxyimino methyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-4-carboxamide	-27.1784
ZINC05018113	N-[2-(benzyl-methyl-amino)ethyl]-2-(hydroxyiminomethyl)-1-methyl-pyridine-4-carboxamide	-25.4189
ZINC01846393	benzyl-[3-[[2-[(E)-hydroximinomethyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-4-carbonyl]amino]propyl]-dimethyl-ammonium	-26.4366
ZINC95115865	2-[(E)-hydroxyiminomethyl]-1-methyl-N-[3-(1-methylpyrrolidin-1-ium-1-yl)propyl]pyridin-1-ium-4-carboxamide	-22.7513
ZINC05171075	[(Z)-(4-methoxycarbonyl-1-methylpyridin-2-ylidene)methyl]-oxoazanium	-22.5787
ZINC20293508	3-[[[(R)-hydroxy-2-[(E)-hydroxyiminomethyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-4-yl]methyl]amino]propyl-trimethylammonium	-20.3434
ZINC20293511	3-[[[(S)-hydroxy-2-[(E)-hydroxyiminomethyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-4-yl]methyl]amino]propyl-trimethylammonium	-19.7444
ZINC01895559	2-[[2-(hydroxyiminomethyl)-1-methyl-4-pyridyl]carbonyl]amino]ethyl-trimethyl-ammonium	-24.2650
ZINC00307025	2-[[1-benzyl-2-[(Z)-oxidoiminomethyl]pyridin-1-ium-4-carbonyl]amino]ethyl-trimethyl-ammonium	-26.4089
ZINC11681703	1,1'-(Oxydimethylene)bis(4-formylpyridinium)monohydrogenphosphate dioxime	-23.7689
ZINC01777522	3-[[2-[(E)-hydroximinomethyl]isonicotinoyl]amino]propyl-dimethyl-ammonium	-24.6313
ZINC91363880	2,4-Pyridinedialdoxime	-24.3836
ZINC00174403	6-[(E)-hydroximinomethyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-3-carboxamide	-29.0414
ZINC13126573	(2Z)-2-(nitrosomethylene)-N-phenethyl-1H-pyridine-4-carboxamide	-30.1319
ZINC78954474	4-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]benzamide	-35.4099
ZINC68757759	N'-hydroxy-4-[[2-hydroxyethyl(propyl)amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-16.9849
ZINC68757566	4-[[ethyl(2-hydroxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-18.9321
ZINC82668672	N'-hydroxy-4-[[2-hydroxyethyl(methyl)amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-20.5304
ZINC00520350	2-[[4-[(E)-hydroximinomethyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-2-carbonyl]amino]ethyl-trimethyl-ammonium	-20.3053

ZINC68758073	N'-hydroxy-4-[[2-hydroxyethyl(isopropyl)amino]methyl] pyridine-2-carboxamide	-16.5997
ZINC68757928	4-[[butyl(2-hydroxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-18.8490
ZINC70603412	4-(aminomethyl)-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-25.1510
ZINC70605338	N'-hydroxy-4-[(2-hydroxyethylamino)methyl]pyridine-2-carboxamide	-28.5457
ZINC70604548	2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methyl amino]acetamide	-26.6129
ZINC68757943	4-[[ethyl(2-methoxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-20.0104
ZINC68757766	N'-hydroxy-4-[[2-methoxyethyl(methyl)amino]methyl] pyridine-2-carboxamide	-21.9830
ZINC68758423	N'-hydroxy-4-[[[(2S)-2-hydroxypropyl]-methyl-amino] methyl]pyridine-2-carboxamide	-20.2543
ZINC68758424	N'-hydroxy-4-[[[(2R)-2-hydroxypropyl]-methyl-amino] methyl]pyridine-2-carboxamide	-21.2133
ZINC01851448	6-[(E)-hydroximinomethyl]-1-methyl-N-propyl-pyridin-1-ium-3-carboxamide	-24.2399
ZINC00436480	1-(2-hydroxyethyl)-N-[(E)-(3-nitrobenzylidene)amino] pyridin-1-ium-4-carboxamide	-34.5971
ZINC70605287	N'-hydroxy-4-[[[(2S)-2-hydroxypropyl]amino]methyl] pyridine-2-carboxamide	-27.2475
ZINC70605288	N'-hydroxy-4-[[[(2R)-2-hydroxypropyl]amino]methyl] pyridine-2-carboxamide	-29.0262
ZINC68757720	4-[[bis(2-methoxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-22.2259
ZINC79041832	N'-hydroxy-4-[[[(2R)-2-hydroxy-3-methoxy-propyl] amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-25.5717
ZINC79041837	N'-hydroxy-4-[[[(2S)-2-hydroxy-3-methoxy-propyl] amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-25.4007
ZINC68758082	N'-hydroxy-4-[[[(2S)-2-hydroxy-3-methoxy-propyl]-methyl-amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-21.1319
ZINC68758087	N'-hydroxy-4-[[[(2R)-2-hydroxy-3-methoxy-propyl]-methyl-amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-21.4063
ZINC04577910	Pralidoxime Chloride	-16.5619
ZINC15007645	6-[(Z)-hydroxyiminomethyl]-N-(3-hydroxypropyl)-1-methyl-pyridin-1-ium-3-carboxamide	-24.3008
ZINC18056228	methyl-2- [(E)- (hydroxyimino)methyl]pyridine-4-carboxylate	-20.7744
ZINC70603710	N'-hydroxy-4-[(2-methoxyethylamino)methyl]pyridine-2-carboxamide	-24.1592
ZINC33288079	N-[(1-methylpyrrol-2-yl)methyleneamino]pyridine-4-carboxamide	-31.6016
ZINC78990209	(2R)-2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl] methylamino]propanamide	-27.1988
ZINC78990204	(2S)-2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl] methylamino]propanamide	-28.0080

