



**HAL**  
open science

# Implication des récepteurs sérotoninergiques 5-HT4 et 5-HT6 dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

Johann Le Maître

► **To cite this version:**

Johann Le Maître. Implication des récepteurs sérotoninergiques 5-HT4 et 5-HT6 dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Sciences du Vivant [q-bio]. 2016. dumas-01758187

**HAL Id: dumas-01758187**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01758187v1>**

Submitted on 5 Jun 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
*sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne*

**THÈSE EN VUE DU**  
**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

présentée par

**Johann Le Maître**

né le 02 octobre 1989 à Lorient

---

**Implication des  
récepteurs  
sérotoninergiques 5-HT<sub>4</sub>  
et 5-HT<sub>6</sub> dans le  
traitement de la maladie  
d'Alzheimer**

**Thèse soutenue à Rennes  
le 25 janvier 2016**

devant le jury composé de :

**Michèle DAVID**

MC-HDR, Université de Rennes 1 / *président*

**Nicolas LEVOIN**

Bioinformaticien, Chémo-informaticien, Pharmacologue,  
BIOPROJET / *Rapporteur*

**Ronan BUREAU**

Professeur des Universités, Université de Caen Basse-  
Normandie / *directeur de thèse*

**Alban LEPAILLEUR**

MC-HDR, Université de Caen Basse-Normandie / *co-  
directeur de thèse*



## Remerciements

*Je tiens tout d'abord à exprimer mes remerciements au Professeur Ronan Bureau et au Docteur Alban Lepailleur, qui m'ont proposé de travailler sur ce projet passionnant, et qui me font l'honneur d'être mes directeurs de thèse.*

*Je tiens à remercier très sincèrement le Docteur Michèle David, présidente du jury de thèse, pour sa gentillesse, son soutien et l'enseignement qu'elle m'a prodigué tout au long de mes études.*

*Un grand merci au Docteur Nicolas Levoine qui me fait l'honneur d'être rapporteur lors de ma soutenance de thèse.*

*Je remercie également chaleureusement le Docteur Samir Yahiaoui pour son aide, ses conseils, et sa collaboration très active tout au long de ce passionnant projet.*

*Je tiens à remercier Patrick Dallemagne, Professeur à l'Université des Sciences Pharmaceutiques de Caen Basse-Normandie, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.*

*Je remercie très chaleureusement mon ami de longue date David Le Franc, pour son soutien sans faille et notre amitié à toute épreuve.*

*Je remercie de tout cœur mon amie Mathilde Hignard, pour son éternelle patience, sa gentillesse, son soutien, ainsi qu'à tous nos moments très agréables passés ensemble au cours de ces années de fac.*

*Un immense merci à mes amis de fac; Bruno Cornet, Mikael Charneil, Guillaume Thomazon, Mélanie Coirre, Céline Denoual, Manon Tressel et Julie Castier, pour leur amitié,*

*nos longues journées de révisions à la BU, et nos très longues et très fréquentes soirées tout au long de ces longues années d'études.*

*Un très grand merci à mon ancien binôme Yoann Le Basle, qui m'a supporté pendant les TPs de 2<sup>e</sup> année.*

*Je remercie également ma notaire préférée, Juliette Maupou pour son éternelle bonne humeur et nos interminables marches et revisites de Paris.*

*Je remercie, bien sûr, Isabelle Legrand qui m'a suivi tout au long de mon cursus scolaire et universitaire telle une grande sœur.*

*Je remercie également ma chère consœur et amie franco-belge Hélène Texier, pour son intarissable bonne humeur, et pour tous ces bons moments passés ensemble.*

*A Jean-Lucien Tsobanopoulos que j'ai eu la chance de croiser sur ma route, et qui m'a permis de m'intégrer comme il se doit parmi les normands. A nos longues soirées devant les grands classiques du 7<sup>e</sup> art.*

*Un immense merci à ma tante Angéline Le Luhant, pour m'avoir pris sous son aile dès ma sortie du concours de Pharmacie, pour son enseignement et ses conseils dans le métier de pharmacien d'officine.*

*Egalement un immense merci à Maryvone Lucas qui m'a encadré au cours de mes stages et emplois d'été dans sa pharmacie d'officine, pour son enseignement, ses conseils et tout ce qu'elle m'a apporté au cours de ces années.*

*Je tiens également à remercier Emilie Gué, Clémence Riva (et ses abeilles), Jessica Servager (et ses daphnies), Lina Belkacem, et Jean-Philippe Métivier; Post-doc, doctorante et*

*stagiaires du CERMN pour leur éternelle bonne humeur, et les moments formidables passés en leur compagnie durant la rédaction de ce manuscrit.*

*Un grand merci au Professeur Jean-Pierre Bazureau, au Docteur Ludovic Paquin, et au reste des membres de leur équipe de recherche, pour tout ce qu'ils m'ont apporté lors de mon stage industriel-recherche de 5<sup>e</sup> année, en synthèse organique.*

*Un grand merci également à tous les enseignants des Universités de Rennes et Caen pour leurs savoirs prodigués tout au long de mes études.*

*Je remercie d'avance ceux et celles qui auront eu le courage de lire ce manuscrit jusqu'au bout.*

*A Mr Gilles Torel, pour son amitié, sa gentillesse, et sa joie de vivre. A sa mémoire.*

*Un grand merci à tous les membres de ma famille.*

*Je remercie également ma jeune sœur pour son éternel sens de l'humour.*

*Un grand merci à mes parents et ma grand-mère sans qui je ne serais pas là aujourd'hui et qui ont toujours su me soutenir et m'encourager pendant toutes ces longues années d'études.*

## Liste des principales abréviations

5-HT : Sérotonine

A $\beta$  : Peptide  $\beta$ -amyloïde

AB : Agonistes Biaisés

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

AChEI : Inhibiteur de l'acétylcholinestérase

AC : Adenylate Cyclase

APP : Amyloid precursor protein (protéine précurseur de l'amyloïde)

ARNm : ARN messenger

BDNF : Brain Derived Neurotrophic Factor

BACE1 :  $\beta$ -APP Cleaving Enzym

Cdk5 : Cyclin dependent kinase-5

CK1 : Caséine Kinase 1

CAM kinase : Protéine Ca<sup>2+</sup>/calmoduline-dépendantes

CERMN : Centre d'Etude et de Recherche du Médicament de Normandie

DNF : Dégénérescences neurofibrillaires

DYRK1A : Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A

ERK2 : Extracellular signal-Regulated Kinase

GABA : Acide Gama-Aminobutyrique

GSK-3 : Glycogène Synthase Kinase-3

LTP : Potentialisation à long terme

MA : Maladie d'Alzheimer

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

MTDLs : Multi Target Directed Ligands

MAP kinase : Mitogen-activated protein kinase

MARK : Microtubules Affinity Regulating Kinase

MMT : Multiple Medication Therapy

MCM : Multiple Compound Medication

PK<sub>A</sub> : Protéine kinase A

PLC : Phospholipase C

PS : Plaques séniles

PS (1-2) : Gènes de la préséniline 1 et 2

PDB : Protein Data Bank

RMSD : Root-Mean-Square Deviation

ROS : Reactive oxygen species

RSA : Relation Structure-Activité

Récepteur AMPA : récepteur α-amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-prpionate

RCPG : Récepteurs couplés aux protéines G

Régions CA : Corne d'Ammon (CA1, CA2 et CA3)

TPC : Troubles psycho-comportementaux

SCPD : Symptômes Comportementaux et Psychologiques de la Démence

sdf : Structure Data File

Tau : Tubule Associates Unit

# Table des matières

Remerciements.....	3
Liste des principales abréviations .....	6
Table des matières.....	8
Table des illustrations .....	13
Table des Annexes .....	16
Introduction .....	18
I – La mémoire .....	21
I.1 – Mécanismes de la mémoire .....	21
I.1.1 – Généralités .....	21
I.1.2 – Mécanismes cérébraux .....	22
I.1.2.1 – La mémoire de travail .....	24
I.1.2.2 – La mémoire à long terme .....	25
I.1.2.2.a – La mémoire déclarative.....	25
I.1.2.2.b – La mémoire non déclarative .....	26
I.1.2.2.c – Le processus de mémorisation .....	26
I.1.3 – Mécanismes moléculaires et synaptiques .....	27
I.2 – Potentialisation à long terme, LTP, mémoire et plasticité synaptique .....	28
I.3 – Structures cérébrales impliquées dans la mémoire.....	30
I.3.1 – Le circuit Papez .....	33
I.4 – Les mécanismes neurologiques de la mémoire .....	34
I.4.1 – Le système cholinergique.....	34
I.4.2 – Le système glutamatergique .....	35
II – La maladie d’Alzheimer .....	38
II.1 – Définition .....	38
II.2 – Historique.....	38
II.3 – Epidémiologie.....	39
II.4 – Physiopathologie.....	40

II.4.1 – Evolution clinique.....	40
II.4.2 – Symptomatologie .....	40
II.4.2.1 – Troubles cognitifs .....	41
II.4.2.1.a – Troubles de la mémoire .....	41
II.4.2.1.b – Troubles phasiques .....	41
II.4.2.1.c – Troubles praxiques .....	42
II.4.2.1.d – Troubles gnosiques .....	42
II.4.2.2 – Troubles psycho-comportementaux .....	43
II.4.2.2.a – Troubles du sommeil .....	43
II.5 – Anatomopathologie .....	43
II.6 – Les facteurs de risque .....	45
II.6.1 – Formes familiales .....	45
II.6.2 – Formes sporadiques .....	46
II.6.3 – Autres facteurs de risques .....	46
II.7 – Etiologie .....	47
II.7.1 – Origine génétique : DYRK1A.....	47
II.7.2 – Formation du peptide $\beta$ -amyloïde .....	48
II.7.3 – Hyperphosphorylation de la protéine Tau .....	50
II.7.4 – Autres causes de la dégénérescence neurofibrillaire .....	51
II.7.5 – Conclusion .....	52
II.8 – Les traitements .....	53
II.8.1 – Les traitements actuels .....	53
II.8.2 – Les nouvelles thérapeutiques .....	53
II.8.2.1 – Les agents anti-amyloïdes .....	55
II.8.2.1.a – Immunisation contre $A\beta$ .....	55
II.8.2.1.b – Modulation de l’action des sécrétases.....	56
II.8.2.1.c – Dégradation de l’ $A\beta$ .....	57
II.8.2.1.d – Agents anti-agrégation et anti-fibrillation des oligomères d’ $A\beta$ .....	57

II.8.2.1.e – Statines.....	58
II.8.2.1.f – Inhibition des Receptors for advanced for glycation end products (RAGE) .....	58
II.8.2.2 – Thérapeutiques ciblant la protéine Tau .....	58
II.8.2.3 – Agents neuroprotecteurs .....	59
II.8.2.3.a – Anti-oxydants .....	59
II.8.2.3.b – Anti-inflammatoires .....	61
II.8.2.3.c – Glutamate et neuroprotection .....	62
II.8.2.4 – Approches neuro-restauratrices .....	64
II.8.2.4.a – Facteurs de croissance neurotrophiques .....	64
II.8.2.4.b – Thérapie cellulaire.....	64
II.8.2.5 – Thérapeutiques procholinerigiques .....	64
II.8.2.5.a – Inhibition de l’acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase.....	64
II.8.2.5.b – Agonistes muscariniques.....	65
II.8.2.5.c – Ligands des récepteurs nicotiniques .....	65
II.8.2.6 – Thiazolidinediones et insuline .....	66
II.8.3 – Conclusion .....	66
III – Le système sérotoninergique .....	68
III.1 – Généralités .....	68
III.2 – La biosynthèse de la sérotonine.....	69
III.3 – Les récepteurs sérotoninergiques.....	70
III.4 – Rôles physiologiques et physiopathologiques de la sérotonine .....	71
III.5 – Le récepteur de la sérotonine de type 4 (5-HT4) .....	75
III.5.1 – Historique.....	75
III.5.2 – Voie de signalisation .....	75
III.5.3 – Localisations et rôles physiologiques .....	76
III.5.3.1 – En périphérie .....	76
III.5.3.2 – Au niveau central .....	77
III.5.4 – Rôle du récepteur 5-HT4 dans le métabolisme de l’APP.....	78

III.6 – Le récepteur de la sérotonine de type 6 (5-HT6) .....	79
III.6.1 – Historique.....	79
III.6.2 – Voie de signalisation .....	80
III.6.3 – Localisation et rôle physiologique.....	80
III.7 – Notions d’agonistes biaisés.....	83
IV – Multi target directed ligands (MTDLs) .....	86
IV.1 – Généralités.....	86
IV.2 – Avantages MTDL / thérapie par combinaison.....	88
IV.3 – MTDL et traitement des maladies neurodégénérative.....	89
IV.4 – Exemples.....	90
IV.4.1 – Cas d’un antagoniste 5-HT6/agoniste partiel du récepteur D2, ciblant les symptômes comportementaux et psychologiques de la démence .....	90
IV.4.2 – Cas du Donécopride ; agoniste 5-HT4/inhibiteur de l’acétylcholinestérase (AChEI) dans le traitement de la maladie d’Alzheimer .....	92
IV.4.3 – Conclusion.....	96
V – La modélisation moléculaire .....	100
V.1 – Généralités.....	100
V.2 – Base de données.....	101
V.2.1 – ChEMBLdb .....	101
V.2.2 – La Chimiothèque du CERMN .....	102
V.3 – Espace conformationnel .....	102
V.3.1 – Analyse conformationnelle .....	102
V.3.2 – Dynamique moléculaire .....	104
V.4 – Pharmacophores.....	104
V.5 – Clustering.....	107
V.6 – Docking .....	108
VI – Résultats .....	111
VI.1 – Construction des Pharmacophores tridimensionnels.....	111
VI.1.1 – Pharmacophore à 3 motifs APR .....	112

VI.1.2 – Pharmacophore à 4 motifs AHPR.....	114
VI.2 – Docking .....	115
Conclusion.....	119
Annexes .....	122
Références Bibliographiques .....	125

## Table des illustrations

Figure 1. Les différents types de mémoire. ....	22
Figure 2. Représentation du modèle MNESIS (Modèle NEO-Structural Intersystémique de la mémoire humaine) proposé par Eustache et Desgranges (2008) <sup>14</sup> . ....	24
Figure 3. La mémoire à long terme. ....	25
Figure 4. La transmission synaptique. ....	28
Figure 5. Boucle phonologique. ....	32
Figure 6. Le circuit Papez <sup>43</sup> . ....	33
Figure 7. Interactions de DYRK1A <sup>75</sup> . ....	48
Figure 8. Cascade de la formation du peptide $\beta$ -amyloïde <sup>84</sup> . ....	49
Figure 9. Hyperphosphorylation de la protéine Tau <sup>81</sup> . ....	51
Figure 10. Voies schématiques des événements multifactoriels conduisant à la mort neuronale <sup>84</sup> . ....	52
Figure 11. Stratégies thérapeutiques ciblant la cascade amyloïde et l'hyperphosphorylation de Tau <sup>90</sup> . ....	54
Figure 12. Développement de candidats médicaments dans la maladie d'Alzheimer <sup>92</sup> . ....	55
Figure 13. Structure de la Sérotonine (5-HT). ....	69
Figure 14. Synthèse de la Sérotonine <sup>47</sup> . ....	69
Figure 15. Dégradation de la Sérotonine <sup>47</sup> . ....	70
Figure 16. Transmission sérotoninergique <sup>102</sup> . ....	74
Figure 17. Mécanismes neurochimiques et biochimiques impliqués dans le blocage des récepteurs 5-HT <sub>6</sub> qui sont censés contribuer à l'amélioration cognitive induite par des antagonistes 5-HT <sub>6</sub> <sup>144</sup> . ....	83

Figure 18. Chemins menant à la découverte de nouveaux médicaments : Approche mono-cible (a), Approche multi-cibles (b) <sup>84</sup> .	87
Figure 19. Conception de molécules hybrides. Modes de liaison proposés présentés pour les agonistes partiel du récepteur D2 (A) et les antagonistes du récepteur 5-HT6 (B). Modèles pharmacophores basés sur la structure générée en utilisant des ligands précédents (C). Superposition de modèles de pharmacophores (D). Molécule hybride de Prototype satisfaire le modèle de pharmacophore commune (E) <sup>157</sup> .	92
Figure 20. Structures du Donécopride, donépézil et RS67333 <sup>9</sup> .	93
Figure 21. Intérêt pliotropique de la double action AChEI/agoniste 5-HT4R <sup>9,10</sup> .	94
Figure 22. Effets symptomatiques et curatifs par l'activation de 5-HT4R.....	95
Figure 23. Donécopride positionné dans 5-HT4R (A) et AChE (B). Figure réalisé avec PYMOL <sup>9</sup> .	96
Figure 24. Les principales actions positives des agonistes des récepteurs 5-HT4R et des antagonistes 5-HT6R dans le contexte de la maladie d'Alzheimer <sup>8</sup> .	98
Figure 25. (A) Les fragments structuraux couvrant caractéristiques communes des pharmacophores des antagonistes 5-HT6R. (B) Modèle moléculaire de l'antagoniste dans un complexe avec un récepteur 5-HT6 basé sur un modèle d'homologie 5-HT1 <sup>144</sup> .	106
Figure 26. Exemples de mapping antagonistes 5-HT6 <sup>172</sup> .	107
Figure 27. Molécules de référence, à l'origine du pharmacophore.....	111
Figure 28. Pharmacophores à 3 (gauche), et 4 motifs avec les distances et les angles pour un des pharmacophores. ....	112
Figure 29. Molécules de référence du CERMN: familles 1 (MR33365), et 2 (MR33366). ....	112
Figure 30. Alignement de SB699929 (gauche), et chembl3289978 (droite) sur ce pharmacophore. ....	113
Figure 31. Alignement du Donécopride sur ce pharmacophore.....	114

Figure 32. Alignement de chembl1181599 (gauche), et chembl1210711 (droite) sur ce pharmacophore. ....	115
Figure 33. Représentation 3D du récepteur 5-HT6 avec le ligand MR33368 (orange). ....	116
Figure 34. Docking d'un dérivé du donécopride par représentation 2D (screenshot) et 3D. .	117
Figure 35. Docking de MR33365 et MR33368 sur 5-HT6R.....	117
Équation 1. Equation du nombre de conformations en recherche exhaustive avec N pour le nombre de liaisons rotatoires et $\theta$ pour l'incrément. ....	103
Équation 2. Coefficient de similarité par la méthode de Tanimoto.....	108
Équation 3. Paramètre GH déterminant la qualité du pharmacophore, avec HA/HT correspondant au rapport des actifs dans les hits par rapport au nombre de hits, et (HA/A) correspondant au rapport des actifs dans les hits par rapport au nombre d'actifs dans le jeu de données. . Le paramètre GH varie entre 0 et 1 <sup>163</sup> .....	113
Tableau 1. Les récepteurs sérotoninergiques.....	73

## Table des Annexes

Annexe 1. Structure des clusters APR. ....	122
Annexe 2. Structure des clusters AHPR. ....	122
Annexe 3. Structure des acides aminés .....	123

# Introduction

---

## Introduction

Le vieillissement de la population a pour conséquence d'augmenter de façon importante la prévalence de la maladie d'Alzheimer (MA). Elle affecte aujourd'hui en France près de 850 000 personnes avec, chaque année, 165 000 nouveaux cas et une prévision de 1,2 millions de personnes en 2020 <sup>1</sup>. Compte tenu de l'impact social et économique, cette pathologie devient particulièrement préoccupante. Cette maladie serait la 6<sup>e</sup> cause de mortalité aux Etats-Unis avec 5,4 millions de personnes atteintes <sup>2</sup>. Sur le plan thérapeutique, quatre médicaments sont actuellement disponibles pour le traitement symptomatique de la maladie. Trois médicaments inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, dont les principes actifs sont le donépézil (Aricept<sup>®</sup>, Eisai), la galantamine (Reminyl<sup>®</sup>, Janssen Cilag) et la rivastigmine (Exelon<sup>®</sup>, Novartis), sont prescrits afin de diminuer la dégradation de l'acétylcholine. Un quatrième médicament dont le principe actif est la mémantine (Ebixa<sup>®</sup>, Lundbeck), prescrit à un stade plus sévère de la maladie est un antagoniste non compétitif et d'affinité modérée des récepteurs NMDA <sup>3,4</sup>. Malheureusement, ces quatre médicaments sont considérés comme relativement inefficaces. La maladie d'Alzheimer est un trouble neurodégénératif qui entraîne, progressivement, la perte des fonctions mentales suite à la détérioration du tissu cérébral, conduisant après un stade pré-démontiel à un tableau démentiel <sup>5</sup>. Sa cause exacte est encore inconnue, mais on suppose une susceptibilité génétique majeure. Les gènes impliqués résultent d'une mutation du gène *APP* situé sur le chromosome 21 qui code pour un précurseur de la protéine amyloïde et de mutations des gènes *PS1* et *PS2* situés respectivement sur les chromosomes 14 et 1 <sup>6</sup>. Au niveau des mécanismes cellulaires, cela se traduit par une accumulation de protéines qui entraîne un dysfonctionnement cellulaire, en particulier pour la phosphorylation de la protéine Tau dans les microtubules <sup>7</sup>.

Ce manuscrit met tout d'abord en avant un état des lieux sur les grandes notions, et les différents mécanismes de la mémoire, suivi d'éléments détaillés sur la maladie d'Alzheimer mettant en avant entre autre la physiopathologie, son étiologie ou encore les nouvelles stratégies de traitements en cours de recherche.

Par la suite, il a été mis en avant le rôle et l'intérêt des récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>4</sub> et 5-HT<sub>6</sub> dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, à la fois de façon symptomatique et curative. La conception de MTDLs (Multi-Target Directed Ligands), ciblant à la fois ces deux types de récepteurs représente donc une stratégie innovante dans le traitement de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer qui impliquent des cibles multiples.

Dans le cadre de cette thèse d'exercice, des recherches ont été effectuées sur la conception de pharmacophores afin d'obtenir des MTDLs, ciblant à la fois les récepteurs 5-HT<sub>6</sub>, et les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>, au sein du service de Chémoinformatique du CERMN à l'Université de Caen Basse-Normandie. Ainsi la combinaison de l'activation du récepteur 5-HT<sub>4</sub> et le blocage du récepteur 5-HT<sub>6</sub> pourrait améliorer l'activité thérapeutique dans le traitement contre la maladie d'Alzheimer<sup>8</sup>. Le laboratoire du CERMN a conçu récemment le "Donecopride"; un MTDL, agoniste des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> et inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChEI); candidat médicament dans le traitement curatif de la maladie d'Alzheimer<sup>9,10</sup>.

Ces études doivent être davantage approfondies afin de déterminer de nouvelles cibles et stratégies thérapeutiques s'intéressant aux maladies neurodégénératives.

# Chapitre I – La mémoire

---

# I – La mémoire

## I.1 – Mécanismes de la mémoire

### I.1.1 – Généralités

En psychologie, la mémoire est la faculté d'acquérir, conserver et restituer diverses informations. Il s'agit entre autre de la construction de notre identité. La mémoire ne correspond pas à une entité unique mais à différents sous-systèmes relativement indépendants.

Physiologiquement la mémoire est mise en place par les changements de la capacité de la transmission synaptique d'un neurone à l'autre, résultant d'une activité neuronale antérieure. Ces changements créent en retour de nouvelles voies de transmission de signaux à travers les circuits neuronaux du cerveau, appelées traces de mémoire. Elles sont importantes parce que, une fois établies, elles peuvent être activées par la pensée pour reproduire les souvenirs. L'apprentissage et la mémoire permettent une adaptation permanente de notre cerveau au cours de notre vie. Différents réseaux neuronaux sont impliqués dans les différents types de mémorisation. La meilleure connaissance de ces processus améliore la compréhension de certains troubles mnésiques, et ouvre la voie à des interventions possibles dans l'avenir.

Des défauts de la mémoire en cas de vieillissement normal, ou dû à une pathologie neurodégénérative provoquent une perte d'identité, la perte de notre histoire personnelle ; ce qui rend donc les relations sociales d'autant plus difficiles. L'augmentation de la population vieillissante atteinte de troubles séniles se caractérise par des troubles de la

mémoire, ou la découverte de pathologies neurodégénératives entraînant des altérations mnésiques. Une mise au point de traitements efficaces est aujourd’hui nécessaire.

Des études se sont intéressées aux mécanismes neuronaux impliqués dans la mémoire, que ce soit en condition physiologique ou pathologique. De nombreux systèmes de neurotransmission interviennent dans la régulation et la modulation de la mémoire, comme les systèmes cholinergiques, glutamatergiques, gabaergiques, sérotoninergiques et dopaminergiques. Les thérapeutiques actuelles sont ciblées sur l’inhibition de l’acétylcholinestérase (AChEI), et le blocage des récepteurs glutamatergiques<sup>3,4,11</sup>.

Les modulations du système sérotoninergique jouent un rôle important dans les fonctions mnésiques associées à la maladie d’Alzheimer, notamment en raison de la disposition des voies sérotoninergiques centrales et de la pluralité des récepteurs qui lui permettent de jouer un rôle modulateur sur les systèmes cholinergiques et glutamatergiques.

### 1.1.2 – Mécanismes cérébraux

La mémoire se divise en 3 grandes familles : la mémoire sensorielle, la mémoire à court terme et la mémoire à long terme (fig.1).

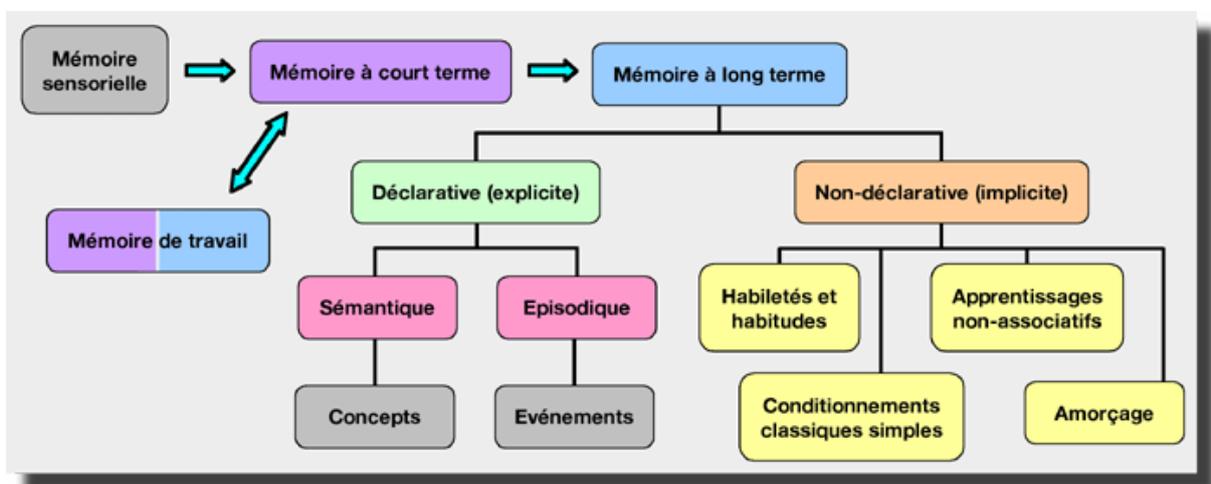


Figure 1. Les différents types de mémoire.

**La mémoire sensorielle** correspond aux mémoires visuelles (m. iconique), auditives (m. échoïque) et olfactives.

**La mémoire à court terme** est un système mnésique de capacité limitée qui permet de maintenir en mémoire une quantité restreinte d'informations, pendant une courte durée (< à quelques dizaines de secondes), dans le but de réaliser une tâche.

**La mémoire à long terme** possède une capacité de stockage très importante, théoriquement illimitée, et permet donc de stocker des informations de manière durable voir définitive.

L'information transite d'abord par la mémoire à court terme avant d'accéder à la mémoire à long terme. Les patients amnésiques souffrent d'une atteinte de la mémoire à long terme, sans altération de la mémoire à court terme, ou inversement.

Dans les années 1970, des recherches se rapportant à la mémoire à court terme et à long terme ont été réalisées séparément, et ont permis de définir de nouveaux modèles structuraux de la mémoire, et ainsi révéler toute sa complexité. En 1974, Baddeley et Hitch remplacent le concept de mémoire à court terme par la mémoire du travail <sup>12</sup>. Celle-ci permet de maintenir temporairement et de manipuler des informations pendant la réalisation de tâches cognitives (compréhension, lecture, apprentissage, raisonnement) <sup>13</sup>.

Le modèle MNESIS (**M**odèle **NEo** **S**tructural **I**nter-**S**ystémique de la mémoire humaine) d'Eustache et Desgranges représente l'organisation hiérarchique et les relations entre les mémoires perceptives, la mémoire sémantique et la mémoire épisodique <sup>14</sup>.

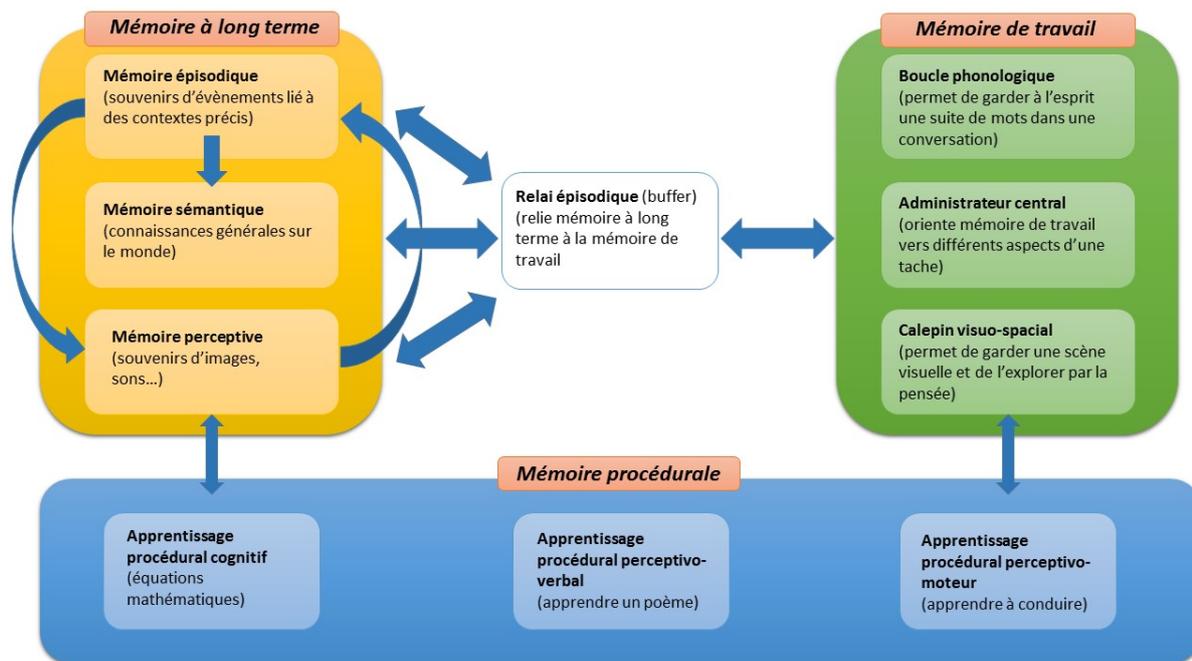


Figure 2. Représentation du modèle MNESIS (Modèle Néo-Structural Intersystémique de la mémoire humaine) proposé par Eustache et Desgranges (2008) <sup>14</sup>.

### I.1.2.1 – La mémoire de travail

La **mémoire de travail** est composée d'un administrateur central ou système exécutif central, ainsi que deux systèmes esclaves (boucle phonologique et le registre visuo-spatial). L'administrateur central est capable d'élaborer des stratégies et de planifier les différentes étapes d'une action, et contrôle ensuite le passage de l'information vers la mémoire à long terme. La boucle phonologique permet de retenir l'information par autorépétition sub-vocale et récapitulation articulatoire (langage). Le registre visuo-spatial permet de maintenir pendant une courte durée des informations visuelles et spatiales ; ce qui permet donc de former et conserver des représentations spatiales. En 2000, Baddely intègre le *buffer*, ou le tampon épisodique à la mémoire de travail (fig.2) <sup>13</sup>. Il s'agit d'un système esclave sous le contrôle de l'administrateur central. Il permet de maintenir temporairement des informations multimodales, c'est-à-dire provenant de différentes sources (verbales, visuelles, spatiales). Son objectif est de stocker des épisodes dans lesquels l'information est

intégrée dans l'espace et le temps. Il a donc un rôle fondamental dans l'encodage et la récupération des informations de la mémoire épisodique.

### I.1.2.2 – La mémoire à long terme

En 1980, R. Squire et M. Zola divisent la mémoire à long terme en deux catégories : la mémoire déclarative (explicite) et la mémoire non déclarative (implicite) <sup>15</sup>.

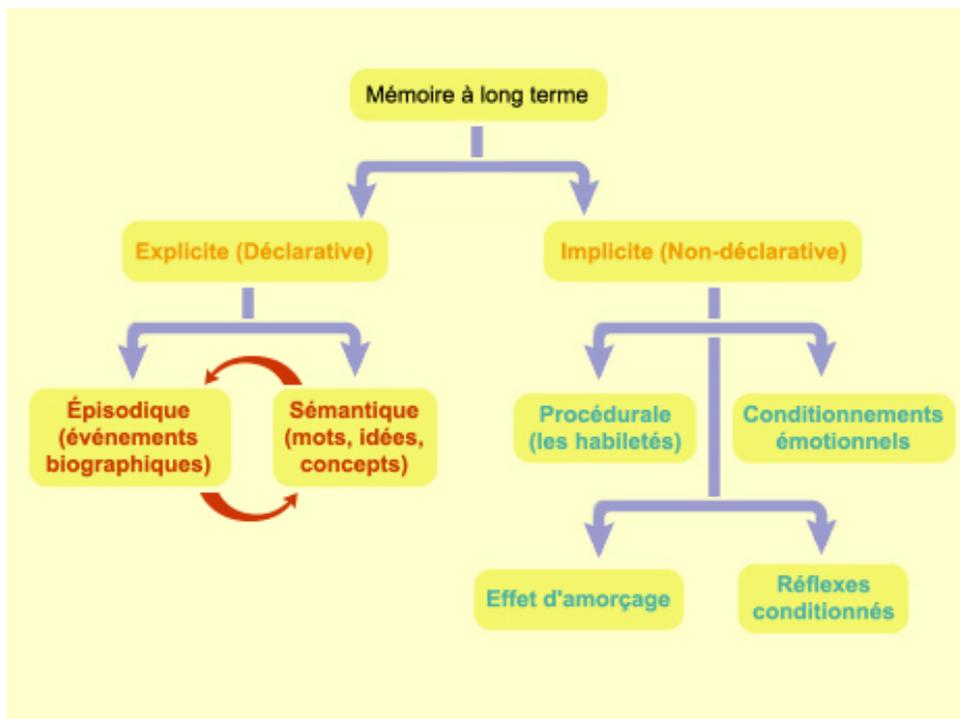


Figure 3. La mémoire à long terme.

