République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Yahia Fares de Médéa Faculté des Sciences Département de Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Immunologie et maladies infectieuses

Thème

Approche comparative in silico entre les differentes agonistes de la voie anti-inflammatoire cholinergique alpha 7

Présenté par :

SADOUDI rahil

BENDAOUD chaimaa

Soutenue publiquement le : 18\06\2023, Devant le jury composé de :

Mme GASMI. S	MCA	Université de Médéa	Président
Mme MEZIANE.W	MCB	Université de Médéa	Examinateur
Mme DOUAOUI.S	MCB	Université de Médéa	Promoteur

Année universitaire 2022/2023

REMERCIEMENT

Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant de m'avoir accordé la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, atteindre mon but et réaliser ainsi un rêve.

A Dr DOUAOUI SANAA

Nous tenons à vous remercier vivement d'avoir accepté de diriger ce travail.

A TOUS NOS ENSEIGNIANT

Je vous remercie tous nos enseignants d'université qui nous sont enseigné sans exception et nous remercions particulièrement Pr. Oumouna.

A Mesdames tous les membres du Jury

Nos remerciement vont également aux membres des jury pour l`intérêt qu`ils ont porté à nous recherche en acceptent d`examiner notre travail..

Dédicace

*Louanges et gloire à **Allah** le Tout-Puissant, qui m'a accordé la santé, le courage, la force et l'enthousiasme sincère pour mener à bien ce travail, et qui a mis à ma disposition Ses serviteurs vertueux.*

*Puissent la force et la connaissance nécessaires m'être accordées par **Allah** pour poursuivre...*

Après cinq années de fatigue, d'efforts, de veilles et de lutte, notamment cette année riche en événements qui resteront à jamais gravés dans ma mémoire, je tiens à remercier A :

*Ma famille pour leur soutien : **mon père Miloud, ma mère, Anes, Younes, Youcef.***

*A tous mes collègues, en particulier ceux qui ont été présents à mes côtés cette année : **Sara, Chaimaa, Younes, Radia, Nesrine**, **Rafik, Rabia, Yacine.***

*Un merci particulier à mon professeur **Mme. Douaoui** qui m'a beaucoup aidé à finaliser mon mémoire.*

*Je remercie également tous ceux qui m'ont soutenu de l'administration : **Wahiba***

*Et enfin, je remercie ma collègue **Chaimaa Bendaoud** et adresse mes sincères remerciements à sa famille.*

Et A tous qui m`aiment et que j`aime

❤*Merci à tous* ❤

Rahil sadoudi

DÉDICACE

Louange à Dieu pour tout ce qu'il nous a béni dans nos efforts, ô Dieu. Tout ce que nous avons accompli de réussite est grâce à Ta générosité, Ta bonté et Ta guidance, ô Miséricordieux. Nous Te remercions pour les innombrables bienfaits qu'Il nous accorde.

- Après cinq années de fatigue, d'efforts, de veilles et de lutte, notamment cette année riche en événements qui resteront à jamais gravés dans ma mémoire, j'ai remercié

-À celui qui était mon soutien et ma force, et que j'aurais souhaité être présent avec moi en ces moments, à mon père que Dieu ait son âme mon père ***belkassem.***

-À toi qui possèdes un paradis sous tes pieds, à celle qui était la mère idéale et le père en même temps. ***Ma chère mère****. Et aussi ma chère sœur Sara et tous ma famille, surtout ma* ***chère grand-père****, et aussi ma chère marie* ***Nassim .***

- À toutes les personnes qui m'ont aidé dans les moments difficiles sans hésiter jusqu'à la dernière minute, je tiens à remercier tous mes collègues, en particulier ceux qui ont été présents à mes côtés cette année : ***Sara, Chakib, Radia, Nesrine,rabia Rafik.***

-Un merci particulier à mon professeur ***Mme. Douaoui*** *qui m'a beaucoup aidé à finaliser mon mémoire.*

- Je remercie également tous ceux qui m'ont soutenu de l'administration : ***wahiba***

- Et enfin, je remercie ma collègue ***sadoudi rahil*** *et adresse mes sincères remerciements à sa famille.*

❤*Merci à tous*❤

CHAIMAA BENDAOUD

Sommaire

Partie bibiographique

Chapitre I: Généralités …….. **2**

I. La voie cholinergique anti-inflammatoire …… **2**

I-1. Nerf vague ……. **2**

I-2.la voie cholinergique anti-inflammatoire …….. **2**

II: les recepteur cholinergique …….. **3**

II-1. achetylcholine …….. **3**

II-2.les récepteur cholinergique …… **4**

II-2-1.les récepteures muscarinique …… **4**

II-2-2. recepteur nicotinique ……. **5**

II-2-3. Diversité des sous-types de récepteurs nicotiniques ……. **6**

II-2-4. Le récepteur acétylcholine nicotinique α7…….. **7**

II-2-4-1. Structure de α7……. **8**

II-2-4-2. Distribution de α7…….. **9**

II-2-4-2-a. α7nAChR dans les neurones……... **9**

II-2-4-2-b. α7nAChR dans les cellule immunitaire…… **11**

II-2-4-3. Modulateurs allostériques des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine .. **16**

II-2-4-3-1-a. agoniste…… **23**

II-2-4-3-1-b. antagoniste…… **23**

Partie pratique

Chapitre II: matériels et méthodes**……** **24**

• II-1 Matériels …….. **24**

1. Micro-ordinateur …….. **24**

2. Programme …… **24**

3. Les sites …….. **24**

II-2 méthodes ……. **31**

II-2-1 Préparation des ligands …….. **31**

II-2-2 Préparation du récepteur…… **31**

II-2-3 Docking moléculaire …… **32**

II-2-4. La procédure de l'analyse…….. **32**

Chapitre III- Résultats …… **33**

III-1. Caractéristiques physico-chimiques ……... **33**

III-2. Prédiction des cibles biologiques au niveau cellulaire …….. **35**

III-3. Prédiction de l'intérêt thérapeutique…….. **37**

III-4. Etude de l'absorbance des ligands étudiés …… **39**

III-5. Le docking moléculaire …… **40**

III-5-1- Résultats numériques…… **40**

III-5-2. Présentation graphique des dockings moléculaires …….. **42**

III-5-2-1. Analyse des liaisons établies entre les ligands et le récepteur α nAChR …… **55**

III-5-2-2. Analyse de la séquence d'acides aminés des site de liaison entre les ligands et le récepteur α nAChR…… **56**

Chapitre IV. Discussion générale …… **59-60**

Conclusion ……. 61

Liste des figures

Figure 1: Voie cholinergique anti-inflammatoire**..**	**03**
Figure 2 : Diagrammes de la structure des canaux ioniques nAChR neuronaux	**06**
Figure 3: La structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine α7**.**	**08**
Figur4 :de liaison pour les ligands thérapeutiques sur les récepteurs nAChR de type α7**.**	**20**
Figure 5. Exemples de modulateurs allostériques de type I, type II et intermédiaire 7 de type I/type II(PAMs)**.**	**21**
Figure 6 : Exemples de PAMs activateurs allostériques (Ago-PAM) et d'agonistes silencieux**.**	**22**
Figure 7 : Représentation diagrammatique des différentes classes de sites orthostériques et allostériques dans les canaux ioniques ligand-dépendants pentamériques.	**22**
Figure 08: structure 3D du récepteurα7 nAChR (A) vue horizontale, (B) vue longitudinale.	**30**
Figure 09 : diagramme représente principale méthode de Docking	**32**
Figure 10 : schéma repressente les différent agonistes qui absorber	**39**
Figure11 : (acétylcholine +alpha7)	**42**
Figure12:(Nicotine + alpha7)	**43**
Figure13 : (GTS-21 + alpha 7)	**44**
Figure14 : (alpha bungarotoxine +alpha7)	**45**
Figure 15: (PNU-282987+alpha7)	**46**
Figure 16: (AR-R17779 + alpha 7).	**47**
Figure 17: (SEN 12333 + alpha 7)	**48**
Figure 18: (CP-810123 + alpha 7)	**49**

Figure **19** : (tropisetron+alpha 7)	**50**
Figure 20 :(PHA-543613 Dihydrochloride +alpha 7)	**51**
Figure 21: (TC-5619+alpha7)	**52**
Figure 22: (Semapimod hydrochloride + alpha 7)	**53**
Figure 23 : ([3H] methyllycaconitine + alpha7)	**54**

Liste des tableaux

Tableau01 : liste des agonistes du récepteur α7 nAChR étudiés**.**	**25**
Tableau02 : Les caractéristiques physico-chimiques des 13 ligands.	**34**
Tableau03 : prédiction des cibles biologiques pour les 13 ligands.	**35**
Tableau 04 : La prédiction de l'intérêt thérapeutique des ligands étudiés.	**37**
Tableau 05: résultats numériques des Dockings	**41**
Tableau 06: le nombre et le type de liaison entre les 13 ligands et récepteur α nAChR.	**55**
Tableur 07: les site de liaison des ligands .	**56**

Liste d'abréviation

5-HT3	sérotonine de type 3
Ach	Acetylecholine
BHE	barrière hémato-encéphalique
CAP	La voie anti-inflammatoire cholinergique
CICR	Liberation de Ca2+ induite par le Ca2+
COX-2	cyclooxygenase-2
CPA	cellules présentatrices d'antigènes
DC	Les cellules dendritiques
ECD	domaine extracellulaire
FGF2	facteur de croissance des fibroblastes 2
GABAA	l'acide γ-aminobutyrique de type A
GLAST	transporteur du glutamate/aspartate
GTP	protéines G
HLA-DR	l'antigène de leucocytes humains
HPA	L`axe hypophyso-surrénalien
HR	Rythme cardiaque
ICD	domaine intracellulaire
IFN-γ	interferon-γ
LTD	long-term depression
LTP	long-term potentiation
mAchR	Recepteur muscarinique e l`acetylecholine
MHCII	complexe majeur d'histocompatibilité

MilogP	Molecular Interactions Log P
NA	Norepinephrine
nAchR	Recepteur nicotinique de l`achetylecholine.
NAL	ligands allostériques neutres
NAM	modulateurs allostériques négatifs
NF-κB	nuclear factor kappa B
NIH	National Institutes of Health
NLM	Bibliothèque nationale de médecine
nM	Nanomolaire
NTS	Noyaux tractus solitariuse
PAM	Modulation allostérique positive
PDB	Banque de données des protéines
PGE2	prostaglandin E2
PI3K	phosphatidylinositol 3-kinase
PM	poids moléculaire
PSA	surface polaire moléculaire
QSAR	régression linéaire quantitative
RA	rheumatoid arthritis
RCPG	Recepteur couple au proteine G
ROR-α	α des acides rétinoïques orphelins
ROR-γT	acides rétinoïques orphelins Γt
SAM	modulateurs allostériques silencieux
SLURP-1	receptor–related protein 1

SNA	Système nervaux autonome
SNC	Système nervaux centrale
SNP	Système nervaux parasympathique
SNS	Système nervaux sympathique
TM	Transmembranaires
TMD	domaine transmembranaire
TNF	Tumour necrosis factor
TNF-α	f tumor necrosis factor-α
TPSA	Topological Polar Surface Area
Treg	T regulateur
VDCC	Canaux calcique dependants du voltage
ZAC	canal ionique activé par le zinc
α 7 nAchR	Recepteur nicotinique alpha 7 de l`achetylecholine.
α-BTX	α-bungarotoxine
BBB	barrière hémato-encéphalique

Résumé

Dans le contexte de l'identification et l'optimisation de l'utilisation de nouvelles molécules anti-inflammatoires à intérêt thérapeutique, nous avons réalisé dans ce travail une comparaison In Silico de 13 ligands du récepteur nicotinique alpha 7 (α7 nAchR). Ce dernier est l'élément clé de la voie anti-inflammatoire cholinergique qui demeure une piste prometteuse dans le traitement de plusieurs maladies inflammatoire chronique

Pour cela, nous avons collecté les 13 ligands de la banque des données « PubChem » et le récepteur α7 nAchR de la banque des protéines « PDB ». Sur le plan pratique, nous avons tout d'abord réalisé une analyse des caractéristiques physico-chimiques et une prédiction des effets biologiques sur les portails web « Molinspiration » et « SwissADME ». De plus, nous avons utilisé la plateforme PASS afin de prédire l'intérêt thérapeutique des 13 molécules étudiées. Enfin, nous avons réalisé une série de docking moléculaire des molécules sélectionnées au récepteur α7 nAchR sur l'outil « CB-DOCK2 » et analysé les données sur le programme « DISCOVERY ».

Nous résultats confirment que les deux agonistes GTS-21 et le PNU282987 sont les deux molécules qui respectent les conditions de la règle de Lipinski avec des caractéristiques physico-chimiques qui leurs qualifient comme drug-like. Cependant, l'antagoniste alpha-bungarotoxin et les deux agonistes Semapimod hydrochloride et [3H]methyllycaconitine ne respectent pas les conditions de caractérisation et d'identification des molécules à intérêt thérapeutique. Les données du docking moléculaire rejoint les données précédentes, la GTS-21 et le PNU282987 présentent les meilleures affinités au récepteur α7 nAchR ce qui suppose que leur effet biologique et leur intérêt thérapeutique sont conditionnés par cette voie cholinergique anti-inflammatoire.

Ces résultats représentent la première investigation In silico de ces molécules qui proposent la GTS-21 et le PNU-282987 comme nouvelles molécules à intérêt thérapeutique.

Mots clés : In Silico, docking moléculaire, alpha 7, Voie anti-inflammatoire cholinergique

Abstract

In the context of identifying and optimizing the use of new anti-inflammatory molecules with therapeutic potential, we conducted an in silico comparison of 13 ligands of the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor (α7 nAchR) in this study. The α7 nAchR is a key element of the cholinergic anti-inflammatory pathway, which remains a promising avenue in the treatment of several chronic inflammatory diseases.

To do this, we collected the 13 ligands from the "PubChem" database and the α7 nAchR receptor from the "PDB" protein database. In practical terms, we first conducted an analysis of the physicochemical characteristics and predicted the biological effects using the "Molinspiration" and "SwissADME" web portals. Additionally, we used the PASS platform to predict the therapeutic potential of the 13 molecules under investigation. Finally, we performed a series of molecular docking of the selected molecules with the α7 nAchR receptor using the "CB-DOCK2" tool and analyzed the data using the "DISCOVERY" program.

Our results confirm that the two agonists, GTS-21 and PNU282987, are the two molecules that meet the Lipinski rule conditions, with physicochemical characteristics qualifying them as drug-like. However, the alpha-bungarotoxin antagonist and the two agonists, Semapimod hydrochloride and [3H]methyllycaconitine, do not meet the criteria for characterization and identification of molecules with therapeutic potential. The molecular docking data corroborate the previous findings, with GTS-21 and PNU282987 showing the highest affinities for the α7 nAchR receptor, suggesting that their biological effects and therapeutic potential are conditioned by this cholinergic anti-inflammatory pathway.

These results represent the first in silico investigation of these molecules, proposing GTS-21 and PNU-282987 as new molecules with therapeutic potential.

Keywords: In Silico, molecular docking, alpha 7, cholinergic anti-inflammatory pathway.

ملخص

في سياق تحديد وتحسين استخدام جزيئات مضادة للالتهاب الجديدة ذات الإمكانات العلاجية، قمنا في هذه الدراسة بإجراء مقارنة In Silico لـ 13 مركبًا للرابطة الألفا 7 للنيكوتين الأسيتيل كولين (α7 nAchR). يُعتبر α7 nAchR عنصرًا أساسيًا في المسار المضاد للالتهاب الكوليني، الذي يعد مسارًا واعدًا في علاج العديد من الأمراض الالتهابية المزمنة.

من قاعدة بيانات البروتينات α7 nAchR ومستقبل الـ "PubChem" لذلك، قمنا بجمع المركبات الـ 13 من قاعدة البيانات "PDB". من الناحية العملية، قمنا في البداية بتحليل الخصائص الفيزيكوكيميائية وتوقع التأثيرات البيولوجية باستخدام بوابتي لتوقع الإمكانات العلاجية PASS بالإضافة إلى ذلك، استخدمنا منصة "SwissADME"و "Molinspiration" الويب α7 nAchR للمركبات الـ 13 المدروسة. وأخيرًا، أجرينا سلسلة من تحميص الجزيئات للمركبات المختارة مع مستقبل الـ "DISCOVERY". وقمنا بتحليل البيانات باستخدام برنامج "CB-DOCK2" باستخدام أداة

، مع وجود خصائص Lipinski هما المركبان اللذان يفيان بشروط قاعدة PNU282987 و GTS-21 تؤكد نتائجنا أن المنشطين Semapimod والمنشطين bungarotoxin-فيزيوكيميائية تؤهلهما كمركبات تشبه الدواء. ومع ذلك، فإن خصم الألفا لا يفيان بمعايير توصيف وتحديد المركبات ذات الإمكانات العلاجية. [3H]methyllycaconitine و hydrochloride تتطابق بيانات تحميص الجزيئات

، مما يشير إلى أن α7 nAchR أعلى تلاقٍ مع مستقبل الـ PNU282987 و GTS-21 المولدة مع النتائج السابقة، حيث تظهر تأثيرهما البيولوجي وإمكاناتهما العلاجية مشروطة بهذا المسار المضاد للالتهاب الكوليني.

كمركبات جديدة ذات إمكانات PNU-282987 و GTS-21 لهذه المركبات، وتقترح In Silico تمثل هذه النتائج أول تحقيق علاجية.

الكلمات الرئيسية: في السيليكو، تجانس جزيئي، ألفا 7، مسار مضاد للالتهاب الكوليني

Introduction

Le récepteur nicotinique Alpha 7 (α 7 nAchR) est un récepteur homopentamère membranaire appartient à la grande famille des récepteurs de l'acétylcholine, Les études récentes le décrivent comme un récepteur a potentiel anti inflammatoire considérable ,De plus de par son expression ubiquitaire, ce récepteur pourrait être une intéressante voie anti inflammatoire à intérêt thérapeutique dans des modèles pathologique divers**(Papke and Horenstein, 2021a)**.

Actuellement, plusieurs agonistes et antagonistes ont été identifiés présentant des effets multiples de plus de leur impact anti-inflammatoire associé à leur capacité d'activer le récepteur α 7 nAChR **(Youssef, et al.2021).** Hypothèse : l'hypothèse centrale de notre travail est de confirmer qu'il existe des différences entre les ligands de récepteur α7 nAchR sur le plan pharmacologique, site de liaison et affinité d'association ce qui prédit leurs effets biologiques distincts.

Pour cela, nous avons tracer comme objectif de faire une comparaison in silico entre 12 molécules décrites comme agonistes au récepteur α7 nAchR et un antagoniste commun aux récepteurs nicotiniques. Afin d'exécuter cet objectif, nous avons suivi les étapes suivantes :

1. Choix et sélection de la conformation adéquate du récepteur α 7 nAchR.

2. Constitution de la bibliothèque de ligands.

3. Analyse prédictive des caractéristiques physico-chimiques, fonctionnelles et des activités biologiques des ligands.

4. Prédiction des ligands qui traversent la barrière hémato-encéphalique.

5. Réalisation des dockings moléculaires afin d'évaluer l'affinité de chaque ligand pour le récepteur et de visualiser le site de liaison. Notre objectif est de mener une étude informatique pour caractériser in silico les différents paramètres de conformation des ligands du récepteur α 7

nAChR.

Dans notre travail, nous cherchons à réaliser une étude comparative entre ces molécules en termes d'affinité pour l'alpha 7 dans le site de liaison physico-chimique, ainsi qu'à prédire leur activité en utilisant Molinspiration et le programme pass

Chapitre I : Généralités

I- la vois cholinergique anti-inflammatoire

I-1. Nerf vague :

Le nerf vague fait partie du système nerveux autonome parasympathique et peut également réguler la fonction autonome et réguler l'inflammation**(Courties et al., 2021).**Le nerf vague contient des fibres sensorielles et motrices qui permettent une communication bidirectionnelle entre le système nerveux central et les organes périphériques**(de Araujo and de Lartigue, 2020a)**. La capacité de sentir et de répondre de manière réflexe aux stimuli périphériques est caractérisée par le rôle du nerf vague dans la voie cholinergique anti-inflammatoire (CAP)**(de Araujo and de Lartigue, 2020b).**

I-2.la vois cholinergique anti-inflammatoire :

La voie anti-inflammatoire cholinergique (CAP) est une voie neuro-immunomodulatrice récemment découvert (**Youssef, et al. 2020)**. Elle exerce des effets anti-inflammatoires en régulant la différenciation et les fonctions d'un panel de cellules immunitaires d'une manière dépendante du nerf vague. Le récepteur nicotinique alpha 7 de l'acétylcholine (α7nAChR) est le composant fondamental de cette voie, qui interagit avec l'acétylcholine (ACh) et initie les événements moléculaires intracellulaires **(Wu et al., 2021).**

La libération de cytokines active les fibres afférentes du nerf vague à travers la structure paraganglionnaire, Les signaux nerveux afférents du nerf vague sont relayés aux centres de projection du nerf vague (noyau tractus solitarius [NTS] et autres),Ils activent les fibres efférentes du nerf vague, qui libèrent de l'acétylcholine (ACh) dans les ganglions cœliaques et forment une synapse avec le nerf sympathique splénique. Le nerf splénique libère de la norépinephrine (NA) qui se lie aux récepteurs adrénergiques bêta 2 (β2-AR) sur les cellules T spléniques, La NA induit une production non neuronale d'ACh par les cellules T. L'ACh se lie au récepteur nicotinique alpha7 de l'ACh (α7nAChR) exprimé par les macrophages, ce qui entraîne une diminution de la production de cytokines par les macrophages spléniques. Les afférences du nerf vague stimulent également l'axe hypophyso-surrénalien (HPA) et déclenchent la sécrétion de cortisol par les glandes surrénales, ce qui contribue également à combattre l'inflammation**(Courties et al., 2021)**(fig.1).

