

ANNÉE 2022

N° 2021-126

**THÈSE**  
**pour le**  
**DIPLÔME D'ÉTAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**par**

**Gaëtan AUFFRET**

-----  
*Présentée et soutenue publiquement le 22 juin 2022*

*Maladie d'Alzheimer et développement de peptidomimétiques  
inhibiteurs de l'agrégation du peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub>.*

**Président :** Dr Catherine ROULLIER, MCU (HDR), Faculté de pharmacie,  
Université de Nantes

**Membres du jury :** Pr Muriel DUFLOS, PU, Faculté de pharmacie, Université de  
Nantes

Dr TONALI Nicolo, MCU, Faculté de pharmacie, Université  
Paris-Saclay

## Table de matières :

REMERCIEMENTS : .....	4
TABLE DES ABREVIATIONS.....	6
TABLES DES FIGURES .....	9
INTRODUCTION.....	12
<b>PARTIE I : LA MALADIE D’ALZHEIMER, UNE PATHOLOGIE COMPLEXE .....</b>	<b>15</b>
1.1    PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MA .....	15
1.1.1 <i>Démences et amyloses (amyloïdosis)</i> .....	15
1.1.1.1    Premières descriptions de la MA.....	15
1.1.1.2    Description et classification des amyloïdoses.....	18
1.1.1.3    Processus de formation de la substance amyloïde.....	20
1.1.1.3.1    Structure tridimensionnelle des protéines.....	20
1.1.1.3.2    De la protéine globulaire à la fibre amyloïde .....	29
1.1.2 <i>Hypothèses étiologiques de la MA .....</i>	33
1.1.2.1    Protéine Tau .....	34
1.1.2.2    Cascade $\beta$ -amyloïde : espèces formées et toxicité neuronale.....	35
1.1.2.3    Autres hypothèses.....	52
1.1.3 <i>Génétique, épigénétique et formes cliniques de la MA.....</i>	54
<b>PARTIE II- SITUATION THERAPEUTIQUE ET ENJEU DE LA RECHERCHE.....</b>	<b>57</b>
2.1    DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES DANS LE MONDE ET EN FRANCE.....	57
2.1.1 <i>Au niveau mondial.....</i>	57
2.1.2 <i>En France .....</i>	57
2.2    SITUATION THERAPEUTIQUE .....	58
2.2.1 <i>Symptomatologie de la MA.....</i>	58
2.2.2 <i>Diagnostic et évaluation de la MA .....</i>	60
2.2.3 <i>Prise en charge .....</i>	63
2.2.3.1    Non médicamenteuse.....	63
2.2.3.2    Médicamenteuse.....	64
2.3    STRATEGIES DE RECHERCHE ET TRAITEMENTS EN ESSAIS CLINIQUES.....	68
2.3.1 <i>Stratégies anti-amyloïdes.....</i>	68
2.3.2 <i>Stratégies non-anti-amyloïdes.....</i>	80

2.4	QUELQUES MODELES D'ETUDES DE LA MA .....	82
<b>PARTIE III : DEVELOPPEMENT DE PEPTIDOMIMETIQUES INHIBITEURS DE L'AGREGATION DU</b>		
<b>PEPTIDE AMYLOÏDE AB<sub>1-42</sub> DANS LA MA .....</b>		<b>87</b>
3.1	APPROCHES D'INTERET EN CHIMIE MEDICINALE .....	87
3.1.1	<i>Les règles des cinq .....</i>	<i>87</i>
3.1.2	<i>Principes de la chimie verte .....</i>	<i>88</i>
3.1.3	<i>Utilisation du fluor .....</i>	<i>90</i>
3.2	DEVELOPPEMENT DE PEPTIDOMIMETIQUES INHIBITEURS DE L'AGREGATION D'AB <sub>1-42</sub> .....	92
3.2.1	<i>Généralités et classification des peptidomimétiques .....</i>	<i>92</i>
3.2.2	<i>Synthèse peptidique .....</i>	<i>100</i>
3.2.3	<i>Méthodes d'évaluation de l'inhibition d'AB<sub>1-42</sub> .....</i>	<i>103</i>
3.3	PEPTIDOMIMETIQUES BASES SUR LA SEQUENCE D'AB <sub>1-42</sub> .....	108
3.3.1	<i>Dérivés de la séquence centrale hydrophobe (CHC) .....</i>	<i>108</i>
3.3.1.1	Peptides conjugués .....	108
3.3.1.2	Peptides à aa modifiés .....	111
3.3.2	<i>Dérivés de la séquence C-terminale .....</i>	<i>115</i>
3.4	PEPTIDOMIMETIQUES NON BASES SUR LA SEQUENCE D'AB <sub>1-42</sub> .....	116
3.4.1	<i>Peptides conjugués .....</i>	<i>117</i>
3.4.2	<i>Peptides à aa modifiés .....</i>	<i>118</i>
3.4.2.1	D-peptides .....	118
3.4.2.2	Peptides cyclisés .....	119
3.4.2.3	N-substitutions .....	120
3.4.2.4	Acides aminés fluorés .....	121
3.4.2.5	Triazolamères .....	122
3.4.2.6	Autres modifications .....	125
3.4.3	<i>Mimes de <math>\beta</math>-hairpin .....</i>	<i>127</i>
3.4.1	<i>Dérivés de IAPP (Islet Amyloid PolyPeptide) .....</i>	<i>130</i>
<b>CONCLUSION .....</b>		<b>133</b>
<b>ANNEXES .....</b>		<b>137</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE : .....</b>		<b>145</b>

## **Remerciements :**

Mes remerciements les plus sincères sont adressés :

Au **Pr Catherine ROULLIER**, Professeure de l'université, Présidente de jury

pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse, de juger ce travail en toute objectivité et sincérité, et pour son encadrement que j'ai pu recevoir durant mes études.

Au **Pr Muriel DUFLOS**, Professeure à l'université de Nantes, Directrice de thèse

pour m'avoir fait l'honneur d'encadrer comme directrice de thèse ce travail, et pour sa patience, lors d'un hiatus de deux ans. Aussi, c'est son enseignement qui m'a poussé à poursuivre une formation de pharmacien chimiste.

Au **Dr Nicolo TONALI**, Pharmacien et Maitre de conférences à l'université Paris-Saclay

pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse comme pharmacien extérieur à l'université, et dont la travail de thèse en chimie thérapeutique m'a inspiré pour ce travail de thèse de pharmacie.

À toutes les personnes que j'ai rencontré durant mon année de master 2 à l'université Paris-Saclay :

À **toute l'équipe pédagogique** du Master 2 chimie thérapeutique, pour avoir prodiguer des enseignements qui m'ont passionné.

Au **Pr Sandrine ONGERI, Dr Jean-Louis SOULLIER, Dr Julia KAFFY** pour avoir encadré mon stage de M2

À **Victor, Faustine, Nicolo, Agostino**, avec qui travailler fut un réel plaisir formateur.

À **Gaela, Christine, Charlotte et Alexander**, pour qui mon amitié perdure et est précieuse à mes yeux.

À toutes les personnes que j'ai rencontré durant les années passées à l'université de Nantes :

À **toute l'équipe pédagogique** de la faculté de pharmacie pour leur professionnalisme, et leur pédagogie qui m'ont permis d'arriver au terme de ce cursus.

À mes maitres et maitresses de stage en laboratoire, **Pr Muriel DUFLOS, Pr Olivier GROVEL, Dr Pierrick NUN**, qui ont accepté de m'encadrer pour découvrir les joies du travail en laboratoire, et pour lequel j'ai pris goût. Je leur suis très reconnaissant de m'avoir fait confiance pour participer à des projets de recherche.

À mes maitres de stage en officine, les **Dr Christine MAURY et Dr Véronique MONNIER**, pour m'avoir encadré et appris les rudiments du métier de pharmacien d'officine. Malgré mon peu d'affinité pour l'exercice officinal, elles ont pris la peine de me faire participer à la vie de l'officine.

À mon fidèle binôme de travaux pratiques, **Mathieu**, que j'ai certainement bien saoulé par mon pessimisme et mon organisation désastreuse. Autant ami que partenaire, rares sont de telles relations dans une vie.

À mes binômes de circonstance, **Clémence et Adeline**, avec qui l'expérience fut brève mais très appréciée.

À l'équipage, **Benoît, Jacquelin, Pierre, Verger, Mathias, Pierre-Alexis, Sansoucy, Damien**, et tous les camarades de promotion. J'étais dur à vivre, et les circonstances nous ont séparés, mais les années que nous avons passés ensemble furent les meilleurs de ma vie.

À **ma famille proche**, qui m'a transmis la vocation de professionnel de santé, ainsi que pour le soutien financier et moral, m'ayant permis d'étudier et sereinement et d'obtenir ce diplôme, qui signifie beaucoup pour moi.

## **Table des abréviations**

$\alpha 7$ AChR :	$\alpha 7$ Acetylcholine Receptor
A $\beta_{1-40}$ :	Peptide amyloïde A $\beta$ de 40 résidus
A $\beta_{1-42}$ :	Peptide amyloïde A $\beta$ de 42 résidus
aa :	acide aminé
AA :	Amylose inflammatoire
ADME :	Absorption ; Distribution ; Métabolisation ; Elimination
AFM-IR :	Atomic Force Microscopy Infra-Rd spectroscopy
Aib :	Acide aminoisobutyrique
AICD :	Amyloid Intra-Cellular Domain
AL :	Amylose immunoglobulinique
AMPA :	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic Acid
APLP :	Amyloid precursor-like Protein
ApoE4 :	Apolipoprotéine E4
APP :	Amyloid Precursor Protein
ARNm :	Acide Ribonucléique messenger
ATP :	Adénosine Triphosphate
BACE-1 :	Beta-site APP Cleaving Enzyme 1
BDNF :	Brain-derived Neurotrophic Factor
BHE :	Barrière hémato-encéphalique
Boc :	<i>Tert</i> -butyloxycarbonyl
BOP :	Benzotriazol-1-yloxy-tris(diméthylamino)-phosphonium hexafluorophosphate
CDK5 :	Cyclin-Dependant Kinase 5
CHC :	Central Hydrophobic Core
Cryo-EM :	Cryo-Microscopie Électronique
CuAAC :	Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition
DC :	Dichroïsme circulaire
DCM :	Dichlorométhane

DIC :	Diisopropylcarbodiimide
DIEA :	N,N-éthyl-diisopropylamine
DMF :	Diméthylformamide
Drp1 :	Dynamin-related protein 1
Fmoc :	Fluorénylméthoxycarbonyl
GSK3 $\beta$ :	Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$
HBTU :	Hexafluorophosphate Benzotriazole Tetramethyl Uronium
HDAC :	Histone Deacetylase transferase
HOBt :	1-hydroxybenzotriazole
IAPP :	Islet Amyloid Precursor Protein
IgG :	Immunoglobuline
Inserm :	Institut national de la santé et de la recherche médicale
iPSCs :	induced Pluripotent Stem Cells
IRM :	Imagerie par résonance magnétique
IRTF :	Spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier
LCR :	Liquide céphalo-rachidien
LTD :	Dépression à Long Terme (Long Term Potentialisation)
LTP :	Potentialisation à Long Terme (Long Term Potentialisation)
MA :	Maladie d'Alzheimer
MAP :	Microtubule Associated Protein
MD :	Molecular dynamics
mGluR5 :	metabotropic Glutamate receptor 5
miRNA :	microRibonucleic Acid
NFT :	Neurofibrillary tangles (enchevêtrements neurofibrillaires)
NHPs :	Non-Human Primates
NMDA :	N-méthyl-D-aspartate

NMP :	N-méthyl-2-pyrrolidone
NPs :	Nanoparticules
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PGP :	P-glycoprotéine
PLGA :	Acide poly(lactique- <i>co</i> -glycolique) (poly(lactic- <i>co</i> -glycolic) acid)
PPAR- $\gamma$ :	Peroxisomal Proliferator Activated Receptor $\gamma$
PrP <sup>c</sup> :	Prion Protein cellular
PS-1 :	Présésiline 1
PS-2 :	Prénésiline 2
QSAR :	Quantitative Structure-Activity Relationships
RAGE :	Receptor for Advanced Glycation Endproduct
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
RO5 :	Rules of 5
ROS :	Reactive Oxygen Species
SNC :	Système Nerveux Central
SP :	Seniles Plaques
STEP :	Striatal-Enriched Tyrosine Phosphatase
Tau :	Tubulin-associated Unit
tBu :	<i>Tert</i> -butyle
TEP-scan :	Tomographie par émission de positons
ThT :	Thioflavine T
TTR :	Transthyréline

## Tables des figures

Figure 1 Alois Alzheimer en 1909.	15
Figure 2 Dessin d'un étudiant d'Alzheimer, Gaetano Perusini, représentant des neurones à différents stades d'altération neurofibrillaires, dont la sévérité croît de gauche vers la droite. L'image la plus à droite montre une cellule gliale empiétant sur les restes fibrillaires d'un neurone. <sup>3</sup>	16
Figure 3 (A) Coupe histologique du cortex cérébral d'un patient atteint de la MA, montrant les plaques amyloïdes et les enchevêtrements neurofibrillaires caractéristiques. (B) Distribution des modifications pathologiques (enchevêtrements neurofibrillaires, plaques amyloïdes, perte de neurones et réduction de la substance grise) lors de la MA. La densité des points est proportionnelle à la gravité des signes pathologiques. <sup>4</sup>	17
Figure 4 La liaison peptidique. <sup>11</sup>	21
Figure 5 Diagramme de Ramachandran. <sup>11,13</sup>	23
Figure 6 Schématisation de la structure d'une hélice $\alpha$ .	24
Figure 7 Exemple de feuillet $\beta$ , montrant des brins $\beta$ disposés en antiparallèle et en parallèle. En bas, exemple de torsion de $\beta$ -hairpin (feuillet $\beta$ antiparallèles avec un coude).	25
Figure 8 Types I et II de coudes $\beta$ . En jaune, liaison hydrogène ; en vert, chaîne radicale.	26
Figure 9 Représentation schématique et exemples de $\beta$ -hairpins 4:4 et 5:3. <sup>20</sup>	28
Figure 10 Description des différents parcours de l'amyloïdogénèse en fonction des catégories de peptides amyloïdes. <sup>22</sup>	31
Figure 11 Exemples de séquences de peptides A $\beta$ organisée en protofilaments, déterminées par diffraction aux rayons X. En bas à gauche sont représentés des protofilaments d'A $\beta$ en feuillets $\beta$ parallèles ( $\beta$ -sheet) tandis qu'en bas à droite sont représentés des protofilaments d'A $\beta$ en feuillets $\beta$ antiparallèles (cross- $\beta$ -sheet). Les molécules d'eau sont représentées en bleu clair. <sup>9</sup>	32
Figure 12 Processus d'agrégation de la protéine Tau. <sup>32</sup>	35
Figure 13 (A) Séquence peptidique d'A $\beta$ et les mutations familiales les plus retrouvées selon l'origine géographique (B) Domaines d'A $\beta$ . <sup>39,40</sup>	37
Figure 14 Voie non-amyloïdogénique et voie amyloïdogénique de la dégradation du peptide APP. <sup>39</sup>	38
Figure 15 Représentation schématique de l'agrégation d'A $\beta$ . (A) production d'A $\beta$ , APP est clivé en monomères d'A $\beta$ désordonnés, qui se replient partiellement sur eux-mêmes (B) Phase de nucléation, les monomères d'A $\beta$ s'agrègent entre eux pour former des oligomères qui adoptent une structure plus organisée (C) Phase d'élongation, les oligomères forment des protofibrilles avant de finir par former des fibrilles plus longues. <sup>47</sup>	39
Figure 16 Modèle schématisé de phase d'élongation d'A $\beta_{1-42}$ . <sup>50</sup>	40
Figure 17 Mécanisme d'oligomérisation et formation éventuelle de fibrilles pour A $\beta_{1-42}$ et A $\beta_{1-40}$ . <sup>57</sup>	42
Figure 18 Exemples de modèles d'oligomères d'A $\beta_{1-42}$ . <sup>61,62</sup>	44
Figure 19 Divers modèles déterminés par RMN en phase solide ou microscopie électronique de feuillets $\beta$ au sein de fibrilles d'A $\beta_{1-42}$ . <sup>53-55,64</sup>	45

Figure 20 Schématisation des possibles mécanismes de toxicité des oligomères d'Aβ <sub>1-42</sub> . <sup>47</sup> (A) Interactions oligomère-membrane et oligomère-récepteur synaptique. (B) Internalisation d'oligomères après fixation aux récepteurs et dommages occasionnés sur la signalisation intracellulaire et les organites. (C) Transmission intercellulaire des oligomères.	48
Figure 21 Progression séquentielle spatio-temporelle dans le cerveau humain. (A) Dépôts d'Aβ (SP) et (B) Dégénérescences neurofibrillaires (NFT) (C) SP et NFT en fonction des stades cliniques de la MA. <sup>77-79</sup>	51
Figure 22 Quelques données épidémiologiques sur la MA en France en 2018. <sup>100</sup>	58
Figure 23 Spécialités sur le marché indiquées dans le traitement symptomatique de la MA.	65
Figure 24 Représentation schématique des diverses stratégies thérapeutiques dans la MA. <sup>78</sup>	68
Figure 25 Exemples d'inhibiteurs de BACE en phase clinique.	70
Figure 26 Exemples d'inhibiteurs de γ-sécrétase en phase clinique.	70
Figure 27 Exemples de tétracyclines, anthracyclines antiamyloïdes. <sup>121</sup>	72
Figure 28 Exemples de polyphénols antiamyloïdes. <sup>121</sup>	73
Figure 29 Possibles voies d'inhibition de l'amyloïdogénèse par utilisation de « disrupteurs » de feuillet β ou « β-sheet breakers ». <sup>78</sup>	75
Figure 30 Exemples de β-sheet breakers en essai clinique.	75
Figure 31 Structures des substances actives dans l'association ALZT-OP1.	76
Figure 32 Exemples d'inhibiteurs de récepteurs RAGE et canaux calcium en phase clinique.	77
Figure 33 Exemples de molécules ciblant Tau en phase clinique.	79
Figure 34 Possibles approches ciblant l'ApoE4. <sup>90</sup>	80
Figure 35 Exemples de traitements non-anti-amyloïdes en phase clinique.	82
Figure 36 Schéma illustrant les douze principes directeurs de la chimie verte (© Parlons sciences). <sup>165</sup>	89
Figure 37 Exemples de principes actifs fluorés connus.	90
Figure 38 Propriétés du fluor et de la liaison C-F vis-à-vis d'autres éléments couramment rencontrés. <sup>168</sup>	91
Figure 39 Exemples de peptides analogues précurseurs β-sheet breakers. <sup>173</sup>	93
Figure 40 Classification des peptidomimétiques. <sup>175</sup>	95
Figure 41 Exemples de structures de peptidomimétiques. <sup>178,179</sup>	96
Figure 42 Mimes de (A) Coudes, boucles, et structures irrégulières; (B) feuillets β; (C) hélices α. <sup>175</sup>	98
Figure 43 Classification des peptides et peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation d'Aβ proposé par Goyal et ses co-auteurs. <sup>40</sup>	99
Figure 44 Principe de la synthèse peptidique sur support solide. <sup>182</sup>	101
Figure 45 Résines, groupements protecteurs et agents de couplage répandus en synthèse peptidique.	102
Figure 46 (A) Principe de la spectroscopie d'absorption (B) Spectre expérimental en dérivé seconde d'une gliadine à 33 résidus (dont Tyr et Phe) s'agréant en oligomères solubles selon la concentration. Lors de l'agrégation les Phe sont dans un environnement plus hydrophobe, ce qui se traduit par un décalage de l'absorbance vers le rouge. <sup>185</sup>	104
Figure 47 (A) Principe de la spectroscopie par fluorescence à la ThT; <sup>185</sup> (B) Suivi de l'agrégation en fibrille de deux échantillons d'Aβ <sub>1-40</sub> (25μM) à pH 7,4. <sup>184</sup>	105

Figure 48 (A) Principe du dichroïsme circulaire comme outil d'étude des structures secondaires et tertiaire des protéines (B) Spectre expérimental de l'oligomérisation d'Aβ au cours du temps en conditions physiologiques (noir t=0h, rouge t=0,5h, violet t=1h, bleu t=3h, vert t=7h). <sup>185</sup>	106
Figure 49 Électrophorégrammes d'échantillons d'Aβ <sub>1-42</sub> (A) Échantillon de monomères d'Aβ <sub>1-42</sub> (B) Échantillon de fibrilles d'Aβ <sub>1-42</sub> . <sup>186</sup>	107
Figure 50 Peptidomimétiques conjugués dérivés de la CHC (en vert, les groupements conjugués). <sup>40</sup>	109
Figure 51 Principe général de la native chemical ligation. <sup>190</sup>	110
Figure 52 Peptidomimétiques à aa modifiés dérivés de la CHC (en rouge, les structures d'aa modifiées). <sup>40</sup>	112
Figure 53 Synthèse sur support puis en solution du peptidomimétique 10. <sup>195</sup>	114
Figure 54 Peptidomimétiques dérivés de la séquence C-terminale (en rouge, les structures d'aa modifiées). <sup>40</sup>	116
Figure 55 Peptidomimétiques conjugués non dérivé d'Aβ <sub>1-42</sub> .	117
Figure 56 D-peptides non dérivés d'Aβ. <sup>40</sup>	118
Figure 57 Peptidomimétiques cycliques non dérivés d'Aβ. <sup>40,198</sup>	120
Figure 58 Peptides N-substitués non dérivés d'Aβ. <sup>40</sup>	121
Figure 59 Peptidomimétique 30 et sa version fluorée 31. <sup>200</sup>	122
Figure 60 Peptidotriazolamères, foldamères inhibiteurs d'Aβ. <sup>201</sup>	122
Figure 61 Réaction de CuAAC. <sup>201</sup>	123
Figure 62 Couplage sur support solide pour former les triazolamères 33 et 34. <sup>201</sup>	124
Figure 63 Peptidomimétiques non dérivés d'Aβ <sub>1-42</sub> à divers degrés de modifications. <sup>40</sup>	125
Figure 64 Synthèse de AEDabDab. <sup>202</sup>	126
Figure 65 Mimes de β-hairpin. <sup>40,201,204</sup>	128
Figure 66 Peptidomimétiques dérivés des IAPP, et non d'Aβ. <sup>40,210,211</sup>	131

## **Introduction**

Nos sociétés occidentales, développées avec un certain niveau de vie, ont vu un phénomène apparaître progressivement depuis les années 50, à savoir une augmentation rapide de l'espérance de vie surtout chez les plus de 60 ans.<sup>1</sup> Il en découle que des maladies liées à l'âge prennent plus d'importance en santé publique et c'est en particulier le cas des démences séniles. La première maladie responsable de ces démences est la maladie d'Alzheimer (MA), à laquelle de plus en plus de personnes et de familles sont confrontées. Dans la MA, il n'existe aucun traitement étiologique et le besoin d'en développer se fait ressentir. Des voies de recherche s'axent autour du peptide  $A\beta_{1-42}$ , très présent dans les plaques séniles que l'on observe sur les coupes de cerveau de patients décédées. Ainsi, de nombreuses molécules ont été développées afin d'empêcher ce peptide de s'agréger et donc de former des espèces toxiques pour les neurones.

Le rôle de la chimie de synthèse dans le développement de nouvelles thérapeutiques semble se faire de plus en plus discret notamment avec l'expansion des biotechnologies. Or, c'est justement dans un contexte de maladies émergentes (épidémies virales comme la COVID-19, ou encore les bactéries multirésistantes) ou d'augmentation de maladies auparavant mal connues et dont l'incidence augmente (maladies neurodégénératives), qu'il est important d'étoffer l'arsenal thérapeutique par tous les champs de la recherche scientifique et biomédicale. Les peptidomimétiques sont une catégorie de molécules intéressantes car elles permettent de faire rentrer des considérations pharmacocinétiques (ADME) en amont du développement de nouvelles structures chimiques. En effet, leur similarité de structure avec les peptides rend les prévisions sur leurs caractéristiques pharmacocinétiques plus précises. C'est une évolution qui permet d'éviter le refoulement de nombreux candidats médicaments à des étapes ultérieures du développement de médicaments, permettant potentiellement de perdre moins de temps sur les phases précliniques et donc de diminuer les coûts financiers du développement de nouveaux médicaments.

Je développe cette thèse en trois parties. Une première partie portera sur la MA, ses causes et ses mécanismes. Une deuxième partie sera axée sur l'état sanitaire dans le monde et en France, ainsi que sur les traitements disponibles et ceux en voie de développement. Et

enfin, une dernière partie orientée sur un exemple de famille chimique, les peptidomimétiques.

La première partie est dédiée à une description de la MA au travers de thèmes fondamentaux. La pathologie est connue et étudiée depuis plus de cent ans, et pourtant, il existe encore des incertitudes et approximations sur les mécanismes qui provoquent l'apparition des troubles cognitifs. De la description biochimique des protéines amyloïdogéniques jusqu'à la toxicité neuronale engendrée par les produits d'agrégation, de nombreuses disciplines interviennent pour expliquer le fonctionnement de la MA.

Après une description des bases de la biochimie et de la physiopathologie de la MA, il me semblait important d'aborder dans une partie indépendante, les aspects médicaux (diagnostic, suivi, traitements) pour mieux cerner l'état de la médecine actuel dans le traitement et la prévention de cette maladie. En effet, celle-ci est orpheline de traitement étiologique à l'heure actuelle et l'arsenal médicamenteux est plus que limité. Il n'y a que quatre substances commercialisées, toutes déremboursées pour manque d'efficacité. En contrepartie, nous verrons que l'état de la recherche est prolifique en études de tous genres, mais qu'elles échouent à fournir des médicaments sur le marché, depuis environ 30 ans.

Dans la dernière partie, j'aborderai un aspect particulier de la recherche en chimie médicinale qui est celle du développement d'une famille de nouvelles substances inhibitrices de l'agrégation du peptide  $A\beta_{1-42}$ . En effet, c'est l'un des axes de recherches les plus étudiés ces dernières années, malgré leurs résultats assez peu probants. Je présente ici des aspects importants à prendre en compte en chimie médicinale, tel que la synthèse peptidique ou encore la chimie du fluor, en plus des méthodes d'évaluations de l'efficacité des composés synthétisés. En 2017, Goyal et ses co-auteurs présentaient une revue des peptides et peptidomimétiques développés depuis la fin des années 90. J'ai choisi de me baser sur leur classification et de reprendre les composés qu'ils y présentent tout en apportant un regard différent. En revanche, ne seront pas abordés les peptides avec des acides aminés naturels et les peptidomimétiques testés uniquement sur  $A\beta_{1-40}$ . Cette dernière partie permettra d'estimer un peu plus précisément l'intérêt de ce type de recherche.

J'essaie dans cette thèse de décrire de nombreux aspects du sujet en faisant intervenir divers domaines (biochimie, chimie, santé publique, ...) et j'espère pouvoir montrer pourquoi un tel sujet mérite d'être étudié.

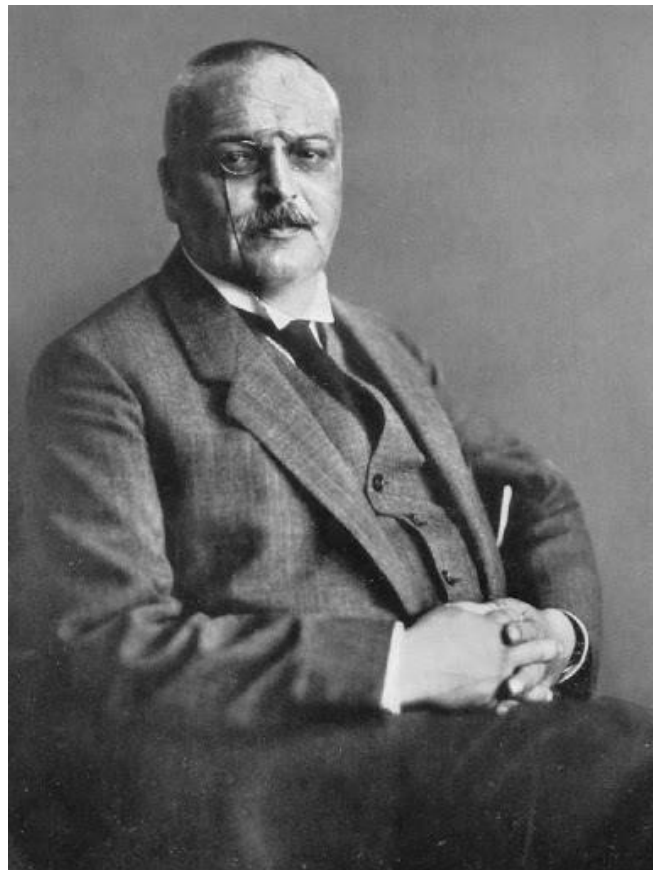
# **Partie I : La maladie d'Alzheimer, une pathologie complexe**

## *1.1 Physiopathologie de la MA*

### *1.1.1 Démences et amyloses (amyloïdosis)*

#### 1.1.1.1 Premières descriptions de la MA

**Alois Alzheimer**, psychiatre clinicien et neuroanatomiste allemand (1864-1915) a décrit pour la première fois un « **processus morbide sévère et étrange du cortex cérébral** » en 1906, lors du 37<sup>ème</sup> congrès des psychiatres allemands du sud-ouest à Tübingen.<sup>2</sup>



**Figure 1** Alois Alzheimer en 1909.

Le concept de **démence sénile** datait déjà de l'époque de l'antiquité grecque, il y a 2500 ans. Avec le temps, une notion plutôt vague de déclin mental lié à l'âge est devenue une catégorie de pathologie distincte et décrite par des démarches expérimentales détaillées, en

particulier par des **descriptions histologiques**.<sup>2,3</sup> Aujourd'hui, les démences sont décrites comme une **défaillance de la mémoire récente et d'autres fonctions cognitives**, passant inaperçue au début mais progressant de façon régulière. La maladie d'Alzheimer fut décrite au travers d'observations de coupes histologiques dont la première observation menée par Alois Alzheimer provenait de coupes de cerveau d'une femme âgée de 50 ans atteinte de démences et décédée en 1906. Il observa des altérations histologiques qui seront plus tard décrites comme des plaques séniles et des enchevêtrements neurofibrillaires. Si ces observations ne firent que peu de bruit au début du XIX<sup>ème</sup> siècle, elles finirent par prendre de l'importance et aujourd'hui, la MA est une maladie considérée comme une problématique de santé importante, au même titre que la maladie de Parkinson.

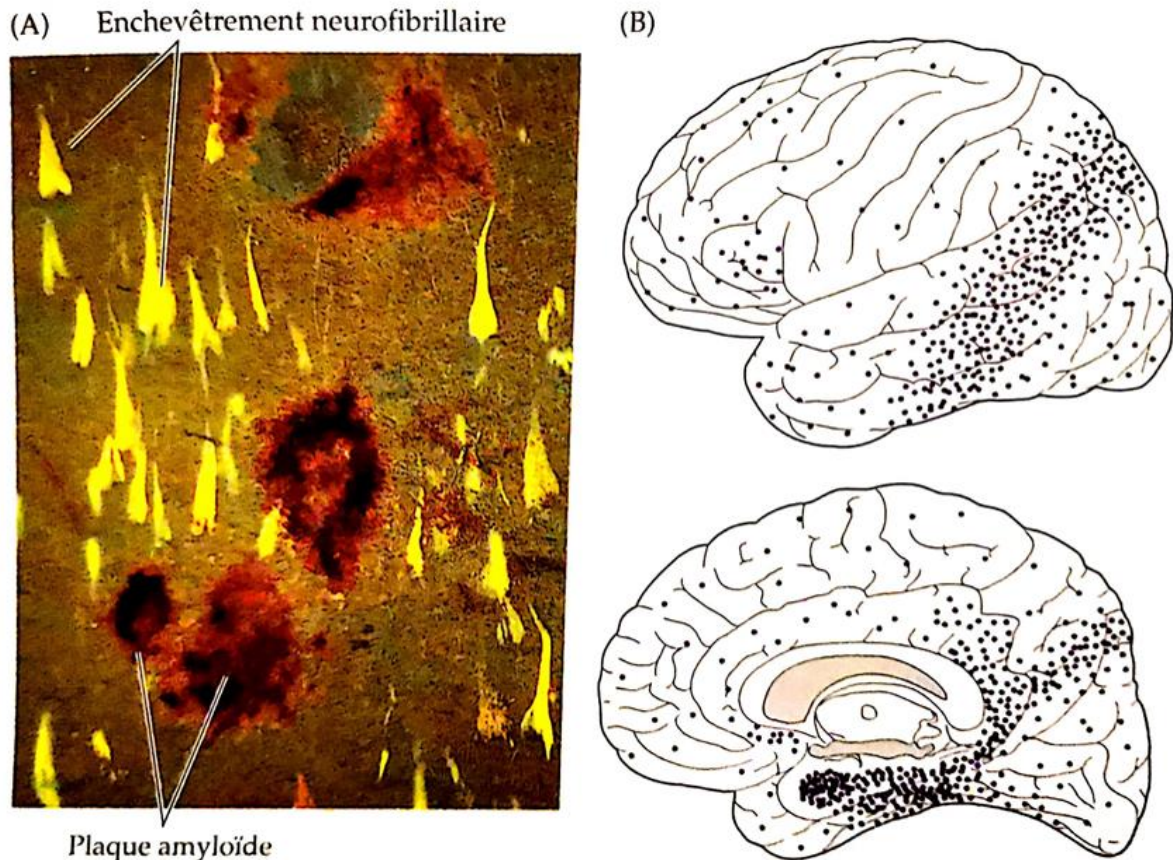


**Figure 2** Dessin d'un étudiant d'Alzheimer, Gaetano Perusini, représentant des neurones à différents stades d'altération neurofibrillaires, dont la sévérité croît de gauche vers la droite. L'image la plus à droite montre une cellule gliale empiétant sur les restes fibrillaires d'un neurone.<sup>3</sup>

Les particularités histopathologiques de la MA sont au nombre de trois :<sup>4,5</sup>

- Un amas de filaments du cytosquelette à l'intérieur du neurone appelés **enchevêtrements neurofibrillaires (NFT)**. Ils sont principalement constitués d'une protéine hautement polymérisée, la protéine Tau.

- Des dépôts extracellulaires d'une protéine anormale de la matrice (le peptide amyloïde issu du clivage de l'APP), qui forment des **plaques séniles (SP)**.
- Une perte diffuse des neurones.



**Figure 3** (A) Coupe histologique du cortex cérébral d'un patient atteint de la MA, montrant les plaques amyloïdes et les enchevêtrements neurofibrillaires caractéristiques. (B) Distribution des modifications pathologiques (enchevêtrements neurofibrillaires, plaques amyloïdes, perte de neurones et réduction de la substance grise) lors de la MA. La densité des points est proportionnelle à la gravité des signes pathologiques.<sup>4</sup>

Ces particularités histologiques se retrouvent principalement dans le **néocortex**, dans les **structures limbiques** (notamment l'hippocampe, l'amygdale et les aires corticales associées comme le cortex entorhinal) ainsi que dans certains noyaux du tronc cérébral et dans les noyaux du télencéphale basal (à la base des hémisphères cérébraux) (figure 3).

### 1.1.1.2 Description et classification des amyloïdoses

La maladie d'Alzheimer, fait partie des **amyloses**, aux côtés d'autres pathologies très connues, comme la maladie de Parkinson, le diabète de type II, la chorée de Huntington, la maladie de Charcot (ou sclérose latérale amyotrophique) et les maladies à prions. Les amyloses sont décrites comme une accumulation extracellulaire de **protéines fibrillaires anormales**.

Il existe autour de 25 protéines qui entrent dans cette catégorie et leur agrégation en fibrilles entraîne la formation de dépôts amyloïdes, autrement appelés **substance amyloïde**. Ces protéines sont dites amyloïdogéniques. Ces dépôts peuvent être présents de façon systémique dans un grand nombre d'organes ou de façon localisée dans un organe isolé, et les organes touchés vont dépendre du type d'amylose. La substance amyloïde est caractérisée par ses affinités avec certaines teintures (comme le rouge congo) et par la structure des protéines qui la composent en fibrilles rigides de 10 à 15 nm de diamètre. De plus, elle est composée à 90~95% de protéines fibrillaires, et à 5~10% de glycoprotéines. La substance amyloïde possède une affinité pour les teintures comme le rouge Congo (dépôts rouges dans la figure 3 (A)), et cette propriété a permis de montrer la présence de cette substance dans le **compartiment extra-cellulaire** des tissus sur les coupes histologiques (figure 3).<sup>6-9</sup>

Les protéines **amyloïdogéniques** sont issues de protéines **normales** de l'organisme et c'est leur nature biochimique qui va déterminer le nom de l'amylose. On peut citer comme exemples l'amylose type AL (ou amylose immunoglobulinique) qui correspond aux chaînes légères d'immunoglobulines, ou encore l'amylose type AA (ou amylose inflammatoire) qui correspond à une protéine sérique produite dans la phase aiguë de l'inflammation, produite en excès dans certaines affections inflammatoires chroniques.

La maladie d'Alzheimer est considérée comme une amylose localisée dans le **système nerveux central**. Le peptide impliqué pour la formation de la substance amyloïde contenue dans les plaques séniles est le **peptide  $\beta$ -amyloïde** qui lui-même provient de l'**APP** (*amyloid precursor protein*), dont le gène qui l'exprime est situé sur le **chromosome 21**. On pourrait d'ailleurs incriminer le même type de dépôt dans les cas de trisomie 21 (Syndrome de Down).<sup>6</sup> Aussi, on retrouve des **protéines Tau hyperphosphorylées** agrégées en NFTs, ce

qui indiquerait que la MA n'est pas spécifiquement une amyloïdose, mais aussi une **tauopathie**, puisque les processus physiopathologiques font intervenir ces deux protéines (cf partie 1.1.2).<sup>10</sup>

**Tableau 1 : Différents types d'amylose.<sup>6</sup>**

<b>Localisation</b>	<b>Association clinique</b>	<b>Protéine(s) fibrillaire(s)</b>
Amylose systémique	Myélome, lymphomes B	Domaine variable de la chaîne légère des immunoglobulines (AL)
	Inflammation chronique	Protéine myéloïde sérique (AA)
	Fièvre méditerranéenne familiale	Protéine myéloïde sérique (AA)
	Neuropathie familiale	Transthyrétine (pré-albumine)
	Associée à la dialyse	β-2 microglobuline
Amylose localisée	Amylose cardiaque sénile	Transthyrétine (pré-albumine)
	Carcinome médullaire de la thyroïde, insulinome	Peptide lié au gène de la calcitonine
	Diabète de type II	Amyline (IAPP)
	<u>Maladie d'Alzheimer,</u> syndrome de Down	<u>APP ; Tau</u>
	Angiopathie cérébrale	APP

### 1.1.1.3 Processus de formation de la substance amyloïde

Pour bien comprendre la formation de la substance amyloïde, il est important de décrire les processus impliqués qui ont été identifiés pour déterminer, *in fine*, les stratégies de recherches, détaillées plus tard dans cette thèse. Une fois les protéines amyloïdogéniques identifiées, il faut connaître leurs structures et leur origine en détail. Ainsi, cela permet d'élucider les processus d'agrégation et de formation des fibrilles amyloïdes.

Mais tout d'abord, il convient de définir ce qu'est une protéine et quelles structures seront impliquées dans les amyloïdoses, et en particulier dans la MA.

#### 1.1.1.3.1 Structure tridimensionnelle des protéines

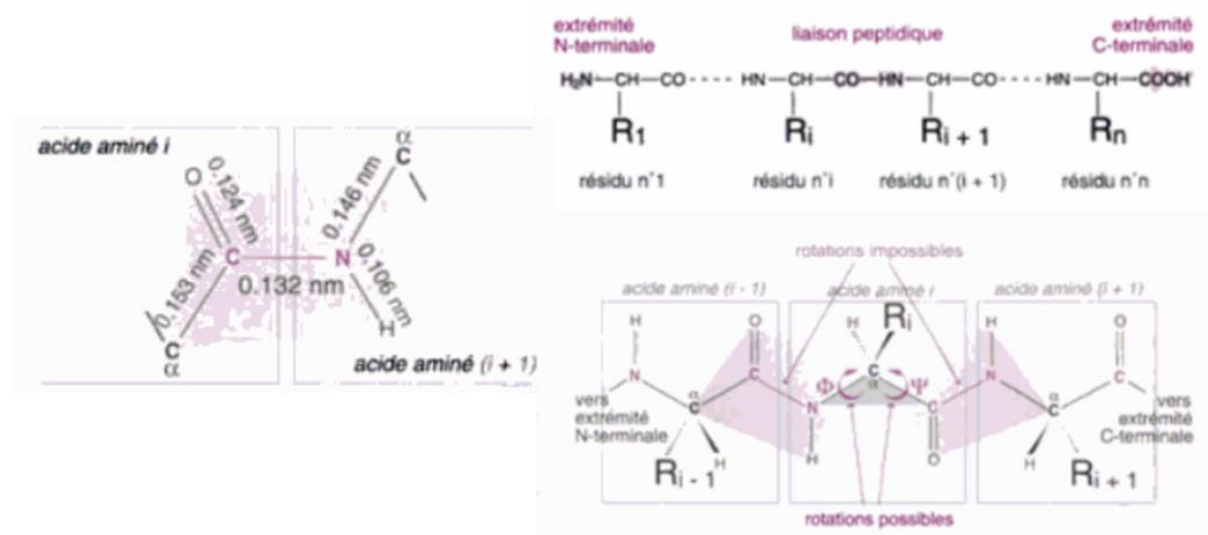
Les protéines sont un type de **macromolécule biologique** principalement constitutive des organismes vivants, occupant des rôles multiples dans leur structure et leur fonctionnement (en tant qu'hormones, enzymes, neurotransmetteurs, protéines de transport, anticorps).<sup>11</sup> On peut déjà distinguer les protéines **globulaires** des protéines **fibrillaires**, même s'il existe aussi des protéines mixtes, possédant une partie fibrillaire et une partie globulaire. Les protéines globulaires ont une forme **sphéroïde**, et sont solubles dans l'eau, tandis que les protéines fibrillaires sont **filiformes** et hydrophobes. Là où les protéines fibrillaires occupent un **rôle structural ou protecteur** (kératine, collagène par exemple), les protéines globulaires occupent des **fonctions plus larges** (immunoglobulines, enzymes ou encore neurotransmetteurs).

La structure d'une protéine se décrit au travers de 4 aspects, les **structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire**. À noter que seules protéines globulaires possèdent une structure tertiaire et quaternaire. De plus, les protéines ne sont pas des structures figées et leurs structures se voient modifiées, comme lors de la fixation d'un ligand (théorie de l'ajustement induit).<sup>12</sup>

➤ La structure primaire :

Elle fait état du nombre, de la **nature et de la position des acides aminés** (aa) reliés entre eux par une liaison peptidique, ou fonction amide, au sein d'une chaîne peptidique plus ou moins longue. Il existe 21 aa (annexe 1) que l'on retrouve chez l'Homme, tous de conformation L. Le sens de lecture de la chaîne d'acides aminés se fait à partir de l'aa qui possède sa fonction amine libre (celle rattachée au  $C_\alpha$ ), constituant l'extrémité N-terminale, vers l'aa avec sa fonction carboxylique libre, constituant l'extrémité C-terminal (figure 4).

Un peptide composé de moins d'une dizaine d'aa est qualifié d'oligopeptide par opposition aux polypeptides, possédant une chaîne plus longue. Les oligopeptides proviennent plutôt de réactions enzymatiques, alors que les polypeptides, proviennent de la traduction d'ARNm. D'ailleurs, il est important de noter que la différence entre peptide et protéine tient au fait que le terme de protéine s'applique dès lors que la chaîne d'aa est repliée correctement (structure tertiaire) voir même après des modifications post-traductionnelles (structure quaternaires).



