

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Etude *in silico* de l'inhibition de l'acétylcholinestérase
par des huiles essentielles : Maladie d'Alzheimer**

Présenté par :

- ❖ Melle HASSANE Mouna
- ❖ Melle SOURDI Kaouthar
- ❖ Melle TAMIMOUNT Faiza

Soutenu publiquement devant les membres de jury :

Président : Pr. GOUZI Hicham
Examinatrice : Dr. LEBOUKH mourad
Encadreur : Dr. SIFI Ibrahim
Co-encadreure : Mme LAMRANI Mariem

Année Universitaire 2020/2021

الملخص

مرض الزهايمر هو عبارة عن انتكاس في الدماغ وهو مرتبط مع اضطرابات سائدة في الذاكرة ، اضطرابات معرفية أو سلوكية ولها تأثير على الحياة اليومية للمريض. في بحثنا هذا سلطنا الضوء على علاج مرض الزهايمر الذي يعتمد على تثبيط الأستيل كولين استراز. يستخدم هذا الإنزيم في تنظيم انتقال السيالة العصبية من خلال التحلل السريع للأستيل كولين . استنادا على دراسة إرتباط الأستيل كولين استراز مع 25 مركب وأربعة ادوية مصنوعة حيث قمنا بإستعمال الإرتصاء الجزئي. أولا، نستند على مقياسين: طاقة الربط ومسافة الروابط بين المركبات والأحماض الأمينية للموقع الفعال. نتأج الإرتصاء الجزئي تظهر وجود مركبين ذو فعالية جيدة لتضبيب الأستيل كولين إستراز مثل الدونبزيل هما بارا سيان و نيروليدول.

الكلمات المفتاحية: الأستيل كولين إستراز؛ الإرتصاء الجزئي ؛ طاقة الربط ؛ مرض الزهايمر

Résumé

La maladie d'Alzheimer est une affection dégénérative du cerveau qui associe des troubles prédominants de la mémoire, des troubles cognitifs et/ou du comportement ayant un retentissement sur la vie quotidienne des patients. Dans notre travail, nous sommes focalisés sur le traitement d'Alzheimer basé sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase. Une enzyme sert à la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine. En basant sur l'étude des interactions entre l'enzyme AChE avec 25 ligands et les 4 médicaments substitué on utilise l'amarage. En premier lieu, Nous sommes particulièrement basés sur les deux paramètres : énergie de score et les distances des interactions entre les ligands et les résidus du site actif. La résultats de docking montre que on a 2 composés avec une forte affinité sur l'inhibition de l'AChE comme donepezil qui sont P_cymene et E_nerolidol.

Mots clés : AChE.Amarage moléculaire ; energie d'interaction ; Maladie d'Alzheimer.

Abstract

Alzheimer disease is a degenerative affection of the brain which associates prevalent disorders of the memory, cognitive disorders and/or behavior having a repercussion on patients' everyday life. In our work, we focused ourselves on the treatment of Alzheimer based on the inhibition of the acétylcholinestérase. An enzyme is used for the regulation of the transmission of the nerve impulse by ensuring the fast hydrolysis of acetylcholine. Based on the study of the interactions between the AChE enzyme with 25 ligands and 4 substituted drugs using molecular docking. First, we are particularly based on the two parameters: score energy and distances of interactions between ligands and residues of the active site. The docking results show that we have 2 compounds with a strong affinity on AChE inhibition like donepezil which are P_cymene et E_nerolidol.

Key words: AChE; molecular docking; ADEMT; Interaction energy; Alzheimer disease.

Dédicace

*Je présente ce travail à mes parents : qui Allah les garde
Et les protégés avant tous.*

A toute la famille de Hassane et Sourdi.

*A mes deux frères Hichem /Ilyas/ Abdelmalk/ Ahmed et
Taher.*

A mes soeurs : Halima.

Vous vous étés dépensés pour moi sans compter.

*On reconnaissance de tous les sacrifices consentis par tous et
chacun pour me permettre d'atteindre cette étape de ma vie.*

*Et je n'oublie pas la Personne qui a et été teinte avec moi
durant les deux années de master bien sur LABGAA Sarah et
sa famille.*

*A mes amis (es) de la promotion master 2 Biochimies apliquée
2020/2021.*

*Et à notre promoteur SIFI Ibrahim Et notre Co-promotrice
LAMRANI Meriem qui nous aidons dans ce travail.*

Et tous ceux de la faculté des Sciences d'Amar Telidji.

*Et à toutes les personnes qui ont participé
À la réalisation de ce travail.*

Mouna et Kaouthar

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut
... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
l'amour à vous ...

À ma formidable **maman** : qui a œuvré pour ma réussite, de part par son amour, ses prières et son soutien, sa tendresse, tous les sacrifices consentis et ses conseils, malgré son absence dans ma vie aujourd'hui.

À mon superbe **père** : qui peut être fière et trouver ici le résultat de longues années de ses sacrifices. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Je suis très fière d'être votre fille et de pouvoir enfin réaliser ce que vous avez tant espéré.

À ma princesse adorée sœur **KHOULOU** pour chaque rire, chaque espoir, chaque câlin, tu es mon meilleur souhait dans cette vie et mes très chers frères **Abdelhake** et **Abdelmalek** pour leurs sacrifices leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

À mes amies et mes sœurs que j'ai vécues avec elles des bons moments : **MOUNA, RANIA, CHOUROUK** et Ce fut un honneur de vivre cette période de ma vie avec vous Ensemble, nous avons toujours été les filles les plus heureuses. Je vous aime.

Et je n'oublie pas la personne qui à été teinte avec moi durant durant toutes mes année universitaire **Labgaa Sarah** et sa famille.

Et je n'oublie pas Mr. **Attiat Aissa**

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions (الله), notre créateur de nos avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur monsieur Dr. Sifi Ibrahim qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance et d'avoir examiné notre travail qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

Nous remercions surtout Professeur Gouzi Hicham, qui a contribué beaucoup à notre formation et Mr Chaïbi Rachid (chef de département de Biologie) pour ses conseils.

Et tous les enseignants du département de Biologie et toute la promotion de 2^{ème} année Master Biochimie appliquée surtout : Lhora, Amina, Sarah, Souhila, Aicha, Manal et Khouloud.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui ont participés de réaliser ce mémoire.



Sommaire

LISTE DES FIGURES.....	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	V
LISTE DES ABREVIATIONS.....	VI
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1. LE SYSTÈME NERVEUX.....	4
1.1. MÉCANISME DE SYSTÈME NERVEUX	4
2. LA MALADIE D'ALZHEIMER	5
2.1. ORIGINE DE MALADIE D'ALZHEIMER	5
2.2. LES SYMPTÔMES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	7
2.3. LA PROGRESSION DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	8
2.4. FACTEUR DE RISQUE ET LES FACTEURS PROTÉCTEURS	8
2.5. TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	10
2.6. LES MÉDICAMENTS UTILISÉS ACTUELLEMENT	10
3. L'ACÉTYLCHOLINESTÉRISE.....	12
3.1. GÉNÉRALITÉS	12
3.2. RÔLE DE L'ACÉTYLCHOLINESTÉRISE	13
3.3. STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE L'ACÉTYLCHOLINESTÉRISE	14
3.4. MÉCANISME DE L'ACÉTYLCHOLINESTÉRISE	15
CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES	17
1. MATÉRIELS UTILISÉS	18
1.1. MICRO-ORDINATEUR	18
1.2. BANQUES DES DONNÉES	18
1.3. PROGRAMMES ET LOGICIELS UTILISÉS	19
2. LES INHIBITEURS DE L'ACÉTYLCHOLINESTÉRISE.....	21
3. DOCKING MOLECULAIRE	21
3.1. LES ÉTAPES DE DOCKING MOLECULAIRE.....	22
3.2. PRÉPARATION DE DOCKING MOLECULAIRE	23
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	27
1. SITE ACTIF DE L'ACÉTYLCHOLINE ESTÉRISE	28
2. RESULTATS DE DOCKINGS MOLECULAIRES	29
2.1. ÉTUDE DES INTERACTIONS LIGANDS-ACHÉ	29
2.2. L'ANALYSE VISUELLE DES INTERACTIONS	31
CONCLUSION	39
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	41

Liste des figures

FIGURE 1 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES QUATRE LOBES DU CERVEAU [14]	4
FIGURE 2 : REPRESENTATION DES PLAQUES AMYLOÏDE ET LES DEGENERESCENCES NEURO-FIBRILLAIRE [18].....	6
FIGURE 3 : FORMATION DES DEGENERESCENCES NEURO-FIBRILLAIRE [19]	7
FIGURE 4 : NEUROTRANSMISSION CHOLINERGIQUE (GAUCHE), LA REACTION ENTRE L'ACETYLCHOLINE ET LES ACETYLCHOLINESTERASES (DROITE) [31]	12
FIGURE 5 : ROLE DE L'ACHÉ AU NIVEAU DES SYNAPSES [36].....	13
FIGURE 6 : REPRESENTATION DE STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE L'ACETYLCHOLINESTERASE (PDB 6O4W) PAR LOGICIEL PYMOL [35]	15
FIGURE 7 : CYCLE CATALYTIQUE DE L'HYDROLYSE DE L'ACETYLCHOLINE [36].....	15
FIGURE 8 : MECANISME GENERAL D'HYDROLYSE PAR UNE SERINE HYDROLASE PAR LOGICIEL <i>CHEMDRAW</i> [38] .	16
FIGURE 9 : INTERFACE DE LA PAGE D'ACCUEIL DU <i>RCSB PDB</i>	18
FIGURE 10 : INTERFACE D'ACCUEIL DU <i>PUBCHEM</i>	19
FIGURE 11 : L'INTERFACE GRAPHIQUE <i>AUTO DOCK TOOLS</i>	19
FIGURE 12 : L'INTERFACE GRAPHIQUE DE <i>DISCOVERY STUDIO</i>	20
FIGURE 13 : L'INTERFACE GRAPHIQUE DE <i>CHEMDRAW</i>	20
FIGURE 14 : STIMULATION DU DOCKING ET SCORING [56].....	22
FIGURE 15 : L'ACHÉ DE CODE 6O4W SOUS FORME PDBQT	23
FIGURE 16 : POSITION DE LA BOITE D'AMARRAGE DANS LE SITE ACTIF DE LA 6O4W	24
FIGURE 27 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR E_NEROLIDOL	31
FIGURE 29 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR HEXYLACETATE.....	32
FIGURE 36 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR P_CYMENE	32
FIGURE 37 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR TERPINENE	33
FIGURE 38 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR VERBINOL.....	33
FIGURE 40 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR MYRCENE	34
FIGURE 41 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR SABINENE	34
FIGURE 42 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR DONEPEZIL	35
FIGURE 43 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR GLANTAMINE.....	35
FIGURE 44 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR MEMANTINE	36
FIGURE 45 : REPRESENTATION DE LA MILLIEUR POSITION OBTENUE PAR DOCKING POUR RIVASTIGIMINE	36



Liste des tableaux

Tableau 1 : Les médicaments (commercial) utilisés dans le traitement de la maladie Alzheimer [28]	11
Tableau 2 : Structure des ligands choisis dans le docking moléculaire	25
Tableau 3 : Structure des médicaments références utilisé dans le docking moléculaire.....	26

Liste des abréviations

MA	: La maladie d'alzheimer
SVL	: e langage vectoriel scientifique
CCG	: Chemical Computing Group ULC
DNF	: dégénérescence neuro-fibrillaire.
AChE	: L'acétylcholinésterase
ACh	: Acétylcholine
Ch	: Cholinésterase
BuChE	: Butyrylcholinésterase
MOE	: L'environnement d'exploitation moléculaire
TAU	: Tubul-associated Unit
APP	: Protéine précurseur de l'amyloïde
Aβ	: β -amyloïde
ChAT	: Acétyltransférase
KDa	: Kilos dalton
PAS	: Peripheral anionic site
3D	: Structure tridimensionnelle
ADN-protéine	: acide désoxyribonucléique protéine
ADMET	: l'absorption, la distribution, la métabolisation, l'excrétion et toxicity.

Introduction

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

La MA est une affection neuro-dégénérative qui entraîne une détérioration progressive et définitive des cellules nerveuses. Cette maladie s'accompagne progressivement d'une détérioration intellectuelle induisant des manifestations psychologiques et des troubles du comportement qui conduisent à une perte d'autonomie. C'est la plus fréquente des démences dégénératives. Elle est en constante évolution du fait de l'augmentation générale de l'espérance de vie et sa prévalence double tous les 5 ans après 65 ans. [2]

De nombreuses études indiquent que les lésions engendrées lors de la maladie d'Alzheimer touchent principalement les voies cholinergiques [3]. L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme clé de la neurotransmission. En hydrolysant le neurotransmetteur cationique acétylcholine, elle permet aux neurones cholinergiques de retrouver leur état de repos, et notamment aux muscles de cesser de se contracter après la transmission de l'influx nerveux [4].

Le choix de cette enzyme est lié à sa relation avec la maladie d'Alzheimer. Dans ce travail on recherche des substances naturelles pour inhiber l'activité de l'acétylcholinestérase *in silico*. Les inhibiteurs des cholinestérases, sont les seuls à avoir obtenu jusqu'à présent une application clinique sont les premiers médicaments ayant une action démontrée dans la MA [5]. Ils augmentent la quantité d'Acétyl Choline (ACh) dans la synapse, en bloquant l'Acétylcholinestérase (AChE), qui dégrade l'ACh dans la fente synaptique mais il existe une autre enzyme de la même famille, la butyrylcholinestérase (BuChE), qui reconnaît également l'acétylcholine comme substrat [6]. L'activité de cette enzyme croît au cours de la maladie (cela étant dû probablement à une prolifération des cellules gliales) entraînant des changements de ratios AChE/BuChE, ce qui se traduit par une diminution des fonctions cognitives. [7]

D'autre part, 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 [8]. Parmi les logiciels de criblage virtuel, nous citons Gold, MOE dock, autodock et Auto Dock Vina.

Dans Notre travail a pour but de rechercher *in silico* des inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase par la méthode de docking moléculaire et d'évaluer l'énergie libre entre le ligand et le site active.

Le travail de ce mémoire est présenté en trois parties :

- Premièrement une introduction générale dans laquelle nous avons donné un aperçu sur : la maladie d'Alzheimer, relation d'acétylcholinestérase avec maladie Alzheimer et le docking moléculaire.
- Deuxiément, un chapitre sur le matériel et les méthodes utilisés tels que le docking moléculaire et leurs logiciels.
- Troisiément, nous avons analysé et discuté les résultats obtenus.