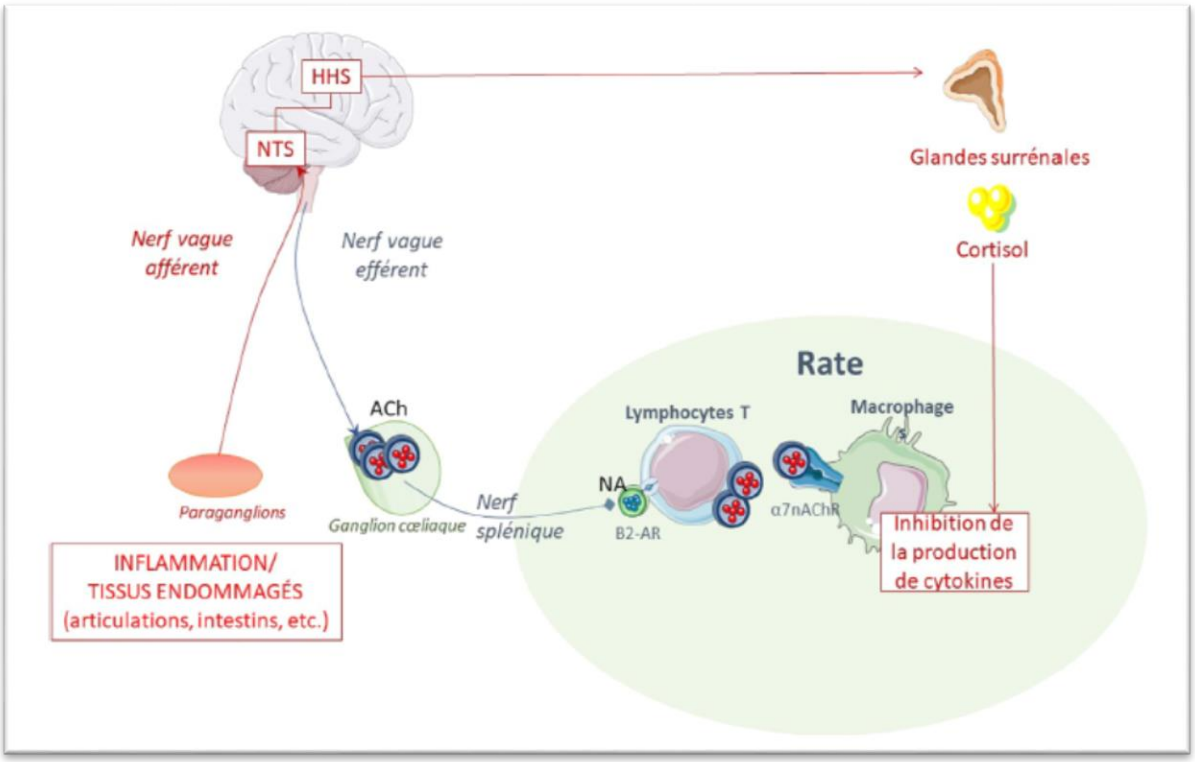


Figure 1: Voie cholinergique anti-inflammatoire **(Courties et al., 2021).**

II. Les récepteur cholinergique

II-1. Achetylcholine:

L'acétylcholine (ACh), l'un des premiers neurotransmetteurs identifiés, a été initialement appelée "vagusstoff" par Otto Loewi en raison de ses actions soutenant le ralentissement vagal du rythme cardiaque (HR), et a fait l'objet de recherches intenses pendant des décennies. ACh a été montré pour réguler de nombreuses fonctions physiologiques au sein du système nerveux central (SNC), modulant des fonctions diverses telles que la cognition, l'attention et l'éveil **(Biaggioni, 2022).**

Au sein du système nerveux autonome (SNA), ACh sert de neurotransmetteur principal médiatant la neurotransmission synaptique rapide à la jonction pré-ganglionnaire par les systèmes nerveux sympathique (SNS) et parasympathique (PNS) (Biaggioni, 2022). Le parasympathique PNS (via le nerf vague) utilise l'ACh comme neurotransmetteur postganglionnaire principal pour moduler de nombreux processus physiologiques, (y compris le rythme cardiaque, la motilité gastro-intestinale, les sécrétions des glandes exocrines et la tonicité des montré un rôle du système

nerveux cholinergique (nerf vague) dans la médiation de la production de cytokines en réponse à une anti-inflammation, En plus de médier les fonctions autonomes périphériques, des preuves expérimentales récentes ont montré un rôle du système nerveux parasympathique cholinergique (nerf vague) dans la production de cytokines en réponse à l'inflammation systémique, une réponse appelée la voie anti-inflammatoire cholinergique,Dans cette voie, l'ACh libérée par les efférents vagaux active les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) exprimant la sous-unité a7 sur la membrane plasmique des macrophages et inhibe la libération de la tumour necrosis factor (TNF) et d'autres cytokines inflammatoires**(Biaggioni, 2022).** l'ACh est une molécule de signalisation ubiquitaire produite par de nombreux types de cellules non neuronales et même par certains organismes unicellulaires **(Cox et al., 2020).**

II -2.les récepteur cholinergique :

Les récepteurs de l'acétylcholine (AChRs) sont des récepteurs de neurotransmetteurs qui sont classés en deux principaux sous-type.le nicotinique activé par la nicotine (nAChR),et le muscarinique activé par la muscarine(mAChR)(Chen et al., 2019a) **(Cox et al., 2020b).**

II -2-1.les récepteur muscarinique:

Les récepteurs muscariniques de l'acétylcholine sont des protéines membranaires qui appartiennent à la super-famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) qui transmettent leur signal dans la cellule par l'intermédiaire de protéines hétérotrimériques de liaison GTP (protéines G).(Randáková and Jakubík, 2021). Cinq sous-types de récepteurs muscariniques dénommés (M1 à M5) diffèrent dans leur distribution, les voies de signalisation préférentielles et les fonctions physiologiques médiées (Randáková and Jakubík, 2021). La stimulation des récepteurs M1, M3 et M5 entraîne généralement l'hydrolyse des phosphoinositides en activant la voie Gq-phospholipase C, ce qui entraîne une mobilisation du calcium intracellulaire(Biaggioni, 2022)**.** la stimulation des récepteurs M2 et M4 entraîne généralement l'inhibition de l'adénylyl cyclase et l'activation des canaux potassiques par l'activation de Gi et Go(Biaggioni, 2022)**.** Les récepteurs muscariniques sont présents dans pratiquement tous les organes, tissus et types de cellules, avec une prédominance de sous-types individuels dans divers tissus et organes(Randáková and Jakubík, 2021)**.** Les récepteurs muscariniques médient également les actions non neuronales de l'acétylcholine, notamment la prolifération, la différenciation et l'apoptose cellulaires, la

locomotion et la migration des cellules, l'angiogenèse, les fonctions immunitaires, la sécrétion, l'organisation du cytosquelette et l'activité des muscles ciliaires**(Randáková and Jakubík, 2021).**

II-2-2.recepteur nicotinique:

Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine a joué un rôle de premier plan dans de nombreuses études marquantes depuis le début du 20e siècle(**Gharpure et al., 2020),** Les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAchR) sont des canaux ioniques pentamériques, membres de la superfamille Cys-loop (**Gulsevin, 2020),** Chez l'homme, cette superfamille comprend également le récepteur de l'acide γ-aminobutyrique de type A (GABAA), le récepteur de la glycine, le récepteur de la sérotonine de type 3 (5-HT3) et le canal ionique activé par le zinc (ZAC)**(Gharpure et al., 2020**)**.** Les homologues des récepteurs à boucle de cys sont également répandus chez les procaryotes et les invertébrés**(Gharpure et al., 2020).** Cinq protéines sous-unités structurellement homologues forment un complexe protéique membranaire disposé de manière symétrique autour d'un pore central qui permet le passage des cations à travers la membrane cellulaire**(Biaggioni, 2022).** Chaque sous-unité possède une grande extrémité amino (N-) extracellulaire et une extrémité carboxy (C-), ainsi que quatre hélices alpha transmembranaires (TM) donnant lieu à des boucles extra- et intracellulaires, avec une deuxième grande boucle cytoplasmique (entre TM3 et TM4), qui présente un degré élevé de variabilité de séquence entre les sous-unités **(Biaggioni, 2022)** (fig.2)**.**

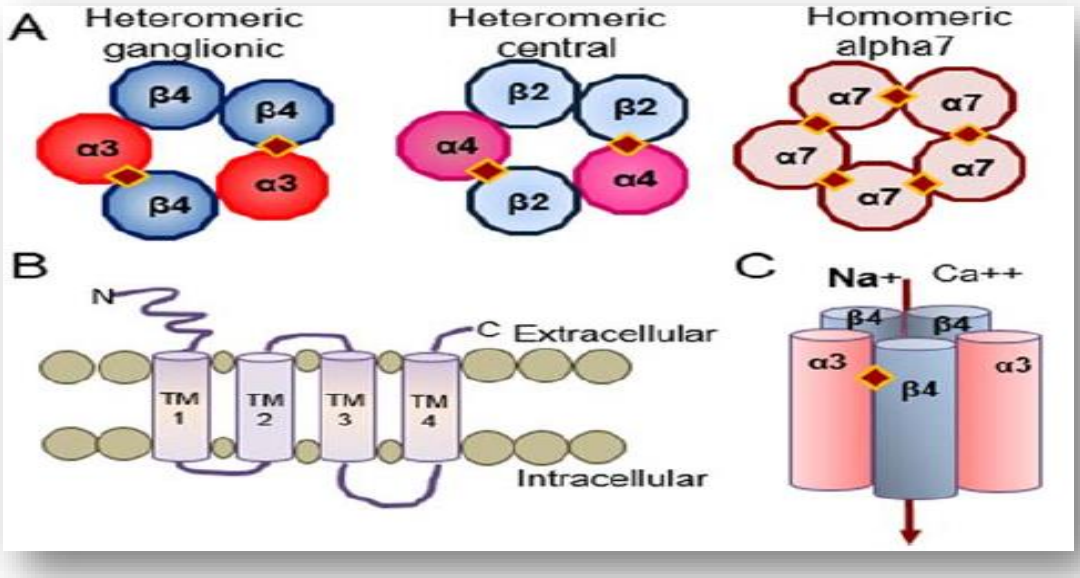


Figure02 : Diagrammes de la structure des canaux ioniques nAChR neuronaux(Biaggioni, 2022)

(A) Vue de dessus de cinq sous-unités neuronales coassemblées en un complexe protéique pentamérique hétéromérique ou homomérique autour d'un pore central. Le site orthogénique de liaison au ligand est situé sur la sous-unité alpha à l'interface d'un site complémentaire sur une sous-unité bêta. (B) Topologie membranaire d'une sous-unité nAChR : chaque protéine de sous-unité contient quatre domaines transmembranaires (TM1eTM4), une amino-(N) et une carboxy-(C) terminales extracellulaires, et une grande boucle intracellulaire TM3eTM4. Les sous-unités Alpha contiennent les cystéines dans la région extracellulaire N-terminale près de TM1 qui forment un lien disulfure créant la boucle Cys. (C) Les nAChRs hétéromériques ganglionnaires sont constitués d'une combinaison des sous-unités a3 et b4 et lorsqu'ils sont activés par l'acétylcholine (représentés par des diamants), le canal s'ouvre et les cations passent à travers le pore **(Biaggioni, 2022).**

II-2-3. Diversité des sous-types de récepteurs nicotiniques :

La famille des récepteurs nicotiniques se compose de 17 sous-unités (α1-α10, β1- β4, γ, δ, et ε) qui peuvent s'assembler en combinaisons limitées pour générer un nombre important mais restreint de sous-types pentamériques distincts**(Gharpure et al., 2020),** De manière générale, les récepteurs nicotiniques peuvent être divisés en deux classes principales, le type musculaire et le type neuronal, en fonction de la composition des sous-unités et de la fonction physiologique**(Gharpure et al., 2020),** Les récepteurs de type musculaire se trouvent sur la plaque terminale motrice à la jonction neuromusculaire, et l'activation de ces récepteurs produit des potentiels de plaque

terminale dépolarisants qui conduisent à la contraction musculaire, Les récepteurs nicotiniques neuronaux sont exprimés dans tout le système nerveux central et périphérique et jouent un rôle important dans la cognition, dépendance, et la fonction homéostatique du système nerveux autonome**(Gharpure et al., 2020),** L'analyse structurale du nAChR musculaire a révélé que le complexe pentamérique est composé de deux sous-unités alpha (α1) et de trois sous-unités non-alpha (β1, ε et δ [γ au lieu de ε pendant le développement du muscle fœtal])**(Biaggioni, 2022),** Sur la base de l'homologie de séquence, d'autres sous-unités neuronales alpha (α2 à α10) et non-alpha (β2 à β4) ont été identifiées dans les tissus neuronaux, En général, les nAChRs neuronaux peuvent être classés en nAChRs hétéromériques et homomériques (α7) **(Biaggioni, 2022).** les homopentamères neuronaux fonctionnels peuvent être formés par α7, α8 et α9 uniquement lorsque les hétéropentamères sont formés par combinaison de sous-unités α et sous-unités β**(Chen et al., 2019b) .**En général, les nAChRs neuronaux hétéromériques sont formés de deux sous-unités α de liaison au ligand et de trois sous-unités β structurelles avec deux sites de liaison aux agonistes**(Biaggioni, 2022)**(fig.2), Ainsi, cette complexité peut potentiellement donner lieu à un grand nombre de sous-types de nAChR neuronaux différents , Cependant, il existe deux sous-types de nAChR neuronaux hétéromériques qui dominent dans différents domaines du système nerveux, dans le système nerveux central (SNC), les nAChRs α4β2 constituent le sous-type hétéromérique le plus répandu, les autres sous-unités présentant une expression nettement plus restreinte, souvent limitée à des populations neuronales sélectionnées telles que les neurones catécholaminergiques et les neurones cholinergiques des noyaux habénulaires **(Biaggioni, 2022).**

II-2-4. Le récepteur acétylcholine nicotinique α7:

Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine de type α7 est l'un des plus uniques et des plus intéressants de tous les récepteur membranaire de la superfamille cys-loop des canaux ioniques dépendants des ligands **(Papke and Horenstein, 2021b),** Depuis qu'il a été identifié pour la première fois comme un site de liaison pour l'α-bungarotoxine dans le cerveau des mammifères, puis comme un récepteur homomérique fonctionnel présentant une perméabilité au calcium relativement élevée, il a été considéré comme une cible thérapeutique potentielle pour de nombreuses indications, de la maladie d'Alzheimer à l'asthme**(Papke and Horenstein, 2021b).**

II-2-4-1. Structure de α7:

Le α7 nAChR présente les mêmes caractéristiques générales que le nAChR hétéromérique, mais il présente des différences mécanistiques et structurelles importantes pour son fonctionnement**(Gulsevin, 2020),** Le α7 nAChR est l'un des principaux sous-types de récepteurs exprimés dans le cerveau, où il joue un rôle central dans le développement du cerveau et également dans le fonctionnement du cerveau adulte, comme l'apprentissage, la plasticité synaptique, la mémoire, la locomotion, l'attention et l'anxiété**(Piovesana et al., 2021),** Il s'agit d'un homo-pentamère composé de cinq sous-unités identiques α7**(Piovesana et al., 2021)**, Chaque récepteur est constitué d'un domaine extracellulaire (ECD) contenant des sites de liaison aux agonistes, d'un domaine transmembranaire (TMD) renfermant une porte de canal et d'un domaine intracellulaire (ICD) qui fait référence aux régions reliant les hélices TM3 et TM4 du TMD**(Bondarenko et al., 2022).**

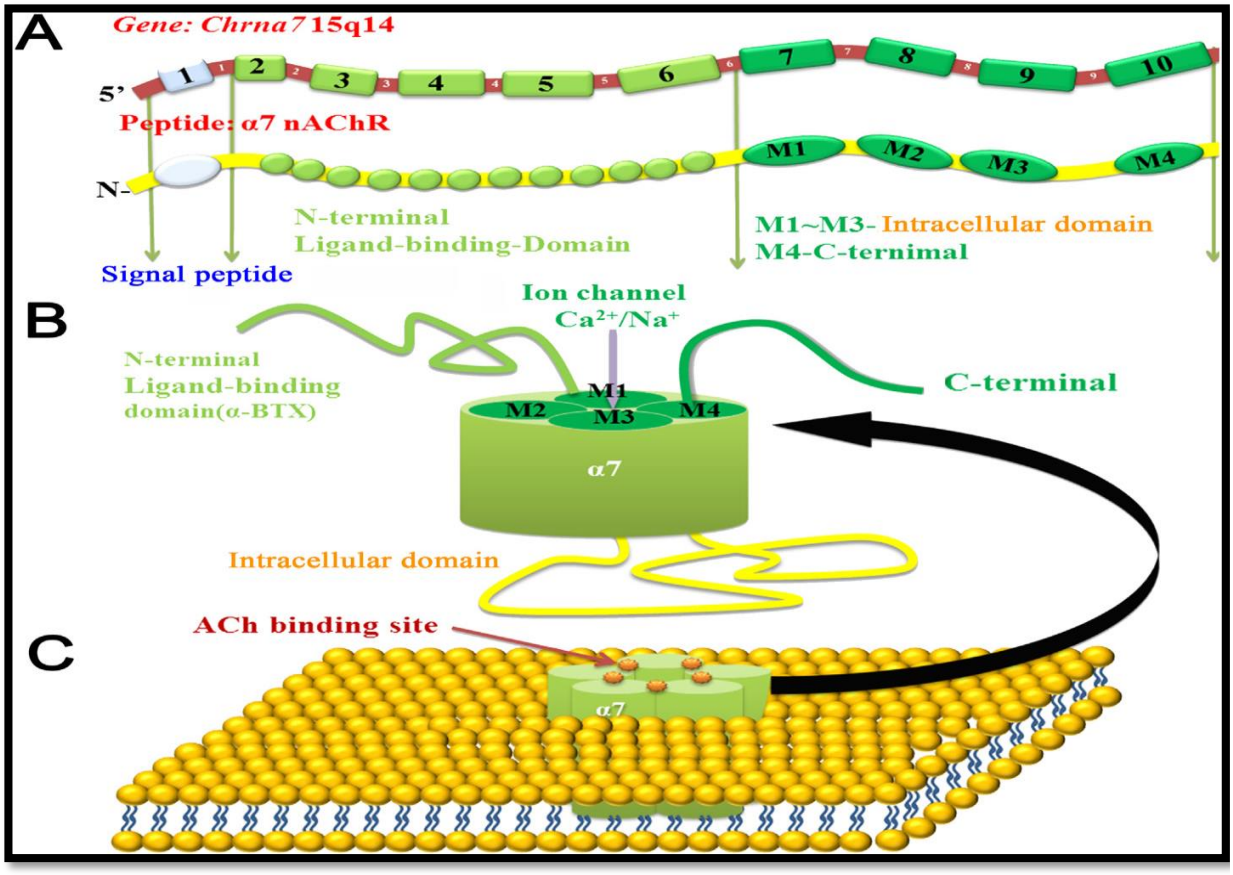


Figure03: La structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine α7**(Ma and Qian, 2019a)**

(A) Le gène Chrna1 est situé sur le chromosome 15q14 , Ce gène est composé de 10 exons (rectangles numérotés de 1 à 10) et de 9 introns (lignes rouges numérotées de 1 à 9), à partir desquels est codée une protéine α7nAChR de 50 kDa. Les peptides codés par les 2ème à 6ème exons sont les sites de liaison pour les ligands de l'α7nAChR tels que l'α-BTX, et les 7ème à 10ème exons codent pour des protéines transmembranaires (ellipse). (B) L'α7nAChR possède un peptide signal N-terminal et un domaine de liaison aux ligands qui a une forte affinité pour l'α-BTX ou des antagonistes similaires à l'α-BTX. Il a également 4 domaines transmembranaires (M1, M2, M3, M4), dont M2 est la partie clé pour la perméabilité au Ca2+, ainsi qu'un domaine intracellulaire régulateur entre M3 et M4. (C) Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (nAChR) constituent une famille de canaux ioniques ligand-dépendants. L'α7nAChR appartient aux récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine qui sont principalement distribués dans le système nerveux central. L'α7nAChR a une forte affinité pour l'α-BTX, forme des récepteurs ioniques homo-pentamériques et est le seul récepteur d'α-BTX identifié dans le cerveau des mammifères. (Pour interpréter les références de couleur dans cette légende de figure, le lecteur est renvoyé à la version en ligne de cet article.)**(Ma and Qian, 2019a).**

II-2-4-2. distribution de α7:

La large distribution des nAChRs et leur implication dans les processus physiologiques et pathologiques font de ces récepteurs des cibles importantes pour différentes applications thérapeutiques **(Manetti et al., 2023)**. Cet homomère α7 nAChR est largement distribué dans les neurones du SNC et du SNP et dans certaines cellules non neuronales, notamment les cellules immunitaires **(Biaggioni, 2022)**.

II-2-4-2-a. α7nAChR dans les neurones:

Le récepteur α7nAChR est largement exprimé dans les neurones. Il se trouve également à différents endroits dans les neurones, notamment sur la membrane présynaptique, la membrane postsynaptique et les sites péri-synaptiques **(Xu et al., 2021)**. L'activation de l'α7nAChR dans les neurones conduit principalement à des événements dépendants du calcium et à une variété d'autres événements de signalisation en aval qui dépendent de l'emplacement du récepteur **(Xu et al., 2021)**. En général, l'activation de l'α7nAChR entraîne une influx de calcium qui augmente les niveaux de Ca2+ dans les neurones, déclenchant des réponses en aval **(Xu et al., 2021)**. Les fonctions physiologiques neuronales de base ne peuvent pas être réalisées sans l'α7nAChR **(Xu et al., 2021)**. L'activation de l'α7nAChR sur la membrane présynaptique entraîne la libération de neurotransmetteurs, ce qui contribue à la transmission synaptique **(Xu et al., 2021)**. De plus, l'effet

de la libération de neurotransmetteurs induite par l'α7nAChR ne nécessite pas d'autres formes d'influx de calcium telles que les VDCC ou les CICR **(Xu et al., 2021)**. L'activation de l'α7nAChR postsynaptique participe aux cascades de signalisation intracellulaires et aux processus en aval **(Xu et al., 2021)**. La fonction la plus importante est d'influencer la plasticité synaptique liée à l'apprentissage, à la mémoire et à la dépendance **(Xu et al., 2021)**. Comme discuté ci-dessus, l'activation correctement chronométrée de l'α7nAChR produit une LTP ou une LTD, qui remodèle et renforce les connexions au sein des réseaux neuronaux **(Xu et al., 2021)**. De plus, de nombreuses études ont signalé que l'activation de l'α7nAChR peut avoir des effets anti-apoptotiques sur les neurones **(Xu et al., 2021)**. Une série de voies de signalisation impliquées dans les effets anti-apoptotiques médiés par l'α7nAChR ont été découvertes **(Xu et al., 2021)**. Huang et al. ont rapporté que la neuroprotection induite par la nicotine contre l'apoptose neuronale induite par la colchicine était médiée par la voie de signalisation PI3K/Akt **(Xu et al., 2021)**.De plus, Yu et al. ont démontré que l'activation de l'α7nAChR réduisait l'apoptose neuronale induite par la β-amyloïde par la voie de signalisation PI3K **(Xu et al., 2021)**. Cependant, Chen et al. ont rapporté que l'agoniste de l'α7nAChR, le PHA568487, inhibait l'apoptose neuronale par la voie de signalisation TLR/Myd88/NF-κB **(Xu et al., 2021)**. De plus, comme mentionné ci-dessus, Hung et al. ont rapporté que l'α7nAChR pouvait induire le transport de Aβ dans le cytoplasme et favoriser la dégradation par l'autophagie dans les cellules SH-SY5Y**(Xu et al., 2021)**. Jeong et Park ont également indiqué que l'α7nAChR régulait positivement l'autophagie dans les cellules SH-SY5Y et protégeait contre la neurotoxicité mitochondriale médiée par les prions **(Xu et al., 2021)**. En résumé, l'activation de l'α7nAChR contribue non seulement à des processus instantanés tels que l'influx de calcium et la libération de neurotransmetteurs, qui constituent les fonctions neuronales de base, mais elle participe également à des effets à long terme tels que la plasticité synaptique et influence les voies de signalisation intracellulaires pour produire des effets anti-apoptotiques et augmenter l'autophagie **(Xu et al., 2021).**

●α7nAChR dans les astrocytes:

Les astrocytes sont des cellules gliales en forme d'étoile présentes dans le système nerveux central (SNC) **(Xu et al., 2021).** Selon les recherches, les astrocytes du cerveau représentent entre 20% et 40% de toutes les cellules gliales **(Xu et al., 2021)**. Pendant longtemps, les scientifiques ont considéré les astrocytes comme de simples cellules de soutien pour les neurones **(Xu et al., 2021)**.

Cependant, de nombreuses fonctions importantes ont récemment été découvertes, notamment la régulation des neurotransmetteurs, le maintien de la barrière hémato-encéphalique (BHE), la formation de la synapse tripartite, le support métabolique, la détection du glucose, la régulation de la concentration d'ions dans l'espace extracellulaire et la réparation des lésions du SNC grâce à la formation de cicatrices gliales **(Xu et al., 2021).** Le α7nAChR est également distribué dans les astrocytes et son activation peut influencer les fonctions cellulaires **(Xu et al., 2021)**. Teaktong et al. ont rapporté que l'expression de α7nAChR dans les astrocytes était plus élevée dans la maladie d'Alzheimer que dans la démence à corps de Lewy, ce qui pourrait contribuer aux altérations de l'homéostasie calcique et à la production d'oxyde nitrique en réponse à l'inflammation médiée par Aβ dans la maladie d'Alzheimer**(Xu et al., 2021)**. Yu et al. ont également constaté une augmentation significative de l'expression de α7nAChR dans les astrocytes chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer ou chez les patients porteurs de la mutation APP 670/671 suédoise, mais cette augmentation était plus prononcée chez les patients porteurs de la mutation APP 670/671 suédoise**(Xu et al., 2021)**. Ils ont en outre indiqué que l'augmentation de l'expression de α7nAChR dans les astrocytes était positivement corrélée à l'étendue des changements pathologiques, en particulier le nombre de plaques neuritiques chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, ce qui indique son rôle important dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer **(Xu et al., 2021)**. Bien que ces études aient démontré la relation entre le α7nAChR dans les astrocytes et les maladies du système nerveux central, elles n'ont pas décrit les rôles exacts de α7nAChR dans ces maladies **(Xu et al., 2021)**. Plus tard, Liu et al. Ont rapporté l'effet protecteur de α7nAChR contre la perte de neurones dopaminergiques dans un modèle de la maladie de Parkinson en inhibant l'activation des astrocytes **(Xu et al., 2021)**. Contrairement à cette découverte, Talantova et al. Ont rapporté que Aβ induisait la libération de glutamate astrocytaire par l'intermédiaire de α7nAChR, ce qui activait les récepteurs NMDA extrasynaptiques sur les neurones et endommageait les synapses dans la maladie d'Alzheimer **(Xu et al., 2021)**. Dans l'ensemble, l'activation de α7nAChR dans les astrocytes peut entraîner différents effets dans différentes conditions, qui peuvent dépendre de divers ligands ou région cérébrale **(Xu et al., 2021)**.

II-2-4-2-b. α7nAChR dans les cellule immunitaire :

Comme il est bien connu, l'ACh exerce ses fonctions physiologiques par interaction avec les récepteurs mAChR ou nAChR en agissant en tant que neurotransmetteur. Intéressant, la distribution de ces récepteurs n'est pas limitée au système nerveux mais également présente sur la plupart des cellules immunitaires **(Wu et al., 2021a)**.

