



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2024

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :

**Merabet Hanine et Djeddar Ahlem**

Le : mardi 11 juin 2024

## **Identification de nouveaux inhibiteurs de GSK 3 $\beta$ pour le traitement de la maladie d'Alzheimer : Approche *in silico*.**

---

**Jury :**

Mr.	REBAI Redouane	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Mr.	Fethi BENBELAID	MCA	Université de Biskra	Président
Mme.	Sara REDOUANE SALAH	MCA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2023/2024

## Remerciements

*Nous remercions tout d'abord Allah tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Grand dieu , veuille toujours diriger nos pas.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur Monsieur **Dr REBAI Redouane** qui nous a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Nous lui remercions profondément pour ses encouragements et sa disponibilité à tout instant. Le chemin aurait été bien plus difficile sans lui.*

*Nous espérons que vous trouverez notre profonde gratitude.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de notre jury qui ont accepté d'évaluer notre mémoire.*

*Nous remercions également **Imene Derardja**, doctorante à l'université Mohamed Khider Biskra pour son aide durant notre travail de Master.*

*Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué et aidé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

# الإهداء

"وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ"

الحمد لله عند البدء وعند الختام، فما تناهى درب، ولا ختم جهد، ولا تم سعي الا بفضلته.

من قال أنا لها "نالها"

لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها أن تكون لم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوا بالتساهلات لكني فعلتها  
ونلتها.

إلى نفسي القوية التي تحملت كل العثرات وأكملت رغم الصعوبات...

إلى من كَلَّل العرقُ جبينه ومن علمني أن النجاح لا يأتي الا بالصبر والإصرار، من بذل الغالي والنفيس،

واستمدت منه قوتي واعتزازي والدي العزيز

" العمري مرابط "

إلى من جعل الجنة تحت أقدامها، وسهلت لي الشدائد بدعائها إلى التي كانت لي نوراً في عتمتي أُمي العزيزة

" سميرة داي "

إلى من قيل فيه: "سَنَشُدُّ عَضُدَكَ بِأَخِيكَ" إلى أخي "الطيب" سندي في الحياة اداك الله ضلعاً ثابتاً لي..

إلى من آمنت بي وبقدراتي إلى خيرت أيامي وصفوتها إلى قرة عيني أختي الغالية "خلود" وإلى بناتها

"إيناس"، "سيرين" و" مريم".

إلى ذلك الرجل الذي يجعل الحياة الطف بكلماته وبأفعاله الصغيرة إلى سندي ورفيق عمري "زوجي خالد"

إلى صديقاتي الثابتات رغم تزعزع العالم، إلى من جعلني يوماً أضيئ في عتمتي، أو اضحك بالرغم من شحبي

وجهي، حتى لو فرقنا الأيام والأماكن فالقلوب شواهد لا تنسى يدا مَدَّت لها حين شارفت على سقوطها من

الحافة، إلى من أثبتوا لي أن الصداقة مواقف لا بالسنين رفاء الدرب فاطمة الزهراء وأحلام

لكل من كان عوناً وسندا في هذا الطريق، للأصدقاء الأوفياء ورفقاء السنين..

" الهام، حليلة، أميرة، يسرى، هند، ريهام "

أهديكم هذا الإنجاز وثمره نجاحي الذي لا طالما تمنيتُهُ، ها أنا اليوم أتممت وأكملت أول ثمراته بفضلته سبحانه

وتعالى

مرابط حنين ...

## الإهداء

يارب لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك لك الحمد كله ولك الشكر كله وصل اللهم وبارك على محمد  
عبدك ونبيبك

اهدي بكل حب بحث تخرجي

الى نفسي العظيمة القوية التي تحملت كل العثرات واكملت رغم الصعوبات

الى من قال فيهما الله تعالى " وَقَضَىٰ رَبُّكَ أَلَّا تَعْبُدُوا إِلَّا إِيَّاهُ وَبِالْوَالِدَيْنِ إِحْسَانًا "

الى من لا ينفصل اسمه عن اسمي الى مأمني الوحيد، فرحتي الدائمة الى الذي يسابق طريقي ليمهده لي الى مصدر  
قوتي وفخري الى من علمني ان الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة الى من غرس في روحي مكارم الاخلاق داعمي  
الأول وسندي الى أعظم رجل في الكون لطالما عاهدته بهذا النجاح ها انا اتممت وعدي واهديته اليك "والدي الحبيب"

الى فرحت ايامي ووهج حياتي الى التي ظلت دعواتها تضم اسمي دائما الى من افنت عمرها في سبيل ان احقق  
طموحي واحلق في أعالي المراتب الى من أرى الحياة من فوهة الامل المنبوعة من عينيها معلمتي الأولى دكتورتي  
الأولى صديقة ايامي "والدتي الغالية"

الى ضلعي الثابت وامان ايامي الى من شددت عضدي به فكان ينابيع ارتوي منها اخي الغالي " عيسى "

الى من عشت معهم أجمل لحظات حياتي الى شموع دربي الى خيرة ايامي وصفوتها الى من مدت لي اياديهم وقت  
ضعفي وامنو بقدرتي الى ضلعي الثابت وامان قلبي اخوتي "سناء، هناء، سامية، ريمة، رانيا"

الى براعم بيتنا " انس، ليان، ميرال، ادم، رسيم، جود، سراج "

الى روح جدتي رحمها الله

الى رفيق الدرب وصديق الروح والأيام بخلوها ومرها "عقبة"

الى رفقاء دربي.. الذين امدوني دائما بالقوة وكانوا موضع الاتكاء في كل عثراتي وكانوا لي سندا " رجاء، امينة،  
ولاء "

الى صاحبة الختام صديقة الرحلة والنجاح الى من وقفت بجانبني كلما اوشكت ان اتعثر " حنين "

الى كل أصدقائي واحبائي "حليمة، امال، فاطمة، اميرة، يسرى، هند...."

"وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ"

جزار أحلام 

# Sommaire

## Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Introduction générale .....	1
I. La maladie d'Alzheimer .....	3
I.1. Définition .....	3
I.2. Les facteurs de risque .....	4
I.2.1. L'âge et sexe .....	4
I.2.2. La génétique .....	4
I.2.3. Les facteurs environnementaux .....	4
I.3. Les lésions responsables de la maladie .....	4
I.3.1. Les plaques amyloïdes .....	5
I.3.2. Les dégénérescences neurofibrillaires .....	5
I.4 Le traitement .....	6
II. La glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) .....	7
II.1. Introduction .....	7
II.2. La structure de la GSK3 $\beta$ .....	7
II.3. Rôle physiologique de la GSK3 $\beta$ .....	8
II.4. Implication de la GSK3 $\beta$ dans la maladie d'Alzheimer .....	9
I. Introduction .....	10
II. Le Docking moléculaire .....	10
III. Principe de docking moléculaire .....	11
IV. Types de Docking .....	12
IV.1. Le docking rigide .....	12
IV.2. Le docking semi-flexible .....	12
IV.3. Le docking flexible .....	12
Docking moléculaire .....	13
I. Matériel .....	13
I.1. Micro-ordinateurs .....	13
I.2. Les bases de données .....	13
a. La base de données PDB .....	13

b. PubChem .....	14
I.3. Logiciels utilisés.....	15
a. Suisse ADME.....	15
b. ADMETlab 2.0.....	15
c. PkCSM .....	16
d. ChemFaces .....	17
I.4. Les programmes utilisés.....	17
a. BIOVIA Discovery Studio.....	17
b. AutoDock Vina .....	17
c. AutoDock Tools .....	17
d. Pymol .....	18
II. Méthode.....	18
II.1. Préparation du récepteur .....	18
II.2. Préparation des ligands .....	19
II.3. L'amarrage moléculaire .....	22
II.4. Teste de la fiabilité du docking.....	22
II.5. Etude du profil pharmacocinétique .....	23
II.6. Propriétés pharmacocinétiques .....	24
I. Validation docking moléculaire.....	25
I.1. Teste RMSD.....	25
II. Résultats et discussions .....	26
II.1. Amarrage moléculaire et Visualisation des interactions.....	26
II.2. Analyse ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité .....	36
II.3. Propriétés physicochimiques .....	39
Conclusion et perspectives .....	42
Références bibliographiques.....	44
Annexes .....	49
Résumés.....	50

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Caractéristiques de la glycogène synthase kinase-3beta. ....	19
<b>Tableau 2.</b> Valeurs du RMSD des différents complexes protéine-ligand. ....	25
<b>Tableau 3.</b> Analyse des résultats de l'amarrage moléculaire entre la GSK3 $\beta$ et les différents inhibiteurs. ....	28
<b>Tableau 4.</b> Résultat d'ADMET du sept inhibiteurs avec inhibiteur de référence. ....	38
<b>Tableau 5.</b> Propriétés physicochimiques. ....	40

# Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Différence entre un cerveau sain et un cerveau d'une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer (Bigot-Corbel et Carrer, 2017).....	3
<b>Figure 2.</b> Comparaison d'un neurone sain et malade (Lagautrière, 2009).....	5
<b>Figure 3.</b> La structure globale de GSK3 $\beta$ (Yong Lu <i>et al.</i> , 2011).....	8
<b>Figure 4.</b> Principe général d'un programme de docking (Li <i>et al.</i> , 2019).....	11
<b>Figure 5.</b> Interface de la banque de données PDB.....	14
<b>Figure 6.</b> Interface de Pubchem.....	14
<b>Figure 7.</b> Interface de SuisseADME.....	15
<b>Figure 8.</b> Interface de ADMETlab 2.0. ....	16
<b>Figure 9.</b> Interface de pkCSM. ....	16
<b>Figure 10.</b> Structure 3D de GSK3 $\beta$ téléchargée à partir de PDB (ID :1Q5K). ....	18
<b>Figure 11.</b> Structure 3D de GSK3 $\beta$ après la modification. ....	19
<b>Figure 12.</b> Structures 2D de sept meilleurs ligands étudiés. ....	21
<b>Figure 13.</b> Éléments d'amarrage moléculaire. (Hernández-Santoyo et al., 2013).....	22
<b>Figure 14.</b> Valeurs de RMSD en pourcentage.....	25
<b>Figure 15.</b> Superposition du ligand expérimentale 'TMU' (colorée en orange) et celui du moléculaire (colorée en bleu).....	26
<b>Figure 16.</b> Représentation graphique des valeurs d'énergie des sept inhibiteurs.....	27
<b>Figure 17.</b> Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$ - Tanshinone I.....	30
<b>Figure 18.</b> Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$ - Isoangustone A.....	31
<b>Figure 19.</b> Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$ – Linarine .....	32
<b>Figure 20.</b> Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK-3 $\beta$ – Hespéridine.....	33
<b>Figure 21.</b> Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$ – Kaempférol 3-néohespéridoside.....	34
<b>Figure 22.</b> Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$ – Coumestrol. ....	35
<b>Figure 23.</b> Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$ – 20R-ginsénoside Rg2. ....	36



# Liste des abréviations

## A

<b>ADMET</b>	<b>A</b> bsorption <b>D</b> istribution <b>M</b> étabolisme <b>E</b> xcrétion <b>T</b> oxicité
<b>Aa</b>	<b>A</b> cide <b>A</b> miné
<b>ATP</b>	<b>A</b> dénosine <b>T</b> riphosphate
<b>ADP</b>	<b>A</b> dénosine <b>D</b> iphosphate
<b>ADN</b>	<b>A</b> cide <b>D</b> esoxyribose <b>N</b> ucleique
<b>ARN</b>	<b>A</b> cide <b>R</b> ibonucléique
<b>ADT</b>	<b>A</b> uto <b>D</b> ock <b>T</b> ools
<b>AIH</b>	<b>A</b> bsorption <b>I</b> ntestinale <b>H</b> umaine
<b>AM</b>	<b>A</b> marrage <b>M</b> oléculaire
<b>A<math>\beta</math></b>	<b>A</b> myloïde <b><math>\beta</math></b>
<b>Å</b>	<b>Å</b> ngström

## B

<b>BBB</b>	<b>B</b> lood- <b>B</b> rain <b>B</b> arrier
<b>BHE</b>	<b>B</b> arrière <b>H</b> émato- <b>E</b> ncéphalique

## C

<b>Caco-2</b>	<b>C</b> Human colorectal adenocarcinoma
<b>CYP2D6</b>	<b>C</b> Cytochrome <b>P</b> 450 <b>2D6</b>

## D

<b>DS</b>	<b>D</b> iscovery <b>S</b> tudio
<b>Da</b>	<b>D</b> alton
<b>3D</b>	<b>T</b> ridimensionnel

## G

<b>GSK-<math>\beta</math></b>	<b>G</b> lycogène <b>S</b> ynthase <b>K</b> inase- <b>3<math>\beta</math></b>
-------------------------------	---

## H

<b>HERG</b>	<b>H</b> uman <b>E</b> ther-à-go-go- <b>R</b> elated <b>G</b> ene
-------------	---

	<b>K</b>	
<b>Kcal</b>		<b>Kilo Calorie</b>
	<b>L</b>	
<b>LogP</b>		<b>Octanol/water partition coefficient</b>
	<b>M</b>	
<b>MA</b>		<b>Maladie d'Alzheimer</b>
	<b>N</b>	
<b>NCBI</b>		<b>National Center for Biotechnology Information</b>
<b>NMDA</b>		<b>Récepteur au N-méthyl-D-aspartate.</b>
	<b>P</b>	
<b>PDB</b>		<b>Protein Data Bank</b>
<b>PSA</b>		<b>Polar Surface Area</b>
<b>Pdbqt</b>		<b>Protein Data Bank, Partial Charge (Q), &amp; Atom Type (T)</b>
<b>pkCSM</b>		<b>Predicting Small-Molecule</b>
<b>PM</b>		<b>Poids Moléculaire</b>
	<b>Q</b>	
<b>QSAR</b>		<b>Quantitative Structure-Activity Relationship</b>
	<b>R</b>	
<b>RMSD</b>		<b>Root Mean Square Deviation</b>
<b>RMN</b>		<b>Résonance Magnétique Nucléaire</b>
	<b>S</b>	
<b>SNC</b>		<b>Système Nerveux Central</b>
	<b>T</b>	
<b>TR</b>		<b>Taux de Répétition</b>
	<b>W</b>	
<b>MW</b>		<b>Molecular Weight</b>

# **Introduction**

## Introduction générale

La maladie d'Alzheimer (MA) est la forme la plus courante de trouble neurodégénératif accompagné de démence, représentant environ 70 % de tous les cas. Ce nombre devrait doubler, ce qui entraînera un fardeau socio-économique important malgré des recherches intensives, les mécanismes exacts qui déclenchent la maladie d'Alzheimer ne sont toujours pas connus et il n'existe actuellement aucun traitement contre cette maladie. (Lauretti *et al.*, 2020).

Elle représente un enjeu de santé publique touchant environ 47 millions de personnes dans le monde (Wolters *et al.*, 2020).

Selon les approches traditionnelles, la mise sur le marché d'un nouveau médicament est un processus extrêmement complexe et risqué exigeant beaucoup de temps et de ressources financières. Ces dernières années, de nombreuses voies de signalisation associées à la neuropathologie de la MA ont été explorées comme cibles potentielles pour le traitement de cette maladie, notamment la glycogène synthase kinase-3 $\beta$  (GSK3- $\beta$ ). Il s'agit d'une enzyme ubiquitaire, qui est hyperactive chez les patients atteints de la MA (Simone *et al.*, 2020). Ainsi, cette enzyme est à l'origine de l'hyper phosphorylation de la protéine tau, qui sous sa forme phosphorylée, s'accumule au niveau cytoplasmique dans les neurones et provoque la perte de l'intégrité neuronale (Lauretti *et al.*, 2020). Par conséquent, l'inhibition de cette enzyme réduit l'hyper-phosphorylation de la protéine tau et limite les troubles neurologiques rencontrés lors de la MA (Llorens-Martín *et al.*, 2014).

Par conséquent, des tentatives ont été faites pour mener des recherches et réaliser de nouveaux progrès sur de nouveaux analogues capables d'inhiber la protéine GSK-3  $\beta$ , qui sont actuellement en cours d'essais cliniques.

La raison pour laquelle, notre objectif était de contribuer à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs naturels de la GSK-3 $\beta$  en utilisant une approche *in silico*, le docking moléculaire.

Pour comprendre le mécanisme d'action des inhibiteurs vis-à-vis de l'enzyme. D'autre part, le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées ou synthétisées, ce qui est considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation d'une des méthodes expérimentales.

En fin, les composés ayant présentés les meilleurs scores de docking ont été explorés davantage en vérifiant leurs propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques.