**Figure 4** La liaison peptidique.<sup>11</sup>

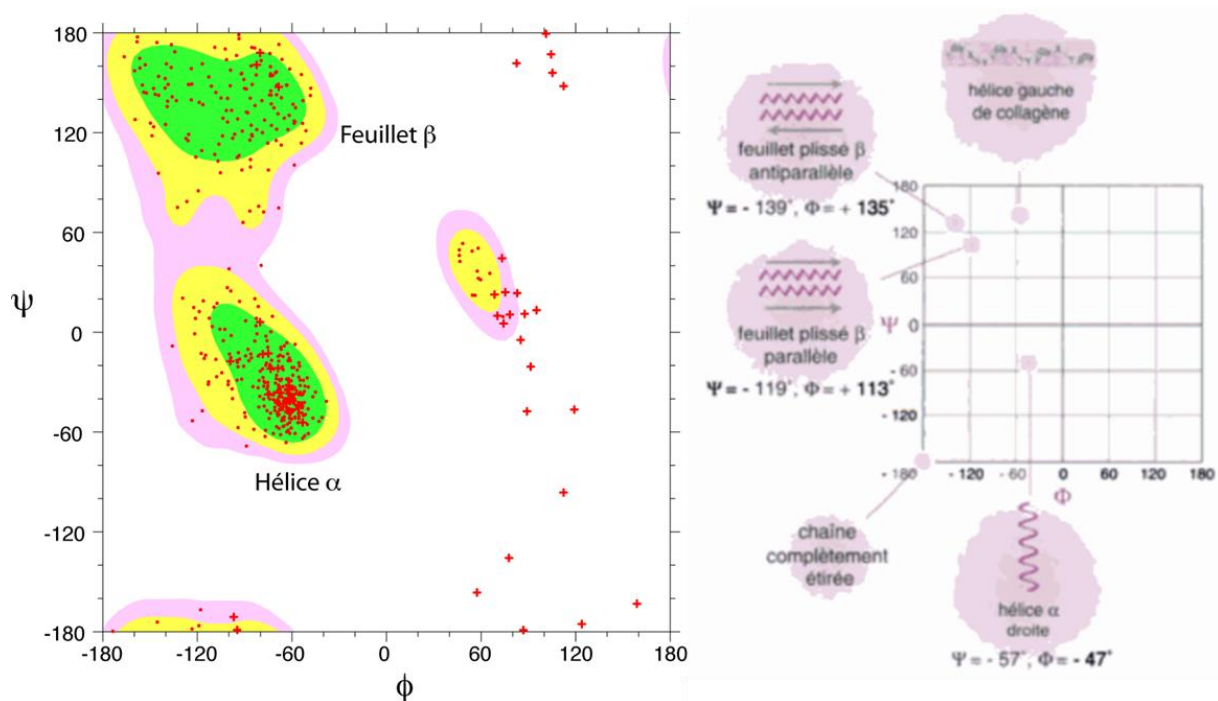
La liaison peptidique s'établit entre la fonction carboxylique d'un premier aa et la fonction amine primaire d'un deuxième aa, afin de former une fonction amide et s'accompagne de l'élimination d'une molécule d'eau. Un acide aminé engagé dans deux liaisons peptiques n'est plus considéré comme un aa mais comme un résidu (figure 4). Grâce

à la résonnance des électrons  $\pi$  qui se délocalise entre la fonction carbonyle C=O et la liaison C-N, la liaison peptidique est à la fois stable, plane et rigide. En revanche, il existe une libre rotation possible entre le C $\alpha$  d'un aa et le C du carbonyle de ce même aa (figure 4). Les deux angles que forment les liaisons N-C $\alpha$  et C $\alpha$ -C sont respectivement symbolisés par les lettres  $\Phi$  et  $\Psi$ . Ces angles se mesurent par rapport au plan de référence N, C $\alpha$  et C du carbonyle, et peuvent prendre une valeur absolue allant de 0° à 180°. Une rotation de la liaison dans le sens horaire est indiquée par un angle de signe négatif, tandis qu'une rotation anti-horaire est indiquée par un signe positif. Toutes les valeurs absolues entre 0° et 180° ne sont pas permises pour des raisons de gêne stérique et celles qui le sont déterminent les structures secondaires des protéines (figure 5).

➤ La structure secondaire :

La structure secondaire est liée à **l'agencement dans l'espace** d'un ensemble de résidus entre eux au sein de la chaîne peptidique dans le cas de protéines globulaires, ou appartenant à des chaînes différentes dans les protéines fibrillaires. Elles sont stabilisées par des liaisons de faible énergie, ici des liaisons hydrogène, entre les C=O et les N-H des groupes amides (liaison peptidique).

Les protéines globulaires sont classées en fonction du type de structures secondaires qu'elles possèdent. Il existe une corrélation entre les angles  $\Phi$  et  $\Psi$ , et le type de structure secondaire, comme montré dans le diagramme de Ramachandran (figure 5).<sup>13</sup> Le rassemblement de structures autour de certaines valeurs d'angles  $\Phi$  et  $\Psi$  montrent que les liaisons N-C $\alpha$  et C $\alpha$ -C se tordent de sorte à former des entités thermodynamiquement stables. Les deux types de structures les plus stables sont les **hélices  $\alpha$**  et les **feuillets  $\beta$** , présentées par Pauling et Corey dans les années 50.<sup>14,15</sup> C'est d'ailleurs autour de ces types de structures secondaires que l'on peut classer les protéines globulaires selon qu'elles possèdent uniquement des hélices  $\alpha$ , des feuillets  $\beta$  ou les deux en différents lieux de la chaîne peptidique.

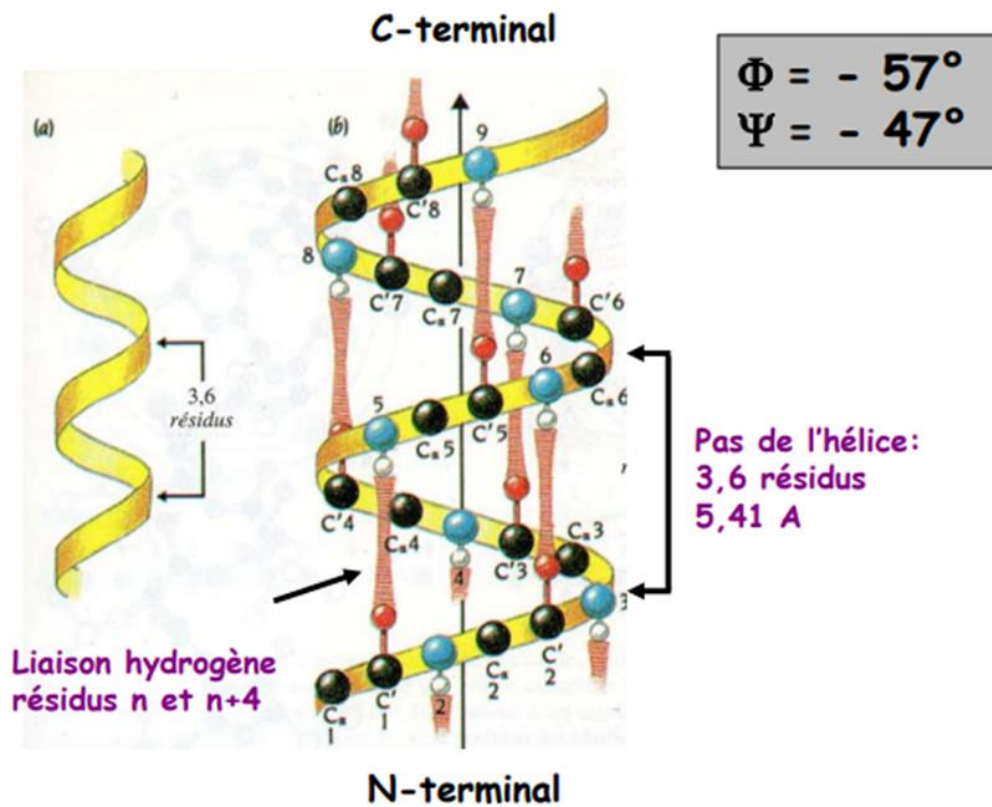


**Figure 5** Diagramme de Ramachandran.<sup>11,13</sup>

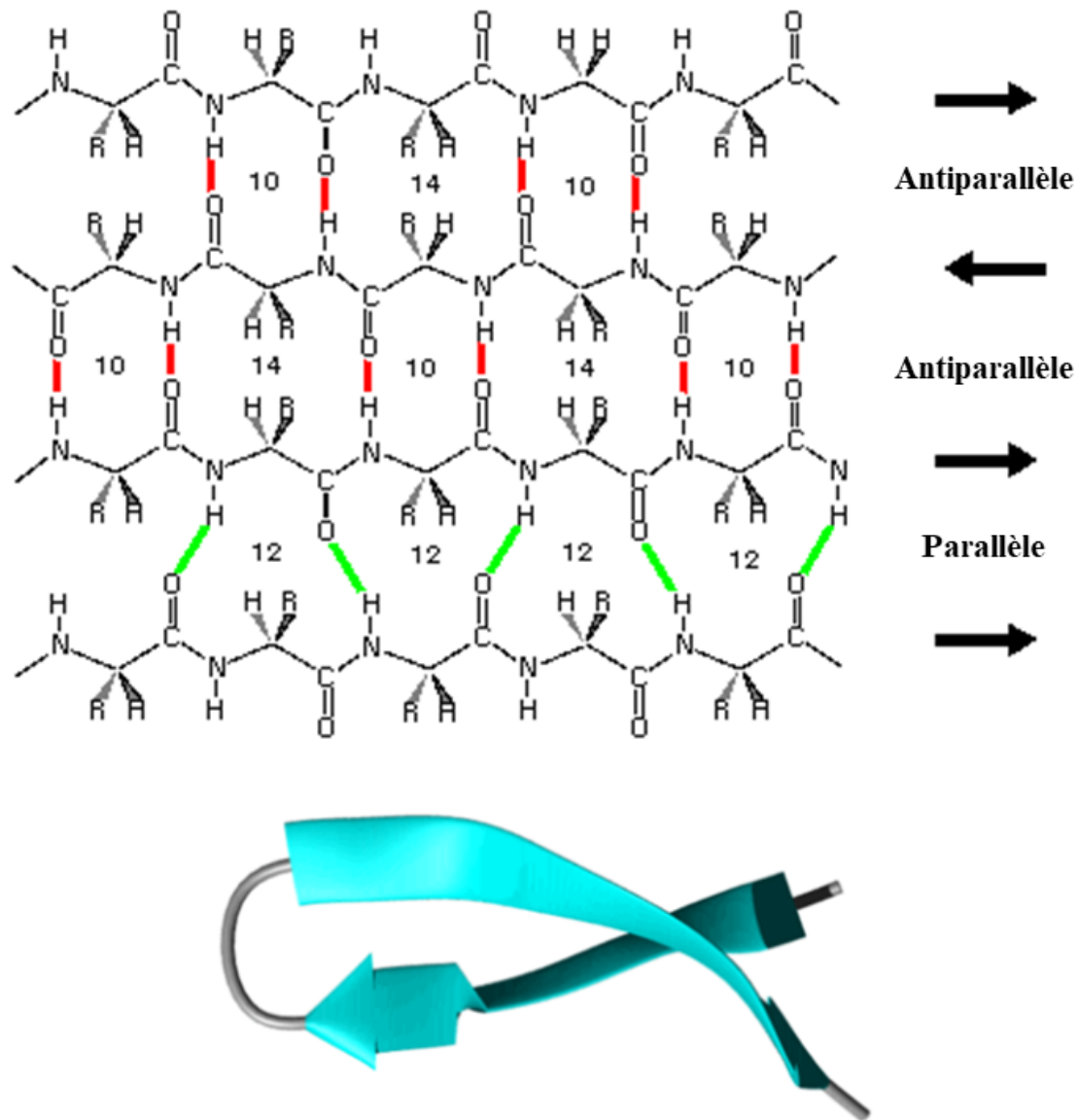
Détaillons un peu plus les structures secondaires d'intérêt :

- Hélice  $\alpha$  : La chaîne polypeptidique s'enroule autour d'un axe selon une hélice avec un pas de vis droit, les chaînes latérales en dehors de l'hélice (figure 6). Il existe des hélices avec un pas gauche, mais elles sont beaucoup moins fréquentes car les aa étant de conformation L chez l'Homme, les chaînes latérales provoquent une gêne stérique plus importante. Une hélice  $\alpha$  possède un pas de vis de 0,56 nm, un incrément de 0,15 nm par résidu, avec 3,6 résidus par tour et environ 35 résidus par hélice. Les angles  $\Phi$  et  $\Psi$  ont des valeurs négatives autour de  $-50^\circ$  pour  $\Phi$  et autour de  $-65^\circ$  pour  $\Psi$ . Les liaisons hydrogènes qui vont stabiliser l'hélice se forment entre le N-H donneur d'hydrogène d'un aa  $n$  avec le carbonyle accepteur d'hydrogène, de l'aa  $n+4$ . Dans une hélice, tous les C=O et N-H des liaisons peptidiques sont liés par liaison hydrogène. Ainsi, toutes les liaisons peptidiques sont polaires et toutes les liaisons hydrogène pointent dans la même direction, faisant de l'hélice  $\alpha$  un dipôle avec une extrémité N-ter de charge positive et une extrémité C-ter de charge négative. Tous les aa ne se retrouvent pas dans les hélices aa car certains déstabilisent fortement le pas de l'hélice, comme c'est le cas de la proline, puisque la rotation torsion N-C $\alpha$  est impossible ou alors comme la glycine à cause de la chaîne latérale trop peu encombrante qui permet une rotation libre autour du C $\alpha$ . En revanche, ces deux aa font de bon initiateur ou terminateur d'hélice. À l'inverse des aa

déstabilisateurs, d'autres tels que l'alanine ou la leucine se retrouvent facilement dans une hélice grâce à leur chaîne latérale de petite taille et non chargée.



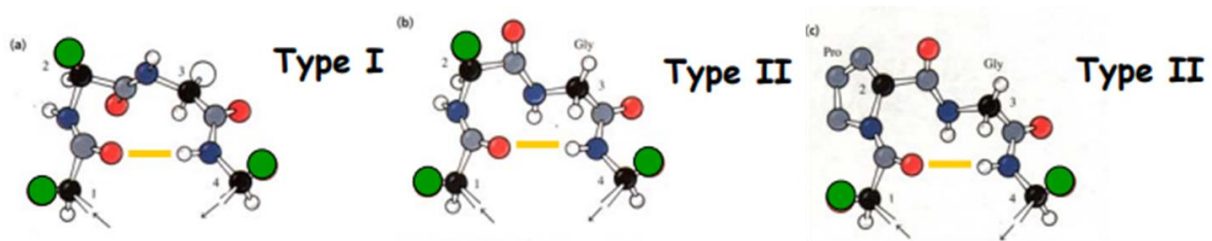
**Figure 6** Schématisation de la structure d'une hélice  $\alpha$ .



**Figure 7** Exemple de feuillet  $\beta$ , montrant des brins  $\beta$  disposés en antiparallèle et en parallèle. En bas, exemple de torsion de  $\beta$ -hairpin (feuillet  $\beta$  antiparallèles avec un coude).

- Feuillet  $\beta$ : Le feuillet  $\beta$  ou feuillet plissé  $\beta$  est la deuxième structure reconnaissable des structures secondaires.<sup>14</sup> En forme d'accordéon étiré, les chaînes latérales des aa sont tour à tour rejetés vers le haut ou vers le bas par rapport au plan de la liaison peptidique. Il se compose de plusieurs **brins  $\beta$**  (des enchainements d'une dizaine de résidus) qui s'organisent entre eux soit dans le même sens de prolongation de la chaîne peptidique (**parallèle**) soit dans le sens inverse (**antiparallèle**) (figure 7). La stabilisation du feuillet se fait par liaisons hydrogène, mais il arrive que des ponts disulfures interviennent. La configuration la plus stable est le feuillet  $\beta$  antiparallèle, car les liaisons hydrogène y sont

moins distordues. On peut aussi constater que dans les feuillets  $\beta$  parallèles, les liaisons hydrogène permettent de former des anneaux de 12 atomes, tandis que les feuillets antiparallèles, se forment des anneaux de 10 et 14 atomes qui s'alternent. Les valeurs prises pour l'angle  $\Phi$  et  $\Psi$  sont comprises entre  $-139^\circ$  et  $135^\circ$  dans des feuillets  $\beta$  antiparallèles, et d'environ  $-120^\circ$  et  $115^\circ$  dans des feuillets  $\beta$  parallèles. Les liaisons hydrogènes sont sur le même plan théoriquement, mais les chaînes latérales des résidus peuvent induire une torsion du feuillet  $\beta$  (figure 7).



**Figure 8** Types I et II de coudes  $\beta$ . En jaune, liaison hydrogène ; en vert, chaîne radicale.

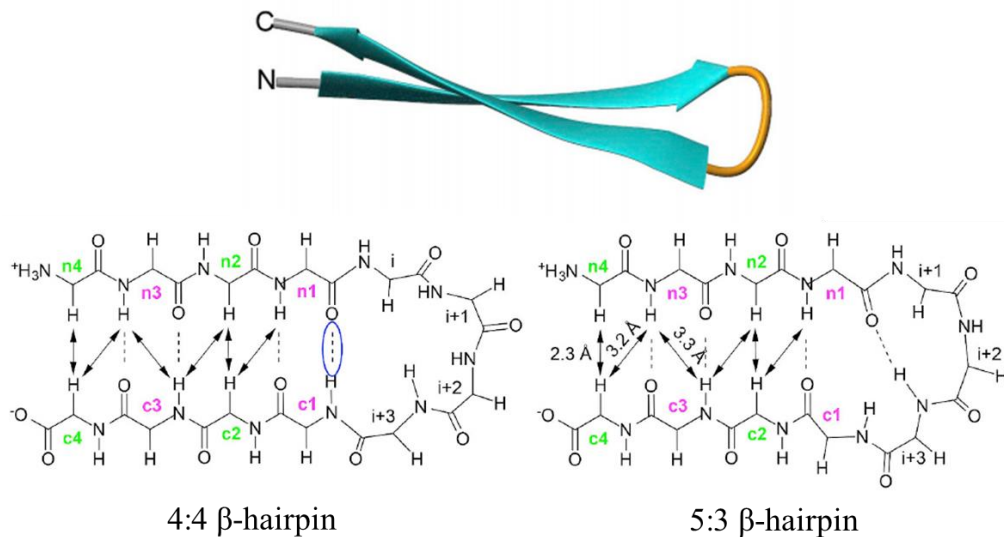
- Coude : Une protéine globulaire ne peut pas adopter une forme sphérique, si elle dispose seulement d'hélices  $\alpha$  et de feuillets  $\beta$ , qui sont des structures linéaires. C'est là qu'interviennent les coudes, classés par types dépendant du nombre de résidus qu'ils comprennent, le plus courant étant le coude  $\beta$ . Celui-ci permet donc un **changement de direction** de la chaîne peptidique, mais est aussi impliqué dans la reconnaissance moléculaire.<sup>16</sup> Un coude  $\beta$  est composé de 4 résidus, et implique une liaison hydrogène entre le carbonyle d'un  $n^{\text{ième}}$  résidu avec le NH du résidu  $n+3$ . Aussi, les coudes  $\beta$  sont classés en plusieurs types selon le type d'angle  $\Phi$  et  $\Psi$ , allant de I à VIII, les types I et II étant les plus fréquemment rencontrés. Les résidus les plus souvent retrouvés dans les coudes  $\beta$  sont des résidus hydrophiles, comme la glycine, la sérine, la proline, l'asparagine et l'acide aspartique. Cela s'explique par le fait que les coudes sont plus souvent au contact du solvant, ici l'eau. Cela dit, la position du résidu dans le coude va beaucoup influencer la nature de celui-ci. Ainsi, la proline se trouve souvent en position 2 (figure 8 (C)), la cystéine en 1, la glycine en 3 et 4, et l'asparagine et l'acide aspartique en position 1 et 3, tandis que la sérine n'a pas de position préférentielle. On peut voir que la différence entre les types I et II se situe au niveau des angles de torsion sur les résidus 2 et 3. Dans le type I, le résidu 2 prend un angle  $\Psi$  de  $-30^\circ$  et le résidu 3 un angle  $\Phi$  de  $-90^\circ$ , tandis que dans le type II, ces angles sont respectivement de  $120^\circ$  et  $80^\circ$  (à noter que les types I' et II' ont le signe de tous leurs angles inversés).<sup>17</sup> Les autres types de coudes peuvent

comprendre de 2 jusqu'à 5 liaisons peptiques au sein de la structure, 2 étant très peu stable d'un point de vue stérique.

Une conformation de plusieurs résidus qui ne correspond à aucune structure secondaire est appelée **pelote statistique** ou « **random coil** ».

Ces types de structures secondaires se retrouvent dans toutes les protéines, et certaines successions de structures se retrouvent plus fréquemment que d'autres. Celles-ci sont appelées **structures super-secondaires**. Parmi ces structures, une en particulier nous intéresse ici, à savoir les **épingles à cheveux  $\beta$**  ou «  **$\beta$ -hairpin** ».

Les  $\beta$ -hairpins sont des motifs  $\beta\beta$  qui associent **deux brins  $\beta$  antiparallèles** liés par un **coude** (figure 9). Ils constituent un type de structure super-secondaire très important qui relie les autres structures secondaires.<sup>18</sup> Les  $\beta$ -hairpins interviennent tôt dans la formation de feuillets  $\beta$  plus étendus. On les peut retrouver par exemple dans les analogues de gramicidine (antibiotiques) où dans la protéine G. Ces structures se forment plus lentement que les hélices  $\alpha$ , du fait qu'elles nécessitent la stabilisation coordonnée d'interactions hydrophobes entre les chaînes latérales des résidus. De plus, la formation de ces structures dépend de la capacité des chaînes à boucler, de la longueur de la boucle formée, et de la stabilisation par des interactions dites « **cross-strand** » (interactions hydrophobes et liaisons hydrogène entre les brins  $\beta$ ). Les  $\beta$ -hairpins se classent en plusieurs catégories selon le nombre de résidus formant le coude et la nomenclature d'un  $\beta$  s'écrit X : Y tel que X prend la valeur du nombre de résidu du coude et Y prend la même valeur que X si le résidu après le coude forme une liaison hydrogène avec celui qui précède le coude. La catégorie plus large regroupe des structures avec des coudes  $\beta$  de type I' et II' alors que les types sont bien plus rares.<sup>19,20</sup>



**Figure 9** Représentation schématique et exemples de  $\beta$ -hairpins 4:4 et 5:3.<sup>20</sup>

➤ La structure tertiaire :

La structure tertiaire fait référence à **l'agencement des résidus éloignés entre eux** au sein de la chaîne peptidique d'une protéine globulaire. Pour le dire plus simplement, c'est le repliement sur elle-même de la chaîne peptidique entière. Cette structure est stabilisée par des liaisons de **faible énergie**, telles que les liaisons hydrogène, des ponts salins et les interactions de van der Waals, mais aussi par des liaisons covalentes, comme les ponts disulfures (entre deux cystéines). Le repliement suit certaines règles. Ainsi, les chaînes latérales des résidus hydrophiles se trouveront à l'extérieur tandis que les chaînes latérales de résidus hydrophobes se situeront dans une zone hydrophobe interne. Ce repliement est permis notamment par les molécules chaperonnes, qui possèdent d'autres rôles divers, mais aussi par des enzymes (rupture de ponts disulfures et isomérisation de résidus d'une configuration *cis* vers *trans* ou inversement).

➤ La structure quaternaire :

La structure quaternaire d'une protéine globulaire est due à **l'agencement dans l'espace des différentes chaînes polypeptidiques** qui la composent. Elle définit donc la structure supramoléculaire d'une protéine. Une protéine constituée de sous-unités identiques est homopolymérique, tandis qu'une protéine avec des sous-unités différentes sera

hétéropolymérique. Par exemple, le récepteur à l'insuline est une protéine hétérotétramérique constituée de deux sous-unités  $\alpha$  et deux sous-unités  $\beta$ . Les mêmes types de liaisons stabilisent les structures tertiaires et quaternaires (à l'exception des ponts disulfures, sauf exception à l'exception). La fonction biologique d'une protéine nécessite la formation de sa structure quaternaire car celle-ci détermine **l'activité** de la protéine par deux aspects. Le premier des deux est le contrôle de l'activité de la protéine, avec par exemple la protéine G couplée à un récepteur transmembranaire, qui se dissocie lors de la fixation d'un ligand sur celui-ci, permettant ainsi la libération de la sous-unité  $G_\alpha$  du dimère  $G_{\beta\gamma}$ , qui serviront de seconds messagers dans la transduction cellulaire. Le deuxième aspect est l'interactivité entre sous-unités, au travers de d'effet coopératif (fixation d'un substrat qui augmente l'affinité des autres sous-unités pour le substrat) et d'un effet allostérique (la fixation d'un effecteur va modifier l'affinité pour un substrat).

#### 1.1.1.3.2 De la protéine globulaire à la fibre amyloïde

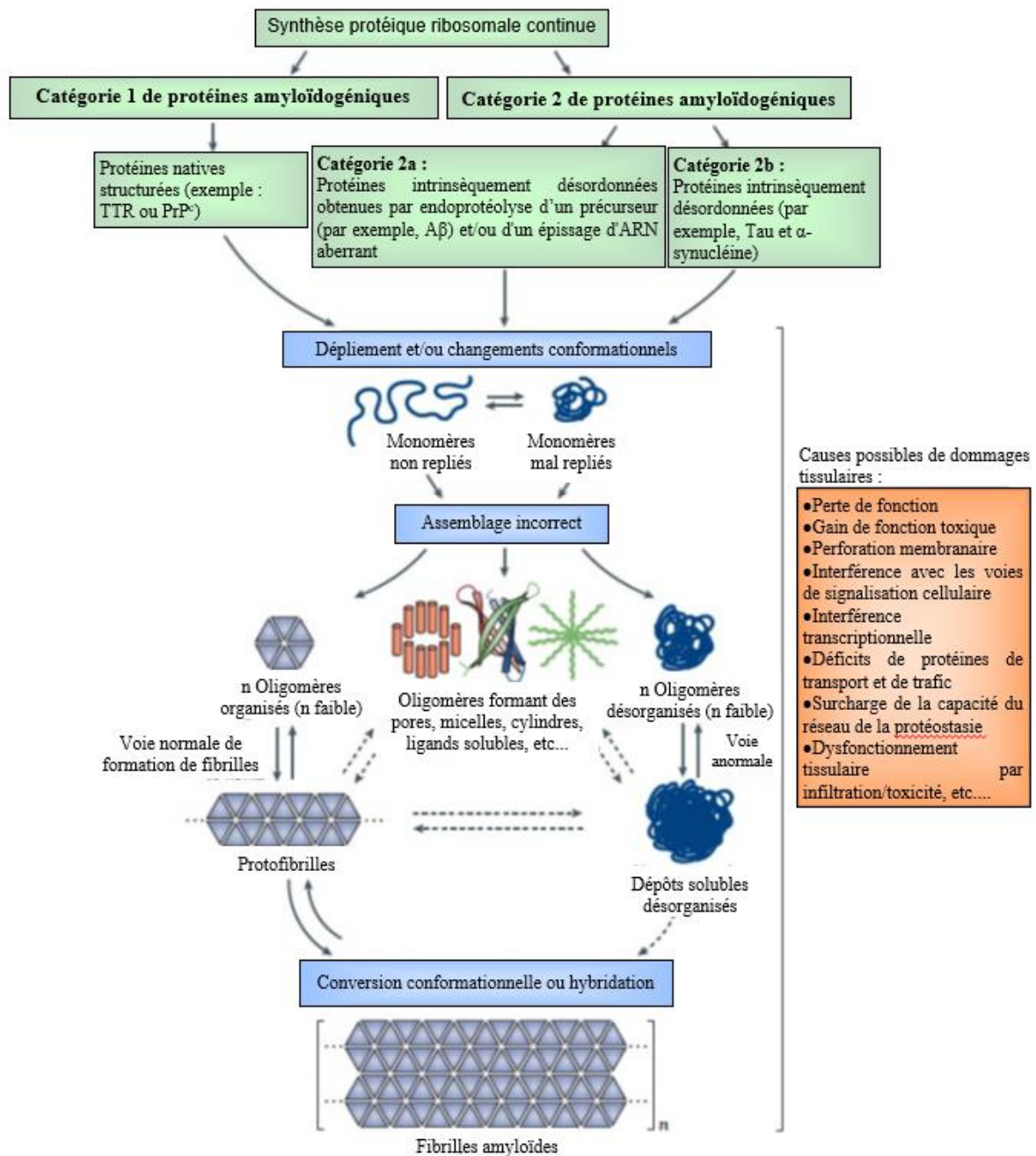
D'une façon générale, les protéines impliquées dans les amyloïdoses apparaissent souvent **repliées naturellement** et l'agrégation peut partir par exemple d'une **élévation de la concentration** protéique intracellulaire, elle-même induite par des **altérations génétiques**. Dans le syndrome de Down, par exemple, la copie supplémentaire du gène codant pour l'APP explique la présence de plaques  $A\beta$  prématurément chez les individus atteints.<sup>21</sup> La quantité de protéine peut être augmentée par une transcription altérée par un polymorphisme des sites promoteurs liés aux gènes exprimant ces protéines. Des modifications covalentes de ces protéines peuvent aussi faciliter l'agrégation, comme **l'hyperphosphorylation** dans le cas de la protéine Tau. Enfin, le **clivage protéolytique** de protéines précurseurs est incriminé pour la formation de nombreux peptides tels que les peptides  $A\beta_{1-40}$  et  $A\beta_{1-42}$  dans la MA.<sup>17</sup>

Deux catégories permettent de classer les protéines amyloïdogéniques (figure 10). La catégorie 1 regroupe les protéines qui ne nécessitent que de modifier partiellement leur structure tridimensionnelle, c'est-à-dire une légère modification de leur repliement, pour s'agréger. La catégorie 2, elle, regroupe les protéines **plus désordonnées**, sujettes à une structure **riche en feuillets  $\beta$** . Au sein de cette deuxième catégorie, deux sous-catégories se dessinent, la première regroupant les peptides désordonnés résultant de **l'endoprotéolyse** de protéines précurseurs (peptides  $A\beta$  par exemple) et la deuxième regroupant les peptides

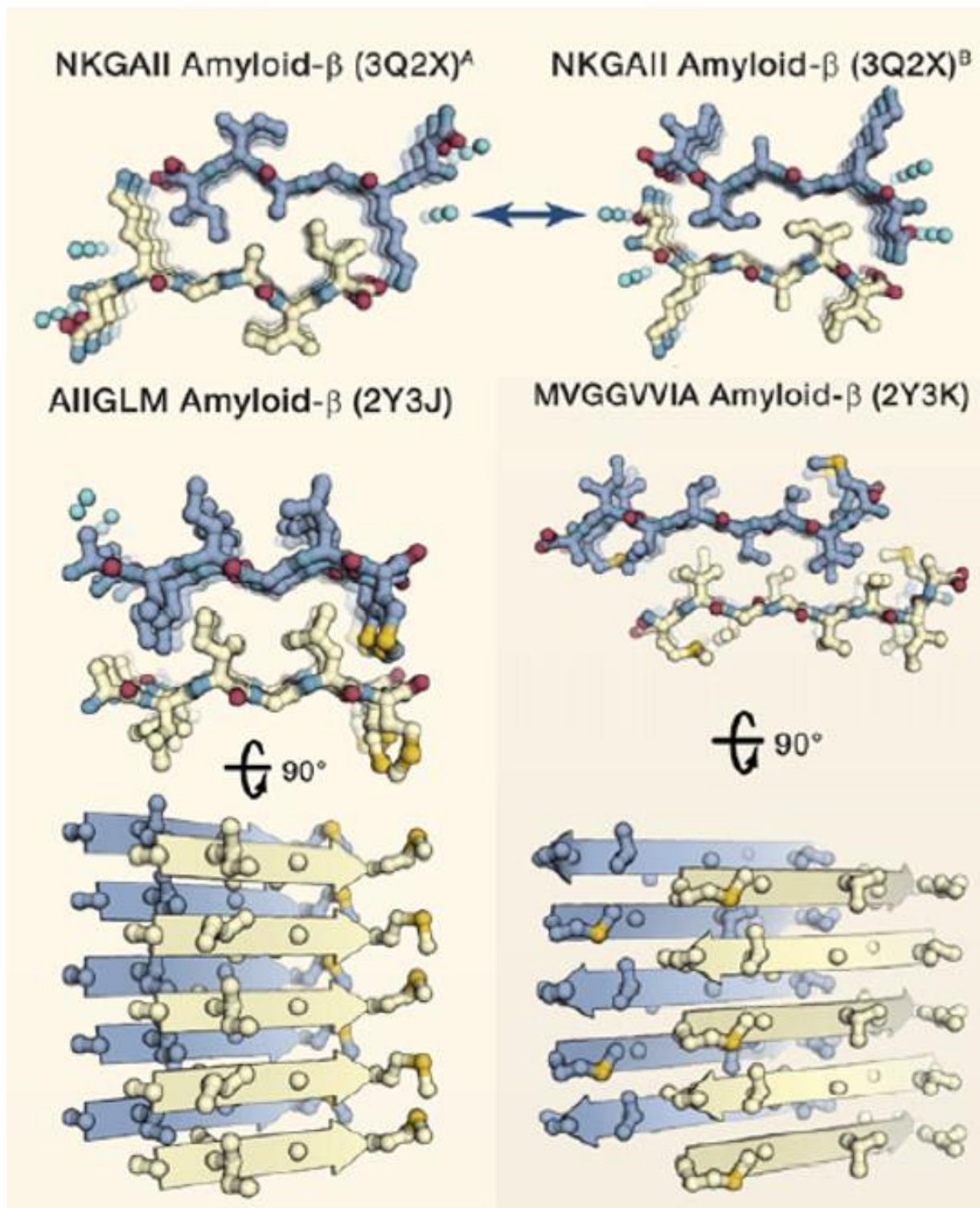
désordonnés ne nécessitant pas d'endoprotéolyse (protéine Tau par exemple). Ces dernières s'agrègent dans le compartiment **intra-cellulaire** et ce processus dépend de la concentration en protéines ainsi que des modifications post-traductionnelles, telles que la phosphorylation de certains acides aminés sur la protéine Tau.<sup>22-24</sup>

Trois **processus** permettent de décrire l'agrégation de protéines amyloïdogéniques :

- Une agrégation autour d'un **noyau riche en énergie** composé de peu de monomères. D'autres monomères s'agrègent autour afin former un agrégat **plus stable thermodynamiquement**. Ce noyau est généralement constitué d'oligomères et de monomères, et ceux-ci prennent une structure « cross  $\beta$ -sheet » ou feuillet  $\beta$  antiparallèles (figure 11).
- Un **changement de conformation** des oligomères. Plus précisément, il existe un équilibre entre monomères et oligomères hétérogènes (composés de différents monomères) et ces derniers sont plus stables généralement que les monomères, et peuvent donc s'organiser en noyau puis en fibrilles.
- La formation d'un monomère susceptible de s'agréger, à partir d'une protéine native correctement repliée. Ce dernier processus ne permet pas de produire efficacement des fibrilles et s'arrête à un stade assez précoce, dû à l'absence de noyau d'agrégation.



**Figure 10** Description des différents parcours de l'amyloïdogénèse en fonction des catégories de peptides amyloïdes.<sup>22</sup>



**Figure 11** Exemples de séquences de peptides A $\beta$  organisée en protofilaments, déterminées par diffraction au rayons X. En bas à gauche sont représentés des protofilaments d'A $\beta$  en feuillets  $\beta$  parallèles ( $\beta$ -sheet) tandis qu'en bas à droite sont représentés des protofilaments d'A $\beta$  en feuillets  $\beta$  antiparallèles (cross- $\beta$ -sheet). Les molécules d'eau sont représentées en bleu clair.<sup>9</sup>

Au moyen de la diffraction aux rayons X et de la spectroscopie infra-rouge, il a été permis d'observer que les fibrilles amyloïdes sont des **filaments** d'une largeur d'au moins 10 nm et d'une longueur de 0,1 à 10  $\mu\text{m}$ .<sup>7,25</sup> La caractéristique clé est la présence de **structures  $\beta$ -cross** que l'on peut définir tel que :

- un **ruban** est formé par des feuillets  $\beta$  placés en **parallèle de l'axe** de la fibrille (figure 11) dont les brins  $\beta$ , eux, sont perpendiculaires à l'axe ;
- les **liaisons hydrogène** au sein des feuillets  $\beta$  sont **presque parallèles** à l'axe.

L'agrégation de protéines est un mécanisme **complexe** impliquant diverses voies d'agrégation et diverses protéines. Cela implique la formation **d'intermédiaires** et de **fibrilles** avec des structures variées. De plus, ce processus d'agrégation est **continu** et dépend d'un **équilibre** de concentration des agrégats entre les milieux intra et extracellulaires.

En définitive, la formation de la substance amyloïde est un processus **lent et progressif** sur plusieurs années et la présence de plaques séniles et d'enchevêtrement ne peut se détecter que post mortem. De plus, leur présence seule ne permet pas de déterminer si elles sont en cause dans la maladie ou en sont la conséquence. Malgré tout, des **hypothèses** se sont dessinées et diverses stratégies de recherche ont été définies à différentes étapes du processus de formation de la substance amyloïde principalement, mais pas seulement.

### *1.1.2 Hypothèses étiologiques de la MA*

La ou les **causes exactes** de la MA ne sont pas définitivement connues à ce jour, et **plusieurs hypothèses** ont été émises. Ces hypothèses peuvent se compléter et impliquent :<sup>26</sup>

- l'acétylcholine ;
- la protéine Tau ;
- la cascade amyloïde ;
- le stress oxydatif ;
- l'inflammation ;
- les hormones sexuelles.

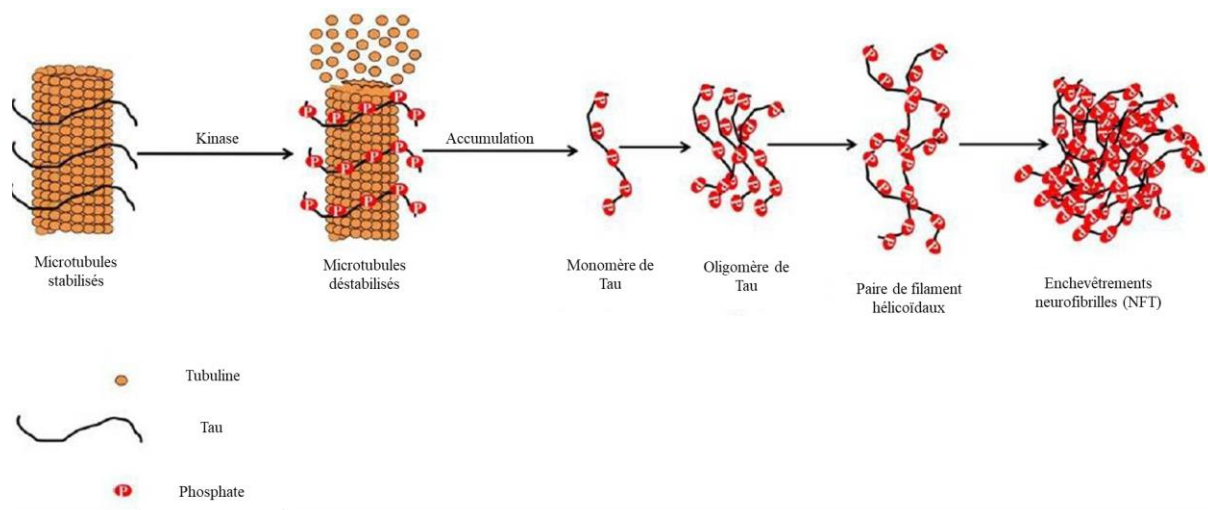
L'hypothèse la plus développée dans cette thèse sera celle de la **cascade amyloïde** afin de montrer le potentiel thérapeutique de diverses molécules mises au point pour stopper l'agrégation du peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub>.

#### 1.1.2.1 Protéine Tau

La **protéine Tau** (Tubulin-associated unit) fait partie des protéines associées aux microtubules (MAP) codées par le gène MAPT et est principalement située à l'extrémité distale des axones des neurones du système nerveux central (SNC). Il existe six isoformes connues de la protéine Tau issu de l'épissage alternatif de l'ARNm du gène Tau, et la longueur de ces isoformes varie de 352 à 441 résidus. La protéine Tau est constituée de 2 domaines principaux, à savoir le domaine de projection Nter (amino terminal) et le domaine d'assemblage aux microtubules Cter (carboxy terminal). Le rôle principal de la protéine Tau est de **stabiliser** les microtubules axonaux des neurones, afin de réguler le **transport axonal**.<sup>27,28</sup>

Dans certaines conditions pathologiques, comme la MA, la protéine Tau est **excessivement** phosphorylée, jusqu'à trois fois par rapport à la normale. Parmi les enzymes responsables, on peut citer la glycogen synthase kinase 3  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) ou encore la cyclin-dépendant kinase 5 (CDK5).<sup>29</sup> Un certain nombre de kinase peut phosphoryler Tau et leur suractivation peut être causée par A $\beta$ . L'hyperphosphorylation entraîne plusieurs conséquences s'exprimant par une diminution de l'activité neuronale. En effet, ces conséquences sont une **perte d'affinité** de Tau pour les microtubules (figure 12), ainsi qu'une **répartition** qui se décale des axones vers les dendrites et les corps cellulaires compromettant ainsi son rôle dans le transport axonal, et enfin une capacité à **s'agréger** en NFT.<sup>28,30</sup>

La protéine Tau s'agrège grâce à **deux séquences** au sein de sa structure. Ce sont deux hexapeptides, V<sup>275</sup>QIINK et V<sup>306</sup>QIVYK, autour desquels l'agrégation de Tau va s'initier ou se prolonger, avec une plus forte propension à l'agrégation pour VQIINK.<sup>31</sup>



**Figure 12** Processus d'agrégation de la protéine Tau.<sup>32</sup>

Il est intéressant de noter qu'un lien peut être établi entre certaines pathologies neurodégénératives, comme cela pourrait être le cas entre la MA et l'encéphalopathie traumatique chronique, autrement appelée **démence pugiliste**.<sup>33,34</sup> Cette pathologie apparaît après des traumatismes crâniens légers répétés, ou lors d'un unique traumatisme crânien sévère, notamment chez les joueurs de football américains. Cette tauopathie est parfois associée à des dépôts amyloïdes, dont la distribution est cependant différente de celle observée dans la MA.

Comme la seule présence de NFT ne suffit pas à développer de symptômes démentiels, il est plus pertinent de penser que la protéine Tau agit de concert avec A $\beta$  dans la toxicité responsable des symptômes.