#### I.1.2.2.a – La mémoire déclarative

**La mémoire déclarative** correspond à la mémoire des faits et des événements de la vie. Les informations stockées sont accessibles à la conscience (mémoire verbalisable). La mémoire déclarative est elle-même divisée en deux sous catégories qui sont la mémoire épisodique, et la mémoire sémantique (fig.3).

- **La mémoire épisodique** correspond à la mémoire des évènements situés dans un contexte spatio-temporel précis (quoi, où, quand ?) (ex : Concours Pharmacie à Rennes en juin 2008).
- **La mémoire sémantique** correspond à la mémoire des concepts et des connaissances indépendants d'un contexte spatio-temporel. Nous ne savons pas où et quand nous avons appris et acquis ces connaissances (ex : Paris est la capitale de la France).

D'après Tulving, ces deux formes de mémoire fonctionnent conjointement <sup>16,17</sup>.

#### *1.1.2.2.b – La mémoire non déclarative*

**La mémoire non déclarative** est essentiellement constituée de la mémoire procédurale (mémoire des habilités motrices, verbales et cognitives), qui est acquise progressivement, avec de l'entraînement, et qui peut être restituées sans faire référence aux expériences antérieures. C'est une forme de mémoire que nous utilisons sans en avoir conscience (faire ses lacets, démarrer sa voiture, faire du vélo, allumer une cigarette..). La mémoire non déclarative s'exprime également dans le phénomène d'amorçage ou priming qui correspond à la plus grande rapidité et à la facilité de reconnaissance perceptive ou sémantique d'un matériel appris de façon inconsciente.

#### *1.1.2.2.c – Le processus de mémorisation*

La mémorisation est un processus complexe découpé en 3 phases :

- L'acquisition de l'information (encodage), qui correspond au traitement et l'élaboration de l'information pour en faire un souvenir.
- La consolidation, qui correspond au stockage de l'information à plus ou moins long terme. De cette phase dépendra l'oubli de l'information.

- Le rappel correspond à la récupération de l'information stockée dans une région cérébrale précise en fonction du type d'information, et il est donc dépendant de la qualité de stockage ou la rétention de l'information.

Le lobe temporal interne, constitué de l'hippocampe active les différents éléments qui composent le souvenir.

### I.1.3 – Mécanismes moléculaires et synaptiques

Le stockage des souvenirs dans le cerveau est induit par des modifications biochimiques et morphologiques intracellulaires, ainsi qu'à des connexions entre neurones et synapses. La formation de la mémoire entraîne un renforcement des synapses <sup>18,19</sup>.

Lorsque deux neurones sont connectés par une synapse plastique, l'efficacité de la transmission synaptique est fonction de l'activité passée des neurones. Le fait qu'à la suite de stimulations répétées d'un neurone postsynaptique, une stimulation unique du neurone présynaptique entraîne une réponse facilitée et durable. Le blocage expérimental de cette forme de plasticité au niveau de l'hippocampe entraîne des déficits importants d'apprentissage chez l'animal (fig.4) <sup>20</sup>.

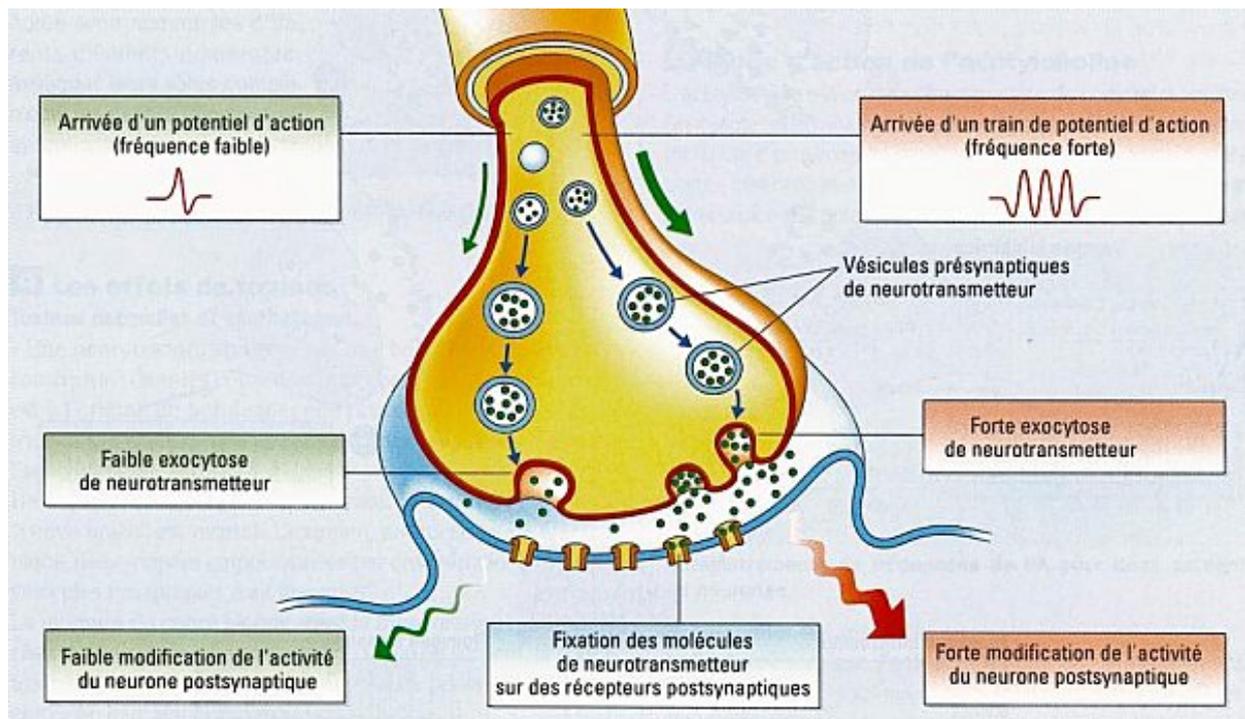


Figure 4. La transmission synaptique.

Ces remaniements synaptiques mettent en jeu l'activation de récepteurs spécifiques, en particulier les récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) du glutamate<sup>21-24</sup>, et les récepteurs opioïdiques, ainsi qu'un ensemble de cascades d'activation de protéines, en particulier les kinases, permettant la conversion de signaux extracellulaires d'activation en changements fonctionnels des connexions neuronales. Le système cholinergique agit en synergie avec la transmission glutamatergique pour déclencher et réguler la plasticité synaptique<sup>22,25-28</sup>.

## I.2 – Potentialisation à long terme, LTP, mémoire et plasticité synaptique

La mémoire est associée aux connexions entre les neurones, autrement dit aux synapses, plutôt qu'à la création de nouveaux neurones. On parle ici de concept de plasticité synaptique. En 1966, Terje Lomo observe le phénomène de potentialisation à long terme dans l'hippocampe de lapin<sup>29</sup>. Une stimulation électrique présynaptique de haute fréquence

entraîne une réponse postsynaptique plus intense à une stimulation présynaptique ultérieure.

La plasticité synaptique est le phénomène de base des processus d'apprentissage et de mémorisation <sup>20,21,28-30</sup>. La stimulation à haute fréquence des neurones présynaptiques glutamatergiques de l'hippocampe des mammifères induit une LTP de durée plus ou moins longue, selon le protocole de stimulation. Le LTP se fait en deux temps <sup>20,23,31</sup> :

- Entrée de calcium via la stimulation du récepteur NMDA. L'influx de calcium via les canaux calciques de la membrane postsynaptique est suivi de la mobilisation du calcium du réticulum endoplasmique par stimulation calcium-dépendante des récepteurs de la ryanodine.
- Le calcium va activer des enzymes sensibles à la calmoduline : Camkinase 2 et AC de type 1. La Cam-kinase phosphoryle les récepteurs AMPA préexistant, ce qui sensibilise à court terme le neurone postsynaptique, 1 à 2 heures expérimentalement (LTP1).

Les potentialisations à plus long terme (LTP2, LTP3) impliquent de plus la stimulation du récepteur mglu couplé à Gq avec stimulation de PLC puis de PK<sub>C</sub>, et un renforcement de l'activité AC via la stimulation de récepteurs β-adrénérgiques et dopaminérgiques D<sub>1</sub> et D<sub>5</sub>, menant à l'activation de PK<sub>A</sub> <sup>20</sup>.

Les protéines kinase Camkinase, PK<sub>C</sub> et PK<sub>A</sub> associés à des MAP kinases, concourent à l'activation de facteurs de transcription qui stimulent les gènes codant de nombreuses protéines, récepteurs de neuromédiateurs qui vont renforcer la sensibilité neuronale <sup>20,21,23</sup>, et facteur de croissance comme le BDNF (brain derived neurotrophic factor) <sup>20,32</sup> qui vont favoriser la croissance dendritique permettant l'établissement de nouvelles synapses.

### I.3 – Structures cérébrales impliquées dans la mémoire

La mémoire déclarative (explicite) est permise par le système limbique, contrairement à la mémoire non déclarative (implicite) qui fait plutôt appel aux ganglions de la base et au cervelet. Le traitement initial des données pour la mise en mémoire s'effectue via des circuits fonctionnels (système limbique, ganglions de la base). Le concept de conservation des données mémorisées en une ou plusieurs zones précises, selon la nature de l'information, n'est pas totalement vérifié.

Le système limbique détient le centre des émotions, jouant un rôle très important dans le comportement, dans diverses émotions telles que l'agressivité, la peur, le plaisir, ainsi que la formation de la mémoire. Ses principales composantes sont les structures corticales et subcorticales suivantes :

- L'hippocampe, impliqué dans la formation de la mémoire à long terme.
- L'amygdale, impliquée dans l'agressivité et la peur.
- Le gyrus cingulaire, permettant la communication entre les différentes régions du système limbique. Il constitue une partie du circuit de Papez.
- Le fornix, permettant le lien entre l'hippocampe et les corps mamillaires.
- L'hypothalamus

Il est donc une étape obligatoire pour la mise en mémoire à long terme des informations.

Les déficits mnésiques liés à des lésions de l'hippocampe sont spécifiques de la mémoire déclarative. Les structures corticales associées à l'hippocampe sont les cortex périrhinal, parahippocampe et entorhinal. L'hippocampe n'est pas le lieu de stockage définitif de la mémoire. Le stockage permanent se fait dans le néocortex <sup>15,33,34</sup>.

L'hippocampe permet la création d'images mentales, et joue un rôle fondamental dans la mémoire spatiale <sup>32</sup>.

L'amygdale (extrémité antérieure de l'hippocampe) joue un rôle dans la charge affective liée aux souvenirs et à l'apprentissage, motivé par la peur <sup>35</sup>.

Les corps mamillaires, noyaux antérieurs et dorso-médian du thalamus sont impliqués dans divers aspects de l'apprentissage et de la mémoire. La lésion des corps mamillaires induit amnésie et syndrome de Korsakoff <sup>36</sup>.

Les noyaux antérieurs du thalamus sont en relation avec les corps mamillaires, les noyaux dorso-médian, l'amygdale et le lobe temporal. Si lésion de ces noyaux, on observe des déficits sévères de la mémoire, une amnésie antérograde, et troubles dans les tâches de reconnaissances.

Une partie des noyaux cholinergiques, trouvant leur origine au niveau du septum médian, et se projetant au niveau de l'hippocampe, est considérée comme une voie majeure des processus de mémorisation <sup>32</sup>.

La lésion du gyrus cingulaire, impliqué dans l'impulsion motrice, provoque un déficit de l'attention pouvant perturber l'enregistrement des souvenirs.

La base du cerveau antérieur (ou télencéphale ventral) est la source principale de l'innervation cholinergique <sup>37,38</sup>. Ce sont les noyaux du septum médian et la bande diagonale de Broca qui se projettent au niveau de l'hippocampe via le fornix et le noyau basal de Meynert qui sont à l'origine de l'innervation cholinergique du cortex frontal, pariétal et temporal. La maladie d'Alzheimer est le résultat de la neurodégénérescence de ces

structures<sup>39</sup>. Cela prouve l'implication du cerveau antérieur basal dans certains processus de mémorisation.

Les ganglions de la base (noyaux caudés, putamen, globus pallidus, pallidum ventral, noyaux accubens et noyaux sous thalamiques) sont impliqués dans l'apprentissage procédural<sup>40</sup>.

Quant à lui, le cervelet contrôle les mouvements coordonnés, les apprentissages moteurs et procéduraux, ainsi que la mémoire de travail (boucle phonologique) (fig.5)<sup>41,42</sup>.

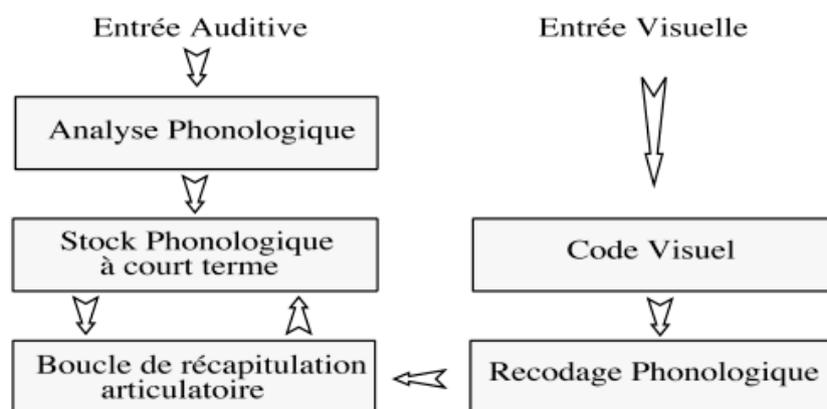


Figure 5. Boucle phonologique.

Les cortex entorhinal, perirhinal et parahippocampique forment avec l'hippocampe les lobes temporaux médians. Ils sont impliqués dans la reconnaissance visuelle, et dans le rôle de la consolidation de la mémoire déclarative et dans le stockage temporaire des souvenirs<sup>15,30,33</sup>.

Le cortex préfrontal retient les informations nécessaires à des raisonnements en cours. Il joue un rôle important dans les tâches faisant appel à la mémoire de travail<sup>43</sup>.

Le néocortex joue un rôle dans le stockage des souvenirs de manière définitive<sup>44</sup>.

Les lobes temporaux jouent à leur tour un rôle dans le stockage temporaire de l'information, mais il existe un transfert des événements anciens dans les aires où l'information a été initialement traitée (cortex visuel, auditif, tactile...).

### I.3.1 – Le circuit Papez

Le circuit Papez est un ensemble de structures nerveuses du cerveau impliquées dans le contrôle des émotions. Celui-ci a fait valoir que les messages sensoriels concernant les stimuli émotionnels qui arrivent au thalamus sont ensuite dirigés à la fois vers le cortex (courant de pensée) et l'hypothalamus (flux de sentiment) <sup>43</sup>. Une série de connexions ont été proposée à partir de l'hypothalamus antérieur vers le thalamus (1) et sur le cortex cingulaire (2). Les expériences émotionnelles ou sentiments se produisent lorsque le cortex cingulaire intègre les signaux de l'hypothalamus avec les informations du cortex sensoriel. La sortie du cortex cingulaire à l'hippocampe (3), puis à l'hypothalamus (4) permet un contrôle de haut en bas cortical de réponses émotionnelles (fig.6).

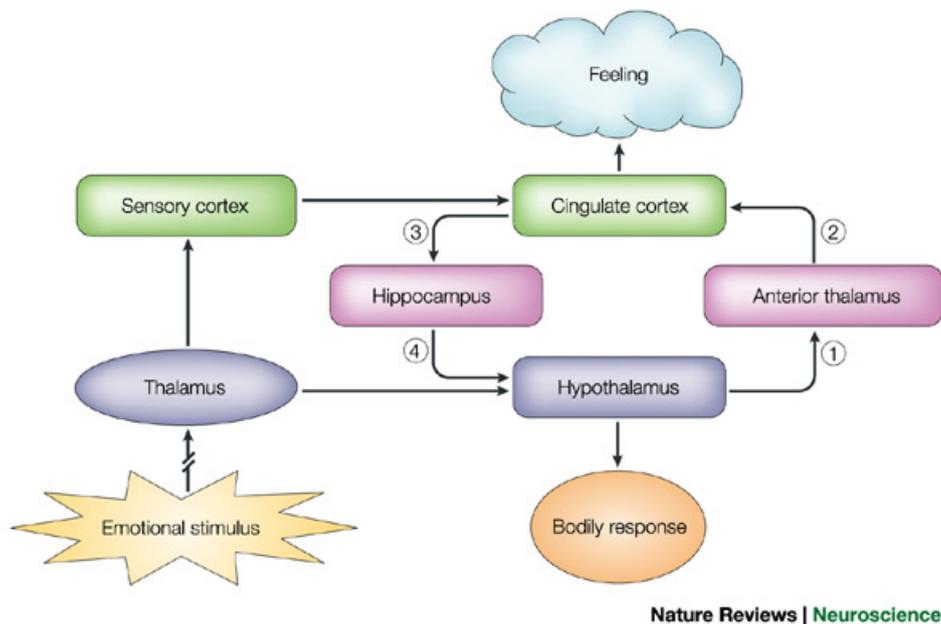


Figure 6. Le circuit Papez <sup>43</sup>.

Le circuit Papez, dont la lésion provoque souvent des troubles de la mémoire, en particulier un syndrome de Korsakoff (caractéristique d'une atteinte bilatérale des corps mamillaires chez les patients alcooliques), est un ensemble de structures nerveuses du cerveau impliquées dans le contrôle des émotions.

Il est décrit comme une série de connexion entre 4 principales structures :

- Région septale, en rapport avec la structure de l'hippocampe
- L'amygdale
- La substance réticulée du tegmentum mésencéphalique
- Différentes zones des lobes frontaux et temporaux
- Le gyrus cingulaire

#### I.4 – Les mécanismes neurologiques de la mémoire

Les grands systèmes de neurotransmetteurs impliqués dans la mémoire sont les systèmes cholinergiques et glutamatergiques<sup>45,46</sup>.

##### I.4.1 – Le système cholinergique

Les transmissions cholinergiques sont assurées par l'acétylcholine (ACh), ester acétique de la choline. L'acétylcholine a été le premier neuromédiateur caractérisé dès le début du XX<sup>e</sup> siècle par ses effets périphériques, mais c'est aussi un neuromédiateur central important<sup>47</sup>.

Une diminution importante de l'activité choline acétyltransferase corticale induit un déficit cognitif sévère. De nombreuses études ont démontré que le blocage des récepteurs muscariniques par des antagonistes tels que l'atropine ou la scopolamine entraînait un déficit de performance d'acquisition dans de nombreux domaines d'apprentissage. Les agonistes des récepteurs cholinergiques et inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEI) sont capables de contrebalancer les déficits d'apprentissage observés dans ces modèles d'hypofonctionnements cholinergiques, mais également ceux liés au vieillissement normal.

Les agonistes des récepteurs nicotiques améliorent des processus cognitifs et la mémoire de travail <sup>48</sup>.

Les voies cholinergiques présentent un grand nombre de terminaisons nerveuses au niveau de l'hippocampe et du cortex, qui sont les deux structures très impliquées dans les processus mnésiques. Des pertes de neurones sérotoninergiques et noradrénergiques, ainsi que des baisses de concentrations de dopamine au niveau des zones corticales, ou de glutamate, de noradrénaline et sérotonine (5-HT) au niveau de l'hippocampe ont été observées. Le système cholinergique joue un rôle essentiel dans les processus mnésiques comme l'acquisition et la consolidation. Au niveau de l'hippocampe, l'ACh dépolarise les neurones pyramidaux en bloquant les canaux potassiques <sup>26</sup>, diminuant l'inhibition dans l'hippocampe en agissant sur les interneurones gabaergiques, et entraîne une up régulation des récepteurs NMDA <sup>22,28</sup>.

Le système cholinergique (muscarinique, nicotinique) agit en synergie avec la terminaison glutamatergique pour provoquer et réguler la plasticité synaptique.

#### 1.4.2 – Le système glutamatergique

Le glutamate, forme ionisé de l'acide glutamique, est le principal neuromédiateur excitateur du système nerveux central, alors que le GABA, acide  $\gamma$ -aminobutyrique, est le principal médiateur inhibiteur. Un équilibre des deux transmissions est garant du maintien des fonctions du système nerveux central, les effets inhibiteurs du GABA contrebalançant les effets excitateurs du glutamate. Les deux neuromédiateurs agissent sur des récepteurs canaux et sur des récepteurs couplés aux protéines G, RCPG.

Les récepteurs canaux du glutamate (NMDA, AMPA, kaïnate ou KAR), à perméabilité cationique, ou récepteurs ionotropes, interviennent dans le développement des synapses et

les phénomènes de mémorisation et d'apprentissage. Leur stimulation excessive entraîne la mort neuronale. Ceci permet d'envisager l'utilisation d'agonistes dans le traitement des troubles de la mémoire, et d'antagonistes dans le traitement des dégénérescences neurofibrillaires, telle que la mémantine (Ebixa<sup>®</sup>, Lundbeck)<sup>3,4</sup>.

Les RCPG du glutamate (mglu1 à mglu8), ou récepteurs métabotropes, ont un rôle modulateur du fonctionnement neuronal.

Une forte densité de récepteurs NMDA intervenant dans le processus d'apprentissage, est retrouvée au niveau de l'hippocampe et du cortex<sup>24</sup>.

L'induction de la plasticité synaptique (LTP) est provoquée par l'action du glutamate sur les sous sites des récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA. La plasticité NMDA-dépendante a été démontrée dans les synapses de l'hippocampe. Son mécanisme a été étudié dans la région CA1<sup>21,49</sup>.

Les antagonistes des récepteurs glutamatergiques provoquent des déficits dans différents tests de mémorisation chez le rongeur, alors que les agonistes ont un rôle bénéfique dans le processus d'apprentissage et de mémoire chez l'animal<sup>23</sup>.

# Chapitre II – La maladie d'Alzheimer

---

## II – La maladie d’Alzheimer

### II.1 – Définition

La maladie d’Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative multifactorielle dépendant de l’âge, qui se traduit par une diminution progressive et irréversible des fonctions mentales et par une perte progressive de la mémoire et des principales fonctions cognitives retentissant sur les capacités fonctionnelles et sociales.

La maladie d’Alzheimer est la cause principale de syndrome démentiel, et en représente au moins 70% des cas <sup>50</sup>. Elle est définie cliniquement par l’association de troubles cognitifs et comportementaux caractérisant un syndrome démentiel caractérisé par l’existence d’une perte neuronale, de plaques amyloïdes et de dégénérescences neurofibrillaires.

Cette maladie est le plus souvent évolutive. Les signes précoces vont se traduire par des troubles de la mémoire portant sur la mémoire à court terme. Ces troubles cognitifs vont progressivement s’aggraver, et laisser place à l’apparition d’autres perturbations cognitives comme le langage, praxie (fonctions instrumentale), gnosie, des troubles de l’organisation et de la programmation (fonctions exécutrices), ainsi que des troubles psycho-comportementaux suffisamment sévères pour retentir sur les activités de la vie quotidienne.

### II.2 – Historique

C’est en 1906 qu’un neuropathologiste allemand, Aloïs Alzheimer, décrit les altérations anatomiques observées, post-mortem, sur le cerveau d’une malade de 51 ans (Auguste Deter), atteinte de démence, ainsi que la première histologie des plaques séniles et des dégénérescences neurofibrillaires. Le terme de « maladie d’Alzheimer » fut

officiellement proposé par le psychiatre Emile Kraepelin en 1910<sup>51</sup>. D'étiologie inconnue, la maladie d'Alzheimer est caractérisée par une perte neuronale, une déplétion cérébrale en acétylcholine et l'association de deux types de lésions anatomopathologiques, constituées par les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires.

L'altération de la transmission cholinergique centrale, démontrée en 1976, a ouvert la voie aux premières approches thérapeutiques. Dès 1984, Glenner et Wong ont démontré que le principal constituant des plaques séniles était un peptide nommé A $\beta$  (ou  $\beta$ -amyloïde). Son précurseur, appelé APP (Amyloid Precursor Protein), fut identifié en 1987. L'année suivante, l'équipe de Goedert mit en évidence le rôle essentiel de la protéine Tau dans les dégénérescences neurofibrillaires<sup>52</sup>.

### II.3 – Epidémiologie

La maladie d'Alzheimer affecte aujourd'hui près de 25 millions de personnes dans le monde dont 5,3 millions en Europe. En France près de 870 000 personnes sont atteintes avec, chaque année, 220 000 nouveaux cas et une prévision de 1,2 millions de personnes en 2020<sup>1</sup>, et 2,2 millions en 2040. Compte tenu de l'impact social et économique, cette pathologie devient particulièrement préoccupante. Cette maladie serait la 6<sup>e</sup> cause de mortalité aux Etats-Unis avec 5,4 millions de personnes atteintes. Si aucun traitement pour prévenir, retarder ou arrêter la progression de la maladie n'est trouvé, le nombre de cas passera à 13,5 millions en 2050 aux Etats-Unis<sup>2,53</sup>, et à 115,4 millions dans le monde selon l'Association Alzheimer.

Si la maladie touche le plus souvent la personne âgée, elle peut survenir plus tôt, avant 60 ans. On évalue à près de 20 000 le nombre de patients souffrant d'une forme à début précoce. L'âge moyen où le diagnostic de la maladie est posé est de 68,7 ans (+/- 7 ans)<sup>54</sup>.

En France, on estime à la moitié le nombre de patients diagnostiqués, et donc sous traitement <sup>55</sup>.

L'analyse neuropathologique de cerveaux de sujet décédés de toute autre cause montre qu'à l'âge de 47 ans, la moitié des cerveaux présente déjà des dégénérescences neurofibrillaires.

## II.4 – Physiopathologie

### II.4.1 – Evolution clinique

L'installation de la pathologie se déroule en 3 phases.

- Phase préclinique, insidieuse, correspondant à la constitution progressive des lésions cérébrales ; cette phase initiale, cliniquement muette dure entre 10 et 25 ans.
- Phase pré-démentielle, dominée par des troubles mnésiques accompagnés peu à peu de déficits cognitifs, voire de troubles comportementaux.
- Phase démentielle, dans laquelle la désorientation temporo-spatiale s'installe, accompagnée de troubles psycho-comportementaux et d'une perte progressive de l'autonomie personnelle.

### II.4.2 – Symptomatologie

L'atteinte de la mémoire est une constante de la maladie et constitue le principal motif de consultation. Chez les patients atteints, l'amnésie concerne surtout les événements survenus après le début de la maladie (amnésie antérograde) ; à un stade plus avancé, il apparaît une amnésie rétrograde. Les troubles cognitifs se traduisent par une aphasie (perte du langage), une apraxie (perte de stratégie de mouvements), et une agnosie optique (perte de la reconnaissance visuelle).

### **II.4.2.1 – Troubles cognitifs**

#### *II.4.2.1.a – Troubles de la mémoire*

Le symptôme révélateur de la maladie d'Alzheimer est le trouble, voire la perte de la mémoire. Les troubles mnésiques précoces observés lors de la MA concerne la mémoire épisodique<sup>56,57</sup>. Les patients atteints de la MA sont capables de restituer des souvenirs anciens, la phase de rappel du processus de mémorisation ne semble pas être altéré. Les patients sont incapables de restituer des souvenirs récents et de mémoriser de nouvelles informations. Cela est dû à une altération de la phase de consolidation<sup>57</sup>, ainsi qu'une altération de la mémoire de travail<sup>58</sup>.

Les déficits de mémoire de travail sont liés à un déficit d'acquisition de nouvelles informations, car cette mémoire est impliquée dans la phase de mémorisation. Ce déficit est conduit par un dysfonctionnement de l'administrateur central ou du *buffer* épisodique voire des deux composantes<sup>57</sup>.

Dans un second temps, on a un trouble de la mémoire sémantique<sup>59</sup>, alors que la mémoire procédurale reste longtemps conservée.

#### *II.4.2.1.b – Troubles phasiques*

Les troubles du langage s'installent progressivement, se caractérisant par un manque de mots. Le malade participe de moins en moins aux conversations. Des actes bénins de la vie quotidienne deviennent de plus en plus difficiles à réaliser<sup>60</sup>.

L'écriture est marquée par une dysorthographe, avec une écriture de type phonétique. Par contre la lecture reste plus longtemps conservée.

A un stade plus avancé, l'aphasie devient globale. Le langage comme l'écriture deviennent complètement désorganisés. Le malade parle et lit de moins en moins, et sa compréhension devient de plus en plus limitée.

#### *II.4.2.1.c – Troubles praxiques*

Il existe trois types d'apraxie <sup>61</sup> :

- L'apraxie du Limb-kinetic : Perte de dextérité de la main et des doigts résultant de l'incapacité de se connecter ou d'isoler les mouvements individuels.
- L'apraxie idéomotrice : Trouble de mouvement orienté vers un but. Le patient sait ce qu'il faut faire mais pas comment le faire. Perturbation de la synchronisation, du séquençage et l'organisation spatiale de mouvement gestuel.
- L'apraxie idéatoire : Elle touche la capacité à manipuler des objets. Il s'agit typiquement d'une incapacité à se représenter mentalement la suite de gestes à réaliser pour effectuer une action. Il est ainsi très difficile pour une personne en souffrance, d'insérer une clef dans une serrure ou d'éplucher un fruit. Les gestes sont maladroits et confus.

#### *II.4.2.1.d – Troubles gnosiques*

Les troubles gnosiques sont essentiellement visuels dans le cas de la maladie d'Alzheimer. Ils correspondent à une incapacité de reconnaissance visuelle causée par une lésion au niveau du lobe occipital et des aires associatives visuelles. Les malades sont incapables de reconnaître des objets, des images, puis même des visages familiers (prosopagnosie). Il existe aussi des troubles de la désignation des parties du corps et de son propre visage sur une photographie.

#### II.4.2.2 – Troubles psycho-comportementaux

Les troubles psycho-comportementaux (TPC) font partie intégrante de la démence. Ils surviennent à un stade variable de la maladie d'Alzheimer et sont, par définition, révélateur d'autres démences<sup>62,63</sup>. Ces troubles sont évalués selon une échelle, qui est actuellement le Neuropsychiatric inventory<sup>64</sup>. Cette échelle est basée sur l'interrogatoire de l'aidant. Elle analyse les 12 symptômes comportementaux et psychologiques de la démence (SCPD) suivants : hallucinations, idées délirantes, dépression, anxiété, agitation, agressivité, euphorie, apathie, instabilité de l'humeur (irritabilité), comportements moteurs aberrant, troubles de l'appétit et du sommeil. Cette échelle évalue la fréquence des troubles, leur sévérité et le retentissement sur l'aidant. Le score total est la somme des scores de chaque domaine, et varie de 0 à 144. Un score supérieur à 24 est considéré comme pathologique.

##### *II.4.2.2.a – Troubles du sommeil*

Les patients Alzheimer rencontrent régulièrement des perturbations du rythme veille-sommeil. Ces troubles sont également une cause majeure de mésusage de médicaments psychotropes (benzodiazépines, neuroleptiques, anticholinergiques...) <sup>65</sup>.

Les malades présentent fréquemment une impatience et une agitation nocturne, suivies d'une somnolence diurne et d'un ralentissement psychomoteur. Les troubles du sommeil et du comportement sont la conséquence d'un dysfonctionnement des rythmes biologiques endogènes, de leur décalage de phase avec les synchroniseurs du milieu extérieur, ainsi qu'une diminution de l'amplitude des pics sécrétoire de mélatonine.

#### II.5 – Anatomopathologie

Classiquement, deux types de lésions caractérisent la maladie d'Alzheimer.

- Les plaques séniles (PS), dans la localisation est extracellulaire (également appelées plaques amyloïdes, ou plaques neuritiques).
- Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF), intraneuronales <sup>5</sup>.

Ces lésions sont associées à un processus inflammatoire (gliose), impliquant les astrocytes et les cellules microgliales avoisinantes. Les mécanismes moléculaires de la mort neuronale dans la MA ne sont pas clairement identifiés.

Les plaques séniles sont des agrégats extracellulaires dont le composant majoritaire est le peptide amyloïde (A $\beta$ ), normalement présent dans le tissu cérébral humain. Ceux-ci, de par leur accumulation (ou neurodégénérescence neurofibrillaire) induisent une altération au niveau de la formation de l'hippocampe, ainsi une perte massive des cellules neuronales et des épines dendritiques. La maladie provoque donc une altération de la plasticité synaptique, et une neurodégénérescence globale de plusieurs systèmes de neurotransmetteurs est retrouvée au niveau du cortex entorhinal et des aires CA1, CA2 et CA3 de l'hippocampe <sup>57,66</sup>.

