



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exacte, des sciences de la nature et de la vie
Département de la science de la matière

MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la matière
Chimie
Chimie pharmaceutique

Présenté et soutenu par :
Labioud samira

Le : Mardi 28 juin 2022

Etudes d'amarrage moléculaire d'une série de dérivés du thiazole

Jury :

Mellaoui Malika	M.C.B Université Mohamed Khider de Biskra	Présidente
Lehraki Faiza	M.A.A Université Mohamed Khider de Biskra	Rapporteur
Zekri Afef	M.C.B Université Mohamed Khider de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

Je remercie Dieu Tout-Puissant de m'avoir donné la force, la volonté et le courage de réussir, et d'avoir fait ce travail avec persévérance. Dieu merci. Je tiens à exprimer mes remerciements aux membres du

jury : Mellaoui Malika , Zekri Afef

À ma chère dame et présidente de mes thèses, le Dr : Lehraki Faiza, je vous remercie de m'avoir confié l'honneur de présider le jury de ma thèse. Au cours de mes études, j'ai eu l'honneur de bénéficier de votre précieuse formation et de vos précieux conseils. J'exprime ma profonde gratitude et mon respect

Dédicaces

Je dédie ce travail

*A mes parents, pour
tous leurs sacrifices,
leur amour, Leur
tendresse, leur
soutien et leurs
prières*

*Tout au long de mes
études, pour toute
Leur assistance et
leur présence dans
ma vie.*

*A mes frères et
soeurs pour leur
encouragement
permanente et leur
soutien moral.*

A tous mes amis



Sommaire

Liste de tableau	
Liste des figures	
Liste des principales abréviations	
Introduction générale	01
Référence	03
Chapitre I: La maladie d'Alzheimer et inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase	
I.1. Introduction	04
I.2. Historique	04
I.3. <u>Qu'est-ce que la maladie d'Alzheimer?</u>	05
I.3.1 <u>Description clinique</u>	05
I.3.2 <u>Évolution de la maladie</u>	06
I.4 Les causes	07
I.5 Les différents facteurs de influence de la MA	08
I.6 Facteurs protecteurs	09
I.7 Traitement de la maladie d'Alzheimer	09
I.7.1 Les traitements médicamenteux	10
I.7.2 Les traitements non médicamenteux	10
I.7.3 Nouvelles approches thérapeutiques	10
I.7.4 Les traitements par les plantes médicinales	11
I.8 Généralité sur les neurotransmetteurs, Cholinestérases et les inhibiteurs de Cholinestérases	11
I.8.1 Neurotransmetteur	12
I.8.2 Cholinestérases	13
I.8.3 Inhibiteurs de cholinestérases (IChEs)	14
Références	15
Chapitre II : Docking Moléculaire Et ADME	

II.1. Introduction	17
II.2 Définition de l'amarrage moléculaire	18
II.3.Composants de l'amarrage moléculaire	18
II.4.Fonctions de scores	19
II.5. Les outils du Docking moléculaire	19
II.5.1.Ligand	19
II.5.2.Récepteur	20
II.6.Les étapes de Docking moléculaire	20
II.7. Représentations simplifiées des phénomènes de Docking moléculaire	20
II.8 Types de Docking	21
II.9. Interaction protéine-ligan	22
II.9.1.La liaison hydrogène	22
II.9.2.Interactions hydrophobes	22
II.9.3.Interactions électrostatiques	23
II.9.4.Les forces de Van Der Waals	23
II.10. Protocole général de Docking	23
II.11. Paramètres Drug-Like	24
II.11.1.Règle de lipinski	24
II.11.2.Règles de Veber	25
II-12. Pharmacocinétique	25
Références	27
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. Introduction	29
III.2. Méthodes et matériels	29
III.2.1. Préparation de l'enzyme	31
III.2.2. Préparation des inhibiteurs	33
III.2.3. Propriétés des ligands	36
III.2.4. Propriétés de l'enzyme	37
III.2.5. Etude de docking moléculaire	40
III.3. Résultats de docking moléculaire	41

III.3.1. Energie de score et RMSD	41
III.3.2. Intraction ACHE –ligands	43
III.3.3. Intraction BCHE –ligands	48
III.4. Prédiction des propriétés ADME	52
III.4.1. Propriétés physico-chimiques	52
III.4 .2. Propriétés pharmacocinétiques	53
Références	55
Conclusion générale	58
Annexe	
Résumé	

Liste des tableaux

Chapitre III	
Tableau 1: Résumé des composants chimiques du Donépezil et de la Tacrine	31
Tableau 2: Données cristallographique de l'acétylcholinestérase et de butyrylcholinestérase	31
Tableau 3: Structures chimiques des ligands L1-L30	34
Tableau 4: Quelques propriétés des ligands L1-L30 et ligands de référence (L _{réf D} : Donépezil, L _{réf T} : Tacrine)	36
Tableau 5: Résultats de SCORE et RMSD de deux enzymes 1EVE et 4BDS avec les ligands étudiés	41
Tableau 6: Valeurs de RMSD	42
Tableau 7: Les résultats des interactions enzyme- ligand (AChE- L _X)	43
Tableau 8: Les résultats des interactions enzyme- ligand (BChE-L _X)	48
Tableau 9: Les propriétés physico-chimiques.	52
Tableau 10: Les propriétés pharmacocinétiques ADME.	53

Liste de la figure

Chapitre I	
Figure 1: Aloïs Alzheimer a suivi la patiente Auguste Deter	05
Figure 2: La maladie Alzheimer	05
Figure 3: Accumulation de protéine amyloïde bêta	06
Figure 4: Les inhibiteurs d'acétylcholinestérase	09
Figure 5: La mémantine (récepteurs NMDA du glutamate)	10

Figure 6: Représentation du fonctionnement d'une synapse cholinergique en fonctionnement normal	12
Figure. I.7:Inhibiteurs de cholinestérases	14
Chapitre II	
Figure 1: Principe général de docking.	19
Figure 2: Le modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur R	21
Figure 3: La liaison Hydrogène	22
Figure 4:Les interactions électrostatiques	23
Figure 5: Les interactions de Van der Waals	23
Figure 6: Représentation schématique du docking moléculaire	24
Figure 7: Schéma de l'étude médicament son administration dans l'organisme	26
Chapitre III	
Figure 1: Protocol du calcule	30
Figure 2: Vue générale de l'enzyme l'acétylcholinestérase (1EVE) et butyrylcholinésterase (4BDS) non simplifiés	32
Figure 3:Retirer les Co-facteurs et les ions (cadrée en rouge)	32
Figure 4: Acétylcholinestérase (a) et butyrylcholinésterase(b) simplifiée	33
Figure 5: Propriétés des cavités de l'enzyme (a) 1EVE (b) 4BDS	38
Figure 6: Cavité 1 de l'enzyme(a) 1EVE (b) 4BDS	39
Figure 7: Principe général d'un programme de docking	40
Figure 8: Interaction entre les ligands (L15,L17, L20,L24, L27 et L28) et les résidus de site actif de AChE	47
Figure 9: Interaction entre les ligands (L6,L7, L13,L14, L21 et L24) et les résidus de site actif de BChE	51

Liste des principales abréviations

MA: Maladie d'Alzheimer

AChE : Acétylcholinestérase.

BuChE : Butylcholinestérase.

ACh : Acétylcholine

BCh : Butyrylcholine

ICHEs : Inhibiteurs de cholinestérases

MM : Mécanique Moléculaire.

MOE: Molecular Operating Environmen

PDB: Protein Data Bank.

V.d.W: Van der Waals

3D : 3-Dimensional.

μM : Micro molaire.

Å : Angström.

RMN : résonance magnétique nucléaire

RX : Rayons X

PSA : surface polaire

MMFF94X : champ de force

Da: Dalton.

IACHE: inhibiteurs d'acétylcholinestérase

R05:la règle de cinq

DNF: dégénérescence neurofibrillaire

USA:États-Unis d'Amérique

PA : de plaques amyloïdes

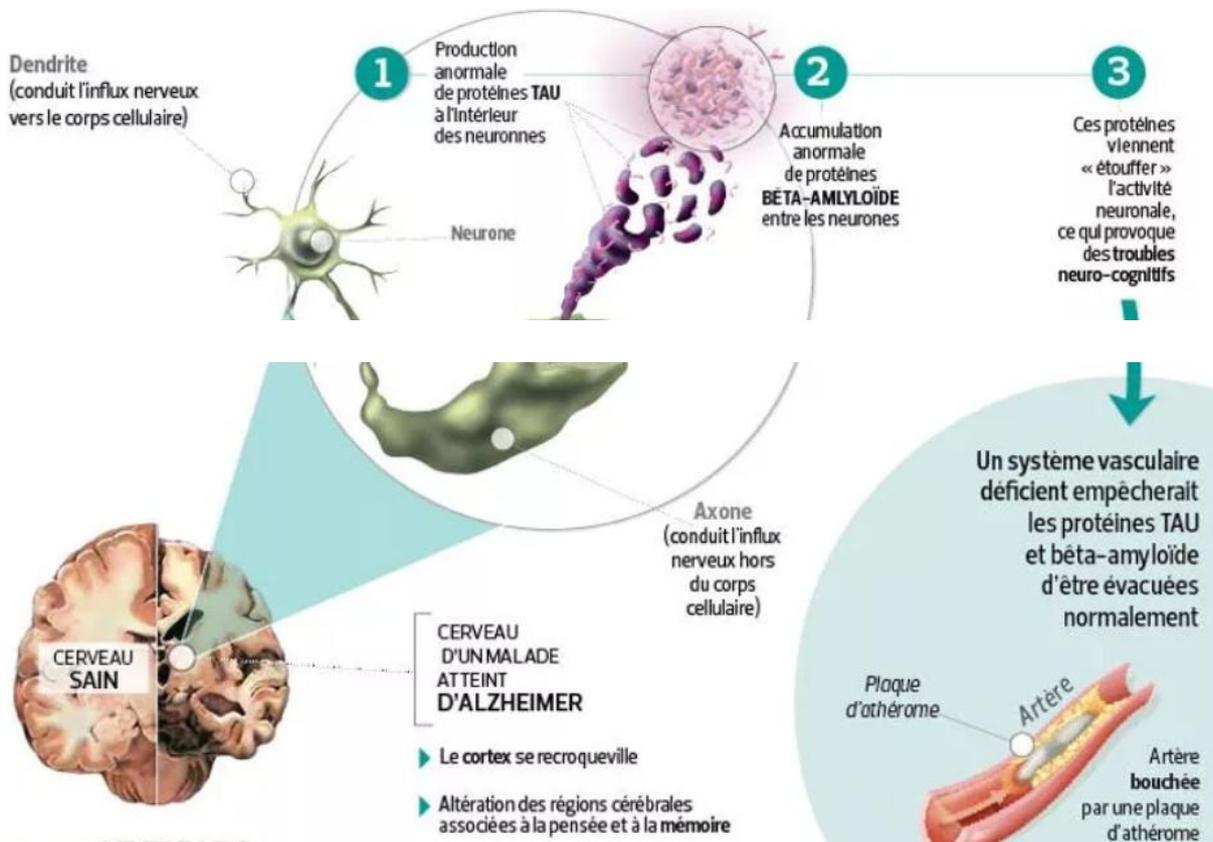
NMDA : Antagoniste des récepteurs

FDA: Food and Drug Administration

TCM :triglycérides à chaînes moyennes

AMM :Autorisation de marketing

Introduction Générale



Les médicaments actuellement en application clinique ou en recherche pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA) peuvent être divisés en inhibiteurs du cholinestérase (AChEI et BuChEI), en médicaments inhibant la formation et le dépôt d'A β , en antagonistes des récepteurs NMDA et en médicaments antioxydants. Le cholinestérase (ChEs) est responsable de l'hydrolyse et du métabolisme de l'ACh pour contrôler ses niveaux. L'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BuChE) sont deux enzymes importantes. L'AChE est la principale enzyme qui hydrolyse l'ACh. Les médicaments existants interfèrent avec la fonction hydrolytique de l'ACh de ChE pour augmenter les niveaux d'ACh dans les synapses et l'excitabilité centrale, améliorant ainsi les troubles cognitifs et traitant la MA. Les AChEI sont la seule classe de médicaments qui ont été spécifiquement utilisés dans le traitement de la MA et ce sont des activateurs cholinergiques. En inhibant la diminution de l'acétylcholine dans la fente synaptique et en augmentant la concentration d'acétylcholine dans les récepteurs muscariniques et les récepteurs nicotiniques, l'AChEI a un effet neuroprotecteur sur la stimulation des récepteurs muscariniques et des récepteurs nicotiniques, améliorant ainsi la fonction cognitive. La durée de traitement de ces AChEI est limitée car les neurones des patients atteints de MA sont gravement endommagés et les niveaux d'AChE sont irrémédiablement réduits de plus de 90 %, tandis que les niveaux de BuChE peuvent être augmentés à 120 % de l'état physiologique [1,2].

La stratégie actuelle pour le développement de nouveaux médicaments contre la maladie d'Alzheimer (MA) consiste à développer une inhibition multi-cibles, telle que l'inhibition des activités de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BuChE) [3,4].

Des études ont montré que certains composés hétérocycliques ont une variété d'activités biologiques. Le thiazole est une classe de composés hétérocycliques importants [5]. Le groupe des thiazoles est le groupe pharmacodynamique clé dans le domaine des médicaments de synthèse et des produits chimiques agricoles [6-8]. Il existe dans une variété de composés actifs biologiques, tels que le talipiprazole, le thiabendazole et le riluzole. Des études récentes ont montré que les analogues du thiazole ont une activité inhibitrice contre la glycosylation, le diabète et le cholinestérase [9-11].

Parmi les méthodes de la modélisation moléculaire on trouve le docking (amarrage). Le docking moléculaire *in silico* vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à

partir des molécules isolées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont des petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [12].

Notre travail a pour but de rechercher *in silico* des inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase, pour cela on utilise la méthode de docking moléculaire avec le programme MOE. Une étude des propriétés ADME a été ajoutée sur les meilleurs composés obtenus par l'étude de docking afin d'évaluer leurs propriétés et de sélectionner ceux qui ne posent pas de problème avec la biodisponibilité orale.

Ce travail sera organisé en trois chapitres:

Le premier chapitre: Description générale sur la maladie d'Alzheimer et inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase.

Dans Le deuxième chapitre: expose quelques notions fondamentales sur le docking moléculaire et aussi sur la propriété ADME (Absorption Distribution Métabolisme Elimination)

Dans le troisième chapitre: Nous avons analysé et discuté les résultats obtenus.

On conclura ce travail par une conclusion générale.

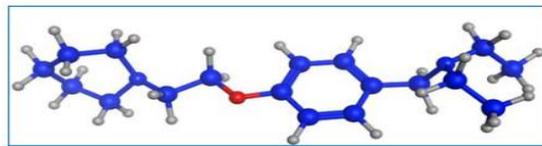
Références bibliographique

- [1] K. Gholivand, Z. Hosseini, S. Farshadian, et al., Synthesis, characterization, oxidative degradation, antibacterial activity and acetylcholinesterase/ butyrylcholinesterase inhibitory effects of some new phosphorus(V) hydrazides, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (11) (2010), 5130–5139.
- [2] A. Pda, A. Spm, A. Psgn, et al., Highly potent and selective aryl-1,2,3-triazolyl benzylpiperidine inhibitors toward butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease, *Bioorg. Med. Chem.* 27 (6) (2019), 931–943.
- [3] W. Huang, G.G. Yang, Microwave-assisted, one-pot syntheses and fungicidal activity of polyfluorinated 2-benzylthiobenzothiazoles, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006), 8280–8285.
- [4] F. Rahim, H. Ullah, M.T. Javid, A. Wadood, M. Taha, M. Ashraf, A. Shaikat, M. Junaid, S. Hussain, W. Rehman, R. Mehmood, M. Sajid, M.N. Khan, K.M. Khan, Synthesis and β -glucuronidase inhibitory activity of 2-arylquinazolin-4(3H)-ones, *Bioorg. Chem.* 62 (2015), 15.
- [5] L. Blau, R.F. Menegon, G.H. Trossini, J.V. Dutra Molino, D.G. Vital, R.M. Cicarelli, G.D. Passerini, P.L. Bosquesi, C.M. Chin, Design, synthesis and biological evaluation of new aryl thiosemicarbazone as antichagasic candidates, *Eur. J. Med. Chem.* 67 (2013), 142–151.
- [6] G. Ghotbi, M. Mahdavi, Z. Najafi, F. H. Moghadam, M. Hamzeh-Mivehroud, S. Davaran, & S. Dastmalchi, Design, synthesis, biological evaluation, and docking study of novel dual-acting thiazole-pyridiniums inhibiting acetylcholinesterase and β -amyloid aggregation for Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 103 (2020), 104186.
- [7] A. Pda, A. Spm, A. Psgn, et al. Highly potent and selective aryl-1,2,3-triazolyl benzylpiperidine inhibitors toward butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease, *Bioorg. Med. Chem.*, 27 (6) (2019), 931-943.
- [8] Basawaraj R, Suresh M and Sangapure SS. Synthesis and pharmacological activities of some 2-arylamino/arylidene hydrazine-4-(5'-chloro-3'-methylbenzofuran-2'-yl)thiazoles. *Indian J. Heterocycl. Chem.*, 15,153(2005); 153-156.
- [9] K. M. Khan, M. Irfan, M. Ashraf, M. Taha, S. M. Saad, S. Perveen, M. I. Choudhary, Synthesis of phenyl thiazole hydrazones and their activity against glycation of proteins, *Med. Chem. Res.* 24(7), (2015), 3077.
- [10] G. Turan-Zitouni, A. Ozdemir, Z. A. Kaplancikli, M. D. Altintop, H. E. Temel, G. A. Çiftçi, Synthesis and biological evaluation of some thiazole derivatives as new cholinesterase inhibitors, *J. Enz. Inh. Med. Chem.* (2013), 28 509.
- [11] L. Blau, R.F. Menegon, G.H.G. Trossini, J.V. Dutra Molino, D.G. Vital, R.M. Barretto Cicarelli, G.D. Passerini, P.L. Bosquesi, C.M. Chin, *Eur. J. Med. Chem.* 67 (2013), 142151.
- [12] Kitchen D-B et al, Docking and Scoring in virtual screening For dring discovry: methods and application, *Nat .Rev .Drug.Discov.* 3, (2004), 935-49.

Chapitre I

MALADIE D'ALZAHMER

Conception de médicaments à base de ligands (Docking)



cerveau sain



la maladie d'Alzheimer



inhibition significative de
AUCH et BUCHE

Etude moléculaire docking sur de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase

I.1 INTRODUCTION

Le cerveau est l'organe le plus complexe, son étude a toujours été délicate. Plusieurs pathologies altèrent l'intégrité de cet organe essentiel. Parmi ces pathologies on retrouve les pathologies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer (MA). Cette maladie touchant un nombre ne croissant de personnes est devenue en quelques années un problème de santé publique majeur [1]. La MA est la plus fréquente des démences, communément définies comme l'ensemble des maladies caractérisées par des troubles du comportement et des fonctions intellectuelles associées à des lésions spécifiques du cerveau. C'est un diagnostic difficile tout au moins dans les phases initiales de la maladie. Même si dans les phases évoluées, le diagnostic est souvent aisément posé, la certitude ne peut reposer que sur l'étude post-mortem du cerveau. C'est une maladie qui atteint surtout les personnes âgées et sa fréquence augmente avec l'âge. Elle peut aussi apparaître à un âge plus jeune chez des personnes ayant encore une activité professionnelle et chargées de famille ; elle pose alors des difficultés particulières. Mais c'est essentiellement une maladie de la vieillesse. C'est une maladie fréquente : on estime à plus de 300 000 le nombre de personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer et à plus de 500 000 celui des personnes atteintes de démence [2]

La maladie d'Alzheimer (MA) en est la principale cause (environ 70% des cas) (Helmer et al., 2006). Les autres formes de démences les plus fréquentes sont les démences vasculaires (10%) et les démences mixtes (environ 20%) (Lobo et al., 2000). Dans le but de mieux appréhender les processus menant à la MA pour améliorer la prise en charge des patients, il est nécessaire de bien définir cette pathologie. [2-5].