#### 1.1.2.2 Cascade $\beta$ -amyloïde : espèces formées et toxicité neuronale

Le peptide A $\beta$ , en particulier sa version A $\beta$ <sub>1-42</sub> est la cause centrale de la progression de la MA aux côtés de la protéine Tau, et certains ions métalliques jouent aussi un rôle. Cette hypothèse fut proposée pour la première fois en 1998 et connaît aujourd'hui encore de nombreuses investigations sur les mécanismes exacts qui conduisent à la formation de la substance amyloïde et ses intermédiaires.<sup>35</sup>

Le peptide A $\beta$  provient du clivage protéolytique de l'**Amyloid precursor protein** (APP) L'APP est une protéine **transmembranaire** qui s'exprime dans beaucoup de type de

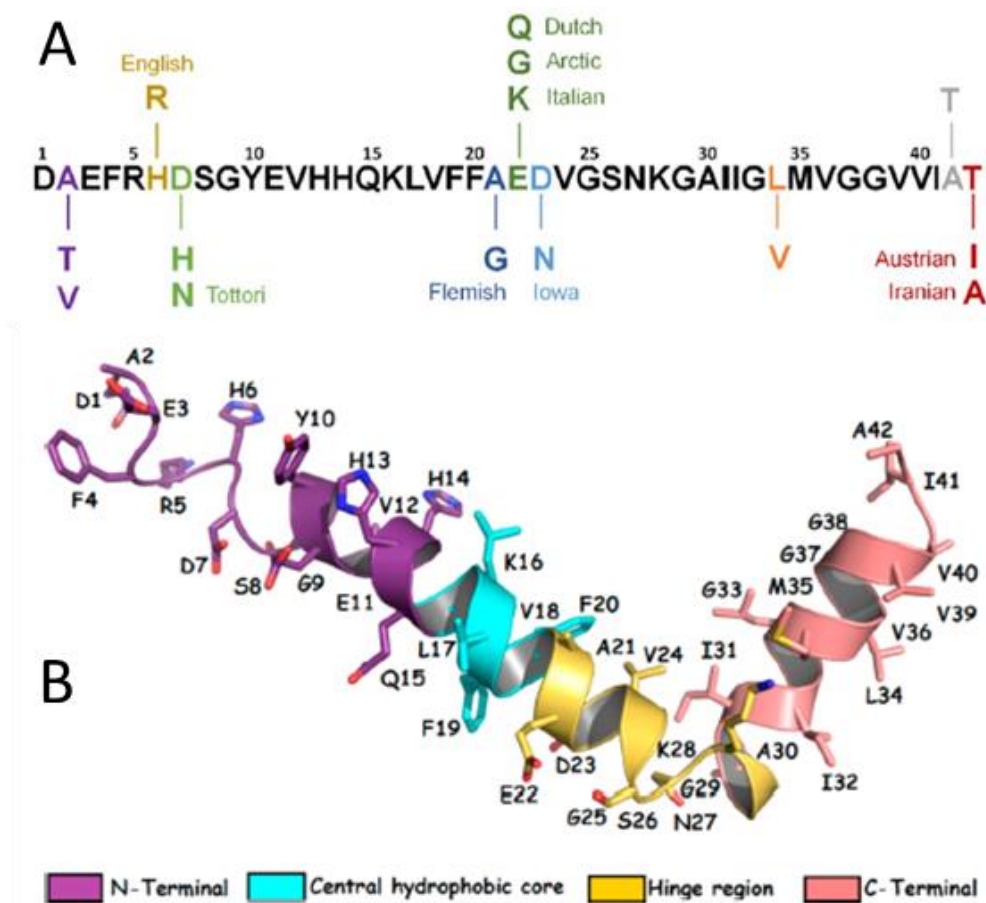
neurones. APP fait partie d'une famille de polypeptide et est constitué d'une longue partie Nter extracellulaire, une partie transmembranaire et une courte queue Cter cytoplasmique. Les différentes isoformes majoritaires sont au nombre de trois (de 695, 751 et 770 résidus) et ont des localisations différentes, notamment l'isoforme APP695 qui se retrouve presque exclusivement dans les neurones, tandis que les deux autres, APP751 et APP770, se retrouvent dans les cellules non neuronales.<sup>5</sup> L'APP fait partie d'une famille de gène, les amyloid precursor-like protein (APLP), qui partagent une certaine homologie sur la partie Cter ectodomaine (AICD, qui ne fait pas partie des domaines principaux), mais possède une plus grande variabilité sur la partie Nter extracellulaire, au niveau de la région A $\beta$ . Aussi, **différents domaines** ont été élucidés, un domaine « growth factor-like » (similaire au facteur de croissance), un domaine de fixation du **cuivre**, un domaine **inhibiteur de protéase** (sauf sur APP695), un domaine **central**, et un domaine **intracellulaire**.<sup>36</sup>

Il est encore difficile de décrire précisément le rôle physiologique d'APP.<sup>36</sup> Cependant, il a été montré qu'APP intervient dans des **changements** de structures des synapses, impliquées dans les processus **d'apprentissage et mémorisation**.<sup>37,38</sup> Malgré cela, les souris *knock-out* pour APP ne produisent pas de phénotype différent, puisque les APLP peuvent compenser cette perte.<sup>5</sup>

**Biosynthèse** : APP peut subir des clivages protéolytiques par trois **sécrétases** différentes ( $\alpha$ -,  $\beta$ - ou  $\gamma$ -sécrétases) et selon deux **voies**. Dans la voie **non amyloïdogénique** (figure 14), APP est clivé par l' $\alpha$ -sécrétase directement dans la séquence qui forme le peptide A $\beta$  amyloïdogénique, pour libérer l'AICD, ainsi que l'ectodomaine soluble sAPP $\alpha$ . Ensuite, ces deux fragments peptidiques sont respectivement clivés chacun par les sécrétases  $\beta$  (BACE-1) et  $\gamma$ , pour donner des peptides A $\beta$ . Dans la voie **amyloïdogénique**, APP est clivé par une  $\beta$ -sécrétase afin de produire deux fragments dont un fragment possède encore le site de clivage transmembranaire nécessaire à une  $\gamma$ -sécrétase. Ainsi, un autre peptide est issu d'un deuxième clivage et ce peptide A $\beta$  est de taille variable, de 38 à 43 résidus, avec une prédominance pour A $\beta$ <sub>1-40</sub> et A $\beta$ <sub>1-42</sub>, les versions à 40 et 42 résidus.<sup>39</sup> La séquence la plus fréquente du peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub> est :

**D<sup>1</sup>AEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVV<sup>40</sup>IA<sup>42</sup>.**

Des mutations sont observées selon l'origine géographique (figure 13).<sup>39</sup>

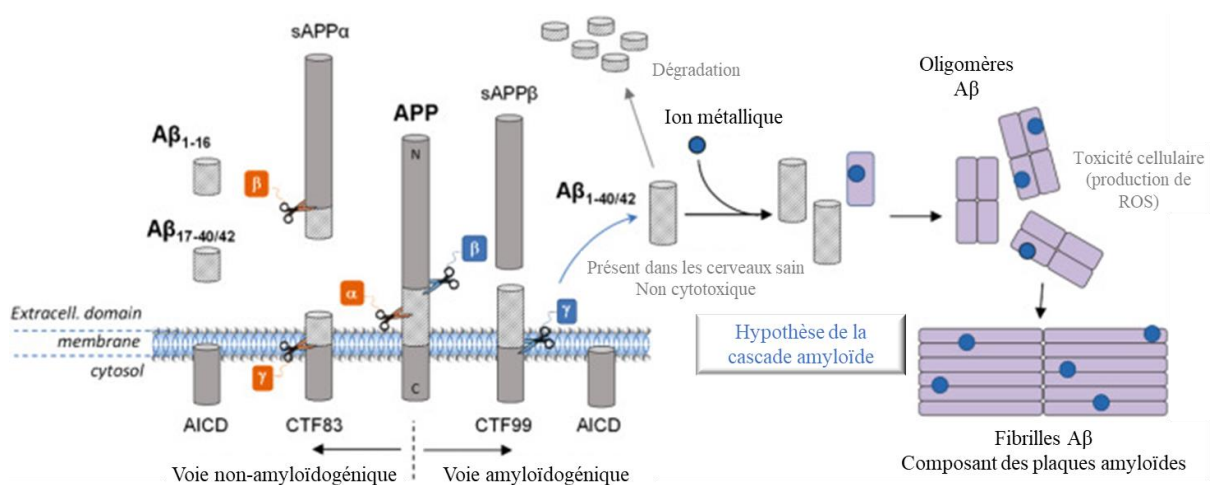


**Figure 13** (A) Séquence peptidique d'Aβ et les mutations familiales les plus retrouvées selon l'origine géographique (B) Domaines d'Aβ.<sup>39,40</sup>

Dans les conditions **pathologiques**, c'est l'action de la β-sécrétase qui prédomine, favorisant la production de peptides par voie **amyloïdogénique**. Le peptide majoritairement généré par cette voie est le peptide Aβ<sub>1-40</sub>. Le peptide Aβ<sub>1-42</sub>, même s'il est produit en moindre quantité, tend plus facilement à s'agréger, contrairement à sa version de 40 résidus. C'est pour cela qu'Aβ<sub>1-42</sub> est retrouvé **quasi exclusivement** dans les plaques séniles.<sup>39,41,42</sup> Cette différence serait due à l'**hydrophobicité** ainsi qu'à la capacité à former des **feuilletés β**, des résidus 41 et 42.<sup>43</sup>

Aβ<sub>1-42</sub> peut aussi se voir subir des **modifications** (phosphorylation sur la sérine 8, donnant pSer8Aβ, ou encore une troncation avec modification par pyroglutamate en position 3 donnant Aβ<sub>N3pE</sub>).<sup>42</sup> Ces formes se retrouvent plus **tardivement** dans les plaques séniles, tandis qu'Aβ<sub>1-42</sub> apparait à des stades plus précoces, laissant supposer un rôle plus important de ce dernier dans la progression de la MA.

**Homéostasie :** La **clairance** des dépôts d'A $\beta$  s'effectue par plusieurs moyens dans l'organisme.<sup>44</sup> Elle est, d'une part, permise par le système glymphatique (mêlant les cellules gliales périvasculaires et la circulation lymphatique), et d'autre part, par les vaisseaux lymphatiques méningés. Le peptide A $\beta$  peut être dégradé par des protéases. Dans le milieu intracellulaire, c'est le protéasome qui interviendra au moyen de plusieurs enzymes (ubiquitine, cathepsines, diverses protéases). Tandis que dans le milieu extracellulaire, ce sont de nombreuses enzymes de la matrice qui peuvent agir telle que la néprélysine. Enfin, les cellules gliales peuvent phagocyter A $\beta$ . Il existe un système d'efflux et d'influx qui permet d'évacuer ou capter A $\beta$  par la barrière hémato-encéphalique (BHE). Enfin, A $\beta$  est acheminé dans le sang vers le foie et les reins où il sera éliminé de l'organisme. Un récepteur agit notamment sur les mécanismes d'efflux d'A $\beta$ , le « receptor for advanced glycation endproducts » (RAGE).<sup>45</sup> De plus, il serait responsable en partie de l'inflammation et du stress oxydatif, ainsi que de l'activité des sécrétases, faisant de lui un acteur dans la pathogénicité d'A $\beta$ .



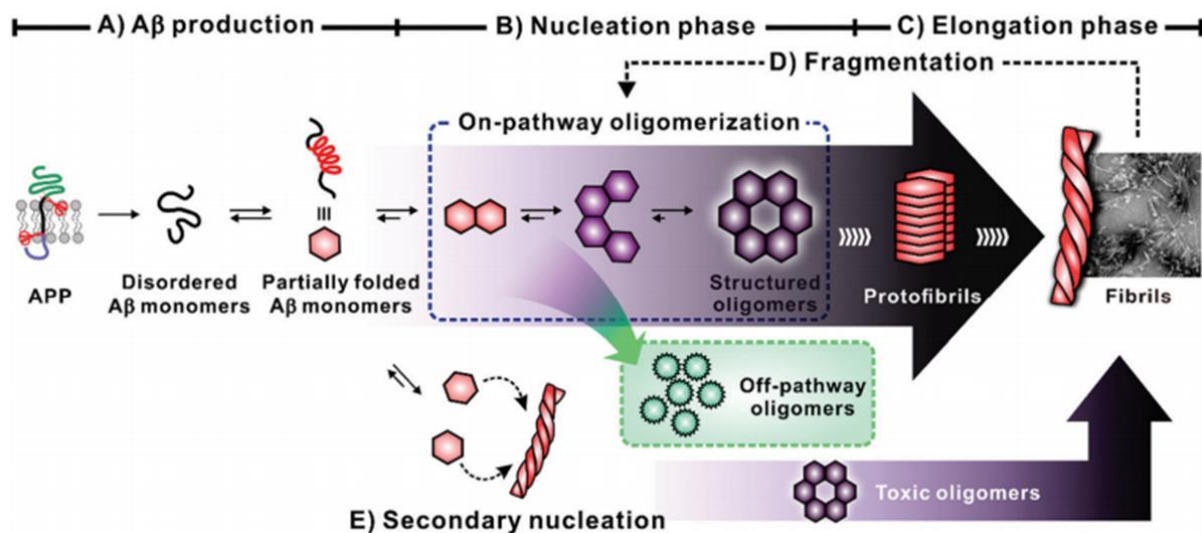
**Figure 14** Voie non-amyloïdogénique et voie amyloïdogénique de la dégradation du peptide APP.<sup>39</sup>

**Processus physiopathologiques :** L'étude de la cinétique de formation des fibrilles, des essais à la thioflavine T, ainsi que de l'équilibre thermodynamique des différentes espèces qui interviennent dans la formation de la substance amyloïde ont permis d'identifier les **étapes clés** de l'agrégation qui sont :<sup>42,46</sup>

- la phase de **nucléation** (primaire) ou « lag phase », où de nouveaux oligomères sont formés à partir de monomères d'A $\beta$  ;

- la phase **d'élongation** ou « growth phase », lors de laquelle des monomères vont s'ajouter aux oligomères déjà existants. Ici s'observe aussi un phénomène de nucléation secondaire, où des monomères s'ajoutent à la surface des fibrilles déjà formées par élongation et qui ont libéré de nouveaux sites de fixation après désintégration ;
- la phase **stationnaire** ou « stationary phase », où arrive un état d'équilibre entre la formation de fibrilles et la dissociation de celles-ci.

Il est possible que des oligomères se forment par d'autres voies **irrégulières**, dites « **off-pathway** » (figure 15).<sup>47</sup> Ceux-ci se distinguent des oligomères « on-pathway » par leur structure désorganisée, qui en fait des espèces **moins susceptibles** de s'agréger, marquant leur absence de toxicité.



**Figure 15 Représentation schématique de l'agrégation d'Aβ.** (A) production d'Aβ, APP est clivé en monomères d'Aβ désordonnés, qui se replient partiellement sur eux-mêmes (B) Phase de nucléation, les monomères d'Aβ s'agrégent entre eux pour former des oligomères qui adoptent une structure plus organisée (C) Phase d'élongation, les oligomères forment des protofibrilles avant de finir par former des fibrilles plus longues.<sup>47</sup>

La phase de nucléation est la phase **d'initiation** de l'agrégation du peptide Aβ. Le peptide Aβ est, comme d'autres peptides rencontrés dans les amyloïdoses, à un état **natif déplié**, c'est-à-dire, sans structure secondaire ou tertiaire stable. Aβ va partiellement et progressivement passer de cette conformation dépliée vers une structure de **feuillet β**. Ces

monomères vont pouvoir s'associer les uns aux autres grâce à des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène pour former des **noyaux** d'agrégation. Ainsi, il commence à se former des **oligomères** constitués d'un petit nombre de monomères. La phase de nucléation peut se produire selon deux façons distinctes, **homogène** ou **hétérogène**.<sup>48</sup> Dans la nucléation homogène, le noyau se forme en prenant comme support la même molécule que celles qui vont s'agréger autour, dans des conditions de **saturation** en protéine à agréger. À l'inverse, dans la nucléation hétérogène, bien plus fréquente, le noyau se forme à l'aide de **molécules différentes** telles que des lipides membranaires, qui agissent comme support pour la nucléation. La nucléation est la première façon d'obtenir des oligomères, mais les monomères peuvent aussi commencer à s'agréger directement autour de fibrilles préformées, et à un stade plus avancé, ce processus de nucléation **secondaire** devient **prédominant** dans la formation de fibrilles.<sup>47</sup> Ainsi, on peut dire que la nucléation primaire est homogène, tandis que la nucléation secondaire est hétérogène. Il est important de rajouter que parmi les oligomères nouvellement formés, la plupart se dissocient en monomères avant qu'ils ne puissent engager le changement de conformation en **protofibrilles**.<sup>49</sup> C'est un autre argument en faveur de la prédominance de la nucléation secondaire.

Lorsqu'un nombre suffisamment grand de fibrilles amyloïdes est produit, alors, sous l'effet de **forces mécaniques**, ces fibrilles se **rompent** et produisent des fibrilles moins longues, qui peuvent à nouveau agréger des monomères d'A $\beta$ . Aussi, lors de ces ruptures, d'autres oligomères se détachent et viennent s'ajouter à l'ensemble des oligomères.

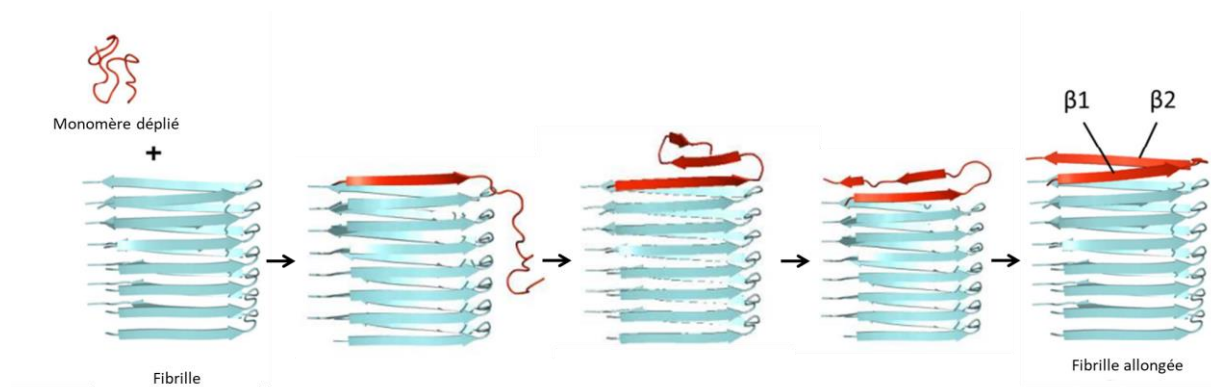


Figure 16 Modèle schématisé de phase d'élongation d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>.<sup>50</sup>

La phase d'élongation qui s'en suit, consiste à assembler ces oligomères structurés en de **longues structures fibrillaires**. Grâce à la modélisation moléculaire, il a été possible

d'offrir des modèles d'élongation.<sup>50,51</sup> Des monomères dépliés commencent à interagir avec le monomère en bout d'axe d'une protofibrille, par des interactions hydrophobes et liaisons hydrogène, en formant un premier brins  $\beta$  accolé. Le reste du monomère déplié peut alors se réorganiser en  $\beta$ -hairpin (épingle à cheveu) dont le deuxième brin  $\beta$  va pouvoir commencer à interagir avec un autre monomère et ainsi prolonger la fibrille. Ces fibrilles allongées ont des propriétés plus hydrophobes que les monomères et oligomères d'A $\beta$  et les plaques amyloïdes ainsi formées sont **insolubles**.

Enfin, la formation et la dissociation des fibrilles atteignent un **équilibre** lors de la phase stationnaire, que l'on voit par cinétique d'agrégation.<sup>52</sup>

Pour finir, il est tout à fait possible que les différentes espèces du processus d'agrégation se retrouvent dans le milieu **simultanément**, ce qui profite d'ailleurs au processus de nucléation secondaire.

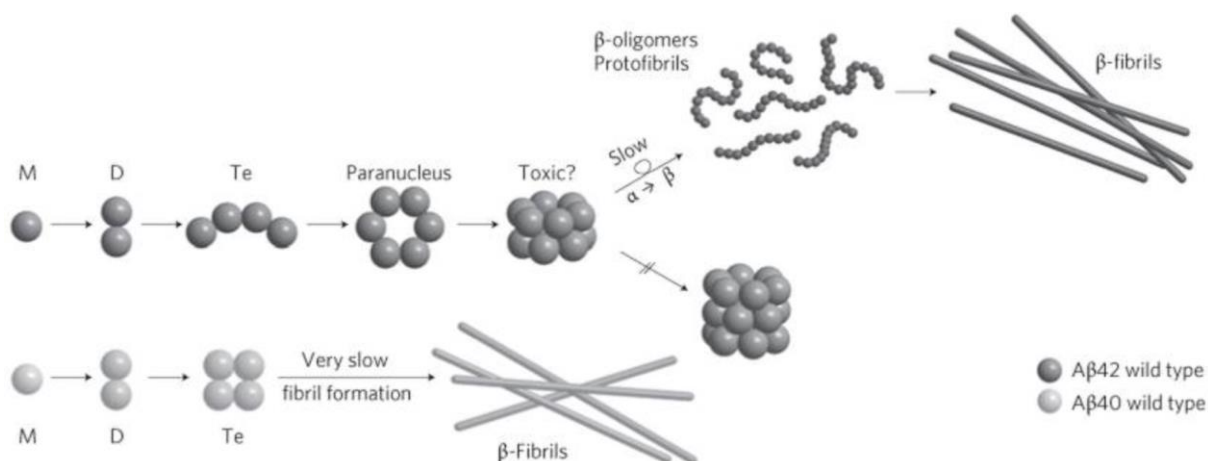
Au niveau **moléculaire**, il est difficile d'établir précisément l'arrangement d'A $\beta$  au sein des oligomères et des fibrilles, en particulier à cause du **polymorphisme** des peptides A $\beta$ , et des espèces intermédiaires formées à toutes les étapes de l'agrégation. Ces structures ont été étudiées par RMN, cryo-microscopie électronique (cryo-EM), spectroscopie IRTF (infra-rouge à transformée de Fourier), DC (dichroïsme circulaire), modélisation moléculaire ou encore par fluorescence à la thioflavine T. L'abondance des techniques d'élucidation des structures des fibrilles et oligomères d'A $\beta$  révèle la **réelle difficulté** d'établir ces structures.

La version A $\beta_{1-40}$  fut **davantage** étudié que son homologue à 42 résidus, et de ce fait, il reste encore à mener des investigations sur la façon dont A $\beta_{1-42}$  se différencie afin de dégager une image claire des modifications de conformation selon le stade de l'agrégation du peptide. Il n'existe pas non plus d'agrégation « **croisée** » entre les deux versions du peptide A $\beta$ . On peut supposer que s'il y a une différence de comportement lors de l'agrégation, cela doit être dû à ces deux résidus à l'**extrémité Cter**. De plus, il faut noter l'importante **diversité** des structures obtenues par agrégation, probablement en raison de la diversité de conformations que peuvent prendre les monomères d'A $\beta$ .<sup>53-55</sup> Ceci dit, il est tout de même possible de déterminer des caractéristiques générales des différentes espèces produites lors du processus d'agrégation. Car en plus de la différence de masse moléculaire des intermédiaires

d'agrégation, la **modification** des structures secondaires semble être l'**élément central** dans le passage d'un intermédiaire à un autre.

Les peptides A $\beta$  ont une structure native sans structure secondaire ou tertiaire notable, mais peuvent, sous des conditions particulières (température, pH, concentration, interactions intermoléculaires, mutations génétiques) prendre **spontanément** des conformations repliées, au moins partiellement.<sup>47</sup> Ces monomères partiellement repliés sont très **prompts** à interagir avec d'autres monomères, notamment par contact du site « **d'auto-reconnaissance** » (self-recognition), initiant l'agrégation. Un tel changement est **défavorable** thermodynamiquement, mais les interactions intermoléculaires nouvellement formées permettent d'outrepasser cette limite à l'agrégation. Une étude en 2019 a montré par modélisation moléculaire que le changement de conformation du peptide A $\beta_{1-42}$  se faisait par l'intermédiaire de certains résidus spécifiques.<sup>56</sup> Le passage d'une structure native en pelote statistique ou en hélice  $\alpha$  à une structure en feuillet  $\beta$  était largement influé par les résidus lysine **K<sub>16</sub>** et **K<sub>28</sub>**. Ce premier appartient à la **région centrale hydrophobe K<sub>16</sub>LVFF<sub>20</sub>**, tandis que le second appartient à la **région charnière D<sub>23</sub>VGSNK<sub>28</sub>**. Des **mutations** sur des deux résidus ont permis d'observer des variations dans les conformations prises par le peptide A $\beta_{1-42}$ . Ces mutations stabiliseraient la structure du peptide A $\beta$ , en favorisant les hélices  $\alpha$  aux feuillets  $\beta$ , et la rendraient moins susceptible de s'agréger.

Une fois le changement de conformation effectué, les monomères s'agrègent pour former des oligomères de **bas poids moléculaire**. Divers types d'oligomères ont été observés, selon le nombre n de monomères qu'ils contenaient.



**Figure 17** Mécanisme d'oligomérisation et formation éventuelle de fibrilles pour A $\beta_{1-42}$  et A $\beta_{1-40}$ .<sup>57</sup>

C'est à la suite de l'association, d'abord **réversible**, des monomères d'A $\beta$  en oligomères, que sont adoptées des structures secondaires en feuillets  $\beta$ .<sup>58</sup> La première étape de cette conversion de conformation est la formation de  **$\beta$ -hairpin stabilisé** par des liaisons hydrogène intramoléculaires. Ces liaisons se forment entre les séquences L<sub>17</sub>VFF et G<sub>33</sub>LMVG. En tant qu'espèces intermédiaires dans l'agrégation en fibrilles, il est difficile d'isoler expérimentalement ces oligomères, étant donné leur **polymorphisme** (dimères, trimères, pentamères), expliquant la complexité à fournir des modèles **consensuels**. Cela dit, certains éléments structurels font moins débat que d'autres. Parmi les éléments consensuels, la **forme sphérique** des oligomères d'A $\beta$  a été plusieurs fois décrite.<sup>25,59</sup> On peut aussi ajouter que les oligomères sont **moins riches** en feuillets  $\beta$  que les fibrilles, plus organisées.<sup>25</sup> Cela s'explique par un mécanisme en **deux étapes**. Premièrement, des liaisons hydrogène se forment entre les résidus L<sub>16</sub>VFFA et I<sub>31</sub>IGLMV, faisant prendre une structure de feuillet  $\beta$ . Deuxièmement, c'est lors de la **rotation** induite des brins  $\beta$ , que les résidus hydrophobes sont davantage **exposés** et que des liaisons hydrogène peuvent se former avec un peptide A $\beta$  voisin.<sup>58,60</sup> Ainsi, les oligomères stabilisés peuvent être **convertis** en protofibrilles puis en fibrilles, sous contrôle de la température. Certains oligomères sont plus prompts à former des noyaux pour la nucléation que d'autres. En effet, un mécanisme de nucléation fut proposé par Bernstein et al. en 2009, et celui-ci indique que les **pentamères et hexamères** d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> sont plus susceptibles de servir de noyau de nucléation que ceux d'A $\beta$ <sub>1-40</sub> (figure 17).<sup>57</sup> Des monomères s'agrègent d'abord en dimères, puis en trimères, en tétramères et enfin en hexamères. Selon ce mécanisme, le processus d'agrégation ne permet pas d'obtenir de nouvelles conformations stables au-delà de l'hexamère. En revanche, deux hexamères plans peuvent se lier entre eux, en formant un double hexagone empilé, donnant un dodécamère. L'empilement d'un troisième hexamère ne semble en revanche, pas assez rapide pour être observé, et le processus de formation de protofibrilles intervient avant.

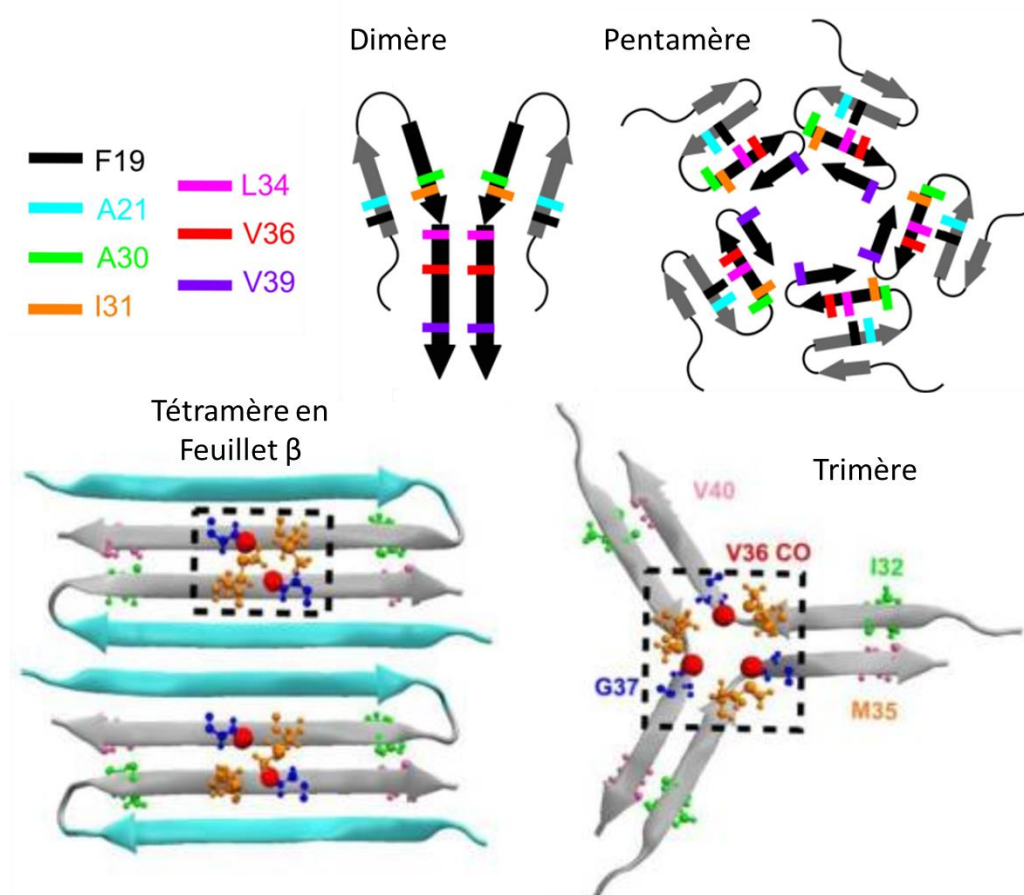
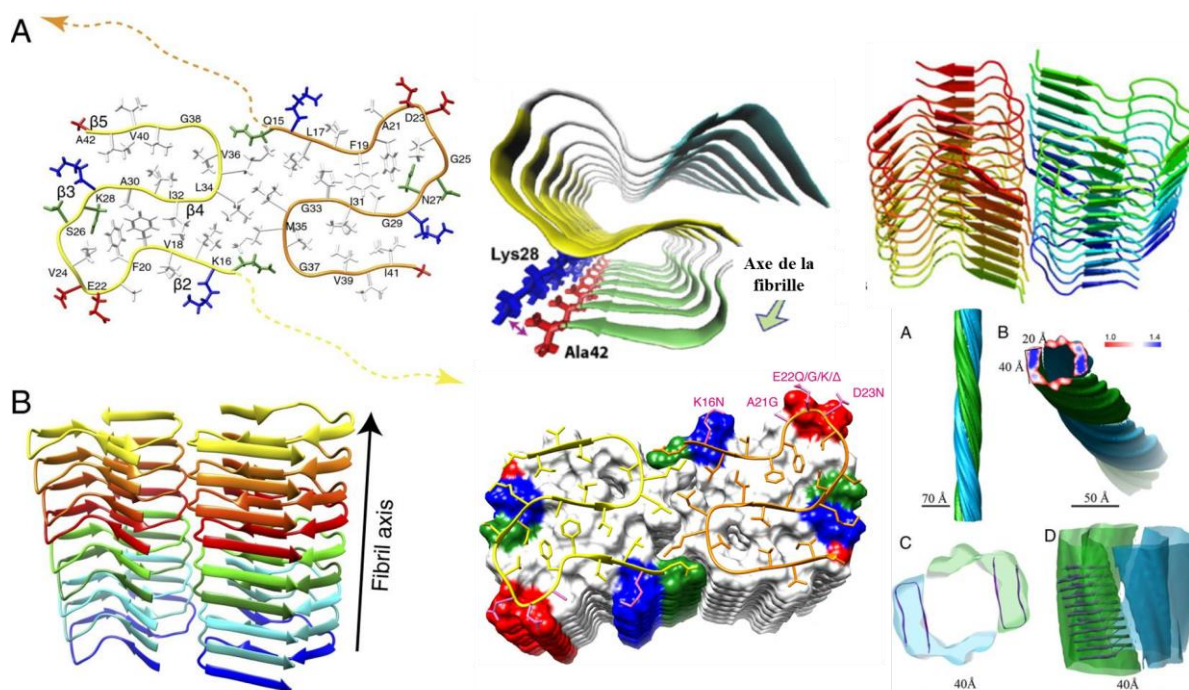


Figure 18 Exemples de modèles d'oligomères d'Aβ<sub>1-42</sub>.<sup>61,62</sup>

Des modèles ont été proposés pour déterminer les structures **moléculaires** d'oligomères de faible poids moléculaires (figure 18). Ces modèles font intervenir des brins β mais pas de la même manière selon le type d'oligomère. Il a été observé, que dans des oligomères de bas poids moléculaire, les monomères prennent une structure en β-hairpin **antiparallèles** entre eux, ce qui serait un exemple d'agrégats dits « off-pathway ».<sup>61,62</sup> Or, la structure adoptée par les oligomères en feuillets β antiparallèles, diffère de celle des fibrilles, en feuillets β **parallèles**.<sup>25,59</sup> Donc il est davantage probable que les oligomères se composent de feuillets β antiparallèles et qu'un **changement de conformation** arrive lors de l'agrégation en protofibrilles.<sup>58</sup> On peut rajouter qu'une étude *in silico* a montré que la partie en cours d'élongation était moins stable dans sa configuration en feuillet β, contrairement à sa partie « basale ».<sup>63</sup> En effet, les monomères d'Aβ ont tendance à adopter une forme plus ouverte vers la fin de la protofibrille (« odd end »), contrairement à ceux en début (« even end »).



**Figure 19** Divers modèles déterminés par RMN en phase solide ou microscopie électronique de feuillets  $\beta$  au sein de fibrilles d' $A\beta_{1-42}$ .<sup>53-55,64</sup>

Enfin, en ce qui concerne les fibrilles d' $A\beta$ , ce sont des empilements de plusieurs protofibrilles de 2 feuillets  $\beta$  parallèles en « **cross  $\beta$ -sheet structure** » avec un pas gauche.<sup>25,59,65</sup> Il est possible de décrire autrement une fibrille. Celle-ci est constituée d'un empilement de sous-unités comprenant deux molécules **symétriques** l'une par rapport à l'autre selon un centre de symétrie situé entre les deux (figure 19).<sup>55</sup> Ces sous-unités sont deux monomères d' $A\beta$  possédant des structures secondaires allant de 3 à 5 brins  $\beta$  selon les études. On peut décrire les protofibrilles comme des feuillets  $\beta$  de 4x11 nm, sous-divisés en région centrale de 4x5 nm avec deux régions périphériques.<sup>66</sup> Au sein de ces protofibrilles se situe une **poche hydrophobe** à l'abri du solvant. Dans les protofibrilles d' $A\beta_{1-42}$ , un **pont salin** se forme entre la Lys<sub>28</sub> et le carboxylate de l'Ala<sub>42</sub> (figure 19), marquant une **différence** avec les protofibrilles d' $A\beta_{1-40}$ .<sup>54,59</sup> D'ailleurs, ce pont salin joue un rôle dans la reconnaissance d' $A\beta$  lors de l'agrégation, excluant ainsi les monomères d' $A\beta_{1-40}$  du processus d'agrégation. La forme des protofibrilles aussi permet de distinguer les fibrilles d' $A\beta_{1-40}$  de celles d' $A\beta_{1-42}$ , puisque ces dernières ont une forme en S.<sup>59</sup> Différents brins  $\beta$  sont liés entre eux au sein d'un même monomère par l'intermédiaire de certains résidus hydrophobes, L<sub>17</sub>, F<sub>19</sub> et F<sub>20</sub> (brin  $\beta$ 2, figure 19 (A)) avec A<sub>10</sub>, A<sub>132</sub> et L<sub>34</sub> (brin  $\beta$ 4, figure 19 (A)).<sup>55</sup> Ces résidus en particuliers, L<sub>17</sub>, F<sub>19</sub> et F<sub>20</sub>, ont une importance dans l'**empilement** des séquences au sein de la fibrille, et constituent donc un **élément central** dans l'agrégation. On peut aussi

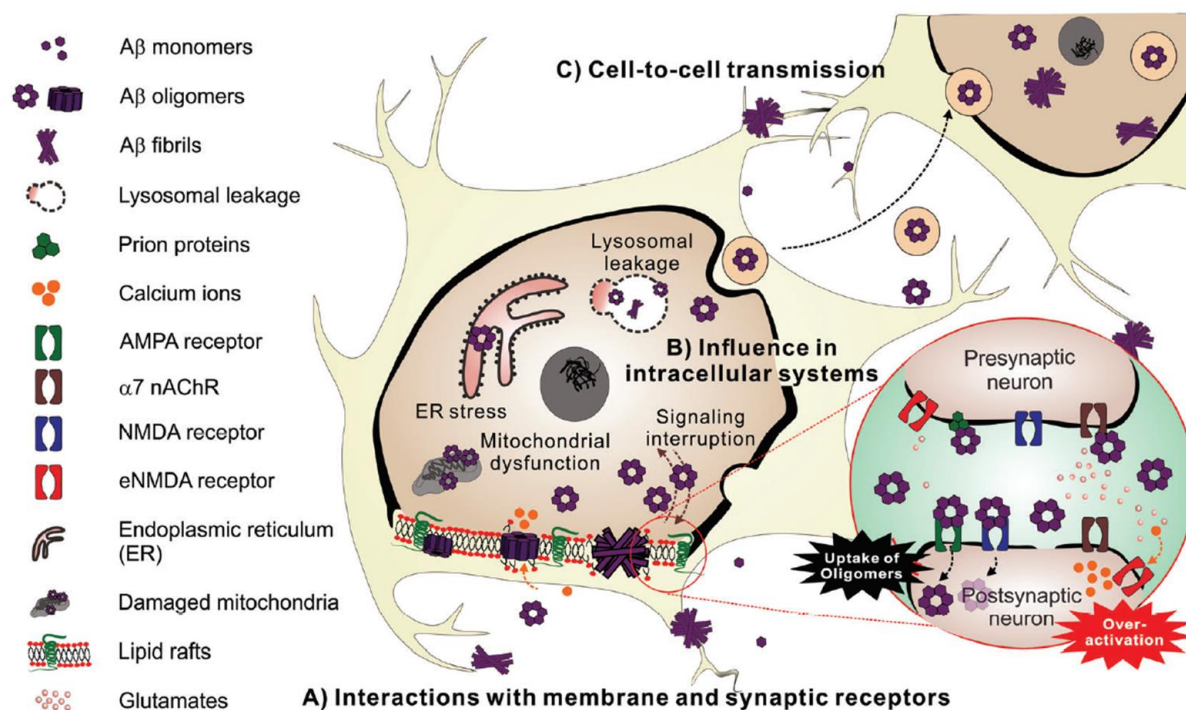
remarquer que la séquence 1-14 n'est pas vraiment **rigide**, contrairement au reste de la séquence 15-42, bien plus **compacte**. Les deux feuillets  $\beta$  interagissent entre eux au moyen des résidus Q<sub>15</sub>-M<sub>35</sub> et L<sub>17</sub>-M<sub>35</sub> en plus des interactions hydrophobes entre L<sub>34</sub> et M<sub>35</sub>, ainsi qu'entre les brins  $\beta$ 1 et  $\beta$ 5.

Un mécanisme de **régulation** pourrait intervenir dans le processus d'agrégation de nouveaux monomères vers les oligomères.<sup>67</sup> L'ATP (adénosine triphosphate) agirait de sorte à prévenir l'agrégation en fixant son adénosine hydrophobe sur la séquence hydrophobe d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>. Cette fixation aurait pour conséquence de transformer les oligomères en espèces « off-pathway », qui ne rentrent pas dans le processus de fibrillation, et possiblement moins toxiques. En favorisant la **dissociation** d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>, l'ATP participerait au polymorphisme des fibrilles.

Il est encore difficile aujourd'hui de définir précisément quelles sont les espèces qui participent à la **cytotoxicité** parmi les fibrilles amyloïdes, même si dans l'ensemble, elles sont responsables de la rupture des tissus nerveux par action de masse. En revanche, il semblerait qu'au regard de leur plus grande solubilité, de petits agrégats seraient **bien plus toxiques** que les fibres amyloïdes elles-mêmes.<sup>68,69</sup> En effet, des études mettent en avant que les oligomères de petite taille provoquent les **pertes de fonctions** (mémoire, apprentissage), contrairement aux monomères d'A $\beta$  que l'on retrouve d'ailleurs chez des patients sains.<sup>39,47,70,71</sup> Malgré la certaine **opacité** qui entoure la structure supramoléculaire et les mécanismes de toxicité neuronale des oligomères, il est tout de même possible de dégager des informations essentielles.<sup>47</sup>

La toxicité des oligomères touche plusieurs des **mécanismes** cellulaires, et finit par induire une perturbation du fonctionnement **cellulaire** et **synaptique**. Dans la MA, **l'hippocampe** est particulièrement touché et ces perturbations entraînent une baisse de l'activité synaptique impliquée dans la formation de **souvenirs**. Pour détailler le processus derrière l'atteinte mémorielle dans la MA, rappelons quelques détails sur le fonctionnement synaptiques. Les synapses entre les neurones ne sont pas figées et évoluent de façon **dynamique** selon les stimulus, ce qui forme la base de la **plasticité synaptique**.<sup>4</sup> La transmission synaptique peut être **facilitée** ou **déprimée**, ce qui se traduit par une augmentation ou une baisse de la libération de neurotransmetteurs dans la fente synaptique.

Lors de la répétition dans l'activité synaptique, la plasticité synaptique prend la forme d'une **potentialisation à long terme (LTP)** ou d'une **dépression à long terme (LTD)**. Dans l'hippocampe, la plasticité synaptique est à l'origine de la formation de souvenirs. Au niveau moléculaire, la LTP se produit par stimulation synaptique de **récepteurs glutamatergiques ionotropes** NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et AMPA (acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique) et de l'inhibition de ces récepteurs résulte un empêchement de la LTP. Le rôle des récepteurs NMDA est donc prépondérant dans la LPT. En effet, le récepteur canal NMDA est perméable à l'ion calcium  $\text{Ca}^{2+}$ , mais bloqué par un ion magnésium  $\text{Mg}^{2+}$  aux concentrations physiologiques. Lors d'une activité synaptique à haute fréquence, la **sommation** des potentiels d'action induit une **dépolarisation prolongée** qui permet l'expulsion du  $\text{Mg}^{2+}$  du canal calcium. Ainsi, le calcium rentre dans le neurone postsynaptique et **l'augmentation** de sa concentration enclenche la LTP. Des potentialisations à plus long terme impliquent d'autres récepteurs, et ont pour conséquence l'activation de **facteurs de croissance** comme le brain-derived neurotrophic factor (BDNF) qui favorise la croissance dendritique et la création de nouvelles synapses. Ainsi, on peut incriminer l'origine des troubles de mémoires observés chez les patients atteints de MA à l'inhibition par les oligomères d'A $\beta_{1-42}$  de la LTP.<sup>72</sup> Des études ont montré que l'injection de dimères et tétramères d'A $\beta$ , mais surtout de **trimères** en particulier détériorait la LPT et donc favorisait la LTD.<sup>73</sup> Ainsi, on peut qualifier ces trimères d'A $\beta$  comme une des **causes principales** de symptômes majeures de la MA, contrairement aux monomères.