# **Première partie : Partie bibliographique**

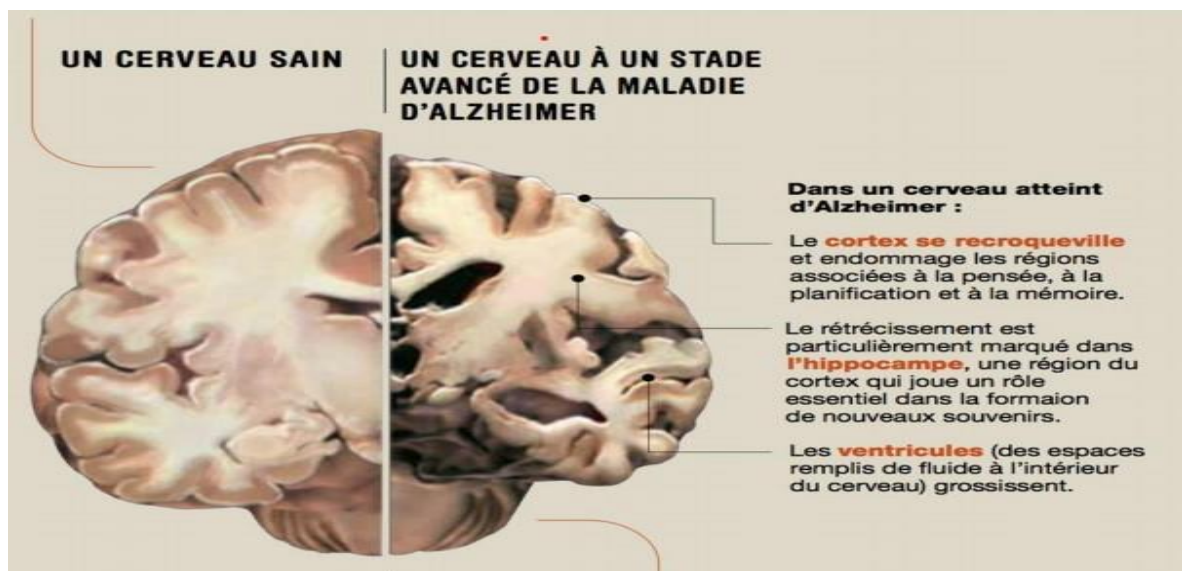
# **Chapitre 01 : La maladie d'Alzheimer et la cible enzymatique**

## I. La maladie d'Alzheimer

### I.1. Définition

La maladie d'Alzheimer (MA) est une affection neurodégénérative qui touche principalement la mémoire en nuisant aux cellules cérébrales, mais aussi d'autres fonctions cognitives telles que le langage, le raisonnement et l'apprentissage.

En général, cette maladie conduit à une diminution de l'indépendance. Le processus de vieillissement normal n'inclut pas la maladie d'Alzheimer et elle est irréversible. À l'heure actuelle, aucun traitement n'est disponible pour la traiter. (Thies et Bleiler, 2013).



**Figure 1.** Différence entre un cerveau sain et un cerveau d'une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer (Bigot-Corbel et Carrer, 2017).

La maladie est le résultat d'une dégradation lente des neurones. L'hippocampe est le premier à être touché, puis la maladie s'étend progressivement à l'ensemble du cerveau.

L'accumulation des peptides amyloïdes pathologiques, en particulier bêta 42 ( $A\beta_{42}$ ) est responsable de cette dégénérescence. Ce peptide, qui est naturellement présent dans le cerveau, s'accumule de manière anormale et forme des plaques (connues sous le nom de plaques amyloïdes ou plaques « séniles »). Chez les patients atteints, cette accumulation est nocive pour les cellules nerveuses (Tublin *et al.*, 2019).



## **I.2. Les facteurs de risque**

Les principaux facteurs de risques connus sont les suivants :

### **I.2.1. L'âge et sexe**

- Le risque de démence est principalement lié à l'âge, mais la démence n'est pas une conséquence inévitable du vieillissement.
- De plus, la démence ne se limite pas aux personnes âgées : la démence d'apparition précoce (la manifestation des symptômes avant l'âge de 65 ans) représente jusqu'à 9 % des cas. (Riedel *et al.*, 2016). En raison que les femmes vivent plus que les hommes (Heidaribeni *et al.*, 2018).

### **I.2.2. La génétique**

De nombreux gènes pourraient être associés à une plus grande sensibilité à la maladie (gènes du métabolisme du peptide amyloïde, gènes impliqués dans l'inflammation, gènes jouant un rôle dans la communication neurologique...).

En revanche, il semblerait que certains gènes préservent contre la maladie. (Silva *et al.*, 2019).

### **I.2.3. Les facteurs environnementaux**

Ils sont encore mal connus, mais font l'objet de nombreuses recherches. Ils sont particulièrement intéressants en matière de prévention car ils sont modifiables.

En absence de traitement à ce jour, la connaissance de ces facteurs modifiables permet.

D'adopter des comportements préventifs reconnus comme efficaces pour retarder l'apparition de la maladie (Norton *et al.*, 2014).

## **I.3. Les lésions responsables de la maladie**

A ce jour les causes de la maladie d'Alzheimer restent encore mal connues.

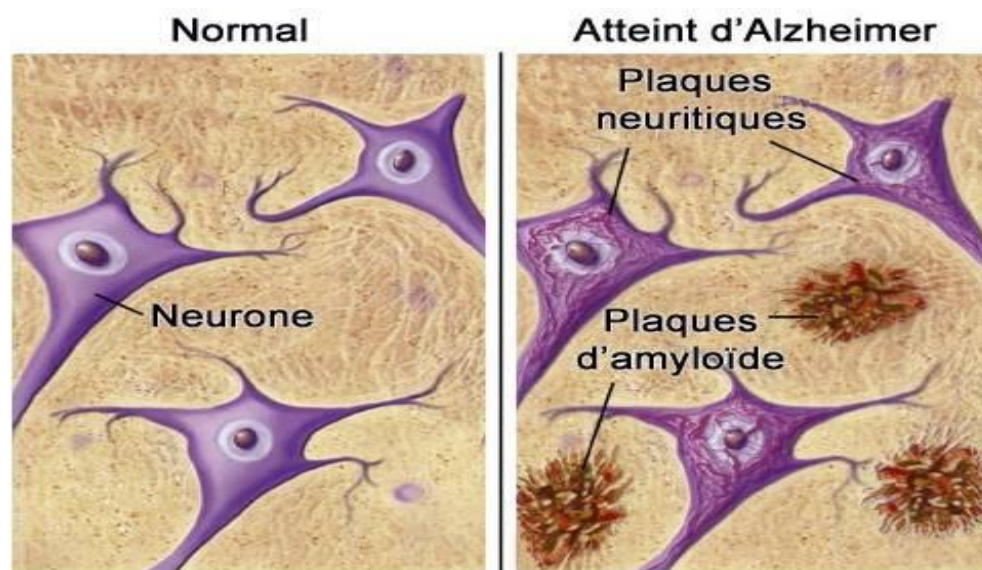
En revanche, il est établi qu'avant même l'apparition des premiers symptômes, les neurones sont affectés par deux types de lésions : les plaques amyloïdes que l'on retrouve à entre les neurones et la dégénérescence neurofibrillaire que l'on retrouve à l'intérieur des neurones.

Ces deux lésions correspondent à des amas de protéines qui se forment lors du processus normal du vieillissement.

Cependant, dans la maladie de type Alzheimer, ces protéines s'accumulent en beaucoup plus grande quantité.

### I.3.1. Les plaques amyloïdes

La formation des plaques amyloïdes, également appelées plaques séniles, résulte de l'accumulation anormale d'une protéine appelée ( $\beta$ -amyloïdes). Les cellules nerveuses dans la substance grise du cortex cérébral se retrouvent entre ces plaques, ce qui entraîne un dysfonctionnement des connexions entre les neurones. (Semah *et al.*, 2016).



**Figure 2.** Comparaison d'un neurone sain et malade (Lagautrière, 2009).

### I.3.2. Les dégénérescences neurofibrillaires

La dégénérescence neurofibrillaire est une accumulation de filaments anormale à l'intérieur du neurone, une protéine est dénommée tau la protéine qui est responsable de ce dysfonctionnement. progressivement, la dégénérescence neurofibrillaire provoque une désorganisation cellulaire, conduisant à la mort neuronale.

La dégénérescence des neurones se produit principalement dans l'hippocampe, une des régions clés de la mémoire, et dans le cortex associatif qui lie entre elles diverses fonctions. La perte de neurones entraînera une atrophie de certaines parties du cerveau, c'est-à-dire une réduction du volume du cerveau.

La maladie entraîne une diminution des neurones et des synapses, ce qui entraîne une atrophie cérébrale, une dilatation du système ventriculaire, une augmentation des espaces périvasculaires et une expansion des cavités corticales. (Krolak-Salmon, 2020).

#### **I.4 Le traitement**

Il n'existe, à l'heure actuelle, aucun traitement capable de guérir la maladie d'Alzheimer ou de ralentir son évolution dans le cerveau. Néanmoins, quatre médicaments sont actuellement mis sur le marché : Donépézil (Aricept), Rivastigmine (Exelon), Galantamine (Reminyl) et Mémantine (Ebixa).

Ces traitements ont pour but de traiter les symptômes cognitifs de la personne malade. Ils n'empêchent cependant pas la propagation de la maladie dans le cerveau mais restent efficaces d'un point de vue purement clinique. (Howard *et al.*, 2015).

#### **Comment fonctionnent ces traitements ?**

Le Donépézil (Aricept), la Rivastigmine (Exelon) et la Galantamine (Reminyl) sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. L'acétylcholinestérase est l'enzyme qui dégrade le neurotransmetteur acétylcholine. Or, ce neurotransmetteur est très important pour le bon fonctionnement des neurones. En effet, la maladie d'Alzheimer engendre une perte continue d'acétylcholine, « comme du sable qui s'écoulerait d'un sablier ».

Ainsi, ces traitements, inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, empêchent la dégradation du neurotransmetteur. Ils permettent d'augmenter sa quantité au niveau du point de jonction entre deux neurones : la synapse.

Autrement dit, avec ces médicaments pris au plus tôt dans la maladie, on remet de l'acétylcholine en permanence pour venir combler le déficit. Malheureusement, ce dernier ne cesse de s'accroître et à moment donné, les médicaments ne suffisent plus. La maladie d'Alzheimer continue sa progression.

La Mémantine (Ebixa) agit, quant à elle, de façon similaire sur le Glutamate. La Mémantine bloque les récepteurs NMDA. Elle protège ces récepteurs contre l'excitotoxicité qui se manifeste dans la maladie d'Alzheimer. L'excitotoxicité est le processus pathologique de neurotoxicité et de destruction du neurone par hyperactivation du neurotransmetteur Glutamate qui excite le récepteur NMDA. Tout au long du traitement, ces médicaments ont une réelle

efficacité sur la mémoire, même si l'étendue de cette efficacité varie largement d'un patient à l'autre.

Un effet avéré de ces quatre médicaments a été scientifiquement démontré sur la cognition à court terme (Howard *et al.*, 2015).

## **II. La glycogène synthase kinase-3 (GSK-3)**

### **II.1. Introduction**

La glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) est une protéine sérine/thréonine kinase hautement conservée qui a été isolée pour la première fois du muscle squelettique en 1980 comme l'une des cinq enzymes capables de phosphoryler la glycogène synthase, et connu pour sa nomenclature EC 2.7.1.37 (Aoki *et al.* 2004). Chez les mammifères, GSK-3 est codée par deux gènes étroitement liés codant respectivement pour GSK-3 $\alpha$  et GSK-3 $\beta$  (Lauretti *et al.*, 2020).

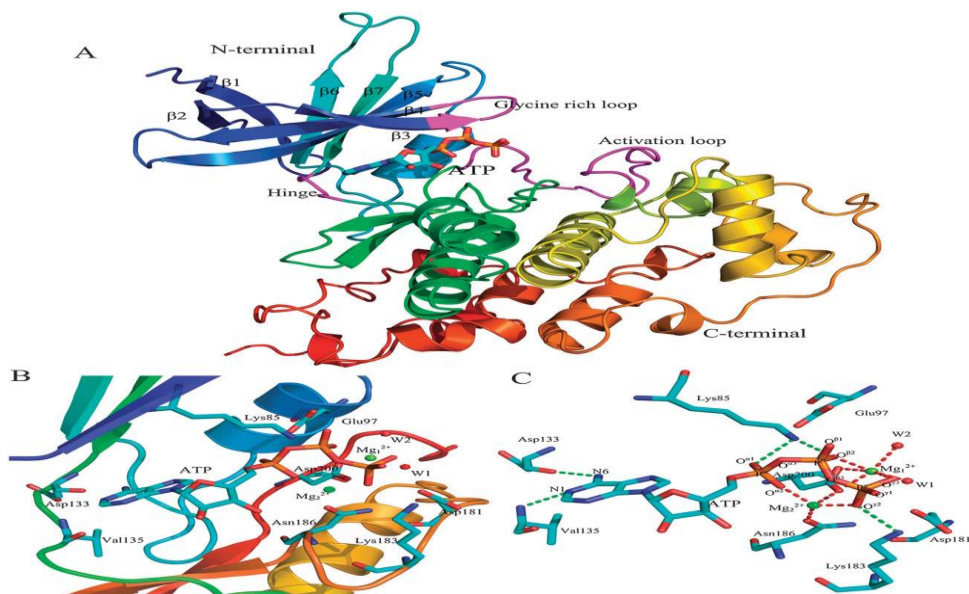
Dans le système nerveux central (SNC), GSK-3 $\beta$  régule de nombreux processus cellulaires importants, agissant comme un interrupteur principal contrôlant de nombreuses voies de signalisation, Le dérèglement de cette kinase se traduit par le développement du cancer, du diabète et bien évidemment de la maladie d'Alzheimer (Lauretti *et al.*, 2020).

Ainsi, compte tenu de son importance dans les processus physiopathologiques, la GSK-3 $\beta$  est largement considérée comme une cible thérapeutique intéressante.

### **II.2. La structure de la GSK3 $\beta$**

Chez les mammifères, GSK-3 est codée par deux gènes appelés GSK-3 $\alpha$  et GSK-3 $\beta$  codant pour les protéines GSK-3 $\alpha$  (483 aa chez l'homme) et GSK-3 $\beta$  (433 aa) avec des masses moléculaires apparentes de 51 et 47 kDa, respectivement. Les deux isoformes sont presque identiques (98 %) au sein de leur poche de liaison à l'ATP mais diffèrent au niveau de leurs domaines N- et C-terminaux (Medina et Wandosell, 2011).

La structure tridimensionnelle de GSK-3 $\beta$ , sa forme générale est partagée par toutes les kinases, avec un petit lobe N-terminal constitué principalement de feuillets  $\beta$  et un grand lobe C-terminal essentiellement formé d'hélices  $\alpha$ , le site de fixation de l'ATP lie une molécule d'ADP aux résidus situés dans la zone de séparation entre les deux domaines principaux  $\alpha$  et  $\beta$  (Medina et Wandosell, 2011).



**Figure 3.** La structure globale de GSK3 $\beta$  (Yong Lu *et al.*, 2011).

### II.3. Rôle physiologique de la GSK3 $\beta$

La GSK (glycogen synthase kinase) -3 initialement découverte pour son rôle majeur dans la signalisation intracellulaire induite par l'insuline, dans le métabolisme du glycogène, où elle phosphoryle la glycogène-synthase (Grimes et Jope, 2001).

GSK-3 est une protéine centrale dans plusieurs maladies et désordres neurologiques comme la maladie d'Alzheimer ou la maladie de parkinson. Plusieurs études ont pu confirmer le rôle de GSK-3 dans ces maladies et ainsi ouvrir la porte à de futurs traitements. (Llorens-Martin *et al.*, 2014).

GSK-3 a aussi un rôle important jouer dans les désordres neurologiques. En effet, la perturbation de la voie de signalisation AktGSK-3 a été associée à plusieurs pathologies telles que la dépression et les troubles bipolaires (Gould *et al.*, 2005 ; Kitagishi *et al.*, 2012).

De plus, certaines forment de polymorphismes de GSK-3, de même que le dysfonctionnement de la voie Akt-GSK-3, ont été reliées à la dépression (Karege *et al.*, 2007 ; Inkster *et al.*, 2009).

#### **II.4. Implication de la GSK3 $\beta$ dans la maladie d'Alzheimer**

Au cours des dernières années, de nombreuses voies de signalisation associées à la neuropathologie de la MA ont été explorées, notamment celles de la GSK3- $\beta$  (Lauretti *et al.*, 2020) devient un acteur clé de la physiopathologie de cette maladie.

L'activation de GSK3- $\beta$  contribue à la neurodégénérescence en favorisant directement l'hyperphosphorylation de tau. La protéine tau hyperphosphorylée se dissocie des microtubules, entraînant une altération du transport axonal, la formation de NFT et un dysfonctionnement neuronal et synaptique. GSK3- $\beta$  favorise la production et l'accumulation d'amyloïde, conduisant à l'apoptose et des lésions neuronales dans la maladie d'Alzheimer et présente également des fonctions pro-inflammatoires. Elle régule la réponse biologique des microglies, cellules immunitaires primaires du système nerveux central, favorise la production de molécules inflammatoires, et enfin, GSK3- $\beta$  est également impliquée dans la plasticité synaptique et la mémoire.

L'hyperactivité de cette kinase a été associée à l'inhibition de la potentialisation à long terme de l'hippocampe, un mécanisme essentiel à la formation de la mémoire et connu pour être affecté dans la MA.