I.2 Historique

La MA a été décrite pour la première fois par le Dr. Alois Alzheimer. Lors d'une conférence en 1906, il expose le cas d'une patiente, Auguste D., admise à l'hôpital de Francfort pour des troubles psychiatriques (figure 1). Alzheimer détaille de multiples symptômes tels qu'une mémoire et une compréhension réduites, une aphasie, une désorientation, une conduite imprévisible, de la paranoïa, des hallucinations auditives et des troubles psychosociaux marqués. Suite au décès de la patiente, l'étude de son cerveau a mis à jour la présence de plaques amyloïdes (PA) et une dégénérescence neurofibrillaire (DNF) (figure 2). C'est en 1910 que Kraepelin parle de cette démence sénile sous le nom de maladie d'Alzheimer [6].

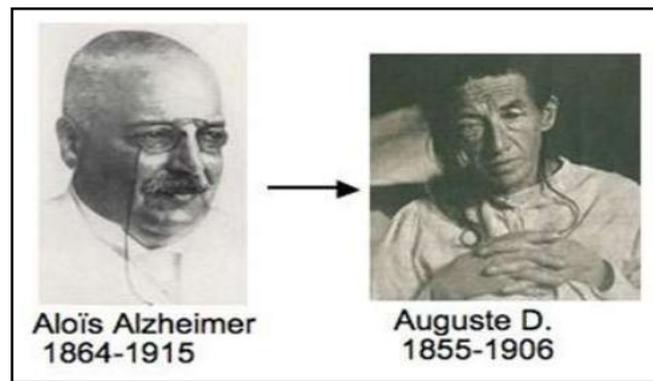


Figure 1: Alois Alzheimer a suivi la patiente Auguste Deter

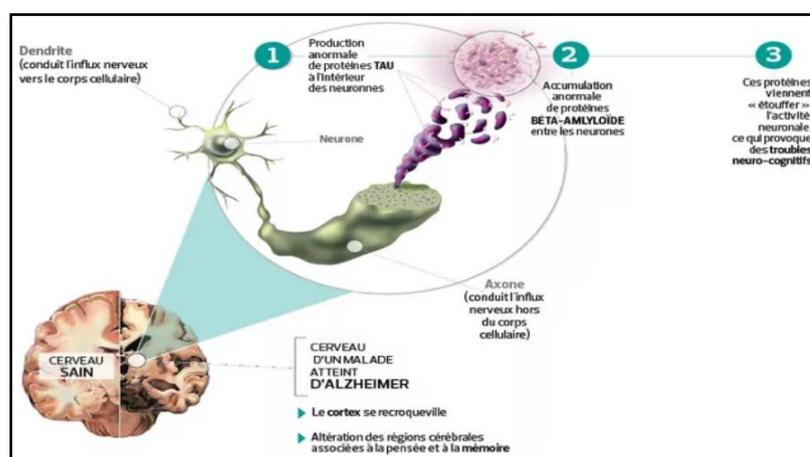


Figure 2: La maladie Alzheimer

I.3 Qu'est-ce que la maladie d'Alzheimer?

I.3.1 Description clinique

La maladie d'Alzheimer est une dégénérescence progressive du cortex cérébral qui entraîne la démence chez des personnes d'âge mûr ou avancé. On n'a pas encore trouvé la cause définitive de cette maladie, ni de traitement efficace. Sur le plan clinique, la maladie d'Alzheimer est le résultat d'une déplétion progressive des neurones dans le cortex et dans d'autres zones du cerveau (figure 3). Le cerveau d'une personne décédée des suites de cette maladie présente deux caractéristiques: des plaques (accumulation de protéine amyloïde bêta (figure 3) [1, 7-9] à l'extérieur des cellules du cerveau, les neurones) et des enchevêtrements neurofibrillaires (fibres tordues, semblables à des ficelles, dans les neurones lésés). Les anomalies biochimiques qui accompagnent une lésion des neurones comprennent des dépôts de protéine amyloïde dans les vaisseaux sanguins du cerveau et la formation de plaques séniles; une perturbation du métabolisme phospholipidique de la membrane des cellules

nerveuses; et une réduction des niveaux des neurotransmetteurs comme l'acétylcholine, la sérotonine, la norépinéphrine et la somatostatine. Sans biopsie, il est extrêmement difficile de diagnostiquer la maladie, étant donné que d'autres affections, dont bon nombre peuvent être traitées, peuvent présenter les mêmes symptômes au début.

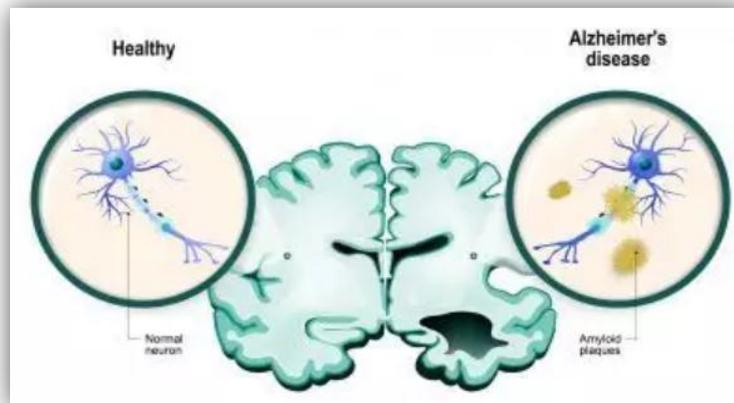


Figure 3: Accumulation de protéine amyloïde bêta

On connaît deux formes principales de la maladie: la forme précoce, qui atteint les sujets dans la quarantaine et la cinquantaine, qui ne touche qu'un pourcentage infime des victimes et dont il existe une sous-catégorie héréditaire appelée la maladie d'Alzheimer familiale, et la forme tardive, qui frappe après 65 ans et est de loin la plus répandue.

I.3.2 Évolution de la maladie

L'évolution de la maladie est très variable d'un patient à l'autre. Elle dépend notamment de l'âge de la personne malade au moment du diagnostic, de son état de santé général et de l'apparition ou du développement d'autres pathologies.

On distingue trois stades dans la maladie d'Alzheimer [6, 10, 11] :

Stade léger: Environ 25 % de l'hippocampe diminue en volume et le lien entre mémoire à court terme et à long terme se fait plus difficilement. Le déficit cognitif est subtil : le patient a des oublis bénins de noms ou d'événements récents qui s'intensifient avec le temps.

Stade modéré: D'autres zones du cerveau sont touchées, ce qui engendre des troubles du comportement, des gestes, du langage et de la reconnaissance. La personne atteinte

d'Alzheimer a besoin d'une aide pour certaines activités (se déplacer, gérer son budget, faire à manger...).

Stade sévère: Les lésions progressent et la récupération des informations est quasiment impossible : les événements et informations passés disparaissent de la mémoire. La défaillance des cellules cérébrales est importante. Le patient, atteint de démence, a perdu son autonomie pour presque tous les actes de sa vie quotidienne.

I.4 Les causes

Une combinaison de facteurs propres à chaque individu pourrait être à l'origine de la maladie d'Alzheimer. Parmi les facteurs qui augmentent le risque de développer la maladie d'Alzheimer, notons : l'âge, les facteurs génétiques, les traumatismes crâniens, les maladies cardiovasculaires, l'obésité, le syndrome métabolique, l'hypertension non-contrôlée et le diabète [12].

Le plus important de ces facteurs de la maladie d'Alzheimer:

- ⇒ Vieillesse: La majorité des patients infectés après l'âge de soixante ans ;
- ⇒ Le facteur génétique: Repose sur des études épidémiologie révélant l'existence d'antécédents familiaux de la maladie chez 15% des sujets atteints ;
- ⇒ Les maladies qui affectent les vaisseaux sanguins dans le cerveau ;
- ⇒ Les blessures graves à la tête augmentent les risques d'infection [12];
- ⇒ Une perte des neurones;
- ⇒ Une perte des synapses : ce sont les jonctions entre les neurones par lesquelles passe le message chimique;
- ⇒ Une neuroinflammation;
- ⇒ Une baisse des facteurs de croissance.

I.5 Les différents facteurs de influence de la MA

- **Troubles de la mémoire:** La maladie d'Alzheimer débute habituellement par des troubles de la mémoire, les premiers symptômes consistant en des pertes de souvenirs récents (amnésie) qui se manifestent initialement par des distractions mineures qui s'accroissent avec la progression de la maladie, tandis que les souvenirs plus anciens sont relativement préservés [3, 13].

- **Troubles du langage et de la compréhension:** Chez la personne qui souffre d'une maladie d'Alzheimer, ou d'une autre forme de démence, le langage se modifie. Dans une première période il devient imprécis; pour combler ce déficit, la personne fait usage de sous-entendus, de périphrases, ou de phrases dont certaines parties sont omises.
- **Désorientation dans l'espace et le temps:** Souvent les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer sont désorientées dans le temps et dans l'espace, et confondent les personnes. L'horloge interne, grâce à laquelle nous savons à peu près quand il faut passer à table ou aller se coucher, paraît également dérégulée.
- **Changement d'humeur ou de comportement:** Un malade peut changer brutalement d'humeur, passant du calme aux pleurs ou à la colère, sans raison apparente, dans des circonstances qui d'ordinaire ne provoqueraient pas une réaction pareille. Ces émotions extrêmes sont causées par la maladie, elles ne constituent pas une réaction à ce qui vient de se produire.
- **Hallucinations et délires:** A cause du mauvais fonctionnement de leur cerveau, les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer ont parfois des hallucinations visuelles ou auditives qui sont généralement désagréables, et elles sont convaincues de la réalité de cette fausse sensation. En commettant des erreurs dont elles ne sont pas conscientes, elles inventent et fabulent, particulièrement en mélangeant passé et présent.

Tous ces facteurs influencent le Changement de personnalité et manque d'enthousiasme. Chez le malade, ces changements peuvent être très prononcés. D'ouvert et confiant, il devient renfermé et méfiant. Il peut être davantage sujet à l'apathie et à la peur. Ainsi, pendant des heures, un malade peut demeurer immobile dans un fauteuil ou rester tranquille sans avoir envie de rien faire. La personne s'arrête de parler et se replie sur elle-même, peut-être à cause d'une difficulté à communiquer [14].

I.6 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, par exemple:

- ⇒ Exercice physique régulier;
- ⇒ Régime alimentaire de type méditerranéen (une étude très récente a confirmé le bénéfice de ce régime alimentaire contre le déclin cognitif);

- ⇒ Caféine à dose modérée (1 à 2 tasses journalières) ;
- ⇒ Facteurs psychosociaux : haut niveau d'éducation, activité intellectuelle stimulante, relations sociales riches, activités variées [15] ;
- ⇒ Eviter de la consommation de tabac [14, 16].

I.7 Traitement de la maladie d'Alzheimer

Actuellement, il n'existe aucun traitement curatif de la maladie. Les traitements proposés aux malades n'empêchent en aucun cas la dégénérescence et la mort neuronale. Ils permettent cependant le ralentissement de la progression des symptômes cognitifs de la maladie.

I.7.1 Les traitements médicamenteux

Quatre médicaments sont actuellement sur le marché. La majorité d'entre eux empêche la dégradation des neurotransmetteurs essentiels au transport neuronal des informations.

- **Inhibiteurs d'acétylcholinestérase**

Les inhibiteurs d'acétylcholinestérase (IACHÉ, figure 4) bloquent la dégradation de l'acétylcholine, augmentant sa quantité dans la fente synaptique. Ils sont approuvés pour le traitement de la maladie du stade initial à modéré. Quatre représentants de cette famille sont disponibles : La tacrine, le donépézil, la rivastigmine et la galantamine.



Figure 4: Les inhibiteurs d'acétylcholinestérase

- **Antagoniste des récepteurs NMDA: la Mémantine**

La mémantine, un antagoniste des récepteurs NMDA du glutamate (figure 5), a été approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en 2003 pour le traitement de la MA de modérée à avancée. Elle permet de moduler l'affinité des récepteurs NMDA envers le glutamate, molécule responsable d'une excitation toxique du système nerveux. Ainsi, elle contribue au ralentissement des pertes de fonctions cognitives voire une amélioration chez certains patients. La mémantine est par ailleurs bien tolérée par les malades.



Figure 5: La mémantine (récepteurs NMDA du glutamate)

I.7.2 Les traitements non médicamenteux

Ce type d'intervention vise à préserver les capacités intactes du patient et à améliorer sa qualité de vie. En fonction de l'évolution de la maladie et des besoins du malade, différents types d'intervention peuvent être mis en œuvre comme des ateliers artistiques impliquant par exemple de la peinture ou de la sculpture, des ateliers corporels mettant en œuvre de la médecine douce ou des ateliers cognitifs. Pour le traitement des symptômes neuropsychiatriques, de nombreuses interventions non pharmacologiques ont été étudiées en maisons médicalisées. Elles impliquent l'écoute de la musique, le visionnage de vidéos des membres de la famille, des enregistrements audio de la voix des personnels de soin, de la marche et des exercices légers, de la stimulation sensorielle ou encore de la relaxation.

I.7.3 Nouvelles approches thérapeutiques

De nombreux mécanismes sont impliqués dans la pathologie d'Alzheimer. Ainsi, les approches thérapeutiques sont multiples.

- **Modulation de la neurotransmission**

La MA est caractérisée par une perte précoce des neurones cholinergiques, conduisant à un déclin de la transmission cholinergique, qui peut être améliorée par les IACHé ou par modulation des récepteurs muscariniques et nicotiniques à l'acétylcholine.

- **Thérapeutique Tau**

Différentes stratégies peuvent être envisagées pour lutter contre la tauopathie, comme des inhibiteurs de kinases, des stabilisateurs de microtubules, la dégradation de Tau hyperphosphorylée ou l'immunisation

- **Thérapie antiamyloïde**

Pour lutter contre les PA les différentes stratégies envisagées sont l'inhibition ou la modulation des sécrétases, des inhibiteurs d'agrégations du peptide, le développement d'anticorps anti-A β ou des inducteurs du catabolisme du peptide [6, 17].

I.7.4 Les traitements par les plantes médicinales

Quelques plantes et aliments alternatifs pour les malades d'Alzheimer:

- **L'huile de coco**

Dans le cas d'Alzheimer, Mary Newport a montré que l'introduction d'huile de coco dans l'alimentation, complétée par une huile de triglycérides à chaînes moyennes (TCM), permettait de stabiliser la mémoire, mais aussi de favoriser un retour de la personnalité et des interactions sociales. La scientifique a partagé de récentes études réalisées sur les TCM : ces cétones possèderaient également des propriétés anti-inflammatoires et contribueraient à diminuer les graisses et l'appétit, en plus d'agir sur le vieillissement prématuré.

- **Sauge et Cranberry**

Deux plantes offrent ici des pistes prometteuses. Une recherche récente montre l'efficacité de la prise de sauge officinale (*Salvia officinalis*) pour ralentir la dégradation cérébrale de l'acétylcholine (par inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase), confirmant l'utilité déjà avérée de la plante pour l'amélioration de la cognition et de la mémoire et en accompagnement des Alzheimer modérés. Le cranberry a quant à lui montré récemment, dans des modèles animaux, un effet protecteur contre la toxicité des plaques amyloïdes, probablement par le biais de ses OPC, des poly-phénols souvent présents dans les fruits rouges [18].

Il existe de nombreuses herbes telles que: Cannelle, des noisettes, thym, basilic, Romarin

I.8 Généralité sur les neurotransmetteurs, Cholinestérases et les inhibiteurs de Cholinestérases

I.8.1 Neurotransmetteur

La communication cellulaire dans le système nerveux SN est assurée principalement par un processus nommé la transmission synaptique chimique (Figure 6). Cela consiste à la mise en place d'un complexe anatomo-fonctionnel mettant en jeu 3 acteurs principaux : un neurone présynaptique, une synapse et une cellule postsynaptique (nerveuse/glandulaire/musculaire). La synapse chimique est un espace entre la cellule pré et post synaptique où les neurotransmetteurs seront libérés. Dans un premier temps, les neurotransmetteurs vont être synthétisés au niveau du neurone présynaptique et être encapsulés dans des vésicules de transports permettant leur adressage en direction de la fente synaptique. La libération du neurotransmetteur contenu dans les vésicules s'effectue alors via une exocytose. La membrane vésiculaire va fusionner avec la membrane plasmatique neuronale présynaptique pour permettre la libération du neurotransmetteur [19].

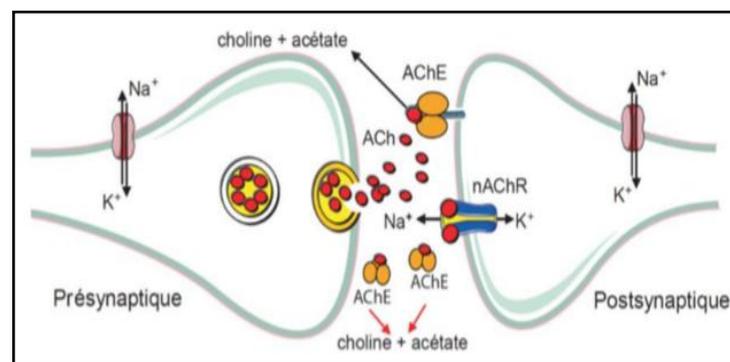


Figure 6: Représentation du fonctionnement d'une synapse cholinergique en fonctionnement normal

- A. **L'acétylcholine**, abrégée en **ACh**, est un neurotransmetteur qui joue un rôle important aussi bien dans le système nerveux central, où elle est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage, que dans le système nerveux périphérique, notamment dans l'activité

musculaire et les fonctions végétatives. L'acétylcholine est un ester produit par l'enzyme choline acétyltransférase à partir de l'acétyl-CoA dont l'action est médiée par les récepteurs nicotiniques et muscariniques.

B. La butyrylcholine (BCh) est un composé chimique de formule $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$. C'est une molécule synthétique qui n'est pas présente naturellement dans le corps humain. Structurellement très semblable à l'acétylcholine $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, elle présente un effet physiologique cholinergique et est un substrat des cholinestérases, qui l'hydrolysent en ion butyrate $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$ et en choline $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$. Cependant, l'affinité de l'acétylcholinestérase des neurones pour la butyrylcholine est sensiblement moindre que celle de la butyrylcholinestérase pour cette molécule, ce qui permet de différencier ces deux enzymes [20].

I.8.2 Cholinestérases

En biochimie, une cholinestérase est une enzyme qui catalyse la réaction d'hydrolyse d'un ester de la choline (acétylcholine, butyrylcholine) en choline et en acide acétique. En physiologie, cette réaction est nécessaire pour permettre aux récepteurs cholinergiques de revenir à leur état de repos après activation.

A. Type de Cholinestérase

⇒ **L'acétylcholinestérase**

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme clé du système nerveux. Cette enzyme dégrade l'acétylcholine (ACh), un neurotransmetteur ayant un rôle central dans le système nerveux car il est impliqué dans de nombreuses fonctions physiologiques.

