



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Découverte de nouveaux inhibiteurs de la maladie
d'Alzheimer : criblage virtuel, docking moléculaire et
filtrage ADME-Tox**

Présenté par :

-GUENDOUZ Yasmine

-CHELIGHOUM Fatima

Devant le jury :

-Présidente : MERZOUG Amina	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila
-Rapporteur : BOUCHERIT Hanane	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila
-Examineur : CHEKROUD Karim	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila

Année Universitaire : 2024/2025



Remerciements

*« Louange à Allah, lumière des cieux et de la terre,
source de guidance et de soutien »*

Louange à Allah, Seigneur des mondes, dont le souvenir rassure les cœurs et dont la grâce éclaire les esprits.

Nous le remercions pour ses innombrables bénédictions et pour la force et la patience qu'il nous a données
tout au long de ce parcours académique.

Je voudrais exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à notre distinguée encadrante,
Dr. BOUCHERIT Hanane, maître de conférences A au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila, pour
ses conseils avisés, son orientation judicieuse, son soutien continu, ses critiques constructives et la confiance
qu'elle nous a toujours témoignée.

Elle a été pour nous une source d'inspiration à chaque étape de la préparation de ce mémoire. Sa précision
scientifique et son dévouement à l'enseignement ont profondément marqué notre parcours. Que Dieu la
récompense de notre part en tout bien. Merci beaucoup.

Je souhaite également exprimer mes remerciements les plus sincères aux membres du jury **Dr. MERZOUG
Amina** Maître de conférences A au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf -mila. Et aussi **Dr. CHEKROUD
Karim** Maître de conférences A au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf -Mila. Merci d'avoir accepté de
lire et d'évaluer ce travail. Vos remarques précieuses et vos critiques constructives seront pour nous un guide
éclairé et une source d'amélioration continue Dans notre cheminement scientifique.

Yasmine et Fatima

Dédicace

﴿وَأَخِرٌ وَغَوَّاهُمْ أَنِ الْحَمْدَ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾

Au nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux Louange à Dieu qui m'a guidé et soutenu, sans

Lui je n'aurais pas surmonté les obstacles ni atteint ce stade. Après des années d'efforts et de défis, me voilà
aujourd'hui à récoltant les fruits de mon travail avec fierté et gratitude.

Tout d'abord, je dédie ce travail à moi-même, qui n'ai jamais abandonné, À mon âme qui a surmonté tous les
obstacles et défié les difficultés, À chaque moment de fatigue et de veille, À chaque rêve qui a habité mon cœur
et est devenu réalité aujourd'hui. Merci à moi pour ma persévérance, merci à moi pour ma force, merci à moi
pour cet accomplissement.

Je dédie ce travail à ceux dont Allah, exalté soit-Il, a dit : « Et garde-les sous l'aile de Ta miséricorde, et dis :

'Seigneur, fais-leur miséricorde comme ils m'ont élevé quand j'étais petit(e).'

À celle qui a fait du paradis sous ses pieds, à celle qui m'a porté(e) alors qu'elle était faible, et à celle qui a lutté
pour que j'arrive jusqu'à ce jour. À la source infinie de tendresse, a la première étreinte d'amour que mon cœur
a connue, à cette main qui m'a portée avant que la terre ne m'accueille, et qui m'a enveloppée avant même que
la vie ne me nomme, à ton cœur, à toi ma chère maman « **Zahra** »,

Je dédie ma réussite à celui dont je porte fièrement le nom, à celui qui a tout au long de sa vie cherché à être
meilleur que lui-même, à celui qui m'a soutenu sans limites et m'a donné sans rien attendre en retour, source
d'amour et pilier de ma vie, Ta présence dans ma vie est le plus beau des cadeaux, tu es ma fierté et mon
Soutien, je t'aime de tout cœur. À mon chère père « **Abderrahmane** »

À qui qu'il soit toujours été un phare de guidance dans les chemins de la vie, Au cœur grand qui n'a jamais
refusé tendresse et sagesse, À celui qui a semé en moi les graines de l'espoir et de la détermination, à mon chère
oncle « **Said** » Et toute la famille GUENDOUZ

À celle qui a guidé mes pas sur le chemin du savoir et de la découverte, À celle qui m'a soutenue avec patience
et sagesse, À celle qui m'a offert ses conseils avec amour et dévouement,

À celle qui a été une source d'inspiration et de motivation à chaque étape. À ma chère
encadrante « **BOUCHERIT Hanane** »

À celui qui a partagé mes premiers pas et mes plus beaux souvenirs, A celui qui a été mon pilier dans les
moments difficiles et mon refuge quand la vie devenait lourde,

À celui qui a incarné la force quand je faiblissais, et l'espoir quand je doutais, A celui dont les paroles étaient une lumière guidant mes pas, et dont le sourire renforçait ma détermination, Merci d'être mon frère, mon allié

et mon éternel complice. À mes chers frères « **Siffedinne et Billal** »

À ma compagne d'enfance et gardienne de mes plus précieux souvenirs, A celle qui a été pour moi une amie fidèle et une sœur aimante à chaque étape de ma vie, À celle qui m'a soutenue par ses mots et entourée de son amour, À ce cœur généreux qui bat toujours de bienveillance et de tendresse, À mes chères sœurs

« **Wissam, Souad, Fatima** »

À celle qui est devenue une sœur par la pureté de son cœur et la douceur de son âme, À celle qui a toujours été pour moi un soutien fidèle, une amie précieuse, et une confidente loyale à ma belle-sœur « **Houda** »

À ma compagne de route dans ce voyage de recherche et de défis, À celle qui a partagé avec moi les moments difficiles et les instants de bonheur, À celle qui a été un soutien et un appui à chaque étape, À ma chère

collègue « **Fatima** »

À la joie qui remplit les cœurs, et aux rires qui redonnent lumière à la vie. Par votre innocence, vous embellissez nos jours, et par votre présence, nous grandissons en amour et en espoir. Car vous êtes ce qu'il y a de plus beau dans la famille et ce que je possède de plus précieux. Aux jeunes enfants de ma famille « **Hadjer, Mouhamed,**

Rahef, Kousai, Djoud, Assile, Chaima, Hiba, Zaid, Adem »

Aux battements de cœur qui insufflent la vie à mon âme, et aux sourires qui apaisent chaque difficulté. À celles avec qui j'ai partagé les plus beaux moments et traversé les pires épreuves. Je vous aime autant que chaque instant passé ensemble. À mes chères amies

« **Ibtissam, Asma, Siham, Meriem, Fouzia, Lina, Hadjer, Karima, Roukia, Samah, Souad, Rawya, Roumaissa, Dounia, Youssra** »

Et mon ami d'enfance « **Saida, Sofia** »

Finalement, celui qui dit que je l'ai, l'obtiendra, et je l'ai, et si elle refuse contre sa volonté, je l'amènerai.

Guendouz Yasmine

Dédicace

﴿ وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا ﴾

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux

"Et dis : "Ô mon Seigneur, accorde-moi plus de savoir."

Louange à Allah, en premier et en dernier, de manière apparente et cachée, Lui qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas, qui m'a guidée et facilité les voies du savoir, et qui m'a bénie pour atteindre ce moment tant espéré.

À ceux qu'Allah a désignés comme causes de mon succès, je dédie le fruit de cet effort, espérant que le Tout-Puissant accepte ce travail comme une offrande pure pour Sa noble face, et comme un point de départ pour quelque chose de plus vaste et bénéfique à l'avenir...

Je dédie ce succès à l'homme qui a embelli mon nom des plus beaux titres, à celui qui m'a soutenue sans limite, à celui qui m'a appris que la réussite n'est atteinte que par la patience et la persévérance, à celui qui a semé en moi les valeurs nobles et a été mon premier pilier tout au long de mon parcours, de lui j'ai puisé ma force et ma confiance en moi... À la lumière qui a illuminé mon chemin, à la lampe qui ne s'éteint jamais dans mon cœur, à mon refuge après Allah, mon cher père « **Mohamed** », que Dieu repose son âme en paix. J'espère que mes sentiments te parviennent et que tu es fier de moi. Tu as été, en vérité, le meilleur des éducateurs et le plus noble des enseignants.

À la femme qui a fait de moi une jeune fille ambitieuse, à celle dont les prières ont allégé tous les obstacles que j'ai rencontrés, à ce cœur tendre et cette bougie qui a éclairé mes nuits sombres, à celle à qui Allah a promis le Paradis sous ses pieds, à cette grande femme qui a toujours rêvé de voir ce jour de ses propres yeux, ma première enseignante, ma force quand la vie m'a fatiguée, ma chère mère « **Akila** ». Tu as été à la fois une mère et une sœur pour moi. Que Dieu te protège et te garde, maman.

À ceux qui, après Allah, ont été mon soutien et mon refuge dans cette vie...

À mes chers frères : « **Oussama, Abdelghani, Issam** »

Vous êtes le battement de mon cœur, l'ombre sous laquelle je me réfugie en temps de difficulté, vous avez été et resterez mes meilleurs frères et mes meilleurs compagnons. Je vous dédie ce travail modeste, en reconnaissance de tout le soutien et l'amour que vous m'avez offert, et en gratitude pour votre présence inoubliable. Je prie

Allah de vous préserver, de vous accorder tout ce que vous désirez, et de vous accorder réussite et bonheur dans cette vie et dans l'au-delà.

À mon cher professeur, Dr. « **BOUCHERIT Hanane** », Vous êtes la touche lumineuse qui a éclairé le chemin de ce travail, le guide qui a été une bénédiction après Allah à chaque étape que j'ai franchie. Merci pour votre patience, pour vos précieux conseils inestimables, et pour votre soutien constant qui a été la plus grande motivation pour surmonter les défis.

Je prie Allah de faire de ce que vous m'avez transmis une lumière dans votre balance des bonnes actions, et de vous accorder réussite et bénédiction dans chaque pas que vous entreprenez.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à : Ma grande famille, la famille de mon père, la famille de ma mère, et en particulier ma tante « **Wassila** », pour votre soutien continu et votre encouragement infaillible.

À mes chers amis « **lbtissem, Asma, Siham, Fouzia, Meryeme, Karima, Samah, Hadjar, Rumaissa, Rania, Souad, Youssra, Safa, ma cousine Rima, Linda, ma cousine Sara, ma cousine Hanane...** »

Vous avez été et restez une source d'inspiration à chaque étape de ma vie. Je vous dédie ce travail modeste, en reconnaissance pour chaque instant partagé, pour chaque mot de soutien et d'encouragement offert. Je prie Allah de vous accorder succès et bonheur dans ce monde et dans l'au-delà, et de faire de votre chemin un chemin parsemé de réussite et de prospérité.

À mes chers enseignants qui m'ont accompagnée tout au long de mon parcours académique, je vous adresse toute ma gratitude et mes remerciements pour tout ce que vous m'avez transmis en savoir et en guidance.

À ma compagne de route, ma camarade de veillées, ma partenaire dans chaque instant de ce parcours... À celle avec qui j'ai partagé fatigue et rires, défis et réussites... À ma belle « **Yasmine** », Je te dédie ce travail modeste, en reconnaissance pour ta belle âme, ta grande patience et ton soutien inébranlable. Tu as été plus qu'une camarade, tu as été une sœur en Dieu, une main sur laquelle je me suis appuyée lorsque les jours étaient lourds.

Je prie Allah de faire de tout ce que nous avons accompli ensemble une lumière dans notre balance des bonnes actions, et de t'ouvrir les portes du succès et du bonheur à chaque étape.

Chelighoum Fatima

Thème : Découverte de nouveaux inhibiteurs de la maladie d'Alzheimer : criblage virtuel, docking moléculaire et filtrage ADME-Tox

Résumé

La maladie d'Alzheimer est une pathologie neurodégénérative progressive caractérisée par une perte de mémoire et déficits cognitifs liés à l'âge. C'est la sixième cause de décès et occupe aujourd'hui une place de plus en plus grandissante au sein de notre société. Malgré les avancées scientifiques, les alternatives de traitement disponibles à ce jour restent restreintes et principalement symptomatiques. Ce travail s'inscrit dans le contexte de la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'AChE, cible thérapeutique bien établie dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Dans ce cadre, nous avons utilisé des méthodes de docking moléculaire avec le logiciel *Surflex-dock*. Nous avons testé le docking d'un ensemble de 215 similaires, choisies au sein de la chimiothèque Pubchem, sur le site actif de l'ACHE. À l'issue de ce docking, trois composés : CID_100951166, CID_102004882 et CID_102004770 ont montré les meilleures affinités, avec des scores respectives de 8,07 M⁻¹, 8.52 M⁻¹ et 8.53 M⁻¹. Ces résultats indiquent qu'ils pourraient constituer de nouveaux inhibiteurs potentiellement plus sélectifs et affins envers l'AChE.

Enfin, un profil pharmacophorique prometteur et des caractéristiques ADME-Tox appréciables ont été identifiés, suggérant favorablement que ces composés pourraient agir en tant que nouveaux inhibiteurs potentiellement plus efficaces vis-à-vis de l'AChE.

Cette étude démontre l'utilité du docking moléculaire comme outil de criblage virtuel dans la découverte de nouvelles approches thérapeutiques pour lutter contre la maladie d'Alzheimer, ouvrant la voie à des validations expérimentales ultérieures.

Mots clés : Alzheimer, AChE, *Surflex-dock*, Docking moléculaire, ADME-Tox.

**Title: Discovery of new inhibitors for Alzheimer's disease: virtual screening,
molecular docking, and ADME-Tox filtering**

Abstract

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disorder characterized by memory loss and age-related cognitive deficits. It is the sixth leading cause of death and has an increasing impact on our society. Despite scientific advancements, the currently available treatment options remain limited and are mainly symptomatic. This work focuses on the search for new AChE inhibitors, a well-established therapeutic target in the treatment of Alzheimer's disease. In this context, we employed molecular docking methods using Surflex-dock software. We tested the docking of a set of 215 similar compounds, selected from the Pubchem library, on the active site of AChE. As a result, three compounds CID_100951166, CID_102004882, and CID_102004770 showed the best affinities, with respective scores of 8.07 M⁻¹, 8.52 M⁻¹, and 8.53 M⁻¹. These findings indicate that these compounds may serve as potentially more selective and high-affinity inhibitors for AChE.

Additionally, a promising pharmacophore profile and favorable ADME-Tox characteristics were identified, suggesting that these compounds could act as potentially more effective inhibitors against AChE.

This study highlights the utility of molecular docking as a virtual screening tool in the discovery of new therapeutic approaches for combating Alzheimer's disease, paving the way for further experimental validation.

Keywords: Alzheimer's disease, AChE, Surflex-dock, Molecular Docking, ADME-Tox.

العنوان: اكتشاف مثبطات جديدة لمرض الزهايمر: الفحص الافتراضي، الالتحام الجزيئي، والتصفية

ADME-Tox

الملخص

مرض الزهايمر هو اضطراب عصبي تنكسي تدريجي يتميز بفقدان الذاكرة وضعف القدرات الإدراكية المرتبطة بالعمر. يُعدّ سادس سبب رئيسي للوفاة ويزداد تأثيره في مجتمعاتنا بشكل متسارع. على الرغم من التقدم العلمي، تظل الخيارات العلاجية المتاحة حتى اليوم محدودة وتقتصر غالبًا على تخفيف الأعراض. يندرج هذا العمل ضمن جهود البحث عن مثبطات جديدة لإنزيم AChE ، وهو هدف علاجي معروف في معالجة مرض الزهايمر. في هذا السياق، استخدمنا طرق الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج *Surflex-dock* قمنا باختبار التحام مجموعة من 215 مركبًا مشابهًا، تم اختيارها من مكتبة PubChem الكيميائية، في الموقع النشط لإنزيم AChE

أظهرت النتائج أن ثلاثة مركبات CID_100951166 ، CID_102004882 ، و CID_102004770 حققت أفضل تقاربات، حيث كانت قيمها على التوالي 8.07 M^{-1} ، 8.52 M^{-1} ، و 8.53 M^{-1} تشير هذه النتائج إلى أن هذه المركبات قد تكون مثبطات جديدة أكثر انتقائية وأعلى تقاربًا تجاه إنزيم AChE.

أخيرًا، تم تحديد ملف دوائي إيجابي وخصائص ADME-Tox ملائمة، مما يشير إلى أن هذه المركبات قد تعمل كمثبطات جديدة وأكثر فعالية لإنزيم AChE.

تُظهر هذه الدراسة أهمية استخدام تقنية الالتحام الجزيئي كأداة للفحص الافتراضي في اكتشاف مقاربات علاجية جديدة لمكافحة مرض الزهايمر، مما يمهد الطريق نحو دراسات تجريبية لاحقة.

الكلمات المفتاحية: الزهايمر، AChE، *Surflex-dock*، الالتحام الجزيئي، ADME-Tox.

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
المخلص	
Liste des figures	
Liste des graphes	
I.Introduction.....	1

CHAPITRE I: GENERALITE SUR LA MALADIE D'ALZHEIMER

I.Introduction.....	4
II.Définition de la maladie d'Alzheimer	5
III.Les symptômes de la maladie d'Alzheimer	6
IV.Les phases de la maladie d'Alzheimer.....	6
IV.1 Le stade préclinique (phase asymptomatique)	7
IV.2 Le stade léger	7
IV.3 Le stade modéré	7
IV.4 Le stade sévère	7
V.Facteurs de risques conduisant à la maladie d'Alzheimer.....	8
V.1.L'âge.....	8
V.2.Les antécédents familiaux et la génétique	8
V.3.Le sexe.....	8
V.4.Des facteurs de risque vasculaires.....	8
V.5.Le syndrome de down	9
V.6.Le diabète	9
V.7.Les lésions à la tête.....	9
VI.Facteurs protecteurs	9
VII.Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer	9

VIII.Diagnostic de la maladie d'Alzheimer	10
IX.Traitement de la maladie d'Alzheimer.....	11
IX.1 Prise en charge médicamenteuse	11
IX.2 Prise en charge non médicamenteuse	14

CHAPITRE II: ACÉTYLCHOLINESTÉRASE

I.Introduction.....	18
II.Définition de l'acétylcholinestérase	19
III.Structure de l'acétylcholinestérase humaine	20
IV.Le site actif et la triade catalytique	21
IV.1.Le site périphérique de l'AChE (PAS)	22
IV.2.Le site catalytique de l'AChE (CAS).....	22
V.Mécanisme catalytique	23
VI.Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase	24
VI.1.Inhibiteurs irréversibles.....	25
VI.2.Les inhibiteurs réversibles	25
VI.2.1.La tacrine.....	25
VI.2.2.Donépézil	26
VI.2.3.Galanthamine	26
VI.2.4.Huperzine	26
VI.2.5.Rivastigmine	27
VI.2.6.Les mono terpènes	27
VII.Implication de l'AChE dans la maladie d'Alzheimer.....	28

CHAPITRE III: CRIBLAGE VIRTUEL

I.La recherche de nouveaux médicaments	34
II.La place de l'ordinateur dans le processus de conception de médicaments.....	35
III.Criblage virtuel <i>in silico</i>	36

III.1.Définition	36
III.2.L'intérêt du criblage virtuel.....	36
III.3 Les outils du criblage virtuel	36
III.3.1.Cible enzymatique.....	36
III.3.2.Ligand.....	37
III.3.3.Programmes de docking	37
III.4 Stratégies du criblage virtuel.....	38
III.4.1.Criblage virtuel « <i>ligand-based</i> ».....	38
III.4.2.Criblage virtuel « <i>structure-based</i> ».....	38
IV.Le docking moléculaire.....	38
IV.1 Généralité sur le docking moléculaire.....	38
IV.2 Principe de docking moléculaire	39
IV.3 Types de docking moléculaire.....	40
IV.4 Les interactions protéine-ligand	41
IV.4.1.Liaison hydrogène.....	42
IV.4.2.Les interactions hydrophobes.....	42
IV.4.3.Forces de Van der Waals	43
IV.4.4.Les interactions électrostatiques	43
V.Le programme de docking <i>Surflex-dock</i>	44
V.1.Définition.....	44
V.2.Algorithme de docking « construction incrémentale »	44

CHAPITRE IV: MATERIEL ET METHODES

I.Matériel	51
I.1.Ordinateur	51
I.2.Programmes utilisés	51
I.2.1.Le logiciel <i>Surflex-dock</i> (1. 3, 2005).....	51

I.2.2 <i>Open Babel</i> (2.4.0. 2011)	52
I.2.3 Biovia Discovery Studio Visualizer (25.1.0.24284)	53
I.2.4 <i>ViewerLite</i> (4.2, 2001).....	54
I.2.5 Excel Microsoft 2010	55
I.3. Banques de donnée	55
I.3.1 Protéine Data Bank (PDB)	55
I.3.2 <i>Pubchem</i>	56
I.4. Les serveurs	56
I.4.1 DogSiteScorer	56
I.4.2 PrankWeb	57
I.4.3 ADMETlab 2.0.....	58
I.4.4 ProTox 3.0.....	59
II. Méthodes	60
II.1. Teste de fiabilité de programmes surflex-dock	60
II.1.1. L'écart quadratique moyen ou RMSD.....	60
II.1.2. Analyse visuelle.....	61
II.2. Réalisation du docking moléculaire par <i>Surflex-dock</i>	61
II.2.1. Préparation d'enzyme	61
II.2.2. Préparation de l'inhibiteur	62
II.2.3. Docking par <i>Surflex-dock</i>	62
II.3. Etude des interactions des meilleurs inhibiteurs :	64
III. Prédiction de la similarité médicamenteuse	65
III.1 Filtrage ADEM-Tox.....	65
III.2 Propriétés physico-chimiques	66
III.2.1. Règle de <i>Lipinski</i>	66
III.2.2. La règle de <i>Veber</i>	66
III.2.3. La solubilité dans l'eau	67

III.2.4.Accessibilité à la synthèse	67
III.3 Propriétés pharmacocinétiques.....	67
III.3.1.L'absorption	67
III.3.2.Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE).....	68
III.3.3.Inhibition des cytochromes P450	68
III.4 La toxicité.....	68
III.4.1.L'Inhibition de HERG.....	68
III.4.2.Mutagénicité – Test d'Ames	69
III.4.3.Étude du pouvoir cancérogène	69
III.4.4.Toxicité aigue	69

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Validation de la fiabilité du système de docking <i>Surflex-dock</i>	77
I.1.L'écart quadratique moyen ou le RMSD	77
I.2.Analyse visuelle	83
II.Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de l'AChE humaine par divers inhibiteurs provenant de la PDB	87
II.1.Choix du complexe.....	87
II.2.Identification de site actif	88
II.2.1.Notion de site actif.....	88
II.2.2.Identification du site de liaison du ligand.....	88
II.3.Docking moléculaire des inhibiteurs provenant de la PDB.....	90
II.4.Analyse visuelle des interactions 4M0E-1YL	93
II.4.1.Les interactions hydrophobes	94
II.4.2.Les interactions hydrogène	95
III.Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.....	96
III.1.Inhibition de l'AChE par les similaires de l'inhibiteur 1YL.....	96

III.2.Sélection des meilleures similaires	100
III.3.Etude des interactions des inhibiteurs proposés	102
III.3.1.Analyse visuelle de 4M0E- CID_102004882	102
III.3.2.Analyse visuelle de 4M0E- CID_102004770	104
III.3.3.Analyse visuelle de 4M0E- CID_100951166	105
IV.Prédiction de la similarité médicamenteuse	107
IV.1.Propriétés physicochimiques.....	108
IV.1.1.Vérification des règles de <i>Lipinski</i> et de <i>Veber</i>	108
IV.1.2.Chimie médicale	109
IV.2 Propriétés pharmacocinétiques.....	110
IV.2.1.Absorption.....	110
IV.2.2.Distribution	111
IV.2.3.Métabolisme.....	112
IV.2.4.Elimination.....	113
IV.3 Toxicité.....	114
IV.3.1.Cardiotoxicité.....	115
IV.3.2.Mutagénicité.....	115
IV.3.3.Cancérogénicité.....	115
IV.3.4.Toxicité aigüe par voie orale chez le rat	115
IV.3.5.Irritation oculaire.....	115
IV.3.6.Toxicité respiratoire	116
IV.3.7.Classe de toxicité prédite	116
IV.3.8.Prédiction LD 50	116
CONCLUSION	120
REFERENCES	

Liste des figures

Figure I.1. Mécanisme de la maladie d'Alzheimer	05
Figure II.1. Représentation schématique de la synthèse, de la libération et de l'hydrolyse de l'acétylcholine	19
Figure II.2. Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine.....	20
Figure II.3. Structure tridimensionnelle de l'acétylcholinestérase humaine (code pdb : 4m0e).....	21
Figure II.4. Structure tridimensionnelle de l'AChE humaine (code pdb : 4ey7). La forme de la gorge est esquissée par une ligne noir pointillée. L'entrée de la gorge est indiquée par une flèche. La triade catalytique est colorée en rouge	22
Figure II.5. Schéma représentatif du site actif d'AChE.....	23
Figure II.6. Mécanisme simplifié de l'hydrolyse de l'acétylcholine par le site catalytique de L'acétylcholinestérase humaine	24
Figure II.7. Structure de la Tacrine	25
Figure II.8. Structure de la Donépézil.....	26
Figure II.9. Structure de la Galanthamine.....	26
Figure II.10. Structure de la Hupersine.....	27
Figure II.11. Structure de la Rivastigmine.....	27
Figure II.12. Structure d'unité d'isoprène et les mono terpènes	28
Figure III.1. Etapes du processus de recherche et développement des médicaments.....	34
Figure III.2. Processus itératif de la conception de médicaments et domaines potentiels d'intervention de l'approche in silico.....	35
Figure III.3. Principe du docking moléculaire, illustration de l'interaction entre une molécule (ligand) et une protéine (Target) au niveau de son site actif (Rectangle)	39
Figure III.4. Principe général d'un programme de docking	40
Figure III.5. Approches rigides et flexible.....	41
Figure III.6. Liaison hydrogène	42
Figure III.7. Interactions hydrophobes	42

Figure III.8. Interaction de Van Der Wall	43
Figure III.9. Structure de la Galanthamine	43
Figure III.10. Schéma illustrant la méthode de reconstruction incrémentale	45
Figure IV.1. Page d'accueil de logiciel Surflex-dock.	52
Figure IV.2. Interface de programme Open Babel.....	53
Figure IV.3. Interface de logiciel Biovia discovery studio visualizer.....	54
Figure IV.4. Interface de logiciel ViewerLite	54
Figure IV.5. Interface d'accueil de la PDB.....	55
Figure IV.6. Interface d'accueil de Pubchem.....	56
Figure IV.7. Interface de serveur DogSiteScorer.....	57
Figure IV.8. Interface de serveur PrankWeb.....	58
Figure IV.9. Interface graphique de l'ADMETlab 2.0.....	59
Figure IV.10. Interface de ProTox 3.0	60
Figure IV.11. Structure des ligands existants dans le complexe 4M0E de l'enzyme AChE. (a) dihydrotanshinone I, (b) 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose, (c) 1,2-éthanediol, (d) ions nitrates.....	62
Figure IV.12. Visualisation du Protomol.mol2 représenté par types d'atomes en mode « Lines » dans le site actif de l'AChE avec l'inhibiteur 1YL coloré en verte	63
Figure IV.13. Résultat de docking moléculaire donné par Surflex-dock.....	64
Figure IV.14. Visualisation des interactions de l'AChE par le programme Discovery Studio Visualiser.....	65
Figure V.1. Superposition du ligand HI6 donné par PDB (coloré en rose) et du finale-0 calculé par Surflex-dock (coloré en vert) du complexe 6CQW.	84
Figure V.2. Superposition du ligand GNT donné par PDB (coloré en rose) et du finale- 0 calculé par Surflex-dock (coloré en vert) du complexe 4EY6	85
Figure V.3. Superposition du ligand THA donné par PDB (coloré en rose) et du finale- 0 calculé par Surflex-dock (coloré en vert) du complexe 7XN1.....	86
Figure V.4. Les poches de liaison prédites par le serveur DoGSiteScorer (code 4M0E)..	89

Figure V.5. Site de liaison prédit représenté en rouge à l'aide de serveur PrankWeb (ID PDB : 4M0E).	90
Figure V.6. Mode de liaison du ligand 1YL avec le site actif de l'AChE.....	94
Figure V.7. Interactions hydrophobiques formées par le ligand 1YL avec le site actif de l'AChE.	95
Figure V.8. Interactions entre l'inhibiteur 1YL et les acides aminés de l'AChE. Projection 3D visualisés par Discovery Studio Visualizer.	96
Figure V.9. Interaction entre le ligand CID_102004882 et les acides aminés de l'AChE....	103
Figure V.10. Visualisations des interactions hydrophobiques dans le site actif de la 4M0E avec CID_102004882.....	103
Figure V.11. Interactions hydrophobiques formées par le ligand CID_102004770.	104
Figure V.12. Interactions hydrogène formées entre les acides aminés de site actif et l'inhibiteur CID_102004770.	105
Figure V.13. Interactions hydrophobiques formées par 4M0E avec CID_100951166.....	106
Figure V.14. Caractéristiques des liaisons formées entre le site d'interaction de la cible et le ligand CID_100951166.	107

Liste des tableaux

Tableau I.1. Représenté récapitulatif des médicaments de la MA.....	12
Tableau V.1. Valeurs de RMSD des 200 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme Surflex-dock	78
Tableau V.2. Valeurs de RMSD de trois complexes AChE-inhibiteur.....	83
Tableau V.3. Caractéristiques du complexe 4M0E.....	87
Tableau V.4. Les poches de liaison pour le code 4M0E prédites par le Serveur DoGSiteScorer	89
Tableau V.5. Les scores d'affinité de 11 inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire avec Surflex-dock.....	91
Tableau V.6. Résultat de docking avec le logiciel Surflex-dock dans le site actif de l'AChE	97
Tableau V.7. Donnée chimiques et structurales des similaires choisis comme meilleurs inhibiteurs.....	101
Tableau V.8. Liaisons hydrogènes établies par composé CID_102004882.....	102
Tableau V.9. Liaisons hydrogène établies par le composé CID_102004770	105
Tableau V.10. Liaisons hydrogène établies par l'inhibiteur CID_100951166	107
Tableau V.11. Propriétés physicochimiques prédites	108
Tableau V.12. Chimie médicale.....	109
Tableau V.13. Profil de d'absorption.....	110
Tableau V.14. Profil de distribution prédit.	111
Tableau V.15. Profil de métabolisme prédit	112
Tableau V.16. Profil d'élimination	113
Tableau V.17. Profil de toxicité	114

Liste des graphes

Grappe V.1. Résultats en % du test RMSD à deux intervalles 81

Grappe V.2. Résultats en % du test RMSD à deux intervalles 82

Liste des abréviations

3D : Trois Dimensions

Å : *Angstrom*

ACh : Acetylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

BuChE : Butyryl Cholin Esterase

CAS : Site Catalytique

CV : Criblage Virtuel

FDA : *Food and Drug Administration*

HERG : *Human Ether-à-go-go-Related Gene*

KDA : kilo Dalton

MA : Maladie d'Alzheimer

Pa : Plaques amyloïdes

PAS : Site Périphérique

PDB : *Protein Data Bank*

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RMSD : Ecart quadratique moyen (*Root Mean Square Deviation*).

RX : Rayon X

SDF : *Structure Data File*.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La mise au point d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, nécessitant en moyenne 12 à 14 ans de recherche, pour un coût estimé entre 800 millions et 1 milliard de dollars [01]. En effet, les chercheurs ainsi que les entreprises du secteur pharmaceutique s'efforcent de diminuer tant la durée que les dépenses liées à l'élaboration des médicaments. Cela conduit au développement de nouvelles méthodes pour surmonter ces obstacles, notamment la simulation informatique. Les méthodes de modélisation moléculaire, telles que le criblage par docking moléculaire, est un outil exemplaire. Il s'agit d'une approche, faisant partie de la modélisation moléculaire, permettant la simulation des interactions protéine-ligand le plus souvent. Le docking moléculaire est devenu de plus en plus utile lors des premières phases de découvrir de nouveaux médicaments en raison de l'immense croissance des structures 3D de rayons X et de RMN et de leurs résolutions améliorées rapportées dans la banque de données des protéines [02, 03].

En outre, le criblage virtuel est un mécanisme extrêmement utile dans l'élaboration de nouveaux médicaments. Cette méthode offre la possibilité de modéliser les interactions entre des composés chimiques et des cibles biologiques, sans avoir à procéder directement à des tests en laboratoire. De plus, elle permet de gagner du temps et de réduire les frais de recherche, d'améliorer la sélection des molécules ayant un potentiel, d'aider à diminuer le recours aux animaux pour les tests précliniques et d'encourager une meilleure compréhension des mécanismes d'action des médicaments [02, 03].

La maladie d'Alzheimer (MA) est devenue un problème majeur de santé publique. C'est une pathologie neurodégénérative progressive qui affecte principalement la mémoire, le langage, le raisonnement et le comportement. Elle touche majoritairement les personnes âgées et constitue la forme la plus courante de démence. Elle est causée par l'accumulation anormale de protéines (bêta-amyloïde et tau) dans le cerveau, entraînant la mort progressive des cellules nerveuses. À ce jour, il n'existe pas de traitement curatif, mais des thérapies peuvent aider à ralentir l'évolution des symptômes. La prise en charge repose sur un accompagnement médical, psychologique et social. Cette pathologie augmente avec l'avancée dans l'âge [04, 05].

De nombreuses recherches ont démontré que la maladie d'Alzheimer affecte principalement les voies cholinergiques, entraînant une réduction significative des taux de neurotransmetteurs dans le cerveau. Le déficit en acétylcholine peut atteindre jusqu'à 90 % aux stades avancés de la maladie, touchant des régions clés telles que le néocortex, l'hippocampe,

le noyau basal de Meynert, le striatum et le thalamus. Pour pallier ce manque, les médecins ont recours aux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, des substances qui empêchent la dégradation de l'acétylcholine dans la fente synaptique. Bien que ces traitements aient montré une certaine efficacité dans l'atténuation des symptômes de la maladie, aucun d'entre eux ne permet actuellement de la guérir ni d'en stopper la progression [06, 07].

La mise au point d'un traitement curatif constitue donc un enjeu majeur. Certains médicaments existent déjà pour en ralentir l'évolution, mais leur efficacité reste encore limitée. De plus, ces inhibiteurs sont associés à un certain nombre d'effets indésirables tels que l'hépatotoxicité et les troubles gastro-intestinaux [08]. Par conséquent, la conception d'un traitement efficace contre la maladie d'Alzheimer demeure un défi toujours d'actualité.

Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé le logiciel *Surflex-dock* pour mener une étude de criblage virtuel visant à explorer les mécanismes d'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE), dans l'objectif de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de cette enzyme.

Le manuscrit de ce travail a été structuré en deux grandes parties :

- Une partie théorique composée de trois chapitres. Le premier chapitre présente des généralités sur la maladie d'Alzheimer. Le deuxième chapitre de ce manuscrit met l'accent sur l'enzyme cible, acétylcholinestérase ainsi que ses inhibiteurs. Le troisième chapitre est consacré au criblage virtuel, qui constitue un outil de plus en plus privilégié pour l'identification *in silico* de nouveaux inhibiteurs de cibles d'intérêt thérapeutique.
- Une partie expérimentale commencée par le chapitre intitulé matériel et méthodes. Le cinquième chapitre est consacré à l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus. Enfin, ce travail est terminé par une conclusion et perspectives.

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA MALADIE D'ALZHEIMER

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA MALADIE D'ALZHEIMER

I. Introduction

A la fin du XIXème siècle, l'état de démence du sujet âgé était considéré par la grande majorité des psychiatres comme habituel et lié à l'usure normale du temps. Ce sont les travaux de l'école de *Munich*, autour de *Kraepelin*, un des deux psychiatres allemands à croire à l'intérêt de l'étude histologique du cerveau dans les maladies mentales, qui ont conduit à mieux comprendre ces maladies. Plusieurs médecins rejoignent alors le groupe de *Munich* dont Aloïs *Alzheimer* qui s'était initié à l'étude microscopique du cerveau aux côtés de *Franz Nissl* [09].

Il fallait attendre le dernier tiers du XXème siècle pour voir les connaissances sur cette maladie évoluer sensiblement. La description de la maladie d'Alzheimer (MA) est un peu différente de sa description initiale. Elle est caractérisée par une démence dégénérative contrairement aux autres causes de démences, vasculaires, toxiques ou carentielles. Elle ne peut plus être considérée comme une maladie du sujet jeune car de multiples études ont montré de nombreux tableaux cliniques de démence chez le sujet âgé s'accompagnaient des deux types de lésions cérébrales (plaques séniles et dégénérescence neurofibrillaire). En fait, c'est surtout une maladie des personnes âgées qui peut aussi, mais plus rarement survenir à un âge plus jeune [09].

Les données épidémiologiques de la dernière décennie, ont mis en évidence une forte augmentation de l'incidence de la MA [10]. Selon les prévisions de l'organisation mondiale de la santé (OMS), le nombre de malades devrait presque doubler tous les 20 ans pour atteindre 65,7 millions d'ici 2030 et 115,4 millions d'ici 2050 rivalisant avec la prévalence actuelle de l'obésité et du diabète avec des proportions plus élevées dans les pays développés que dans les pays non développés [11]. Au niveau national, les chiffres ne cessent d'augmenter. D'après une étude menée au niveau du centre hospitalo-universitaire (CHU) Franz fanon de Blida, la prévalence de la maladie d'Alzheimer chez les patients âgés de 65 ans et plus est estimée à 200000 cas en 2017 [12]. En revanche, on compte près de 100 000 cas de patients atteints de la MA, en 2004, pour la même tranche d'âge [13].

II. Définition de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) représente la plus commune des démences séniles, c'est une maladie progressive, chronique, neurodégénérative et irréversible. Elle se caractérise par une détérioration progressive de la mémoire et des facultés cognitives conduisant à des répercussions sur les activités de la vie quotidienne et des troubles comportementaux [14]. Cette affection survient tardivement dans la vie, à l'exception de rares cas d'apparition précoce dus à la présence de mutations génétiques familiales [05].

La MA tient son nom du médecin *Aloïs Alzheimer* qui en a fait la découverte en 1907. *Aloïs Alzheimer* décrit pour la première fois les marqueurs principaux de la maladie que sont une atrophie cérébrale associée à la présence de plaques amyloïdes (PA) dans les couches corticales supérieures et la présence d'enchevêtrements neurofibrillaires (ENF). De nos jours, ces marqueurs servent toujours de base au diagnostic de la MA mais sont complétés par de nouveaux marqueurs tels que la présence de la protéine amyloïde $\beta 1-42$, espèce majoritaire des PA, de la protéine Tau phosphorylée (p-Tau) composante des ENF ainsi que la neuro-inflammation, la perte synaptique et la perte neuronale (ou neuro dégénérescence) [15].

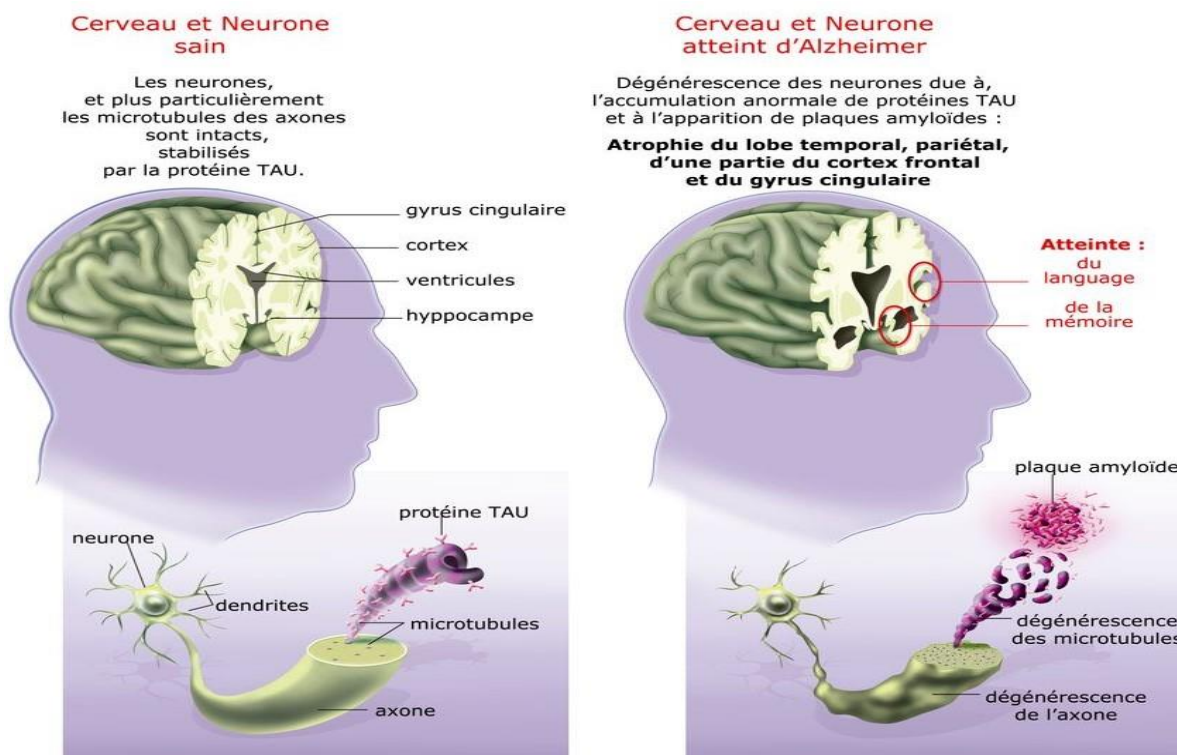


Figure I.1. Mécanisme de la maladie d'Alzheimer [16].