Deux principales formes monomériques de peptides amyloïdes se distinguent par le nombre d'acides aminés constitutifs (A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42): la forme A $\beta$ 42 correspond à l'espèce prédominante; elle est considérée plus toxique que le peptide A $\beta$ 40. La forme A $\beta$ 42 est plus sujette à l'agrégation que la forme plus courte (A $\beta$ 40), et moins hydrophobe <sup>67</sup>. Le dépôt à long terme du peptide A $\beta$ 42 induit la formation de plaques toxiques, responsables des symptômes et de la progression de la maladie. Le dépôt de peptides A $\beta$  est retrouvé dans le cortex des patients âgés asymptomatiques, sans qu'il y ait de DNF. Les plaques séniles envahissent progressivement la substance grise cérébrale <sup>68</sup>. Il est à noter que les dépôts tissulaires de substances amyloïdes ne sont pas spécifiques de la MA, mais sont aussi

impliquées dans d'autres affections : l'amyloïdose des îlots de Langherans (diabète de type 2), l'amyloïdose A $\beta$ 2M des hémodialysés ( $\beta$ -2 micro globuline), l'amyloïdose systémique AA (protéine sérique amyloïde A)...

Les DNF sont des accumulations intraneuronales d'une protéine physiologique intervenant dans la polymérisation des neurotubules : la protéine Tau (Tubule associated unit). Au cours de la maladie d'Alzheimer, il s'agit d'une protéine anormalement phosphorylée. Les amas sont décelés dans les neurones en dégénérescence et se présentent sous la forme de filaments pathologiques qui s'associent en paires de filaments hélicoïdaux.

## II.6 – Les facteurs de risque

La maladie d'Alzheimer résulte de l'intervention de facteurs génétiques et environnementaux. A côté des formes dites familiales, peu fréquentes et à développement précoce lié à une transmission autosomique dominante, sont le plus souvent observées les formes qualifiées de sporadiques et dont la symptomatologie n'apparaît que tardivement.

### II.6.1 – Formes familiales

Les formes génétiques de la maladie, sont rares et apparaissent parfois chez des sujets de moins de 25 ans, avec une évolution rapide. Trois principaux gènes faisant l'objet de mutation ont été identifiés<sup>69</sup> :

- Gène de la protéine APP (chromosome 21) : plus d'une vingtaine de mutations portant sur le gène de l'APP ont été décrites ;
- Gène de la préséniline 1 (PS1) (chromosome 14) : les mutations sur le gène PS1 semblent expliquer la majorité des formes autosomiques dominantes ; elles contribuent à l'augmentation relative de la production de peptide A $\beta$ 42 ;

- Gène de la préséniline 2 (PS2) (chromosome 1) : le lien exact entre les mutations observées sur ce gène et la MA n'a pas été clairement défini <sup>70</sup>.

#### II.6.2 – Formes sporadiques

Les facteurs de risque ne sont qu'incomplètement connus. L'âge est considéré comme le paramètre le plus important, puisqu'au-delà de 65 ans, l'incidence de la maladie est pratiquement multipliée par deux, par tranche de 5 ans <sup>71</sup>.

C'est en 1993 que fut suggérée l'implication du gène codant pour l'apolipoprotéine E (ApoE) dans la maladie <sup>72</sup>.

#### II.6.3 – Autres facteurs de risques

D'autres facteurs sont considérés risqués <sup>73</sup> :

- Les facteurs cardiovasculaires tels que l'hypertension artérielle ou l'hypercholestérolémie.
- Le diabète
- Un syndrome dépressif, mais il est encore difficile de savoir s'il s'agit d'un facteur de risque ou d'un symptôme précoce de la maladie d'Alzheimer.
- Un traumatisme crânien.
- L'obésité.
- Faible niveau d'éducation.
- Alcool

A l'inverse, d'autres facteurs sont considérés comme protecteurs :

- Nicotine (patch).
- Antioxydants (vitamine E) et acide gras polyinsaturés.

- Pratique d'activités physiques et intellectuelles.
- Un niveau élevé d'éducation, afin de disposer d'une plus grande réserve cognitive et ainsi retarder les symptômes des premiers stades.
- Vitamines B6,B9 (folates) et B12.
- Un traitement anti-inflammatoire chronique.

## II.7 – Etiologie

Les caractéristiques pathologiques principales de la maladie d'Alzheimer sont constituées de deux types d'agrégats protéiques <sup>5</sup> :

- Plaques extracellulaires de protéines  $\beta$ -amyloïdes
- Dépôts neurofibrillaires intracellulaires (DNF)

### II.7.1 – Origine génétique : DYRK1A

La surexpression de DYRK1A chez les malades atteints du syndrome de Down (trisomie 21) <sup>74</sup> peut contribuer à l'apparition précoce de la dégénérescence neurofibrillaire par l'hyperphosphorylation de la protéine Tau. La phosphorylation de la protéine Tau induite par DYRK1A réduit l'activité biologique de la protéine, et favorise son auto-agrégation, la formation de fibrilles, résultant en une activité réduite à stimuler l'assemblage des microtubules <sup>6,74-81</sup>. De plus, la phosphorylation accrue de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) <sup>82,83</sup> par la surexpression DYRK1A facilite la voie amyloïdogénique par le clivage de APP, conduisant à la formation des résidus A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42 ( $\beta$ -amyloïdose cérébrale) <sup>6,74,75,77</sup>.

DYRK1A (Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A) est une enzyme qui chez l'homme est codée par le gène de DYRK1A, membre de la famille des kinases à double

spécificité. Elle catalyse son autophosphorylation sur les résidus sérine / thréonine et tyrosine. Cette enzyme a un rôle important dans la prolifération des cellules de régulation de la voie de signalisation et peut être impliquée dans le développement du cerveau (fig.7) <sup>6</sup>.

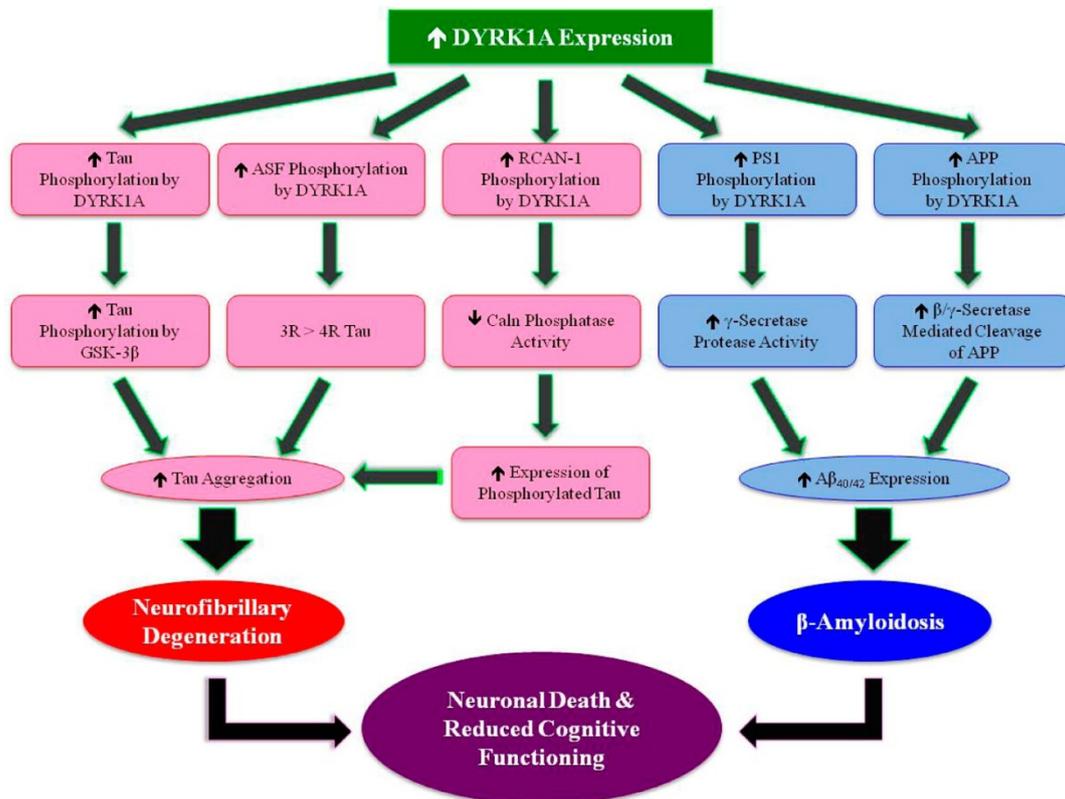


Figure 7. Interactions de DYRK1A <sup>75</sup>.

## II.7.2 – Formation du peptide $\beta$ -amyloïde

Les plaques séniles responsables de la perte des fonctions cognitives, sont essentiellement composées de fibrilles de peptides  $\beta$ -amyloïdes ( $A\beta$ ) entourés de neurites dystrophiques, des astrocytes réactifs et une activation de la microglie. Les peptides  $A\beta$  sont produits par le clivage protéolytique séquentiel de la protéine précurseur transmembranaire de l'amyloïde (APP) par l'action de la  $\beta$ -sécrétase à l'extrémité amino-terminale extra-membranaire, et de  $\gamma$ -sécrétase à l'extrémité carboxy-terminale inter-membranaire. La  $\gamma$ -sécrétase est une multi-enzyme qui clive l'APP à l'intérieur de son domaine

transmembranaire, mais ne fournit pas de spécificité de séquence stricte et génère des peptides A $\beta$  de longueur variable, principalement des peptides de 40 (A $\beta$ 40) et 42 (A $\beta$ 42) résidus. La génération de la forme toxique d'A $\beta$  est effectuée par la voie mineure de dégradation de l'APP. Les peptides insolubles  $\beta$ -amyloïdes, dérivés du clivage de la protéine transmembranaire amyloïde (amyloid precursor protein APP) sont neurotoxiques (fig.8) <sup>5,84</sup>.

La forme A $\beta$ 42 est plus sujette à l'agrégation que la forme plus courte (A $\beta$ 40) <sup>85</sup>. Le dépôt à long terme du peptide A $\beta$ 42 induit la formation de plaques toxiques, responsables des symptômes et de la progression de la maladie <sup>67</sup>. Le dépôt de peptides A $\beta$  est toutefois retrouvé dans le cortex des patients âgés asymptomatiques, sans qu'il y ait de DNF.

La voie non amyloïdogénique prédominante s'opère par le clivage de l'APP via l' $\alpha$ -sécrétase <sup>5,84</sup>.

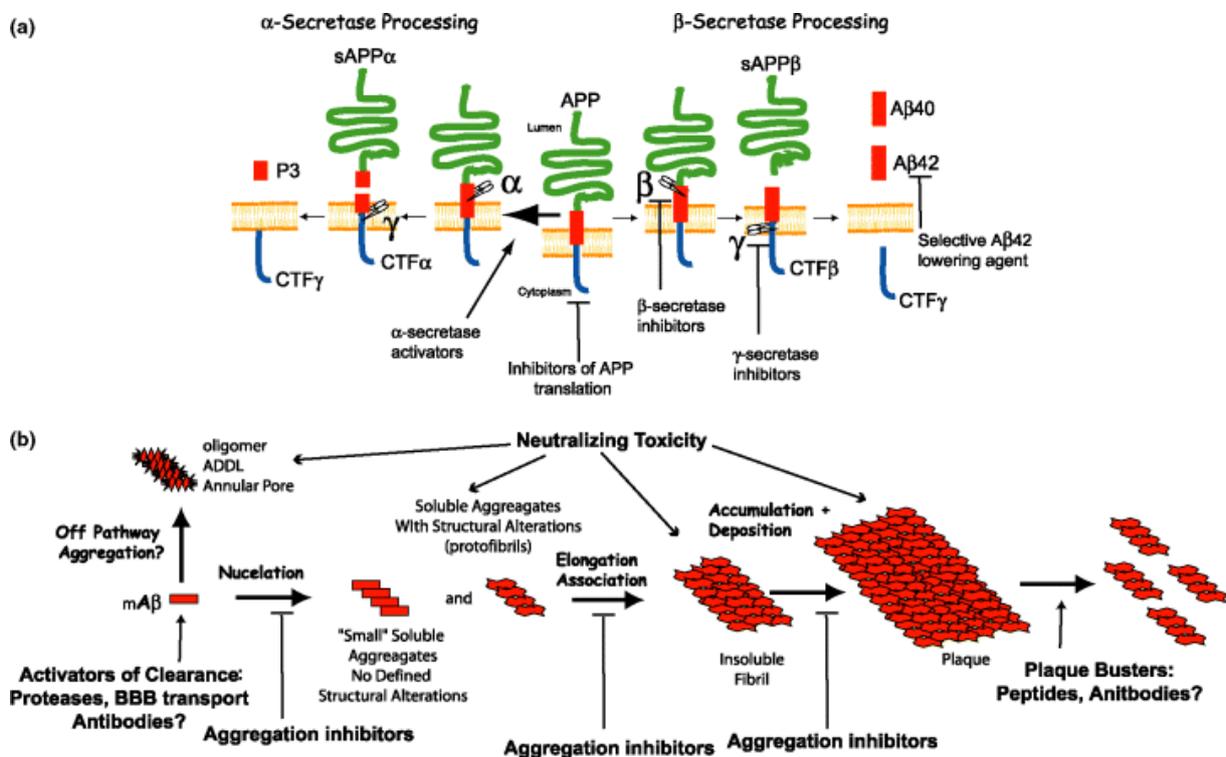


Figure 8. Cascade de la formation du peptide  $\beta$ -amyloïde <sup>84</sup>.

### II.7.3 – Hyperphosphorylation de la protéine Tau

Les dépôts neurofibrillaires (agrégats neuronaux) de filaments en double hélice comportant une protéine Tau anormalement phosphorylée interfèrent avec le fonctionnement normal des neurones.

Les causes de l'agrégation de la protéine Tau dans les tauopathies sporadiques ne sont pas pleinement comprises. L'hyperphosphorylation post-traductionnelle de la protéine Tau, ubiquitaire à ces pathologies, semble en être la modification principale. Cette phosphorylation au sein du domaine de liaison des microtubules réduit la capacité à stabiliser les microtubules ensemble, conduisant à la perturbation du transport neuronal et finalement à une perte synaptique accélérée et la mort cellulaire (fig.9). La protéine Tau est normalement phosphorylée sur les résidus sérine (Ser) et thréonine (Thr). L'hyperphosphorylation réduit la liaison myéline-Tau et conduit à son agrégation. Par conséquent, il est possible que des changements (variation de concentration, phénomène d'activation via A $\beta$  particulièrement dans les protéines kinases potentiellement impliquées dans la phosphorylation de Tau) conduisent à ce phénomène. Des modifications post-traductionnelles supplémentaires peuvent également contribuer à un dysfonctionnement de la protéine Tau <sup>5,7,81,84</sup>.

Un grand nombre de kinases ont été montré pour être capable de phosphoryler la protéine Tau in vitro, y compris les kinases en proline dirigées telles que des kinases régulées par des signaux extracellulaire (ERK2), la glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) <sup>86</sup> et la cyclin dependent kinase 5 (Cdk5), ainsi que des enzymes non-proline dirigées telles que la caséine kinase 1 (CK1), la protéine kinase A (PKA), la DYRK1A, et des microtubules affinity regulating

kinase (MARK)<sup>6,79</sup>. Toutefois, l'incertitude demeure, quant à laquelle de ces enzymes est la plus importante dans le phénomène d'hyperphosphorylation de la protéine Tau.

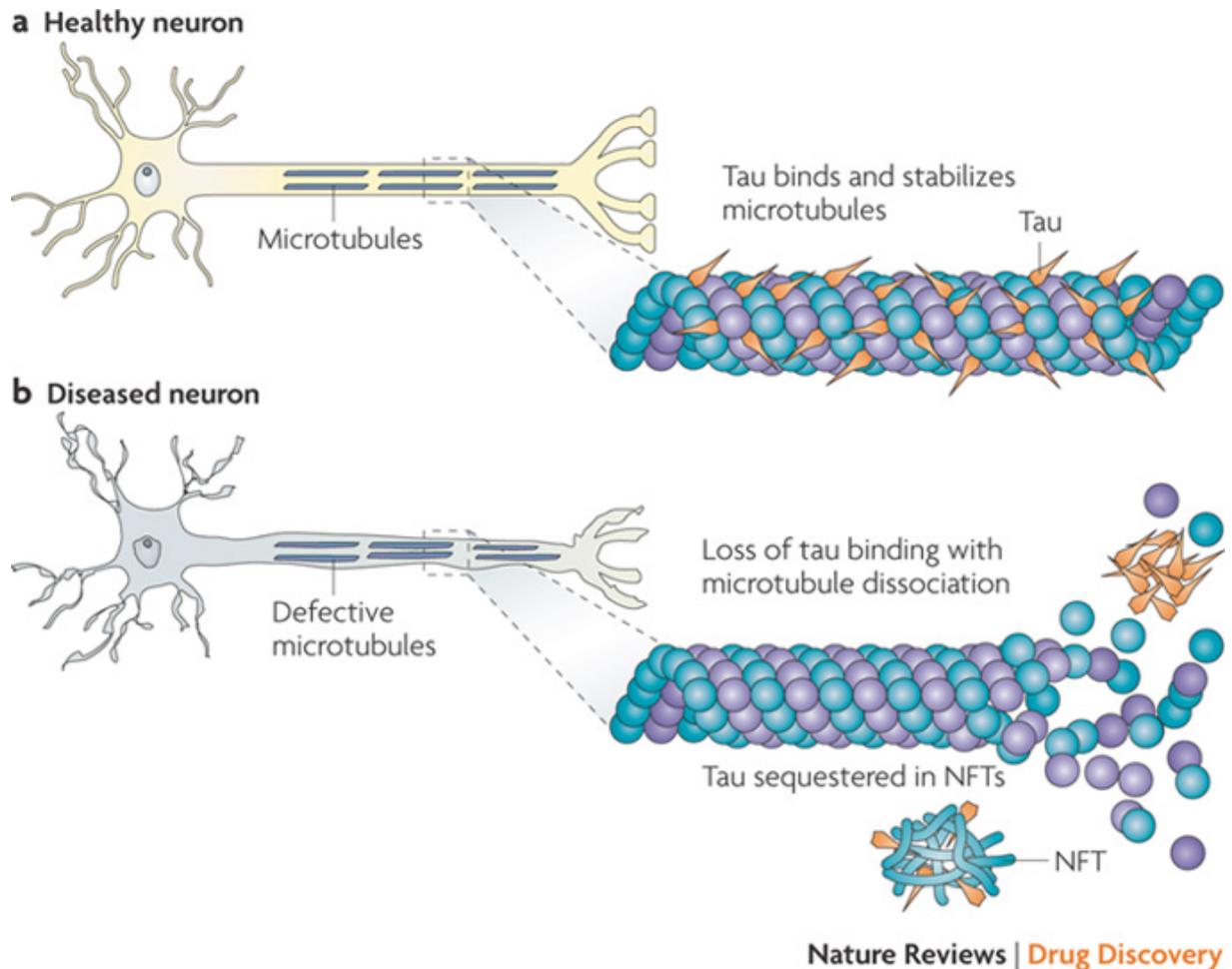


Figure 9. Hyperphosphorylation de la protéine Tau<sup>81</sup>.

#### II.7.4 – Autres causes de la dégénérescence neurofibrillaire

Un rôle des ions métalliques et des ROS en oligomérisation du peptide  $\beta$ -amyloïde a été démontré. Par conséquent, la chélation de métal et l'activité antioxydante<sup>87</sup> sont deux mécanismes généraux à prendre en compte dans la recherche de candidats médicaments modificateurs de la maladie d'Alzheimer (fig.10).

Le dysfonctionnement mitochondrial joue un rôle fondamental dans la mort neuronale associée à la maladie d'Alzheimer, car le peptide  $\beta$ -amyloïde intracellulaire pourrait compromettre la fonction indispensable de la respiration cellulaire, de cet organeite<sup>84</sup>.

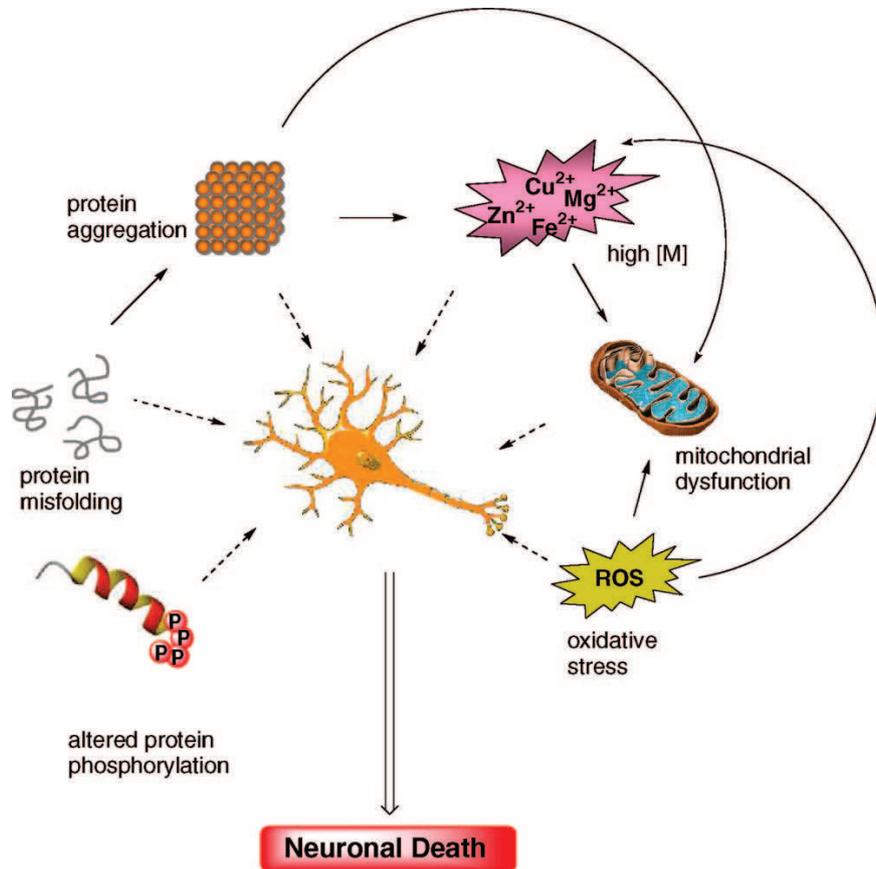


Figure 10. Voies schématisées des événements multifactoriels conduisant à la mort neuronale<sup>84</sup>.

### II.7.5 – Conclusion

Pour conclure, on peut caractériser la maladie d'Alzheimer par un déséquilibre de balance d'activité entre kinase et phosphatase. Ce dérèglement est initié par la toxicité du peptide  $\beta$ -amyloïde. L'assemblage des toxicités de l'agrégation du peptide  $\beta$ -amyloïde, et de l'hyperphosphorylation de la protéine Tau provoque une dégénérescence neurofibrillaire et un déficit en neurotransmetteurs acétylcholine (ACh).

Post mortem, on constate que la sévérité de la démence est surtout corrélée au degré de pathologie lié à l'hyperphosphorylation de la protéine Tau <sup>7</sup>.

## II.8 – Les traitements

### II.8.1 – Les traitements actuels

Sur le plan thérapeutique, quatre médicaments sont actuellement disponibles pour le traitement symptomatique de la maladie. Trois médicaments inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, dont les principes actifs sont le Donépézil (Aricept<sup>®</sup>, Eisai), la Galantamine (Reminyl<sup>®</sup>, Janssen Cilag) et la Rivastigmine (Exelon<sup>®</sup>, Novartis), sont prescrits afin de diminuer la dégradation de l'acétylcholine, ainsi que la neutralisation de l'agrégation du peptide A $\beta$  <sup>9</sup>. Un quatrième médicament dont le principe actif est la Mémantine (Ebixa<sup>®</sup>, Lundbeck), prescrit à un stade plus sévère de la maladie est un antagoniste non compétitif et d'affinité modérée des récepteurs NMDA <sup>3,4,11</sup>. Ces quatre médicaments ont démontré un effet sur certains symptômes cognitifs et non cognitifs de la maladie d'Alzheimer à court terme (6 mois dans la majorité des études). Malheureusement, ils sont considérés comme relativement inefficaces. Leur capacité à réduire la progression de la maladie n'est pas établie.

### II.8.2 – Les nouvelles thérapeutiques

Les traitements de la maladie d'Alzheimer actuellement disponibles ont des effets cliniques modestes et n'interfèrent pas dans la cascade physiopathologique. La recherche de thérapeutiques ciblant les mécanismes étiologiques de la maladie est aujourd'hui au premier plan (fig.11). Les agents anti-amyloïdes représentent la majorité des produits en cours d'évaluation. Ceux ciblant la protéine Tau et d'autres thérapeutiques alternatives sont également en cours de développement (fig.12) <sup>5,70,88-94</sup>.

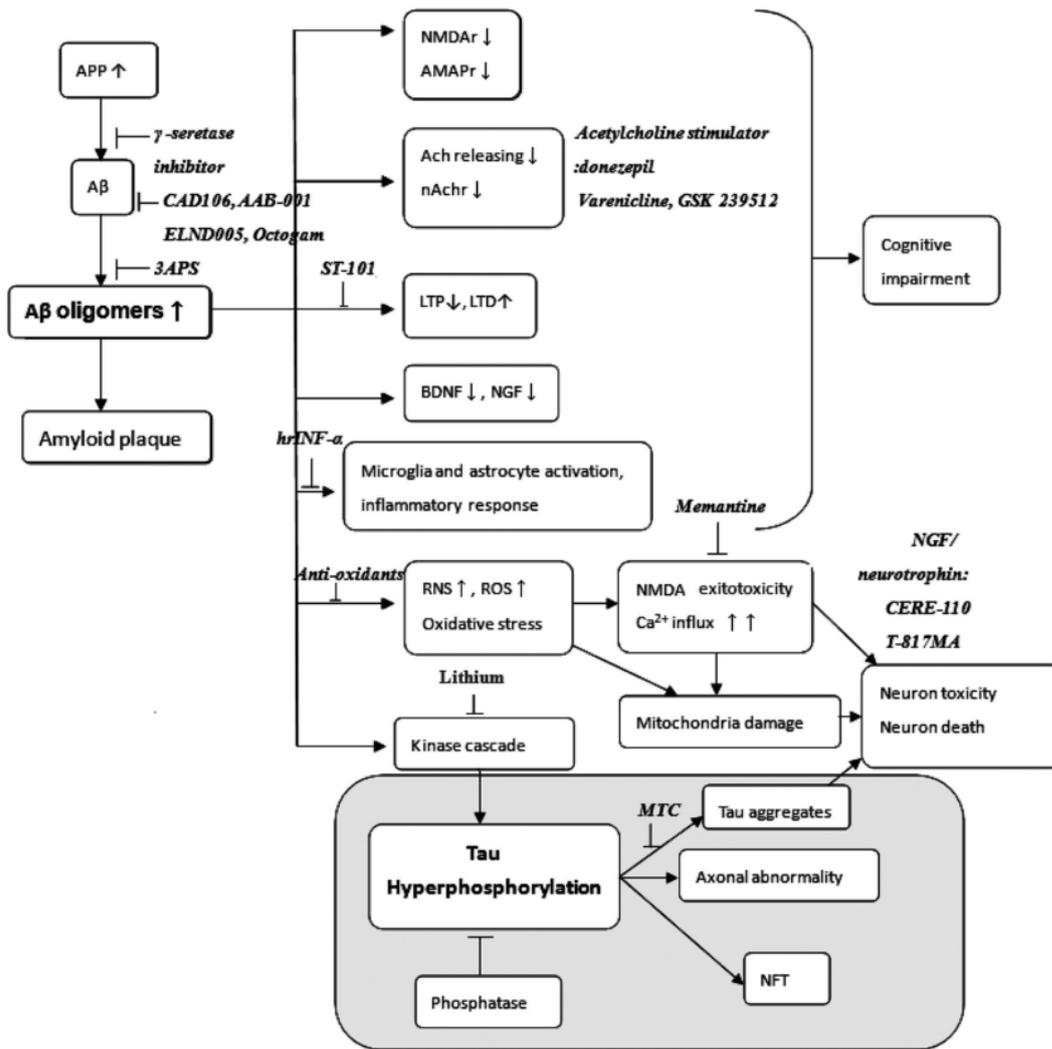


Figure 11. Stratégies thérapeutiques ciblant la cascade amyloïde et l'hyperphosphorylation de Tau<sup>90</sup>.



Il existe une autre approche. Les Ac sont dirigés contre le site de clivage de la  $\beta$ -sécrétase sur l'APP, résultant de l'inhibition de la formation d'A $\beta$  in vitro, et lors d'une administration au long court chez la souris transgénique. Les processus de diminution de l'inflammation cérébrale, et la préparation classique d'immunoglobulines humaines polyvalentes sont en cours d'évaluation. Le Solanezumab et le Bapineuzumab sont actuellement en cours d'essais cliniques, respectivement en phase II et III.

#### *II.8.2.1.b – Modulation de l'action des sécrétases*

L'objectif ici est d'augmenter le processus de la voie non amyloïdogénique, en augmentant l'activité de l' $\alpha$ -sécrétase.

D'autres cibles peuvent être envisagées ; la  $\beta$ -sécrétase ou le site  $\beta$ -APP cleaving enzyme 1 (BACE1). La souris transgénique knock-out (KO) pour le gène BACE1 se développe normalement, et semble avoir complètement aboli leur production du peptide A $\beta$ . Le GSK188909 rapporte des résultats encourageants, par la réduction des taux de A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42, en particulier dans le cerveau de souris transgéniques.

La  $\gamma$ -sécrétase est la cible de production du peptide A $\beta$ 42. Mais d'autres protéines sont substrats de cette enzyme, comme les récepteurs Notch impliqués dans des fonctions vitales<sup>95</sup>. L'inhibition de la  $\gamma$ -sécrétase entraîne une chute significative du taux de peptide A $\beta$ 40 plasmatique sans modification notable de cette protéine dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). Le LY450139 dihydrate, inhibiteur de la  $\gamma$ -sécrétase inhibe la formation de l'A $\beta$  in vitro et in vivo. Le Tarenflurbil, énantiomère du flurbiprofène, agit sur l'activité de l' $\gamma$ -sécrétase, spécifiquement sur la voie de formation de l'A $\beta$ 42. Les études de phase II étaient encourageantes, mais la phase III s'est avérée négative.

#### *II.8.2.1.c – Dégradation de l'A $\beta$*

L'organisme possède des moyens de défense contre la neurodégénérescence, par la présence d'enzymes dégradant les peptides  $\beta$ -amyloïdes. Ces enzymes sont classées en trois grandes familles ; les métalloprotéases à zinc (néprilysine, enzyme de conversion à l'endothéline, insulysin, matrix métalloproteinase, enzyme de dégradation de l'insuline (IDE), NEP Like Peptidase, enzyme de conversion de l'angiotensine), les sérines protéases (plasmin, acylpeptide hydrolase, et myelin basic protein (MBP)), et les aspartyl protéases (cathepsine D, BACE 1 et 2, et le protéasome).

Quant à la gelsoline, elle se fixe sur le peptide A $\beta$ , dissociant les fibres amyloïdes préformées et inhibant la cytotoxicité du peptide A $\beta$ <sup>96,97</sup>.

Les sérines protéases sont des enzymes qui permettent le métabolisme extracellulaire du peptide A $\beta$ , sous la régulation de l'inhibition de l'activateur du plasminogène.

La somatostatine stimule l'activité de la néprilysine entraînant une diminution des taux d'A $\beta$  in vivo.

Cette approche fait l'étude d'une voie thérapeutique potentielle.

#### *II.8.2.1.d – Agents anti-agrégation et anti-fibrillation des oligomères d'A $\beta$*

Cette approche représente une alternative à l'inhibition des sécrétases. Le *Tramiprosate* est un produit mimant les glycosaminoglycanes (GAG), qui se lie au peptide  $\beta$ -amyloïde, résultant d'une inhibition de la formation de la plaque amyloïde, et prévient la formation de fibrilles.

Une dysrégulation des ions métaux ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$ ) au niveau cérébral, et les interactions au niveau de ces cibles avec l'A $\beta$  pourraient contribuer à la physiopathologie de la maladie en jouant un rôle au niveau de l'oligomérisation et de la cytotoxicité de l'A $\beta$ .

#### *II.8.2.1.e – Statines*

Les statines (ou inhibiteurs de la HMG-CoA réductase) forment une classe d'hypolipémiants, utilisés comme médicaments pour baisser la cholestérolémie de personnes qui risquent une maladie cardiovasculaire, à cause de leur hypercholestérolémie.

Il est démontré un lien entre le taux de cholestérol, et le dépôt de peptide A $\beta$ . Des tests ont été effectués avec l'Atorvastatine (Tahor<sup>®</sup>, Pfizer).

#### *II.8.2.1.f – Inhibition des Receptors for advanced for glycation end products (RAGE)*

Ces récepteurs sont activés par des facteurs pro-inflammatoires, résultant de la production de cytokines, reliant la voie amyloïdogénique à la voie inflammatoire. Il a été démontré le lien direct entre un processus inflammatoire et la formation de plaques amyloïdes. La prise d'anti-inflammatoires réduirait les symptômes. Le TTP488 est en cours de développement, en phase II.

### **II.8.2.2 – Thérapeutiques ciblant la protéine Tau**

Les kinases phosphorylant la protéine Tau sont les suivantes : glycogène synthase kinase 3 beta (GSK3 $\beta$ ), cyclin dependent kinase 5 (Cdk5), mitogen activated protein kinase (MAPK), caseine kinase, calcium calmodulin dependent kinase II, protéine kinase A (PK<sub>A</sub>), DYRK1A et protéine phosphatase 2A <sup>83</sup>.

Le lithium diminue la phosphorylation de la protéine Tau in vitro et promeut l'assemblage des microtubules par le biais de l'inhibition de la GSK3 $\beta$ . Aucun résultat probant n'a été observé jusqu'à maintenant. Les recherches se poursuivent.

### **II.8.2.3 – Agents neuroprotecteurs**

Ces agents permettent la protection cellulaire contre les agressions oxydatives, inflammatoires, et toxiques.

#### *II.8.2.3.a – Anti-oxydants*

Le stress oxydant (ou stress oxydatif) est un type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species, ROS) et azotées (RONS) oxydantes. Ces espèces sont par définition, des radicaux libres. Par assimilation, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) est considéré comme une ROS car, en présence de fer (Fe<sup>2+</sup>) il se dismute en radicaux hydroxyles (OH $\cdot$ ). La production de ROS par les cellules endothéliales provoque des dommages au niveau de l'endothélium vasculaire.