Finalemenent, tirer une conclusion générale à partir des résultats obtenus au cours de ce travail.

CHAPITRE I :
Synthèse
Bibliographique

1. Le système nerveux

Le cerveau est le quartier général du système nerveux central. Plus de 10 milliards de cellules transmettent et reçoivent des messages des différentes parties de l'organisme. Le cerveau contrôle toute nos pensées et la plupart de nos mouvements. [9]

1.1. Mécanisme de système nerveux

Le cerveau est le principal organe du système nerveux. Il est responsable de la gestion d'une grande partie des systèmes corporels. Il est subdivisé en deux hémisphères cérébraux (gauche et droit), reliés par une région nommée « corps calleux » [10].

Les deux hémisphères sont formés de plusieurs lobes (régions), spécialisées dans certaines fonctions précises comme la gestion des mouvements ou de l'audition. On trouvera ainsi, le lobe pré-frontal et frontal, le lobe temporal, le lobe pariétal et le lobe occipital (Figure 1) [11, 12]. Les principales fonctions de chaque lobe sont les suivantes :

- ❖ **Les lobes frontaux** : parole et langage, raisonnement, mémoire, prise de décision, personnalité, jugement, mouvements [13].
 - Le lobe frontal droit gère les mouvements du côté gauche du corps, et inversement.
 - Le lobe frontal gauche gère les mouvements du côté droit [13].
- ❖ **Les lobes pariétaux** : lecture, repérage dans l'espace, sensibilité. Là aussi, le lobe pariétal droit gère la sensibilité du côté gauche du corps et réciproquement [13].
- ❖ **Les lobes occipitaux** : vision
- ❖ **Les lobes temporaux** : langage, mémoire, émotions [13].

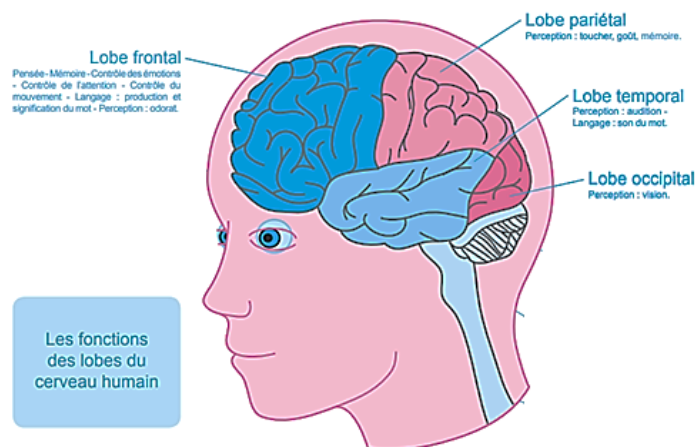


Figure 1 : Représentation schématique des quatre lobes du cerveau [14]

De ce fait le cerveau peut être atteint de plusieurs et graves maladies dont principalement **la maladie d'Alzheimer**.

La maladie commence par une accumulation des éléments anormaux (dégénérescence neuro-fibrillaire et les plaques séniles) dans le cerveau et détruit les cellules cérébrales avec perte des neurones cholinergique, et un déficit conséquent du neurotransmetteur Acétylcholine (ACH) [9].

2. La maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative « neuro » : cerveau ; « dégénérescence » : une dégradation » qui diminue la capacité d'une personne de vaquer à ses occupations quotidiennes. Elle touche la mémoire, les émotions, l'humeur, le comportement et le langage. [9]

Ainsi, les symptômes engendrent s'aggravent avec le temps. La nature neurodégénérative de la maladie d'Alzheimer se traduit par des lésions histopathologiques bien précises qui sont les plaques séniles et les dégénérescences neuro-fibrillaire et qui sont associés à une perte neuronale avec atrophie corticale, ces lésions cérébrales, dont l'association est caractérisée de la maladie, sont décrites pour la première fois en 1907 par Aloïs Alzheimer [1].

2.1. Origine de maladie d'Alzheimer

Découverte de la maladie d'Alzheimer – Le psychiatre et neuropathologiste allemand Aloïs Alzheimer (1864-1915) identifie la maladie éponyme en 1907. Il décrit pour la toute première fois les deux lésions neuropathologiques principales de la maladie d'Alzheimer : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires [15.16].

En 1907, le Dr Aloïs Alzheimer étudie le cas d'Auguste Deter, une patiente de 51 ans admise à l'Hôpital de Frankfort pour cause de démence.

Elle présente des troubles de la mémoire, un mutisme, une désorientation et des hallucinations.

Après la mort de sa patiente, Alzheimer pratique l'autopsie de son cerveau et décrit les deux lésions caractéristiques de la maladie d'Alzheimer : les plaques amyloïdes et les

dégénérescences neurofibrillaires. Il conclut à une « maladie particulière du cortex cérébral ». [15, 16]

La maladie d'Alzheimer résulte d'un processus entraînant d'un processus entraînant deux types de lésions au niveau du système nerveux central :

Les dégénérescences neuro-fibrillaires, il s'agit de l'apparition au sein des neurones, d'anomalies des protéines Tau (*tubul-associated unit*). Elle fait partie de la famille de protéines associées aux microtubules qui et surtout présentes dans les neurones.

Les plaques amyloïdes ou plaques séniles, il s'agit du dépôt en dehors des neurones, de la protéine bêta amyloïde [17].

Les plaques séniles se forment à la surface des neurones il existe une protéine appelée APP (protéine précurseur de l'amyloïde), dans les conditions normales, cette protéine est coupée à la surface des neurones et libère une protéine appelée bêta amyloïde qui est dégradée dans l'organisme [9]. Dans le cas de la maladie d'Alzheimer la protéine n'est plus régulière. Elle se trouve en très grande quantité. Elle s'agrège sous forme d'amas insoluble (Figure 2).

Dans la moitié de ces cas, des mutations rares à l'origine de la maladie ont pu être identifiées. Elles sont retrouvées au niveau de trois gènes : l'un code pour une protéine précurseur du peptide amyloïde (APP pour Amyloid Protein Precursor) et les deux autres pour les protéines préséniline 1 et préséniline 2, qui interviennent dans le métabolisme de l'APP. Hériter de mutations affectant un de ces gènes entraîne systématiquement l'apparition de la maladie (transmission autosomique dominante) [9].

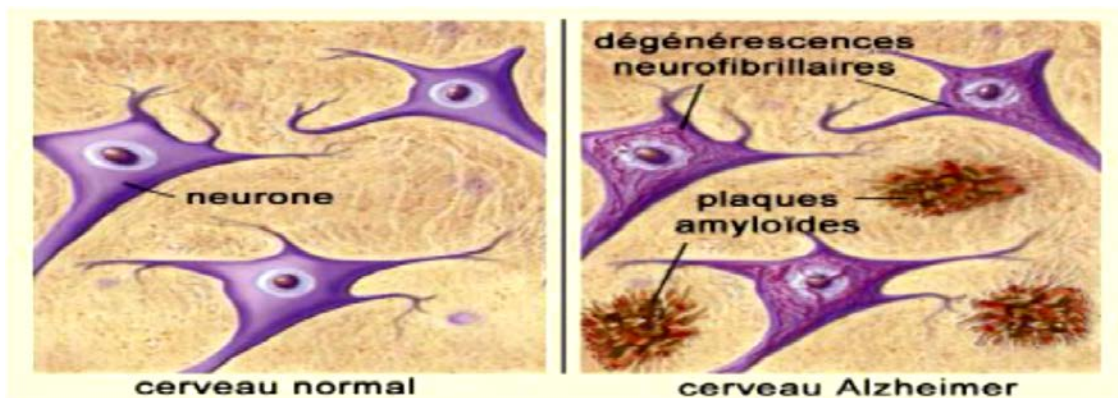


Figure 2 : Représentation des plaques amyloïde et les dégénérescences neuro-fibrillaire [18]

La dégénérescence neuro-fibrillaire se forme lorsqu'un neurone communique avec un autre, un signal va du corps (SOMA) à la synapse qui contient l'acétylcholine (Figure 3). Pour transmettre l'information ce signal passe à travers le squelette du neurone qui est constitué de microtubules stabilisés par la protéine TAU normale. Dans le cas de la MA la protéine TAU devient anormale, elle est défectueuse et se détache du microtubule. De ce fait le squelette du neurone se dissocie car il n'est plus maintenu. De son côté la protéine TAU anormale s'agrège dans le neurone, elle forme des filaments constituant la dégénérescence neuro-fibrillaire, sans squelette les neurones dégèrent avec perte de connections [9].

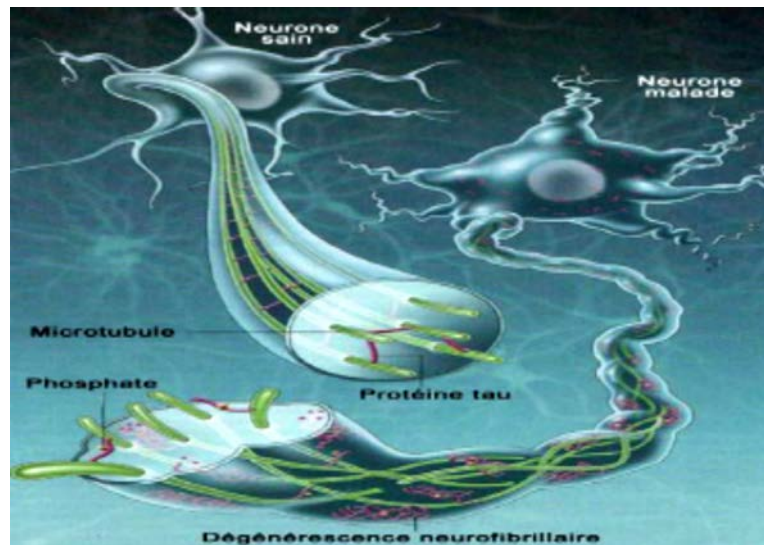


Figure 3 : Formation des dégénérescences neuro-fibrillaire [19]

2.2. Les symptômes de la maladie d'Alzheimer

Bien que les signes et les symptômes de la maladie peuvent varier d'une personne à l'autre, la perte de mémoire croissante avec le passage du temps est souvent les premiers symptômes observés. Parmi des signes qui apparaissent dans le stade précoce de la maladie on distingue : pertes de mémoire qui perturbent la vie quotidienne, difficulté à planifier ou à résoudre des problèmes, difficulté à exécuter les tâches familières à la maison, au travail ou durant les loisirs, confusion avec le temps ou le lieu, difficulté à comprendre les images et les relations spatiales, nouveaux problèmes d'expression orale ou écrite, objets égarés et perte de la capacité à reconstituer un parcours, retrait du travail ou des activités sociales, changement d'humeur et de la personnalité et jugement amoindri [20].

2.3. La progression de la maladie d'alzheimer

La maladie commence par une accumulation des éléments anormaux (dégénérescence neuro-fibrillaire et les plaques séniles) dans le cerveau et détruit les cellules cérébrales avec perte des neurones cholinergique, et un déficit conséquent du neurotransmetteur Acetylcholine (ACH). Tout commence au niveau de l'hippocampe. Les plaques et les dégénérescences détruisent l'hippocampe peu à peu et il devient de plus en plus difficile de fabriquer de nouveaux souvenirs [21].

Après l'hippocampe, la maladie s'attaque à la zone cérébrale qui est responsable du langage, trouver le bon mot devient de plus en plus difficile. Ensuite la maladie progresse vers l'avant du cerveau Où se trouve la partie responsable de la logique : Le lobe frontal Progressivement le patient perd la faculté de résoudre des problèmes ou de comprendre des concepts. Les plaques et les enchevêtrements s'attaquent à la partie du cerveau qui se charge de la régulation des sentiments ; Lorsque cela arrive, le sujet perd tous ses sentiments, et ses émotions, puis la maladie touche les zones du cerveau responsables des perceptions visuelle, auditive et olfactive. La personne commence à faire des hallucinations [21].

Finalement les plaques et les enchevêtrements envahissent l'arrière du cerveau et détruisent les souvenirs les plus anciens et les plus précieux, la fin devient très proche. L'évolution de la maladie est lente et irréversible [21].

2.4. Facteur de risque et les facteurs protecteurs

La maladie d'Alzheimer est multifactorielle : elle est la conséquence d'une combinaison complexe de différents facteurs : âge, terrain génétique et facteurs environnementaux [22].

- **L'âge** : la maladie est une maladie du sujet âgé, touchant dans la plupart des cas des personnes âgées de plus de 65 ans.
- **Le terrain génétique** : sont des formes familiales héréditaires, liées à 3 gènes identifiés à ce jour. Le terrain génétique individuel joue néanmoins un rôle dans l'apparition de la maladie. C'est la susceptibilité génétique (est le résultat d'une association unique de ces différents gènes). Le principal gène de la maladie d'Alzheimer est le gène APOE, et plus particulièrement sont allèle 4 (APOE4). De nombreuses recherches sont menées pour étudier son impact et ses retentissements.

- **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 [23].

- **Facteurs de risque cardiovasculaire** : l'impact négatif important des facteurs de risque cardiovasculaire sur l'apparition de la maladie d'Alzheimer a été rapporté depuis longtemps. Il est établi une relation entre maladie vasculaire cérébrale et maladie d'Alzheimer : plus la maladie vasculaire est sévère, plus le risque de démence et de maladie d'Alzheimer est élevé.

Il paraît donc crucial de contrôler ces facteurs de risques :

- ✓ Hypertension artérielle
- ✓ Troubles lipidiques : hypercholestérolémie, hypertriglycémie.
- ✓ Diabète
- ✓ Surpoids, obésité
- ✓ Tabagisme
- ✓ Consommation excessive d'alcool
- ✓ Stress chronique
- ✓ Sommeil de mauvaise qualité [23]

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 [24].

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

Une étude démontre un effet positif de l'adoption d'un mode de vie sain sur la survenue d'une démence, et ce même pour les personnes qui présentent un risque génétique élevée [24].

2.5. Traitement de la maladie d'Alzheimer

Les pistes de traitement de la MA découlent pour l'essentiel de la mécanistique moléculaire de la maladie, telle qu'elle est majoritairement envisagée aujourd'hui. Pour l'instant, il n'existe pas de substances médicamenteuses ou de stratégies pour prévenir ou guérir une MA [25].

