

Le rôle central de l'acétylcholinestérase dans la neurotransmission est connue depuis plus d'un siècle. Les inhibiteurs des cholinestérases sont utilisés comme traitement dans de nombreuses pathologies mais également utilisés comme arme chimique (gaz sarin) et pesticides. De façon assez surprenante, les inhibiteurs réversibles utilisés comme traitement sont des réponses prophylactiques à la toxicité des inhibiteurs irréversibles utilisés comme poisons [7].

L'acétylcholinestérase est la seule enzyme régulant la neurotransmission chez les vertébrés dans les voies cholinergiques (utilisant l'acétylcholine comme neuromédiateur). Ces voies sont retrouvées dans le cerveau, l'activation musculaire ainsi que le système nerveux autonome. L'acétylcholinestérase dégrade l'acétylcholine dans les millisecondes après son exocytose. Cela permet de mettre rapidement fin au signal. C'est une enzyme qui est dite "parfaite" car sa vitesse catalytique est proche de la limite de la vitesse de diffusion. Dans le système périphériques, les motoneurones cholinergiques relarguent de l'acétyl choline pour activer les muscles et permettent le déplacement et motricité fine. Les neurones du système nerveux parasympathique stimulent la contraction des muscles lisses (péristaltisme, contraction vessie, sécrétion des glandes salivaires, ralentissement des battements cardiaque au noeud sinoatrial). Dans le système nerveux central, six noyaux cholinergiques (notés Ch1-Ch6) peuvent être identifiés qui touchent des fonctions comme la cognition, la mémoire, la respiration, la locomotion par exemple. L'inhibition de l'acétylcholinestérase prolonge la demi-vie de l'acétylcholine et donc le signal cholinergique. Cela entraîne des tetani musculaires (immobilisation, vomissement diarrées, incontinence, suffocation) et des augmentations des sécrétions périphériques (salive) [7].

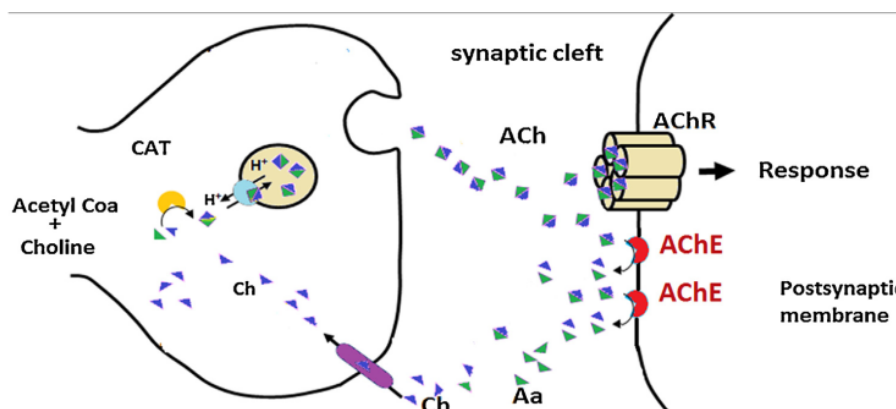


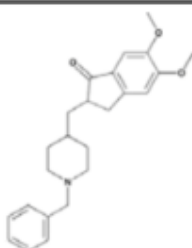
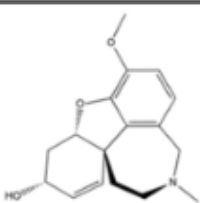
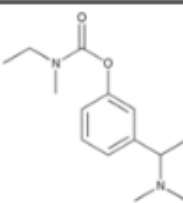
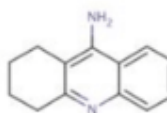
Fig. 5. Acetylcholinesterase function in the synapsis. The neurotransmitter acetylcholine (ACh) is released from the presynaptic neurons, interacts with the receptor (AChR) in the post-synaptic membrane and is hydrolyzed by acetylcholinesterase (AChE), releasing acetic acid (Aa) and choline (Ch) that is recovered by the presynaptic cell for resynthesis.