La maladie d'Alzheimer a un lien étroit avec les neurotransmetteurs tels que l'acétylcholine et la carence de ce neurotransmetteur provoque la MA [04]. Deux types d'enzymes sont responsables de la cause de développement de la MA, l'acétylcholinestérase et la butyryl-cholinestérase hydrolysant l'acétylcholine. L'acétylcholinestérase est présentée dans les muscles, le cerveau et les neurones cholinergiques tandis que la butyryl-cholinestérase est présentée dans l'intestin, les poumons, le foie, les reins et le sérum [04].

III. Les symptômes de la maladie d'Alzheimer

Des chercheurs ont découvert plusieurs symptômes de la maladie d'Alzheimer, parmi lesquels [17, 18] :

- Altération de la mémoire à court terme (événements, des heures ou des jours précédents, etc.) ;
- Difficulté à exécuter les tâches familières (fermer les portes à clé, prendre des médicaments... etc.) ;
- Nouveaux problèmes d'expression orale ou écrite (trouver les mots, discours moins compréhensible... etc.) ;
- Difficulté à suivre une conversation, un cheminement de pensée ;
- Perte graduelle du sens de l'orientation dans l'espace et dans le temps ;
- Troubles des gestes ou apraxie (à écrire, à utiliser des objets courants... Etc.) ;
- Difficulté à saisir les notions abstraites et à suivre un raisonnement ;
- Difficulté à reconnaître les objets, les visages des proches ;
- Atteinte progressive de la mémoire à long terme (perte des souvenirs d'enfance et de l'âge adulte) ;
- Changements d'humeur ou de comportement et de personnalité.

IV. Les phases de la maladie d'Alzheimer

Il existe une grande variabilité interindividuelle concernant la progression des troubles liés à la MA. Certaines personnes déclinent plus rapidement que d'autres, ou inversement, certains facteurs favorisent le ralentissement des déclin. Il est néanmoins possible de dégager un profil général de l'évolution de la maladie d'Alzheimer que l'on peut découper en quatre stades en fonction du MMSE [18].

MMSE (mini mental state examinations) ou test de folstein est un test d'évaluation des fonctions cognitives et de la capacité mnésique d'une personne. Ce test est employé à visée d'orientation diagnostique devant une suspicion de démence. Il est notamment employé dans le cadre d'un dépistage de la démence de type Alzheimer [19].

IV.1 Le stade préclinique (phase asymptomatique)

Cette phase peut s'étendre de 15 à 25 ans durant lesquels les lésions cérébrales apparaissent silencieusement. Progressivement, quelques symptômes plus ou moins décelables émergent comme des oublis plus fréquents, égarement des objets, le manque du mot, les difficultés de pensées abstraites, l'humeur changeante, le manque d'intérêt [18, 20].

IV.2 Le stade léger

Cette phase peut varier de 2 à 4 ans (MMSE > 20). Lorsque les lésions cérébrales ont atteint le seuil symptomatique, les manifestations cliniques de la démence apparaissent, traduisant l'insuffisance des mécanismes compensatoires. Ainsi, les troubles de la mémoire à court terme et de la mémoire épisodique revêtent une plus grande importance. La personne exprime des difficultés à retenir des informations nouvelles, à suivre des conversations, à faire de nouveaux apprentissages. Les troubles de l'attention et de la concentration, les troubles de l'orientation et le manque du mot s'aggravent. Des manifestations comportementales apparaissent également : l'anxiété, le stress, la dépression, le désintérêt, qui résultent notamment de la prise de conscience des déclin [18, 20].

IV.3 Le stade modéré

A ce stade (MMSE compris entre 10 et 20, peut durer de 2 à 6 ans), les déclin cognitifs ont un retentissement sur l'autonomie de la personne. L'ensemble des symptômes décrits au stade léger s'aggrave. Les pertes de la mémoire s'accroissent, la mémoire des faits récents est très altérée et la mémoire des faits anciens commence également à être perturbée. Les troubles de l'orientation temporelle et spatiale s'aggravent. Les changements de la personnalité et du comportement sont marqués [18, 20].

IV.4 Le stade sévère

Le stade sévère (MMSE < 10, peut durer de 2 à 4 ans) est marqué par une détérioration grave de tous les symptômes décrits précédemment. La mémoire des faits anciens jusqu'alors relativement préservée est altérée. La personne ne reconnaît plus ses proches ni les soignants, elle ne répond plus aux stimulations extérieures. La communication est quasi nulle. La dépendance est totale [18, 20].

V. Facteurs de risques conduisant à la maladie d'Alzheimer

Une multitude de facteurs ont été étudiés pour tenter d'expliquer l'apparition de la maladie d'Alzheimer :

V.1 L'âge

C'est le facteur de risque non modifiable le plus important. Le nombre de nouveaux cas de malades Alzheimer augmente de façon exponentielle avec l'avancée dans l'âge après 65 ans. Une étude américaine portant chez les personnes très âgées a récemment montré que le taux d'incidence de la démence augmente de 12,7% par an chez les personnes âgées entre 90 et 94 ans, de 21,2% par an chez les personnes âgées entre 95 et 99 ans, pour atteindre 40,7% par an chez les âgés de plus de 100 ans [18].

V.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) « 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 [05].

V.3 Le sexe

Deux fois plus de femmes que d'hommes ont la MA. 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 ma [05].

V.4 Des facteurs de risque vasculaires

La santé cardiovasculaire joue un rôle important dans la santé cérébrale. Les maladies cardiaques, l'hypertension artérielle et l'hypercholestérolémie pourraient accroître le risque de développer la maladie d'Alzheimer. Ceci s'explique par les dommages des vaisseaux sanguins du cerveau réduisant ainsi le débit sanguin [18].

V.5 Le syndrome de down

Les personnes atteintes par ce syndrome seraient plus à risque de développer la maladie d'Alzheimer. En effet, l'anomalie génétique responsable de ce syndrome causerait aussi l'accumulation des plaques amyloïdes dans le cerveau conduisant ainsi à la ma [21].

V.6 Le diabète

Le diabète type 2 serait aussi un facteur de risque de la ma. Ceci serait lié aux dommages cellulaires au niveau du cerveau causés par le niveau de sucre élevé dans le sang. Au cours du diabète type 2 il existe une insulino-résistance. En d'autres termes, l'insuline sécrétée par l'organisme n'est plus efficace et ne peut plus faire convertir le glucose en énergie dans les cellules afin de baisser la glycémie [21].

V.7 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 [05].

VI. 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 [21-23]. Les scientifiques pensent que le régime alimentaire équilibré et riche en vitamines et en oligoéléments, la pratique d'une activité physique régulière, l'engagement social de la personne dans son milieu, les activités mentales stimulantes pourraient aider à réduire le risque de la démence d'Alzheimer [23].

VII. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer résulte d'une lente dégénérescence des neurones ; elle débute au niveau de l'hippocampe (structure cérébrale essentielle pour la mémoire) puis s'étend au reste du cerveau.

Le cerveau présente deux types de lésions provoquant une accumulation de protéines qui deviennent toxiques [25] :

- Des dépôts amyloïdes (ou plaques séniles) : dépôts de peptide bêta amyloïde sous forme de plaques.

- Une dégénérescence neuro fibrillaire : accumulation intra neuronale de fibrilles formées d'une protéine taux anormalement phosphorylée.

VIII. Diagnostic de la maladie d'Alzheimer

Même si l'on ne sait pas guérir la maladie d'Alzheimer, on peut ralentir sa progression. Il est donc essentiel de pouvoir poser rapidement un diagnostic afin de mettre en œuvre la prise en charge de la maladie. Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer nécessite un bilan complet des capacités cognitives de la personne. Il n'existe donc pas de test rapide. Généralement, le diagnostic de la MA est comparable au diagnostic des autres démences.

- Examen formel de l'état mental ;
- Anamnèse et examen clinique ;
- Examens complémentaires ;
- Neuro-imagerie.

Cependant, malgré des caractéristiques cliniques et spécifiques d'imagerie et de laboratoire, le diagnostic définitif de la maladie d'Alzheimer ne peut être confirmé que par l'évaluation histologique du tissu cérébral [26].

Des recommandations sur le diagnostic de la démence, dont la maladie d'Alzheimer, sont disponibles auprès du « *national institute for health and care excellence* ». Le bilan comprend une anamnèse et un examen neurologique standard. Les critères cliniques permettent de poser le diagnostic avec une précision de 85% et permettent de différencier la maladie d'Alzheimer d'autres variétés de démence, telles que la démence vasculaire et la démence avec corps de Loewy [26].

Les critères diagnostiques traditionnels de la ma comprennent tous les éléments suivants:

- Une démence cliniquement établie et documentée par une évaluation cognitive codifiée ;
- Un déficit de ≥ 2 aires cognitives ;
- Un début progressif (c'est-à-dire, sur des mois à des années plutôt que sur des jours à des semaines) et une aggravation progressive des fonctions mémorielles et autres fonctions cognitives ;
- Une absence de trouble de la vigilance ;
- Une apparition après l'âge de 40 ans, le plus souvent après 65 ans ;
- Une absence d'anomalie générale ou cérébrale (tumeur, accident vasculaire cérébral) susceptible de rendre compte du déclin progressif de la mémoire et de la cognition.

Des examens biologiques (hormone stimulant la thyroïde, taux de vitamine b12) et une neuro-imagerie (IRM) sont effectués pour rechercher d'autres causes traitables de démence et de troubles qui peuvent aggraver les symptômes. Si les signes cliniques suggèrent un autre trouble sous-jacent (VIH, syphilis), des tests pour ces troubles sont indiqués [27].

IX. Traitement de la maladie d'Alzheimer

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement capable de guérir la maladie d'Alzheimer ou de ralentir son évolution dans le cerveau. Cependant, certains médicaments spécialisés ont été développés pour ralentir sa progression, atténuer les symptômes de la maladie et ainsi améliorer la qualité de vie des patients.

IX.1 Prise en charge médicamenteuse

- Améliorent modestement les fonctions cognitives et la mémoire chez certains patients. Quatre médicaments sont disponibles. Il est admis que le **donépézil** (aricepmc), la **rivastigmine** (exelonmc) et la **galanthamine** (reminylmc) ont une efficacité comparable, mais la **tacrine** est rarement utilisée du fait de son hépato toxicité [21]. Ces médicaments inhibent la dégradation de l'acétylcholine et s'opposent au déficit cholinergique associé à la détérioration cognitive [05].
- Un antagoniste des récepteurs du n-méthyl-d-aspartate (NMDA) qui est la **mémantine**, semble améliorer la capacité cognitive et fonctionnelle du patient qui présente une maladie d'Alzheimer modérée à sévère, peut être utilisée en association avec un inhibiteur du cholinestérase [28].
- **L'aducanumab** est un anticorps monoclonal IGG1 humain anti-amyloïde spécifique des oligomères bêta-amyloïdes impliqués dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer [28].

Tableau I .1. Représenté récapitulatif des médicaments de la MA [29].

DCI/ Spécialités	Présentations et dosages	Posologies usuelles	A retenir
ANTICHOLINESTERASIQUES			
Donépézil Aricept®	Cp 5 mg Cp 10 mg Cp orodispersible 5 mg Cp orodispersible 10 mg	5 mg/ j pendant 1 mois puis, si besoin, 10 mg/	*Administration le soir, au coucher pour limiter l'incidence des vertiges. *Forme orodispersible adaptée aux personnes présentant des troubles de la déglutition ou du comportement compliquant la prise du traitement.
Galantamine Reminyl®	Cp 4 mg Cp 8 mg Cp 12 mg Gélule LP 8 mg Gélule LP 16 mg Gélule LP 24 mg Soluté buvable 4 mg/ml	8 mg/j pendant 4 semaines puis 16 mg/j ou, si besoin, 24 mg/j	*La forme LP peut être prescrite en première intention *Switch direct entre les deux formes : dernière prise du comprimé le soir, et première prise de gélule le lendemain matin. *Prise avec de la nourriture au petit déjeuner et si besoin au dîner *Ne pas écraser, ne pas mâcher la gélule *Assurer un apport liquidien adéquat pendant le traitement *Conservation du soluté : 3 mois après ouverture du flacon. Se mélange à une boisson.
Rivastigmine Exélon®	Gélule 1,5 mg, 3 mg, 4,5 mg, 6 mg	Progression par paliers de 2 semaines : 1,5	*Administration des formes orales pendant les repas *Avaler la gélule entière

	Soluté buvable mg/ml Dispositifs transdermiques 4,6 mg/24 h et 9,5 mg/24h	mg 2/j, puis 3 mg 2/j puis 4,5 mg 2/j pour atteindre 6 mg 2/j (gélule et soluté) ; ou par paliers de 4 semaines : 4,6 mg/24h puis 9,5 mg/24h (patches	*Soluté buvable et gélule sont interchangeables directement à la dose identique *Conservation de soluté : 1 mois après ouverture du flacon. Ne pas le placer au réfrigérateur. Peut-être avalé directement à partir de la seringue *Appliquer le patch sur la peau sèche, propre et saine, sans pilosité (haut ou bas du dos, haut du bras ou de la poitrine), à un endroit où il ne risque pas d'être décollé par un vêtement serré. Ne pas découper le patch et le changer tous les jours. Bien enlever l'ancien. *Interruption du traitement pendant quelques jours : reprendre au début de l'escalade posologique.
ANTAGONISTE NMDA			
Mémantine Ebixa®	Cp 10 mg Cp 20 mg Soluté buvable 5 mg/pression (soit 0,5 ml)	Progression par paliers hebdomadaires de 5 mg, jusqu'à 10 mg/j 10 mg/j si insuffisance rénale sévère 1prise par jour	*Prise à la même heure chaque jour, indépendamment des repas *Insuffisance rénale modérée : posologie de 10 mg/j puis, si tolérance satisfaisante après 1 semaine, 20 mg/j Insuffisance rénale sévère : posologie de 10 mg/j *Le taux d'élimination de la mémantine peut être réduit d'un facteur 7 à 9 en cas de modifications radicales du régime alimentaire

			*Veiller à amorcer correctement la pompe doseuse pour obtenir une quantité exacte de médicament *Conservation du soluté : 3 mois après ouverture du flacon. A recueillir dans un verre d'eau.
--	--	--	---

IX.2 Prise en charge non médicamenteuse

Il y a aussi la prise en charge par les traitements non médicamenteux. Donc on a plusieurs interventions non pharmacologiques sont envisageables. Elles sont, tant en ambulatoire qu'en institution, un élément important de la prise en charge thérapeutique. Cependant, du fait de difficultés méthodologiques, aucune de ces interventions n'a apporté la preuve de son efficacité [30].

- **Interventions portant sur la qualité de vie** : est conditionnée par un confort physique et psychique, ainsi qu'un environnement adapté [30].
- **Prise en charge psychologique et psychiatrique** : l'objectif est de leur permettre de faire face aux souffrances psychoaffectives, modifications des rapports affectifs, difficultés de communication, gestion des troubles du comportement, épuisement familial, décision difficile de placement,...etc [30].
- **Prise en charge orthophonique** : est recommandée, particulièrement dans les maladies avec atteinte du langage au premier plan (démence sémantique, aphasie primaire progressive). La prise en charge orthophonique concerne également les troubles de la déglutition [30].
- **Interventions portant sur l'activité motrice** : l'exercice physique (notamment la marche) pourrait avoir un effet positif non seulement sur les capacités physiques et la prévention du risque de chutes [30].
- **Interventions portant sur la cognition** : est une méthode de rééducation neuropsychologique visant à compenser un processus cognitif déficient. Elle peut être proposée aux stades légers de la maladie d'Alzheimer et jusqu'aux stades modérés dans certains troubles dégénératifs focaux [30].

CHAPITRE II :

ACÉTYLCHOLINESTÉRASE

CHAPITRE II : ACÉTYLCHOLINESTÉrase

I. Introduction

L'acétylcholine (ACh) est le premier neurotransmetteur qui a été découvert, au début du XXe siècle. Le neurone présynaptique le produit à partir de la choline et de l'acétylcoenzyme A, grâce à l'intervention de la choline acétyltransférase. Par la suite, à l'aide du transporteur vésiculaire, l'ACh se retrouve dans des vésicules synaptiques. Lorsqu'un potentiel d'action se produit, les vésicules synaptiques fusionnent avec la membrane cellulaire et l'acétylcholine est sécrétée dans la fente synaptique, il agit ainsi sur les récepteurs cholinergiques. Ensuite, il est rapidement hydrolysé par l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) en choline et en acide acétique, avec la choline qui est immédiatement récupérée par ses transporteurs présynaptiques [35].

L'acétylcholine occupe une place essentielle dans le système nerveux central et périphérique. Les neurones cholinergiques jouent un rôle dans une multitude de fonctions, des mouvements fondamentaux (muscles squelettiques, lisses ou cardiaques) aux activités cognitives supérieures comme la conscience, la mémoire et l'acquisition de connaissances [38].

Les cholinestérases sont des hydrolases de sérine qui catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur ACh pour donner la choline et l'acide acétique [31]. 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 le cholinestérase plasmatique, butyryl-cholinestérase (BuChE), ou acylcholine acylhydrolase. C'est une α glycoprotéine synthétisée dans le foie. Elle est retrouvée dans le système nerveux central et périphérique, et dans la plupart des tissus [32].

- **Acétylcholinestérase**

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 [32].

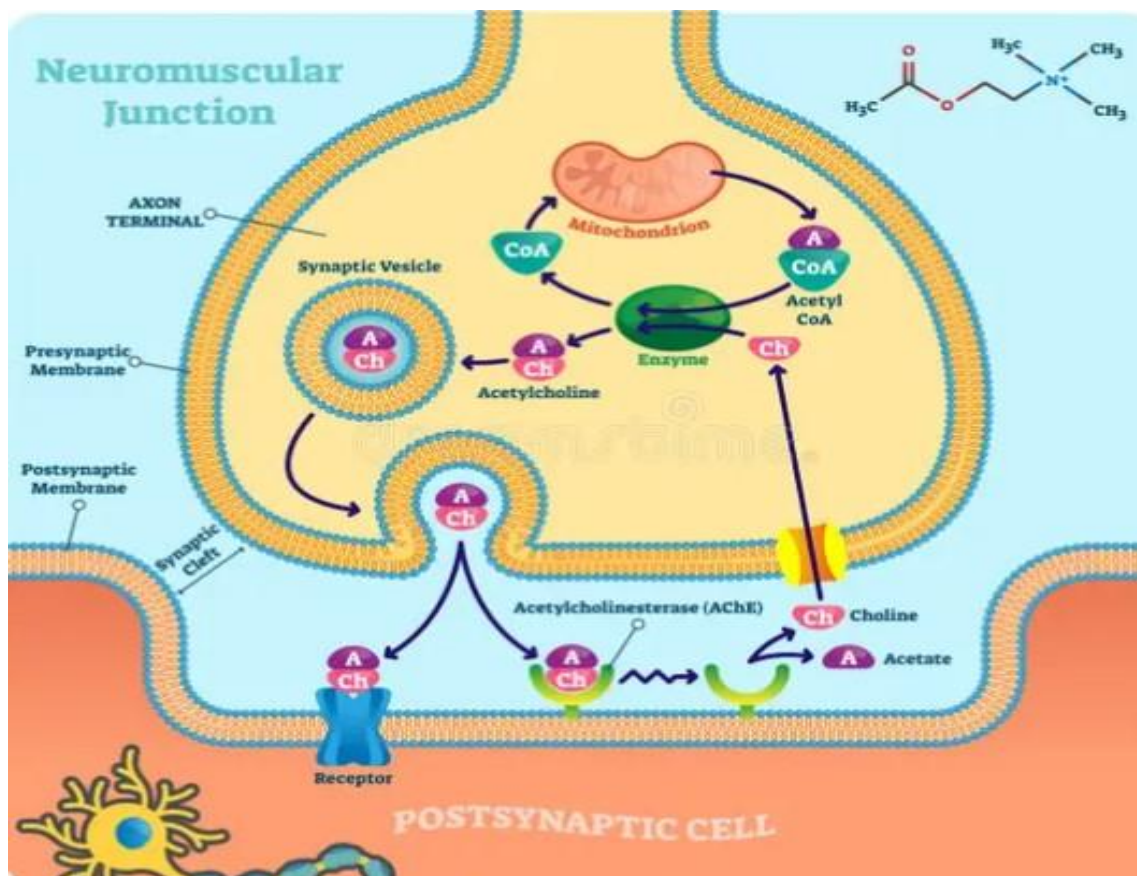


Figure II.1. Représentation schématique de la synthèse, de la libération et l'hydrolyse de l'acétylcholine [39].

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

II. Définition de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase (AChE) est une protéine exprimée dans le système nerveux et sanguin des eucaryotes supérieur [33]. L'AChE (EC 3.1.1.7) est une enzyme cholinergique présente principalement au niveau des jonctions neuromusculaires post-synaptiques, en particulier dans les muscles et les nerfs. Elle hydrolyse immédiatement l'acétylcholine en acide acétique et en choline. Le rôle principal de cette enzyme est de mettre fin à la transmission neuronale et à la signalisation entre la synapse pour empêcher la dispersion de l'ACh et l'activation des récepteurs proches [34].

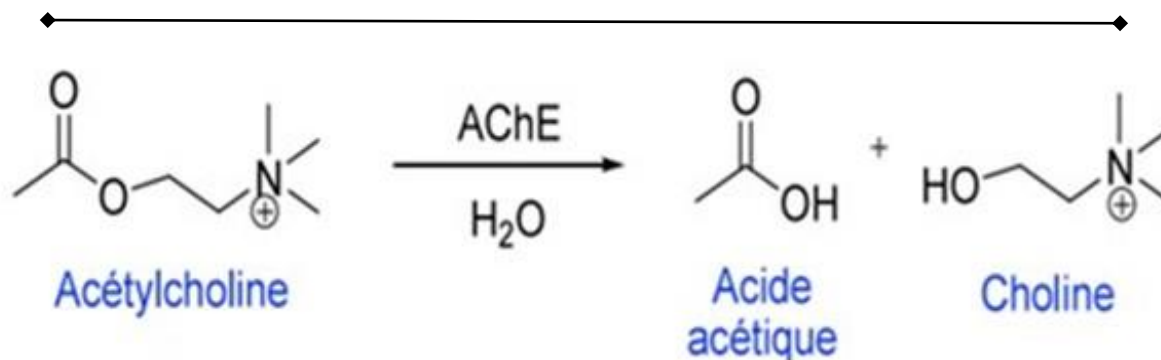


Figure II.2. Réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine [34].

Cette substance chimique, présente chez les vertébrés, joue un rôle de neuromédiateur permettant la transmission de l'influx nerveux d'un neurone à l'autre en passant par les synapses et à partir des neurones vers les cellules musculaires, ce qui conduit ces dernières à se contracter. L'effet de l'acétylcholine disparaît lors de l'hydrolyse produite par l'acétylcholinestérase [36].

Le rôle de l'AChE requiert une grande efficacité. L'ensemble des événements que constitue la transmission de l'influx nerveux au sein d'une synapse dure à peine quelques millisecondes. Ainsi, l'AChE doit conclure cette série d'événements suffisamment rapidement pour rétablir les conditions nécessaires à la transmission d'un nouvel influx nerveux. De ce fait, l'AChE est une enzyme d'une rapidité exceptionnelle : selon l'espèce, elle peut hydrolyser son substrat entre 1000 et 20000 fois par seconde. Cela fait d'elle une des enzymes les plus rapides de la nature. Avec une efficacité catalytique estimée à environ $1.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, la diffusion des substrats et des produits, vers et à partir de son site actif, constitue pratiquement l'étape limitante de la réaction catalytique. La durée de vie du complexe enzyme/substrat est alors insignifiante par rapport au temps moyen requis pour la rencontre des deux entités [37, 40, 59].

III. Structure de l'acétylcholinestérase humaine

L'AChE a été identifiée pour la première fois en 1867 à partir du poison torpille (*torpédo californica*). Quelques années plus tard, la structure primaire de l'AChE humaine a aussi été caractérisée. La cristallographie aux rayons X nous révèle des informations précieuses sur sa structure tridimensionnelle [41].

L'AChE est une enzyme d'environ 75 KDa. Est une protéase à sérine, regroupant 537 acides aminés. Cette enzyme doit être sous forme dimérique pour agir en tant que protéase à sérine. Un seul monomère d'AChE est composé de 11 feuillets β entourés de 15 hélices α . La structure tridimensionnelle de l'AChE a permis de mettre en évidence que le site catalytique est situé au fond d'une gorge aromatique hydrophobe de 20 Å de profondeur avec un site

périphérique situé à l'entrée de celle-ci [41, 42]. 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. De même, il est remarqué la présence de trois courts feuillets β qui ne sont pas reliés par des ponts hydrogène au niveau du cœur de l'enzyme. 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 [41, 43, 44].



Figure II.3. Structure tridimensionnelle de l'acétylcholinestérase humaine (code pdb : 4m0e).

IV. Le site actif et la triade catalytique

Les connaissances structurales de l'AChE humaine ont permis de comprendre son mécanisme catalytique à l'échelle moléculaire. En effet, l'examen détaillé de sa structure cristallographique révèle l'existence d'une gorge profonde (20 Å de profondeur) et étroite (5 Å de diamètre) au niveau de laquelle s'effectue l'hydrolyse de l'ACh. Deux sites adjacents d'interactions caractérisant cette gorge sont illustrés dans la figure II.4 ; le site périphérique (PAS) à l'entrée, et le site catalytique (CAS) au fond, où se trouve la machinerie catalytique [45, 46].

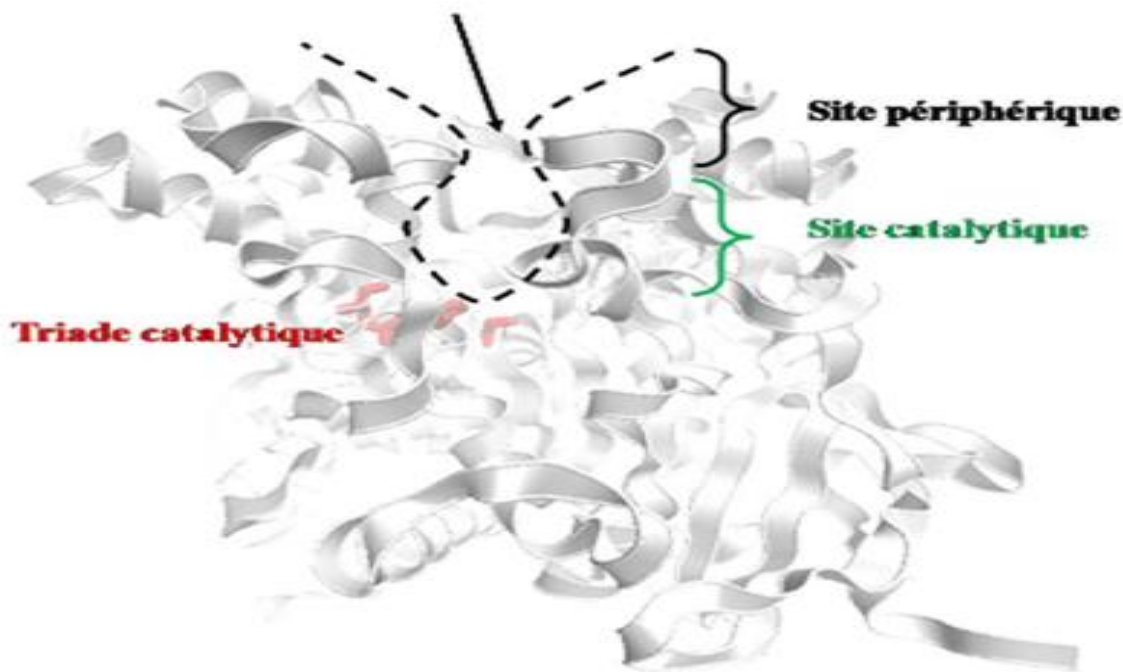


Figure II.4. Structure tridimensionnelle de l'AChE humaine (code pdb : 4ey7). La forme de la gorge est esquissée par une ligne noir pointillée. L'entrée de la gorge est indiquée par une flèche. La triade catalytique est colorée en rouge [46].

IV.1 Le site périphérique de l'AChE (PAS)

Le PAS notamment constitué des résidus Tyr72, Tyr124 et Trp286, se situe à l'entrée de cette gorge. Il permet d'y contrôler l'accès en fixant des ligands cationiques par des interactions de type π -cation. Ce site est considéré comme cible potentielle car son inhibition entraîne un blocage de l'entrée du substrat dans le site actif ce qui diminue significativement l'activité de l'AChE [45, 47].

IV.2 Le site catalytique de l'AChE (CAS)

Le site catalytique de l'AChE est situé au fond d'une gorge profonde et étroite. On distingue deux sous-sites : le site anionique et le site estérasique [34, 46].

- **Site anionique** : en face du site estérasique, au fond de la gorge. En effet, l'ACh 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. Ce site constitué des résidus Trp86 et Tyr337, permet la fixation de la partie choline de l'ache par des interactions de type π -cation. Une autre étude révèle qu'environ 50% de l'énergie d'interaction entre l'enzyme et son substrat est directement imputable au sous site anionique. Les résidus Trp86 et Tyr337 sont les deux plus importants contributeurs à cette énergie [45, 46].

- Le site estérasique** : correspond au locus au niveau duquel la portion acétyle de la molécule d'ACh se fixe. L'ACh est alors clivée, libérant ainsi la choline et l'intermédiaire « enzyme-acylé ». Ensuite, a lieu le désacétylation (est un processus chimique ou enzymatique par lequel un groupe acétyle est retiré d'une molécule), qui régénère l'enzyme libre et l'acétate. La triade catalytique est composée des résidus Ser200, Glu327 et His440, cette triade est localisée à la base d'une gorge étroite de 20 Å de profondeur. Cette gorge est alignée de 14 résidus aromatiques. C'est au niveau de la sérine catalytique (Ser200) que se fixe la portion carbonyle de la molécule d'ACh. De son côté, l'His440 se comporte comme un catalyseur acido-basique pour la formation et la décomposition de l'intermédiaire « acétyl-enzyme ». 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 [46-48].

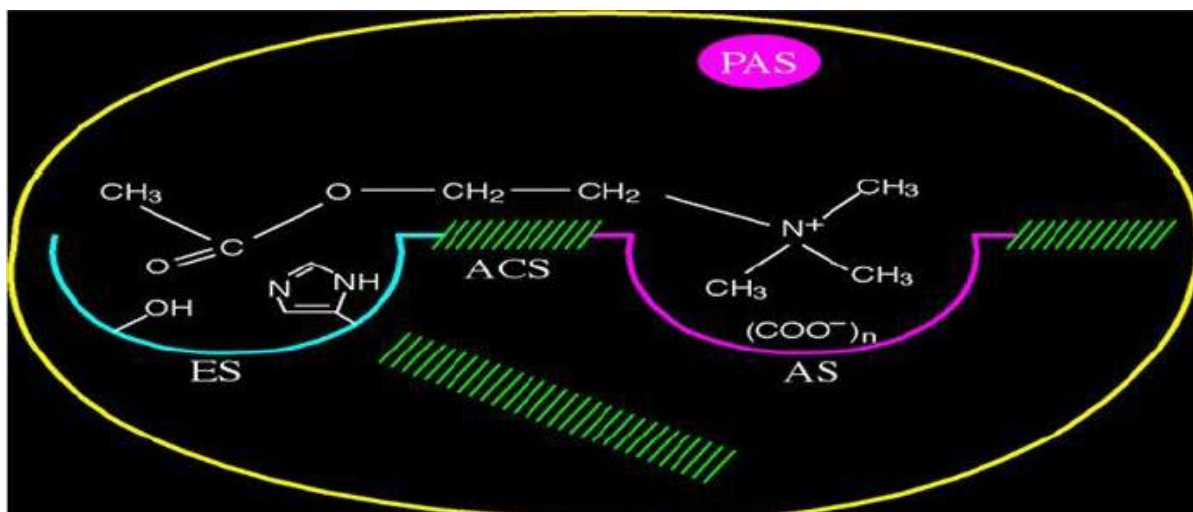


Figure II.5. Schéma représentatif du site actif d'AChE [34].

V. Mécanisme catalytique

L'AChE (acétylcholine acétyl hydrolase) est une carboxylestérase de type B [49, 50]. Le mécanisme d'action de l'acétylcholine-estérase est proche de celui de la chymotrypsine (une enzyme digestive fabriquée au niveau du pancréas et qui donne son nom à une des grandes catégories de protéinases à sérine présentes chez l'homme) [41, 50].

Les sérines hydrolases sont considérées comme des enzymes relativement rapides et efficaces, on y trouvera en effet toujours une poche responsable de la stabilisation de l'intermédiaire tétraédrique, appelée « trou oxydation », et une autre en charge de la spécificité de substrat, et nommée « poche acyle », dans le cas de l'AChE [41]. Toutes les enzymes de

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

Le mécanisme catalytique des sérines hydrolases (figure II.6), conservé, est le suivant [33, 41, 51, 52] :

- Formation du complexe Michaelis, Le substrat (acétylcholine) se lie à l'enzyme, formant un complexe intermédiaire.
- Un résidu à sérine nucléophile réagit avec l'acétylcholine, qui possède un groupement ester formant ainsi un complexe intermédiaire « acétyl-enzyme » ;
- Par la suite il va y'avoir clivage de l'ACh pour libérer la choline en premier lieu ;
- Il reste alors le complexe acétyl-enzyme qui sera hydrolysé (attaque nucléophile d'une molécule d'eau sur la sérine acylé) dans une dernière étape pour donner l'acide acétique ;
- Les produits de cette réaction sont retransformés vers la terminaison pré-synaptique pour ensuite reformer l'acétylcholine qui servira à transmettre d'autres signaux.

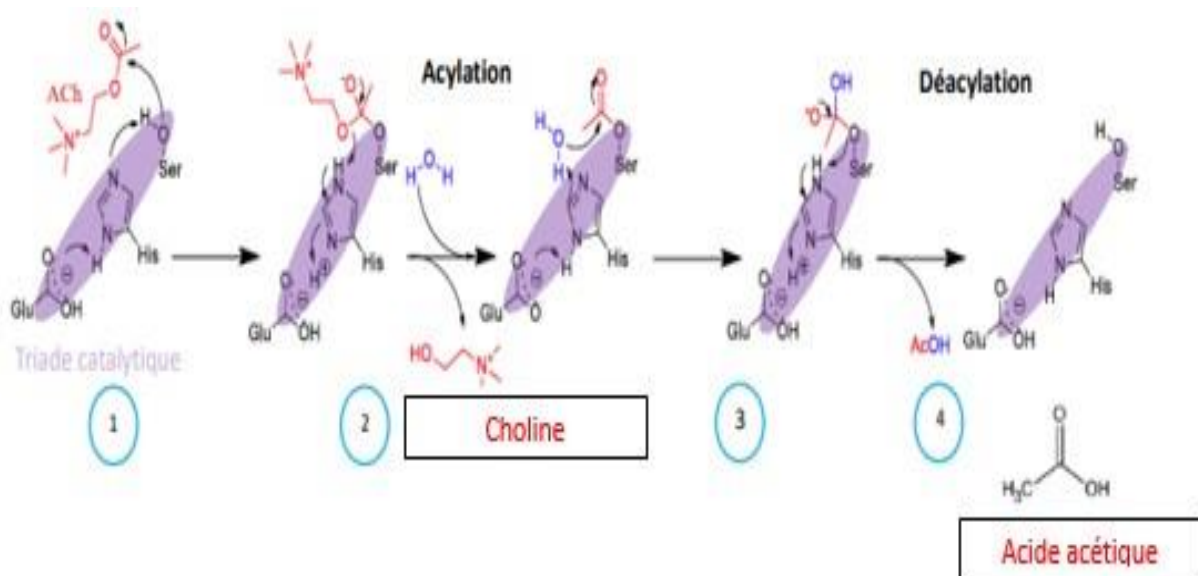


Figure II. 6. Mécanisme simplifié de l'hydrolyse de l'acétylcholine par le site catalytique de l'acétylcholinestérase humaine [53].

VI. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont des substances anti-cholinesterasiques qui dégradent l'acétylcholine dans la fente synaptique et inactivent réversiblement ou irréversiblement l'enzyme. Ils ont été développés afin de réduire cette dégradation

physiologique et renforcer ainsi la transmission synaptique cholinergique. Leur classement est en fonction de leur intensité, et de leur durée d'action. On distingue : les inhibiteurs de l'AChE ou les anti-cholinestérases empêchent l'enzyme cholinestérase de décomposer l'ACh, augmentant à la fois le niveau et la durée de l'action des neurotransmetteurs. Selon le mode d'action, les inhibiteurs de l'AChE peuvent être divisés en deux groupes : irréversibles et réversibles [55].

VI.1 Inhibiteurs irréversibles

Les composés organophosphorés 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. De ce fait, les inhibiteurs irréversibles ne sont pas utilisés en thérapies à cause de leurs effets toxiques [55].

VI.2 Les inhibiteurs réversibles

Ce sont des molécules capables d'inhiber l'AChE en faisant intervenir des liaisons faibles. Les inhibiteurs réversibles, ou qui inhibent l'enzyme d'une façon transitoire, tant que leur concentration est suffisante, sont utilisés en thérapie, et la plupart d'entre eux sont connus depuis longtemps [56, 54]. Dans ce groupe on distingue :

VI.2.1 La tacrine

Est une molécule employée dans le traitement des troubles de la mémoire chez les malades souffrant de la maladie d'Alzheimer et a permis, pour la première fois, d'obtenir un certain degré d'amélioration. Premier inhibiteur de l'AChE, mis à disposition, la tacrine est distribuée depuis 1993 aux Etats-Unis et depuis 1994 en France sous le nom de *Cognex*. Ce médicament peut entraîner des effets indésirables liés à l'excès d'acétylcholine : nausées, vomissements, diarrhées, crampes abdominales, sécrétion excessive de salive. Il semble en outre que la prise de doses très importantes de tacrine soit toxique pour les cellules du foie [56].

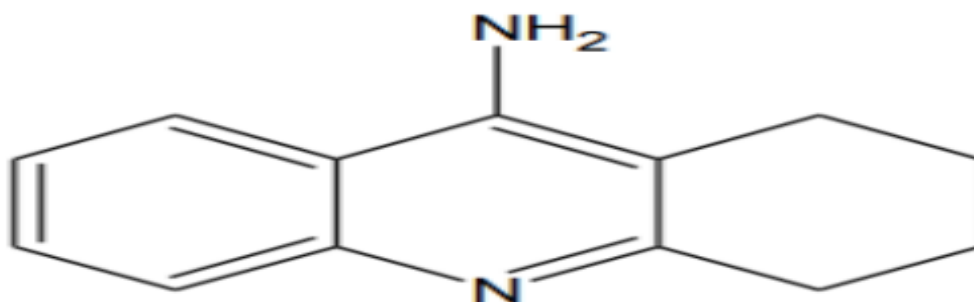


Figure II.7. Structure de la Tacrine [62].