⇒ **La butyrylcholinestérase**

La butyrylcholinestérase (BChE) est une cholinestérase exprimée chez plusieurs espèces animales (primates, rongeur...). Chez l'humain, la BChE et l'AChE partagent environ 50% d'homologie de séquence, et ont des structures tertiaires et quaternaires proches [21]. Contrairement à l'AChE, son rôle physiologique n'est pas bien caractérisé. Cette enzyme est capable d'hydrolyser à la fois la butyrylcholine et l'ACh. La BChE est principalement présente dans le plasma et le foie, suivi en plus faible proportion de la peau et des muscles de

la jambe alors que les sources principales d'AChE sont les muscles, le cerveau et la peau. Cependant, globalement, l'humain possède 10 fois plus d'BChE que d'AChE [22]. De plus, la BChE a pu avoir un rôle compensatoire si l'AChE ne pouvait pas exercer sa fonction correctement, et être une trace phylogénique dont le rôle a été modifié au cours de l'évolution.

I.8.3 Inhibiteurs de cholinestérases (IChEs)

Les IChEs (figure 7) sont des molécules qui permettent de renforcer la transmission cholinergique. En effet, ils inhibent de manière réversible l'action de l'AChE et de la BuChE qui sont les enzymes chargées d'hydrolyser l'acétylcholine.

L'augmentation des taux d'acétylcholine contribue à soulager les symptômes [23].

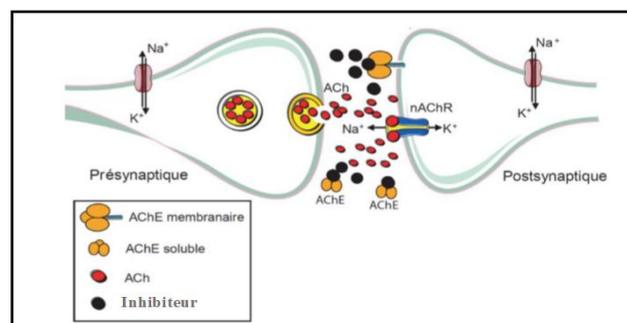


Figure 7: Inhibiteurs de cholinestérases

Les inhibiteurs enzymatiques peuvent agir de façon réversible ou irréversible sur leur cible [24].

- Inhibition irréversible quand l'inhibiteur se fixe au niveau du site actif de l'enzyme en formant une liaison covalente avec celle-ci. Dans ce cas, l'enzyme est inactivée et ne peut plus jouer son rôle au sein de l'organisme
- Inhibitions réversibles, dans cette configuration l'inhibiteur va créer des liaisons non covalentes (ex : liaisons de Van der Waals, liaisons hydrophobes, liaisons hydrogènes, liaisons ioniques, liaisons dipôle-dipôle, transfert de charge, liaisons ion-dipôle) (ex : Pyridostigmine, Physostigmine, Donépézil). Ce type de liaisons a pour conséquence de modifier les structures tertiaires et/ou quaternaires des enzymes pour empêcher le bon fonctionnement de celle-ci.

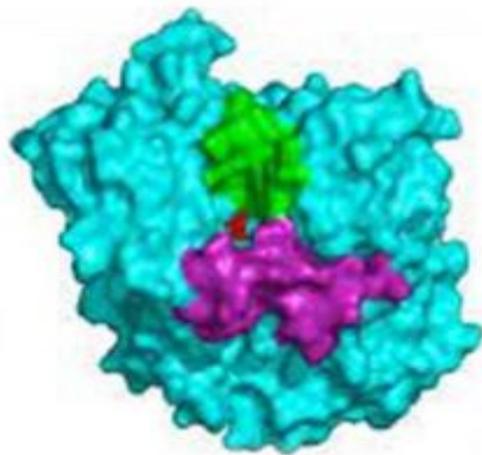
Références bibliographiques

- [1]. Daissa F, Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions : Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivées.. Mémoire de master. 2018, P:66.
- [2]. J.-F. Girard, la maladie d'Alzheimer. conseiller d'état . Ana canestri , interne de santé publique.2000, p:5
- [3]. Geoffroy L, Rôle des ADAM dans le processus physiopathologique de la maladie d'Alzheimer.these de doctora.2010, p:15
- [4]Alzheimer's Association, 2019 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimer's & Dementia, 15(3), 2019,321-387.
- [5]. <http://www.maisons-de-retraite.fr/La-sante-des-seniors/Maladie-d-Alzheimer>
- [6]. Marion G, Conception, synthèse et évaluation de composés interagissant avec la dégradation des protéines pour le traitement de maladies neurodégénératives..2015,p:22-23.
- [7].Livingston, G., Sommerlad, A., Orgeta, V., Costafreda, S., Huntley, J., Ames, D., Mukadam, N, Dementia prevention, intervention, and care, The Lancet, 390, 2017, doi:10.1016/S01406736(17)31363-6
- [8].<https://alzheimer-recherche.org/la-maladie-alzheimer/quest-maladie-alzheimer/definition-et-chiffres/>
- [9]. Aboud N, Développement d'une plateforme d'analyse couplant la séparation de peptides amyloïdes à une immuno-détection digitale en gouttes pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer.2016, p:17-18
- [10]. Ouarrad, Oumelbanine, La place des inhibiteurs de cholinestérase dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, Faculté de pharmacie et sciences biomédicales, Université catholique de Louvain, 2020.
- [11]. Brown, Phyllida. «Alzheimer's May Not Be Linked To Aluminum». *New Scientist*, 7 November 1992, p:16.
- [12].<https://www.francealzheimer.org>

- [13]. Pilotaz l'huperzine F A: un nouvel inhibiteur des cholinestérases pour la maladie d'Alzheimer, thèse de doctorat en pharmacie, 1998.
- [14]. Lücker L, Hovaguimian F, Naville A, Groebli A, La maladie d'Alzheimer: parcours du combattant. 2003, p:11-23.
- [15]. <https://www.frm.org/recherches-maladies-neurologiques/maladie-d-lzheimer/alzheimer-facteurs-risques-et-protecteurs>.
- [16]. Stéphane R, Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, Le Médecin du Québec, volume 37(4), 2002.
- [17]. Leslie D, Modèles poisson zèbre de l'intoxication aux organophosphorés cholinergiques et neuropathiques et évaluation de l'efficacité d'antidotes, thèse de doctorat en biochimie, 2020.
- [18]. <https://www.plantes-et-sante.fr>
- [19]. Hugon G, Impact de l'exposition aux inhibiteurs réversibles (Donépézil) et irréversibles (l'organophosphoré NIMP) des acétylcholinestérases sur les mécanismes cérébraux étudié par imagerie moléculaire, Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay, 2022, p:17-28.
- [20]. R. O. Davies, A. V. Marton et W. Kalow, « *The action of normal and atypical cholinesterase of human serum upon a series of esters of choline* », *Revue canadienne de biochimie et physiologie*, 38(6), 1960, p: 545-551.
- [21]. Pope CN, Brimijoin S. Cholinesterases and the fine line between poison and remedy. *Biochem Pharmacol.* 2018, 153:205–16.
- [22]. Lockridge O. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacol Ther.* 2015, 148:34–46.
- [23]. Parsons, C. G., Danysz, W., Dekundy, A., & Pulte, I. Memantine and cholinesterase inhibitors: complementary mechanisms in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurotox Res*, 24(3), 2013, 358-369. doi:10.1007/s12640-013-9398-z.
- [24]. El hadj kenza S, Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire, Mémoire de master en chimie Organique, 2016.

Chapitre II

Docking moléculaire et ADME



II.1 Introduction

Les interactions protéine-ligand sont fondamentales pour presque tous les processus se produisant dans les organismes vivants. La transmission du signal médiée par les ligands via la complémentarité moléculaire est essentielle à tous les processus vitaux; ces interactions chimiques comprennent la reconnaissance biologique au niveau moléculaire. L'évolution de la fonction protéique dépend en partie du développement de sites hautement spécifiques conçus pour lier des ligands de petites molécules avec des affinités adaptées aux besoins de la cellule. La coopérativité dans la liaison du ligand est d'une importance cruciale pour la régulation des fonctions biologiques concurrentes. La régulation des processus cellulaires via des interactions coopératives protéine-ligand se produit par des mécanismes moléculaires impliquant des transitions conformationnelles de protéines entre des états de faible et de haute affinité. Par conséquent, les interactions de liaison au ligand sont utilisées pour faire basculer les protéines entre des états de fonction différente. Des exemples allant du transport du dioxygène à l'expression génique sont présentés. Les structures des complexes protéine-ligand à résolution atomique rendent possible la conception de médicaments à petites molécules pour le traitement des maladies [1]. Au cours des processus de découverte et de développement de médicaments, qui prennent du temps et des ressources, un grand nombre de structures moléculaires sont évaluées selon des paramètres très divers afin d'orienter la sélection des produits chimiques à synthétiser, tester et promouvoir, dans le but final d'identifier ceux qui ont les meilleures chances de devenir un médicament efficace pour les patients. Les molécules doivent présenter une activité biologique élevée avec une faible toxicité. L'accès et la concentration à la cible thérapeutique dans l'organisme sont tout aussi importants. La manière traditionnelle de considérer la pharmacocinétique (c'est-à-dire le devenir d'un composé thérapeutique dans l'organisme) consiste à décomposer les différents effets qui impactent l'accès à la cible en paramètres individuels. A leur tour, ces paramètres ADME (pour Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion) peuvent être évalués séparément par des méthodes dédiées. Il a été démontré que l'estimation précoce de l'ADME dans la phase de découverte réduit considérablement la fraction d'échecs liés à la pharmacocinétique dans les phases cliniques¹. Les modèles informatiques ont été encouragés comme une alternative valable aux procédures expérimentales pour la prédiction de l'ADME, en particulier aux étapes initiales, lorsque les structures chimiques étudiées sont nombreuses mais que la disponibilité des composés est rare [2].

Quels sont le logiciels de Docking moléculaire ?

Dans le domaine de Docking moléculaire, plusieurs logiciels ont été utilisés pour étudier les différentes interactions et les conformations les plus favorables du ligand au sein de son récepteur. Actuellement, un grand nombre de logiciels de Docking moléculaire sont disponibles tels que: GOLD, AUTODOCK, AUTODOCK VINA, FLEXX, SURFLEX, MOLEGRO VIRTUAL DOCKER, UCSF CHIMERA [3]. Par exemple : L'Auto Dock : est un programme utilisé pour le docking protéine-ligand. Il s'agit d'un ensemble de procédures, dont le but de prédire l'interaction de petites molécules, telles que des médicaments candidats « ligand » ou des substrats à un récepteur dont la structure 3D est connue [4].

II.2 Définition de l'amarrage moléculaire

L'amarrage moléculaire est un outil clé de la biologie moléculaire structurale et de la conception de médicaments assistée par ordinateur. L'objectif de l'amarrage ligand-protéine est de prédire le ou les modes de liaison prédominants d'un ligand avec une protéine de structure tridimensionnelle connue. Les méthodes d'amarrage réussies recherchent efficacement des espaces de grande dimension et utilisent une fonction de notation qui classe correctement les amarrages candidats. L'amarrage peut être utilisé pour effectuer un criblage virtuel sur de grandes bibliothèques de composés, classer les résultats et proposer des hypothèses structurelles sur la façon dont les ligands inhibent la cible [5], Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand) [6].

II.3 Composants de l'amarrage moléculaire

Le docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring.

- 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 celles qui représentent les modes d'interaction les plus favorables. Bien que pouvant être faite manuellement, cette étape est le plus

souvent exécutée de manière automatisée à l'aide d'algorithmes de docking, ce qui améliore la vitesse et la précision des simulations.

- La deuxième (scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente. Cette tâche est accomplie par des outils informatiques nommées fonctions de score. Celles-ci évaluent d'abord les différentes contributions énergétiques pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonnent ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables [7,8].

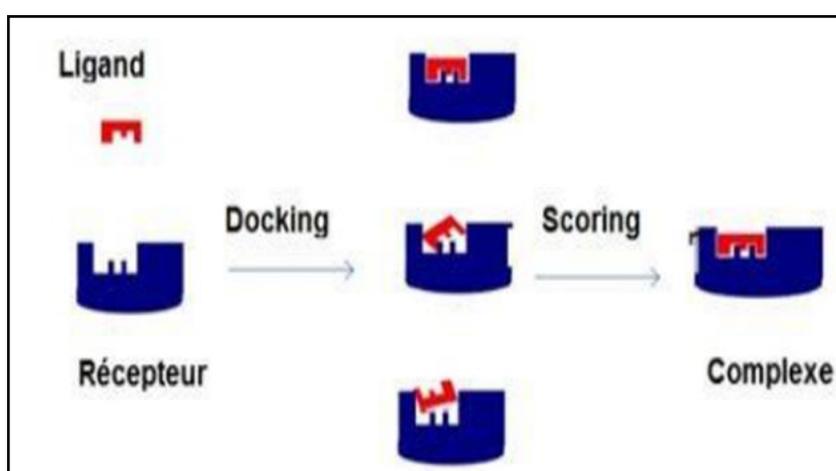


Figure1: Principe général de Docking.

II.4 Fonctions de scores

La procédure de docking permet de générer une liste de complexes représentant les modes d'association favorables entre le ligand et le récepteur macromoléculaire. L'étape suivante consiste à évaluer ces complexes, afin de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel. L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques : les interactions hydrophobes, les interactions électrostatiques et les liaisons hydrogène [9].

II.5 Les outils du Docking moléculaire

II.5.1 Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux. Le choix du ligand est une étape très importante dans le Docking moléculaire, il doit être sous forme 3D. Pour y obtenir,

il existe deux moyens : la première souvent d'aspect commercial ; est constituée de bases de données de structures chimiques appelés : chimio thèques Le second moyen consiste à utiliser ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.)[10].

II.5.2 Les récepteurs

Cette étape préliminaire du docking moléculaire est consiste au téléchargement des structures chimiques (Enzyme dans notre cas). La plupart des structures sont disponibles via la «Protein Data Bank » (<http://www.pdb.org>) et téléchargés sous forme PDB. Protein Data Bank ou PDB est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) de macromolécules biologiques : protéines essentiellement et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées. Par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN [11]. Dans notre cas nous avons téléchargées deux protéines l'acétylcholinestérase et le butyrylcholinestérase.

- Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le Docking est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable. Les paramètres du calcul de Docking sont :
 - ⇒ L'état initial du ligand (position, orientation et conformation aléatoire ou Précise)
 - ⇒ Dimensions de la grille à utiliser
 - ⇒ Enfin lancer le processus de Docking [12].

II.6 Les étapes de Docking moléculaire

Quatre étapes sont principalement employées pour la modélisation du système protéine - ligand.

1. Détermination des structures;
2. Préparation des structures;
3. Docking;
4. Prédiction /Evaluation [13].

II.7 Représentations simplifiées des phénomènes de Docking moléculaire

L'échantillonnage conformationnel, la prédiction informatique des géométries expérimentales de petites protéines (repliement) ou de complexes protéine-ligand (amarrage), est souvent cité comme l'un des problèmes d'optimisation multimodale les plus difficiles. En

raison de l'extrême robustesse du paysage énergétique en fonction de la géométrie, l'heuristique d'échantillonnage doit reposer sur un compromis approprié entre les efforts de recherche globaux et locaux [14].

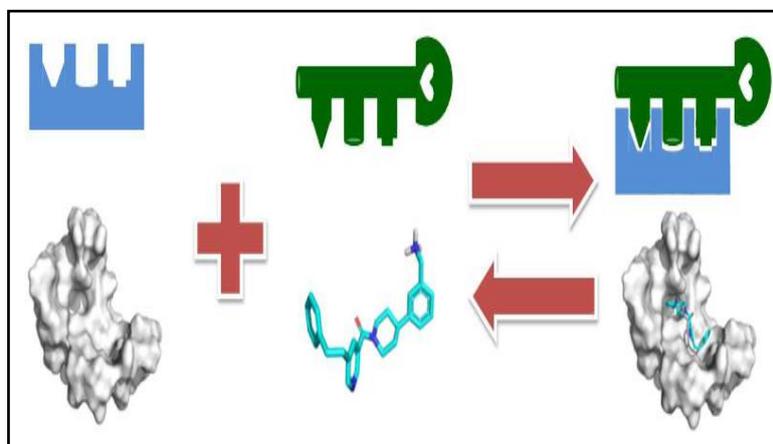


Figure 2: Le modèle clé-serrure pour modéliser la formation d'un complexe RL à partir d'un ligand L et d'un récepteur R

II.8 Types de Docking

Il existe trois types de Docking moléculaire:

Le Docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéineligand en considérant que chacune des deux molécules étant une entité rigide tout en conservant une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte. Cependant, il est tout à fait concevable que les structures de la protéine et du ligand soient modifiées durant le processus de Docking moléculaire afin d'optimiser au mieux l'interaction entre les deux entités. On parle, dans ce cas, de Docking flexible [15].

Entre les deux modes existe le Docking semi-flexible, où les partenaires d'interaction sont partiellement déformables. En général, le récepteur est traité comme étant rigide et le ligand comme étant totalement flexible, se sont imposés, car elles permettent d'obtenir des résultats plus précis.

II.9 Interaction protéine-ligand

Le Docking moléculaire permet l'étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation du complexe ligand récepteur stable. Cette association est assurée grâce à plusieurs types de liaisons faibles:

II.9.1 La liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une force attractive qui s'opère entre deux groupes d'atomes impliquant un atome d'hydrogène. Cette liaison ne s'effectue pas avec n'importe quel atome. Il faut un donneur et un accepteur (sous-entendu de proton) :

- Le donneur est l'atome d'hydrogène lié de manière covalente à un atome électronégatif ; typiquement azote, oxygène, fluor.
- L'accepteur est un autre atome électronégatif, uniquement azote, oxygène ou fluor. La liaison hydrogène est donc le résultat d'une interaction dipôle-dipôle

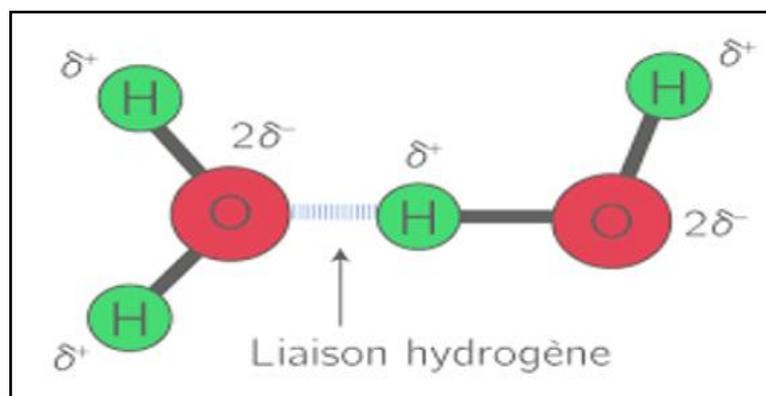


Figure 3: La liaison Hydrogène

II.9.2 Interactions hydrophobes

Les acides aminés dont le radical est hydrophobe et apolaire ont la propriété d'empêcher la formation des liaisons hydrogène entre les molécules d'eau. Ils forment dans la structure des protéines des zones hydrophobes où les molécules d'eau ne peuvent échanger aucune liaison avec les radicaux d'acides aminés.

II.9.3 Interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques elles se forment lorsque deux groupements chimiques porteurs de charges opposées, se trouvent à une distance l'une de l'autre suffisamment proche pour créer une force d'attraction électrostatique entre elles.

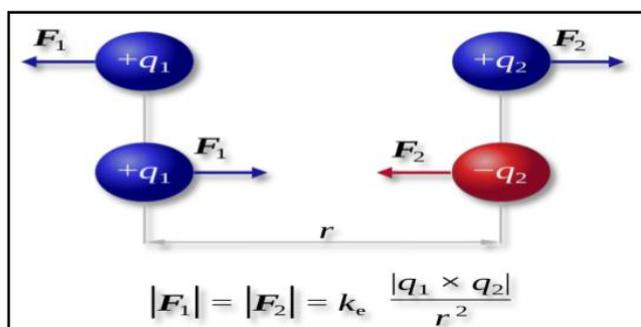


Figure 4: Les interactions électrostatiques

II.9.4 Les forces de Van Der Waals

Ces forces résultent de l'interaction des nuages électroniques d'atomes ou de molécules proches les uns des autres. Pour des atomes distants de 3-4 Å, l'énergie de liaison est seulement comprise entre 0.4 et 4 kJ/mol. Les interactions de Van der Waals sont très faibles [16].