●Cellule T:

Les cellules T sont les éléments clés de l'immunité adaptative et sont responsables de la reconnaissance des antigènes et du maintien des réponses immunitaires acquises**(Wu et al., 2021a)**. Par conséquent, le rôle des cellules T, en particulier des sous-groupes CD4+, dans les inflammations ne peut être négligé**(Mellado, 2015)**. Ils jouent un double rôle dans le processus d'inflammation et initient deux réponses immunitaires distinctes dans des circonstances variées**,**Une prolifération déficiente ou excessive des cellules T est étroitement liée aux maladies inflammatoires**(Schwaneck et al., 2020)**. La nicotine et l'ACh peuvent inhiber la prolifération des cellules T en réponse au mitogène, De même, le chlorure de carbamoyle, un agoniste cholinergique non spécifique, a la même propriété **(Wu et al., 2021a)**. De plus, les effets antiprolifératifs des réactifs cholinergiques sur les cellules T peuvent être largement antagonisés en présence d'ARNsi antisens α7nAChR **,** Ces faits indiquent que ce sont les récepteurs nAChR, au moins α7nAChR, plutôt que les mAChR, qui sont responsables de l'inhibition de la prolifération des cellules T lors de l'excitation pan-cholinergique des récepteurs **(Wu et al., 2021a)**. Outre les effets sur la prolifération, des preuves accumulées suggèrent que l'α7nAChR affecte également l'activation des cellules T, Bien que l'α7nAChR puisse être exprimé par les cellules T naïves, son expression aux niveaux d'ARNm et de protéines est considérablement augmentée après l'activation immunitaire (induite par un antigène ou un mitogène**)(Wu et al., 2021a)**. Le déséquilibre des sous-ensembles de cellules T CD4+ est un autre facteur crucial déterminant les manifestations pathologiques dans de nombreuses maladies immunitaires/inflammatoires **(Wu et al., 2021a)**. Les preuves obtenues suggèrent qu'α7nAChR a un rôle dans la différenciation des cellules T, Lorsque l'α7nAChR a été activé par la nicotine, à la fois les cellules Th1 et Th17 ont été fonctionnellement supprimées (indiquée par une production réduite de TNF-α, IL-2, interféron-γ (IFN-γ), IL-17 et IL-22) **(Wu et al., 2021a)**. D'autres études ont montré que la stimulation de la nicotine réduisait l'activité transcriptionnelle de T-bet mais n'affectait guère le récepteur α des acides rétinoïques orphelins γT (ROR-γT) ou le récepteur α des acides rétinoïques orphelins (ROR-α), Cela suggère que

l'activation de CAP entrave sélectivement la différenciation de Th1 mais pas de Th17**(Wu et al., 2021a)**. Dans un tel contexte, bien que les deux types cellulaires puissent être fonctionnellement inhibés lors d'un traitement à la nicotine, les mécanismes sous-jacents sont différents **(Nizri et al., 2009)**Les connaissances concernant les influences de l'α7nAChR sur les autres cellules T sont limitées **,** Il a été constaté que la nicotine augmentait la production d'IL-4, suggérant le statut activé des cellules Th2**,**De manière intéressante, la nicotine a des effets opposés sur la colite ulcéreuse et la maladie de Crohn dans cette étude, qui étaient médiés par différents sous-ensembles de cellules T**(Galitovskiy et al., 2011)**. L'étude menée par Gowayed et al. a démontré que chez les personnes en bonne santé, l'antagonisme de l'α7nAChR peut renforcer l'inhibition immunitaire médiée par les Tregs , Cela a validé davantage les effets diversifiés de CAP sur différents sous-ensembles de cellules T**(Gowayed et al., 2019)**. Bien que les effets extractibles de l'activation de l'α7nAChR sur les sous-ensembles de cellules CD4+ ne soient pas totalement élucidés, les indices obtenus encouragent le développement de nouvelles thérapies anti-inflammatoires **(Wu et al., 2021a)**. Dans un modèle de sepsis, l'activation de l'α7nAChR a rétabli la distribution déséquilibrée des sous-ensembles de CD4+ T**(Ren et al., 2018)**. Le GTS-21 a été identifié comme un réactif antirhumatismal potentiel car il était capable d'inhiber la différenciation de Th1 dans les modèles de RA, et a ainsi atteint une rémission soutenue de l'inflammation **(Wu et al., 2021a)**.

●Cellule B:

En tant que partie du système immunitaire adaptatif, l'immunité humorale est principalement contrôlée par les cellules B, dérivées des cellules souches hématopoïétiques **,**Après leur maturation dans la moelle osseuse, les cellules B sont généralement activées et résident dans les organes lymphoïdes secondaires tels que les ganglions lymphatiques et la rate **(Kondo, 2010)** .Outre leur fonction de synthèse d'anticorps, elles agissent également en tant que cellules présentatrices d'antigènes (CPA) importantes, indispensables à la différenciation spécifique des cellules T **(Kambayashi and Laufer, 2014**). De plus, les cytokines produites par les cellules B contribuent grandement à la maturation et à l'activation des cellules T **(Wu et al., 2021a)**. Il a été confirmé que les lymphocytes B normaux ainsi que les lignées de cellules dérivées de lymphocytes B expriment différents types de récepteurs ACh, notamment α7nAChR **(Wu et al., 2021a)**. Par conséquent, la manipulation du CAP sur les cellules B affectera non seulement l'immunité humorale, mais modifiera également l'état de l'immunité adaptative dans son ensemble **(Wu et al., 2021a)**.

Stimuler des lignées de cellules B de leucémie humaine avec de la nicotine a provoqué une activation transitoire de la signalisation du Ca2+, qui peut être antagonisée par l'α-bungarotoxine (un inhibiteur spécifique de l'α7nAChR**) (Wu et al., 2021a)**. Cela démontre en outre que l'activation de l'α7nAChR est impliquée dans la transduction de signal de Ca2+, un événement moléculaire important facilitant le développement des cellules B **(Wu et al., 2021a)**. Bien que l'activation de l'α4β2 nAChR hétéropentamérique par la nicotine ait efficacement augmenté la population de cellules B dans la moelle osseuse, l'α7nAChR semble avoir un impact encore plus profond sur la prolifération de ces cellules **(Wu et al., 2021a)**. Cela n'affecte pas seulement la distribution des cellules B dans la moelle osseuse mais favorise également grandement leur clone dans la rate **(Wu et al., 2021a)**. De manière surprenante, l'activation de l'α7nAChR est capable de freiner mais pas d'accélérer davantage la production d'anticorps **(Wu et al., 2021a)**. L'étude menée par Koval et al a indiqué que cet effet était principalement médié par CD40, une molécule co-stimulatrice apparentée au récepteur TNF **(Wu et al., 2021a)**. Conformément à cette conclusion, l'ACh a été prouvée comme un régulateur autocrine/paracrine négatif des lymphocytes B **(Hecker et al., 2009).** De plus, il a été découvert que l'α7nAChR participe également à la régulation négative de l'immunité adaptative en inhibant la synthèse et la libération de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6 et IFN-γ) dans les cellules B de la rate, tout en inhibant simultanément la production d'IgG1**(Wu et al., 2021a)**. Dans l'ensemble, l'activation de l'α7nAChR est favorable pour le développement des cellules B en favorisant leur prolifération **,**Cependant, cette signalisation exerce des effets suppressifs sur les réponses immunitaires médiées par les cellules B, qui coordonnent probablement avec des voies inflammatoires pour maintenir des fonctions immunitaires appropriées **(Wu et al., 2021a)**.

●Cellule dendritique :

Les cellules dendritiques (DC) sont les APC professionnels les plus efficaces qui font le lien entre l'immunité innée et l'immunité acquise **(Wu et al., 2021a)**. En raison de leur potentiel important d'activation des lymphocytes, les DC sont profondément impliquées dans les maladies inflammatoires de l'intestin, la myocardite auto-immune, etc**,** Comme les DC expriment intensément l'α7nAChR, leurs fonctions sont inévitablement altérées par la stimulation de la nicotine/l'ACh **(Wu et al., 2021a)**. Lorsque les DC mûrissent en présence de nicotine, leur endocytose et leurs activités phagocytaires sont largement paralysées, et leur capacité à produire

de l'IL-12 et à induire des réponses des lymphocytes T dépendants des APC est également grandement altérée**(Yanagita et al., 2012)**.Le traitement à la nicotine a réduit l'expression de nombreuses molécules co-stimulatrices critiques sur les DC, y compris le CD80, le CD86 et le complexe majeur d'histocompatibilité II (MHCII) **(Wu et al., 2021a).** Cependant, l'activation biologique des CAP dans les DC naturellement matures semble être pro-inflammatoire, L'exposition des DC matures à de faibles doses (au niveau de nM) de nicotine augmente l'expression de CD86, CD54 et de l'antigène de leucocytes humains DR (HLA-DR) **(Inoue et al., 2019).** Les changements dans l'expression des molécules co-stimulatrices sont essentiels pour la présentation physiologique des antigènes et favorables aux fonctions immunitaires des cellules Th1**(Wu et al., 2021a)**. Les raisons exactes expliquant ce paradoxe ne sont pas totalement comprises, Étant donné que les effets de la nicotine sur les DC à différents stades de maturation sont variés, il est possible de conclure que les moments de traitement pourraient servir de facteur important et indépendant pour décider des résultats finaux **(Wu et al., 2021a)**. Le développement de l'immunité acquise dépend fortement des DC ; ainsi, l'activation de l'α7nAChR sur ces cellules finirait par modifier le profil compositionnel des cellules T **(Wu et al., 2021a)**. Dans des conditions inflammatoires, l'activation de CAP dans les DC entrave la différenciation des cellules T naïves en cellules Th1 mais favorise la différenciation des cellules Th2**(Gori et al., 2017).**De manière similaire à la conclusion tirée dans la dernière section, dans des conditions in vivo, les fonctions altérées des DCs lors de la stimulation à la nicotine pourraient être partiellement causées par l'activation de CAP dans d'autres leucocytes périphériques, tels que les cellules T et les monocytes **(Wu et al., 2021a)**.

●Microglie :

Contrairement à d'autres cellules immunitaires, les microglies sont réparties à l'intérieur du crâne et constituent la première et la plus importante ligne de défense dans le système nerveux central **(Wu et al., 2021a)**. Ces cellules gliales spécialisées sont toujours considérées comme un groupe de macrophages résidents dans le cerveau et la moelle épinière en raison de leurs similitudes d'origine et de fonction **(Alzarea and Rahman, 2018)**.Selon les résultats d'une étude sur des tranches de cerveau, Shytle et al. Ont révélé que l'α7nAChR était principalement exprimé par les microglies dans le cerveau de la souris **(Wu et al., 2021a)**. Par conséquent, la signalisation CAP était largement initiée par les microglies **,** Comme ses effets sur les macrophages, l'activation de

l'α7nAChR sur les microglies peut également améliorer l'inflammation et le stress oxydatif des nerfs et est donc considérée comme une stratégie thérapeutique réalisable pour les maladies inflammatoires du système nerveux **(Wu et al., 2021a)**. Étant donné que l'ACh est un neurotransmetteur courant avec des concentrations élevées dans le cerveau, on pense généralement que les astrocytes et les neurones sains, dans des conditions d'homéostasie immunitaire, peuvent contenir les réponses immunitaires innées contrôlées par les cellules microgliales en activant l'α7nAChR **(Egea et al., 2015)**.Étant donné que le COX-2 et le PGE2 ont des effets importants sur l'activation des microglies, la diminution médiée par CAP des deux peut contribuer à la diminution de la transcription des gènes pro-inflammatoires **(Wu et al., 2021a)**. Par conséquent, ces changements rétablissent l'équilibre du ratio M1/M2 dans des conditions inflammatoires, ce qui se traduit par un phénotype de polarisation anti-inflammatoire des microglies **(Wu et al., 2021a).** En raison de ces propriétés immunorégulatrices, le ciblage de la CAP sur les microglies peut atténuer considérablement les effets neurotoxiques causés par les cytokines pro-inflammatoires **(Shytle et al., 2004)**En plus des effets sur la polarisation, une expression accrue du facteur de croissance des fibroblastes 2 (FGF2) et du transporteur du glutamate/aspartate (GLAST) ont également contribué à l'effet neuroprotecteur lors de l'excitation de l'α7nAChR en réduisant l'accumulation de glutamate **(Wu et al., 2021a).**

II-2-4-3.Modulateurs allostériques des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine :

La première génération de médicaments agissant sur les nAChR étaient des composés supposés se lier au même site que le neurotransmetteur endogène acétylcholine (ACh) (appelés "sites orthostériques"), y compris les agonistes et les antagonistes compétitifs(Manetti et al., 2023a). Les agonistes se lient aux sites orthostériques, activant le récepteur dans une plus ou moins grande mesure en fonction de leur efficacité et de leur potentiel intrinsèque**(Bertrand and Gopalakrishnan, 2007)**. Plus récemment, cependant, l'attention s'est portée sur des ligands interagissant avec des sites de liaison situés en dehors des sites orthostériques (appelés "sites allostériques"**(Chatzidaki and Millar, 2015).** Les modulateurs allostériques n'activent/désactivent pas directement le récepteur mais régulent indirectement (positivement ou négativement) l'activité de l'ACh et d'autres agonistes. Seuls quelques modulateurs ont la capacité d'activer indirectement les nAChRs (appelés "agonistes allostériques")(Manetti et al., 2023a)**.**

•Modulation allostérique positive de α7 nAChR :

Les problèmes découlant du manque de sélectivité des ligands orthostériques et de la capacité des agonistes à induire la désensibilisation et la régulation à la hausse des récepteurs ont posé un défi considérable pour le développement d'agents capables de moduler la transmission cholinergique nicotinique par des mécanismes allostériques**(Manetti et al., 2023b)**. Une telle modulation peut être obtenue en utilisant des ligands ayant différentes propriétés pharmacologiques et structurales**(Manetti et al., 2023b).**

En général, les PAM se lient à des sites différents des sites orthostériques, améliorant l'activation des récepteurs induite par les agonistes**(Manetti et al., 2023b)**. Les PAM présentent principalement trois avantages par rapport aux agonistes**(Manetti et al., 2023b)**. Étant donné que les PAM typiques n'agissent pas seuls, ils nécessitent l'application conjointe d'un agoniste pour augmenter la probabilité d'ouverture des canaux ioniques induite par des agonistes endogènes ou exogènes**(Manetti et al., 2023b)**. Les sites de liaison allostériques sont moins conservés que les sites orthostériques, par conséquent, les premiers présentent une plus grande diversité structurelle qui peut être exploitée pour obtenir une plus grande sélectivité**(Manetti et al., 2023b)**. Étant donné que l'action des agonistes détermine la désensibilisation des récepteurs, l'utilisation de PAMs qui retardent la désensibilisation des récepteurs (par exemple, les PAM de type II α7) peut être extrêmement utile pour surmonter ou réduire la tolérance et, par conséquent, la surdose**(Manetti et al., 2023b)**. Les PAM maintiennent les caractéristiques temporelles de l'activation endogène, réduisent la tolérance due à la désensibilisation et présentent une plus grande sélectivité de récepteur que les agonistes **(Manetti et al., 2023b)**. Il est probable que ces qualités positives soient liées à la neuroprotection observée induite par les PAMs **(Manetti et al., 2023b)**. Les PAM agissent pendant une durée limitée, amplifiant la signalisation médiée par les agonistes cholinergiques endogènes (c'est-à-dire, ACh et choline) en donnant un tonus aussi physiologique que possible. Ils augmentent la fréquence et la durée moyenne des ouvertures des canaux α7 nAChR et le nombre d'activations**(Manetti et al., 2023b)**. De plus, les PAM de type II retardent la désensibilisation des récepteurs, réduisant la barrière énergétique. Ces PAM peuvent également entraîner la déstabilisation de l'état désensibilisé des récepteurs α7 nAChR, permettant une restauration rapide des canaux ioniques dans des conformations actives**(Manetti et al., 2023b).** Toutes ces propriétés pharmacologiques font des α7-PAM des candidats idéaux pour des utilisations thérapeutiques**(Manetti et al., 2023b).** Les PAM ciblant les récepteurs α7 nAChR peuvent être divisés en trois classes principales en fonction de leurs effets différents sur le

processus de désensibilisation : les modulateurs de type I (par exemple, NS-1738 et LY-2087101), les modulateurs de type II (par exemple, PNU-120596, TBS-516 et PAM-2) et les modulateurs intermédiaires de type I/type II (par exemple, SB-206553 et JNJ-1930942)**(Manetti et al., 2023b).** (Figure 5). Les modulateurs de type I augmentent l'activation du récepteur induite par l'agoniste sans affecter la désensibilisation, tandis que les modulateurs de type II augmentent l'activation du récepteur induite par l'agoniste, retardent le processus de désensibilisation et réactivent les récepteurs désensibilisés induits par l'agoniste**(Manetti et al., 2023b).** Les modulateurs intermédiaires retardent le processus de désensibilisation de manière moins efficace, ayant un profil pharmacologique entre les PAM de type I et de type II**(Manetti et al., 2023b).** La Figure 5 montre plusieurs exemples de ces différents types de modulateurs**(Manetti et al., 2023b)**. Les changements de température (22 ou 34°C) ont des effets différents entre les PAM de type I et de type II**(Manetti et al., 2023b).** En effet, une augmentation de la vitesse de désensibilisation avec l'augmentation de la température a été soulignée**(Manetti et al., 2023b).** Par conséquent, si l'augmentation de la température agit sur la désensibilisation, cet effet sera évident surtout pour la modulation médiée par les PAM de type II**(Manetti et al., 2023b).** À cet égard, le PAM-2 a une sensibilité à la température intermédiaire entre les PAM de type I et de type II(Manetti et al., 2023b)**.**

•Activation allostérique des PAMs :

Les composés appelés PAM activateurs allostériques (c'est-à-dire, ago-PAMs) ont une activité agoniste intrinsèque en l'absence d'un agoniste, grâce à leur interaction avec un ou plusieurs sites allostériques dans le domaine extracellulaire N-terminal (ECD)**(Manetti et al., 2023b).** Des ago-PAMs tels que 4BP-TQS, (+)-GAT 107 et B-973 présentent ce comportement pharmacologique particulier **(Manetti et al., 2023b)**(Figure 6). Comme la courbe dose-réponse pour 4BP-TQS est plus rapide et plus grande que celles observées avec les agonistes, on pense que l'activation du récepteur est obtenue avec une désensibilisation minimale grâce à un site allostérique différent**(Manetti et al., 2023b).** Il a été démontré que 4BP-TQS était capable d'activer de manière allostérique uniquement le récepteur α7, tandis qu'il se comportait en tant qu'antagoniste pour les récepteurs α3β4, α4β2 et de type musculaire**(Manetti et al., 2023b).** L'activation allostérique directe des ago-PAMs est médiée par des interactions au site transmembranaire archétypal (TMD) pour les PAMs de type II et un nouveau site de liaison d'activation allostérique directe (DAA) situé

dans l'ECD du récepteur distinct des sites agonistes orthostériques et PAM**(Manetti et al., 2023b).** B-973 est un PAM 7 qui ralentit la désensibilisation du récepteur induite par l'ACh et augmente sensiblement la puissance apparente de l'ACh, ce qui confirme un profil pharmacologique de type PAM de type II**(Manetti et al., 2023b).** Cependant, B-973 se comporte comme un ago-PAM à des concentrations élevées, ayant ainsi un double comportement pharmacologique dépendant de la concentration**(Manetti et al., 2023b).**

•Modulateurs allostériques silencieux :

Les ligands allostériques neutres (NALs) ou les modulateurs allostériques silencieux (SAMs) bloquent l'efficacité ou la puissance des modulateurs allostériques positifs (PAMs) car ils se lient aux mêmes sites allostériques, sans affecter la réponse aux agonistes**(Manetti et al., 2023b).** En d'autres termes, les SAMs peuvent agir comme des antagonistes des PAMs, Par exemple, certains dérivés de formule générale 2 peuvent agir en tant que modulateurs allostériques silencieux(**Manetti et al., 2023b**).

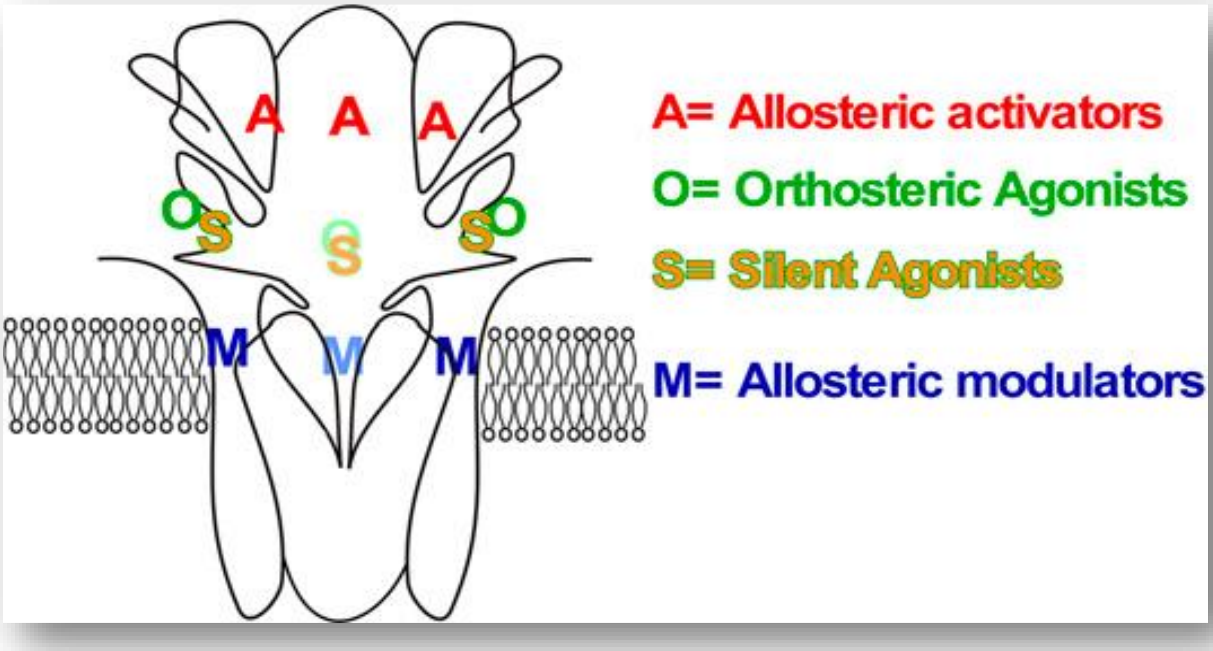
Les agonistes silencieux :

Les agonistes silencieux ou "désensibilisateurs silencieux" sont des agonistes partiels très faibles qui se lient au site orthostérique et sont capables d'induire une désensibilisation stable et prolongée du récepteur, suffisante pour bloquer l'action d'autres agonistes**(Manetti et al., 2023b).** La désensibilisation induite par les agonistes silencieux peut être obtenue sans activation préalable du récepteur, et les modulateurs allostériques positifs peuvent déstabiliser cette désensibilisation en restaurant le récepteur dans un état ouvert**(Manetti et al., 2023b).** Cependant, les agonistes silencieux ne doivent pas être confondus avec les antagonistes compétitifs, qui sont capables de bloquer l'interaction des agonistes avec le récepteur par un mécanisme insensible aux PAMs, Par exemple, le NS-6740 (Figure 6) est un agoniste silencieux de α7 et la co-application de ce composé et d'un PAM de type II est en fait capable de restaurer l'activité du récepteur**(Manetti et al., 2023b).**

•Sites modulateurs allostériques de α7 nAchRs:

Les modulateurs allostériques se lient à des sites topographiquement distincts des sites orthostériques, et sont capables de moduler positivement (PAMs) ou négativement (appelés

modulateurs allostériques négatifs ou NAMs) les états de transition du récepteur déclenchés par un agoniste (c'est-à-dire, le "gating")(Manetti et al., 2023a)**.** Des sites allostériques potentiels pour les PAMs ont été identifiés dans différents sous-types de récepteurs nicotiniques (nAChR)(Manetti et al., 2023a)**.** Par exemple, les PAM de type I α7 se lient à des sites chevauchants dans le domaine extracellulaire (ECD), tandis que les PAM de type II α7 se lient à un site inter-subunitaire α7/α7 situé au milieu du domaine transmembranaire (TMD) comprenant les segments M2/M3; PAM-2 (Figure 5), un autre type de PAM de type II α7, semble également interagir avec un site inter-subunitaire α7/α7 et avec la jonction ECD-TMD**(Manetti et al., 2023a).** Les ions Ca2+ ont été les premiers PAMs identifiés au niveau des récepteurs nicotiniques α7 (nAChR)**(Manetti et al., 2023a)**. Les sites de liaison au Ca2+ ont été identifiés grâce à des études de mutagenèse dirigée et se trouvent en particulier dans le domaine extracellulaire, près de l'interface avec le domaine transmembranaire (TMD**)(Manetti et al., 2023a).** D'autres ions divalents, tels que le Ba2+ et le Sr2+, modulent également positivement les nAchR α7 en interagissant avec le même site modulateur cationique dans l'ECD de α7**(Manetti et al., 2023a).**



Figur4 :de liaison pour les ligands thérapeutiques sur les récepteurs nAChR de type α7**(Papke et Horenstein, 2021b).**

. Schéma d'une vue en coupe d'un complexe de sous-unités du récepteur α7 (deux sous-unités enlevées) et les emplacements approximatifs des sites de liaison pour les ligands discutés dans cette revue. Les sites de liaison putatifs (A) pour les ligands allostériques, tels que les agonistes allostériques positifs (ago-PAMs), les agonistes allostériques (2NDEP) et les antagonistes/inverse agonistes allostériques, tels que TMP-TQS, se trouvent dans le vestibule extracellulaire. Les sites de liaison (O) pour l'ACh et d'autres agonistes orthostériques se trouvent aux interfaces des sous-unités à la surface externe du domaine extracellulaire. Ces sites chevaucheront également les sites (S) qui se lient à des agonistes silencieux un peu plus grands. Le site de liaison pour les modulateurs allostériques positifs (PAMs) et autres modulateurs allostériques (M) se trouve dans le domaine transmembranaire et nécessite des résidus spécifiques à l'extrémité externe du deuxième domaine transmembranaire. Cette figure est adaptée de **(Papke et Lindstrom 2020)**.