**Figure 20** Schématisation des possibles mécanismes de toxicité des oligomères d'Aβ<sub>1-42</sub>.<sup>47</sup> (A) Interactions oligomère-membrane et oligomère-récepteur synaptique. (B) Internalisation d'oligomères après fixation aux récepteurs et dommages occasionnés sur la signalisation intracellulaire et les organites. (C) Transmission intercellulaire des oligomères.

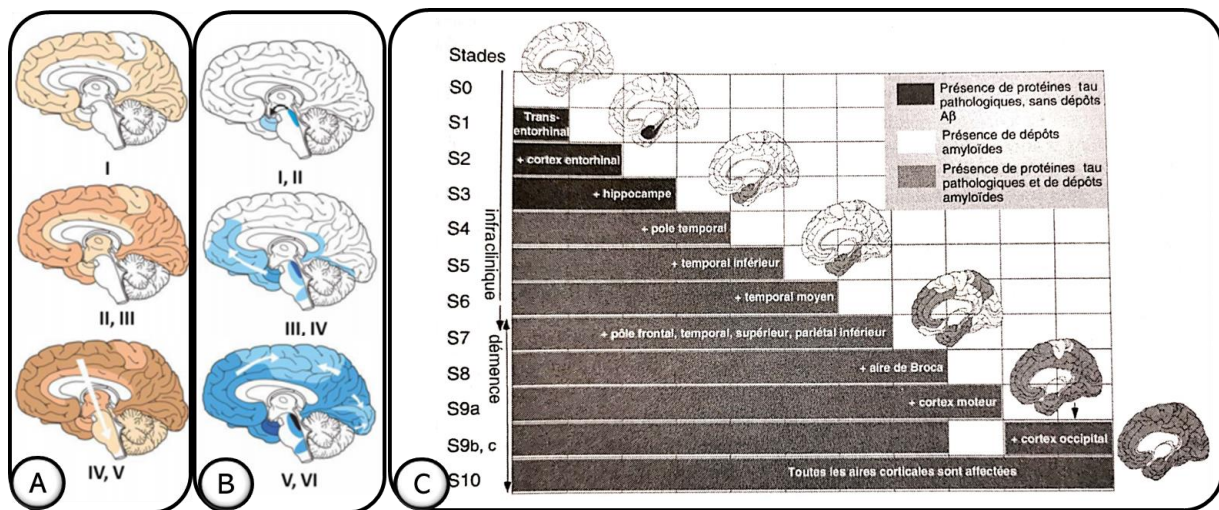
L'action des oligomères solubles extracellulaires d'Aβ peut se détailler davantage et celle-ci est **multiple**. Tout d'abord, ils peuvent se lier aux **membranes** des cellules environnantes ainsi qu'à leurs récepteurs (synaptiques ou non), allant jusqu'à leur internalisation par **endocytose**. Ainsi, les oligomères peuvent induire une réponse cellulaire ou bien commencer à s'agréger en fibrilles qui causeront des dommages aux membranes. En se fixant sur la membrane, dans les zones **riches** en lipides (principalement le cholestérol et les sphingolipides), les oligomères **perturbent la stabilité membranaire**. Cette fixation peut causer une **rupture** de la membrane par formation de **pores**, et ainsi provoquer une **modification des flux ioniques**. Ces pores peuvent se former car les structures riches en feuillet β des oligomères forment des **anneaux**, semblables à des **porines** (protéine de la membrane de bactéries notamment, en forme de tonneau), qui s'insèrent dans les membranes, d'une façon similaire à l'amphotéricine B. Les pores interviennent tôt dans la **toxicité membranaire**, puis laissent place à des **ruptures mécaniques** des membranes lors de la formation des fibrilles. Le flux de calcium s'en voit **perturbé** incidemment.

Les oligomères peuvent aussi se lier aux récepteurs membranaires et induire une réponse cellulaire. Des trimères sont des espèces capables de se fixer aux **récepteurs nicotiniques** à l'acétylcholine  $\alpha 7$  AChR, récepteur canal calcium homopentamérique, des astrocytes, entraînant ainsi une **libération** de glutamate (figure 20).<sup>28,47</sup> Ce relargage de glutamate va **suractiver** les récepteurs NMDA **extrasynaptiques** des neurones de l'hippocampe, dont l'effet est une diminution des transmissions synaptiques (par opposition aux récepteurs NMDA synaptiques), ainsi qu'une potentielle **mort cellulaire**, par l'action du monoxyde d'azote.<sup>74</sup> Une autre voie de signalisation est touchée, et celle-ci inclue la *cellular prion protein* (PrP<sup>c</sup>), protéine liée au récepteur transmembranaire **mGluR5** (metabotropic glutamate receptor 5), présente au niveau postsynaptique, avec laquelle les oligomères peuvent se fixer. Ainsi, l'activation de la **kinase Fyn** par cette fixation va diminuer la présence de récepteur NMDA synaptique par **internalisation** de celui-ci, et entraîner une **perte de densité dendritique** (nombre, longueur, volume des dendrites). Cette perte de densité a pour conséquence une **diminution** de la LPT, en lien avec ces récepteurs NMDA. L'activation de récepteurs NDMA par les oligomères peut aussi amener à **l'activation** d'autres kinases, tel l'AMPK, résultant en **l'hyperphosphorylation** de Tau. À terme, A $\beta$  pourrait désactiver Fyn par l'intermédiaire d'une phosphatase STEP, avec pour conséquence une réduction de l'activité synaptique et une perte de densité dendritique.

Les oligomères sont aussi retrouvés dans le milieu **intracellulaire**, car leur fixation aux récepteurs AMPA et NMDA leur permet d'être internalisés par voie **d'endocytose** (figure 20). Après cette internalisation, divers effets de la fixation des oligomères sur le matériel intracellulaire sont observés. Les dommages portés aux organites, se font par initiation de la **nucléation hétérogène** d'A $\beta$  auprès de sites membranaires des organites prompts à l'agrégation (mitochondries, réticulum endoplasmique, Golgi, endosomes, lysosomes, autophagosomes). Il en résulte des conséquences néfastes tel qu'un **stress** sur le réticulum endoplasmique, la **perturbation** des flux calciques, des **dommages mitochondriaux**, une **protéolyse altérée** ou encore **l'apoptose**. La perturbation de **l'homéostasie** du calcium pourrait être responsable du stress du réticulum endoplasmique, au moyen du relargage de calcium dans le cytosol après action de la phospholipase C (par production d'IP<sub>3</sub> se fixant sur le réticulum). De plus, cette augmentation du calcium cytosolique pourrait activer la **caspase 3**, acteur de l'induction de l'apoptose. La toxicité mitochondriale serait en lien avec le dysfonctionnement des synapses et donc des troubles de la mémoire. Du **cytochrome C** serait

libéré dans le cytosol, après une **dépolarisation** de la membrane induite par les oligomères (augmentation du calcium intracellulaire), et l'apoptose se déclencherait lorsqu'il serait reconnu. De plus, les oligomères sont aussi responsables d'une fragmentation des mitochondries, participant au **dysfonctionnement** de celles-ci. Cette **fission** des mitochondries serait provoquée par la **nitrosylation** exacerbée d'une protéine, la dynamin-related protein 1 (DrP1), causée par les oligomères. Enfin, les dégâts causés sur les membranes des lysosomes et endosomes impactent négativement la **protéolyse**, et des enzymes protéolytiques sont ainsi libérées dans le cytosol, menant ainsi vers l'apoptose. Aussi, cette perturbation entraîne une **baisse du transport** du BDNF, facteur de croissance du système nerveux impliquée dans la plasticité synaptique et la mémorisation.

Les oligomères d'A $\beta$  ont aussi montré une capacité à se **diffuser** dans différentes zones du cerveau. Cette diffusion peut se faire par l'endocytose d'oligomères, ou bien lors de nucléation à proximité des membranes ou organites des **neurones avoisinants**. Un système de transmission intercellulaire semble privilégié, avec un **donneur** et un **accepteur** d'espèces agrégées d'A $\beta$ , au moyen du système de transport **endosomal** des cellules. Dans un autre registre, un lien existe avec les **maladies à prions** et selon cette hypothèse, le comportement de Tau et A $\beta$  est similaire aux prions dans leurs structures quaternaires, leur mécanisme d'agrégation en fibrilles, et leur capacité de diffusion intercellulaire.<sup>75</sup> Cela est appuyé par la présence de plaques séniles chez des patients atteints de maladie de **Creutzfeldt-Jakob**, pathologie à prion PrP<sup>c</sup>, formé à partir d'une **hormone de croissance** mal repliée et capable de s'agréger, tout comme A $\beta$  dans la MA.<sup>76</sup> Ces patients sous traitement à base d'hormones de croissance ont vu se développer des plaques et ainsi, certains cas de MA pourrait être dû à une **transmission interindividuelle**. Enfin, malgré ces débuts d'explication, les mécanismes de diffusion des oligomères d'A $\beta$  restent encore à étudier.



**Figure 21** Progression séquentielle spatio-temporelle dans le cerveau humain. (A) Dépôts d'Aβ (SP) et (B) Dégénérescences neurofibrillaires (NFT) (C) SP et NFT en fonction des stades cliniques de la MA.<sup>77-79</sup>

En 2002, des stades **d'évolution spatio-temporelle** des dépôts amyloïdes et neurofibrilles ont été proposés par Thal et Braak.<sup>79</sup> Ils ont déterminé 5 stades de progression de ces dépôts (de I à V), les **stades de Thal** (figure 21 (A)) ainsi que 6 stades de progression pour les neurofibrilles (de I à VI), les **stades de Braak** (figure 21 (B)). L'apparition de dépôts amyloïdes commence par le néo-cortex et s'étend ensuite au cortex entorhinal puis à l'hippocampe. À l'inverse, les NFTs se retrouvent en premier lieu dans le cortex entorhinal et s'étendent vers l'hippocampe puis le néocortex.

Il est important de noter que la présence seule de peptide Aβ agrégé en SP ne suffit pas pour développer des démences. En effet, il y a une **discordance** entre la localisation des dépôts amyloïde, la mort des neurones et l'apparition des symptômes. Ces derniers se corrélaient d'ailleurs bien mieux avec la **quantité** d'enchevêtrements neurofibrillaires (protéine Tau).<sup>80</sup> En revanche, une forte **densité** de ces neurofibrilles, dans l'hippocampe par exemple ne déclenche pas de symptôme, laissant penser que la formation des neurofibrilles seule **ne suffit pas** et qu'elle doit être associée à l'accumulation **graduelle** de dépôts amyloïdes.<sup>5,81</sup> On peut remarquer qu'aux stades lésionnels **précoces** (stade 1 à 3) (figure 21), ce sont seulement des neurofibrilles que l'on retrouve près de l'**amygdale** et de l'**hippocampe**, et c'est ensuite seulement que les plaques séniles apparaissent (stade 4 et ultérieurs) et se diffusent plus **largement**. L'apparition tardive des SP par rapport aux NFT serait due au fait que l'hyperphosphorylation de Tau trouve son origine dans l'**activation** de voies cellulaires en réponse à la fixation d'oligomères sur des récepteurs membranaires.<sup>35</sup> Ainsi, l'apparition des

symptômes semble se produire à la suite des effets toxiques des oligomères, en accord avec la présence de fibrilles de Tau.

Ces lésions étendues vont toucher les systèmes de **neurotransmission**, en particulier les voies cholinergiques, noradrénergiques et sérotoninergiques, avec une prédominance pour les neurones **cholinergiques**.<sup>5</sup> En effet, on observe une diminution de marqueurs cholinergiques, comme l'enzyme de synthèse de l'acétylcholine, la **choline acétyl transférase**, au niveau du néocortex, de l'hippocampe ou du noyau basal de Meynert (structure innervant le cortex). Or, ces structures cérébrales sont impliquées dans les processus de mémorisation, d'apprentissage et de contrôle de l'humeur, et l'inhibition de cette voie est à la **source** des symptômes cliniques.

#### 1.1.2.3 Autres hypothèses

La MA semble étroitement liée à une pathologie bien connue, le **diabète**, et son implication dans la physiopathologie de la MA pourrait être importante. En effet, il existe un lien désormais établi entre diabète et MA, proche d'un **cercle vicieux**. Le lien est tel que la MA est classée par certains comme diabète de **type 3** et est parfois appelée « Diabète du cerveau ». En effet, une modification du **métabolisme** du glucose est retrouvée chez les patient atteints de la MA et une partie des patients diabétiques présentent des **démences** liées à l'âge.<sup>82-85</sup> L'insulinorésistance observée chez les patients atteints de MA, augmenterait la production et diminuerait la **clairance** d'Aβ, favorisant ainsi l'apparition de démences, même chez les personnes non diabétiques. En retour, ces démences induisent des changements dans le métabolisme au travers de modification du **comportement**, ou encore de la **perte de mémoire**. De plus, il existe une similarité étant donné le type de protéine amyloïdogénique impliqué dans la progression des ces pathologies. Là où Aβ intervient dans la MA, c'est l'**islet amyloid precursor protein** (IAPP), qui intervient dans l'apparition du diabète. Ces deux pathologies sont **multifactorielles** et malgré des similarités et corrélations, il reste encore des éclaircissements à faire, notamment sur les mécanismes métaboliques mis en cause.

**L'homéostasie** dans les cerveaux de patients atteints d'Alzheimer est perturbée par la formation de SP et NFT, et en particulier l'homéostasie des **ions métalliques** tels que le zinc, le fer et le cuivre. Cette modification de l'homéostasie est due au fait que la protéine Tau et Aβ sont des espèces pouvant se **lier** à ces ions métalliques.<sup>39,86</sup> Le cuivre, et le zinc dans une

moindre mesure, est important pour APP car celui-ci intervient directement dans son **métabolisme** (par l'intermédiaire de site de fixation au cuivre sur APP), tandis que le fer régulerait la **traduction** de l'ARNm qui code pour l'APP. De plus, A $\beta$  est capable aussi de se lier au cuivre, dont la présence est montrée au sein d'oligomères et fibrilles amyloïdes (figure 14). La présence de cet ion métallique pourrait en partie expliquer la toxicité des oligomères d'A $\beta$  par leur capacité à produire des **ROS** (reactive oxygen species).<sup>39</sup> Une plus grande concentration en Cu et Zn, et un peu en Fe, a été repérée dans les plaques séniles. Cette **séquestration** au sein des oligomères et des plaques séniles entraîne un **stress oxydatif** par production de ces ROS, induisant une **réaction inflammatoire** ayant pour conséquence un dysfonctionnement des synapses. En résulte une perte d'activité des neurones, jusqu'à leur mort cellulaire. De plus, ce stress oxydatif se fait surtout à la périphérie des plaques séniles, et l'on n'observe pas de modifications des concentrations dans le reste du cerveau et du liquide céphalo-rachidien (LCR). Bien sûr, le stress oxydatif fait intervenir d'autres acteurs comme la GSK3 $\beta$  à cause de son activité au sein des mitochondries.<sup>29</sup> D'autres métaux toxiques pourraient avoir une influence sur la survenue de la MA chez les patients exposés. Un haut taux de plomb, de mercure ou d'aluminium ont une influence sur la production de ROS, mais les études restent assez peu concluantes sur l'impact de ces métaux sur la MA.<sup>87</sup>

En définitive, on peut résumer que le développement de la MA est un **enchaînement** d'évènements (parfois consécutifs, parfois concomitants). Tous d'abord la **protéolyse** de l'APP se retrouve perturbée par des **mutations** dans les formes familiales (gènes codant pour APP ou les prénétilines 1 et 2), ou par des **facteurs de prédisposition**. Trois facteurs de risques sont prépondérants et forme une triade, rassemblant l'âge du patient, son sexe et la présence de l'isoforme ApoE4.<sup>88</sup> Ainsi, la production du peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub> se voit **augmentée** et en résulte une augmentation de sa concentration, induisant un **début d'agrégation** de ce peptide. Le peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub> agrégé forme des **dépôts** en plaques diffuses (en association avec des protéoglycanes et autres substrats qui vont promouvoir l'agrégation). Le peptide A $\beta$ <sub>1-40</sub> lui aussi s'agrège dans des plaques. La réponse inflammatoire à ces dépôts permet **l'activation** de la microglie, la libération de cytokines et l'astrocytose (modification de la forme des astrocytes). **L'homéostasie** neuronale et ionique s'en voit perturbée, et un **stress oxydatif** provoque des lésions, notamment par l'altération de kinases et phosphatases. Les protéines Tau se voient ainsi **hyperphosphorylées** et se forment des enchevêtrements neurofibrillaires. Ce **dysfonctionnement** neuronal, d'abord localisé vers **l'amygdale**, s'étend dans

**l'hippocampe** puis le **cortex cérébral**, induisant des déficits progressifs en neurotransmetteurs, qui se traduisent par les **démences** observées cliniquement.

### *1.1.3 Génétique, épigénétique et formes cliniques de la MA*

Il existe deux grandes formes de la MA, que sont la forme **sporadique** (ou non familiale, ou non héréditaire) et la forme **familiale** ou héréditaire. Ces formes se distinguent l'une de l'autre par l'implication de **mutations** génétiques héréditaires sur certains gènes dans les formes familiales et par des **facteurs environnementaux** dans les formes sporadiques. Dans les formes familiales, trois gènes ont été identifiés chez les sujets atteints de MA, codant pour **APP**, les **prénésilines 1 et 2**, respectivement sur les chromosomes 21, 14 et 1. La participation de la génétique ne s'arrête pas là puisqu'il fut mis en évidence qu'un allèle du gène codant pour **l'apolipoprotéine E4** était un facteur de risque dans les formes sporadiques tardives de la MA.<sup>4,5</sup>

Une forme familiale précoce et très rare, qui concerne seulement une vingtaine de famille dans le monde, fait intervenir des mutations sur le gène codant **l'APP**, localisé sur le chromosome 21. C'est par la ressemblance des observations cliniques et neuropathologiques avec le **syndrome de Down** que ce gène fut incriminé. Ces mutations du gène APP n'ont pas été retrouvées dans les formes les plus tardives de la maladie. La conséquence majeure, observée sur des cerveaux de souris, est une augmentation de la production du peptide  $A\beta_{1-42}$ . Une mutation en amont du **site de clivage** de la  $\beta$ -sécrétase favorise la production des peptides  $A\beta_{1-40}$  et  $A\beta_{1-42}$ , tandis que des mutations sur la partie Cter du site de clivage augmente sélectivement la production d' $A\beta_{1-42}$ . Le seul élément qui distingue cliniquement cette forme de la forme sporadique est l'apparition **précoce** des symptômes.

D'autres mutations, beaucoup plus **fréquentes** dans les formes familiales, responsables d'une augmentation de la production d' $A\beta_{1-42}$  ont été retrouvées sur les gènes codant pour les **prénésilines 1 et 2** (PS-1 et PS-2). Ces protéines membranaires des neurones résident principalement dans le cerveau et auraient pour fonction le **clivage** d'APP en tant que sites catalytiques des  $\gamma$ -sécrétases, d'où l'impact sur la production exacerbée d' $A\beta_{1-42}$ .<sup>89</sup> Une **seule** mutation semble nécessaire pour observer cet effet et la forme de MA sera plus **agressive** et plus précoce si elle atteint le gène PS-1.

Enfin, la forme la plus courante de la MA, la forme sporadique ou spontanée, voit intervenir un allèle du gène codant pour l'**apolipoprotéine E**. Cette protéine est synthétisée par le foie et est responsable du transport du cholestérol. Elle fut retrouvée au sein de plaques séniles et il est supposé que son effet dans la pathologie soit lié au métabolisme des lipides.<sup>90</sup> En effet, l'ApoE4 transporte moins de lipides qu'ApoE3, réduisant son effet dans l'efflux du cholestérol. Malheureusement, le mécanisme par lequel l'APoE4 intervient exactement dans la MA n'est pas encore connu. Cela dit, il est supposé que dans le processus d'agrégation, l'ApoE4 se lie au peptide A $\beta$  et pourrait agir comme point de **nucléation** pour la polymérisation en fibrilles. Trois isoformes de cette protéine sont codées par les trois allèles principaux  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  et  $\epsilon 4$ , située sur le chromosome 19 et l'allèle  $\epsilon 4$  est retrouvé **quatre fois** plus fréquemment chez les patients atteints de MA à début tardif que dans la population générale, et **huit fois** plus si le sujet est homozygote pour  $\epsilon 4$ .<sup>4</sup> Ce qui fait donc de la présence de cet allèle un **facteur de risque** d'apparition de la MA, mais ne la rend pas nécessaire, vu que 20% des formes sporadiques tardives apparaissent sans cet allèle. Il est intéressant de noter que l'allèle  $\epsilon 2$ , lui, est **protecteur** de l'apparition de la MA.<sup>91</sup> L'ApoE3, elle, est plus **affine** pour la protéine Tau que l'APoE4, ce qui expliquerait que la présence de l'ApoE4 est un facteur de risque, puisque l'absence de fixation sur Tau n'empêche plus sa phosphorylation excessive. Enfin, il existerait un lien entre la **flore intestinale** et la présence d'ApoE4, et approfondir ce sujet permettrait de développer de nouveaux diagnostics ou des thérapies agissant préventivement sur la survenue de la MA.<sup>92,93</sup>

Il est aussi possible classer les formes de MA selon la **distribution** de Tau et selon les **régions cérébrales atrophiées**.<sup>94</sup> Selon ce classement, la forme majoritairement retrouvée (à 55%) implique une forte distribution de Tau associée à une atrophie dans l'hippocampe et les aires associatives. S'en suit une forme à prédominance limbique à 21%, une forme épargnant l'hippocampe à 17% et enfin une forme avec peu d'atrophie à 15%.

Ces dernières années, l'**épigénétique** a connu un intérêt grandissant et s'est aussi intéressée aux maladies neurodégénératives. Pour rappel, l'épigénétique s'intéresse aux conditions **d'expression des gènes**, c'est-à-dire comment une cellule va utiliser ou non ses gènes pour fonctionner.<sup>95</sup> L'environnement d'un individu (alimentation, stress, exposition à des toxiques, ...) influe sur l'expression de ses gènes et pose des **marques biochimiques** réversibles ou non sur l'**ADN** (méthylation), les protéines structurantes comme les **histones**

(acétylation), ou encore les **ARNs non codants** (miRNA, lncRNA, ...). Ces marques provoquent l'inactivation de certains gènes par un encombrement stérique (présence de méthyle) ou une modification de l'état de compaction de l'ADN (induite par une désacétylation des histones), empêchant les **complexes enzymatiques** de lire ces gènes. Une particularité de ces marques est qu'elles sont transmissibles par **l'hérédité**, même si c'est encore difficilement détectable chez les mammifères.

Dans le cas de la MA, des études récentes ont mis en évidence une dérégulation de la méthylation de l'ADN dans diverses régions cérébrales, dont l'hippocampe, le cortex cérébral et le cervelet.<sup>96</sup> Parmi les différents mécanismes épigénétiques dans la MA, on peut donner l'exemple du gène APP, qui est déméthylé chez des patients âgés, provoquant une accumulation d'A $\beta$ , tandis que le promoteur de BRACE1 est hypométhylé et aboutirait à une plus grande expression de cette enzyme. Plusieurs désacétylases (HDAC1/2/3/6/9) sont présentes dans les structures cérébrales de souris transgéniques, et sont davantage exprimées que chez les souris normales. L'une d'entre elle, HDAC2, présente dans l'hippocampe et le cortex préfrontal, réduit la densité dendritique, la plasticité synaptique et le nombre de synapses. Enfin, le rôle des ARN non codant est non négligeable dans la MA, comme le miRNA-206, retrouvé chez les souris transgéniques et des patients atteints de MA. Cet ARN empêche l'expression du BDNF, et est considéré comme un biomarqueur fiable de la MA.

Des molécules modulatrices de ces marqueurs épigénétiques pourrait bien voir le jour comme traitements de maladies neurodégénératives.

## **Partie II- Situation thérapeutique et enjeu de la recherche**

### *2.1 Données épidémiologiques dans le monde et en France*

#### *2.1.1 Au niveau mondial*

Selon l’OMS,<sup>97</sup> les démences touchent principalement les personnes âgées et concernaient **50 millions** de personnes en 2017 dans le monde avec **10 millions de nouveaux cas** par an. La maladie d’Alzheimer concerne 60 à 70% de ces cas et se place en **première cause** de démences. D’ici, 2030, ce nombre devrait s’élever jusqu’à **80 millions** et jusqu’à **152 millions** en 2050, en grande partie à cause de l’émergence de cas dans des pays à revenu national brut **faible** ou **intermédiaire**. De plus, le coût est estimé à 118 milliards de dollars en 2015 et à 2 000 milliards de dollars en 2030. Les conséquences de ces démences ne sont pas anodines car en plus d’être une des principales causes **d’infirmité** et de **dépendance** chez les personnes âgées, ces démences impactent les conditions physique, psychologique, sociale et économique des patients et de leur famille ainsi que pour les soignants.

Il est intéressant de noter qu’au regard de la pandémie de **COVID-19** (Coronavirus disease 2019), les personnes âgées sont les plus touchées.<sup>98</sup> Il pourrait donc exister un lien entre la présence de démences et la mortalité surélevée des personnes de plus de 60 ans.<sup>99</sup> En revanche, cela ne veut pas nécessairement dire qu’il y a causalité, et que d’autres études seront nécessaires pour explorer le lien entre démences et COVID-19.

#### *2.1.2 En France*

Selon l’inserm,<sup>100</sup> **900 000 personnes** étaient atteintes de la maladie d’Alzheimer en 2018 et ce nombre devrait atteindre 1.3 millions en 2020, en lien avec l’augmentation de **l’espérance de vie**. Il faut noter que parmi les différentes formes de la maladie, la forme familiale se retrouve dans 10% des cas. S’il est assez rare d’observer la MA avant 60 ans (2% de la population générale), celle-ci atteint 15 % de la population générale à 80 ans et 45% après 85 ans.<sup>4</sup> De plus, les **femmes** sont plus touchées que les hommes avec un ratio de 5 : 3, il est cependant possible que cette différence s’explique par un écart d’espérance de vie et non par des différences biologiques liées au sexe.



**Figure 22** Quelques données épidémiologiques sur la MA en France en 2018.<sup>100</sup>

Selon l'épidémiologiste Joël Ankri,<sup>101</sup> les données des personnes âgées concernant la MA restent difficiles à interpréter, à cause de leur faible nombre, mais que l'augmentation de la prévalence et de l'incidence de la MA est une **tendance** qui se confirme. Ainsi, il confirme qu'une idée précise des données épidémiologiques est **impérative** afin de pouvoir répondre médicalement à cette pathologie dans les années à venir.

## 2.2 Situation thérapeutique

### 2.2.1 Symptomatologie de la MA

La maladie d'Alzheimer se caractérise par une **détérioration progressive** des fonctions cognitives qui altèrent l'aptitude aux activités de la vie quotidienne. La symptomatologie est assez **variable** selon les patients atteints, certains signes pouvant apparaître très fortement dès le début de la maladie tandis que chez d'autres non. La progression de la maladie peut se décomposer en **trois phases** principales.<sup>5,102</sup>

- **La phase de début ou forme légère** : Troubles de la mémoire « de travail » dite aussi « à court terme », du langage et des symptômes psycho-comportementaux (apathie, désintérêt, irritabilité). La mémoire de travail concerne toutes les informations stockées récemment et pour une utilisation immédiate. C'est ce type de mémoire qui est affecté par les trous de mémoire bénins liés à l'âge et par les premiers symptômes de la MA.

- **La phase prédéméntielle ou forme modérée** : Accentuation des troubles de la mémoire et de l'orientation par des altérations cognitives qui définissent le syndrome « **aphaso-apraxo-agnosique** », c'est-à-dire des troubles du langage, de la coordination gestuelle et de la reconnaissance des objets et/ou des personnes. Les troubles psycho-comportementaux persistent et l'autonomie est **réduite** de façon significative. L'aphasie consiste en une difficulté à trouver ses mots ou les confonds, le vocabulaire devient moins riche, les phrases deviennent moins cohérentes, et les conversations sont plus ardues à suivre, résultant en un comportement silencieux et asocial. L'apraxie consiste en une perte de la capacité à effectuer certains gestes du quotidien, résultant en une perte d'autonomie. L'agnosie, quant à elle, se manifeste sous la forme d'une diminution des capacités de reconnaissance des objets et/ou des visages. Il est utile de préciser que ces troubles de la mémoire ou de l'orientation ne sont pas perçus par le patient qui peut trouver injuste les mesures de protection prises et y être **réfractaire**.
- **La phase terminale ou forme sévère** : Commence dès lors de la **perte d'autonomie**, après une phase prédéméntielle de 3 à 6 ans. Cette perte est **totale**, le patient ne pouvant plus ni se déplacer, ni communiquer, il devient grabataire. Le **décès** arrive le plus souvent par malnutrition, déshydratation ou par une pneumonie causée par une fausse route.

Le syndrome **amnésique** est le plus sévère et précoce, restant au **premier plan** du tableau clinique tout au long de l'évolution de la maladie. Ce syndrome résulte des lésions de l'hippocampe, où convergent les informations mémorielles, qui est atteint le plus précocement. Parmi les mémoires à long terme, la mémoire **déclarative** (qui permet l'expression verbale) est plus touchée que la mémoire **procédurale** (motricité). Ces troubles de mémoires peuvent être remarqués par le patient lui-même ou son entourage, mais ne sont pas nécessairement dus à la MA. On retrouve des troubles bénins de la mémoire chez les personnes de plus 50 ans, ou les personnes déprimées, anxieuses ou surmenées, ainsi que chez les patients avec un traitement à base de somnifères ou tranquillisants type benzodiazépines. C'est lors de **l'accentuation** de ces troubles que l'on peut remarquer un début de MA.

**D'autres symptômes** peuvent évoquer la maladie d'Alzheimer chez une personne âgée, sans pour autant être caractéristique de cette maladie : par exemple, une apathie de plus en plus intense, de la fatigue chronique, un besoin soudainement accru d'aide dans les gestes de la vie quotidienne, un état dépressif, des chutes répétées, un amaigrissement, etc.

Cette symptomatologie arrive très **tardivement** dans la chronologie des lésions au niveau des structures cérébrales atteintes. En effet, la **dégénérescence** neuronale serait moins compensée par les neurones fonctionnels à partir du stade 7 (figure 21), stade où la dégénérescence neurofibrillaire va continuer sa progression pour toucher toutes les régions corticales et sous-corticales. C'est ainsi que les lésions cérébrales passent inaperçues pendant plusieurs années jusqu'à un **seuil critique** où les troubles de mémoires deviennent **perceptibles**.

### *2.2.2 Diagnostic et évaluation de la MA*

La haute autorité de santé (HAS) en France a établi en décembre 2011 des **recommandations** de bonnes pratiques médicales concernant la MA et maladies apparentées.<sup>103</sup> Ces recommandations ont été réactualisées en mai 2018.<sup>104</sup> Le **dépistage** rapide pour la maladie d'Alzheimer n'existe pas encore et n'est donc pas généralisé, au vu des connaissances actuelles.

Comme précisé précédemment, le **diagnostic** commence lorsque les patients ou leur entourage commencent à repérer, chez ces premiers, des troubles cognitifs, en particulier de la mémoire, ou comportementaux. Parfois, la démarche diagnostique est proposée à des patients consultant un médecin ou déjà hospitalisés pour des **troubles** liés au déclin cognitif (chute, syndrome confusionnel, accident vasculaire cérébral, ...). Ensuite, vient le temps de **l'évaluation** qui se passe en deux temps.<sup>105</sup> Elle commence par une évaluation **initiale** menée par le médecin généraliste, puis par une évaluation **spécialisée** menée par le médecin spécialiste (neurologue, gériatre ou psychiatre). Le travail d'évaluation est pluridisciplinaire.

L'évaluation initiale permet de rechercher des troubles des fonctions cognitives et/ou un syndrome démentiel. Cela passe par un entretien et un **bilan neuropsychologique** mené surtout par le médecin généraliste et un neuropsychologue, en une ou plusieurs consultations.

Lors de l'**anamnèse**, il faut rechercher des antécédents ou facteurs de risques familiaux ou non pour la MA ou d'autres démences. Il convient aussi d'évaluer l'impact des troubles sur la vie du patient. Lors de l'**examen clinique**, il faut renseigner l'état général du patient ainsi que rechercher une confusion mentale ou des troubles sensoriels et moteurs. À ce stade, l'existence de signes doit plutôt évoquer un autre diagnostic que la MA, puisque l'examen neurologique reste **normal** assez longtemps.

Il est recommandé d'utiliser une méthode d'évaluation globale de manière standardisée à l'aide du **Mini-Mental State Examination de Folstein (MMSE)**. Ce test simple explore les fonctions mentales : la capacité de mémoire à court-terme (capacité à retenir trois mots durant quelques minutes), l'orientation dans le temps et dans l'espace, les capacités de calcul et la compréhension de demandes simples (Annexe 2). Ce test est noté sur 30 points, 25 étant le seuil en-dessous duquel les fonctions mentales sont considérées comme anormalement faibles. Ce test est **faussé** par le niveau d'éducation du patient mais il reste le **test de référence**.<sup>102</sup> L'interprétation de ce test nécessite donc la prise en compte de **nombreux facteurs** tel que l'état affectif, le niveau de vigilance, l'âge ainsi que le niveau socio-culturel et professionnel.

Le score à ce test permet de statuer sur la phase de la maladie atteinte par le patient :

- Un score au MMSE entre 21 et 25 pts correspond à la phase de début.
- Un score au MMSE entre 10 et 20 pts correspond à la phase prédémentielle.
- Un score au MMSE inférieur à 10 pts correspond à la phase terminale.

On peut décomposer plus précisément ce score tel que :<sup>104</sup>

- Un score au MMSE au-dessus de 25 → troubles neurocognitifs légers
- Un score de MMSE entre 21 et 25 → stade léger
- Un score au MMSE entre 16 et 20 → stade modéré
- Un score au MMSE entre 10 et 15 → stade modérément sévère
- Un score au MMSE entre 03 et 10 → stade sévère

Il faut prendre des précautions car certains patients atteints de troubles du comportement, sans être atteints de MA, présentent un score élevé au MMSE.<sup>104</sup>

À ce stade, il est temps de chercher les hypothèses **étiologiques** de l'état du patient. Divers examens peuvent être menés pour investiguer la cause (examens biologiques ou imagerie morphologique). Même si la cause principale de syndromes démentiels est la MA, le diagnostic n'est pas encore posé et pour cela il faut chercher des **signes spécifiques**.

Si l'évaluation initiale est en faveur d'un déclin cognitif, une évaluation plus **spécialisée** est menée, notamment pour mesurer l'atteinte fonctionnelle (troubles cognitifs), psychique et comportementale (dépression), neuropsychologique (mémoire épisodique, attention, fonctions exécutives et instrumentales). De plus, des examens spécialisés doivent être réalisés et ceux-ci sont multiples :

- **L'imagerie par résonance magnétique (IRM)** qui permet d'observer l'atrophie corticale et hippocampique.
- **L'imagerie fonctionnelle avec la tomographie par émission de positons (TEP scan)** qui permet d'observer la baisse du métabolisme et les lésions cérébrales caractéristiques, comme les plaques séniles.

L'IRM et le TEP-scan n'assurent pas un diagnostic positif, mais peuvent être indiquées pour les démences **atypiques**.

- **La ponction lombaire** pour analyse du LCR qui permet de doser des marqueurs spécifiques, la protéine Tau et A $\beta$ , surtout pour écarter un doute chez les patients jeunes.
- **L'électroencéphalogramme** n'est indiqué que selon un contexte clinique particulier.
- **L'étude génétique** pour la recherche de mutation sur APP, PS-1 et PS-2, est indiquée s'il y a des antécédents familiaux de démences.
- **La biopsie cérébrale** est indiquée pour les démences rares.

Le suivi des patients atteints de MA se fait à deux échelles de temps. Un **suivi rapproché** qui a lieu tous les trois mois par le médecin généraliste sur l'état général du patient et sa tolérance aux traitements. Un **suivi standardisé** qui a lieu tous les six mois par le médecin traitant et d'autres praticiens, qui réévaluent le patient avec le MMSE et une évaluation sociale, ainsi que les **aidants**.

### 2.2.3 *Prise en charge*

À l'issu du diagnostic, une **prise en charge** thérapeutique peut être instaurée au moyen de traitements **médicamenteux** ou **non**, spécifiques ou non, toujours selon la HAS. Ces traitements ont pour objectif de préserver le plus **longtemps** possible l'autonomie du patient, soutenir les proches aidants, et prendre en charge les troubles du comportement. Divers **praticiens** peuvent intervenir, tels les orthophonistes, les kinésithérapeutes, et les ergothérapeutes. La prise en charge est elle aussi pluridisciplinaire.

La prise en charge non médicamenteuse relève de la **préservation de l'autonomie** et qualité de vie du patient, de la gestion des troubles chroniques du comportement et du soutien des aidants. La prise en charge médicamenteuse, est **facultative**, au vu de la faible efficacité des médicaments sur le marché.

#### 2.2.3.1 Non médicamenteuse

Les thérapies **comportementales** et **adaptatives** permettent de compenser le handicap dû aux MA. La prise en charge s'appuie notamment sur les compétences préservées (bilan neuropsychologique) et les capacités d'adaptation de la personne malade ainsi que celles de l'entourage. Il s'agit notamment de maintenir une autonomie et un bien-être **acceptables** et compatibles avec le maintien à domicile.<sup>103,104</sup>

Pour cela, plusieurs interventions non pharmacologiques sont mises en place, soit en ambulatoire, soit en institution spécialisée. Ces interventions agissent au niveau psychique, cognitif, fonctionnel et/ou social et sont donc **multidimensionnelles**. Pour les mettre en place, plusieurs disciplines interviennent (ergothérapeutes, infirmiers, kinésithérapeutes, orthophonistes, psychologues et psychomotriciens). Ces interventions prennent aussi en compte le rôle et l'état de santé des aidants.

La prise en charge **psychique** se fait au moyen d'un accompagnement par les médecins qui sont intervenus dans le diagnostic, ainsi que par des psychologues et/ou psychiatre. Peuvent être mises en place des thérapies individuelles ou de groupe, ou encore des thérapies psycho- ou cognitivo-comportementales, etc... Ceci afin de permettre au patient

**d'exprimer** leur ressenti, représentations et craintes, ainsi que pour **identifier** les problèmes psychopathologiques liées aux pathologies neurodégénératives. Un autre objectif est de maintenir une certaine **estime de soi** au fur et à mesure de l'installation d'une dépendance.

Pour l'aspect **cognitif**, la simulation cognitive rassemble des activités de mise en situation ou simulations de situations de la vie quotidienne, permettant de ralentir la perte d'autonomie au quotidien. Les aidants peuvent aussi bénéficier des simulations à un degré différent. Il existe aussi en institution spécialisée la **revalidation cognitive**, qui est une méthode de rééducation neuropsychologique pour compenser un déficit cognitif, aux stades légers de la pathologie. Face aux troubles de la communication (et aussi de la déglutition) durant la phase modérée de la pathologie, une prise en charge par un **orthophoniste** peut être proposée et est plutôt recommandée. L'activité motrice a un impact positif sur les capacités physiques et sur la **prévention** du risque de chutes, mais aussi sur certaines mesures cognitives, aptitudes fonctionnelles et comportementales. Et quant au comportement, une analyse peut être menée pour identifier les facteurs susceptibles de générer, aggraver, ou améliorer de tels comportements. Ces facteurs peuvent être par exemple, la dépression, l'anxiété, ou encore les facteurs psychosociaux ou environnementaux. Des thérapies peuvent être mises en place, même si l'efficacité reste à démontrer (musicothérapie, aromathérapie, luminothérapie, etc...)

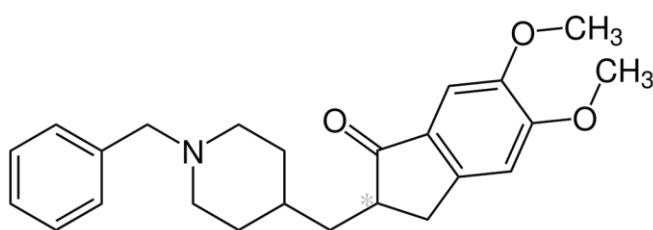
#### 2.2.3.2 Médicamenteuse

Il existe des traitements **spécifiques** pour la MA, même si **aucun** n'est curatif, seulement symptomatique. Leur efficacité est **limitée** et ne sont pas prescrits nécessairement. Les contre-indications et effets secondaires ne leur permettent pas de présenter un **service médical rendu** acceptable pour la HAS. En 2018, les nouvelles recommandations de la HAS concernant la prise en charge médicamenteuse ne concluait pas un service médical rendu suffisant des molécules sur le marché dans les phases légères à modérées.<sup>104</sup> Malgré cette réserve, ces médicaments **conservent** leur autorisation de mise sur le marché (AMM) et la **prescription** reste à l'appréciation du médecin. Ainsi, ces médicaments ne sont plus remboursés depuis le 1<sup>er</sup> août 2018.

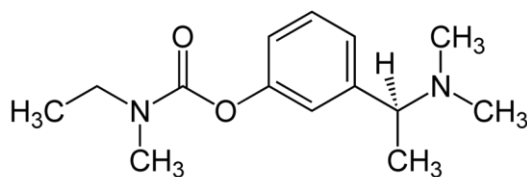
Selon le VIDAL, ces médicaments se regroupent dans deux familles, les **inhibiteurs de l'acétylcholinestérase** et la mémantine, seule représentante ici des **inhibiteurs du récepteur NDMA**, dans la transmission glutamatergique. Leur prescription va dépendre du score au MMSE, et leur prescription est réservée aux neurologues, psychiatres et gériatres ou médecins généralistes spécialisés. Les pratiques recommandées en 2011 par l'HAS établissaient une prescription selon la phase de la MA tel que :

- Phase de début (MMSE > 20) : **Inhibiteur de l'acétylcholinestérase**
- Phase prédémentielle (10 < MMSE < 20) : **Inhibiteur de l'acétylcholinestérase** ou **Mémantine**
- Phase terminale (MMSE < 10) : **Mémantine**

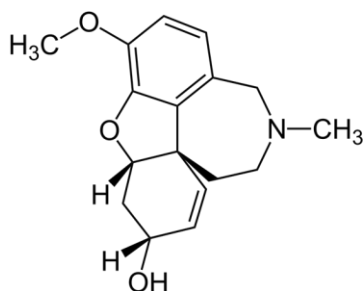
Si la **première** prescription est réalisée par le neurologue, psychiatre ou gériatre, elle peut être **renouvelée** par un médecin généraliste. La dose prescrite est d'abord **minimale**, puis augmentée progressivement jusqu'à la dose maximale tolérée autorisée par le patient. L'observance et la tolérance des traitements doit être assurée, surtout chez les patients **isolés**. Aussi, la poursuite ou l'arrêt du traitement est décidée au regard de la **balance bénéfique/risque** réévaluée régulièrement, du score MMSE, de l'âge, de l'entrée en institution, et selon le contexte de chaque patient.