Les facteurs de risques favorisant la production d'espèces réactives à l'oxygène, et par conséquent au stress oxydant sont les suivants ; l'hypocholestérolémie, les virus (Herpes, CMV, ...), l'homocystéine, la fumée de cigarette, l'hypertriglycéridémie, les métaux lourds (Pb, As, Cd), des turbulences au niveau du sang, des bifurcations des vaisseaux dues à l'hypertension artérielle, ou des nanoparticules de pollution.

Conséquences du stress oxydatif, l'altération du phénomène de respiration cellulaire, l'altération de la perméabilité et l'activation de l'apoptose (dysfonctionnement mitochondriale) déclenchent la mort neuronale. Le stress oxydatif peut être la cause de la phase précoce du processus pathologique de la maladie d'Alzheimer.

Les anti-oxydants agissent à différents niveaux, par inhibition de l'oxydation des LDL, ou limitent la réponse des cellules aux LDL oxydés.

Deux possibilités de thérapie sont à envisager :

- Supplémentation en antioxydants comme la vitamine C (acide ascorbique), l'acide urique et le glutathion, ou encore les lipoprotéines comme la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)
- Alimentation équilibrée (régime crétois ou méditerranéen), par une augmentation de la consommation d'acides-gras (ag) polyinsaturés oméga 3, ou l'acide docosahexaénoïque (DHA) qui est l'ag polyinsaturé le plus abondant dans le cerveau.

Le probucol est un excellent piègeur de radicaux libres et possède une bonne action antioxydante.

Utilisation d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion comme captopril (Lopril®) ou zofénopril (Zopenil®) qui sont tous deux des piègeurs de radicaux libres.

Les inhibiteurs de la HMG-CoA (statines,...) inhibent fortement le NADPH oxydase qui intervient dans la synthèse du cholestérol.

L'association statine - arginine obtient de très bons résultats, car l'arginine permet la production de plus de monoxyde d'azote (NO) qui favorise la vasodilatation. De plus les statines augmentent l'expression de la NOS endothéliale.

Les agonistes des PPARs (récepteurs activés par prolifération des peroxysomes) augmentent la synthèse de NO et diminuent l'expression des molécules par le blocage de la NF- $\kappa$ B (protéine impliquée dans la réponse immunitaire et la réponse au stress cellulaire), inhibent

l'expression de l'angiotensine II (diminution du phénomène d'hypertension artérielle) et diminuent l'expression des métallo protéinases.

L'acide  $\alpha$ -lipoïque est un cofacteur essentiel dans les réactions des déshydrogénases mitochondriales.

L'EGb761, extrait de Ginkgo biloba possède des propriétés anti radicaux libres, et inhiberait la formation de fibrilles de peptides  $\beta$ -amyloïde.

Pour finir, le Mitoquinol et les isoflavones sont des anti-oxydants ciblant les dysfonctions mitochondriales.

#### *II.8.2.3.b – Anti-inflammatoires*

Il y a maintenant des preuves abondantes que l'autodestruction des neurones se produit dans la maladie d'Alzheimer. Il en résulte une aggravation de la pathologie fondamentale. Cette attaque par des défenses de l'hôte sur les neurones est auto-toxique et non auto-immune dans la nature. L'auto-immunité est définie comme une condition caractérisée par une réaction immunitaire spécifique humorale ou à médiation cellulaire en œuvre contre les constituants de tissus propres du corps. Cela nécessite l'action des cellules B adaptatives du système immunitaire, les cellules T, ou les deux contre une protéine incriminée hôte. Mais les anticorps et les lymphocytes ne sont pas dans un premier plan dans le cerveau lors de la maladie d'Alzheimer, ce qui indique que l'auto-immunité classique n'est pas le principal responsable. La possibilité que l'auto-attaque se produit en raison d'une réaction immunitaire innée n'a pas été examinée par des immunologistes classiques. Mais il est vrai que l'immunité innée est la première ligne de défense dans tous les tissus.

On n'observe pas d'efficacité des AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens) ibuprofène (Advil®, Pfizer ; Spedifen®, Spifen®, Zambon), célécoxib (Celebrex®, Pfizer), rofécoxib et du naproxène (Apranax®, Roche).

Le R-flurbiprofène, un énantiomère des flurbiprofènes AINS a considérablement réduit l'activité anti-inflammatoire, et a été analysé pour ses effets sur la cognition, le taux d'A $\beta$  et de protéine Tau hyperphosphorylée, et le profil neurochimique de l'hippocampe <sup>89</sup>. Le traitement par R-flurbiprofène pendant 5 à 7 mois a permis d'améliorer la cognition sur le test du labyrinthe aquatique radial à 8 bras (RAWM) et a diminué le niveau de la protéine Tau hyperphosphorylée. Aucun changement significatif dans le niveau du peptide A $\beta$  n'a été détecté.

L'étanercept (Enbrel®), antagoniste du TNF $\alpha$ , administré par voie périspinale possède un potentiel intéressant. De même pour la curcumine, aux propriétés immunomodulatrices qui inhibe agrégation du peptide A $\beta$ 40 in vitro et in vivo.

L'inflammation est complexe et le spectre d'agents jusqu'ici identifiés comme contribuant à son intensité est certainement loin d'être complète. Il reste beaucoup à apprendre sur les récepteurs et des systèmes de signalisation intracellulaires, même de ceux qui ont jusqu'ici été identifiés.

#### *II.8.2.3.c – Glutamate et neuroprotection*

Le système glutamatergique joue un rôle dans l'apprentissage et la mémoire. Il est également impliqué dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.

Les récepteurs canaux du glutamate (NMDA, AMPA, kaïnate ou KAR), à perméabilité interviennent dans le développement des synapses. Leur stimulation excessive et continue

entraîne la mort neuronale. En contrepartie, le blocage complet de ce récepteur conduit à une altération de la plasticité neuronale.

Le médicament dont le principe actif est la Mémantine (Ebixa<sup>®</sup>, Lundbeck), prescrit à un stade plus sévère de la maladie est un antagoniste non compétitif et d'affinité modérée des récepteurs NMDA. Il est utilisé dans le cadre d'un traitement symptomatique.

La stimulation du récepteur NMDA et AMPA induit une dépolarisation membranaire générant des potentiels postsynaptiques excitateurs, correspondant au rôle excitateur du glutamate. La dépolarisation induite par stimulation du récepteur AMPA est rapide et favorise la stimulation des récepteurs NMDA, qui induisent une dépolarisation plus lente. Par conséquent, la concentration de  $Ca^{2+}$  augmente, résultant une stimulation de la protéine kinase activée par le couple calcium-calmoduline, CAM-kinase2, impliquée dans le phénomène de potentialisation à long terme (LTP).

L'entrée excessive de calcium par hyperstimulation des récepteurs NMDA pourrait induire une apoptose de neurones impliqués dans la neurodégénérescence observée dans les accidents ischémiques cérébraux (AIC), la maladie de Parkinson ou la maladie d'Alzheimer.

La Latrepirdine (dimebolin) inhibe faiblement l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. Ce médicament inhibe aussi les récepteurs NMDA, et les canaux calciques voltage-dépendants, mais son activité sur les récepteurs NMDA est 200 fois plus faible que celle de la mémantine. Son effet protecteur est principalement attribué à la préservation de la structure et de la fonction mitochondriale. Ce médicament a été suggéré pour inhiber les pores de transition de perméabilité mitochondriale (activation de ces pores induite par les  $A\beta$  peuvent induire une apoptose), et de protéger les mitochondries médiées par la toxicité des  $A\beta$ .

#### **II.8.2.4 – Approches neuro-restauratrices**

##### *II.8.2.4.a – Facteurs de croissance neurotrophiques*

Le Nerve Growth Factor (NGF) est une petite protéine sécrétée qui est importante pour la croissance, le maintien et la survie de certains neurones cibles (cellules nerveuses). Il fonctionne aussi comme une molécule de signalisation. Il permet la survie et la différenciation des neurones.

La dégénérescence neuronale induite par l'expression des anticorps anti NGF est largement réversible sous l'effet de l'administration de NGF.

##### *II.8.2.4.b – Thérapie cellulaire*

Les cellules souches neuronales humaines implantées dans le cerveau d'animaux se différencient en cellules neuronales. Les implants de cellules souches neuronales représentent une stratégie thérapeutique potentielle. Cette stratégie permet de stimuler ces précurseurs cellulaires afin de remplacer les neurones lésés<sup>98</sup>.

#### **II.8.2.5 – Thérapeutiques procholinerigiques**

Ces thérapeutiques ont pour objectif d'augmenter le taux d'acétylcholine (ACh) dans le cerveau, ainsi de faciliter la neurotransmission à travers l'inhibition des cholinestérases.

##### *II.8.2.5.a – Inhibition de l'acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase*

La remontée du taux d'acétylcholine va modifier le métabolisme du peptide A $\beta$ , et réduire le phénomène de stress oxydatif. Il existe actuellement trois médicaments impliqués dans l'inhibition de l'acétylcholinestérase dont les principes actifs sont le Donépézil (Aricept<sup>®</sup>, Eisai), la Galantamine (Reminyl<sup>®</sup>, Janssen Cilag) et la Rivastigmine (Exelon<sup>®</sup>, Novartis),.

La Phensérine, dérivé de la physostigmine à double mode d'action inhibe à la fois l'acétylcholinestérase et la formation d'A $\beta$ <sup>93</sup>.

La butyrylcholinestérase, dont l'activité augmente parallèlement à l'avancée de la maladie, pourrait avoir un rôle dans l'attention, les fonctions exécutives, la mémoire émotionnelle et le comportement.

La Cymserine et la Binorcymserine, inhibiteurs de la butyrylcholinestérase, sont des analogues structurels de la Phensérine.

#### *11.8.2.5.b – Agonistes muscariniques*

Ces thérapeutiques n'ont pas montré de grands succès lors des essais cliniques. Ils doivent jouer un rôle dans la régulation de la production de peptide A $\beta$ .

Les agonistes M1 sont des facteurs neurotrophiques ; ils forment une famille de substances responsables de la croissance et de la survie des neurones en développement, et l'entretien des neurones matures. Ils favorisent la voie non amyloïdogénique en diminuant le taux de peptides A $\beta$  in vitro, in vivo, et restaurent les fonctions cognitives chez des modèles de souris pour la maladie d'Alzheimer.

La Talsaclidine, agoniste M1 stimule l'activité de l' $\alpha$ -sécrétase in vitro et diminue les taux de peptides A $\beta$  dans le LCR chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

#### *11.8.2.5.c – Ligands des récepteurs nicotiques*

Ils sont impliqués dans le processus de la mémoire et de l'apprentissage, mais leurs effets indésirables sont fréquents.

### II.8.2.6 – Thiazolidinediones et insuline

L'incidence de la maladie d'Alzheimer est plus importante chez les patients diabétiques de type 2. Le diabète est une affection métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique liée à une déficience soit par une insulino-résistance caractérisée par une élévation chronique des taux d'insuline périphériques, soit de la sécrétion d'insuline, soit des deux.

Les mécanismes pouvant expliquer le risque cognitif dans cette population restent hypothétiques.

Les glitazones renforcent la sensibilité à l'insuline, qui semble médiée par le peroxysomal proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). En plus de réduire la glycémie, la Rosiglitazone a une activité anti-inflammatoire.

Afin de compenser la baisse du catabolisme glucidique cérébral constaté dans la maladie d'Alzheimer, une stratégie thérapeutique consiste à l'administration de corps cétoniques ou de leurs précurseurs métaboliques tels que les triglycérides (TG) à chaîne moyenne. Une dose unique de TG à chaîne moyenne a montré une activité pharmacologique et une efficacité significative sur les performances cognitives.

### II.8.3 – Conclusion

La recherche sur le traitement de la maladie d'Alzheimer a jusqu'ici eu un certain succès en terme de traitements symptomatiques, mais il y a également eu plusieurs échecs pour les médicaments à but curatif de la maladie. De nombreuses stratégies thérapeutiques sont en cours de recherche afin de trouver de nouvelles cibles d'intérêts, ainsi que de nombreuses études cliniques et expérimentales.

# Chapitre III – Le système sérotoninergique

---

## III – Le système sérotoninergique

### III.1 – Généralités

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) (fig.13), initialement identifiée au niveau périphérique (cellules entérochromaffines de l'intestin et plaquettes sanguines), a été mise en évidence dans le système nerveux central (SNC) de rat et lapin en 1953 par Twarog et Page <sup>99</sup>. Les plaquettes sanguines ne synthétisent pas la sérotonine, mais la stockent à partir du plasma sanguin. Par contre, les cellules entérochromaffines (cellules EC) synthétisent et stockent 90% de la sérotonine du tractus gastro-intestinal. Les neurones centraux sérotoninergiques dont les corps cellulaires sont localisés dans les noyaux du raphé du tronc cérébral, se projettent dans l'ensemble du cerveau et de la moelle épinière <sup>100</sup>. Les effets de la sérotonine sur les neurones sont excitateurs ou inhibiteurs en fonction du récepteur en cause.

Il s'agit d'un neurotransmetteur de type indolamine. Au niveau périphérique, elle intervient dans le contrôle des fonctions périphériques en tant que facteur sérique vasoconstricteur thrombocytaire, puis en tant que facteur de contraction des muscles lisses. Elle intervient essentiellement au niveau du SNC dans le contrôle des fonctions cérébrales des cycles veille/sommeil, thermorégulation, comportement de faim/satiété, comportement sexuel, nociception etc. De plus, des désordres neuropsychiatriques tels que la dépression, les démences et l'anxiété sont associés à des anomalies fonctionnelles des neurones sérotoninergiques <sup>47,101</sup>.

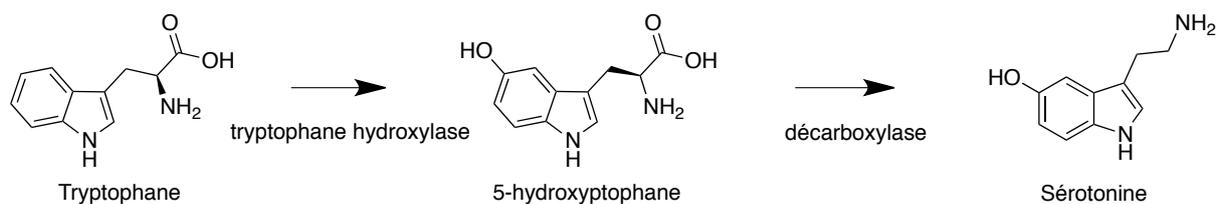


**Figure 13. Structure de la Sérotonine (5-HT).**

### III.2 – La biosynthèse de la sérotonine

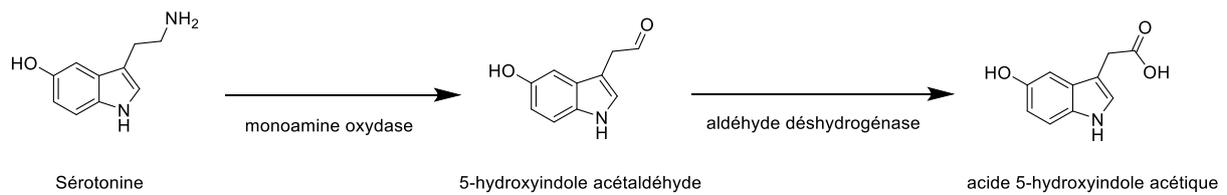
La biosynthèse de la sérotonine est réalisée dans le cytoplasme des cellules entérochromaffines et des neurones par hydroxylation puis par décarboxylation du précurseur L-tryptophane, acide aminé essentiel dont la source exclusive est l'alimentation. Contrairement à la 5-HT, le L-tryptophane passe la barrière hémato-encéphalique via un transporteur membranaire non sélectif.

La synthèse de 5-HT se fait en deux temps (fig.14). La première consiste à l'hydroxylation du tryptophane en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) à l'aide d'une tryptophane hydroxylase. Dans un second temps, la 5-HTP subit une décarboxylation par une décarboxylase pour aboutir à la sérotonine.



**Figure 14. Synthèse de la Sérotonine <sup>47</sup>.**

Une fois dans la fente synaptique, la 5-HT peut être récupérée par la cellule sécrétrice via un système de recapture, subir une dégradation enzymatique par la monoamine oxydase (MAO) (fig.15), ou se lier à des cibles via des récepteurs (5-HT<sub>1-7</sub>).



**Figure 15. Dégradation de la Sérotonine <sup>47</sup>.**

La monoamine oxydase de type A (MAO) va dégrader la sérotonine en 5-hydroxyindole acétaldéhyde, qui sera ensuite oxydée par l'aldéhyde déshydrogénase (ADH) en acide 5-hydroxyindole acétique (5-HIAA). Ce dernier par sa nature hydrophile, sera éliminé dans les urines <sup>47</sup>.

### III.3 – Les récepteurs sérotoninergiques

Les récepteurs à la sérotonine font partie de la famille des récepteurs métabotropiques à 7 domaines transmembranaires, couplés aux protéines G, sauf le récepteur 5-HT3 qui est un récepteur de type ionotrope (tab.1) <sup>12</sup>.

Les récepteurs 5-HT1 (A, B, D, E, F) sont couplés négativement à la protéine G (Gi), par conséquent, l'inhibition de l'adénylate cyclase (AC) induit une diminution de la synthèse de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC).

Les récepteurs 5-HT2 (A, B, C) sont couplés positivement à la protéine G (Gq), par conséquent, l'activation de la phospholipase C (PLC) induit une augmentation de la synthèse de la guanine monophosphate cyclique (GMPc).

Les récepteurs 5-HT4, 6 et 7 sont couplés positivement à la protéine G (Gs), par conséquent l'activation de l'adénylate cyclase (AC) induit une augmentation de la synthèse de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC).

Au niveau cellulaire, les récepteurs sérotoninergiques peuvent être pré ou post-synaptiques<sup>102</sup> (fig.16).

#### III.4 – Rôles physiologiques et physiopathologiques de la sérotonine

Au niveau central, le système et voies sérotoninergiques interviennent dans un grand nombre de fonctions cérébrales telles que le sommeil, les fonctions cognitives, la perception sensorielle, la motricité, la thermorégulation, la nociception ou le comportement alimentaire.

Des variations de conséquences physiologiques se font voir en fonction de la zone du cerveau, de l'élément des neurones considérés, et des différents sous-types de récepteurs.

Il existe aujourd'hui plusieurs médicaments (activateurs / inhibiteurs des récepteurs 5-HT) intervenant dans un grand nombre de sphères thérapeutiques<sup>3,4,11</sup>.

Les ISRS (inhibiteur sélectif de la recapture de sérotonine): Fluoxétine (Prozac<sup>®</sup>), Citalopram (Seropram<sup>®</sup>), Escitalopram (Seroplex<sup>®</sup>), Sertraline (Zoloft<sup>®</sup>), Paroxétine (Deroxat<sup>®</sup>), et IRSNA (inhibiteur sélectif de la recapture de sérotonine et de noradrénaline): Venlafaxine (Effexor<sup>®</sup>), Duloxétine (Cymbalta<sup>®</sup>) sont utilisés dans le traitement de la dépression (Thymoanaleptiques). La Bupirone (Buspar<sup>®</sup>), agoniste partiel 5-HT<sub>1A</sub> est-elle même utilisée en psychiatrie, dans traitement de l'anxiété.

Les antagoniste 5-HT<sub>2A</sub> : Clozapine (Leponex<sup>®</sup>), Olanzapine (Zyprexa<sup>®</sup>), Risperidone (Risperdal<sup>®</sup>), traitent les états psychotiques aigus et chroniques (schizophrénie, trouble délirant), les épisodes maniaques aigus modérés à sévères, et les troubles du comportement (agressivité, agitation, automutilation...).

Le système sérotoninergique est également exploité de façon importante dans le traitement des migraines par les agonistes 5-HT<sub>2A</sub> (dérivés de l'ergotamine), et les agonistes 5-HT<sub>1B/D</sub> : Sumatriptan (Imigrane<sup>®</sup>), Zolmitriptan (Zomig<sup>®</sup>), Naratriptan (Naramig<sup>®</sup>)...

Pour finir, sont utilisés dans la prévention et le traitement des nausées et vomissements induits par les chimiothérapies cytotoxiques ou la radiothérapie cytotoxique émétisantes, les antagonistes 5-HT<sub>3</sub> : Granisétron (Kytril<sup>®</sup>), Tropisétron (Navoban<sup>®</sup>), Odansétron (Zophren<sup>®</sup>)<sup>2-3</sup>.

Les récepteurs 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, et 5-HT<sub>6</sub> sont des cibles intéressantes et potentielles dans le traitement de troubles mnésiques associées aux pathologies neurodégénératives et neuropsychiques, ainsi que dans la douleur ou l'obésité.

**Tableau 1. Les récepteurs sérotoninergiques <sup>103</sup>.**

Récepteur	Mode de couplage	Distribution centrale (rat)	Localisation cellulaire	Implication neurophysiologique et neuropsychopathologique
<b>5-HT1A</b>	Négativement à AMPc via Gi/G0	Aires corticales (entorhinal et cingulaire) Hippocampe Noyaux raphé (dorsal, médian) Septum	Post-synaptique Pré-synaptique (corps cellulaire et dendrites des neurones 5-HT)	<b>Mémoire</b> Anxiété Humeur
<b>5-HT1B</b>	Négativement à AMPc via Gi/G0	Aires corticales (frontal) Ganglions de la base Hippocampe Noyaux du raphé <i>Striatum</i>	Post-synaptique Pré-synaptique (terminaison synaptique)	<b>Mémoire</b> Motricité Anxiété Humeur Douleur
<b>5-HT1D</b>	Négativement à AMPc via Gi/G0	Ganglion de la base Noyaux du raphé Hippocampe <i>Striatum</i> Aires corticales	Post-synaptique Pré-synaptique (terminaison synaptique)	Douleur (migraines)
<b>5-HT1E</b>	Négativement à AMPc via Gi/G0	Amygdale Aires corticales (entorhinal) Hippocampe <i>Striatum</i>	Post-synaptique	? (Absence de ligands sélectifs)
<b>5-HT1F</b>	Négativement à AMPc via Gi/G0	Amygdale Aires corticales (fronto-parietal, cingulaire) Hippocampe <i>Striatum / Thalamus</i> <i>Hypothalamus</i>	Post-synaptique	Douleur
<b>5-HT2A</b>	Positivement à PLC via Gq	Aires corticales (entorhinal) Ganglions de la base	Post-synaptique	Psychose Douleur
<b>5-HT2B</b>	Positivement à PLC via Gq	Amygdale Cervelet <i>Hypothalamus</i> Septum	Post-synaptique	Anxiété Douleur Comportement alimentaire
<b>5-HT2C</b>	Positivement à PLC via Gq	Aires corticales (cingulaire) Amygdale Ganglion de la base Hippocampe <i>Thalamus</i> Plexus choroïde	Post-synaptique	Régulation synthèse LCR Psychose Anxiété Motricité Comportement alimentaire
<b>5-HT3A</b> <b>5-HT3B</b> <b>5-HT3C</b>	Dépolarisation du neurone (entrée de cations)	Aires corticales (entorhinal) Amygdale Hippocampe Moelle épinière Tronc cérébral (area postrema)	Post-synaptique	Anxiété Psychose Humeur <b>Mémoire</b> Douleur
<b>5-HT4</b>	Positivement à AMPc via Gs	Aires corticales (cingulaire) Amygdale Ganglion de la base Hippocampe Septum Substance noire Tubercules olfactifs	Post-synaptique	<b>Mémoire</b> Comportement alimentaire Anxiété Douleur
<b>5-HT5A</b> <b>5-HT5B</b>	Négativement à AMPc via Gi/G0 ?	Aires corticales Cervelet Hippocampe Tubercules olfactifs	Post-synaptique	Motricité Anxiété Psychose Humeur
<b>5-HT6</b>	Positivement à AMPc via Gs	Amygdale Aires corticales Hippocampe Noyaux accumbens Plexus choroïde <i>Striatum</i> Tubercules olfactifs <i>Thalamus</i>	Post-synaptique	<b>Mémoire</b> Humeur Psychose Comportement alimentaire
<b>5-HT7</b>	Positivement à AMPc via Gs	Amygdale Aires corticales Hippocampe <i>Hypothalamus</i> <i>Thalamus</i>	Post-synaptique	Sommeil Rythmes circadiens Thermorégulation Psychose Humeur Douleur (migraine) <b>Mémoire</b>



### III.5 – Le récepteur de la sérotonine de type 4 (5-HT4)

#### III.5.1 – Historique

Le récepteur 5-HT4 a été découvert en 1988 par l'équipe du Dr Dumuis dans les cultures primaires de collicules embryonnaires de souris dans lesquels une stimulation par la sérotonine entraîne une augmentation de la production d'AMPc<sup>104,105</sup>. Son mode d'action pharmacologique ne correspondait pas à celui des autres récepteurs caractérisés jusqu'alors. Il a donc été nommé 5-HT4.

#### III.5.2 – Voie de signalisation

Le récepteur 5-HT4 est positivement couplé à l'adénylate cyclase (AC) via la protéine Gs, ce qui entraîne suite à son activation une augmentation de la production d'AMPc (fig.16). Le récepteur 5-HT4 est l'un des RCPG pour lequel l'épissage alternatif de l'ARNm génère le plus de variante. Aujourd'hui, huit variants d'épissage de l'extrémité C-terminale ont été clonés chez l'homme (a-g, n), quatre chez la souris (a,b,e,f) et trois chez le rat (a,b,e). Toutes ces variantes ne diffèrent que par leur extrémité C-terminale. Chez l'homme et le rat, le 5-HT4(e) a été détecté uniquement au niveau du tissu cérébral, dans le cerveau limbique. Les variantes de 5-HT4 partagent des profils pharmacologiques identiques, mais des profils fonctionnels potentiellement distinctes. Ils activent des voies de signalisations communes, soit G $\alpha$ s dans les neurones en culture. Ceci suggère que l'extrémité C-terminale des récepteurs 5-HT4, qui résultent d'un épissage alternatif, modulent la transition allostérique des conformations actives et inactives du récepteur<sup>106-108</sup>.

La stimulation des récepteurs 5-HT4 diminue la conductance potassique (K<sup>+</sup>) voltage dépendant, et produit une dépolarisation lente susceptible d'amplifier un potentiel d'action<sup>109</sup>. De plus, une seconde voie de signalisation a été démontrée sous l'effet de

l'augmentation de l'AMPc. Les études de Maillet ont démontré que l'activation de la petite GTPase Rac dépendrait de celle de Rap1, elle-même sous le contrôle du facteur d'échange Epac1 activé par l'AMPc (fig.16)<sup>110</sup>. En effet, l'activation de la cascade de signalisation Epac / Rap1 / Rac1 augmente le clivage de l'APP par la voie de l' $\alpha$ -sécrétase conduisant à la libération de sAPP $\alpha$ .

L'activation des récepteurs 5-HT4 peut également stimuler la voie de signalisation  $\beta$ -arrestine (ERK) (fig.24). La  $\beta$ -arrestine recrute et active dans un premier temps la protéine Src, puis un complexe protéique (sérine/thréonine kinase) dans un second temps. Les protéines Raf, et ERK interagissent directement avec l'arrestine. La cascade de phosphorylation de Raf, MEK et ERK permet la phosphorylation des facteurs transcriptionnels régulant les gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire, et la production d' $\alpha$  sécrétase<sup>111</sup>.

### III.5.3 – Localisations et rôles physiologiques

Le récepteur 5-HT4 est aussi bien exprimé en périphérie qu'au niveau du système nerveux central.

#### III.5.3.1 – En périphérie

En périphérie, le récepteur 5-HT4 joue un rôle important dans la fonction de plusieurs organes, des voies digestives et urinaires, au niveau cardiaque, ainsi qu'au niveau des glandes surrénales.

Au niveau du tractus gastro-intestinal, l'activation du récepteur 5-HT4 stimule la motilité intestinale en entraînant la contraction des muscles lisses via la libération de neurotransmetteurs comme l'acétylcholine (ACh). L'activation du réflexe des fibres motrices

parasymphatiques induit une augmentation de la motricité œsophagienne et intestinale (duodénum et intestin grêle), une stimulation des sécrétions muqueuses, ainsi qu'une hyperalgésie. Les agonistes 5-HT<sub>4</sub> sont efficaces au niveau de l'œsophage (effet anti-reflux), par stimulation de la motricité du tube digestif. Par exemple, le cisapride (Prépulsid<sup>®</sup>) stimule la libération d'acétylcholine à partir des terminaisons nerveuses et va avoir un effet anti-reflux œsophagien. Il s'agit d'un prokinétique pur ; il est dépourvu d'action centrale, d'effets muscariniques et nicotiniqes.

Au niveau cardiaque, l'activation du récepteur 5-HT<sub>4</sub> stimule les effets inotropes (contractilité cardiaque) et chronotropes (variation de la fréquence cardiaque) positifs. Il augmente à la fois le rythme cardiaque et la force de contraction. Il peut être responsable d'arythmies.

Au niveau de la vessie, on observe une facilitation de la miction via l'augmentation de la libération d'acétylcholine.

Enfin, l'activation du récepteur stimule la libération de cortisol et d'aldostérone dans les glandes surrénales, induisant une augmentation de la pression artérielle.

### **III.5.3.2 – Au niveau central**

Le récepteur 5-HT<sub>4</sub> joue un rôle dans les processus de cognition, mémoire, apprentissage, et dans les troubles mentaux<sup>112</sup>. Il est également impliqué dans le contrôle de la respiration, en augmentant le rythme respiratoire et réduisant la détresse respiratoire induite par les médicaments opioïdes (dérivés morphiniques)<sup>113</sup>.

Plusieurs équipes de recherches ont effectué des tests in vivo des agonistes 5-HT<sub>4</sub> chez les rats. Ces agonistes améliorent les performances mnésiques de la mémoire court terme et

celles de la mémoire à long terme (mémoire associative et spatiale)<sup>112,114,115</sup>. Ces effets sont inhibés par des antagonistes. Un traitement par un agoniste partiel restaure les déficits cognitifs observés chez le rat âgé, ou induit par la scopolamine (anti-cholinergique ou parasympholytique)<sup>116</sup>.

Une stimulation du récepteur 5-HT4 favorise la libération de neurotransmetteurs tels que l'acétylcholine (ACh) dans l'hippocampe et le cortex frontal, la dopamine dans le striatum, et la sérotonine dans l'hypophyse<sup>117-121</sup>.

La régulation de la libération d'acétylcholine est extrêmement importante, car ce neurotransmetteur est pro-cognitif. Ce sont principalement les neurones cholinergiques qui sont atteints lors de la maladie d'Alzheimer.

#### III.5.4 – Rôle du récepteur 5-HT4 dans le métabolisme de l'APP

Les récepteurs 5-HT4 sont principalement situés au niveau central dans l'hippocampe, les ganglions de la base, l'amygdale, et le cortex frontal. Ils jouent un rôle essentiel dans les processus de mémorisation et d'apprentissage<sup>122</sup>.

Chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, l'expression du récepteur 5-HT4 diminue de 66% dans l'hippocampe, et de 23% dans le cortex frontal<sup>123,124</sup>.

Des recherches effectuées in vitro ont démontré que la stimulation du récepteur 5-HT4 par la sérotonine dans la lignée cellulaire CHO (Chinese Hamster Ovary), induit une augmentation de la libération des fragments sAPP $\alpha$ , de manière dose et temps-dépendant<sup>125,126</sup>. Cette augmentation est certainement liée à l'activation de la voie non-amyloïdogénique ( $\alpha$ -sécrétase) (fig.22-Chp IV)<sup>127</sup>.

In vivo, la stimulation du récepteur 5-HT<sub>4</sub> par la Prucalopride, un agoniste 5-HT<sub>4</sub>, favorise la libération de sAPP $\alpha$  dans l'hippocampe de souris témoins et de souris atteintes de la maladie d'Alzheimer, sans modifier le niveau d'expression de l'ARNm de l'APP<sup>128</sup>. Le Prucalopride est inhibé par un antagoniste du récepteur 5-HT<sub>4</sub>, le GR125487.

La stimulation du récepteur 5-HT<sub>4</sub> par un agoniste partiel (RS67333) inhibe la production de A $\beta$ <sub>40</sub> et A $\beta$ <sub>42</sub>, et augmente la survie neuronale de manière dose-dépendante<sup>129</sup>.

Enfin l'association des traitements Prucalopride-Donépézil (AChEI) présente un effet synergique à la fois sur l'activation de la voie non-amyloïdogénique et sur les déficits d'acétylcholine (ACh) induits par les anti-cholinergiques (scopolamine)<sup>130</sup>. Le co-traitement restaure complètement l'amnésie, alors qu'une administration séparée de ces deux composés est sans effets ; d'où l'intérêt de la conception de MTDLs (Multi Target-Directed Ligands).

### III.6 – Le récepteur de la sérotonine de type 6 (5-HT<sub>6</sub>)

#### III.6.1 – Historique

Les récepteurs 5-HT<sub>6</sub> ont été identifiés et clonés pour la première fois chez le rat en 1993 par les équipes de Monsma, Plassat et Ruat<sup>131-133</sup>. L'ADN codant pour le récepteur 5-HT<sub>6</sub> a été cloné, en utilisant une stratégie basée sur une homologie de séquence de nucléotides à partir du récepteur histaminique H<sub>2</sub> chez le rat. Sa séquence codante correspond à une glycoprotéine de 436 acides aminés affichant une homologie significative avec d'autres récepteurs monoaminergiques clonés, par exemple divers récepteurs de la sérotonine<sup>131</sup>.

### III.6.2 – Voie de signalisation

Les récepteurs 5-HT<sub>6</sub> sont des récepteurs sérotoninergiques appartenant à la superfamille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à une protéine G. Tout comme les récepteurs 5-HT<sub>4</sub>, ceux-ci sont positivement liés à une adénylate cyclase par l'intermédiaire d'une protéine G de type G<sub>s</sub>. Ainsi, une stimulation du récepteur entraîne une activation de l'adénylate cyclase, ce qui augmente la formation d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) intracellulaire, ayant pour conséquence l'activation de la protéine kinase A (PK<sub>A</sub>) AMPC-dépendant, ce qui va entraîner une inhibition des canaux potassiques voltage-dépendants et une diminution de l'hyperpolarisation retardée. Par contre, l'inhibition de ce récepteur a pour conséquence une prolongation de l'excitabilité neuronale et une augmentation de la libération des neurotransmetteurs.