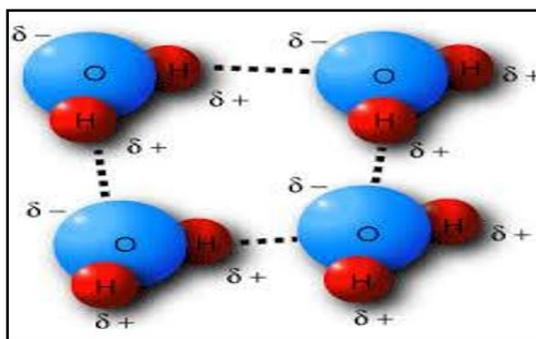


Figure 5: Les interactions de Van der Waals

II.10 Protocole de Docking moléculaire

La reconnaissance moléculaire est obtenue grâce à la complémentarité des structures de surface moléculaires et de l'énergétique avec, le plus souvent, des changements conformationnels mineurs associés. Cette complémentarité peut prendre plusieurs formes: interaction charge-charge, liaison hydrogène, interaction de van der Waals, taille et forme

des surfaces. Nous décrivons une méthode qui exploite ces caractéristiques pour prédire les sites d'interactions entre deux molécules apparentées compte tenu de leurs structures tridimensionnelles. Nous avons développé une "représentation cubique" de la surface et du volume moléculaires qui nous permet non seulement de concevoir un algorithme simple pour une recherche en six dimensions mais aussi de permettre implicitement les effets des changements conformationnels causés par la formation complexe [17].

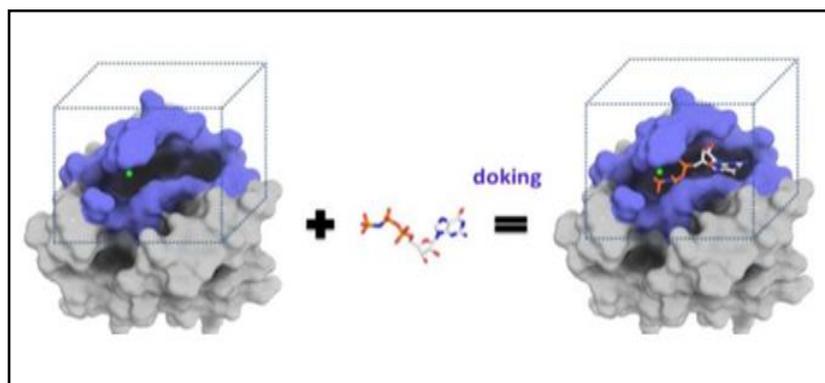


Figure 6: Représentation schématique du Docking moléculaire

II.11 Paramètres Drug-Like

La similarité médicamenteuse ou « Drug likeness » est un concept qualitatif utilisé en Drug Design pour estimer combien une molécule est « Drug-Like » en ce qui concerne des facteurs comme la biodisponibilité. Drug likeness peut être défini aussi comme un équilibre complexe de diverses propriétés moléculaires et caractéristiques de structure qui déterminent si une molécule particulière est similaire aux médicaments connus. Ces propriétés, principalement l'hydrophobicité, la distribution électronique, les caractéristiques de liaison hydrogène, la taille et la flexibilité des molécules et la présence. Les critères les plus utilisés pour l'espace chimique de type médicamenteux sont la règle de Lipinski et Veber [16].

II.11.1 Règle de Lipinski

La règle des cinq de Lipinski, également connue sous le nom de règle des cinq de Pfizer ou simplement la règle de cinq (RO5), est une règle empirique pour évaluer la ressemblance avec un médicament ou déterminer si un produit chimique composé avec une certaine pharmacologie ou biologique l'activité a des propriétés chimiques et des propriétés physiques ce la en ferait un médicament probablement actif par voie orale chez l'homme. La règle a été formulée par Christopher A. Lipinski dans 1997, partant du constat que la plupart des

médicaments administrés sont relativement faibles et modérément molécules lipophiles [18]. Comportent cinq critères physico-chimiques qui décrivent la molécule:

- Masse moléculaire ≤ 500 Da;
- Log P ≤ 5 ;
- Accepteurs de liaisons H ≤ 10 ;
- Donneurs de liaisons H ≤ 5 .

II.11.2 Les règles Veber

Suggèrent que la flexibilité moléculaire et la surface polaire (PSA) sont des déterminants importants de la biodisponibilité orale. Pour une biodisponibilité orale idéale, il existe deux autres descripteurs identifiés par Veber et al [16]:

- Le nombre des liaisons rotatives ≤ 10 ;
- La surface polaire (PSA) $\leq 140 \text{ \AA}^2$.

II.12 Pharmacocinétique

La pharmacocinétique c'est l'étude quantifiée du devenir des médicaments dans l'organisme [19]. Cette discipline permet ainsi de relier les doses de médicaments administrées aux concentrations sanguines observées, et de décrire leur évolution en fonction du temps. Parmi les notions fréquemment utilisées en pharmacocinétique, citons : La biodisponibilité désigne la fraction de la dose de médicament administrée qui atteint la circulation systémique, et la vitesse à laquelle elle l'atteint. Elle reflète principalement la phase d'absorption [5]. Elle permet de déterminer les paramètres caractérisant l'ADME:

- Absorption appelée aussi (résorption)
- Distribution
- Métabolisme: appelée aussi (biotransformation)
- Elimination : appelée aussi (excrétion)

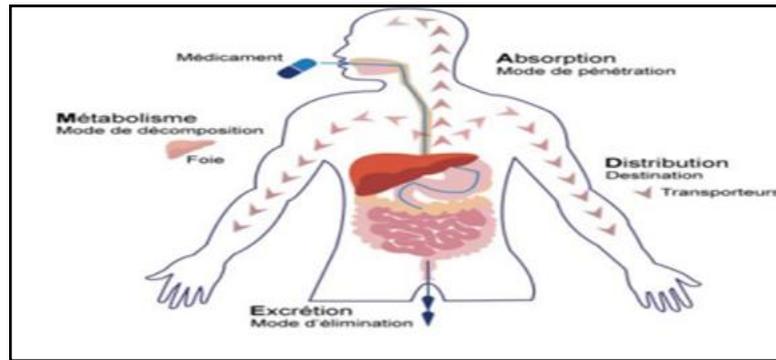


Figure 7: Schéma de l'étude d'un médicament son administration dans l'organisme

⇒ Absorption

Passage du médicament de son site d'administration jusqu'au plasma, au travers de membranes biologiques est souvent nécessaire que le principe actif soit libéré de la forme galénique : dissolution du comprimé, ou de la paroi de la gélule. Plusieurs phénomènes interviennent ensuite dans l'absorption des médicaments : d'une manière schématique, on peut distinguer des phénomènes d'absorption actifs et des phénomènes d'absorption passif

⇒ Distribution

La distribution, qui correspond à la diffusion du médicament dans les différents tissus de l'organisme, est également influencée par le caractère plus ou moins lipophile du principe actif, ainsi que par son affinité pour différents tissus : os, tissu adipeux, ... donc Fraction de la dose de médicament administrée qui atteint la circulation générale et vitesse à laquelle elle l'atteint

⇒ Metabolism

Le métabolisme correspond à la transformation du médicament par l'organisme. Cette transformation est essentiellement réalisée par des réactions impliquant des enzymes. Pour les médicaments, il est usuel de séparer en deux groupes les réactions impliquées dans le métabolisme

⇒ Elimination

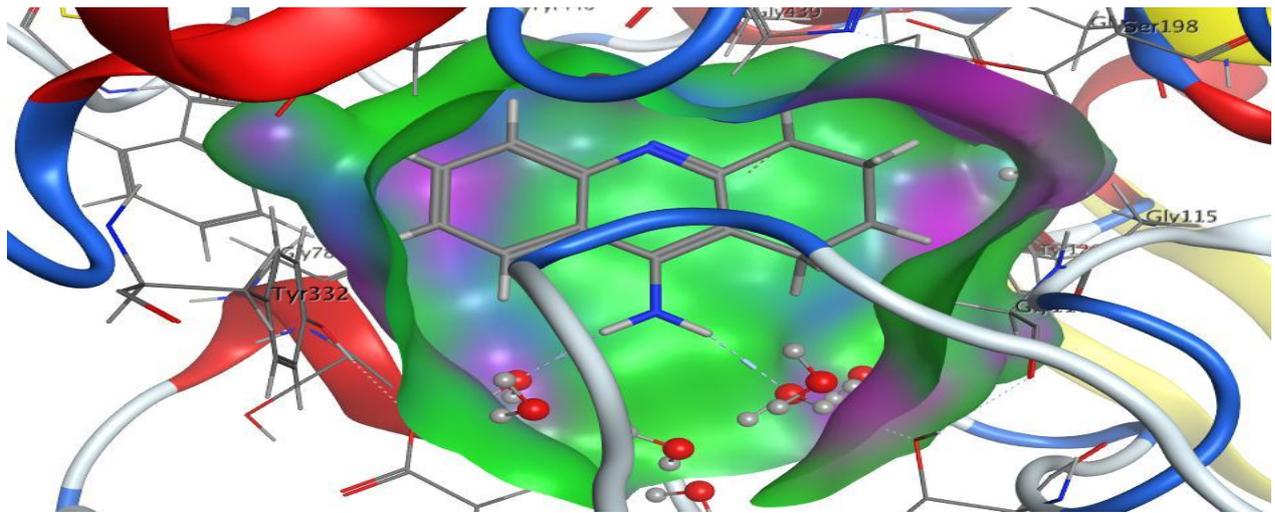
L'élimination d'un médicament de l'organisme peut se faire par différentes voies : urinaire, respiratoire (dans l'air expiré), cutanée (par la sueur), salivaire, ou dans le lait maternel. Les voies principales sont l'élimination par les reins dans les urines, et l'élimination par le foie. Pour un certain nombre de voie d'élimination, un phénomène de réabsorption du médicament peut être rencontré, qui contribue à diminuer ou ralentir l'élimination du médicament [5, 18].

Références bibliographiques

- [1] .Dunn, M. F.; Protein Ligand Interactions General Description. In eLS; American Cancer Society, 2010
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470015902.a0001340.pub2>
- [2].SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small moecules. (2017).
- [3]. G. Bitencourt-Ferreira, and W. F. de Azevedo.Docking with SwissDock. Docking Screens for Drug Discovery, (2019). DOI: 10.1007/978-1-4939-9752-7_12
- [4] .<http://autodock.scripps.edu/>
- [5] . Daissa F, Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions : Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivées.. Mémoire de master. (2019), p:23-28.
- [6].Morris, G. M.; Lim-Wilby, M., MethodsMolecular docking . Methods Mol Biol, , 443, (2008), 365-382.
- [7]. Mr ayachi H , Doctorat, Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire: cas du diabète de type 2 .p:26
- [8].Docking and scoring in virtualscreening for drug discovery: methods and applications.(2004).
- [9].N. Foloppe, R. Hubbard. Towards predictive ligand design with free-energy based computational methods? Current Medicinal Chemistry 13, (2006), 3583-3608.
- [10].Monge. A, Création et utilisation de chimiothèques optimisées pour la recherche « in silicos de nouveaux composés bioactifs, Thèse de doctorat, Université d'Orléans, France, (2006).
- [11].https://fr.wikipedia.org/wiki/Protein_Data_Bank
- [12]. Zerdaoui S ,Bounasla S .Docking moléculaire de deux flavones naturelscontre l'acétylcholinestérase et le butylcholinestérase, (2020), p:23,24
- [13].Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications." Nature reviews Drug discovery, 3(11): 935-949.

- [14].Local vs. Global Search Strategies in Evolutionary GRID-based Conformational Sampling & Docking. June 2009. DOI:10.1109/CEC.2009.4982955. Source :IEEE Xplore .Conference: Evolutionary Computation, (2009). CEC '09. IEEE Congress on
- [15].Thiriote 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 d'université : Chimie informatique et théorique. Nancy: Université de Nancy. France., (2009), p:291.
- [16] .Hazhazi N , Ben yahoub M ,Conception In Silico De Nouveaux Composés Antiviraux. Mémoire de master.(2021), p:22-27
- [17], F Jiang et al. J Mol Biol. "Soft docking": matching of molecular surface cubes. PMID: (1991), 2023263 .
- [18]. Dr. Dhrubo jyoti S , certified journal.*corresponding author: dr. Dhrubo jyoti sen. Department of pharmaceutical chemistry, school of pharmacy, techno india university, salt lake city, sector-v, em-4, kolkata-700091, West bengal, india. (2021), p:207. Wwww.wjahr.com
- [19]Pharmacocinétique.frantz foissac, urc-cic cochin necker.diu infirmiers et tec en recherche clinique. (2014).

Chapitre III Résultats et Discussion



III.1 Introduction

L'inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE) est le premier choix pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA), mais il présente certains défauts, tels qu'une limitation de la dose et un effet thérapeutique à long terme insatisfaisant. Des études récentes ont montré que les inhibiteurs de la butyrylcholinestérase (BChE) ou les inhibiteurs doubles de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase ont de meilleurs effets curatifs sur la MA, et que les effets secondaires sont inférieurs à ceux des inhibiteurs spécifiques de l'acétylcholinestérase. Les inhibiteurs du cholinestérase à double cible sont devenus un nouveau point chaud dans la recherche de médicaments anti-MA [1, 2].

Ce travail consiste à étudier les interactions entre une série nouvellement synthétisée contenant 30 molécules avec l'enzyme de l'Acétylcholinestérase (AChE), et de Butyrylcholinestérase (BChE) par méthode de la modélisation moléculaire, docking moléculaire en utilisant le logiciel MOE.

Une étude des propriétés ADME a été ajoutée sur les meilleurs composés obtenus par l'étude de docking afin d'évaluer leurs propriétés et de sélectionner ceux qui ne posent pas de problème avec la biodisponibilité orale.

Au niveau de ce chapitre, nous présentons la discussion des résultats obtenus au cours de calcul effectués, sachant que cette discussion est basée sur deux paramètres : l'énergie (Score) et les distances des interactions existantes entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme (résidus de site actif) et les inhibiteurs en question [3].

III.2 Méthodes et matériels

Pour réaliser cette étude nous disposons des logiciels suivants :

- Les « propriétés QSAR » de l'HyperChem 8.03 a été utilisé pour calculer les paramètres suivants: La polarisabilité (Pol), la réfractivité molaire (MR), le coefficient de partage octanol/eau (log P), le volume molaire (MV), la surface Moléculaire (SAG) et le poids moléculaire (MW).
- Logiciel MOE [6] a été utilisé pour faire le docking et de calculer les propriétés suivantes: Le nombre des Liaisons hydrogène donneur et accepteur (HBD, HBA), Superficie de la surface polaire (PSA), le nombre de liaison rotatif (nrotb), et aussi. Ces descripteurs sont utilisés pour l'identification des composés "drug-like".

Les étapes qu'on a suivies au cours de notre étude sont schématisées dans la Schéma suivant (Figure 1).

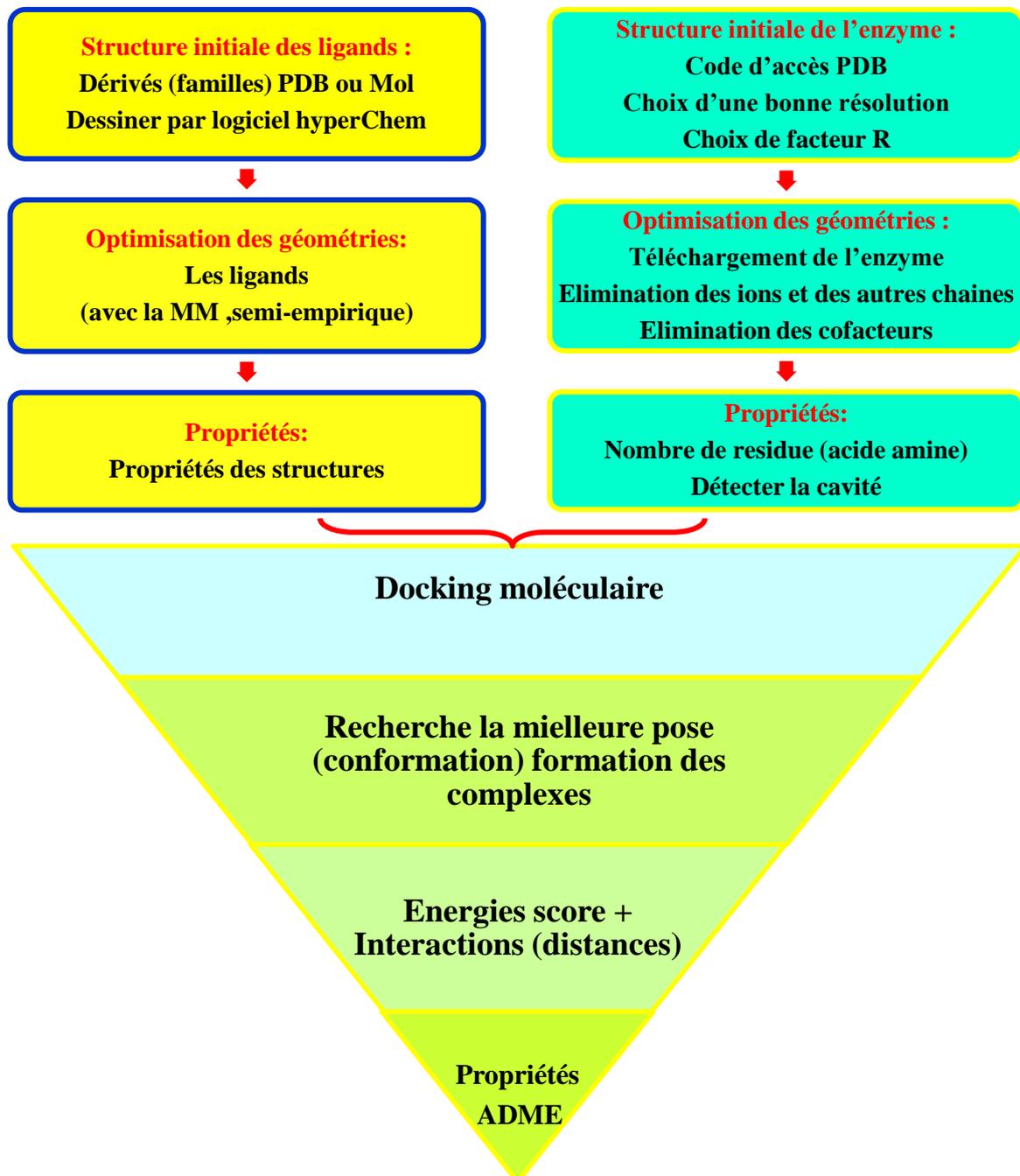


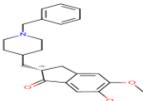
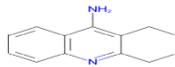
Figure 1 : Protocol du calcul

III.2.1 Préparation de l'enzyme

⇒ Téléchargement des enzymes à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb) [7].

- Acétylcholinestérase (**AChE**) (PDB ID: 1EVE) [8]. Elle est Co-cristallisée avec l'inhibiteur Donépezil (tableau 1) [9].
- Butyrylcholinestérase (**BChE**) (PDB ID: 4BDS) [10]. Elle est Co-cristallisée avec l'inhibiteur Tacrine (tableau 1) [11].

Tableau 1: Résumé des composants chimiques du Donépezil et de la Tacrine.