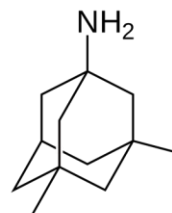
**Donépézil** (ARICEPT®), anticholinestérasique;  
cp 5 - 10 mg



**Rivastigmine** (EXELON®), anticholinestérasique; gélule 1,5 - 3 - 4,5 - 6 mg; dispositif transdermique 4,6 - 9,5 mg/24h; sol. buv. 2 mg/mL



**Galantamine** (REMINYL®), anticholinestérasique;  
sol. buv. 4 mg/mL



**Mémantine** (EBIXA®), antiglutamate; sol. buv. 5 mg/pression;  
cp 10 mg; cp sécable 20 mg

**Figure 23** Spécialités sur le marché indiquées dans le traitement symptomatique de la MA.

○ Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase :

Ils regroupent trois molécules indiquées dans le traitement symptomatique de la MA, le **donépézil**, la **rivastigmine** et la **galantamine**. Elles sont prescrites dans les formes **légères** à **modérément** sévères de la MA. Elles agissent toutes trois par inhibition de l'enzyme responsable de l'hydrolyse de neurotransmetteurs, l'acétylcholinestérase. Son inhibition permet d'augmenter la concentration en acétylcholine dans la fente synaptique, et donc de **favoriser** la transmission cholinergique, dans des zones du cerveau où celle-ci serait diminuée. Cela se justifie par l'atteinte particulière à la voie cholinergique dans la MA.<sup>5,106</sup> Comme déjà précisé, la dose prescrite est augmentée **progressivement** à partir de la posologie minimale.

Les **formes galéniques** sont administrables surtout *per os*, (comprimés secs, sécables, orodispersibles, gélules, solutions buvables), et par voie transdermique (dispositif transdermique pour la rivastigmine seulement). Les effets indésirables de cette famille sont le plus fréquemment **digestifs** (nausées, vomissements et diarrhées), **cardiaques** (bradycardie et arythmie) ou **neuropsychiques** (hallucinations, agitation, agressivité, convulsions, fatigue et crampes musculaires, céphalées, douleurs, vertiges, malaises, etc...). La galantamine expose quant à elle, à un risque d'éruption cutanée potentiellement grave, menant à un possible arrêt du traitement après apparition de rougeurs cutanées. Il existe de **nombreuses interactions** médicamenteuses avec ces substances, à commencer avec les autres inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, mais aussi l'ibuprofène, en vente libre. Un **électrocardiogramme** est recommandé avant la prescription d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase chez les patients ayant des antécédents cardiaques ou sous traitements bradycardisants ( $\beta$ -bloquants par exemple).

Même si le service médical rendu n'est pas estimé suffisant par l'HAS, ces molécules possèdent tout de même une efficacité dans les formes légères et modérées, voire sévère pour le donépézil, sur la stabilisation ou le ralentissement du déclin des fonctions cognitives.<sup>107-110</sup>

- La mémantine, inhibiteur du récepteur au glutamate NMDA

La mémantine est prescrite pour des formes plus sévères que celles où l'on prescrit les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. En inhibant les récepteurs NDMA, la mémantine produit un effet **neuroprotecteur** en évitant un excès de stimulation de ces récepteurs par le glutamate.<sup>111</sup>

Les **formes galéniques** disponibles pour cette substance sont des comprimés ou des solutions buvables. Les effets indésirables les plus fréquents sont **neurologiques** (vertiges, maux de tête, fatigue, somnolence, hallucinations, confusion), **digestifs** (constipation) et **vasculaires** (hypertension artérielle). La mémantine peut interagir avec d'autres médicaments utilisés dans d'autres pathologies neurodégénératives tel que la maladie de Parkinson (anticholinestérasiques et lévodopa). Des interactions existent aussi avec les **neuroleptiques**, qui peuvent être prescrits chez des patients atteints de MA qui présentent de l'agressivité dangereuse pour eux-mêmes ou leurs proches.

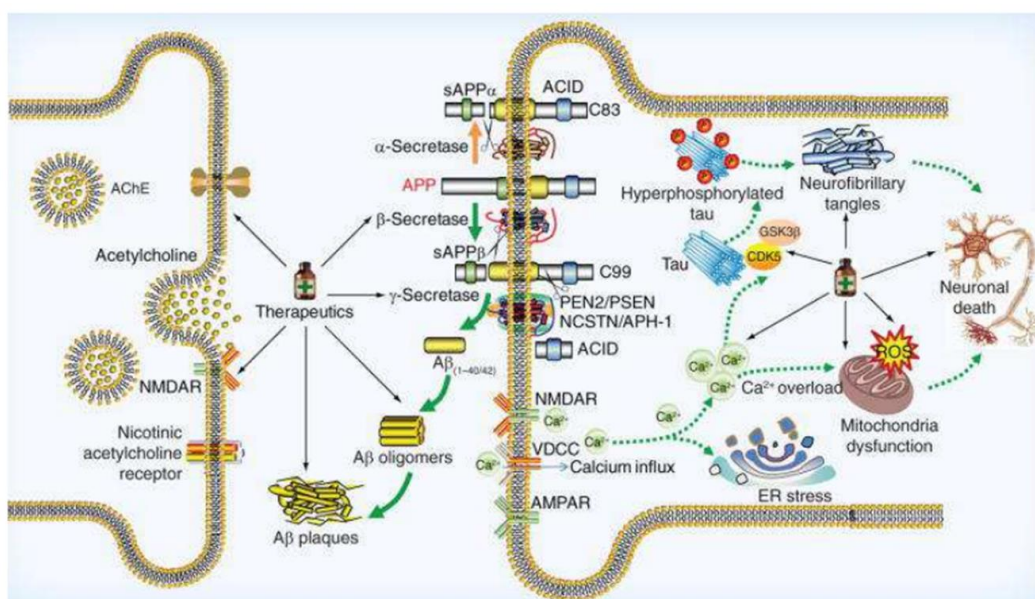
La mémantine est une molécule possédant une **grande sécurité** d'utilisation.<sup>110</sup> Il est aussi intéressant de préciser que la combinaison **donépil – mémantine** en première intention est la plus utile des combinaisons avec la mémantine.<sup>110</sup>

Avec seulement quatre substances médicamenteuses sur le marché, toutes non remboursés du fait de leur **efficacité relative**, il est urgent de trouver des substances capables d'empêcher l'altération des fonctions cognitives chez les patients atteints. De nombreuses voies de recherche vont dans ce sens et certaines molécules sont en phases cliniques. Il reste à établir si ces molécules sont prometteuses ou non.

D'ailleurs, si le traitement de la MA est pluridisciplinaire, le **pharmacien** y est **peu inclus**, en raison d'une moins bonne formation des pharmaciens d'officine sur les thérapeutiques **non-médicamenteuses** et l'aspect **psycho-social** de la pathologie.<sup>112</sup> Cela n'empêche pas d'observer un certain **intérêt** de ceux-ci pour la pathologie, que ce soit pour des raisons familiales, ou parce qu'il n'existe aucun traitement médicamenteux justement.

## 2.3 Stratégies de recherche et traitements en essais cliniques

La grande majorité des voies de recherche concerne **l'inhibition** ou la **réduction de la toxicité** causée par les protéines amyloïdogéniques et leurs interactions (figure 24).<sup>29</sup> Malheureusement, la plupart des molécules qui présentaient des résultats *in vivo* encourageants n'ont pas pu passer la **phase 3 des essais cliniques**, voire les phases antérieures. Ainsi, la recherche de nouvelles substances actives bat toujours son plein et on ne peut qu'espérer qu'un futur médicament en sorte. On peut regrouper les différentes stratégies existantes sous plusieurs catégories : les traitement anti-Tau, les traitements anti-A $\beta$ , les traitements anti-ApoE4 et les traitements autres (anti-inflammatoires, anti-oxydants, ...)



**Figure 24** Représentation schématique des diverses stratégies thérapeutiques dans la MA.<sup>78</sup>

De très nombreuses substances ont été soumises aux essais cliniques ou sont encore évaluées actuellement. Aucune n'a à l'heure actuelle d'autorisation de commercialisation pour une indication dans la MA, malgré des résultats très prometteurs de certaines en début d'essais.

### 2.3.1 Stratégies antiamyloïdes

Depuis une trentaine d'année, la plupart des traitements proposés et étudiés pour traiter la MA interviennent dans la cascade amyloïde. Nous avons connaissance de molécules

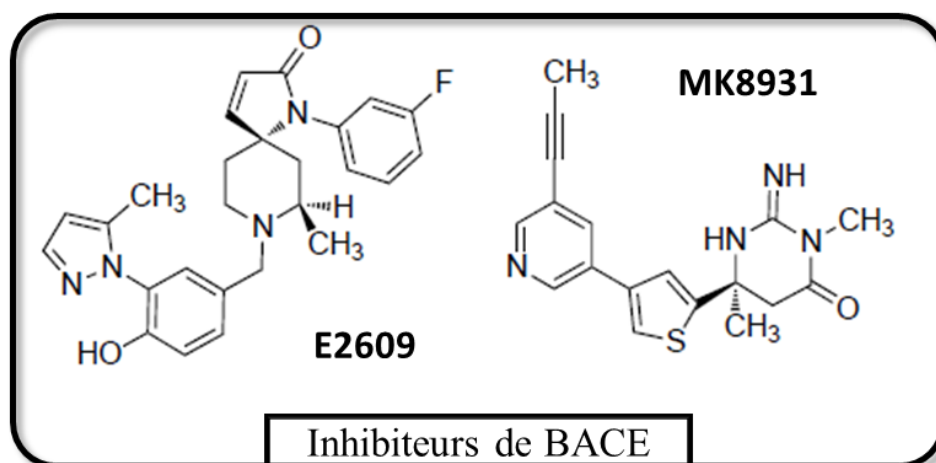
naturelles ou non capables d'inhiber la cascade amyloïde, mais celles-ci ne sont pas forcément de bons candidats médicaments ou sont en phases d'essais cliniques. Une première classification propose deux grands axes de stratégies anti-A $\beta$  qui se concentrent sur, d'une part, la diminution de la production d'A $\beta$  pour éviter la production et les effets des espèces toxiques, et, d'autre part, l'augmentation de la clairance d'A $\beta$  pour les mêmes raisons.<sup>113</sup> Les substances intervenant dans ce premier axe sont des inhibiteurs de sécrétases ( $\beta$ - ou  $\gamma$ -sécrétases). Et le deuxième axe concentre l'immunothérapie, qui développe des anticorps ciblant directement ou non A $\beta$ . Avec l'émergence de nouvelles molécules intervenant à d'autres niveaux de la cascade, une autre classification fut proposée selon laquelle il existe quatre **axes** de stratégies d'inhibition de la cascade amyloïde.<sup>35</sup>

### 1) **Empêcher la production** d'oligomères ou **les éliminer** directement

Ce premier point consiste simplement à empêcher la formation ou réduire la quantité d'oligomères produits. Si le descriptif est simple, il y a beaucoup d'étapes à prendre en compte. Ainsi, les possibilités d'inhibition peuvent agir sur l'expression d'APP, le clivage protéolytique d'APP par les sécrétases, puis sur toutes les étapes de l'agrégation. Parmi les traitements testés en essais cliniques, 27% de ceux en phase II et 57% de ceux en phase III concernent cette catégorie. Les échecs de ces traitements semblent liés à divers facteurs, comme une mauvaise sélection des patients, un manque de tests *in vitro* et des effets secondaires par manque de sélectivité, mais surtout par manque d'efficacité.

#### ○ Inhibiteurs de $\beta$ -sécrétase (BACE)

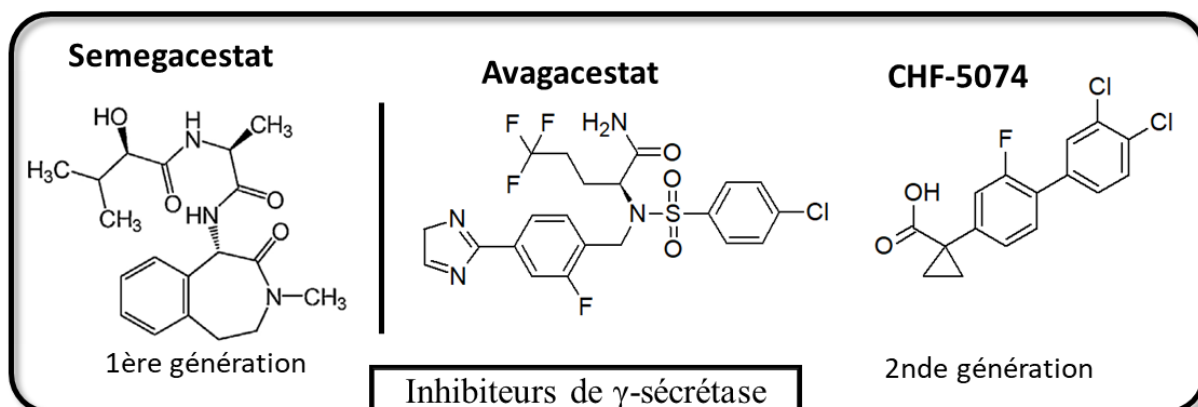
Les inhibiteurs de BACE représentent 6% des traitements en phase II et 18% en phase III. Cibler les enzymes à l'origine de la production du peptide A $\beta$  permet d'empêcher l'accumulation de la forme susceptible de s'agréger. Plusieurs traitements étaient prometteurs mais de nombreux inhibiteurs de BACE, dont le verubecestat (MK8931), ont échoué en 2018 en phase III par manque d'efficacité.<sup>114</sup> En 2019, un seul inhibiteur de BACE se trouvait encore en phase III, E2609 (elenbecestat), mais fut tout de même arrêté pour manque d'efficacité.<sup>115</sup>



**Figure 25** Exemples d'inhibiteurs de BACE en phase clinique.

○ Inhibiteurs de  $\gamma$ -sécrétase

L'autre enzyme intervenant dans la production du peptide A $\beta$ , est moins spécifique sur ses substrats, que BACE.<sup>116</sup> Le semagacestat, anti- $\gamma$ -sécrétase de première génération, est arrivé en phase III mais a échoué à cause d'une balance bénéfice-risque trop défavorable. La plupart des traitements entraînait les mêmes effets secondaires, à savoir des troubles hématologiques, gastrointestinaux, réactions cutanées et changement de coloration capillaire. Ces effets semblent être dû à l'action de la  $\gamma$ -sécrétase dans la voie de signalisation Notch. C'est pour éviter ces effets qu'une deuxième génération a été proposée, afin d'améliorer la sécurité des traitements. Ces molécules de deuxième génération provoquent toujours des effets secondaires lourds (comme l'avagacestat), et peu d'amélioration des fonctions cognitives est observée. En 2019, aucun traitement anti- $\gamma$ -sécrétase n'était en phase III, mais de nouveaux traitements, comme CHF-5074, dérivé de l'anti-inflammatoire flurbiprofène, en phase II a montré une bonne tolérance.



**Figure 26** Exemples d'inhibiteurs de  $\gamma$ -sécrétase en phase clinique.

- Immunothérapies

Les immunothérapies anti-A $\beta$  représentent 8% des traitements en phase II et 18% en phase III. Les immunothérapies sont soit active, soit passive.<sup>35</sup> L'immunisation active passe par l'utilisation de vaccin, tandis que l'immunisation passive passe par l'injection d'anticorps monoclonaux dirigés contre A $\beta$ . En l'an 2000, le premier vaccin AN-1792 contenait un peptide pré-agrégé d'A $\beta$  avec un adjuvant. Malgré les méningites, une réduction de la quantité de dépôts amyloïdes fut observée. Un autre vaccin, CAD-106 ou amilomotide, contient un fragment A $\beta$ <sub>1-6</sub> dérivé de la séquence N-ter d'épitope d'A $\beta$  couplé avec une particule virale, comme séquence immunogénique.<sup>117</sup> Les essais de phase II n'ont pas montré d'effets indésirables compromettants, et les essais de phases II/III se termineront en 2023. Un vaccin utilisant aussi la séquence A $\beta$ <sub>1-6</sub> connecté à une protéine de transport, s'est vu arrêté, ACC-001, après des effets secondaires lourds, liés à une réponse immunitaire forte.

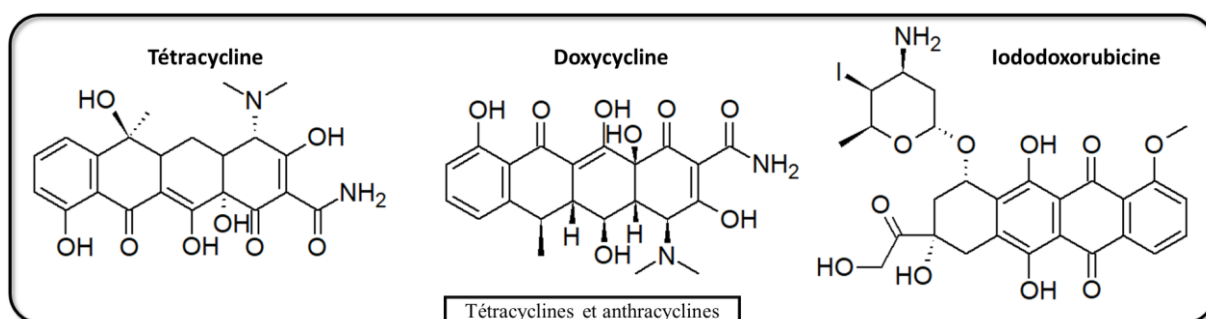
Alors qu'aujourd'hui, elle constitue une part importante de l'immunothérapie contre la MA, l'immunisation passive a d'abord montré des résultats peu prometteurs. La raison invoquée pour expliquer l'échec de ces traitements à base d'anticorps monoclonaux humanisés (immunoglobulines, IgG) est un manque de sélectivité pour les oligomères solubles toxiques.<sup>118</sup> À la place, elles ont été établies pour fixer les monomères d'A $\beta$  et il faut donc modifier le ciblage de ces traitements. Ce manque de sélectivité est aussi à l'origine des doses importantes administrées. Ainsi, ACU-193, une IgG2 humanisée, a montré une sélectivité 500 fois meilleure pour les oligomères que pour les fibrilles et 2500 fois meilleure que pour les monomères.<sup>35,119</sup> Il reste encore à entamer les essais cliniques pour en voir les effets. Deux autres anticorps, le Crenezumab et l'Aducamumab, prennent aussi le parti d'augmenter leur sélectivité pour les oligomères, mais principalement les dimères. Or, ce ne sont pas les espèces les plus toxiques parmi les oligomères d'A $\beta$ . Le premier anticorps humanisé, le Bapineuzumab, était dirigé contre la séquence N-ter A $\beta$ <sub>1-5</sub> et un anticorps monoclonal plus récent, la Solanezumab, cible quant à lui le domaine central d'A $\beta$ . Cette différence aboutit à une augmentation des taux d'A $\beta$  dans le LCR, venant du clivage des fibrilles dans les dépôts amyloïdes. Enfin, le Gantenerumab, un anticorps humain est capable de se fixer à A $\beta$  par deux sites, sur la séquence N-ter et le domaine central.

En 2021, au moyen d'une procédure accélérée, la FDA (Food and Drug Administration) a autorisé la commercialisation de l'aducanumab (Aduhelm®).<sup>120</sup> Malgré cette commercialisation donnant espoir à de nombreux patients, des doutes subsistent quant à son efficacité, notamment dans le cas d'un des deux essais de phase III.

○ Agents anti-agrégants

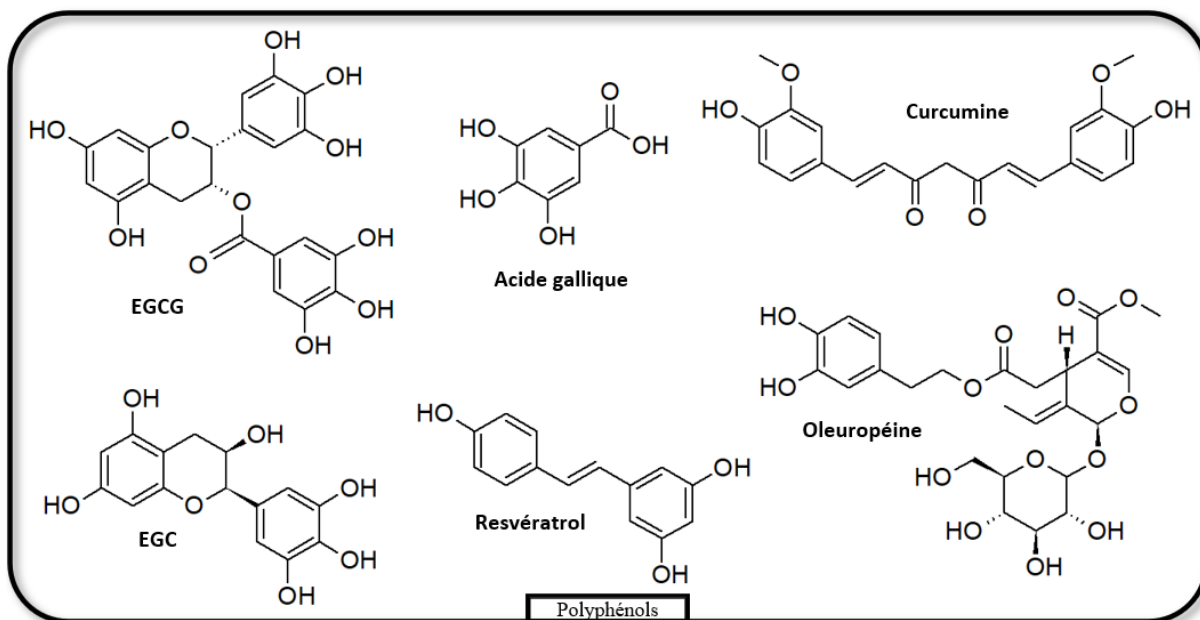
Cette catégorie regroupe toutes les petites molécules (substances naturelles, peptides et peptidomimétiques) qui sont utilisées pour empêcher le peptide A $\beta$  de s'agréger en interagissant avec lui ou les espèces qu'il forme en s'agrégeant, afin d'empêcher leurs effets toxiques. L'un des premiers composés qui a montré une capacité à inhiber l'agrégation d'A $\beta$  est le rouge congo, un composé diazoïque utilisé comme colorant et indicateur de pH.

**Substances naturelles :** Des substances naturelles sont déjà connues pour les effets qu'elles montrent dans l'inhibition de l'agrégation de protéines amyloïdogéniques.<sup>121</sup>



**Figure 27** Exemples de tétracyclines, anthracyclines antiamyloïdes.<sup>121</sup>

Les tétracyclines et anthracyclines sont deux familles de molécules naturelles d'origine bactérienne (*Streptomyces sp.*) déjà utilisées en médecine humaine, comme anticancéreux ou encore comme antibiotiques. Elles inhiberaient l'amyloïdogénèse par interaction hydrophobe grâce à leur région hydrophobe polycyclique aromatique (figure 27).<sup>121</sup> Elles peuvent se lier à différentes espèces de l'agrégation, que ce soient les différents oligomères ou les fibrilles, mais pas aux monomères. La modulation des substituants hydrophiles permet de moduler l'affinité pour ces différentes espèces, oligomères, ou fibrilles. De plus, la fixation de ces molécules aux oligomères et fibrilles, induit un réarrangement de la structure de ces dernières en dépôt insolubles aux propriétés différentes des fibrilles amyloïdes.



**Figure 28** Exemples de polyphénols antiamyloïdes.<sup>121</sup>

Les polyphénols végétaux forment un vaste ensemble de substances. Leur caractéristique structurale principale est la présence d'un ou plusieurs phénols, obtenu par voies de biosynthèse, celle de l'acide shikimique et celle des polyacétates.<sup>122</sup> Ils sont déjà connus pour leurs effets antioxydant et anticancéreux, et à cela s'ajoutent des propriétés sur la prévention et le retard de l'agrégation de protéines amyloïdogéniques.<sup>121</sup> Les noyaux aromatiques ainsi que les fonctions phénoliques de ses substances sont responsables de leurs propriétés antiagrégant et antioxydante. Malgré des propriétés pharmacologiques intéressantes, ces substances possèdent une mauvaise biodisponibilité, compromettant leur potentiel thérapeutique.

Le gallate d'épigallocatechine (EGCG), ester de l'épigallocatechine (EGC) et de l'acide gallique est un flavonol ainsi que la catéchine majoritairement retrouvé dans les feuilles de thé vert. L'EGCG prévient l'agrégation de protéines ou peptides, dont A $\beta$ , en la redirigeant vers la formation d'agrégats « off-pathway » pauvres en feuillets  $\beta$ , non toxiques. L'EGCG est aussi sensible à l'auto-oxydation, modifiant sa biodisponibilité, mais les métabolites auraient une encore plus forte activité dans l'inhibition de l'agrégation. L'EGCG a terminé son évaluation en phase III en avril 2020, et n'a montré aucune efficacité sur le critère d'évaluation principal, en plus de causer des dommages au foie de certains patients.<sup>123</sup>

Le resvératrol est un stilbène présent dans les raisins, les mûres, le vin rouge ou encore les cacahouètes.<sup>121</sup> Il possède des propriétés neuroprotectrices, qui seraient liées à son caractère antioxydant, antiinflammatoire et à sa capacité à induire l'expression d'enzymes antiviellissement, les sirtuines.<sup>124</sup> Le resvératrol peut inhiber l'agrégation d'A $\beta$ , et aussi de IAPP, non pas par inhibition de l'oligomérisation mais par retard de la formation de fibrilles et par désagrégation de celles-ci, aboutissant à des oligomères structurés différemment, et incidemment moins toxiques. En 2013 et 2014, le resvératrol a échoué à montrer une efficacité supérieure au placebo dans des essais de phase II.

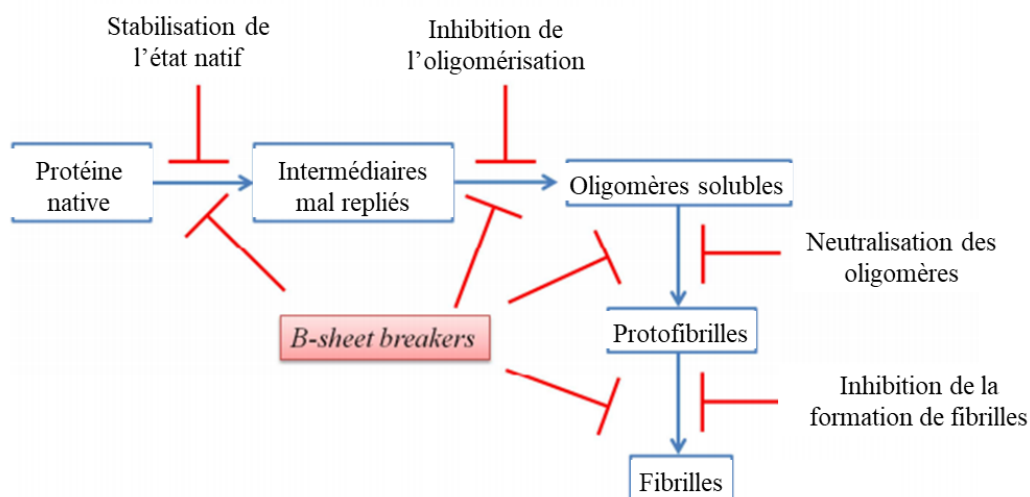
La curcumine est un pigment phénolique jaunâtre trouvé abondamment dans le curcuma, plante rhizomateuse herbacée d'Asie du sud-est utilisée en médecine chinoise et ayurvédique notamment.<sup>121,125</sup> Cette molécule interfère avec l'agrégation d'A $\beta$ , de Tau, de l' $\alpha$ -synucléine, et la PrP. Cependant, aucune preuve pour la PrP ne vient appuyer l'hypothèse que cette fixation empêche l'apparition d'espèces toxiques. Cette molécule prévient l'oligomérisation d'A $\beta$  et Tau, redirige la formation d'oligomères vers des espèces moins toxiques, et désagrège les fibrilles. La faible solubilité de la curcumine étant un frein majeur à son efficacité, des dérivés plus hydrosolubles sont en cours de développement.

L'oleuropéine est le composé phénolique principal de l'huile d'olive. En plus d'inhiber l'agrégation de beaucoup de protéines amyloïdogéniques (dont Tau et A $\beta$ ), elle possède des propriétés antiinflammatoire, antitumorale, et antioxydante.<sup>121</sup> Son mode d'inhibition fonctionne de façon similaire aux autres substances déjà évoquées.

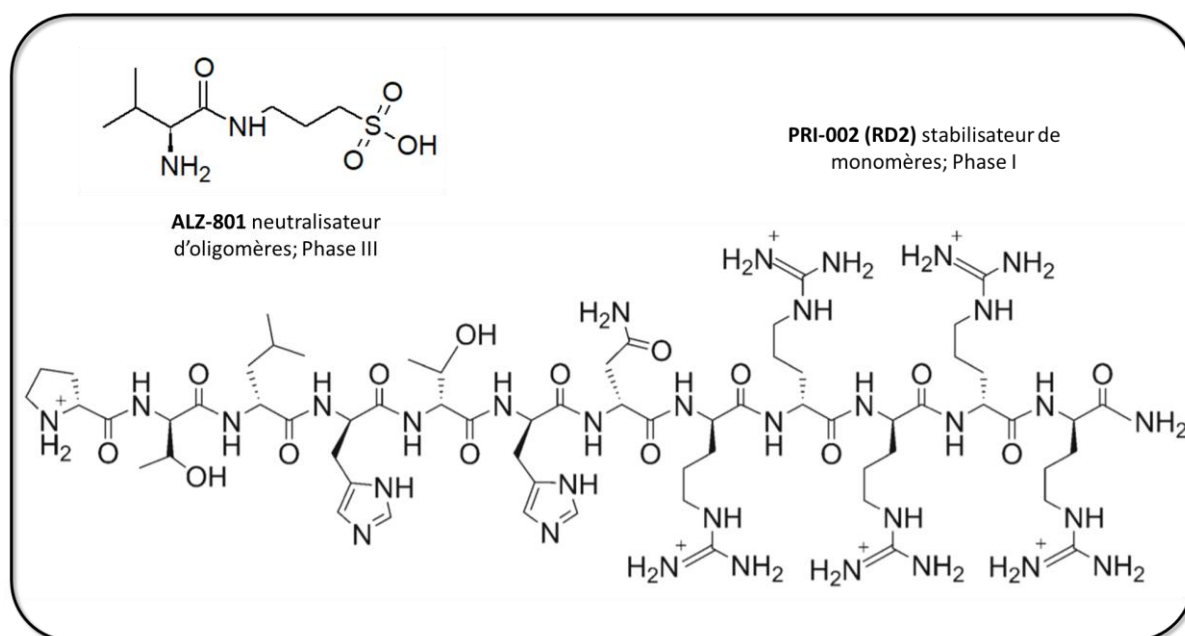
Un mélange d'oligosaccharides linéaires acides extrait d'une algue brune, le GV-971, a montré des résultats prometteurs en phase III.<sup>126</sup> Ce traitement agirait à la fois en inhibant l'agrégation d'A $\beta$ , la neuroinflammation, et le déséquilibre du microbiote intestinal. Un nouvel essai de phase III est prévu, selon Alzforum.org.

***$\beta$ -sheet breakers*** : Une famille de petites molécules, a été développée spécifiquement pour inhiber l'agrégation de protéines amyloïdogéniques. Il est fait référence à cette famille par le terme «  $\beta$ -sheet breakers », «  $\beta$  breakers » ou disrupteurs de feuillets  $\beta$ . Ces  $\beta$ -sheet breakers regroupent des acides aminés, peptides, et peptidomimétiques ayant pour rôle la perturbation ou la rupture des interactions entre protéines. Plus précisément, l'intérêt est

d'empêcher les interactions entre les différentes espèces actrices de l'agrégation d'A $\beta$ , et peuvent donc agir à différentes étapes de ce processus (figure 29).



**Figure 29** Possibles voies d'inhibition de l'amyloïdogénèse par utilisation de « disrupteurs » de feuillets  $\beta$  ou «  $\beta$ -sheet breakers ». <sup>78</sup>



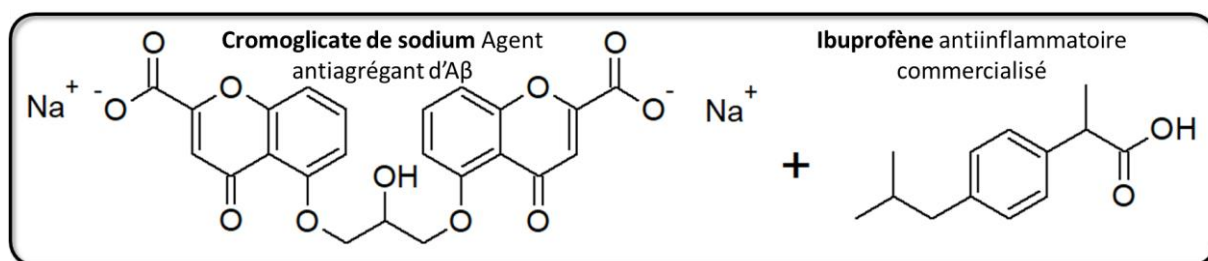
**Figure 30** Exemples de  $\beta$ -sheet breakers en essai clinique.

L'ALZ-801 est une prodrogue de l'homotaurine (tramiprozate ou acide 3-amine-1-propanesulfonique), à laquelle est rattachée par fonction amide de la D-valine.<sup>127</sup> Une fois, dans l'organisme, l'ALZ-801 est convertie en homotaurine, elle-même métabolisée en acide

3-sulfopropanoïque, qui possède l'activité inhibitrice des oligomères toxiques d'Aβ. Un prochain essai clinique de phase III devait débuter début 2021.

Le PRI-002, anciennement RD2, est un dodécapeptide développé pour se fixer et stabiliser les monomères d'Aβ<sub>1-42</sub>.<sup>128,129</sup> Les D-peptides présentent l'avantage de pouvoir être administré *per os*, ce qui n'est pas le cas des L-peptides. Des essais de phase I furent menés en 2018 et 2019, qui ont montré la bonne sécurité du PRI-002, donnant des résultats pour l'instant prometteurs.

**Combinaisons de traitement :** Enfin, il est pertinent d'évoquer les combinaisons de traitements qui, seuls, échouent à produire un effet thérapeutique significatif. AMX0035 est une combinaison de deux substances (le phénylbutyrate de sodium et l'acide tauroursodésoxycholique) qui bloquent de façon synergique le stress mitochondrial et du réticulum, actuellement en phase II.<sup>35,130</sup> ALZT-OP1 est une combinaison de petites molécules, la cromoglicate de sodium, un antihistaminique indiqué dans l'asthme, et l'ibuprofène, un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). Là où le cromoglicate de sodium inhibe *in vitro* l'agrégation d'Aβ, l'ibuprofène a pour rôle d'inhiber la neuroinflammation.<sup>35,131</sup> Cette combinaison était toujours en phase III d'essais cliniques en 2019.

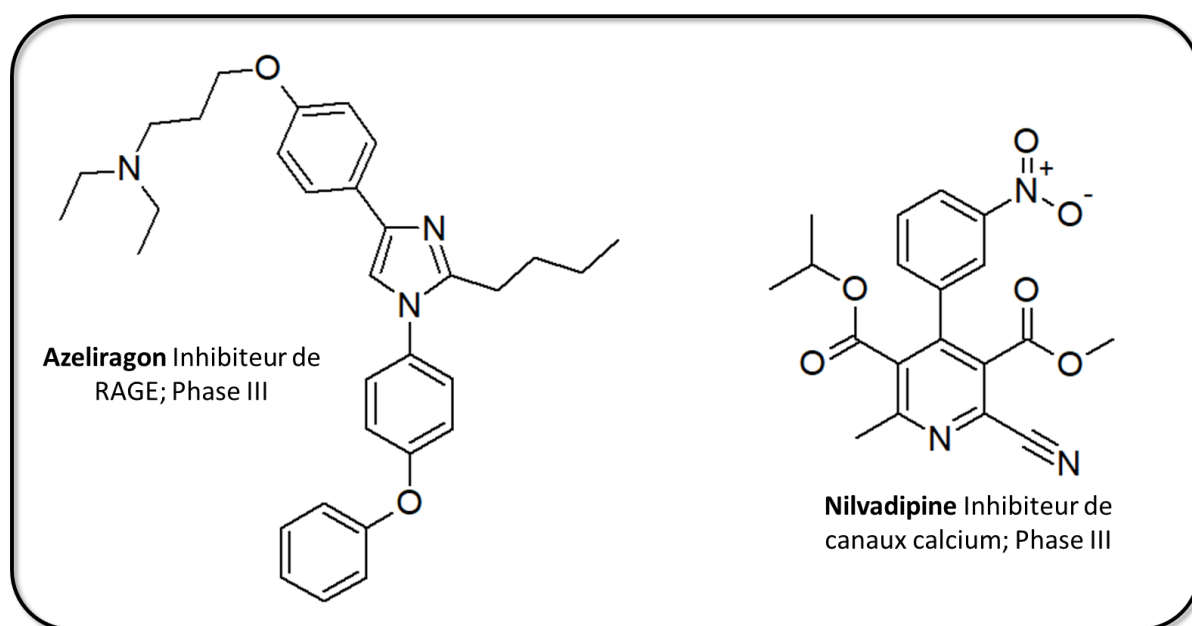


**Figure 31** Structures des substances actives dans l'association ALZT-OP1.

## 2) Bloquer la fixation des oligomères aux récepteurs

Bloquer les récepteurs peut permettre d'inhiber les effets de la fixation des oligomères à ces récepteurs, mais seuls quelques récepteurs sont ciblés par des substances en cours d'évaluation clinique. On peut citer les récepteurs RAGE, sigma-2 (impliqué dans l'homéostasie du cholestérol), canaux calciques et à l'insuline.<sup>35</sup> Plusieurs traitements ont

émergé pour agir sur ces récepteurs, et le lien entre MA et diabète est mis en avant par les stratégies agissant sur le récepteur à l'insuline. L'azeliragon est une petite molécule inhibitrice de RAGE, actuellement en phase III jusqu'en 2023.<sup>132</sup> Cette molécule aurait un double effet, en agissant à la fois sur la clairance d'Aβ, et en réduisant l'inflammation et le stress oxydant. Le récepteur sigma-2 prend part, entre autres, aux voies de signalisation neuronale et l'elayta, un antagoniste de sigma-2, agirait en compétition de la fixation des oligomères d'Aβ avec sigma-2, réduisant ainsi la toxicité synaptique.<sup>133</sup> L'elayta a reçu les financements pour des essais en phase II. Une molécule proche de la nifédipine, dihydropyridine indiquée dans l'hypertension artérielle notamment, la nilvadipine, antagoniste de canaux calciques, fut testée en phase III jusqu'en 2018, mais n'a pas produit d'effet significatif.<sup>134</sup>



**Figure 32** Exemples d'inhibiteurs de récepteurs RAGE et canaux calcium en phase clinique.

Il existe une relation entre diabète et MA, et c'est pour cela qu'ont été testées plusieurs substances déjà sur le marché. La metformine, utilisée en première intention dans le diabète de type 2, a permis de réduire l'inflammation, le stress oxydatif et la production de peptide Aβ par régulation de BACE1. En revanche, elle provoquerait des carences en vitamine B12, conduisant à la survenue de démences.<sup>135</sup> Un effet positif sur les fonctions cognitives de la metformine a été observé dans un essai de 2013. Des essais débutés en août 2020, sur des patients en surpoids, avec des troubles cognitifs légers et des résultats sortiront en 2024. Une autre substance commercialisée, le liraglutide, un analogue de l'hormone incréétine Glucagon-like peptide 1 (GLP-1), a été testé en 2014 et a montré une amélioration sur 3 des 5 critères

évalués, en plus de montrer une bonne sécurité d'utilisation.<sup>136</sup> Enfin, la pioglitazone, une thiazolidinedione agoniste sélective des récepteurs nucléaires « peroxisomal proliferator activated receptor » gamma (PPAR- $\gamma$ ), utilisé comme antidiabétique afin de diminuer la résistance à l'insuline, est actuellement en phase III.<sup>137,138</sup> Sa présence dans ces essais s'explique par le rôle que joue PPAR- $\gamma$  dans l'inhibition de la neuroinflammation provoquée par la microglie en réponse aux dépôts amyloïdes. Ainsi, le relargage de cytokines se voit diminué et la phagocytose d'A $\beta$  augmente.

### 3) **Interférer avec les voies de signalisation** induites par les oligomères

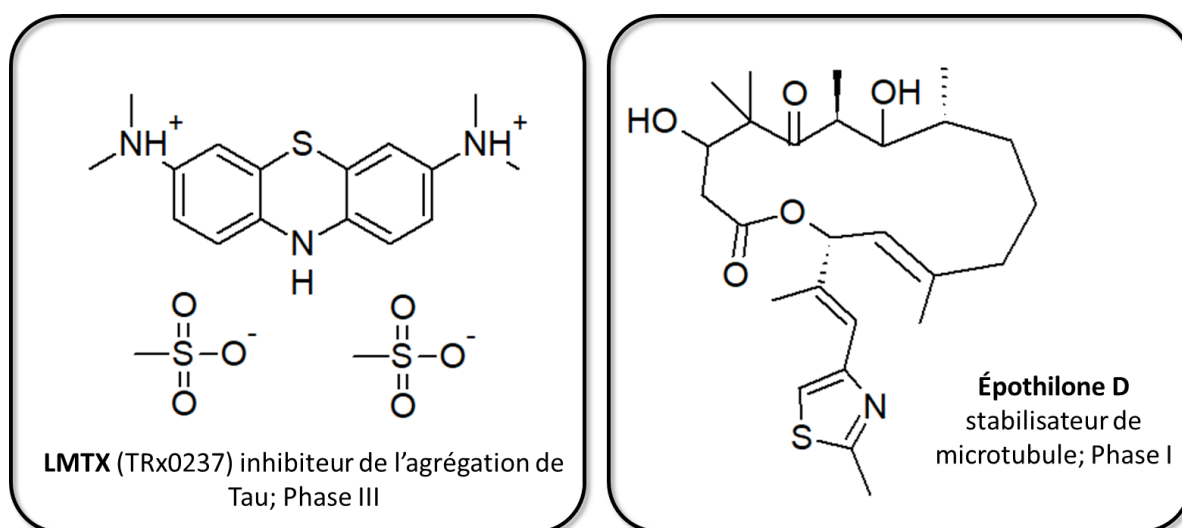
Ce point est moins étudié dans le cas spécifique d'Alzheimer, mais permet de faire intervenir des classes de molécules que l'on retrouve dans d'autres domaines d'études, tels que les autres tauopathies ou encore le cancer. En effet, interférer avec les voies de signalisation peut se faire par l'inhibition de kinases (Tyrosine Kinases, Fyn, GSK3 $\beta$ /CDK5). Des inhibiteurs de kinases tel que le saracatinib, visent la voie de transduction PrP<sup>Sc</sup>-mGluR5 et Fyn, et celui-ci est encore en phase II d'essais cliniques, ouvrant la voie à d'autres inhibiteurs de Fyn.<sup>139</sup> Un autre inhibiteur, le nilotinib, lui, cible la kinase Abl et peut aider dans l'élimination des SP et NFTs par activation de l'autophagie. Ce dernier est aussi en phase II. Enfin, on peut aussi citer le masitinib, inhibiteur, entre autres, des kinases Fyn et Lyn, actuellement en phase III.<sup>140</sup>

### 4) **Diminuer la quantité d'effecteurs secondaires** comme Tau

C'est la catégorie qui regroupe le reste des substances arrivées en phases II (8%) et III (4%) d'essais cliniques. Les stratégies visant Tau se sont **accentuées** ces dernières années, notamment en raison des faibles résultats des traitements ciblant A $\beta$  dans les phases cliniques. Initialement, les **stratégies ciblant Tau** se concentraient sur des inhibiteurs de kinases contre l'hyperphosphorylation, des inhibiteurs de son agrégation, ou encore des stabilisateurs de microtubules et avec le temps ont émergé des immunothérapies ciblant directement Tau.<sup>141</sup> Depuis, les substances se retrouvant souvent en phases d'essais cliniques s'incluent dans ces **immunothérapies** ciblant directement Tau.<sup>116,141</sup>

La plupart des essais cliniques testant des traitements anti-Tau portent principalement sur certains types de traitements :<sup>113,114,116,141</sup>

- l'activation de phosphatases (PP2A) ;
- des immunothérapies ciblant Tau ;
- l'inhibition de kinases à l'origine de l'hyperphosphorylation de Tau, comme la CDK5 ou la GSK3 $\beta$  ;
- l'inhibition de l'agrégation de Tau.