VI.2.2 Donépézil

Approuvé par la FDA en 1996, le Donépézil, présent sous la forme de chlorhydrate de donépézil, est le deuxième inhibiteur de l'AChE mis sur le marché sous le nom d'*Aricept*. Le donépézil, traitement courant contre les phases précoces de la maladie d'Alzheimer, est aussi bénéfique dans ses formes plus sévères [57, 33]. Des recherches cliniques ont démontré que le donépézil améliore aussi la capacité cognitive chez les patients souffrant de symptômes sévères de la MA. Des effets secondaires tels que : nausées, vomissements, diarrhée, perte d'appétit, douleurs abdominales ont été observés, toutefois ils sont moins répandus comparé à la tacrine. On note également une intensification du tonus vagal cardiaque qui entraîne une bradycardie [34].

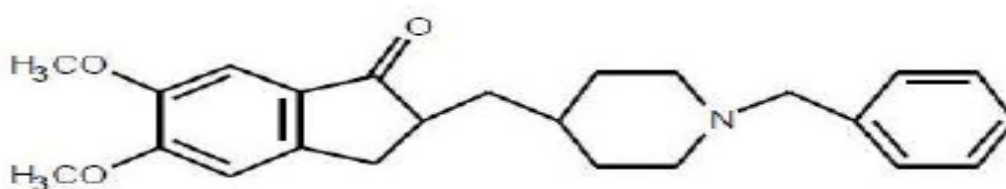


Figure II.8. Structure de la Donépézil [62].

VI.2.3 Galanthamine

La galanthamine (*Reminyl*) est un alcaloïde avec une amine tertiaire, a été approuvé dans plusieurs pays pour le traitement de la maladie d'Alzheimer [58]. Les effets indésirables de la galanthamine ressemblent à ceux des autres inhibiteurs de l'AChE, notamment en ce qui concerne les symptômes gastro-intestinaux [34, 61].

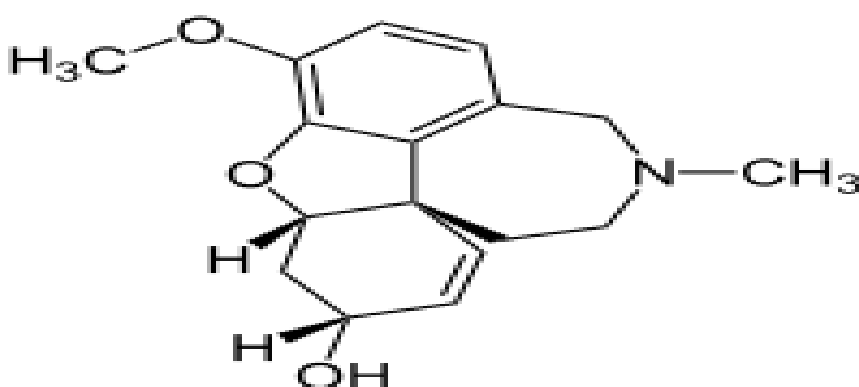


Figure II.9. Structure de la Galanthamine [63].

VI.2.4 Huperzine

C'est un autre alcaloïde inhibant l'AChE. Isolée à partir d'une herbe médicinale chinoise *Huperzia Serrata*, cette molécule possède un très bon effet inhibiteur avec un degré de toxicité très bas [60].

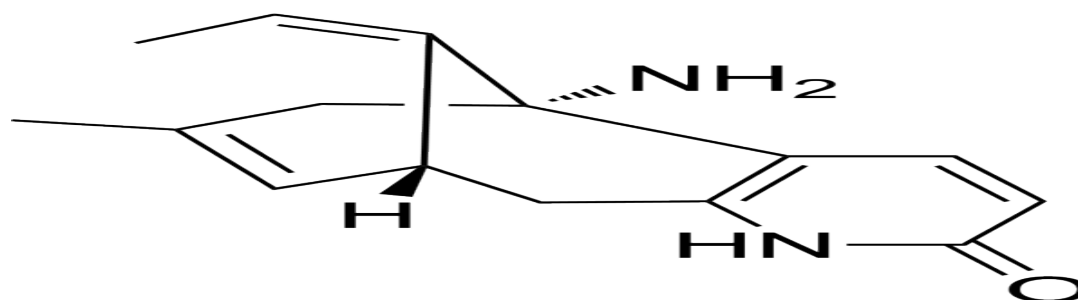


Figure II.10. Structure de la Hupersine [64].

VI.2.5 Rivastigmine

La rivastigmine est un inhibiteur irréversible de l'AChE. Commercialisé sous le nom de *Exelon*, cette molécule agit aussi bien sur l'AChE ou la BuChE en formant un complexe lié par une liaison covalente entraînant une inactivation transitoire des enzymes [56].

La rivastigmine favorise l'amélioration des capacités cognitives, la participation aux tâches quotidiennes et les problèmes de comportement chez les patients souffrant de MA légère à modérée. Parmi les effets secondaires, on note des nausées, des vomissements, une diarrhée, une anorexie, des céphalées, une syncope, des douleurs abdominales et des vertiges [34].

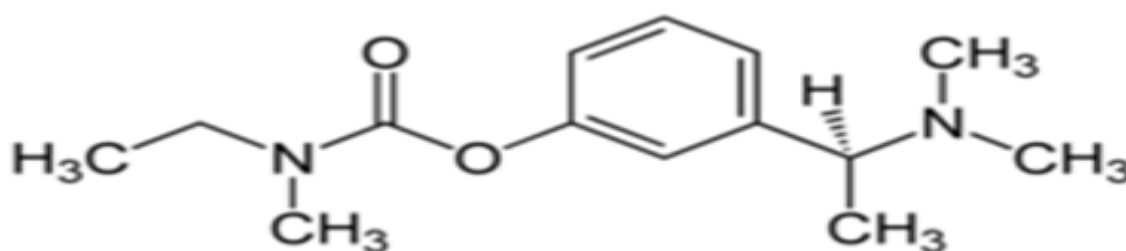


Figure II.11. Structure de la Rivastigmine [65].

VI.2.6 Les monoterpènes

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

De nouveaux travaux montrent l'effet inhibiteur de mono terpène sur l'acétylcholinestérase. Cette approche peut être utilisée dans l'invention de nouveaux médicaments d'origine naturelle, pour le traitement de la maladie d'Alzheimer [56].

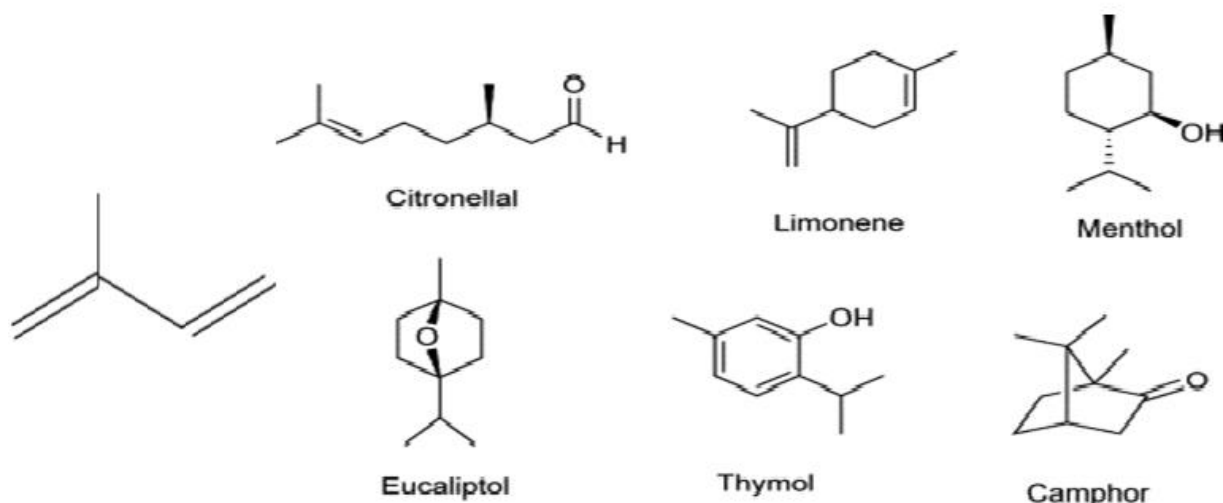


Figure II.12. Structure d'unité d'isoprène et les monoterpènes [66].

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

La cause la plus fréquente de démence sénile est probablement, de nos jours, la maladie d'Alzheimer se manifeste, entre autres, par la détérioration des cellules nerveuses libérant une substance appelée acétylcholine, dont le rôle est de transmettre les messages entre les cellules du cerveau. Le déficit en acétylcholine chez les malades est aggravé par l'action d'une enzyme, l'acétylcholinestérase (AChE), qui décompose rapidement l'acétylcholine [67, 68].

L'inhibition réversible et partielle de l'AChE et/ou de la BuChE va entraîner une augmentation de la concentration en ACh dans les synapses du système nerveux central et, conséquemment, une amélioration de la fonction cholinergique. Bien que plusieurs autres approches thérapeutiques aient été testées dans l'espoir de résorber le déficit cholinergique et les troubles cognitifs associés à la MA, l'inhibition cholinestérasique reste, à ce jour, la seule stratégie de traitement qui se voit montrée vraiment valable. A ce jour, les trois molécules les plus couramment utilisées dans le traitement de la MA sont donc des inhibiteurs cholinestérasiques : le « Donézépil » la « Galanthamine » et la « Rivastigmine » [41].

Pour ces diverses raisons, la recherche sur d'éventuels nouveaux traitements pour la MA se focalise actuellement sur la production d'inhibiteurs spécifiques, soit de la BuChE, soit de l'AChE. Dans le cas de l'AChE, une attention toute particulière est désormais portée aux doubles inhibiteurs, pouvant se lier à la fois au site actif et au site périphérique : éviter la formation des plaques amyloïdes reviendrait en effet à ralentir la prise de la MA et de la neurodégénérescence qui lui est associée [41, 68].

CHAPITRE III :

CRIBLAGE VIRTUEL

CHAPITRE III : CRIBLAGE VIRTUEL

I. La recherche de nouveaux médicaments

La recherche traditionnelle pour le développement des nouveaux médicaments nécessite un environnement de recherche spéciale. Au lieu de passer des jours, des mois, ou même des années dans un laboratoire à tester certaines molécules dans le but de savoir si elles ont un effet thérapeutique bénéfique ou pas, en plus de ça c'est coûteux, la recherche et la synthèse de nouveaux composés chimiques et biochimiques sont aujourd'hui souvent associées à une étude par modélisation moléculaire [69]. La conception de médicaments assistée par ordinateur vise à améliorer le développement et l'efficacité des médicaments en utilisant des outils informatiques modernes, rapides et économiques par rapport aux méthodes conventionnelles. Le développement de médicaments qui se lie à des objectifs spécifiques a été reconnu par l'industrie pharmaceutique comme une base importante qui lui fournit le retour sur investissement nécessaire pour investir dans la recherche et développement, conduisant à un cycle de découvertes et de développement. D'une manière générale, la conception de médicaments par modélisation moléculaire se fait selon deux approches : la conception de médicaments basée sur la structure de la cible et la conception de médicaments basée sur un ligand. L'approche de conception de médicaments assistée par ordinateur a été appliquée à divers médicaments efficaces, dont certains sont utilisés sur le marché [70].

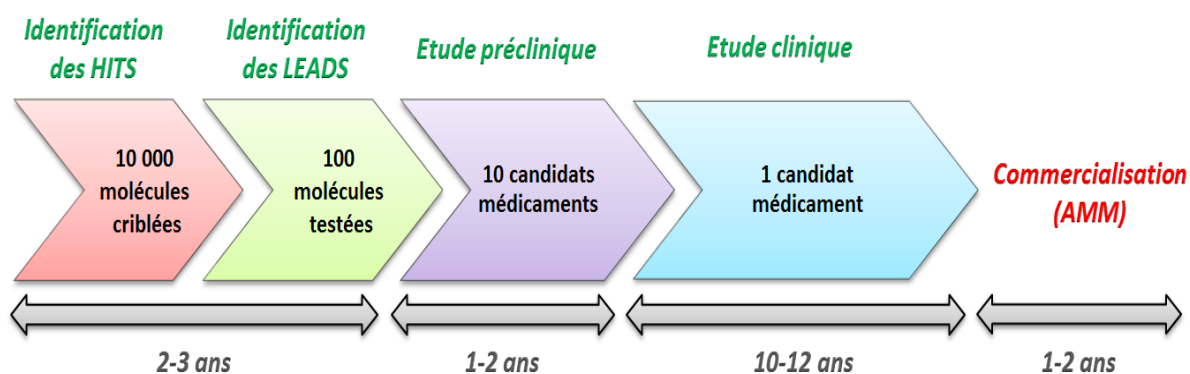


Figure III. 1. Etapes du processus de recherche et développement des médicaments [71].

II. La place de l'ordinateur dans le processus de conception de médicaments

La conception de médicaments assistée par ordinateur emploie la chimie computationnelle pour la découverte, l'amélioration et l'étude de médicaments et molécules biologiquement actives. En effet, l'outil informatique aide la conception de médicaments à des étapes spécifiques du processus :

- Dans l'identification des composés potentiellement thérapeutiques, en utilisant le criblage virtuel aussi bien dans la conception basée sur la structure de la cible que sur les propriétés des ligands ;
- Dans le processus d'optimisation de l'affinité et de la sélectivité des molécules potentielles vers les têtes de série « *lead* » ;
- Dans le processus d'optimisation de la tête de série par rapport aux propriétés pharmacologiques recherchées tout en maintenant une bonne affinité de cette molécule.

Toutes ces étapes d'intervention de l'outil informatique peuvent être représentées dans le schéma récapitulatif suivant [72].

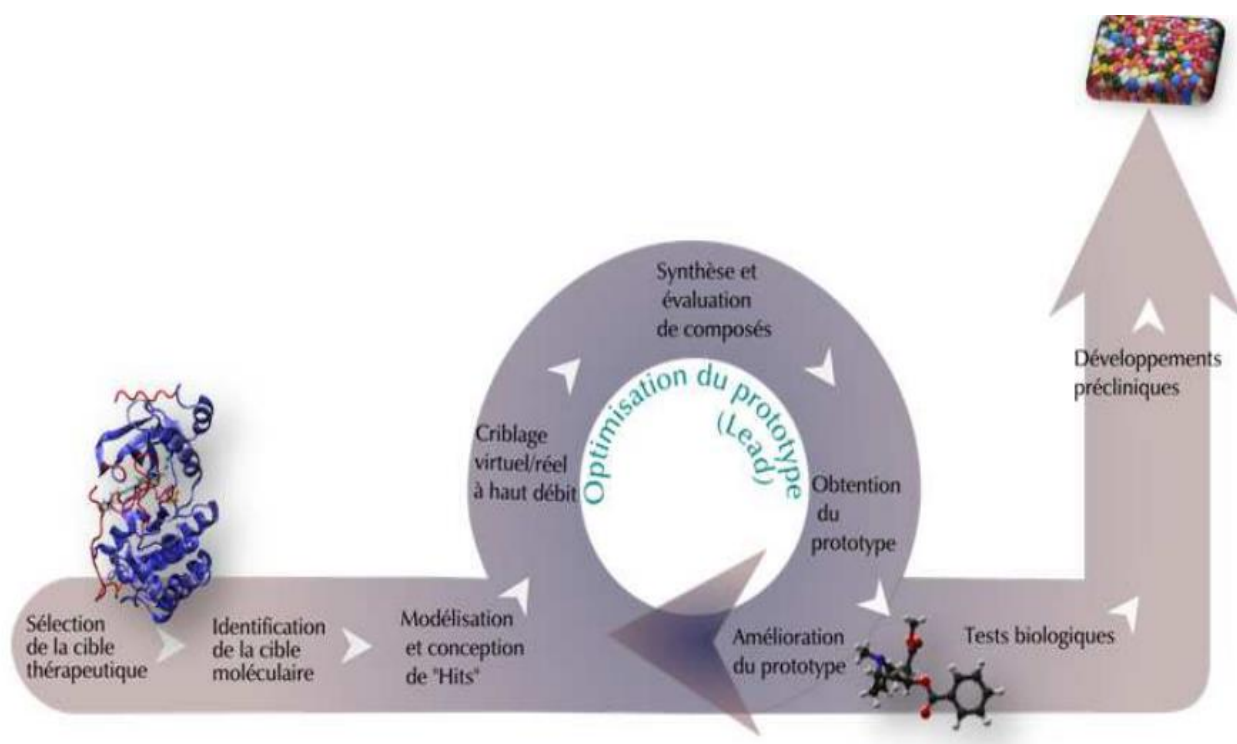


Figure III. 2. Processus itératif de la conception de médicaments et domaines potentiels d'intervention de l'approche *in silico* [72].

III. Criblage virtuel *in silico*

III.1 Définition

Le criblage virtuel, également appelé criblage *in silico*, est une méthode utilisée en chimie pharmaceutique et en biologie structurale pour identifier des composés potentiellement actifs contre une cible biologique [73].

Le criblage regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration des bases de composés à la recherche des molécules d'intérêt thérapeutique ce qui est d'une importance croissante dans la conception des médicaments, principalement basée sur les progrès en informatique et en bio-informatique [74].

III.2 L'intérêt du criblage virtuel

L'intérêt fondamental du criblage virtuel est d'aboutir à une liste très réduite de molécules présentant l'activité souhaitée. Seules, ces molécules seront testées expérimentalement. Une telle optimisation doit permettre de raccourcir le temps entre la définition d'un besoin thérapeutique et la délivrance du médicament correspondant au patient, en gagnant du temps et d'argent [75].

Avec l'explosion de la disponibilité des données biologiques et des avancées technologiques, le criblage virtuel s'est imposé comme un moyen efficace d'accélérer le processus de découverte de médicaments [76]. Il répond au besoin pressant de réduire les coûts et les délais associés à la recherche de nouveaux médicaments [77].

Les objectifs principaux incluent l'identification rapide de candidats médicamenteux potentiels et la réduction des échecs en phase préclinique [78]. Les avantages comprennent la rapidité, l'économie de coûts, et la possibilité de cibler des interactions moléculaires spécifiques [79].

III.3. Les outils du criblage virtuel

III.3.1. Cible enzymatique

Les structures tridimensionnelles de notre cible protéique sont disponibles et accessibles gratuitement dans la banque de donnée *PDB*. Il s'agit d'une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques : protéine essentiellement et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN [80].

III.3.2. Ligand

Une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée, protéine ou acide nucléique, jouant en général un rôle fonctionnel : stabilisation structurale, catalyse, modulation d'une activité enzymatique, transmission d'un signal. Ce terme, très utilisé pour l'étude de protéines, désigne les molécules qui interagissent avec la protéine de manière non-covalente et spécifique et qui jouent un rôle dans ses fonctions. La liaison d'un ligand à une protéine réceptrice modifie souvent la conformation de cette dernière, c'est-à-dire sa structure en 3D. L'énergie associée aux interactions intermoléculaires formées entre la protéine et son ligand permet de promouvoir ce changement de conformation, appelé ajustement induit. Cette modification structurale peut ainsi moduler éventuellement son état fonctionnel et son activité [81].

A l'heure actuelle, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : le premier moyen est souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands issus de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que *Chemdraw*, *Arguslab*, *Titan* ou *Sybyl* [79].

Un ligand peut être [82] :

- **Un substrat** : molécule qui se fixe au site actif de la protéine ou de l'enzyme pour subir une action : (décarboxylation, hydrolyse, déshydrogénation ...).
- **Coenzyme** : molécule qui complète l'action de certaines enzymes.
- **Activateur** : composé chimique qui entraîne un changement de conformation du site actif de l'enzyme, pour augmenter son affinité pour le substrat.
- **Inhibiteur** : contrairement à l'activateur, ce type de ligand modifie la structure électronique du site actif ; diminuant l'affinité de l'enzyme pour son substrat.

III.3.3. Programmes de docking

Au cours des deux dernières décennies, une grande variété de plus de 60 programmes de docking différents a été proposée (*DOCK*, *Autodock*, *Flexx*, *Surflex*, *ICM*, *Glide*, *Ligandfit*, *Mcdock*, et plein d'autres). Bien que ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques [83-84]. Leur protocole est composé de deux étapes essentielles Docking / Scoring [85].

III.4. Stratégies du criblage virtuel

On regroupe les méthodes de criblage *in silico* en deux grandes familles

III.4.1. Criblage virtuel « *ligand-based* »

Les méthodes de criblage « *ligand-based* » reposent sur la connaissance préalable de ligands ayant une activité sur la cible thérapeutique. Il sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « *Hits* » afin d'identifier d'autres composés similaires, présentant des caractéristiques d'activité communs aux ligands connus de la cible. Différents types de descripteurs moléculaires pourront être calculés pour quantifier la similitude entre composés. Suivant le nombre de ligands connus de la cible thérapeutique, plusieurs méthodes peuvent être employées : la recherche de similarité, le criblage de pharmacophores ou les approches QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship* ou modèle de relations quantitatives structure-activité) [86, 87].

III.4.2. Criblage virtuel « *structure-based* »

Le criblage virtuel « *structure-based* » est considéré comme un équivalent *in silico* d'un test expérimental étudiant la liaison ligand-cible biomoléculaire. Cependant, ce criblage dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique qui est obtenue, soit par méthodes expérimentales (RX et RMN) dans des bases de données (tel que *PDB*), soit par des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence. Différentes approches peuvent être employées pour réaliser ce criblage : la construction de modèles pharmacophoriques 3D, l'établissement de modèles 3D-QSAR et les méthodes de docking moléculaire qui sont les plus populaires [88].

IV. Le docking moléculaire

IV.1 Généralité sur le docking moléculaire

Le docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire) est une approche *in silico* a pour but de prédire et à simuler la position la plus favorable d'un ligand au sein d'un récepteur protéique [89, 88].

Le docking moléculaire est une méthode informatique utilisée pour prédire la structure tridimensionnelle des complexes moléculaires, par la simulation de l'interaction entre une molécule cible, souvent une protéine, et un ligand, comme un médicament potentiel. En identifiant la position la plus favorable du ligand dans le site actif de la protéine cible, c'est-à-dire la plus stable. Le docking aide à prédire les interactions moléculaires et à améliorer leur

efficacité. En somme, il révèle la disposition spatiale optimale des molécules lorsqu'elles se lient pour former un complexe [90], comme illustré la figure III. 3.

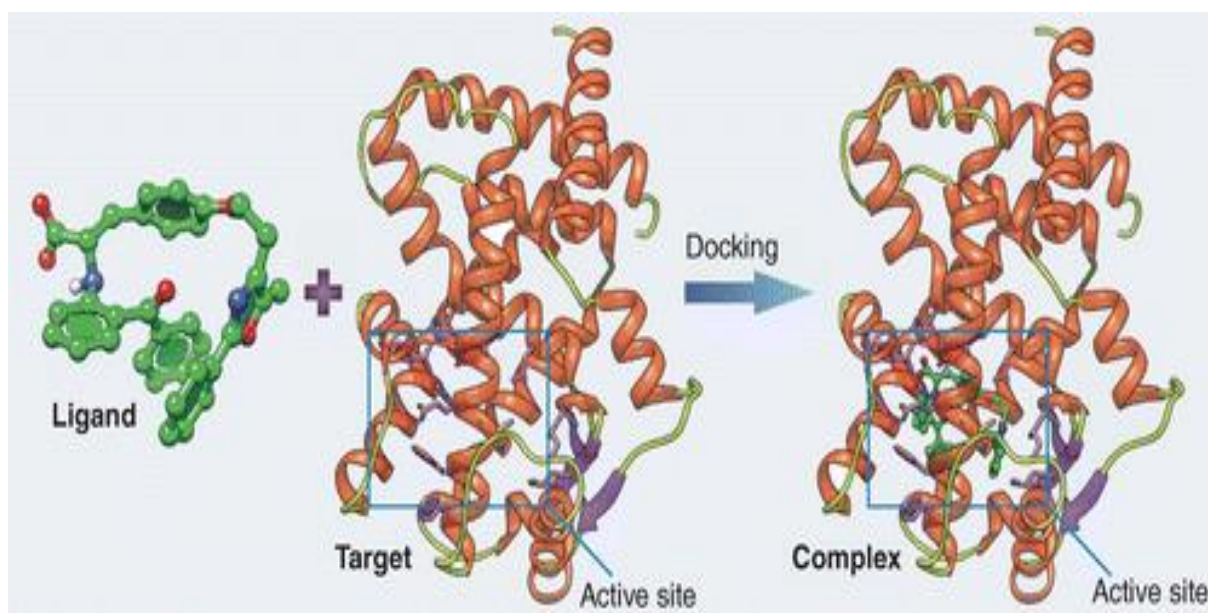


Figure III. 3. Principe du docking moléculaire, illustration de l'interaction entre une molécule (Ligand) et une protéine (Target) au niveau de son site actif (Rectangle) [90].

Aujourd'hui, il est très largement utilisé [91] :

- **L'étude de l'interaction d'un ligand avec sa cible** : l'utilisateur cherche à caractériser les interactions en jeu dans la liaison d'un ligand à son récepteur ;
- **La recherche de cibles (docking inverse)** : l'utilisateur dispose d'un ligand et de plusieurs récepteurs. Le but est d'identifier avec quel(s) récepteur(s) le ligand a le plus d'affinité pour identifier sa/ses cible(s) la/les plus probable(s) ;

• **Le criblage de ligands** : l'utilisateur dispose d'un récepteur et cherche à connaître quel ligand, parmi une base de données, a le plus d'affinité pour celui-ci.

IV.2 Principe de docking moléculaire

D'une manière générale, une expérience d'amarrage moléculaire repose sur deux étapes cruciales : la recherche conformationnelle et le classement des solutions. Ces deux étapes sont également désignées sous les termes anglais de *docking* et de *scoring* [92, 93].

- **La première (le docking)** : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celle qui représente les modes d'interactions les plus favorables [92-94].

- **La deuxième (le scoring) :** est une étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [93-94].

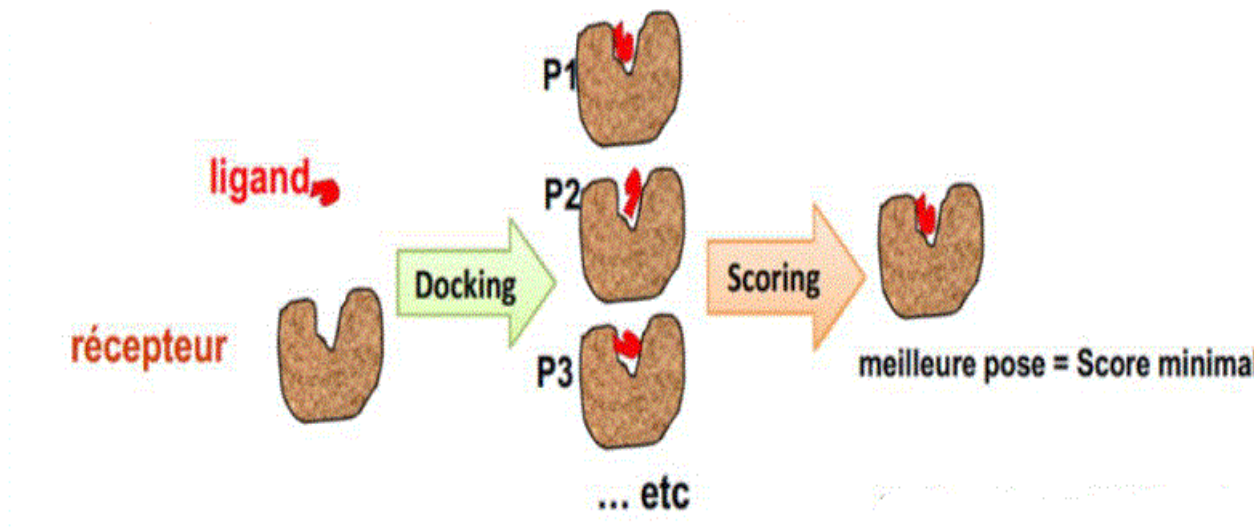


Figure III. 4. Principe général d'un programme de docking [94].

IV.3 Types de docking moléculaire

Le docking moléculaire est une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et dans la conception de médicaments. Initialement, les tentatives de docking étaient basées sur le concept de "clé-serrure", considérant le récepteur et le ligand comme des structures rigides. Cette approche est considérée comme la catégorie la plus simple et rapide de docking moléculaire [95]. Il existe trois types de docking moléculaire :

- **Docking rigide :** consiste à fixer le ligand et le récepteur comme des structures rigides. On teste toutes les positions et orientations possibles du ligand dans le site actif de la protéine. Les positions incompatibles sont éliminées, puis on évalue et optimise les meilleures. Seuls les mouvements du ligand (translation et rotation) sont explorés. Cette méthode simple est souvent utilisée pour étudier l'interaction entre deux protéines [96, 97].
- **Docking flexible :** considère que le ligand et le récepteur peuvent changer de forme. La flexibilité du récepteur concerne surtout les chaînes latérales du site actif, parfois aussi des mouvements plus larges dans la protéine. Cette méthode est plus réaliste car elle prend en compte l'ajustement entre le ligand et le récepteur. Elle est très utilisée car elle permet de tester rapidement de nombreuses molécules. Cependant, elle reste approximative et demande beaucoup de calculs à cause du grand nombre de mouvements possibles [96, 98, 99].

- **Docking semi-flexible** : le ligand est flexible et la protéine est rigide, l'échantillonnage des degrés de liberté du ligand s'ajoute aux explorations translationnelle et rotationnelles. Ce type de docking repose sur l'hypothèse que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand. Il est "asymétrique" et généralement utilisé pour l'amarrage protéine-ligand. Les approches de docking semi-flexible ou flexible sont plus généralement appliquées à la modélisation d'interaction entre protéines et ligand [100, 101].

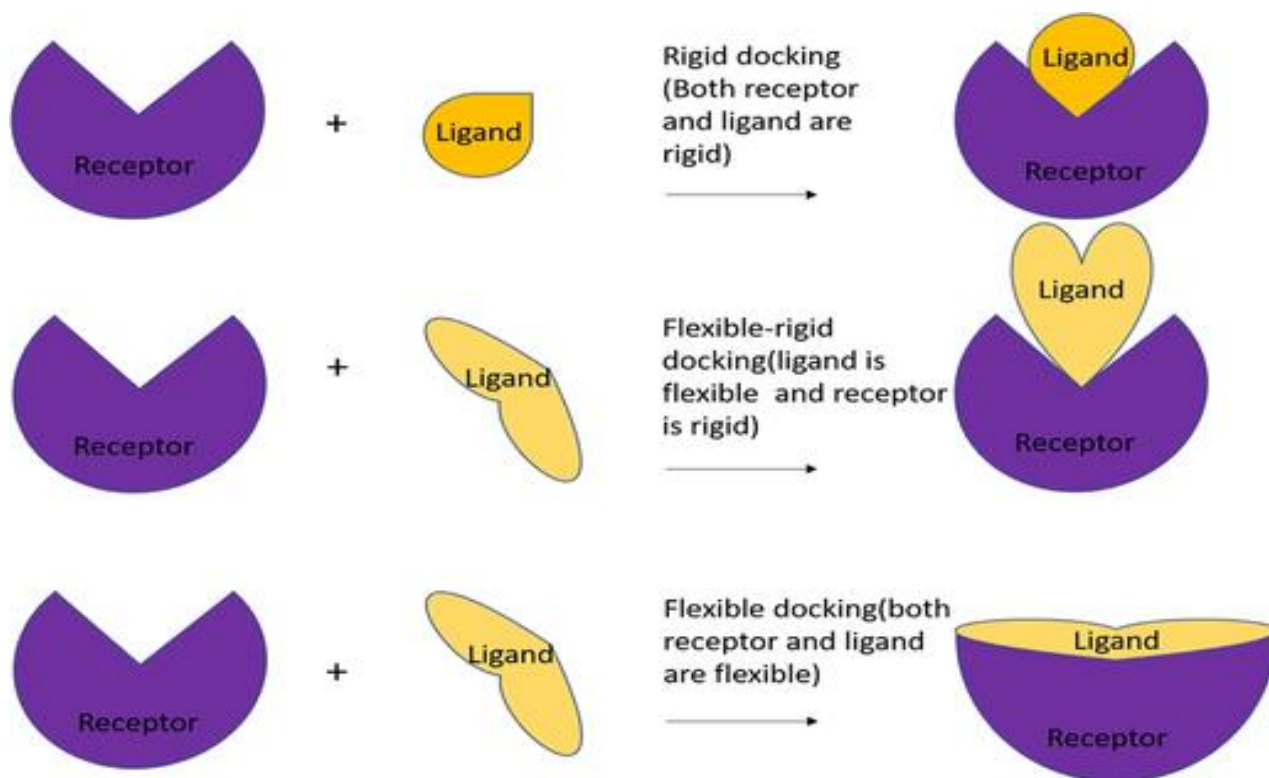


Figure III. 5. Approches rigide et flexible [100].

IV.4 Les interactions protéine-ligand

Les médicaments agissent en interagissant (de manière covalente ou non covalente) avec leur cible biologique dans l'organisme. La majorité des médicaments approuvés sont de petites molécules organiques (ligands) qui modifient les processus biochimiques en interagissant avec les protéines. L'élucidation du mécanisme sous-jacent à la liaison de petites molécules organiques aux protéines est donc d'une importance capitale à la fois pour la découverte de médicaments et pour la compréhension de nombreux processus biochimiques qui dépendent de la liaison d'un ligand à une protéine [102].

IV.4.1. Liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une liaison ou force intermoléculaire ou intramoléculaire faible impliquant un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif ou porteur d'une charge partielle comme l'oxygène l'azote et le fluor. Sa force est de l'ordre de 12 à 30 kJ/mol. Ces liaisons induites par l'apparition d'une charge partielle positive sur l'hydrogène, son nuage électronique étant attiré par l'atome donneur. Cette charge positive est alors attirée par la charge partielle négative portée par l'accepteur [103].

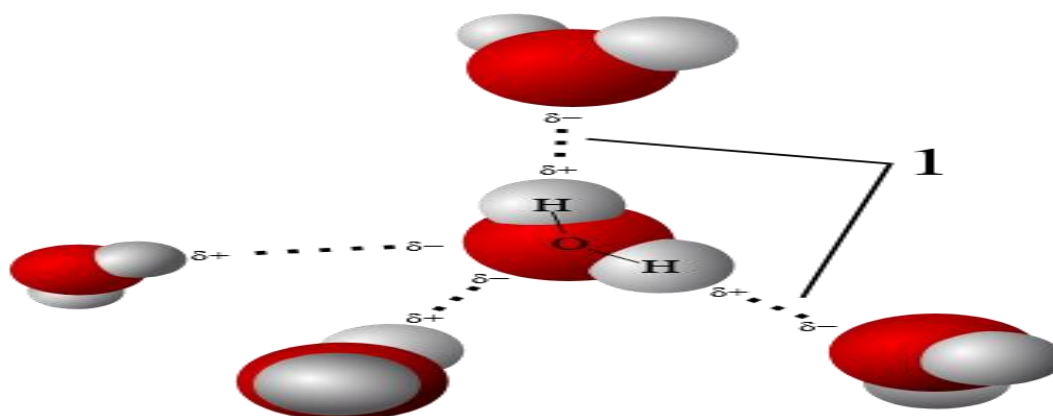


Figure III. 6. Liaison hydrogène [103].

IV.4.2. Les interactions hydrophobes

Les acides aminés à radical hydrophobe et apolaire empêchent la formation de liaisons hydrogène avec les molécules d'eau. Ils créent des zones hydrophobes dans la structure des protéines, où les molécules d'eau ne peuvent pas établir de liaisons avec les radicaux des acides aminés [104].

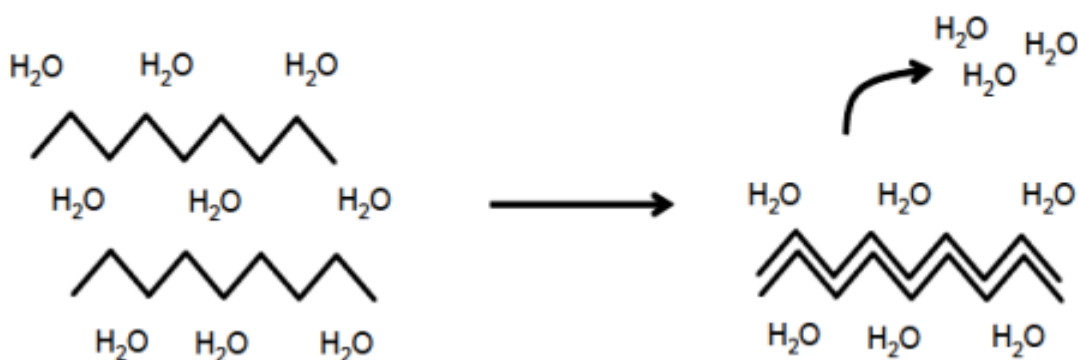


Figure III.7. Interactions hydrophobes [104].

IV.4.3. Forces de Van der Waals

Les interactions de Van der Waals, extrêmement faibles et agissant à courte distance, résultent de l'interaction entre les nuages électroniques de deux atomes adjacents. Cette interaction crée une force attractive à une distance de 4 Å [105]. Malgré leur faible intensité individuelle, ces interactions, nombreuses, jouent un rôle crucial dans la stabilisation de la structure des protéines en favorisant leur compactage. Elles contribuent à la stabilisation du système avec une énergie comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol [106].

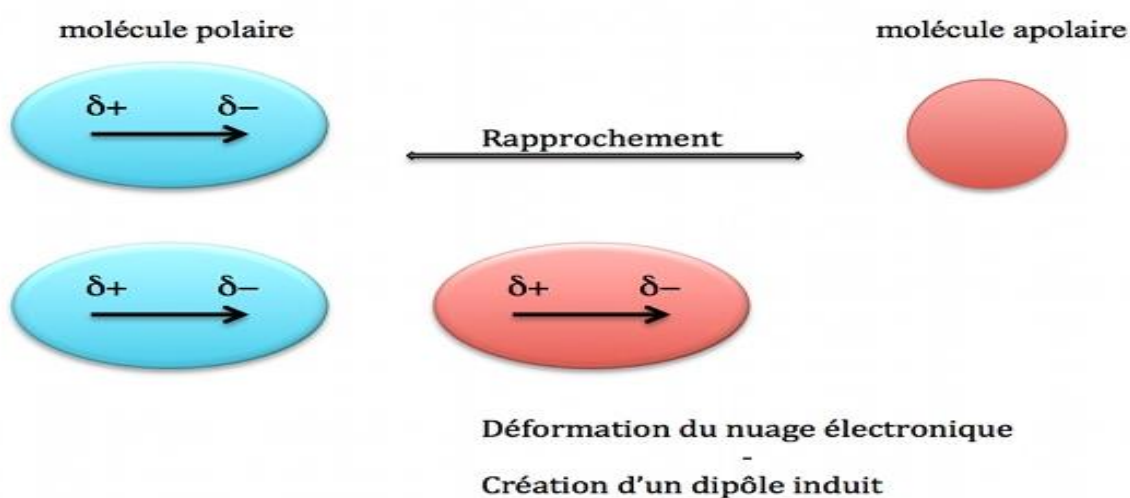


Figure III. 8. Interaction de Van Der Wall [107].

IV.4.4. Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques, qui agissent sur de longues distances entre les dipôles chargés, sont responsables de la formation de liaisons salines. La distance typique d'une liaison saline est de 3,7 à 4,5 Å, et sa force est d'environ 8 Kcal/mol. La présence d'un solvant, tel que l'eau, favorise ces interactions en raison de sa polarité et de sa petite taille [108].