ZINC05421373	1-butylpyridine-2-carbaldehyde	-17,3247
ZINC68757301	4-[[ethyl(propyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-18,1518
ZINC82668669	N'-hydroxy-4-[[methyl(propyl)amino]methyl]pyridine-2-carboxamidine	-19,1049
ZINC82668692	N'-hydroxy-4-(isopropoxymethyl)pyridine-2-carboxamidine	-22,4096
ZINC82668695	4-(tert-butoxymethyl)-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-20,2353
ZINC00123616	N-[(E)-[1-(4-nitrophenyl)pyrrol-2-yl]methylene amino]isonicotinamide	-35,4759
ZINC28861846	1-[(E)-4-[4-[(E)-hydroxyiminomethyl]pyridin-1-ium-1-yl]but-2-enyl]pyridin-1-ium-4-carboxamide	-26,9394
ZINC90349179	4-(3,3-dimethylbutoxymethyl)-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-21,6062
ZINC68759026	N'-hydroxy-4-(isopentyloxymethyl)pyridine-2-carboxamidine	-24,3144
ZINC68758488	N'-hydroxy-4-[[2(S)-2-methyl-1,4-oxazepan-4-yl]methyl]pyridine-2-carboxamidine	-20,8566
ZINC68758483	N'-hydroxy-4-[[2(R)-2-methyl-1,4-oxazepan-4-yl]methyl]pyridine-2-carboxamidine	-22,7008
ZINC78948412	4-[(2-ethoxyethylamino)methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-23,7081
ZINC78949582	4-(anilinomethyl)-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-29,5121
ZINC68758180	4-[[1-ethylpropyl(2-methoxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-16,5002
ZINC01791555	4-[[6-[(E)-hydroximinomethyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-3-carbonyl]amino]butyl-trimethyl-ammonium	-21,9668
ZINC68757981	4-[[cyclopropyl(2-methoxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-15,2485
ZINC78990041	N-[2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]ethyl]acetamide	-25,7528
ZINC68757614	4-[(4-ethoxy-1-piperidyl)methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamidine	-23,1438
ZINC78997231	N'-hydroxy-4-[[2-[2-methoxyethyl(methyl)amino]ethylamino]methyl]pyridine-2-carboxamidine	-23,3699
ZINC68758049	N'-hydroxy-4-[[2-methoxyethyl(3-methoxypropyl)amino]methyl]pyridine-2-carboxamidine	-18,5937
ZINC95221258	tert-butyl 6-[(E)-(hydroxyimino)methyl]-1H-indole-1-carboxylate	-22,3941
ZINC72226005	N'-hydroxy-4-methyl-pyridine-2-carboxamidine	-20,6572
ZINC84846983	4-Phenylpyridine-2-carboxamidoxime	-24,3246
ZINC78988661	N'-hydroxy-4-[[[(1S)-2-hydroxy-1-methyl-ethyl]amino]methyl]pyridine-2-carboxamidine	-22,6683
ZINC78988670	N'-hydroxy-4-[[[(1R)-2-hydroxy-1-methyl-ethyl]amino]methyl]pyridine-2-carboxamidine	-24,6570

ZINC68758023	N'-hydroxy-4-[[isobutyl(2 methoxyethyl)amino]methyl] pyridine-2-carboxamide	-19,0376
ZINC90283585	4-[[[(2R)-2,3-dihydroxypropyl]amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-26,6404
ZINC90283584	4-[[[(2S)-2,3-dihydroxypropyl]amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-29,0710
ZINC68757472	N'-hydroxy-4-[[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]methyl]pyridine-2-carboxamide	-20,7773
ZINC05119145	1-phenacylpyridine-2-carbaldehyde	-24,2329
ZINC68758621	4-[[2-ethoxyethyl(ethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-17,5570
ZINC68758076	4-[[cyclopropyl(2-hydroxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-17,2070
ZINC68758091	4-[[1-ethylpropyl(2-hydroxyethyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-15,5140
ZINC92984347	4-[[ethyl-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-17,4974
ZINC92984332	N'-hydroxy-4-[[2-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)-methyl-amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-21,3727
ZINC78990672	2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl] methyl amino]-N-propyl-acetamide	-28,0314
ZINC79040001	N'-hydroxy-4-[(2-isopentyloxyethylamino)methyl] pyridine-2-carboxamide	-23,7272
ZINC68758496	N'-hydroxy-4-(1,4-oxazepan-4-ylmethyl)pyridine-2-carboxamide	-22,4302
ZINC15007565	N-(2-hydroxyethyl)-6-[(Z)-hydroxyiminomethyl]-1-methyl-pyridin-1-ium-3-carboxamide	-24,7233
ZINC70603431	N'-hydroxy-4-(methylaminomethyl)pyridine-2-carboxamide	-25,3969
ZINC82668666	4-(dimethylaminomethyl)-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-20,5966
ZINC70604507	N'-hydroxy-4-(propylaminomethyl)pyridine-2-carboxamide	-24,1599
ZINC70605318	N'-hydroxy-4-[(3-hydroxypropylamino)methyl]pyridine-2-carboxamide	-24,2189
ZINC78986989	N'-hydroxy-4-[(3-methoxypropylamino)methyl]pyridine-2-carboxamide	-24,7547
ZINC68759091	N'-hydroxy-4-(2-isopropoxyethoxymethyl)pyridine-2-carboxamide	-23,3560
ZINC78956342	4-[(3-ethoxypropylamino)methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-22,1763
ZINC78988308	N'-hydroxy-4-[[2-(2-hydroxy-1,1-dimethyl-ethyl)amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-23,9199
ZINC87753414	N'-hydroxy-4-[[[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-22,5928