Name	Donépezil	Tacrine
Identifiants	1-benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-indanon-2-yl)methyl]piperidine	1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-amine
Formula	C ₂₄ H ₂₉ N O ₃	C ₁₃ H ₁₄ N ₂
Molecular Weight	379.49	198.26
synonyms	E2020	THA
Structure		

- Les structures 3D de nos enzymes ont été obtenues par diffraction en rayon X. Le tableau 2 regroupe tous les informations sur les deux enzymes.

Tableau 2: Données cristallographique de l'acétylcholinestérase et de Butyrylcholinestérase

Enzyme	Inhibiteur de Co-cristaliation	Classification	Chain	Nombre des résidus	Masse Molaire (uma)	Résolution (Å)
Acétylcholinestérase						
AChE (PDB ID: 1EVE)	Donépezil	Serine hydrolase	A	534	60238.6	2.50
Butyrylcholinestérase						
BChE (PDB ID: 4BDS)	Tacrine	hydrolase	A	524	58002.6	2.10

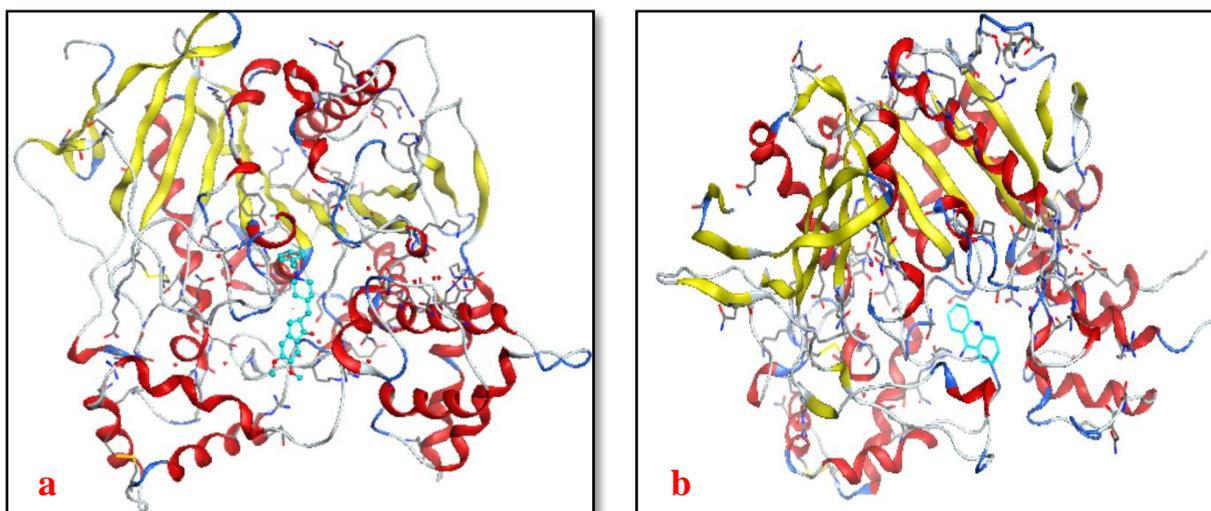


Figure 4: Acétylcholinestérase (a) et butyrylcholinestérase (b) simplifiée

III.2.2 Préparation des inhibiteurs

Les inhibiteurs (Ligands) utilisés dans notre travail sont des dérivés de Thiazol.

Les thiazoles sont une classe importante de composés hétérocycliques présents dans de nombreuses molécules biologiquement actives telles que le thiobendazole (médicament anthelminthique) [12], et le talipexzol (médicament antiparkinsonien) [13]. Son application trouve également dans le développement de médicaments pour le traitement de l'inflammation [14]. Récemment, des analogues du thiazole ont également été signalés comme agent antiglycant, antidiabétique et comme puissant inhibiteur du cholinestérase [15-17]

Les 30 inhibiteurs [14, 18, 19] (figure 5) sont dessinés en utilisant le logiciel Hyperchem 8 et en suite l'optimisation de la géométrie de ligand a été effectuée à l'aide du champ de forces (MM+), suivi par une optimisation de la méthode semi-empirique AM1 [20], pour déterminer la conformation la plus stable. Ensuite, ces ligands ont été réoptimisées en utilisant le logiciel gaussien 09 avec la bases 6-311G (d ,p). Cette étape est essentielle avant le processus de docking.

Les structures chimiques des ligands utilisés dans l'étude de docking moléculaire sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3: Structures chimiques des ligands L1-L30

ligands	Structures	ligands	Structures
L1		L9	
L2		L10	
L3		L11	
L4		L12	
L5		L13	
L6		L14	
L7		L15	
L8		L16	

L17		L24	
L18		L25	
L19		L26	
L20		L27	
L21		L28	
L22		L29	
L23		L30	

 Carbone et Hydrogène
  Soufre
  Azote
  Oxygène

III.2.3 Propriétés des ligands

Le tableau 4 regroupe quelques propriétés des ligands (inhibiteurs)

Tableau 4: Quelques propriétés des ligands L1-L30 et ligands de référence (L_{réf D}: Donépezil, L_{réf T}: Tacrine)

Ligands	EH (kcal /mol)	Pol (A ³)	MM (uma)	SAG (A ²)	Vol (A ³)	REF (A ³)	Logp
L1	-12,41	38,29	372,83	536,15	995,77	108,14	-0,10
L2	-14,48	36,46	358,80	517,69	950,82	103,67	-1,06
L3	-11,82	40,92	451,22	559,27	1049,20	115,68	-0,05
L4	-8,72	38,47	382,69	520,73	972,08	107,38	1,24
L5	-11,37	36,46	358,80	475,04	935,05	103,67	-1,06
L6	-8,95	38,92	357,06	539,53	1016,26	108,80	1,65
L7	-6,65	46,98	413,92	363,35	1025,72	134,35	1,84
L8	-5,62	46,20	410,96	584,64	1185,87	128,19	2,42
L9	-14,40	35,97	328,82	456,86	921,15	101,50	-0,03
L10	-9,90	40,80	363,86	502,08	1014,37	116,15	1,76
L11	-11,19	46,75	419,93	573,67	1177,09	133,08	1,71
L12	-6,63	49,93	442,02	682,32	1266,28	135,37	3,29
L13	-7,79	36,45	327,83	493,19	938,47	102,23	1,84
L14	-16,23	37,72	359,83	511,07	982,43	105,93	-0,33
L15	-20,46	35,89	357,81	463,67	958,62	101,16	-0,36
L16	-13,92	38,84	368,41	554,56	1035,23	109,80	-0,87
L17	-15,84	37,00	354,38	528,98	981,64	105,33	-1,83
L18	-16,08	37	354,38	534,90	980,48	105,33	-1,83
L19	-9,98	39,01	378,28	537,74	1006,04	109,04	0,47
L20	-10,85	39,47	353,44	564,75	1053,74	110,46	0,88
L21	-7,41	47,52	421,52	388,57	1121,57	136,00	1,06
L22	-16,30	36,51	324,40	482,88	957,35	103,16	-0,80
L23	-11,15	41,34	359,45	513,54	1047,93	117,81	0,99
L24	-13,09	47,29	415,51	599,10	1212,13	134,74	0,93
L25	-8,53	50,48	437,60	707,65	1300,62	137,03	2,52
L26	-9,60	36,99	323,41	512,63	973,87	103,89	1,07
L27	-9,69	36,99	323,41	518,60	973,14	103,89	1,07
L28	-12,72	40,10	369,44	584,37	1080,27	112,36	-1,07
L29	-18,06	38,27	355,41	540,95	1021,78	107,59	-1,10
L30	-23,63	36,43	341,38	496,42	961,08	102,82	-1,14
Lref D	-3,56	43,76	378,51	654,25	1138,08	119,47	2,97
Lref T	-4,15	23,82	198,27	392,25	631,94	66,80	0,52

EH : Energie d'hydratation, POL : Polarisabilité, MM : Masse molaire, SAG : Surface area grid,

VOL: Volume, Ref : Réfractivité, LogP: Lipophile (Coefficient de partage)

D'après le tableau 4 nous remarquons que:

- Les ligands L30, L29, L18, L17, L15 et L14 ont les plus faibles valeurs d'énergie d'hydratation par rapport aux autres ligands et le ligand de référence Lréf.
- L'énergie d'hydratation(EH) en valeurs absolue, les plus importantes sont celle des ligands L30, L15 (-23.63), (-20.46) en ordre.
- La polarisabilité et la réfractivité molaire augmente avec la masse molaire et le volume, par exemple, les ligands L25 et L12 portent des substituant volumineux (deux atome d'oxygène, 2 cycles), L12 (atome d'oxygène, chlorure et 2 cycles) ont des valeurs importantes de la polarisabilité (50.48\AA^3), (49.93\AA^3) et la réfractivité molaire (137.03\AA^3), (135.37\AA^3) respectivement.

III.2.4 Propriétés de l'enzyme (détection des cavités)

La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui a la forme d'une cavité.

Le logiciel MOE 2014 [6] nous a permis d'identifier et présenter les résidus qui forment les sites actifs (les cavités) en utilisant le module « Site Finder ».

Après utilisations le module site Finder (figure5 a et b), nous avons trouvé 19 cavités enzymatiques pour 1EVE (et 22 cavités pour 4BDS), et nous avons choisi la cavité 1 parce qu'elle est la plus favorable pour faire notre étude. Elle possède le volume le plus important, aussi contient le ligand de Co-cristallisation de l'enzyme (Donépézil pour 1EVE et Tacrine pour 4BDS voir figure 6 a et b).

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	153	3.80	56	90	1:(GLN69 TYR70 VAL71 ASP72 SER81 TRP84 ASN85 PRO86 GLY117 GLY118 GLY119 TYR121 SER122 TYR130 GLU199 SER200 ALA201 TRP233 TRP279 LEU282
2	60	0.94	22	40	1:(PRO232 TRP233 ALA234 SER235 VAL236 SER237 GLU240 ARG244 LEU282 PRO283 PHE284 SER286 ARG289 PHE290 VAL293 PRO361 HIS362)
3	42	0.55	22	37	1:(SER79 GLY80 MET83 VAL129 ALA427 ASM429 LEU430 VAL431 TYR442 GLU445 LEU450 LEU456 TYR458)
4	27	0.13	9	20	1:(LEU31 GLY32 TRP58 ASN59 ALA60 SER61 THR62 TYR63 PRO64 ASN65 ASP93 TYR96)
5	36	0.06	17	42	1:(ARG468 HIS471 TYR472 THR475 PRO482 ASN483 GLU484 SER487 GLU489 SER490 LYS491 PRO509 MET510)
6	48	0.05	13	33	1:(ASN230 PRO232 GLU386 HIS362 ASP397 HIS398 CYS402 PRO403 HIS406 TRP524 ASN525 PRO529)
7	43	-0.00	12	28	1:(MET405 HIS406 ASN409 LYS410 GLN600 ARG515 LEU516 VAL518 CYS521 VAL522 ASN525 GLN526)
8	19	-0.16	10	19	1:(PHE422 ASN424 PHE502 ASP504 HIS513 GLN514 ARG515 LEU516 ARG517)
9	15	-0.20	4	8	1:(HIS181 PRO191 LYS192 THR193 VAL194 ASP217 LEU218 PHE219 ARG220 LYS315)
10	27	-0.23	18	29	1:(ARG349 MET353 VAL356 LYS357 LEU368 ASP369 THR372 LEU373 TRP378)
11	23	-0.24	8	22	1:(SER108 THR109 THR110 GLU139 GLU140 VAL141 HIS471 ALA474 THR475 LYS478 GLU484)
12	25	-0.38	5	10	1:(THR412 GLY415 ASN416 GLY417 THR418 LEU494 PHE495 THR496)
13	12	-0.39	5	20	1:(LYS325 ASP326 ARG388 ASP389 ASP392 ASP393 TRP435)
14	14	-0.42	7	13	1:(ASP2 HIS3 SER4 GLU5 LEU7 VAL8 ASN9 LYS14 ARG105)
15	12	-0.44	7	21	1:(ASN324 LYS325 ASP326 ASP393 ASP397 ILE401 PHE422 ARG517)
16	18	-0.48	9	11	1:(TYR375 THR376 ASP377 LYS386 ASN387 ASP389 GLY390 ASP393)
17	10	-0.68	2	4	1:(PRO229 ASN230 CYS231 PRO232 ALA234 SER235 LEU385)
18	10	-0.89	5	9	1:(ASP285 PRO337 SER354 LYS357 LEU358)
19	9	-1.01	6	9	1:(TRP58 ASN59)

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	153	3.80	56	90	GLN69, TYR70, VAL71, ASP72, SER81, TRP84, ASN85, PRO86, GLY117, GLY118, GLY119, TYR121, SER122, TYR130, GLU199, SER200, ALA201, TRP233, TRP279, LEU282, SER286, ILE287, PHE288, ARG289, PHE290, PHE330, PHE331, TRP334, GLY335, HIS406 .

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	192	3.77	60	104	1:(ASN68 ILE69 ASP70 GLN71 SER72 GLY78 SER79 TRP82 TYR114 GLY115 GLY116 GLY117 GLN119 THR120 GLY121 THR122 LEU125 TYR128 GLU197
2	131	1.33	34	58	1:(PRO230 TRP231 VAL233 THR234 GLU238 ARG242 VAL280 PRO281 TYR282 GLY283 THR284 LEU286 SER287 VAL288 ASN289 PHE357 PHE358 PRO359
3	182	1.28	32	47	1:(PHE227 ASN228 ALA229 PRO230 TRP231 ALA232 VAL235 SER235 MET302 PRO383 ASP384 ILE385 GLU388 ASP395 TYR396 CYS400 PRO401 GLU404
4	40	0.47	13	33	1:(HIS577 MET61 HIS126 VAL127 SER425 LYS427 LEU428 PRO429 TYR440 GLU443 LEU448 ASP454 TYR455)
5	31	0.44	7	23	1:(GLY30 TYR61 ALA62 ASN63 SER64 THR66 TYR94 LEU95 ASN96 THR122 SER123 SER124 SER143 MET144 ASN145)
6	36	-0.04	11	29	1:(LYS323 ASP324 THR327 ARG386 GLU387 GLY390 ASP391 TYR420 TRP433 MET434 GLY435 ARG515)
7	28	-0.08	20	27	1:(ILE4 ILE6 GLN17 THR26 PHE28 ILE99 PRO180 ALA181 PRO182 LYS183 PHE185)
8	15	-0.19	9	12	1:(PRO449 LEU450 GLU451 ARG452 ARG453 ASP454 GLN455 TYR456 THR457 LYS458 GLU461)
9	16	-0.25	10	18	1:(ASN18 TYR33 SER48 LEU49 LEU173 GLN176 TRP177 LYS180)
10	17	-0.26	7	14	1:(GLN67 ASN68 ILE69 ASP70 TRP82 ASN83 PRO84 THR128 GLY121)
11	10	-0.28	7	12	1:(TYR373 TRP376 ARG381 ASN384 GLU387 ALA388 ASP391)
12	15	-0.33	8	14	1:(LEU29 GLY30 TRP56 ASN57 ALA58 THR59 LYS60 TYR61 ALA62 TYR94)
13	24	-0.34	8	15	1:(GLN179 PRO189 LYS190 SER191 VAL192 HIS214 SER215 LEU216 PHE217 THR218 LYS313)
14	10	-0.43	7	10	1:(ALA459 ILE462 LEU463 SER466 ASN464 THR505 GLU506 SER507 THR508)
15	16	-0.51	9	14	1:(SER368 PHE371 HIS372 PHE521 PHE525)
16	10	-0.52	9	21	1:(CYS66 LEU88 SER89 GLU90 ASP268 PRO269 GLN270 LEU273)
17	15	-0.58	5	14	1:(GLY23 THR24 VAL25 PRO180 ALA181 ALA134 ARG135 ARG138)
18	25	-0.63	16	22	1:(GLN351 LEU354 LYS355 GLU363 LYS366 GLU367 LEU370)
19	9	-0.64	4	10	1:(LYS487 ALA516 CYS519 ARG520 THR523 SER524)
20	14	-0.66	7	16	1:(HIS372 TYR373 ASP375 GLN517 GLN518)
21	7	-0.74	1	11	1:(SER466 ARG470 SER487 THR488 THR508)
22	11	-0.80	5	14	1:(THR19 VAL20 PHE21 GLY22 GLU451 ARG452 ARG453)

Site	Size	PLB	Hyd	Side	Residues
1	192	3.77	60	104	ASN68, ILE69, ASP70, GLN71, SER72, GLY78, SER79, TRP82, TYR114, GLY115, GLY116, GLY117, GLN119, THR120, GLY121, THR122, LEU125, TYR128, GLU197, SER198, ALA199, TRP231, GLU276, ALA277, VAL280, GLY283, THR284, PRO285, LEU286, SER287, VAL288, ASN289, PHE290, ALA328, PHE329, TYR332, PHE398, TRP430, MET437, HIS438.

Figure 5: Propriétés des cavités de l'enzyme (a) 1EVE (b) 4BDS

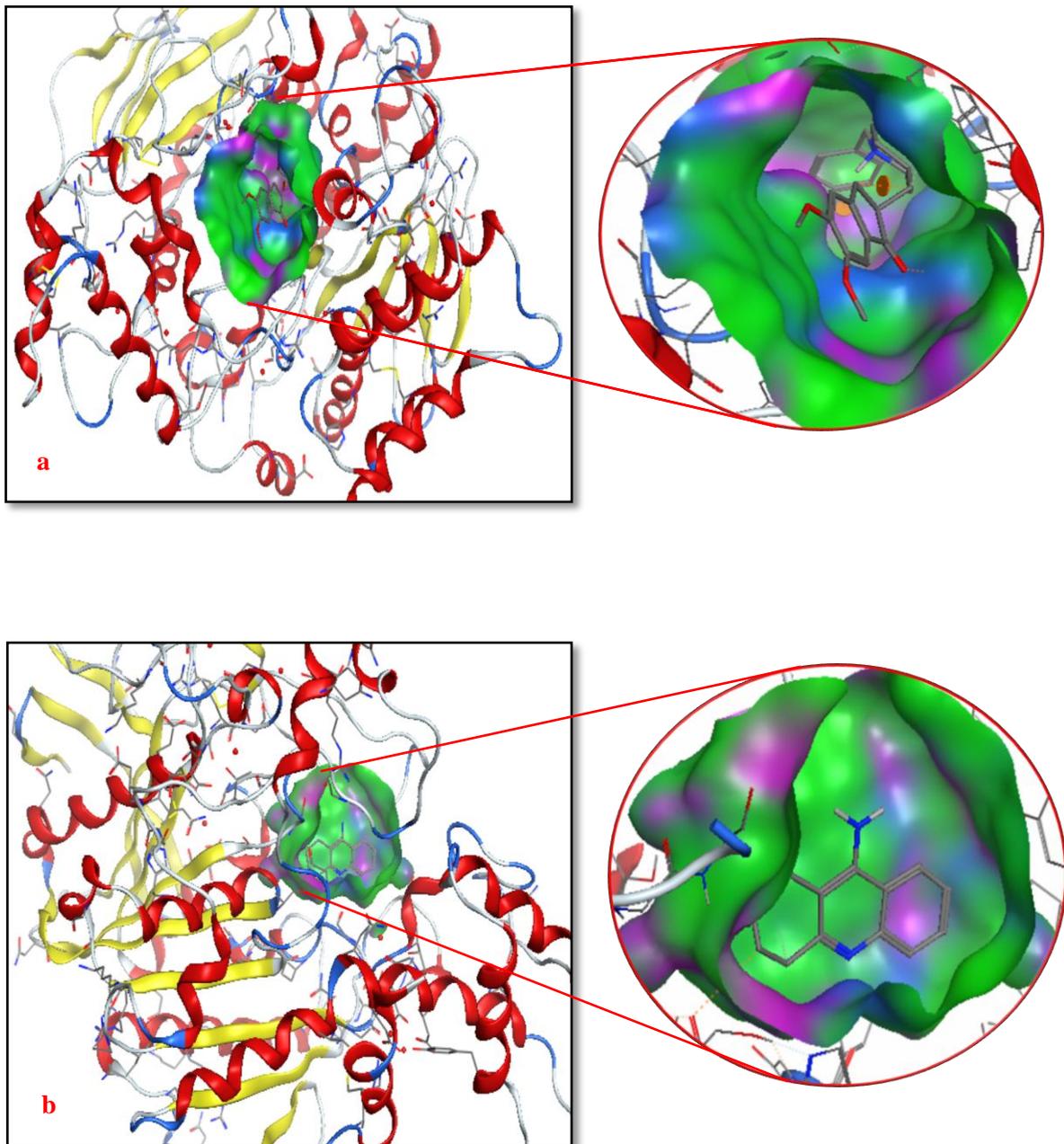


Figure 6: Cavité 1 de l'enzyme (a) 1EVE (b) 4BDS

III.2.5 Etude de docking moléculaire

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur.