### III.6.3 – Localisation et rôle physiologique

La localisation des récepteurs 5-HT<sub>6</sub> est exclusivement au niveau central.

Les premières études d'hybridation in situ et de RT-PCR ont montré chez le rat une forte expression des ARNm codant pour le récepteur 5-HT<sub>6</sub> au niveau du striatum, des tubercules olfactifs et du noyau accumbens, une expression plus modérée au niveau du cortex cérébral, de l'hippocampe, du thalamus, de l'hypothalamus, et de l'amygdale, ainsi qu'une expression bien plus faible au niveau du cervelet. Les analyses par Northern Blot révèlent un taux élevé des récepteurs 5-HT<sub>6</sub> au niveau du noyaux caudés<sup>134,135</sup>.

La localisation des récepteurs 5-HT<sub>6</sub> à la fois dans les noyaux gris centraux, et dans le système limbique suggère que le récepteur participe aux fonctions motrices, au contrôle du comportement, de la dépression et de la cognition. Afin de déterminer l'implication des

récepteurs 5-HT6 dans les processus d'anxiété et de dépression, différentes études furent faites.

Ces études procèdent à l'administration intracérébroventriculaire d'oligonucléotides antisens dirigés contre les ARNm codant le récepteur 5-HT6 chez le rat <sup>136</sup>. Ce qui stoppa la synthèse du récepteur et par conséquent la libération du neurotransmetteur. On observe un syndrome comportemental transitoire, décrit par une augmentation du nombre d'étirements et de bâillements chez le rat. L'administration au préalable d'antagonistes muscariniques (atropine, méthylatropine) réduit ce syndrome, contrairement aux antagonistes dopaminergiques (haloperidol) <sup>136</sup>.

Les manifestations comportementales induites par le blocage des récepteurs 5-HT6 semblent donc résulter d'une augmentation de la neurotransmission cholinergique au niveau du striatum et du cortex frontal. Le blocage de ces derniers peut se révéler un moyen efficace de contrebalancer les déficits mnésiques résultant d'une diminution de la transmission cholinergique <sup>137</sup>.

Aucune étude n'a révélé l'implication des récepteurs 5-HT6 dans la mémoire du travail (stockage temporaire d'informations et leur traitement) en contradiction avec la mémoire épisodique, mais ils ont un rôle dans la mémoire procédurale (habileté motrice, savoir-faire, gestes habituels). Les antagonistes 5-HT6 présentent des effets bénéfiques dans différentes tâches de la mémoire en contrebalançant les déficits provoqués par des anticholinergiques <sup>138</sup>.

Des études présentent les premiers antagonistes anti 5-HT6 (Ro-046790, SB-271046) ayant des résultats similaires <sup>138,139</sup>. D'autres molécules ont été synthétisées par la suite. SB-271046 et SB-399885 améliorent les performances d'apprentissage et de rappel chez le rat

âgé. Le blocage des récepteurs 5-HT6 contrebalance donc les déficits de mémoires spontanées (vieillesse normale) <sup>140</sup>.

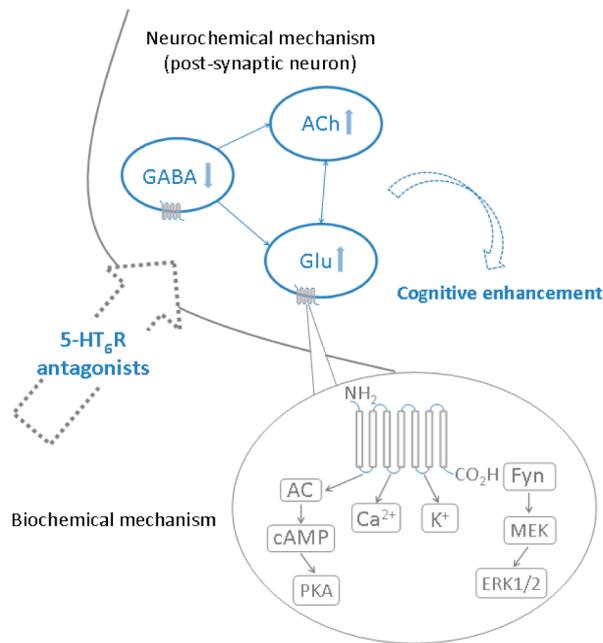
La molécule BGC20.761 induit un effet bénéfique sur les effets de consolidation de la mémoire de reconnaissance spatiale induit par la scopolamine (anti-cholinergique) <sup>141</sup>. Il possède une affinité pour les récepteurs 5-HT6 et 5-HT2.

En 2000, L.A. Dawson, H.Q. Nguyen et P. Li ont démontré le lien entre les récepteurs 5-HT6 et le système glutamatergique <sup>142</sup>. Il semblerait que le blocage des récepteurs 5-HT6 favorise la libération de glutamate au niveau de l'hippocampe et du cortex frontal, et que la molécule MK-801 (antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA) provoque une diminution du taux d'ARNm codant pour les récepteurs 5-HT6 au niveau du striatum.

En ce qui concerne la cognition et la fonction des récepteurs 5-HT6, nous avons signalé que l'administration de l'antagoniste Ro 04-6790 améliore la formation de la mémoire dans une tâche d'apprentissage de autoshaping <sup>143</sup>. En 2005, Perez-Garcia et Meneses ont démontré que les molécules SB-357134 et SB-399885 annulaient les effets du dizocilpine (MK-801) <sup>139</sup>.

Néanmoins, la mémantine (EBIXA<sup>®</sup>), médicament contre la maladie d'Alzheimer est un antagoniste non compétitif et d'affinité limitée des récepteurs NMDA <sup>3,4,11</sup>. La stimulation excessive des récepteurs NMDA provoque la mort neuronale. Les agonistes de ces récepteurs sont indiqués dans les troubles de la mémoire, tandis que les antagonistes comme la mémantine sont indiqués dans le traitement des pathologies neurodégénératives, les ischémies cérébrales et l'épilepsie <sup>47</sup>.

Les agonistes 5-HT6 augmentent la libération du neurotransmetteur GABA dans le cortex contrairement aux antagonistes 5-HT6 qui induisent justement un comportement d'excitation de la neurotransmission (système glutamatergique) <sup>144,145</sup>.



**Figure 17. Mécanismes neurochimiques et biochimiques impliqués dans le blocage des récepteurs 5-HT6 qui sont censés contribuer à l'amélioration cognitive induite par des antagonistes 5-HT6<sup>144</sup>.**

Ces études préliminaires montrent le lien et interactions entre les récepteurs 5-HT6, les systèmes cholinergiques, dopaminergique et glutamatergique<sup>146</sup> (fig.17). Ces études doivent être d'avantage approfondies en s'intéressant aux pathologies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson.

### III.7 – Notions d'agonistes biaisés

Chaque cellule dispose d'un complément unique de GPCR et d'autres protéines, qui dictent les voies de signalisation et des résultats fonctionnels. Ces voies ont un parti pris inhérent qui peut être manipulé en utilisant une variété de stratégies.

Les différentes structures (pré et postsynaptiques) ont des voies de signalisation différentes, ce qui explique leurs effets différents. Si on peut identifier des agonistes sélectifs pour une voie de signalisation donnée, on peut cibler une structure pré ou postsynaptique sans cibler les autres. Le principe des agonistes biaisés (AB) est de stimuler une certaine sous population de récepteur<sup>147</sup>.

Il a été prouvé que la stimulation du récepteur 5-HT6 par un agoniste ne conduit pas à la perte de valeur des processus cognitifs ; il améliore au contraire l'apprentissage et la mémoire, de la même manière qu'un antagoniste 5-HT6 <sup>148</sup>. Ces effets paradoxalement similaires ont suscité un certain intérêt, et plusieurs hypothèses ont été proposées <sup>149</sup>. Dans un premier temps, l'activité des composés qui ont été considérés comme des ligands du récepteur 5-HT6 de référence pourrait être due à l'activation de d'autres cibles. Dans un second temps, il a été suggéré que ces composés pourraient agir sur différentes populations de récepteurs, dans différentes régions du cerveau. La stimulation du récepteur par un agoniste, situé sur les neurones cholinergiques et glutamatergiques, ainsi que l'action d'un antagoniste du récepteur situé sur les neurones GABAergiques, conduirait à une augmentation de la libération d'acétylcholine (ACh) et de glutamate ; ce qui induirait des propriétés procognitives <sup>150</sup>. Enfin, certains de ces composés testés sont des agonistes partiels et peuvent donc comporter des ligands compétitifs. Or, il est plus probable que les différents ligands puissent agir à travers différentes voies de signalisation compétitives, à savoir par l'intermédiaire d'agonistes biaisés <sup>151</sup>.

L'activation de ces voies aurait donc un impact positif sur la cognition ; ce qui pourrait expliquer en partie l'influence de l'inactivation du récepteur 5-HT6 par un antagoniste, sur les propriétés procognitives <sup>152</sup>.

# Chapitre IV – Multi Target Directed Ligands (MTDLs)

---

## IV – Multi target directed ligands (MTDLs)

### IV.1 – Généralités

Le drug discovery moderne a été fortement axée sur le développement de médicaments destinés à agir contre une cible spécifique avec une grande puissance et une grande sélectivité.

Les médicaments frappant sur une cible unique (MMT) peuvent être inadéquates dans le traitement de maladies telles que les maladies neurodégénératives, le diabète, les maladies cardiovasculaires, ou le cancer qui impliquent de multiples facteurs pathogènes. Quand un seul médicament ne suffit pas pour traiter efficacement une maladie, une thérapie à plusieurs médicaments (« cocktail » ou « association médicamenteuse ») peut être utilisée. Mais cette approche peut être désavantageuse et entraîner des effets indésirables, ainsi qu'une mauvaise observance du patient (fig.18a). Une seconde approche peut être l'utilisation d'un médicament à multiples composants (MCM) (ex : CoTareg® = Valsartan + Hydrochlorothiazide), qui implique l'incorporation de différents principes actifs dans la même formulation, dans le but de simplifier les schémas posologiques et améliorer l'observance du patient <sup>84</sup>. La troisième approche est l'utilisation de médicaments multicibles. Les MTDLs (Multi Target Directed Ligands) possédant un pharmacophore unique vont être capables d'interagir avec différentes cibles afin d'induire un effet synergique contre une même maladie (fig 18b). Contrairement aux MTDLs à un pharmacophore, les molécules hybrides vont posséder différents pharmacophores spécifiques chacun d'une cible. La principale caractéristique de ces hybrides est la présence d'une chaîne hydrocarbonnée, appelée "linker", qui relie les pharmacophores entre eux <sup>84,153,154</sup>.

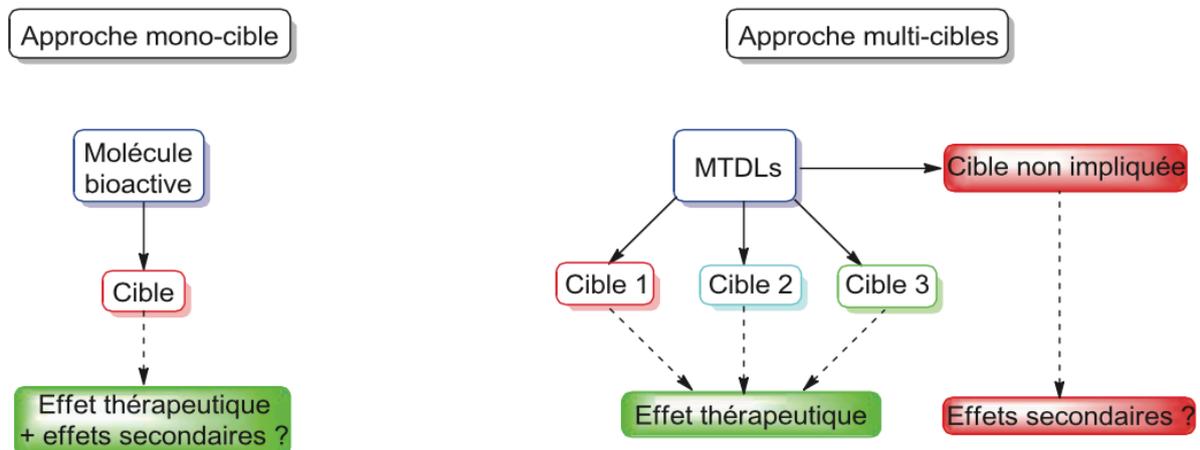


Figure 18. Chemins menant à la découverte de nouveaux médicaments : Approche mono-cible (a), Approche multi-cibles (b)<sup>84</sup>.

Aujourd'hui la conception d'une molécule unique MTDL capable d'interagir simultanément avec plusieurs cibles est donc une priorité majeure dans la découverte de nouveaux médicaments. Les maladies neurodégénératives sont peu susceptibles d'être traitées avec succès par des interventions pharmacologiques basées sur une cible unique. Par contre la modulation d'un ensemble optimal de cibles peut former une stratégie plus efficace ; notamment la modulation de cibles multiples peut aboutir à un effet synergique, bien que cet objectif soit généralement recherché dans les thérapies de combinaison par administration de deux ou plusieurs médicaments. Les médicaments multicibles visent le même objectif utilisant une même molécule. Les médicaments à cible unique peuvent provoquer des effets indésirables, une toxicité tissulaire, résultant d'une efficacité plus faible et d'une résistance. En revanche, certaines combinaisons de médicaments sont conçues pour réaliser un contrôle de la maladie plus durable, par des effets synergiques grâce à un non chevauchement des mécanismes d'action, des mécanismes de résistance et des toxicités distinctes<sup>155</sup>.

Pour obtenir de nouveaux MTDLs, une stratégie de conception est généralement appliquée, dans laquelle, des pharmacophores distincts de différents médicaments sont combinés dans la même structure pour donner des médicaments hybrides. Chaque pharmacophore de ces nouveaux médicaments doit conserver la capacité d'intégrer avec son site actif sur sa cible et donc induire sa réponse pharmacologique<sup>153</sup>. Le pharmacophore correspond aux parties des molécules portant les motifs essentiels responsables pour un médicament de son activité biologique.

Les tests de criblage haut débit permettent le profilage efficace d'un grand nombre de composés contre de nombreuses cibles. La nature multifonctionnelle de nombreux médicaments a été vérifiée et devrait probablement être prévue dans un avenir proche pour une majorité d'agents thérapeutiques<sup>84</sup>.

#### IV.2 – Avantages MTDL / thérapie par combinaison

Les avantages potentiels d'une thérapie ciblée fondée sur un seul médicament qui module l'activité des cibles thérapeutiques multiples sur une seule cible peuvent être prospectés par les points suivants :<sup>156</sup>

- Une molécule qui agit simultanément sur plusieurs cibles présente souvent une efficacité supérieure contre les maladies à un stade avancé par rapport à des composés ayant une haute spécificité pour une cible unique.
- Une molécule possédant une double activité peut avoir un profil pharmacocinétique plus prévisible par rapport aux médicaments détenant plusieurs principes actifs.
- Les toxicités aiguës et retardées peuvent être plus importantes dans les combinaisons de médicaments.

- La combinaison de plusieurs principes actifs des thérapies de combinaison peut entraîner une synergie positive, mais aussi négative, limitant le nombre de combinaisons.
- Les médicaments multicibles développent moins de résistances.
- L'utilisation de médicaments combinés complique le schéma posologique et a un impact négatif sur la conformité du patient.

#### IV.3 – MTDL et traitement des maladies neurodégénérative

La thérapie par combinaison a déjà fait ses preuves dans les traitements de maladies complexes telles que le cancer, VIH, HTA, où elle atteint une efficacité maximale en attaquant simultanément plusieurs cibles, par synergie.

Le nombre de médicaments multicibles brevetés a dépassé celui des médicaments à cible unique dans le traitement de maladie d'Alzheimer.

La conception de MTDLs représente une stratégie innovante dans le traitement de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer impliquant des cibles multiples<sup>84</sup>.

L'une des approches décrite dans l'exemple suivant a été de modifier la structure moléculaire de l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase (Donépézil) afin de lui fournir des propriétés biologiques supérieures utiles pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Le Donécopride est l'une de ces molécule, d'une part agoniste des récepteurs 5-HT4 et inhibiteur de l'acétylcholinestérase d'autre part (IV.4.2)<sup>9,10</sup>.

## IV.4 – Exemples

IV.4.1 – Cas d'un antagoniste 5-HT<sub>6</sub>/agoniste partiel du récepteur D<sub>2</sub>, ciblant les symptômes comportementaux et psychologiques de la démence

Une étude a été faite sur la conception de MTDLs agissant à la fois sur les récepteurs 5-HT<sub>6</sub> et D<sub>2</sub> par l'approche des structures des deux ligands connus et les sites de liaison des récepteurs ciblés.<sup>157</sup>

Cette étude a débuté par l'analyse des structures des antagonistes 5-HT<sub>6</sub>, celles des agonistes partiels D<sub>2</sub>, ainsi que leurs modes de liaison. L'objectif est donc de combiner les pharmacophores de ces deux types de ligands afin d'obtenir une molécule hybride qui pourrait se fixer sur les deux types de récepteurs.

Dans un premier temps, l'orientation spatiale de chaque pharmacophore dans son récepteur a été décrite. Par la suite les structures seront combinées pour obtenir un nouveau pharmacophore.

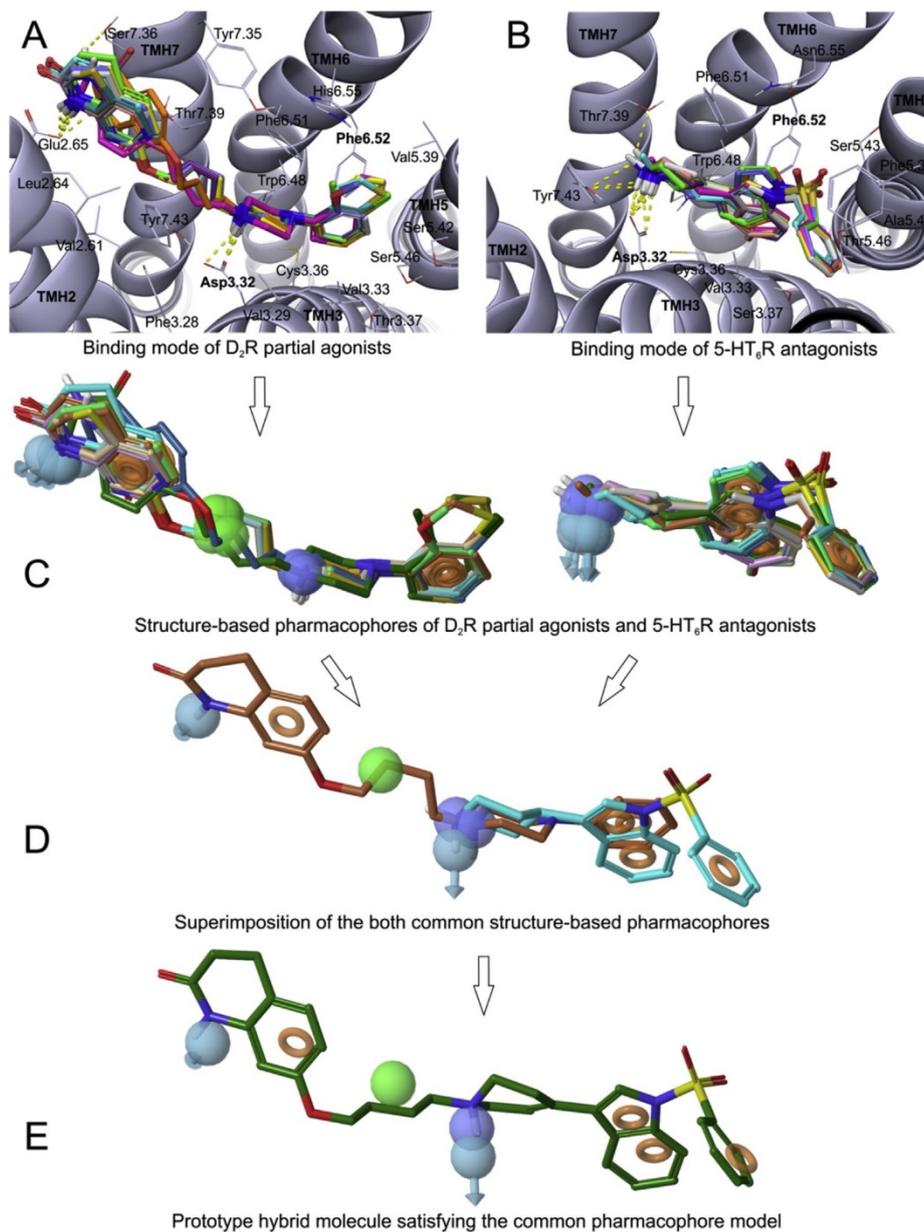
Des modèles de pharmacophores basés sur les récepteurs D<sub>2</sub> et développés pour des ligands du récepteur 5-HT<sub>6</sub> ont été superposés afin de déterminer les motifs chimiques et les régions communes nécessaires à double activité.

Le pharmacophore obtenu est le suivant : l'azote positivement ionisable et un cycle aromatique occupent les mêmes positions dans les deux sites de liaison, positions proches des résidus Asp3.32 et Phe6.52 connus en tant que points d'interaction importants pour les ligands monoaminergiques.

Les groupements aromatiques supplémentaires des antagonistes du récepteur 5-HT<sub>6</sub>, généralement fixés au principal cycle aryl par un fragment de sulfamide a été retrouvé dans

la cavité hydrophobe entre les domaines transmembranaires 4 et 5 par interaction avec le Phe5.38, alors que le cycle aromatique accompagné d'accepteurs et donneurs de liaison hydrogène caractéristiques des agonistes des récepteurs D2 partiels est élargi vers les domaines transmembranaires 2 et 7, interagissant avec la Glu2.65 et la Ser7.36. (fig.19)

Des analogues basés sur ce pharmacophore hybride ont été conçus, et représentent donc aujourd'hui une nouvelle piste dans les traitements ciblant les symptômes comportementaux et psychologiques de la démence comme la maladie d'Alzheimer.



**Figure 19. Conception de molécules hybrides. Modes de liaison proposés présentés pour les agonistes partiel du récepteur D<sub>2</sub> (A) et les antagonistes du récepteur 5-HT<sub>6</sub> (B). Modèles pharmacophores basés sur la structure générée en utilisant des ligands précédents (C). Superposition de modèles de pharmacophores (D). Molécule hybride de Prototype satisfait le modèle de pharmacophore commune (E) <sup>157</sup>.**

IV.4.2 – Cas du Donécopride ; agoniste 5-HT<sub>4</sub>/inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChEI) dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

Au CERMN, une étude a été faite sur la conception d'un MTDL agissant à la fois sur les récepteurs 5-HT<sub>4</sub> et l'acétylcholinestérase par l'approche des structures de ligands connus et les sites de liaison des récepteurs ciblés, d'intérêt dans le traitement de la maladie

d'Alzheimer. Le Donecopride a été conçu comme un compromis structurel entre le donépézil (Aricept®, Eisai), médicament inhibiteur de l'acétylcholinestérase, et le composé RS67333, agoniste du récepteur 5-HT4 (fig.20)<sup>9</sup>.

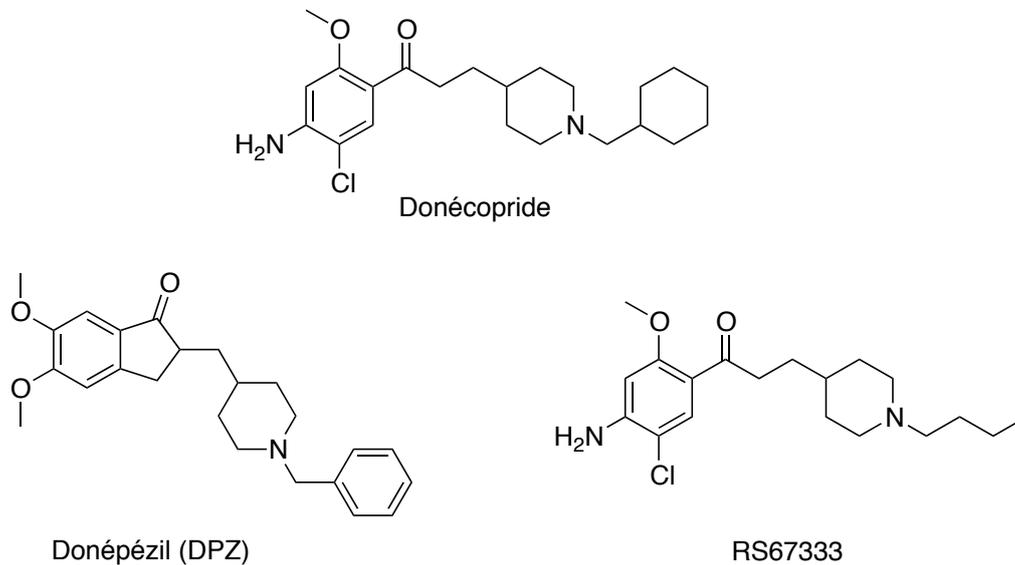
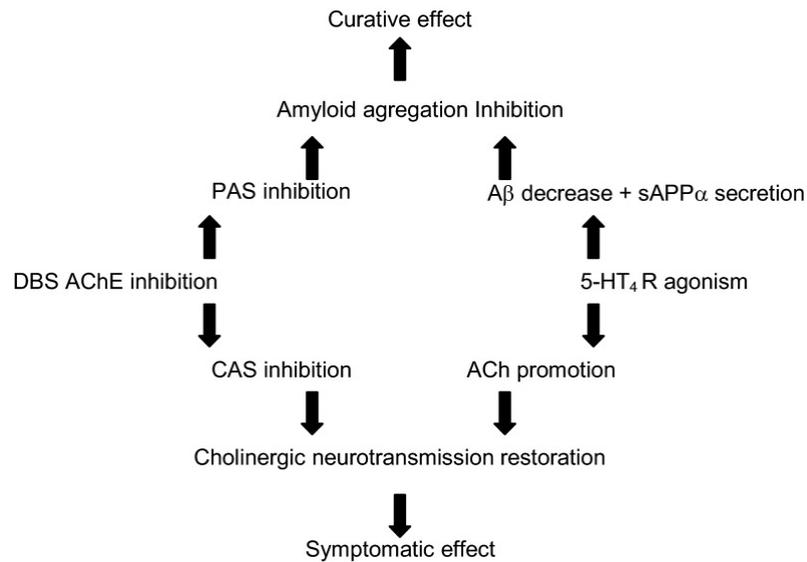


Figure 20. Structures du Donécopride, donépézil et RS67333<sup>9</sup>.

Le candidat médicament Donécopride exerce des effets symptomatiques à la fois in vitro par une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE), et un effet curatif par son activité agoniste partiel sur le récepteur sérotoninergique 5-HT4 permettant une diminution du taux de peptide A $\beta$ , ainsi que la sécrétion de la protéine sAPP $\alpha$ , conduisant à un effet in vivo sur les propriétés pro cognitives chez la souris.

Le profil MTDL du Donécopride semble conférer à celui-ci la possibilité d'afficher deux voies dans l'amélioration de la neurotransmission cholinergique, tout d'abord par l'inhibition de l'AChE catalytique, puis par la libération d'acétylcholine (ACh) 5-HT4-dépendant. Enfin la stimulation du récepteur 5-HT4 induit un effet curatif en jouant un rôle dans l'inhibition de l'accumulation et l'agrégation du peptide A $\beta$  (fig.21)<sup>9,10</sup>.



**Figure 21. Intérêt pleiotropique de la double action AChEI/agoniste 5-HT4R<sup>9,10</sup>.**

Ce deuxième effet s'explique par le clivage du précurseur du peptide A $\beta$ , 5-HT4-dépendant, favorisant la voie non-amyloïdogénique (fig.22). Le Donécopride interagit également avec le site anionique périphérique (PAS) de l'AChE, qui est capable de neutraliser le rôle de chaperon joué par celle-ci dans l'agrégation du peptide A $\beta$ . Ces activités complémentaires pourraient donc exercer à la fois un effet symptomatique et un effet curatif, et ainsi permettre le traitement de la maladie d'Alzheimer.

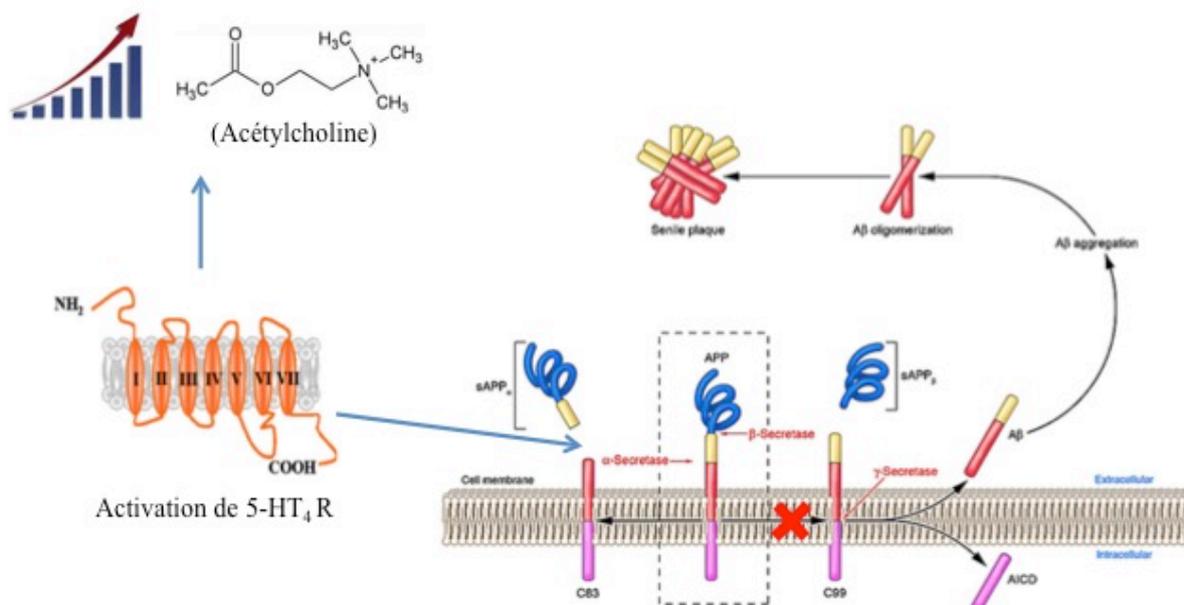


Figure 22. Effets symptomatiques et curatifs par l'activation de 5-HT<sub>4</sub>R<sup>158</sup>.

Le suivi préclinique du Donécopride sera nécessaire pour vérifier si cette molécule unique agissant simultanément sur deux cibles produit une action bénéfique au-delà de l'administration concomitante de deux substances actives dirigées vers ces mêmes récepteurs.

Les études de docking du donécopride ont été réalisées dans une structure d'acétylcholinestérase (AChE) humaine (PDB ED: 4EY7)<sup>159</sup>, ainsi que dans un modèle du récepteur 5-HT<sub>4</sub> humain. Les conformères de la structure cristalline du donécopride protoné sur le cycle pipéridine ont été amarrés séparément dans le modèle d'homologie du récepteur 5-HT<sub>4</sub> qui a été construit en utilisant la structure cristalline des récepteurs β<sub>2</sub>-adrénergique comme un modèle (PDB ED: 2RH1)<sup>160,161</sup>.

Au niveau du récepteur 5-HT<sub>4</sub>, l'azote de la pipéridine de base interagit avec l'Asp100, et une interaction polaire supplémentaire peut être engagée à travers l'azote basique et le groupe hydroxyle de la Tyr302. Le noyau benzénique est orienté vers l'hélice

transmembranaire 5 (TM5), et le substituant amino sur le noyau benzénique, forme une liaison hydrogène avec le groupe hydroxyle Ser197. Dans cette position, le cycle benzénique est entouré de plusieurs résidus aromatiques, orientés perpendiculairement à elle.

Au niveau de l'acétylcholinestérase (AChE), l'azote chargé de l'anneau de pipéridine est orienté dans une position qui est adaptée pour l'interaction avec une molécule d'eau à proximité de Tyr337 et Tyr341. Le carbonyle du donécopride forme une liaison hydrogène avec l'amine du squelette de la Phe295. Le noyau benzénique a été positionné de manière parallèle à l'anneau indole du Trp286 favorise une interaction de type  $\pi$ -stacking. Pour finir, l'anneau de cyclohexane du donécopride occupe l'espace du cycle benzyle du donépézil situé dans une poche proche du Trp86 (fig.23) <sup>9</sup>.

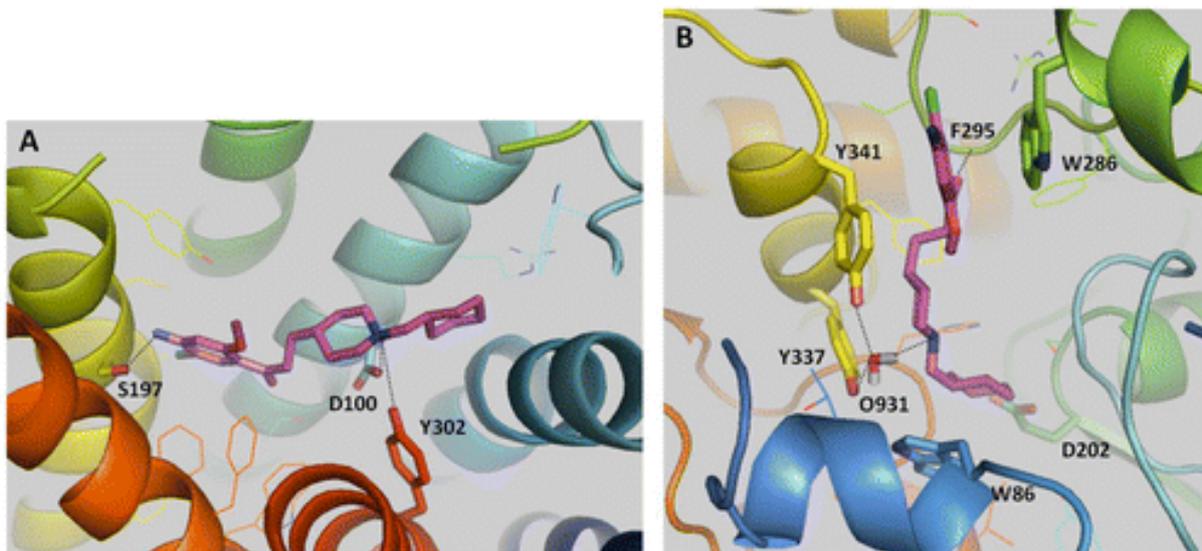


Figure 23. Donécopride positionné dans 5-HT4R (A) et AChE (B). Figure réalisé avec PYMOL <sup>9</sup>.