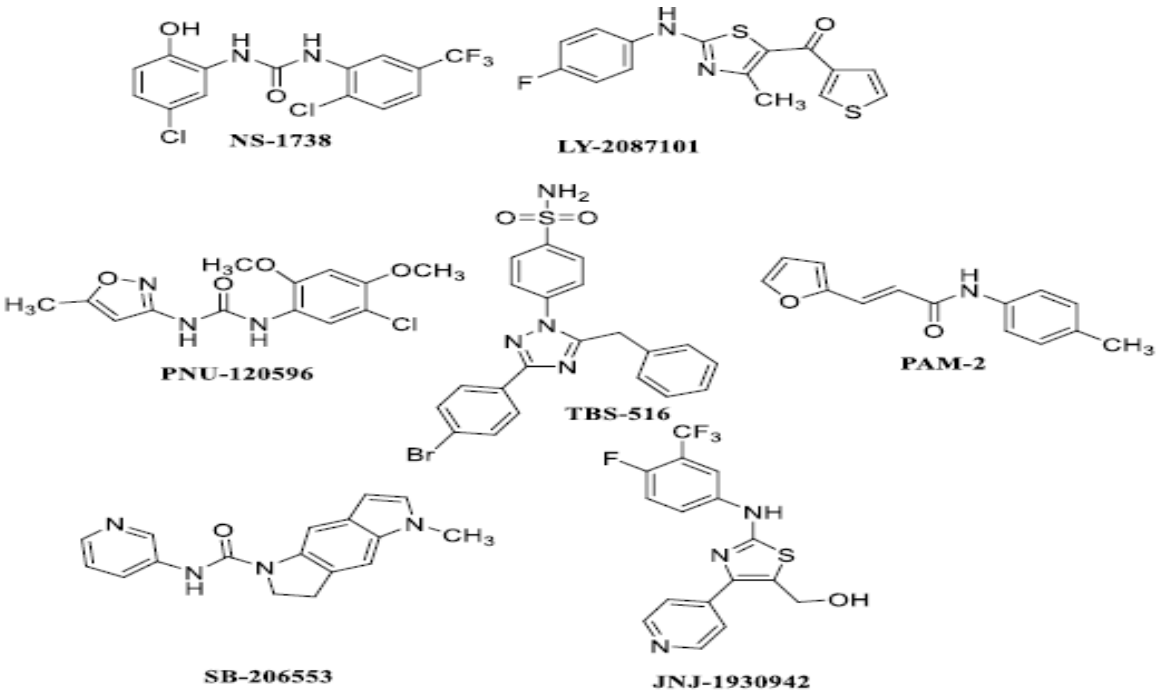


Figure 5. Exemples de modulateurs allostériques de type I, type II et intermédiaire 7 de type I/type II(PAMs)**(Manetti et al., 2023a).**

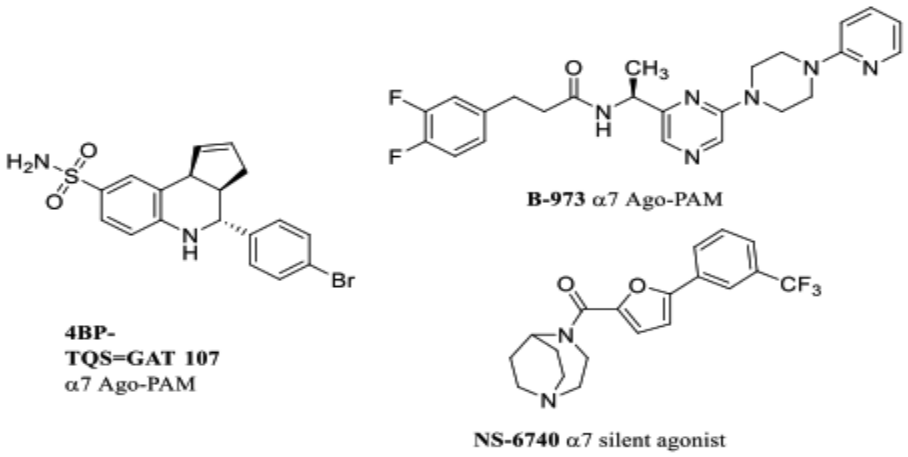


Figure 6 : Exemples de PAMs activateurs allostériques (Ago-PAM) et d'agonistes silencieux**(Manetti et al., 2023c).**

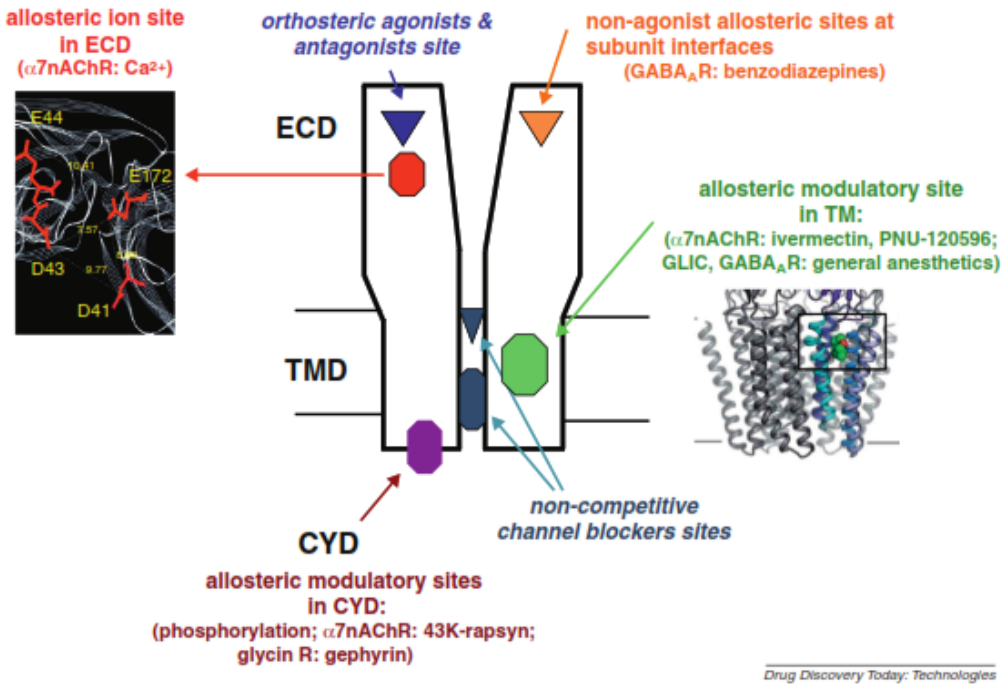


Figure 7 : Représentation diagrammatique des différentes classes de sites orthostériques et allostériques dans les canaux ioniques ligand-dépendants pentamériques. ECD, domaine extracellulaire; TMD, domaine transmembranaire; CYD, domaine cytoplasmique. Sites orthostériques (en bleu et en italique) : le site de liaison du neurotransmetteur et le canal ionique. Sites allostériques (de différentes couleurs et en latin) : présents dans les trois domaines. Encart : en haut à gauche : modèle du site allostérique de Ca2+ dans l'a-

nAChR ; en bas à droite : structure de rayons X du site intrasubunitaire du récepteur de Gloeobacter pour les anesthésiques généraux (en vert) dans le domaine transmembranaire(Changeux, 2013).

II-2-4-3-1-a. agoniste :

PNU-282987 : Il s'agit d'un puissant agoniste sélectif α7-nAchR **(youcef ,al.2021)**. le PNU-282987, améliorait les lésions induites par le LPS **(Zhao et al., 2019).** L'agoniste de l'α7nAchR PNU-282987 a protégé les cellules MH-S de l'inflammation induite par le LPS en réduisant les concentrations d'IL-6, de TNF-α et d'IL-1β**(Zhao et al., 2019).**

GTS-21 : GTS possède une activité agoniste sélective partielle envers α7nAchR. C'est l'un des agonistes partiels de α7-nAchR les plus étudiés en profondeur(Youssef et al., 2021). En fonction des rapports précédents, il possède une activité améliorant les fonctions cognitives en raison de l'activation de nAchR(Youssef et al., 2021). A récemment été identifié comme un traitement prometteur contre l'inflammation **(Yue et al., 2015).**

II-2-4-3-1-b.antagoniste :

α-bungarotoxin : Il s'agit d'une toxine protéique séparée du venin du bungare à anneaux taiwanais (Bungarus multicinctus)**(yousef .al,2021**). C'est un antagoniste non sélectif des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAchR) qui bloque les nAchR musculaires (α1β1γεδ), α7 et α9 avec une grande affinité**(youcef et .al,2021)**. Pour cette raison, ses applications pratiques se limitent aux études expérimentales de l'activité des nAchR. Un blocage complet est obtenu après sa pré-incubation pendant 1 heure à des concentrations nanomolaires (10 nm), cependant, l'augmentation de la concentration d'α-bungarotoxine réduit le temps de pré-incubation nécessaire **(yousef et .al,2021)**. Le blocage des nAchR, en particulier du type musculaire, n'est pas inversé par un lavage en raison de la faible vitesse de dissociation**(yousef.al,2021)**.

Methyllycaconitine (MLA) :

C'est un antagoniste réversible des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAchR). C'est un alcaloïde norditérpenoïde séparé des espèces de Delphinium **(yousef et al.,2021)**. Son activité de blocage est rapide et réversible, ce qui en fait une alternative appropriée à l'α-bungarotoxine. Il a une grande affinité de liaison à l'α7-nAchR avec une activité de blocage supplémentaire à l'α9 et α9α10 nAchR. Cependant, sa capacité de liaison aux nAchR musculaires est plus faible **(yousef et**

al .,2021). Par conséquent, MLA est considérée comme un antagoniste sélectif de l'α-nAchR par rapport aux autres nAchR **(yousef et al .,2021)**.

Chapitre II: matériels et méthodes.

• II-1 Matériels :

1. Micro-ordinateur :

•Mémoire (RAM): 4.00 GB

•Processeur : Intel(R) Core(TM) i3-5005U CPU @ 2.00GHz 2.00 GHz

•Type de système: 64- bits Operating system •Edition Windows: windows 10

2. Programme :

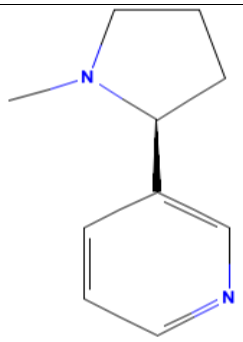
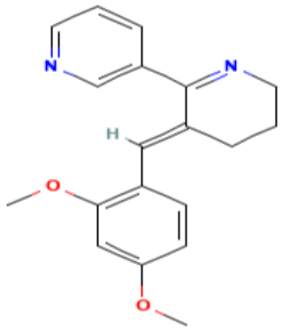
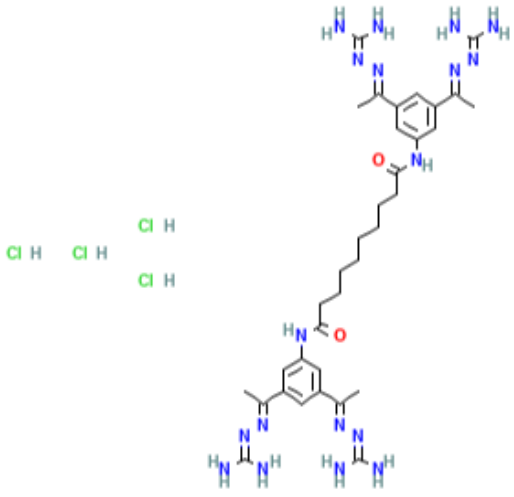
BIOVIA Discovery Studio 2021 : BIOVIA Discovery Studio Visualizer est une application de modélisation moléculaire gratuite et riche en fonctionnalités pour visualiser, partager et analyser des données de protéines et de petites molécules (Visualization - BIOVIA - Dassault Systèmes® (3ds.com)).

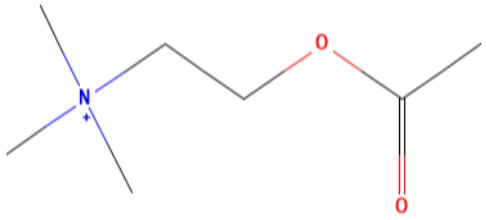
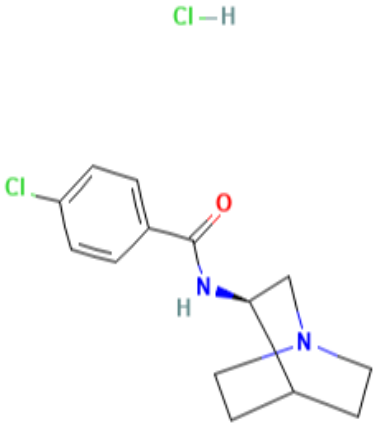
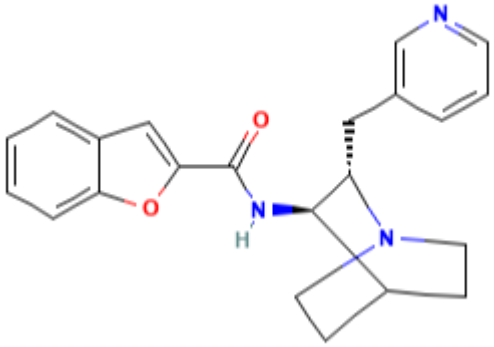
3. Les sites :

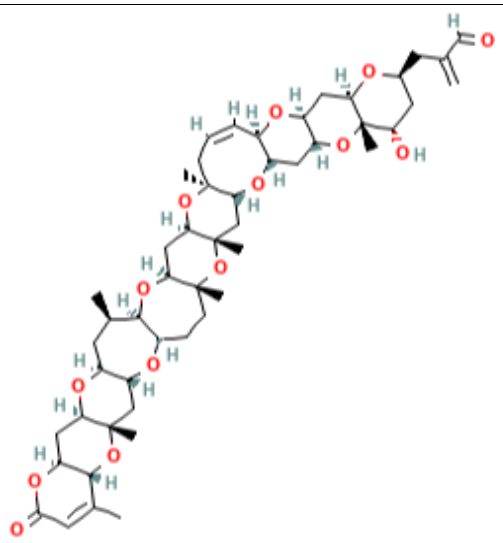
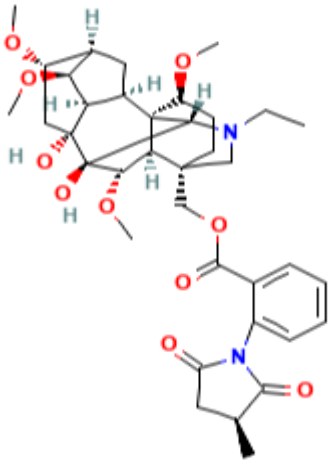
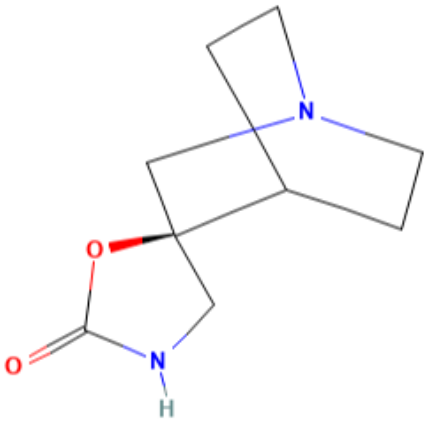
•Pubchem **(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/):** PubChem est une base de données publique de produits chimiques située à la Bibliothèque nationale de médecine (NLM), un institut faisant partie des National Institutes of Health (NIH) des États-Unis**(Kim et al., 2021).**

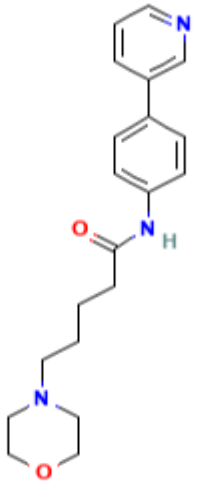
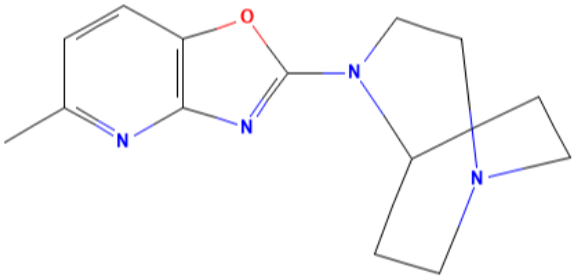
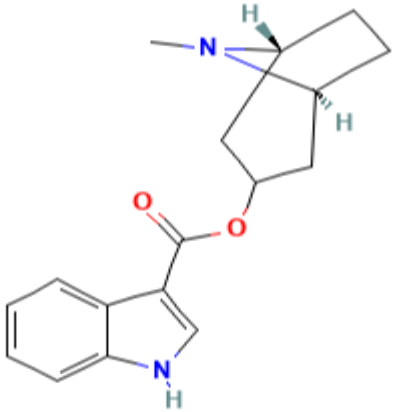
Dans ce travail, nous analysons 13 ligands connus d'êtres des agonistes au récepteur nicotinique alpha 7. Dans le tableau suivant nous présentons l'ensemble des agonistes étudiés

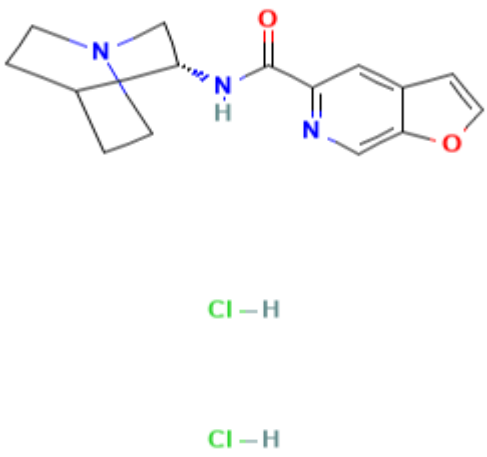
Tableau01 : liste des agonistes du récepteur α7 nAchR étudiés

Le ligand	ID	Poids moléculaire	Structure D2
Nicotine	**89594**	**162.23g/mol**	
GTS-21	**5310985**	**308.4g/mol**	
Semapimod hydrochloride	**9554199**	**890.7g/mol**	

acétylcholine	**187**	**146.21g/mol**	
PNU-282987	**11243536**	**301.2g/mol**	
TC-5619	**25147644**	**361.4g/mol**	

Alpha bungarotoxin	**44264212**	**895.1g/mol**	
[3H]methyllycaconitine	**5288811**	**682.8g/mol**	
AR-R17779	**5310971**	**182.22g/mol**	

SEN 12333	**45484303**	**339.4g/mol**	
CP-810123	**11184481**	**258.32g/mol**	
Tropisetron	**656665**	**284.35 g/mol**	

PHA-543613 Dihydrochloride	**11493927**	**344.2g/mol**	

•**Molinspiration** :(https://www.molinspiration.com/) Le logiciel Molinspiration est utilisé pour calculer les propriétés physicochimiques moléculaires pertinentes pour la conception de médicaments et la régression linéaire quantitative (QSAR), notamment le logP, la surface polaire moléculaire (PSA) et les descripteurs de la règle des 5.

•**PASS ONLINE** : PASS Online prédit plus de 4000 types d'activités biologiques, y compris les effets pharmacologiques, les mécanismes d'action, les effets toxiques et indésirables, l'interaction avec les enzymes métaboliques et les transporteurs, l'influence sur l'expression génique, etc. Dans notre travail, nous avons utilisé ce portail web afin de prédire l'intérêt thérapeutique de nos ligands. Pour obtenir le cette prédiction, seule la formule structurelle est nécessaire (Way2Drug - main)

•**PDB-data base**: La Banque de données des protéines (PDB) est une base de données pour les données structurales tridimensionnelles de grandes molécules biologiques, telles que les protéines et les acides nucléiques (RCSB PDB: Homepage).

● **swissadme** :c'est un outil web, qui offre un accès gratuit à un ensemble de modèles prédictifs rapides mais robustes pour les propriétés physicochimiques, la pharmacocinétique, la similarité avec les médicaments et la compatibilité en chimie médicinale, parmi lesquels des méthodes internes efficaces telles que le BOILED-Egg, l'iLOGP et le Bioavailability Radar. L'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion (ADME). (http://www.swissadme.ch/)

A partir de cette database nous avons sélectionné le récepteur α7 nAchR inscrit sous le ID 7KOQ. publié sur l'article (Structure and gating mechanism of the a7 nicotinic acetylcholine receptor)**(Noviello et al., 2021).**

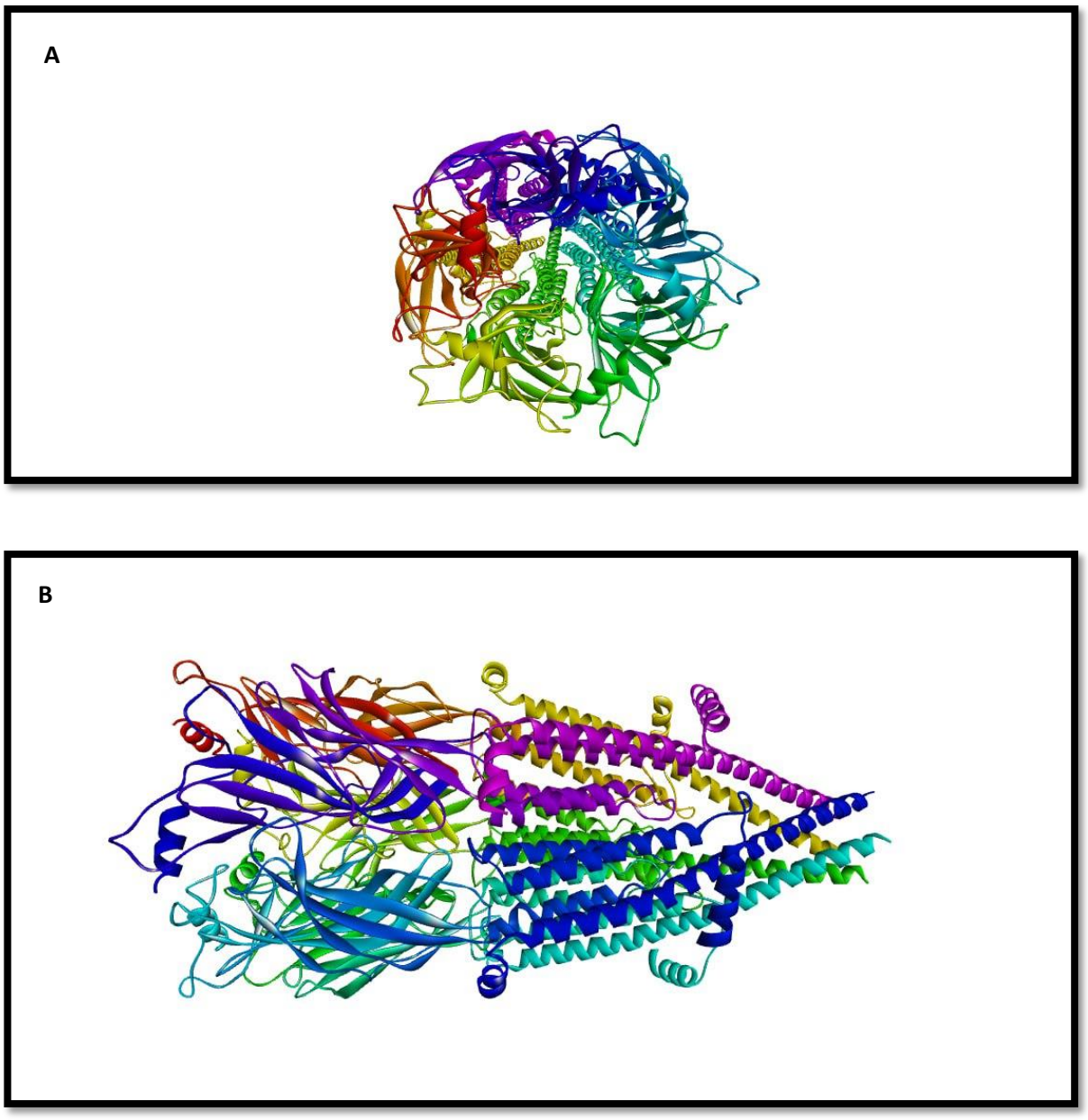


Figure08: structure 3D du récepteurα7 nAchR (A) vue horizontale, (B) vue longitudinale.

II-2 méthodes :

•. Le docking moléculaire :

Le docking est un outil de modélisation moléculaire qui permet l'identification de nouveaux composés d'intérêt thérapeutique, en prévoyant des interactions ligand-cible au niveau moléculaire **(Pinzi and Rastelli, 2019)**. Le but du docking ligand-protéine est d'explorer le(s) mode(s) de liaison prédominant(s) d'un ligand lorsqu'il se lie à une protéine ayant une structure tridimensionnelle connue **(Li et al., 2019).**

II-2-1 Préparation des ligands :

Les 13 agonistes récupérés de la data base Pubchem étaient préparés par logiciel Biovia (Discovery studio 2021) suivant ces étapes :

1- Supprimer les molécules d'eau

2- Ajouter des atomes d'hydrogène

3- Sauvegarder ligand se forme pdb ou mol.2.