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes: le docking et le scoring (figure 7).

- 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 celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- Le scoring est l'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.

L'étude de l'interaction entre les résidus de site actif de la protéine 1EVE (et 4BDS) et les ligands (inhibiteurs) pour former des complexes stables est réalisée à l'aide du logiciel MOE.ils sont présentés dans le tableau 5 suivant:

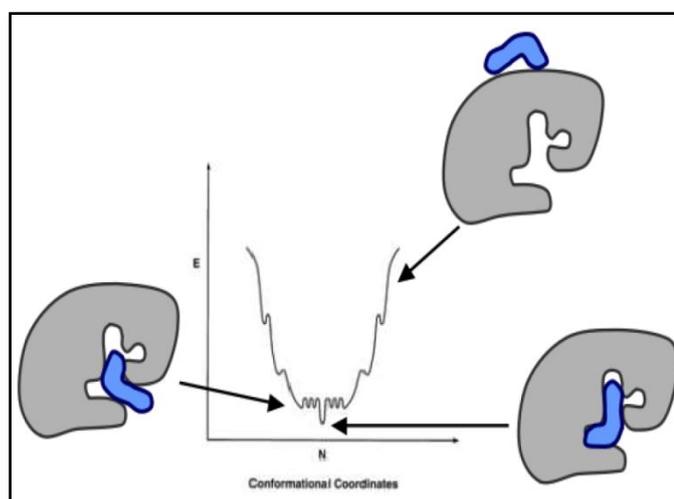


Figure 7: Principe général d'un programme de docking

III.3 Résultats de docking moléculaire

III.3.1 Energie de score et RMSD

Les énergies de score et RMSD pour les différents complexes sont données dans le tableau 5.

Tableau 5: Résultats de SCORE et RMSD de deux enzymes 1EVE et 4BDS avec les ligands étudiés.

Ligands	AChE			BChE		
	IC50 (μM)	S-score (kcal/mol)	RMSD	IC50 (μM)	S-score (kcal/mol)	RMSD
L1	344,8	-7,4270	2,4718	14,81	-7,3616	1,7649
L2	306,5	-7,3326	0,8318	29,62	-6,1888	0,9381
L3	-	-5,2280	1,5005	35,56	-7,4023	1,5136
L4	452,1	-6,1006	0,9391	45,43	-6,0787	1,3156
L5	-	-7,5867	0,9617	37,18	-7,0094	0,9525
L6	348,4	-6,7042	1,0962	112,73	-8,0122	2,6084
L7	412,2	-6,7038	1,0963	1,77	-8,0114	2,6081
L8	159,3	-6,0620	1,5645	42,38	-7,7190	1,4663
L9	355,2	-7,6161	1,1620	7,56	-6,7405	0,8648
L10	321,4	-6,6109	1,1172	23,61	-7,6545	1,9553
L11	211,6	-6,1110	1,0114	30,28	-6,4382	1,7365
L12	93,12	-6,2001	4,5507	6,21	-6,3261	1,2797
L13	357,7	-7,2903	1,6730	113,18	-7,8368	1,3858
L14	85,22	-7,1746	1,4145	8,46	-7,8374	1,3857
L15	21,3	-7,9983	1,8515	1,59	-7,1748	1,5526
L16	379,9	-6,6947	2,4803	216,14	-6,5699	1,6935
L17	376,8	-8,2664	1,5255	389,25	-6,5811	1,6932
L18	363,3	-7,4556	1,7509	318,92	-7,2602	0,8723
L19	36,6	-7,0394	1,9806	263,97	-6,9571	1,8564
L20	35,3	-8,0122	1,2243	389,24	-7,2181	1,4585
L21	305,1	-7,1544	1,5555	87,25	-8,0075	1,9138
L22	91,21	-7,6155	1,3224	151,59	-7,0920	1,8658
L23	368,41	-6,9509	1,9439	49,17	-6,4608	1,0367
L24	44,81	-8,0094	1,7740	161,85	-8,2750	1,8212
L25	48,72	-5,0722	1,3173	96,57	-6,5522	1,5150
L26	211,25	-6,8918	1,5053	99,24	-6,6469	1,7102
L27	94,31	-7,7966	1,4660	219,93	-6,5998	1,1131
L28	46,36	-7,6999	1,3506	144,37	-7,0019	1,2541
L29	-	-7,3337	1,0827	99,85	-7,4051	1,6961
L30	48,2	-7,5263	1,8336	16,54	-6,9948	1,1610
Lréf	0.0057	-10,8934	0,5066	0.025	-5,1789	1,7211

D'après les résultats présents dans le tableau 5 :

1. Concernant l'acétylcholinestérase (AChE)

Les ligands 15, 19, 20, 22, 24, 25, 27, 28 et 30 et présentaient un bon potentiel inhibiteur de l'acétylcholinestérase avec des valeurs IC₅₀ de 21.3, 36.6, 35.3, 91.21, 44.81, 48.72, 94.31, 46,36 et 48,2 µM respectivement. Le ligand 15 a été trouvé le plus puissant inhibiteur de la série.

Les ligands L24, L20, L15, L17, L28 et L27 formant des complexes possèdent les plus petites énergies score par rapport aux autres complexes. Ceci montre que ces ligands peuvent former des complexes stables qui sont classés par l'ordre suivant: L17 < L20 < L24 < L15 < L27 < L28.

L'énergie de score de tous les composés étaient comprises entre -5,0722 et -8,2664 Kcal/mol. Les ligands (L15, L17, L20, L24, L27 et L28) formant les complexes qui possèdent les meilleurs scores par rapport autre complexes.

Afin de valider nos calculs et savoir si nos calculs sont corrects, donc a été validé par RMSD.

Le RMSD est une mesure de distance exprimant la différence de conformation et de position entre une pose et une molécule de référence.

Le Tableau 6 résume les différents intervalles de valeurs RMSD [21].

Tableau 6: Valeurs de RMSD

RMSD	RMSD <1.5	1.5 < RMSD < 3.5	3.5 < RMSD < 6
Structure	Parfait	Acceptable	Inadéquat
Ligand -Donépezil	L20, L27, L28	L15, L17, L24	
Ligand -Tacrine		L24, L21, L6, L7, L13, L14	

2. Concernant la butyrylcholinestérase (BChE)

Les ligands 15, 7, 12, 9, 14, 1 et 30 présentait un bon potentiel inhibiteur de la butyrylcholinestérase avec des valeurs IC₅₀ de 1.59, 1.77, 6.21, 7.56, 8.46, 14.81 et 16.54 μ M respectivement. Le ligand 15 a été trouvé le plus puissant inhibiteur de la série.

La plupart des composés synthétisés ont donné un score plus élevé que le référence (sauf L2 et L4, -6,1888, -6,0787 respectivement) dont l'énergie libre de liaison était de -6,2099 Kcal/mol, tandis que le score d'énergie libre de liaison de la plupart des nouveaux composés appartenait à l'intervalle [-6,3261– -8,2750 Kcal /mol].

Nous avons choisi les ligands: L24, L21, L13, L14, L6 et L7, par ce que ils donnant les meilleurs scores d'amarrage. Ces ligands peuvent former des complexes stables qui sont classés par l'ordre suivant: L24 < L6 < L7 < L21 < L14 < L13.

Le RMSD pour les ligands L24, L21, L13, L14, L6 et L7 par rapport le ligand de référence est compris entre [1,5-3,5] (voir tableau 6).

III.3.2 Interaction AChE-Ligands

Le tableau 7 présente les listes des composés sélectionnés en gris, qu'on va étudier leurs interactions (L17, L20, L24, L27 et L28).

Tableau 7: Les résultats des interactions enzyme- ligand (AChE- L_x)

Ligand-AChE (Complexe)	Atome de ligand	Atome de l'AA	Résidus	Type de liaison	Distance (Å)
L1	O 39	O	HOH 1163	H-donor	2,98
	6-ring	6-ring	TRP 84	Pi-pi	3,97
L2	O 35	OE1	GLU 199	H-donor	2,56
	N 18	6-ring	TYR 334	H-pi	4,05
	6-ring	5-ring	TRP 84	Pi-pi	3,89
L3	O 37	O	HOH 1159	H-donor	2,86
L4	S 10	OD2	ASP 72	H-donor	3,47
	5-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,94
	6-ring	5-ring	TRP 84	Pi-pi	3,96
L5	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,70
L6	C 1	6-ring	PHE 331	H-pi	4,48
	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,81
L7	C1	6-ring	PHE 331	H-pi	4,48
	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,81

L8	S 10	OD2	ASP 72	H-donor	3,04
	Cl 14	OE1	GLU 199	H-donor	2,90
	5-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,97
	6-ring	5-ring	TRP 84	Pi-pi	3,96
L9	S 10	O	PHE 330	H-donor	3,53
	N 18	O	HOH 1159	H-donor	2,76
	N 31	OE1	GLU 199	H-donor	2,81
	6-ring	6-ring	TRP 84	Pi-pi	3,97
L10	C 34	5-ring	TRP 84	H-pi	4,06
	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,72
L11	/	/	/	/	/
L12	N 18	O	HOH 1237	H-donor	3,18
L13	O 32	OD2	ASP 72	H-donor	2,82
	N 19	O	HOH 1254	H-acceptor	3,34
L14	/	/	/	/	/
L15	S 10	O	PHE 330	H-donor	3,58
	N 18	O	HOH 1159	H-donor	2,72
	O 31	OE1	GLU 199	H-donor	2,62
	O 32	O	HOH 1158	H-donor	2,92
	6-ring	6-ring	TRP 84	Pi-pi	3,98
L16	O 38	O	ARG 289	H-donor	2,77
	C 3	6-ring	PHE 331	H-pi	4,58
	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,85
L17	S 10	O	PHE 330	H-donor	3,45
	N 18	O	HOH 1159	H-donor	2,90
	6-ring	5-ring	TRP 84	Pi-pi	3,92
L18	O 34	OE1	GLU 199	H-donor	2,80
	6-ring	5-ring	TRP 84	Pi-pi	3,96
L19	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,86
L20	C 1	6-ring	PHE 331	H-pi	4,46
	C 41	6-ring	TRP 84	H-pi	3,62
	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,83
	6-ring	6-ring	TRP 279	Pi-pi	3,77
L21	C 1	6-ring	PHE 331	H-pi	4,59
	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,80
L22	S 10	OD2	ASP 72	H-donor	3,39
	N 17	6-ring	TYR 334	H-pi	4,22
L23	C 33	5-ring	TRP 84	H-pi	3,89
	6-ring	6-ring	PHE 330	Pi-pi	3,69
L24	S 10	OD2	ASP 72	H-donor	3,32
	6-ring	5-ring	TRP 84	Pi-pi	3,98
L25	6-ring	6-ring	PHE 330	pi-pi	3,84
	6-ring	6-ring	TRP 279	Pi-pi	3,86
L26	S 10	O	PHE 330	H-donor	3,77
	N 18	O	HOH 1159	H-donor	2,84
	6-ring	6-ring	TRP 84	pi-pi	3,98
L27	S 10	O	PHE 330	H-donor	3,45
	N 18	O	HOH 1153	H-donor	2,80
	6-ring	5-ring	TRP 84	pi-pi	3,98
L28	C 33	6-ring	TRP 84	H-pi	3,73
	5-ring	O	HOH 1254	pi-H	4,53
	6-ring	6-ring	TRP 279	pi-pi	3,87
	6-ring	6-ring	PHE 330	pi-pi	3,92
L29	O 32	O	HOH 1234	H-donor	2,88

	C 34	6-ring	TRP	84	H-pi	3,75
	6-ring	6-ring	PHE	330	pi-pi	3,69
L30	6-ring	6-ring	TRP	84	pi-pi	3,94
	6-ring	5-ring	TRP	84	pi-pi	3,93
Lréf (Donepezil)	N14 26	O	HOH	1159	H-donor	2,82
	O24 48	O	HOH	1254	H-acceptor	2,88
	C13 23	6-ring	PHE	330	H-pi	3,72
	C16 31	6-ring	TYR	334	H-pi	4,15
	6-ring	6-ring	TRP	279	Pi-pi	3,97
	6-ring	6-ring	TRP	84	Pi-pi	3,84

Dans l'objectif de proposer de nouveaux inhibiteurs de la 1EVE, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur composé réellement actif sorti du criblage total.

La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la 1EVE a été réalisée à l'aide du logiciel MOE. On observe que : Le donépezil établit six liaisons avec l'enzyme 1EV1 (Figure 8), citées comme suit:

- ⇒ La première liaison d'interaction de type H-donneur est établie entre le N 14 du ligand et la molécule d'eau de L'enzyme;
- ⇒ La deuxième liaison H-accepteur entre l'atome d'O du ligand et la molécule d'eau de L'enzyme;
- ⇒ La troisième et quatrième liaison de type d'interaction moyenne de type pi-H sont formées entre le carbone du cycle 6 de ligand et celui du résidu PHE330 et TYP 334 de l'enzyme.
- ⇒ La cinquième et sixième liaison de type d'interaction moyenne de type pi-pi sont formées entre le cycle 6 de ligand et celui du résidu TRP 279 et TRP 84 de l'enzyme.

Interaction Enzyme (1EVE)-ligand (L15, L17, L20, L24, L27, L28)

Les interactions entre tous les composés et les acides aminés de AChE étaient les mêmes que celles entre le ligand de référence Co-cristallisé avec les acides aminés du récepteur.

D'après A. Imberty et al [22]. Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1Å sont considérées comme fortes et celles comprises entre 3.1Å et 3.55Å sont supposées moyennes. Les interactions supérieures à 3.55Å sont faibles.

Le complexe formé par le ligand L15 forme cinq interactions avec les résidus de site actif d'AChE cités ici: les quatre premiers liaisons de type H-donneur (trois fort et un faible) avec

des distances de 2,72, 2,62, 2,92 et 3,58 Å et la cinquième interaction de type Pi-Pi (entre l'atome 6-ring et le résidu TRP84) avec une distance de 3.98 Å (Voir figure 9). L'activité la plus élevée du composé 15 (IC₅₀ = 21,3 µM) pourrait être due à la présence de deux groupes hydroxyle attachés au même cycle benzénique. Donc on suggère qu'il peut inhiber l'enzyme 1EVE.

Le complexe formé par ligand L17 a une énergie de score meilleur (-8.2664Kcal/mol) et forme deux interaction de type H-donneur et une seule liaison de type pi-pi.

Les deux complexes (1EVE– L20 et 1EVE– L24) possèdent des valeurs faibles de IC₅₀ et aussi l'énergie de score nous proposons ces ligands comme un deuxième et troisième inhibiteurs de l'enzyme 1EVE (Voir le tableau et Figure 9).

Les inhibiteurs L28 (-7.6999 Kcal/mol) et L27 (-7.7966 Kcal/mol) ont des valeurs légèrement faible d'énergie score, ceci confirme que ces ligands forment des complexes moins stables que les complexes des ligands précédents

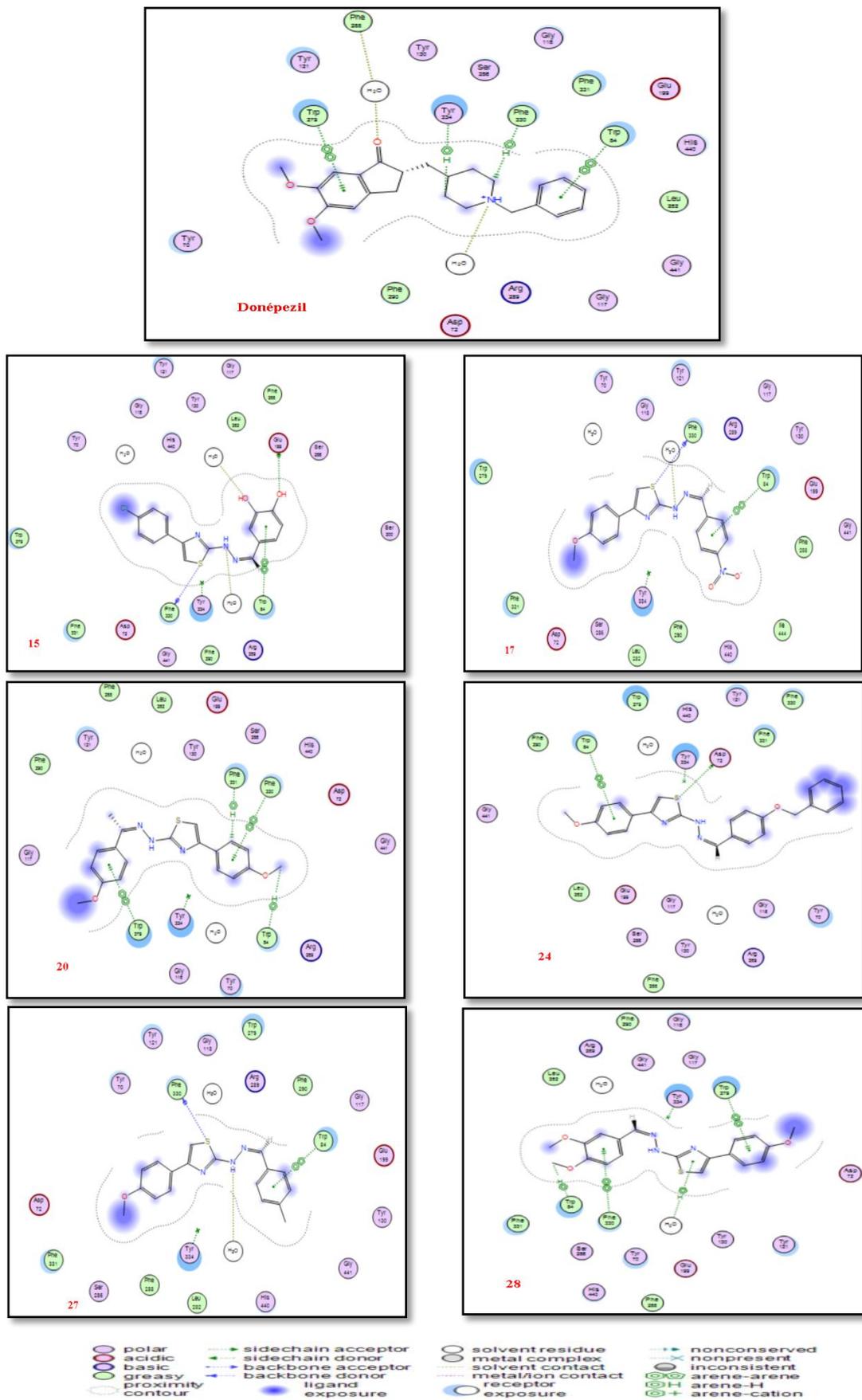


Figure 8: Interaction entre les ligands (L15, L17, L20, L24, L27 et L28) et les résidus de site actif de AChE