#### IV.4.3 – Conclusion

La stimulation simultanée de plusieurs récepteurs sérotoninergiques par la sérotonine a permis de découvrir son intérêt dans la maladie d'Alzheimer. Le blocage des transporteurs de recapture de la sérotonine par les antidépresseurs de type IRSR augmente le taux de

sérotonine dans la fente synaptique. Cependant, l'activation de tous ces récepteurs à la sérotonine n'est pas nécessairement la meilleure stratégie <sup>8</sup>. L'activation des récepteurs 5-HT4 stimule la voie de signalisation  $\beta$ -arrestine (ERK) (fig.24). La  $\beta$ -arrestine recrute et active dans un premier temps la protéine Src, puis un complexe protéique (sérine/thréonine kinase) dans un second temps. Les protéines Raf et ERK interagissent directement avec l'arrestine. La cascade de phosphorylation de ERK permet la phosphorylation des facteurs transcriptionnels régulant les gènes impliqués dans la production de sécrétases. L'activation de la voie ERK par les agonistes 5-HT4 augmente l'activité de l' $\alpha$ -sécrétase et diminue celle de la  $\gamma$ -sécrétase <sup>162</sup>. Par conséquent, cette stimulation induit une diminution de la toxicité et le nombre de peptides A $\beta$ . Le blocage des récepteurs 5-HT6 inhibe la voie de signalisation mTOR, qui par conséquent va entraîner un effet procognitif et permettre un contrôle des humeurs. Les effets seront identiques à ceux des antidépresseurs et des anxiolytiques <sup>151</sup>.

Ainsi, en combinant l'activation du récepteur 5-HT4, et le blocage du récepteur 5-HT6, on peut produire une meilleure activité thérapeutique (fig.24) <sup>8</sup>.

La thérapie de combinaison est une approche à considérer pour le traitement de maladies complexes telles que la maladie d'Alzheimer.

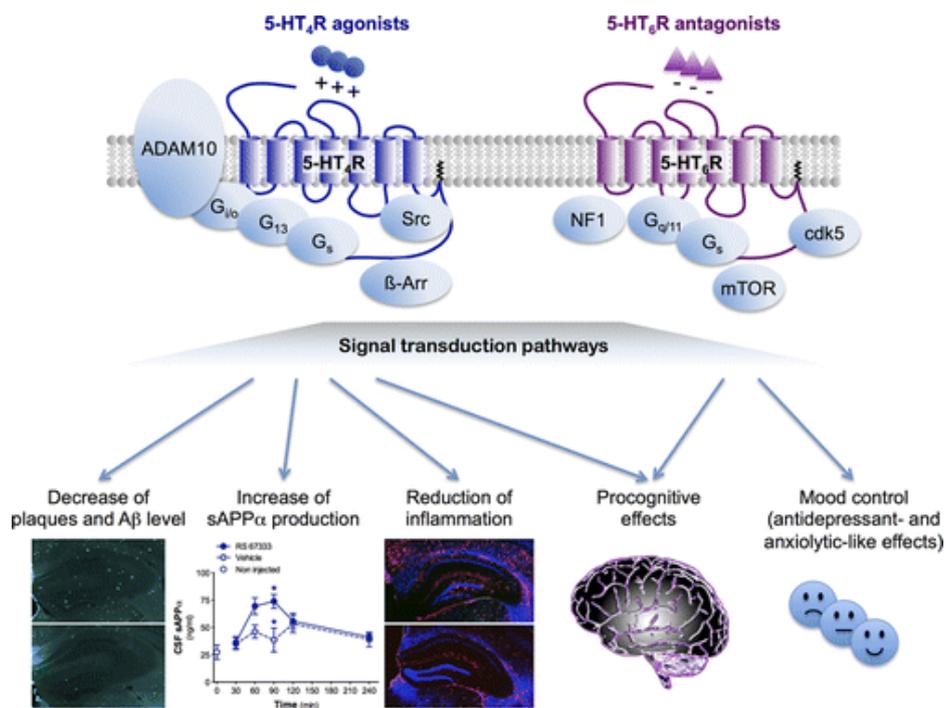


Figure 24. Les principales actions positives des agonistes des récepteurs 5-HT<sub>4</sub>R et des antagonistes 5-HT<sub>6</sub>R dans le contexte de la maladie d'Alzheimer<sup>8</sup>.

# Chapitre V – La modélisation moléculaire

---

## V – La modélisation moléculaire

### V.1 – Généralités

La modélisation moléculaire est une technique permettant d'analyser le comportement des molécules et par la suite des systèmes moléculaires. Aujourd'hui, la modélisation est invariablement associée à la modélisation informatique. Ces techniques informatiques ont révolutionné la modélisation moléculaire, dans la mesure où la plupart des calculs ne peuvent être réalisés sans la puissance de calcul d'un ordinateur.

Dans l'industrie pharmaceutique, classiquement, la recherche de nouveaux composés chimiques ayant un intérêt thérapeutique potentiel consiste à synthétiser de nombreuses séries de molécules et à les soumettre à des tests pharmacologiques pour déceler une éventuelle activité biologique. Cette méthode de screening présente un défaut certain ; son caractère aléatoire, qui lui confère une faible rentabilité, une importante mobilisation humaine et un coût financier important. Pourtant, la quasi-totalité des médicaments actuellement commercialisés est encore issue de ce type d'approche. L'activité biologique d'une molécule dépend en outre de sa constitution chimique et de sa structure tridimensionnelle, laquelle détermine son interaction avec un récepteur. Une meilleure connaissance des relations structures-activités (RSA) permet la mise au point de nouveaux agents thérapeutiques. Cette notion de relation structure-activité repose tout d'abord sur le développement et l'utilisation de techniques d'analyses structurales telles que la radiocristallographie (RX) et la résonance magnétique nucléaire (RMN), et ensuite sur des techniques théoriques permettant de visualiser, de manipuler les structures et d'effectuer des calculs pour caractériser leurs propriétés conformationnelles et électroniques d'autre part. La modélisation moléculaire est un outil informatique désormais indispensable aux

chimistes organiciens spécialisés en drug design, leurs permettant la conception de nouvelles molécules et d'essayer de faire des prédictions sur l'activité biologique de composés nouveaux. Les chimistes modulent par la suite la structure par pharmacomodulation afin d'optimiser l'affinité, la sélectivité et le profil pharmacologique souhaité. L'approche 3D permettra donc une nouvelle approche des RSA (au lieu d'une approche 2D classique en chimie thérapeutique (comparaison des structures)) et découvrir ainsi de nouvelles hypothèses (choix des hits et/ou modifications structurales à réaliser).

## V.2 – Base de données

### V.2.1 – ChEMBLdb

La recherche de structures 2D est très largement utilisée pour identifier les différentes caractéristiques des molécules. Cependant cette seule approche est sérieusement limitée si nous souhaitons découvrir de nouvelles molécules avec des activités biologiques. C'est la raison pour laquelle, les caractéristiques des représentations 3D sont importantes pour comprendre la reconnaissance moléculaire du ligand pour son récepteur. Les banques de données de structures en 3D contiennent des informations supplémentaires sur les propriétés de la conformation géométrique et sur les caractéristiques fonctionnelles des molécules. Au cours de cette étude, nous avons exploité la base de données ChEMBLdb<sup>163</sup> (données accessibles sur internet) pour les ligands 5-HT6 ainsi qu'une base comprenant les molécules synthétisée par le CERMN, représentées sous forme 2D. Les quatre bases de données générées sont les suivantes: *5-HT6\_chemblpdb*, *struct\_Samir\_famille1db*, *struct\_Samir\_famille2db* et *hypothèses\_db*.

## V.2.2 – La Chimiothèque du CERMN

La chimiothèque du CERMN, créée en 1998 par le professeur S. Rault est destinée à tester les dérivés vis à vis des récepteurs sérotoninergiques. La chimiothèque s'est largement enrichie, et compte aujourd'hui près de 15 000 composés, qui ont fait l'objet de nombreux criblages <sup>164</sup>. Cette richesse de composés chimique du laboratoire a permis de mettre en évidence de nouvelles activités biologiques sur des cibles diverses, dans les domaines de la cancérologie et des neurosciences.

## V.3 – Espace conformationnel

### V.3.1 – Analyse conformationnelle

La connaissance de la structure tridimensionnelle d'une molécule est essentielle, car elle permet de prédire les propriétés physiques, chimiques et biologiques de la molécule. On appelle conformation les différents arrangements spatiales des atomes dans la molécule.

Les données issues de ChEMBLdb (2251 ligands *5-HT6\_chembl*) sont décrites sous forme de codes SMILES <sup>165</sup> (exemple sérotonine : NCCc1c[nH]c2ccc(O)cc12). Celles-ci sont classées dans un document excel (.csv, .xls) contenant en plus les valeurs de  $K_i$  correspondantes (rat, souris, homme) et les références bibliographiques. Le logiciel Pipeline Pilot va convertir le code SMILES au format sdf, générer une première structure 3D et trier les doublons des molécules répertoriées dans le document Excel. Dans un second temps, les conformations des structures 3D sont minimisées avec le logiciel Canvas de Schrödinger (import du fichier sdf). La minimisation de l'énergie nous permet d'accéder à un minimum local en énergie potentielle. Chaque molécule choisie a été affinée par simulation de la mécanique moléculaire, en utilisant le champ de force OPLS\_2005 avec l'eau comme modèle de solvant continu. Pour la minimisation de l'énergie, nous avons appliqué une méthode de

gradient conjugué (PRCG), avec comme critère de convergence un gradient d'énergie potentielle inférieure ou égale à 0,05 kcal.mol<sup>-1</sup>.Å<sup>-1</sup>. Les molécules sont flexibles, et possèdent donc plusieurs conformations spatiales régies par une énergie potentielle. Les conformations sont inter-convertibles entre elles par des rotations autour des liaisons simples ou par flexibilité des structures cycliques. Le but ici est d'identifier la conformation idéale de la molécule, par l'exploration de la surface d'énergie potentielle et la localisation des conformations correspondant aux minima d'énergies potentielles. Chaque structure est associée à des minima locaux, et un minimum global pour les conformations, ce dernier correspondant à la conformation la plus stable. Il n'existe pas de méthode mathématique générale qui permette de trouver le minimum global. Etant donné que la méthode de minimisation d'énergie mène le plus souvent vers un minimum d'énergie locale, une analyse conformationnelle (eq.1) est nécessaire pour identifier le minimum global et l'ensemble des minima. L'analyse conformationnelle par les méthodes de type recherche linéaire, systématique ou stochastique, s'intéresse aux liaisons simples et aux cycles<sup>166</sup>. Nous avons utilisé ici la méthode de la recherche systématique (méthode SPMC), méthode permettant de réduire le nombre de conformations théoriques décrites par la formule ci-dessous (élimination des rotations associées à des "chocs" stériques). Les conformations sont minimisées à la fin du processus permettant d'accéder à un nombre nettement plus restreint de conformations.

$$\text{Nombre total de conformations} = \prod_i^N \frac{360}{\theta_i}$$

**Équation 1. Equation du nombre de conformations en recherche exhaustive avec N pour le nombre de liaisons rotatoires et  $\theta$  pour l'incrément.**

### V.3.2 – Dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire est basée sur l'intégration des lois de la mécanique newtonienne pour reproduire le mouvement d'une structure moléculaire, et ainsi générer des conformations. Une simulation de dynamique moléculaire consiste à calculer l'évolution d'un système de particules au cours du temps. Ces simulations servent de modèles structuraux et dynamiques pour la compréhension des résultats expérimentaux. On souhaite donc évaluer la position et la vitesse des particules <sup>166</sup>.

### V.4 – Pharmacophores

Au début du XX<sup>e</sup> siècle, Paul Ehrlich définit le pharmacophore comme les parties moléculaires portant (phoros) les motifs essentiels responsables pour un médicament, (pharmacon) de son activité biologique. Les ligands portent donc des groupements fonctionnels responsables de leur activité <sup>167,168</sup>.

Une définition plus récente a été proposée par Gund en 1977 <sup>169,170</sup>. Celui-ci nous indique qu'il s'agit d'un ensemble de motifs structuraux d'une molécule reconnu au niveau du site récepteur et responsable de l'activité biologique de cette molécule.

Une définition du pharmacophore a été publiée par l'IUPAC <sup>171</sup> (section de chimie thérapeutique) en 1998 : « *Un pharmacophore est un ensemble de motifs stériques et électroniques nécessaires pour assurer des interactions supramoléculaires optimales avec une structure biologique cible spécifique, cela conduisant à une réponse biologique (activation ou blocage de cette réponse)* ».

Cette définition a été complétée par les éléments suivants : « *Un pharmacophore ne représente pas une molécule réelle ou une association réelle de groupements fonctionnels,*

*mais un concept purement abstrait considérant les capacités d'un groupe de composés de réaliser le même type d'interactions vis-à-vis d'un récepteur. Il peut être défini comme le plus grand dénominateur commun associé à ce groupe de composés. Ces définitions écartent d'emblée une utilisation incorrecte en chimie thérapeutique qui consiste à parler de pharmacophore pour des fonctions chimiques comme les guanidines, sulfonamides ou dihydroimidazoles ou pour des structures particulières comme les flavones, phénothiazines, prostaglandines ou stéroïdes »<sup>166</sup>.*

Les pharmacophores ont été construits en utilisant l'application *Phase* de Maestro, Schrödinger. Ce logiciel est à même de reconnaître les fonctions pharmacophoriques présentes sur les structures<sup>172</sup>. Cinq types de fonctionnalités étaient classiquement présents pour nos dérivés : Accepteur de Liaison Hydrogène (HBA), Donneur de Liaison Hydrogène (HBD), groupement hydrophobe (HYD), groupement positivement ionisable (PI) et cycle aromatique (R).

Un pharmacophore 3D représente la relation spatiale entre ses différents motifs, relations en termes de distances, d'angles et de plans. Le pharmacophore est classiquement construit à partir d'un petit échantillon de structures actives sur un même récepteur et possédant un même profil pharmacologique. L'application informatique crée dans un premier temps les différents sites pharmacophoriques de chaque structure sélectionnée puis détermine les motifs communs (une sélection du nombre de motifs choisis est possible (3 à 6)). Sur la base des pharmacophores identifiées (appelées « hypothèses »), le programme va calculer le score des hypothèses et les valeurs de *fit* pour chaque structure. La position d'un motif peut être associée à un seul point, mais il est préférable de permettre une tolérance autour de ce point. Cette tolérance correspond à une sphère autour de la position optimum. La valeur de

*fit* considère la variation de position des motifs vis à vis de leurs positions optimales en admettant l'alignement global de la structure sur le pharmacophore. Il s'agit du critère de base pour estimer la qualité du mapping. Les hypothèses de pharmacophores sont classées en fonction de l'ensemble des valeurs de *fit* et de leur complexité (nombre de motifs) <sup>172</sup>.

A titre d'illustration sur la notion de pharmacophore, je vous présente les résultats réalisés en 2014 par l'équipe de Bellinda Benhamù qui propose un pharmacophore des antagonistes 5-HT<sub>6</sub> composé des 4 motifs suivants : Un accepteur de Liaison Hydrogène (HBA) (vert), un groupement hydrophobe (HYD) (bleu), un groupement positivement ionisable (PI) (rouge) et un cycle aromatique (R) (jaune) (fig.25, 26) <sup>144</sup>. Ces résultats seront exploités dans le chapitre VI.

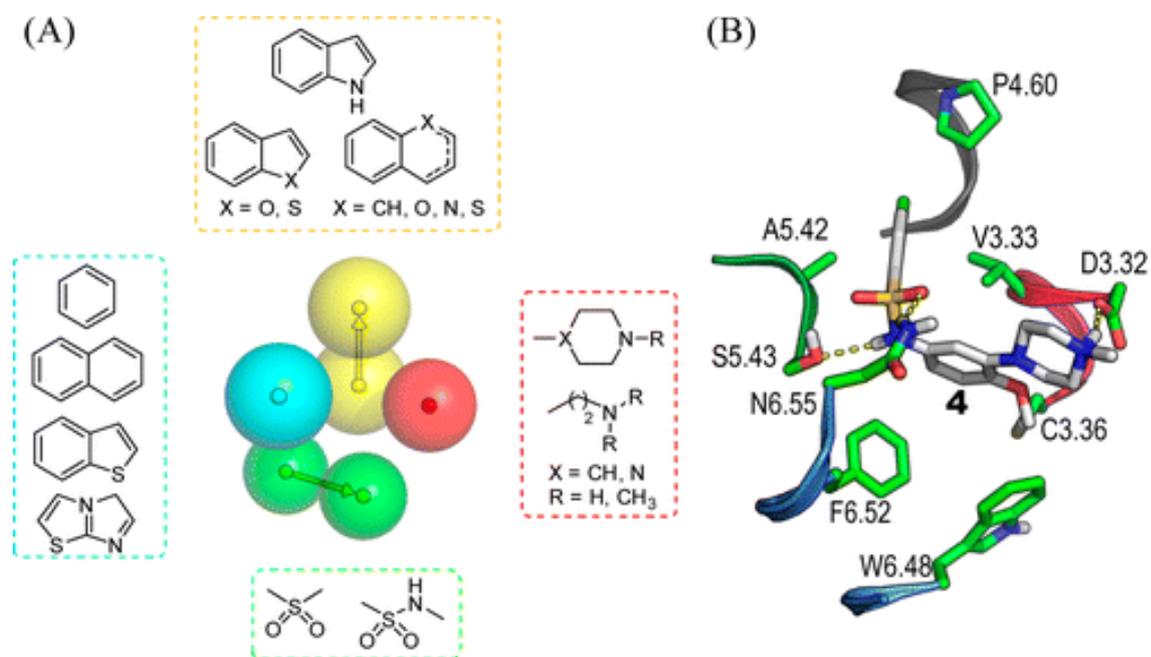


Figure 25. (A) Les fragments structuraux couvrant caractéristiques communes des pharmacophores des antagonistes 5-HT<sub>6</sub>R. (B) Modèle moléculaire de l'antagoniste dans un complexe avec un récepteur 5-HT<sub>6</sub> basé sur un modèle d'homologie 5-HT<sub>1</sub> <sup>144</sup>.

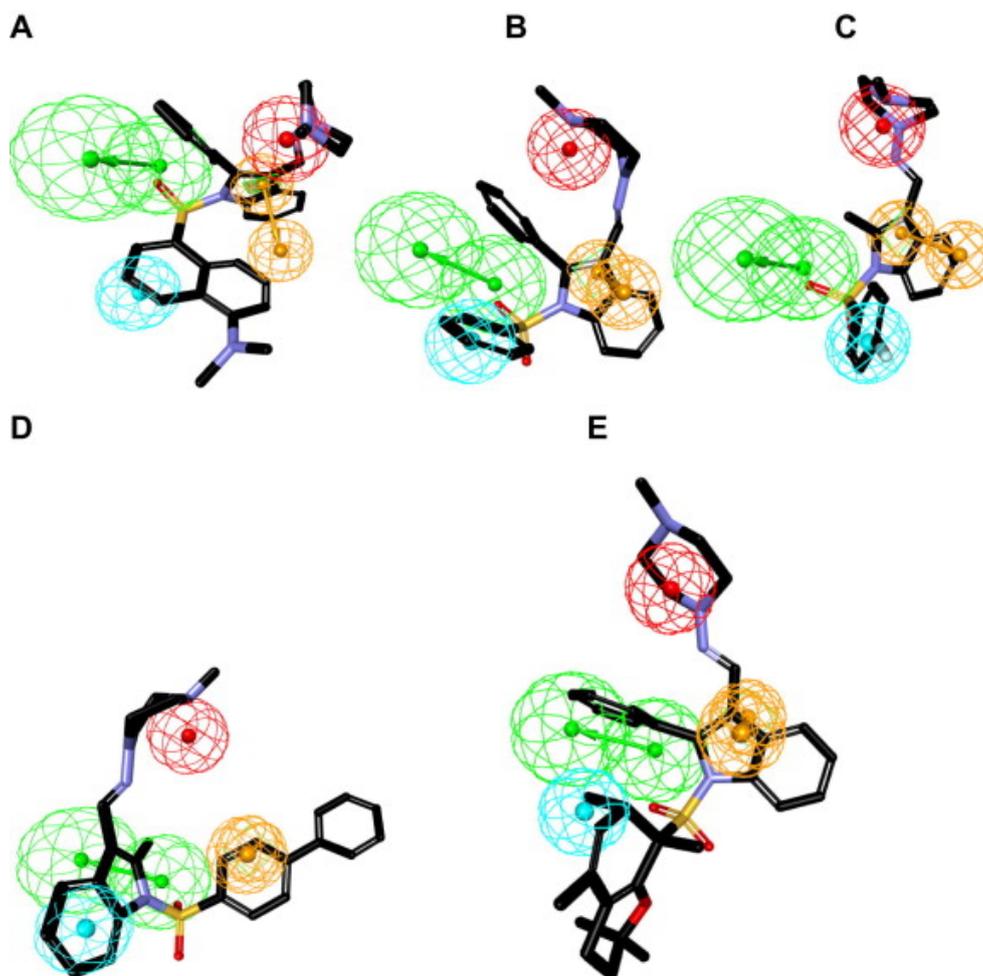


Figure 26. Exemples de mapping antagonistes 5-HT6 <sup>173</sup>.

Il est impératif de considérer les différentes conformations des molécules, et donc leur flexibilité. Ces conformations sont déterminées par la recherche systématique. Il est important également de considérer que les molécules actives utilisées pour la conception du pharmacophore se lient de façon équivalente à la cible.

Après analyse des banques de données chimiques, tous les composés en accord avec le pharmacophore sont sélectionnés et classés en fonction de la valeur de *fit*.

#### V.5 – Clustering

La classification ou clustering de molécules est basée sur la détermination d'une similarité entre celles-ci <sup>174</sup>. La notion de fingerprint associé à chaque structure représente la

base pour la détermination de la similarité. Pour cette définition, les molécules peuvent être caractérisées par la présence (valeur 1) ou l'absence de fragments moléculaires (valeur 0). La suite des numéros 0 et 1 constitue le fingerprint. Au cours de cette étude, nous avons utilisé le coefficient de Tanimoto pour mesurer la similarité. Le coefficient de Tanimoto (eq.2) correspond au nombre de bits communs (C) par rapport aux nombres de bits (on) définis dans l'ensemble (A et B). Nous avons utilisé par la suite une méthode de classification non hiérarchique type K-Means. La valeur de K va définir le nombre de clusters. Cette méthode assigne chaque molécule à l'amorce la plus proche, et détermine le centroïde pour chaque cluster. A partir des 2251 structures pour les ligands 5-HT6, 30 clusters ont été définis comme base.

$$\text{Tanimoto} = C/(A+B-C)$$

Équation 2. Coefficient de similarité par la méthode de Tanimoto.

## V.6 – Docking

Le docking permet de positionner un ligand dans le site de liaison d'un récepteur en considérant les interactions optimales avec ce récepteur. La recherche des structures tridimensionnelles des récepteurs se fait sur des bases de données comme la *protein data bank* (PDB)<sup>175</sup> ou Uniprot<sup>176,177</sup>. Dans ce processus, nous tentons de prédire les complexes intermoléculaires formés entre deux ou plusieurs molécules. Les algorithmes sont capables de générer un nombre important de complexes en considérant le récepteur et le ligand de façon flexible ou rigide. L'objectif est de caractériser les molécules présentant le plus d'intérêt à travers une estimation de la variation d'énergie libre<sup>178-181</sup>. La principale limite réside par conséquent dans l'exploration de l'espace conformationnel du complexe et donc le nombre de degré de liberté du système moléculaire est difficile à appréhender<sup>182</sup>.

Les solutions potentielles (complexe ligand–récepteur) sont évaluées classiquement par une fonction de scoring traduisant l’affinité de la molécule pour sa cible <sup>183</sup>. L’espace de recherche pour le complexe peut se résumer à deux méthodes, que sont les méthodes géométriques et énergétiques <sup>182</sup>.

- La méthode géométrique s’explique par la mise en place de points pharmacophoriques sur le ligand et la protéine. Ensuite, ces points sont superposés afin de confirmer la compatibilité entre la protéine et le ligand.
- La méthode énergétique peut se faire par la méthode de Monte-Carlo, qui correspond à une modification aléatoire de la conformation du ligand et de la protéine par minimisation ou par un algorithme génétique.

Au cours de cette étude, nous avons utilisé la méthode géométrique à l’aide de l’application *Glide* de Maestro Schrödinger <sup>157,164,179,184,185</sup>.

Le processus pour la réalisation du docking a été le suivant :

Les données 3D du récepteur subissent un prétraitement, en corrigeant les principaux problèmes structuraux : ordres de liaisons, addition et orientation des hydrogènes, modélisation des chaînes latérales et des boucles manquantes. Ce processus est suivi par une minimisation du récepteur, afin d’obtenir une conformation plus stable. Pour cette étape, le critère de convergence est une déviation maximum de 0,3 Å au niveau des atomes lourds (RMSD). Le site actif est précisé par une méthode de grille permettant de déterminer point par point les zones d’interactions au niveau du site actif.

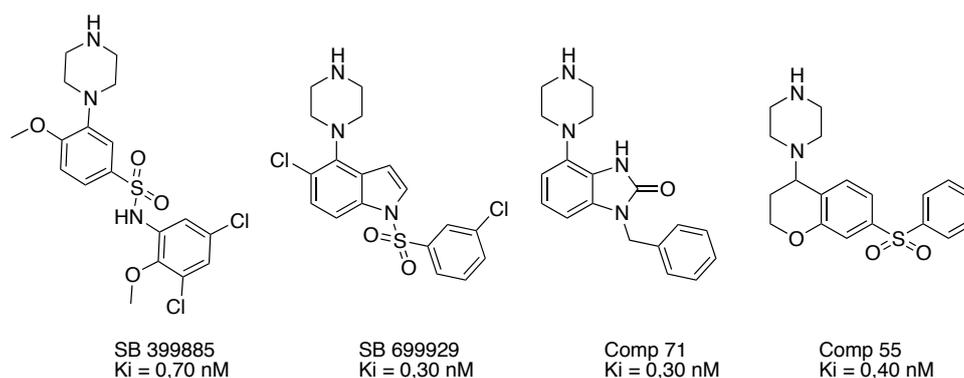
# Chapitre VI - Résultats

---

## VI – Résultats

### VI.1 – Construction des Pharmacophores tridimensionnels

Dans une revue parue en 2014, Bellinda Benhamù <sup>144</sup> a classé les antagonistes 5-HT<sub>6</sub> en 4 grandes familles chimiques (fig.27): les bisaryl sulfonamides (SB399885), les dérivés indoles (SB699929), les composés sans groupement sulfonyl (comp71), et les dérivés Indole-like (comp55). Nous avons choisi un représentant par famille chimique de la publication de Benhamù en fonction de leur valeur  $K_i$  possédant un même ordre de grandeur au niveau de l'activité.



**Figure 27. Molécules de référence, à l'origine du pharmacophore.**

Les quatre structures associées à la publication (fig.27) nous ont servi de base pour la définition des pharmacophores (nommés hypothèses). Nous avons abouti aux deux hypothèses suivantes (fig.28). La première est constituée d'un motif aromatique (R) (orange), d'un motif accepteur de liaisons hydrogènes (HBA) (rouge) et d'un motif positivement ionisable (PI) (bleu). La deuxième possède en plus un motif hydrophobe (HYD) (vert) <sup>144</sup>.

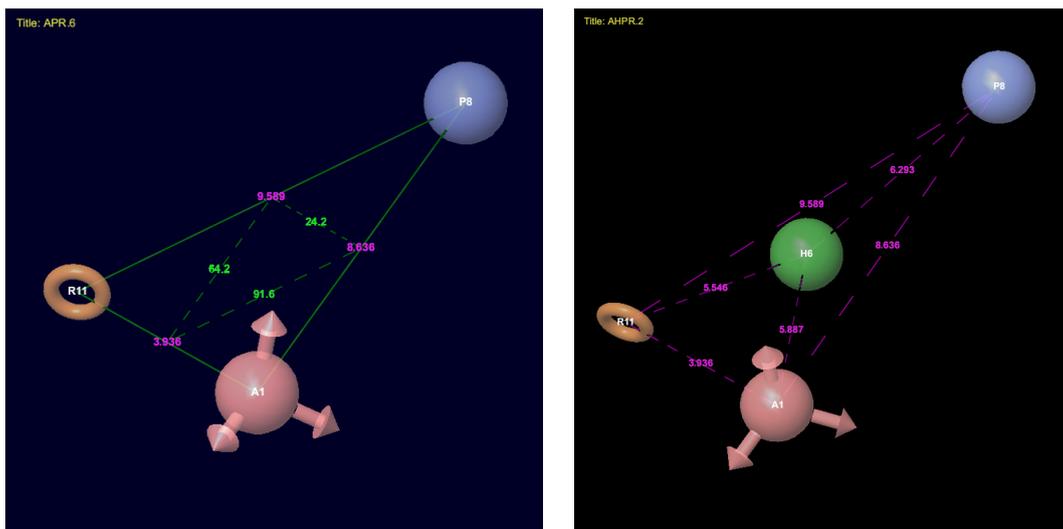


Figure 28. Pharmacophores à 3 (gauche), et 4 motifs avec les distances et les angles pour un des pharmacophores.

Dans l'objectif de valider notre modèle, ces deux pharmacophores (fig.28) vont être ensuite alignés sur nos bases de données.

En plus de la base de données *5-HT6\_chembl*, nous avons travaillé à partir des deux familles de molécules dérivées du Donécopride (fig.29).

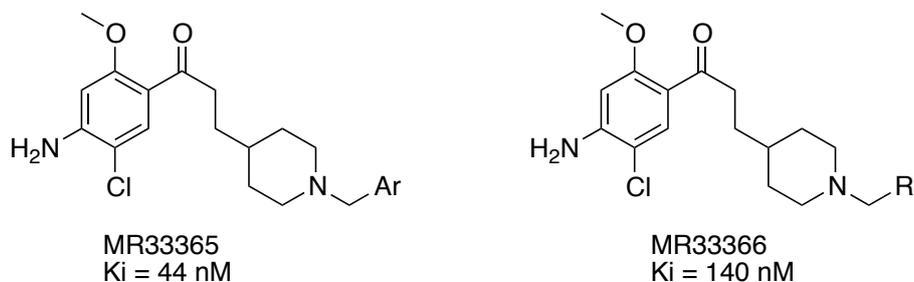


Figure 29. Molécules de référence du CERMN: familles 1 (MR33365), et 2 (MR33366).

#### VI.1.1 – Pharmacophore à 3 motifs APR

En partant des 2251 structures de *5-HT6\_chembl* sur ce pharmacophore (fig.30), le nombre maximum de molécules est obtenu c'est à dire les 1000 meilleures structures en partant des valeurs de *fit*. 885 d'entre elles possèdent une affinité inférieure à 100 nM pour le récepteur 5-HT6 (sur 1470 au départ). Cette étape prouve donc que notre hypothèse est

valable avec une valeur de GH de 0,77 pour ce pharmacophore (on considère un pharmacophore valable pour une valeur de GH > 0,6) (eq.3) <sup>186</sup>. La valeur de *fit* est comprise entre 2,69 et 2,03. Ces 1000 structures ont été classées en 30 clusters (Annexe 1).

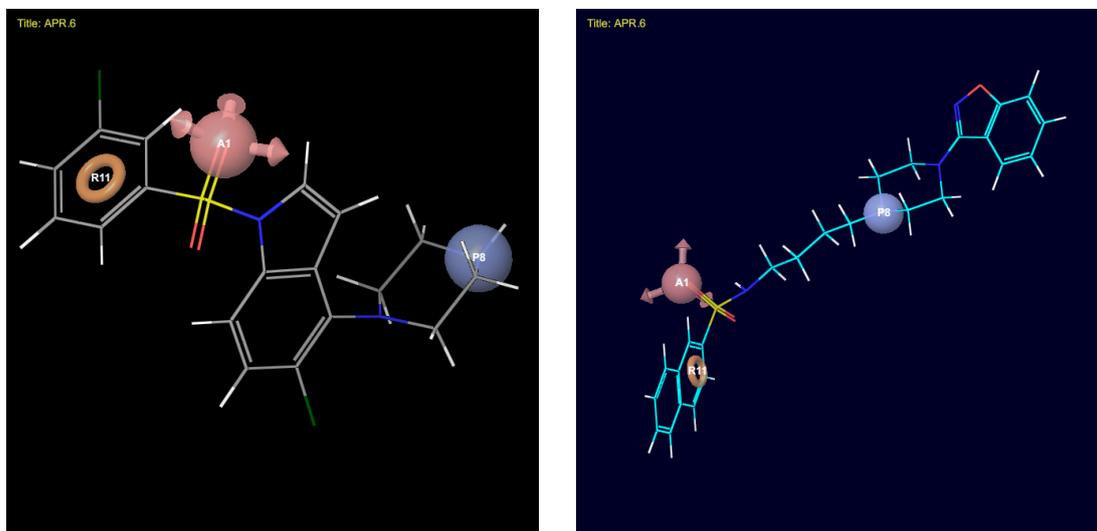
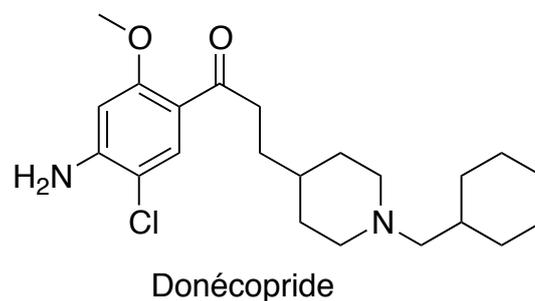
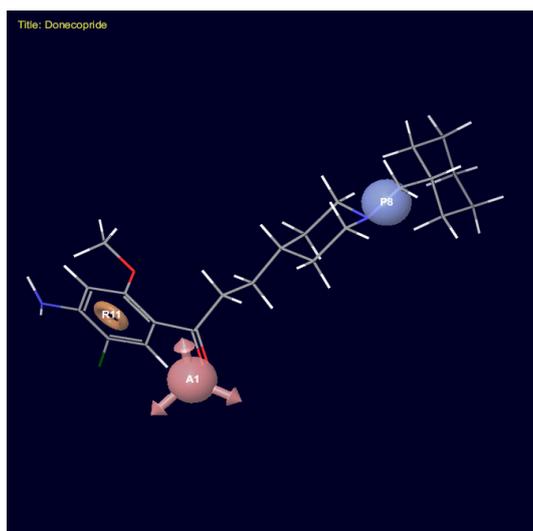


Figure 30. Alignement de SB699929 (gauche), et chembl13289978 (droite) sur ce pharmacophore.