ZINC78995801	N'-hydroxy-4-[[2-(2-hydroxyethoxy)ethylamino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-26,2334
ZINC78987388	2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]-N-methyl-acetamide	-31,1159
ZINC78989001	N-ethyl-2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]acetamide	-29,5646
ZINC68756848	N'-hydroxy-4-(morpholinomethyl)pyridine-2-carboxamide	-20,7484
ZINC79003564	2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]-2-methyl-propanamide	-25,4209
ZINC68758213	4-[[ethyl-[(1R)-2-methoxy-1-methyl-ethyl]amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-21,3615
ZINC68758208	4-[[ethyl-[(1S)-2-methoxy-1-methyl-ethyl]amino]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-16,3030
ZINC68757977	N'-hydroxy-4-[[[(1R)-2-methoxy-1-methyl-ethyl]-methylamino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-20,7600
ZINC68757973	N'-hydroxy-4-[[[(1S)-2-methoxy-1-methyl-ethyl]-methylamino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-21,9547
ZINC79041148	(2S)-N-ethyl-2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]propanamide	-27,6648
ZINC68758131	N'-hydroxy-4-[[2-methoxyethyl-[(1S)-1-methylpropyl]amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-17,1508
ZINC68758128	N'-hydroxy-4-[[2-methoxyethyl-[(1R)-1-methylpropyl]amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-15,9025
ZINC79038379	(2S)-2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]-N-methyl-propanamide	-30,3929
ZINC79038382	(2R)-2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]-N-methyl-propanamide	-27,7927
ZINC79041146	(2R)-N-ethyl-2-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]propanamide	-30,2255
ZINC68756925	N'-hydroxy-4-[[2-(2S)-2-methylmorpholin-4-yl]methyl]pyridine-2-carboxamide	-22,8423
ZINC68756887	4-[[2-(2S,6R)-2,6-dimethylmorpholin-4-yl]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-22,4208
ZINC68756891	4-[[2-(2S,6S)-2,6-dimethylmorpholin-4-yl]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-21,2897
ZINC68756895	4-[[2-(2R,6R)-2,6-dimethylmorpholin-4-yl]methyl]-N'-hydroxy-pyridine-2-carboxamide	-21,4838
ZINC79007147	N'-hydroxy-4-[[2-(2-methoxyethoxy)ethylamino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-25,1192
ZINC68756920	N'-hydroxy-4-[[2-(2R)-2-methylmorpholin-4-yl]methyl]pyridine-2-carboxamide	-23,7749
ZINC87028628	N'-hydroxy-4-[[2-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)amino]methyl]pyridine-2-carboxamide	-26,9838

Parmi les 119 molécules criblées, 2 composés présentent une légère augmentation de l'affinité par rapport à l'HLO, l'inhibiteur de référence. A la lumière des résultats obtenus dans le tableau V.3, les composés ZINC00123616 et ZINC78954474 sont les meilleurs inhibiteurs de la collection de similaires étudiées avec des énergies d'interaction égale à -35.4759 et -35.4099 kJ/mol respectivement.

III.1.1 Complexe 4M0E- composé ZINC00123616

L'analyse visuelle montre que l'inhibiteur ZINC00123616 est bien placé dans le site actif de l'AChE humaine (Figure V.7).

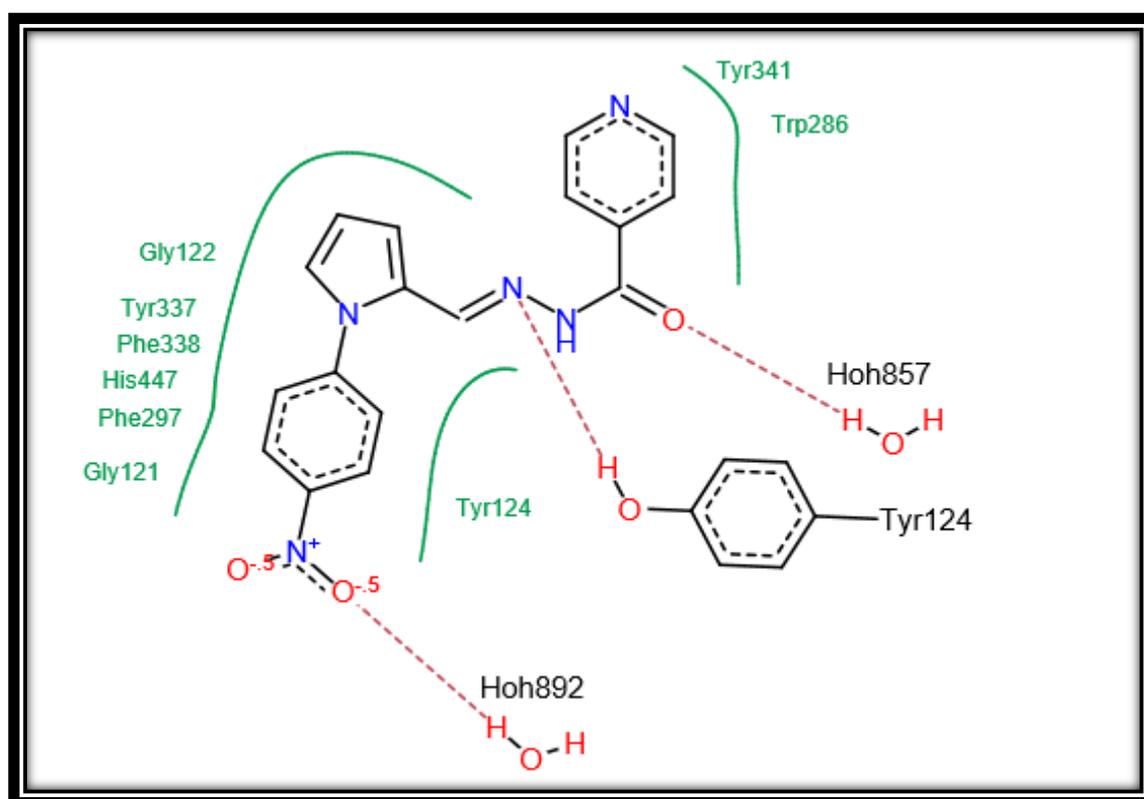


Figure V.7. Mode de liaison du composé ZINC00123616 avec le site actif de la 4M0E.