2.6. Les médicaments utilisés actuellement

2.6.1. Les anticholinestérasiques





Les anticholinestérasiques sont les premiers médicaments ayant une action démontrée dans la maladie d'Alzheimer. Ils augmentent la quantité d'acétylcholine dans la synapse, en bloquant l'AChE, qui dégrade l'ACh dans la fente synaptique. La tacrine (COGNEX). C'est la première anti-cholinestérasique commerciale, a été retirée du marché en raison de son hépatotoxicité en mai 2004. [26]

2.6.2. Les anti-glutamates (antagoniste des récepteurs NMDA)

Les anti-glutamates visent à bloquer les récepteurs du glutamate, molécule responsable d'une excitation toxique du système nerveux. Ils ont pour effet de retarder la perte des fonctions cognitives allant parfois jusqu'à les améliorer chez certains patients [26]. Cette classe thérapeutique, apparue en 2002, ne contient qu'un seul médicament : la mémantine qui possède des actions protectrices sur les vaisseaux et les cellules cérébrales en réduisant la neurotoxicité du glutamate et protégeant le récepteurs NMDA [26].

Aujourd'hui, 4 inhibiteurs de cholinestérasés, des agents destinés spécifiquement à stimuler l'activité cholinergique rémanente, sont, dans le meilleur des cas, partiellement effectifs dans le traitement des manifestations cliniques de la maladie : la tacrine (Cognex®) ; l'Huperzine A ou Donépézyll (Aricept®) ; la Rivastigmine (Exelon®) ; la Galanthamine (Reminyl®) et Memantine hydrochloride (Ebixa ®) (Tableau 1) [27].

Tableau 1 : Les médicaments (commercial) utilisés dans le traitement de la maladie Alzheimer [28]

Principe active du médicament	Caractéristique	Utilisation	Effets secondaires
<p>Donépézil chlorohydrate</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibe AchE - Réversible - Demi-vie longue - 10 mg/j en une seule prise [18] 	<p>C'est un anti-cholinestérique utilise dans le traitement symptomatique de la MA dans ses formes légères à modérément sévères. Il s'agit dans le cerveau pour améliorer la réflexion, l'attention, et la capacité d'accomplir des tâches toutes simples. [28]</p>	<ul style="list-style-type: none"> -diarrhées -crampes musculaires -Fatigue -Nausées -vomissements -insomnie. [28]
<p>Rivastigimine</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibe AchE et BChE - Partiellement réversible : action prolongée - 12 mg/j en deux prises. [18] 	<p>C'est un anti-cholinestérique utilise dans le traitement symptomatique de la MA dans ses formes légères à modérément sévères.il peut améliorer la fonction cognitive (mémoire orientation et langage). [28]</p>	<p>Les réactions cutanées au le site d'application. Sont les effets indésirables les plus fréquentes, les autres sont de types gastro-intestinaux :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Nausées -omissements.[28]
<p>Galantamine</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibe AchE - Réversible - Plus agoniste des récepteurs nicotiniques - 16 à24 mg/j en deux Prises. [18] 	<p>C'est un anti-cholinestérique utilise dans le traitement symptomatique de la MA dans ses formes légères à modérément sévères. Il peut améliorer la fonction cognitive (mémoire, orientation et langage) et l'aptitude générales requise pour l'accomplissement des activités de la vie quotidienne [28]</p>	<p>Les plus fréquentes sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> -nausées -vomissements [28]
<p>Memantine</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Apparentée à l'amantadine (antiparkinsonien) - Faible antagoniste non-compétitif de récepteur au glutamate (NMDA) - Stabilise la transmission excitatrice glutaminergique [18] 	<p>C'est un anti-cholinestérique utilise dans le traitement des patients adultes d'une forme modérée à sévères de la MA [28]</p>	<ul style="list-style-type: none"> -assoupissement -Constipation -Étourdissements -Fatigue -Maux de tête -Perte d'appétit -Des troubles du sommeil -Vomissements [28]

3. L'acétylcholinestérase

3.1. Généralités

Le terme de cholinestérase a été proposé en 1932 pour décrire une enzyme capable d'hydrolyser l'acétylcholine [29]. Quelques années plus tard, des commissions internationales de nomenclature biochimique ont entériné l'existence de deux formes distinctes de ChE qui diffèrent par leur origine, leur structure, leur spécificité d'action et leur fonction physiologique [30].

L'ACh est produite dans les neurones cholinergiques pré-synaptiques, à partir de la choline et l'acétylcoenzyme A, par la choline acétyltransférase (ChAT). Celle-ci est par la suite délivrée dans la fente synaptique où elle se fixe aux différents récepteurs qui peuplent les neurones cholinergiques post-synaptiques. Une dépolarisation se déclenche alors pour transmettre l'influx nerveux et l'ACh est aussitôt dégradée par l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) en choline laquelle est par la suite recyclée (Figure 4) [31].

La Cholinestérase est une famille d'enzymes qui catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) pour donner la choline et l'acide acétique (Figure 6) [32].

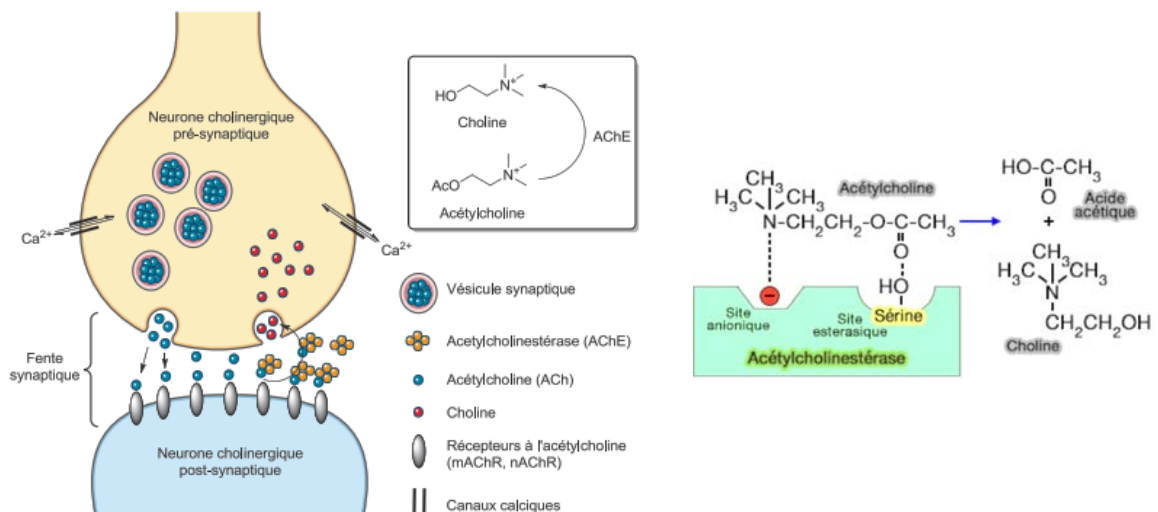


Figure 4 : Neurotransmission cholinergique (gauche), La réaction entre l'acétylcholine et les acétylcholinestérases (droite) [31]

C'est une réaction nécessaire pour permettre à un neurone cholinergique de revenir à son état de repos après son activation. Cette famille d'enzymes comporte deux grandes classes :

- **Pseudo-cholinestérase (BuChE)** : aussi connu comme la cholinestérase plasmatique, butyryl-cholinestérase, ou acylcholine acylhydrolase, se trouve principalement dans le foie. Différent de l'acétylcholinestérase, la BuChE hydrolyse la butyrylcholine plus rapidement que l'acétylcholine [33].
- **Acétylcholinestérase (AChE)** : Se retrouve dans de nombreux types de tissus citons les nerfs, les muscles, les tissus centraux et périphériques, les fibres motrices et sensorielles, et cholinergique et enfin les fibres cholinergiques [33].

3.2. Rôle de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé pour la neurotransmission qui permet aux neurones cholinergiques de retrouver leur état de repos en hydrolysant l'acétylcholine (ACh). Elle est principalement associée aux nerfs et aux muscles et se trouve au niveau des synapses dans les neurones et les cellules gliales du cerveau [36].

Une synapse cholinergique fonctionne schématiquement en quatre temps. Le neurotransmetteur, l'ACh, est d'abord libéré, diffuse à travers la fente synaptique, se lie réversiblement au récepteur nicotinique et est finalement hydrolysé (Figure 5). C'est lors de cette dernière étape qu'intervient l'AChE. Elle remplit sa fonction cholinergique en assurant la terminaison de la transmission de l'influx nerveux au sein des jonctions neuromusculaires et des synapses cholinergiques [39].

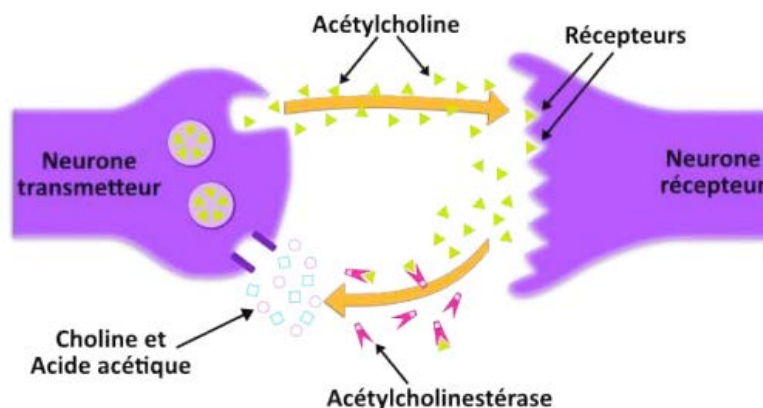


Figure 5 : Rôle de l'AChE au niveau des synapses [36]

L'AChE joue également des rôles autres que celui de la transmission de l'influx nerveux. Permet ces rôles l'adhésion cellulaire, l'assemblage des plaques amyloïdes, la neuritogenèse, l'hématopoïèse et la thrombopoïèse [40]. Ces rôles de l'AChE sont généralement associés à des pathologies neurologiques et semblent converger vers une implication de son PAS (peripheral Anionic Site).

Ce site est donc une cible à privilégier dans la recherche de traitements contre la MA et les autres maladies neurodégénératives associées à l'AChE. La plupart des médicaments anti Alzheimer sont actuellement des inhibiteurs de l'AChE qui agissent au niveau de son site actif en vue de restaurer la fonction cholinergique, et donc d'améliorer les fonctions cognitives des personnes touchées [41].

3.3. Structure tridimensionnelle de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une protéase à sérine, regroupant 537 acides aminés (75 kDa), exprimée dans les systèmes nerveux et sanguins des eucaryotes supérieurs. Elle se trouve notamment au niveau des synapses dites cholinergiques utilisant le neurotransmetteur acétylcholine (ACh). De telles synapses sont retrouvées au niveau des jonctions neuromusculaires, ainsi que dans les zones du cortex en charge des fonctions cognitives (mémoire, orientation, jugement...etc.) [34].

La structure publiée en 1991 était celle du dimère entier d'AChE. Ce dernier est une protéase à serine regroupe 537 acides amines (75 KDa). Chaque monomère est constitué de 11 feuillets β et de 15 hélices α , ainsi que d'une courte portion de feuillet β , à l'extrémité N-terminale, qui n'est engagée dans aucune interaction avec le reste de la structure. Le repliement global de l'enzyme est typiquement celui de la famille des α/β hydrolases. Dans le dimère, les deux monomères sont liés, l'un à l'autre, par un « paquet » de 4 hélices α : deux hélices α de chaque monomère, dont l'hélice α C-terminale, participent à la mise en place d'un accollement inter-résidus très stable. [35]

Ces domaines correspondent en fait aux deux moitiés de la chaîne polypeptidique : le demain constitue des résidus 1à305 s'accrole sur l'autre, constitue des résidus 306 à537. Les cystéines C-terminales (Cys537) de L'acétylcholinestérase et ces inhibiteurs 33 monomères établissent entre elles un pont disulfure inter-chaînes qui stabilisera, covalement, cette interface de dimérisation. [35]

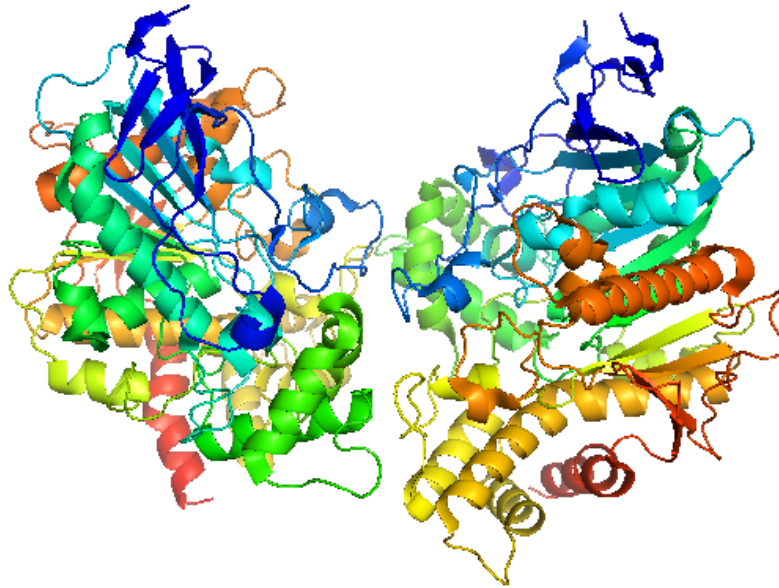


Figure 6 : Représentation de structure tridimensionnelle de l'acétylcholinestérase (PDB 6O4W) par logiciel pyMol [35]

3.4. Mécanisme de l'acétylcholinestérase

Une fois l'acétylcholine stabilisée dans le site actif, une étape d'acylation a lieu par un mécanisme d'addition élimination : addition de l'oxygène de la sérine sur le carbonyle de l'ACh, puis élimination de la choline. L'histidine de la triade catalytique permet le déplacement de cette étape vers la formation du complexe acyl-enzyme en captant le proton de la sérine 203. Ce proton va ensuite être capté par la choline qui quitte le site actif. Le complexe acyl-enzyme tétraédrique obtenu est stabilisé par le trou oxyanionique. Une molécule d'eau s'additionne alors sur ce complexe, et l'acide acétique est éliminé : c'est l'étape de dé-acylation (Figure 6) [36].