**Figure 33** Exemples de molécules ciblant Tau en phase clinique.

Il existe d'autres types de molécules anti-Tau, en nombre plus réduit, qui peuvent agir par exemple sur l'acétylation de Tau, son expression ou encore la stabilisation de microtubules. On peut citer comme petite molécule l'épothilone D, stabilisateur de microtubule, qui a montré une bonne innocuité et une petite efficacité chez la souris, mais qui a été arrêté dès la phase I.<sup>142</sup>

Parmi les substances anti-Tau en phases d'essais cliniques, plusieurs présentent un intérêt, comme le méthylthioninium méthanesulfonate, appelé LMTX (ou TRx0237) a atteint plusieurs fois la phase III d'essais cliniques mais les résultats n'ont pas montré d'effet significatif contre placebo.<sup>143</sup> Les résultats d'un autre essai clinique pour le LMTX étaient attendus pour décembre 2020. AADvac1 est un vaccin consistant en une peptide constitué des résidus 294 à 305 de la séquence de Tau et figure parmi les immunothérapies actives anti-Tau. Elle est capable de reconnaître la protéine Tau physiologique de sa version pathologique, et

permet de générer une production suffisante d'anticorps. Ce vaccin est en cours d'évaluation de sa toxicité. Parmi les immunothérapies passives, figure le Zagotenemab, pensé pour cibler et neutraliser les agrégats de Tau. Malgré l'engouement certain pour l'immunothérapie, aucune substance immunisante anti-Tau n'a produit d'effet significatif suffisant.

### 2.3.2 Stratégies non-anti-amyloïdes

S'attarder sur la cascade amyloïde et Tau ne doit pas faire oublier d'autres aspects de la pathologie. Ainsi, des stratégies visant l'apolipoprotéine ApoE4 ont émergé, au moyen de thérapie génique, de molécules interagissant directement avec elle ou d'autres approches diverses.<sup>90,113</sup> Cette approche concernera préférentiellement les personnes présentant l'allèle  $\epsilon 4$  pour l'isoforme ApoE4, puisqu'il reste 20 % des formes de MA tardives qui n'ont pas cet allèle. Il est possible de cibler l'ApoE4 par diverses méthodes et elles ciblent précisément l'ApoE4 afin de limiter le gain de toxicité neuronale. Ces méthodes se distinguent selon qu'elles ciblent des propriétés dépendantes ou non d'A $\beta$  (figure 34), en plus de la thérapie génique, traitement semblant idéal, mais dont la faisabilité et les effets restent à démontrer.

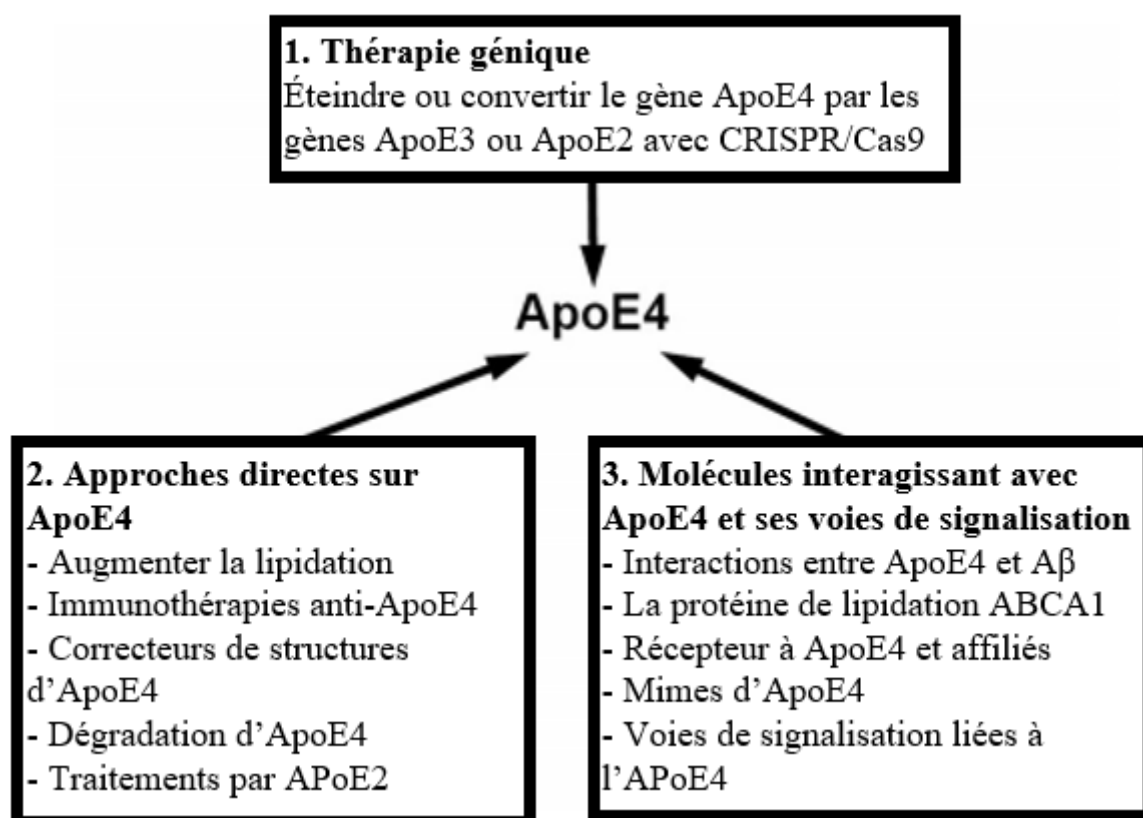
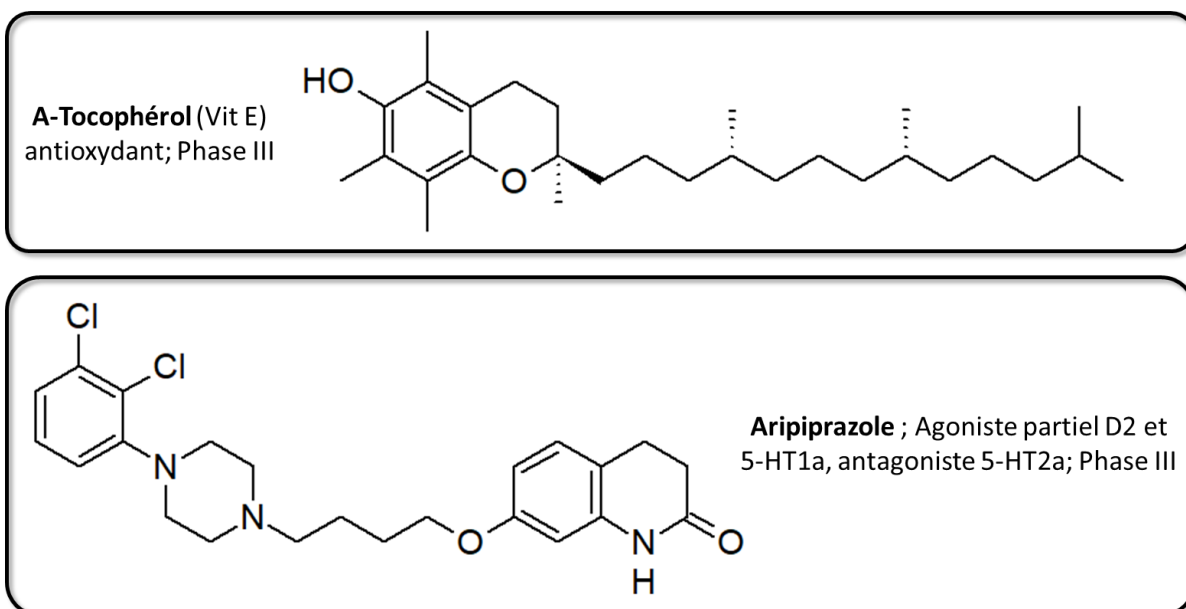


Figure 34 Possibles approches ciblant l'ApoE4.<sup>90</sup>

De façon plus marginale, des stratégies visant le stress oxydatif, l'inflammation et les dégâts mitochondriaux sont étudiées.<sup>90,113</sup> Ainsi, des tentatives de réduction de la progression de la pathologie par l'utilisation d'antioxydants, d'anti-inflammatoires ou encore des protecteurs mitochondriaux ont été observées. L'efficacité de ces stratégies n'est pas suffisamment satisfaisante pour voir en sortir des substances commercialisables.

Des antioxydants ont été testés dans la MA, tel que l' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E). Celui-ci agirait par captation des électrons non appariés des ROS.<sup>144</sup> Or, chez les patients atteints de MA, des carences en  $\alpha$ -tocophérol ont été observées.<sup>145</sup> L' $\alpha$ -tocophérol est actuellement en phase 3 d'évaluation clinique.

Enfin, il existe des substances évaluées qui agissent sur certains neurotransmetteurs, comme la sérotonine et l'acétylcholine. L'utilisation d'antagonistes aux récepteurs de la sérotonine se justifie par la présence de certains récepteurs, comme les récepteurs 5-HT, dans l'hippocampe, le cortex et le striatum (structure centrale recevant des afférences depuis l'hippocampe et l'amygdale notamment).<sup>116</sup> On peut commencer par citer la lumateperone, antagoniste des récepteurs 5-HT<sub>2a</sub>, et la pimavansérine, agoniste inverse des récepteurs 5-HT<sub>2a</sub>, actuellement en phase III.<sup>146,147</sup> Dans le cas de la transmission cholinergique, l'encenicline est un agoniste partiel des  $\alpha 7$  AchR,. Malgré la bonne sécurité d'utilisation, son évaluation n'a pas été favorable au regard de son efficacité, et les essais ont été arrêtés en 2016.<sup>116,148</sup> D'autres substances agissent à la fois sur plusieurs transmissions comme l'aripiprazole, agoniste partiel des récepteurs dopaminergiques D<sub>2</sub> et sérotoninergiques 5-HT<sub>1a</sub>, et antagoniste des récepteurs 5-HT<sub>2a</sub>.<sup>149,150</sup> Un dérivé de l'aripiprazole, le brexiprazole, est quant à lui un agoniste partiel de D<sub>2</sub> seulement, aussi en phase III.



**Figure 35** Exemples de traitements non-anti-amyloïdes en phase clinique.

Pour résumer, de nombreux axes de recherche existent et il existe en juin 2021, selon le site Alzforum.org, 22 traitements en cours d'évaluation clinique en phase III pour la MA ou les pathologies associées telles que la maladie de Parkinson ou la sclérose latérale amyotrophique. Ces molécules interviennent surtout dans des traitements anti-amyloïdes, anti-inflammatoires, anti-Tau, ou agissant sur les voies de neurotransmission autres que cholinergique. Une centaine de traitements au total sont évalués cliniquement dans des phases antérieures.

## 2.4 Quelques modèles d'études de la MA

**Modèles *in vivo*** : Dans le cadre de l'étude des mécanismes de la MA, ainsi que de l'évaluation de potentiels traitements, les modèles *in vivo* sont indispensables à l'heure actuelle. Les modèles *in vivo* utilisés dans la MA sont en deux catégories, les modèles transgéniques avec mutations uniques ou multiples, et les modèles non-transgéniques obtenus par injection d'Aβ, Tau ou de toxines dans le cerveau.<sup>151</sup>

Les modèles transgéniques, regroupant principalement des souris, sont capables de simuler la physiopathologie d'Alzheimer.<sup>151-153</sup> Ces souris pourront manifester l'expression de gènes humains codant notamment pour APP, PS-1 et PS-2, ApoE ε4, et *ob* (codant pour la leptine, « l'hormone de la satiété »), ou peuvent vieillir plus rapidement. Des lignées de souris

transgéniques peuvent donc émuler l'accumulation de peptide A $\beta$  et même émuler le métabolisme du cholestérol et de l'insuline. En revanche, ces souris transgéniques ne sont pas un modèle idéal car des mutations sont présentes chez seulement 5% des patients atteints de MA. Aussi, elles ne présentent des NFTs qu'en présence de mutations de Tau, mutations qu'on ne retrouve pas dans la MA.<sup>35</sup> Enfin, les différentes substances efficaces sur ces souris n'ont pas passé les essais cliniques.

Les modèles non transgéniques, quant à eux, sont obtenus par injection d'A $\beta$  ou Tau dans l'hippocampe ou dans les ventricules cérébraux. Ces modèles permettent d'utiliser des animaux différents des souris, quand obtenir des modèles transgéniques est difficile. L'inconvénient majeur est que l'on ne peut pas reproduire l'accumulation graduelle sur plusieurs années d'A $\beta$ , excluant ainsi les conséquences d'une exposition chronique à A $\beta$ , et son impact dans l'apparition des troubles cognitifs.<sup>151</sup>

En conséquence, de nouveaux modèles ont été développés pour différentes raisons, telles que la similarité avec la physiopathologie d'Alzheimer ou la facilité d'utilisation, le prix, etc :<sup>35</sup>

- Les modèles « non-human primate » (NHPs) : Ceux-ci présentent la même séquence d'APP que les humains en raison de leur proximité génétique, développent des plaques et aussi des caractéristiques de Tauopathie.<sup>154</sup> Par contre, ces modèles posent davantage de questions d'ordre éthique et légal.
- La culture cellulaire : Les cultures de lignées cellulaires sont employées depuis longtemps en recherche. La lignée PC12 consiste en des cellules de phéochromocytome (tumeur de la médullosurrénale) de rat, et est très utilisée en neurosciences, notamment pour des études portant sur la neurotoxicité, neuroprotection, neurosécrétion, neuroinflammation et la synaptogénèse.<sup>155</sup> Ces cellules peuvent servir de modèles pour étudier la toxicité cellulaire d'espèces agrégées d'A $\beta$ , dans le cas de la MA. Une autre lignée couramment utilisée est la lignée SH-SY5Y, cellules de neuroblastome (tumeur maligne extra-osseuse de l'enfant) humaines.<sup>156</sup>

- La culture de cellules souches pluripotentes humaines induites (iPSCs) : Ces cellules sont directement prélevées sur les patients, et retracent tout l'historique de la pathologie vécue par le patient, en plus de garder son patrimoine génétique.<sup>157</sup> Ainsi, ces cellules ne souffrent pas de l'impossibilité de mimer la physiopathologie de la MA. De plus, il est aussi possible d'injecter ces cellules dans des modèles murins, plus faciles à utiliser que les NHPs.
- Modèle de rongeur *Octodon degus* : Ce rongeur du Chili possède une séquence A $\beta$  qui ne diffère de l'Homme que d'un aa, ce qui facilite les manipulations génétiques. De plus, il manifeste des oligomères d'A $\beta$  par lui-même, contrairement aux souris et rats. On peut aussi noter l'apparition de manifestations liées à l'âge telles que les plaques, l'inflammation, la perte neuronale dans l'hippocampe et le cortex cérébrale et leurs troubles cognitifs associés.
- Modèle de drosophile *Drosophila melanogaster* : Au-delà de l'homologie avec A $\beta$  et Tau chez l'Homme, le faible coût, la faible espérance de vie, et le plus petit nombre de gènes en font une alternative intéressante. Une mutation a permis d'observer une modification du rythme circadien chez ces mouches.
- Modèle de nématode *Caenorhabditis elegans* : La courte espérance de vie des individus permet d'accélérer l'accumulation d'A $\beta$ , contrairement aux mammifères.

**Approches numériques** : Les approches *in silico* ont montré des résultats importants dans l'étude des mécanismes d'agrégation d'A $\beta$  et Tau, ainsi que dans la recherche de nouvelles substances actives.

Dans le premier cas, l'agrégation a été très souvent étudiée depuis 2003 par la dynamique moléculaire (MD), une méthode numérique de calcul de la conformation optimale d'une ou plusieurs molécules dans un milieu simulé par informatique. L'amélioration des capacités de calcul des ordinateurs et la standardisation des protocoles des dynamiques moléculaires ont permis d'étudier l'agrégation de peptides amyloïdes sur des temps allant jusqu'à plusieurs microsecondes.<sup>158</sup> Cependant, il reste trois défis majeurs à prendre en compte. Le premier défi concerne les paramètres du champ de force utilisé, surtout adapté aux

protéines repliées. Or, il a déjà été dit ici que l'agrégation de ces protéines se faisait grâce à l'adoption de conformations dépliées de monomères agrégés entre eux. Le deuxième défi concerne les concentrations en protéines, beaucoup plus haute dans les simulations par MD. Or, il a déjà été précisé ici que la concentration est un élément central dans le processus d'agrégation *in vitro*. Enfin, il reste le défi du temps nécessaire estimé pour réaliser l'agrégation d'A $\beta$  en fibrille. Estimé à 5 secondes, il n'est pas atteignable facilement à l'heure actuelle. De plus et pour terminer, ces expériences ne prennent pas forcément en compte le milieu complexe qu'est le tissu nerveux, dont les interactions intermoléculaires, comme lors de la nucléation hétérogène.

Une autre méthode importante utilisée par informatique est la recherche de nouvelles substances par du docking ou « amarrage moléculaire ». Le docking, approche dite « structure-based », consiste à mesurer l'énergie des interactions entre une cible et un potentiel ligand, tous deux modélisés numériquement. Ainsi, un score est donné lors d'un screening de chimiothèques virtuelles, pour chaque molécule dockée ou « amarrée », afin de déterminer laquelle est la plus affine pour sa cible. Cette approche est très dépendante des études de dynamique moléculaire puisque que la cible qui subit le docking se doit d'être la plus fidèle possible à la réalité. Les polyphénols ont notamment montré des résultats par docking sur des dimères d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> ou tétramères d'A $\beta$ <sub>16-21</sub> (CHC).<sup>121</sup> Aussi, des molécules planes conjuguées ont pu montrer un effet inhibiteur, qui fut vérifié sur culture cellulaire. La toxicité cellulaire fut inhibée, mais sans preuve que ce soit par inhibition de l'agrégation d'A $\beta$ .

Enfin, la relation structure activité quantitative (QSAR), quant à elle, permet de trouver une corrélation entre des descripteurs moléculaires (physico-chimiques, taille, volume, interactions faibles, charges, ...) et une action biologique, principalement pour sélectionner voire prédire des substances actives intéressantes. Une étude SQAR a été combinée à la MD pour développer des hexapeptides inhibiteurs de l'agrégation d'A $\beta$ .<sup>159</sup> En identifiant les descripteurs nécessaires pour l'agrégation, il a été possible de concevoir des hexapeptides autoagréants qui vont inhiber l'agrégation d'A $\beta$ .

**Nanotechnologies** : Généralement, l'obstacle principal lors de l'étude de nouvelles substances médicamenteuses actives au niveau du système nerveux central est le passage de la BHE. Permettre ce passage, c'est assurer que la substance active puisse exercer son action pharmacologique. C'est ainsi que des systèmes pour acheminer et contrôler la libération d'un médicament vers sa cible ont été développés, et c'est notamment le cas des nanoparticules. Associer ces substances à des nanoparticules (NPs) permet d'améliorer leur profil pharmacocinétique (biodisponibilité) et pharmacologique (cible atteinte), tout en réduisant de possibles effets secondaires. Ces nanoparticules doivent respecter des critères précis comme la taille (les NPs vont de 1 à 1000 nm) et la composition (les NPs ainsi que leurs métabolites doivent être biocompatibles et facilement éliminables).<sup>29,160</sup> Différents types de NPs ont été étudiés tels que des liposomes, dendrimères, émulsions, nanotubes de carbones, NPs d'or PEGylés, NPs métalliques, NPs polymériques, NPs de silice mésoporeuse.<sup>160</sup> Des effets pharmacologiques prometteurs ont été observés (clairance d'A $\beta$ , retard de formation d'oligomères et fibrilles, réduction du volume cérébral, activité hippocampique, fonctions cognitives). Cela dit, il faut encore améliorer la sécurité d'utilisation, et les profils pharmacocinétique et pharmacologique de ces nanoparticules avant de pouvoir passer à des essais cliniques.

## **Partie III : Développement de peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation du peptide amyloïde A $\beta$ <sub>1-42</sub> dans la MA**

### *3.1 Approches d'intérêt en chimie médicinale*

#### *3.1.1 Les règles des cinq*

En 1997, Christopher A. Lipinski a énoncé des règles, appelées règles des 5 (RO5) qui permettaient d'établir le profil « drugable » d'une molécule administrable par voie orale.<sup>161</sup> Ces règles avaient pour objectif de prédire si une molécule pourrait avoir un profil de candidat médicament en fonction de certaines caractéristiques structurales et physico-chimiques. Ainsi, il était possible d'établir des filtres lors de criblages à haut débit de chimiothèques, en risquant moins d'apporter des biais, notamment en termes de masse molaire et de solubilité. La nécessité de réguler le choix de nouvelles substances actives est apparue dans un contexte où la chimie médicinale et combinatoire commençait à produire un très grand nombre de nouveaux composés, dont souvent les propriétés physico-chimiques empêchaient d'en faire un médicament.<sup>161</sup> De plus, le gain de temps n'est pas négligeable puisque les hits et leads qui étaient éconduits ne le furent que plus tard lors de phase d'évaluation pré-cliniques.

Les règles des 5 sont celles-ci :

- Masse molaire < 500 Da
- Log P < 5 ; optimal entre 2 et 3
- Nombre de donneurs de liaisons H < 5
- Nombre d'accepteurs de liaisons H < 10

Une infraction à ces règles ne signifie pas une impossibilité pour une molécule de finir dans un futur médicament, car de nombreux composés tels que les peptides, enfreignent au moins une de ces règles (exemples : l'insuline ou les immunoglobulines). De plus, elles concernent surtout le transport passif de molécules, et ignorent donc le transport actif. Comme dans le cas de nouveaux traitements contre la MA, les molécules exerçant leur activité au niveau du SNC doivent prendre en compte le passage de la BHE, à moins d'être injectées directement dans le LCR en intrarachidien. Toujours selon Lipinski, la mesure de la « surface

polar area » (PSA), qui indique la somme des surfaces des atomes polaires d'une molécule, ne doit pas être supérieure à 70-90 Å<sup>2</sup> pour qu'une molécule passe la BHE.<sup>161</sup> Aussi, il faut prendre en compte l'affinité des molécules pour les protéines de transport de la BHE, et plus particulièrement la protéine d'efflux P-glycoprotéine (PGP).

En 2007, Pardridge affine les règles de passage de la BHE pour les molécules agissant sur le SNC.<sup>162</sup> Augmenter la lipophilie des molécules permet de faciliter le transport passif, mais la concentration sanguine diminue en conséquence. De plus, ajouter des groupements plus lipophiles à ces molécules augmente de façon conséquente leur masse molaire, et au-delà de 400 Da, leur diffusion dans le SNC diminue. Enfin, augmenter la surface des molécules jusqu'à environ 100 Å<sup>2</sup> diminuerait aussi le passage de la BHE. Dans le cas des peptidomimétiques, il n'est pas rare de dépasser les 400 Da, et l'introduction d'aa chargés doit être à utiliser avec précaution pour ne pas trop augmenter la PSA. Dans le cas contraire, il est possible d'employer des méthodes d'acheminement, tel que des anticorps monoclonaux dirigés contre des protéines de transport, des « cheval de Troie » capables de faire passer les molécules actives au travers de la BHE par la fixation à des récepteurs tel que celui à l'insuline.<sup>162</sup>

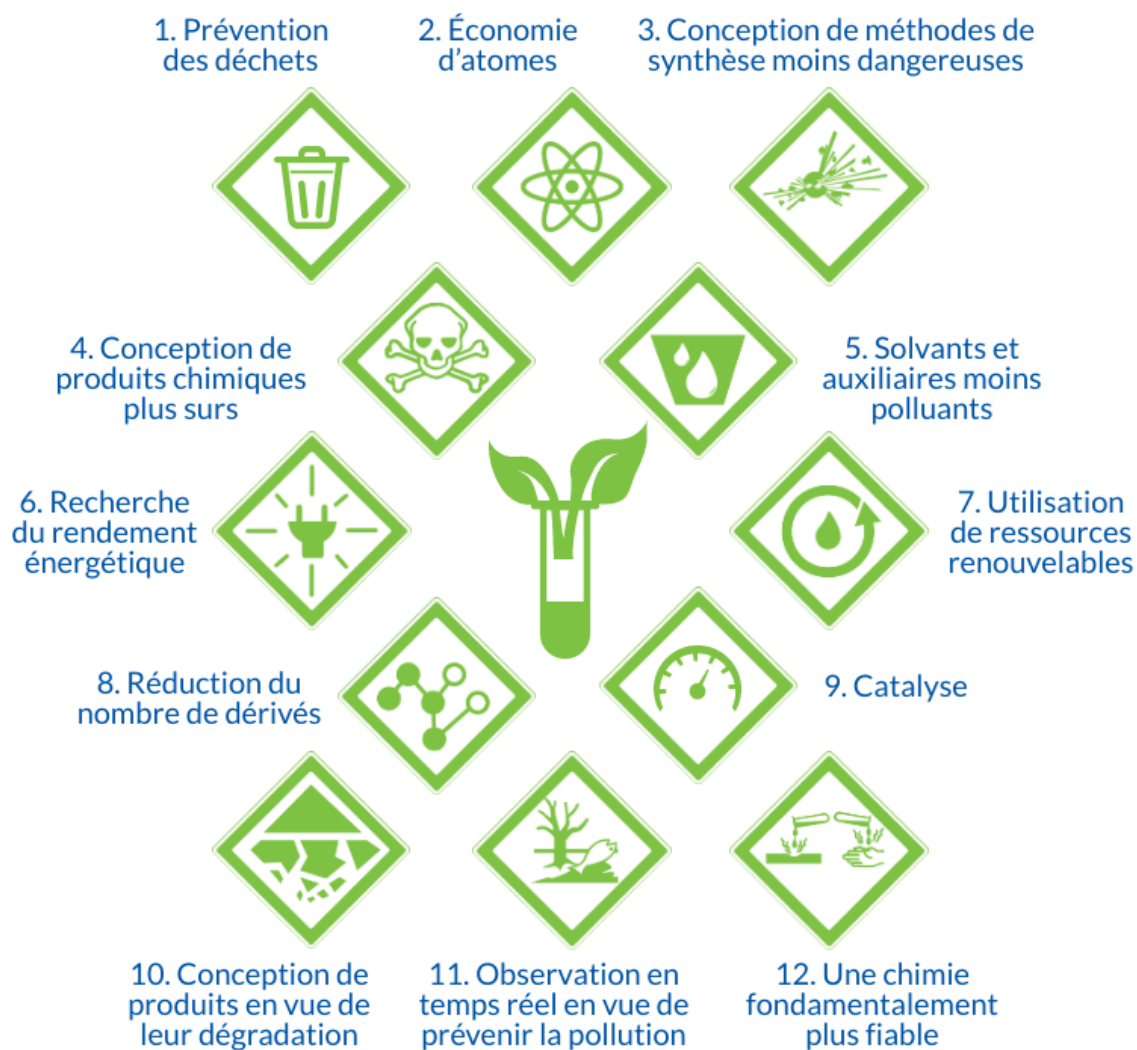
Pour conclure, ces règles sont assez contraignantes et il n'est pas indispensable de les respecter scrupuleusement. De l'aveu même de Lipinski, ces règles sont très conservatrices et sont le reflet d'un contexte où la chimie combinatoire prenait de l'importance.<sup>163</sup> Ainsi, des structures non traditionnelles telles que des macrocycles ou des peptides « agraphés », remettent en cause le recours systématique aux RO5.

### 3.1.2 Principes de la chimie verte

Dans les années 90, deux chimistes américains de la United States Environmental Protection Agency, Paul Anastas et John C. Warner, ont proposé une douzaine de principes (figure 36) afin de faire prendre conscience des enjeux environnementaux aux chimistes et industriels.<sup>164</sup> Ce sont ajoutées en 1999 huit règles à destination des industriels de la chimie, sous le nom de règles de Christ. Depuis les deux dernières décennies, la chimie verte est devenue un champ d'étude à part entière.

# LA CHIMIE VERTE

## Les douze principes



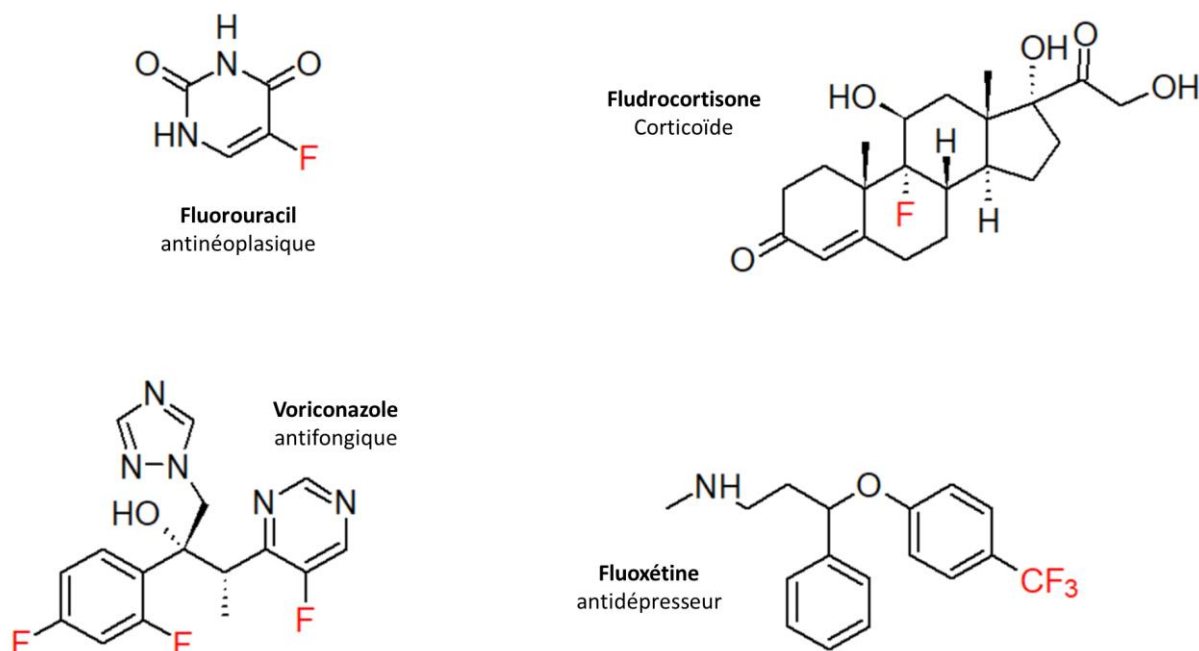
**Figure 36** Schéma illustrant les douze principes directeurs de la chimie verte (© Parlons sciences).<sup>165</sup>

La liste précise des douze principes de la chimie verte telle que donnée par l'UNESCO figure en annexe 3.<sup>166</sup> Les 8 règles de Christ figurent en annexe 4.

Lors de la conception de nouvelles molécules, il est nécessaire de prendre en compte la possibilité de passer à l'échelle industrielle, et il est nécessaire de proposer des molécules synthétisables par des procédés qui respectent le plus possible les principes de la chimie verte. C'est d'autant plus vrai pour des molécules qui ont vocation à être administrées à de nombreux patients sur de longues périodes, comme c'est le cas chez les patients atteints de maladies chroniques, telle la MA.

### 3.1.3 Utilisation du fluor

L'introduction d'atomes de fluor dans les médicaments existe depuis 70 ans, et de nombreux avantages furent attribués à l'utilisation du fluor en chimie médicinale.<sup>167–170</sup> Depuis les années 50 avec les corticostéroïdes fluorés, et les années 80 avec les fluoroquinolones, les molécules fluorées ont sérieusement attiré l'attention.<sup>171</sup> En 2020, Inoue recense que près de 20% des substances pharmaceutiques dans le monde contiennent au moins un atome de fluor dans leur structure. Pour comparaison, ce pourcentage atteignait 2 % en 1980, 13 % en 1990 et 18% en 2000.<sup>170</sup>



**Figure 37** Exemples de principes actifs fluorés connus.

Le fluor se retrouve dans différents groupements chimiques au sein des molécules. Le fluor est le plus souvent retrouvé dans des groupements fluoroaryl (ArF), suivi de fluoroalkyl, puis trifluorométhylaryl, qui regroupent à eux trois 80 % des groupements fluorés, et enfin de nombreux autres groupements moins fréquents (HetArCF<sub>3</sub>, AlkCF<sub>3</sub>, OCHF<sub>2</sub>, ...).

	H	C	N	O	F	Cl	Br
<i>Van de Waals radius</i>	1.2	1.7	1.55	1.52	1.47	1.75	1.85
<i>Electronegativity</i>	2.1	2.5	3	3.5	4	3.2	2.8
<i>Bond strength to C</i>	98	83	70	84	105	77	66

**Figure 38** Propriétés du fluor et de la liaison C-F vis-à-vis d'autres éléments couramment rencontrés.<sup>168</sup>

L'intérêt du fluor en chimie médicinale tient surtout à deux de ses caractéristiques que sont sa grande électronégativité et sa petite taille (figure 38).<sup>168,170</sup> En effet, le fluor est l'atome le plus électronégatif, en plus de posséder trois paires d'électrons non liants. Il possède aussi un effet inductif attracteur I<sup>-</sup> et un effet mésomère donneur M<sup>+</sup>. Cela au travers de ces deux caractéristiques, le fluor peut donc influencer sur les forces de liaisons de la molécule, sa distribution électronique, son acidité et ses liaisons hydrogène, et ses interactions stériques. *In fine*, le fluor peut modifier de façon particulière les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques d'une substance médicamenteuse.

L'atome de fluor, par sa taille proche de celle de l'atome d'hydrogène et de l'atome d'oxygène en fait une alternative sans que la molécule en perde son affinité pour sa cible. Il est aussi possible d'utiliser des groupements fluorés pour modifier l'affinité du composé, comme avec le groupement CF<sub>3</sub>, plus volumineux et plus hydrophobe qu'un CH<sub>3</sub>, qui sera plus affiné pour une poche lipophile d'une protéine. Par conséquent, l'incorporation de fluor augmente l'hydrophobicité d'un composé (augmentation du LogP), et permet de passer plus facilement les barrières biologiques et aussi de pénétrer dans les cellules. C'est d'autant plus utile si un composé est trop hydrophile pour passer la BHE. Autre point à prendre en compte, le pKa d'un composé est diminué par la présence d'atome de fluor, toujours en raison de sa grande électronégativité. Cela a pour effet de renforcer les liaisons hydrogène formées par les groupements donneurs de la molécule, comme dans les alcools aliphatiques, peu acide. Et enfin, le fluor est lui-même capable d'interagir avec les sites de fixation de cibles thérapeutiques, au travers d'interaction de van der Waals, dipôle-dipôle, hydrophobe et d'autres. Cet aspect en particulier est intéressant car malgré la plus grande hydrophobicité des

composés fluorés, des interactions dipolaires sont toujours possibles, ce qui permet, en plus d'améliorer l'affinité pour une cible donnée, d'éviter une faible solubilité dans les liquides biologiques, en particulier plasmatique.

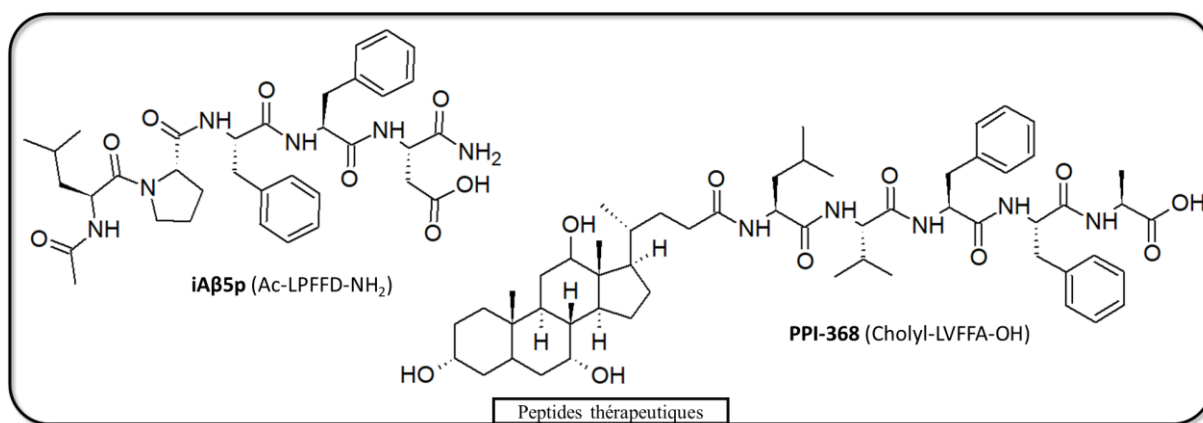
La stabilité métabolique d'un médicament est un des facteurs-clé qui détermine sa biodisponibilité. Or le fluor est similaire à l'atome d'hydrogène par sa taille, mais contrairement à lui, permet de créer une liaison C-F ( $105 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ) plus stable que la liaison C-H ( $98 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ). Cela confère une grande stabilité à la liaison C-F et rend plus difficile les substitutions du fluor. Plus le nombre de fluor porté par un même carbone augmente, plus la stabilité du groupement augmente. On pourrait même ajouter que le fluor défavorise l'apparition d'une charge en  $\alpha$  de celui-ci par effet électroattracteur, rendant plus difficile la formation des intermédiaires alkoxycarbéniums des réactions d'hydrolyse. Ainsi, des médicaments fluorés deviennent plus résistants aux réactions d'hydrolyse et aux réactions de métabolisation de phase I (hydroxylation par les cytochromes P450) et de phase II (conjugaisons), sans perte d'affinité.

Enfin, le fluor possède aussi un intérêt en élucidation structurale, grâce à la RMN du  $F^{19}$ . Incorporer un ou plusieurs fluor peut aussi servir de sonde lors de l'évaluation de composés.

### *3.2 Développement de peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation d'A $\beta_{1-42}$*

#### *3.2.1 Généralités et classification des peptidomimétiques*

Les **peptides thérapeutiques** ont trouvé un intérêt croissant depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle avec les premières injections d'insuline.<sup>172</sup> Les peptides thérapeutiques peuvent être comme leur version naturelle, natifs (ils partagent la même séquence), analogues (peptides modifiés pour être plus « drugable »), ou même hétérologues (qui furent développés indépendamment des peptides natifs).



**Figure 39** Exemples de peptides analogues précurseurs  $\beta$ -sheet breakers.<sup>173</sup>

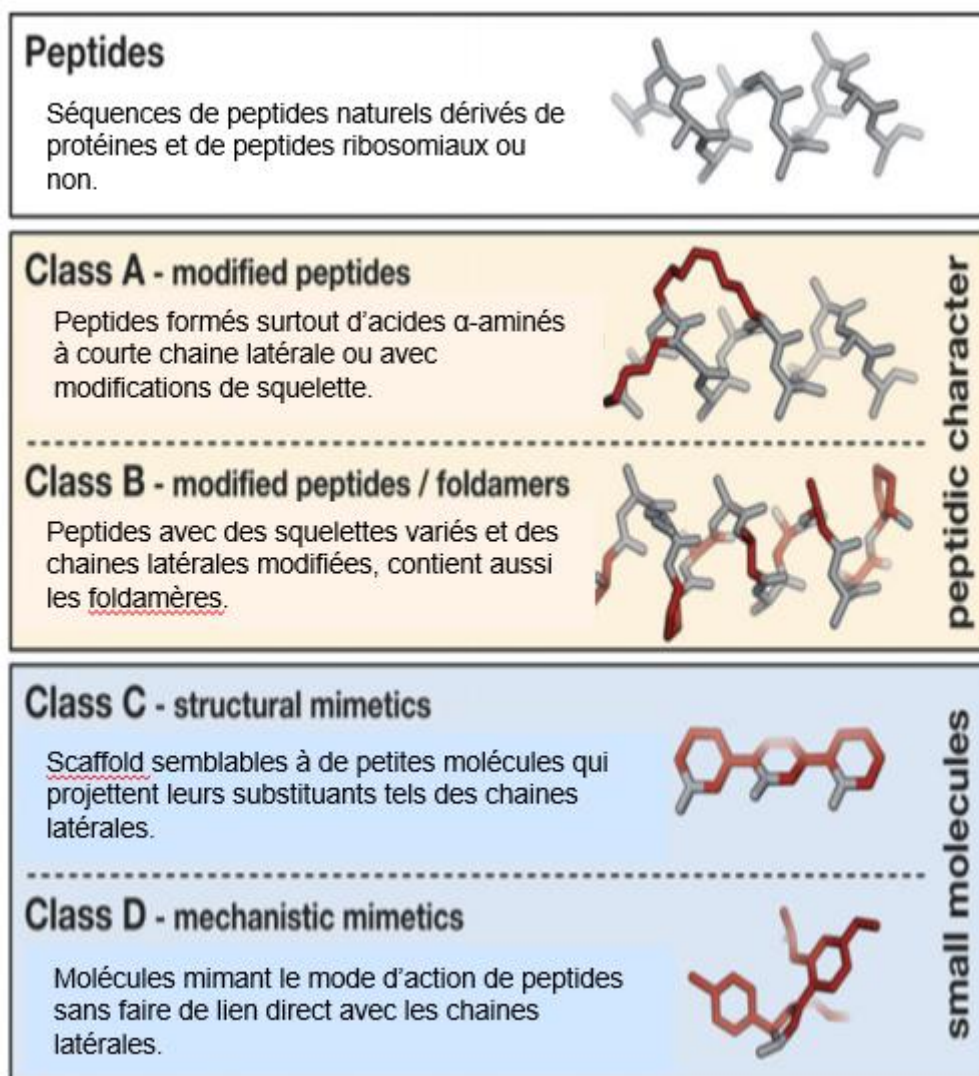
Dans le cas d'A $\beta$ , l'objectif est de perturber les interactions entre les différents monomères ou oligomères d'A $\beta$  afin d'empêcher la production d'agrégats plus toxiques. Ces molécules peuvent intervenir à différentes étapes du processus de formation des fibrilles.

Elles ont des avantages significatifs comparés à d'autres petites molécules. L'avantage principal est la sélectivité grâce à l'homologie de structure avec A $\beta$ . À partir de cette homologie, des modifications structurales sont possibles, et celles-ci apportent une grande diversité chimique et biologique à ces molécules. En effet, il est possible de moduler l'affinité de ces peptides en modifiant les résidus par d'autres, ou en leur greffant des groupements. Nous verrons que ces modifications deviendront vite nécessaires. Un deuxième avantage de ces structures est qu'elles produisent des métabolites moins toxiques une fois dans l'organisme. Et enfin, un dernier avantage est que grâce à leur structure peptidique, la demi-vie de ces substances est trop courte pour permettre une accumulation tissulaire. Ce dernier point est difficilement un avantage lorsque que la persistance du médicament est trop éphémère pour permettre un effet durable, en particulier dans les pathologies chroniques, pour lesquelles une multiplication des prises serait défavorable à une bonne observance de la part des patients. Autre point essentiel, les peptides passent plus facilement la BHE, là où il faut prendre en compte cet aspect dans le design de petites molécules non peptidiques.