II-2-2 Préparation du récepteur :

Au même titre que les ligands, le récepteurs α7 nAchR a été préparé par le logiciel Biovia (Discovery studio 2021) suivant ces cinq étapes :

1-Supprimer les molécules d'eau

2-Supprimer tous les ligands associés à la protéine

3-Ajouter des atomes d'hydrogène

4-Equilibré l'Energie de la protéine

5-Sauvgarder le récepteur se forme pdb ou mol.2 .

II-2-3 Docking moléculaire :

Dans ce travail, nous avons eu recours au portail web cb-dock2 pour la réalisation d'une série de docking entre les 13 ligands sélectionnés et le récepteurs α7 nAchR. Les résultats obtenus ont été analysés par le logiciel Discovery studio. Suite au docking, nous estimons l'affinité et caractérisé le site de liaison entre le ligand et le récepteur. Des représentations graphiques en 2D et 3D ont été enregistrées a partir de logiciel Discovery Studio.

II-2-4. La procédure de l'analyse

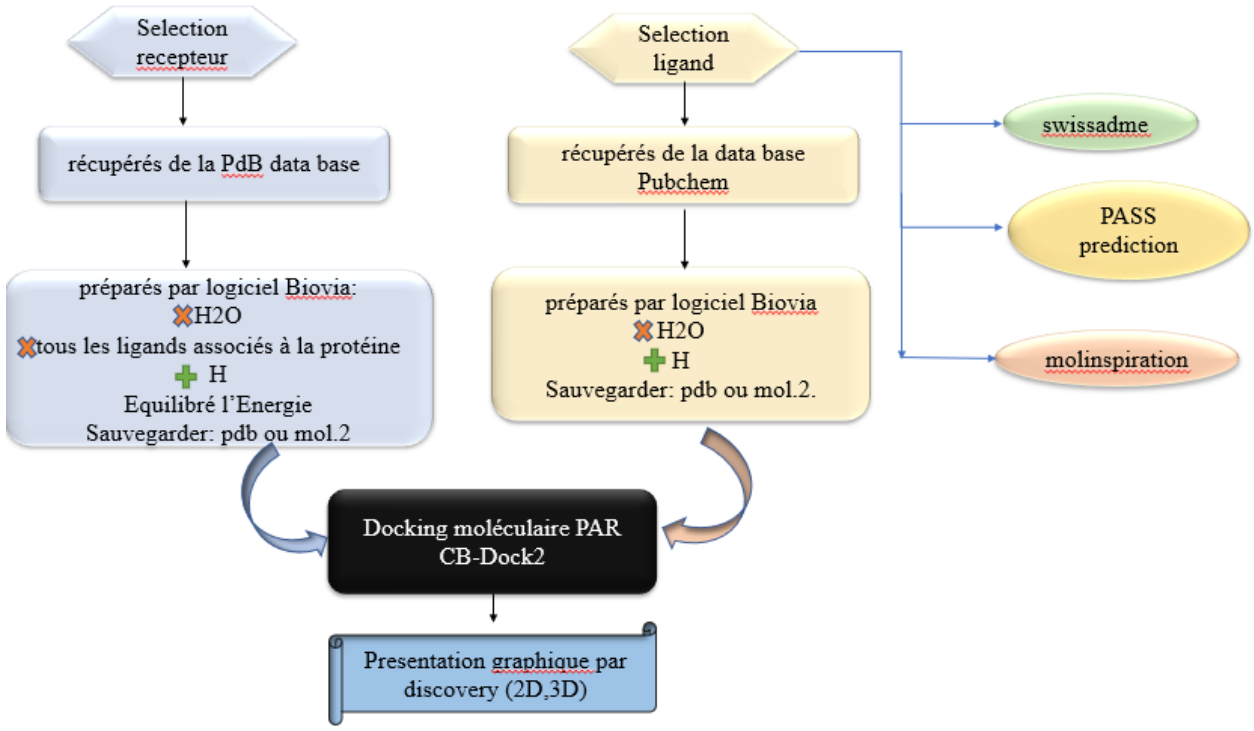


Figure 09: diagramme représente principale méthode de Docking**. (Adapté)**

Chapitre III :Résultats

III-1. Caractéristiques physico-chimiques

Sur le tableau ci-dessous nous récapitulons les caractéristiques physico-chimiques des 13 ligands étudiés. Les données ont été collectées à partir du portail molinspiration. Nous nous intéressons dans ce travail à certains paramètres tels :

Milogp : (Molecular Interactions Log P). C'est une méthode utilisée pour calculer le coefficient de partage octanol-eau. Elle est utilisée en raison de sa robustesse et de sa bonne qualité de prédiction dans la base de données ZINC pour le criblage virtuel **(https://www.molinspiration.com/services/logp.html).**

TPSA: (Topological Polar Surface Area). C'est une mesure de la surface polaire d'une molécule, utilisée pour prédire la solubilité et la perméabilité des médicaments.

natoms : nombre d`atome

mw (Molecular Weight) : C'est une mesure de la masse d'une molécule .

nohnh : donneur hydrogene

non : accepteur d`hdrogene

nrotb : nombre de liaison retatoire.

La loi de lipinski : La règle de 5 de Lipinski est en relation directe avec les propriétés biologiques d'absorption, de digestion, de métabolisme et d'excrétion (ADME) éventuelles des molécules étudiées. Elle repose sur cinq propriétés physico - chimiques à savoir :

- Un poids moléculaire (PM) maximum de 500g / mol
- Un maximum de 5 raisons H - donneurs (DII) (OH ou NH)
- Un maximum de 10 faisons H - accepteurs (AI)) (0 ou N) .
- nombre de liaisons retables (LL) IS - Un coefficient de partition oetanol - eat " logP " ou une lipophilie≤5 **(Boutrif et Merdassi, 2014).**

Tableau02 : Les caractéristiques physico-chimiques des 13 ligands .

	Propriétés								
Ligands	miLogP	TPSA	natoms	mw	noN	nohnh	n violations	nrotb	volume
acétylcholine	-3.56	26.3	10	146.21	3	0	0	4	156.67
nicotine	1.09	16.13	12	162.24	2	0	0	1	165.62
GTS-21	3.16	43.72	23	308.38	4	0	0	4	292.63
alpha bungarotoxine	5.79	155.94	64	895.1	14	1	**3**	3	823.72
PNU-282987	2.46	32.34	18	264.76	3	1	0	2	237.73
AR-R17779	0.53	41.57	13	182.22	4	1	0	0	167.41
SEN 12333	2.76	54.46	25	339.44	5	1	0	7	328.02
CP-810123	1.39	45.4	19	258.32	5	0	0	1	239.37
Tropisetron	2.72	45.33	21	284.36	4	1	0	3	266.34
PHA-543613 Dihydrochloride	1.47	58.37	20	271.32	5	1	0	2	245.6
TC-5619	2.9	58.37	27	361.44	5	1	0	4	333.83
Semapimod hydrochloride	1.3	365.29	54	744.91	20	18	**3**	19	695.27
[3H]methyllycaconitine	2.4	144.31	49	682.81	12	2	**2**	10	619.7

Après analyse des résultats obtenus nous avons noté que les trois ligands (**alpha bungarotoxine**, **[3H]methyllycaconitine, Semapimod hydrochloride)** ne respectent pas la loi de lipinski avec 3, 3 et 2 violations, respectivement, des 5 conditions citées précédemment. De plus, selon la littérature, la consommation de la nicotine engendre le développement d'une dépendance **(Glover** et al., 2003)ainsi que son incrimination dans plusieurs pathologie, entre autre le cancer pulmonaire(**Murphy, 2021)**, ce qui empêche son utilisation en thérapie malgré ses vertus anti-inflammatoires documentées **(Bencherif et al., 2011)**.

Ainsi, ces quatre ligands ne peuvent pas être considérés comme des molécules drug-like, la raison pour laquelle nous les avons écarté de certains exploration et discussion dans cette étude.

III-2. Prédiction des cibles biologiques au niveau cellulaire :

Sur le portail web molinspiration, nous avons évalué la probabilité que les ligands étudiés possèdent la capacité d'activer (valeur positive) ou d'inhiber (valeur négative) les récepteurs couplés à la protéine G, les canaux ioniques, les kinases, les récepteurs nucléaires, les inhibiteurs de protéase ou d'autres enzymes. Sur le tableau 03, nous récapitulons l'ensembles des résultats obtenus

Tableau03 : prédiction des cibles biologiques pour les 13 ligands.

Ligands	Rc couplés aux pG	Canaux ioniques	Inhibiteur de kinase	Récepteur nucléaire	Inhibiteur de protéase	Inhibiteur d'enzyme
Acétylcholine	-0.59	0.38	-1.54	-2.29	-1.45	0.14
Nicotine	-0.32	0.42	-0.79	-1.57	-0.8	-0.31
GTS-21	0.02	0.26	-0.21	-0.03	-0.22	0.01
alpha bungarotoxine	-2.94	-3.27	-3.55	-3.12	-2.3	-2.85
PNU-282987	0.18	0.28	-0.17	-0.54	0.07	0.05
AR-R17779	-0.14	0.95	-1	-0.66	-0.5	-0.06
SEN 12333	0.19	0.06	0.3	0.09	0.16	0.11
CP-810123	0.26	0.72	-0.29	-0.4	-0.2	0.24
Tropisetron	0.39	0.46	0.14	-0.12	-0.07	0.1
PHA-543613 Dihydrochloride	0.49	0.71	0.29	-0.36	0.39	0.42
TC-5619	0.41	0.31	-0.03	-0.29	0.29	0.05
Semapimod hydrochloride	-1.36	-2.48	-1.98	-2.08	-0.76	-1.7
[3H]methyllycaconitine	-0.52	-0.64	-1.25	-0.92	-0.3	-0.78

Dans cette étude l`acétylcholine est la référence physiologique, nous la considérons comme un ligand naturel orthostérique.

1.Par rapport ligand des récepteurs couplés aux protéines G, l'action inhibitrice de l'acétylcholine est estimée de -0.59. Ainsi parmi les ligands ayant respectés la loi de lipinski, la PHA-543613 Dihydrochloride possédait une action opposée, stimulatrice, avec un score non négligeable de -0.49 or le AR-R17779 exprimait le score maximal d'inhibition mais qui reste relativement faible (-0.14).

2.par rapport la modulation des canaux ioniques on observe que tous les ligands acceptés dans ce travail possèdent des activités stimulatrices sur les canaux ioniques au même titre que l'acétylcholine (0.38). d'une manière intéressante, les ligands AR-R17779, CP-810123, Tropisetron et PHA-543613 Dihydrochloride possèdent tous une action stimulatrice supérieur à notre référence physiologique, avec un score maximal attribué au AR-R17779 (0.95). Cependant, la GTS-21ET le PNU-282987 possédaient des scores inférieurs à celui de l'acétylcholine au moment où celui de TC-5619 était proche (0.31).

3. l'action de l'acétylcholine sur les inhibiteurs de kinase est estimée de (-1.54) traduisant un effet inhibiteur intéressant sur les inhibiteurs des kinases, elle ainsi considérée comme une molécule physiologique activatrice des voies kinase tel il a été mentionné dans la littérature (Bencherif et al., 2011) Dans ce travail, nous avons noté que tous les effets des ligands considérés comme drug-like sur les voies kinases étaient partagés entre stimulateur pour la GTS-21, le PNU-282987 et AR-R17779 et inhibiteur pour TC-5619 et CP-810123. Ainsi, le sore maximal d'activation est attribué au AR-R17779 (-1) et le maximal d'inhibition au SEN 12333 (0.3).

4. Dans le cas des ligands du récepteur nucléaire, nous avons observé que l'action inhibitrice de l'acétylcholine était estimée à -2,29. Cet effet était plus prononcé pour l'AR-R17779, avec un score maximal d'inhibition de -0,66. Notant que le SEN 12333 présentait une action stimulante mais négligeable, avec un score de 0,09.

5. Dans le cas des inhibiteurs de protéase, nous avons observé que l'action inhibitrice de l'acétylcholine était estimée à -1,45. Le PHA-543613 Dihydrochloride a montré un effet d'activation maximal de 0,39, tandis que le GTS-21 a montré un effet d'inhibition maximal de -0,22.

6. Dans le cas des inhibiteurs enzymatiques, nous avons observé que l'action stimulante de l'acétylcholine était estimée à 0,14. Le PHA-543613 Dihydrochloride a montré une action stimulante estimée à 0,42, tandis que l'AR-R17779 a obtenu un score maximal d'inhibition de -0,06.

III-3. Prédiction de l'intérêt thérapeutique

Nous récapitulons sur le tableau suivant les résultats de la prédiction de l'intérêt thérapeutiques des 13 ligands étudiés dans ce travail. Nous avons réalisé cette prédiction via le portail web PASS Prédiction.

Tableau 04 : La prédiction de l'intérêt thérapeutique des ligands étudiés.

Le ligand	Interet therapeutique	Pa absolu
Acetylcholine	aucun	0
Nicotine	Nootropic	0.963
	Antineurotic	0.875
	Respiratory analeptic	0.757
	Oxygen scavenger	0.755
	Antihypoxic	0.725
	5 Hydroxytryptamine release stimulant	0.696
	Antismoking	0.678
	Analeptic	0.69
	Cognition disorders treatment	0.626
	Analgesic	0.624
GTS-21	Nootropic	0.688
	Alzheimer's disease treatment	0.626
Alpha bungarotoxine	Antineoplastic	0.906
	Antifungal	0.859
	Cytostatic	0.838
	Antibacterial	0.792
	Immunosuppressant	0.788
	Antimitotic	0.704
	Antiparasitic	0.699
	Antibiotic	0.673
	Antiprotozoal	0.609
	Antimetastatic	0.64
PNU-282987	Antipsychotic	0.832
	Cognition disorders treatment	0.816
	Antidyskinetic	0.786

	Antiemetic	0.718
	Nootropic	0.716
	Phobic disorders treatment	0.92
AR-R17779	Antipsychotic	0.964
	Neurodegenerative diseases treatment	0.898
	Cognition disorders treatment	0.898
	Alzheimer's disease treatment	0.865
	Antineoplastic (non-Hodgkin's lymphoma)	0.652
	Antidyskinetic	0.637
	Phobic disorders treatment	0.599
	Nootropic	0.76
SNE12333	Phobic disorders treatment	0.695
CP-810123	Antidyskinetic	0.075
	Irritable Bowel syndrome treatment	0.074
	HERG 1 channel blocker	0.062
Tropisetron	HERG 1 channel blocker	0.697
	Antisecretoric	0.694
	Antiemetic	0.619
PHA-543613 Dihydrochloride	Cognition disorders treatment	0.795
	Antipsychotic	0.732
	Nootropic	0.72
TC-5619	Aucun	0
Semapimod hydrochloride	Phobic disorders treatment	0.66
3H methyllycaconitine	Anesthetic	0.963
	Anesthetic local	0.871
	Skeletal muscle relaxant	0.755
	Analgesic	0.753

Ainsi, nous avons noté avec beaucoup d'intérêt que les 13 ligands examinés pourraient avoir des effets thérapeutiques commun et ce selon la prédiction basée sur la similitude de structure et les bases de données disponibles sur PASS Prediction. L'analyse générale des résultats procurés par cet outil d'analyse in silico suggère des effets bénéfiques principalement sur les problèmes neurologiques. A l'exemple de l'amélioration des signes cognitifs (effet nootropique) et traitement des maladies neurodégénératives telle la maladie de l'Alzheimer comme mentionné pour la GTS-21, PNU-282987, AR177792 et PHA-543613 Dihydrochloride. Aussi, nous avons obtenu des prédictions qui stipulent que ces agonistes du récepteur α7 nAchR pourraient avoir des effets antipsychotiques, principalement dans le traitement des désordres psychologiques liés aux phobies

(SNE12333 et le Semapimod hydrochloride). De plus, certains ligands présentaient des effets antidyskinétique (CP-810123) et relaxation des muscle squelettique (3H methyllycaconitine), ainsi ils contituent des molécules intéressantes à explorer dans le traitement de dysfonctionnement musculaire secondaire au traitement neurologique.

III-4. Etude de l'absorbance des ligands étudiés :

Sur le portail web swissadme , Nous récapitulons sur cette figure suivant les résultats de la prédiction de l'absorbtion des 9 ligands étudiés dans ce travail.

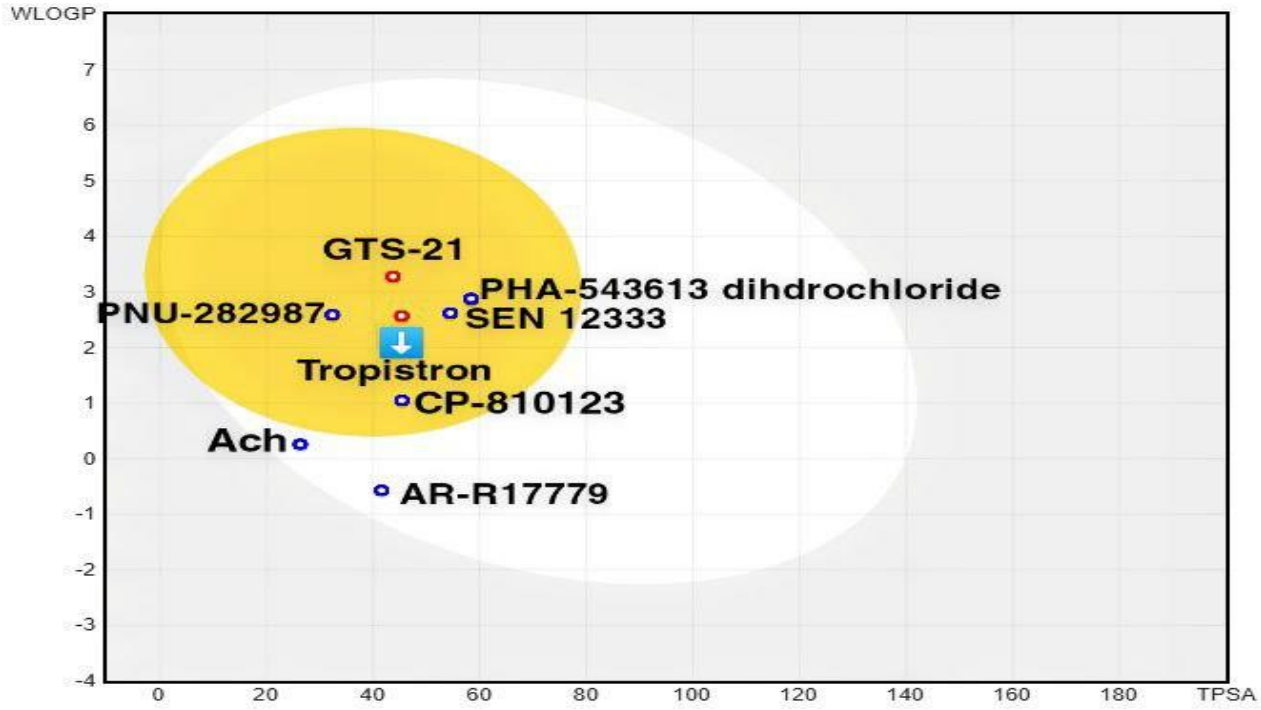


Figure 10 : schéma repressente Le BOILED-Egg. Une représentation qui permet une évaluation intuitive de l'absorption gastro-intestinale passive (HIA) zone blanche, et de la pénétration dans le cerveau (BBB) la zone jaune, en fonction de la position des molécules dans le référentiel WLOGP-versus-TPSA.

Les points bleus représentent les molécules prédites pour être éliminées du système nerveux central par la P-glycoprotéine.

Les points rouges représentent les molécules prédites pour ne pas être éliminées du système nerveux central par la P-glycoprotéine.

Dans cette figure, nous pouvons observer les prédictions suivantes :

1. Le GTS-21 et le Tropistron sont prédits comme capables de pénétrer dans le cerveau et ne sont pas soumis à une excrétion active.

2. Les PNU-282987, SEN12333, PHA-543613 dihydrochloride et CP-810123 sont prédits comme traversant la barrière hémato-encéphalique, mais être éliminées par le système nerveux central « P-glycoprotéine ».

3. En ce qui concerne l'acétylcholine et l'AR-R17779, ils sont prédits comme étant bien absorbés au niveau du tractus gastro-intestinal mais incapable d'accéder au cerveau avec la possibilité qu'ils soient éliminés par la protéine P-glycoprotéine.

4. Le TC-5619 est prédit comme n'étant ni absorbé ni perméable à la barrière hémato-encéphalique, car il se situe en dehors de la plage du graphique.

L'absorption à travers la barrière hémato-encéphalique est une caractéristique importante et cruciale dans le processus de développement et d'évaluation des médicaments agissant sur le cerveau. En effet, cette absorption joue un rôle déterminant dans la biodisponibilité de ces médicaments dans le système nerveux central, ainsi que dans leur capacité à atteindre précisément leur site d'action ciblé. En d'autres termes, la capacité d'un médicament à traverser cette barrière est essentielle pour assurer son efficacité thérapeutique en atteignant directement le cerveau et en exerçant son effet désiré**(Gad, n.d.)**.

III-5. Le Docking moléculaire :

III-5-1- Résultats numériques

Sur le tableau suivant nous récapitulons les résultats numériques des docking moléculaires réalisés entre les 13 ligands étudiés et le récepteur α7 nAchR

Tableau 05: résultats numériques des Dockings

ligand	docking score			
	Meilleur affinité	Cavité volume (Å3)	Center (x, y, z)	Docking size (x, y, z)
Acetylcholine	-3.9	5834	158, 151, 113	31, 35, 35
Nicotine	-5.9	9799	125, 140, 121	35, 34, 35
GTS-21	-7.8	5529	131, 159, 113	33, 31, 35
alpha bungarotoxine	-10.5	9799	125, 140, 121	42, 42, 42
PNU-282987	-6.9	9799	125, 140, 121	35, 34, 35
AR-R17779	-6.2	3235	125, 140, 121	35, 34, 35
SEN 12333	-7.4	9799	125, 140, 121	35, 34, 35
CP-810123	-7	9799	125, 140, 121	35, 34, 35
Tropisetron	-7.6	9799	125, 140, 121	35, 34, 35
PHA-543613 Dihydrochloride	-7.4	9799	125, 140, 121	35, 34, 35
TC-5619	-7.5	9799	125, 140, 121	35, 34, 35
Semapimod hydrochloride	-9,1	9799	125, 140, 121	36, 36, 36
[3H]methyllycaconitine	-7.2	5781	118, 139, 113	32, 35, 35

Comme nous avons précisé auparavant, nous avons réalisé les docking pour toutes les molécules étudiées sauf que nous allons écarter la nicotine, le alpha bungarotoxine, Semapimod hydrochloride et [3H]methyllycaconitine de la discussion en raison de leur violation de la loi lipinski.

Ainsi, la GTS-21 exprimée la meilleure affinité au récepteur α7 nAChR (-7.8), environ le double de l'affinité estimée pour l'acétylcholine (-3.9). Cet agoniste a été largement décrit comme molécule a vertus anti-inflammatoires (Bencherif et al., 2011) dans la littérature avec des effets bénéfiques sur l'amélioration des signe cognitifs dans plusieurs maladies neurodégénératives (Bencherif et al., 2011)Sachant que les études cliniques actuelles sont en stade II pour son utilisation dans le traitement de l'Alzheimer (Ma and Qian, 2019b).

III-5-2. Présentation graphique des dockings moléculaires :

La série des figures suivantes, représente la position des ligands par rapport au récepteur étudié en format 3D (A), les interactions établies entre le ligand et le récepteur en format 3D (B) et format 2D (C).