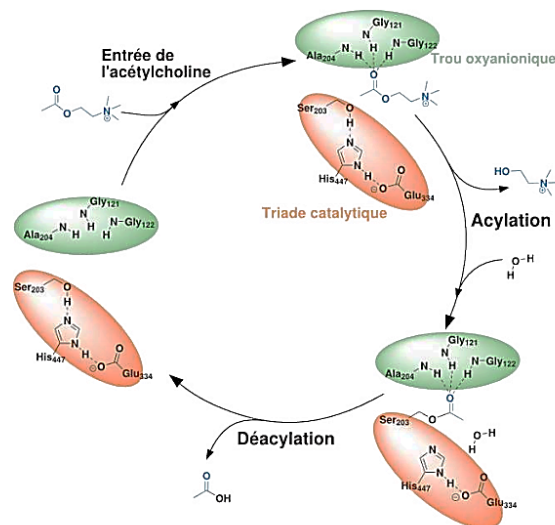


Figure 7 : Cycle catalytique de l'hydrolyse de l'Acétylcholine [36]

Le mécanisme catalytique des sérines hydrolases (Figure 7) conservé, est le suivant :

- 1) Formation du complexe michaëlien.
- 2) Attaque nucléophile de la sérine catalytique sur le substrat.
- 3) Formation du 1^{er} intermédiaire tétraédrique.
- 4) Libération du 1^{er} produit (choline).
- 5) Attaque nucléophile d'une molécule d'eau sur la sérine acylée.
- 6) Formation du 2^{ème} intermédiaire tétraédrique.
- 7) Libération du 2^{ème} produit (acétate). [37]

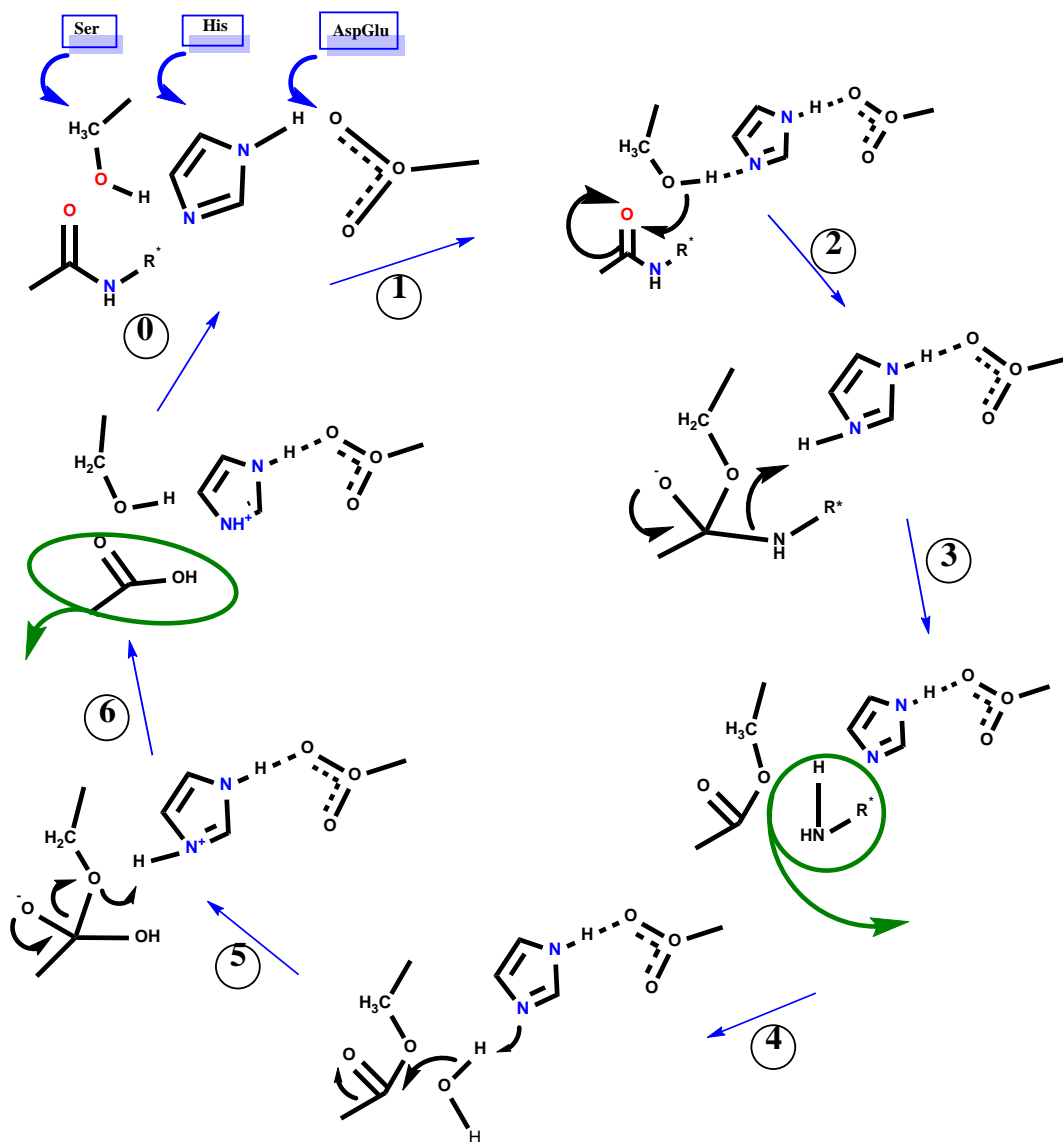


Figure 8 : Mécanisme général d'hydrolyse par une sérine hydrolase par logiciel ChemDraw [38]

CHAPITRE II :
Matériels et Méthodes

1. Matériels utilisés

1.1. Micro-ordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur dans lequel tous les programmes utilisés ont été installés sous système d'exploitation Windows 7 professionnel (64 bits). Ce microordinateur possède une mémoire vive de 4Go et un processeur 2,60 GHz Intel Core i5 à cinq cœurs.

1.2. Banques des données

1.2.1. PDB (Protein Data Bank)

La structure 3D de l'enzyme acétylcholinestérase, faisant l'objet de ce travail, provient de la PDB « Protein Data Bank ». Il s'agit de la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques permettant de consulter et de télécharger gratuitement les structures 3D des protéines biologiques via son site web : <http://www.rcsb.org/pdb/>. [56]

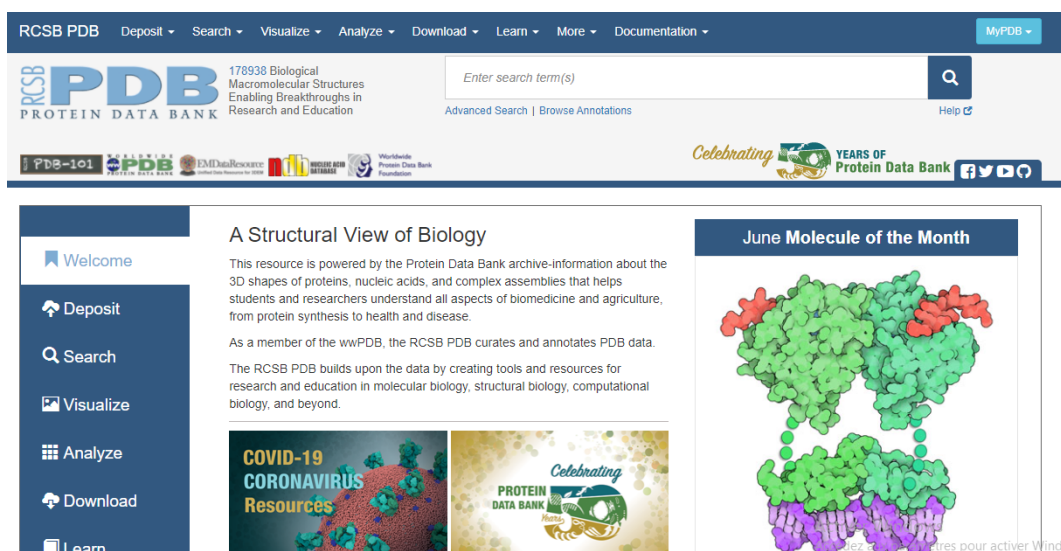


Figure 9 : Interface de la page d'accueil du RCSB PDB

1.2.2. Pubchem

Cette chimiothèque a été utilisée pour la recherche et le téléchargement des similaires de l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase. Les différentes conformations tridimensionnelles des modèles proposés par la PubChem sont téléchargeables sous l'extension .sdf. Ces fichiers ont été par la suite convertis au format .pdb à l'aide du programme « Open Babel ». On peut consulter cette chimiothèque via le lien : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. [57]

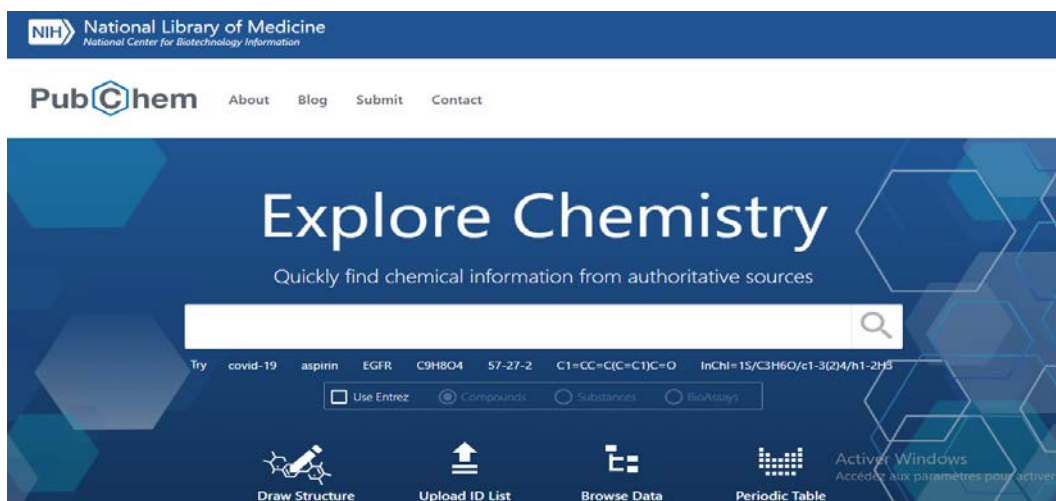


Figure 10 : Interface d'accueil du Pubchem

1.3. Programmes et logiciel utilisés

1.3.1. Autodock Tools

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. Les distributions actuelles d'Auto Dock se composent de deux générations de logiciels: Auto Dock 4 et Auto Dock Vina [58]. Dans notre étude de Docking, nous avons utilisé le logiciel Autodock Vina. Ce dernier est un nouveau programme de Docking moléculaire et le criblage virtuel. Son principal objectif est l'augmentation de la vitesse d'exécution tout en conservant des résultats à la hauteur voire meilleurs qu'Auto Dock4. [59, 60]

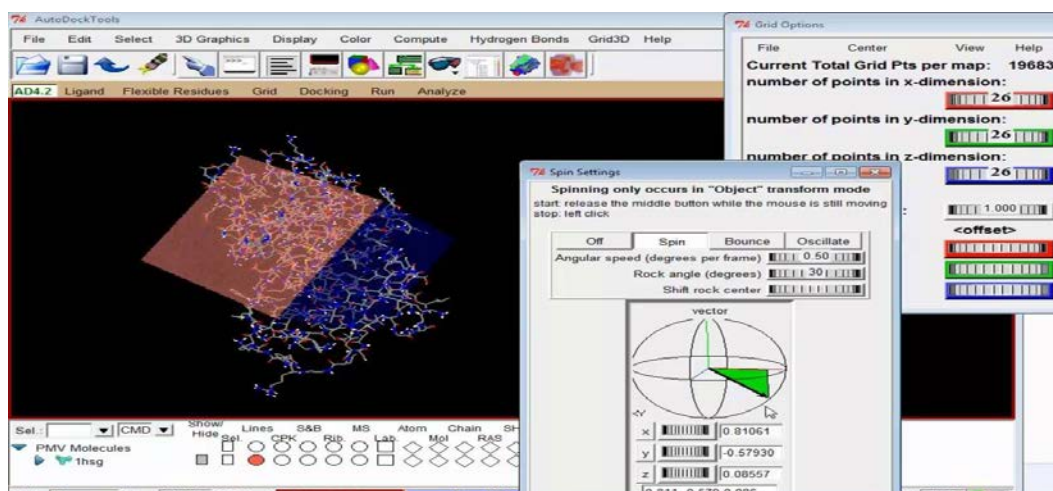


Figure 11 : L'interface graphique Auto Dock Tools

1.3.2. Discovery Studio

Discovery Studio est une suite logicielle complète pour l'analyse et la modélisation des structures moléculaires, des séquences et d'autres données pertinentes pour les chercheurs en sciences de la vie. Le produit comprend des fonctionnalités de visualisation et d'édition des données ainsi que des outils d'analyse de base des données. <http://accelrys.com/resource-center/downloads/freeware/index.html>. [61]



Figure 12 : L'interface graphique de *Discovery Studio*

1.3.3. Chemdraw

ChemDraw s'est imposé depuis longtemps comme la référence des logiciels de dessin de structures moléculaires. Est un éditeur de molécules développé par la société de chimioformatique CambridgeSoft. Afin de proposer à chaque utilisateur l'outil adapté à ses besoins, le logiciel existe maintenant en trois versions : ChemDraw Prime, ChemDraw Professional et ChemOffice Professional. Cette déclinaison permet de satisfaire les besoins de tous les chercheurs, étudiants et professeurs impliqués dans la chimie et les domaines connexes [64].