# **Chapitre 02 : Docking moléculaire « *in silico* »**

## I. Introduction

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. La connaissance de la structure des complexes permet aux chercheurs de mieux comprendre le mode de fonctionnement mis en jeu lors d'une interaction entre protéine-ligand, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre deux molécules.

De même, la découverte des nouveaux ligands activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective.

Les progrès en matière de cristallographie et l'introduction de structures obtenues par RMN a conduit à la création d'une ressource basée sur les technologies modernes qui faciliterait l'usage et l'analyse de données structurales. Dans, le domaine de la biologie, la « Protein Data Bank » (PDB) est la base de données par excellence. (Stahl et Rarey, 2001)

Cependant, les outils informatiques ont pris place pour traiter le flot de données produites et optimiser ses avancées. L'amarrage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglosaxon "Docking") est l'une des méthodes *in silico* les plus récentes. La problématique du « Docking », a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand par étude l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaires.

## II. Le Docking moléculaire

Le docking moléculaire est le nom des simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions pharmacologiques entre deux molécules un récepteur macromoléculaire (une protéine cible) et une petite molécule ligand (Soudani *et al.*, 2022) ; en ce sens, il s'agit d'une méthode courante dans la recherche en chimie médicinale. Il est devenu essentiel de développer divers protocoles pour la conception rationnelle de médicaments, y compris le criblage phénotypique structurel pour identifier de nouveaux candidats et comprendre les motifs chimiques les plus importants dirigeant les interactions ligand-protéine dans des cibles biologiques pertinentes (Ramírez et Caballero, 2018).

Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation définie par la position et l'orientation relative la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Au niveau



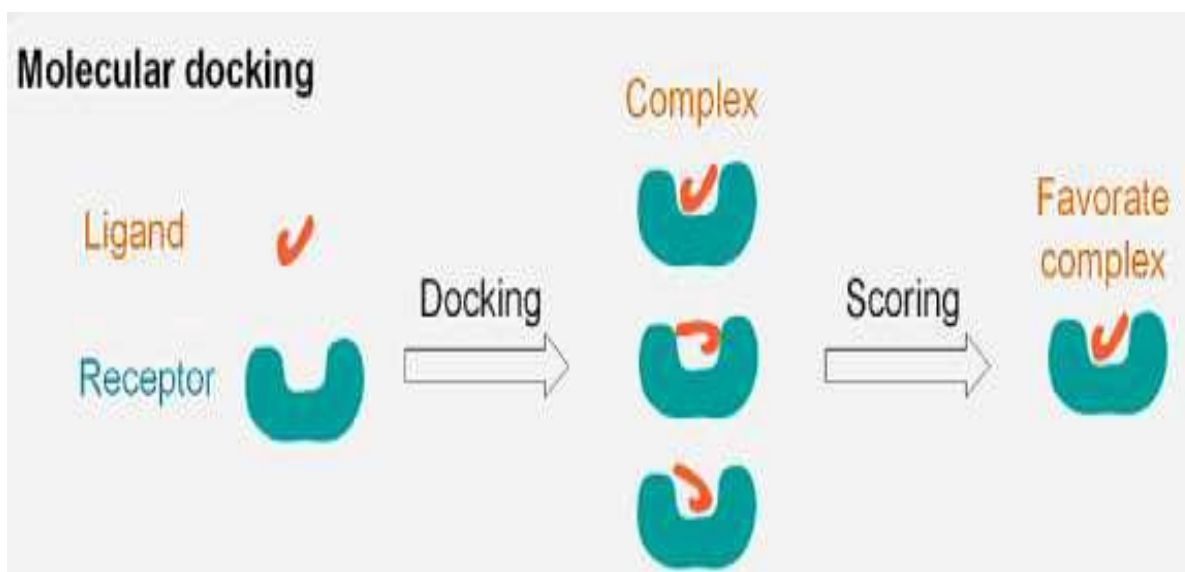
du site actif, le processus d'interaction se fait par liaison complémentaire du ligand avec l'architecture protéique. Les forces intervenant dans la formation du complexe peuvent être de nature stérique, électronique ou les deux avec des contributions différentes, présentées par des liaisons non covalentes ; essentiellement de nature hydrogènes, van der waals, et liaisons électrostatiques (Ramírez et Caballero, 2018).

### III. Principe de docking moléculaire

Le docking décrit un processus dans lequel une molécule (ligand) est placée dans le site actif d'une protéine cible dans un espace tridimensionnel (3D) (Boucherit *et al.*, 2013) ; les méthodes du docking moléculaire combinent l'utilisation de deux algorithmes en deux étapes successives (Figure 04).

La première étape est celle du docking proprement dit. Elle est considérée comme une étape de sélection dans laquelle un algorithme de recherche est utilisé permettant de générer des modes de liaison (ou « poses ») du ligand au sein du site actif du récepteur.

La deuxième étape est dite du « scoring ». C'est une étape de classement pendant laquelle une fonction de score est employée pour classer les différentes poses selon un score prédit d'affinité. Ce score permettra de ne retenir que la meilleure pose parmi toutes celles proposées (Boucherit, 2012 ; Lagarde, 2014).



**Figure 4.** Principe général d'un programme de docking (Li *et al.*, 2019).

## **IV. Types de Docking**

L'étude d'amarrage peut être de trois types, à savoir l'amarrage rigide, l'amarrage rigide flexible et l'amarrage flexible ; basé sur la flexibilité des molécules, du récepteur et du ligand en interaction.

### **IV.1. Le docking rigide**

Docking rigide le premier logiciel de docking utilisés considère le ligand et le site de liaison du récepteur comme deux entités rigides. Ce type, basé sur le concept « Clé-serrure ».

Le résultat est moins précis et peu fiable et est donc moins fréquemment utilisé dans les études d'amarrage actuelles. (M. Mohanty et P. Mohanty, 2023).

### **IV.2. Le docking semi-flexible**

Dans le docking semi-flexible, le ligand est flexible et la protéine est rigide, habituellement, la forme du récepteur reste fixe et la conformation du ligand varie. Cette méthode donne des résultats plus précis et plus fiables que la méthode d'amarrage rigide et est donc fréquemment utilisée.

### **IV.3. Le docking flexible**

Il s'agit d'une méthode d'amarrage entièrement flexible, dans laquelle le ligand et le récepteur sont considérés comme des corps flexibles, c'est-à-dire qu'une énumération des rotations des molécules (récepteur et ligand) est effectuée pour rechercher une conformation et une orientation optimisées des molécules interagissant ensemble. La forme de la molécule peut varier en modifiant les angles de torsion et les liaisons rotatives.

Cette méthode permet de prédire la conformation ancrée avec une grande précision qui ressemble très probablement aux résultats expérimentaux, mais peut nécessiter des calculs et du temps de calcul importants.

# **Deuxième partie : Partie expérimentale**

# **Chapitre 03 :**

# **Matériels et Méthodes**

## **Docking moléculaire**

Au cours de notre étude, nous avons évalués par docking moléculaire l'affinité des 74 molécules vis à vis du site actif de la glycogène synthase kinase-3 (PDB : 1Q5K) à l'aide du programme AutoDock Vina. Les propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques de ces 74 inhibiteurs ont ensuite été analysées par les serveurs, SuisseADME et ADMETlab, respectivement.

## **I. Matériel**

### **I.1. Micro-ordinateurs**

Pour réaliser ce travail, nous avons utilisé un micro-ordinateur :

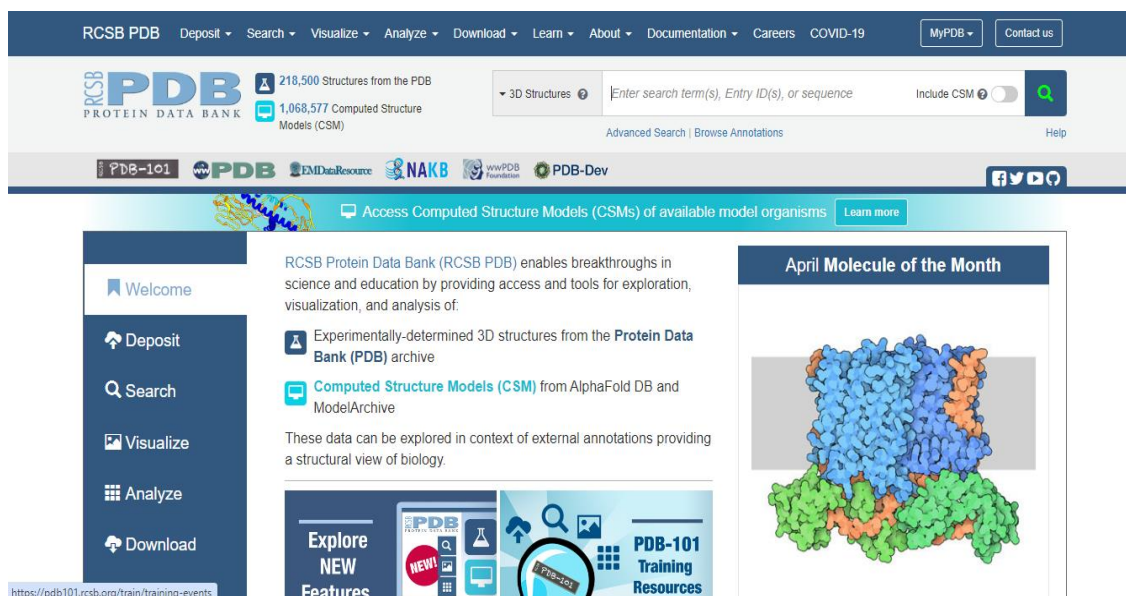
- PC ACER DESKTOP-67NKGGA3 doté d'un processeur Intel(R) Core (TM) i3-3217U CPU @ 1.80GHz 1.80 GHz et une mémoire RAM de 8.00 GO

### **I.2. Les bases de données**

#### **a. La base de données PDB**

La banque de données Protein Data Bank (PDB) est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (ou structure 3D) de macromolécules biologiques : les protéines, l'ADN, l'ARN, etc., qui revêtent un intérêt pharmaceutique. Ces données expérimentales sont déposées dans la PDB par des biologistes et des biochimistes du monde entier et appartiennent au domaine public.

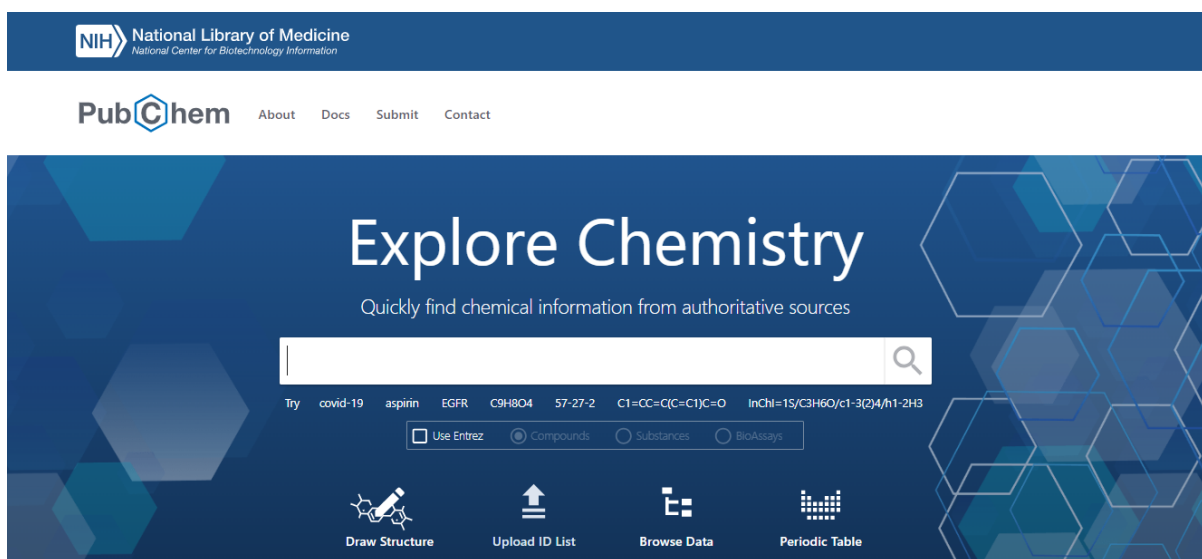
En 2024, la PDB contient un total de 218500 structures, chaque macromolécule est répertoriée dans la PDB par un nom de code arbitraire et est accessible via une interface graphique simple et performante. Ces codes sont composés d'un chiffre suivi de trois caractères alphanumériques. Par exemple : le code 1Q5K correspond aux structures de la glycogène synthase kinase 3 (GSK3).



**Figure 5.** Interface de la banque de données PDB.

## b. PubChem

Pubchem est une base de données créée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI) qui contient des informations sur les structures chimiques, identifiants, propriétés physiques et chimiques, activités biologiques, tests biologiques, brevets, toxicité, etc., de petites molécules composées tels que les médicaments, nucléotides, peptides, mais aussi de macromolécules.



**Figure 6.** Interface de Pubchem.

### I.3. Logiciels utilisés

#### a. Suisse ADME

SwissADME donne accès gratuitement à un certain nombre de paramètres et de modèles prédictifs afin de calculer la physicochimie et d'estimer la pharmacocinétique, la pharmacoséance et la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules.

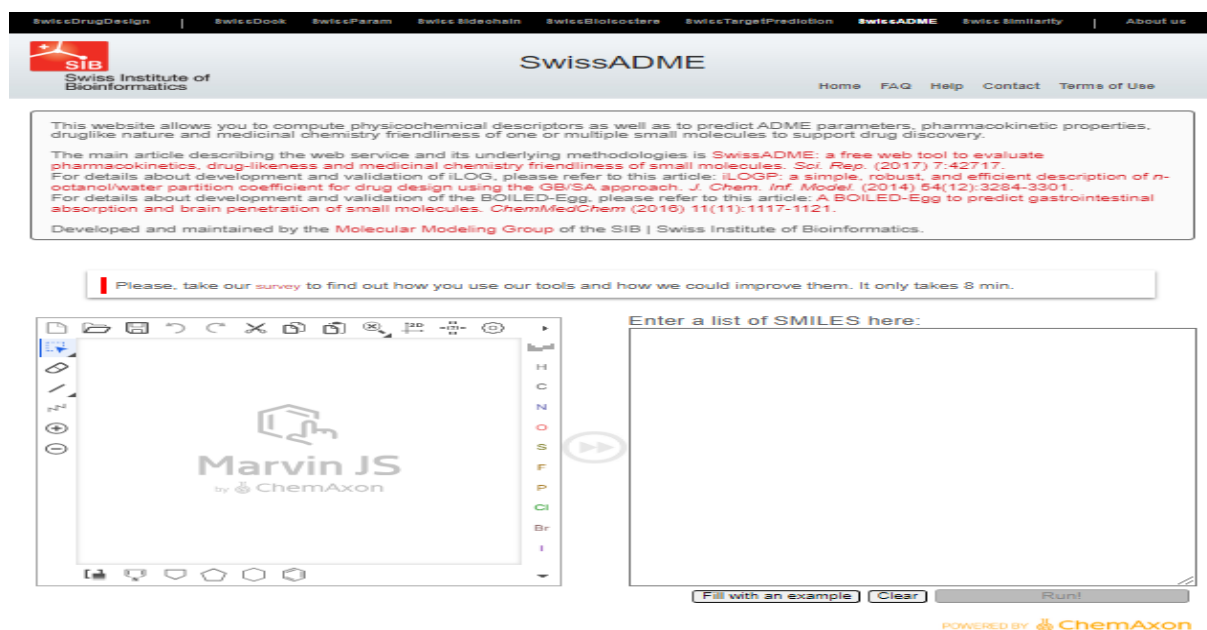


Figure 7. Interface de SuisseADME.

#### b. ADMETlab 2.0

ADMETlab 2.0 est une plateforme accessible en ligne qui fournit une interface Web conviviale et disponible gratuitement pour une évaluation ADMET systématique des composés chimiques, elle est basée sur une base de données comprenant 288967 entrées. Quatre modules de fonction permettent aux utilisateurs d'effectuer une analyse de druglikeness, 31 prédiction des points finaux ADMET, évaluation systématique et recherche de similarité, ce qui donne une compréhension globale d'un lot de composés et peut réaliser le processus de criblage rapide. (Dong *et al.*, 2018).



Figure 8. Interface de ADMETlab 2.0.

### c. PkCSM

PkCSM est un outil en ligne rapide pour prédire les propriétés ADMET essentielles au développement de médicaments à l'aide de signatures graphiques

( <http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsml> ). (Pires *et al.*, 2015).