Le composé ZINC00123616 dont le nom chimique N-[(E)-[1-(4-nitrophenyl)pyrrol-2-yl]methyleneamino]isonicotinamide établit trois liaisons hydrogène avec le site actif, parmi lesquels deux liaisons avec 2 molécules d'eau (H₂O857 et H₂O892) l'un par son groupement carbonyle, et l'autre par l'atome d'oxygène de son groupement NO₂. La troisième liaison lie son N16 et le groupement hydroxyle de Tyr124.

De nombreuses interactions de type hydrophobe assurent également la stabilité du complexe 4M0E-composé ZINC00123616 (Figure V.8). Ces interactions sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Gly121, Gly122, Tyr124, Trp286, Phe297, Tyr337, Phe338, Tyr341 et His447.

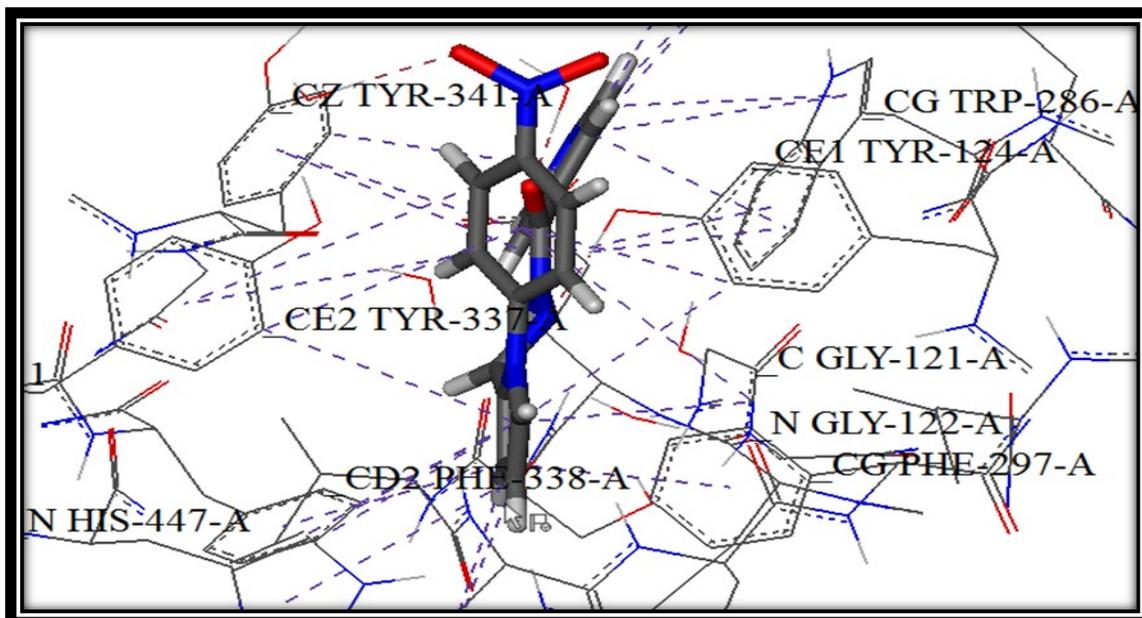


Figure V.8 . Les acides aminés engagés dans les interactions hydrophobiques.

III.1.2 Complexe 4M0E- composé ZINC78954474

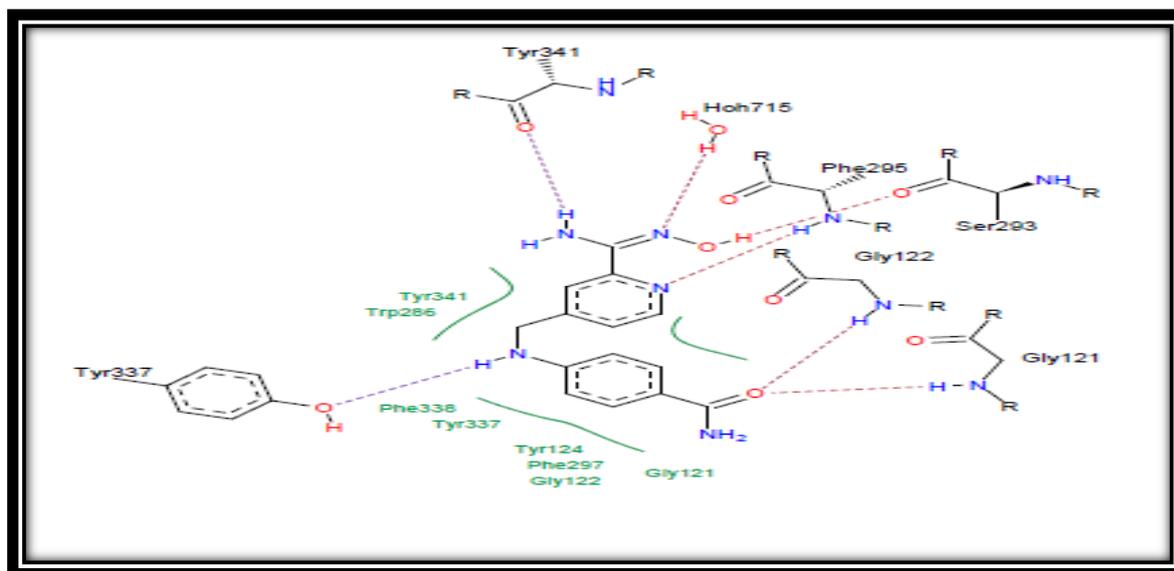


Figure V.9. Docking de composé ZINC78954474 dans le site actif de l'AChE humaine.