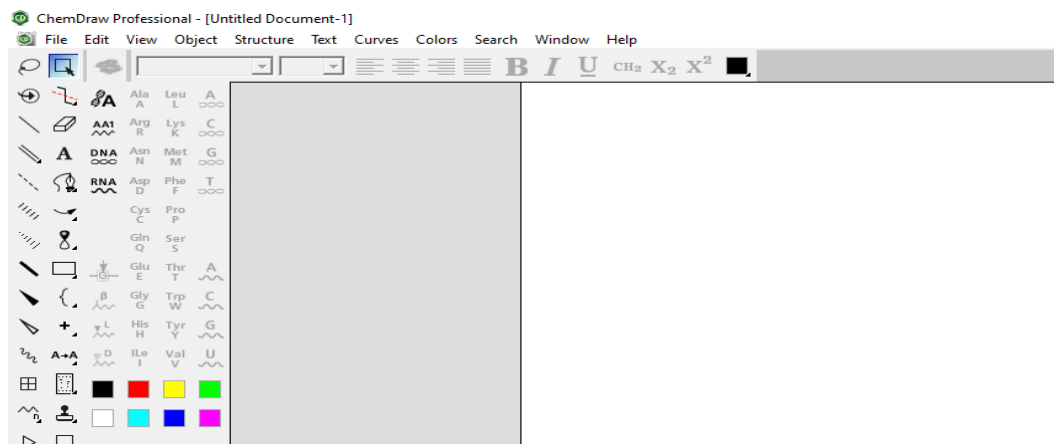


Figure 13 : L'interface graphique de *Chemdraw*

2. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont des substances qui inactivent réversiblement ou irréversiblement l'enzyme et augmentent de ce fait la concentration et la durée de l'action de l'acétylcholine, avec pour conséquence une stimulation intense et prolongée des récepteurs dans les synapses neuromusculaires et centrales, pouvant aboutir à un blocage de la neurotransmission [46].

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 sur le marché :

- Le Donépézil (*Aricept*)
- La Rivastigmine (*Exelon*)
- La Galantamine (*Reminyl*)
- La Mémantine (*Exiba*)

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 [46].

3. Docking moléculaire

Le Docking ou amarrage protéine-protéine est une technique informatique qui permet de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure d'une protéine, et optimiser aussi des molécules ayant déjà une activité avec le récepteur .il ya différentes types de docking moléculaire dont ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine. [66]

Le « docking » moléculaire consiste à prédire la ou les structures des complexes formés entre une molécule active et une protéine.

- Les algorithmes de calcul génèrent aléatoirement un grand nombre d'orientations possibles pour trouver « la meilleure façon d'insérer » la molécule dans une protéine (au niveau du récepteur ou du site actif).
- Le programme prend en compte tous les degrés de liberté de la molécule (translation et rotation).

- Pour chaque possibilité l'énergie est calculée en Mécanique Moléculaire, prenant ainsi en compte toutes les interactions ligand-récepteur (liaisons de Van der Waals, liaisons H, hydrophobie...).
- On obtient ainsi un « score » pour estimer la meilleure interaction ligand/ récepteur.
- Le score est l'enthalpie libre de liaison (il doit être minimisé) [65].

3.1. Les étapes de docking moléculaire

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes complémentaires : le docking et le scoring (Figure 14).

- ✓ Le *Docking* (la première) : 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* (la deuxième) : 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. [66]

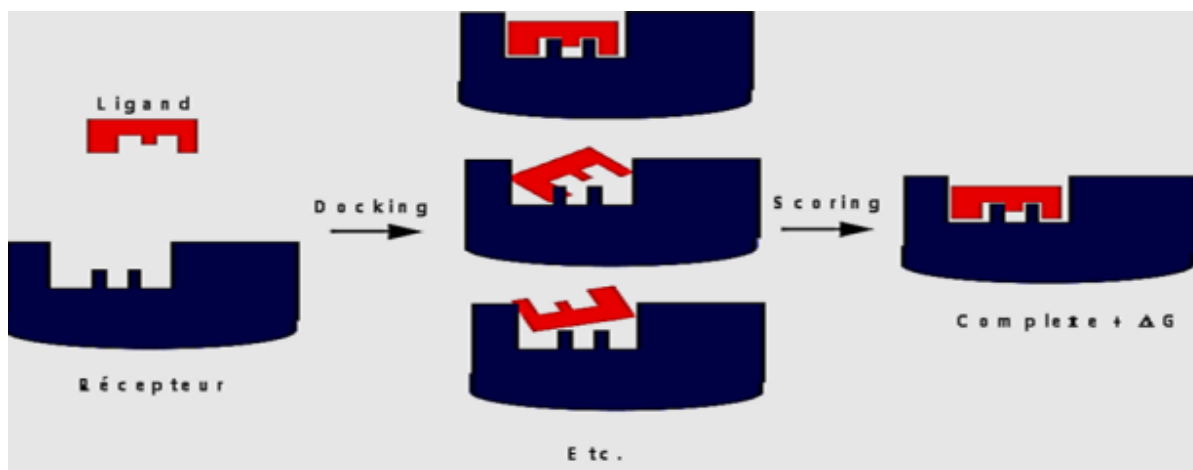


Figure 14 : Simulation du Docking et scoring [56]

3.2. Préparation de Docking moléculaire

Le docking moléculaire par Auto Dock s'accomplit en cinq étapes complémentaires :

3.2.1. Préparation de l'enzyme

La structure 3 D de L'AChE, objet de notre étude, à été téléchargée sous format pdb via la banque de donnée Protein Data Bank sous le code 6O4W. Ce code représente la structure 3D de l'AChE sous forme homodimérique en complexe avec son ligand. Après on a sélectionné les ligands de chaque chaîne de l'AChE puis éliminer, puis on a sélectionné l'enzyme lui-même tout en supprimant les molécules d'eau par discovery studio. Enfin, le fichier de la protéine ainsi préparée a été enregistré en format pdb files.

Pdbqt de l'AChE de code 6O4W doit être préparée en définissant les charges partielles de ses atomes par l'intermédiaire du sous-programme Auto Tools Par la suite, la protéine doit enregistrer dans le dossier de docking moléculaire de format Pdbqt (format propre à Auto Dock) (Figure 15).

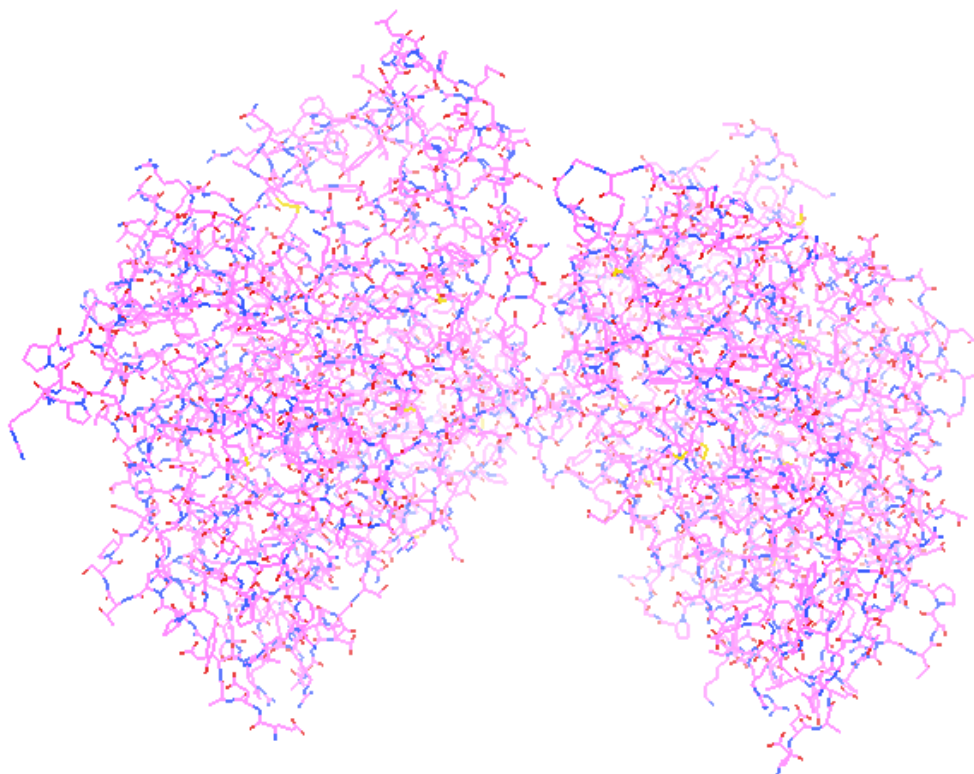


Figure 15 : L'AChE de code 6O4W sous forme pdbqt

3.2.2. Préparation du box

Pour le réglage de paramètres de box on a suivi ces étapes :

- 1) Ouvrir l'enzyme de code 6O4W sous forme pdbqt dans AutoDockTools-1.5.6.
- 2) Sélectionner les acides aminés de site actif dans les deux chaînes A et B.
- 3) Mettre les acides sous forme sphérique.
- 4) Cliquer sur Grid après Grid box.
- 5) Réglage de spacing (angstrom) à 1000.
- 6) Détermination de dimensions X et Y et Z et le centre de Grid box X et Y et Z.

Les dimensions X et Y et Z, sont :

Size_x = 36	Size_y = 38	Size_z = 52
-------------	-------------	-------------

Le centre de Grid box :

Centre_x = 96.217	Centre_y = 89.531	Centre_z = 6.131
-------------------	-------------------	------------------

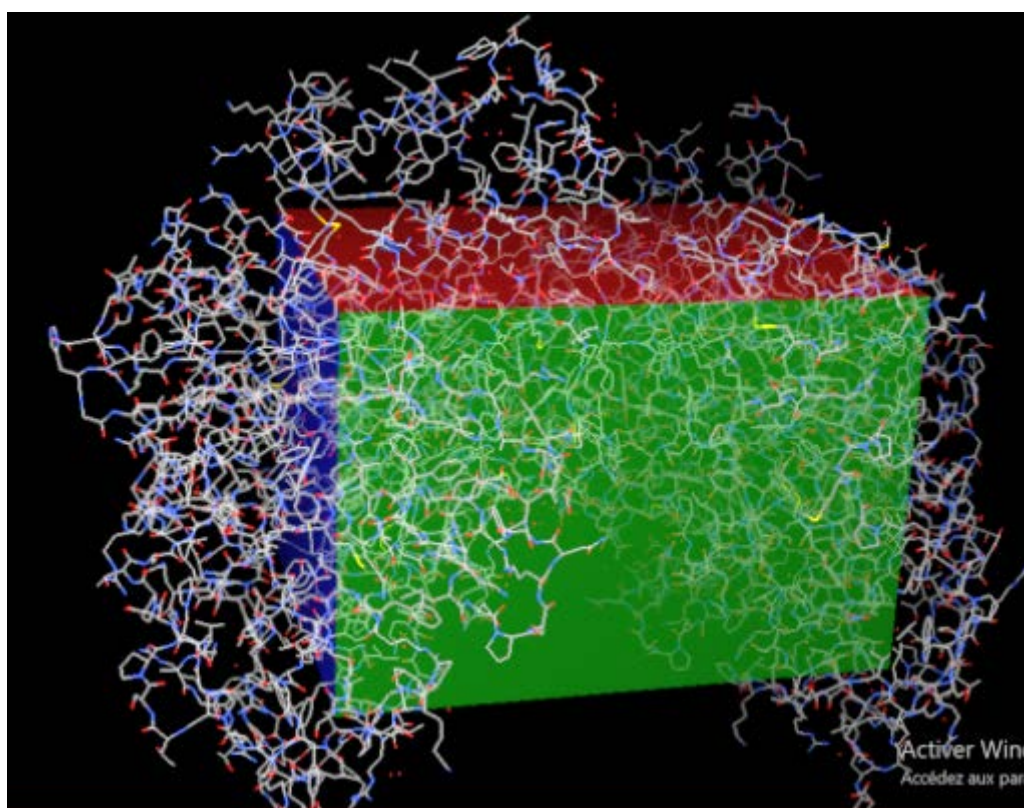


Figure 16 : Position de la boîte d'amarrage dans le site actif de la 6O4W

3.2.3. Préparation de ligand

Nous avons modélisé les 24 structures des ligands à l'aide de la chaîne de programmes de PubChem téléchargé sous forme 3D Conformer en SDF.

Quelque structure prépare par le programme ChemDraw. Les molécules ainsi obtenues sont enregistrées au format PDB.

Les ligands préalablement dessinés à l'aide du programme pubchem ou chemdraw sont par la suite préparés pour le docking avec le sous-programme Auto Tools. Ce dernier contrôle les mouvements du ligand, en définissant les atomes aromatiques. Le ligand a été enregistré sous le format .pdbqt.

Tableau 2 : Structure des ligands choisis dans le docking moléculaire

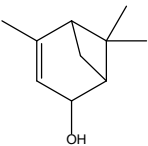
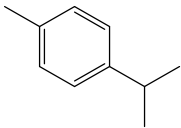
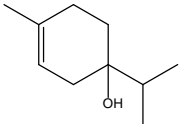
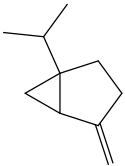
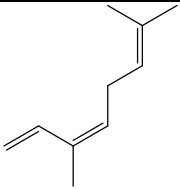
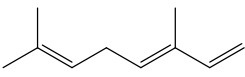
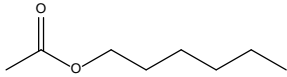
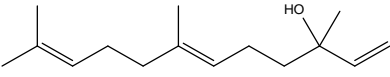
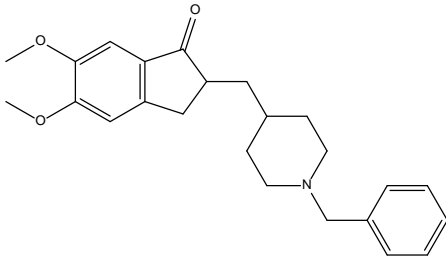
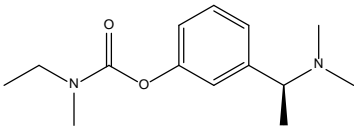
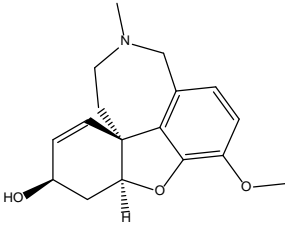
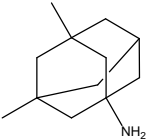
Composé	Structure par ChemDraw	Composé	Structure par ChemDraw
Verbenol C ₁₀ H ₁₆ O		p-cymene C ₁₀ H ₁₄	
Terpinene C ₁₀ H ₁₈ O		Sabinene C ₁₀ H ₁₆	
β-ocimene (cis) C ₁₀ H ₁₆		β-ocimene (trans) C ₁₀ H ₁₆	
Hexylacetate C ₈ H ₁₆ O ₂			
E-nerolido C ₁₅ H ₂₆ O			

Tableau 3 : Structure des médicaments références utilisé dans le docking moléculaire

Composé	Structure par ChemDraw
Donépézil $C_{24}H_{29}NO_3$	 <p>The structure of Donepezil consists of a 3,4-dimethoxyphenyl ring fused to a five-membered lactone ring. This lactone ring is connected via a methylene bridge to a piperazine ring, which is further substituted with a benzyl group.</p>
Rivastigmine $C_{14}H_{22}N_2O_2$	 <p>The structure of Rivastigmine features a central benzene ring. It is substituted with a propylcarbamoyl group, a methyl group, and a dimethylamino group.</p>
Galantamine $C_{17}H_{21}NO_3$	 <p>The structure of Galantamine is a complex polycyclic alkaloid. It features a tropane-like bicyclic core with a piperidine ring fused to a tropane ring. It has a hydroxyl group, a methyl group, and a methoxy group attached to the tropane ring.</p>
Memantine $C_{12}H_{21}N$	 <p>The structure of Memantine is a pentacyclic tropane alkaloid. It consists of a tropane ring system with a methyl group and an amino group attached to the tropane ring.</p>

CHAPITRE III :
Résultats et Discussion

1. Site actif de l'acétylcholine estérase

C'est la région de l'enzyme qui permet la reconnaissance et la fixation de substrat, il est aussi le siège de la catalyse (site de la catalyse).