III.3.3 Interaction BChE-Ligands

Le tableau 8 présente les listes des composés sélectionnés en gris, qu'on va étudier leurs interactions (L6, L7, L13, L14, L21 et L24),

Tableau 8: Les résultats des interactions enzyme- ligand (BChE- L_x)

Ligand-BChE (Complexe)	Atome de ligand	Atome de l'AA	Résidus	Type de liaison	Distance (Å)
L1	6-ring	6-ring	PRP 82	pi-pi	3,83
L2	O 33 O 35 5-ring	OE1 O 6-ring	GLU 197 HOH 2089 TYR 332	H-donor H-donor Pi-pi	2,60 3,06 3,73
L3	O 39 6-ring	O 5-ring	HOH 2153 TRP 82	H-donor Pi-pi	2,96 3,89
L4	/	/	/	/	/
L5	/	/	/	/	/
L6	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-pi	3,72
L7	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-pi	3,72
L8	S 10 Cl 14	OE1 O	GLU 197 LEU 286	H-donor H-donor	4,04 3,25
L9	N 31 6-ring	O 6-ring	HOH 2089 TRP 82	H-donor Pi-pi	3,13 3,87
L10	S 10 N 18 6-ring	OE1 6-ring CE1	GLU 197 TRP 82 PHE 329	H-donor H-pi Pi-H	3,67 3,71 4,01
L11	/	/	/	/	/
L12	5-ring	O	HOH 2055	Pi-H	3,47
L13	S 18 N 18 N 19	O O O	PRO 285 PRO 285 HOH 2085	H-donor H-donor H-acceptor	3,13 3,23 3,22
L14	N 18 N 19	O O	PRO 285 HOH 2085	H-donor H-acceptor	3,23 3,22
L15	O 31 O 32	OE1 O	GLU 197 HOH 2093	H-donor H-donor	2,94 3,03
L16	O 36	OE1	GLU 197	H-donor	2,76
L17	O 36	OE1	GLU 197	H-donor	2,76
L18	O 32 O 34	O OE1	HOH 2089 GLU 197	H-donor H-donor	2,95 2,69
L19	S 10 C 4 6-ring	OG 6-ring 5-ring	SER 198 TYR 332 TRP 82	H-donor H-pi Pi-pi	3,27 4,17 3,70
L20	N 18	O	HOH 2153	H-donor	3,02
L21	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-pi	3,72
L22	N 32 N 32 C 20 5-ring	OE1 OE1 OE2 5-ring CE1	GLU 197 GLU 197 GLU 197 TRP 82	H-donor Ionic Ionic H-pi	2,97 2,97 3,82 3,64

			PHE 329	Pi-H	3,61
L23	5-ring	6-ring	TYR 332	Pi-Pi	3,95
	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-Pi	3,81
L24	/	/	/	/	/
L25	O 31	O	HOH 2153	H-donor	2,60
	5-ring	CB	ALA 328	Pi-H	4,44
	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-pi	3,76
	6-ring	6-ring	TRP 82	Pi-pi	3,72
L26	N 18	O	HOH 2093	H-donor	3,27
	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-pi	3,76
L27					
L28	5-ring	O	HOH 2092	Pi-H	3,58
L29	S 10	OG	SER 198	H-donor	3,18
	O 32	O	HOH 2056	H-donor	2,85
	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-pi	3,92
L30	O 31	OE1	GLU 197	H-donor	2,92
	O 32	O	HOH 2093	H-donor	3,08
	6-ring	6-ring	TRP 82	Pi-pi	3,91
Lréf (Tacrine)	N15 27	O	HOH 2056	H-donor	3,05
	N15 27	O	HOH 2093	H-donor	3,07
	6-ring	5-ring	TRP 82	Pi-pi	3,59

La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif de la 4BDS a été réalisée à l'aide du logiciel MOE. On observe que : Le tacrine établit trois liaisons avec l'enzyme 4BDS (Figure 9):

- ⇒ La première liaison d'interaction de type H-donneur est établie entre le N 15 du ligand et la molécule d'eau de L'enzyme;
- ⇒ La deuxième et troisième liaison de type d'interaction moyenne de type pi-pi sont formées entre le cycle 6 de ligand et le même résidu TYP 82 de l'enzyme (cycle 6 et 5).

Interaction Enzyme (4BDS)-ligand (L6, L7, L13, L14, L21, L24)

Les interactions entre tous les composés et les acides aminés de BuChE étaient les mêmes que celles entre le ligand de référence co-cristallisé avec les acides aminés du récepteur (voir tableau 8)

Le tableau 8 montre que le complexe 4BDS-L24 a une faible énergie de Score (-8.2750 Kcal/mol), ceci confirme que ce ligand forme un complexe stable avec le BChE, et par la suite il peut inhiber ce dernier.

Les inhibiteurs L6 (-8.0122 Kcal/mol) , L7(-8,0114 Kcal/mol) et L21(-8.0075 Kcal/mol) ont des valeurs légèrement faible d'énergie score, et ont une seul type de liaisons pi-pi avec le résidu TRP 82 de site actif d'BChE.

Les inhibiteurs L13 et L14 présentent des liaisons hydrogènes fortes avec les molécules d'eau et l'acide aminé PRO 285.

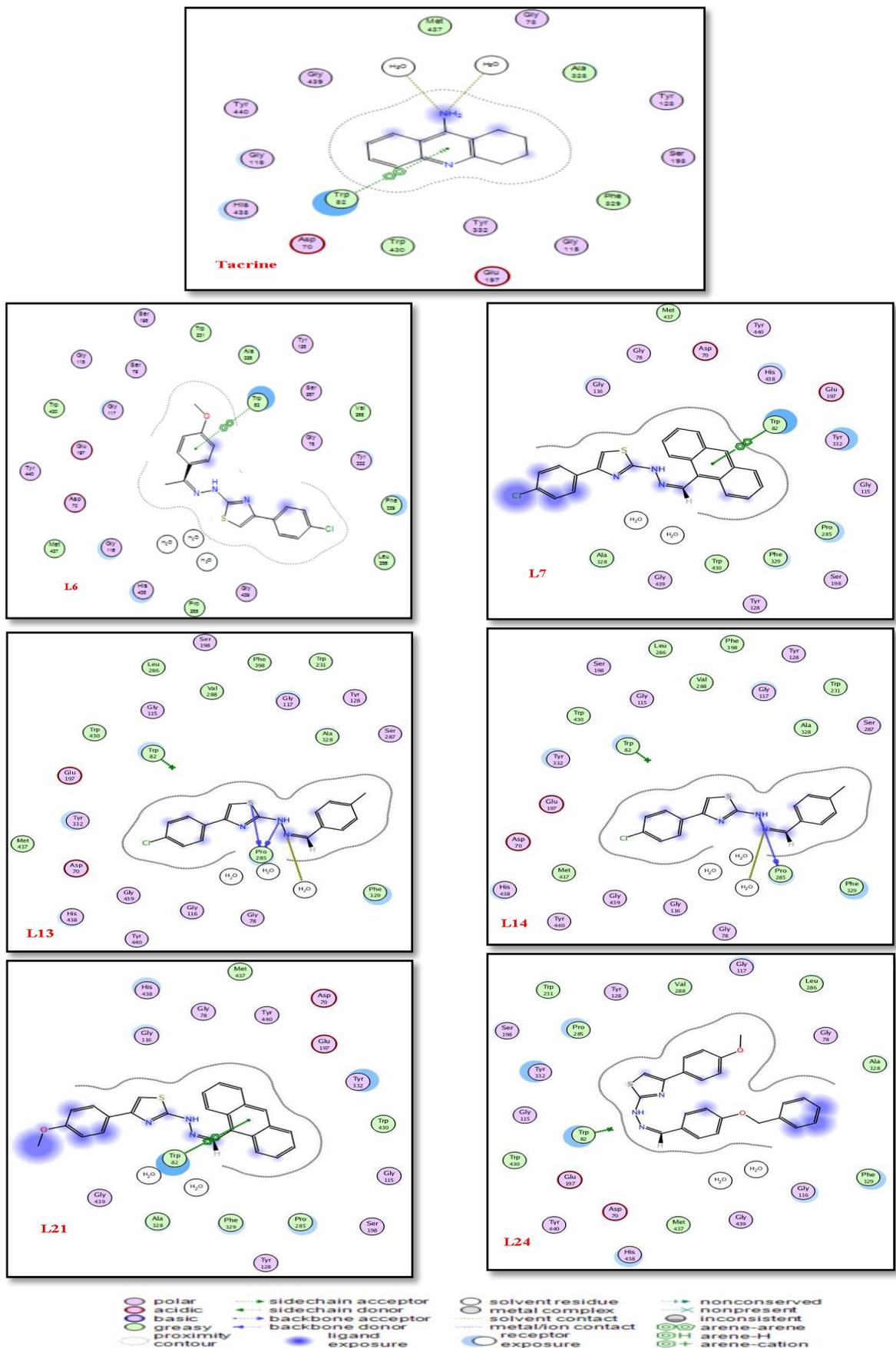


Figure 9: Interaction entre les ligands (L6, L7, L13, L14, L21 et L24) et les résidus de site actif de BChE

III.4 Prédiction des propriétés ADME

III.4.1 Propriétés physico-chimiques

Pour évaluer les propriétés médicamenteuses d'un composé nous avons utilisé le serveur SWISSADME [23] afin de déterminer si les composés substitués peuvent être proposés comme candidat « médicament » et s'ils répondent aux règles suivantes:

- Règle de Lipinski [24].
- Règle de Veber [25].

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 9

Tableau 9: Les propriétés physico-chimiques.

	MW <500	logp ≤5	HBA <10	HBD <5	Règle de Lipinski	ABS	TPSA (Å ²) ≤140	N-rotB ≤10	Règle de Veber
L6	357,86	3,26	3	1	0	83,211	74,75	5	0
L7	413,92	4,79	2	1	0	86,396	65,52	4	0
L13	327,83	3,61	2	1	0	86,396	65,52	4	0
L14	359,83	2,47	4	2	0	76,232	94,98	5	0
L15	345,80	2,23	4	3	0	72,437	105,98	4	0
L17	354,38	1,56	5	1	0	67,403	120,57	6	0
L20	353,44	2,43	4	1	0	80,027	83,98	6	0
L21	409,50	3,94	3	1	0	83,211	74,75	5	0
L24	415,51	3,31	4	1	0	80,027	83,98	8	0
L27	323,41	2,76	3	1	0	83,211	74,75	5	0
L28	369,44	1,89	5	1	0	76,843	93,21	7	0
Donépezil	379,43	3,06	4	0	0	95,624	38,77	6	0
Tacrine	198,29	2,33	1	1	0	95,576	38,91	0	0

Règle de Lipinski

MW: Molecular Weight, MLog P: Logarithm of partition coefficient of compound between n-octanol and water

HBA : Number of hydrogen bond acceptors, HBD: Number of hydrogen bonds donors.

Règle de Veber

TPSA: Topological Polar Surface Area, n-rotB: Number of Rotatable Bonds, ABS: Absorption (%ABS =109 ± 0,345 ×PSA.)

D'après les résultats de tableau 9:

Les Ligands L6, L7, L13, L14, L15, L17, L20, L21, L24, L27 et L28, répond parfaitement à la règle de Lipinski ainsi que celle de Veber. Ces résultats indiquent que ces composés peuvent être utilisés sans poser des problèmes de biodisponibilité par voie orale et ayant de bonnes propriétés analogues à celles des médicaments (Donépezil et Tacrine).

III.4.2 Propriétés pharmacocinétiques

Nous avons complété notre travail par une analyse des propriétés pharmacocinétiques afin de pouvoir affirmer si nos composés peuvent être proposés comme un candidat médicament. Ces propriétés sont appelées ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination).

- L'absorption est le processus par lequel le médicament passe de son site d'administration à la circulation générale.
- La distribution correspond à la diffusion de médicament dans les tissus de l'organisme.
- Le métabolisme c'est la transformation, par une réaction enzymatique d'un médicament en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs.
- L'élimination correspond à la capacité métabolique de différents organes, en premier lieu le foie, à l'excrétion du médicament sous toutes ses formes, en particulier rénale (urine) mais aussi hépatique (bile).

Ces calculs ont été effectués en utilisant le lien suivant: <http://www.swissadme.ch/index.php>, et sont montrés dans le tableau 10

Tableau 10: Les propriétés pharmacocinétiques ADME.

	GI absorption	BBB perméabilité	CYP1A2 inhibiteur	CYP2C19 inhibiteur	CYP2C9 inhibiteur	CYP2D6 inhibiteur	CYP3A4 inhibiteur	Solubilité dans l'eau
L6	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Moyenne
L7	Bas	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Peu soluble
L13	Elevée	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Moyenne
L14	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Moyenne
L15	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Moyenne
L17	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Moyenne
L20	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Moyenne
L21	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Peu soluble
L24	Elevée	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Peu soluble
L27	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Moyenne
L28	Elevée	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Moyenne
Donépizil	Elevée	Oui	Non	Non	Non	Oui	Oui	Moyenne
Tacrine	Elevée	Oui	Oui	Non	Non	Non	Oui	Soluble

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

D'après le tableau 10 on tire ces remarques :

- ✓ Avec une solubilité (moyenne ou soluble) dans l'eau comparable à celle de deux molécules de référence, les composés L6, L13, L14, L15, L17, L20, L27 et L28, peuvent se dissoudre dans le milieu aqueux comme le sang pour parvenir jusqu'à son lieu d'action dans l'organisme avec la concentration souhaitée.
- ✓ Les composés L6, L13, L14, L15, L17, L20, L2I, L27 et L28 et les ligands de références, ont présenté une perméabilité gastro-intestinale élevée sauf le ligand L7. Ces composés peuvent donc traverser la barrière gastro-intestinale pour arriver au sang et ce avec une concentration thérapeutique efficace.
- ✓ Contrairement aux ligands de référence et L13, tous les autres composés ne peuvent pas franchir la barrière hémato-encéphalique, ce qui protège le cerveau des effets néfastes de ces composés.
- ✓ Enfin, les composés L13, L6, L17 et L27, ont été prédit d'avoir un effet inhibiteur vis-à-vis de 4 parmi les 5 isoformes de Cytochrome P450, mais L28 présente tous les isoformes. L'inhibition de ces enzymes induit des interactions médicamenteuses.
- ✓ Le composé L13 est semblable à la Tacrine (ligand de référence), mais avec des propriétés mieux.

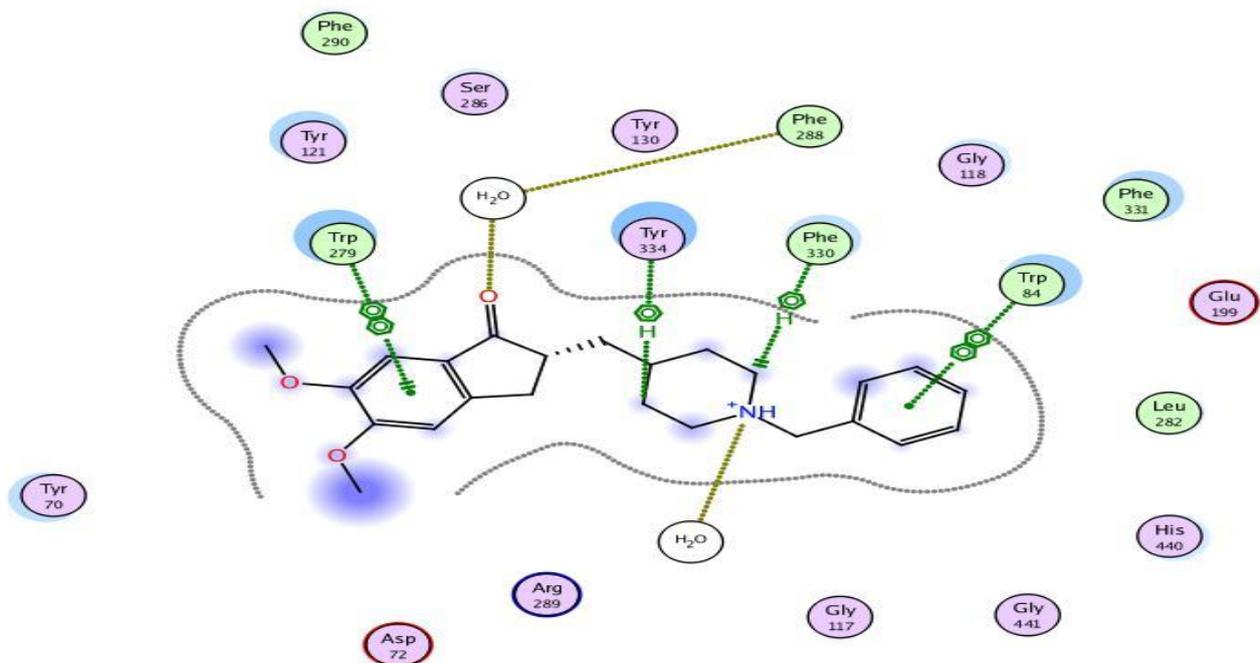
Références bibliographiques

- [1] Nachon, F., Carletti, E., Ronco, C., Trovaslet, M., Nicolet, Y., Jean, L., & Renard, P. Y. Crystal structures of human cholinesterases in complex with huprine W and tacrine: elements of specificity for anti-Alzheimer's drugs targeting acetyl- and butyryl-cholinesterase. *Biochemical Journal*, 453(3), (2013), 393-399.
- [2] Zhou, S., & Huang, G.. The biological activities of butyrylcholinesterase inhibitors. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, (2022), 112556.
- [3] DAISSA Fatima, Contribution à la modélisation des biomolécules et leurs interactions: Inhibition de l'Acétylcholinestérase et le Butyrylcholinestérase (AChE/BChE) / par une nouvelle classe des dérivées.. mémoire de master, (2019), p:66
- [4] HyperChem v8. Molecular Modelling System, Hypercube Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, FL 32601, USA, (2009).
- [5] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, Gaussian 09, Gaussian, Inc., Wallingford CT, (2010).
- [6] Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, (2014).
- [7] www.rcsb.org/pdb

- [8] G. Kryger, I. Silman, & J. L. Sussman, Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept®): implications for the design of new anti-Alzheimer drugs. *Structure*, 7(3), (1999), 297-307.
- [9] M. Bryson, P. Benfield, « Donepezil: New Drug Profile ». *Drugs and Aging*; 10(3): (1997), 234–9.
- [10] Nachon, F., Carletti, E., Ronco, C., Trovaslet, M., Nicolet, Y., Jean, L., Renard, P.-Y. » Crystal Structures of Human Cholinesterases in Complex with Huprine W and Tacrine: Elements of Specificity for Anti-Alzheimer'S Drugs Targeting Acetyl- and Butyrylcholinesterase” *Biochem.J.* 453, (2013), 393-399.
- [11] Patrick Hof Charles Mobbs. “Functional Neurobiology of Aging” Edition 1, Academic Press, 960. (2001).
- [12] A. Andreani, M. Rambaldi, A. Leoni, A. Locatelli, R. Bossa, M. Chiericozzi, I. Galatulas, G. Salvatore, *Eur. J. Med. Chem.* 31 (1996) 383.
- [13] D. Lednicer, L.A. Mitscher, G.I. George. *Org. Chem. Drug Synthesis* 4 (1990), 95.
- [14] F. Rahim, H. Ullah, M.T. Javid, A. Wadood, M. Taha, M. Ashraf, A. Shaukat, M. Junaid, S. Hussain, W. Rehman, R. Mehmood, M. Sajid, M.N. Khan, K.M. Khan, *J. Bioorg. Chem.* 62, (2015), 15.
- [15] K. M. Khan, M. Irfan, M. Ashraf, M. Taha, S. M. Saad, S. Perveen, M. I. Choudhary, *Med. Chem. Res.* 24(7), (2015), 3077.
- [16] G. Turan-Zitouni, A. Ozdemir, Z. A. Kaplancikli, M. D. Altintop, H. E. Temel, G. A. Çiftçi, *J. Enz. Inh. Med. Chem.* (2013), 28 509.
- [17] L. Blau, R.F. Menegon, G.H.G. Trossini, J.V. Dutra Molino, D.G. Vital, R.M. Barretto Cicarelli, G.D. Passerini, P.L. Bosquesi, C.M. Chin, *Eur. J. Med. Chem.* 67, (2013), 142151.
- [18] M.S. Alam, L. liu, Y.E. Lee, D. U. Lee, *Chem. Pharm. Bull.* 59(5), (2011), 568.
- [19] Zafar et al. *Chem. Cent. J.* 7, (2013), 164.
- [20] L.A. Curtiss. , C. Jones, G.W. Trucks. , K. Raghavachari. , J.A. Pople. , « Gaussian-1 theory of molecular energies for second-row compounds », *J. Chem. Phys.*, 93, (1990), 2537– 2545.