1/acétylcholine :

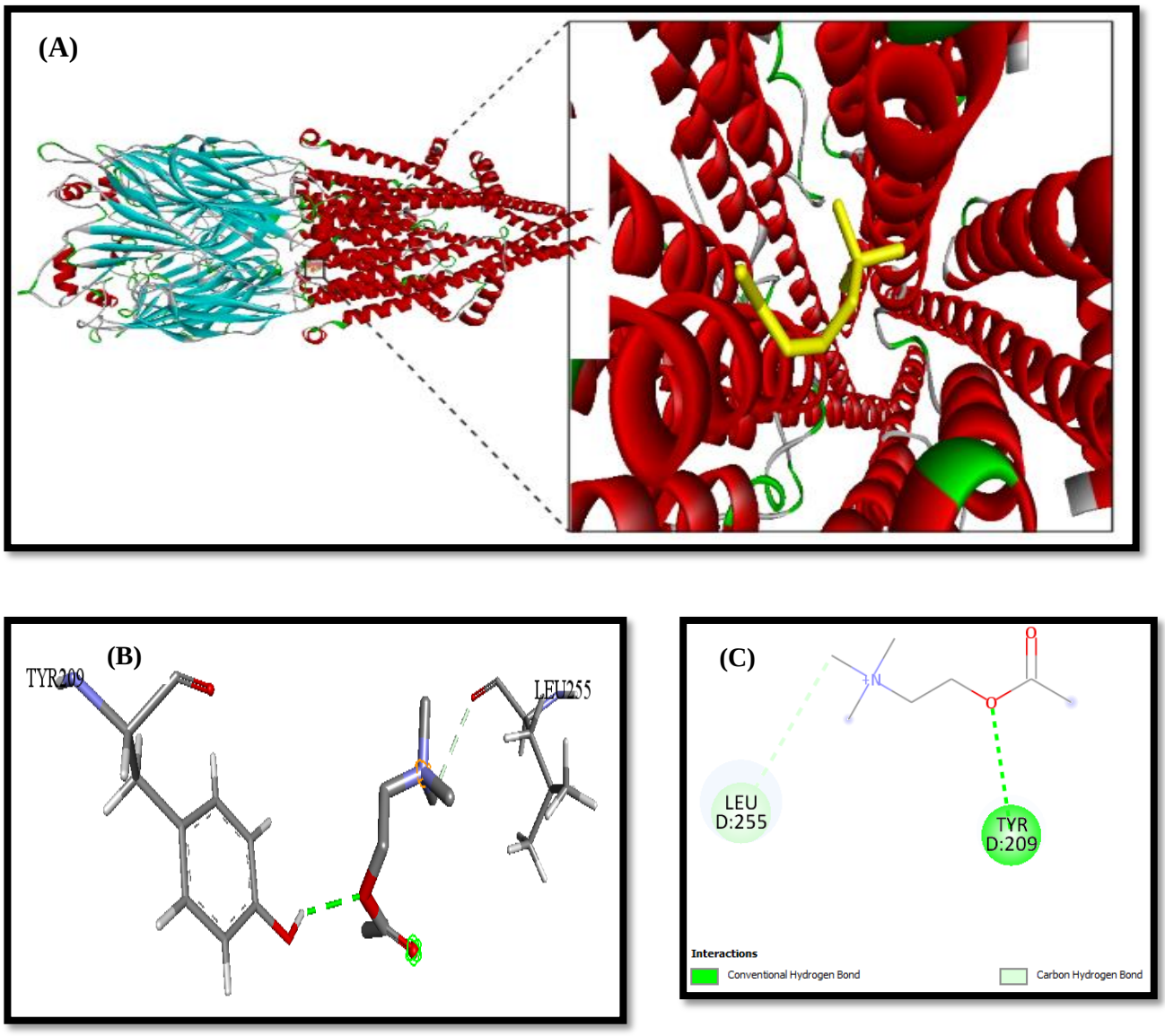


Figure11 : (acétylcholine +alpha7)**(adapte)**

2\ Nicotine :

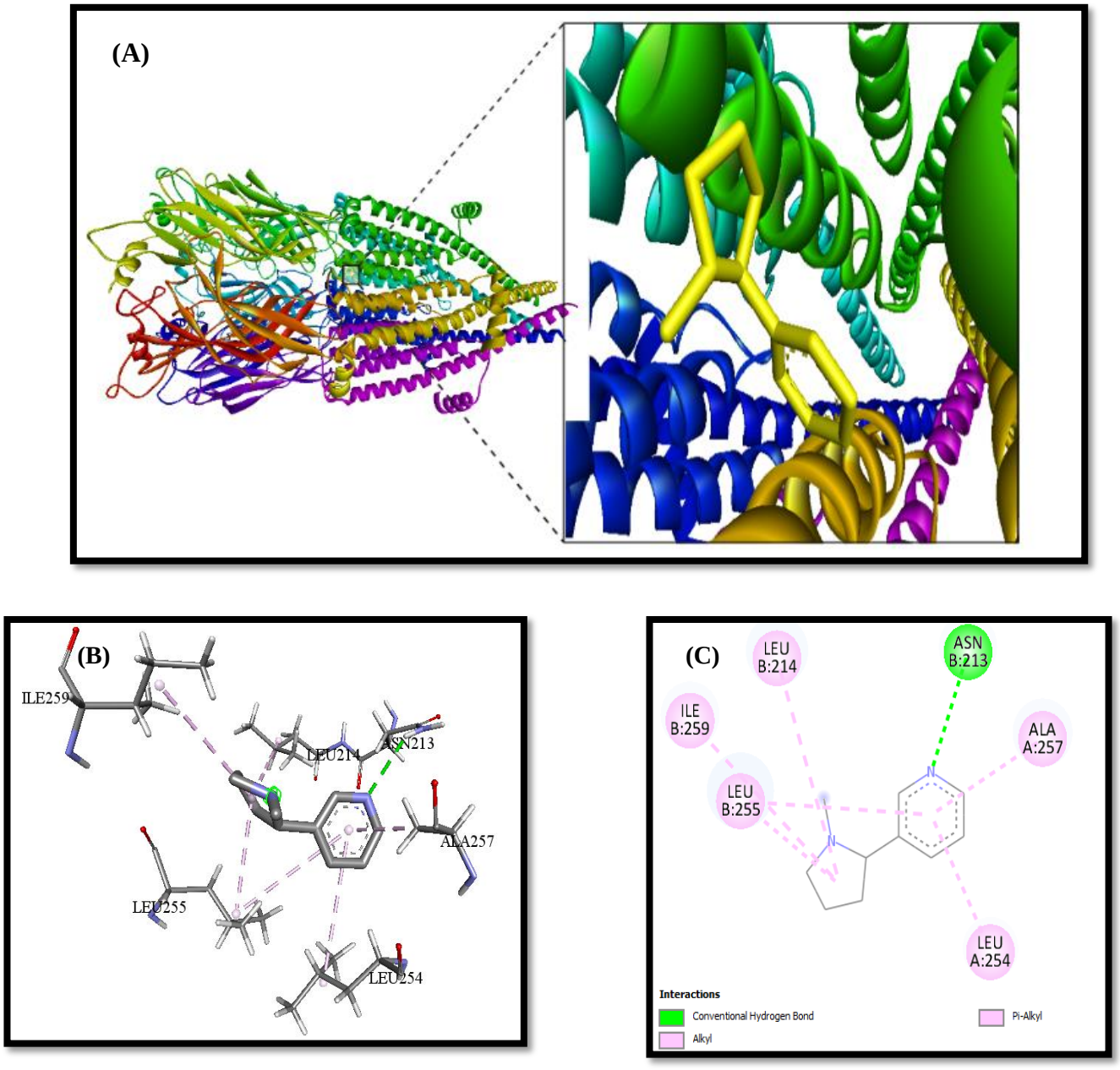


Figure12:(Nicotine + alpha7)**(adapte)**

3\GTS-21 :

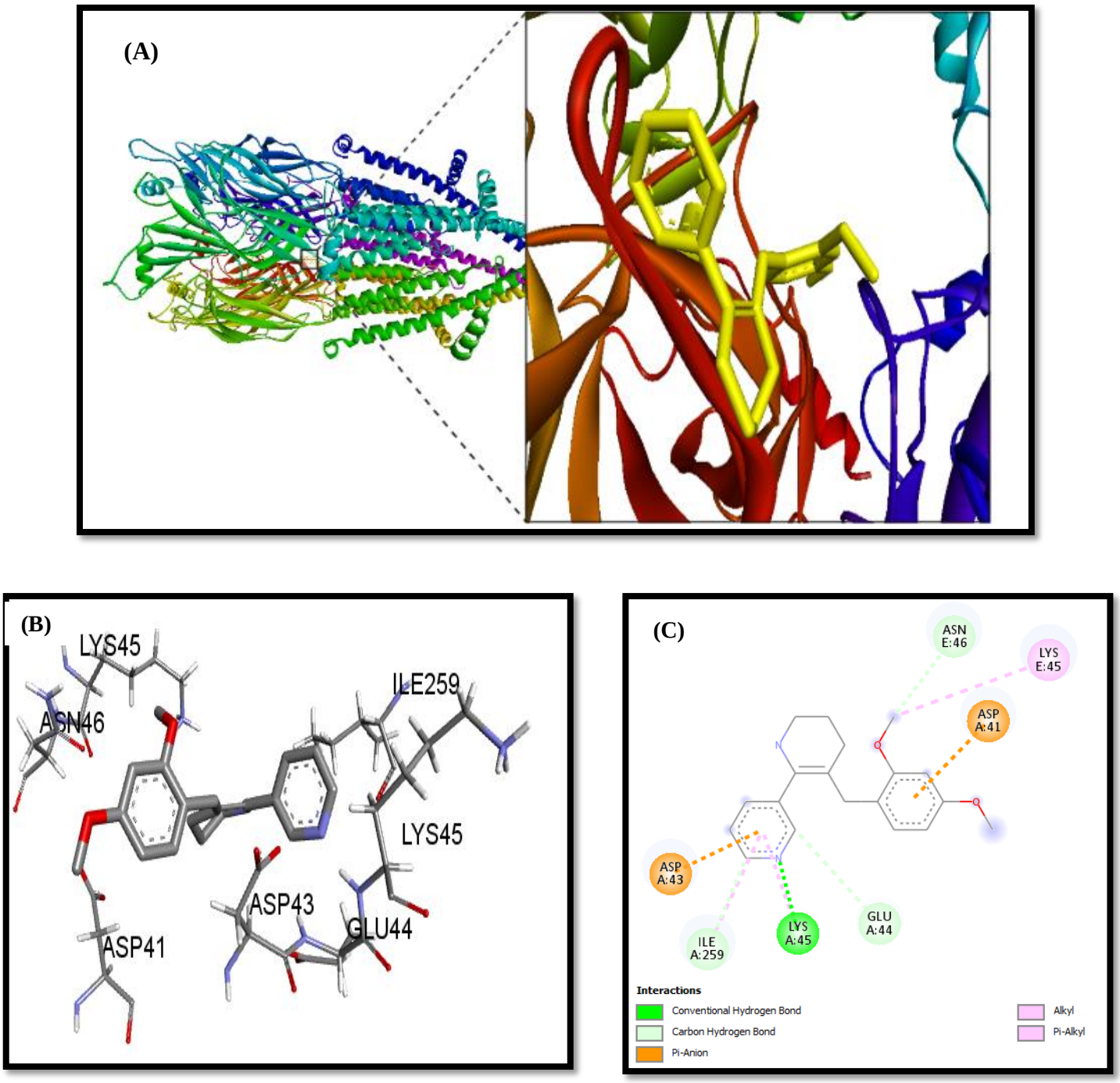
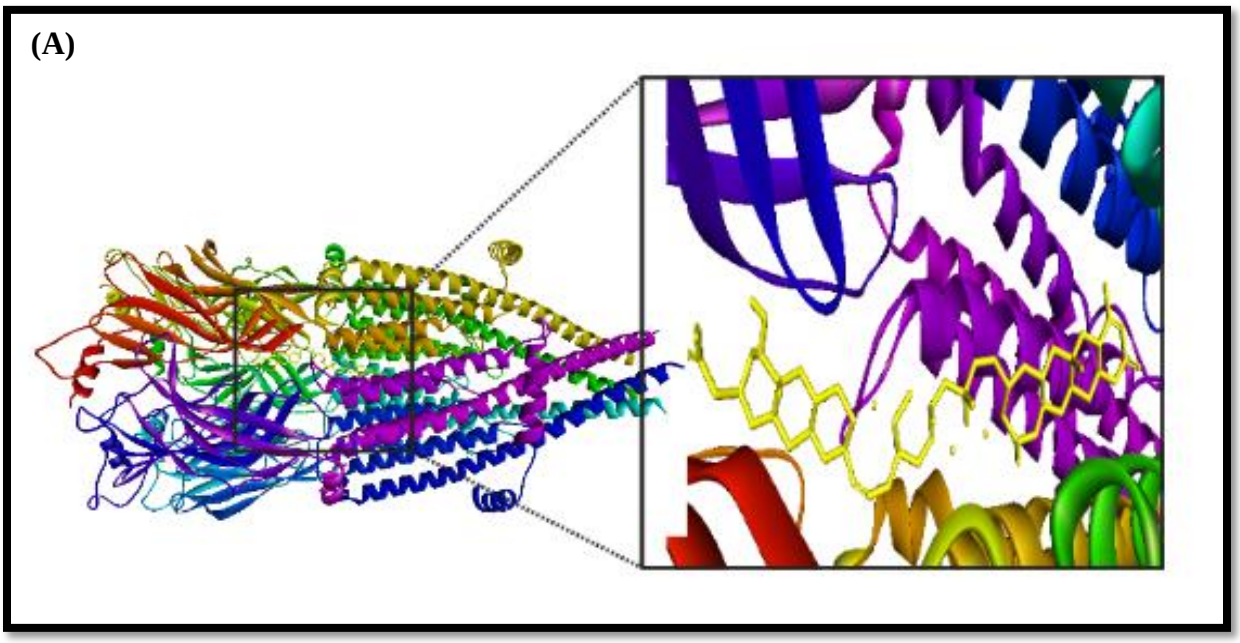
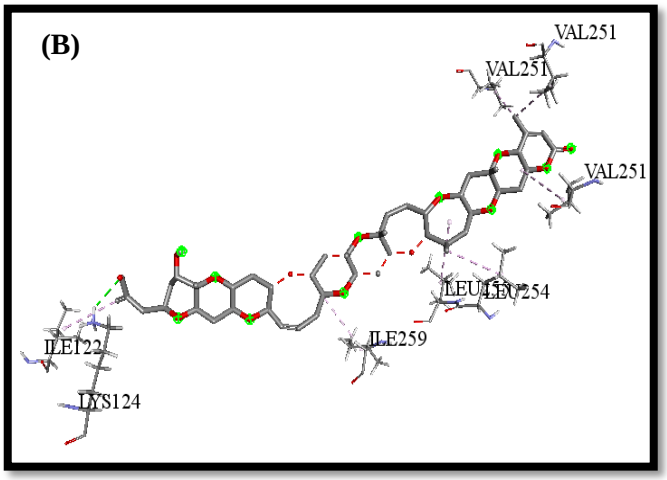


Figure13 : (GTS-21 + alpha 7)**(adapte)**

4\alpha bungarotoxine :





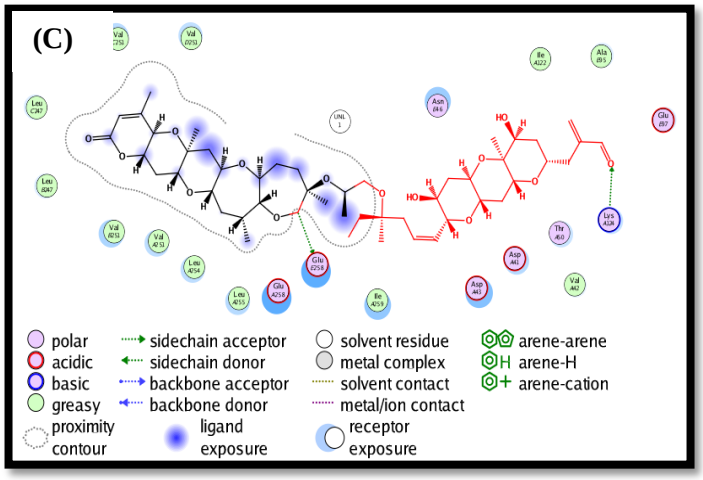


Figure14 : (alpha bungarotoxine +alpha7)**(adapte)**

5\ PNU-282987:

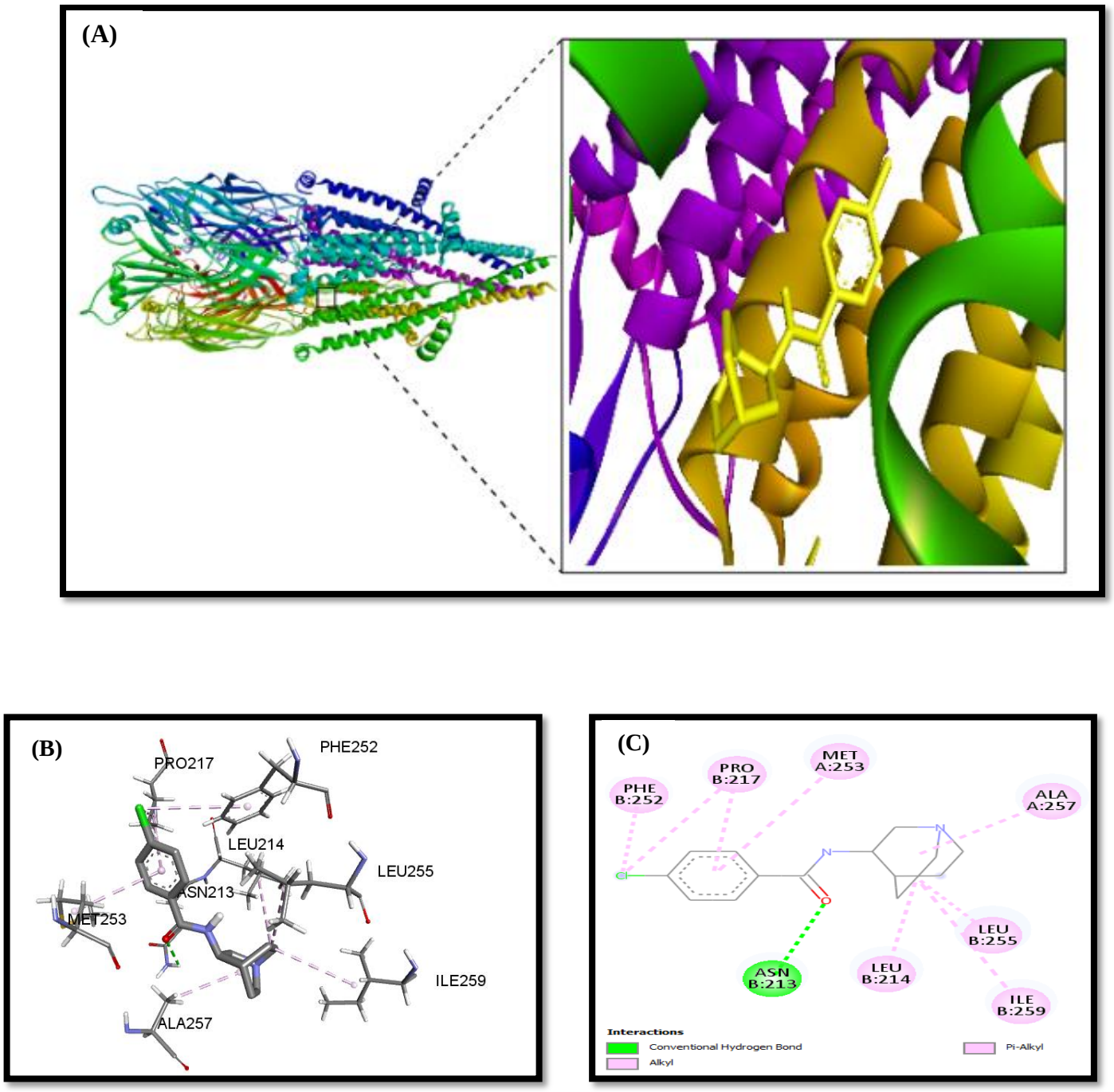


Figure 15: (PNU-282987+alpha7)**(adapte)**

6\ AR-R17779 :

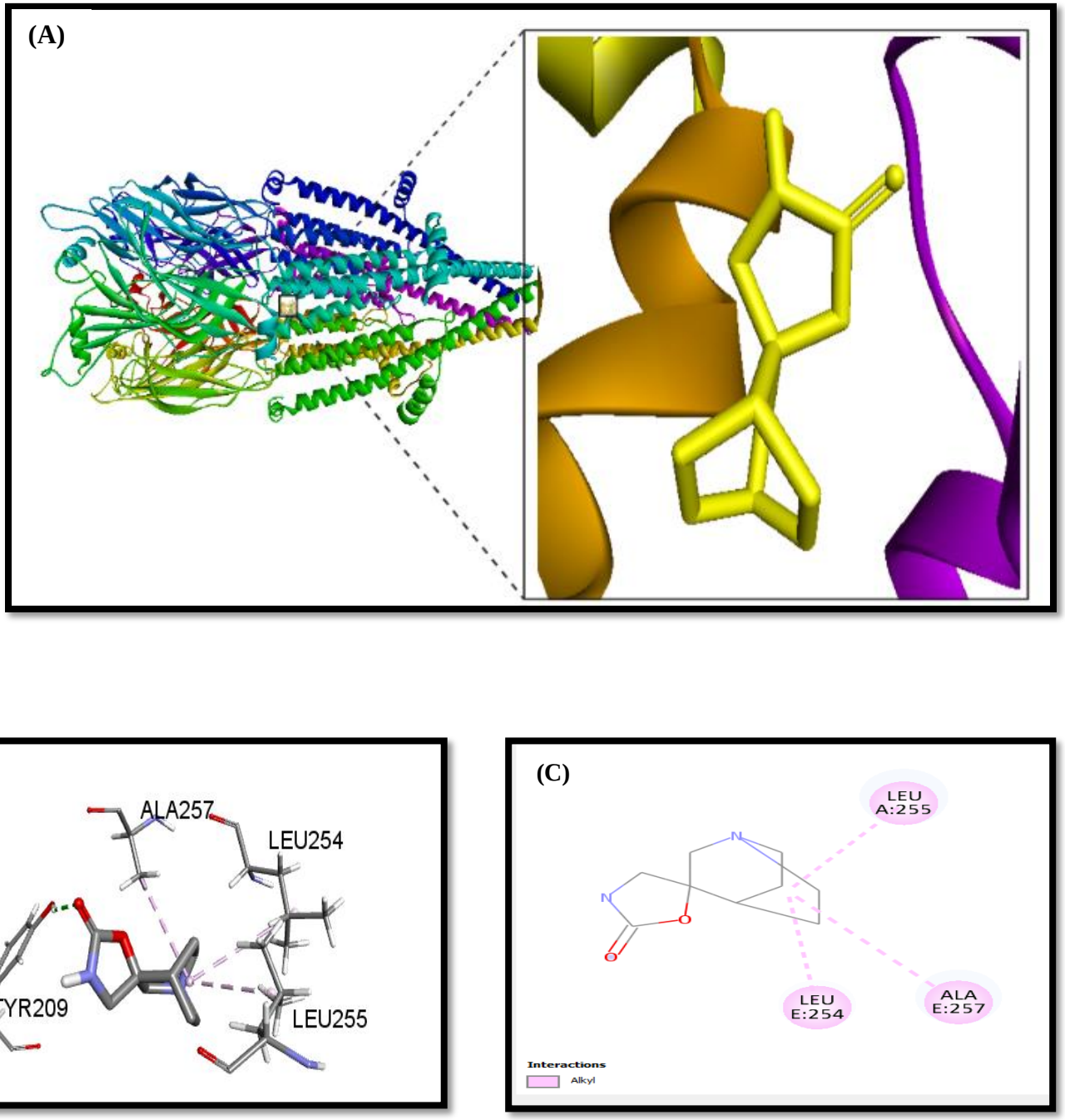
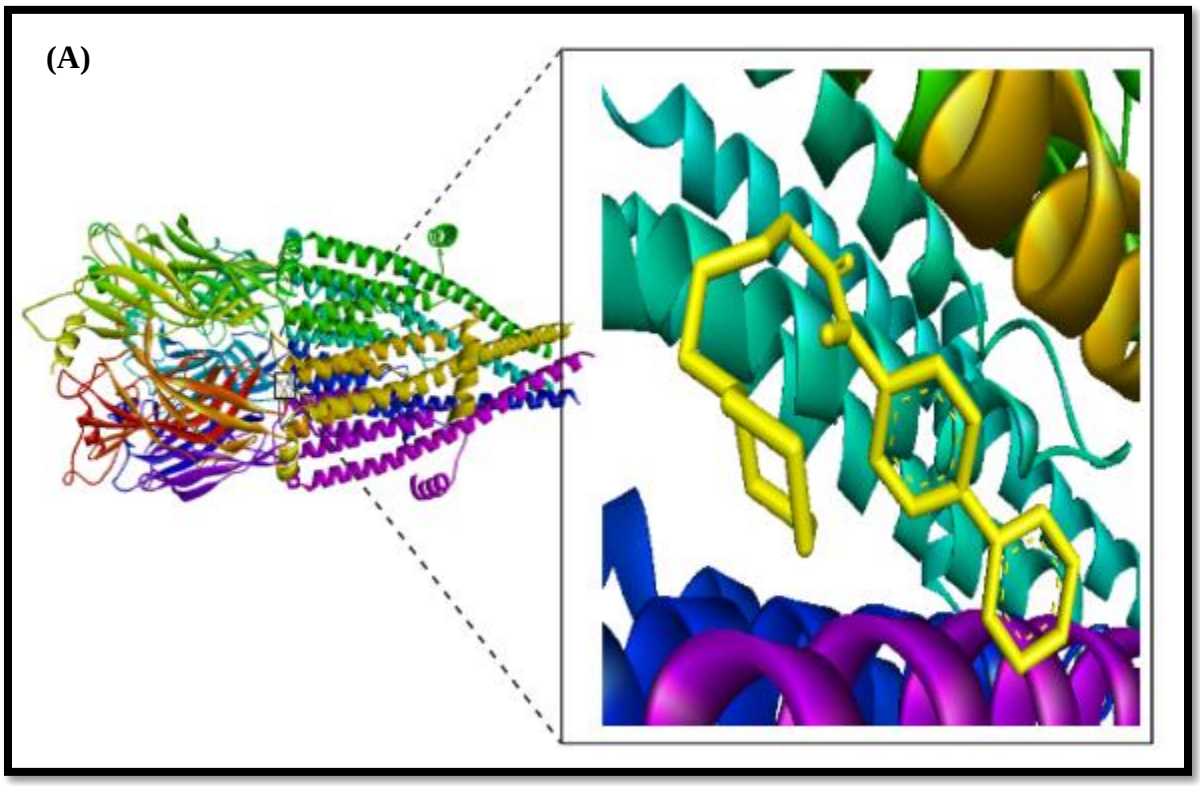