Ce site actif, élément dynamique de l'AChE, est composé de deux sous-sites : le site estérasique et le site anionique. Le site estérasique est le site d'acétylation par l'acétylcholine du groupement hydroxyl (OH) de la sérine. L'AChE est une sérine hydrolase et la catalyse du substrat comprend une étape d'acylation-déacylation sur la sérine du site actif qui se situe en position variable selon les espèces. [46]

L'AChE humain est une enzyme dimérique de 542 acides aminés. Structuralement parlant, son site actif comprend quelques acides aminés spécifiques jouant un rôle clé dans la stabilité du complexe AChE-ACh. Le site actif de l'AChE est représenté notamment par les acides aminés Glu 334, His447 et la Ser203 qui se trouvent à la base d'une gorge étroite de 20 Å de profondeur. A ce niveau, on distingue deux sites : le site anionique et le site estérasique.

Le sous-site anionique ou site de fixation de la choline est constitué du Trp86, Glu202 et Phe337. Il stabilise les charges positives, et notamment l'ammonium de l'acétylcholine par des interactions π cations.

Le Trp86 est particulièrement important dans la fixation du substrat puisque l'affinité de l'enzyme pour le substrat est divisée par 1000 lorsque le Trp86 est remplacé par une alanine. Par contre, si l'on remplace le Glu202 par une glutamine, l'activité de l'enzyme ne diminue que d'un facteur 5, ce qui semble montrer que le Glu202 n'a pas de rôle direct dans la catalyse.

La poche acyle, région hydrophobe proche du site actif, permet de stabiliser la partie méthyle du groupe acyle et de délimiter la position du substrat. Elle est constituée des résidus Ph295, Phe297, Trp237, Phe338. Ceux-ci sont responsables de la sélectivité de l'AChE vis-à-vis de l'acétylcholine. En effet, du fait de l'encombrement stérique qu'ils induisent, seuls des groupements acétyl ou propanoyl peuvent venir s'y fixer.

Ces résidus servent également à stabiliser l'His447, et participent donc par ce biais à l'efficacité catalytique de l'AChE.

Le trou oxyanionique, composé des résidus Gly121, Gly122 et Ala204, est une zone très importante pour la réactivité de l'AChE. Ces résidus établissent des liaisons hydrogènes avec

le substrat, et stabilisent fortement l'intermédiaire acyl-enzyme, et la charge négative sur l'oxygène.

Une quatrième région peut également être définie. Il s'agit du site périphérique anionique qui se lie aux substrats cationiques, et notamment aux ligands trop gros pour pénétrer dans la gorge. Ce site est notamment constitué des résidus Tyr72 et Trp286. Il permet au substrat de se fixer avant de glisser vers le site actif où il sera hydrolysé.

Pour que le substrat puisse pénétrer correctement dans l'AChE, celle-ci doit faire preuve de flexibilité du fait de l'étroitesse de la gorge.

Cependant, l'activité enzymatique résiduelle après fixation de la fasciculine au niveau du site périphérique, bloquant la libération des produits d'hydrolyse, suggère que la porte de sortie annexe devient la voie de passage principale quand l'entrée de la gorge est bloquée.

2. Résultats de Dockings moléculaires

Afin de définir la nature des interactions entre inhibiteur-enzyme, nous avons réalisé des expériences sur l'amarrage du meilleur complexe inhibiteur (l'AChE) dans le site actif de l'enzyme (6O4W) avec le programme Discovery studio. La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct de ligand par rapport à son récepteur.

2.1. Étude des interactions Ligands–AChE

Les interactions entre les sites actifs de l'enzyme AChE et les ligands sont calculées lors de Docking moléculaire, les valeurs sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau N° 04 : Les résultats du Docking moléculaire

ID	TR %	Energie (kcal/mol)	Résidus Très proches	Type interactions	Nombre des Liaisons	Longueur (Å)
Betaocimene_trans	70	-6.8	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341.	l. hhydrophobe	8	3.60
Betaocimene_cis	70	-6.6	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341.	l. hhydrophobe	7	3.64
Terpinene	80	-7.3	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341.	l. hhydrophobe	6	3.57

CHAPITRE III : Résultats et Discussion

ID	TR %	Energie (kcal/mol)	Résidus Très proches	Type interactions	Nombre des Liaisons	Longueur (Å)
Verbinol	90	-7.1	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr124, His447.	I. hydrophobe	3	3.27
Sabinene	60	-7	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341,	I. hydrophobe	5	3.65
P_cymene	70	-7.4	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341,	I. hydrophobe	6	3.58
Hexylacetate	90	-6.4	Tyr337, Phe338, Glu202.	I. hydrogène I. hydrophobe.	2 2	3.69 3.69
E_nerolidol	60	-8.1	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr124, Tyr341, Trp286, Phe295.	I. hydrophobe.	10	3.79
Galantamine	60	-9.0	Thr83, Trp86, Tyr337, Tyr341.	I. hydrogène I. hydrophobe	2 3	2.81 5.06
Memantine	100	-8.2	Tyr337, Phe338, Tyr124	I. hydrogène I. hydrophobe	1 3	2.07 3.55
Rivastigimine	80	-7.9	Tyr337, Phe338, Tyr341.	I. hydrophobe	3	4.13
Donépézil	80	-11.2	Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341, Trp286, Leu289, Tyr72, Phe295.	I. hydrogène I. hydrophobe	2 11	2.9 3.71

Les résultats de docking (tableau 4) liés au nombre de solutions obtenues montrent que le donépézil a une bonne activité d'inhibition de l'AChE, ce qui confirme les résultats.

D'après les 8 composés étudiés, Terpinene, Verbinol, Sabinene, P_cymene et E_nerolidol, présents une meilleure énergie d'interaction avec l'AChE humaine, qui est respectivement égale à -7.3, -7.1, -7.0, -7.4, -8.1.

Ils possèdent donc le meilleur effet inhibiteur, c'est pour cela nous l'avons choisi comme modèle afin d'interpréter leur différente interaction établie avec l'enzyme.

Les interactions de chaque composé avec les résidus fonctionnels d'AChE ont démontré que le ligand interagit avec la plupart des résidus dans la poche de liaison comme la montre dans le tableau précédent.

2.2. L'analyse visuelle des interactions

Nous avons sélectionné la meilleure pose d'amarrage, lié au score obtenu par le logiciel et du type d'interaction existant dans les solutions générées. A travers cette étude, nous Nous avons sélectionné la meilleure pose d'amarrage pour chaque inhibiteur, lié au nombre de répétitions et du type d'interaction existant dans 25 solutions.

Le **E_nerolidol** ($C_{15}H_{26}O$; 136,24 g/mol ; (6E)-3, 7,11-trimethyldodeca-1, 6,10-trien-3-ol), est monorpène bicyclique dont sa structure est représentée dans la figure 32, est un composé fonction alcool. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible avec un temps du ripitition de 60%. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupe alcool de se integri dans une cavité limité de résidus d'acides aminés représentés par Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr124, Tyr341, Trp286, Phe295par 4 liaisons hydrophobes avec une energie d'interaction de-8.1 (kcal/mol).

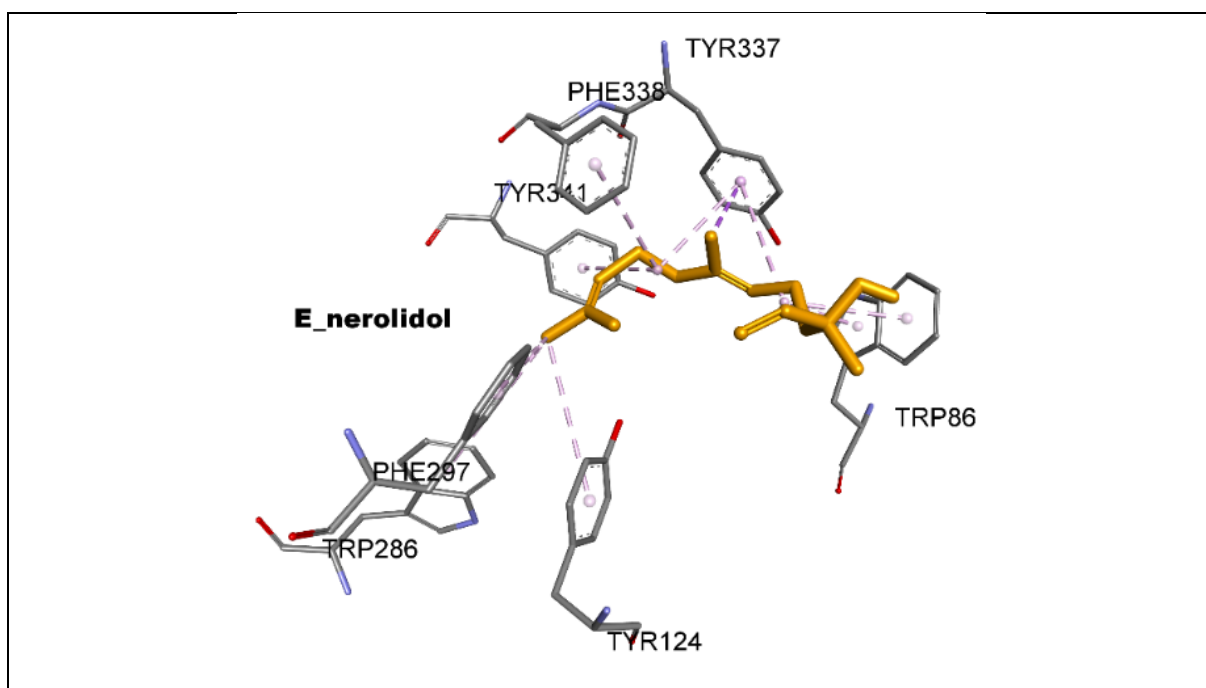


Figure 17 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour E_nerolidol

Le **hexylacetate** ($C_8H_{16}O_2$; 136,24 g/mol ; hexyl acetate), est monorpène dont sa structure est représentée dans la figure 34, est un composé fonction ester de l'acide acétique avec l'héxanol. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible avec un temps de répétition de 90%. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes ester de l'acide acétique de se intégrer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Tyr337, Phe338, Glu202 par 2 liaisons hydrogènes et 2 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -6.4 (kcal/mol).

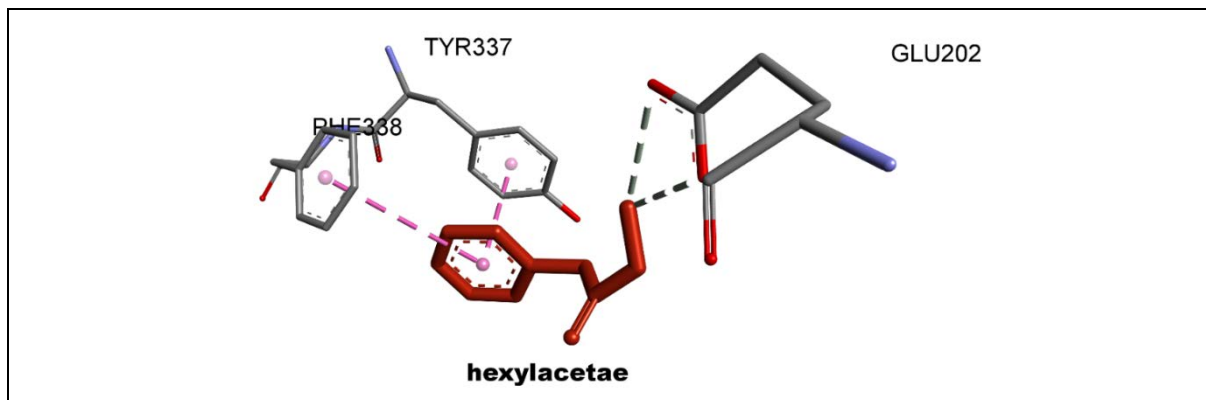


Figure 18 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour hexylacetate

Le **P_cymene** ($C_{10}H_{14}$; 134,21 g/mol ; 1-méthyl-4-propan-2-ylbenzene), est un composé aromatique monoterpène dont sa structure est représentée dans la figure 41, est un composé benzénique. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet au groupe méthyle de se déposer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341 par 6 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -7.4 (kcal/mol).

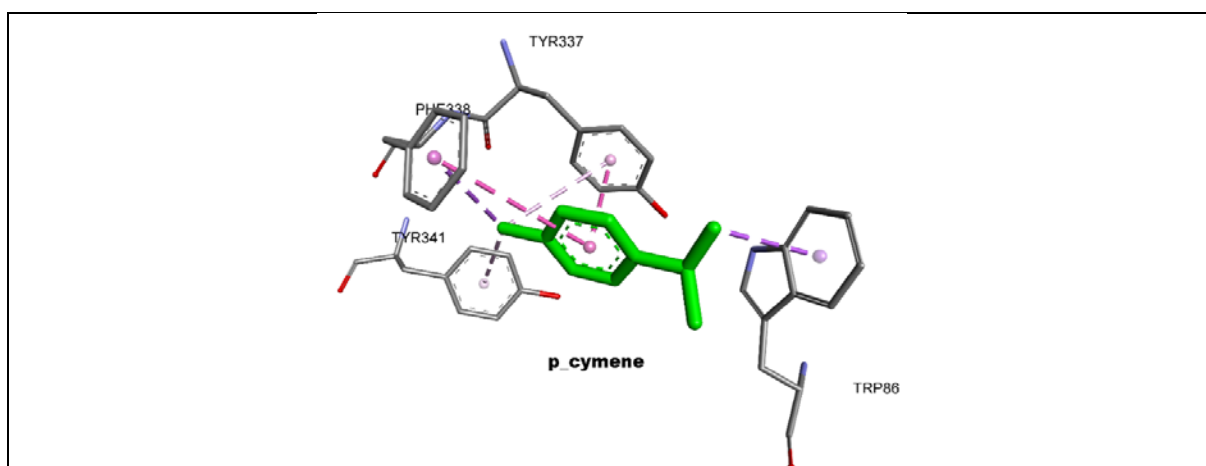


Figure 19 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour P_cymene

Le terpène. ($C_{10}H_{18}O$; 154g /mol ; 4-methyl-1-propan-2-ylcyclohex-3-en-1-ol), est un composé monoterpène dont sa structure est représentée dans la figure 42, est un composé hydrocarbure isomérique. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes hydrocarbure de se déposer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Phe338, Tyr341, Tyr337, Trp86, par 6 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -7.3(kcal/mol).