- [21] Raphaël. B, Déchiffrer le code histone: épigénétique et toxicologie placentaire, thèse de doctorat, Université René Descartes, (2014).
- [22] A.Imberty, K. D. Hardman, J.P. Carver, S. Perez:” Molecular of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavaline A”, *G L Y C O B I O L O G Y* , 1, 631–642. 19
- [23] <http://www.swissadme.ch/index.php>,
- [24] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Adv. Drug Delivery Rev.* 46, (2001), 3-26.
- [25]. Veber DF1, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.* Jun 6;45(12), (2002), 2615-23.

Conclusion générale



La stratégie actuelle pour le développement de nouveaux médicaments contre la maladie d'Alzheimer (MA) consiste à développer une inhibition multi-cibles, telle que l'inhibition des activités de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la butyrylcholinestérase (BChE).

L'objectif principal de notre travail était de proposer par docking moléculaire avec MOE, de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase, d'une série contient 30 molécules de dérivés de Thiazole. Nous avons focalisé notre discussion sur deux paramètres:

- ✓ L'énergie score formée par le complexe E-S ;
- ✓ Les interactions moléculaires (non-covalentes) entre les ligands et les résidus du site actif.

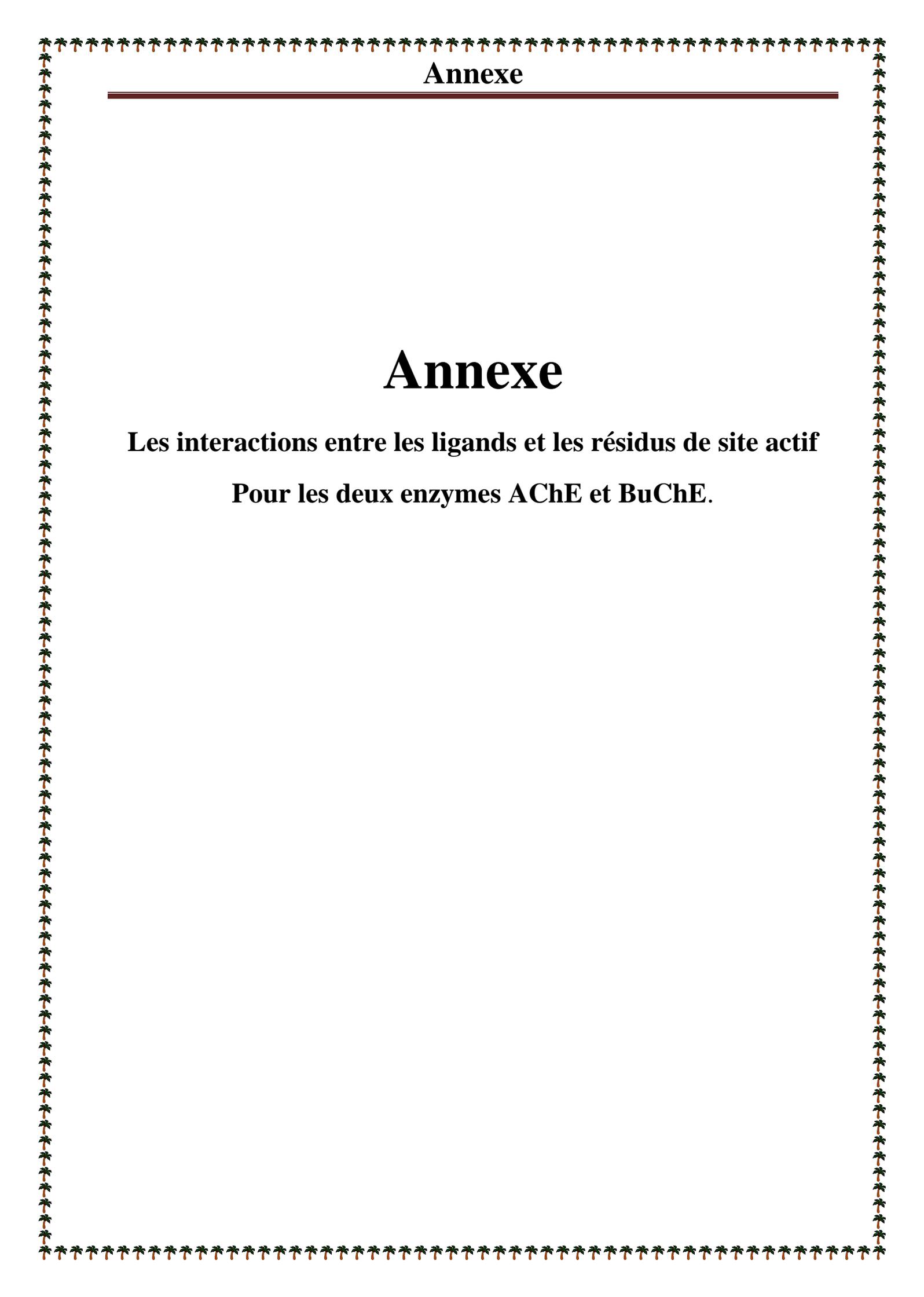
Ces deux paramètres sont utilisés pour expliquer la formation des complexes (EnzymeSubstrat). Pour mener à bien cette étude, nous avons combiné méthodes de la modélisation moléculaire (docking moléculaire) et suivie par des calculs des propriétés ADME pour comprendre le mécanisme d'inhibition de cette maladie.

L'étude de docking moléculaire a révélé que les six ligands L24, L20, L15, L17, L28 et L27 sont les meilleurs inhibiteurs dans le cas de AChE et que les ligands L24, L21, L13, L14, L6 et L7 dans le cas de BChE,

Sachant que le complexe 1EVE-L17 a une énergie de Score la plus basse (-8,2664Kcal/mol) par rapport aux autres complexes et que ce ligand forme deux interactions de type H-donneur et une seule liaison de type pi-pi avec les résidus de site actif d'AChE (PHE 330, HOH et TRP 84) avec une distance 3.45, 2.90 et 3.92 Å respectivement.

En plus dans le cas de BChE, nous avons remarqué que le complexe 4BDS-L24 a une faible énergie de Score (-8.2750Kcal/mol) par rapport aux autres complexes.

Enfin, l'étude *in silico* portant sur l'évaluation des différentes propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques a montré que le composé L13 (inhibiteur butyrylcholinestérase) possède un bon profil ADME, particulièrement une bonne absorption gastro-intestinale et une BBB perméabilité élevée. Aussi le composé L28 (inhibiteur acétylcholinestérase) présente les 5 isoformes de Cytochrome P450, l'inhibition de ces enzymes induit des interactions médicamenteuses.



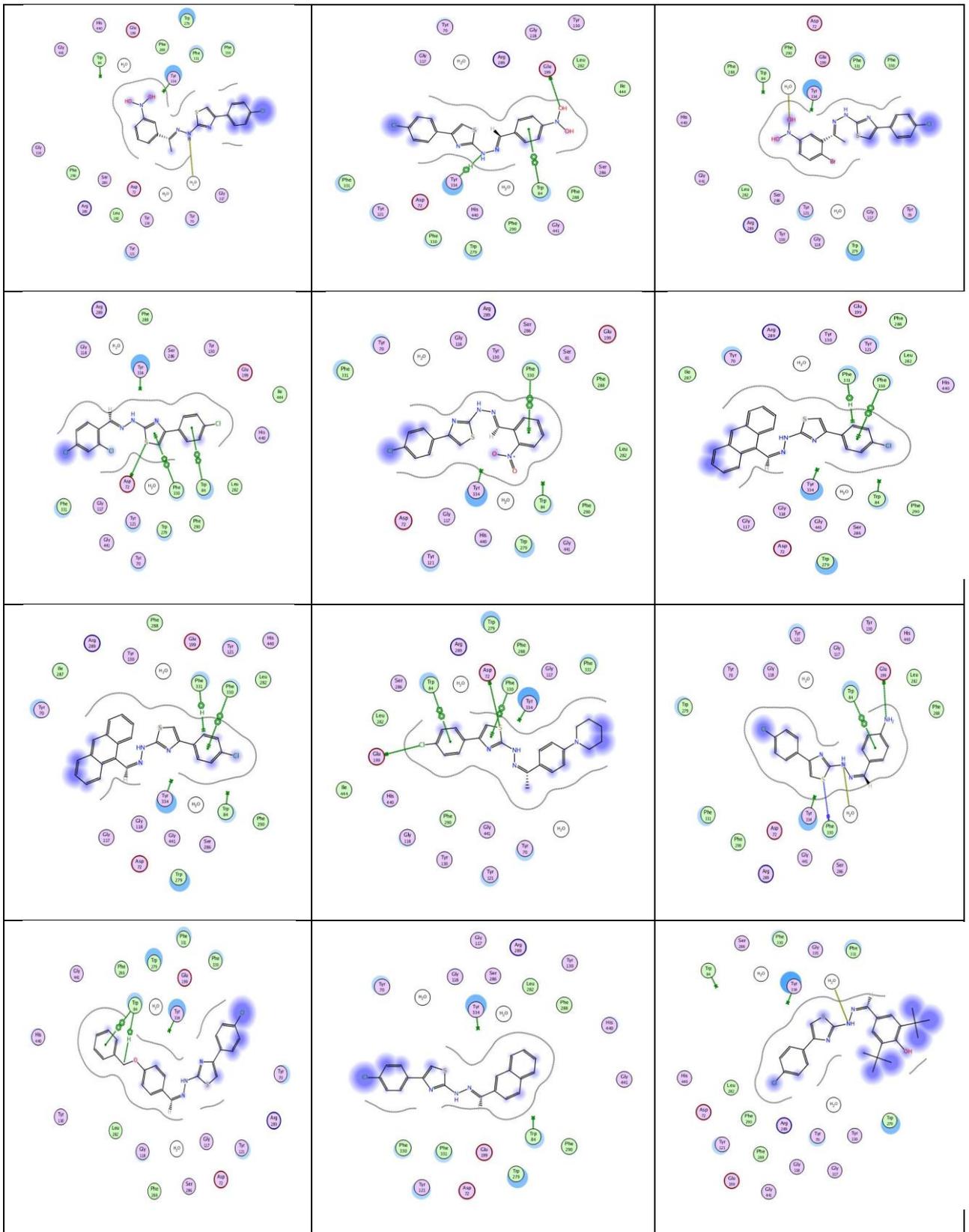
Annexe

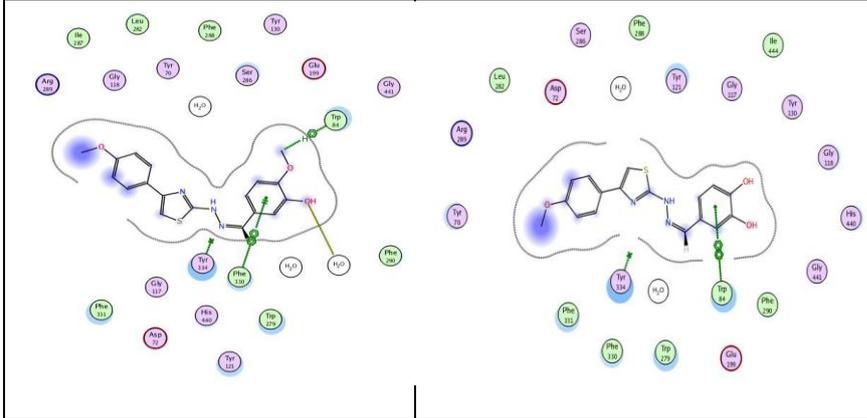
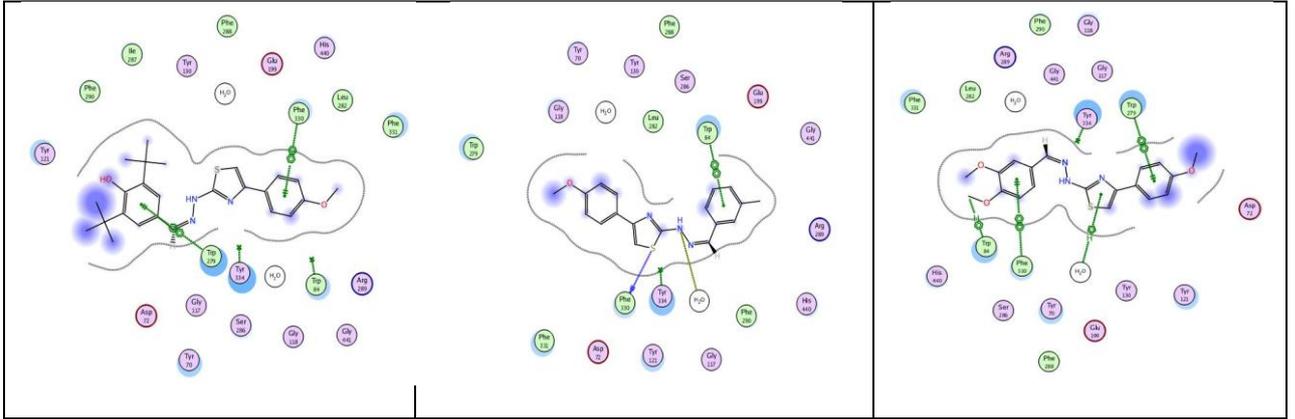
Annexe

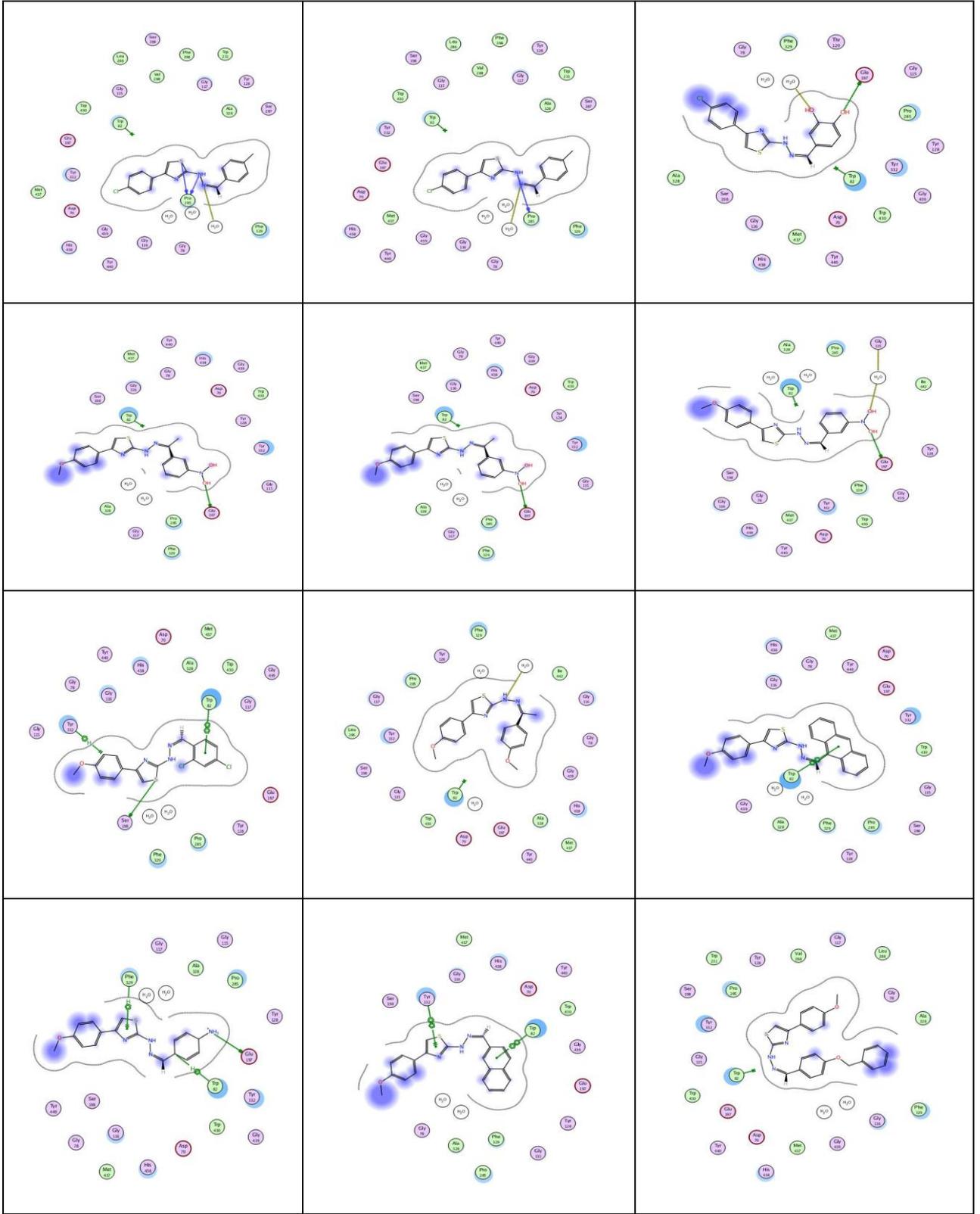
Les interactions entre les ligands et les résidus de site actif

Pour les deux enzymes AChE et BuChE.

1) Les interactions entre les ligands et les résidus de site actif 1EVE-2D L1-L30







RESUME

Dans ce travail, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de l'AChE et BChE ; cibles thérapeutiques de l'Alzheimer. Pour atteindre notre objectif, nous avons fait recours à l'approche par docking moléculaire à l'aide du programme MOE. Par docking moléculaire d'une série qui contient 30 molécules de dérivés de thiazole, notre étude a révélé que 6 molécules ayant des scores d'affinité les plus élevées par rapport aux ligands de référence Donepizil et Tacrine. Aussi nous avons déterminé les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques pour ces composés sélectionnés. Cette étude a montré que le composé L13 (inhibiteur butyrylcholinestérase) possède un bon profil ADME, particulièrement une bonne absorption gastro-intestinale et une BBB perméabilité élevée. Aussi le composé L28 (inhibiteur acétylcholinestérase) présente les 5 isoformes de Cytochrome P450.

Mots clés : Alzheimer, AChE, BChE, Thiazole, ADME

ABSTRACT

In this work, we attempted to propose new AChE and BChE inhibitors; therapeutic targets for Alzheimer's. To achieve our goal, we used the molecular docking approach using the MOE program. By molecular docking of a series that contains 30 molecules of thiazole derivatives, our study revealed that 6 molecules had the highest affinity scores compared to reference ligands Donepizil and Tacrine. We also determined the physicochemical and pharmacokinetic properties for these selected compounds. This study shows that the compound L13 (butyrylcholinesterase inhibitor) has a good ADME profile, particularly good gastrointestinal absorption and a high BBB permeability. Also the compound L28 (acetylcholinesterase inhibitor) presents the 5 isoforms of Cytochrome P450.

Keywords : Alzheimer, AChE, BChE, Thiazole, ADME.