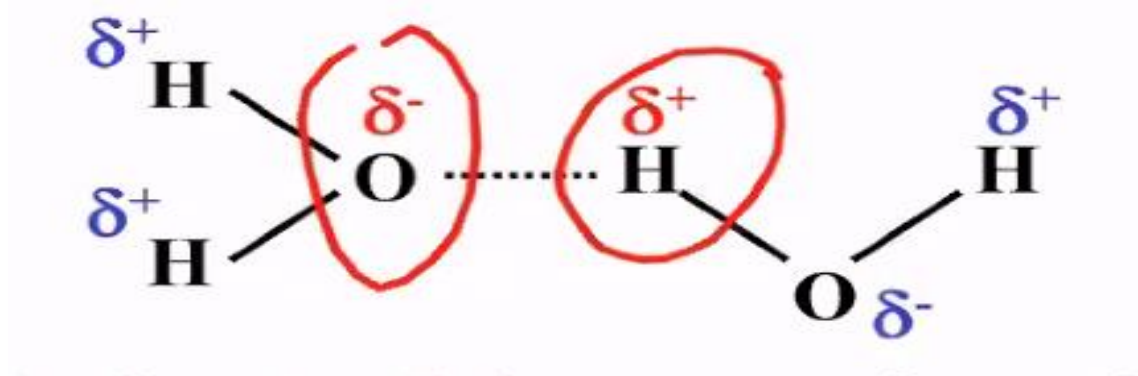


Figure III.9. Interactions électrostatiques [108]

V. Le programme de docking *Surflex-dock*

V.1 Définition

Le programme *Surflex-dock* se divise en deux sections. L'une est destinée à des recherches de similarité moléculaire en trois dimensions, l'autre pour des études de docking. Ici, seule la section sur le docking est traitée. Elle s'appuie sur la création d'une pseudo-molécule en tant que cible pour le positionnement du ligand. On procède à l'installation de morceaux de molécules dans le site actif, en veillant à les positionner de façon optimale et redondante, en se basant sur des critères morphologiques. Il convient de noter que cette pseudo-molécule peut être élaborée à partir du ligand présent dans le site actif, si elle dispose d'une structure, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand. Son algorithme est appelé également « fragmentation incrémentale » [109].

V.2 Algorithme de docking « construction incrémentale »

La méthode de reconstruction incrémentale est généralement constituée de 3 étapes :

- Sélection de fragments rigides ;
- Placement des fragments rigides dans le site actif ;
- Construction incrémentale.

Plusieurs programmes utilisent cette technique, y compris *Surflex-dock*. Le programme débute en créant un « protomol », un ligand parfait qui remplirait entièrement l'espace du site actif de la protéine. Dans ce contexte, trois sortes de fragments (CH_4 , $\text{C}=\text{O}$ et NH) sont insérées dans le site actif, affinés afin de favoriser l'établissement d'interactions avec le site de liaison et scorés. Uniquement les segments ayant obtenu les scores les plus élevés sont sélectionnés pour la construction du protomol. Après la génération du protomol, les molécules sont fragmentées pour ne garder que les liaisons aromatiques. Ensuite, pour chaque segment, un groupe de conformations est produit. Finalement, lors de l'étape de construction incrémentale, chaque fragment est mis en correspondance avec le protomol afin d'optimiser la similarité avec celui-ci. Les fragments ayant obtenus un bon score, les « *heads* », sont optimisés localement pour s'adapter au mieux dans le site actif. A partir de ceux-ci, les conformations du fragment suivant « *tails* » sont alignées par rapport au protomol de sorte à être liées au premier fragment « *heads* ». Cet alignement tient compte des contraintes imposées par le « *head* » et seules les conformations respectant ces contraintes et démontrant une similarité avec le protomol sont retenues. Le processus se poursuit jusqu'à la reconstitution intégrale de la molécule initiale. Enfin, pour chaque pose identifiée, un score est attribué [110, 111] (figure III.10).

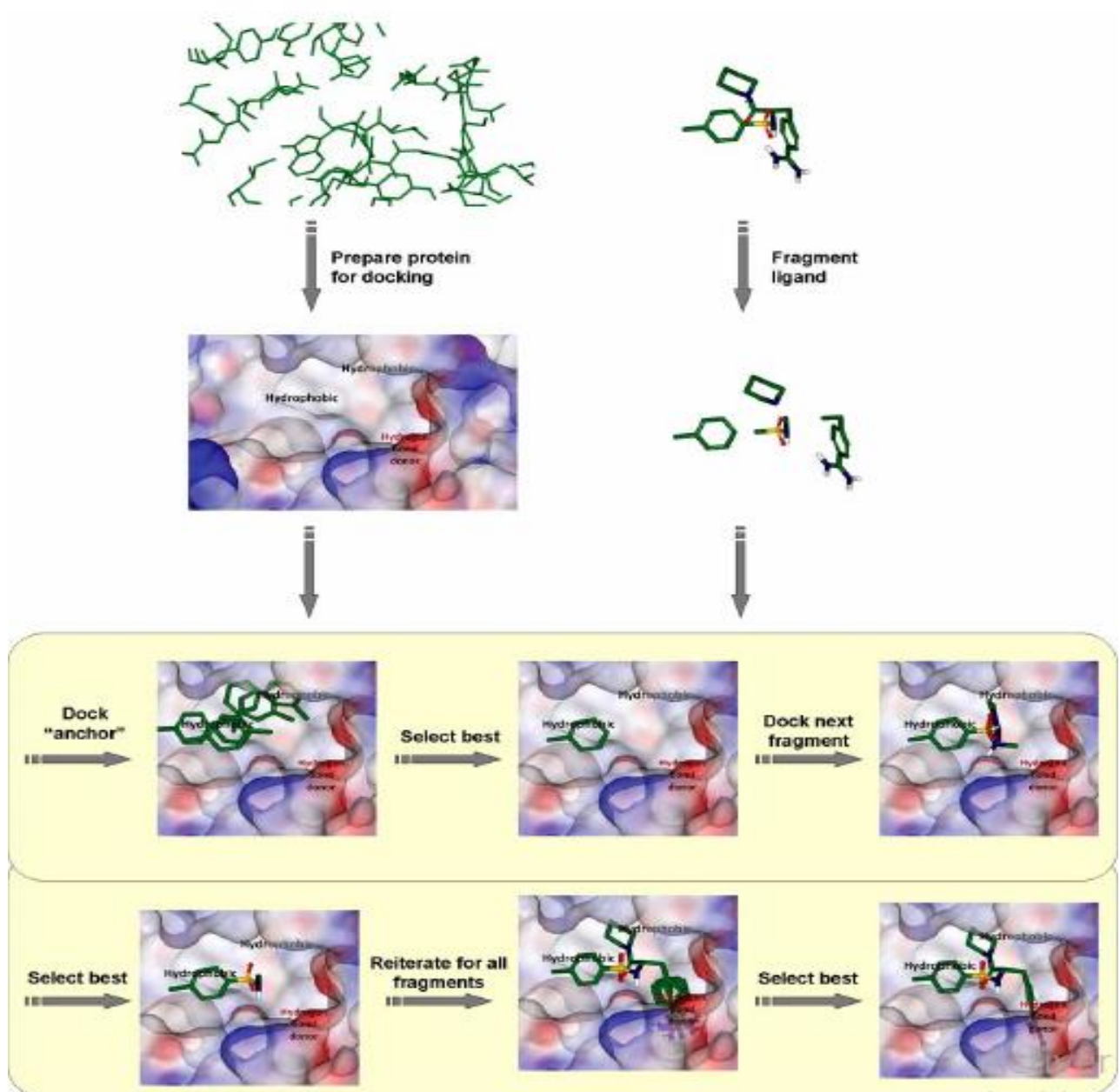


Figure III.10. Schéma illustrant la méthode de reconstruction incrémentale [111].

CHAPITRE IV :

MATERIEL ET

METHODES

CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES

Le but principal de notre recherche est d'identifier de nouveaux inhibiteurs pour la maladie d'Alzheimer, grâce à la simulation informatique qui permettent d'estimer les affinités (score de docking moléculaire), les types d'interactions ainsi que la localisation des petites molécules dans le site actif de notre enzyme cible, l'acétylcholinestérase.

I. Matériel

I.1 Ordinateur

Dans notre étude nous avons utilisé des programmes installés dans deux microordinateurs présentant les caractères suivants :

- Le premier ASUS ayant un processeur Intel (R) core, (TM) i3 5005UCPU@2.00ghz et une mémoire vive de 4,00 Go, sous un système d'exploitation Windows 10 professionnel.
- Le deuxième Lenovo ayant un processeur Intel (R) core, (TM) i3-6006U CPU et une mémoire vive de 4.00Go, sous un système d'exploitation Windows 10 professionnel.

I.2 Programmes utilisés

I.2.1 Le logiciel *Surflex-dock* (1. 3, 2005)

Surflex-dock (1.3.2005) est un algorithme d'amarrage moléculaire flexible entièrement automatique qui combine la fonction de notation du système d'amarrage *Hammer head* avec un moteur de recherche qui s'appuie sur une méthode de similarité moléculaire basée sur la surface comme moyen de générer rapidement des poses putatives appropriées pour les fragments moléculaires. Ce logiciel est capable d'arrimer des ligands dans un environnement constitué d'acide aminés avec une bonne précision [112, 113]. Dans cette étude, les paramètres par défaut de *Surflex-dock* ont été appliqués [114].

Le processus de docking moléculaire s'effectue en trois phases [114, 115] :

- Décision sur la méthode d'identification du site actif et création d'une pseudo-molécule (protomol) qui sera utilisée comme cible pour divers ligands ;
- Docking moléculaire pour un ou plusieurs ligands ;
- La représentation des résultats (Final-0).

Invite de commandes

```
C:\Users\PC\Desktop>surflex-dock
Surflex License: C:\sfdocklicense
The Surflex software is the property of Biopharmics LLC.
Surflex licensed to SFDock0036 (Gerhard Vergoten, Univ. Lille) for internal use only.
Usage (v 1.33): surflex-dock <command> args
  dock      ligand protomol protein
  dock_list liglist protomol protein log
  score_list liglist protomol protein log
  opt       ligand protein
  proto     sitemol protein protomol
  resproto  reslist protein protomol
  logprocess logfile polar_thresh crash_thresh rot_thresh

  search    mol1 mol2...
  random    mol1 mol2...
  rms       mol1 mol2
  oprms     mol1 mol2
  prot      mol1 mol2...
  reorder   mol2archive proportion outputarchive
  get       mol2archive molname outmolname
  mget      mol2archive molnamelist outmolarchive
  info      mol

  -proto_thresh (0.5)
  -proto_bloat (0) (number of voxels to bloat protomol)
  -no_mark_lig (turns off ligand voxel marking, default on)
  -whole (toggles whole molecule docking, default on)
  -multistart (0) (number of additional starting confs per mol)
  -old_score (turns on old version of scoring function)
  -fixcrash (turns on modification to self-crash computation)
  -maxrot (100) (max number of rotatable bonds to dock in dock_list)
  -nt_mul (2000)
  -nt_min (200)
  -frag_polish (toggles fragment polishing in docking, default on)
  -min_root (20)
  -nbest_heads (5)
  -nbest_aligns (20)
  -nbest_frags (10)
  -ndock_final (10)
```

Figure IV. 1. Page d'accueil de logiciel *Surflex-dock*.

I.2.2 *Open Babel* (2.4.0. 2011)

Open Babel, un programme open source, est un ensemble à outils chimique destinée à manipuler les divers langages des données chimiques. Ce programme est accessible sur les systèmes Windows, Unix et Mac OS. Ce projet, ouvert et collaboratif, donne à tous la possibilité d'explorer, de transformer, d'analyser ou de conserver des données tirées de la modélisation moléculaire, de la chimie, des matériaux solides, de la biochimie ou d'autres domaines similaires. *Open Babel* supporte divers formats de fichiers tels que : *pdb*, *mol*, *mol2*, *sdf*, *xyz*, *pc*, *smi*... et bien d'autres [116-117-118].

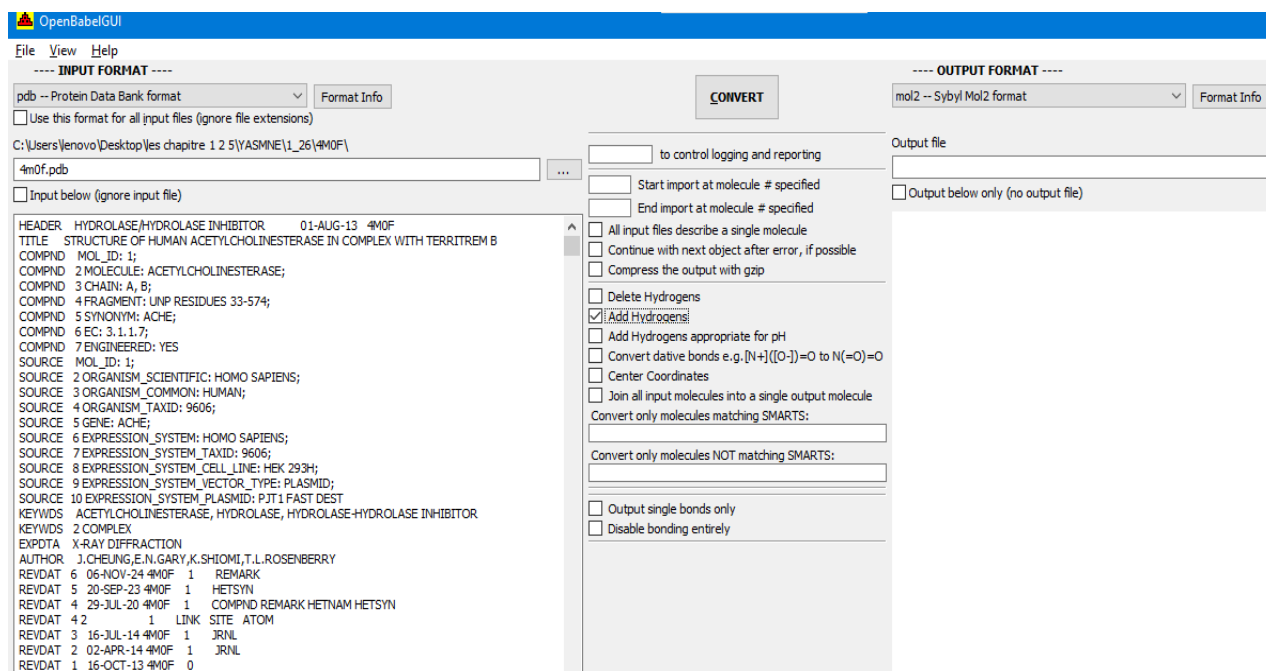


Figure IV. 2. Interface de programme *Open Babel*.

I.2.3 Biovia Discovery Studio Visualizer (25.1.0.24284)

Biovia Discovery Studio Visualizer est un logiciel gratuit de visualisation moléculaire et de modélisation 3D de haute qualité. Il permet aux scientifiques de visualiser des structures moléculaires complexes en 3D, ainsi que de réaliser des analyses et des simulations de propriétés moléculaires. Ce logiciel est capable de lire et de traiter plusieurs formats de fichiers de modèles moléculaires, y compris les fichiers *.pdb* (*Protéine Data Bank*), les fichiers *.mol* (*Molfile*) et les fichiers de trajectoire générés par des simulations de dynamique moléculaire. *Discovery Studio Visualizer* propose plusieurs fonctions telles que : la présentation des liaisons chimiques (liaison hydrogène, interaction hydrophobe...etc), la mesure de distances, l'annotation des acides aminés et ligand, créations de surfaces, choix de couleur (selon les atomes, les structures...etc), la capacité de cacher et puis afficher à nouveau les différentes molécules [119, 120].

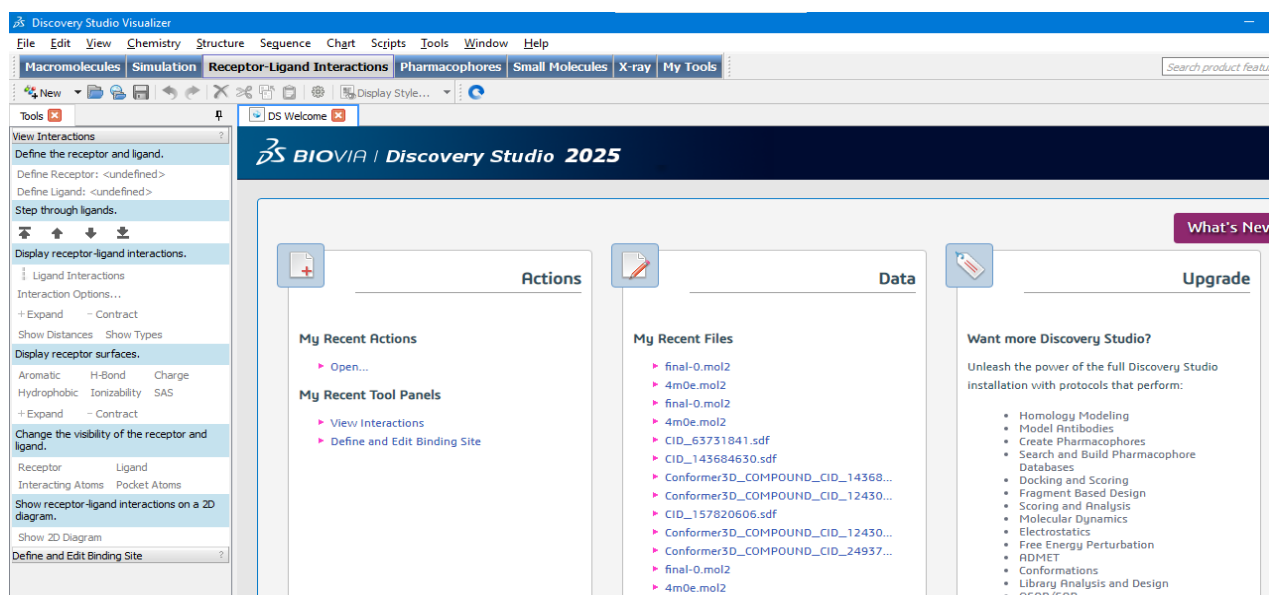


Figure IV. 3. Interface de logiciel *Biovia discovery studio visualizer*.

I.2.4 ViewerLite (4.2, 2001)

ViewerLite est un outil de visualisation gratuit qui offre la possibilité d'afficher en 3D d'une structure de molécule biologique. Il est capable de lire divers types de fichiers, comme *.pdb*, *.mol2*, *.sdf*...etc [121]. Nous avons employé ce logiciel pour représenter en 3D les structures des complexes protéine-inhibiteur, étant donné que *Surflex-dock* ne dispose pas de fonction de visualisation.

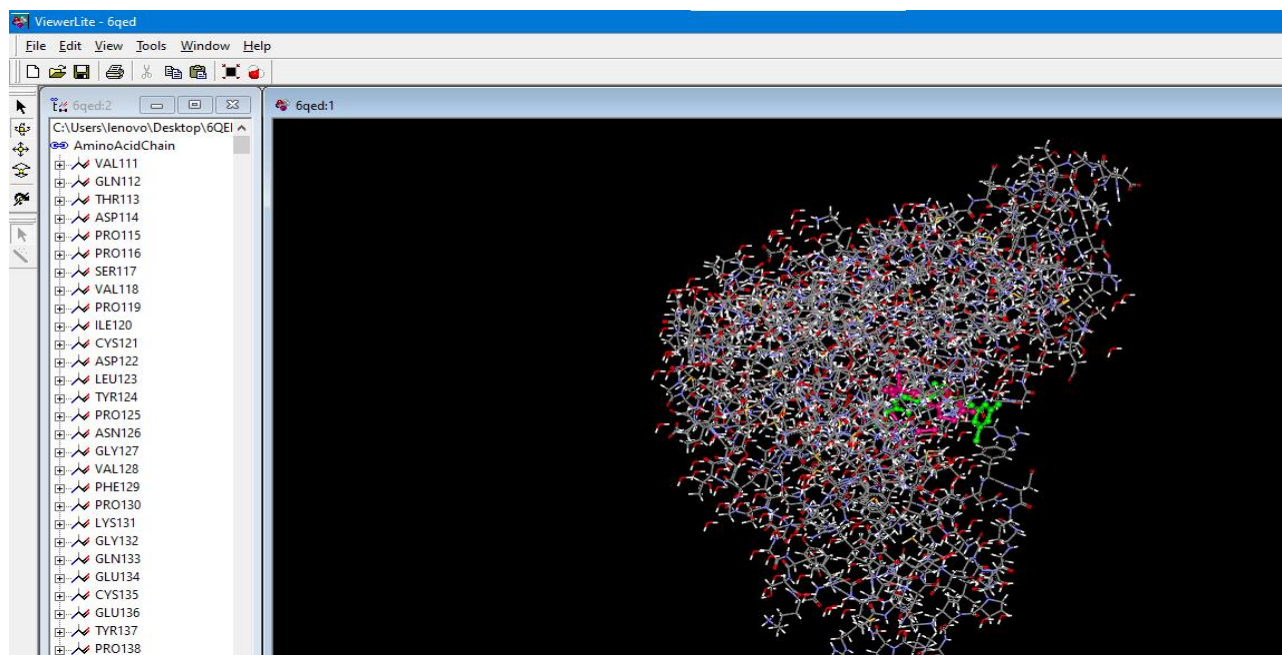


Figure IV. 4. Interface de logiciel *ViewerLite*.

I.2.5 Excel Microsoft 2010

Excel fait partie de la collection de logiciels bureautiques d'Office proposée par Microsoft. Il offre la possibilité de réaliser aisément des tableaux, des graphiques,...etc. Excel possède les fonctionnalités suivantes [122] :

- De calcul numérique ;
- De représentation graphique ;
- D'analyse de données ;
- De programmation, laquelle utilise les macros écrites dans un langage (Visual Basic).

I.3 Banques de donnée

I.3.1 Protéine Data Bank

La banque de données de protéines, également connue sous l'acronyme *PDB*, est une base de données internationale regroupant des structures tridimensionnelles de macromolécules biologiques, principalement des protéines et des acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement définies par la cristallographie à rayons X ou par la spectroscopie de RMN. Le laboratoire national de Brookhaven a établi la *PDB* en 1971. On peut accéder à la séquence correspondante, aux coordonnées atomiques, aux conditions expérimentales et aux représentations 3D des enzymes et des divers ligands dans la *PDB* [123-124-125].



Figure IV. 5. Interface d'accueil de la *PDB*.

I.3.2 PubChem

La banque *PubChem* représente la plus grande chimiothèque, renfermant plus de 80 millions de composés chimiques. Le National Center for Biotechnology Information (NCBI) se charge de sa gestion. Cette base de données accessible en toute liberté est rapidement mise au point pour devenir une ressource informative essentielle sur les produits chimiques, qui bénéficie aux communautés scientifiques dans divers domaines tels que la chimie computationnelle, la biologie chimique, la chimie pharmaceutique et la recherche pharmaceutique.

PubChem est principalement constitué de petites molécules, de lipides, de séquences d'acides aminés et de glucides. Cette chimiothèque nous a donné accès aux structures 3D des molécules similaires à nos inhibiteurs d'intérêt. Chaque élément de cette chimiothèque est conservé en divers formats de fichiers standards, y compris *SMILES*, *.mol2* et *.sdf*. La *PubChem* offre plusieurs informations, telles que la référence de la molécule, les structures 2D et 3D, ainsi que les propriétés physicochimiques de chaque composé [126-127-128].



Figure IV.6. Interface d'accueil de *PubChem*

I.4 Les serveurs

I.4.1 DogSiteScorer

DoGSiteScorer est un outil automatique nouvellement développé combinant la prédiction de poche, la caractérisation et l'estimation de la pharmacovigilance et est désormais disponible gratuitement pour une utilisation académique [03]. Pour accéder à *DogSiteScorer* et explorer ses fonctionnalités, nous pouvons visiter le site officiel : <https://proteins.plus/>.

Dogsitescorer est une approche basée sur une grille qui utilise un filtre gaussien différentiel pour détecter les poches de liaison potentielles. Un score de pharmacovigilance compris entre 0 et 1 est indiqué. Un score élevé indique qu'une poche est plus susceptible d'être pharmacovigilante. Saisissez le code PDB dans le champ de recherche du serveur *Proteinsplus*, puis cliquez sur le bouton « OK ». Choisissez ensuite *Dogsitescorer* et cliquez sur le bouton « Calculer » pour exécuter *dogsitescorer* avec les paramètres par défaut [129].

Figure IV. 7. Interface de serveur *DogSiteScorer*.

I.4.2 PrankWeb

PrankWeb est un serveur en ligne récemment conçu permettant de prédire et de visualiser les sites de liaison protéine-ligand. Elle permet également de comparer l'emplacement des poches prédites avec les zones hautement conservées, ainsi qu'avec les sites de liaison réels. Le code *PDB* a été entré dans la zone de recherche du serveur *PrankWeb*, et ensuite l'option « Soumettre » a été sélectionnée pour lancer *PrankWeb* avec les paramètres par défaut pour les résultats [131, 132].

Figure IV. 8. Interface de serveur *PrankWeb*.

I.4.3 ADMETlab 2.0

ADMETlab 2.0 est une plateforme en ligne optimisée conçue pour l'évaluation systématique des propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADME-Tox) des composés chimiques. Elle offre des prédictions complètes pour plusieurs paramètres liés à ADMET-Tox, dont [133, 134] :

- 17 propriétés physico-chimiques ;
- 13 propriétés de chimie médicinale ;
- 23 propriétés ADME (absorption, distribution, métabolisme et excrétion) ;
- 27 critères de toxicité 8 règles toxicophores couvrant 751 sous-structures.

Les utilisateurs peuvent choisir entre deux modes de calcul [133-135] :

- Évaluation de molécule unique : évaluez des composés individuels et spécifiques.
- Criblage par lots : évaluez plusieurs composés simultanément.

ADMETlab 2.0 repose sur des modèles robustes développés grâce à un cadre d'attention multitâches basé sur des graphes, formés à partir de données expérimentales de haute qualité. Cette approche garantit des prédictions précises et fiables. L'interface utilisateur a été entièrement repensée pour offrir une expérience intuitive et conviviale, rendant l'évaluation des propriétés ADME-Tox accessible aux chimistes médicaux et aux chercheurs en développement de médicaments.

Figure IV. 9. Interface graphique de l'ADMETlab 2.0.

I.4.4 ProTox 3.0

ProTox 3.0 est un serveur en ligne conçu pour prédire les toxicités des petites molécules. Ce serveur web gratuit et accessible sans inscription permet aux utilisateurs d'évaluer le profil toxicologique de composés chimiques en se basant sur leur structure [136].

ProTox 3.0 intègre des modèles de similaire moléculaire et d'apprentissage automatique pour prédire 61 toxicités, types tel que la toxicité aiguë, la toxicité organique, la toxicité clinique, les événements initiateurs moléculaires, les voies d'effets indésirables, plusieurs autres paramètres toxicologiques et les toxicités hors cible [137].

Pour utiliser ProTox 3.0, il suffit de fournir le nom du composé ou sa structure chimique 2D en format SMILES. Le serveur analysera ensuite le composé et fournira un rapport détaillé incluant les prédictions de toxicité pour chaque paramètre, accompagné d'un score de confiance, ainsi qu'un radar et un réseau illustrant le profil toxicologique global du composé.

ProTox 3.0 se présente comme une plateforme informatique complète et librement accessible pour la prédiction de la toxicité in silico destinée aux toxicologues, aux organismes de réglementation, aux chimistes computationnels et aux chimistes médicaux [136, 137].

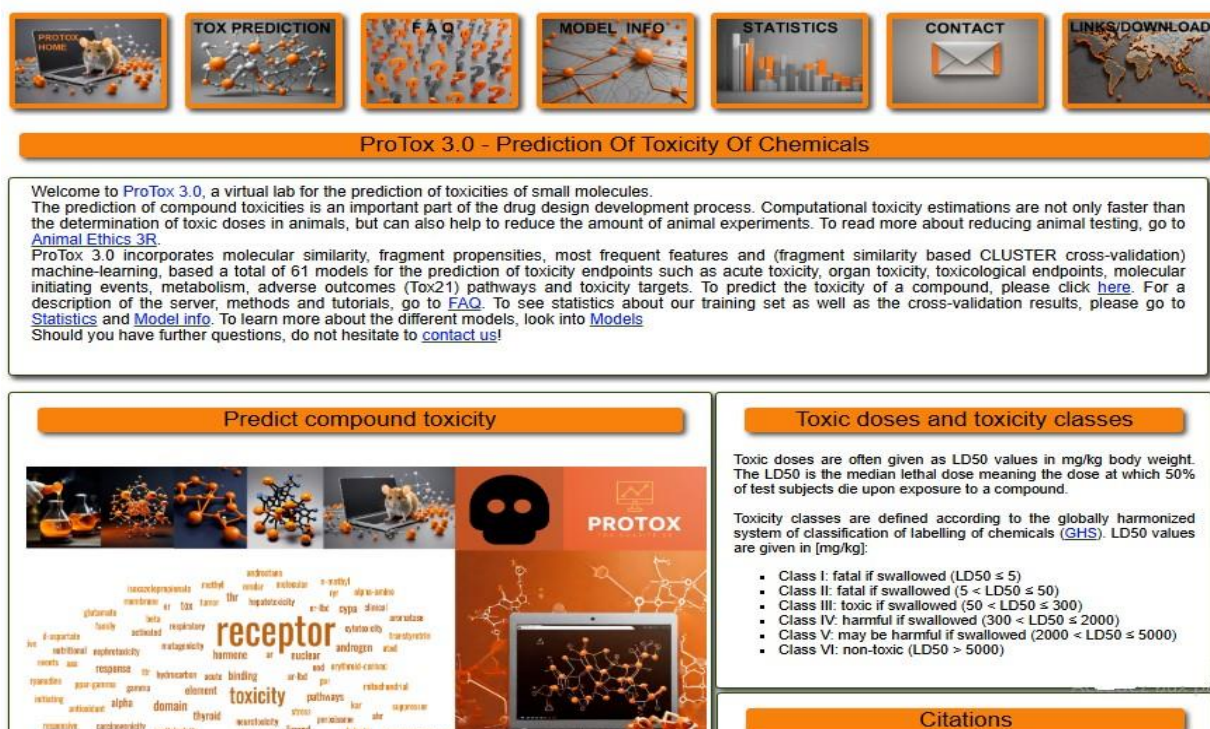


Figure IV. 10. Interface de ProTox 3.0.

II. Méthodes

II.1 Teste de fiabilité de programmes *Surflex-dock*

II.1.1 L'écart quadratique moyen ou RMSD

Le RMSD (*Root Mean Square Deviation*) entre deux poses est une mesure géométrique de la distance entre les positions atomiques de la structure expérimentale et celles de la structure prédite du complexe ligand/site de liaison. 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 entre la conformation et l'orientation du ligand déterminée par le programme de docking et sa pose dans le complexe expérimental doit être le plus petit possible. Selon les références bibliographiques, si la valeur de RMSD est inférieure ou égale à 2 Å, la prédiction du positionnement d'un ligand au sein de sa cible est considérée fiable [138-139]. Pour juger l'efficacité d'un programme de docking moléculaire, il est courant de mener cette évaluation sur une centaine de complexes cristallisés protéine-ligand [140- 142].

Dans le cadre de notre recherche, nous avons effectué un test de fiabilité basé sur la méthode RMSD sur 200 complexes protéine-ligand choisis de manière arbitraire à partir de la *PDB*. Les complexes sont obtenus en format *PDB* après leur insertion dans la *PDB*, avec

l'attribution d'un code spécifique pour chaque complexe. Le logiciel *Surflex-dock* a calculé les valeurs de RMSD en se basant sur la commande ci-dessous :

Surflex-dock rms final-0. Mol2 ligand. mol2

II.1.2 Analyse visuelle

Le test d'analyse visuelle est une phase additionnelle au test RMSD. C'est également une étape incontournable pour évaluer la performance du logiciel *Surflex-dock*, car elle offre la possibilité de visualiser les résultats par le biais de la valeur numérique RMSD. Elle offre un aperçu sur les résultats numériques du RMSD en visualisant la superposition de la pose théorique et la pose expérimentale d'un ligand [141, 143].

II.2 Réalisation du docking moléculaire par *Surflex-dock*

II.2.1 Préparation d'enzyme

Pour réussir efficacement le criblage virtuel, une simplification préliminaire du fichier original de l'enzyme est indispensable. Étant donné que le complexe 4M0E est homodimérique, nous avons retiré la chaîne B et conservé seulement la chaîne A en utilisant le logiciel *ViewerLite*. L'enzyme est complexée par l'inhibiteur 1YL, ainsi que par les composants ou hétéroatomes utilisés lors de la cristallisation, tels que les ions nitrates, 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose et le 1,2-éthanediol ont également été retirés (figure IV.11). Les deux éléments (enzyme et inhibiteur) du complexe ont été séparés dans des fichiers différents. *Surflex-dock* nécessite le format. Mol2 pour réaliser le docking moléculaire. C'est pour cette raison que nous avons recouru au logiciel *Open Babel* pour la transformation de notre enzyme et des divers inhibiteurs analysés en format *.mol2*.

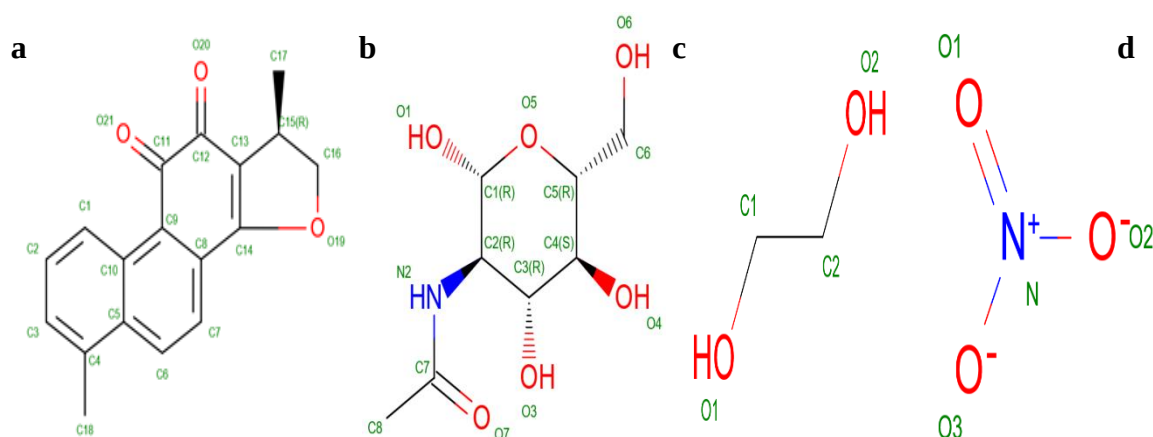


Figure IV. 11. Structure des ligands existants dans le complexe 4M0E de l'enzyme AChE. (a) Dihydropantanshinone I, (b) 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose, (c) 1,2-éthanediol, (d) ions nitrates.

II.2.2 Préparation de l'inhibiteur

Le format *.sdf* en 3D du ligand est directement obtenu de la *PDB* ou de la chimiothèque *PubChem* ; par la suite, les ligands (inhibiteurs testés) variés sont transformés en format *.mol2* pour être compatibles avec le docking via *Surflex-dock*, grâce au programme *Open Babel*.

II.2.3 Docking par *Surflex-dock*

Nous avons réalisé les étapes du docking moléculaire par le logiciel *Surflex-dock* selon le protocole suivant.

- **1^{ère} étape : génération du protomol**

Durant le processus de docking moléculaire, nous avons employé une pseudo-molécule en tant qu'objectif auquel le ligand se fixe dans le site actif de l'enzyme ciblée. Il emploie trois types de fragments (CH_4 , $\text{C}=\text{O}$ et NH) qu'il positionne dans le site actif à divers emplacements et évalue progressivement. Les fragments qui ont obtenu les meilleurs scores sont immédiatement réunis pour constituer un protomol qui englobe la totalité du site actif [02, 107]. Pour la création de protomol nous avons utilisé la commande suivante :

Surflex-dock proto ligand.mol2 protéine.mol2 pl

Avant de commencer les calculs de docking, il est recommandé d'observer d'abord le protomol avec le ligand de référence initial afin de vérifier que son volume et son étendue sont correctement adaptés au site actif de l'enzyme AChE (figure IV.12).

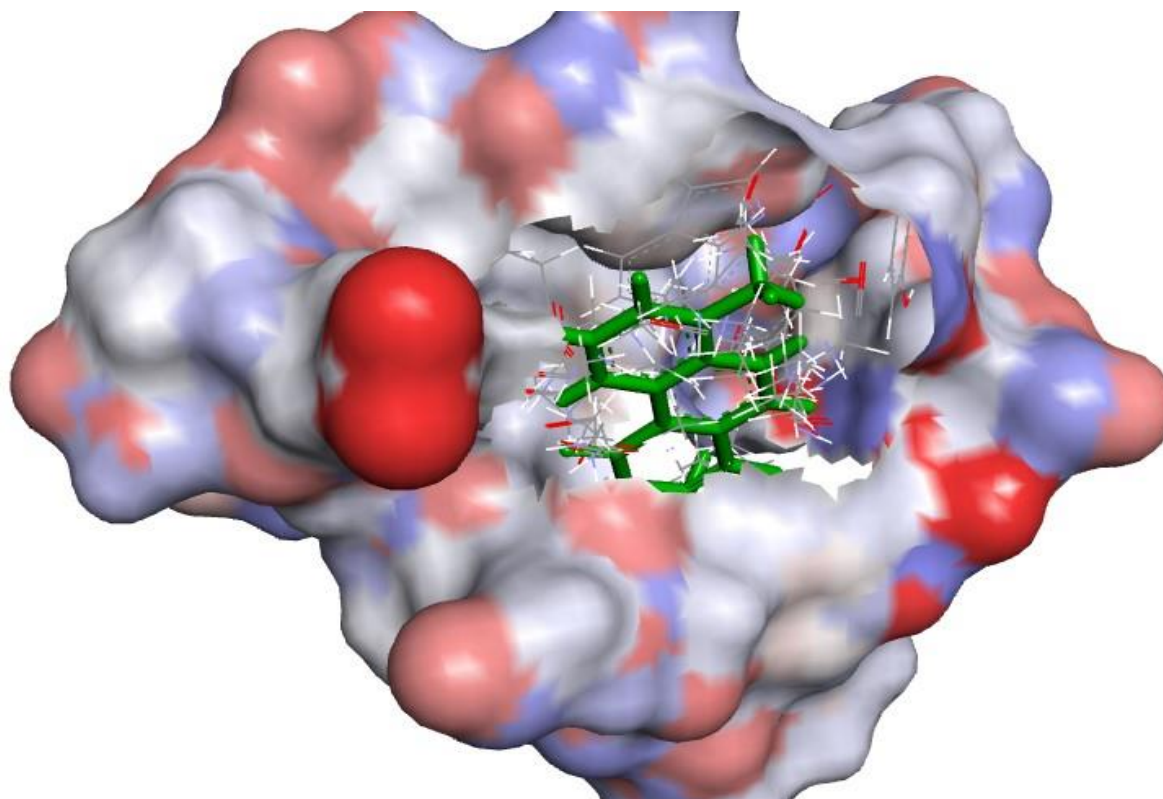


Figure IV. 12. Visualisation du *Protomol.mol2* représenté par types d'atomes en mode « *Lines* » dans le site actif de l'AChE avec l'inhibiteur 1YL coloré en verte.

- **2ème étape : le docking moléculaire**

Cette étape nécessite la disponibilité de la protéine format *.mol2*, le *protomol.mol2* créé lors dans l'étape précédente ainsi qu'aux ligands sous format *.mol2*. Le docking moléculaire par *Surflex-dock* permet d'avoir dix meilleures conformations de chaque ligand dans le site actif analysé, triées selon leur score (Final-0, Final-1...Final-9). Cette étape a été effectuée en employant la commande suivante :

Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protéine.mol2

Le résultat de docking par *Surflex-dock* donne par défaut, les dix meilleures « conformés » en M^{-1} au format *.mol2*. Chaque conformation possède trois scores (figure IV.13) :

- Le premier « final-0 » indique l'affinité ;
- Le second convient au degré de pénétration impropre du ligand dans la protéine nommé « crash score », plus ce score est proche de 0 plus l'interaction est favorable ;
- Le troisième appelé « polar score » correspond au niveau de contribution des interactions polaires.

```

Polishing: .....
Times (total 8): search 0 align 2 merge+chain 6 polish 0
Nconfs (final 61): 3 12 2172 2762
[ret_conf 1.34] [ret_conf 4.85] [ret_conf 4.89] [ret_conf 3.40] [ret_conf 4.48]
[ret_conf 4.16] [ret_conf 1.34] [ret_conf 1.37] [ret_conf 4.83] [ret_conf 4.87]
[ret_conf 4.61] [ret_conf 4.20] [ret_conf 4.78] [ret_conf 3.65] [ret_conf 4.20]
[ret_conf 4.68] [ret_conf 3.65] [ret_conf 4.87] [ret_conf 4.85] [ret_conf 4.87]
[ret_conf 1.31] [ret_conf 4.68] [ret_conf 4.30] [ret_conf 4.98] [ret_conf 4.00]
[ret_conf 4.71] [ret_conf 4.68] [ret_conf 4.13] [ret_conf 4.61] [ret_conf 4.93]
[ret_conf 4.91] [ret_conf 5.07] [ret_conf 4.00] [ret_conf 5.07] [ret_conf 4.22]
[ret_conf 3.92] [ret_conf 4.68] [ret_conf 3.88] [ret_conf 4.61] [ret_conf 4.91]
[ret_conf 3.92] [ret_conf 2.47] [ret_conf 1.43] [ret_conf 4.00] [ret_conf 4.78]
[ret_conf 2.47] [ret_conf 4.22] [ret_conf 3.88] [ret_conf 1.93] [ret_conf 4.68]
final-0: 5.07 crash -2.52 (self -1.05)
final-1: 5.07 crash -2.52 (self -1.05)
final-2: 5.06 crash -2.61 (self -1.12)
final-3: 5.05 crash -2.61 (self -1.16)
final-4: 5.05 crash -2.61 (self -1.16)
final-5: 5.05 crash -2.61 (self -1.16)
final-6: 5.04 crash -2.60 (self -1.16)
final-7: 5.04 crash -2.60 (self -1.16)
final-8: 5.04 crash -2.60 (self -1.16)
final-9: 5.04 crash -2.57 (self -1.11)
  
```

Figure VI. 13. Résultat de docking moléculaire donné par Surflex-dock.