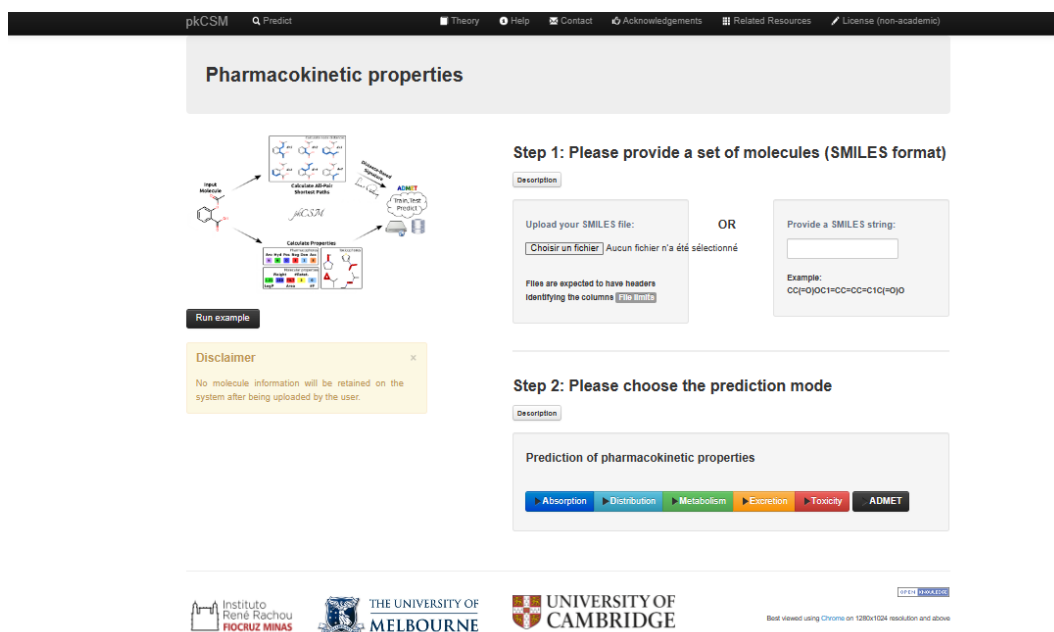


Figure 9. Interface de pkCSM.



#### **d. ChemFaces**

ChemFaces est une entreprise de recherche et développement de produits naturels de haute qualité, engagée à fournir une variété de produits naturels aux institutions et entreprises de recherche scientifique du monde entier pour les normes de référence, la recherche pharmacologique et les inhibiteurs.

Les composés naturels ont une bonne activité biologique, les scientifiques et les chercheurs scientifiques qui utilisent les produits ChemFaces ont constaté que la plupart des produits ont une très bonne valeur de recherche et ont obtenu de très bons résultats de recherche scientifique.

ChemFaces met à jour son inventaire de produits chaque mois, principalement avec de nouveaux ajouts et de nouveaux lots. Parce que nos produits sont uniques depuis longtemps.

Site officiel de ChemFaces ([www.chemfaces.com](http://www.chemfaces.com)).

#### **I.4. Les programmes utilisés**

Dans notre travail, nous avons utilisé les logiciels suivants :

##### **a. BIOVIA Discovery Studio**

Discovery Studio Visualiser (DS) est un logiciel de visualisation gratuit permettant de simuler des systèmes de petites molécules et de macromolécules et l'analyse des données de manière crédible. Il couvre les domaines suivants : stimulations, conception de ligands, modélisation de pharmacophore, conception basée sur la structure, QSAR et ADMET.

Dans notre travail, nous l'utiliserons pour prédire la conformation la plus favorable d'un ligand au site actif du récepteur dans le but de l'inhiber, et déterminer les interactions entre le ligand et le récepteur.

##### **b. AutoDock Vina**

AutoDock Vina est un programme open source, utilisé pour l'amarrage moléculaire et la prédiction considérablement précise du mode de liaison de ligands au site actif de la protéine.

##### **c. AutoDock Tools**

AutoDock Tools ou ADT version 1.5.6, est l'interface graphique pour AutoDock, développée par le même laboratoire qui développe AutoDock (le laboratoire de graphisme

moléculaire de l'institut de recherche scripps aux états- unis). Il sert à préparer et à visualiser les molécules étudiées, ainsi qu'exécuter et analyser les résultats de docking AutoDock.

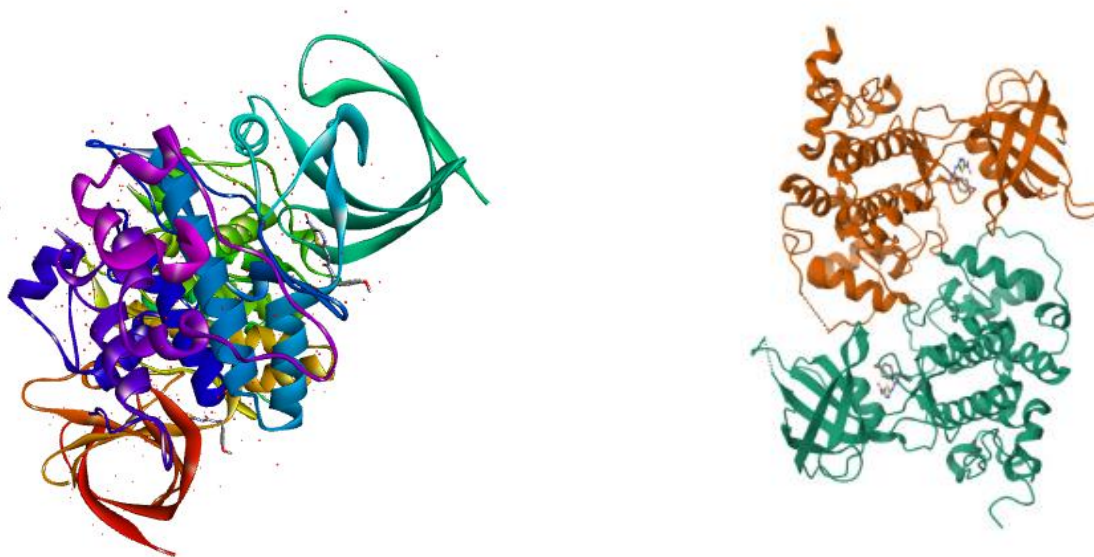
#### d. Pymol

Pymol est un logiciel libre de visualisation de structures chimiques en 3D de haute qualité de petites molécules et de macromolécules biologiques telles que des protéines créées par Warren DeLano. (Dafydd, 2021).

## II. Méthode

### II.1. Préparation du récepteur

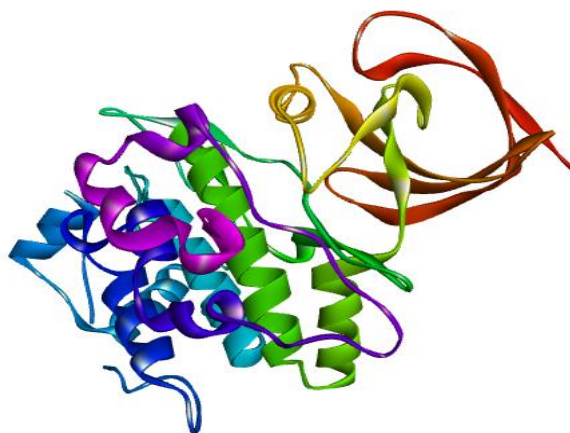
La protéine cible étudiée dans ce travail est la glycogène synthase kinase-3beta (GSK-3 $\beta$ ), dont la structure tridimensionnelle a été obtenue à partir de la base données PDB. Parmi les structures proposées par la PDB, nous avons choisis la structure avec un identifiant 1Q5K, Cette dernière a été déterminée expérimentalement par cristallographie aux rayons X dont la résolution est 1,94 Å.



**Figure 10.** Structure 3D de GSK3  $\beta$  téléchargée à partir de PDB (ID :1Q5K).

Pour l'étude des interactions entre la GSK3 $\beta$  et ses inhibiteurs à l'aide de docking moléculaire, le logiciel ADT a été utilisé pour préparer les fichiers nécessaires à AutoDock Vina, en effectuant les procédures suivantes :

- ✓ Elimination des molécules d'eaux et des cofacteurs.
- ✓ L'ajout des hydrogènes aux groupements polaires.
- ✓ L'ajout de charges de Kollman et l'attribution des atomes à l'AD4.
- ✓ Conversion de la protéine du format PDB en format PDBQT.



**Figure 11.** Structure 3D de GSK3 $\beta$  après la modification.

**Tableau 1.** Caractéristiques de la glycogène synthase kinase-3beta.

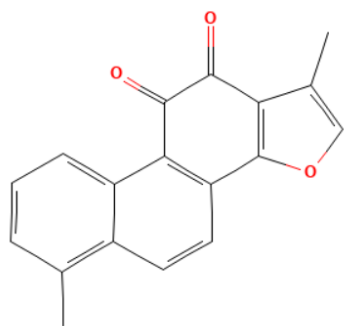
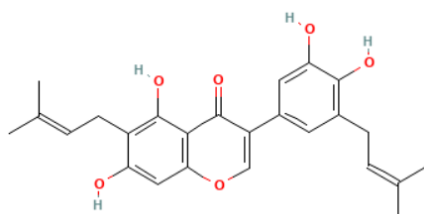
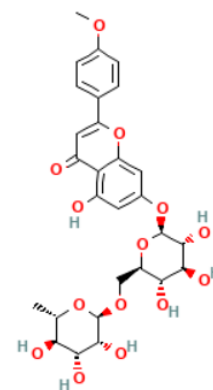
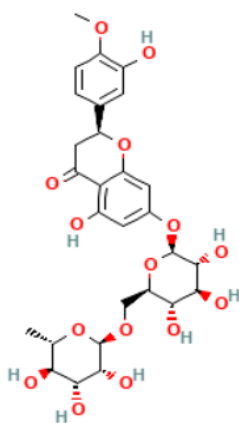
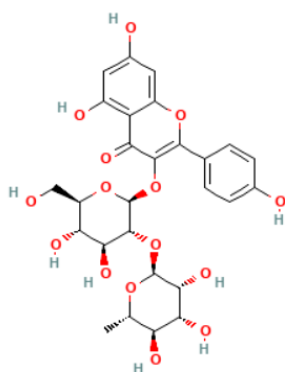
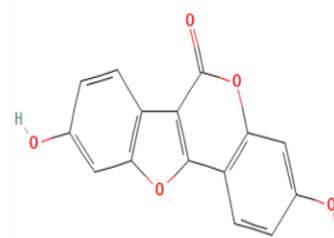
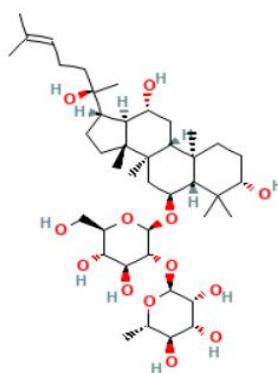
Code PDB	Résolution Å	Classification	Nombre des chaines	Nombre des AA	Organisme
1Q5K	1,94	<b>EC: 2.7.1.37</b>	2 chaines A et B	414	Homo sapiens

## II.2. Préparation des ligands

Les inhibiteurs spécifiques de l'enzyme GSK 3 $\beta$  étudiés dans ce présent travail, ont été téléchargés à partir de la bibliothèque ChemFaces dans un fichier Excel contenant 74 inhibiteurs.

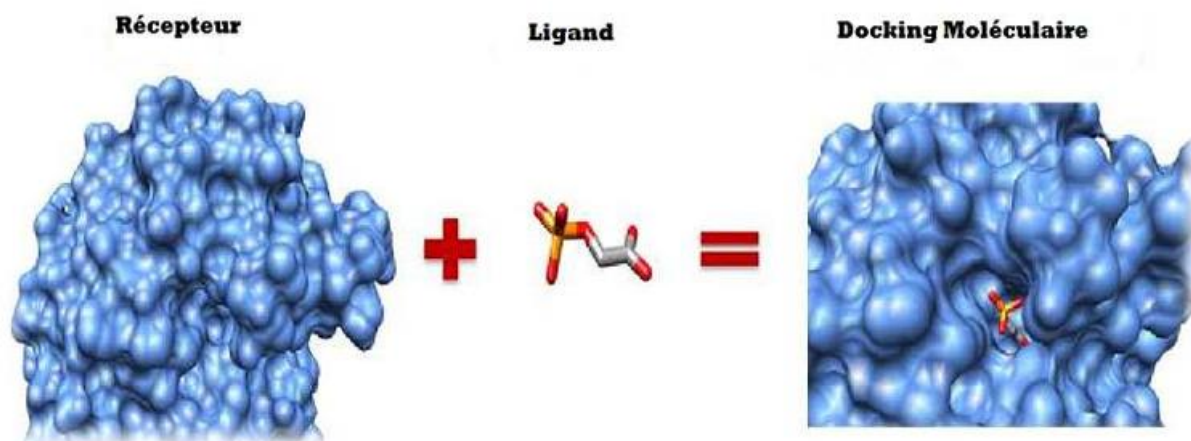
Les structures 3D des ligands ont été téléchargées à partir de la base des données Pubchem sous forme SDF puis enregistrée en format PDB en utilisant le logiciel Discovery Studio 2021. Les fichiers PDB ont été ensuite convertis en forme PDBQT à l'aide de logiciel Auto Dock Tools version 1.5.6 pour préparer les molécules à un amarrage moléculaire.

**NB :** Les structures 3D de sept meilleurs ligands étudiés sera représenté en annexe 1.

**Tanshinone I****Isoangustone A****Linarine****Hesperidine****Kaempférol  
3-néohespéridoside****Coumestrol****20R-Ginsénoside Rg2****Figure 12.** Structures 2D de sept meilleurs ligands étudiés.

### II.3. L'amarrage moléculaire

Le docking moléculaire ou l'amarrage moléculaire (AM) (figure 13) est une procédure *in silico* qui permet de prédire la liaison non covalente entre une macromolécule (récepteur) et une petite molécule (ligand). (Bou-Salah *et al.*, 2020).



**Figure 13.** Éléments d'amarrage moléculaire. (Hernández-Santoyo *et al.*, 2013).

Cette technique est réalisée par le logiciel Auto Dock Vina qui utilise une grille de potentiel tridimensionnelle. La boîte de grille est placée dans l'enzyme 1Q5K, qui englobe largement le site actif de la protéine étudiée et permet au ligand de tourner librement dans ce site. Les coordonnées  $x=41.169667$ ,  $y=47.349571$  et  $z=35.752857$  et de taille  $x=20$ ,  $y=20$  et  $z=20$  indiquent le centre de cette boîte. La sélection de la meilleure pose d'amarrage moléculaire pour chaque complexe enzyme-ligand est choisie selon la plus faible valeur énergétique (Kcal/mol) parmi les sept 07 solutions obtenues. Les résultats de l'amarrage moléculaire ont été chargés sur le logiciel Discovery studio afin d'identifier les acides aminés et les types d'interactions impliquées (liaisons d'hydrogènes, liaisons électrostatiques ou interactions hydrophobiques) entre le récepteur et les différents inhibiteurs dans cette étude.

### II.4. Teste de la fiabilité du docking

Afin d'améliorer les résultats des travaux et évaluer la performance du programme utilisé pour le docking nous avons effectué test de l'écart quadratique moyen des positions atomiques RMSD.

Le test RMSD a été réalisé directement à partir des complexes récupérés de la banque de données PDB. L'écart RMSD entre la conformation et l'orientation du ligand déterminé par le programme d'amarrage et sa pose dans le complexe expérimental doit être aussi faible que possible ( $< 2 \text{ \AA}$ ).

## II.5. Etude du profil pharmacocinétique

Dans les années 1990, les échecs du développement des médicaments étaient le résultat de mauvaises performances pharmacocinétiques. Ce problème a été résolu grâce à l'utilisation d'un filtrage ADMET (Empereur-Mot, 2017). Ce dernier représente l'ensemble des propriétés pharmacocinétiques : absorption, distribution, métabolisme, excrétion et sa toxicité dans le corps humain (Nisha *et al.*, 2016).

Dans notre étude, nous avons utilisé le serveur SwissADME qui est accessible via l'URL (<http://www.swissadme.ch/index.php>). Le profil ADMET a été sélectionné en fonction des paramètres suivants :

- a) **Absorption** : Ce terme défini par le processus de la pénétration du médicament dans la circulation systématique après son administration. Nous avons utilisé comme paramètre :
  - Absorption intestinale humaine AIH (%).
  - Perméabilité des cellules Caco-2 (nm/sec).
- b) **Distribution** : C'est la diffusion du médicament à travers l'organisme via la circulation sanguine pour atteindre sa cible (Lagorce *et al.*, 2017). En effet, un médicament doit passer par :
  - La barrière hémato-encéphalique (C. Cerveau / C. sang).
- c) **Métabolisme** : C'est la biotransformation des médicaments et les composés xénobiotiques par l'intervention des enzymes afin de faciliter son élimination (Lagorce, *et al.*, 2017) on s'intéresse aux :
  - Cytochromes P450 2D6.
- d) **Excrétion** : Ces composés administrés doit être éliminés par les reins de l'organisme via l'urine ou les fèces afin d'éviter les phénomènes de son accumulation (Lagorce *et al.*, 2017).

e) **Toxicité** : L'une des principales causes de l'échec du développement des médicaments, c'est « La toxicité » qui est définie par la capacité de médicament à endommager un organisme, un tissu ou une cellule. (Lagorce *et al.*, 2017). Dans cette étude nous avons testé les paramètres :

- Inhibition de gène hERG (Human Ether-à-go-go-Related Gene), codant pour le canal potassique Kv11.1, indispensable au potentiel d'action au niveau cardiaque.
- Hépatotoxicité humaine.
- Cancérogénicité.