En 1996, des premiers acides aminés et peptides ont cherché à mimer la séquence de d'auto-reconnaissance d'A $\beta$ , située aux résidus K<sub>16</sub>LVFF<sub>20</sub>, qui constitue la région centrale hydrophobe.<sup>173</sup> Reproduire la seule séquence ne saurait suffire et ajouter un élément disruptif peut permettre d'obtenir l'effet inhibiteur. Comme son nom l'indique, la région centrale hydrophobe présente un caractère hydrophobe et l'ajout de résidus chargés permettrait de

perturber la nucléation à partir du site d'auto-reconnaissance. La nécessité d'un élément disruptif chargé est confortée par les peptides chargés KLVFFKKKK et KLVFFEEEE, qui ont montré une action inhibitrice tandis que le peptide neutre KLVFFSSSS n'en a pas montré.<sup>174</sup> Un groupe stérol (figure 39) peut être greffé pour créer une gêne stérique importante. L'inconvénient majeur rencontré par les peptides thérapeutiques est d'ordre pharmacocinétique. Les exopeptidases dégradent très vite ces molécules et la priorité est d'augmenter la résistance au clivage protéolytique des peptides. La N-méthylation est une option pour résoudre ce problème, sans faire perdre d'affinité pour la séquence d'auto-reconnaissance.

Ainsi, au travers de ces exemples, on peut voir que le développement de peptides  $\beta$ -sheet breaker passe par la découverte d'un équilibre entre l'homologie de séquence avec A $\beta$  pour se fixer et la présence d'acides aminés, modifiés ou non, capables d'empêcher la nucléation. Les modifications de ces peptides a permis l'émergence d'une nouvelle classe de molécules, les peptidomimétiques.

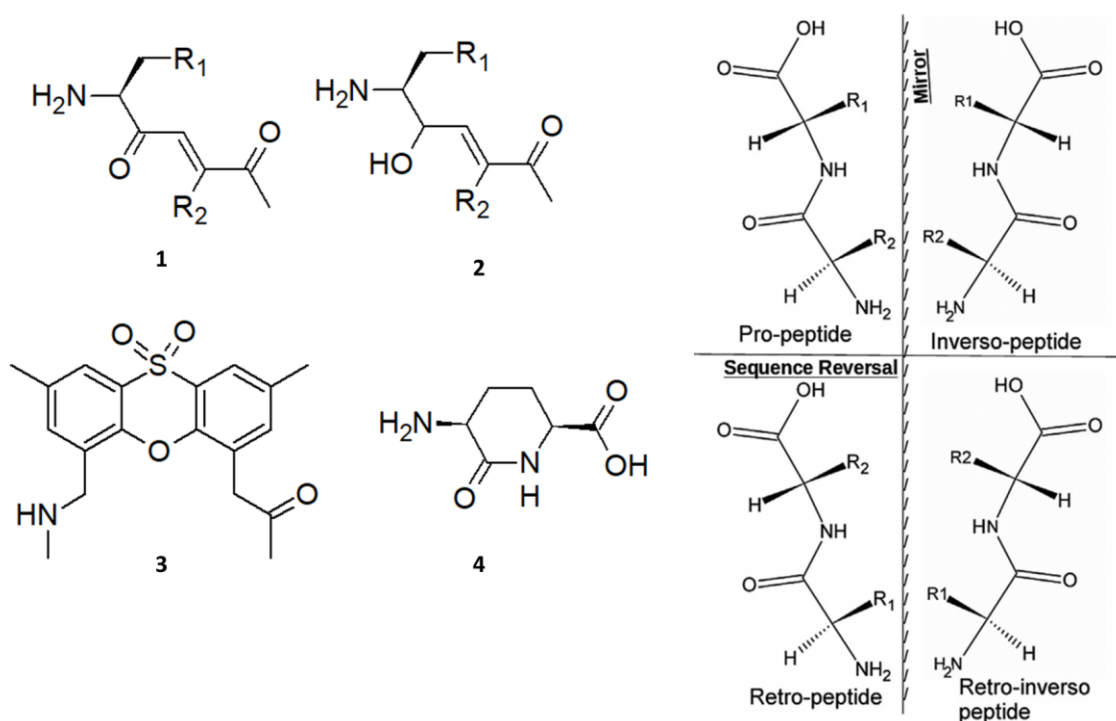


**Figure 40** Classification des peptidomimétiques.<sup>175</sup>

Une classification propose de regrouper les peptidomimétiques dans quatre catégories distinctes (figure 40).<sup>175</sup> En dehors des peptides, les peptidomimétiques se distinguent selon leur caractère peptidique. On y retrouve des peptidomimétiques très proches de la structure d'un peptide naturel, ainsi que des peptides avec un niveau plus avancé de modifications, et des foldamères. Lorsque le degré de ressemblance avec les peptides s'éloigne, il ne reste comme point commun plus que le mode d'action des peptides. On précisera que les peptidomimétiques se servent de la notion de bioisostérie. La **bioisostérie** peut se définir par l'utilisation de structures ou groupements fonctionnels aux propriétés physiques et chimiques proches de composés biologiques, afin d'obtenir une activité pharmacologique proche de la leur.

La classe A regroupe des peptidomimétiques reprenant la structure primaire d'un peptide en modifiant quelques résidus pour stabiliser la conformation active.

La classe B implique des modifications des résidus par l'utilisation d'aa non naturels, des groupements non peptidiques ajoutés à divers endroits. C'est aussi dans cette classe que l'on retrouve les foldamères et les peptoïdes. Les peptoïdes, quant à eux, sont des peptides dont les chaînes latérales ont été déplacées sur l'azote de l'amide.<sup>176</sup> On distingue les  $\alpha$ -peptoïdes des  $\beta$ -peptoïdes qui se calquent sur les  $\alpha$  et  $\beta$ -peptides. Les peptoïdes peuvent d'ailleurs présenter des propriétés de foldamères.<sup>175-177</sup> Les foldamères sont des structures oligomériques non-naturelles tendant à se replier. En dehors des acides nucléiques, ils regroupent les peptoïdes mais aussi les  $\alpha$ -peptides, les hybrides  $\alpha/\beta$ -peptides, qui peuvent se replier en hélice  $\alpha$  (polyproline). Cette classe de molécule a l'avantage de mieux résister à la protéolyse, de présenter un haut degré de diversité structurale ainsi qu'une meilleure perméabilité cellulaire.



**Figure 41** Exemples de structures de peptidomimétiques.<sup>178,179</sup>

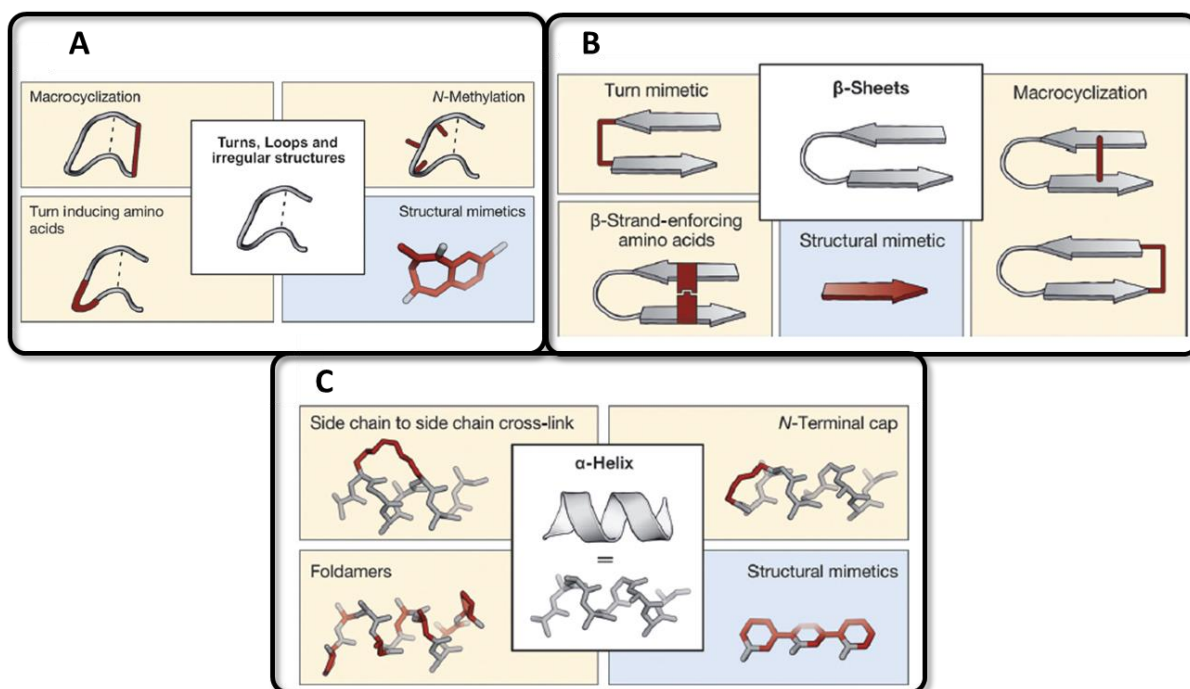
La classe C regroupe les structures avec des modifications avancées du squelette peptidique. La structure figée par ces groupements chimiques nouveaux permet d'orienter les chaînes latérales clés de l'activité biologique.

En 1996, plusieurs structures sont proposées pour remplacer le squelette peptidique (liaisons amides).<sup>178</sup> Des premières structures linéaires et cycliques ont été rapportées comme mimant un  $\beta$ -turn, avec des groupements cétovinyle et hydroxyéthylénique (Figure 41, **1**, **2**), hétérocycliques (Figure 41, **3**) ou encore des acides aminés non naturels (Figure 41, **4**). On peut aussi citer les peptides rétro, dont la séquence primaire est inversée, inverso, où les résidus sont d'une stéréochimie différente (D ou L) et rétro-inverso, qui cumulent les deux (figure 41). L'intérêt de bioisostères cycliques permet de contraindre les angles de torsion et de figer les structures, pour évaluer notamment la conformation nécessaire à l'activité biologique d'un composé.<sup>180</sup> Par exemple, un  $\beta$ -turn de type II peut être remplacé par une lactame thiazolidine, et ainsi, un tripeptide natif (Pro-Leu-Gly, agoniste dopaminergique) dont la conformation active est un  $\beta$ -turn sera moins actif que le même tripeptide modifié par la lactame thiazolidine.

Enfin, la classe D est constituée de molécules qui miment le mode d'action des peptides biologiques sans lien direct avec les chaînes latérales. Elles peuvent être obtenues par pharmacomodulation des molécules de la classe C, par criblage de chimiothèques virtuelles ou non.

Parmi les modifications menant à l'élaboration de structures peptidomimétiques, on peut citer :<sup>181</sup>

- l'ajout d'un groupement induisant une gêne stérique ;
- l'addition, la suppression et/ou le remplacement de groupes fonctionnels afin de modifier l'affinité avec un site de fixation ;
- le changement de stéréochimie comme une inversion de la chiralité ;
- le figage des angles de torsion ;
- l'adoption d'une structure analogue aux états de transition dans le cas de la catalyse enzymatique ;
- le remplacement de pharmacophore (exemple :  $\beta$ -D-glucose pour remplacer un  $\beta$ -turn) ;
- la cyclisation de la chaîne peptidique avec elle-même ou ses chaînes latérales (« N-to-C », « N-to-sidechain », C-to-sidechain » ; sidechain-to-sidechain ») ;
- l'utilisation de chimères peptides-protéines.

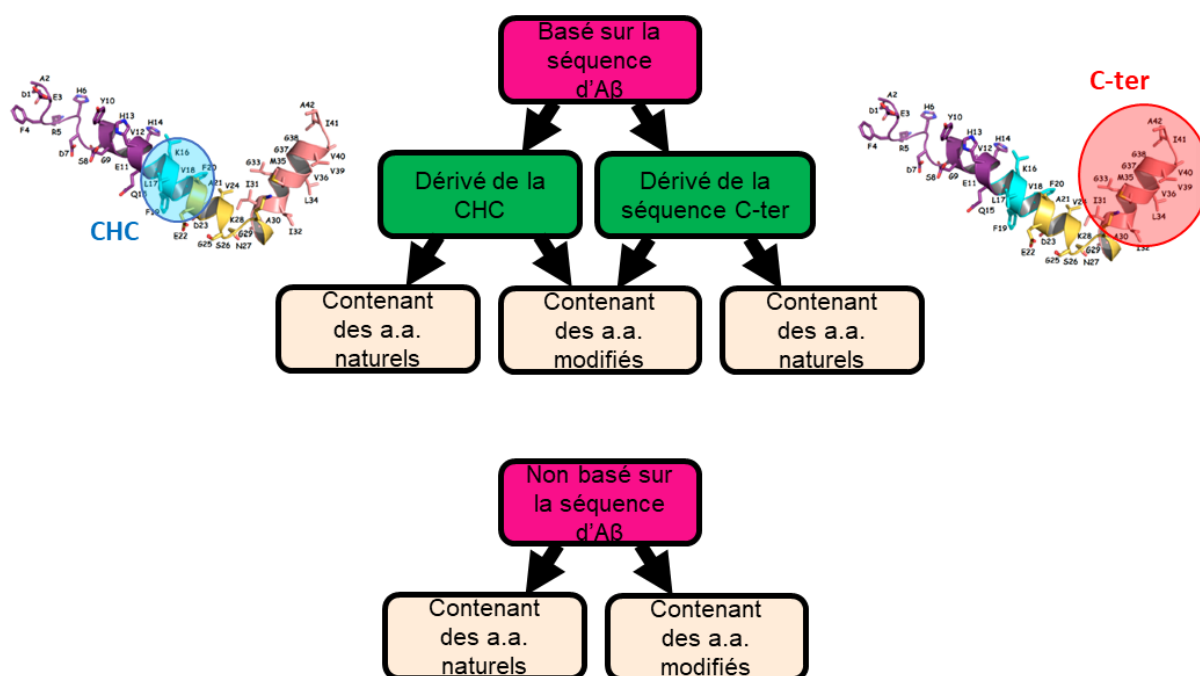


**Figure 42** Mimes de (A) Coudes, boucles, et structures irrégulières; (B) feuillets béta; (C) hélices alpha.<sup>175</sup>

Les peptidomimétiques peuvent aussi se catégoriser selon les structures secondaires et super-secondaires qu'elles cherchent à mimer (figure 42). Ainsi, on peut citer :<sup>175</sup>

- Les mimes de **coudes, boucles** ou tout autre **structure irrégulière** par des cycles ou des acides aminés N-méthylés ou non, ainsi que par des scaffolds de petites molécules.
- Les mimes de **brins  $\beta$**  et **feuillets  $\beta$**  : Parmi les molécules mimant des feuillets  $\beta$  stabilisés, il existe des inducteurs de  $\beta$ -hairpin. Elles se composent notamment d'un coude qui va favoriser la formation de  $\beta$ -hairpin. La macrocyclisation permet de stabiliser des  $\beta$ -hairpins, en utilisant des liaisons covalentes ou non (ponts disulfure, interaction dipôle-dipôle ou ion-dipôle). Des acides aminés peuvent aussi remplir ce rôle comme des aa N-méthylés ou encore des prolines et autres résidus aromatiques. Enfin pour la classe D, il est possible d'avoir recours à des scaffolds de petites molécules afin de mimer directement le brin, car en plus de former les liaisons hydrogènes entre brins, ils réduisent les conformations possibles par des structures rigides non peptidiques.

- Les mimes d'hélices : Les peptidomimétiques de classe A vont utiliser principalement des liaisons entre chaînes latérales (peptides « agraphés »), ainsi que des aa propices à l'initiation d'hélices (« N-terminal caps »). On retrouve pour la classe B les foldamères, peptoïdes et  $\beta$  et  $\alpha/\beta$ -peptides. Pour la classe D, l'utilisation de scaffolds mimant directement des hélices y sont retrouvés. Contrairement aux foldamères, les structures sont non peptidiques. Ces scaffolds maintiennent une organisation hélicoïdale grâce à des groupements stériques encombrants, ou des liaisons hydrogène intramoléculaires.



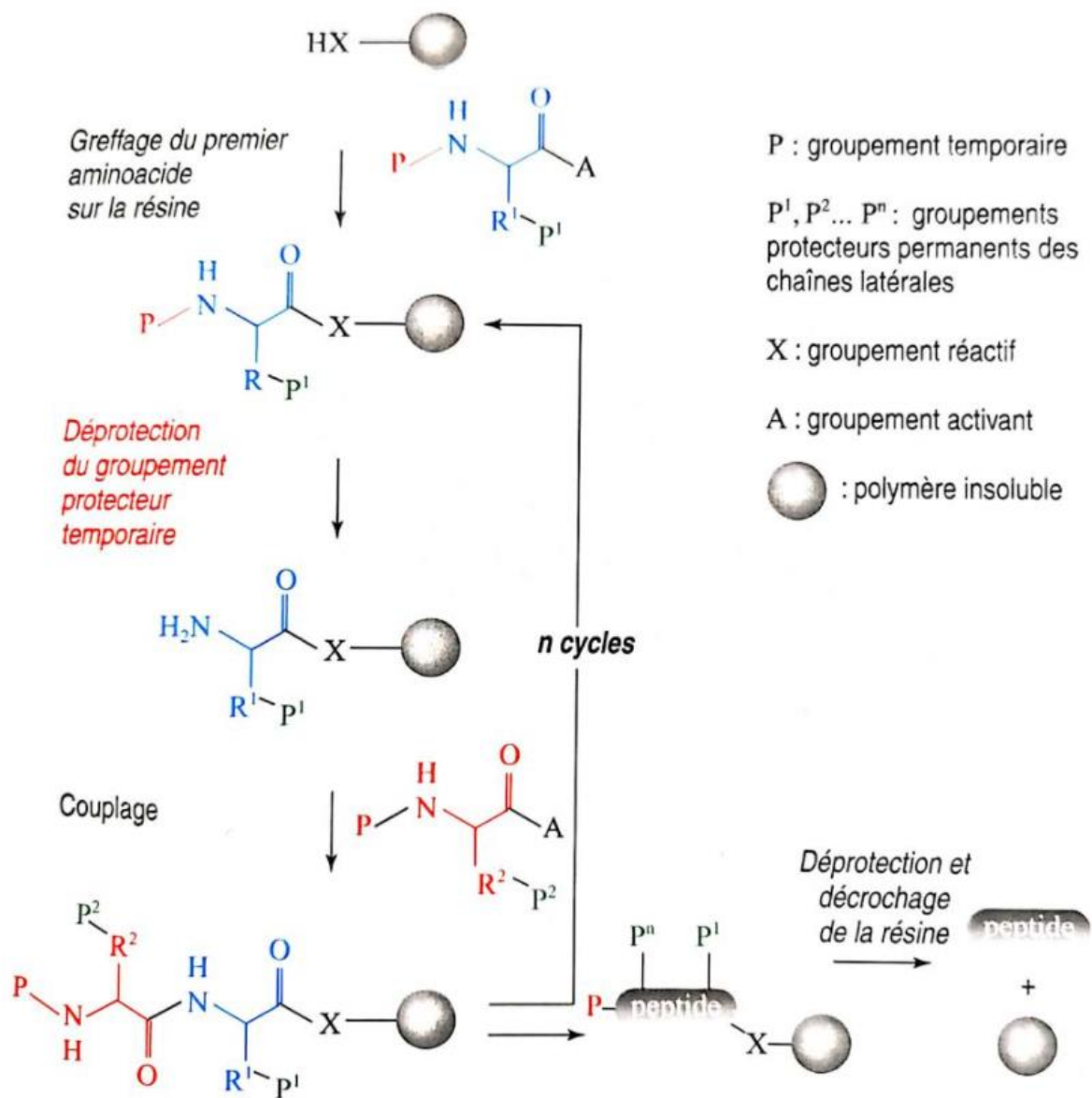
**Figure 43** Classification des peptides et peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation d'A $\beta$  proposé par Goyal et ses co-auteurs.<sup>40</sup>

En 2017, Goyal et son équipe ont passé en revue l'ensemble des peptides et peptidomimétiques développés. Ils ont proposé une classification en fonction de deux critères (figure 43).<sup>40</sup> En premier lieu, deux catégories se distinguent selon que les molécules sont basées ou non sur la séquence d'A $\beta$ , et pour les molécules qui sont basées sur cette séquence, elles sont soit dérivées du domaine central hydrophobe, soit dérivées de la séquence C-terminale. Le deuxième critère de classification est l'utilisation d'aa naturels ou modifiés. Au sein de ces catégories, Goyal et ses co-auteurs ont décrit les différentes molécules selon les structures chimiques modifiées ou insérées.

### 3.2.2 *Synthèse peptidique*

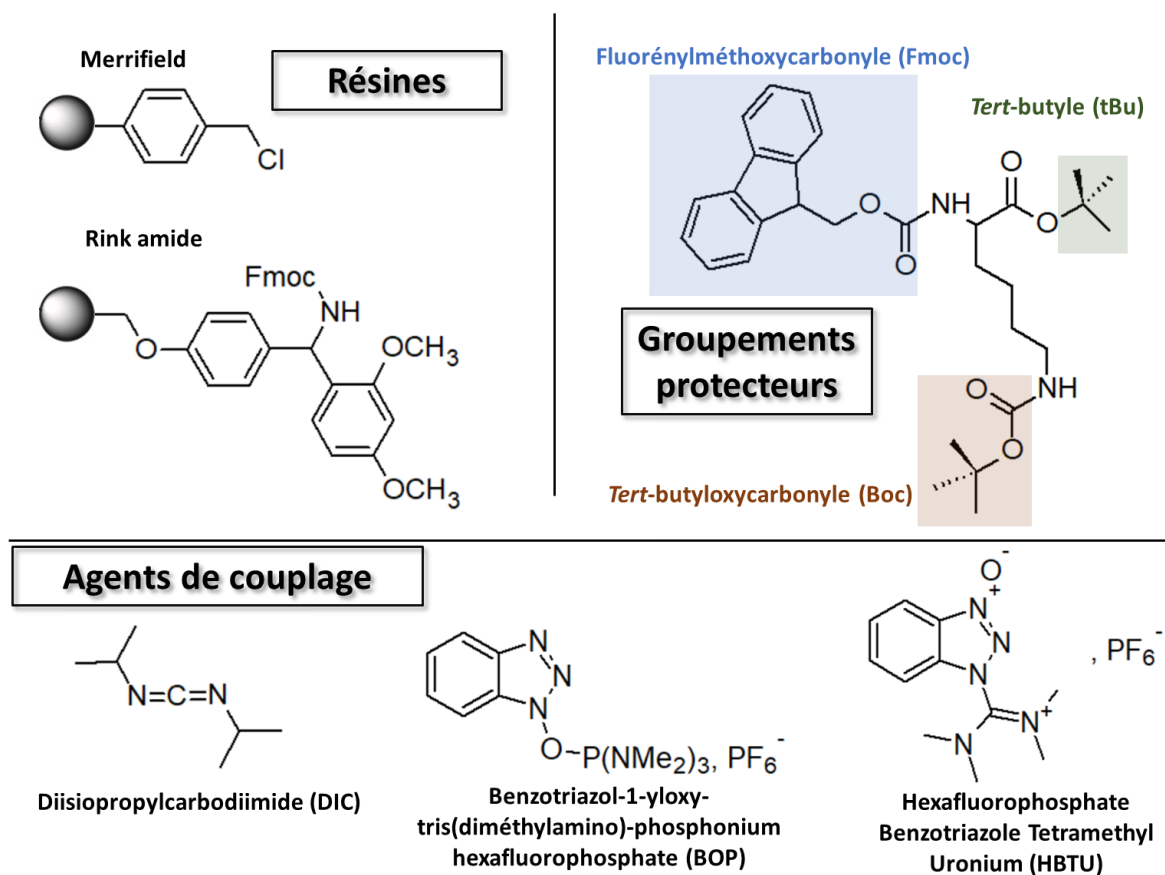
Les peptides peuvent être obtenus de façon synthétique grâce à la synthèse peptidique, et plus particulièrement sur phase solide.<sup>182</sup> Cette dernière, inventée dans les années 60 par Merrifield, consiste simplement à greffer la chaîne peptidique à un polymère insoluble, puis de coupler les différents résidus successivement, tout en protégeant, déprotégeant les fonctions impliquées ou non dans la chaîne.

La synthèse classique en solution entraînait des inconvénients. Elle n'était possible que pour les peptides de courte chaîne (une dizaine de résidus), puisque l'augmentation de la longueur de la chaîne se traduisait par une diminution de la solubilité. Elle imposait aussi de nombreuses étapes de purification, clivage de groupements protecteurs, et pouvait aussi entraîner des problèmes de racémisation des centres chiraux (intermédiaire énolique). Ainsi, avec le support solide, les chaînes peuvent être plus longues et les purifications sont remplacées par des lavages automatisables qui éliminent les sous-produits. De plus, cette méthode a permis l'automatisation malgré le suivi plus difficile, en n'oubliant pas la simplification des étapes de purification par lavages successifs. En revanche, la synthèse classique permet plus de types de réactions possibles.



**Figure 44** Principe de la synthèse peptidique sur support solide.<sup>182</sup>

La séquence de synthèse suit un nombre  $n$  de cycles qui se composent de trois étapes (figure 44) : La déprotection des fonctions qui vont intervenir dans la chaîne peptidique, le couplage, et la purification par lavages. Au début de la synthèse, il faut d'abord greffer le premier résidu du peptide à synthétiser, puis initier les  $n$  cycles, et enfin le décrochage du peptide une fois la synthèse terminée.



**Figure 45** Résines, groupements protecteurs et agents de couplage répandus en synthèse peptidique.

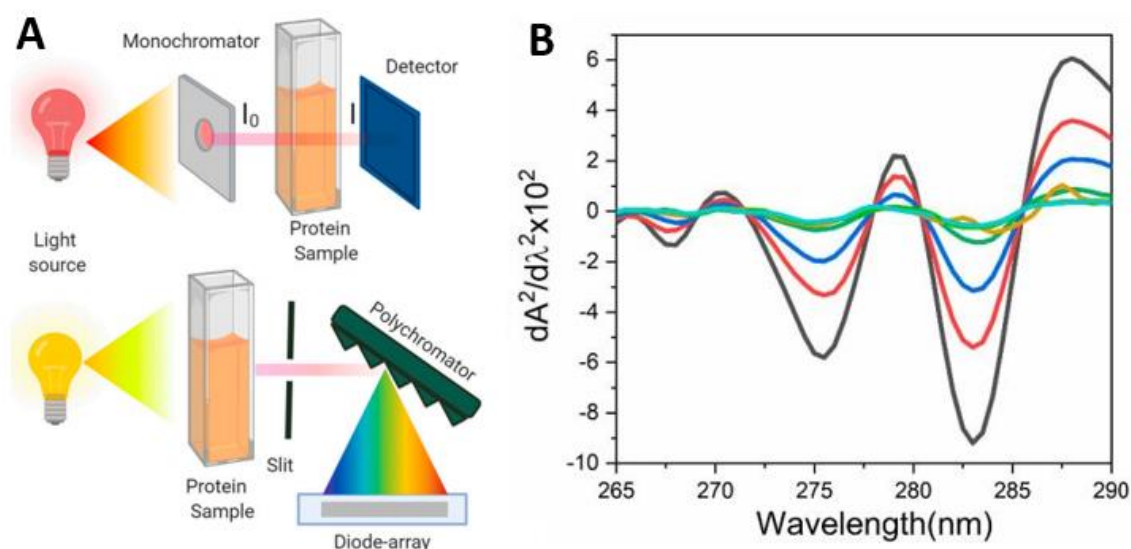
La synthèse peptidique dispose de plusieurs types de résine et plusieurs groupements protecteurs, ainsi que d'agents de couplages (figure 45).<sup>183</sup> Les résines, les plus utilisées sont des billes en polystyrène de 50µm environ, capables de gonfler dans les solvants tel que le diméthylformamide (DMF) et le dichlorométhane (DCM). D'autres résines plus hydrophiles existent, à base de polyamide ou de polyéthylène glycol. Le gonflement permet d'exposer les sites de liaisons qui se situent vers l'intérieur des billes. Les résines Merrifield ou Rink sont des exemples très répandus. Pour les groupements protecteurs, les plus utilisés sont les groupements fluorénylméthoxycarbonyle (Fmoc) et *tert*-butoxycarbonyle (Boc) pour les fonctions amines, ainsi que le groupement *tert*-butyle pour les fonctions acides carboxyliques. Enfin, parmi les agents de couplages, qui facilitent la formation la liaison peptidique ou ester, on peut citer les carbodiimides (exemple du DIC), les phosphoniums (exemple du BOP) et les uroniums (exemple de l'HBTU). Leur rôle est d'activer les fonctions qui vont intervenir dans la chaîne peptidique.

Au regard de la chimie verte, la synthèse peptidique présente des avantages et des inconvénients. Tout d'abord, la synthèse peptidique produit beaucoup de déchets et fait peu d'économie d'atomes, à cause de l'utilisation de groupements protecteurs massifs et d'agents de couplage, pourtant indispensables, au risque de ne pas pouvoir améliorer les rendements, qui est aussi un principe de chimie verte. Ceci dit, les couplages peptidiques sont fiables et sûrs, malgré certains rendements faibles en raison de la nature des structures synthétisées, et les peptides sont par nature biodégradables, avantage non négligeable en termes de protection de l'environnement.

### 3.2.3 Méthodes d'évaluation de l'inhibition d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>

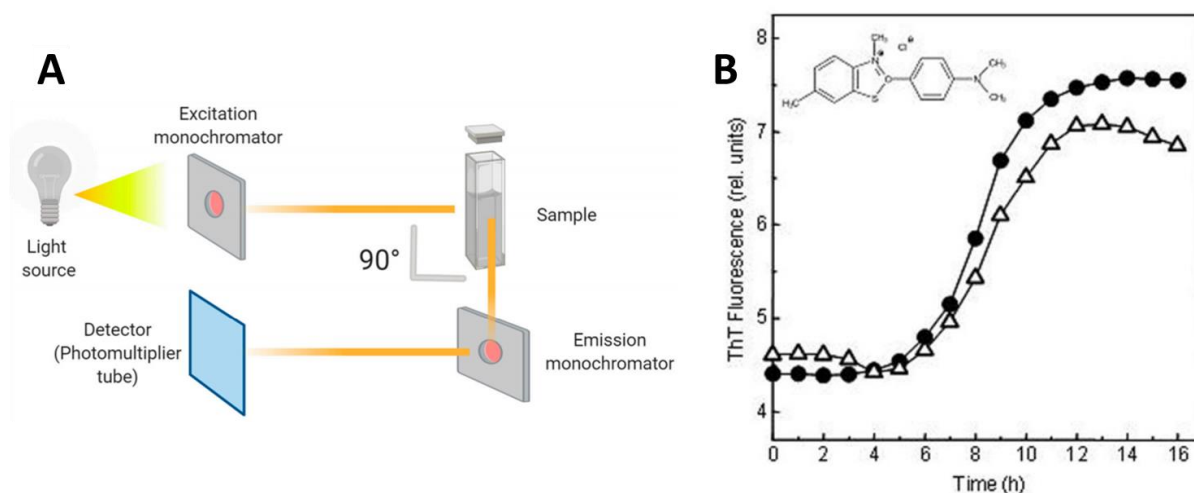
Avant d'évaluer l'efficacité de nouvelles substances dans l'inhibition de l'agrégation d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>, une nécessité s'installe, c'est celle de pouvoir observer *in vitro* l'agrégation en fibrilles d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>. C'est seulement lorsque s'installe un suivi au cours du temps de l'évolution des quantités d'espèces agrégées ou non dans des conditions expérimentales contrôlées, qu'il devient possible d'introduire des préparations afin d'évaluer leur impact sur l'agrégation du peptide.

Il existe plusieurs moyens efficaces d'attester et de suivre l'agrégation ainsi que son inhibition, en fibrilles au cours du temps d'A $\beta$ .<sup>184,185</sup> Sont ainsi à disposition la spectroscopie d'absorption en UV/visible, la spectroscopie de fluorescence, le dichroïsme circulaire, l'électrophorèse capillaire et la microscopie électronique à transmission. Ces techniques ne sont pas spécifiques, assez répandues et donc plutôt accessibles aux laboratoires.



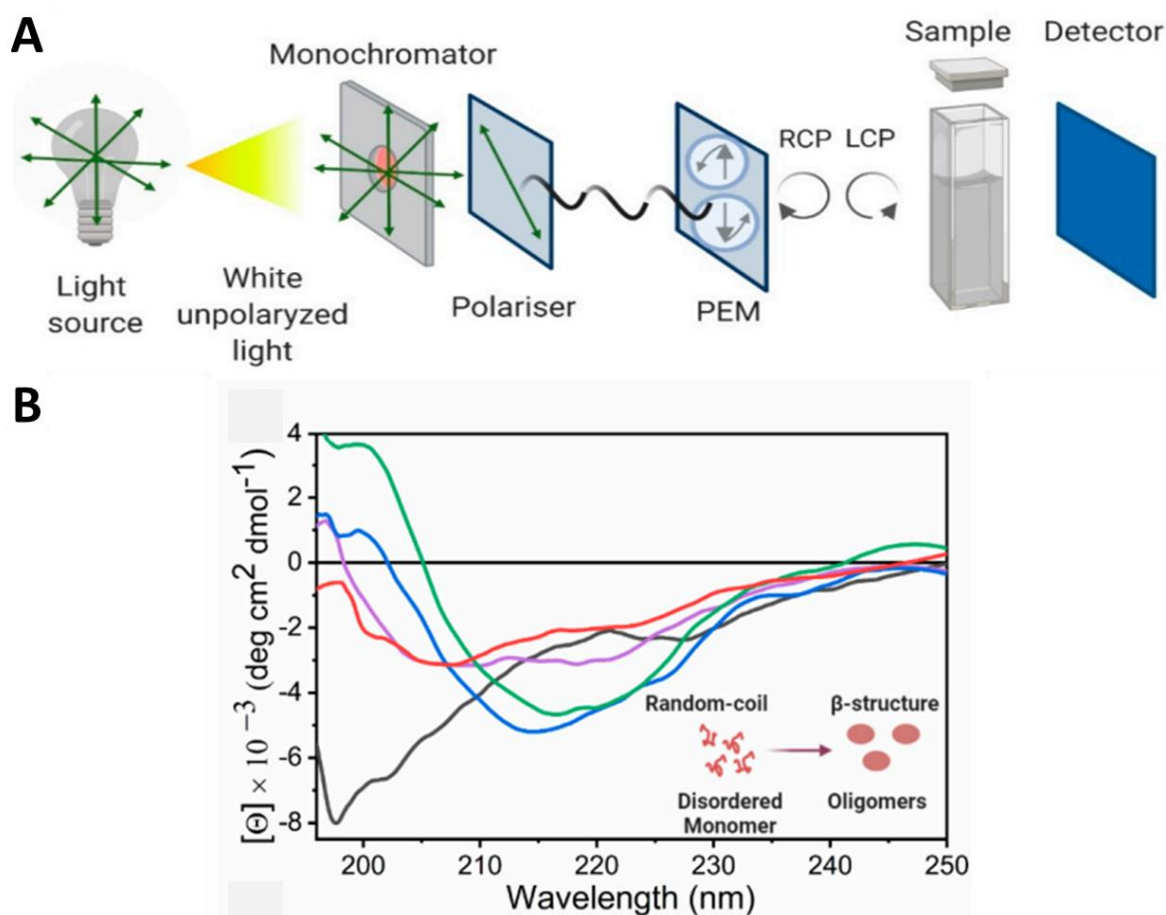
**Figure 46** (A) Principe de la spectroscopie d'absorption (B) Spectre expérimental en dérivé seconde d'une gliadine à 33 résidus (dont Tyr et Phe) s'agréant en oligomères solubles selon la concentration. Lors de l'agrégation les Phe sont dans un environnement plus hydrophobe, ce qui se traduit par un décalage de l'absorbance vers le rouge.<sup>185</sup>

**Spectroscopie d'absorption en UV/visible :** Cette méthode est basée sur l'absorption de la lumière par un chromophore, qui se traduit par la transition de niveaux d'excitation des électrons.<sup>185</sup> L'absorption de la lumière par un composé chimique ne sera pas la même selon la longueur d'onde émise, et cela est directement lié aux structures chimiques du composé étudié. De plus, l'absorption de la lumière est aussi dépendante de l'environnement électronique des groupements chimiques, notamment par l'exposition au solvant. On retrouve un déplacement de la longueur d'onde maximale d'absorption pour des phénylalanines par exemple, qui se retrouvent éloignées du solvant, comme c'est le cas dans la séquence CHC du peptide A $\beta$ . Ainsi, la spectroscopie d'absorption trouve son intérêt dans le suivi de l'agrégation d'A $\beta$  en raison du changement d'environnement électronique lors de l'empilement de feuillets  $\beta$ .



**Figure 47** (A) Principe de la spectroscopie par fluorescence à la ThT ;<sup>185</sup> (B) Suivi de l'agrégation en fibrille de deux échantillons d'Aβ<sub>1-40</sub> (25μM) à pH 7,4.<sup>184</sup>

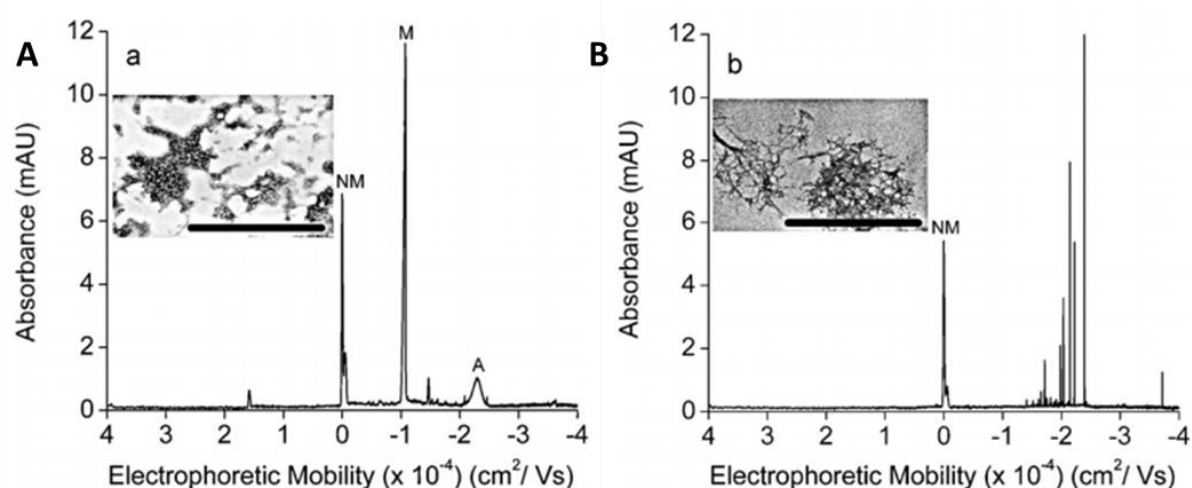
**Spectroscopie de fluorescence (ou test à la Thioflavine T) :** Ce test consiste à ajouter à une solution de peptide Aβ une teinture, la Thioflavine T (ThT), qui est capable de se lier rapidement aux feuillets β empilés. Lorsque la ThT s'est fixée, elle émet une fluorescence. Lors de la phase de nucléation, la faible fluorescence s'explique par la faible présence d'espèces organisées en feuillets β que la ThT peut fixer. L'augmentation de la fluorescence suit ensuite une courbe croissante qui tend vers un plateau lors de la phase stationnaire, où la quantité de feuillets β n'augmente plus. Ainsi, il est possible d'évaluer l'inhibition de l'agrégation d'Aβ par une substance, et moins la fluorescence sera marquée, plus l'inhibition de la formation de fibrilles sera grande. En revanche, si une substance inhibe la formation de fibrilles mais pas des oligomères toxiques, qui ne sont pas aussi riches en feuillets β, alors cela ne sera pas visible aussi nettement par cette méthode. De plus, d'autres inconvénients techniques existent avec par exemple l'exposition du rayon d'excitation qui peut ne se faire qu'en surface de l'échantillon, ou alors la grande sensibilité au matériel et au type d'échantillon.



**Figure 48** (A) Principe du dichroïsme circulaire comme outil d'étude des structures secondaires et tertiaire des protéines (B) Spectre expérimental de l'oligomérisation d'Aβ au cours du temps en conditions physiologiques (noir t=0h, rouge t=0,5h, violet t=1h, bleu t=3h, vert t=7h).<sup>185</sup>

**Mesure du dichroïsme circulaire** : Cette méthode de spectroscopie permet, entre autres, de mesurer les changements de structures secondaires et tertiaires lors de l'agrégation de protéines, ou lors de changements d'environnement (chimique avec le solvant ou physique par la température).<sup>185</sup> La technique est non destructrice en plus de ne nécessiter que de faibles concentrations d'échantillon. Cette méthode repose sur l'utilisation de lumière polarisée envoyée vers l'échantillon. Selon que la polarisation de la lumière est circulaire droite ou circulaire gauche, alors, les composés optiquement actifs tels que les protéines vont présenter une différence d'absorption des faisceaux de lumière polarisée. Une bande négative large entre 215 et 225 nm ainsi qu'une bande positive à 195 nm représentent des feuillets β. Tandis que pour des hélices α, deux bandes négatives sont retrouvées à 208 et 222 nm, ainsi qu'une bande positive à 193 nm. Sur la figure 48 (B), on peut voir qu'avec le temps, des bandes négatives autour de 210-220 nm sont plus prononcées, tandis qu'est apparu (après 30 min au moins) une bande positive à 190-200 nm. Ces bandes montrent bien qu'avec le temps,

des structures riches en feuillets  $\beta$  apparaissent, marquant l'agrégation de protéines. Ainsi, il est possible ici aussi de suivre l'agrégation en présence d'une substance afin d'évaluer son potentiel inhibiteur.



**Figure 49** Électrophorégrammes d'échantillons d'A $\beta_{1-42}$  (A) Échantillon de monomères d'A $\beta_{1-42}$  (B) Échantillon de fibrilles d'A $\beta_{1-42}$ .<sup>186</sup>

**Électrophorèse capillaire :** Il est possible d'utiliser l'électrophorèse capillaire et la détection de l'absorbance en UV ou de la fluorescence pour caractériser les différents états d'agrégation d'A $\beta_{1-40}$  et A $\beta_{1-42}$ , des monomères aux fibrilles.<sup>186</sup> Cette méthode offre la possibilité de séparer les différentes espèces issues de l'agrégation d'A $\beta$  en fonction de leur taille et de leur charge. Se faisant, on peut voir sur la figure 49 que les monomères ne se présentent pas au même pic (pic M) que les premiers agrégats (pic A) ((A), figure 49), tandis que les fibrilles se présentent sous de nombreux pics ((B), figure 49), liés aux différentes longueurs des fibrilles.

**Microscopie électronique à transmission :** La microscopie électronique à transmission permet d'observer des échantillons, cryogénisés notamment, de fibrilles à des résolutions élevées, dans un état hydraté ou non.<sup>187</sup> La technique repose sur la transmission d'un faisceau d'électron au travers de l'échantillon, et dont on va mesurer les interactions. Ainsi, il est possible d'observer des structures de l'ordre du nanomètre, et de différencier les petits agrégats des protofibrilles et des fibrilles matures. La cryo-EM en particulier, permet de conserver les échantillons dans un état hydraté natif en les cryogénisant, et est notamment utilisée pour étudier les protéines amyloïdogéniques comme A $\beta$ .