Le composé ZINC78954474 dont le nom chimique 4-[[2-[(Z)-N'-hydroxycarbamimidoyl]-4-pyridyl]methylamino]benzamide établit sept ponts hydrogène avec le site actif, les quatre premiers sont observés entre les groupements amines de l'inhibiteur et le NH de Phe295, le carbonyle de Tyr341, l'hydroxyle de Tyr337, et la molécule d'eau H₂O715, Le cinquième pont est formé entre l'hydroxyle de l'inhibiteur et carbonyle de Ser293. Les deux derniers ponts sont formés entre la fonction carbonyle de l'inhibiteur et les fonctions amines de Gly121 et 122.

De nombreuses interactions de type hydrophobe assurent également la stabilité du complexe 4M0E-composé ZINC 78954474 (Figure V.10). Ces interactions sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Tyr341, Trp286, Phe338, Tyr337, Tyr124, Phe297, Gly122 et Gly121.

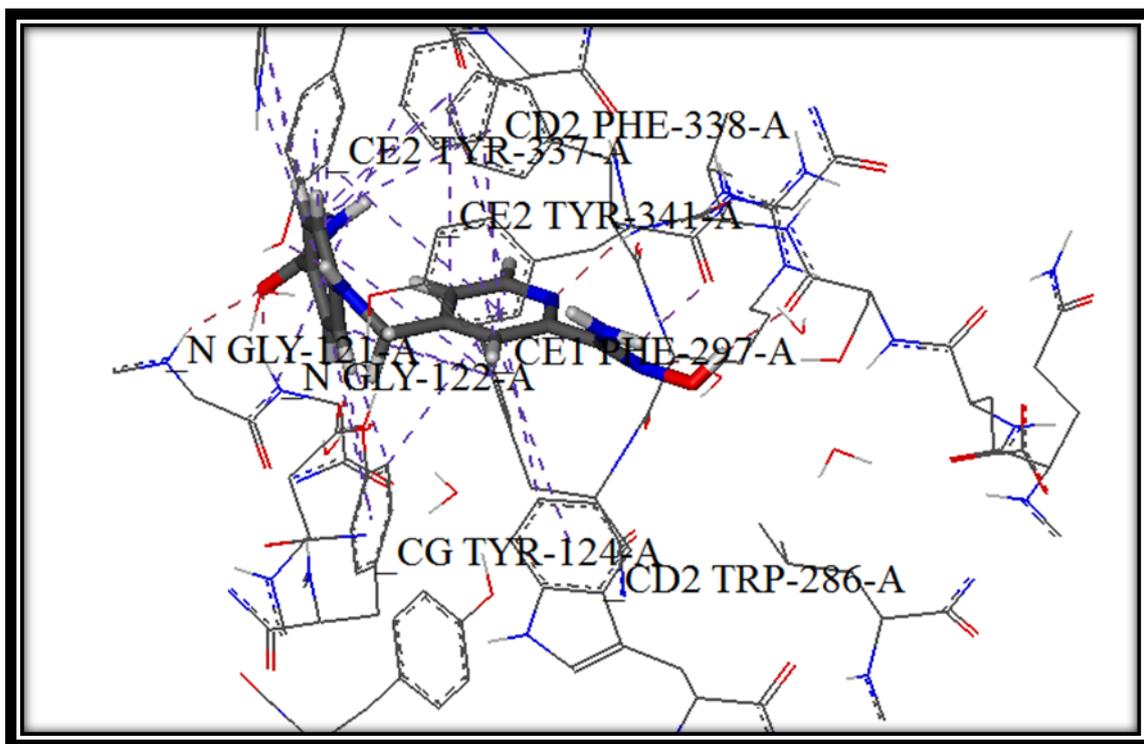


Figure V.10. Les acides aminés engagés dans les interactions hydrophobiques.

IV- Prédiction de la similarité médicamenteuse

Même si l'optimisation de l'activité biologique d'un ligand avec une cible protéique est importante pour l'élaboration de nouveaux traitements, il est important de compléter leur étude par la règle de Lipinski, elle permettant de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques qu'ils sont l'absorption, digestion, métabolisme, excrétion et toxicité des composés proposés.

Tableau V.4. Critères de la règle de Lipinski pour les similaires étudiées

Critères Ligand	Log P	Poids moléculaire (g /mol)	Donneur d'H	Accepteur d'H	Liaisons routables
HLO	-5.51	331.334	4	9	7
ZINC00123616	2.27	335.323	1	8	5
ZINC78954474	-0.51	285.307	6	7	5

Les résultats du tableau V.4 montrent que les inhibiteurs proposés s'inscrivent parfaitement dans les marges des critères imposés par la règle de Lipinski. Ils avaient de bonnes propriétés qui les rendraient probablement des médicaments actifs par voie oral.

CONCLUSION

CONCLUSION

CONCLUSION

L'objectif de ce mémoire était de développer *in silico* par docking moléculaire des nouvelles structures hypothétiques agissant comme inhibiteurs très puissants de l'acétylcholinestérase humaine, qui est une cible thérapeutique prometteuse pour la découverte de nouveaux médicaments contre la maladie d'Alzheimer. Afin d'atteindre cet objectif nous sommes passés par plusieurs étapes.