## II.6. Propriétés pharmacocinétiques

Il est nécessaire de renforcer ce travail en évaluant les propriétés pharmacocinétiques des composés, par l'application des deux règles suivantes en utilisant le site SuisseADME.

### a) La règle de cinq de Lipinski

- ✓ Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- ✓ Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté LogP, doit être inférieur ou égale à 4,15 ( $\text{Log P} \leq 4,15$ ).
- ✓ Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 10 ( $H \leq 10$ ).
- ✓ Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 5 ( $H \leq 5$ ).
- ✓ Le nombre de liaisons en rotation libre  $\leq 15$ . Pour mesurer de la flexibilité moléculaire.

On rappelle que cette règle a pour but d'identifier les composés posant des problèmes d'absorption et de perméabilité.

### b) La règle de Veber

- ✓ Le nombre de liaisons en rotation libre  $\leq 10$ . Pour mesurer de la flexibilité moléculaire.
- ✓ La surface polaire (PSA)  $< 140 \text{ \AA}$ , pour une meilleure biodisponibilité par voie orale.



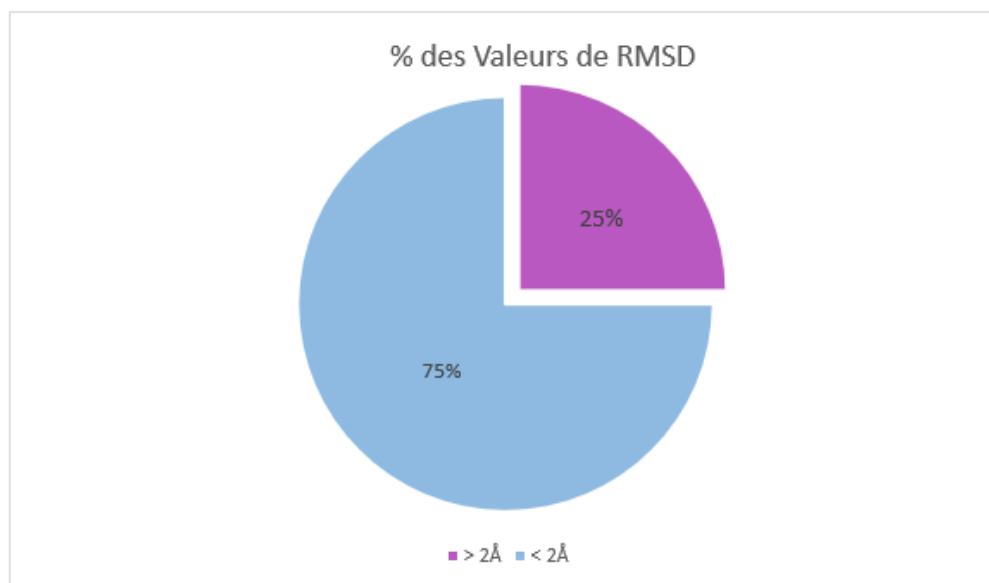
# **Chapitre 04 : Résultats et discussion**

## I. Validation docking moléculaire

### I.1. Teste RMSD

Ce test n'est éligible que si la valeur RMSD est inférieure à 2 Å. Une évaluation de la fiabilité du programme du docking par le test du RMSD a été réalisée sur 20 composés téléchargés de la banque Pubchem et regroupés dans le tableau 2.

Sur les 20 complexes utilisés, seuls 15 ont un RMSD de 2 Å ou moins et sont considérés comme des résultats positifs. Cela donne un pourcentage de 75% et seulement 25% des résultats sont supérieurs à 2Å.



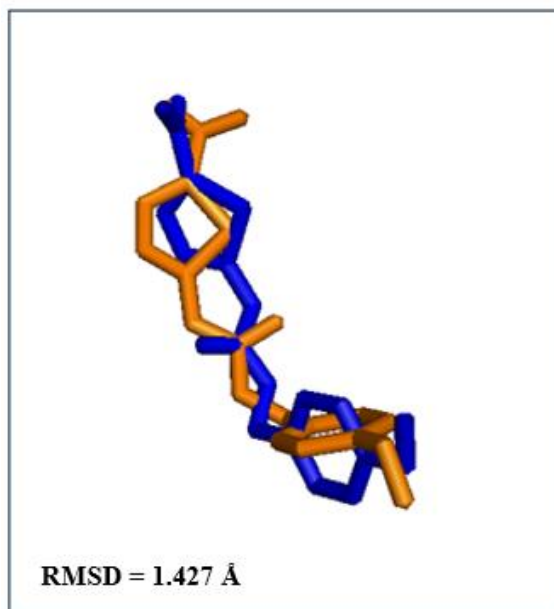
**Figure 14.** Valeurs de RMSD en pourcentage.

**Tableau 2.** Valeurs du RMSD des différents complexes protéine-ligand.

Protéine	Ligand	RMSD (Å)	Protéine	Ligand	RMSD (Å)
<b>2QHK</b>	MSE	0,910	<b>6SEA</b>	<b>GAL</b>	0,000
<b>6SE8</b>	EPE	1,197	<b>1BJV</b>	<b>GP8</b>	5,151
<b>1C7Q</b>	BE1	0,936	<b>3QTQ</b>	<b>X35</b>	3,104
<b>1ZVX</b>	IH6	1,340	<b>5F94</b>	<b>3UO</b>	3,394
<b>2FDV</b>	D2G	1,172	<b>4D08</b>	<b>Q2T</b>	3,763
<b>4NGN</b>	J96	1,692	<b>3DRP</b>	<b>R8E</b>	0.660

<b>1B74</b>	DGN	1,221	<b>4E73</b>	<b>0NR</b>	1,547
<b>1Q5K</b>	TMU	1,427	<b>5E0J</b>	<b>5LJ</b>	0,073
<b>3V1M</b>	HPK	0,825	<b>1AJX</b>	<b>AH1</b>	1,874
<b>1BNU</b>	AL3	3,1895	<b>1E38</b>	<b>TPY</b>	1,468

Dans la plupart des cas, il y avait un écart négligeable entre la conformation expérimentale et la conformation ancree, comme le montre la figure 16 pour l'inhibiteur GSK3 $\beta$  (ID PDB : 1Q5K). Ces résultats indiquent la capacité du programme AutoDock. À reproduire les modes d'interaction et les orientations des ligands expérimentaux.



**Figure 15.** Superposition du ligand expérimentale 'TMU' (colorée en orange) et celui du moléculaire (colorée en bleu).

## II. Résultats et discussions

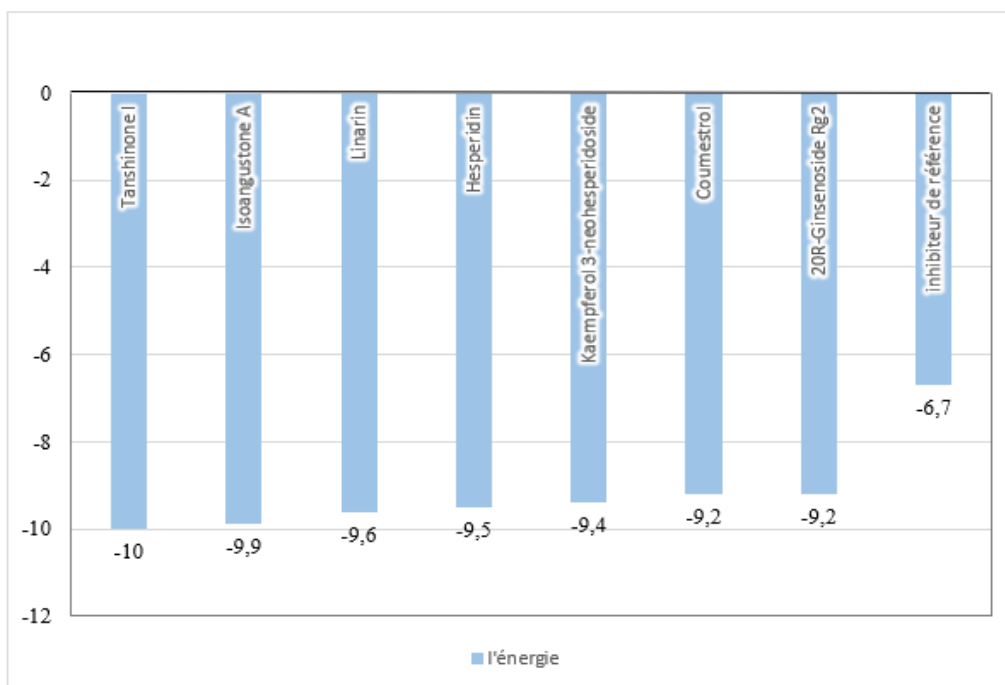
### II.1. Amarrage moléculaire et Visualisation des interactions

Dans cette partie, nous avons présenté les résultats l'inhibition de la glycogène synthase kinase-3 $\beta$  par les sept meilleurs inhibiteurs, choisis en fonction de l'énergie d'affinité de ces derniers envers GSK-3 $\beta$ .

Les résultats de l'AM représentés par les valeurs d'énergie de liaison pour les sept ligands, ces valeurs ont été observées dans la gamme de -9,2 jusqu'à -10 Kcal/mol, avec l'énergie de l'inhibiteur de référence égale -6,7 Kcal/mol, et les différents types d'interactions y compris hydrogènes établis entre l'inhibiteur et les différents acides aminés du site actif de la glycogène synthase kinase-3 $\beta$  accompagnées par des valeurs de la distance des liaisons hydrogènes.

Les valeurs d'énergie augmentent progressivement :  $-9,9 < -9,6 < -9,5 < -9,4$  Kcal/mol pour le reste des inhibiteurs : Isoangustone A, Linarine, Hesperidine, Kaempférol 3-néohesperidoside ; respectivement.

Ces résultats démontrent que la Tanshinone I est le meilleur inhibiteur contre la GSK3 $\beta$  avec une valeur d'énergie était égale à -9,7 Kcal/mol, son inhibition réalisée par l'intervention de plusieurs types d'interactions ( $\pi$ -alkyl,  $\pi$ -Sigma,  $\pi$ -sulfur). Cependant, la Coumestrol et le 20R-ginsénoside Rg2 ont des mêmes valeurs d'énergie était égale à -9,2 Kcal/mol, mais ils diffèrent entre eux par les types d'interactions établies. Tous les résultats sont résumés dans la figure 16 et le tableau 03.



**Figure 16.** Représentation graphique des valeurs d'énergie des sept inhibiteurs.

**Tableau 3.** Analyse des résultats de l'amarrage moléculaire entre la GSK3 $\beta$  et les différents inhibiteurs.

Inhibiteurs	Energie (Kcal/mol)	Résidus d'interactions	Type des interactions	Liaison Hydrogène	Distance (Å)
<b>Tanshinone I</b>	-10	Val70, Ala83, Leu132, Leu188, Ile62, Val110, Cys199	$\pi$ -alkyl $\pi$ -Sigma $\pi$ -sulfur	/	/
<b>Isoangustone A</b>	-9,9	Lys85, Asp200, Cys199, Asn186, Leu132, Gln185, Leu188, Ile62, Val135	$\pi$ -alkyl $\pi$ -Sigma	<b>Asp200</b> <b>Cys199</b> <b>Val135</b>	2,32 3,79 3,29/1,84
<b>Linarine</b>	-9,6	Tyr134, Leu188, Cys199, Ile62, Val70, Lys85, Asp200, Gln185, Lys183	$\pi$ -alkyl $\pi$ -Sigma $\pi$ - liaison hydrogène donneur	<b>Gln185</b>	3,14/1,81
<b>Hespéridine</b>	-9,5	Asp200, Gly65, Gly68, Leu188, Ile62, Val135, Cys199, Val110, Lys85, Val70, Leu132, Met101	$\pi$ -alkyl	<b>Gly68</b> <b>Val135</b>	2,68 3,34
<b>Kaempférol 3-néohespéridoside</b>	-9,4	Arg141, Ile62, Thr138, Gln185, Gly63, Asn64, Tyr134, Pro136, Val135, Cys199	$\pi$ -alkyl $\pi$ -Sigma	<b>Cys199</b> <b>Asn64</b> <b>Gly63</b> <b>Gln185</b> <b>Val135</b> <b>Pro136</b> <b>Tyr134</b>	3,36 2,20/2,28 2,31 3,27 2,55 1,97 3,04
<b>Coumestrol</b>	-9,2	Val70, Leu188, Val110, Ala83, Cys199	$\pi$ -alkyl	/	/

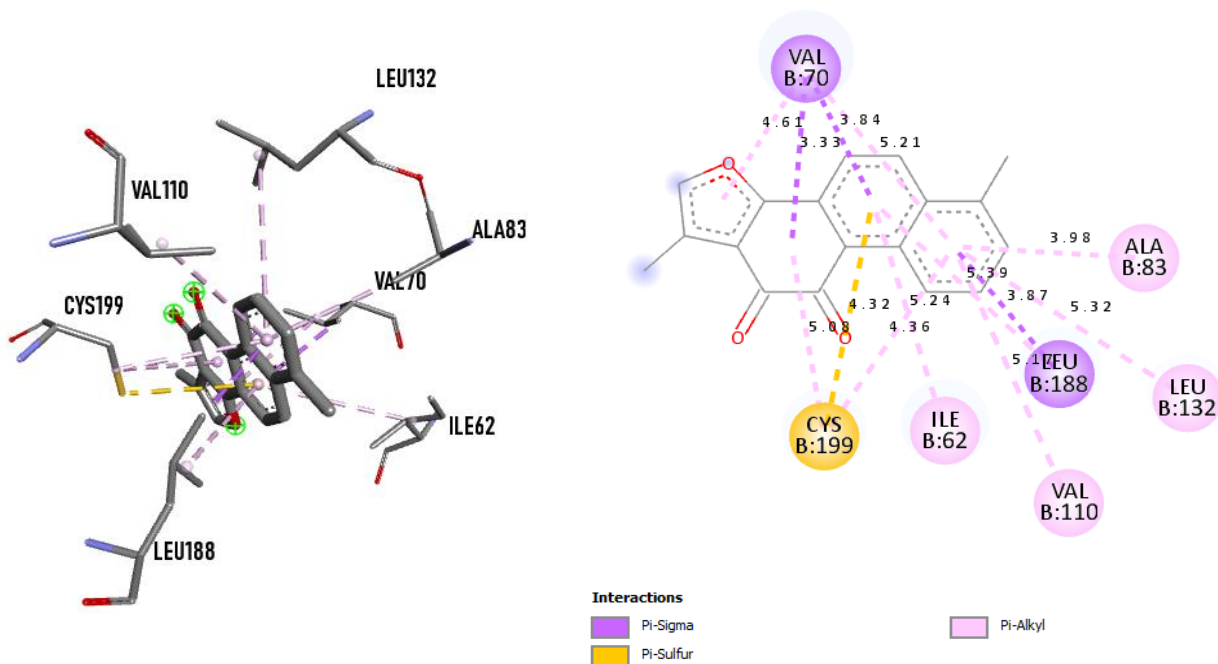
<b>20R-Ginsénoïde Rg2</b>	-9,2	Phe67, Val70, Val135, Tyr134, Arg141	$\pi$ -alkyl	<b>Val135</b> <b>Tyr134</b> <b>Arg141</b>	2,20 2,67/2,97 3,12
<b>n-(4-méthoxybenzyl)-n-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl) (Inhibiteur de référence)</b>	-6,7	Ser66, Phe67, Gly68, Asp200, Asn186, Cys199, Val70, Leu188, Val110, Ala83, Leu132	$\pi$ -alkyl $\pi$ -Sigma $\pi$ - liaison hydrogène donneur $\pi$ -anion	<b>Phe67</b> <b>Ser66</b>	2,98 2,91

Au cours des années précédentes, différentes molécules ont été utilisées pour définir le site actif de la GSK3- $\beta$  et les acides aminés qui le forment. Selon (Kim et *al.*, 2018 ; Lee et *al.*, 2022) la poche du site actif renferme les résidus suivants : Val135, Arg141, Gly63, Val70, Lys85, Glu137, Thr138, Gln185, Asp133, Ala83, Leu188, Pro136, Ala83, Ile62, Asn186, Gly65, Ser66, Gly65, Asn64, Cys199 et Asp200.

L'analyse des résultats de l'amarrage moléculaire de sept inhibiteurs montrent que tous les composés ont une activité inhibitrice contre la GSK3 $\beta$  dont l'énergie de liaison comprise entre -9,2 et -10 Kcal/mol, sachant que les acides aminés de site actif responsable aux interactions avec l'inhibiteur de référence (n-(4-méthoxybenzyl) -n-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl)) sont : Ser66, Phe67, Gly68, Asp200, Asn186, Cys199, Val70, Leu188, Val110, Ala83, Leu132.