II.3 Etude des interactions des meilleurs inhibiteurs

Cette étape est essentielle pour observer et quantifier les interactions entre l'inhibiteur testé et les résidus du site actif de notre cible enzymatique. Nous avons utilisés le programme *Discovery Studio Visualiser* pour réaliser cette étude.

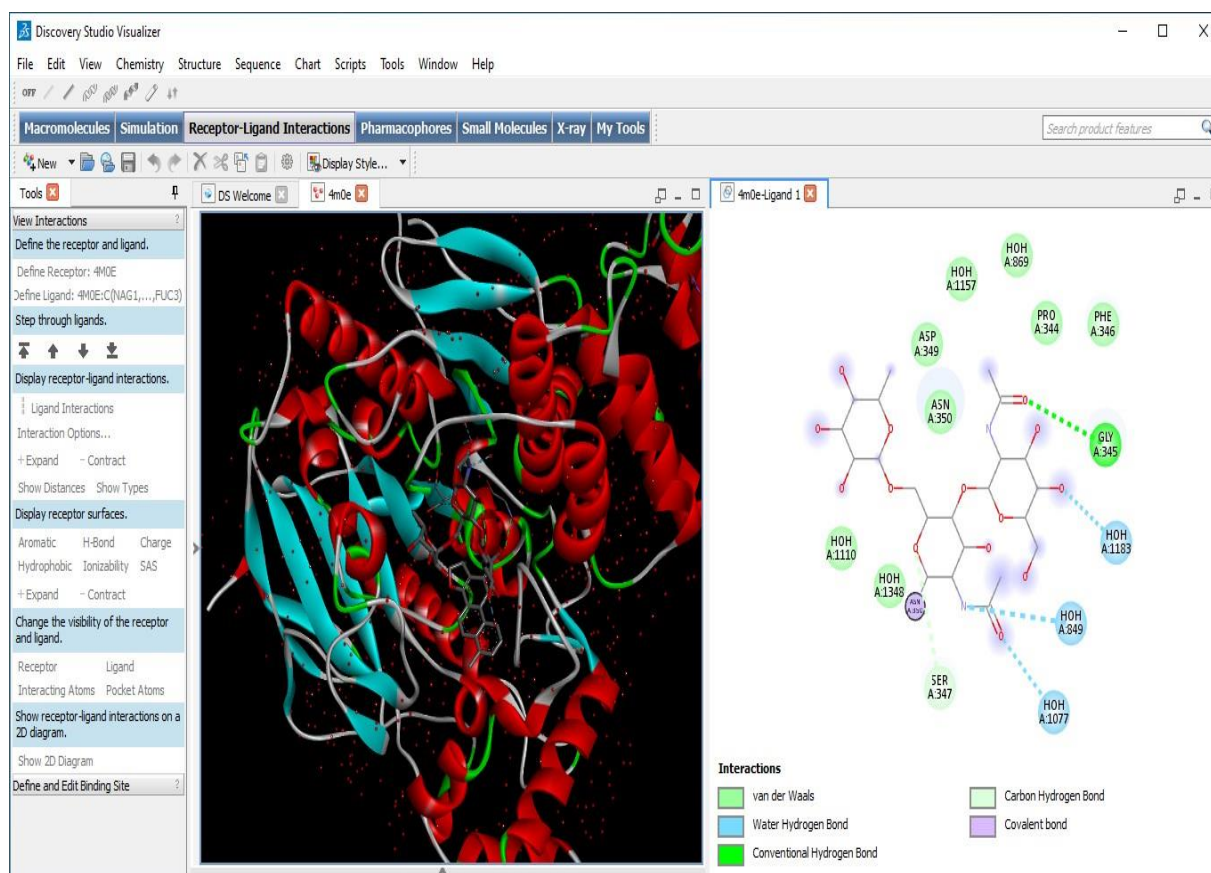


Figure IV. 14. Visualisation des interactions de l'AChE par le programme *Discovery Studio Visualiser*.

III. Prédiction de la similarité médicamenteuse

L'application de la méthode de filtrage ADME-TOX est essentielle pour la réussite de cette étude. Elle repose sur l'utilisation des serveurs ADMETLAB 2.0 et ProTox 3.0 afin de prédire les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et la toxicité des meilleurs inhibiteurs proposées.

III.1 Filtrage ADEM-Tox

Le profil ADME-Tox d'une molécule regroupe les paramètres influençant sa biodisponibilité dans l'organisme, notamment son absorption, sa distribution, son métabolisme, son excrétion et sa toxicité [144].

Les propriétés ADME-Tox déterminées comme défavorables par les méthodes expérimentales ont été identifiées comme étant la cause majeure d'échec dans le processus de développement des molécules à visée thérapeutique [145]. Les outils d'évaluation in silico

ADME-Tox ont été élaborés pour servir de soutien aux chimistes médicaux dans la création et l'amélioration de nouveaux composés à partir de la structure 2D de la molécule. C'est pourquoi l'évaluation ADME-Tox est désormais une phase indispensable à appliquer avant d'aborder la phase expérimentale [146].

III.2 Propriétés physico-chimiques

III.2.1 Règle de *Lipinski*

Dès 1997, *Lipinski* et d'autres chercheurs ont établi des règles simples permettant d'identifier rapidement, à grande échelle, des molécules présentant un profil "drug-like", c'est-à-dire plus susceptibles de posséder les caractéristiques de biodisponibilité requises pour le développement d'un candidat médicament [144].

Chaque molécule médicamenteuse envisagée doit répondre à divers critères fondamentaux, tels que son coût de fabrication réduit et sa solubilité. De plus, elle doit également correspondre à des normes relatives à ses caractéristiques pharmacologiques en matière d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. La règle de *Lipinski*, également appelée règle des 5, est utilisée pour déterminer la biodisponibilité d'un composé administré par voie orale en se basant sur la structure 2D de la molécule évaluée [38]. Dans notre étude, nous avons appliqués les critères suivants :

- Poids moléculaire (PM) ≤ 500 Da ;
- Coefficients de partage Octanol-Eau ($\log P$) ≤ 5 ;
- Le nombre d'accepteur d'hydrogène ≤ 10 ;
- Le nombre de donneur d'hydrogène H ≤ 5 .

III.2.2 La règle de *Veber*

D'autres règles basées sur le même principe ont également été proposées, telles que celles de *Veber*, qui visent à évaluer la biodisponibilité orale. Aujourd'hui, ces règles sont souvent mal comprises et largement utilisées comme filtres pour sélectionner les molécules. Cela peut les rendre trop restrictives, limitant ainsi l'exploration de l'espace chimique dans certains projets et les rendant difficilement applicables aux nouvelles molécules récemment approuvées par l'administration des aliments et des médicaments (FDA) [147].

Deux autres critères introduits par *Veber* sont souvent employés en complément avec la règle des 5. Les critères de cette règle sont [148] :

- La surface polaire de la molécule TPSA $\leq 140 \text{ \AA}^2$;
- Nombre de liaisons à libre rotation ≤ 10 .

III.2.3 La solubilité dans l'eau

Est une grandeur correspondant à la masse maximale de soluté pouvant être dissout dans un litre de solution. À une température donnée, l'unité de solubilité est généralement exprimée en mg / L (milligrammes par litre) ou en ppm (parties par million) [149].

III.2.4 Accessibilité à la synthèse

Après avoir examiné un panel de substances pour en déterminer leur activité, l'une des questions les plus importantes à répondre concerne l'accessibilité synthétique relative aux composés les plus intéressants. Bien que l'accessibilité synthétique ne soit pas le seul facteur à prendre en compte lors de la définition des priorités pour le suivi, elle constitue l'un des facteurs les plus importants et décisifs dans le succès ou l'échec de nombreux efforts d'optimisation [150]. La marge de scores pour ces critères était de 1 à 10. Plus la valeur d'un composé est élevée, plus sa synthèse devient complexe [151].

III.3 Propriétés pharmacocinétiques

La pharmacocinétique étudie le devenir du médicament au sein de l'organisme. Elle correspond à l'analyse qualitative et quantitative des différentes étapes que sont l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination d'un médicament, en fonction du temps [152, 153].

III.3.1 L'absorption

L'absorption d'un médicament désigne le processus par lequel la substance active, sous forme inchangée, pénètre dans l'organisme jusqu'à atteindre la circulation systémique, après avoir franchi une barrière physiologique spécifique à la voie d'administration utilisée. Cette barrière peut être, par exemple, la muqueuse intestinale lors d'une administration orale, l'épiderme pour une administration cutanée, ou encore l'épithélium pulmonaire en cas d'inhalation. À ce titre, l'absorption gastro-intestinale constitue un modèle de référence pour prédire, de manière *in silico*, l'absorption des molécules candidatent au développement pharmaceutique [143, 152, 153].

III.3.2 Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE)

La barrière hémato-encéphalique ou *Blood Brain Barrier* (BBB) représente un système de protection particulièrement performant qui limite l'accès des substances circulantes au tissu cérébral, offrant ainsi une défense efficace contre les agents périphériques. Toutefois, cette même barrière constitue un obstacle majeur dans le développement de médicaments ciblant le système nerveux central. Sa présence, combinée à la complexité anatomique et fonctionnelle du cerveau, contribue à la faible probabilité de succès et aux délais prolongés associés à la mise au point de thérapies à visée cérébrale [154].

III.3.3 Inhibition des cytochromes P450

Les cytochromes P450 forment une famille de protéines transmembranaires ubiquistes, caractérisées par une grande homogénéité au niveau de leur site actif ainsi que par un cycle catalytique commun. Ces enzymes jouent un rôle central dans le métabolisme des xénobiotiques, notamment les médicaments. Leur inhibition peut avoir des conséquences pharmacocinétiques importantes, rendant essentielle leur prise en compte lors des étapes de conception et d'évaluation des candidats-médicaments [155]. La connaissance de l'interaction des molécules avec les cytochromes P450 (CYP) est également essentielle car cette superfamille d'iso enzymes est l'un des éléments clé dans l'élimination des médicaments par biotransformation métabolique. Elles existent sous plusieurs iso-formes (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) [143, 156].

III.4 La toxicité

La toxicité est l'un des éléments les plus inquiétants pour les concepteurs de médicaments, en particulier lorsqu'ils passent aux phases cliniques. Effectivement, l'apparition d'effets indésirables graves à cette étape entraîne habituellement l'annulation immédiate du développement de la substance en question. Il est donc crucial d'examiner le potentiel toxique d'une substance dès les premières phases de développement, en se basant notamment sur sa structure chimique [157].

III.4.1 L'Inhibition de HERG

Le gène humain HERG (*human ether-à-go-go-related gene*), code pour la sous-unité alpha d'un canal potassique voltage-dépendant. L'inhibition des courants HERG entraîne une

prolongation du potentiel d'action cardiaque, ce qui peut induire un effet anti arythmique bénéfique, classé comme effet de classe III [158].

III.4.2 Mutagénicité – Test d'Ames

Le test d'Ames est une méthode de laboratoire permettant d'évaluer le potentiel mutagène d'une substance, autrement dit sa capacité à altérer l'ADN des organismes vivants. Un résultat positif suggère que la molécule testée pourrait avoir un effet cancérigène potentiel. Ce test repose sur l'utilisation de souches de *Salmonella typhimurium* génétiquement modifiées. Ces souches présentent des mutations qui les empêchent de synthétiser un acide aminé essentiel à leur croissance : l'histidine. Lorsqu'on expose ces bactéries à la substance à tester, celle-ci peut provoquer de nouvelles mutations capables de rétablir la fonction du gène initialement altéré. La bactérie retrouve alors la capacité de produire de l'histidine, devenant ainsi prototrophe, ce qui lui permet de se développer sur un milieu dépourvu de cet acide aminé. Ce phénomène indique que la substance testée possède un caractère mutagène [143, 159,160].

III.4.3 Étude du pouvoir cancérigène

La cancérigénicité désigne la capacité d'une substance à provoquer le cancer dans l'organisme. En général, les tests de cancérigénicité nécessitent une période d'observation prolongée, souvent d'environ deux ans. Actuellement, seules les méthodes d'évaluation in vivo sont bien établies. Ces tests sont généralement réalisés sur des souris ou des rats, qui sont exposés à une substance donnée, puis l'apparition éventuelle de cancers est observée comme principal indicateur. Le programme ADMETlab prédit les résultats de son modèle basé sur des données issues du National Toxicology Program (NTP) et de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis, qui résultent d'études de cancérigénicité in vivo menées pendant deux ans sur des rongeurs [143, 161].

III.4.4 Toxicité aigue

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

- **Les algues (*algae*)** : Ce test permet d'évaluer la toxicité chronique des eaux par inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce.

- **Les crustacés (*Daphnia magna*)** : Les daphnies sont des petits crustacés vivant principalement en eau douce (rivière, étang, lac), espèces utilisées comme modèle biologique en toxicologie [162].
- **Le test de la toxicité aigüe sur Minnow** : *Pimephales promelas* est une espèce de poisson utilisée pour l'évaluation de la toxicité aigüe ; les poissons sont petits et faciles à cultiver en laboratoire grâce à leur cycle de vie court et leur taux de fertilisation et d'éclosion élevés [163].

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans un premier lieu, notre approche implique de vérifier la fiabilité du programme de docking moléculaire *Surflex-dock*, utilisé dans cette recherche. Ensuite, nous tenons à approfondir notre compréhension des processus d'interaction entre l'acétylcholinestérase et les inhibiteurs issus de la PDB. Dans une partie finale, en nous basant sur les conclusions précédentes, nous avons tenté de développer de nouveaux inhibiteurs tirés de la chimiothèque *Pubchem*, capables d'inhiber plus efficacement l'enzyme AChE.

I. Validation de la fiabilité du système de docking *Surflex-dock*

Pour vérifier si le protocole que nous venons de développer est correct, ainsi de s'assurer de nos calculs et nos résultats de docking moléculaire obtenus, nous avons considéré pertinent d'évaluer dans un premier temps la performance du programme *Surflex-dock* via les deux tests suivants :

- Ecart quadratique moyen ou RMSD (*Root Mean Square Deviation*).
- Une analyse visuelle.

I.1 L'écart quadratique moyen ou le RMSD

La capacité d'un algorithme à localiser correctement le ligand par rapport à son récepteur est généralement évaluée en utilisant l'écart quadratique moyen (RMSD) du modèle élaboré par le logiciel par rapport à la structure cristalline. On considère qu'une prédiction n'est pas adéquate si la différence dépasse 2 angströms [139, 143].

Le test RMSD a été réalisé sur une série de 200 complexes protéine-ligand tirés de façon aléatoire de la *PDB*. Au cours de ce test, nous avons évalué la capacité de *Surflex-dock* à prédire l'emplacement correct de chaque ligand au sein du site actif de la protéine. La prédiction est acceptable si les valeurs de RMSD ne dépassent pas 2 Å [139]. Nous avons téléchargé les complexes au format *.pdb*, puis ils ont été convertis au format *.Mol2* par le programme *Open Babel*. Les codes *PDB* des complexes et de leurs ligands ainsi que les valeurs de leurs RMSD obtenus avec *Surflex-dock* sont mentionnés dans le tableau V.1.

Tableaux V.1. Valeurs de RMSD des 200 complexes protéine-ligand utilisés pour tester la fiabilité de programme *Surflex-dock*

Code	Inhibiteur	RMSD (Å)	Code	Inhibiteur	RMSD (Å)
4EY5	E20	1,35	3ZHX	FM6	1,69
4EY6	GNT	0,05	3ZHZ	FM7	0,92
4M0F	1YK	0,24	3ZHY	FM6	0,94
5HF9	HI6	0,92	3ZIO	FM8	0,77
6CQU	HI6	1,37	1QOH	FOM	1,17
6CQV	HI6	1,29	2EGH	FOM	1,09
6CQY	HI6	1,25	1ONP	FOM	1,87
6NTG	HI6	0,70	3RAS	DCV	0,13
6O52	EPW	0,99	1T1S	CBQ	0,77
6QEG	K4K	0,54	2Y1D	34F	1,56
6QEH	HZQ	0,06	2Y1J	FMS	0,89
3PKC	Y08	0,69	2Y1F	34F	1,85
3PKD	Y10	1,53	4OOE	FOM	1,96
3PKA	Y02	1,78	1G27	BB1	1,58
3FMQ	FUG	1,74	2G2A	BB2	0,69
3PKE	Y10	0,82	3M6R	BB2	1,83
1R58	A05	1,66	2AIA	SB8	0,35
1R5G	A01	1,59	1BSQ	MLN	1,86
1R5H	A02	1,30	5WBE	63E	1,51
3FMR	TN4	1,67	1PTH	SAL	1,29
1YW7	A41	1,37	3N8X	NIM	0,73
1YW9	A84	0,80	1CQE	FLP	1,23
1YW8	A75	1,46	1Q4G	BFL	0,94
2ADU	R20	0,74	5U6X	P6A	1,83
2EA2	F77	0,08	4O1Z	MXM	0,62
4FLI	Y16	1,90	1OQ5	CEL	0,89
4FLK	Y10	1,51	8ETO	IBP	0,82
4FLL	YZ6	1,74	3LNO	52B	0,54
4IKU	SHX	1,72	3MQE	416	1,42

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

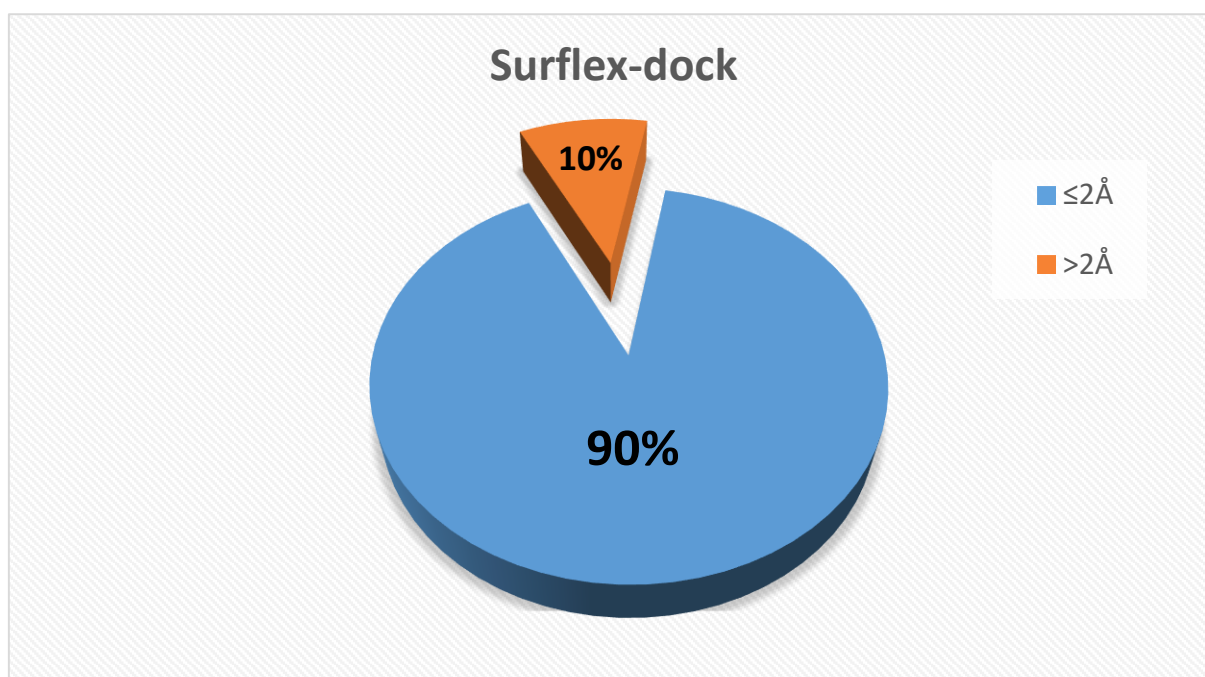
4U69	Q07	0,76	3NYG	D72	1,18
4U6E	Q02	0,15	3Q7D	NPX	1,24
4U70	Q04	0,17	5JVZ	FLP	1,01
4HXX	1AY	1,05	6OFY	ACD	0,62
4U1B	Q08	0,63	1PXX	DIF	0,36
4U6Z	Q07	0,38	30LT	ACD	0,81
4U71	Q03	0,63	3TZI	ACD	1,30
2G6P	HM2	0,46	4^E1G	LNL	1,30
2NQ6	HM4	0,25	4FM5	DF0	1,56
2NQ7	HM5	1,98	5W58	FF8	1,09
4IKS	TFD	0,55	1CVE	ACD	0,85
4IKT	TFV	1,75	3N8Z	FLP	0,40
4U6W	Q08	0,77	3N8W	FLP	1,16
1Q0H	FOM	1,17	1EQG	IBP	0,75
1T1R	IMB	0,73	3HS5	ACD	0,37
1T1S	CBQ	0,77	3HS6	EPA	1,52
2JCV	FOM	0,52	3QM0	NS4	1,9
3A06	FOM	0,04	4M11	MXM	1,1
3WQQ	IB3	1,13	4OTJ	IXP	1,35
2EGH	FOM	1,09	4OTY	LUR	1,54
3G5K	BB2	1,71	4RRW	LUR	0,22
1G2A	BB2	0,69	4RRZ	LUR	0,59
2AI8	SB7	0,80	4RS0	IBP	1,65
1XNZ	FCD	0,06	6V3R	Y8A	1,41
1Q96	A18	0,22	3NT1	NPS	0,65
2Q92	B23	0,04	5F1A	SAL	1,27
2Q93	B21	1,28	5IKR	ID8	0,89
2Q94	A04	0,05	5IKT	TLF	0,64
1YVM	TMG	0,79	4QP7	1UV	1,96
2GG0	U11	1,62	4Y6P	R77	1,10
2GGB	U17	1,59	2WTH	P48	0,9
2GG9	U16	1,81	2AI7	SP7	0,74
2GG8	U15	1,93	2A8	SP7	0,81

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

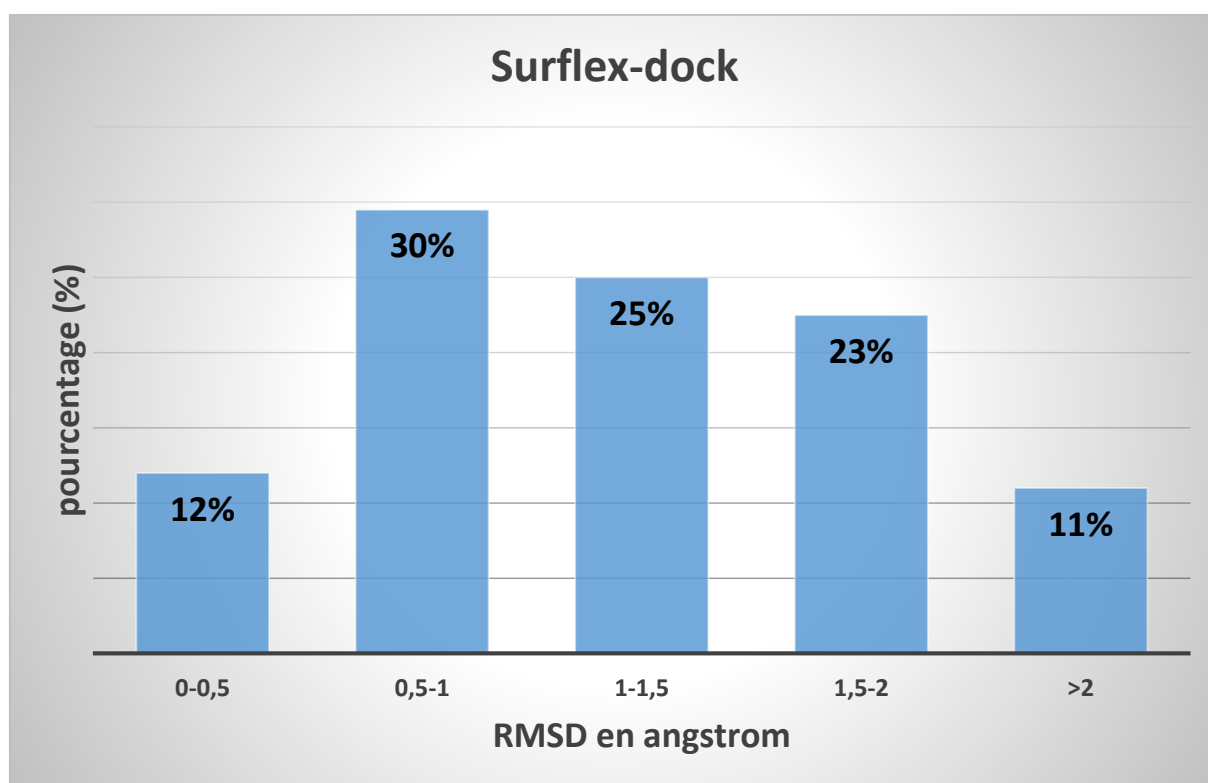
2EV0	CT0	0,80	1RL4	BLS	1,68
3KED	DAB	0,94	3EPH	BES	1,90
2RIP	34Q	1,64	2GG3	U13	0,33
3CHR	4BS	1,80	3FHR	P4O	0,1
3KWF	B1Q	1,06	3CCC	7AC	0,83
3B7U	KEL	1,20	2OW6	Y13	0,88
4M0E	1YL	0,96	1IXI	BB2	1,78
4EY7	E20	0,79	2JFF	LK2	0,76
6CQW	HI6	0,41	2VTD	LKM	1,13
6NTM	HI6	1,12	3G5K	BB2	1,6
6NTN	HI6	1,45	3HRT	I39	1,91
6O4W	E20	1,27	3MPL	LSG	0,74
6QEF	HZW	1,64	2JFH	LK1	1,38
4U73	Q02	1,83	20KL	BB2	1,37
2JCX	FOM	1,78	20S3	BB2	1,35
2Y1D	34F	1,56	2GG8	I15	1,39
2Y1F	34F	1,85	2GG9	I16	1,82
1B6A	TN4	1,57	2GG0	I11	1
2BB7	QMS	0,76	2GG2	I12	0,1
3C43	315	1,66	2GG7	I14	1,16
3B7R	BIR	1,07	2Q93	B21	1,28
7D9O	H0L	0,85	7A12	QVK	1,48
6WV1	HI6	1,48	3P3S	LEV	0,42
6WUY	HI6	0,90	3IU9	TO7	0,89
7D9P	H0R	1,50	5JBL	6J8	1,26
7E3H	E20	1,49	3YW8	TO3	0,68
3ROI	COK	1,23	7A16	HZE	2,08
3ANL	SYC	0,90	6QEI	HZE	2,10

6WVO	HI6	5.82	2Y1G	FM5	5.33
6O50	EBW	15.95	2Q95	A05	7.27
6QED	HZK	7.88	3ANM	SYD	7.02
3D4L	605	10.01	4AO3	F98	5.76
2P98	YE7	5.96	4OOF	FOM	5.33
6GA2	A19	5.40	4AIC	FOM	5.44
4IU6	FZ1	8.92	1EQH	FLP	6.52
4IKR	PVP	8.17	4RRX	LUR	5.59
1Q0L	FOM	5.27	2EW5	Y12	10.16
4AIC	FOM	5.43	2GG5	U19	5.56

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



Graphe V.1. Résultats en % du test RMSD à deux intervalles.



Graph V.2. Résultat en % obtenu par *Surflex-dock* a divers intervalles de RMSD.

Les données du graphe V.1 indiquent que *Surflex-dock* est un logiciel de docking moléculaire efficace. Effectivement, 180 complexes affichent un RMSD inférieur ou égal à 2 Å, ce qui représente un taux de 90%. Et qu'uniquement 20 complexes affichent un RMSD supérieur à 2 Å, ce qui équivaut à une proportion de 10%.

La meilleure prédiction du positionnement du ligand de complexe cristallographique et celles de ligand amarré par *Surflex-dock* est représentée par un RMSD égale à 0,05 Å. Par contre le mauvais RMSD est représenté par une valeur de 15.95 Å. D'après le graphe V. 2, la plupart des meilleures valeurs RMSD se situent dans l'intervalle] 0,5 - 1 Å] environ 30%.

Notre calcul est conforme aux résultats de Chikhi A, (2007), où le logiciel *Surflex-dock* a été comparé à deux autres programmes (*FlexX* et *Anguslab*) en utilisant 126 complexes protéine-ligand. Il a démontré que 88,4% des valeurs de RMSD déterminées par *Surflex-dock* sont inférieures ou égales à 2 Å [164]. De plus, nos résultats sont en accord avec les travaux obtenus par Boucherit et al. (2014), où la fiabilité de programme *Surflex-dock* et le logiciel *GOLD* a été étudié (étude comparative entre la performance de deux logiciels). *GOLD* reproduit bien les données expérimentales, et à un degré moindre *Surflex-dock*. 79.16% des valeurs de RMSD sont inférieures ou égale à 2 Å pour le premier et 66 % pour le deuxième [114]. Aussi, le même logiciel est utilisé par Teniou S, (2012) où la performance de programme *Surflex-dock*

a été évalué. Ils révèlent un pourcentage de 85.8% des valeurs de RMSD inférieures ou égale à 2 Å sur 134 complexes testés [107].

I.2 Analyse visuelle

L'analyse visuelle soutient fermement les résultats du RMSD, démontrant à chaque fois un alignement maximal entre la conformation optimale du ligand déterminée par *Surflex-dock* et la géométrie de ce même ligand obtenue par diffraction des rayons X. L'analyse visuelle est réalisée par le programme *Viewerlite*.

Nous avons choisi trois résultats de docking de différents complexes AChE-inhibiteur. Les codes de notre enzyme, les inhibiteurs testés ainsi que les valeurs de RMSD sont présentés dans le tableau V. 2 ci-dessous.

Tableaux V.2. Valeurs de RMSD de trois complexes AChE-inhibiteur

Code d'enzyme	Inhibiteur	RMSD
6CQW	HI6	0,41
4EY6	GNT	2.93
7XN1	THA	5.27

Les résultats du docking moléculaire de trois complexes de notre cible enzymatique portés les codes : 6CQW, 4EY6 et 7XN1 sont montrés dans les figures V.1, V.2 et V.3 suivantes. La conformation des ligands générés par le docking moléculaire (vert) est comparée avec la pose expérimentale de même ligand (rose).

Selon ces données, nous obtenons :

- Pour l'inhibiteur HI6, avec un RMSD de 0,41 Å ; la superposition est impeccable. Elle affiche une configuration spatiale qui peut être superposée à celle obtenue par expérimentation (figure V.1) ;
- Pour l'inhibiteur GNT, avec un RMSD de 2.93 Å, la superposition est moins importante que dans la première situation (figure V.2) ;
- Pour l'inhibiteur THA, affichant un RMSD de 5.27 Å ; la superposition des deux inhibiteurs n'est pas satisfaisante, c'est-à-dire que le ligand docké se trouve mal positionné spatialement par rapport au ligand co-cristallisé (figure V.3).

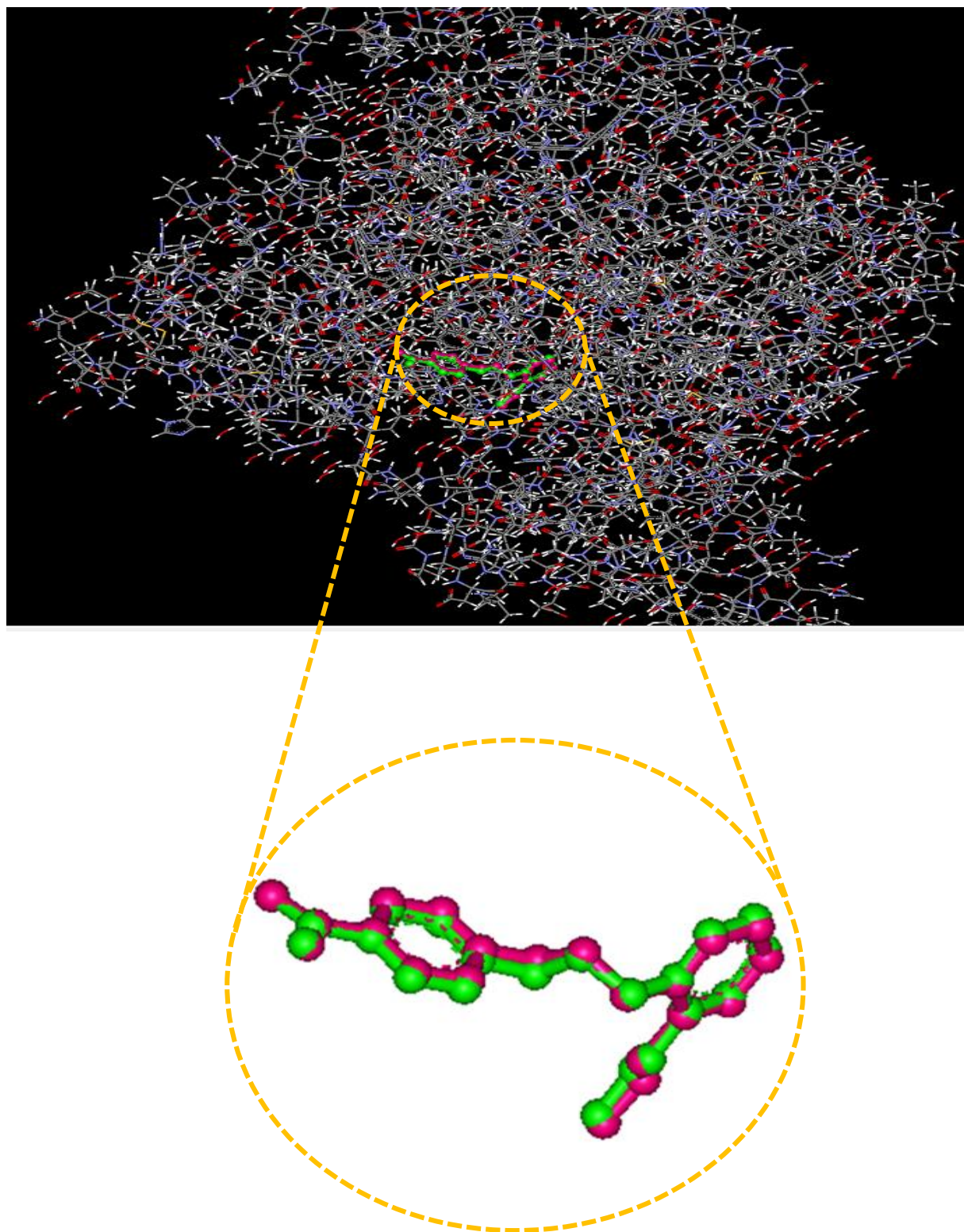


Figure V.1. Superposition du ligand HI6 donné par PDB (coloré en rose) et du finale-0 calculé par *Surflex-dock* (coloré en vert) du complexe 6CQW.

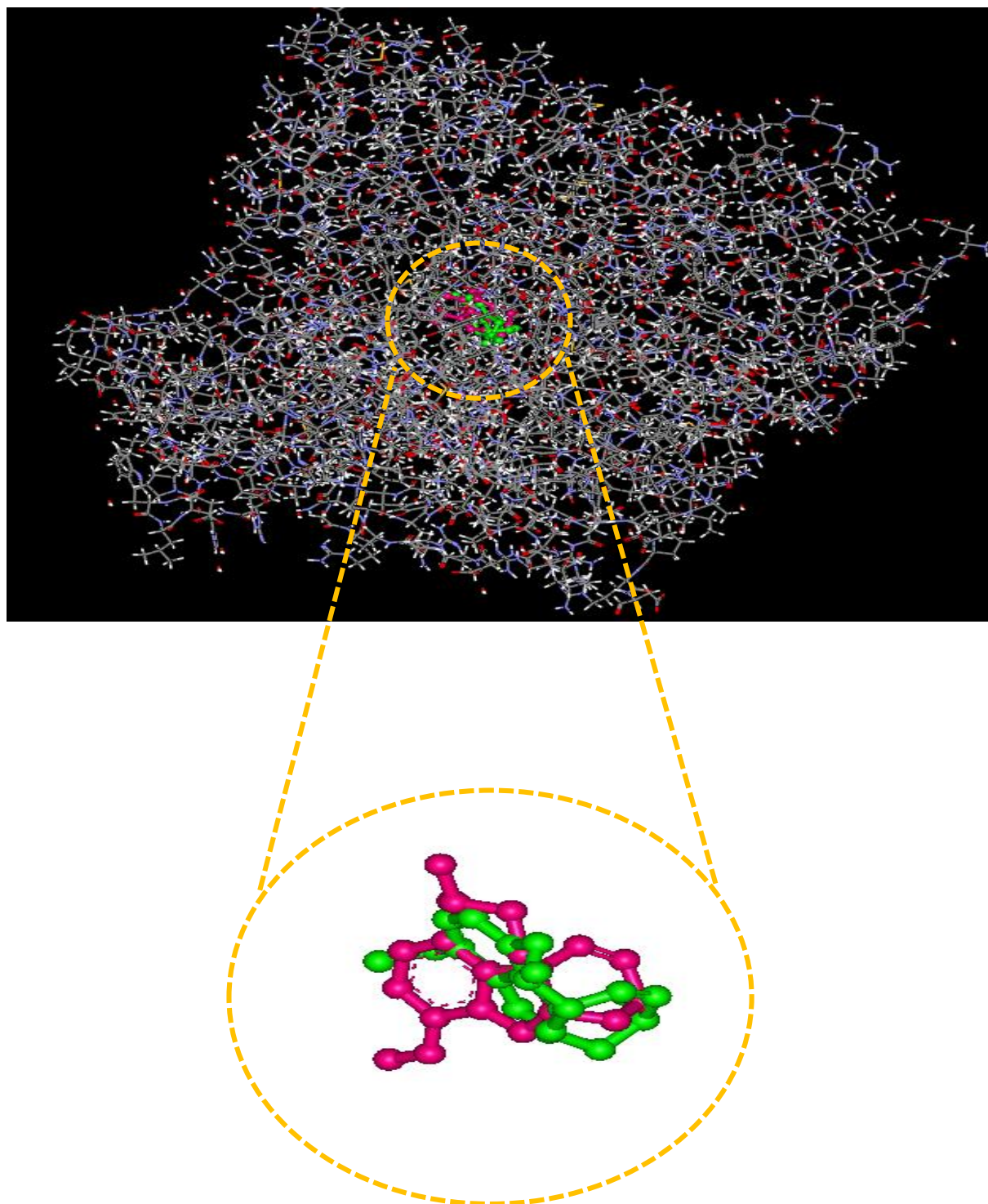


Figure V.2. Superposition du ligand GNT donné par PDB (coloré en rose) et du finale-0 calculé par *Surflex-dock* (coloré en vert) du complexe 4EY6.