Nous avons testé la superposition de la structure cristallographique du Donécopride sur ce pharmacophore (fig.31) Celle-ci s'aligne pour une valeur de *fit* de 1,797. Ce qui démontre l'accord avec des ligands 5-HT4.

$$GH = \frac{\frac{H_A}{H_T} + \frac{H_A}{A}}{2} = \frac{H_A(A + H_T)}{2AH_T}$$

Équation 3. Paramètre GH déterminant la qualité du pharmacophore, avec HA/HT correspondant au rapport des actifs dans les hits par rapport au nombre de hits, et (HA/A) correspondant au rapport des actifs dans les hits par rapport au nombre d'actifs dans le jeu de données. . Le paramètre GH varie entre 0 et 1 <sup>166</sup>.



**Figure 31. Alignement du Donécopride sur ce pharmacophore.**

Cette information nous a aiguillé vers les molécules synthétisées par le CERMN, que nous avons ensuite superposées sur le pharmacophore. Toutes ses structures s’y alignent de façon équivalente au donécopride (fig.31). Les valeurs de *fit* sont comprises entre 1,648 et 1,88.

Ce pharmacophore est donc commun aux récepteurs 5-HT4 (agoniste), et 5-HT6 (antagoniste).

#### VI.1.2 – Pharmacophore à 4 motifs AHPR

Nous avons appliqué la même méthodologie que précédemment (pharmacophore à 3 motifs). En alignant les 2251 structures de *5-HT6\_chemblpdb* sur ce pharmacophore (fig.32), le nombre maximum de molécules est obtenu c’est à dire les 1000 meilleures structures en partant des valeurs de *fit*. 906 d’entre elles possèdent une affinité inférieure à 100 nM pour le récepteur 5-HT6 (sur 1470 au départ). La valeur de *fit* est comprise entre 1,508 et 2,57. Ces 1000 structures ont été classées en 30 clusters (Annexe 2) par la méthode du *K-Means*.

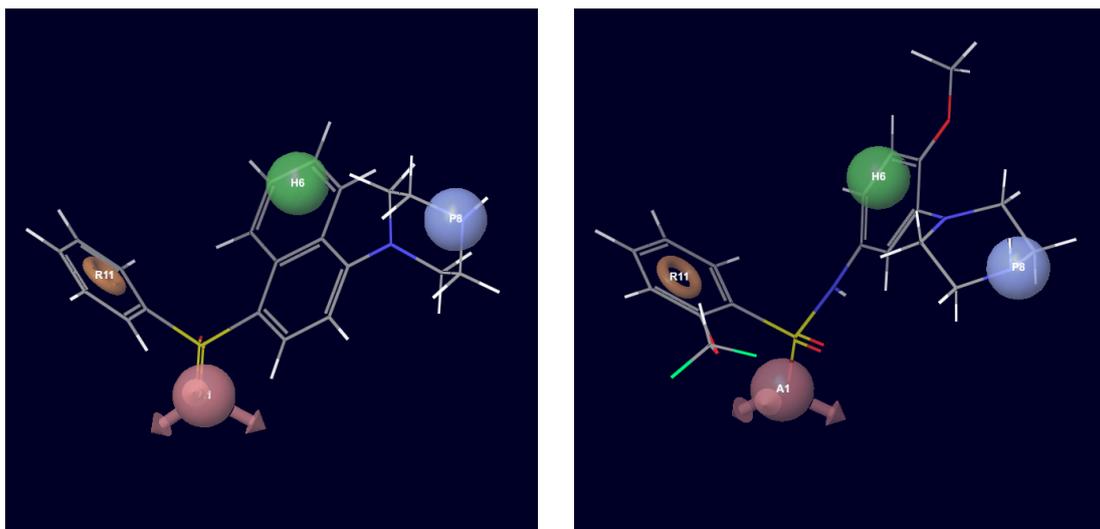


Figure 32. Alignement de chembl1181599 (gauche), et chembl1210711 (droite) sur ce pharmacophore.

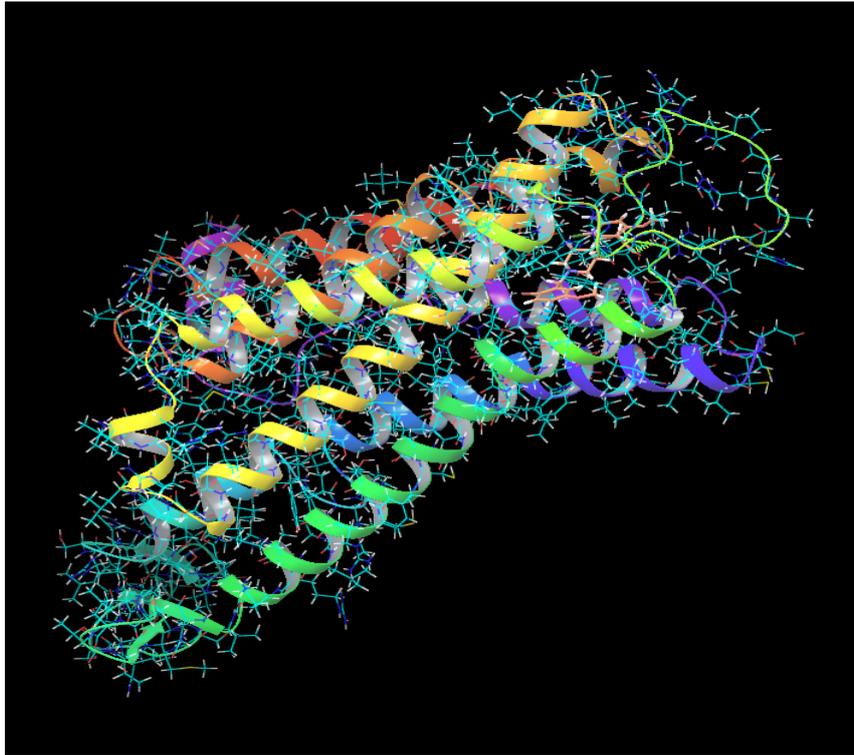
Comme précédemment, nous avons aligné les molécules dérivées du Donécopride sur ce pharmacophore. Aucune d'entre elles ne fittent.

Le pharmacophore à 4 motifs présente moins d'intérêt que celui à 3 motifs, car aucune des structures actives sur 5-HT6 et synthétisées au CERMN ne s'y alignent. Néanmoins il semble plus adapté aux antagonistes 5-HT6 sélectionnés par Benhamù<sup>144</sup>.

La suite des analyses a été effectuée à partir du pharmacophore à 3 motifs qui précise les caractéristiques communes des agonistes 5-HT4 et antagonistes 5-HT6.

## VI.2 – Docking

La représentation 3D (.pdb) du récepteur 5-HT6 (P50406) (fig.33) sur lequel nous avons travaillé a été récupérée sur le site *Uniprot*<sup>187</sup>. Elle a été obtenue par une méthode de modélisation par homologie. La structure de référence est une structure  $\beta$ 1-adrénérique (PDB.2Y00) qui possède 35% d'identité de séquence avec le récepteur 5-HT6 (<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2Y00>).



**Figure 33. Représentation 3D du récepteur 5-HT6 avec le ligand MR33368 (orange).**

Lors de cette étape, nous avons positionné par docking les composés dérivés du donécopride dans le site actif du récepteur 5-HT6.

Dans les poses sélectionnées, l'azote de la pipéridine interagit avec Asp106. Le groupement carbonyle interagit dans la majorité des cas avec Arg181 ou Leu182. Le noyau benzénique est orienté vers les hélices transmembranaires 2 et 7 (TM2, TM7). Le substituant amino forme une liaison hydrogène avec le Asn86 et Asp303. Le substituant méthoxy forme également une liaison hydrogène avec majoritairement les groupes hydroxyles de Asp303 et Thr306, et le groupe amino de Arg181. Le noyau benzénique en bout de chaîne est, quant à lui orienté vers l'hélice transmembranaire 6 (TM6); il forme des interactions de type stacking avec les Phe284 et 285 (fig.34, 35).

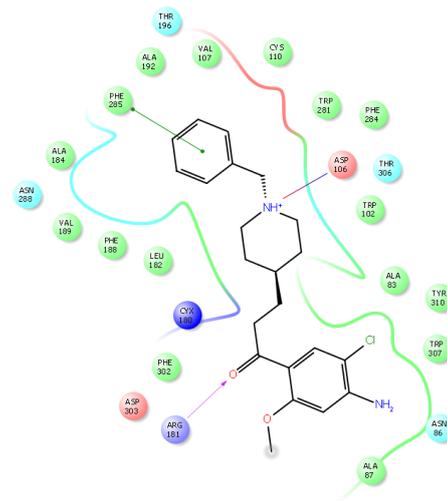
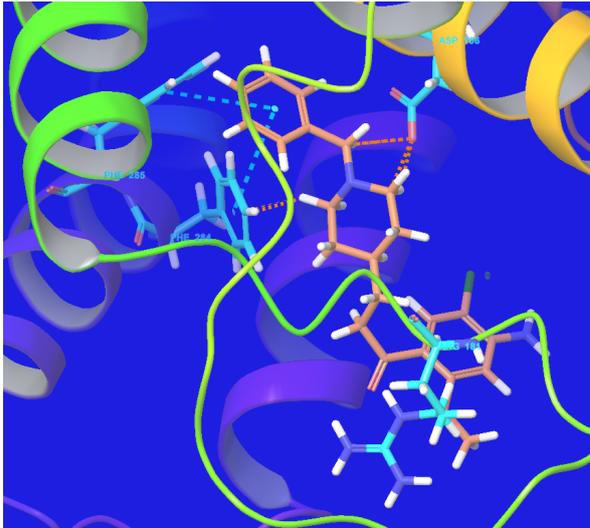


Figure 34. Docking d'un dérivé du donécopride par représentation 2D (screenshot) et 3D.

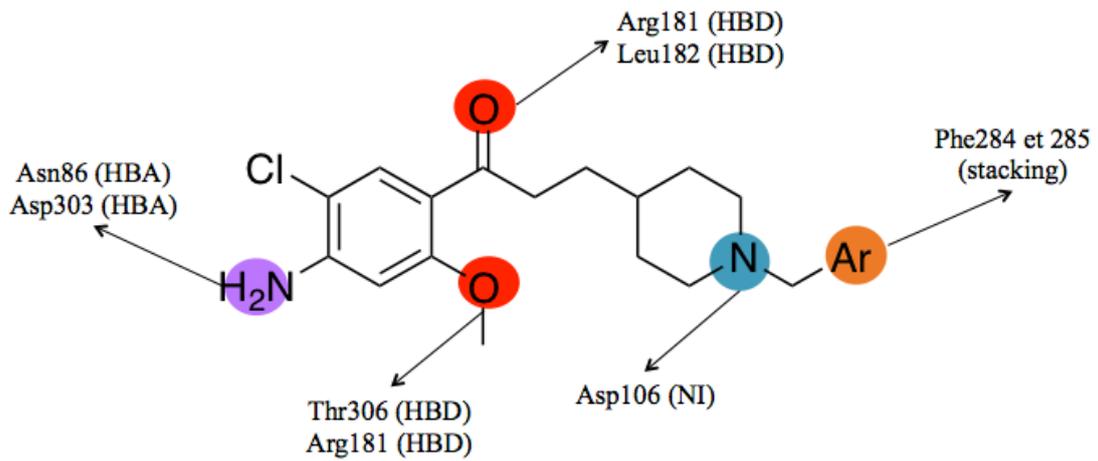


Figure 35. Docking de MR33365 et MR33368 sur 5-HT6R.

# Conclusion

---

## Conclusion

Ce travail de thèse a permis de participer à l'étude de l'implication des récepteurs 5-HT4 et 5-HT6 dans la mémoire de type épisodique.

Nous avons montré que l'activation chronique des récepteurs 5-HT4, et le blocage chronique des récepteurs 5-HT6 améliore les performances en ce qui concerne la mémoire de type épisodique. Les modulations du système sérotoninergique jouent un rôle bénéfique sur les troubles mnésiques liés à l'âge ou à certaines pathologies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer). Il est donc nécessaire de poursuivre les études sur des agents pharmacologiques à la fois capables d'activer les récepteurs 5-HT4 et bloquer les récepteurs 5-HT6. Des recherches sont donc effectuées sur la conception de médicaments de type MTDL.

Aujourd'hui, des essais cliniques sont effectués sur les agonistes 5-HT4 dans le traitement des troubles cognitifs liés à la maladie d'Alzheimer, et dans le traitement des troubles gastro-intestinaux<sup>188</sup>. De la même manière, des antagonistes 5-HT6 sont en essais cliniques dans le traitement des troubles cognitifs liés à la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie, ainsi que dans le traitement de l'obésité ou de l'anxiété<sup>189</sup>. D'autres cibles thérapeutiques sont en cours de recherches et d'études cliniques dans l'espoir de traiter la maladie d'Alzheimer<sup>5,88,92,93</sup>.

Le concept de MTDLs est ici mis en avant afin de permettre une meilleure observance du traitement, une diminution des effets indésirables, de la toxicité et des interactions médicamenteuses.

L'objectif de ce travail a été de développer et de concevoir de nouveaux candidats médicaments MTDLs à la fois agoniste 5-HT4 et 5-HT6 par des techniques de modélisation moléculaire.

Dans un premier temps un pharmacophore a été construit à partir d'antagonistes 5-HT6 issus de la littérature ; ce qui nous a permis de comprendre les requis structuraux nécessaires à cette activité. L'alignement de ligands développés au laboratoire du CERMN sur ce pharmacophore nous a amené à proposer un certain nombre de pharmacomodulations.

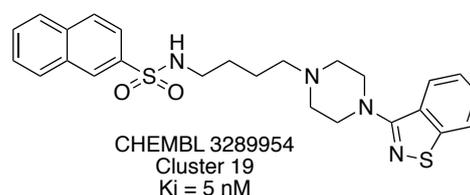
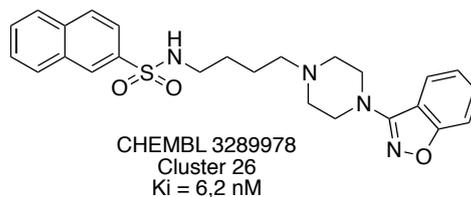
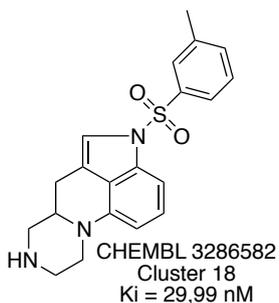
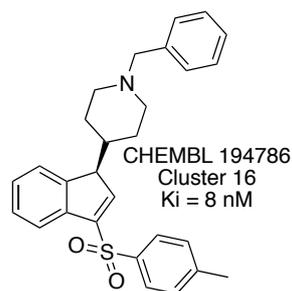
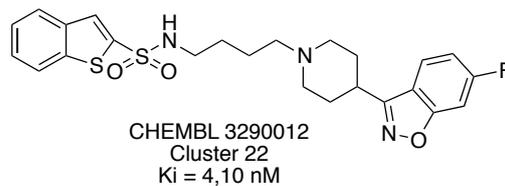
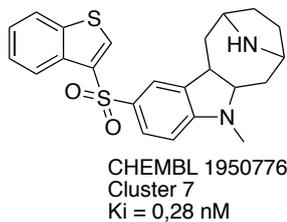
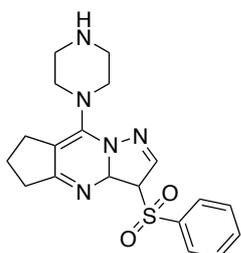
Dans un second temps, le docking d'antagonistes 5-HT6 tirés d'une sélection de ligands synthétisés a été effectué, ainsi que des hypothèses de structures résultant de cette étude.

L'ensemble de ce travail ouvre des perspectives d'études intéressantes et prometteuses dans le domaine du traitement des altérations de la mémoire liées au vieillissement et aux démences de type Alzheimer.

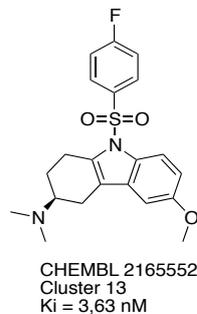
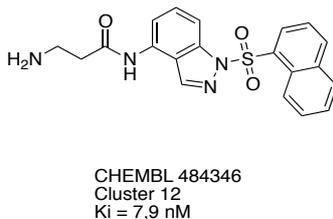
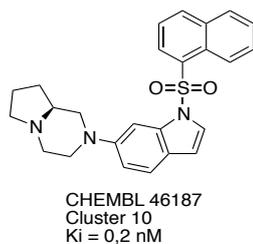
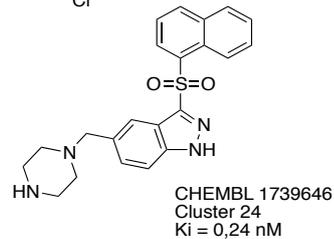
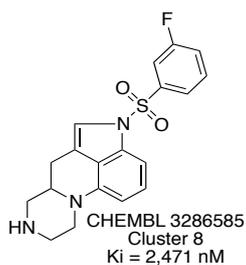
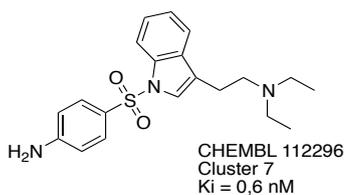
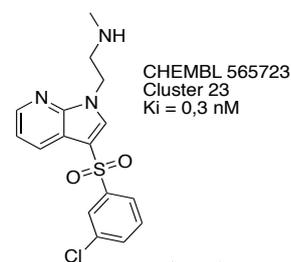
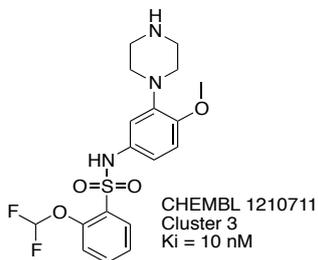
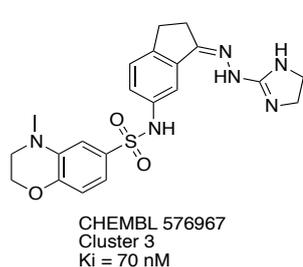
# Annexes

---

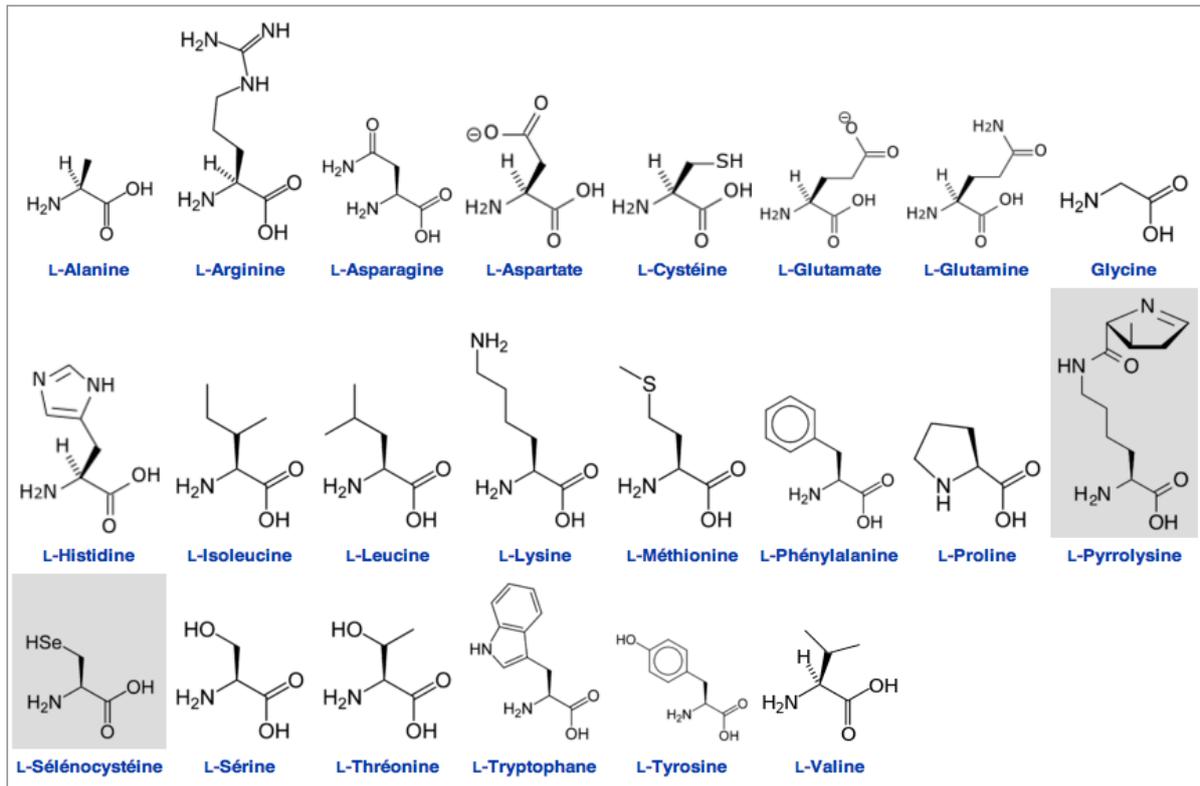
## Annexes



### Annexe 1. Structure des clusters APR.



### Annexe 2. Structure des clusters AHPR.



Annexe 3. Structure des acides aminés

# Références Bibliographiques

---

## Références Bibliographiques

1. Dubois B. Update on Alzheimer's disease. *Ann Pharm Fr.* 2009;67(2):116–126. doi:10.1016/j.pharma.2008.11.004.
2. J.Castellani J. Biopharmaceutical Research Companies Are Developing Nearly 100 Medicines for Alzheimer's Disease and Other Dementias. *Pharm Res Manuf Am.* 2010.
3. Vital Durand D, Le Jeune C. *Dorosz. Guide Pratique des Médicaments.* Maloine.; 2015.
4. *Vidal Edition 2014.*; 2014.
5. Golde TE. Disease modifying therapy for AD? *J Neurochem.* 2006;99(3):689–707. Available at: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04211.x>. Accessed July 28, 2013.
6. Wegiel J, Gong CX, Hwang YW. The role of DYRK1A in neurodegenerative diseases. *FEBS J.* 2011;278(2):236–245. doi:10.1111/j.1742-4658.2010.07955.x.
7. Brunden KR, Trojanowski JQ, Lee VM. NIH Public Access. *Pathology.* 2010;8(10):783–793. doi:10.1038/nrd2959.Advances.
8. Claeysen S, Bockaert J, Giannoni P. Serotonin: A New Hope in Alzheimer's Disease? *ACS Chem Neurosci.* 2015:150526153847002. doi:10.1021/acschemneuro.5b00135.
9. Rochais C, Lecoutey C, Gaven F, et al. Novel Multi-Target Directed Ligands (MTDLs) with acetylcholinesterase (AChE) inhibitory and serotonergic subtype 4 receptor (5-HT<sub>4</sub>) agonist activities as potential agents against Alzheimer's disease: the design of donecopride. *J Med Chem.* 2015:150320124319007. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00115.
10. Lecoutey C, Hedou D, Freret T, et al. Design of donecopride, a dual serotonin subtype 4 receptor agonist/acetylcholinesterase inhibitor with potential interest for Alzheimer's disease treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(36):E3825–30. doi:10.1073/pnas.1410315111.

11. Caulin C. *Vidal Recos.*; 2013.
12. Baddeley, A.D., Hitch GJ. *The psychology of learning and motivation: advances in research and theory.*; 1974.
13. Cowan N. NIH Public Access. 2010;35(5):447–474. doi:10.1080/87565641.2010.494985.Multiple.
14. Eustache F, Desgranges B. MNESIS: Towards the integration of current multisystem models of memory. *Neuropsychol Rev.* 2008;18(1):53–69. doi:10.1007/s11065-008-9052-3.
15. Alvarez P, Zola-Morgan S, Squire LR. The animal model of human amnesia: long-term memory impaired and short-term memory intact. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(12):5637–5641. doi:10.1073/pnas.91.12.5637.
16. Tulving E. EPISODIC MEMORY : From Mind to Brain. *Annu Rev Psychol.* 2002;53:1–25. doi:10.1146/annurev.psych.53.100901.135114.
17. Tulving E. Episodic and semantic memory. *Organ Mem.* 1972;1:381–403. doi:10.1017/S0140525X00047257.
18. Hebb DO. The first stage of perception: growth of the assembly BT - The Organization of Behavior. *Organ Behav.* 1949;(4):60–78. Available at: papers2://publication/uuid/E774CC14-246F-481D-85E7-1EA1A8642798.
19. Konorski J. Conditioned reflexes and neuron organization. *Cambridge Univ Press.* 1948.
20. Lynch MA, Introduction I, Erk B, et al. Long-Term Potentiation and Memory. 2004:87–136.
21. Salin P a, Scanziani M, Malenka RC, Nicoll R a. Distinct short-term plasticity at two excitatory synapses in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(23):13304–13309. doi:10.1073/pnas.93.23.13304.
22. Markram H, Segal M. Acetylcholine potentiates responses to N-methyl-D-aspartate in

- the rat hippocampus. *Neurosci Lett*. 1990;113(1):62–65. doi:0304-3940(90)90495-U [pii].
23. Gardoni F, Polli F, Cattabeni F, Di Luca M. Calcium-calmodulin-dependent protein kinase II phosphorylation modulates PSD-95 binding to NMDA receptors. *Eur J Neurosci*. 2006;24(10):2694–2704. doi:10.1111/j.1460-9568.2006.05140.x.
  24. Monaghan DT, Cotman CW. Identification and properties of N-methyl-D-aspartate receptors in rat brain synaptic plasma membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(19):7532–7536. doi:10.1073/pnas.83.19.7532.
  25. Hagan JJ, Salamone JD, Simpson J, Iversen SD, Morris RG. Place navigation in rats is impaired by lesions of medial septum and diagonal band but not nucleus basalis magnocellularis. *Behav Brain Res*. 1988;27(1):9–20. doi:10.1016/0166-4328(88)90105-2.
  26. Dutar P, Nicoll R a. Classification of muscarinic responses in hippocampus in terms of receptor subtypes and second-messenger systems: electrophysiological studies in vitro. *J Neurosci*. 1988;8(11):4214–4224.
  27. EE el-Fakahany, BE Alger, WS Lai, TA Pitler PW and JB. Neuronal kinase muscarinic responses: role of protein. *FASEB J*. 1988;2:2575–2583. Available at: <http://www.fasebj.org/content/2/10/2575.abstract>.
  28. Markram H, Segal M. Long-lasting facilitation of excitatory postsynaptic potentials in the rat hippocampus by acetylcholine. *J Physiol*. 1990;427:381–393.
  29. Lømo T. The discovery of long-term potentiation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2003;358(1432):617–620. doi:10.1098/rstb.2002.1226.
  30. Cowell R a. Computational models of perirhinal cortex function. *Hippocampus*. 2012;22(10):1952–1964. doi:10.1002/hipo.22064.
  31. Doerner D, Pitler T a, Alger BE. Protein kinase C activators block specific calcium and potassium current components in isolated hippocampal neurons. *J Neurosci*. 1988;8(11):4069–4078.

32. Niewiadomska G, Baksalerska-Pazera M, Riedel G. The septo-hippocampal system, learning and recovery of function. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2009;33(5):791–805. doi:10.1016/j.pnpbp.2009.03.039.
33. Alvarez P, Squire LR. Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(15):7041–5. doi:10.1073/pnas.91.15.7041.
34. Reber PJ, Alvarez P, Squire LR. Reaction time distributions across normal forgetting: searching for markers of memory consolidation. *Learn Mem*. 4(3):284–290. doi:10.1101/lm.4.3.284.
35. Ehrlich I, Humeau Y, Grenier F, Ciochi S, Herry C, Lüthi A. Amygdala Inhibitory Circuits and the Control of Fear Memory. *Neuron*. 2009;62(6):757–771. doi:10.1016/j.neuron.2009.05.026.
36. Wilson B a, Kopelman M, Kapur N. Prominent and persistent loss of past awareness in amnesia: delusion, impaired consciousness or coping strategy? *Neuropsychol Rehabil*. 2015;18(5-6):527–540. doi:10.1080/09602010802141889.
37. Marighetto a., Durkin T, Toumane a., Lebrun C, Jaffard R. Septal ??-noradrenergic antagonism in vivo blocks the testing-induced activation of septo-hippocampal cholinergic neurones and produces a concomitant deficit in working memory performance of mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989;34(3):553–558. doi:10.1016/0091-3057(89)90557-1.
38. RP K. Reevaluation of the contribution of the basal forebrain cholinergic system to memory. *Neurobiol Aging*. 1988.
39. Coyle EF. Very intense exercise-training is extremely potent and time efficient: a reminder. *J Appl Physiol*. 2005;98(6):1983–1984. doi:10.1152/jappphysiol.00215.2005.
40. Da Cunha C, Packard MG. Special issue on the role of the basal ganglia in learning and memory. Preface. *Behav Brain Res*. 2009;199(1):1–2. doi:10.1016/j.bbr.2008.12.026.

41. Baillieux H, Smet HJ De, Paquier PF, De Deyn PP, Mariën P. Cerebellar neurocognition: Insights into the bottom of the brain. *Clin Neurol Neurosurg.* 2008;110(8):763–773. doi:10.1016/j.clineuro.2008.05.013.
42. Baillieux H, Vandervliet EJM, Manto M, Parizel PM, Deyn PP De, Mariën P. Developmental dyslexia and widespread activation across the cerebellar hemispheres. *Brain Lang.* 2009;108(2):122–132. doi:10.1016/j.bandl.2008.10.001.
43. Dalglish T. The emotional brain. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5(7):583–589. doi:10.1038/nrn1432.
44. Thompson RF, Kim JJ. Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(24):13438–13444. doi:10.1073/pnas.93.24.13438.
45. Castellano, C.; Cestari, V.; Ciamei A. NMDA Receptors and Learning and Memory Processes. *Bentham Sci Publ.* 2001.
46. Miranda MI, Ferreira G, Ramírez-Lugo L, Bermúdez-Rattoni F. Role of cholinergic system on the construction of memories: Taste memory encoding. *Neurobiol Learn Mem.* 2003;80(3):211–222. doi:10.1016/S1074-7427(03)00061-3.
47. Landry Y, Gies J-P. Pharmacologie. Des cibles vers l'indication thérapeutique. 2e Edition.
48. Levin ED. Nicotinic receptor subtypes and cognitive function. *J Neurobiol.* 2002;53(4):633–640. doi:10.1002/neu.10151.
49. Bliss T V, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature.* 1993;361(6407):31–39. doi:10.1038/361031a0.
50. Small GW. Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. *JAMA J Am Med Assoc.* 1997;278(16):1363–1371. doi:10.1001/jama.278.16.1363.
51. Stelzmann R a., Schnitzlein HN, Murtagh FR. An English translation of Alzheimer's

- 1907 paper, “uber eine eigenartige erkankung der hirnrinde.” *Clin Anat.* 1995;8(6):429–431. doi:10.1002/ca.980080612.
52. Klingstedt T, Shirani H, Mahler J, et al. Distinct Spacing Between Anionic Groups: An Essential Chemical Determinant for Achieving Thiophene-Based Ligands to Distinguish  $\beta$ -Amyloid or Tau Polymorphic Aggregates. *Chem - A Eur J.* 2015;21(25):9072–9082. doi:10.1002/chem.201500556.
53. PhRma. Researching Alzheimer’s Medicines: Setbacks and Stepping Stones. 2012:1–20.
54. RAMAROSON H, HELMER C, BARBERGER-GATEAU P, LETENNEUR L, DARTIGUES J-F. Prévalence de la démence et de la maladie d’Alzheimer chez les personnes de 75 ans et plus : données réactualisées de la cohorte PAQUID. *Rev Neurol (Paris).* 159(4):405–411. Available at: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=14698574>. Accessed June 3, 2015.
55. Gallez C. Rapport sur la maladie d’Alzheimer et les maladies apparentées. 2005:256.
56. Fleischman D a., Wilson RS, Gabrieli JDE, Schneider J a., Bienias JL, Bennett D a. Implicit memory and Alzheimer’s disease neuropathology. *Brain.* 2005;128(9):2006–2015. doi:10.1093/brain/awh559.
57. Ally B a., Gold C a., Budson AE. An evaluation of recollection and familiarity in Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment using receiver operating characteristics. *Brain Cogn.* 2009;69(3):504–513. doi:10.1016/j.bandc.2008.11.003.
58. Germano C, Kinsella GJ. Working memory and learning in early Alzheimer’s disease. *Neuropsychol Rev.* 2005;15(1):1–10. doi:10.1007/s11065-005-3583-7.
59. Pitel a L, Perruchet P, Vabret F, Desgranges B, Eustache F, Beaunieux H. The advantage of errorless learning for the acquisition of new concepts’ labels in alcoholics. *Psychol Med.* 2010;40(3):497–502. doi:10.1017/S0033291709990626.
60. Hahn-Barma, V., & Guichart-Gomez E. Troubles mnésiques inauguraux. *Man Neuropsychol Clin des démences Paris Éditions médicales.* 2007.