Dans un premier temps, nous avons testé la fiabilité du programme FlexX (2.3.2.2017) utilisé dans ce travail. Pour cela nous avons fait appel aux deux tests : le premier est le test RMSD (root-mean-square deviation), il permet de comparer la déviation de la géométrie du ligand simulée par FlexX avec celle déterminée expérimentalement. Sur les 100 complexes pris de la PDB, 73% ont présenté un RMSD inférieur ou égale à 2 Å. Le deuxième test est l'analyse visuelle, il montre une superposition maximale du ligand calculée par FlexX et la conformation expérimentale du même ligand provenant de la PDB. Ces deux tests nous a permis de conclure que le programme FlexX est très fiable et qu'on peut l'utiliser en toute confiance pour modéliser les interactions de l'AchE humaine avec les divers inhibiteurs qui nous intéressent.

Dans un deuxième temps, nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre l'AchE humain et 84 inhibiteurs tirés de la PDB, les résultats ont été clairement démontrés que les composés HLO et C56 sont les meilleurs inhibiteurs avec des énergies de liaison de -34,7418 et -31,7773 kJ/mol, respectivement.

Dans une troisième partie, nous avons tenté de développer de nouveaux inhibiteurs en prenant comme structure de départ le composé HLO. L'arrimage moléculaire d'une collection de similaires d'HLO provient de la banque de donnée ZINC nous a permis de proposer les deux composés ZINC00123616 et ZINC78954474 comme des nouveaux inhibiteurs potentiels de l'AchE humaine.

Enfin, l'application de la règle de 5 de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME des composés proposés qui se présentent comme nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins et plus sélectifs vis-à-vis l'AchE.

CONCLUSION

Pour conclure, compte tenu des résultats obtenus dans ce travail qui consiste à l'élucidation de l'inhibition de l'AchE par la méthode de docking moléculaire, il semble que les deux composés proposés présentes probablement une meilleure contribution à l'inhibition pour diminuer l'évolution de la maladie Alzheimer.

Sur la base de ces résultats préliminaires, nous envisageons d'approfondir l'étude de l'effet de ces nouveaux composés sur l'inhibition du l'AchE humaine, en faisant appel à d'autres programmes de simulation *in silico*. En termes de perspectives, ce travail pourra être complété et prolongé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* qui sont indispensable pour valider ces molécules en tant qu'inhibiteurs de l'AchE.

***RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Cummings J.L., Cole G. 2002. Alzheimer disease. *Journal of the American Medical Association*. **287**, 2335-2338.
- [2] Hauw J.J, Dubois B, Verny M, Duyckaerts C. 1997. La maladie d'Alzheimer. Paris : John Libbey Eurotext.
- [3] Gustafson L.1993. Physostigmine ant tetraaminoacridine treatment of Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*. 149, 39-41.
- [4] Behihou Z., Ikhlef R. 2018. Criblage virtuel d'une chimiothèque pour identifier des nouveaux composés bioactifs. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Mila : Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf. Algérie. 66p.
- [5] Doudrich J., Dubois B., Hauw J.J., Petitpré J. 2006. Le livre vert de la maladie d'Alzheimer état des lieux et perspectives. Paris : Association France Alzheimer et maladies apparentées, 70p.
- [6] Mécanismes moléculaires dans les démences neurodégénératives. La maladie d'Alzheimer : aspects lésionnels et moléculaire diagnostiques et thérapeutique, [en ligne], <http://www.mmdn.univ-montp2.fr/>. (Consulte le 08/04/2019).
- [7] Société d'Alzheimer Canada. La maladie d'Alzheimer et les facteurs de risque, [En ligne], <http://www.alzheimer.ca/fr>. (Consulte le 08/04/2019).
- [8] <https://www.frm.org/recherches-maladies-neurologiques/maladie-d-alzheimer/recherches-maladies-neurologiques/maladie-d-alzheimer/maladie-alzheimer-enjeux-diagnostic-precoce>, [en ligne], (Consulte le 15/03/2019).
- [9] Sansregret M.C., Gilles L. 2011. La maladie d'Alzheimer. Québec : Lettres en main, 36p.
- [10] Couderc A. 2000. La recherche de marqueurs biologiques de la maladie d'Alzheimer. *Annales de Biologie Clinique*. **58**, 581-593.
- [11] Lebert F., Pasquier F. 1999. Signes et symptômes comportementaux et psychologiques de la démence. *Encyclopédie médico-chirurgicale de Neurologie*, 17-057-A-35.
- [12] Alzheimer's disease international. World Alzheimer Report, [en ligne], <https://www.alz.co.uk/>. (Consulte le 12/05/2019).
- [13] Djazairiess. La maladie d'Alzheimer en débat, [En ligne], <http://www.djazairiess.com/fr/lqo/5166761>. (Consulte le 17/04/2019).
- [14] Moreau A.2008. Les effets indésirables des traitements médicamenteux spécifiques des troubles cognitifs de la démence de type Alzheimer. Thèse de Doctorat en Médecine. France : Université Henri Poincaré, Nancy 1, 164p