Figure 16: (AR-R17779 + alpha 7)**(adapte)**

7\ SEN 12333 :



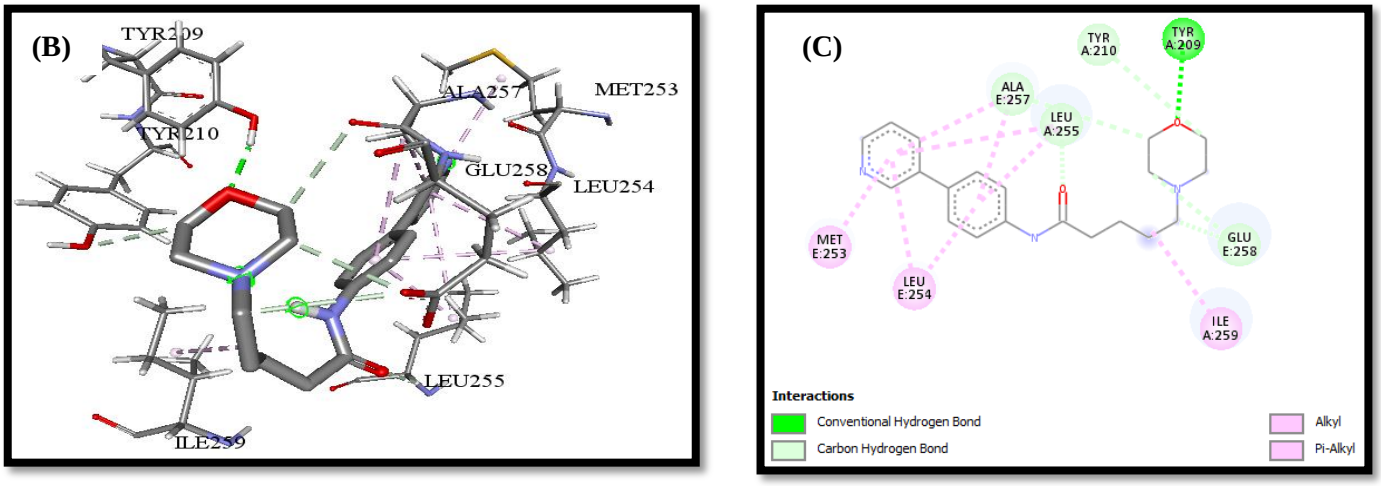


Figure 17: (SEN 12333 + alpha 7)**(adapte)**

8\ CP-810123 :

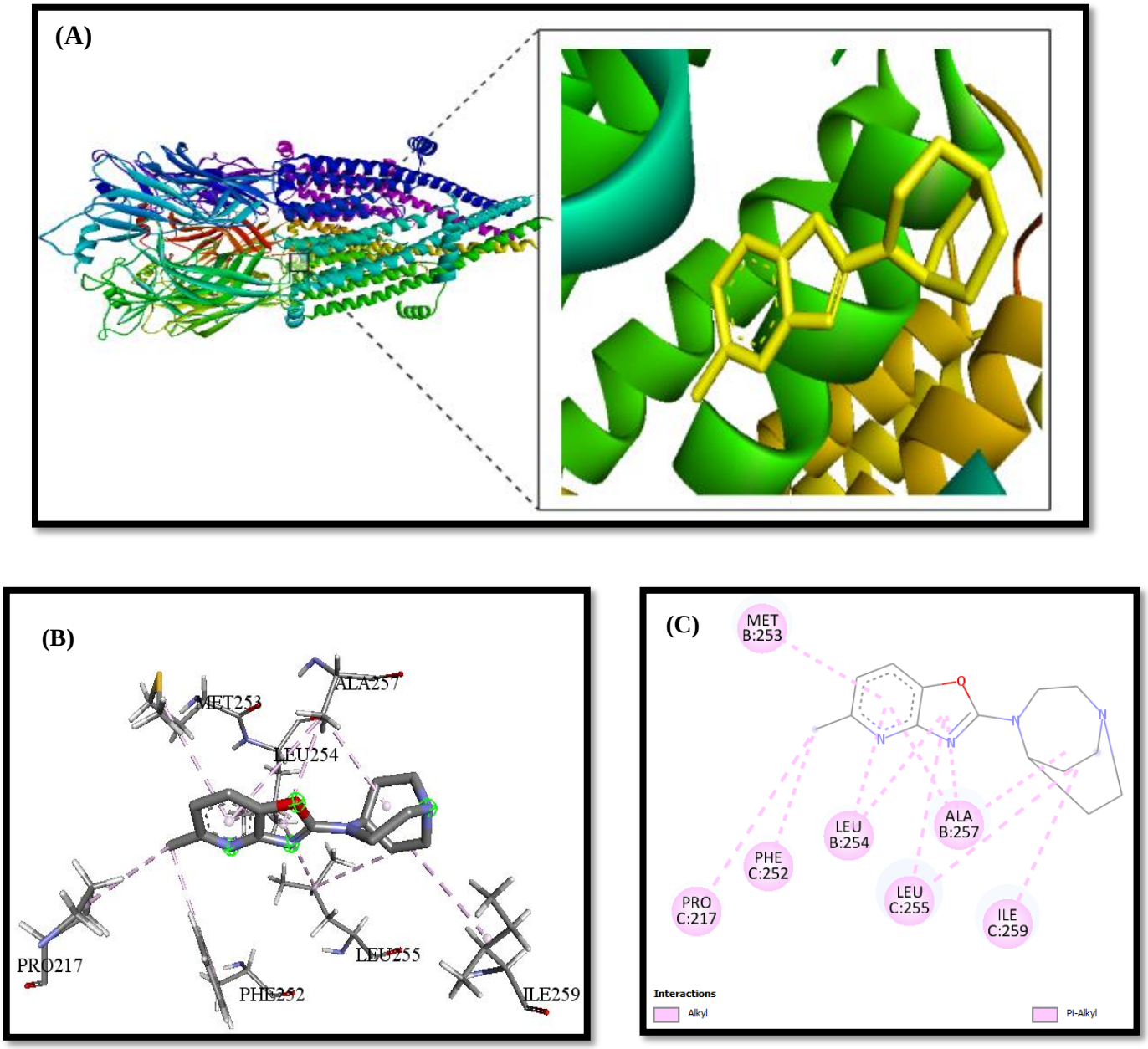


FIGURE 18: (CP-810123 + alpha 7)**(adapte)**

9\ tropisetron:

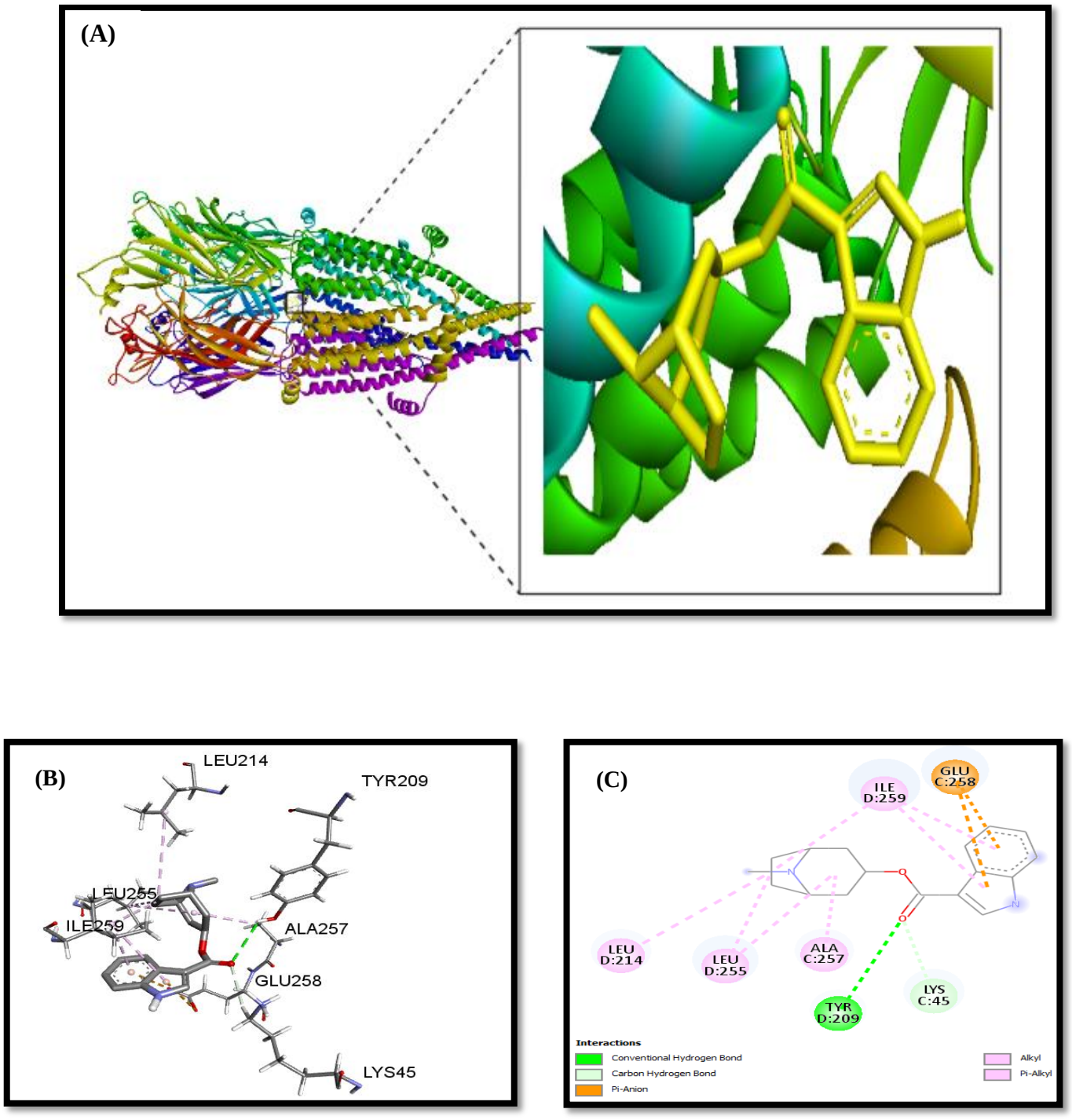


Figure **19** : (tropisetron+alpha 7)**(adapte)**

10\ PHA-543613 Dihydrochloride:

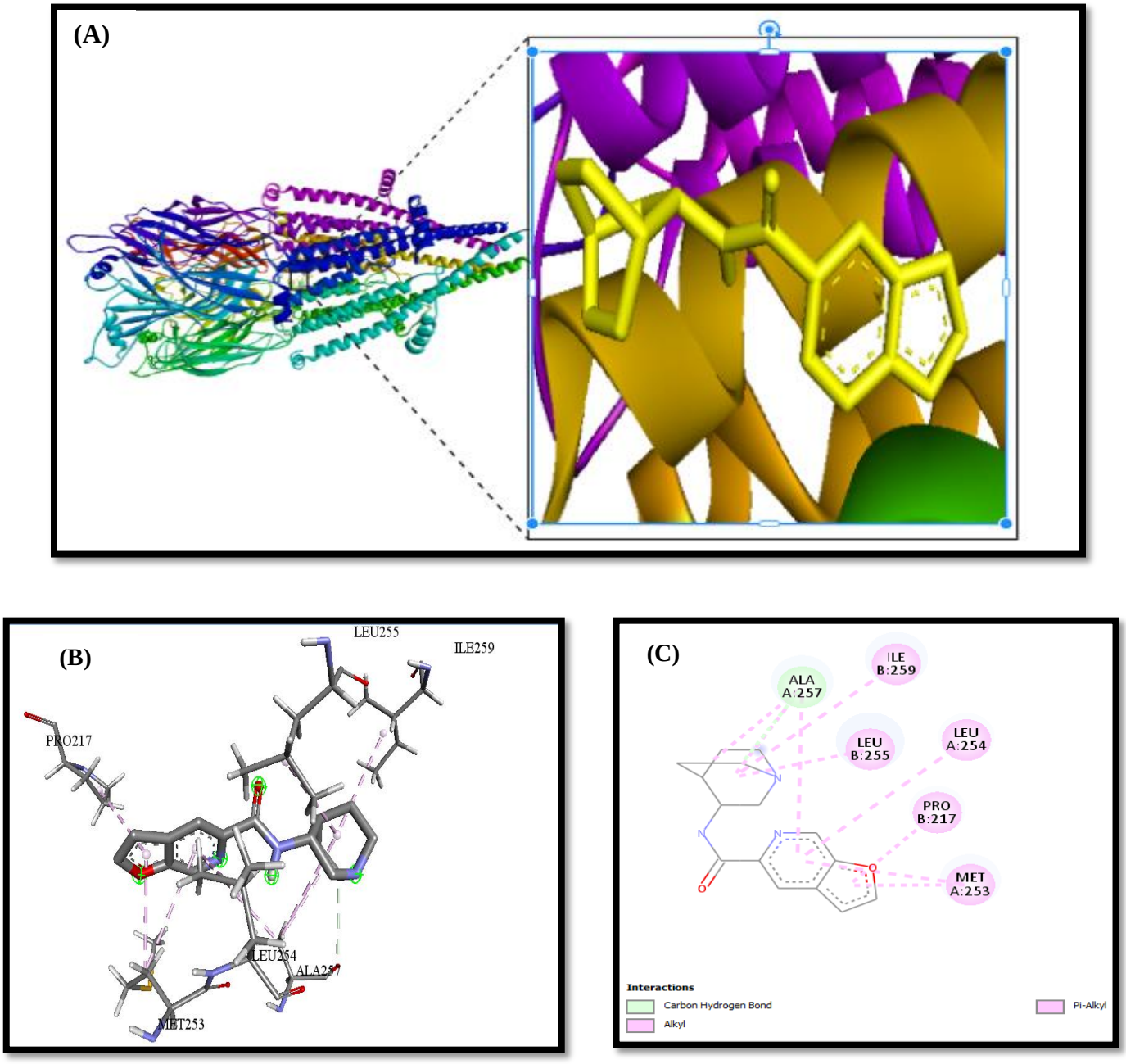


Figure 20 :(PHA-543613 Dihydrochloride +alpha 7) **(adapte)**

11\ TC-5619:

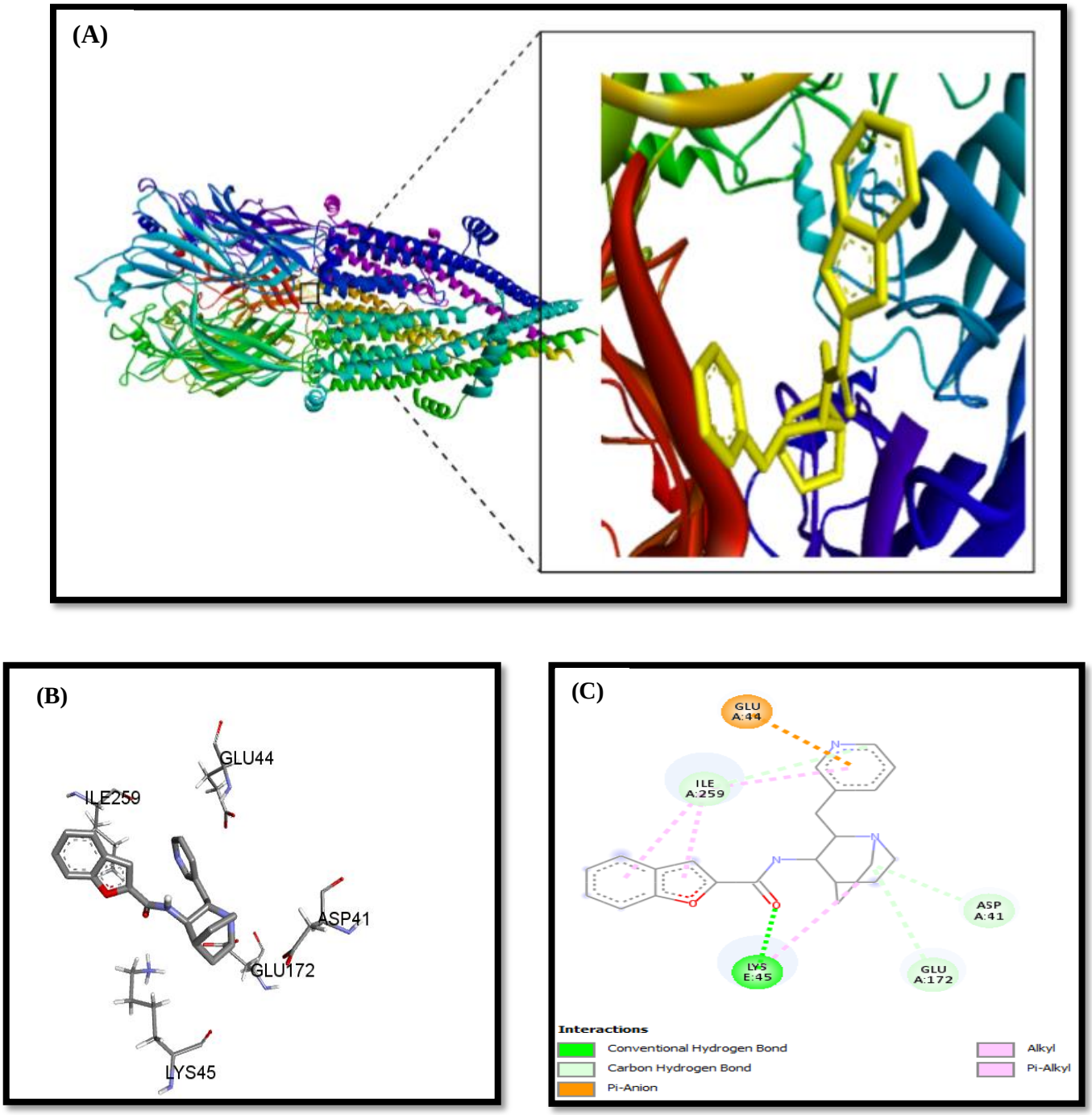


Figure 21: (TC-5619+alpha7)**(adapte)**

12\ Semapimod hydrochloride :

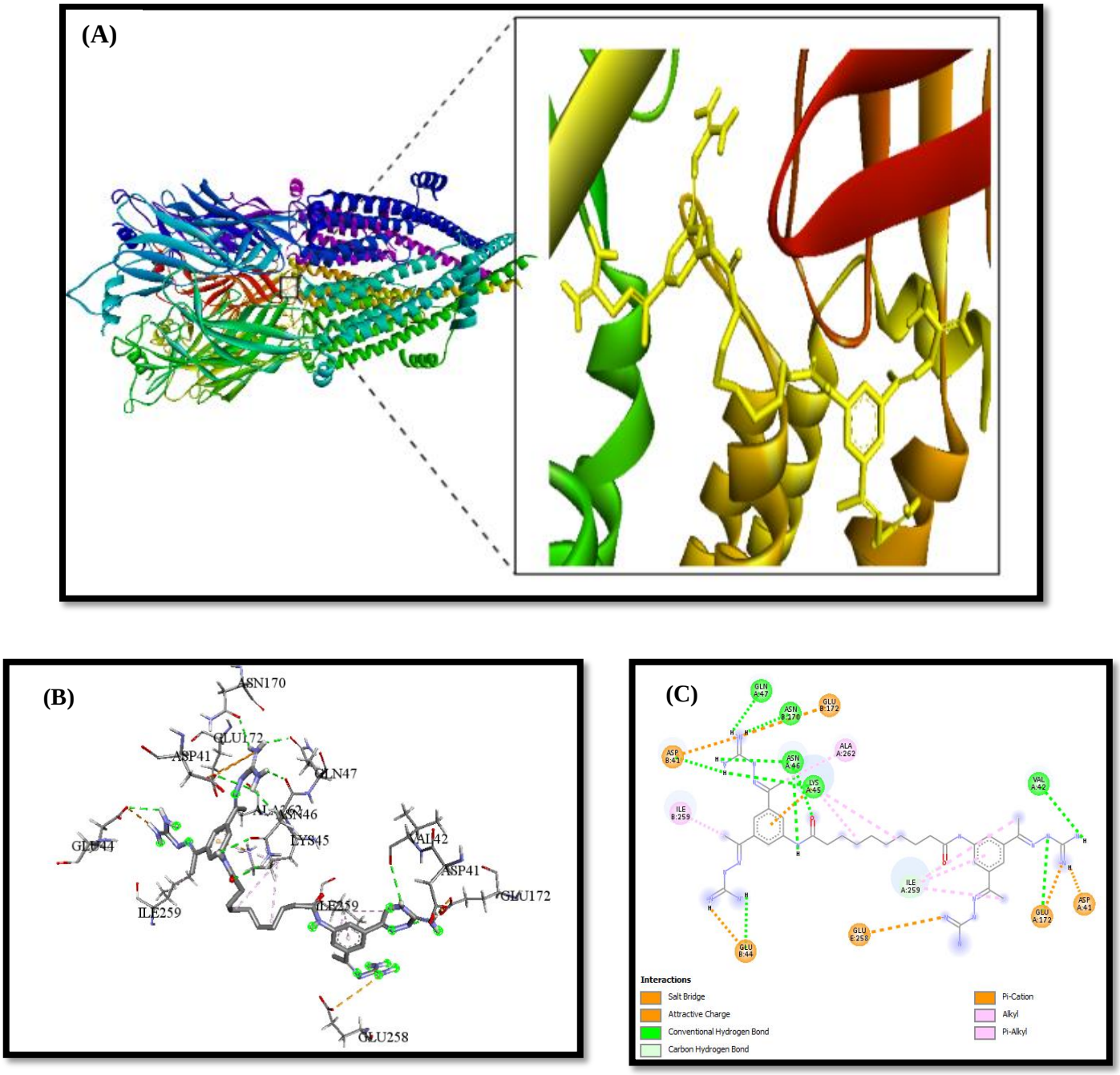


Figure 22: (Semapimod hydrochloride + alpha 7)**(adapte)**

13\[3H]methyllycaconitine**:**

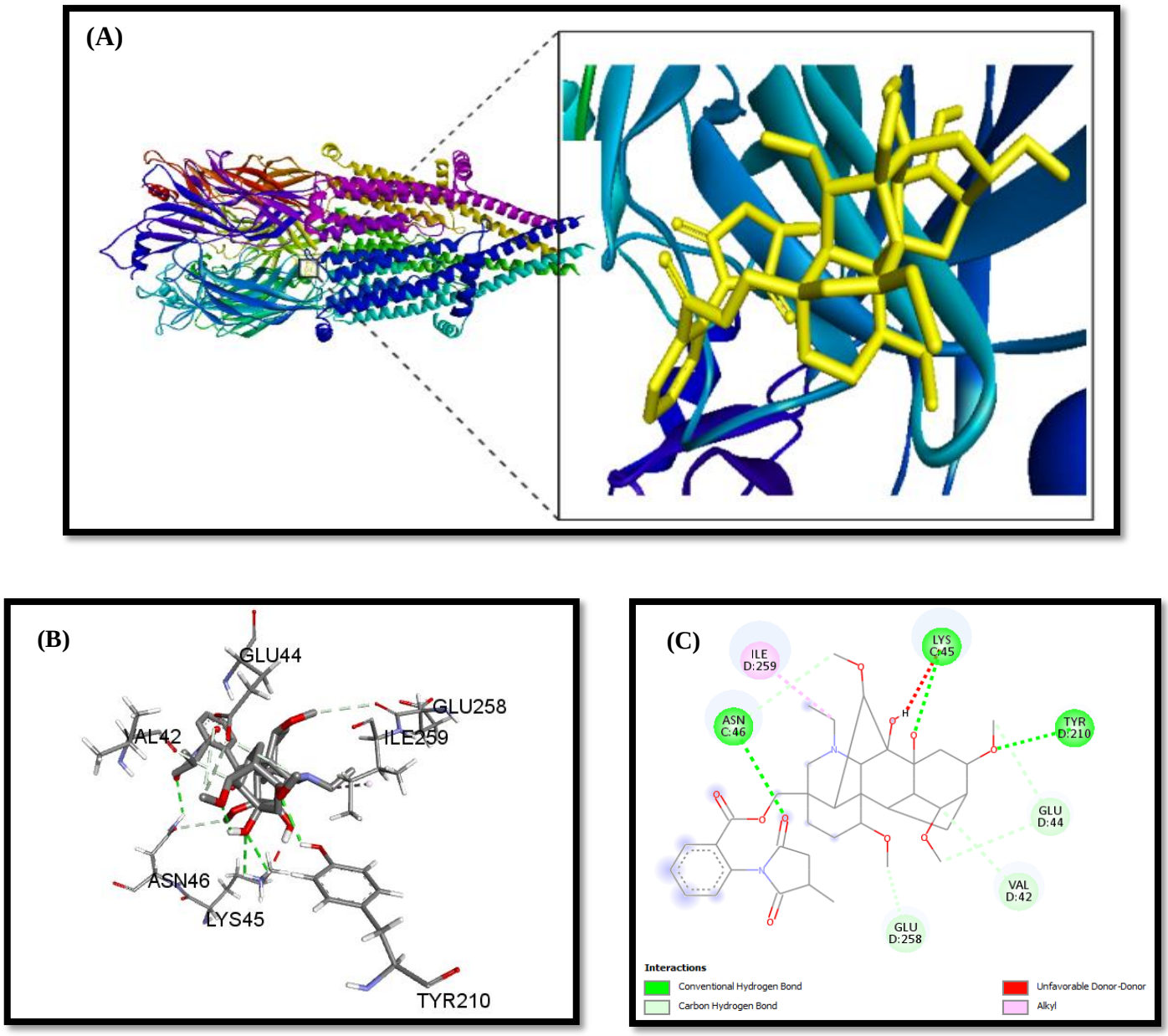


Figure 23 : ([3H] methyllycaconitine + alpha7)**(adapte)**

III-5-2-1. Analyse des liaisons établies entre les ligands et le récepteur α nAChR

Afin d'analyser les résultats obtenus par le docking moléculaire et décrire le site de liaison, nous nous intéressons aux nombres et le type des interactions établies et la séquence d'acides aminés qui constitue le site de liaison entre le ligand et le récepteur.