61. Zadikoff C, Lang AE. Apraxia in movement disorders. *Brain*. 2005;128(7):1480–1497. doi:10.1093/brain/awh560.
62. Delphin-Combe F, Roubaud C, Martin-Gaujard G, Fortin M-E, Rouch I, Krolak-Salmon P. Efficacité d'une unité cognitivo-comportementale sur les symptômes psychologiques et comportementaux des démences. *Rev Neurol (Paris)*. 2013;169(6-7):490–494. doi:10.1016/j.neurol.2012.10.017.
63. Benoit M, Staccini P, Brocker P, et al. Symptômes comportementaux et psychologiques dans la maladie d'Alzheimer: Résultats de l'étude REAL.FR. *Rev Med Interne*. 2003;24:319–324. doi:10.1016/S0248-8663(03)80690-2.
64. Mega MS, Cummings JL, Fiorello T, Gornbein J. The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease. *Neurology*. 1996;46(1):130–135. doi:10.1212/WNL.46.1.130.
65. Onen F, Onen S-H. Altérations des rythmes du sommeil dans la maladie d'Alzheimer Sleep rhythm disturbances in Alzheimer's disease. *La Rev médecine interne*. 2003;24:165–171. doi:10.1016/S0248-8663(02)00018-8.
66. Nasehi M, Tabatabaie M, Khakpai F, Zarrindast M-R. The effects of CA1 5HT4 receptors in MK801-induced amnesia and hyperlocomotion. *Neurosci Lett*. 2015;587:73–78. doi:10.1016/j.neulet.2014.12.019.
67. Golde TE, Eckman CB, Younkin SG. Biochemical detection of Abeta isoforms: implications for pathogenesis, diagnosis, and treatment of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1502(1):172–187. doi:S0925-4439(00)00043-0 [pii].
68. Foster PP, Rosenblatt KP, Kuljiš RO. Exercise-induced cognitive plasticity, implications for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Front Neurol*. 2011;MAY(May):1–15. doi:10.3389/fneur.2011.00028.
69. Page RM, Baumann K, Tomioka M, et al. Generation of A $\beta$ 38 and A $\beta$ 42 is independently and differentially affected by familial Alzheimer disease-associated presenilin mutations and  $\gamma$ -secretase modulation. *J Biol Chem*. 2008;283(2):677–683. doi:10.1074/jbc.M708754200.

70. Aytan N, Choi J-K, Carreras I, Kowall NW, Jenkins BG, Dedeoglu A. Combination therapy in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 2013;250:228–38. doi:10.1016/j.expneurol.2013.10.001.
71. Lobo A, Launer LJ, Fratiglioni L, Andersen K, Di Carlo A, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, Jagger C, Martinez-Lage J, Soininen H HA. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology*. 2000.
72. Cudennec T, Teillet L. La maladie d'Alzheimer. *Aging (Albany NY)*. 2002.
73. L Fratiglioni, S Paillard-Borg BW. An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *Lancet Neurol*. 2004:343–353.
74. Falke H, Chaikuad A, Becker A, et al. 10-Iodo-11 H -indolo[3,2- c ]quinoline-6-carboxylic Acids Are Selective Inhibitors of DYRK1A. *J Med Chem*. 2015;58(7):3131–3143. doi:10.1021/jm501994d.
75. Smith B, Medda F, Gokhale V, Dunckley T, Hulme C. Recent Advances in the Design , Synthesis , and Biological Evaluation of Selective DYRK1A Inhibitors : A New Avenue for a Disease Modifying Treatment of Alzheimer ' s ? 2012.
76. Jin N, Yin X, Gu J, et al. *Truncation and Activation of Dual Specificity Tyrosine-phosphorylation-regulated Kinase 1A by Calpain I: a Molecular Mechanism Linked to Tau Pathology in Alzheimer's Disease.*; 2015. doi:10.1074/jbc.M115.645507.
77. Göckler N, Jofre G, Papadopoulos C, Soppa U, Tejedor FJ, Becker W. Harmine specifically inhibits protein kinase DYRK1A and interferes with neurite formation. *FEBS J*. 2009;276(21):6324–6337. doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07346.x.
78. Frost D, Meechoovet B, Wang T, et al.  $\beta$ -carboline compounds, including Harmine, inhibit DYRK1A and Tau phosphorylation at multiple Alzheimer's disease-related sites. *PLoS One*. 2011;6(5). doi:10.1371/journal.pone.0019264.
79. Coutadeur S, Benyamine H, Delalonde L, et al. A novel DYRK1A (Dual specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A) inhibitor for the treatment of

- Alzheimer's disease: effect on Tau and amyloid pathologies in vitro. *J Neurochem.* 2015;n/a–n/a. doi:10.1111/jnc.13018.
80. Adayev T, Murakami N, Wegiel J, Hwang Y. Kinetic Properties of a MNB / DYRK1A Mutant Suitable for the Elucidation of Biochemical Pathways. *Biochemistry.* 2006;45:12011–12019.
  81. Brunden KR, Trojanowski JQ, Lee VM-Y. Advances in tau-focused drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies. *Nat Rev Drug Discov.* 2009;8(10):783–793. doi:10.1038/nrd2959.
  82. Lee MS, Kao SC, Lemere C a., et al. APP processing is regulated by cytoplasmic phosphorylation. *J Cell Biol.* 2003;163(1):83–95. doi:10.1083/jcb.200301115.
  83. Chang K-A, Kim H-S, Ha T-Y, et al. Phosphorylation of amyloid precursor protein (APP) at Thr668 regulates the nuclear translocation of the APP intracellular domain and induces neurodegeneration. *Mol Cell Biol.* 2006;26(11):4327–4338. doi:10.1128/MCB.02393-05.
  84. Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A, et al. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *J Med Chem.* 2008;51(3):347–372. Available at: <http://dx.doi.org/10.1021/jm7009364>. Accessed June 7, 2013.
  85. Lührs T, Ritter C, Adrian M, et al. 3D structure of Alzheimer's amyloid-beta(1-42) fibrils. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(48):17342–17347. doi:10.1073/pnas.0506723102.
  86. Hooper C, Killick R, Lovestone S. The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2008;104(6):1433–1439. doi:10.1111/j.1471-4159.2007.05194.x.
  87. Sinbandhit-Tricot S, Cillard J, Chevanne M, Morel I, Cillard P, Sergent O. Glutathione depletion increases nitric oxide-induced oxidative stress in primary rat hepatocyte cultures: Involvement of low-molecular-weight iron. *Free Radic Biol Med.* 2003;34(10):1283–1294. doi:10.1016/S0891-5849(03)00108-4.
  88. Budson AE. Development of Therapeutics. *October.* 2009;8(12):1879–1891.

doi:10.1586/14737175.8.12.1879.Memory.

89. Carreras I, McKee AC, Choi J-K, et al. R-flurbiprofen improves tau, but not A $\beta$  pathology in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Brain Res.* 2013;1541:115–27. doi:10.1016/j.brainres.2013.10.025.
90. Fan L, Chiu M. Pharmacological Treatment for Alzheimer ' s Disease : Current Approaches and Future Strategies. *Acta Neurol Taiwan.* 2010;19(7):228–245.
91. Herrmann N, Chau SA, Kircanski I, Lanctôt KL. Current and emerging drug treatment options for Alzheimer's disease: a systematic review. *Drugs.* 2011;71(15):2031–2065. Available at: <http://dx.doi.org/10.2165/11595870-000000000-00000>. Accessed June 19, 2013.
92. Mangialasche F, Solomon A, Winblad B, Mecocci P, Kivipelto M. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol.* 2010;9(7):702–716. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70119-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70119-8). Accessed May 21, 2013.
93. Piau a., Hein C, Nourhashémi F, Vellas B. Nouvelles thérapeutiques dans la maladie d'Alzheimer: vers un traitement visant à ralentir la progression de la maladie. *Les Cah l'année gérontologique.* 2009;1(1):15–25. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s12612-009-0013-0>. Accessed July 28, 2013.
94. Sabbagh MN. Drug development for Alzheimer's disease: where are we now and where are we headed? *Am J Geriatr Pharmacother.* 2009;7(3):167–185. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjopharm.2009.06.003>. Accessed July 4, 2013.
95. Schweisguth F. Fonctions et régulation de l'activité de signalisation du récepteur Notch. *Médecine/Sciences.* 2012;16:186. doi:10.4267/10608/1620.
96. Saido T, Leissring M a. Proteolytic degradation of amyloid beta-protein. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(6):a006379. doi:10.1101/cshperspect.a006379.
97. Checler F, Alves C, Dumanchin-njock C, et al. Métabolisme du précurseur du peptide amyloïde et présénilines. 2002.

98. Oliveira Jr., Alcyr A.; Hodges HM. Alzheimer's Disease and Neural Transplantation as Prospective Cell Therapy. *Curr Alzheimer Res.* 2005;2:79–95.
99. Twarog B. M. and Page I. N. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am J Physiol.* 1953;175:157–161.
100. Steinbusch HWM, Verhofstad a. a J, Joosten HWJ. Localization of serotonin in the central nervous system by immunohistochemistry: Description of a specific and sensitive technique and some applications. *Neuroscience.* 1978;3(9):811–819. doi:10.1016/0306-4522(78)90033-7.
101. Gozlan H. Les récepteurs centraux de la sérotonine. 1993;9:21–30.
102. Kegg. <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>.
103. Da Silva Costa-Aze V. Implication des récepteurs sérotoninergiques 5-HT6 dans les processus de mémorisation chez la souris : application aux troubles mnésiques liés au vieillissement. 2010.
104. Dumuis A, Bouhelal R, Sebben M, Cory R BJ. A nonclassical 5-hydroxytryptamine receptor positively coupled with adenylate cyclase in the central nervous system. *Mol Pharmacol.* 1988;34:880–887.
105. Claeysen S, Sebben M, Becamel C, Bockaert J, Dumuis a. Novel brain-specific 5-HT4 receptor splice variants show marked constitutive activity: role of the C-terminal intracellular domain. *Mol Pharmacol.* 1999;55(5):910–920.
106. Joubert L, Hanson B, Barthet G, et al. New sorting nexin (SNX27) and NHERF specifically interact with the 5-HT4a receptor splice variant: roles in receptor targeting. *J Cell Sci.* 2004;117(Pt 22):5367–5379. doi:10.1242/jcs.01379.
107. Bockaert J, Claeysen S, Bécamel C, Dumuis A, Marin P. Neuronal 5-HT metabotropic receptors: Fine-tuning of their structure, signaling, and roles in synaptic modulation. *Cell Tissue Res.* 2006;326(2):553–572. doi:10.1007/s00441-006-0286-1.
108. Mnie-Filali O, Amraei MG, Benmbarek S, et al. Serotonin 4 receptor (5-HT4R)

- internalization is isoform-specific: Effects of 5-HT and RS67333 on isoforms A and B. *Cell Signal*. 2010;22(3):501–509. doi:10.1016/j.cellsig.2009.11.004.
109. Fagni L, Dumuis a, Sebben M, Bockaert J. The 5-HT<sub>4</sub> receptor subtype inhibits K<sup>+</sup> current in colliculi neurones via activation of a cyclic AMP-dependent protein kinase. *Br J Pharmacol*. 1992;105(4):973–979.
  110. Zaldua N, Gastineau M, Hoshino M, Lezoualc&apos;h F, Zugaza JL. Epac signaling pathway involves STEF, a guanine nucleotide exchange factor for Rac, to regulate APP processing. *FEBS Lett*. 2007;581(30):5814–5818. doi:10.1016/j.febslet.2007.11.053.
  111. Astrid Lièvre PL-P. La voie de signalisation RAS/MAPK RAS/MAPK signaling pathway Astrid. *Mise au point*.:2–6.
  112. Marchetti E, Dumuis a., Bockaert J, Soumireu-Mourat B, Roman FS. Differential modulation of the 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists and antagonist on rat learning and memory. *Neuropharmacology*. 2000;39(11):2017–2027. doi:10.1016/S0028-3908(00)00038-1.
  113. Manzke T, Guenther U, Ponimaskin EG, Haller M, Dutschmann M, Schwarzacher S RD. 5-HT<sub>4</sub>(a) receptors avert opioid-induced breathing depression without loss of analgesia. *Science (80- )*. 2003;301:226–229.
  114. Fontana DJ, Daniels SE, Wong EHF, Eglen RM. The effects of novel, selective 5-hydroxytryptamine (5-HT) <sub>4</sub> receptor ligands in rat spatial navigation. *Neuropharmacology*. 1997;36(4-5):689–696. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028390897000555>.
  115. Letty S, Child R, Dumuis a., Pantaloni a., Bockaert J, Rondouin G. 5-HT<sub>4</sub> receptors improve social olfactory memory in the rat. *Neuropharmacology*. 1997;36(4-5):681–687. doi:10.1016/S0028-3908(96)00169-4.
  116. Moser PC, Bergis OE, Jegham S, et al. SL65.0155, a novel 5-hydroxytryptamine(4) receptor partial agonist with potent cognition-enhancing properties. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302(2):731–741. doi:10.1124/jpet.102.034249.deficits.

117. Consolo, S.; Arnaboldi, S.; Giorgi, S.; Russi, G.; Ladinsky H. 5-HT<sub>4</sub> receptor stimulation facilitates acetylcholine release in rat frontal cortex. *Neuroreport*. 1994;5:1230–1232.
118. Bonhomme N, De Deurwaèrdere P, Le Moal M, Spampinato U. Evidence for 5-HT<sub>4</sub> receptor subtype involvement in the enhancement of striatal dopamine release induced by serotonin: a microdialysis study in the halothane-anesthetized rat. *Neuropharmacology*. 1995;34(3):269–279. doi:10.1016/0028-3908(94)00145-1.
119. Ge J, Barnes NM. 5-HT<sub>4</sub> receptor-mediated modulation of 5-HT release in the rat hippocampus in vivo. *Br J Pharmacol*. 1996;117(7):1475–1480.
120. Matsumoto M, Togashi H, Mori K, et al. Evidence for involvement of central 5-HT<sub>4</sub> receptors in cholinergic function associated with cognitive processes: behavioral, electrophysiological, and neurochemical studies. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001;296(3):676–682.
121. Papageorgiou a., Deneff C. Estradiol induces expression of 5-hydroxytryptamine (5-HT)<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, and 5-HT<sub>6</sub> receptor messenger ribonucleic acid in rat anterior pituitary cell aggregates and allows prolactin release via the 5-HT<sub>4</sub> receptor. *Endocrinology*. 2007;148(3):1384–1395. doi:10.1210/en.2006-1198.
122. Medhurst AD, Lezoualc'h F, Fischmeister R, Middlemiss DN, Sanger, GJ. Quantitative mRNA analysis of five C-terminal splice variants of the human 5-HT<sub>4</sub> receptor in the central nervous system by TaqMan real time RT-PCR. *Mol Brain Res*. 2001;90(2):125–134. doi:10.1016/S0169-328X(01)00095-X.
123. Reynolds GP, Mason SL, Meldrum a, et al. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)<sub>4</sub> receptors in post mortem human brain tissue: distribution, pharmacology and effects of neurodegenerative diseases. *Br J Pharmacol*. 1995;114(5):993–998.
124. Alto P. Characterization of [<sup>3</sup>H] GR 113808 binding to 5-HT<sub>4</sub> receptors in brain tissues from patients with neurodegenerative disorders. 1996;73:249–252.
125. Kamal a, Almenar-Queralt a, LeBlanc JF, Roberts E a, Goldstein LS. Kinesin-mediated axonal transport of a membrane compartment containing beta-secretase and

- presenilin-1 requires APP. *Nature*. 2001;414(6864):643–648. doi:10.1038/414643a.
126. Lezoualc'h F, Robert SJ. The serotonin 5-HT<sub>4</sub> receptor and the amyloid precursor protein processing. *Exp Gerontol*. 2003;38(1-2):159–166. doi:10.1016/S0531-5565(02)00157-2.
  127. Robert S, Maillet M, Morel E, et al. Regulation of the amyloid precursor protein ectodomain shedding by the 5-HT<sub>4</sub> receptor and Epac. *FEBS Lett*. 2005;579(5):1136–1142. doi:10.1016/j.febslet.2005.01.010.
  128. Cachard-Chastel M, Lezoualc'h F, Dewachter I, et al. 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists increase sAPP $\alpha$  levels in the cortex and hippocampus of male C57BL/6j mice. *Br J Pharmacol*. 2007;150(7):883–892. doi:10.1038/sj.bjp.0707178.
  129. Cho S, Hu Y. Activation of 5-HT<sub>4</sub> receptors inhibits secretion of  $\beta$ -amyloid peptides and increases neuronal survival. *Exp Neurol*. 2007;203(1):274–278. doi:10.1016/j.expneurol.2006.07.021.
  130. Cachard-Chastel M, Devers S, Sicsic S, et al. Prucalopride and donepezil act synergistically to reverse scopolamine-induced memory deficit in C57Bl/6j mice. *Behav Brain Res*. 2008;187(2):455–461. doi:10.1016/j.bbr.2007.10.008.
  131. M. Ruat, E. Traiffort, J.M. Arrang, J. Tardivellacombe, J. Diaz, R. Leurs JCS. A Novel Rat Serotonin (5-HT<sub>6</sub>) Receptor: Molecular Cloning, Localization and Stimulation of cAMP Accumulation. 1993:268–276.
  132. F J Monsma, Jr, Y Shen, R P Ward MWH and DRS. Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. *Mol Pharmacol*. 1993;43:320–327.
  133. J L Plassat NA and RH. Molecular cloning of a mammalian serotonin receptor that activates adenylate cyclase. *Mol Pharmacol*. 1993;44:229–236.
  134. Hirst WD, Abrahamsen B, Blaney FE, et al. Differences in the Central Nervous System Distribution and Pharmacology of the Mouse 5-Hydroxytryptamine-6 Receptor Compared with Rat and Human Receptors Investigated by Radioligand Binding , Site-

- Directed Mutagenesis , and Molecular Modeling. 2003;64(6):1295–1308.
135. Kinsey AM, Wainwright A, Heavens R, Sirinathsinghji DJS, Oliver KR. the rat brain. 2001;88:194–198.
  136. Austin H, Sleight J. Determination of the Role of the 5-HT<sub>6</sub> Receptor Brain : A Study using Antisense in the Rat. 1995.
  137. Zhang M-Y, Hughes Z a, Kerns EH, Lin Q, Beyer CE. Development of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the quantitation of acetylcholine and related neurotransmitters in brain microdialysis samples. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;44(2):586–93. doi:10.1016/j.jpba.2007.02.024.
  138. Lindner MD, Jr DBH, Hogan JB, et al. An Assessment of the Effects of Serotonin 6 ( 5-HT<sub>6</sub> ) Receptor Antagonists in Rodent Models of Learning. 2003;307(2):682–691. doi:10.1124/jpet.103.056002.tex.
  139. Bentley JC, Bourson A, Boess FG, et al. Investigation of stretching behaviour induced by the selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist , Ro 04-6790 , in rats. 1999;6:1537–1542.
  140. Perez-garcı G, Meneses A. Oral administration of the 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists SB-357134 and SB-399885 improves memory formation in an autoshaping learning task. 2005;81:673–682. doi:10.1016/j.pbb.2005.05.005.
  141. Mitchell ES, Hoplight BJ, Lear SP, Neumaier JF. BGC20-761, a novel tryptamine analog, enhances memory consolidation and reverses scopolamine-induced memory deficit in social and visuospatial memory tasks through a 5-HT<sub>6</sub> receptor-mediated mechanism. *Neuropharmacology.* 2006;50(4):412–20. doi:10.1016/j.neuropharm.2005.10.002.
  142. Dawson LA, Nguyen HQ, Li P. In vivo effects of the 5-HT<sub>6</sub> antagonist SB-271046 on striatal and frontal cortex extracellular concentrations of noradrenaline , dopamine , 5-HT , glutamate and aspartate. 2000:23–26.
  143. Bromidge SM, Clarke SE, Gager T, et al. Phenyl Benzenesulfonamides are Novel and Selective 5-HT<sub>6</sub> Antagonists : Identifi<sup>®</sup> cation of N - ( 2 , 5-Dibromo-3-<sup>-</sup> uorophenyl ) -. 2001;11:5–8.

144. Benhamu B, Mart M, Va H, Pardo L, Lo L. Serotonin 5 - HT 6 Receptor Antagonists for the Treatment of Cognitive De fi ciency in Alzheimer ' s Disease. 2014.
145. King M V, Sleight a J, Woolley ML, Topham I a, Marsden C a, Fone KCF. 5-HT6 receptor antagonists reverse delay-dependent deficits in novel object discrimination by enhancing consolidation--an effect sensitive to NMDA receptor antagonism. *Neuropharmacology*. 2004;47(2):195–204. doi:10.1016/j.neuropharm.2004.03.012.
146. Da Silva Costa V, Duchatelle P, Boulouard M, Dauphin F. Selective 5-HT6 receptor blockade improves spatial recognition memory and reverses age-related deficits in spatial recognition memory in the mouse. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(2):488–500. doi:10.1038/npp.2008.94.
147. Newman-Tancredi A. Biased agonism at serotonin 5-HT1A receptors: preferential postsynaptic activity for improved therapy of CNS disorders. *Neuropsychiatry (London)*. 2011;1:149–164.
148. Fone KCF. An update on the role of the 5-hydroxytryptamine6 receptor in cognitive function. *Neuropharmacology*. 2008;55(6):1015–1022. doi:10.1016/j.neuropharm.2008.06.061.
149. Ramírez MJ. 5-HT6 receptors and Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2013;5(2):15. doi:10.1186/alzrt169.
150. Codony X, Vela JM, Ramírez MJ. 5-HT 6 receptor and cognition. *Curr Opin Pharmacol*. 2011;11(1):94–100. doi:10.1016/j.coph.2011.01.004.
151. Karila D, Freret T, Bouet V, Boulouard M, Dallemagne P, Rochais C. Therapeutic potential of 5-HT6 receptor agonists. *J Med Chem*. 2015:150622102546002. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00179.
152. Millan MJ, Agid Y, Brüne M, et al. Cognitive dysfunction in psychiatric disorders : characteristics, causes and the quest for improved therapy. 2012;11(February). doi:10.1038/nrd3628.
153. Bolognesi ML, Cavalli A, Valgimigli L, et al. Multi-target-directed drug design strategy:

- from a dual binding site acetylcholinesterase inhibitor to a trifunctional compound against Alzheimer's disease. *J Med Chem.* 2007;50(26):6446–9. doi:10.1021/jm701225u.
154. Romero A, Cacabelos R, Oset-Gasque MJ, Samadi A, Marco-Contelles J. Novel tacrine-related drugs as potential candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic Med Chem Lett.* 2013;23(7):1916–1922. doi:10.1016/j.bmcl.2013.02.017.
  155. Anighoro A, Bajorath J, Rastelli G. Polypharmacology: challenges and opportunities in drug discovery. *J Med Chem.* 2014;57(19):7874–87. doi:10.1021/jm5006463.
  156. Espinoza-Fonseca LM. The benefits of the multi-target approach in drug design and discovery. *Bioorg Med Chem.* 2006;14(4):896–7. doi:10.1016/j.bmc.2005.09.011.
  157. Kołaczkowski M, Marcinkowska M, Bucki A, et al. Novel 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists/D<sub>2</sub> receptor partial agonists targeting behavioral and psychological symptoms of dementia. *Eur J Med Chem.* 2014;92C:221–235. doi:10.1016/j.ejmech.2014.12.045.
  158. Gandy S. The role of cerebral amyloid beta accumulation in common forms of Alzheimer disease. *J Clin Invest.* 2005;115(5):1121–1129. doi:10.1172/JCI200525100.The.
  159. Cheung J, Rudolph MJ, Burshteyn F, et al. Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *J Med Chem.* 2012;55(22):10282–10286. doi:10.1021/jm300871x.
  160. Dubost E, Dumas N, Fossey C, et al. Synthesis and structure-affinity relationships of selective high-affinity 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonists: Application to the design of new potential single photon emission computed tomography tracers. *J Med Chem.* 2012;55(22):9693–9707. doi:10.1021/jm300943r.
  161. Cherezov, V.; Rosenbaum, D. M.; Hanson, M. A.; Rasmussen S, G.; Thian, F. S.; Kobilka, T. S.; Choi, H. J.; Kuhn, P.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K.; Stevens RC. High-resolution crystal structure of an engineered human beta<sub>2</sub>-adrenergic G protein-coupled

- receptor. *Science* (80- ). 2007;318:1258–1265.
162. Cirrito JR, Disabato BM, Restivo JL, et al. Serotonin signaling is associated with lower amyloid- $\beta$  levels and plaques in transgenic mice and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(36):14968–14973. doi:10.1073/pnas.1107411108.
163. Bellis LJ, Akhtar R, Al-Lazikani B, et al. Collation and data-mining of literature bioactivity data for drug discovery. *Biochem Soc Trans*. 2011;39(5):1365–1370. doi:10.1042/BST0391365.
164. Lepailleur A, Freret T, Lemaître S, et al. Dual histamine H3R/serotonin 5-HT4R ligands with anti-amnesic properties: Pharmacophore-based virtual screening and polypharmacology. *J Chem Inf Model*. 2014;54:1773–1784. doi:10.1021/ci500157n.
165. Toropov A a., Benfenati E. Optimisation of correlation weights of SMILES invariants for modelling oral quail toxicity. *Eur J Med Chem*. 2007;42(5):606–613. doi:10.1016/j.ejmech.2006.11.018.
166. Sablier M. Spectrométrie de masse - Principe Modélisation moléculaire et conception et appareillage biologiques Par : Modélisation moléculaire et conception de nouveaux ligands d'intérêts biologiques. 2015;33(0).
167. Yang S-Y. Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: challenges and recent advances. *Drug Discov Today*. 2010;15(11-12):444–50. doi:10.1016/j.drudis.2010.03.013.
168. Prinz H. How to identify a pharmacophore. *Chem Biol*. 2008;15(3):207–8. doi:10.1016/j.chembiol.2008.02.013.
169. Gund P. Pharmacophoric pattern searching and receptor mapping. *Med Chem*. 1979;Vol 14:299–308.
170. Gund P. Three-dimensional pharmacophore pattern searching. In progress in molecular and Subcellular Biology. *Springer-Verlag*. Vol 5:117.
171. IUPAC. <http://www.iupac.org/>.

172. Gupta S, Fallarero A, Järvinen P, et al. Discovery of dual binding site acetylcholinesterase inhibitors identified by pharmacophore modeling and sequential virtual screening techniques. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011;21(4):1105–12. doi:10.1016/j.bmcl.2010.12.131.
173. Hayat F, Cho S, Rhim H, et al. Design and synthesis of novel series of 5-HT<sub>6</sub> receptor ligands having indole, a central aromatic core and 1-amino-4 methyl piperazine as a positive ionizable group. *Bioorg Med Chem*. 2013;21(17):5573–82. doi:10.1016/j.bmc.2013.05.051.
174. Fuente T De, Sanz A, Valle E-C. A Three-Dimensional Pharmacophore. 2005;6:4216–4219.
175. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res*. 2000;28(1):235–242. doi:10.1093/nar/28.1.235.
176. Consortium TU. The Universal Protein Resource. *Nucleic Acid Res*. 2008;36(November 2007):D190–D195. doi:10.1093/nar/gkl929.
177. Apweiler R. The universal protein resource (UniProt) in 2010. *Nucleic Acids Res*. 2009;38(SUPPL.1):142–148. doi:10.1093/nar/gkp846.
178. Houston DR, Yen L-H, Pettit S, Walkinshaw MD. Structure- and Ligand-Based Virtual Screening Identifies New Scaffolds for Inhibitors of the Oncoprotein MDM2. *PLoS One*. 2015;10(4):e0121424. doi:10.1371/journal.pone.0121424.
179. Modeling C, Dynamics M, Domains C. Comparative Modeling and Molecular Dynamics. 2015;13(1):15–24.
180. Paris R De, Quevedo C V, Ruiz DD, Souza ON De, Barros RC. Clustering Molecular Dynamics Trajectories for Optimizing Docking Experiments. 2015;2015. doi:10.1155/2015/916240.
181. Jones G, Willett P, Glen RC, Leach a R, Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J Mol Biol*. 1997;267(3):727–748. doi:10.1006/jmbi.1996.0897.

182. Leach a R. *Molecular Modeling. Principles and Applications. Second Edition.*
183. Larif S, Ben Salem C, Hmouda H, Bouraoui K. In silico screening and study of novel ERK2 inhibitors using 3D QSAR, docking and molecular dynamics. *J Mol Graph Model.* 2014;53:1–12. doi:10.1016/j.jmglm.2014.07.001.
184. Natarajan A, Sugumar S, Bitragunta S, Balasubramanyan N. Molecular docking studies of (4Z, 12Z)-cyclopentadeca-4, 12-dienone from *Grewia hirsuta* with some targets related to type 2 diabetes. *BMC Complement Altern Med.* 2015;15(1):1–8. doi:10.1186/s12906-015-0588-5.
185. Mierzejewski P, Bienkowski P. Novel Arylsulfonamide Derivatives with 5 - HT 6 /5-HT 7 Receptor Antagonism Targeting Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia. 2014.
186. Bureau R. Modélisation moléculaire et conception de nouveaux ligands d'intérêts biologiques. *Artic Encycl Tech l'ingénieur.* 2014.
187. <http://www.uniprot.org/uniprot/P50406>.
188. Bureau R, Boulouard M, Dauphin F, Lezoualc'h F, Rault S. Review of 5-HT4R ligands: state of art and clinical applications. *Curr Top Med Chem.* 2010;10(5):527–553. doi:10.2174/156802610791111551.
189. Johnson CN, Ahmed M MN. 5-HT6 receptor antagonists: prospects for the treatment of cognitive disorders including dementia. *Curr Opin Drug Discov Devel.* 2008;11:642–654.

## RESUME en français

La maladie d'Alzheimer atteint un nombre important d'individus dans le monde, et constitue actuellement la plus répandue des démences séniles.

Il n'existe que peu de médicaments permettant de lutter contre cette maladie. Cependant, les récepteurs sérotoninergiques représentent des cibles thérapeutiques potentielles contre des troubles de la mémoire associés au vieillissement et à certaines pathologies neurodégénératives.

Des études ont démontré le rôle important des récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>6</sub> et 5-HT<sub>4</sub> dans la modulation des processus mnésiques.

Les travaux du CERMN, par la synthèse du Donécopride, ont participé à la démonstration de l'implication des récepteurs 5-HT<sub>4</sub> dans les troubles mnésiques. Les recherches retranscrites dans la littérature ont dévoilé que le blocage sélectif du récepteur 5-HT<sub>6</sub> contrebalançait les déficits cognitifs liés au vieillissement.

Ce travail a pour objectif la conception et le développement de MTDLs (Multi Target Directed Ligands) à la fois antagoniste 5-HT<sub>6</sub> et agoniste 5-HT<sub>4</sub>.

Dans un premier temps un pharmacophore a été construit à partir d'antagonistes 5-HT<sub>6</sub> issus de la littérature ; ce qui nous a permis de comprendre les requis structuraux nécessaires à cette activité. L'alignement de ligands développés au laboratoire du CERMN sur ce pharmacophore nous a amené à proposer un certain nombre de pharmacomodulations.

Dans un dernier temps, le docking d'antagonistes 5-HT<sub>6</sub> tirés d'une sélection de ligands synthétisés a été effectué, ainsi que des hypothèses de structures résultant de cette étude.

L'ensemble de ce travail ouvre des perspectives d'études intéressantes et prometteuses dans le domaine du traitement des altérations de la mémoire liées au vieillissement et aux démences de type Alzheimer.

**TITRE en anglais:** Involvement of serotonergic 5-HT<sub>4</sub> and 5-HT<sub>6</sub> receptors in the treatment of Alzheimer's disease.

## RESUME en anglais

Alzheimer's disease affects a significant number of individuals in the world and is currently the most widespread of senile dementia.

There are only a few drugs to fight against this disease. However, serotonin receptors are potential therapeutic targets against the memory problems associated with aging and neurodegenerative diseases.

Studies have shown the important role of serotonin 5-HT<sub>6</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors in the memory processes modulation.

The CERMN work by Donecopride synthesis, participated in the demonstration of the involvement of 5-HT<sub>4</sub> receptors in memory disorders. The transcribed literature searches revealed that selective blockade of 5-HT<sub>6</sub> receptor counterbalanced cognitive deficits associated with aging.

This work aims to design and development of MTDL (multi target ligand directed) both 5-HT<sub>6</sub> antagonist and 5-HT<sub>4</sub> agonist.

We first built the pharmacophore of the 5-HT<sub>6</sub> ligands by molecular modelling, allowing us to understand the structural requisites for antagonist activity. The alignment of ligands developed CERMN on the pharmacophore has led us to propose a number of pharmacomodulations.

Finally, we performed the docking of the 5-HT<sub>6</sub> antagonists from a selection of ligands synthesized, as well as assumptions structures resulting from this course.

All of this work opens up prospects for interesting and promising studies in memory alterations processing area related to aging and Alzheimer-type dementia.

**MOTS CLES :** Maladie d'Alzheimer, mémoire, récepteurs sérotoninergiques, MTDL, pharmacophore, modélisation moléculaire, docking

UNIVERSITE DE CAEN BASSE NORMANDIE  
U.F.R des sciences Pharmaceutiques et biologiques  
Boulevard Becquerel  
14032 Caen

UNIVERSITE DE RENNES 1  
U.F.R des sciences Pharmaceutiques et biologiques  
2 av. du Professeur Léon Bernard  
35043 Rennes