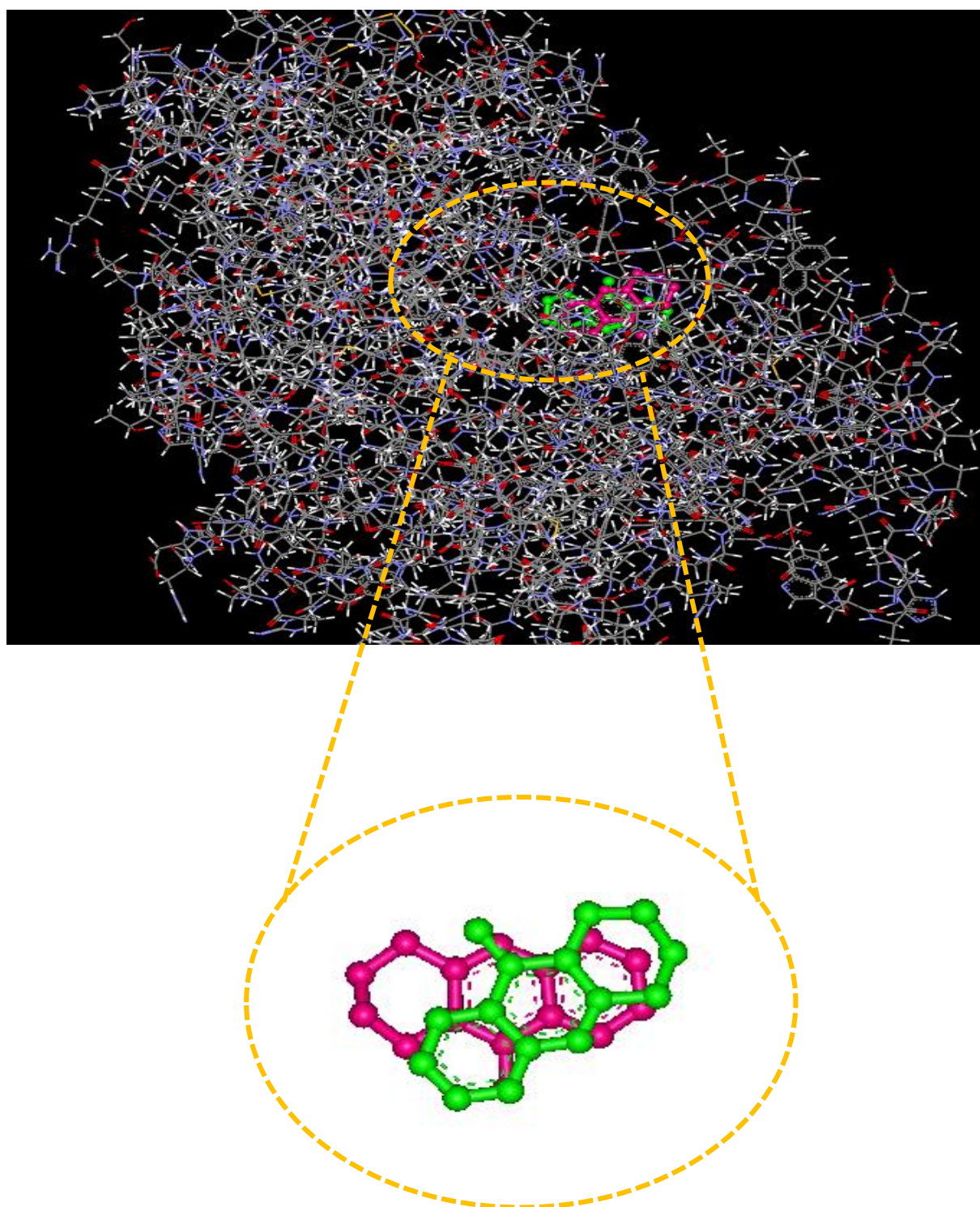


Figure V.3. Superposition du ligand THA donné par PDB (coloré en rose) et du finale-0 calculé par *Surflex-dock* (coloré en vert) du complexe 7XN1.

Conclusion

Le test RMSD et l'analyse visuelle nous permet de conclure, que le logiciel Surflex-dock est fonctionné correctement et peut être utilisé pour prédire ou modéliser le mode d'interaction de différents inhibiteurs testés avec la cible acétylcholinestérase d'une part, et l'évaluation de l'affinité de complexes protéine-ligand obtenus d'autre part.

II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de l'AChE humaine par divers inhibiteurs provenant de la PDB

Afin de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus performants de l'enzyme acétylcholinestérase, nous avons pris comme point de départ les inhibiteurs présents dans la PDB. Nous avons utilisé la méthode du docking moléculaire avec le logiciel *Surflex-dock* pour simuler la façon dont ces inhibiteurs interagissent avec notre cible enzymatique.

II.1 Choix du complexe

Notre étude porte sur l'enzyme acétylcholinestérase, dont la structure est extraite de la PDB. Nous avons choisi le code 4M0E, qui offre une résolution de 2 Å, notre critère principal de sélection. Un autre critère tout aussi crucial est la présence d'un inhibiteur dans le site actif de notre cible enzymatique. Les caractéristiques de cette enzyme sont regroupées dans le tableau V. 4 ci-dessous.

Tableaux V. 3. Caractéristiques du complexe 4M0E [165]

Molécule	Acétylcholinestérase
Complexe	4M0E
Classification	Hydrolase
Organisme	Homo sapiens
N de chaine	2 chaines A et B
Inhibiteur	1YL
Résolution	2Å
Résidus de site actif	Tyr72- Asp74- Gly121- Gly122- Tyr124- Trp286-His284- Leu289- Gln291- Glu292- Ser293- Val294-Phe295- Arg296- Phe297- Tyr337- Phe338- Tyr341-Gly342- His447.

II.2 Identification de site actif

II.2.1 Notion de site actif

Le rôle des enzymes est associé à la présence d'un site spécifique dans leur structure connu sous le nom de site actif. De manière simplifiée, il prend la forme d'une cavité ou d'un sillon dans lequel les substrats vont se fixer à travers plusieurs liaisons chimiques de faible intensité. Une fois établis, les substrats vont intervenir et se convertir en produits. Il s'agit d'une zone privilégiée de l'enzyme, située dans la zone hydrophobe de la protéine. Il est de petite taille relativement au volume de la protéine. Le site actif se divise en deux sections [166, 167] :

- Le site de liaison/fixation/reconnaissance : il détecte la complémentarité de forme avec un substrat particulier à l'enzyme.
- Le site catalytique : il facilite la réaction qui convertit le substrat en produit.

II.2.2 Identification du site de liaison du ligand

II.2.2.1 Serveur DoGSiteScorer

Le serveur DoGSiteScorer montre qu'il existe 11 sites de liaison potentiels (figure V.4). Les résultats de ce serveur sont démontrés dans le tableau V.5 au-dessous. Les poches avec un score de pharmacobilité plus élevé sont considérées comme plus susceptibles d'être médicamenteuses. Une poche médicamentable est généralement caractérisée par un volume de poche important, une profondeur élevée ainsi qu'un rapport d'acides aminés apolaires élevé, ce qui signifie que cette poche est considérée comme médicamentable [168]. La première poche (P_0) représentée en orange (figure V. 4) a été identifiée comme la principale sur la base des données bibliographiques sur la structure de cette enzyme, qui ont été discutées au chapitre II. De plus, en raison de la présence d'un inhibiteur compétitif lié à la structure cristalline de l'enzyme étudiée chargée à partir de la banque *PDB*. Elle est caractérisée par :

- La plus grande poche (P_0), à un volume de 912,16 Å³ ;
- Un rapport d'acides aminés apolaires de 0,36 ;
- Donneurs de liaisons hydrogène : 23 ;
- Accepteurs de liaisons hydrogène : 78 ;
- Interactions hydrophobes : 61 ;
- Rapport d'hydrophobicité : 0,38.

Tableaux V.4. Les poches de liaison pour le code 4M0E prédites par le Serveur DoGSiteScorer

Nom	Volume Å ³	Surface Å ²	Score de drogue
P_0	912,16	1088,06	0,83
P_1	796.1	966.22	0.76
P_2	434.07	513.28	0.62
P_3	422.73	459.38	0.66
P_4	299.95	435.33	0.55
P_5	271.67	363.02	0.38
P_6	246.26	328.36	0.52
P_7	211.82	314.86	0.43
P_8	178.57	330.2	0.33
P_9	168.42	389.83	0.32
P_10	151.2	107.55	0.51

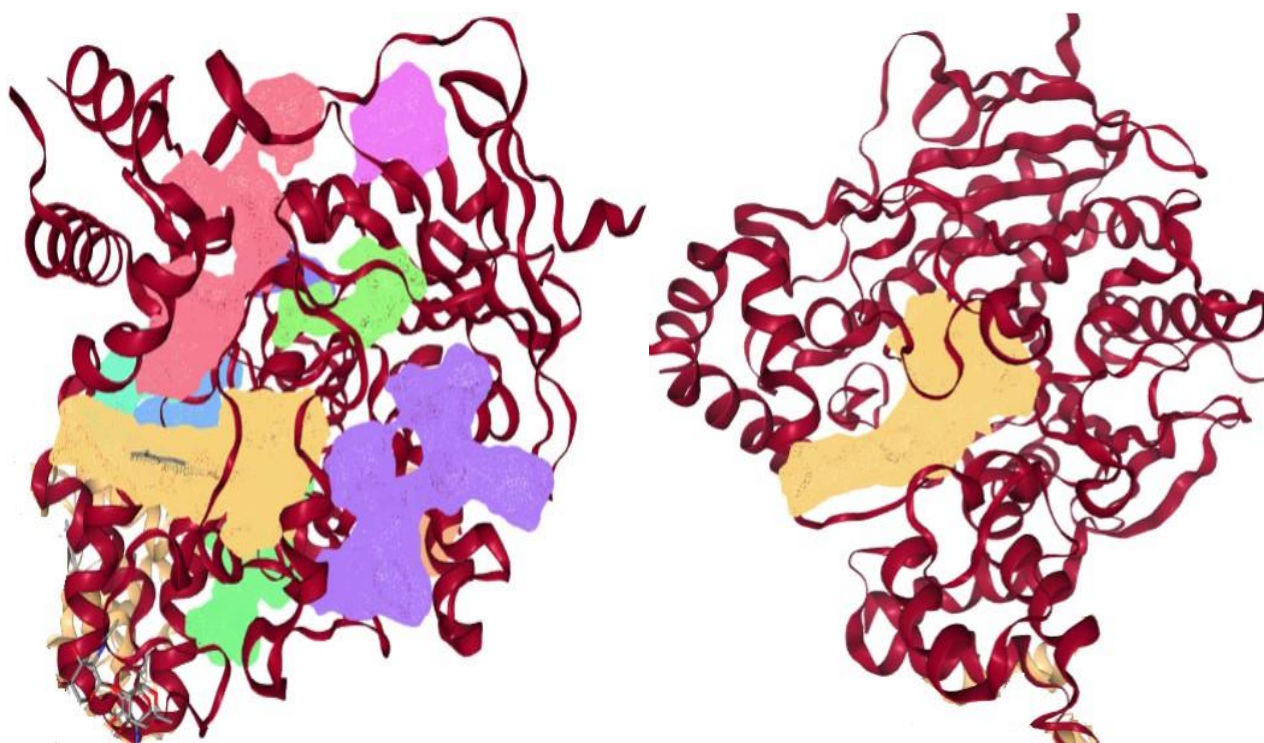


Figure V.4. Les poches de liaison prédites par le serveur DoGSiteScorer (code 4M0E).

II.2.2.2 PrankWeb

Le serveur PrankWeb [169, 132] montre qu'il existe un site de liaison potentiel (figure V.5). Ce site a un score de poche égale à 1,24. Le site détecté (poche rouge) contient les résidus suivants : Tyr72- Asp74- Gly121- Gly122- Tyr124-Trp286-His284- Leu289- Gln291- Glu292- Ser293- Val294- Phe295- Arg296- Phe297- Tyr337- Phe338- Tyr341-Gly342- His447.

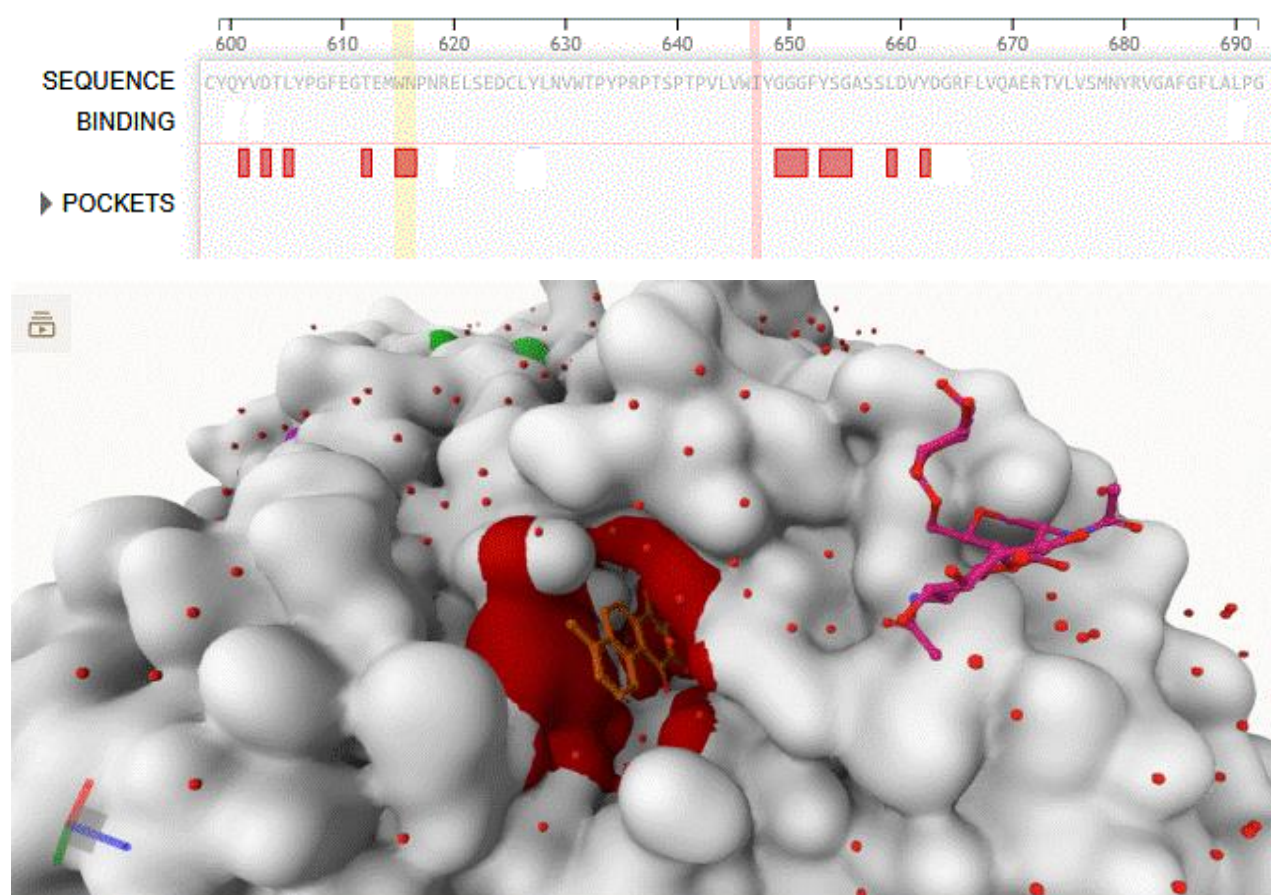
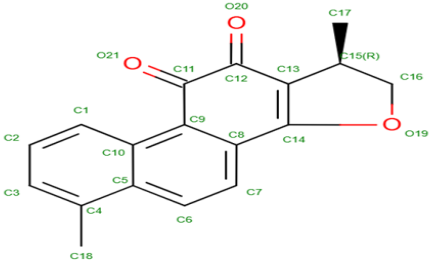
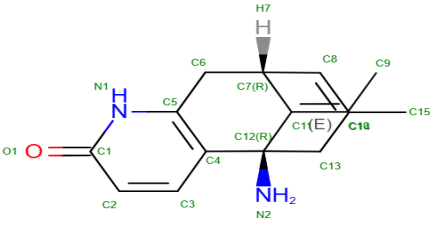
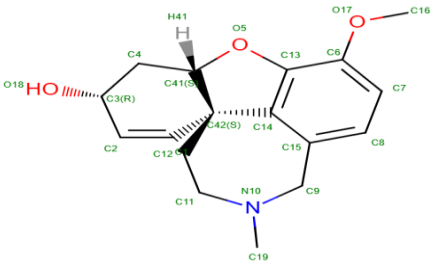
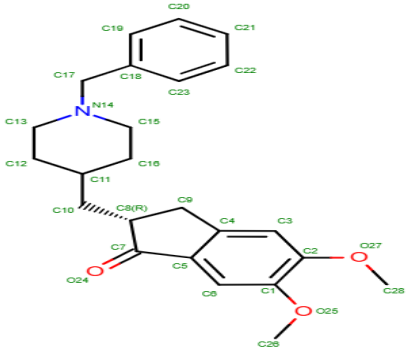
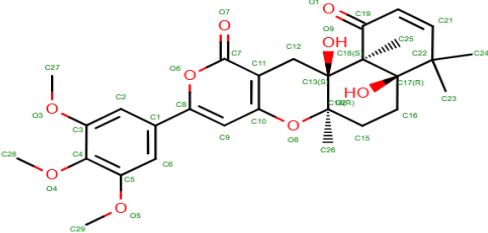


Figure V.5. Site de liaison prédit représenté en rouge à l'aide de serveur PrankWeb (ID PDB : 4M0E).

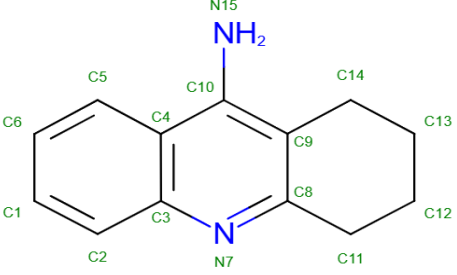
II.3 Docking moléculaire des inhibiteurs provenant de la PDB

Le docking de 11 molécules issues de la base PDB, au format. Mol2 et portant des codes distincts, est réalisé sur la structure 4M0E. Le tableau V. 5 ci-dessous présente les structures, les noms ainsi que les résultats du docking de ces inhibiteurs réalisés avec le programme *Surflex-dock*.

Tableaux V.5. Les scores d'affinité de 11 inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire avec *Surflex-dock*

Ligand	Affinité (M ⁻¹)	Nom chimique	Structure
1YL [170]	4,49	Dihydrotanshinone I	
HUP [171]	1.40	Huperzine A	
GNT [171]	1.50	GALANTHAMINE	
E20 [165]	4.14	1-BENZYL-4-[(5,6-DIMETHOXY-1-INDANON-2-YL)METHYL]PIPERIDINE	
1YK [172]	2.17	Territrem B	

HI6 [173]	3.52	4(AMINOCARBONYL)-1- [(2-[(E)- (HYDROXYIMINO)METH YL]PYRIDINIUM-1- YL}METHOXY)METHYL]PYRIDINIUM	
EBW [173]	1.60	4-(5-{4- [DIMETHYL(PROP-2- ENYL)AMMONIO]PHEN YL}-3-OXOPENTYL)- N,N-DIMETHYL-N-PROP- 2- ENYLBENZENAMINIUM	
H0L [174]	4.65	(2R)-2-[[4-fluoranyl-1-[(4- fluorophenyl)methyl]piperid in-4-yl)methyl]-5,6- dimethoxy-2,3- dihydroinden-1-one	
H1R [174]	3.76	(2S)-2-[[4-fluoranyl-1-[(3- fluorophenyl)methyl]piperid in-4-yl)methyl]-5,6- dimethoxy-2,3- dihydroinden-1-one	
H0R [174]	3.35	2S)-2-[[4-fluoranyl-1-[(2- fluorophenyl)methyl]piperid in-4-yl)methyl]-5,6- dimethoxy-2,3- dihydroinden-1-one	

THA [175]	3.97	TACRINE	
--------------	------	---------	--

Ce tableau indique que parmi les structures examinées, le composé 1YL (Dihydrotanshinone I), qui possède une affinité de $4,49 \text{ M}^{-1}$, se distingue comme l'inhibiteur le plus puissant de l'acétylcholinestérase humaine. Nous avons donc sélectionné ce composé en tant qu'exemple afin d'analyser les diverses interactions établies entre l'AChE et cet inhibiteur.

En outre, il est indispensable d'examiner les résultats du docking moléculaire afin d'apprécier les interactions entre les résidus d'acides aminés de l'enzyme et les atomes de l'inhibiteur. Cette étude peut apporter des éclaircissements sur la manière dont les molécules interagissent et comment cela pourrait influencer l'activité de l'enzyme. Pour cette raison, nous avons choisi l'inhibiteur le plus efficace (1YL) pour notre enzyme dans le but d'examiner les interactions en 3D liées à la création du complexe correspondant.

II.4 Analyse visuelle des interactions 4M0E-1YL

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur inhibiteur de notre cible enzymatique, en utilisant toujours le même complexe (4M0E).

Ceci concerne l'inhibiteur 1YL, avec une affinité de $4,49 \text{ M}^{-1}$. L'analyse des interactions de ce composé au niveau du site actif de 4M0E a été effectuée grâce aux logiciels *Biovia Discovery Studio Visualizer*, permettant d'observer et d'étudier le nombre et le type de liaison constituant ce complexe. Ce dernier est capable d'identifier les différents types de contacts impliqués dans les interactions d'amarrage, tels que les liaisons hydrogène, électrostatiques et hydrophobes.

Parmi les 11 inhibiteurs étudiés, le composé 1YL se présente comme le meilleur inhibiteur de l'acétylcholinestérase. Son orientation dans le site de liaison de cette enzyme est représentée sur la figure V.6 ci-dessous.

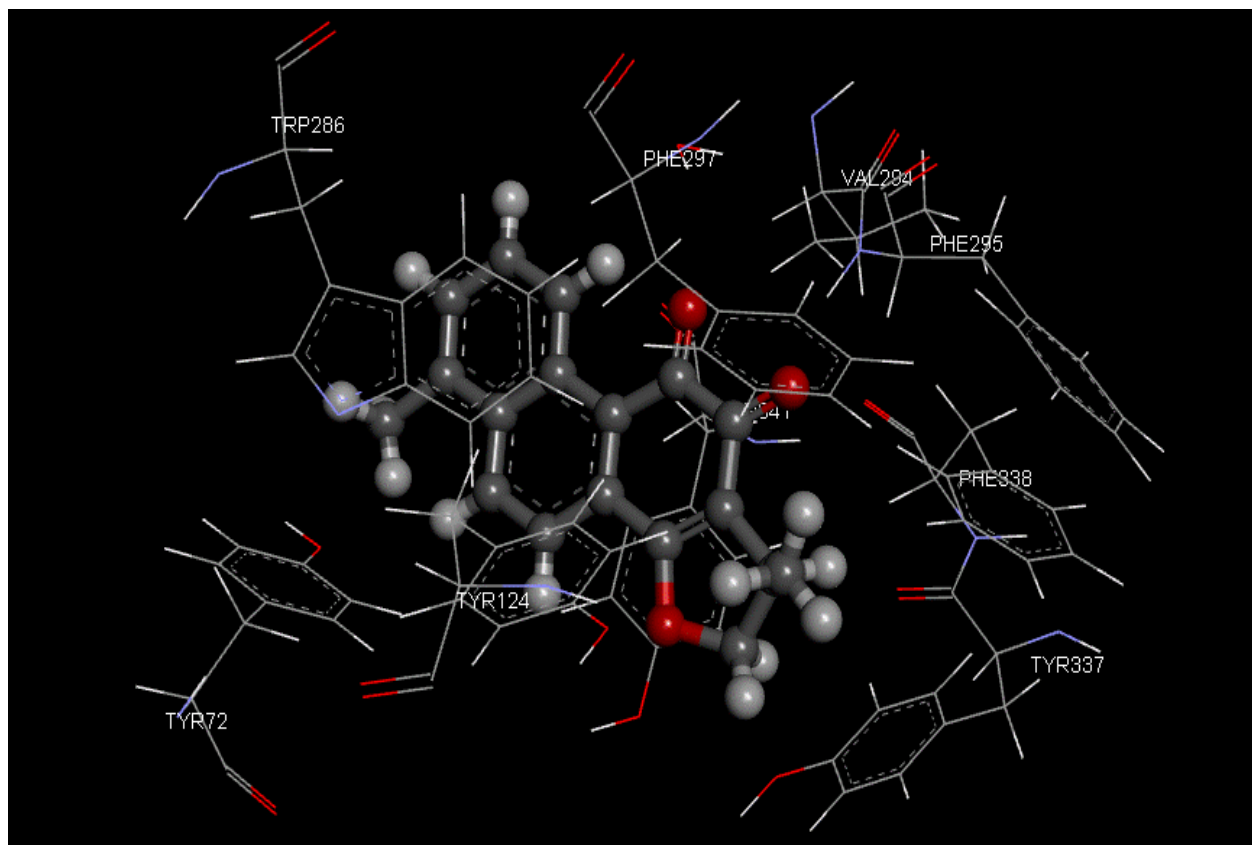


Figure V. 6. Mode de liaison du ligand 1YL avec le site actif de l'AChE.

II.4.1 Les interactions hydrophobes

La stabilité de cet inhibiteur au sein du site actif est assurée par plusieurs interactions hydrophobes, où il existe une liaison entre l'inhibiteur 1YL et :

- L'acide aminé Tyr124 avec une distance de 5,06 Å ;
- La Tyr341 à une distance de 4,31 Å ;
- Une interaction avec la Tyr72 avec une distance de 4,95 Å ;
- Enfin, la Trp286 avec une distance de 4,80 Å.

Ceci est montré dans la figure V.7 suivante.

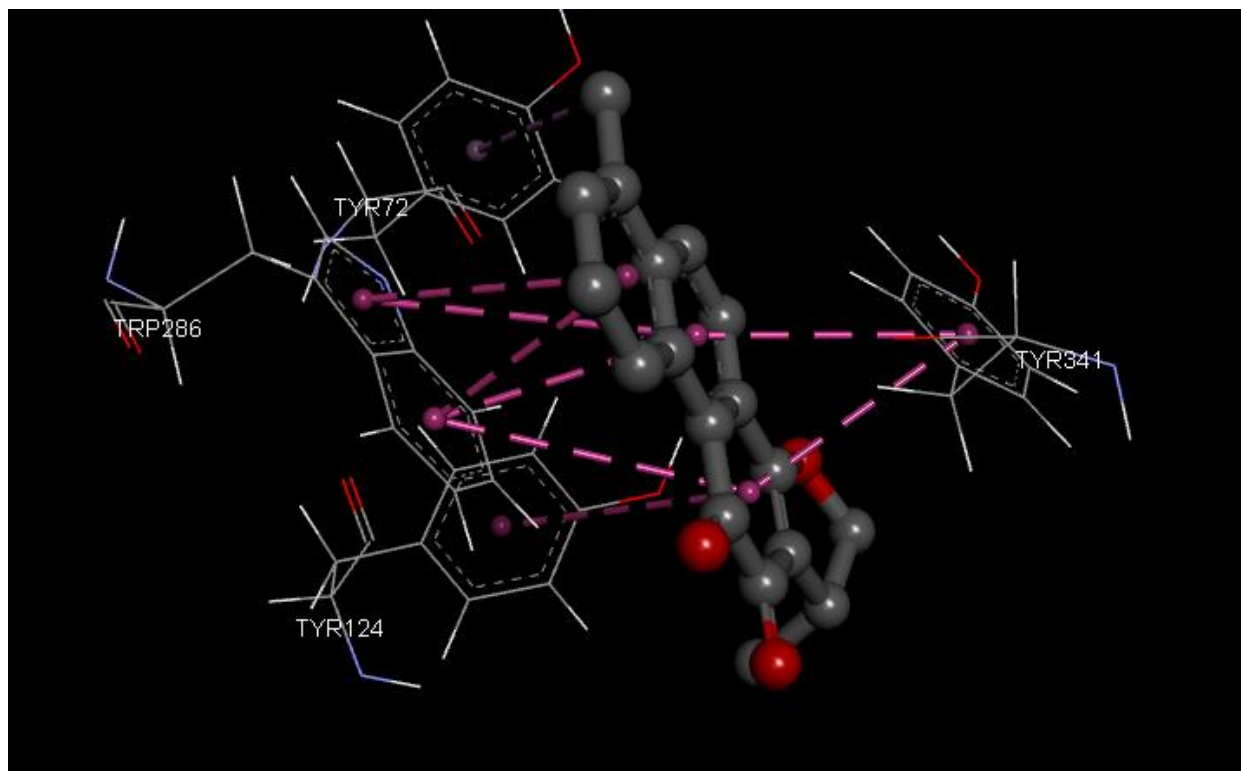


Figure V.7. Interactions hydrophobiques formées par le ligand 1YL avec le site actif de l'AChE.

II.4.2 Les interactions hydrogène

Le logiciel *Surflex-dock*, en simulant les réactions du complexe 4M0E-1YL, révèle une affinité de $4,49 \text{ M}^{-1}$ qui se traduit par la création de quatre liaisons hydrogène dans le site actif de l'AChE.

- La 1^{ère} liaison hydrogène est formée entre le groupement carbonyle du résidu Val294 et l'oxygène de ligand avec une distance de $2,64 \text{ \AA}$;
- La 2^{ème} liaison entre l'atome d'oxygène de ligand et le HOH715 de site actif de l'enzyme par une distance égale à $2,52 \text{ \AA}$;
- La troisième liaison se situe entre l'atome d'hydrogène numéro 3 de l'inhibiteur et le nitrogène du site actif du résidu Phe295 avec une distance de $2,81 \text{ \AA}$.
- La quatrième liaison se situe entre l'atome d'hydrogène numéro 9 de l'inhibiteur et le groupement hydroxyle OH du site actif du résidu Tyr337 avec une distance de $2,16 \text{ \AA}$.
- La dernière liaison hydrogène est réalisée entre le deuxième atome d'oxygène du ligand et le nitrogène du résidu Phe295, avec une distance de $1,04 \text{ \AA}$.

Chaque liaison établie entre le site d'interaction de notre cible et l'inhibiteur 1YL sont résumées sur la figure V.8 suivante.

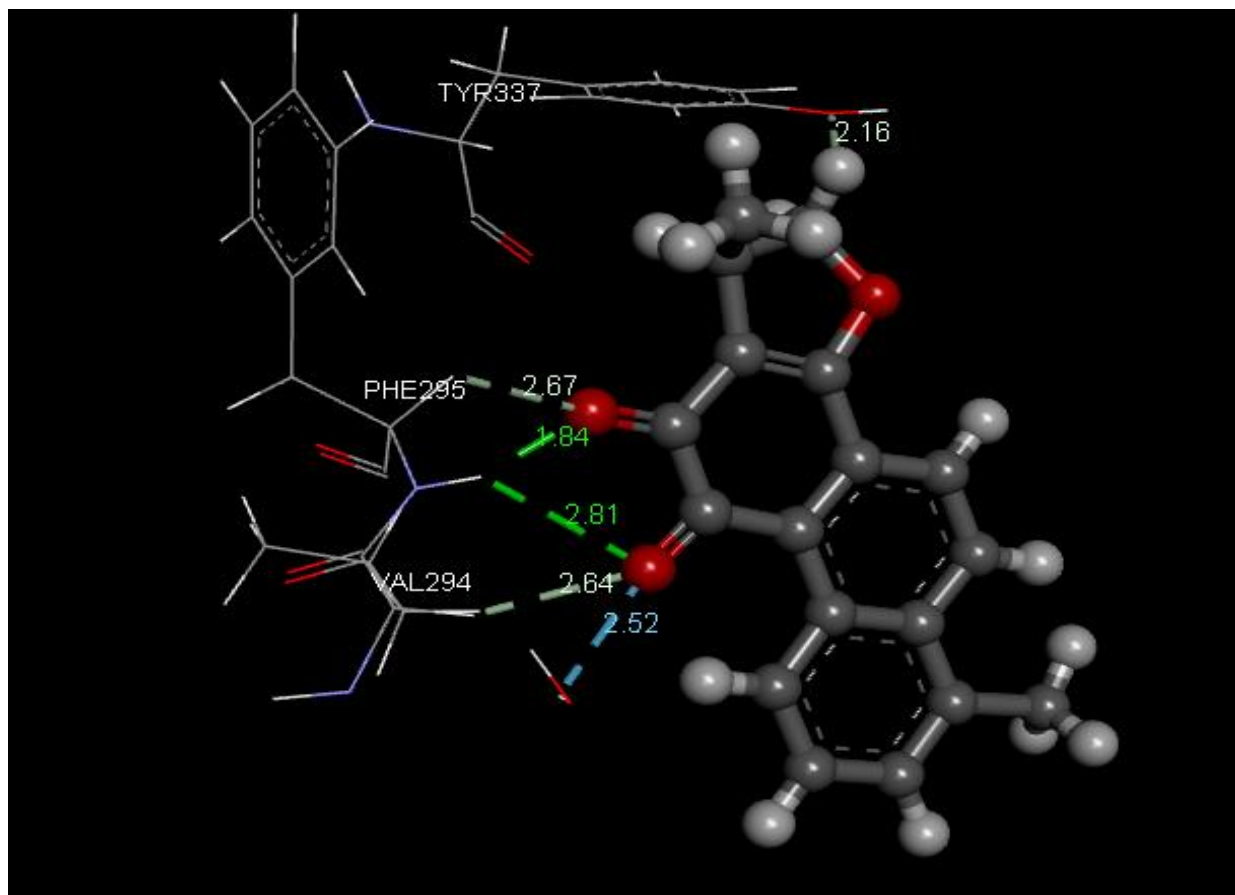


Figure V. 8. Interactions entre l'inhibiteur 1YL et les acides aminés de l'AChE. Projection 3D visualisés par *Discovery Studio Visualizer*.

III. Proposition de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Nous avons choisi le meilleur inhibiteur (1YL) issu de recherches précédentes comme référence, dans le but de déterminer de nouveaux inhibiteurs pour la cible enzymatique acétylcholinestérase humaine à partir de la chimiothèque *Pubchem*.

III.1 Inhibition de l'AChE par les similaires de l'inhibiteur 1YL

Dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'AChE, nous avons réalisés un docking moléculaire par *Surflex-dock* d'une collection de 215 similaires présentant une homologie structurale de 90 % à notre ligand de référence. Ces composés chimiques sont téléchargés à partir de la banque de donnée *Pubchem*.

On peut examiner la position de chaque similaire sur le site actif de l'enzyme AChE, et par conséquent, définir les interactions entre les résidus actifs du site et l'inhibiteur testé. On

sélectionne l'inhibiteur optimal en évaluant les scores d'affinité par rapport à l'inhibiteur de référence 1YL. Les scores d'affinité les plus élevés indiquent une interaction plus significative entre le ligand et la protéine cible. Les résultats de simulation par *Surflex-dock* sont représentés dans le tableau V.6 suivant :

Tableaux V. 6. Résultat de docking avec le logiciel *Surflex-dock* dans le site actif de l'AChE

N	Code de l'inhibiteur	Affinité (M ⁻¹)	N	Code de l'inhibiteur	Affinité (M ⁻¹)
01	CID_163001346	4,69	108	CID_63019153	6,15
02	CID_163009742	-2029,39	109	CID_13432710	5,60
03	CID_163009743	5,09	110	CID_12028104	4,42
04	CID_163033659	4,16	11	CID_13432711	6,36
05	CID_164516862	7,70	112	CID_11288822	5,46
06	CID_165430718	-0,30	113	CID_25187493	7,74
07	CID_162869362	4,68	114	CID_25187490	5,12
08	CID_162863925	5,45	115	CID_25166865	2,99
09	CID_157820605	4,24	116	CID_25166864	4,43
10	CID_157820604	5,71	117	CID_45095077	5,79
11	CID_145652625	6,03	118	CID_16091030	4,79
12	CID_143684630	4,43	119	CID_24973258	3,32
13	CID_40785034	6,76	120	CID_16091031	5,74
14	CID_132472700	7,29	121	CID_162863925	5,45
15	CID_129967628	5,04	122	CID_101056497	3,79
16	CID_102392563	3,63	123	CID_89072231	2,69
17	CID_71387346	1,24	124	CID_145652625	6,03
18	CID_143788359	5,88	125	CID_108023216	4,21
19	CID_157820605	4,24	126	CID_102374834	2,40
20	CID_114968343	6,75	127	CID_85776600	4,86
21	CID_101056502	6,52	128	CID_129320227	5,68
22	CID_115812305	5,55	129	CID_101056496	5,66
23	CID_143684667	-0,33	130	CID_102032030	2,15
24	CID_143829428	5,13	131	CID_102374833	5,31
25	CID_24937858	5,53	132	CID_124307422	3,83
26	CID_143684688	2,61	133	CID_40785034	6,76

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

27	CID_24937857	4,41	134	CID_157820606	4,54
28	CID_143684649	4,92	135	CID_157820604	5,71
29	CID_101056503	4,80	136	CID_132472700	7,29
30	CID_163597151	4,79	137	CID_63021080	5,77
31	CID_143684638	5,42	138	CID_162869362	4,68
32	CID_143788349	3,65	139	CID_102392563	3,63
33	CID_145583777	4,43	140	CID_124307484	6,17
34	CID_155470377	3 ,97	141	CID_101167115	5,41
35	CID_153573124	5,00	142	CID_70299666	6,13
36	CID_158985109	4,47	143	CID_71387343	1,67
37	CID_163508483	6,16	144	CID_63021603	5,13
38	CID_153525093	4,49	145	CID_89072232	2,20
39	CID_158409292	6,34	146	CID_143684630	4,43
40	CID_163813635	2,62	147	CID_81876938	6,84
41	CID_170600031	3,58	148	CID_63021260	5,33
42	CID_10956465	6 ,17	149	CID_63021429	3,20
43	CID_169962596	6,47	150	CID_89264927	3,50
44	CID_16091018	2,51	151	CID_100951166	8,07
45	CID_16091017	5,36	152	CID_101363983	2,43
46	CID_11150016	5,42	153	CID_78385278	6,55
47	CID_169937131	4,46	154	CID_63019866	5,56
48	CID_14609846	4,96	155	CID_70299670	3,20
49	CID_171545994	5,69	156	CID_63731842	7,12
50	CID_163809674	5,86	157	CID_63730810	5,20
51	CID_2825197	5,49	158	CID_63731841	2,83
52	CID_143829432	2,71	159	CID_70890985	4,62
53	CID_169937176	6,76	160	CID_124307485	1,84
54	CID_14711697	5,14	161	CID_101539593	3,45
55	CID_143993725	5,59	162	CID_124307421	4,92
56	CID_12028101	2,33	163	CID_63731841	5,63
57	CID_63019516	5,43	164	CID_13386215	5,68
58	CID-366408	5.65	165	CID_24937852	4.50
59	CID_44425164	6.60	166	CID_13160200	5.41

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

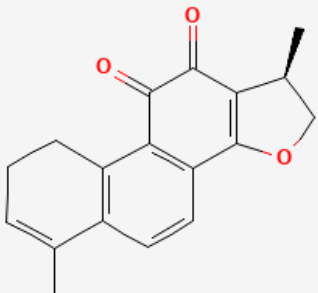
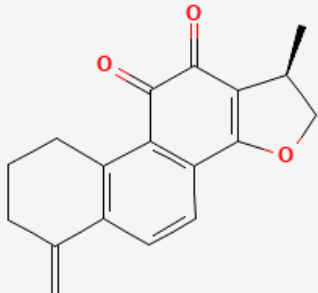
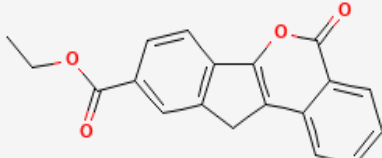
60	CID_124416	5.49	167	CID_364370	5.03
61	CID_137649279	2.15	168	CID_415996	5.06
62	CID_496348	4.14	169	CID_603999	4.32
63	CID_94303	2.48	170	CID_607350	3.80
64	CID_145993296	3.91	171	CID_624204	5.72
65	CID_89406	5.96	172	CID_1550519	4.14
66	CID_389885	2.46	173	CID_10859920	2.62
67	CID_160254	5.53	174	CID_11022243	4.50
68	CID_5316743	5.13	175	CID_24937855.	4.04
69	CID_137649279	2.15	176	CID_24937856	2.71
70	CID_137657217	4.99	177	CID_70263288	5.23
71	CID_11425923	4.97	178	CID_24937857	4.43
72	CID_9995530	5.82	179	CID_70296229	2.64
73	CID_44406039	1.01	180	CID_24937858	5.31
74	CID_44406082	2.56	181	CID_24937975	2.92
75	CID_124268	4.91	182	CID_24937976	4.33
76	CID_5319568	6.24	183	CID_24937977	4.61
77	CID_24937978	5.24	184	CID_24937979	6.08
78	CID_44406050	1.87	185	CID_70299775	3.43
79	CID_139071911	2.93	186	CID_24986637	5.43
80	CID_15743022	4.59	187	CID_25052771	3.91
81	CID_164381	3.89	188	CID_46178355	1.99
82	CID_44393577	3.18	189	CID_25055024	3.91
83	CID_133561394	6.44	190	CID_57568881	5.84
84	CID_14414396	6.66	191	CID_57692833	5.24
85	CID_85086900	5.85	192	CID_70298845	3.80
86	CID_102004882	8.52	193	CID_68920724	7.45
87	CID_90668250	4.77	194	CID_70258809	3.57
88	CID_15743026	3.96	195	CID_70300959	7.20
89	CID_40785034	5.28	196	CID_70498228	6.17
90	CID_90665670	4.10	197	CID_71019287	4.77
91	CID_358230	4.73	198	CID_89269335	3.72
92	CID_75024890	5.57	199	CID_89904284	5.52

93	CID_14609848	5.78	200	CID_89911665	2.71
94	CID_10826049	4.71	201	CID_118082931	1.63
95	CID_102004770	8.53	202	CID_118083177	3.57
96	CID_102453305	4.54	203	CID_124010255	5.11
97	CID_102453306	4.28	204	CID_130398868	3.71
98	CID_129750941	5.00	205	CID_142428131	4.99
99	CID_132517808	3.85	206	CID_142627577	4.20
100	CID_129839622	5.72	207	CID_142730233	2.98
101	CID_132602378	5.96	208	CID_143684630	6.49
102	CID_133613136	4.95	209	CID_11716218	4.95
103	CID_24937854	3.90	210	CID_11778300	5.87
104	CID_101493018	7.86	211	CID_162957660	5.07
105	CID_147007780	7.15	212	CID_10655561	4.56
106	CID_162863926	4.58	213	CID_22895764	5.09
107	CID_22899213	7.14	214	CID_22899221	2.68

III.2 Sélection des meilleures similaires

Le docking avec *Surflex-dock*, nous a permis de calculer l'Affinité de 215 similaires du l'inhibiteur provenant de la chimiothèque *Pubchem*. À la lumière des résultats obtenus dans le tableau V.6, les trois similaires N°86 (CID_102004882) et N°95 (CID_102004770) et N°151 (CID_100951166) donnent la meilleure affinité (8,52 M⁻¹, 8,53 M⁻¹ et 8,07 M⁻¹ respectivement). Supérieur à celle de l'inhibiteur 1YL (4,49 M⁻¹). Les inhibiteurs choisis sont représentés dans le tableau V.7 ci-dessous.