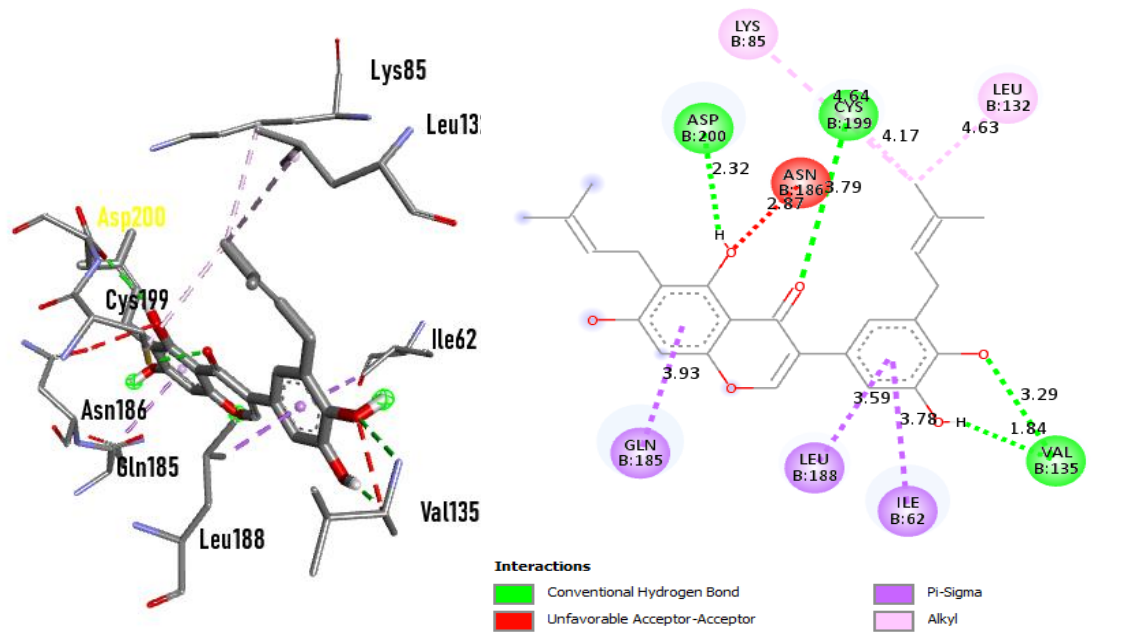
- Tanshinone I ou 1,6-diméthylnaphto[1,2-g] [1]benzofurane-10,11-dione est un diterpénoïde abietane. Il a un rôle d'agent anti coronaviral., sa formule chimique C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> qui est représentée dans le tableau 03, son poids moléculaire est de 276,3g/mol. Selon les résultats de docking moléculaire avec l'enzyme glycogène synthase kinase-3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ), la Tanshinone I a été ancrée dans la cavité intérieure du site actif de la GSK3 $\beta$  avec une valeur d'énergie de liaison était égale à -10 Kcal/mol. Elle est classée le 1<sup>ère</sup> inhibiteur avec les 6 autres inhibiteurs (Tableau 03). Son inhibition est stabilisée grâce aux interactions établies, et toutes les interactions sont interactions hydrophobes de type  $\pi$ -alkyl,  $\pi$ -sigma,  $\pi$ -sulfur. Tanshinone I réagit avec l'enzyme GSK3 $\beta$  par interaction  $\pi$ -alkyl avec les résidus Ala83, Leu132, Val110, Ile62, Cys199, Leu188, Val70 avec une distance 3,98Å, 5,32Å, 5,17Å, 5,24Å (4,36Å et 5,08Å), 5,39Å et (5,21Å et 4,61Å) respectivement et une liaison de type  $\pi$ -

sigma avec les résidus Val70, Leu188 avec une distance (3,33Å et 3,84Å) et 3,87Å respectivement et enfin une liaison de type  $\pi$ -sulfur avec le résidu Cys199 Avec une distance 4,32Å (Figure 17).



**Figure 17.** Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3  $\beta$  - Tanshinone I.

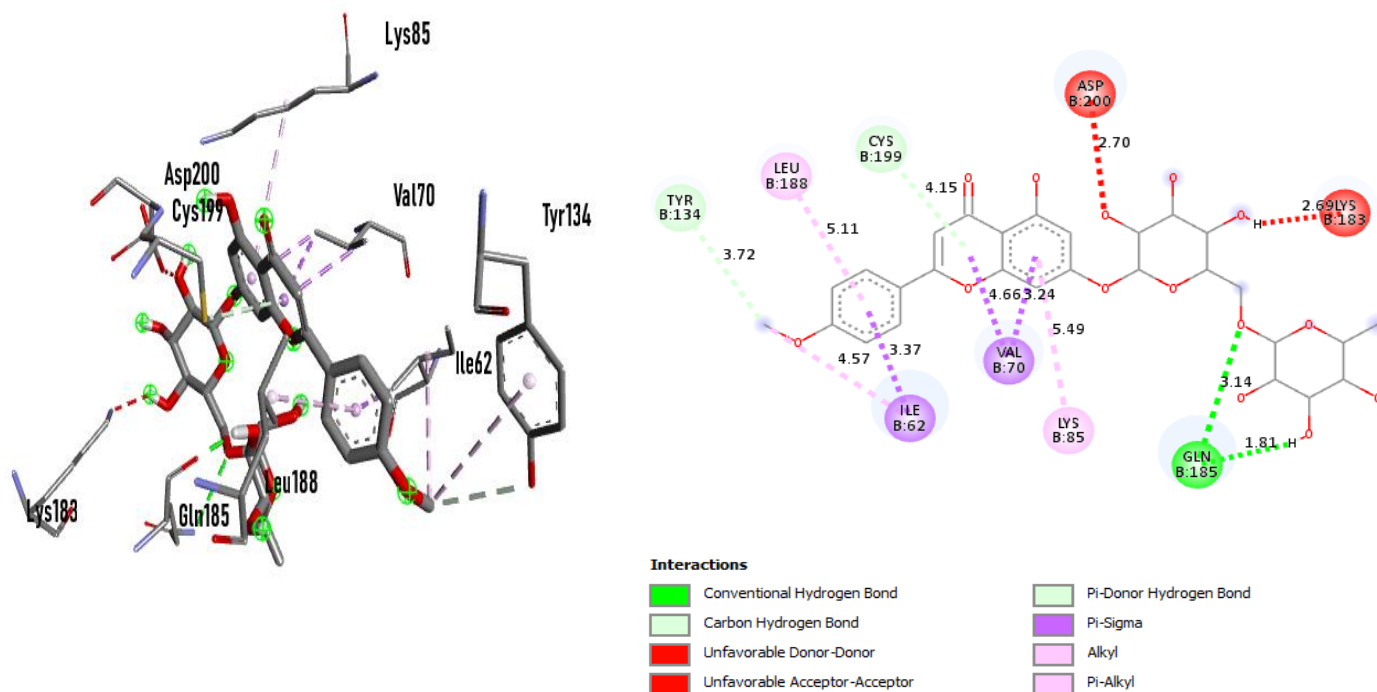
- Isoangustone A est un isoflavonoïde. Sa formule chimique  $C_{25}H_{26}O_6$  qui est représentée dans le tableau 3, son poids moléculaire est 422,5g/mol. Selon les résultats, le Isoangustone A est considéré comme le 2<sup>ème</sup> meilleur inhibiteur de GSK3 $\beta$  avec un score de docking de -9,9 kcal/mol, est stabilisée dans le site actif par quatre liaisons  $\pi$ -sigma, alkyl, interaction hydrogène et interaction accepteur-accepteur défavorable avec les résidus Lys85, Asp200, Cys199, Asn186, Leu132, Gln185, Leu188, Ile62, Val135. Le type  $\pi$  sigma est lié via les résidus Gln185, Leu188 et Ile62 avec une distance 3,93Å, 3,59Å et 3,78Å respectivement. Type alkyl via les résidus Leu132 et Lys85 avec une distance 4,63 Å et 4,64Å respectivement. D'autre part, une interaction hydrogène s'est produite avec les résidus Asp200, Cys199 et Val135 à une distance 2,32Å, 3,79Å et (3,29Å, 1,84Å) respectivement. Enfin, il existe une interaction de type accepteur-accepteur défavorable via le résidu Asn186 à une distance 2,87Å. (figure 18).



**Figure 18.** Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$  - Isoangustone A.

- Linarine est un composé flavone glycosylée, sa formule chimique  $C_{28}H_{32}O_{14}$  avec un poids moléculaire égal à 592,5 g/mol. Selon les résultats de l'amarrage moléculaire, Linarine se lie au site actif de la GSK-3 $\beta$  avec une énergie de -9,6 Kcal/mol (Tableau 03). En terme pouvoir d'inhibition, il est classé le 3<sup>ème</sup> par rapport aux autres inhibiteurs et forme une liaison hydrogène avec le résidu Gln185 qui est séparée avec une distance de 3,14Å/1,81Å. Une autre importante interaction de type alkyl et  $\pi$ -alkyl a été formée avec les résidus Leu188 avec une distance 5,11Å. Des interactions hydrophobes de type  $\pi$  – sigma l'acides aminé Ile62 et Val70 et autre importante interaction  $\pi$ -liaison hydrogène donneur et liaison carbone-hydrogène avec les résidus Cys199 et Tyr134 et les dernières interactions enregistrées sont des interactions donateur-donneur défavorable et accepteur-accepteur défavorable avec les résidus Lys183 et Asp200 (Figure 19).

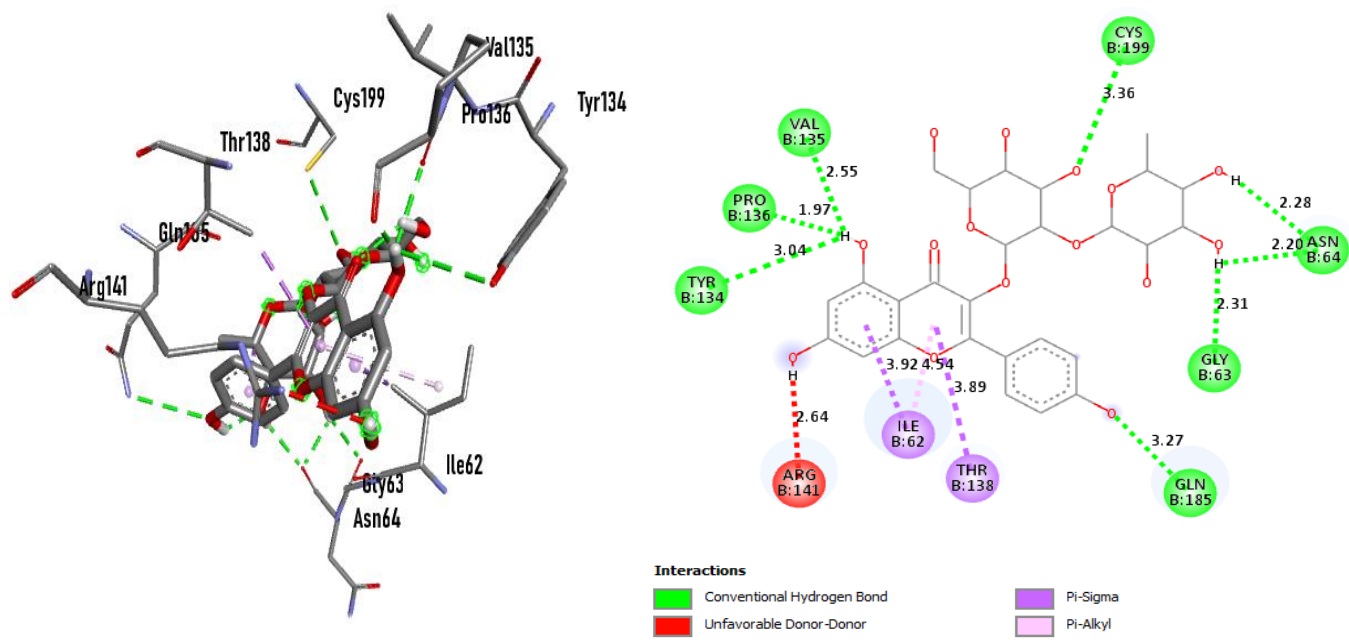




**Figure 19.** Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3  $\beta$  – Linarine

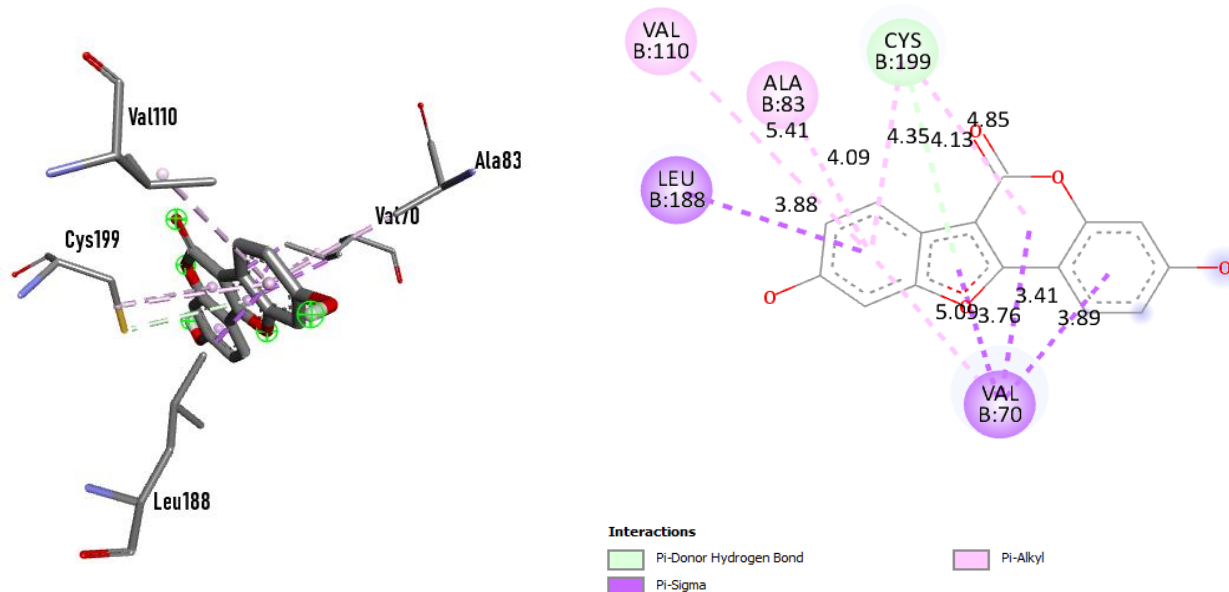
- Hespéridine est un flavonoïde d'un poids moléculaire de 610,6g/mol, et sa formule chimique est  $C_{28}H_{34}O_{15}$ , la figure 21 montre que l'interaction du GSK-3 $\beta$  et le Hespéridine a été stabilisé avec une énergie de -9,5 Kcal/mol par une liaison hydrogène via les résidus Gly68 et Val135 avec une distance de 2,68Å et 3,34Å, respectivement. Liaison de type  $\pi$  -alkyl et alkyl via les résidus Met101, Leu132, Lys85, Val70, Val110, Ile62, Leu188 avec distance de 4,82Å, (4,16Å, 5,15Å), (5,02Å, 4,93Å, 5,41Å), 5,21Å, (5,46Å, 3,72Å), 4,41Å et 5,40Å respectivement. D'autre part, la liaison  $\pi$  - liaison hydrogène du donneur et la liaison accepteur-accepteur défavorable ont interagi avec les résidus Gly56 avec une distance de 3,51Å et avec l'autre résidus Cys199 avec distance de 3,72Å. Enfin l'interaction accepteur-accepteur défavorable se fait via le résidu Asp200 avec une distance de 2,86Å.





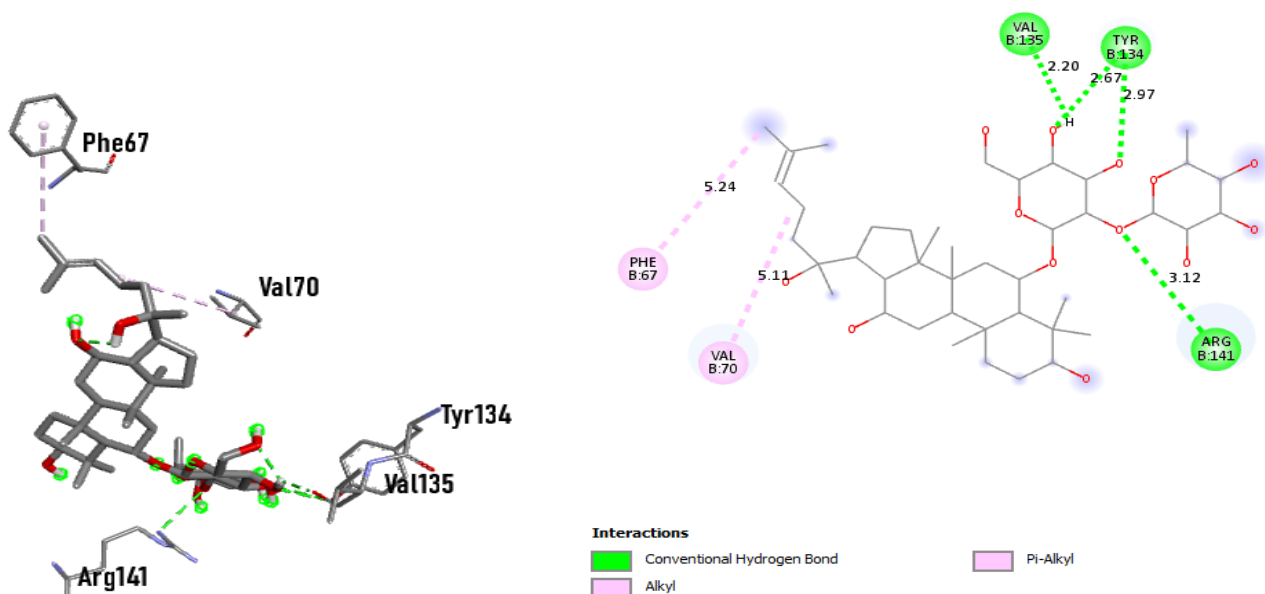
**Figure 21.** Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3  $\beta$  – Kaempférol 3-néohespéridoside.