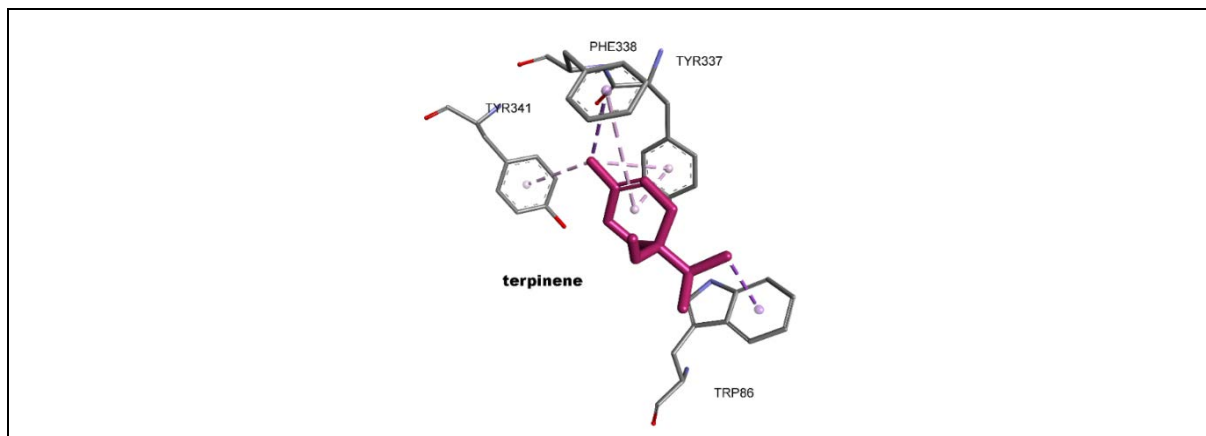


Figure 20 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour terpinene

Le verbinol ($C_{10}H_{16}O$; 152,24g /mol ; 4, 6,6-triméthylbicyclo [3.1.1] hept-3-en-2-ol), est un composé monoterpène bicyclique dont sa structure est représentée dans la figure 42, est un composé alcool primaire. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes méthyle et alcool de se déposer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr124, His447, par 3 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -7.1 (kcal/mol).

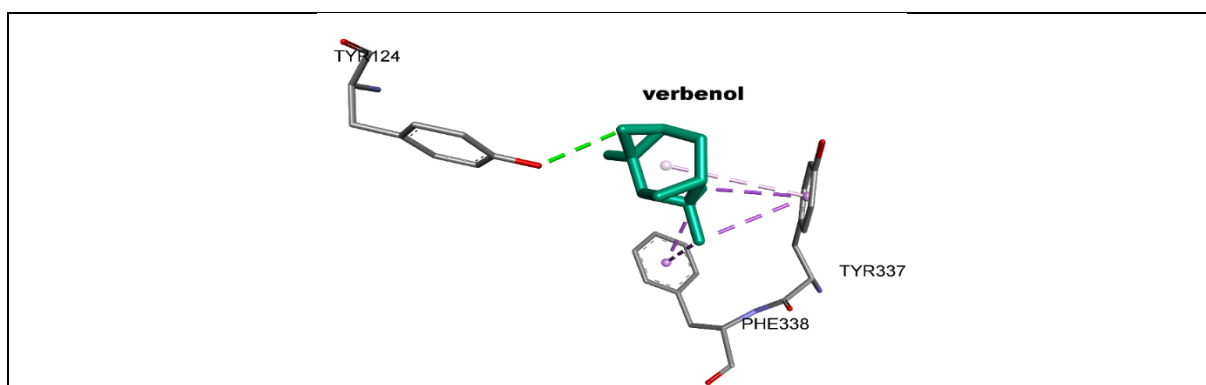


Figure 21 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour verbinol

Le **myrcene** ($C_{10}H_{16}$; 136g /mol ; 7-methyl-3-methylideneocta-1,6-dien), est un composé monoterpénique dont sa structure est représentée dans la figure 45. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes alcène de se déposer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341, par 9 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -6.6 (kcal/mol).

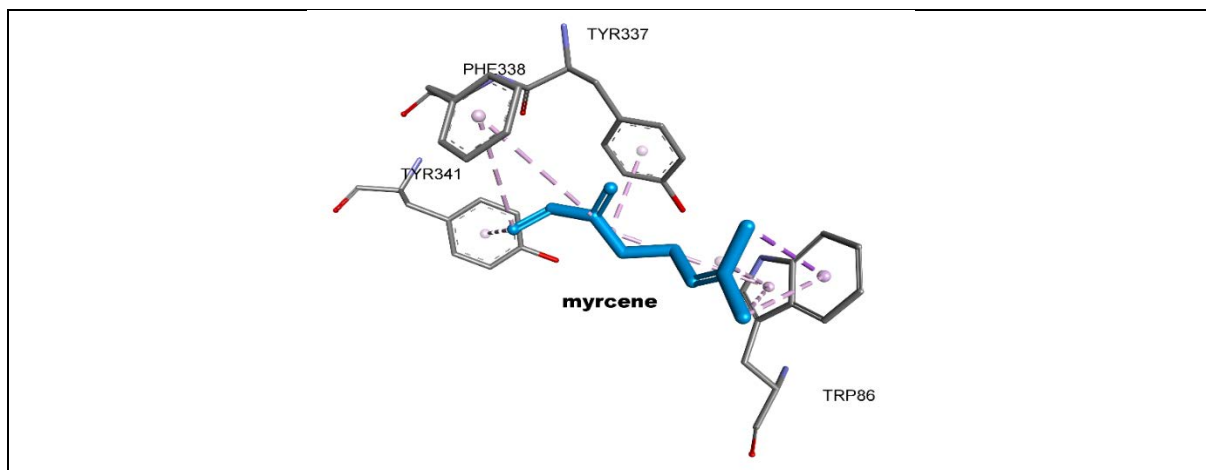


Figure 22 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour myrcene

Le **sabinene** ($C_{10}H_{16}$; 136 g /mol 4-méthylidène-1-propan-2-ylbicyclo [3.1.0] hexane), est un composé monoterpénique dont sa structure est représentée dans la figure 46 est un composé bicyclique. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire faible. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes alcène et alcool de se déposer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Trp86, Phe338 Tyr337, Tyr341, par 5 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -7 (kcal/mol).

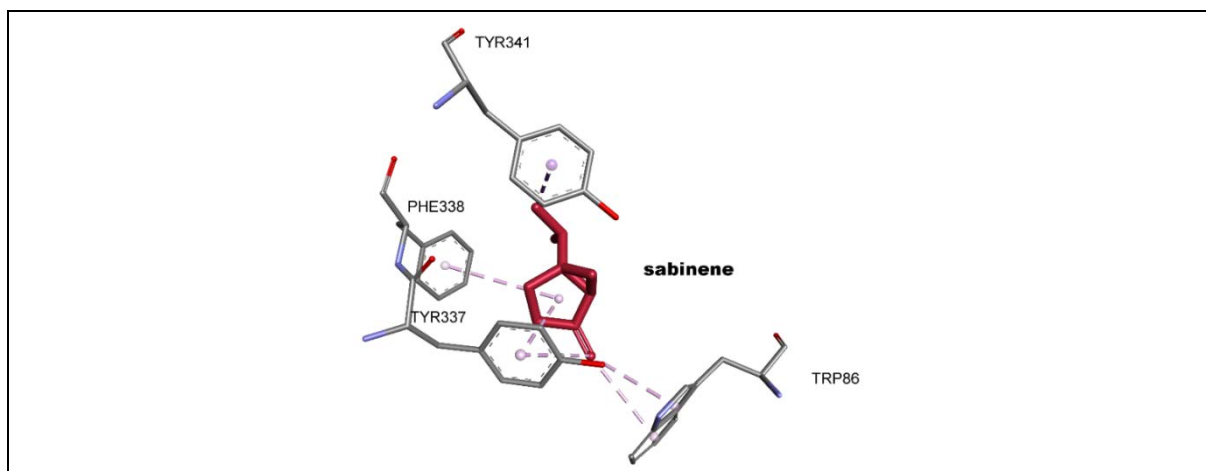


Figure 23 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour sabinene

Le donépézil ($C_{24}H_{29}NO_3$; 379.49 g/mol ; 2-[(1-benzylpiperidin-4-yl) methyl]-5,6-dimethoxy-2,3-dihydroindén-1-one), est un médicament de la MA dont sa structure est représentée dans la figure 47, est un composé fonction azote et des fonctions carbonyle. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible avec un temps de répétition de 80%. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes azote et carbonyle de se intégrer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Trp86, Tyr337, Phe338, Tyr341, Trp286, Leu289, Tyr72, Phe295 par 2 liaisons hydrogènes et 11 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -11.2 (kcal/mol).

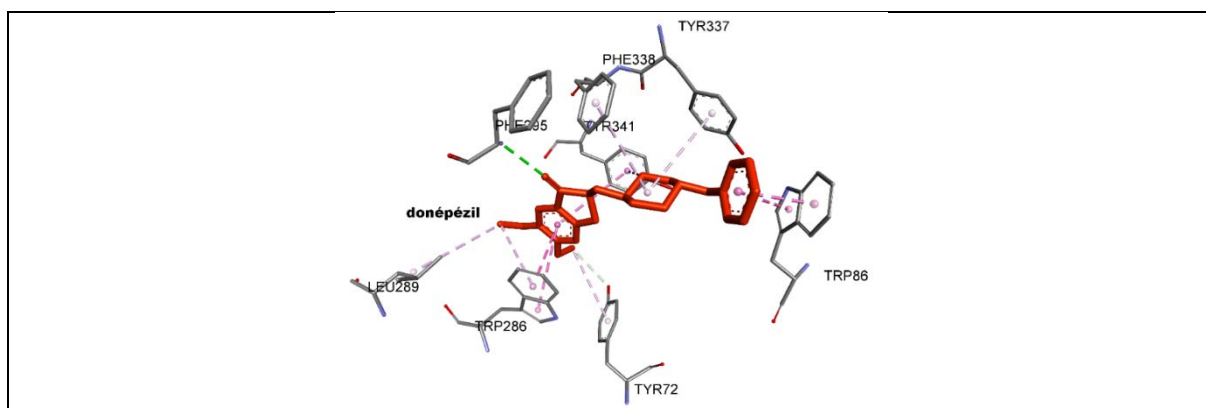


Figure 24 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour donépézil

Le galantamine ($C_{17}H_{21}NO_3$; 288.35 g/mol ; (1S, 12S, 14R)-9-méthoxy-4-méthyl-11-oxa-4-azatétracyclo [8.6.1.0.1, 12.0.6, 17] heptadéca-6(17), 7, 9,15-tétraène-14-ol), est un médicament de la MA dont sa structure est représentée dans la figure 48, est un composé fonction azote et des fonctions alcool et ester. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible avec un temps de répétition de 50%. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes azote et alcool et ester de se intégrer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Thr83, Trp86, Tyr337, Tyr341 par 2 liaisons hydrogènes et 3 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -9.0 (kcal/mol).

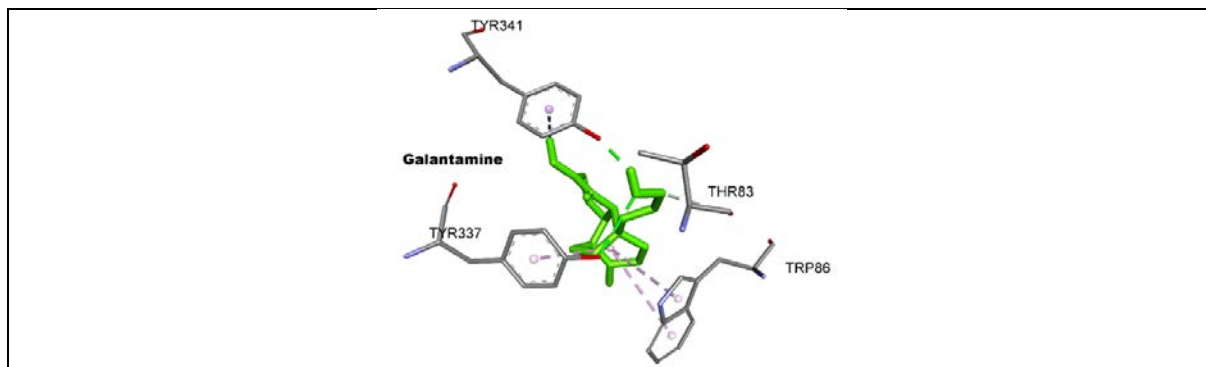


Figure 25 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour galantamine

Le **memantine** ($C_{12}H_{21}N$; 179.3 g/mol ; 3,5-dimethyladamantan-1-amine), est un médicament de la MA dont sa structure est représentée dans la figure 49, est un composé fonction azote et des fonctions acétone. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible avec un temps de répétition de 100%. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes azote et alcool et acétone de se intégrer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Tyr337, Phe338, Tyr124 par une liaison hydrogène et 3 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -8.2 (kcal/mol).