FIGURE 1.1 – Rôle de l'acétylcholinestérase dans les synapse cholinergiques [4]

Partie 1 : Inhibiteurs réversibles des Acétylcholinesterases : des remèdes pour les maladies neurodégénératives

L'inhibition de l'AChE dans le cerveau est utilisé en traitement précoce de la maladie d'Alzheimer dans l'objectif de stimuler les fonctions cognitives en prolongeant le signal cholinergique. Dans cette pathologie, une forte perte de neurones cholinergiques est observée dans le noyau CH4 ainsi qu'une réduction des marqueurs cholinergiques dans le cortex frontale. Ces observations ont aboutit à l'hypothèse d'une démence cholinergique et l'analyse des effets bénéfiques des inhibiteurs de l'AChE. De nombreux inhibiteurs naturels et synthétiques ont depuis été testés et utilisés dans le traitement des cette maladie. Les traitements actuels ont un effet mineur mais les recherches continuent afin de trouver des inhibiteurs plus efficaces mais aussi pour étendre ces traitements à d'autres maladies neurodégénératives. Dans cette partie, nous allons analyser les modes d'inhibitions réversibles de potentiels molécules utilisables dans le traitement des maladies neurodégénératives [7].

FIGURE 1.2 – traitements anti-Alzheimer [2]

| | Donepezil | Galantamine | Rivastigmine | Tacrine |
|--|--|--|---|---|
| Structure |  |  |  |  |
| Chemical class [29] | Piperidine | Phenanthrene alkaloid | Carbamate | Acridinamide |
| Target enzymes | AChE | AChE | AChE and BuChE | AChE and BuChE |
| Inhibition of target enzymes [29] | Non-competitive Rapidly-reversible (<1 ms) | Competitive Rapidly-reversible (<1 ms) | Non-competitive Very slowly reversible (~6–8 h) | Non-competitive Rapidly-reversible |
| Metabolism [30] | CYP2D6 and 3A4 | CYP2D6 and 3A4 | AChE and BuChE | CYP1A2 |
| Recommended dose | 10 mg/day (once daily) | 24 mg/day (twice daily) | 9.5 mg/24 h patch (once daily) 12 mg/day (twice daily) | 160 mg/day (four times daily) |
| Available formulations | Tablets | Tablets Oral solution Once-daily controlled release | Transdermal patch Capsules Oral solution | Capsules |
| Plasma half-life [29, 31] | ~ 70 hours | ~ 7 hours | ~ 3 hours (patch) ~1 hour (capsule) | – |

Question 1 Analyse biochimique

Des mesures d'inhibition ont été réalisés sur quatre molécules :

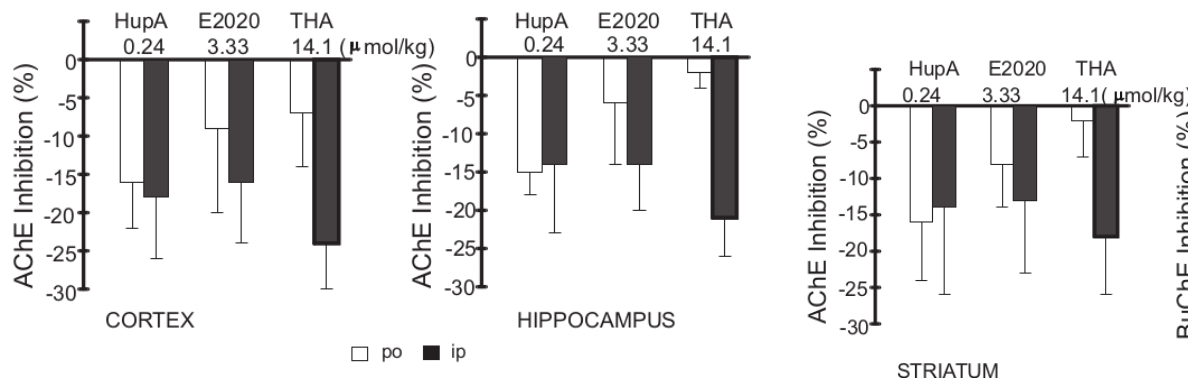
- deux molécules utilisées dans le traitement de la maladie d'Alzheimer en europe (la galantamine [6] et le donopezile [1])
- l'Huperzine A (extrait de *Huperzia serrata*) utilisé en chine pour le traitement d'alzheimer et les pathologies de perte de mémoire bénignes. Elle est vendue en compléments alimentaires pour la mémoire [8].
- une extraction de *Tabernaemontana catharinensis*, une plante originaire d'Amérique du sud utilisée traditionnellement pour traiter les inflammations de la peau [6].