Tableaux V.7. Donnée chimiques et structurales des similaires choisis comme meilleurs inhibiteurs

Code de l'inhibiteur	Structure	Nom chimique	Affinité (M ⁻¹)
CID_102004882		(1R)-1,6-dimethyl-1,2,8,9-tetrahydronaphtho[1,2-g][1]benzofuran-10,11-dione	8,52
CID_102004770		(1R)-1-methyl-6-methylidene-2,7,8,9-tetrahydro-1H-naphtho[1,2-g][1]benzofuran-10,11-dione	8,53
CID_100951166		Ethyl 5-oxo-11H-indeno[1,2-c]isochromene-9-carboxylate	8,07

III.3 Etude des interactions des inhibiteurs proposés

Le positionnement de ces composés sur le site actif de notre enzyme cible, l'AChE, fournit plusieurs données pertinentes relatives aux liaisons établies entre eux. Nous avons employé le logiciel *Discovery Studio Visualizer* pour observer et examiner le nombre et la nature des liaisons créées entre le complexe enzyme-inhibiteur.

III.3.1 Analyse visuelle de 4M0E- CID_102004882

La modélisation de l'interaction AChE- CID_102004882 simulé par docking moléculaire avec *Surflex-dock* nous a permis d'obtenir un complexe plus stable (figure V. 9) avec une affinité égale à $8,52 \text{ M}^{-1}$. Cette affinité résulte de la mise en place de 9 ponts hydrogène et plusieurs interactions hydrophobiques. Les longueurs et les orientations spatiales des différentes liaisons hydrogène obtenues sont résumées sur le tableau suivant :

Tableaux V. 8. Liaisons hydrogènes établies par composé CID_102004882.

Liaison H	Atomes de ligand	Atome et résidus de site actif	Distance (Å)
1	O	H-O HOH 715	2,66
2	O (3)	H-N Phe 295	2,49
3	O (2)	H-N Phe295	1,88
4	O	H-C Phe 295	2,69
5	O	H-N Val294	2,17
6	O	H-O HOH 857	3,01
7	O	OH Tyr124	2,95
8	H	OH Tyr124	2,98
9	H	OH Tyr337	2,36

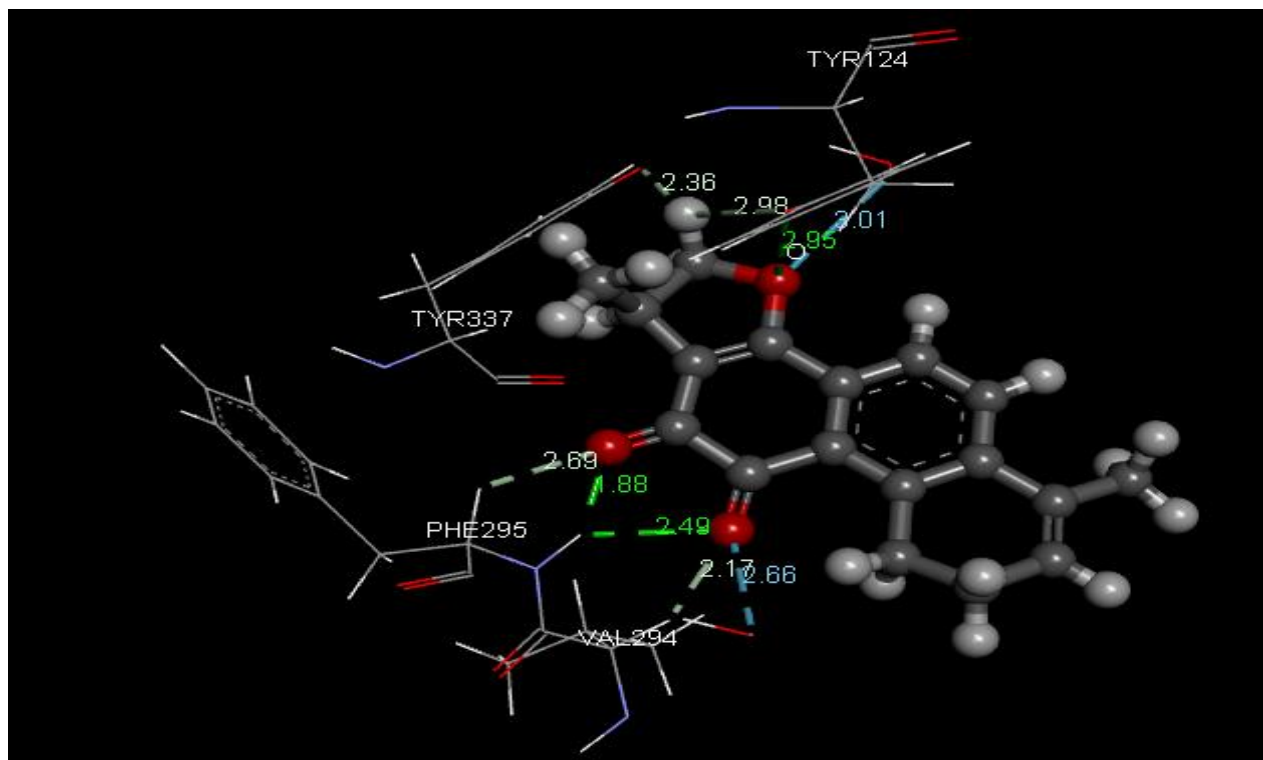


Figure V. 9. Interaction entre le ligand CID_102004882 et les acides aminés de l'AChE.

De plus, l'analyse visuelle montre que l'inhibiteur (1R) -1,6-diméthyl-1, 2, 8,9 tétrahydronaphtho [1,2-g] [1] benzofuran-10,11-dione dont le code ID est CID_102004882 est stabilisé par la formation des liaisons hydrophobes avec les résidus Phe297, Tyr124, TYR341, Phe338, Trp286 (figure V.10).

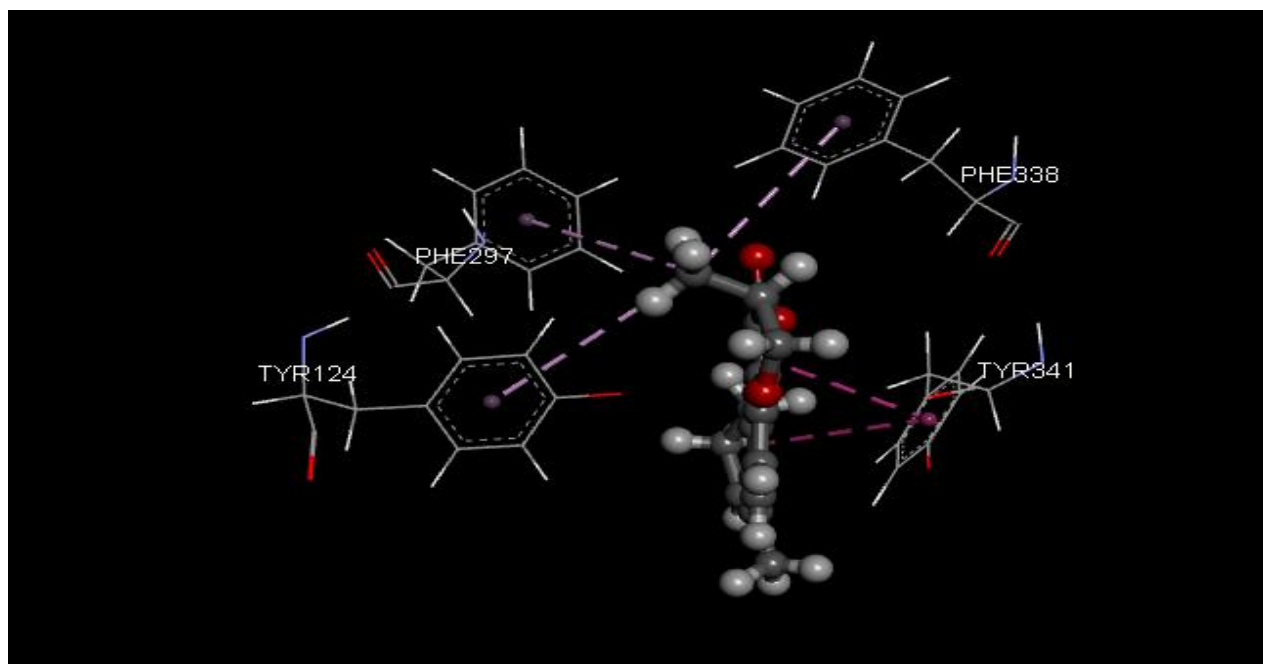


Figure V. 10. Visualisations des interactions hydrophobes dans le site actif de la 4M0E avec CID_102004882.

III.3.2 Analyse visuelle de 4M0E- CID_102004770

En visualisant le site d'interactions de l'acétylcholinestérase, le ligand (1R)-1-méthyl-6-méthylidene-2, 7, 8,9-tetrahydro-1H-naphtho [1,2-g] [1] benzofuran-10,11-dione dont le code ID est CID_102004770 a montré une bonne affinité avec les résidus du site actif ($8,53 \text{ M}^{-1}$). Cette affinité qui est à l'origine de son potentiel inhibiteur, se traduit par la formation des liaisons des interactions hydrophobiques avec les résidus Phe297, Phe338, Tyr337, Tyr124, Tyr72, Trp286, Tyr341.

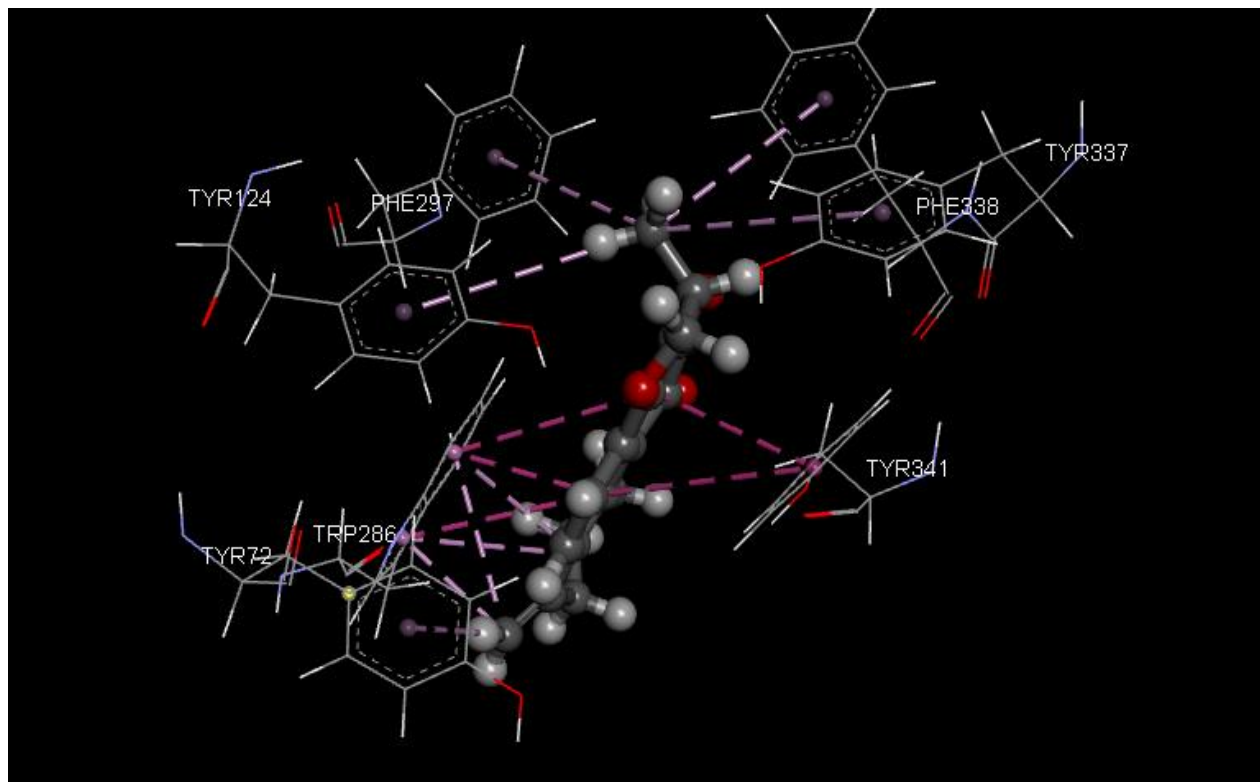


Figure V. 11. Interactions hydrophobiques formées par le ligand CID_102004770.

La modélisation de l'interaction AChE- CID_102004770 simulé par docking moléculaire avec *Surflex-dock* nous a permis d'obtenir un complexe plus stable (figure V. 12) avec une affinité égale à $8,53 \text{ M}^{-1}$. Cette affinité résulte de la mise en place de six ponts hydrogène. Les longueurs et les orientations spatiales des différentes liaisons hydrogène obtenues sont résumées sur le tableau V.9 suivant :

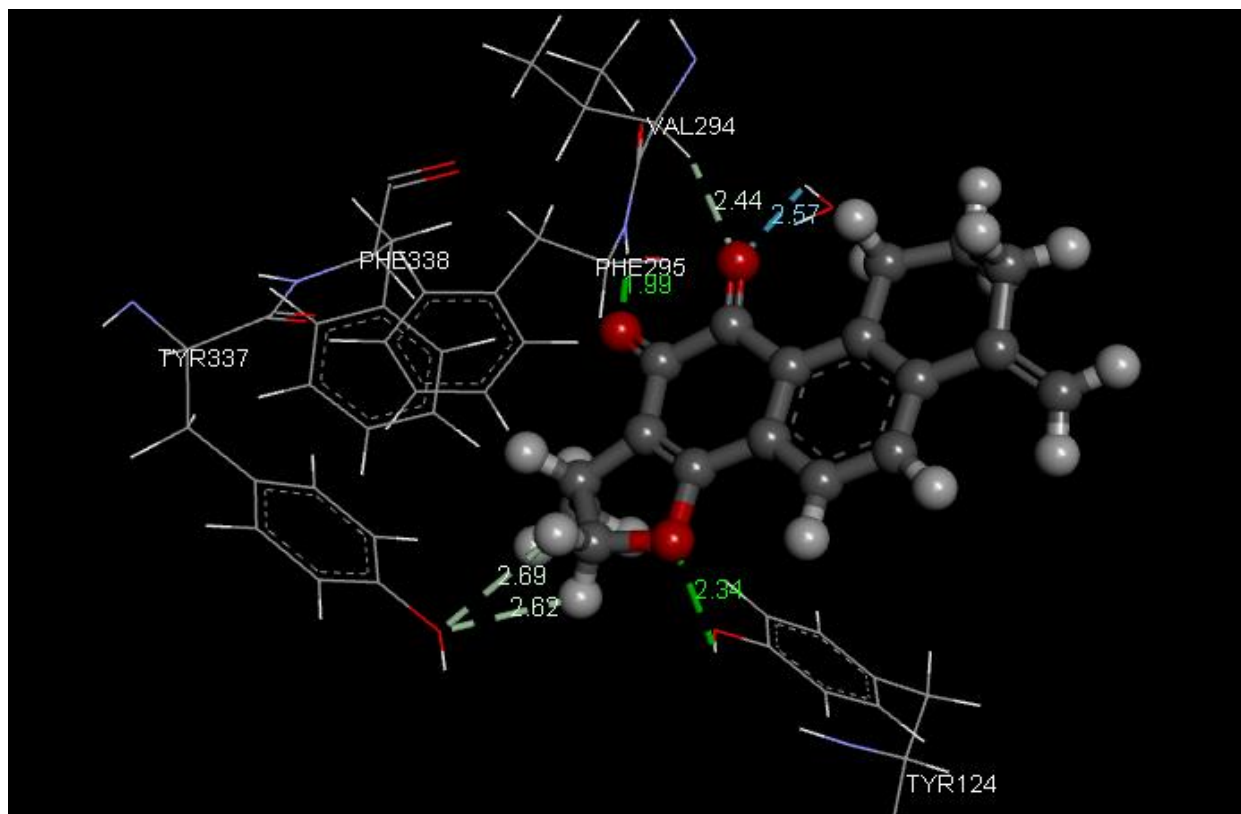


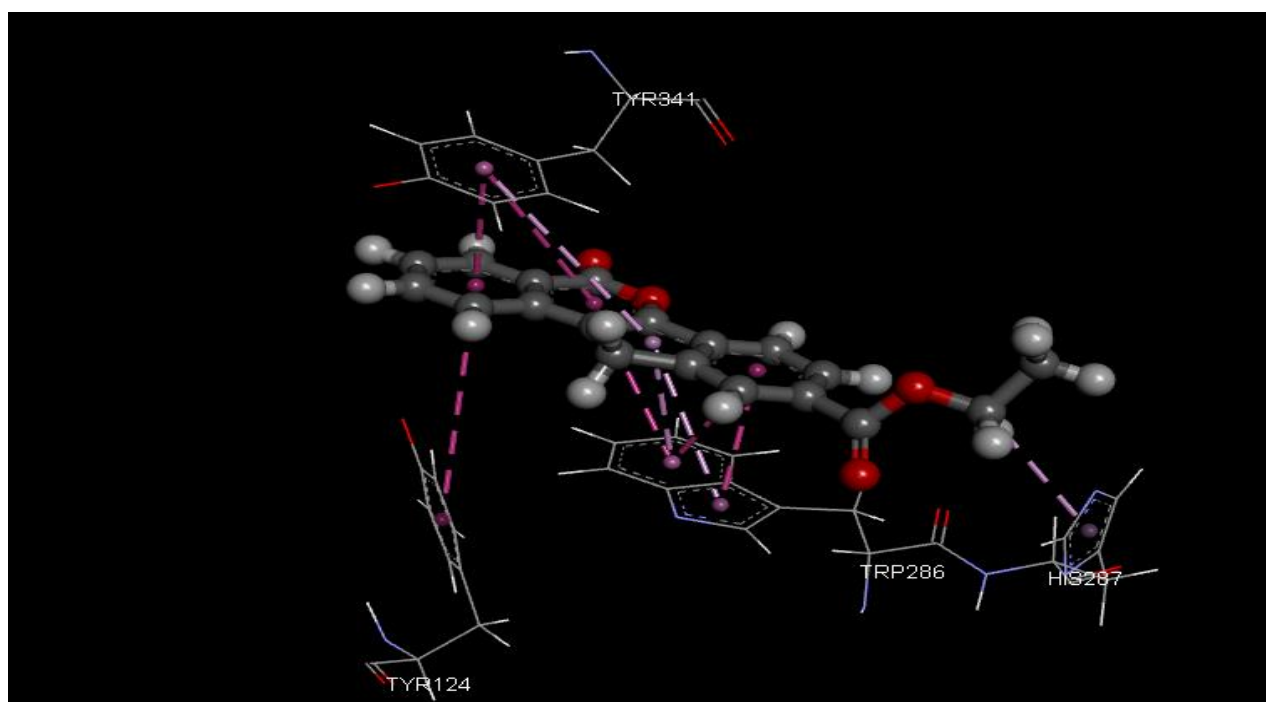
Figure V. 12. Interactions hydrogène formées entre les acides aminés de site actif et l'inhibiteur CID_102004770

Tableaux V. 9. Liaisons hydrogène établies par le composé CID_102004770

Liaison H	Atomes de ligand	Atome et résidus de site actif	Distance (Å)
1	O	H-O HOH 715	2,57
2	O	H-N Val294	2,44
3	O	H-N Phe295	1,99
4	O (1)	C-OH Tyr124	2,34
5	C	H-OH Tyr337	2,62
6	C	H-OH Tyr337	2,69

III.3.3 Analyse visuelle de 4M0E- CID_100951166

D'après les résultats de l'analyse 3D, nous avons noté que l'inhibiteur CID_100951166 (Affinité égale à $8,07 \text{ M}^{-1}$) se lie par plusieurs interactions hydrophobiques avec les acides aminés de site actif de l'AChE : Tyr124, Tyr341, Trp286, His287.



FigureV.13. Interactions hydrophobiques formées par 4M0E avec CID_100951166.

D'autres liaisons sont impliquées, notamment des liaisons hydrogène entre le complexe 4M0E-CID_100951166 (six ponts hydrogène au total). Les résidus intervenants sont : Phe295, Val294, Trp296, His287 et trois molécules d'eau (HOH1216, HOH984 et HOH1151). Les caractéristiques de chaque liaison établie entre le site d'interaction de la cible et l'inhibiteur CID_100951166 sont résumées sur la figure V. 14 et le tableau V.10 suivants :

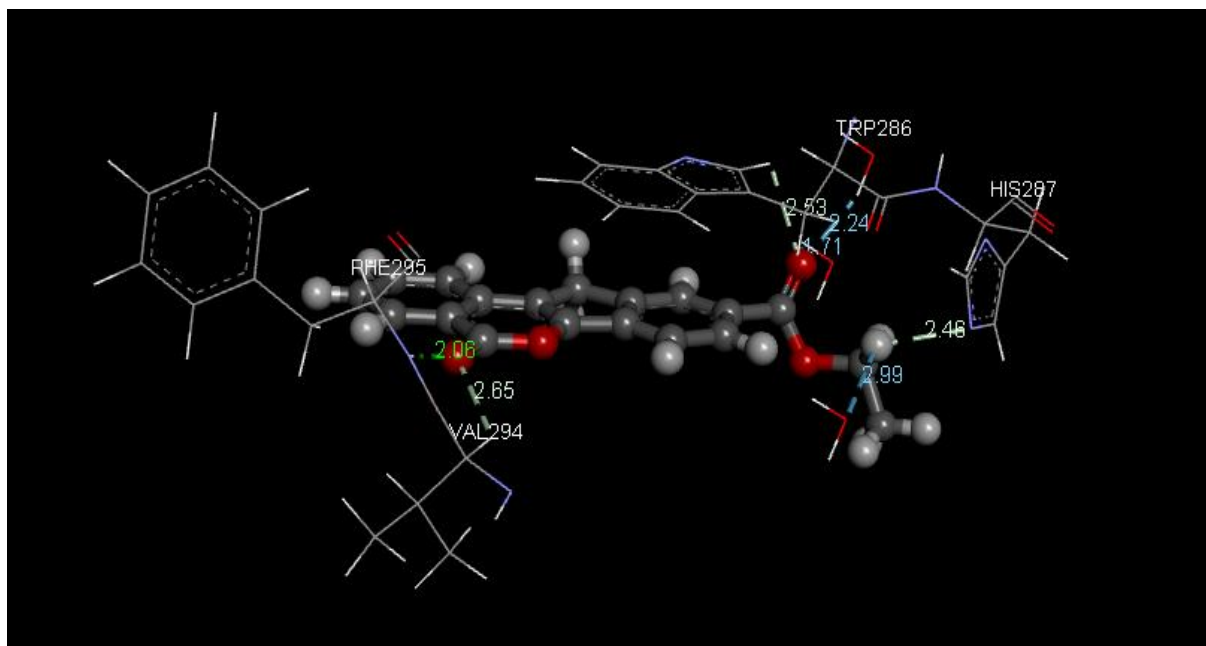


Figure V.14. Caractéristiques des liaisons formées entre le site d'interaction de la cible et le ligand CID_100951166.

Tableaux V. 10. Liaisons hydrogène établies par l'inhibiteur CID_100951166

Liaison H	Atomes de ligand	Atome et résidus de site actif	Distance (Å)
1	O	H-N Phe295	2,06
2	O	H-C Val294	2,65
3	H	H-O HOH1216	2,99
4	O	H-N(2) His287	2,46
5	O	H-O HOH1151	1,71
6	O	H-O Trp286	2,53
7	O	H-O HOH984	2,24

IV. Prédiction de la similarité médicamenteuse

Nous avons jugé pertinent de compléter notre étude en évaluant les propriétés ADME-Tox des principales molécules sélectionnées dans notre recherche. En effet, bien qu'une forte affinité pour la cible ne garantisse pas une application thérapeutique systématique, une toxicité élevée ou des paramètres pharmacocinétiques inappropriés empêchent leur utilisation chez l'homme. Nous avons fait appel aux serveurs en ligne ADMETlab 2.0 et ProTox 3.0 pour ce

réalisé. Les résultats obtenus ont ensuite été comparés à ce de la molécule de référence (ILY). Les valeurs des différentes propriétés observées sont présentées dans les tableaux ci-dessous.

IV.1 Propriétés physicochimiques

IV.1.1 Vérification des règles de *Lipinski* et de *Veber*

Nous avons estimé les paramètres physicochimiques des inhibiteurs les plus prometteurs de la 1YL en utilisant le serveur ADMETlab 2.0.

Tableau V. 11. Propriétés physicochimiques prédites

Molécule Propriété	IYL	CID_102004882	CID_100951166	CID_102004770
MW	278.090	280.110	306.090	280.110
Nha	3	3	4	3
Nhd	0	0	0	0
Nrot	0	0	3	0
TPSA	43.37	43.370	56.510	43.370
LogP	2.816	4.337	4.385	4.013

MW : Masse moléculaire.

Nha : Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène.

Nhd : Nombre de donneurs de liaisons hydrogène.

Nrot : Nombre de liaisons de rotation.

TPSA : Surface polaire topologique.

LogP : logarithme du coefficient de partition entre les phases H₂O/Octanol.

Le tableau IV. 11 indique que les trois inhibiteurs proposés, tout comme le IYL, satisfont favorablement à la fois la règle de *Lipinski* et celle de *Veber*. Selon la règle de *Lipinski*, les trois

composés ont un poids moléculaire qui ne dépasse pas 500 Da et un coefficient de partage qui est inférieur à 5. En ce qui concerne la règle de *Veber*, la surface polaire de ces composés est inférieure à 140 Å². Cela inclut un nombre de liaisons de rotation inférieur ou égal à 10 pour les trois inhibiteurs. On peut donc affirmer que les conclusions tirées des deux règles indiquent que les trois inhibiteurs suggérés ont une biodisponibilité orale favorable (une probabilité élevée d'absorption orale).

IV.1.2 Chimie médicale

Les règles *drug likeness* sont basées sur l'observation des propriétés physicochimiques. Ces règles sont largement utilisées comme filtres pour prioriser les composés les plus susceptibles d'être des candidats médicaments [176]. Selon leur définition, ces filtres incorporent des recherches de sous-structures pour des groupes toxiques ou réactifs et/ou comprennent des limites sur les propriétés moléculaires qui peuvent être généralement utiles dans la conception de médicaments, c'est-à-dire non spécifiques pour les types de maladies. La première règle qui a été découverte était celle de *Lipinski* qui a connue ensuite plusieurs transformations pour donner naissance aux autres règles variantes [176].

Tableau V. 12. Chimie médicale.

Molécule Paramètre	IYL	CID_102004 882	CID_1009511 66	CID_102004770
La règle de <i>Lipinski</i>	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
La règle de <i>Veber</i>	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
Sascore (accessibilité synthétique)	4.227	3.716	2.292	3.697

D'après le tableau IV.12, l'ensemble des composés étudiés respectent non seulement les règles de *Veber* et de *Lipinski*, mais satisfont également aux critères établis par Sascore. Par ailleurs, l'une des principales difficultés à surmonter lors de l'optimisation est la disponibilité synthétique des petites molécules chimiques. L'échelle de notation pour ces critères variait de 1 à 10 [177], plus la valeur d'un composé est élevée, plus sa synthèse devient complexe. Les données de ce tableau indiquent que les inhibiteurs CID_102004882, CID_100951166 et CID_102004770 semblent avoir une production chimique pour des valeurs inférieures à cinq.

IV.2 Propriétés pharmacocinétiques

IV.2.1 Absorption

Une absorption rapide et complète dans la circulation sanguine constitue l'une des caractéristiques fondamentales d'un candidat médicament prometteur. Dans ce cadre, le serveur ADMETlab2.0 a été utilisé pour prédire quatre paramètres pharmacocinétiques liés à l'absorption, à savoir : la perméabilité à travers les cellules Caco-2, l'absorption intestinale humaine (HIA), l'efficacité du composé en tant qu'inhibiteur de la P-gp, ainsi que la biodisponibilité orale (F%). Ces résultats sont présentés en détail dans le tableau IV.15 suivant.

Tableau V. 13. Profil de d'absorption

Molécule Paramètre	IYL	CID_102004882	CID_100951166	CID_102004770
Caco-2 Perméabilité	-4.467	-4.974	-4.749	-4.924
HIA	+++	---	---	---
F20%	--	--	---	---

Caco-2 : Les lignées cellulaires d'adénocarcinome du côlon humain (Caco-2).

HIA : Absorption intestinale humaine.

F20% : Biodisponibilité orale humaine 20%.

L'interprétation de ces résultats a révélé que :

- L'ensemble des composés étudiés a montré une biodisponibilité orale égale ou supérieure à 20 % (décision empirique : 0-0.3). Cela indique que ces molécules sont aptes à être administrés par voie orale, avec la possibilité qu'une fraction de la dose atteigne le site d'action.
- Tous les composés analysés ont montré une bonne capacité d'absorption intestinale, avec un signal négatif pour chacun d'eux, conformément au seuil empirique défini (0-0,1) à

l'exception de composé IYL. Ces données suggèrent que nos molécules présentent un fort potentiel d'absorption depuis le tractus gastro-intestinal vers la circulation systémique.

- L'ensemble des composés présente des valeurs de perméabilité Caco-2 proche de valeur - 5,15 cm/s, ce qui témoigne de leur bonne capacité à traverser les cellules Caco-2. Ce paramètre constitue un indicateur favorable d'une absorption efficace en cas d'administration orale.

IV.2.2 Distribution

Un candidat médicament efficace doit être capable de se distribuer de manière ciblée vers son site d'action au sein de l'organisme. Dans le cadre de notre étude, deux paramètres pharmacocinétiques clés liés à la distribution ont été prédits, à savoir : le volume de distribution (VD) et la capacité de franchissement de la barrière hémato-encéphalique (BBB). Les résultats obtenus ont été résumés dans le tableau IV. 16.

Tableau V. 14. Profil de distribution prédit.

Molécule	IYL	CID_102004882	CID_100951166	CID_102004770
Paramètre				
Volume de distribution	1.146	0.939	0.562	0.887
Perméabilité de la barrière hémato-encéphalique	---	---	---	---

L'analyse a révélé les observations suivantes :

- Les molécules étudiées ne présentent pas une perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique, ce qui les empêche de traverser la barrière et d'accéder à leur site d'action au niveau central.
- Il a été prédit que les inhibiteurs CID_102004882, CID_102004770 et CID_100951166 présentent un volume de distribution faible. Cela signifie que ces derniers nécessitent une dose

plus élevée que les médicaments ayant un volume de distribution élevé pour atteindre la concentration plasmatique souhaitée.

IV.2.3 Métabolisme

Le médicament est éliminé de manière définitive de l'organisme, soit sous sa forme inchangée, soit après avoir subi une biotransformation en métabolites qu'ils soient inactifs, actifs ou potentiellement toxiques. Dans le cadre de notre étude, un paramètre pharmacocinétique lié au métabolisme a été prédit à l'aide de serveur ADMETlab 2.0 : la capacité du composé à agir comme inhibiteur du cytochrome P450 (*CYP450 Inhibitor*). L'ensemble des résultats obtenus a été soigneusement synthétisé dans le tableau IV. 17 suivant.

Tableau V.15. Profil de métabolisme prédit

Molécule Paramètre	IYL	CID_102004882	CID_100951166	CID_102004770
CYP1A2 inhibiteur	+++	+++	++	+++
CYP2C19 inhibiteur	+++	+++	++	++
CYP2C9 inhibiteur	+++	++	+	++
CYP2D6 inhibiteur	+++	++	--	++
CYP3A4 inhibiteur	+++	++	-	+

Le tableau IV.17 montre que les composés CID_102004882, CID_100951166 et CID_102004770 sont des inhibiteurs de la plus part des isoenzymes de cytochrome P450. Par conséquent, nos composés représentent une source potentielle d'interactions médicamenteuses au niveau de ces enzymes.

IV.2.4 Elimination

Un candidat médicament idéal doit montrer une élimination efficace, qu'elle soit par voie rénale ou biliaire. Dans le contexte de notre recherche, nous avons anticipé deux paramètres pharmacocinétiques essentiels associés au mécanisme d'élimination : la demi-vie ($T_{1/2}$), indiquée en heures (h), et la clairance (CL), mesurée en millilitres par minute et par kilogramme (ml/min/kg). Ces prédictions ont été effectuées grâce à la plateforme ADMETlab 2.0, et les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-contre.

Tableau V. 16. Profil d'élimination

Molécule Paramètre	IYL	CID_102004882	CID_100951166	CID_102004770
T1/2	0.792	0.034	0.097	0.028
CL	4.544	1.549	3.675	1.209

Le temps de demi-vie $T_{1/2}$ (durée requise pour que la concentration d'une substance dans le système circulatoire diminue de moitié) est un critère essentiel pour déterminer la fréquence d'administration sur 24 heures ainsi que le calcul du temps d'équilibre, indispensable pour la surveillance des médicaments à index thérapeutique étroit. Concernant les composés étudiés, la prédiction effectuée par le serveur indique une valeur inférieure à 1 heures.

La clairance (CL) d'une substance est définie comme le volume de solution totalement épuré de cette substance, à concentration constante, par unité de temps. Selon le serveur ADMETlab 2.0, l'efficacité de l'excrétion des composés est classée en fonction des valeurs de clairance comme suit :

- Une clairance inférieure à 5 ml/min/kg indique une excrétion faible.
- Une clairance comprise entre 5 et 15 ml/min/kg indique une excrétion modérée.
- Une clairance supérieure à 15 ml/min/kg indique une bonne excrétion.

L'analyse du tableau IV.17 a montré que tous les molécules étudiées présentent une faible excrétion avec des valeurs prédites inférieure à 5 ml/min/kg.

IV.3 Toxicité

Nous avons simulé, via des outils informatiques, la toxicité des nouveaux inhibiteurs suggérés en utilisant les serveurs ADMETlab 2.0 et ProTox 3.0

Tableau V.17. Profil de toxicité

Molécule Paramètre	IYL	CID_102004882	CID_100951166	CID_102004770
Bloqueurs de gène hERG	-	-	---	--
Toxicité AMES	++	+++	---	+++
Carcinogénicité	++	++	-	+++
Toxicité aigüe par voie orale chez le rat	--	--	--	-
Irritation des yeux	++	--	--	---
Toxicité respiratoire	-	+	---	-
Classe de toxicité prévue	6	4	4	4
DL50 prédite (mg/kg)	8000	1190	1190	1900

Selon le guide de serveur : les paramètres de classification, les valeurs de probabilité de prédiction sont transformées en six symboles : 0-0,1 (---), 0,1-0,3(--), 0,3-0,5(-), 0,5-0,7(+), 0,7-0,9(++) et 0,9-1,0(+++).

IV.3.1 Cardiotoxicité

Les médicaments agissant comme inhibiteurs des canaux potassiques hERG sont connus pour induire des troubles du rythme cardiaque. Dans notre étude, l'ensemble des composés analysés ont été prédits comme non inhibiteurs de ces canaux, suggérant ainsi une absence de potentiel cardiotoxique.

IV.3.2 Mutagénicité

L'effet mutagène à une relation étroite avec la cancérogénicité, l'inhibiteur CID_100951166 ne s'est pas révélé mutagène lors du test d'Ames. Par contre, les autres molécules prédites, *in silico*, avec un effet mutagène positif, pouvant induire des modifications au niveau de l'ADN.

IV.3.3 Cancérogénicité

Selon la prédiction *in silico* réalisée dans le cadre de cette étude, la molécule CID_100951166 dépourvue de tout effet cancérigène, tandis que les inhibiteurs IYL et CID_102004882 sont considérés comme carcinogène. La molécule CID_102004770, quant à elle, est également jugée carcinogène, mais à un degré supérieur.

IV.3.4 Toxicité aigüe par voie orale chez le rat

Les études portant sur l'administration orale chez le rat n'ont démontré aucun effet carcinogène pour toutes les molécules testées.

IV.3.5 Irritation oculaire

Il a été prédit que l'ensemble des molécules sont non irritantes, les indicateurs de d'irritation oculaire ayant donné des résultats négatifs, à l'exception de l'inhibiteur IYL.

IV.3.6 Toxicité respiratoire

Il a été démontré que l'inhibiteur CID_102004882 présente une toxicité respiratoire positive faible. En revanche, la molécule CID_100951166 ne manifeste aucune toxicité respiratoire, tout comme la molécule CID_102004770, bien que cette dernière affiche un niveau de sécurité respiratoire légèrement inférieur à celui de la première.

IV.3.7 Classe de toxicité prédite

La prédiction informatique réalisée dans notre étude a montré que toutes les molécules étudiées appartiennent à la classe 4, ce qui indique qu'elles présentent une toxicité faible. En revanche, le composé IYL appartient à la classe 6, ce qui suggère qu'il ne possède aucune toxicité.

IV.3.8 Prédiction LD 50

D'après les estimations informatiques réalisées dans notre recherche, une dose de 8000 mg/kg du composé IYL correspond à la valeur létale qui tue la moitié des êtres vivants. Cependant, pour les autres substances analysées, les valeurs relevées varient autour de 1900 mg/kg, indiquant une variation dans le niveau de toxicité.

Pour conclure, les inhibiteurs CID_102004882, CID_100951166 et CID_102004770 suggérés répondent favorablement aux règles physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques. Ces informations sont extrêmement précieuses pour leur optimisation et leur développement en tant que candidats-médicaments.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'objectif principal de ce mémoire est de découvrir *in silico* par le processus du docking moléculaire avec le programme *Surflex-dock* de nouveaux composés agissant comme inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, cible enzymatique intéressante jouant un rôle important dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Afin d'atteindre cet objectif nous sommes passés par plusieurs étapes.