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [15] L'Association Alzheimer Suisse. 2015, Ce qu'il faut savoir sur la maladie d'Alzheimer, 31p.
- [16] <http://www.maisons-de-retraite.fr/La-sante-des-seniors/Maladie-d-Alzheimer>, [en ligne], (Consulte le 12/03/2019).
- [17] Biologie Médicale spécialisée. Cholinestérase, [en ligne], <http://www.biomnis.com>. (Consulte le 20/04/2019).
- [18] Mirjana B., Danijela C.Z., Tamara K.D., Aleksandra L.M., Vasi V.M. 2013 Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*. **11**, 315-335.
- [19] E. A. Barnard, 1974. the Peripheral Nervous System, Plenum Press, New York. p: 201-224
- [20] acétylcholine." Microsoft® Encarta® 2009 [DVD]. Microsoft Corporation, 2008.
- [21] Jacques-Philippe C. 2007. Etude des relations structure-dynamique-fonction ausein de l'acétylcholinestérase, Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Grenoble.
- [22] Alles G.A., Hawes R.C.1940. Cholinesterases in the blood of man. *J BiolChem*, **133**, 375-390.
- [23] Ollis D.L., Cheah E., Cygler M., Dijkstra B., Frolow F., Franken S.M., Harel M., Remington S.J., Silman I., Schrag J, 1992. The alpha/beta hydrolase fold. *Protein Eng.* **5**, 197-211.
- [24] Sussman J.L., Harel M., Frolow F., Oefner C., Goldman A., Toker L., Silman I.1991. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* .**253**, 872–879.
- [25] Sussman J. L., Harel M., Silman I.1993. Active-site gorge and buried water molecules in crystal structures of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*. *Chemico-Biological Interactions*. **87**, 187-197.
- [26] Quinn D.M. 1987. Acetylcholinesterase - Enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition-states. *Chem Rev.* **87**, 955-979.
- [27] Taylor P., Radic Z.1994. The cholinesterases: from genes to proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **34**, 281-320.
- [28] Schneider L.S., 2000. Outcome of Alzheimer's Disease: Potential Impact of Cholinesterase Inhibitors. *Current opinion in investigational drugs.* **2**, 427-437.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [29] Krid A. 2008. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Mémoire de Magister en Chimie Théorique. Constantine: Université les frères Mentouri. Algérie. 79p.
- [30] Greenblatt M.H., Dvir H., Silman I., Sussman L.J., 2003. acetylcholinesterase. *journal of molecular neuroscience*. **20**, 369-383.
- [31] Polinsky R.J. 1998. Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of alzheimer's disease. *Clinical Therapeutics*. **20**, 634–647.
- [32] Sramek J.J., Frackiewicz E.J., Cutler N.R. 2000. Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine. *Exp. Opin. Invest. Drugs*, **9**, 2393-2402.
- [33] Camps P., Munoz-Torro D. 2002. Cholinergic Drugs in Pharmacotherapy of Alzheimer's Disease. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **2**, 11-25.
- [34] Perola E., Cellai L., Lamba D., Filocamo L. 1997. Long chain analogs of physostigmine as potential drugs for Alzheimer's disease: new insights into the mechanism of action in the inhibition of acetylcholinesterase. *Biochimica Biophysica Acta*. **1343**, 41-50.
- [35] Lopez M.D., Compoy F.G., Pascual-Villalobos M.J., Muñoz-Delgado E., Vidal C.J. 2015. Acetylcholinesterase activity of electric eel is increased by monoterpenoids and phenylpropanoids in a concentration dependent manner, *chemicobiological Interaction*. **229**, 36-43.
- [36] Chikhi A. 2007. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase Substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. 111p.
- [37] Rarey M., Kramer B., Lengauer T. 1997. Multiple automatic base selection: protein ligand docking based on incremental construction without manual intervention. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **11**, 369-384.
- [38] Garrett R.H., Grisham C.M. 2000. Biochimie. Paris : De Boeck Université, 1254p.
- [39] Atkins P.W. 1998. Eléments de chimie physique. Paris : De Boeck Université, 510p.
- [40] Rappe A.K., Casewit C.J. 1997. Molecular Mechanics Across Chemistry. Eds: University Science books Sausalito, California. 444 p.
- [41] Gilbas C., Jambeck P. 2001. Introduction à la bioinformatique. France : O'Reilly. 375p.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [42] Honig B.J. 1999. Protein folding: from the Levinthal paradox to structure prediction. *J.Mol Biol.* **293**, 283-293.
- [43] Merzoug A. 2018. Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition de la peptide déformylase. Thèse de Doctorat en Biochimie. Constantine: Université des Frères Mentourie. Algérie. 124p.
- [44] Kuntz I.D. 1992. Structure-based strategies for drug design and discovery. *Science.* **257**, 1078-1082.
- [45] Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. 1996. A Fast Flexible Docking Method Using an Incremental Construction Algorithm. *J. Mol. Biol.* **261**, 470-489.
- [46] Rarey M., Kramer B., Lengauer T. 1997. Multiple automatic base selection: protein ligand *docking* based on incremental construction without manual intervention. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **11**, 369-384.
- [47] Rarey M., Wefing S., Lengauer T. 1996. Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins. *Journal of Computer-Aided Molecular Design.* **10**, 41–54.
- [48] Holland J.H. 1975. *Adaptation in Natural and Artificial Systems.* University of Michigan Press: Ann Arbor, MI, 183p.
- [49] Jones G., Willett P., Glen R.C. 1995. Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *J Mol Biol.* **245**, 43-53.
- [50] Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S., Huey R., Hart W.E., Belew R.K., Olson A.J. 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J Comput Chem.* **19**, 1639-1662.
- [51] Beaurtrait A. 2008. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de Doctorat en Chimie Informatique et Théorique. France : Université Henri Poincaré – Nancy I. 122 P.
- [52] Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.*, **28**, 235-242.
- [53] Al-Lazikani B., Jung J., Xiang Z., Honig B. 2001. Protein structure prediction. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **5**, 51-56.
- [54] Vieth M., Hirst J.D., Kolinski A., Brooks C.L. 1998. Assessing energy functions for flexible docking. *J. Comput. Chem.* **19**, 1612-1622.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [55] Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E. 1997. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *J. Mol. Biol.* **272**, 106–120.
- [56] Kollman P.A., Massova I., Reyes C., Kuhn B., Huo S., Chong L., Lee M., Lee T., Duan Y., Wang W., Domini O., Cieplak P., Srinivasan J., Case D.A., Cheatham T.E. 2000. Calculating structures and free energies of complex molecules: combining molecular mechanics and continuum models. *Acc Chem Res.* **33**, 889-897.
- [57] Seifert M.H. 2006. Assessing the Discriminatory Power of Scoring Functions for Virtual Screening. *J Chem Inf Model.* **46**, 1456-1465.
- [58] Arrault A. 2007. Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Thèse de Doctorat en Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. France : Universités d'Orléans. 190p.
- [59] Taylor R.D., Jewsbury P.J., Essex J.W. 2003. FDS: flexible ligand and receptor docking with a continuum model and soft-core energy function. *J Comput Chem.* **24**, 1637–1656.
- [60] Rarey M., Wefing S., Lengauer T. 1996. Placement of medium-sized molecular fragments into active sites of proteins. *Journal of Computer-Aided Molecular Design.* **10**, 41–54.
- [61] Böhm H.J. 1998. Prediction of binding constants of protein ligands: a fast method for the prioritization of hits obtained from de novo design or 3D database search programs. *J Comput Aided Mol Des.* **12**, 309-323.
- [62] Thomsen R., Christensen M.H. 2006. MolDock A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J Med Chem.* **11**, 3315–3321.
- [63] Warren G.L., Andrews C.W., Capelli A.M., Clarke B., LaLonde J., Lambert M.H., Lindvall M., Nevins N., Semus S.F., Senger S., Tedesco G., Wall I.D., Woolven J.M., Peishoff E.C., Head M.S. 2006. A critical assessment of docking programs and scoring functions. *J MedChem.* **49**, 5912-5931.
- [64] Ganugapati J., Swarna S. 2014. Molecular docking studies of antidiabetic activity of cinnamon compounds. *Asian J Pharm Clin Res.* **7**, 31-34.
- [65] Parmenopoulou V., Kantsadi A.L., Tsirkone V.G., Chatzileontiadou D.S.M., Manta S., Zographos S.E., Kollatos N., Archontis G., Agius L., Hayes J.M., Leonidas D.D., Komiotis D. 2014. Structure based inhibitor design targeting glycogen phosphorylase b. Virtual