Les résultats de ces études sont consignées dans le tableur. Traitez ces données afin d'obtenir les mécanismes et les constantes cinétiques. Expliquez comment chaque inhibiteur va agir sur la concentration en acétylcholine active.

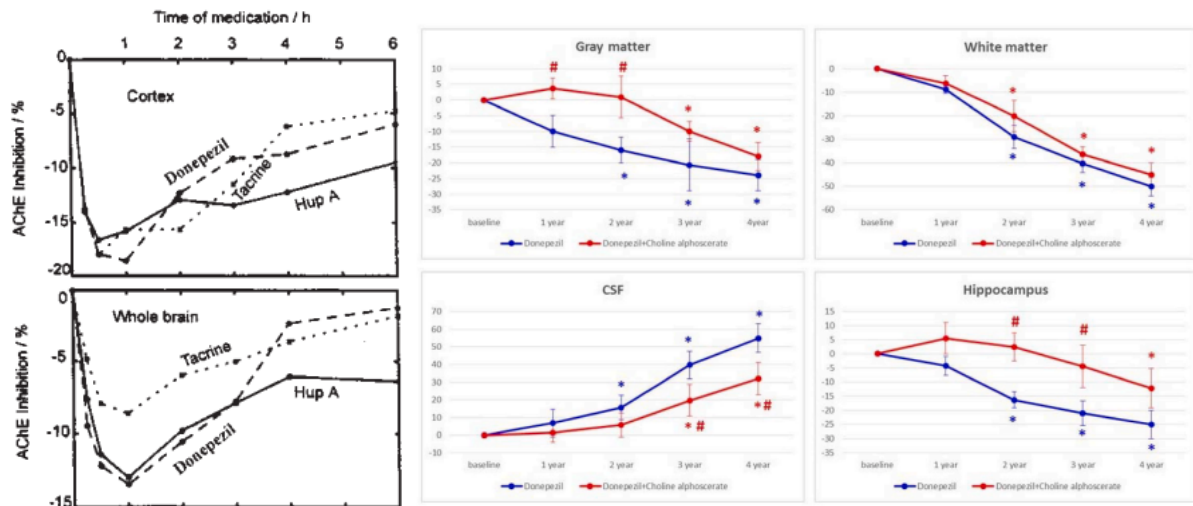
| | | 1/(ATCI-substrat) en L/mmol | | | | |
|---------------------------------------|--------------------|-----------------------------|--------|--------|--------|---------|
| Concentration en huperzine A (nmol/L) | 1/Vo (mn.L/mol) | 5,00 | 10,00 | 20,00 | 30,00 | 40,00 |
| 0 | exp1 | 3,200 | 3,800 | 5,000 | 6,500 | 8,000 |
| | exp2 | 3,368 | 4,000 | 5,263 | 6,842 | 8,421 |
| | exp3 | 3,048 | 3,619 | 4,762 | 6,190 | 7,619 |
| 25,8 | exp1 | 4,600 | 6,000 | 8,400 | 11,400 | 14,300 |
| | exp2 | 4,842 | 6,316 | 8,842 | 12,000 | 15,053 |
| | exp3 | 4,381 | 5,714 | 8,000 | 10,857 | 13,619 |
| 51,6 | exp1 | 6,00 | 8,00 | 12,00 | 16,40 | 20,40 |
| | exp2 | 6,32 | 8,42 | 12,63 | 17,26 | 21,47 |
| | exp3 | 5,71 | 7,62 | 11,43 | 15,62 | 19,43 |
| | | 1/(ATCI-substrat) en L/mmol | | | | |
| Concentration en galantamine (umol/L) | 1/Vo (mn.L/mol) | 0,15 | 0,30 | 0,50 | 1,10 | 2,00 |
| 0 | exp1 | 10,60 | 11,40 | 12,60 | 14,70 | 18,00 |
| | exp2 | 11,16 | 12,00 | 13,26 | 15,47 | 18,95 |
| | exp3 | 10,10 | 10,86 | 12,00 | 14,00 | 17,14 |
| 0,7 | exp1 | 20,00 | 28,000 | 45,000 | 85,000 | 140,000 |
| | exp2 | 21,05 | 29,47 | 47,37 | 89,47 | 147,37 |
| | exp3 | 19,05 | 26,67 | 42,86 | 80,95 | 133,33 |
| 3,5 | exp1 | 40,00 | 120,00 | 202,00 | 400,00 | 700,00 |
| | exp2 | 42,11 | 126,32 | 212,63 | 421,05 | 736,84 |
| | exp3 | 38,10 | 114,29 | 192,38 | 380,95 | 666,67 |
| | | 1/(ATCI-substrat) en L/mmol | | | | |
| Concentration en donopezil (nmol/L) | 1/Vo (mn.Delta(A)) | 4,5 | 9,7 | 19,6 | 49,8 | 99,5 |
| 0 | exp1 | 10,65 | 12,44 | 15,60 | 26,00 | 41,00 |
| | exp2 | 11,21 | 13,09 | 16,42 | 27,37 | 43,16 |
| | exp3 | 10,14 | 11,85 | 14,86 | 24,76 | 39,05 |
| 5 | exp1 | 28,80 | 34,60 | 45,28 | 80,00 | 130,60 |
| | exp2 | 30,32 | 36,42 | 47,66 | 84,21 | 137,47 |
| | exp3 | 27,43 | 32,95 | 43,12 | 76,19 | 124,38 |
| 10 | exp1 | 36,30 | 45,60 | 61,22 | 104,30 | 177,60 |
| | exp2 | 38,21 | 48,00 | 64,44 | 109,79 | 186,95 |
| | exp3 | 34,57 | 43,43 | 58,30 | 99,33 | 169,14 |
| | | 1/(ATCI-substrat) en L/mmol | | | | |
| Concentration en fraction e (umol/L) | 1/Vo (mn.L/mol) | 4,160 | 5,000 | 6,000 | 8,300 | 12,500 |
| 0 | exp1 | 1,81 | 2,33 | 2,55 | 3,48 | 4,97 |
| | exp2 | 1,90 | 2,45 | 2,68 | 3,67 | 5,23 |
| | exp3 | 1,72 | 2,22 | 2,43 | 3,32 | 4,73 |
| 5 | exp1 | 3,19 | 3,70 | 4,04 | 4,90 | 6,52 |
| | exp2 | 3,35 | 3,89 | 4,25 | 5,16 | 6,86 |
| | exp3 | 3,03 | 3,52 | 3,84 | 4,67 | 6,21 |
| 10 | exp1 | 5,86 | 6,19 | 6,70 | 7,50 | 9,06 |
| | exp2 | 6,17 | 6,51 | 7,05 | 7,89 | 9,54 |
| | exp3 | 5,58 | 5,89 | 6,38 | 7,14 | 8,63 |