Dans un premier temps, nous avons tenté de tester la capacité de logiciel *Surflex-dock* à prédire l'emplacement correct d'un ligand au niveau de son récepteur. Afin de confirmer qu'il s'agit d'un programme approprié pour notre étude, nous avons appliqué deux tests :

Le premier consistait à calculer la déviation RMSD en angströms entre la conformation du ligand prédite par le programme de docking et celle obtenue expérimentalement, sur 200 complexes protéine-ligand, 90% affichent un RMSD inférieur ou égal à 2 Å, et 10% affichent un RMSD supérieur à 2 Å. Le deuxième test portait sur une analyse visuelle réalisée par le programme *ViewerLite*, permettant de déterminer si les ligands simulés par *Surflex-dock* se superposent ou non au ligand co-cristallisé de la *PDB*. Ces examens nous conduisent à percevoir *Surflex-dock* comme un logiciel de haute performance, apte à réaliser par modélisation de nouveaux inhibiteurs pour notre cible enzymatique, l'AChE.

Dans la seconde partie, nous avons réussi à déchiffrer les procédés d'interaction entre l'AChE et ses divers inhibiteurs extraits de la *PDB* en visualisant différentes liaisons impliquées. Les résultats indiquent que le composé 1YL présente l'effet inhibiteur le plus fort, avec une affinité de 4.49 M^{-1} .

La troisième partie a été consacrée à la compréhension des mécanismes d'inhibition de l'ACHE par 215 similaires de l'inhibiteur de référence (1YL). Ces similaires sont téléchargées à partir de la chimiothèque Pubchem avec 90% de similarité. Cette recherche identifie les similaires suivants : CID_102004770, CID_102004882 et CID_100951166 avec des affinités égales à $8,53 \text{ M}^{-1}$, $8,52 \text{ M}^{-1}$ et $8,07 \text{ M}^{-1}$ respectivement, sont considérés comme les meilleurs inhibiteurs de l'AChE. L'analyse visuelle du mode d'interaction de ces composés a montré la présence de plusieurs liaisons hydrogène et interactions hydrophobiques stabilisant ces inhibiteurs dans le site actif de l'AChE.

Pour confirmer ces résultats, l'étape finale de notre étude implique la vérification de divers critères physicochimiques, pharmacocinétiques et toxicologiques des inhibiteurs suggérés grâce

aux serveurs ADMETlab et ProTox. L'évaluation de ces différentes propriétés a montré que les inhibiteurs CID_102004770, CID_102004882 et CID_100951166 possèdent un bon profil ADME/Tox.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ne sont que préliminaires. Il conviendrait dans les perspectives d'avenir d'approfondir notre recherche en testant expérimentalement l'activité anti-AChE et des composés nouvellement proposés par une étude expérimentale *in vitro et/ou in vivo* pour confirmer les résultats théoriques réalisés *in silico*.

Références bibliographiques

- [01] Empereur-Mot C. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer. Thèse de doctorat. France : Université : *Conservatoire National Des Arts et Métiers*, Paris, 2017, 206p.
- [02] Sethi A., Joshi K., Sasikala K., Alvala M. 2020. Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications. *Drug Discovery and Development - New Advances*. 21 (3): 480 - 495.
- [03] Dar A.M., Mir S. 2017. Molecular Docking : Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*. 8(2) :1-3.
- [04] Shoaib K.H., Ayed A. 2024. Médicinal perspectives. Molecular docking and structure activity relationship of benz thiazole derived Thiazole-based bis-benz hydrazide as potentiel anti alzheimer agents. *Results in Chemistry*. 10 : 101742.
- [05] Doudrich J., Odile R. 2006. Le livre vert de la maladie d'Alzheimer état des lieux et perspectives. France Alzheimer et maladies apparentées. Union nationale des associations Alzheimer.
- [06] Hauw J.J., Dubois B., Verny M., Duyckaerts C.H. 2017. La maladie d'Alzheimer. *Pathologie. Science*. 199 : 162.
- [07] Gustafson L. 1993. Physostigmine and tetraaminoacridine treatment of Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*. 149:39-41.
- [08] Peters O., Fuentes M., Joachim L.K., Jessen F., Luckhaus C., Kornhuber J., Pantel J., Hüll M., Schmidtke K., Rüther E., Möller J., Kurz A., Wiltfang J., Maier W., Wiese B., Frölich L., Heuser I. 2015. Combined treatment with memantine and galantamine CR compared with galantamine CR only in antedementia drug naïve patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia : Translational Research & Clinical Interventions*. 1: 198-204.
- [09] Howard R. 2015. Nursing home placement in the donepezil and memantine in moderate to severe Alzheimer's disease (domino-ad) trial : secondary and post-hoc analyses. *Lancet neurol*. 14(12):1171-81.

- [10] Calabro M., Rinaldi C. 2021. The biological pathways of Alzheimer disease : review. *Aims neuroscience*. 8 (1) :86-132.
- [11] Fondation pour la recherche sur Alzheimer. 2021. Définition et chiffres de la maladie D’Alzheimer [en ligne]. <https://alzheimer-recherche.org/la-maladie-alzheimer/quest-maladie-dalzheimer/definition-et-chiffres/>. Consulté le [05/02/2025].
- [12] Amalou S., Arezki M. Données épidémiologiques de la maladie d’Alzheimer dans la région de blida difficultés diagnostiques et propositions pour améliorer la qualité de la prise en charge. Thèse de doctorat. Algérie : Université Saad Dahlab de Blida, 2018, 200p.
- [13] Laraba A., Chellali R. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs du glycoène synthèse kinase 3 β pour le traitement de la maladie d’Alzheimer. Thèse de doctorat. Algérie : Université Frères Mentouri Constantine 1, 2021, 82p.
- [14] Jourdan P.J. conception synthèse et évaluation biologiques de nouveaux analogues de la curcumine : potentiels agents pléiotropes d'intérêt thérapeutiques dans la maladie d’Alzheimer. Thèse de doctorat en Pharmaco chimie et modélisation moléculaire. France : Université de Caen, 2015, 200p.
- [15] Thiberge C. Étude de la forme sporadique de la maladie d’Alzheimer à partir de modèles in vivo et de neurones humains reprogrammés présentée et soutenue publiquement. Thèse de doctorat en neurosciences. France : Université de Toulouse, 2023, 288p.
- [16] Chaverou E., Schlegel T. 2019. Alzheimer : une clé de la maladie décryptée par des scientifiques français. [En ligne]. <https://www.radiofrance.fr/franceculture/alzheimer-une-cle-de-la-maladie-decryptee-par-des-scientifiques-francais-8056767>. Consulté le [10/02/2025].
- [17] Nussbaum R.L., Ellis C.E. 2003. Alzheimer disease and Parkinson’s disease. *New england journal of medicine*. 348 : 1356-1364.
- [18] Laper E. Maladie d’Alzheimer et thérapies non médicamenteuses. Evaluation de la stimulation cognitive et de l’activité physique sur le fonctionnement exécutif. Thèse de doctorat. France : Université de bordeaux, 2010, 282p.
- [19] Folstein M.F., Folstein S.E. 1975. Mini-mental state : à practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal psychiatres*. 12:189-198.

- [20] Sansregret M.C., Gilles L. 2011. La maladie d'Alzheimer. Québec : Lettres en main, 36p.
- [15] Société d'Alzheimer canada. La maladie d'Alzheimer et les facteurs de risque, [en ligne], [http : //www.alzheimer.ca/fr](http://www.alzheimer.ca/fr). Consulté le [14/02/2025].
- [21] L'association Alzheimer suisse. 2015. Ce qu'il faut savoir sur la maladie d'Alzheimer, 31p.
- [22] Claire A., Pierre C., Stéphane R., Elizabeth K., Edelweiss T., Valentin O., Brigitte L., Gwendoline L.D., Mézenge F., Segobin SH., Vivien D., Chételat G., Rauchs G. 2023. Rapid-eye-movement sleep. *Neurodegeneration and amyloid deposition in ageing. Annals of neurology*. 93 (5) : 979-990.
- [23] Ballarini T., Melo L.D. 2021. Mediterranean diet, Alzheimer disease biomarkers and brain atrophy in old age. *Neurology* .5 (96) : 2920-2932.
- [24] Louis P. 2009. A propos de la maladie d'Alzheimer gérontologie et société. *Gérontologie et société*. 1(32) :128-129.
- [25] Kinney J., Bemiller S. 2018. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimer dement*.1 (4) : 575-590.
- [26] Jack J., Albert M.S. 2011. Introduction to the revised criteria for the diagnostics of alzheimer disease. *National institute on aging and Alzheimer association workgroups. Alzheimer dements*.7 (3) :257-262.
- [27] Mckhann G., Knopman D. 2011. The diagnostics of dementia due to Alzheimer disease : recommandations. The national institute on aging-Alzheimer association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer disease. *Alzheimer dements*. 7 (3) :263-269.
- [28] Alexander G., Emerson S. 2021. Evaluation of aducanumab for Alzheimer disease. Scientifique évidence and regulatory review involving efficacy, safety, and futility. *Jama*. 325(17) : 1717-1718.
- [29] Pasteur L. Maladie d'Alzheimer : internet des molécules d'origine naturelle. Thèse de doctorat en pharmacie, France : Université Toulouse III Paul Sabatier, 2013,120p.

- [30] Collège de la haute autorité de santé. 2011. Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : version soumise à la validation du collège de la has le 25/04/07 diagnostic et prise en charge. Recommandation de bonne pratique, 49p
- [31] Biologie Médicale spécialisée. Cholinestérase. [En ligne]. <http://www.biomnis.com>. Consulté le [16/03/2025].
- [32] Colović M.B., Krstić D. Z., Lazarević-Pašti T. D., Bondžić A. M., Vasić V. M. 2013. Acetylcholinesterase Inhibitors : Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*. 11(3) :315-335.
- [33] Mohamed A.E. Étude du mode d'action neurotoxique d'un répulsif, le deet utilise seul et en association avec un insecticide sur l'acétylcholinestérase des dum neurones d'un insecte la blatte periplaneta americana. Thèse de doctorat en Sciences Agronomique. France : Université d'Angers, 2014, 179p.
- [34] Akli A., Belakhdar H., Boursila F., Tali I. Etude par docking moléculaire de l'affinité de nouveaux analogues de la rivastigmine pour l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat en Pharmacie. Algérie : Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2022, 162p.
- [35] Rand J. B. Acetylcholine. WormBook. 2007. 1-21. Doi : 10.1895/wormbook.1.131.1.
- [36] Alles G.A., Hawes R.C.1940. Cholinesterases in the blood of man. *Journal of Biological Chemistry*. 133: 375- 390.
- [37] Oudjana A., Zegouba B., Lahlah B., Kemassi A., Ould El Hadj M. D. 2022. Effet insecticide et anti cholinestérase de l'extrait aqueux foliaire de l'ortie *Urtica dioica* L. (Urticaceae) sur les larves L4 du *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae). *Algerian journal of aride environment*. 12(1): 87-97.
- [38] Woolf N. J., Butcher L. L. 2011. Cholinergic systems mediate action from movement to higher consciousness. *Behavioural Brain Research*. 221(2): 488-498.
- [39] Oliyaei N., Moosavi-Nasab M., Tanideh N., Iraj A. 2023. Multiple roles of fucoxanthin and astaxanthin against Alzheimer's disease : Their pharmacological potential and therapeutic insights. *Brain Research Bulletin*.193 :11-21.

- [40] Hasinoff B.B. 1982. Kinetics of acetylthiocholine binding to electric eel acetylcholinesterase in glycerol/water solvents of increased viscosity. Evidence for a diffusion-controlled reaction. *Biochimica ET Biophysica Acta*.704 : 52-58.
- [41] Colletier J.P. Etude des relations structure-dynamique-fonction au sein de l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat en Biomolécules. France : Université Joseph-Fourier, Grenoble, 2006, 273p.
- [42] Da Silva O. Etude enzymatique et structurales de réactivateurs d'acétylcholinestérase inhibée par des neurotoxiques organophosphorés. Thèse de doctorat. France : Université Parise Saclay, 2021, 311p.
- [43] 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*. 5 (3) : 197-211.
- [44] Barnard E. A. The Peripheral Nervous System, Plenum Press. New York. Chapter7. 201-224p.
- [45] Mokrani El. H. Identification par criblage virtuel et analyses biologiques de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Thèse de Doctorat en Biochimie appliquée. Algérie : Université Frères Mentouri Constantine 1, 2020, 199p.
- [46] 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.
- [47] Sussman J., Harel M., Frolow F., Oefner C., Goldman A. 1991. Atomic structure of acetylcholinesterase from Torpedo californica : A prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*. 253: 872-879.
- [48] Halliwell B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease, curiosity, cause, or consequence. *The Lancet*. 344 (8924) : 721-724
- [49] Quinn D.M. 1987. Acetylcholinesterase : Enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chemical Reviews Journal*. 87 (5) : 955-979.

- [50] Taylor Z., Radic T. Z. 1994. The Cholinesterases : from genes to proteins. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 34 : 281-320.
- [51] Alain G., Bruno D., Françoise F. 2006. diagnostiqué la maladie d'Alzheimer sans savoir la soigner, recherche et santé. N°105.1er trimestre.113p.
- [52] Soreq H., Seidman S. 2001. Acetylcholinesterase--New Roles for an Old Actor. *Nature Reviews Neuroscience*. 2(4) :294-302.
- [53] Braïki A. Designs, Syntheses and Biological Evaluations of New Reactivators for Acetylcholinesterase Inhibited by Organophosphorus Nerve Agents. Thèse de doctorat en chimie. France : University the Rouen Normandie, 2018, 107p.
- [54] Martinez A., Fernandez E., Castro A., Conde S., Rodriguez I. F., Banos J. E., Badia A. 2024. Implications in treatment of Alzheimer's Disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 35 : 913-922.
- [55] Krid A. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Mémoire de magister en chimie théorique. Algérie : Université les frères Mentouri Constantine I, 2008, 79p.
- [56] Ronald J P. 2000. Clinical pharmacology of Rivastigmine : à new-generation acetyl cholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer disease. *Clinicat Therapeutics*.20 : 634-647.
- [57] Harry M., Greenblat T., Dvir H., Salman I., Joël L., Sussman I. 2003. Acetyl cholinesterase. *Journal of molecular neuroscience*.20 :369-383.
- [58] Camps P, Munoz-Torrero D. 2002. Cholinergic drugs in pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2(1) :11 25.
- [59] Quinn D. M. 1987. Acetylcholinesterase : enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chemical Reviews*. 87: 955-979.
- [60] Perolaa E., Cellaia L., Doriano L., Filocamob L., BrufanibLong M. 1997. Chain analogs of physostigmine as potential drugs for Alzheimer's disease : new insights into the mechanism of action in the inhibition of acetylcholinesterase. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)*.1343: 41–50.

- [61] Sramek J.J., Frackiewicz E.J., Cutler N.R. 2000. Review of the acetylcholinesterase inhibitor galanthamine. *Expert Opin Investig Drugs*.9 (10) :2393-402.
- [62] Greenblatt H.M., Dvir H., Silman I., Sussman J.L. 2003. Acetylcholinesterase : A Multifaceted Target for Structure-Based Drug Design of Anticholinesterase Agents for the Treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Neuroscience*. 20(3) :369-84.
- [63] Winblad B., Gauthier S., Scinto L., Feldman H., Wilcock G .K. Truyen L., Mayorga A .J., Wang D., Brashear H .R., Nye J. S. 2008. Safety and efficacy of galantamine in subjects with mild cognitive impairment. *Neurology*.70 (22) :2024-2035
- [64] Zangara A. 2003. The psychopharmacology of huperzine A : an alkaloid with cognitive enhancing and neuroprotective properties of interest in the treatment of Alzheimer's disease. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*. 75(3) : 675-686.
- [65] Rösler M., Anand R., Cicin-Sain A., Gauthier S., Agid Y., Dal-Bianco P., Stähelin H.B., Hartman R., Gharabawi M. 1999. Efficacy and safety of rivastigmine in patients with Alzheimer's disease : International randomised controlled trial. *British Medical Journal*. 318 (7184) :633-640.
- [66] Mei Fan M., Yuan S., Li L., Zheng J., Zhao D., Wang C., Wang H., Liu X., Liu J. 2023. Application of Terpenoid Compounds in Food and Pharmaceutical Products. *Fermentation*. 9(2) : 119.
- [67] Poirier J. 2002. Evidence that the clinical effects of cholinesterase inhibitors are related to potency and targeting of action. *International journal of clinical practice. Supplement*. 127: 6-19.
- [68] Gottfries C.G. 1994. Therapy options in Alzheimer's disease. *British Journal of Clinical Practice* .48: 327-330.
- [69] Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel. Thèse de doctorat en chimie informatique et théorique. France : Université de Nancy Henri, Poincaré - Nancy I, 2008, 122p.
- [70] Craik D. 1997. Hubbard Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design : Molecular Graphics and Modeling. Edition. 2(10) :154.

- [71] Benouis M.S. Etude théorique de l'activité inhibitrice de quelques enzymes par le criblage virtuel et le docking moléculaire. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Algérie : Université Badgi Mokhtar, Annaba, 2022, 135p.
- [72] Asses Y. Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Met. Thèse de doctorat. France : Université Henri Poincaré, Nancy, 2011, 137p
- [73] Lengauer T., Lemmen C., Rarey M., Zimmermann M. 2004. Novel technologies for virtual screening. *Drug Discovery Today*. 9:27-34.
- [74] Qamar M.T., Alqahtani S. M., Alamri M. A., Chen L. L. 2020. Structural basis of SARS-cov-2 3clpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 10(4) : 313-319.
- [75] Waszkowycz B., Perkins T.D.J., Sykes R.A., Li J. 2001. Large-scale virtual screening for discovering leads in the postgenomic era. *IBM Systems Journal*. 40: 360-376.
- [76] Shoichet B.K. 2004. Virtual screening of chemical libraries. *Nature*. 432 : 862-865.
- [77] Oprea T.I., Matter H. 2004. Integrating virtual screening in lead discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*. 8: 349-358.
- [78] Keiser M.J., Setola V., Irwin J.J., Laggner C., Abbas A.I., Hufeisen S.J., Jensen N.H., Kuijer M.B., Matos R.C., Tran T.B., Whaley R., Glennon R.A., Hert, J., Thomas K.L.H., Edwards D.D., Shoichet B.K., Roth B.L. 2009. Predicting new molecular targets for known drugs. *Nature*. 462 (7270) : 175-181.
- [79] Réau M. Importance des données inactives dans les modèles : application aux méthodes de criblage virtuel en santé humaine et environnementale. Thèse de doctorat en Chimie thérapeutique. France : Université de Caen, Conservatoire national des arts et métiers – CNAM., 2019, 372p.
- [80] Berman H. M. 2008. The Protein Data Bank : A historical perspective. *Acta Crystallographica*. A64 : 88-95.
- [81] Hammad S. Conception par bio-informatique et modélisation moléculaire de nouvelles molécules bioactives dans le domaine du cancer. Thèse de doctorat. Algérie : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), 2020, 158p.

- [82] Renvez G. Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines vers un processus de docking. Thèse de doctorat. France. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2010, 164p.
- [83] Allen W.J., Balias T.E., Mukherjee S., Brozell S.R., Moustakas D.T., Lang, P.T., Case D.A., Kuntz I.D., Rizzo R.C. 2015. DOCK 6 : Impact of new features and current docking performance. *Journal of Computational Chemistry*. 36 (15) : 1132-1156.
- [84] Friesner R.A., Banks J.L., Murphy R.B., Halgren T.A., Klicic J.J., Mainz D.T., Repasky M.P., Knoll E.H., Shelle M., Perry J.K., Shaw D.E., Francis P., Shenkin P.S. 2004. Glide a new approach for rapid accurate docking and scoring.1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*. 47(7) : 1739-1749.
- [85] Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. France : Université Joseph Fourier. Grenoble, 2007, 90p.
- [86] Ferreira L. G., Dos Santos R. N., Oliva G., Andricopulo A. D. 2015. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*. 20: 13384-13421.
- [87] Reddy A. S., Pati S. P., Kumar P. P., Pradeep H.N., Sastry G. N. 2007. Virtual Screening in Drug Discovery – A Computational Perspective. *Current Protein and Peptide Science*. 8 : 329-351.
- [88] Bencheikh B. Criblage in silico des inhibiteurs du SARS-cov-2 par Docking moléculaire et QSAR. Thèse de doctorat en Chimie théorique et computationnelle. Algérie : Université 8 Mai 1945 Guelma, 2022, 104p.
- [89] Martin L. Développement d'une plateforme bioinformatique d'outils pour la modélisation des structures et pour le criblage virtuel comparatif : une application sur la protéine kinase FAK. Thèse de doctorat en Bio-informatique. France : Université Montpellier 2, Montpellier, 2006, 149p.
- [90] Agu P. C., Afiukwa C. A., Orji O. U., Ezech E. M., Ofoke I. H., Ogbu C. O. Ugwuja E. I., Aja P. M. 2023. Molecular Docking as a Tool for the Discovery of Molecular Targets of Nutraceuticals in Diseases Management. *Scientific reports*. 13(1) :13398.

- [91] Pierre D. Détermination du potentiel anti-Toxoplasma gondii de triterpènes naturels et mise en place d'un outil in silico de criblage à haut débit. Thèse de doctorat. France : Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, 2021, 197p.
- [92] D'Oliveira E. B. Simulation moléculaire appliquée à l'acétylation de flavonoïdes catalysés par des lipases : influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la régiosélectivité de la bioconversion. Thèse de doctorat. France. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2009, 187p.
- [93] Degorce S., Bailey A., Callis R., De Savi C., Ducray R., Lamont G., Macfaul P., Maudet M., Martin S., Morgentin R., Norman R.A., Peru A., Pink J.H., Ple P.A., Roberts B., Scott J.S. 2015. Tetrahydroisoquinoline Phenols : Selective Estrogen Receptor Downregulator Antagonists with Oral Bioavailability in Rat. *Journal of Medicinal Chemistry - ACS Publications*. 7(1) : 94-99.
- [94] Lalout W. Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules : Cas de la Maladie de Parkinson. Thèse de doctorat. Algérie : Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, 2016, 129p.
- [95] Stewart J. J. 2007. Optimization of parameters for semi-empirical methods V : modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*. 13(12) : 1173-213.
- [96] Thiriot E. Modélisation de la reconnaissance et de la catalyse enzymatiques : Développements méthodologiques et détermination du mécanisme des méthionine Sulfoxyde Réductases de classe A. Thèse de doctorat en Chimie informatique et théorique. France : Université de Nancy, 2009, 291p.
- [97] Chevrollier N. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. France. Université Paris-Saclay, 2019, 198p.
- [98] Ayaz M D., Shafia M. 2017. Molecular Docking : Approaches, Types, Applications, and Basic Challenges. *Journal Anal Bioanal Tech*. 08(02) : 356.
- [99] Makino S., Kunt I. D. 1997. Automated Flexible Ligand Docking Method and Its Application for database search. *Journal of Computational Chemistry*. 18:1812-1825

- [100] Alexandre B. développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine fat de la kinase d'adhérence focale FAK. Thèse de doctorat. France. Université Henri Poincaré - Nancy I, 2008,242p.
- [101] Punzi L., Oliviero F. 2007.Diagnostic pratique des arthropathies microcristallines. *Revue du Rhumatisme*. 74(2) :138-46.
- [102]Berg L. Exploring non-covalent interactions between drug-like molecules and the protein acetylcholinesterase. Sweden : Université Umeå, 2017, 95p.
- [103] Isaacs E. D., Shukla A., Platzman P. M., Hamann D. R., Barbiellini B., Tulk C. A. 1999. Covalency of the hydrogen bond in ice : A direct X-ray measurement. *Physical Review Letters*.82 (3) : 600.
- [104] Garrett R.H., Gresham C. M. 2000. Biochimie. France, Paris : De Boeck université, 1254p.
- [105] Rappe A.K., Casewit C.J. 1997. Molecular Mechanics across Chemistry. Eds : University Science books Sausalito, California. 444p.
- [106] Gilbas C., Jambeck P. 2001. Introduction à la bioinformatique. France : O'Reilly. 375p.
- [107] Teniou S. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de Cellules cancéreuses. Thèse pour l'obtention du diplôme de magistère en Biochimie : Technologie des Explorations Biochimiques. Algérie : Université Mentouri Constantine I, 2012, 95p.
- [108] Douglas B. K., Hélène D., John R. F., and Jürgen B. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery. Methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*. 3(11) : 949-935.
- [109] Bessadok A. 2012. La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC. France : Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2011, 192p.
- [110] Rayar A. M. In silico drug design et chimie médicinale : développement de nouvelles molécules coumariniques, sélectives de la cyclooxygénase-2. Thèse de doctorat en Bioinformatique. France : Ecole doctorale sciences des métiers de l'ingénieur, Cnam, 2017, 402p.

- [111] Corbeil C. R., Therrien E., Moitessier N. 2009. Modeling Reality for Optimal Docking of Small Molecules to Biological Targets. *Current Computer-Aided Drug Design*. 5: 241-263.
- [112] Kellenberger E., Rodrigo J., Muller P., Rognan, D. 2004. Comparative evaluation of eight docking tools for docking and virtual screening accuracy. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 57(2):225-42.
- [113] Spitzer R., Jain A.N. 2012. Surflex-Dock: Docking benchmarks and real-world application. *Journal of computer-aided molecular design*. 26(6):687-699.
- [114] Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual K. S., Mokrani E. H. 2014. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of Mycobacterium tuberculosis methionine aminopeptidase by several molecules. *Computational Biology and Bioinformatics*. 2:63-73.
- [115] BioPharmics LLC. 2005. Surflex Manual: Docking and Similarity (version 1.3).
- [116] Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morle C., Vandermeersch T., and Hutchison G.R. 2011. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*. 3 (33): 1-14.
- [117] Open Babel: Main Page. [En ligne]. [Http://openbabel.org/api/2.0.2/](http://openbabel.org/api/2.0.2/). Consulté le [11/03/2025].
- [118] Anonyme. Open Babel. The Open Source Chemistry Toolbox. [En ligne]. [Http://openbabel.org/wiki/Main Page](http://openbabel.org/wiki/Main_Page). Consulté le [10/03/2025].
- [119] Anonyme. Introduction to the Discovery Studio Visualizer. [En ligne]. http://www.adrianomartinelli.it/Fondamenti/Tutorial_0.pdf. Consulté le [08/03/2025].
- [120] Discovery Studio Visualizer – Weizmann institute of science. [En ligne]. [Http://bip.weizmann.ac.il/toolbox/structure/ds.htm](http://bip.weizmann.ac.il/toolbox/structure/ds.htm). Consulter le [11/03/2025].
- [121] viewerlite 4.2. [En ligne]. [Http://viewerlite.software.informer.com/4.2/](http://viewerlite.software.informer.com/4.2/). Consulté le [11/03/2025].
- [122] Anonyme. 2024. Cours informatique gratuit et sans publicité. [En ligne]. [Https://www.coursinfo.fr/excel/les-fonctions-de-base-excel-niveau-1/tableur/](https://www.coursinfo.fr/excel/les-fonctions-de-base-excel-niveau-1/tableur/). Consulté le [12/03/2025].

- [123] Bernstein F.C., Koetzle T.F., Williams G.J., Meyer E.E., Brice M.D., Rodgers J.R., Kennard O., Shimanouchi, T., Tasumi, M. 1977. The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. *Journal of Molecular Biology*.112 (3):535-542.
- [124] the Protein Data Bank. [En ligne]. <https://www.rcsb.org/>. Consulté le [12/03/ 2025].
- [125] RCSB Protein Data Bank. [En ligne]. <https://www.rcsb.org/>. Consulté le [13/03/2025].
- [126] 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 Research - Oxford Academic*. 28(1): 235-42.
- [127] Kim S., Chen J., Cheng T.J., Gindulyte A., He J., He S.Q., Li Q.L., Shoemaker B.A., Thiessen P.A., and Yu B. 2022. Pubchem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Research*.51 (D1): D1373-D1380.
- [128] Kim S., Jie C., Tiejun C., Asta G., Jia H., Siqian H., Qingliang L., Benjamin A. S., Paul A. T., Bo Y. U., Leonid Z., Jian Z., Evan E. B. 2023. Pubchem 2023 update. *Nucleic Acids Research*.47 (D1): D1102-D1109.
- [129] pubchem substance and compound databases. [En ligne]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le [20/03/2025].
- [130] Andrea V., Daniel K., Thomas G., Friedrich R., Matthias R. 2012. Combining global and local measures for structure-based druggability predictions. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 52(2):360-372
- [131] Lukas J., Radoslav K., Petr S., Marian N., Hoksza D. 2019. Prankweb: a web server for ligand binding site prediction and visualization. *Nucleic Acids Research*.47 (W1):W345-W349.
- [132] Krivák R., Hoksza D.2018. P2Rank: machine learning based tool for rapid and accurate prediction of ligand binding sites from protein structure. *Journal of Cheminform*. 10(1):39.
- [133] Jie D., Ning-Ning W., Dong-Sheng C. 2018. Admetlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*. 10(1):1-11.

- [134] Guoli X., Zhenxing W., Jiakai Y., Li F., Zhijiang Y., Changyu H., Mingzhu Y., Xiangxiang Z., Chengkun W., Aiping L., Xiang C., Tingjun H., Dongsheng C. 2021. Admetlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET. *Properties Nucleic Acids Research*.49 (w1):W5-W14.
- [135] Tao L., Zhang P., Qin C., Chen S.Y., Zhang C., Chen Z. 2015. Recent progresses in the exploration of machine learning methods as in silico ADME prediction tools. *Advanced Drug Delivery Reviews Journal*. 86(1):83-100.
- [136] Priyanka B., Emanuel K., Mathias D., Robert P. 2024. Protox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*.52 (W1): W513-W520.
- [137] Priyanka B., Eckert A.O., Schrey A.K., Preissner R. 2018. Protox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*. 46 :W257-W263.
- [138] Merzoug A. Recherche de nouvelles molécules bioactives. Thèse de doctorat en biochimie. Algérie : Université Mentouri Constantine1, 2018, 193p.
- [139] Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E.1997. Modelling protein docking using shape Complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 272(1):106-20.
- [140] Vieth M., Hirst J. D., Kolinski A., Brooks C. L. 1998. Assessing energy functions for flexible docking. *Journal of Computer Chemistry*.19 (14): 1612-1622.
- [141] Boucherit H., Nouioua A., Serrar A., Chikhi A., Bensegueni A.,Merzoug A. 2016. Research of new inhibitors of staphylococcus aureus methionine aminopeptidase by computer simulation. *European Journal of Biomedical*. 3(7) : 54-66.
- [142] Eric W. B., Yang Z. 2019. Dockrmsd : un outil open-source pour la cartographie des atomes Et le calcul RMSD des molécules symétriques par isomorphisme de graphe. *Journal de Cheminformatics* 11(40) :1-9.
- [143] Boucherit H. Recherche in silico de nouveaux composés bioactifs et applications à l'inhibition de la méthionine aminopeptidase. Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Algérie : Université Frères Mentouri, Constantine 1, 2020, 210p.

- [144] Li A.P. 2001. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discovery Today*. 6(7):357-366.
- [145] Van de Waterbeemd H. and Gifford, E. 2003. ADMET in silico modelling: towards prediction paradise Nature. *Reviews Drug Discovery*. 2(3):192-204.
- [146] Ferreira L.L.G. and Andricopulo A.D. 2019. ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug Discovery Today*. 24(5): 1157-1165.
- [147] Zhang M.Q., Wilkinson B. 2007. Drug discovery beyond the “rule-of-five”. *Current Opinion Biotechnol*. 18(6):478-488.
- [148] 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. *Journal of medicinal chemistry*. 45 (12): 2615-2623.
- [149] Water Solubility - chemsafetypro.COM. [En ligne]. https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Water_Solubility.html. Consulté le [03/04/2025].
- [150] Predicting Synthetic Accessibility. [En ligne]. <https://depthfirst.com/articles/2010/10/28/predicting-synthetic-accessibility/>. Consulté le [04/04/2025].
- [151] Antoine D., Olivier M., Vincent Z. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 3(7): 42717.
- [152] Mager D. E., Jusko W. J. 2001. General pharmacokinetic model for drugs exhibiting target-mediated drug disposition. *Journal Pharmacokinet Pharmacodyn*. 28(6):507-532.
- [153] Agoram B. M., Martin S. W., Vander Graaf P. H. 2007. The role of mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling in translational research of biologics. *Drug Discovery Today*. 12 (23-24):1018-24.
- [154] Alavijeh M.S., Chishty M., Qaiser M.Z., Palmer A.M. 2005. Drug metabolism and pharmacokinetics, the blood-brain barrier, and central nervous system drug discovery. *Neurorx. Journal of the American Society for Experimental Neuro Therapeutics*. 2(4):554-71.

- [155] Poulos T., Finzel B., Gunsalus I., Wagner G and Kraut J. 1985. The 2.6-Å crystal structure of *Pseudomonas putida* cytochrome. *Journal of Biological Chemistry*. 260(30):16122-30.
- [156] Le métabolisme d'un médicament. [En ligne]. [Http://udsmed.ustrasbg.fr/pharmaco/pdf/DCEM1](http://udsmed.ustrasbg.fr/pharmaco/pdf/DCEM1). Pharmacologie_chapitre_5 Métabolisme des médicaments. Consulté le [05/04/2025].
- [157] Lagarde N. Méthodes de criblage virtuel in silico importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat en Bioinformatique. France : Conservatoire national des arts et métiers, CNAM, 2014, 317p.
- [158] Hondeghem L. M., Snyders D. J. 1990. Class III antiarrhythmic agents have a lot of potential but a long way to go-reduced effectiveness and dangers of reverse use-dependence. *Circulation*. 81(2) :686-90
- [159] Fabrice G. Performances des tests d'Ames et micronoyaux triton, appliques à l'étude de la génotoxicité d'effluents complexes et des interctions entre polluants. Thèse de doctorat en Toxicologie de l'environnement. Franc : Université de Metz, Lorraine, 2002, 102p.
- [160] Bernhard R., Elisabeth P., Thomas C., Elisabeth R.,Christian K., Maricel M.K., Benoit S., Manfred T. 2018. Suitability of the Ames test to characterise genotoxicity of food contact material migrates. *Food Additives & Contaminants*. 35 (11):2230-2243.
- [161] Gary A. Boorman., Robert R., Maron P., Scotl E. 1994. Rodent Carcinogenicity Bioassay : Past, Present, and Future. *Toxicol Pathologie*. 22(2) :105-11.
- [162] Zeman F. Toxicité d'un mélange binaire sur la daphnie *Daphnia magna*. Thèse de doctorat en Evolution, Ecologie, Ressources génétiques Paléontologie. France : Université Montpellier II, 2008,210p.
- [163] Zha J., Wang Z., Wang N., Ingersoll C. 2007. Histological alternation and vitellogenin induction in adult rare minnow (*Gobiocypris rarus*) after exposure to ethynylestradiol and nonylphenol. *Chemosphere*. 66(3) :488-95.
- [164] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase-Substances antibactériennes à l'aide de techniques de docking (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Algérie : Université Mentouri Constantine 1, 2007,126p.

- [165] Cheung J., Gary E. N., Shiomi K., Rosenberry T. L. 2013. Structures of human acetylcholinesterase bound to dihydrotanshinone I and territrem B show peripheral site flexibility. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 4 (11) :1091-6.
- [166] Anonyme. 2012. Site actif : définition et explications. [En ligne]. <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/12380/site-actif>. Consulté le [06/04/2025].
- [167] Bennamoun L. Chapitre 1 : Généralités sur les enzymes. 2020. [En ligne]. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2020/Chapitre%201-Enzymologie.pdf .Consulté le [06/04/2025].
- [168] Volkamer A., Kuhn D., Grombacher T., Rippmann F., Rarey M. 2012. Combining global and local measures for structure-based druggability predictions. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 52(2): 360-372.
- [169] Jendele L., Krivak R., Skoda P., Novotny M., Hoksza D. verifier 2019. Prankweb: a web server for ligand binding site prediction and visualization. *Nucleic Acids Research*. 47(W1): W345-W349
- [170] Tan T.C., Spadiut O. 2012. Structural Basis for Binding of Fluorinated Glucose and Galactose to *Trametes multicolor* Pyranose 2-Oxidase Variants with Improved Galactose Conversion. *Plos One*. 9(1): 86736
- [171] Cheung J., Rudolph M. J. 2012. Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*. 55: 10282-10286.
- [172] Franklin M.C., Rudolph M.J. 2016. Structures of paraoxon-inhibited human acetylcholinesterase reveal perturbations of the acyl loop and the dimer interface. *Proteins*. 84: 1246-1256
- [173] Blumenthal D., Taylor P. 2019. A new crystal form of human acetylcholinesterase for exploratory room-temperature crystallography studies. *Chemico-Biological Interactions*. 309: 108698.
- [174] Peng T., Hong Y. 2021. Kinetics-Driven Drug Design Strategy for Next-Generation Acetylcholinesterase Inhibitors to Clinical Candidate. *Journal of Medicinal Chemistry*. 64: 1855.

- [175] Dileep, K., Ihara, K. 2022. Crystal structure of human acetylcholinesterase in complex with Tacrine Implications for drug discovery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 210: 172-181.
- [176] Médicaments de la maladie d’Alzheimer : les points essentiels. 2019. [En ligne]. <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/stimulants-de-la-cognition-les-points-essentiels>. Consulté le [01/03/2025].
- [177] Antoine D., Olivier M., Vincent Z. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 7 : 42717.

GUENDOZ Yasmine CHELIGHOUM Fatima	Date de soutenance : 28 /06/2025									
Thème : Découverte de nouveaux inhibiteurs de la maladie d’Alzheimer : criblage virtuel, docking moléculaire et filtrage ADME-Tox										
Résumé La maladie d’Alzheimer est une pathologie neurodégénérative progressive caractérisée par une perte de mémoire et déficits cognitifs liés à l’âge. C’est la sixième cause de décès et occupe aujourd’hui une place de plus en plus grandissante au sein de notre société. Malgré les avancées scientifiques, les alternatives de traitement disponibles à ce jour restent restreintes et principalement symptomatiques. Ce travail s’inscrit dans le contexte de la recherche de nouveaux inhibiteurs de l’AChE, cible thérapeutique bien établie dans le traitement de la maladie d’Alzheimer. Dans ce cadre, nous avons utilisé des méthodes de docking moléculaire avec le logiciel <i>Surflex-dock</i>. Nous avons testé le docking d’un ensemble de 215 similaires, choisies au sein de la chimiothèque <i>PubChem</i>, sur le site actif de l’ACHE. À l’issue de ce docking, trois composés : CID_100951166, CID_102004882 et CID_102004770 ont montré les meilleures affinités, avec des scores respectifs de 8,07 M⁻¹, 8.52 M⁻¹ et 8.53 M⁻¹. Ces résultats indiquent qu’ils pourraient constituer de nouveaux inhibiteurs potentiellement plus sélectifs et affins envers l’AChE. Enfin, un profil pharmacophorique prometteur et des caractéristiques ADME-Tox appréciables ont été identifiés, suggérant favorablement que ces composés pourraient agir en tant que nouveaux inhibiteurs potentiellement plus efficaces vis-à-vis de l’AChE. Cette étude démontre l’utilité du docking moléculaire comme outil de criblage virtuel dans la découverte de nouvelles approches thérapeutiques pour lutter contre la maladie d’Alzheimer, ouvrant la voie à des validations expérimentales ultérieures.										
Mot clés : Alzheimer, AChE, Surflex-dock, Docking moléculaire, ADME-Tox										
Devant le jury : <table><tr><td>Présidente : MERZOUG Amina</td><td>MCA</td><td>Centre. Univ. A. Boussouf - Mila</td></tr><tr><td>Promotrice : BOUCHERIT Hanane</td><td>MCA</td><td>Centre. Univ. A. Boussouf - Mila</td></tr><tr><td>Examineur : CHEKROUD Karim</td><td>MCA</td><td>Centre. Univ. A. Boussouf - Mila</td></tr></table>		Présidente : MERZOUG Amina	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila	Promotrice : BOUCHERIT Hanane	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila	Examineur : CHEKROUD Karim	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila
Présidente : MERZOUG Amina	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila								
Promotrice : BOUCHERIT Hanane	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila								
Examineur : CHEKROUD Karim	MCA	Centre. Univ. A. Boussouf - Mila								