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

screening, synthesis, biochemical and biological assessment of novel N-acyl- β -d glucopyranosylamines. *Bioorg Med Chem.* **22**, 4810-4825.

[66] Merzoug A., Chikhi A., Bensegueni A., Boucherit H., Okay S. 2018. Virtual screening approach of bacterial peptide deformylase inhibitors results in new antibiotics. *Mol Inf.* **37**, 1700087.

[67] Stoermer M.J. 2006. Current status of virtual screening as analysed by target class. *Me Chem.* **2**, 89-112.

[68] Vieth M., Hirst J.D., Kolinski A., Brooks C.L. 1997. Assessing energy functions for flexible docking. *J Comput Chem.* **19**, 1612-1622.

[69] Grosdidier A. 2007. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Paris : Université Joseph Fourier. France. 90p.

[70] Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **46**, 3-26.

[71] Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.Y., Smith B.R., Ward K.W., Kopple K.D. 2002. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug Candidates. *J Med Chem.* **45**, 2615-2623.

[72] Drouin M. 2005. Etude de production de protéases alcalines par *Bacillus licheniformis* en utilisant des boues d'épuration municipales comme substrat. Mémoire de Maître en Sciences. Québec : Université du Québec. 142p.

[73] Patel R., Dodia M., Singh S.P. 2005. Extracellular alkaline protease from a newly isolated haloalkaliphilic *Bacillus* sp: Production and optimization. *ProcBiochem.* **40**, 3569-3575.

[74] Chikhi A., Bensegueni A. 2008. Comparative Study of the Efficiency of Three Protein Ligand Docking Program. *Journal of Proteomics and Bioinformatics.* **1**, 161-165.

[75] Merzoug A. 2012. Etude in silico de l'inhibition de la peptide deformylase. Thèse de Magister en Biochimie. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algerie. 71p.

CHEFIRI Amel KHALED Rima	Date de soutenance :02/07/2019									
<p style="text-align: center;">Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase</p>										
<p>Résumé :</p> <p>La maladie d'Alzheimer est une affection dégénérative du cerveau, elle est associée à des troubles prédominants de la mémoire, des troubles cognitifs et/ou du comportement ayant un retentissement sur la vie quotidienne des patients.</p> <p>Dans notre travail, nous sommes focalisés sur le traitement d'Alzheimer basé sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase humaine. Une enzyme sert à la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine.</p> <p>Pour réaliser ce travail, en faisant appel à la méthode d'arrimage moléculaire par le programme FlexX. Avec un bon pourcentage de valeurs du RMSD (73 % inférieures à 2Å), la performance du programme FlexX est indiscutable. Ce programme a été utilisé pour étudier l'inhibition de l'ACHé humaine par divers composés afin d'identifier le meilleur, qui est l'HLO. Le criblage virtuel d'une collection de 119 composés issus de la chimiothèque ZINC, similaires de l'HLO fait ressortir les composés ZINC00123616 et ZINC78954474 comme de nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins envers l'ACHé humaine.</p> <p>L'étude des propriétés pharmacocinétiques de ces composés proposés montre qu'ils s'inscrivent parfaitement dans la marge des critères imposés par la règle de Lipinski.</p>										
<p>Mots clés: acétylcholinestérase humaine, arrimage moléculaire, FlexX, maladie d'Alzheimer.</p>										
<p>Devant le jury :</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 15%;">Présidente :</td> <td style="width: 60%;">HADEF Sawsen</td> <td style="width: 25%;">M.A.A</td> </tr> <tr> <td>Examinatrice :</td> <td>BOUCHERIT Hanane</td> <td>M.A.A</td> </tr> <tr> <td>Promotrice:</td> <td>MERZOUG Amina</td> <td>M.C.B</td> </tr> </table>		Présidente :	HADEF Sawsen	M.A.A	Examinatrice :	BOUCHERIT Hanane	M.A.A	Promotrice:	MERZOUG Amina	M.C.B
Présidente :	HADEF Sawsen	M.A.A								
Examinatrice :	BOUCHERIT Hanane	M.A.A								
Promotrice:	MERZOUG Amina	M.C.B								