Question 2 Analyse des effets cliniques

Des analyses d'effet des inhibiteurs réversibles sur le cerveau de rat ont été réalisés. Analyser les résultats obtenus.



(a) Inhibition de l'AChE in vivo



(b) Time course de l'inhibition

(c) effet à long terme sur la régénération cérébrale

FIGURE 1.3 – **Effets des inhibiteurs de l'acétylcholineestérase in vivo.** (a) Comparative effects of HupA, donepezil (E2020), and tacrine (THA) on cholinesterase inhibition in rats. Values are expressed as percent inhibition (vs. saline control) \pm S.D. $n = 4-12$ (b) Time course of ChE inhibition following oral administration of HupA ($1.5 \mu\text{mol/kg}$), donepezil ($16 \mu\text{mol/kg}$), and THA ($120 \mu\text{mol/kg}$) in rats. Values were expressed as percent inhibition vs. saline control. $n = 4-6$. [8] (c) Changes in the percentage of gray and white matter, cerebrospinal fluid (CFS) and hippocampus volumes in the two groups of patients treated with donepezil (10 mg/day) plus placebo or with donepezil + choline alfoscerate (1200 mg/day) over the four years of observation. The data are means of the percentage variation \pm S.E.M. * $p < 0.05$ versus baseline; $p < 0.05$ versus donepezil and placebo.[5]