- Le Coumestrol fait partie de la classe des coumestans qui est le coumestan avec des substituants hydroxy en positions 3 et 9. de formule chimique  $C_{15}H_8O_5$ , ayant un faible poids moléculaire égal à 268,22 g/mol par rapport à la GSK-3 $\beta$ . Le Coumestrol est liée dans le site actif de la GSK-3 $\beta$  avec une valeur d'énergie satisfaisante de -9,2 Kcal/mol. Selon les résultats de docking moléculaire, on remarque aucune interaction hydrogène a été observée, nous avons révélé juste des interactions hydrophobes, une interaction hydrophobe de type  $\pi$ -alkyl a été formée avec les résidus Val110, Ala83, Val70, Cys199 avec une distance 5,41Å, 4,09Å, 5,09Å, (4,35Å et 4,85Å) respectivement. Et autre interaction hydrophobe de type  $\pi$ -sigma avec les acides aminés Leu188 (3,88Å) et Val70 (3,76Å, 3,41Å, 3,89Å). D'autre côté, nous trouvons une interaction de type  $\pi$  liaison hydrogène donneur a été formée avec le résidu Cys199 avec une distance 4,13Å (Figure 22).



**Figure 22.** Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3  $\beta$  – Coumestrol.

- 20R-ginsénoside Rg2 est un terpenoids d'un poids moléculaire de 785g/mol et sa formule chimique est  $C_{42}H_{72}O_{13}$ . Cette molécule a tendance à interagir avec le site actif du récepteur avec une énergie similaire à la molécule précédente de -9,2 Kcal/mol par des liaisons de type  $\pi$ -alkyl et alkyl à travers les résidus : Phe64 avec une distance de 5,24Å et Val70 avec distance de 5,11Å. Et avec une liaison hydrogène via les résidus Val135, Tyr134 et Arg141 avec une distance de 2,20Å, (2,67Å, 2,97Å) et 3,12Å respectivement (figure 23).



**Figure 23.** Visualisation des interactions intermoléculaires dans le complexe GSK3 $\beta$  – 20R-ginsénoside Rg2.

## II.2. Analyse ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité

Le devenir d'un médicament dans l'organisme après administration est généralement défini comme une série d'étapes pharmacocinétiques : absorption, distribution, métabolisme, élimination et toxicité. À chaque étape, le principe actif passe par des interfaces cellulaires, tant pour rejoindre le compartiment sanguin à partir de son site d'administration (tractus gastro-intestinal, peau, poumons, etc..) que pour passer du sang vers les tissus cibles ou les organes qui participent à son élimination (foie et reins notamment). (Roussin et Picard, 2020).

A base des serveurs en ligne suivants, Swiss-ADME, accessible via le lien (<http://www.swissadme.ch/>) et ADMETlab 2.0, que l'on peut consulter via <https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/cal> et pkCSM, disponible à <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/>, nous avons sélectionné les caractéristiques ADMET en tant que critères d'évaluation pour sept meilleurs inhibiteurs actifs (tableau 03).

- **Perméabilité des cellules Caco-2** : Une lignée cellulaire de cancer épithélial du côlon humain appelée cellules Caco-2 est utilisée comme modèle d'absorption intestinale humaine. La perméabilité des candidats médicaments a été largement évaluée en utilisant le modèle cellulaire Caco-2. Étant donné que l'administration de médicaments par voie

orale est la plus souvent privilégiée, le modèle cellulaire Caco-2 joue un rôle crucial dans l'explication de la « drogabilité » orale d'une molécule en permettant une estimation assez fiable de sa perméabilité à travers la membrane intestinale. (Panse et Gerk, 2022).

- **Absorption intestinale humaine (HIA %)** : Est l'une des propriétés les plus essentielles de l'ADME et un paramètre crucial pour évaluer leur biodisponibilité orale. En général, l'HIA est exprimée en pourcentage, ce qui indique la quantité d'un médicament absorbée par les intestins après son administration orale. Elle représente l'une des étapes essentielles du transport des médicaments vers leur cible. (Yan et *al.*, 2008 ; Abraham, 2014).
- **Pénétration dans la barrière hémato-encéphalique (BBB)** : Est une barrière physique et métabolique qui isole le cerveau du reste de l'organisme où elle le protège. Elle est localisée au niveau des cellules endothéliales des micro vaisseaux étroitement soudées s'opposant au passage paracellulaire des composés vers le cerveau, elle contrôle la pénétration cérébrale de nombreux composés y compris les médicaments. (Gosselet et *al.*, 2011).
- **Les cytochrome P450** : Les enzymes du cytochrome P450 sont essentielles au métabolisme de nombreux médicaments (Lynch et Price, 2007) et jouent un rôle clé dans la détoxification des xénobiotiques (Manikandan, et Nagini, 2018). Bien que cette classe compte plus de 50 enzymes, six d'entre elles métabolisent 90 % des médicaments, les deux enzymes les plus importantes étant le CYP3A4 et le CYP2D6. Elles sont exprimées aux niveaux de réticulum endoplasmique, le foie, les poumons, et les reins. (Lynch et Price, 2007).
- **Inhibition de la HERG** : Abréviation d'Humain Ether-a-Go-go-Related Gene (en anglais), est un gène qui code les canaux du courant potassique voltage-dépendant responsable de fonction cardiaque, ils jouent un rôle clé dans la génération des potentiels d'action cardiaque et du potentiel de repos. Par conséquent, son inhibition conduit à la mort cardiaque. (Duncan, et *al.*, 2007 ; Lamothe et *al.*, 2016).

Afin de connaître ses propriétés médicamenteuses, tous les résultats sont résumés dans le Tableau 04.

**Tableau 4.** Résultat d'ADMET du sept inhibiteurs avec inhibiteur de référence.

Pharmacocinétique	Tanshinone I	Isoangustone A	Linarine	Hespéridine	Kaempférol 3-néohespéridoside	Coumestrol	20R-ginsénoside Rg2	Inhibiteur de référence
<b>Absorption</b>								
Perméabilité des cellules Caco-2 (> -5.15 log cm/s)	<b>1,41</b>	<b>-0,116</b>	-6,353	-6,693	-6,405	<b>-4,889</b>	-5,539	<b>-4,456</b>
Absorption intestinale humaine (HIA %) 80 jusqu'à 100%	<b>98,909</b>	<b>89,78</b>	36,679	31,481	30,553	<b>92,472</b>	33,643	<b>85,012</b>
<b>Distribution</b>								
Pénétration de la barrière hématoencéphalique (C.Cerveau/ C.sang)	<b>Oui</b>	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
<b>Métabolisme</b>								
Inhibition du cytochrome P450 2D6	Non	Non	Non	Non	Non	<b>Oui</b>	Non	Non
<b>Toxicité</b>								
Inhibition de la HERG	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	Risque moyen	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>
Rat Oral Acute Toxicity (Faible) {0-0.3} (Moyenne) {0.3-0.7} (Élevé) {0.7-1}	Risque moyen	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	<b>Risque faible</b>	Risque moyen
Hépatotoxicité humaine	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>	<b>Non</b>

#### a. Absorption

D'après le tableau 3 l'absorption gastro-intestinale et une perméabilité cellulaire (Coca 2), des molécules suivantes la Tanshinone I, l'Isoangustone A et le Coumestrol est bonne par rapport aux standards normaux, ce qui signifie qu'elles ont la capacité de passer facilement à travers la

paroi intestinale pour arriver à la circulation sanguine et par la suite franchir la BHE, par contre, Linarine, Hespéridine, Kaempférol 3-néohespéridoside et 20R-ginsénoside Rg2 ont une faible absorption gastro-intestinale après administration orale.

### **b. Distribution**

Nos résultats montrent que le premier des sept principaux inhibiteurs, la Tanshinone I, est efficace pour traverser la membrane hémato-encéphalique. En effet la pénétration de la barrière hémato-encéphalique est critique dans le domaine pharmaceutique, car les composés qui agissent sur le système nerveux central (SNC) doivent la traverser, et les composés inactifs dans le SNC, ne doivent pas y aller afin d'éviter les effets collatéraux du SNC (Novakova et *al.*, 2014). Dans notre cas, en raison de leur rôle important dans la maladie d'Alzheimer et d'autres troubles neurodégénératifs, les médicaments anti-Alzheimer traversent efficacement la barrière hémato-encéphalique.

### **c. Métabolisme**

CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 et CYP3A4 sont un groupe d'enzymes responsables du métabolisme des médicaments dans le foie sous une forme facilement excrétée. D'après de tableau au-dessus on observe que toutes les molécules présentent un comportement négatif vis-à-vis de ces cytochromes cela indique que toutes ces molécules sont bien métabolisées au niveau du foie, à l'exception de Coumestrol qui ont une action inhibitrice contre le CYP2D6.

### **d. Toxicité**

Les résultats indiquent qu'en termes de l'hépatotoxicité, toutes les composées étudiées se sont avérées non toxiques pour le foie, Il en va de même pour la toxicité orale à l'exception dans Tanshinone I représenter un risque moyen par l'infection avec cette toxicité, et finalement le profil de toxicité montre que les sept meilleurs inhibiteurs inactifs en termes d'inhibition d'HERG, à l'exception dans Linarine représenter un risque moyen d'inhibition du canal du potassium HERG.

## **II.3. Propriétés physicochimiques**

Afin d'appliquer les différentes règles druglikeness, il était indispensable de conforter notre étude par évaluation de certaines propriétés physico-chimiques. Nous avons calculé le poids molaire (MW), solubilité dans l'eau, lipophilie et MLOGP, nous avons reporté le nombre



d'accepteur de liaisons d'hydrogène (n.Hacc), le nombre de donneur de liaisons d'hydrogène (n.Hdon), la Surface Polaire (PSA) et nombre de liaisons en libre rotation (Num rotatable bonds)(voir tableau 5).

**Tableau 5.** Propriétés physicochimiques.

Les composés Propriétés	Tanshinone I	Isoangustone A	Linarine	Hespéridine	Kaempférol 3- néohespéridoside	Coumestrol	20R- ginsénoside Rg2
<b>WM (g/mol)</b>	<b>276,29</b>	<b>422,47</b>	592,55	610,56	594,52	<b>268,22</b>	785.01
<b>Num. rotatable bonds</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>9</b>
<b>Num. H-bond acceptors</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	14	15	15	<b>5</b>	13
<b>Num. H-bond donors</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	8	9	<b>2</b>	9
<b>MLOGP</b>	<b>1,82</b>	<b>2,09</b>	<b>-2,76</b>	<b>-3,04</b>	<b>-3,43</b>	<b>1,76</b>	<b>0,18</b>
<b>PSA A2</b>	<b>47,28</b>	<b>111,13</b>	217,97	234,29	249,20	<b>83,81</b>	218,99
<b>Lipinski's rule</b>	<b>Oui 0 violation</b>	<b>Oui 0 violation</b>	Non 3violatio ns: MW>50 0 NorO>1 0 NHorOH >5	Non 3violations: MW>500 NorO>10 NHorOH>5	Non 3violations: MW>500 NorO>10 NHorOH>5	<b>Oui 0 violation</b>	Non 3violations: MW>500 NorO>10 NHorOH>5
<b>Veber's rule</b>	<b>Oui</b>	<b>Oui</b>	Non 1 violation : PSA>14 0	Non 1 violation: PSA>140	Non 1violation: PSA>140	<b>Oui</b>	Non 1 violation: PSA>140
<b>Water Solubility</b>	Peu soluble	Peu soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Modérément soluble	Soluble
<b>Log S</b>	-6,91	-6,27	-2,16	-0,58	-0,88	-5,03	-1,46

En se basant sur les résultats du tableau 5, on trouve que les molécules qui sont considérées comme bons inhibiteurs de la GSK-3 $\beta$  et possédant :

- Un nombre des liaisons donneurs d'hydrogènes inférieurs à 5.
- Un nombre des liaisons accepteurs d'hydrogènes inférieurs à 10.
- Un poids moléculaire inférieurs à 500 Da, ainsi ils peuvent facilement passer à travers les membranes cellulaires avec un niveau d'absorption gastro-intestinale, donc une meilleure biodisponibilité orale.

La Tanshinone I, l'Isoangustone A, et le Coumestrol, remplissent tous les critères de la règle de 5. Par contre on trouve toutes les molécules sont normaux en MLOGP ( $\leq 4.15$ ) et en nombre des liaisons retables ( $15 \leq$ ). Et on a observé que toutes les molécules possèdent une solubilité aqueuse relativement bon cela indique que sa solubilité aqueuse est fort. En effet, la valeur Log S entre -6 et 0 nous confirmons l'information.

Les règles druglikeness ont été utilisées dans notre travail sont la règle Lipinski et la règle Veber. En appliquant les critères de chaque règle, nous avons obtenu les résultats qui sont illustrés dans le tableau 5, les trois composés, la Tanshinone I, l'Isoangustone A et le Coumestrol répondent aux critères des deux règles Lipinski et Veber. En franchissant ces filtres cela nous a indiqué sur leur tendance à être administrés par voie orale sans poser de problèmes.

Par ailleurs, nous avons constaté que la Linarine, l'Hespéridine, le Kaempférol 3-néohespéridoside et le 20R-ginsénoside Rg2 n'obéissent pas aux critères de la règle de Lipinski et la règle de Veber, puisqu'ils présentent certaines violations qui sont :  $MW > 500$ ,  $N_{orO} > 10$  et  $N_{HorOH} > 5$ .

# **Conclusion et Perspective**

### Conclusion et perspectives

L'objectif principal de notre travail était d'identifier de nouveaux inhibiteurs naturels de la cible GSK-3 $\beta$  afin de trouver un traitement pour la maladie d'Alzheimer en faisant appel à une technique de modélisation, appelée « le docking moléculaire », qui permet de modéliser et d'analyser les interactions entre les enzymes et les molécules testées.

Au préalable, nous avons testé la fiabilité du programme Autodock Vina grâce au test du RMSD qui permet d'évaluer la déviation de la pose du ligand simulée par Autodock Vina avec celle déterminée expérimentalement. Sur les 20 complexes pris arbitrairement de la PDB, 75 % ont présenté un RMSD parfaitement dans les normes (inférieur à 2 Å). L'analyse visuelle faisant suite à ce test, confirme d'avantage la fiabilité du programme Autodock Vina en montrant de bonnes superpositions des modèles des ligands simulés et expérimentaux. Ainsi, nous avons conclu que le programme Autodock Vina est suffisamment performant pour simuler les interactions GSK-3 $\beta$ -inhibiteurs.

Afin d'identifier de nouveaux inhibiteurs naturels et plus sélectifs de la GSK-3 $\beta$ , nous avons virtuel screening d'une petite bibliothèque constituée de 74 inhibiteurs naturels de GSK-3 $\beta$ . Le criblage virtuel de cette bibliothèque a été réalisé par Autodock Vina, ce qui nous a permis de sélectionner certains composés avec une bonne affinité envers la GSK-3 $\beta$  mieux que l'inhibiteur de référence « n-(4-méthoxybenzyl) -n-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl) ». Les résultats obtenus, nous ont permis de sélectionner les 07 meilleurs inhibiteurs, en l'occurrence la Tanshinone I, l'Isoangustone A, la Linarine, l'Hespéridine, le Kaempférol 3-néohespéridoside, le Coumestrol et le 20R-ginsénoside Rg2 qu'ont une énergie de liaison suivantes -10 kcal/mol, -9,9 kcal/mol, -9,6kcal/mol, -9,5 kcal/mol, -9,4 kcal/mol, -9,2 kcal/mol, -9,2 kcal/ mole. Les résultats de tous ces inhibiteurs sont meilleurs que l'inhibiteur de référence n-(4-méthoxybenzyl) -n-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl) qui a une énergie de liaison égale -6,2 kcal/mol.

Enfin, l'étude des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et les règles druglikeness (la règle de Veber et de Lipinski) montre que la molécule, la Tanshinone I, présente un bon profil ADMET. Avec une grande possibilité de franchir la barrière hématoencéphalique pour atteindre sa cible thérapeutique.