Tableau 06: le nombre et le type de liaison entre les 13 ligands et récepteur α 7 nAChR.

Ligands	l`affinite	Nbr H	Acide Aminé engagé dans la liaison H	Nombre autre type de liaison
acetylcholine	-3.9	1	TRP	1
nicotine	-5.9	1	ASN	5
GTS-21	-7.8	1	Lys	6
alpha bungarotoxine	-10.5	2	GLU LYS	19
pnu-282987	-6.9	1	ASN	7
ar-r17779	-6.1	0		3
SEN12333	-7.4	1	TYR	7
cp-810123	-7	0		7
tropisetron	-7.6	1	TYR	7
pha-543613	-7.4	1	ALA	5
tc-5619	-7.5	1	LYS	4
semapimod hydrochloride	-9.1	5	GLN, 2*ASN LYS, VAL	9
[3H]methyllycaconitine	-7.2	3	TYR, LYS, ASN	4

Ce tableau représente le nombre de liaison H entre ligands et récepteur alpha 7, nous avons noté une intéressent corrélation entre le degré d`affinité de ligands au récepteur et le nombre de liaison H. Toutefois, cette affinité est toute autant influencée par le nombre total de liaisons établies entre le ligand et le récepteur. A l'exemple de la GTS-21 qui exprime la meilleure affinité au récepteur α7 nAchR parmi les ligands considérés comme drug-like dans cette étude présente une liaison H avec une lysine. Cependant, les trois molécules écarté cette étude de par leur non validation de la loi de lipinski présentent d'intéressantes affinité au récepteur avec un nombre important de liaisons hydrogènes et non hydrogène. Ceci est due probablement à leur volume important qui leur permettent d'établir de différente interaction avec leur cible. L'ensemble des interactions permettent de stabiliser et de renforcer l'amarrage des ligands à leur site liaison sur le récepteur.

III-5-2-2. Analyse de la séquence d'acides aminés des site de liaison entre les ligands et le récepteur α nAChR

Tableu 07: les site de liaison des ligands .

Ligand	les site des laision	scoor
acétylcholine	leucine 255 - tyrosine 209	-3.9
nicotine	**alanine 257** -**leucine 254** - **asn 213** -leucine 214 - **ile 259** - **leucine 255**	-5.9
GTS-21	**asp 41** - **glucine 44** -**lysine 45** - **ile 259** - **asp 43** - **lysine 45** - asn 46	-7.8
alpha bungarotoxine	valine 251 -**leucine 254** -leucine 255 -glucine 258 -**ile 259** - **asp 43** -**asp 41**- thryosine 50 -valine 42 -lysine 124-ile 122 -glucine 7 -alanine 5 -asn 46 -leucine 247 -valine 251 - valine 251 -leucine 247 - valine 251	-10.9
PNU-282987	**alanine 257** -**methionine253**-proline 217 -pheline 252 - leucine 255-**ile 259**- leucine 214 - **asn 213**	-6.2
AR-R17779	leucine 255 - **leucine 254** -**alanine 257**	-6.2
SEN 12333	tyrosine209-**ile259**-tyrosine210-leucine255- **alanine257**-glucine258-**leucine254**-methionine253	-7.4
CP-810123	methionine253-alanine 257-leucine254 ile259-leucine 255-pheline252-proline 217-	-7
tropisetron	glucine258-**lysine45**-alanine 257-leucine214-leucine255-tyrosine209-**ile259**	-7.6
PHA-543613 Dihydrochloride	**alanine 257** -**metheonine 253**-**leucine254** -**leucine 255**- **ile 259** -proline 217	-7.4
TC-5619	**ile 259** -**glucine 44** -**asp 41** -glucine 172-**lysine 45**	-7.5

Semapimod hydrochloride	gln 47 - alanine 262 -asn 46 - **lysine 45** -glucine 172 -**asp 41-ile 259** -valine 42 -asp41 -asn 170 -glucine 172 -**ile 259** -glucine 44 -glucine 258 -	-9.1
[3H]methyllycaconitine	**lysine45**-asn46-**ile259**-glucine44-valine42-glucine258-tyrosine210	-7.2

Les chaines : A : vert B : rouge C : orange D: bleu E : rose

Sur le tableau précédant, nous récapitulons les séquences d'acides aminés impliqués dans le site de liaison des différents ligands étudiés et les 5 chaines qui constituent le récepteur α7 nAChR.

L'analyse de ces résultats par comparaison des sites de liaison des ligands à celui de l'acétylcholine que nous considérons comme orthostérique, nous avons noté qu'aucuns des 12 molécules analysées ne partage ce site de liaison.

Donc selon le résultat obtenu il `a aucun ligand qui partage des points de liaison (hot spot) avec l`acétylcholine. Ceci stipule que le site de liaison spécifique de cet agoniste naturel endogène est libre dans toutes les situations or son accessibilité reste non déterminée dans notre travail. D'autres investigations sont nécessaires afin de permettre la confirmation ou l`exclusion de la possibilité de lier l`acétylcholine simultanément en présence d`un autre agoniste.

Selon les résultats obtenus par la présentation graphique et la prédiction d'activité biologique nous avant dire que :

Cependant, d'une manière intéressante, on a observé que certains agonistes partagent de site de liaison commun à l'exemple de :

PNU-282987et PHA-543613 Dihydrochloride : nous avons repéré plusieurs acides aminés partagés entre les deux sites de liaison des deux molécules étudiées, Par rapport à la prédiction de l`activité biologique, nous signalions que d'après l'analyse PASS ces deux agonistes constituent d'intéressant molécules a effets bénéfiques dans l'amélioration des signes cognitifs.

SNE12333 et AR17779 : nous avons repéré plusieurs acides aminés partagés entre les deux sites de liaison des deux molécules étudiées, Par rapport à la prédiction de l`activité biologique, nous

signalions que d'après l'analyse PASS**,** ils partagent un effet bénéfique dans le traitement des désordres psychologiques liés aux phobies.

Toutefois, le partage de site de liaisons n'est pas synonyme de partage d'effet biologique tel le cas de : **GTS-21**et **TC5619 :** nous avons repéré plusieurs acides aminés partagés entre les deux sites de liaison des deux molécules étudiées, Par rapport à la prédiction de l`activité biologique, nous signalions que d'après l'analyse PASS**,** il ne partage pas la même activité biologique.

Ainsi, le partage de site de liaisons ne stipule pas forcement que les deux molécules exercent un effet biologique commun. Par contre ceci contribuerait d'une manière ou d'une autre au changement conformationnel similaire de la protéine cible. Ces modifications communes engendrent par conséquence des effets biologiques similaires tels l'ouverture ou la fermeture d'un canal ou l'activation d'une voie de signalisation intracellulaire par le recrutement de même protéines cibles dans la partie intracytoplasmique.

IV. Discussion générale :

Les études in silico constituent un outil de recherche et de développement nouvelles molécules à intérêt thérapeutique sous le concept du « Drug design ». Actuellement, ce type d'exploration est considéré comme un outil indispensable et dans la compréhension et la prédiction des effets biologiques, de l'identification des caractéristiques physico-chimiques et pharmacologique.

Dans ce travail, nous avons tracé comme objectif de réaliser une analyse comparative entre 13 ligands de récepteur α7 nAchR décrit comme une piste immunomodulatrice anti-inflammatoire avec des effets bénéfiques dans le traitement et l'amélioration des signes cognitifs dans plusieurs maladies neurodégénératives **(youcef et al,.2021).**

Afin de réaliser cet objectif nous avons eu recours à des databases gratuites pour la constitution de la banque de ligands (PubChem) et pour la sélection de la structure adéquate du récepteur cible (PDB). Ensuite, nous avons effectué une analyse des caractéristiques physico-chimique sur « SwissADME » et une prédiction des cibles biologiques au niveau cellulaire grâce au portail web gratuit « molinspiration ». Cette analyse trouve tout son intérêt dans la vérification de la correspondance de chaque ligand aux critères qui conditionnent la sélection de molécules drug-like. Aussi, nous avons utilisé le portail web « PASS Prediction » pour prédire in silico l'intérêt thérapeutique de chaque molécule. Ensuite, nous avons utilisé le portail web SwissADME pour prédire et leur absorption au niveau gastro-intestinale (HIA) et leur diffusion à travers la barrière encéphalique (BBB). Enfin, nous avons utilisé le portail web CB-DOCK afin de réaliser une série de docking moléculaire et définir l'affinité de chaque ligand au récepteur α7 nAchR ainsi que la détermination et la caractérisation de site de liaison. La visualisation des résultats récupérés a été réalisée par le logiciel discovery studio. Ceci nous procure une validation et la sélection des meilleurs ligands qui peuvent activer la voie α7 nAchR.

Ainsi, selon les caractéristiques physico-chimiques des ligands étudiés, nous avons écarté les 3 ligands qui violent la règle de Lipinski. De plus, nous avons écarté la nicotine en raison de son potentiel effet de développement de dépendance, malgré que cette molécule respecte la règle de Lipinski. Ensuite, concernant les effets thérapeutiques et les cibles biologiques, nous avons identifié le PHA-543613 Dihydrochloride, l'AR-R17779 et le GTS-21, comme de potentiels molécules a effet anti-inflammatoire. En ce qui concerne les résultats du docking, la GTS-21

présente une affinité supérieure aux autres ligands. Selon la littérature, elle est considérée comme une molécule thérapeutique car il active d'une manière significative la voie anti-inflammatoire cholinergique. Il a été démontrée in vitro, que cette molécule à la capacité d'atténuer la fonction phagocytaire des macrophages compromise par une exposition prolongée à l'hyperoxie **(Gauthier et al., 2021).**

De plus, selon les résultats obtenus par SwissADME, nous constatons que certains agonistes traversent la barrière hémato-encéphalique, tels que le PNU-282987, le SEN12333, le PHA-543613 dihydrochloride, le CP-810123, le GTS-21 et le Tropistron. Cela indique que ces ligands sont capables de pénétrer dans le cerveau et d'exercer potentiellement leur effet thérapeutique sur le système nerveux central. Cela constitue un critère crucial dans le développement des médicaments utilisés dans le traitement de maladies neurologiques et psychiatriques, car leur efficacité dépend souvent de leur capacité à atteindre les régions cérébrales ciblées **(Gad, s.d.)**. Dans cette optique, la GTS-21 a atteint actuellement le stade II dans les études cliniques dans le traitement de l'Alzheimer (https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00414622)

Enfin, en examinant les résultats de la présentation graphique, nous constatons qu'aucun ligand ne partage le même site de liaison que l'acétylcholine, que nos avons considéré comme référence étant que c'est ligand naturel du récepteur α7 nAchR. Cependant, nous avons constaté que certains ligands partagent des site liaison, tels le SEN12333 et l'AR-R17779 de plus ils présentent des effets thérapeutiques similaires.

En conclusion, cette étude nous donne une vision générale sur des principaux ligands du récepteur α7 nAchR. Elle nous a permis de faire une classification en fonction de leur affinité, le choix en fonction de leur cible biologique et de leur intérêt thérapeutique.

Conclusion :

Dans cette étude, nous avons mis en évidence l'intérêt des études In Silico, qui sont moins coûteuses et permettent d'orienter les expérimentations In Vitro et les études expérimentales In Vivo. De plus, nous avons démontré que malgré que le alpha-bungarotoxine, Semapimod hydrochloride et [3H] methyllycaconitines possèdent des affinités très intéressantes pour le récepteur alpha 7, ils ne peuvent pas être considérés comme drug-like en raison de leur violation des 5 règles de Lipinski.

De plus, notre étude constitue la première analyse comparative entre les principaux ligands agonistes de la voie anti-inflammatoire α7 nAchR. Nous avons démontré que les ligands GTS-21 et le PNU-282987 sont des molécules drug-like très prometteuses de par leurs caractéristiques physico-chimiques, de leur fonction biologique et leur intérêt thérapeutique prophétisés.

Enfin, la GTS-21 et le PNU-282987 peuvent constituer de nouvelles alternatives aux anti-inflammatoires actuellement utilisés et qui semble être peu ou pas efficace dans plusieurs cas pathologiques. Ces résultats intéressants préparent le train pour d'ample études In Silico ainsi que pour l'exploration de ces agonistes de la voie anti-inflammatoire α7 nAchR In Vivo et In Vitro.

Bibographique :

Alzarea, S., Rahman, S., 2018. Effects of alpha-7 nicotinic allosteric modulator PNU 120596 on depressive-like behavior after lipopolysaccharide administration in mice. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 86, 218–228. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.05.018

Bencherif, M., Lippiello, P.M., Lucas, R., Marrero, M.B., 2011. Alpha7 nicotinic receptors as novel therapeutic targets for inflammation-based diseases. Cell. Mol. Life Sci. 68, 931–949. https://doi.org/10.1007/s00018-010-0525-1

Bertrand, D., Gopalakrishnan, M., 2007. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors. Biochem. Pharmacol. 74, 1155–1163. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.07.011

Biaggioni, I. (Ed.), 2022. Primer on the autonomic nervous system, Fourth edition. ed. Academic Press, Amsterdam.

Bondarenko, V., Wells, M.M., Chen, Q., Tillman, T.S., Singewald, K., Lawless, M.J., Caporoso, J., Brandon, N., Coleman, J.A., Saxena, S., Lindahl, E., Xu, Y., Tang, P., 2022. Structures of highly flexible intracellular domain of human α7 nicotinic acetylcholine receptor. Nat. Commun. 13, 793. https://doi.org/10.1038/s41467-022-28400-x

Boutrif chams eddine ,Merdassi abderraouf,2014 Etude in silico de la 5-lipoxygenase en tant qu`enzyme impliquee dans les maladie inflammatoire.

Changeux, J.-P., 2013. The concept of allosteric modulation: an overview. Drug Discov. Today Technol. 10, e223–e228. https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2012.07.007

Chatzidaki, A., Millar, N.S., 2015. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors. Biochem. Pharmacol. 97, 408–417. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.07.028

Chen, J., Cheuk, I.W.Y., Shin, V.Y., Kwong, A., 2019a. Acetylcholine receptors: Key players in cancer development. Surg. Oncol. 31, 46–53. https://doi.org/10.1016/j.suronc.2019.09.003

Chen, J., Cheuk, I.W.Y., Shin, V.Y., Kwong, A., 2019b. Acetylcholine receptors: Key players in cancer development. Surg. Oncol. 31, 46–53. https://doi.org/10.1016/j.suronc.2019.09.003

Courties, A., Berenbaum, F., Sellam, J., 2021. La stimulation du nerf vague dans les maladies musculosquelettiques. Rev. Rhum. 88, 424–429. https://doi.org/10.1016/j.rhum.2021.07.001

Cox, M.A., Bassi, C., Saunders, M.E., Nechanitzky, R., Morgado-Palacin, I., Zheng, C., Mak, T.W., 2020. Beyond neurotransmission: acetylcholine in immunity and inflammation. J. Intern. Med. 287, 120–133. https://doi.org/10.1111/joim.13006

de Araujo, A., de Lartigue, G., 2020a. Non-canonical cholinergic anti-inflammatory pathway in IBD. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 17, 651–652. https://doi.org/10.1038/s41575-020-0356-y

de Araujo, A., de Lartigue, G., 2020b. Non-canonical cholinergic anti-inflammatory pathway in IBD. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 17, 651–652. https://doi.org/10.1038/s41575-020-0356-y

Egea, J., Buendia, I., Parada, E., Navarro, E., León, R., Lopez, M.G., 2015. Anti-inflammatory role of microglial alpha7 nAChRs and its role in neuroprotection. Biochem. Pharmacol. 97, 463–472. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.07.032

Gad, S.C., n.d. INTRODUCTION: DRUG DISCOVERY IN THE 21st CENTURY.

Galitovskiy, V., Qian, J., Chernyavsky, A.I., Marchenko, S., Gindi, V., Edwards, R.A., Grando, S.A., 2011. Cytokine-Induced Alterations of α7 Nicotinic Receptor in Colonic CD4 T Cells

Mediate Dichotomous Response to Nicotine in Murine Models of Th1/Th17- versus Th2-Mediated Colitis. J. Immunol. 187, 2677–2687. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002711
Gharpure, A., Noviello, C.M., Hibbs, R.E., 2020. Progress in nicotinic receptor structural biology. Neuropharmacology 171, 108086. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108086
Glover, E.D., Glover, P.N., Payne, T.J., 2003. Treating Nicotine Dependence. Am. J. Med. Sci. 326, 183–186. https://doi.org/10.1097/00000441-200310000-00006
Gori, S., Vermeulen, M., Remes-Lenicov, F., Jancic, C., Scordo, W., Ceballos, A., Towstyka, N., Bestach, Y., Belli, C., Sabbione, F., Geffner, J., Salamone, G., 2017. Acetylcholine polarizes dendritic cells toward a Th2-promoting profile. Allergy 72, 221–231. https://doi.org/10.1111/all.12926
Gowayed, M.A., Rothe, K., Rossol, M., Attia, A.S., Wagner, U., Baerwald, C., El-Abhar, H.S., Refaat, R., 2019. The role of α7nAChR in controlling the anti-inflammatory/anti-arthritic action of galantamine. Biochem. Pharmacol. 170, 113665. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.113665
Gulsevin, A., 2020. Nicotinic receptor pharmacology in silico: Insights and challenges. Neuropharmacology 177, 108257. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108257
Hecker, A., Mikulski, Z., Lips, K.S., Pfeil, U., Zakrzewicz, A., Wilker, S., Hartmann, P., Padberg, W., Wessler, I., Kummer, W., Grau, V., 2009. Pivotal Advance: Up-regulation of acetylcholine synthesis and paracrine cholinergic signaling in intravascular transplant leukocytes during rejection of rat renal allografts. J. Leukoc. Biol. 86, 13–22. https://doi.org/10.1189/jlb.1107722
Inoue, T., Abe, C., Kohro, T., Tanaka, S., Huang, L., Yao, J., Zheng, S., Ye, H., Inagi, R., Stornetta, R.L., Rosin, D.L., Nangaku, M., Wada, Y., Okusa, M.D., 2019. Non-canonical cholinergic anti-inflammatory pathway-mediated activation of peritoneal macrophages induces Hes1 and blocks ischemia/reperfusion injury in the kidney. Kidney Int. 95, 563–576. https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.09.020
Kambayashi, T., Laufer, T.M., 2014. Atypical MHC class II-expressing antigen-presenting cells: can anything replace a dendritic cell? Nat. Rev. Immunol. 14, 719–730. https://doi.org/10.1038/nri3754
Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B.A., Thiessen, P.A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., Bolton, E.E., 2021. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. Nucleic Acids Res. 49, D1388–D1395. https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971
Kondo, M., 2010. Lymphoid and myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors: Roles of bone marrow microenvironment. Immunol. Rev. 238, 37–46. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00963.x
Ma, K.-G., Qian, Y.-H., 2019a. Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor and its effects on Alzheimer's disease. Neuropeptides 73, 96–106. https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.12.003
Ma, K.-G., Qian, Y.-H., 2019b. Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor and its effects on Alzheimer's disease. Neuropeptides 73, 96–106. https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.12.003
Manetti, D., Dei, S., Arias, H.R., Braconi, L., Gabellini, A., Teodori, E., Romanelli, M.N., 2023a. Recent Advances in the Discovery of Nicotinic Acetylcholine Receptor Allosteric Modulators. Molecules 28, 1270. https://doi.org/10.3390/molecules28031270

Manetti, D., Dei, S., Arias, H.R., Braconi, L., Gabellini, A., Teodori, E., Romanelli, M.N., 2023b. Recent Advances in the Discovery of Nicotinic Acetylcholine Receptor Allosteric Modulators. Molecules 28, 1270. https://doi.org/10.3390/molecules28031270

Manetti, D., Dei, S., Arias, H.R., Braconi, L., Gabellini, A., Teodori, E., Romanelli, M.N., 2023c. Recent Advances in the Discovery of Nicotinic Acetylcholine Receptor Allosteric Modulators. Molecules 28, 1270. https://doi.org/10.3390/molecules28031270

Mellado, M., 2015. T cell migration in rheumatoid arthritis. Front. Immunol. 6. https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00384

Murphy, S.E., 2021. Biochemistry of nicotine metabolism and its relevance to lung cancer. J. Biol. Chem. 296, 100722. https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100722

Nizri, E., Irony-Tur-Sinai, M., Lory, O., Orr-Urtreger, A., Lavi, E., Brenner, T., 2009. Activation of the Cholinergic Anti-Inflammatory System by Nicotine Attenuates Neuroinflammation via Suppression of Th1 and Th17 Responses. J. Immunol. 183, 6681–6688. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902212

Noviello, C.M., Gharpure, A., Mukhtasimova, N., Cabuco, R., Baxter, L., Borek, D., Sine, S.M., Hibbs, R.E., 2021. Structure and gating mechanism of the α7 nicotinic acetylcholine receptor. Cell 184, 2121-2134.e13. https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.049

Papke, R.L., Horenstein, N.A., 2021a. Therapeutic Targeting of α 7 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Pharmacol. Rev. 73, 1118–1149. https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000097

Papke, R.L., Horenstein, N.A., 2021b. Therapeutic Targeting of α 7 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Pharmacol. Rev. 73, 1118–1149. https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000097

Papke, R.L., Horenstein, N.A., 2021c. Therapeutic Targeting of α 7 Nicotinic Acetylcholine Receptors. Pharmacol. Rev. 73, 1118–1149. https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000097

Piovesana, R., Salazar Intriago, M.S., Dini, L., Tata, A.M., 2021. Cholinergic Modulation of Neuroinflammation: Focus on α7 Nicotinic Receptor. Int. J. Mol. Sci. 22, 4912. https://doi.org/10.3390/ijms22094912

Randáková, A., Jakubík, J., 2021. Functionally selective and biased agonists of muscarinic receptors. Pharmacol. Res. 169, 105641. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105641

Ren, C., Li, X., Wang, S., Wang, L., Dong, N., Wu, Y., Yao, Y., 2018. Activation of Central Alpha 7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Reverses Suppressed Immune Function of T Lymphocytes and Protects Against Sepsis Lethality. Int. J. Biol. Sci. 14, 748–759. https://doi.org/10.7150/ijbs.24576

Schwaneck, E., Renner, R., Junker, L., Tony, H.-P., Kleinert, S., Gernert, M., Schmalzing, M., Gadeholt, O., 2020. T cells, natural killer cells, and γδT cells in a large patient cohort with rheumatoid arthritis: influence of age and anti-rheumatic therapy. Scand. J. Rheumatol. 49, 8–12. https://doi.org/10.1080/03009742.2019.1634755

Shytle, R.D., Mori, T., Townsend, K., Vendrame, M., Sun, N., Zeng, J., Ehrhart, J., Silver, A.A., Sanberg, P.R., Tan, J., 2004. Cholinergic modulation of microglial activation by α7 nicotinic receptors: Cholinergic modulation of microglial activation. J. Neurochem. 89, 337–343. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2004.02347.x

Wu, Y., Wang, L., Ji, C., Gu, S., Yin, Q., Zuo, J., 2021. The Role of α7nAChR-Mediated Cholinergic Anti-inflammatory Pathway in Immune Cells. Inflammation 44, 821–834. https://doi.org/10.1007/s10753-020-01396-6

Yanagita, M., Mori, K., Kobayashi, R., Kojima, Y., Kubota, M., Miki, K., Yamada, S., Kitamura, M., Murakami, S., 2012. Immunomodulation of dendritic cells differentiated in the

presence of nicotine with lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis*. Eur. J. Oral Sci. 120, 408–414. https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2012.00992.x

Youssef, M.E., Abdelrazek, H.M., Moustafa, Y.M., 2021. Cardioprotective role of GTS-21 by attenuating the TLR4/NF-κB pathway in streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy in rats. Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 394, 11–31. https://doi.org/10.1007/s00210-020-01957-4

Les site :

https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00414622 consulter :04\06\2023

http://www.swissadme.ch/

RCSB PDB: Homepage

Way2Drug - main

https://www.molinspiration.com/

https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/

Visualization - BIOVIA - Dassault Systèmes® (3ds.com)