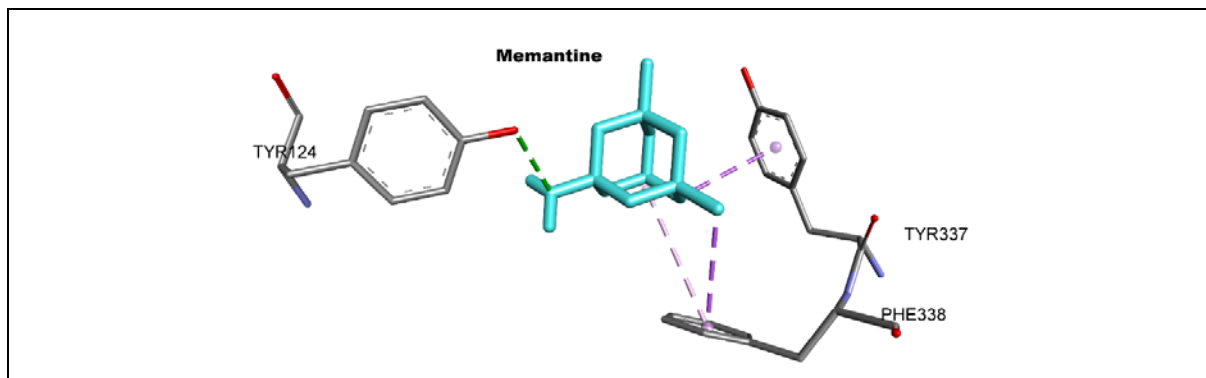


Figure 26 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour memantine

Le **rivastigmine** ($C_{14}H_{22}N_2O_2$; 250,33 g/mol ; [3-[(1S)-1-(diméthylamino) éthyl] phényl] N-éthyl-N-méthylcarbamate), est un médicament de la MA dont sa structure est représentée dans la figure 50, est un composé fonction azote et des fonctions acétone. Le ligand se fixe à l'intérieur de l'enzyme ce qui indique leur poids moléculaire très faible avec un temps de répétition de 80%. Le mode de fixation adopté par cette molécule permet aux groupes azote et alcool et acétone de se intégrer dans une cavité limitée de résidus d'acides aminés représentés par Tyr337, Phe338, Tyr341 par 3 liaisons hydrophobes avec une énergie d'interaction de -7.9 (kcal/mol).

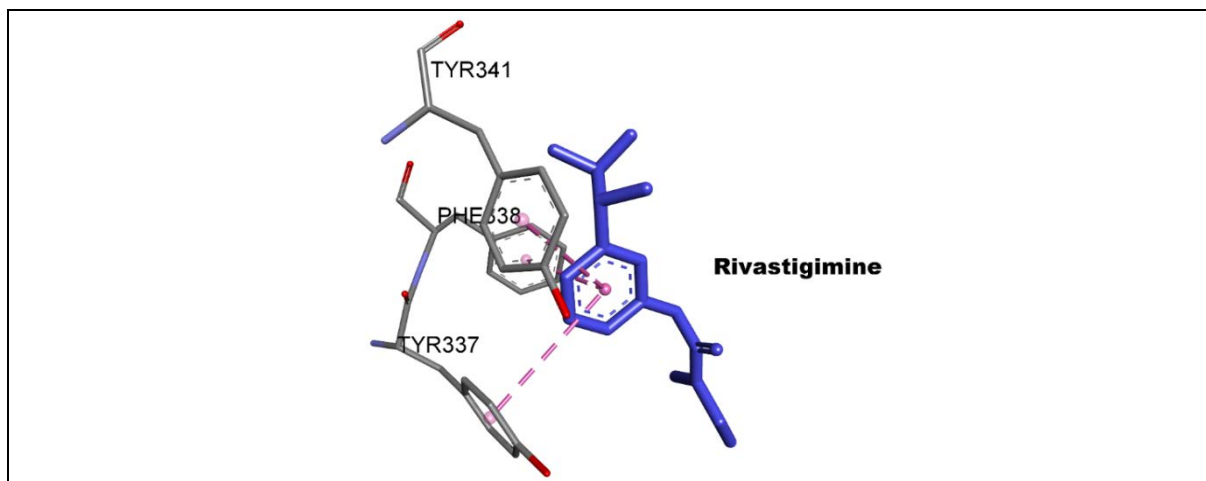


Figure 27 : Représentation de la meilleure position obtenue par Docking pour Rivastigimine

Conclusion

Conclusion

Notre travail avait pour but de nous initier aux outils de la simulation informatique et de développer nos compétences en particulier pour le docking moléculaire par autodock tools et discovery studio afin de contribuer au développement *in silico* est trouver de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'acétylcholinestérase pour arriver à des médicaments plus efficaces contre la maladie d'Alzheimer.

Avant de se lancer dans le travail de recherche, il était indispensable de tester la fiabilité du programme AutoDock vina utilisé dans ce travail. Pour ce la, nous avons fait recours à un test. Le test consiste à analyser visuellement les résultats du docking moléculaire réalisés pour les 25 complexes naturelles AChE-inhibiteurs disponibles dans la PDB et les quatre médicaments disponibles dans le marché et leur énergie d'interaction (ΔG) simulée par vina.

En effet, le test par analyse visuelle montre que les modèles des ligands simulés par Vina sont correctement placés dans le site actif de l'AChE. Dans l'espoir de développer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de l'AChE, nous avons jugé important d'étudier profondément les mécanismes d'inhibition de cette enzyme par quelques inhibiteurs tout en évaluant leur énergie d'interaction.

Pour conclure, compte tenu des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste à l'inhibition de enzymes de l'acetyl cholinestérase par la méthode de Docking moléculaire, il apparaît que le E nerolidol présente une meilleure contribution à l'inhibition ces enzymes presque comme le memantine et en particulier l'enzyme AChE avec une énergie -8.1 Kcal/mol et pourra ralentir la progression de la maladie d'Alzheimer.

En termes de perspectives, ce travail pourra être complété et prolongé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* afin de valider nos résultats théoriques.

*Références
Bibliographiques*

- [1] J. LCummings., G. Cole. Alzheimer disease, *Journal of the American Medical Association*. 2002;287:23.
- [2] Mohamed, T.; Yeung, J. C. K.; Vasefi, M. S.; Beazely, M. A.; Rao, P. P. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22 (14), 4707.2012.
- [3] JJ Hauw., B. Dubois. M.Verny. CH. Duychkaerts. La maladie d'Alzheimer. *Pathologie. Science*. 199; 162 : 162. [3] L Gustafon. Physostigmine ant tetraaminoacridine treatment of Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica* .1993 ; 88 :149.
- [4] Ophélie Kwasnieski.Etude théorique de la réactivation de l'AChE inhibée par le tabun soutenue le 17 décembre 2010.
- [5]Schneider LS, Tariot PN. Emerging drugs for Alzheimer's disease : mechanisms of actions and prospects for cognitive enhancing medications. *Med Clin North Am*; 78 :911-34, 1994.
- [6] Scarpini, E.; Scheltens, P.; Feldman, H. *Lancet Neurol*. 2003, 2, 539–54
- [7] Arendt, T.;Brückner, M. K. *Neurosci. Lett*. 1992, 148, 63–66.
- [8] Aurélien Grosdidier.Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. 12 Feb 2015.
- [9] BILAMI .YACINE., BOUKAHIL MAYA.etude insilico de l'inhibition de butyrylcholinésterase 15/06/2015.
- [10] E. Luders, P. M. Thompson, and A. W. Toga (2010) "The development of the corpus callosum in the healthy human brain." *J. Neurosci.*, 30:10985–10990.
- [11] "Anatomie du cerveau et du système nerveux - Fédération pour la Recherche sur le Cerveau (FRC)." [Online]. Available: <http://www.frcneurodon.org/comprendre-le-cerveau/a-la-decouverte-du-cerveau/anatomie-du-cerveau-et-du-systeme-nerveux/>. [Accessed: 12-Dec-2017].
- [12] D. L. Felten, A. N. Shetty, and F. H. Netter (2011) *Atlas de neurosciences humaines de Netter*. Elsevier Masson.

Références Bibliographiques

[13] P D MacLean. The triune brain in evolution : role in paleocerebral functions. Plenum Press, New York, United States, 1990.

[14] Fiche_cerveau_fonctions.pdf

[15] Pr Jacques Touchon du CHU de Montpellier:
<http://www.alzheimer-montpellier.org/site.html>

[16] Site du gouvernement français:
<http://www.sante.gouv.fr/htm/actu/alzheimer/sommaire.htm>

[17] Dr Serge De NADAI. Comprendre la maladie d'Alzheimer .Hôpital Médico-geriatrique « Le Kem » .Thionville. Le 17/03/2010.

[18] Neuropharmacologie: 8: Démences (Alzheimer) Paul M. Tulkens, Dr Med. Lic. Sc. Biomed., Agr. Ens. Sup.février 2013.

[20] Michigan Ave., Fl. 17, Chicago, IL 60601
L'Alzheimer's Association est une organisation à but non lucratif 501(c)(3). 2021.

[21] Tina Erler. Alzheimer : Déclin cognitif ou modification de la personnalité .Collège Calvin Travail de maturité, Octobre 2018.

[22] Arvanitakis Z et al. Relation of cerebral vessel disease to Alzheimer's disease dementia and cognitive function in elderly people: a cross-sectional study. The Lancet Neurology 2016 : 9 ; 934-43.

[23] Norton S. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. The Lancet Neurology 2014 ; 8 : 788-94.

[24] Lourida I et al. Association of Lifestyle and Genetic Risk With Incidence of Dementia. JAMA 2019;322 : 430-7.

[25] Maitre, M., Klein, C., Mensah-Nyagan A.G. (2017). Mécanismes, facteurs de risques et stratégies thérapeutiques dans la maladie d'Alzheimer. NPG NeurologiePsychiatrie-Gériatrie, 17 : 352-364.

Références Bibliographiques

- [26] Talbert, M., Willoquet, G., Gervais, R. (2011). GPC Guide Pharmacologie Clinique. 7^{ème} édition, Paris. PP: 1227-1240.
- [27] Anand, R.; Gill, K. D. Mahdi, A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology*, 76 Pt A, 27-50. 2014.
- [28] Lamrani Meriem. Etude de l'effet inhibiteur de quelques extraits et molécules sur l'acétylcholinestérase : maladie d'Alzheimer. le : 21/06/2018.
- [29] Cardon N, Vaillant C, Cren P, Gruffat B, Rappold JP, Corbé H (2005), Intoxication aiguë au pesticide organophosphoré et activités des cholinestérases *Annales de Biologie Clinique*. 63, N°3, 329-34,
- [30] Lejus C, Blanloeil Y, Burnat P, Souron R. Les Cholinestérases. *Ann Fr Anesth Reanim* 1998;17:1122-35.
- [32] Biologie Médicale spécialisée. Cholinestérase. [en ligne] <http://www.biomnis.com>. Consulté le [20/04/2015]. Références bibliographiques
- [33] Mirjana B., Colovi. Z Danijela. Krsti. D Tamara. Lazarevi. M Aleksandra. Vesna M Vasi. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*. 2013;11:21.
- [34] Alles GA, Hawes RC (1940) Cholinesterases in the blood of man. *J Biol Chem*, 133, 375-390.
- [35] 13: E. A. Barnard, *the Peripheral Nervous System*, Plenum Press, New York, , p: 201-224, 1974.
- [36] Ophélie Kwasnieski. Etude théorique de la réactivation de l'AChE inhibée par le tabun. 4 mars 2013.
- [37] D.M. Quinn, Acetylcholinesterase - Enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition-states. *Chem Rev*, 87, 955-979, 1987
- [38] P. Taylor and Z. Radic, The cholinesterases: from genes to proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 34, 281-320, 1994.

- [39] I. Silman, and J.L. Sussman, Acetylcholinesterase: 'classical' and 'nonclassical' functions and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol.* 2005, 5, 293-302.
- [40] D.M. Quinn, Acetylcholinesterase - Enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition-states. *Chem Rev*, 87, 955-979, 1987.
- [41] P. Taylor and Z. Radic, The cholinesterases: from genes to proteins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 34, 281-320, 1994.
- [42] Oakes R. S., Clifford A. A., Rayner C. M. The use of supercritical fluids in synthetic organic chemistry, *J. Chem. Soc.*, 1, 2001, 917-941.
- [43] Angus S., Amstron B., de Reuck K. M., 1976. "International thermodynamic table of the fluid state: carbon dioxide", vol. 3, IUPAC, Pergamon Press, Oxford.
- [44] Eckert C. A., Knutson B. L. Molecular charisma in supercritical fluids. *Fluid Phase Equilibria*, 83, 1993, 93-100.
- [45] Luque de Castro M.D., Valcarcel M., Tena M.T., 1994. in *Analytical supercritical fluid extraction*. Springer laboratory, Berlin, p 321.
- [46] Acétylcholinestérase (AChE). 28 avril 2017.
- [56] RCSB PDB : Homepage [En ligne] <http://www.rcsb.org/>
- [57] PubChem [En ligne] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- [58] <http://autodock.scripps.edu/>.
- [59] Trott, O. and A. J. Olson (2010). "AutoDockVina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading." *Journal of computational chemistry* 31(2): 455-461.
- [60] <http://vina.scripps.edu/>.
- [61] Introduction to the Discovery Studio Visualizer
- [62] PreADMET | Prediction of ADME/Tox – Just another BMDRC Sites site [En ligne] <https://preadmet.bmdrc.kr/>.

- [63] SwissADME [En ligne] <http://www.swissadme.ch/>.
- [65] MELLE Attaf Dalila., Résolution du docking moléculaire le prototype API-Dock
- [66] Trouillas P. Chapitre 4 - Modélisation Moléculaire et Biologie. Thèse de doctorat en biophysique. Université de Lille. France. 2009. 17p.
- [67] BOUCHERIT H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molécules. Thèse de magister en biochimie. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 71 p.
- [68] A. Chikhi, Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase Substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université: Biochimie appliquée. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. p: 12 ; 90, 2007.
- [69] Patrick Darveau, mémoire .Étude des propriétés des dendrimères pour le transport de molécules bioactives .université Québec, Canada, 2018.
- [70] Charly EMPEREUR-MOT, thèse de doctorat. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer, ÉCOLE DOCTORALE Sciences des Métiers de l'Ingénieur, (2017).
- [71] Véronique MALLO. Sous-traitance et développement pharmaceutique d'un médicament : application a la conception d'un comprimé a croquer, diplôme d'état de docteur en pharmacie, Collège sciences de la sante université de bordeaux ,2015.
- [72] Wang, J. M.; Wolf, R. M.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry* 2004, 25, 1157-1174.
- [73] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ : Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev* 2001, 46(1-3) :3–26.