Le présent travail ouvre une large piste de développement et les résultats obtenus au cours de ce travail ne sont que préliminaires. Une étude expérimentale complémentaire *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de valider les résultats obtenus.

# **Bibliographie**

**Références bibliographiques**

- 1) Abraham, M. H. 2014. Human intestinal absorption—neutral molecules and ionic species. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(7), 1956-1966.
- 2) Aoki, M., T. Yokota, I. Sugiura, C. Sasaki, T. Hasegawa, C. Okumura, K. Ishiguro, T. Kohno, S. Sugio, and T. Matsuzaki. 2004. Structural insight into nucleotide recognition in tau-protein kinase I/glycogen synthase kinase 3 $\beta$ . *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography* 60 (3):439-446.
- 3) BIGOT-CORBEL, E., & Le Carrer, D. 2017. EVALUATION OF THE RAPIDCOM® SOFTWARE IN HbA1c POCT ISO 22870 ACCREDITATION: Cod: T076. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 55.
- 4) Bou-Salah, L., Benarous, K., Linani, A., Bombarda, I., & Yousfi, M. 2020. In vitro and in silico inhibition studies of five essential oils on both enzymes human and bovine xanthine oxidase. *Industrial Crops and Products*, 143, 111949.
- 5) Boucherit, H. 2012. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionineaminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Mémoire de magister Spécialité : Technologies des explorations biochimiques. Université des Frères Mentouri Constantine Algérie . 7,11 p
- 6) Boucherit, H., Chikhi, A., Bensegueni, A., Merzoug, A., Hioual, K. S., & MOKRANI, E. 2013. L'amarrage moléculaire: une nouvelle approche pour lutter contre le développement de la tuberculose. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*, 7(2), 133-149.
- 7) Dafydd, J. 2021. Student Tutorial for PyMOL: for educational use Visualising proteins using molecular graphics. School of Biosciences, Cardiff University.
- 8) Dong J., Wang N. N., Yao Z. J., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D., ... & Cao D. S. 2018. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of cheminformatics*, 10(1), 1-11.
- 9) Duncan, R. S., McPate, M. J., Ridley, J. M., Gao, Z., James, A. F., Leishman, D. J., ... & Hancox, J. C. 2007. Inhibition of the HERG potassium channel by the tricyclic antidepressant doxepin. *Biochemical pharmacology*, 74(3), 425-437.

- 10) Dong J., Wang N. N., Yao Z. J., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D., ... & Cao D. S. 2018. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of cheminformatics*, 10(1), 1-11.
- 11) Empereur-Mot, C. 2017. *Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel: courbes de prédictivité & Screening Explorer* (Doctoral dissertation, Conservatoire national des arts et métiers-CNAM).
- 12) Grimes, C. A., & Jope, R. S. 2001. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3 $\beta$  in cellular signaling. *Progress in neurobiology*, 65(4), 391-426.
- 13) Gould, M. S., Marrocco, F. A., Kleinman, M., Thomas, J. G., Mostkoff, K., Cote, J., & Davies, M. 2005. Evaluating iatrogenic risk of youth suicide screening programs: a randomized controlled trial. *Jama*, 293(13), 1635-1643.
- 14) Gosselet, F., Candela, P., Cecchelli, R., & Fenart, L. 2011. La barrière hémato-encéphalique- Une nouvelle cible thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer?. *médecine/sciences*, 27(11), 987-992.
- 15) Heidari-Beni, M., Rafie, N., Golpour-Hamedani, S., & Derakhshande-Rishehri, S. M. 2018. The role of nutrition in the prevention and treatment of Alzheimer's Disease.
- 16) Howard, R., McShane, R., Lindesay, J., Ritchie, C., Baldwin, A., Barber, R., ... & Phillips, P. P. 2015. Nursing home placement in the Donepezil and Memantine in Moderate to Severe Alzheimer's Disease (DOMINO-AD) trial: secondary and post-hoc analyses. *The Lancet Neurology*, 14(12), 1171-1181.
- 17) Hernández-Santoyo, A., Tenorio-Barajas, A. Y., Altuzar, V., Vivanco-Cid, H., & Mendoza-Barrera, C. 2013. Protein-protein and protein-ligand docking. *Protein engineering-technology and application*, 63-81.
- 18) Inkster, B., Nichols, T. E., Saemann, P. G., Auer, D. P., Holsboer, F., Muglia, P., & Matthews, P. M. 2009. Association of GSK3 $\beta$  polymorphisms with brain structural changes in major depressive disorder. *Archives of general psychiatry*, 66(7), 721-728.
- 19) Kitagishi, Y., Kobayashi, M., Kikuta, K., & Matsuda, S. 2012. Roles of PI3K/AKT/GSK3/mTOR pathway in cell signaling of mental illnesses. *Depression research and treatment*, 2012.



- 20) Kim KugLae, K. K., Cha JeongSeok, C. J., Kim JinSik, K. J., Ahn JinSook, A. J., Ha NamChul, H. N., & Cho HyunSoo, C. H. 2018. Crystal structure of GSK3 $\beta$  in complex with the flavonoid, morin.
- 21) Karege, F., Perroud, N., Burkhardt, S., Schwald, M., Ballmann, E., La Harpe, R., & Malafosse, A. 2007. Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3 $\beta$  in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Biological psychiatry*, 61(2), 240-245.
- 22) Krolak-Salmon, P. 2020. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer: le rôle central de la plaque amyloïde et de la protéine Tau. *NPG Neurologie-Psychiatrie-Gériatrie*, 20(120), 120S2-120S6.
- 23) Lauretti, E., O. Dincer, and D. Praticò. 2020. Glycogen synthase kinase-3 signaling in Alzheimer's disease. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1867 (5):118664.
- 24) Llorens-Marítin, M., Jurado, J., Hernández, F., & Ávila, J. 2014. GSK-3 $\beta$ , a pivotal kinase in Alzheimer disease. *Frontiers in molecular neuroscience*, 7, 46.
- 25) Lagautriere, V. 2009. *La maladie d'Alzheimer: données actuelles* (Doctoral dissertation).
- 26) Lu, S. Y., Jiang, Y. J., Zou, J. W., & Wu, T. X. 2011. Dissection of the difference between the group I metal ions in inhibiting GSK3 $\beta$ : a computational study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(15), 7014-7023.
- 27) Lagarde, N. 2014. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat Spécialité : Bioinformatique. École doctorale Abbé Grégoire France .123 P.
- 28) Li, J., A. Fu, and L. Zhang. 2019. An overview of scoring functions used for protein–ligand interactions in molecular docking. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences* 11 (2):320-328.
- 29) Lagorce, D., Bouslama, L., Becot, J., Miteva, M. A., & Villoutreix, B. O. 2017. FAF-Drugs4: free ADME-tox filtering computations for chemical biology and early stages drug discovery. *Bioinformatics*, 33(22), 3658-3660.
- 30) Lynch, T., & Price, A. M. Y. 2007. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *American family physician*, 76(3), 391-396.

- 31) Lamothe, S. M., Guo, J., Li, W., Yang, T., & Zhang, S. 2016. The human ether-a-go-go-related gene (hERG) potassium channel represents an unusual target for protease-mediated damage. *Journal of Biological Chemistry*, 291(39), 20387-20401.
- 32) Lee, Y., Yoon, S. B., Hong, H., Kim, H. Y., Jung, D., Moon, B. S., ... & Cho, H. 2022. Discovery of GSK3 $\beta$  Inhibitors through In Silico Prediction-and-Experiment Cycling Strategy, and Biological Evaluation. *Molecules*, 27(12), 3825.
- 33) Medina, M., & Wandosell, F. 2011. Deconstructing GSK-3: the fine regulation of its activity. *International journal of Alzheimer's disease*, 2011.
- 34) Mohanty, M., & Mohanty, P. S. 2023. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: A tutorial review. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 154(7), 683-707.
- 35) Manikandan, P., & Nagini, S. 2018. Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: a review. *Current drug targets*, 19(1), 38-54.
- 36) Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K., & Brayne, C. 2014. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *The Lancet Neurology*, 13(8), 788-794.
- 37) Nisha, C. M., Kumar, A., Nair, P., Gupta, N., Silakari, C., Tripathi, T., & Kumar, A. 2016. Molecular docking and in silico ADMET study reveals acylguanidine 7a as a potential inhibitor of  $\beta$ -secretase. *Advances in bioinformatics*, 2016.
- 38) Novakova, I., Subileau, E. A., Toegel, S., Gruber, D., Lachmann, B., Urban, E., ... & Neuhaus, W. 2014. Transport rankings of non-steroidal antiinflammatory drugs across bloodbrain barrier in vitro models. *PloS one*, 9(1), e86806.
- 39) Pires, D. E., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. 2015. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, 58(9), 4066-4072.
- 40) Panse, N., & Gerk, P. M. 2022. The Caco-2 Model: Modifications and enhancements to improve efficiency and predictive performance. *International Journal of Pharmaceutics*, 624, 122004.
- 41) Riedel, B. C., Thompson, P. M., & Brinton, R. D. 2016. Age, APOE and sex: triad of risk of Alzheimer's disease. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 160, 134-147.

- 42) Ramírez, D., and J. Caballero. 2018. Is it reliable to take the molecular docking top scoring position as the best solution without considering available structural data?. *Molecules* 23 (5):1038.
- 43) Semah, F., Deberdt, W., & Ceccaldi, M. 2016. Diagnostic de la maladie d'Alzheimer: apport de l'imagerie au florbétapir et autres radiopharmaceutiques de la plaque amyloïde. *Médecine Nucléaire*, 40(5), 364-381.
- 44) Sharma, P., P. Srivastava, A. Seth, P. N. Tripathi, A. G. Banerjee, and S. K. Shrivastava. 2019. Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies. *Progress in Neurobiology* 174:53-89.
- 45) Silva, M. V. F., Loures, C. D. M. G., Alves, L. C. V., de Souza, L. C., Borges, K. B. G., & Carvalho, M. D. G. 2019. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *Journal of biomedical science*, 26, 1-11.
- 46) Stahl, M., & Rarey, M. 2001. Detailed analysis of scoring functions for virtual screening. *Journal of medicinal chemistry*, 44(7), 1035-1042.
- 47) Soudani, W., Bouachrine, M., Zaki, H., & Hadjadj-Aould, F. Z. 2022. Docking moléculaire de 2-chloroéthylnitrososulfamides à potentiel anticancéreux cytotoxique alkylant. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*, 15, 24-26.
- 48) Tublin, J. M., Adelstein, J. M., Del Monte, F., Combs, C. K., & Wold, L. E. 2019. Getting to the heart of Alzheimer disease. *Circulation research*, 124(1), 142-149.
- 49) Thies, W., and L. Bleiler. 2013. 2013 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia* 9(2):208-245.
- 50) Wolters, F. J., L. B. Chibnik, R. Waziry, R. Anderson, C. Berr, A. Beiser, J. C. Bis, D. Blacker, D. Bos, C. Brayne, J.-F. Dartigues, S. K. L. Darweesh, K. L. Davis-Plourde, F. de Wolf, S. DeBette et al. 2020. Twenty-seven-year time trends in dementia incidence in Europe and the United States. *Neurology* 95 (5) :519-531.
- 51) Yan, A., Wang, Z., & Cai, Z. 2008. Prediction of human intestinal absorption by GA feature selection and support vector machine regression. *International journal of molecular sciences*, 9(10), 1961-1976.

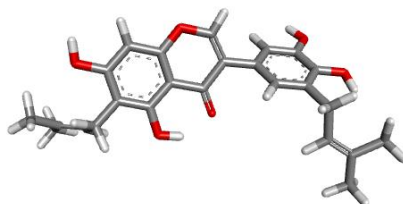
# **Annexes**

## Annexes

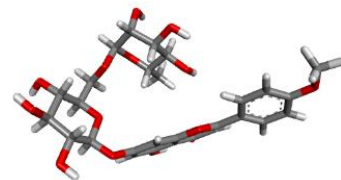
## Annexe 1. Structures 2D de sept meilleurs ligands étudiés.



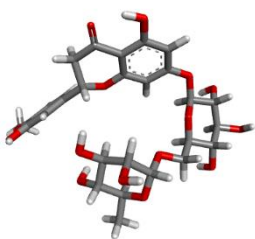
Tanshinone I



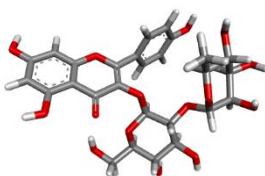
Isoangustone A



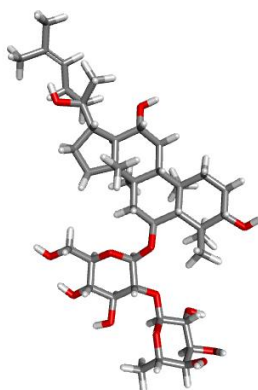
Linarine



Hespéridine

Kaempférol  
3-néohespéridoside

Coumestrol



20R-Ginsénoside Rg2

## المخلص

الهدف من عملنا هو تحديد مثبطات طبيعية جديدة للهدف العلاجي GSK-3 $\beta$  لعلاج مرض الزهايمر. قمنا بتطبيق طرق الالتحام الجزيئي على عمليات محاكاة التقارب لـ 74 جزيئاً لدراسة كيفية تفاعلها مع هدفنا ذو الاهتمام البيولوجي. تم إجراء الفحص الافتراضي بواسطة Autodock Vina، مما يسمح لنا باختيار 07 مركبات محددة ذات تقارب أفضل من المثبط المرجعي n-(4-methoxybenzyl) -n-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl). هذه هي Tanshinone I، و Isoangustone A، و Linarin، و Hesperidin، و Kaempferol 3-neohesperidoside، و Coumestrol، و R-ginsenoside Rg220، وهي قوية بسبب طاقة الارتباط العالية التي تبلغ -10 كيلو كالوري/مول، -9.9 كيلو كالوري/مول، -9.6، -9.5. سعر حراري / مول، -9.4 سعر حراري / مول، -9.2 سعر حراري / مول، -9.2 سعر حراري / مول كالوري / مول. أخيراً، يُظهر التنبؤ بالمعلومات الحركية الدوائية والخصائص الفيزيائية والكيميائية أن Tanshinone يقدم ملف تعريف ADMET جيداً ويمكن اقتراحه كمثبطات GSK3 $\beta$  محتملة جديدة.

الكلمات المفتاحية: مرض الزهايمر، الالتحام الجزيئي، GSK3 $\beta$ ، Autodock Vina، Tanshinone I

## Résumés

L'objectif de notre travail est d'identifier de nouveaux inhibiteurs naturels de la cible thérapeutique GSK-3 $\beta$  pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Nous avons appliqué des méthodes d'amarrage moléculaire à des simulations d'affinité de 74 molécules afin d'étudier comment elles interagissent avec notre cible d'intérêt biologique. Le criblage virtuel a été réalisé par Autodock Vina, nous permettant de sélectionner 07 composés spécifiques présentant une meilleure affinité que l'inhibiteur de référence n-(4-methoxybenzyl) -n-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl). Il s'agit de la Tanshinone I, de l'Isoangustone A, de la Linarine, de l'Hespéridine, du Kaempférol 3-néohespéridoside, du Coumestrol et du 20R-ginsénoside Rg2, sont puissants en raison de leur énergie de liaison élevée de -10 kcal/mol, -9,9 kcal/mol, -9,6, -9,5 kcal/mol, -9,4 kcal/mol, -9,2 kcal/mol, -9,2 kcal/ mole Cal/mol respectivement. Enfin, la prédiction des paramètres pharmacocinétiques et des propriétés physicochimiques montre que la Tanshinone présente un bon profil ADMET et peut être proposée comme nouveaux inhibiteurs potentiels de GSK3 $\beta$ .

**Mots clés :** Maladie d'Alzheimer, Amarrage Moléculaire, GSK3 $\beta$ , AutodockVina, Tanshinone I.

## **Abstract**

The objective of our study is to identify new potential inhibitors of the therapeutic target GSK3 $\beta$  for the treatment of Alzheimer's disease. We applied molecular docking methods to affinity simulations of 74 molecules to study how they interact with our target of biological interest (GSK3 $\beta$ ). Virtual screening was performed by AutodockVina, allowing us to select 07 specific compounds with better affinity than the reference inhibitor n-(4-methoxybenzyl)-n-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl). These are Tanshinone I, Isoangustone A, Linarin, Hesperidin, Kaempferol 3-neohesperidoside, Coumestrol, 20R-ginsenoside Rg2, which are strong due to their high binding energy of -10 kcal/mol, -9.9 kcal/mol, -9.6, - 9.5. Kcal/mol, -9.4 kcal/mol, -9.2 kcal/mol, -9.2 kcal/mol kcal/mol respectively. Finally, the prediction of pharmacokinetic parameters and physicochemical properties shows that promising Tanshinone I exhibit good ADMET profiles and can be proposed as potential new GSK3 $\beta$  inhibitors.

**Keywords:** Alzheimer's disease, Molecular docking, GSK3 $\beta$ , AutodockVina, Tanshinone I.