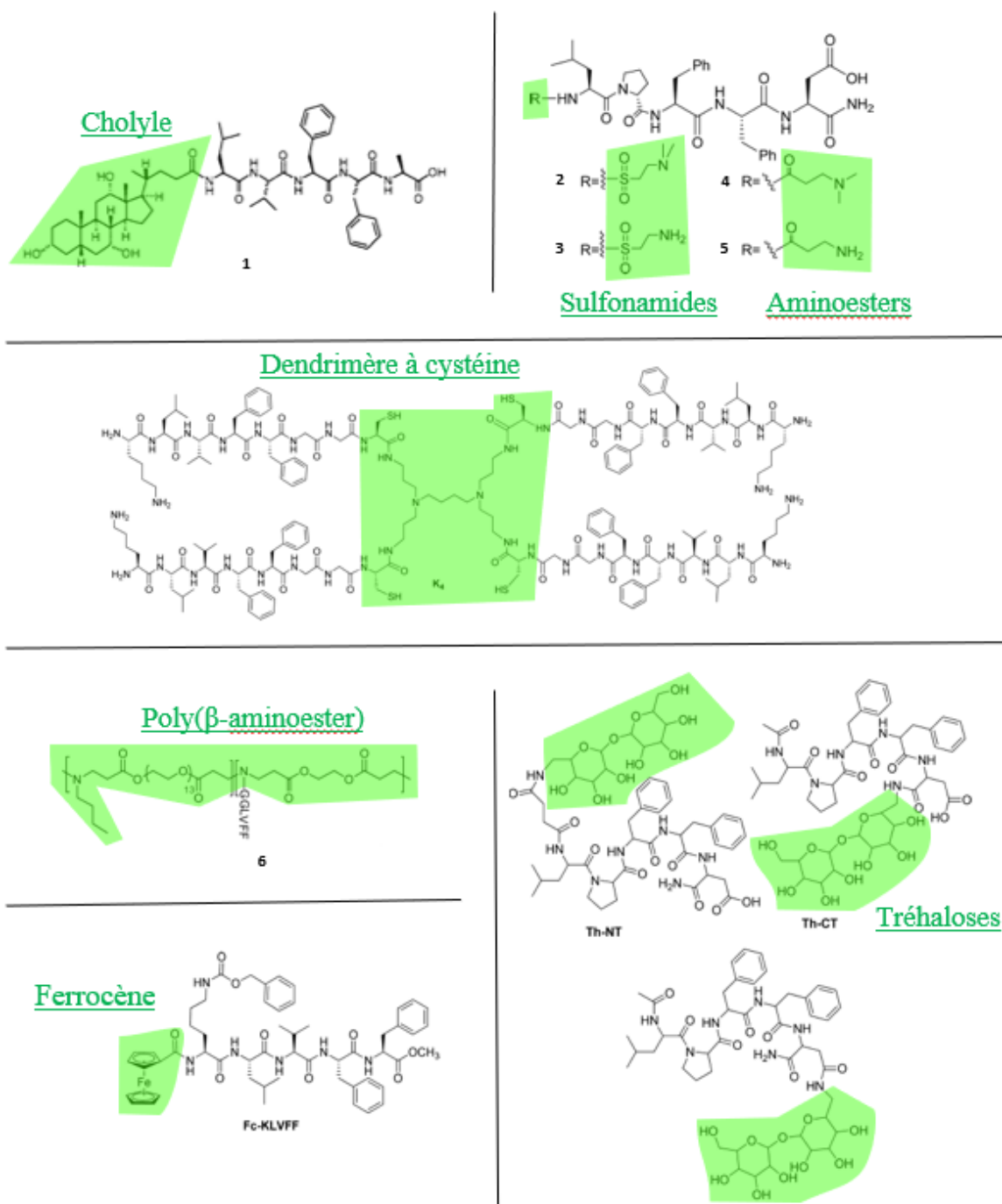
### 3.3 Peptidomimétiques basés sur la séquence d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>

#### 3.3.1 Dérivés de la séquence centrale hydrophobe (CHC)

##### 3.3.1.1 Peptides conjugués

La conjugaison de peptides permet de résoudre un problème qui se présente lors de l'utilisation de peptides natifs dérivé d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>, à savoir que ces peptides se fixaient bien sur A $\beta$ , mais qu'ils avaient tendance à initier l'agrégation en fibrilles. Ainsi, introduire des groupements conjugués sur la séquence KLVFF permet de conserver l'affinité de KLVFF pour A $\beta$  en premier lieu, et d'empêcher un autre peptide A $\beta$  de se fixer dans un second temps. Un autre intérêt de la conjugaison est sa capacité à influencer sur le passage de la BHE. Ces effets sont obtenus par les propriétés de ces groupements assez diversifiés en termes de structure.

Tout d'abord, la conjugaison par des groupements permet d'inhiber l'agrégation. Des structures assez volumineuses permettent de créer une gêne stérique, par exemple par le greffage de cholestérol (**1**, figure 50). L'inhibition de l'agrégation s'observe aussi par une augmentation de l'hydrophilie des groupements. Cela s'explique par le fait que la nucléation s'initie autour de la région hydrophobe centrale KLVFF, et améliorer l'hydrophilie y contrevient. Attribuer une plus grande hydrophilie est possible au moyen de tréhaloses (**Th-NT**, **Th-CT** et **Th-SC**, figure 50), de sulfonamides (**2** et **3**, figure 50), ou encore de groupements  $\beta$ -aminoesters (**6**, figure 50). Ces derniers ont d'ailleurs montré un effet important sur des cellules de neuroblastome humaines SH-SY5Y. Un greffage de plusieurs séquences KLVFF autour d'une dendrimère (**K4**, figure 50) a montré une meilleure inhibition d'A $\beta$  que la séquence KLVFF seule.

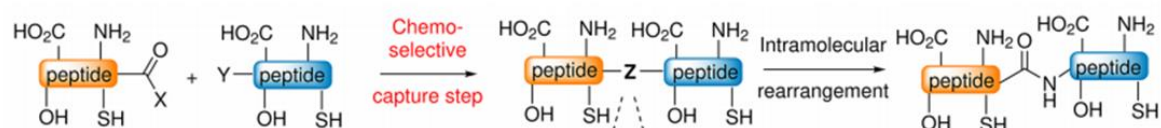


**Figure 50** Peptidomimétiques conjugués dérivés de la CHC (en vert, les groupes conjugués).<sup>40</sup>

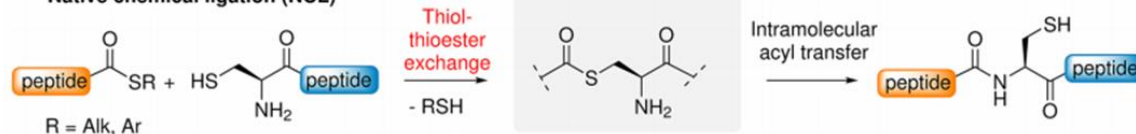
Une autre propriété de ces groupements est de modifier les caractéristiques physico-chimiques pour permettre le passage de la BHE, comme pour le greffage de putrescine ( $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$ ), la polyPEGylation. Le greffage de ferrocènes (**Fc-KLVFF**, figure 50) permet non seulement d'augmenter la lipophilie et donc le passage de la BHE, mais octroie aussi une meilleure résistance à la protéolyse.

Des hypothèses de mécanismes d'actions pour ces différents composés sont proposées comme pour les peptides conjugués par un tréhalose, qui interviendraient à un stade précoce de l'inhibition, la phase de nucléation. Une étude par dynamique moléculaire (MD) a montré que ces composés se fixent sur la partie « odd end » des protofibrilles (la partie terminale, en cours d'élongation, beaucoup moins stable, avec moins de feuillets  $\beta$  organisés), empêchant ainsi la fixation d'autres protofibrilles.<sup>63,188</sup> Aussi, le tétramère de KLVFF a montré qu'il agissait précocement sur la formation d'oligomère de bas poids moléculaire.<sup>189</sup>

#### A) Principe général de réactions de formation chimiosélectives d'amide



#### B) Type I (chaîne radicale) Native chemical ligation (NCL)



**Figure 51** Principe général de la *native chemical ligation*.<sup>190</sup>

Pour donner un exemple de synthèse, le peptidomimétique **K4** a été obtenu par un mode opératoire en deux parties, une par synthèse peptidique et l'autre par greffage d'un thioester puis d'une *native chemical ligation*.<sup>189</sup> La première partie est donc une synthèse peptidique classique d'un heptapeptide KLVFFGG, les deux glycines C-ter formant un espaceur entre la structure peptidique et le dendrimère. Lors de la deuxième partie, les peptides furent fonctionnalisés au moyen d'acide 3-mercaptopropionique leucine thioester, tandis que les extrémités amines du dendrimère furent couplées avec des cystéines. Ainsi, quatre équivalents de peptides fonctionnalisés furent couplés à un équivalent de dendrimère « cystéiné » dans des conditions standards, afin d'obtenir le tétramère après purification par HPLC.

Dans l'ensemble, ces composés ont montré une très bonne inhibition d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>, mais ont présenté une faible stabilité protéolytique, et l'impact des groupements conjugués sur le passage de la BHE, à cause d'une trop grande hydrophilie, peut être compromettant pour le futur de certaines molécules.

### 3.3.1.2 Peptides à aa modifiés

On peut classer l'ensemble de ces molécules dans les classes A et B des peptidomimétiques. Les modifications apportées à ces aa affectent soit le squelette de la chaîne peptidique soit les chaînes latérales des résidus. Le squelette peut être modifié :

- par l'incorporation de fluor sur les chaînes latérales (**7, 8, 9**, figure 52) ;
- par l'utilisation de D-peptides (**inD** et **inrD**, **19, 20, 21**, **SEN 304**, **SEN 606**, figure 52) pour lesquels la stéréochimie du peptide est inversée (dits « inversos »), ainsi que des peptides « rétros » dont le sens de la chaîne est inversé, et « rétro-inversos », dont la chiralité et le sens de la chaîne sont inversés ;
- un changement de structure total de la chaîne radicale (**SEN 304**, **SEN 606**, **16, 17**, figure 52) ou partiel (ajout d'un phényle sur une phénylalanine, **20** et **21**, figure 52) ;
- par la N-méthylation (**SEN 304**, **SEN 606**, **P6, 10 à 15**, figure 52), qui consiste à méthyler l'azote de la liaison peptidique ;
- en cyclisant le peptidomimétique (**18 à 21**, figure 52).

Le raisonnement derrière le développement de ces substances se base ici aussi, sur l'obtention de l'effet inhibiteur de l'agrégation, et sur les modifications des paramètres physico-chimiques à des fins pharmacocinétiques, en particulier la résistance à la protéolyse et le passage de la BHE.

La fixation à la séquence CHC nécessite une certaine hydrophobicité, au risque de réduire la solubilité des composés synthétisés. Le fluor, la N-méthylation et l'addition de résidus chargés permettent d'aller dans ce sens mais le fluor possède un avantage supplémentaire non négligeable, puisqu'il permet d'augmenter l'hydrophobicité sans trop impacter la solubilité (**7 à 9**, figure 52). Les composés N-substitués (**InL**, **InD**, **InrD**, **SEN 304**, **SEN 606**, **10 à 15**, **P6**, figure 52) sont retrouvés très souvent en même temps que d'autres modifications. En revanche, l'encombrement de l'azote le rendant moins nucléophile, il est plus difficile à coupler lors de la synthèse peptidique.

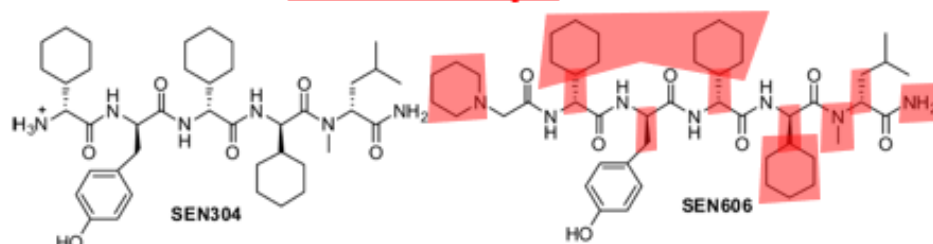
### A.a. fluorés

- 7 Leu-FluoroPro-Phe-Phe-Asp-PEG (LP<sub>1</sub>FFD-PEG)  
 8 Leu-Val-FluoroPhe-Phe-Asp-PEG (LVF<sub>1</sub>FD-PEG)  
 9 Leu-FluoroVal-Phe-Phe-Asp-PEG (LV<sub>1</sub>FFD-PEG)

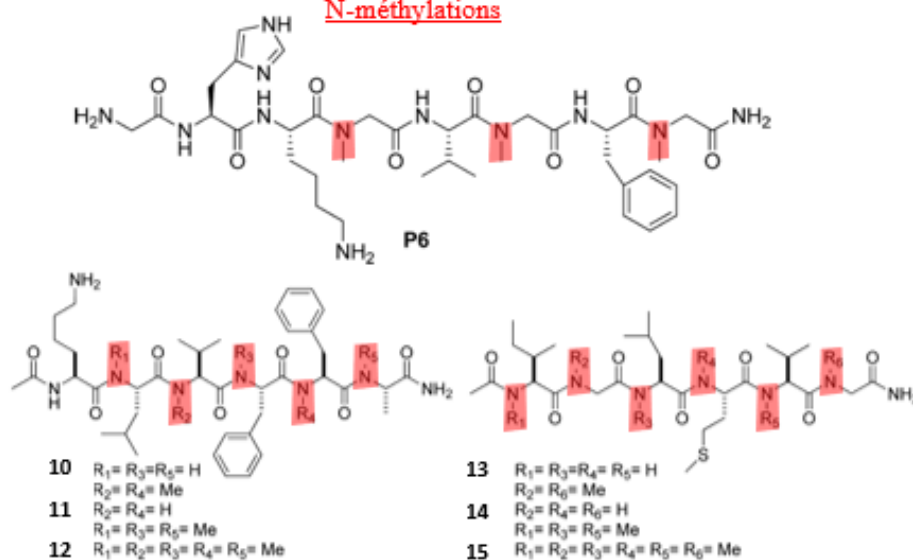
### D-peptides et/ou a.a. N-méthylés

- inL: H-Lys-Lys-Leu-Val-Phe-(N-MePhe)-Ala-NH<sub>2</sub>  
 inD: H-D-Lys-D-Lys-D-Leu-D-Val-D-Phe-D-(N-MePhe)-D-Ala-NH<sub>2</sub>  
 inrD: H-D-Ala-D-(N-MePhe)-D-Phe-D-Val-D-Leu-D-Lys-D-Lys-NH<sub>2</sub>

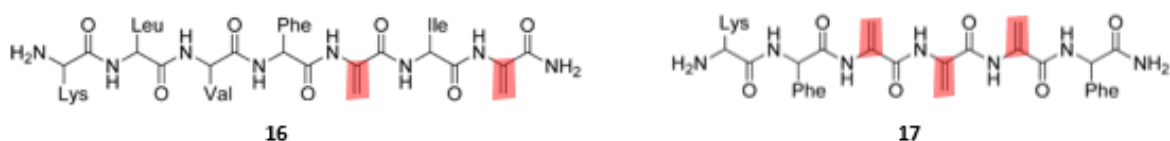
### Modifications multiples



### N-méthylations



### $\alpha,\beta$ -déhydroalanines



### A.a. substitués et D-peptides cycliques

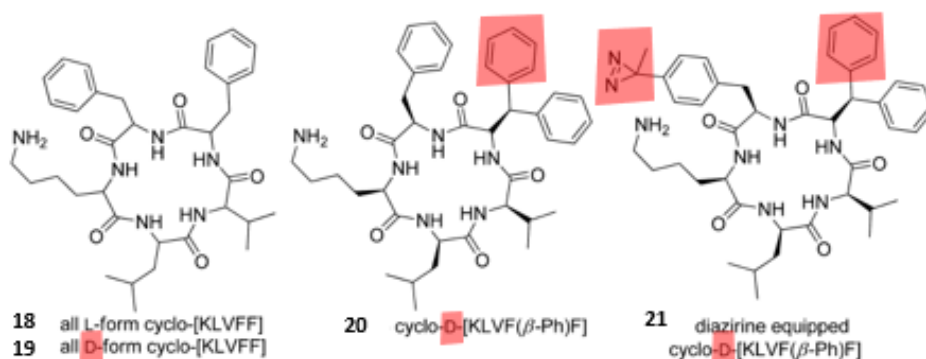


Figure 52 Peptidomimétiques à aa modifiés dérivés de la CHC (en rouge, les structures d'aa modifiées).<sup>40</sup>

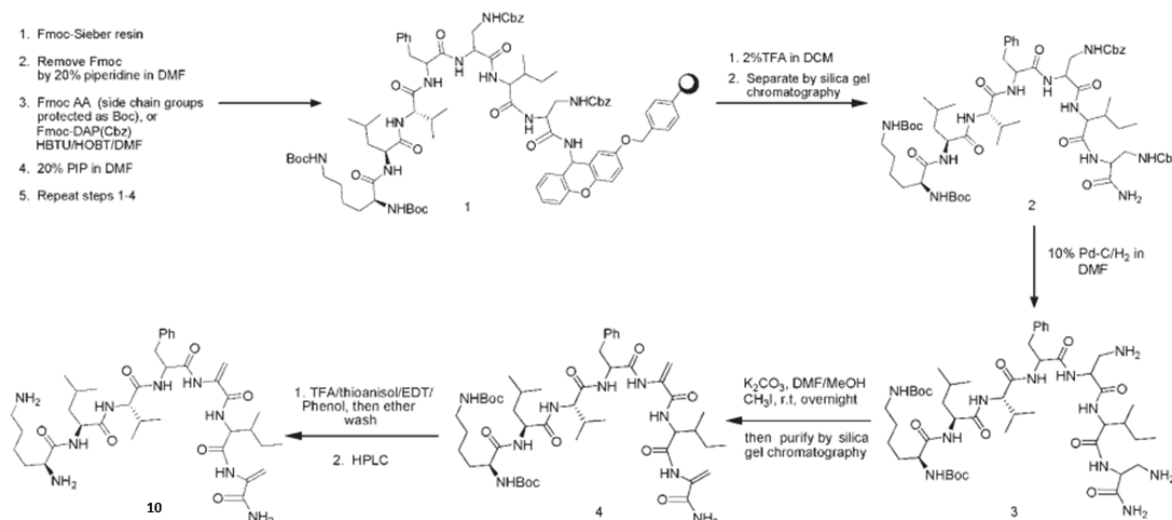
Les peptides rétro-inversos sont un moyen efficace d'obtenir une inhibition de l'agrégation, puisque l'utilisation de D-peptides permet d'inhiber plus efficacement L-A $\beta$  que D-A $\beta$ , tandis que les L-peptides inhibent plus efficacement D-A $\beta$ . Il est également possible de conjuguer ces peptides rétro-inversos N-méthylés (**InL**, **InD**, **InrD**, **P6**, figure 52) afin d'empêcher l'agrégation d'A $\beta$  autour de la région centrale hydrophobe. Il est aussi possible d'ajouter dans un peptide rétro-inverso **RI-OR2**, des aa chargés positivement, comme la D-Lys et/ou la D-Arg, apporté par une autre séquence peptidique virale du VIH, la séquence **TAT**.<sup>191,192</sup> Le peptide couplé présente une plus forte affinité pour A $\beta$ <sub>1-42</sub>, en plus de passer la BHE et d'être moins sensible à la protéolyse.

Enfin, une autre option est de remplacer ou d'ajouter certains aa par des alanines  $\alpha,\beta$ -déshydrogénées (**16** et **17**, figure 52).

Les nanoparticules, ici, permettent d'améliorer nettement le profil pharmacologique de certains de ces composés. Un peptide acétylé Ac-VFFARK-NH<sub>2</sub> a été greffé à des nanoparticules d'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA) et a permis de réduire la toxicité du peptide en plus de montrer une forte inhibition de l'agrégation.<sup>193</sup> En effet, les NPs de PLGA s'impliquent dans l'inhibition en plus du seul peptide par effet synergique, en imposant des restrictions de conformation à A $\beta$ <sub>1-42</sub>, le redirigeant vers des espèces « off-pathway », non toxiques. Des nanoliposomes NL ont aussi été employés, notamment lorsqu'ils sont couplés avec **RI-OR2-TAT**, et qui ont pour effet l'inhibition de l'agrégation d'A $\beta$  (à un ratio de 1:2000 de **NL-RI-OR2-TAT**:A $\beta$ ) en plus de protéger des cellules de neuroblastome humaines SH-SY5Y de la cytotoxicité d'A $\beta$ . Des études *in vivo* chez des souris transgéniques ont montré un effet protecteur contre la perte de mémoire, en plus de l'apparition de nouveaux neurones.

Pour ces molécules aussi, peu de mécanismes d'action sont proposés. On peut tout de même citer le composé **P6** (figure 52), constitué d'un peptoïde **SrVSrFSr** (Sr = Sarcosine = glycine N-méthylée) et d'une séquence chélatrice GHK. Celle-ci pouvant chélater le cuivre Cu<sup>2+</sup>, **P6** peut ainsi empêcher le stress oxydant en plus d'inhiber l'agrégation d'A $\beta$ .

On voit aussi apparaître des substances ayant participé à des essais cliniques, comme le **PPI-1019**{D-(H[Me-L]-VFFL)-NH<sub>2</sub>}, qui a atteint les phases I et II d'essais cliniques.<sup>194</sup> Ceux-ci se sont terminés sans donner suite.



**Figure 53** Synthèse sur support puis en solution du peptidomimétique **10**.<sup>195</sup>

Prenons un exemple de synthèse, mixte ici, qui se décompose en une synthèse sur support suivie d'une synthèse en solution. La première partie de la synthèse consiste en quatre couplages successifs en présence d'HBTU/HOBt dans le DMF. Une fois l'hexapeptide synthétisé, la résine est clivée par l'acide trifluoroacétique puis le peptide est purifié sur colonne. L'étape suivante est une déprotection des groupements protecteurs Cbz. La déprotection est sélective puisqu'il faut laisser protégées les fonctions amines qui ne doivent pas réagir à l'étape suivante. D'ailleurs cette étape est cruciale et consiste en une méthylation des amines déprotégées précédemment, suivie d'une  $\beta$ -élimination afin d'obtenir les résidus déhydroalanines. Pour finir, la dernière étape est une déprotection des groupements protecteurs Boc, afin de libérer les amines restantes.

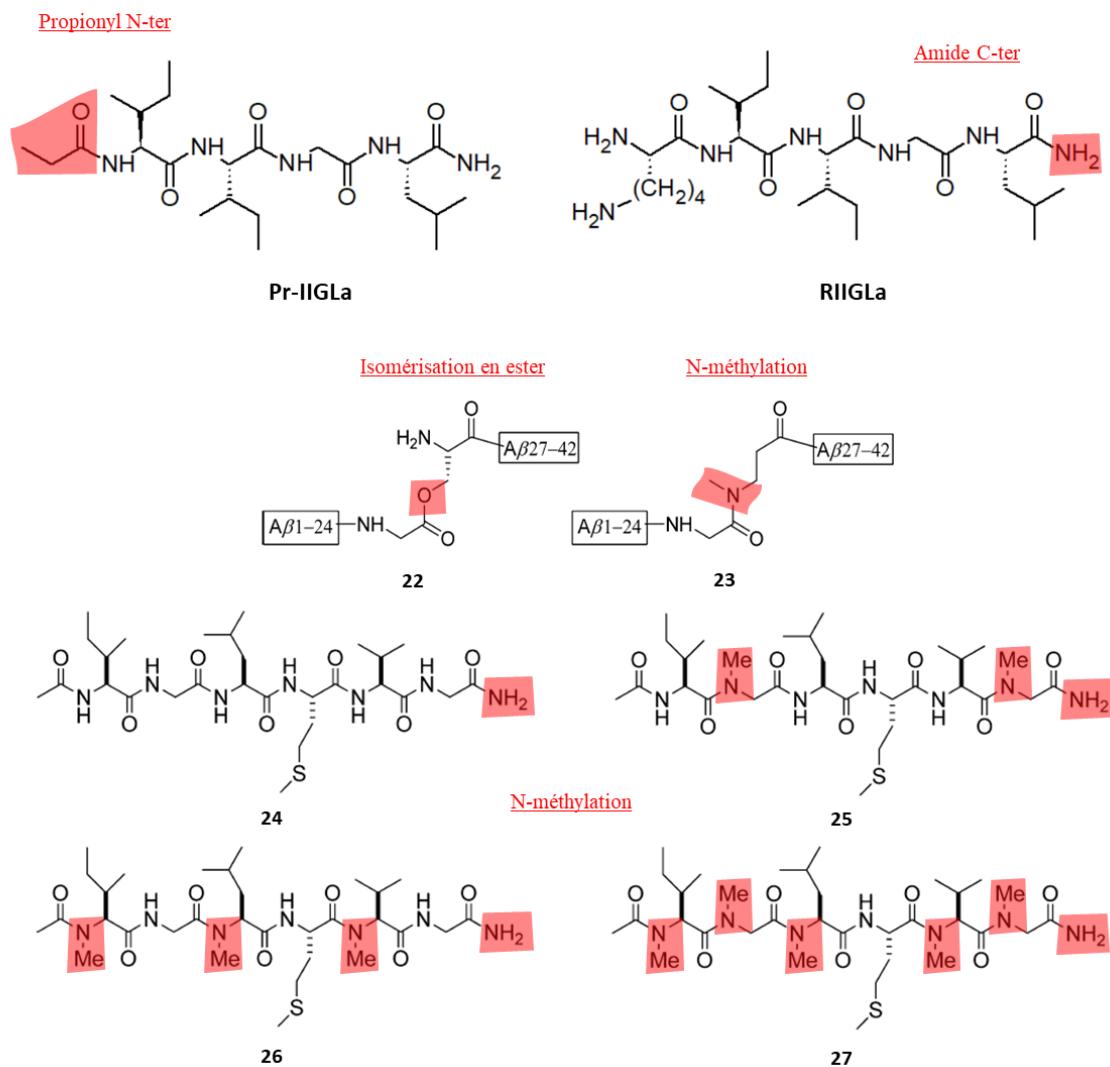
Si ces substances ont surtout été développées dans les années 2000, la recherche continue d'explorer cette voie. On peut supposer que cette persistance s'explique par l'engouement pour le rôle majeur de KLVFF dans l'agrégation qui perdure encore aujourd'hui, et aussi en raison des nombreuses modifications possibles que permettent les peptidomimétiques.

### 3.3.2 Dérivés de la séquence C-terminale

Les peptidomimétiques dérivés de la séquence CHC possède la capacité d'inhiber A $\beta$ <sub>1-40</sub> et A $\beta$ <sub>1-42</sub>, mais pas avec les mêmes ratios, ce qui fait d'eux des composés peu spécifiques d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> dans l'ensemble. En revanche, les peptidomimétiques dérivés de la séquence C-ter, développés depuis les années 90, le sont davantage. En effet, la différence entre ces deux versions d'A $\beta$  tient aux deux derniers résidus hydrophobes, I<sub>41</sub> et A<sub>42</sub>, absents dans la version à 40 résidus. Or, il a déjà été précisé que les résidus K<sub>28</sub> et Ala<sub>42</sub> formaient un pont salin dans les fibrilles d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>, stabilisant la structure en feuillet  $\beta$  au sein des fibrilles. Ainsi, ces composés sont développés spécifiquement pour mimer cette séquence et perturber la fixation d'autres monomères ou protofibrilles d'A $\beta$ . Or il existe peu de ces molécules. On peut supposer que la plus grande proportion d'études dédiées à la séquence KLVFF est motivée par son rôle majeur dans l'agrégation et qu'elle permet d'étudier toutes les versions d'A $\beta$ .

Les molécules décrites ici sont des peptides modifiés de classe A et B, soit par un simple amide C-ter, soit des N-méthylations, ou par isomérisation avec le remplacement de liaison peptidique par un ester.

Le premier type de modifications permettant d'observer l'effet inhibiteur fut l'ajout de groupements propionyle et amide aux extrémités N-ter et C-ter respectivement (**Pr-IIGLa**, figure 54). Mais ce composé présentait une trop grande cytotoxicité puisqu'il induisait l'agrégation en fibrilles. Ainsi, il a été décidé d'ajouter un résidu chargé, une lysine N-terminale, afin de la réduire (**RIIGLa**, figure 54). On observe encore une fois que l'ajout de résidus chargé permet d'inhiber l'agrégation en ajoutant une charge dans un site habituellement hydrophobe. Vint ensuite la N-méthylation, qui intervient afin de bloquer les liaisons hydrogène qu'utiliserait un nouveau monomère ou une nouvelle protofibrille pour se fixer. Cela s'est vérifié par l'utilisation de peptides dérivés de A $\beta$ <sub>25-35</sub> N-méthylé en Gly<sub>33</sub> et Leu<sub>34</sub>, ainsi que par des hexapeptides, basés sur A $\beta$ <sub>32-37</sub>, N-méthylés jusqu'à 5 fois (**24** à **27**, figure 54). Ces derniers ont d'ailleurs montré une activité bénéfique sur des modèles *in vivo* de drosophiles.



**Figure 54** Peptidomimétiques dérivés de la séquence C-terminale (en rouge, les structures d'aa modifiées).<sup>40</sup>

L'autre façon d'obtenir un effet inhibiteur fut d'utiliser un isopeptide d'Aβ<sub>1-42</sub> (**22** et **23**, figure 54). Pour cela, la liaison peptidique entre la Gly<sub>25</sub> et la Ser<sub>26</sub> fut isomérisé pour qu'une liaison ester se fasse par la chaîne radicale de la Ser<sub>26</sub> et l'acide de la Gly<sub>25</sub>. Remplacer l'ester par un amide N-méthylé a permis de préserver l'effet inhibiteur (à un ratio 1:1), tout en augmentant la stabilité chimique du composé.

### 3.4 Peptidomimétiques non basés sur la séquence d'Aβ<sub>1-42</sub>

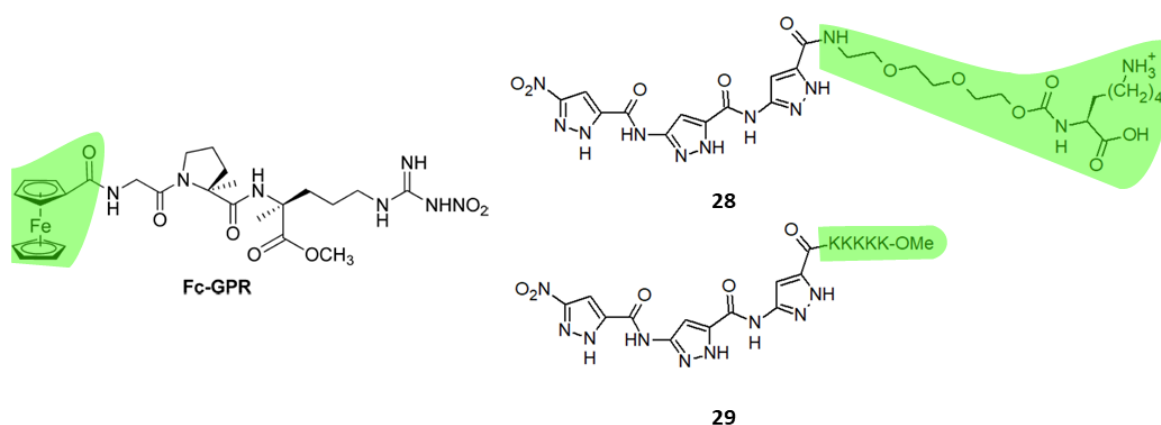
C'est dans cette catégorie que sont classées beaucoup des substances les plus récentes parmi les inhibiteurs de l'agrégation d'Aβ<sub>1-42</sub>. Contrairement aux peptides dérivés directement de la séquence Aβ<sub>1-42</sub>, ceux-ci présentent une diversité structurale plus étoffée. C'est pour

cela que les substances non basées sur la séquence d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> rentrent dans toutes les classes de peptidomimétiques présentées plus tôt dans cette thèse. En effet, on commence à observer un éloignement plus important des nouveaux composés vis-à-vis du squelette peptidique, comme décrit par les classes C et D. On peut rajouter que des librairies de molécules ont commencées à être utilisées pour cribler plus de composés simultanément afin d'obtenir des hits.

### 3.4.1 Peptides conjugués

Ici, surtout deux composés peuvent correspondre à cette catégorie. C'est le cas d'un trimère d'acide aminopyrazole carboxylique et d'un ferrocène greffé à un peptide légèrement modifié.

Dans le premier cas, plusieurs groupements ont été greffés à un trimère d'acide aminopyrazole carboxylique, puis testés (**28** et **29**, figure 55). Il en est ressorti deux éléments de relation structure-activité intéressants. Ceux-ci sont : des groupements lipophiles éloignés permettant des interactions disruptives avec une séquence d'aa non polaire I<sub>31</sub> à V<sub>36</sub> des lysines multiples à distance qui vont interagir plus loin avec l'acide aspartique en position 22. De plus, la présence d'un espaceur triéthylène glycol permet de déstabiliser le coude des protofilaments d'A $\beta$  et ainsi d'empêcher son repliement en feuillet  $\beta$ .<sup>196</sup> Aussi, seul les polyLys permettent de détruire la structure cross  $\beta$ -sheet.



**Figure 55** Peptidomimétiques conjugués non dérivé d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>.

L'autre composé fut déjà étudié dans le cas d'un peptide dérivé de la séquence CHC, pour lequel un ferrocène fut greffé à un peptide GP(NO<sub>2</sub>-R)-OCH<sub>3</sub>, modifié dans le cas présent sur le résidu arginine. L'ajout de ce ferrocène a permis de rendre plus hydrophobe le composé (**Fc-GPR**, figure 55), et a montré un effet désagrégeant des fibrilles préformées.

On peut supposer que la conjugaison de peptide n'offre plus autant d'intérêt vu que modifier directement le squelette peptidique ou les résidus pour optimiser l'effet recherché, est plus utilisé désormais.

### 3.4.2 Peptides à aa modifiés

#### 3.4.2.1 D-peptides

Ici encore, l'inversion de configuration des peptides est présente pour quelques substances.

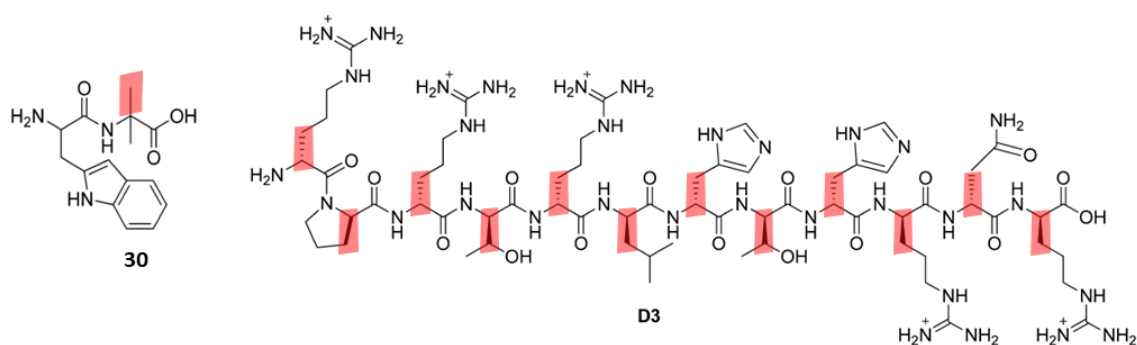


Figure 56 D-peptides non dérivés d'Aβ.<sup>40</sup>

Des mécanismes d'action ont été proposés pour ces D-peptides. Une demi-douzaine de peptides avec un espaceur triglycine inséré dans leur séquence (**IAAGITGGGCOOH**, **TVIGTIGGGCONH<sub>2</sub>**, **TGIIASGGGCOOH**, **TTIVSTGGGCOOH**, **AGVISIGGGCOOH**, **TVIR<sup>+</sup>TIAACOOH**) ont montré une baisse de l'influx de Ca<sup>2+</sup>, car ceux-ci s'agrègent avec Aβ pour former de nouvelles fibrilles incapables d'induire cet influx de Ca<sup>2+</sup>.

Un dipeptide a été développé afin de mettre en valeur le rôle des résidus aromatiques dans l'agrégation d'Aβ (**30**, figure 56).<sup>197</sup> Ce dipeptide présente une séquence NH<sub>2</sub>-D-Trp-Aib-OH, dont le résidu tryptophane va interagir avec Aβ, tandis que le résidu Aib va

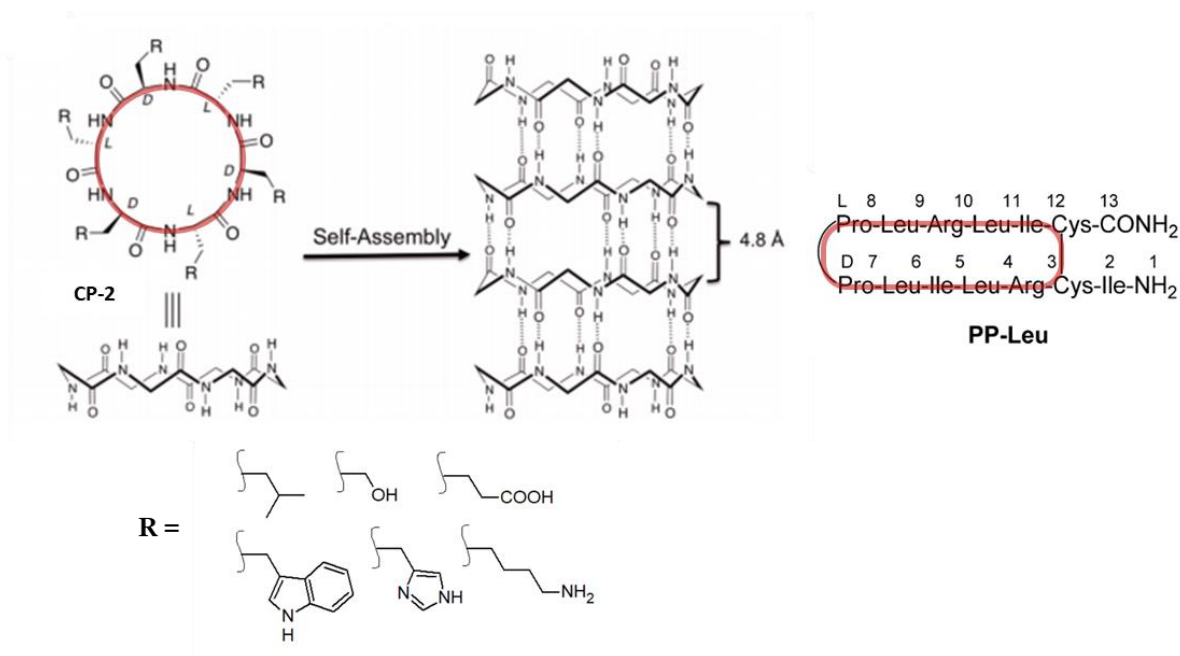
empêcher l'agrégation avec d'autres monomères ou protofibrilles. De plus, ce dipeptide présente des caractéristiques pharmacocinétiques favorables avec une bonne biodisponibilité orale (39%) et nasale (55%), ainsi qu'un passage de la BHE de l'ordre de 4-8% des doses selon le mode d'administration. *In vivo*, chez des souris transgéniques, ce dipeptide a réduit fortement la présence de plaques amyloïdes et a amélioré leur fonction cognitive.

Un autre composé prometteur (**D3**, figure 56) a montré qu'il était capable de changer l'équilibre de la formation de fibrilles en favorisant l'agrégation d'espèces nonamyloïdogéniques, en plus de réduire la neuroinflammation et l'accumulation de plaques. Enfin, un dernier composé dérivé de l'apolipoprotéine 1 (**D4-F**: Ac-DWFKAFYDKVAEKFKAEAF-NH<sub>2</sub>) a montré sa capacité *in vivo* à réduire les dépôts amyloïdes et la neuroinflammation dans l'hypothalamus de souris et à améliorer leur fonction cognitive.

Concernant la diffusion des composés, il est intéressant de noter que **D3** ne passe pas la BHE par diffusion passive en raison des nombreux résidus chargés qui le composent, mais que sa diffusion se faisait en revanche au moyen d'un mécanisme de transcytose, sur des cultures cellulaires en tout cas. Cela montre qu'il serait possible de développer des composés plus hydrophiles sans nécessairement empêcher le passage de cette barrière.

#### 3.4.2.2 Peptides cyclisés

Un tridécapeptide (**PP-Leu**, figure 57) analogue de peptides antiviraux à large spectre, appelées  $\theta$ -défensines, a montré sa capacité à inhiber efficacement l'agrégation. Il procède ainsi par maintien des peptides A $\beta$  en suspension colloïde. La cyclisation de ce tridécapeptide trouve aussi son intérêt dans la résistance à la protéolyse qu'elle lui procure.

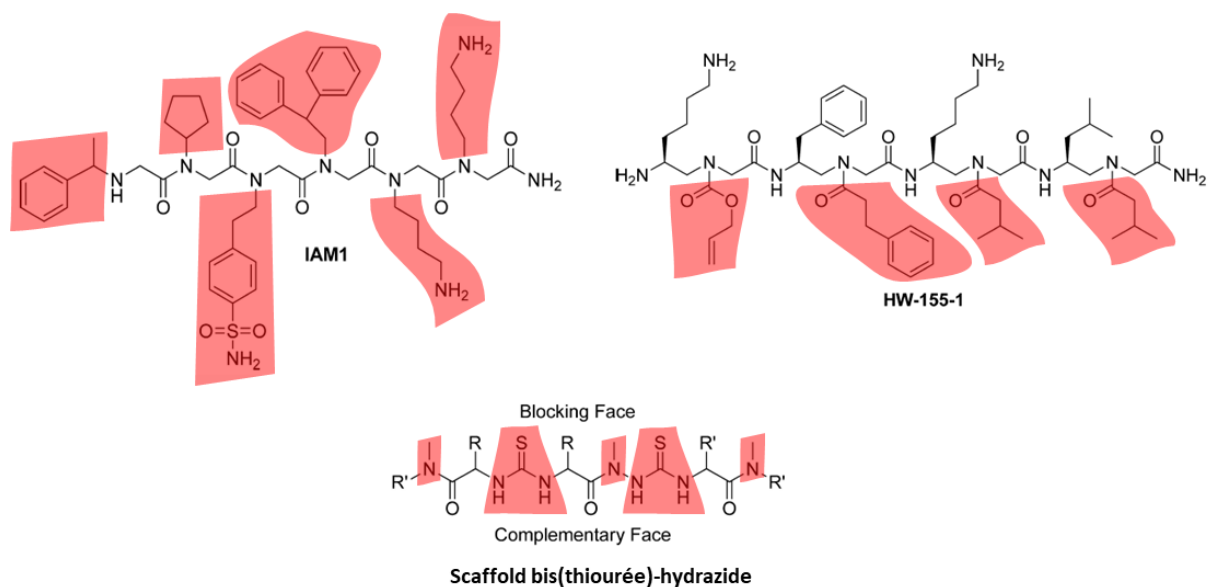


**Figure 57** Peptidomimétiques cycliques non dérivés d'Aβ.<sup>40,198</sup>

Une librairie de D,L-peptides cycliques a été conçue et un d'entre eux (**CP-2**, figure 57) a montré sur des cellules PC12, une capacité à désassembler des agrégats et fibrilles préformés. Cela repose sur les similarités structurales entre les peptides amyloïdes et cette librairie de D,L-peptides cycliques, en permettant de stabiliser les formes nonamyloïdogéniques d'Aβ, et donc d'empêcher l'accumulation de formes plus toxiques. Ces formes stabilisées sont plutôt constituées de feuillets β parallèles et non pas de feuillets β antiparallèles, plus caractéristiques des espèces toxiques.

### 3.4.2.3 N-substitutions

Cette fois-ci, les substitutions sur l'azote de l'amine α des résidus ne se limitent pas à la méthylation. En effet, parmi les peptidomimétiques décrits ici, certains sont des peptoïdes dont les chaînes radicales des résidus peuvent se retrouver non pas sur le carbone α mais sur l'azote de l'amine rentrant dans la liaison peptidique. Ce décalage de chaînes radicales sur l'azote est intéressant puisqu'il permet de créer une stéréochimie différente des D et L-peptides, et que les protéases ne peuvent plus reconnaître ces substances et les dégrader.



**Figure 58** Peptides N-substitués non dérivés d'Aβ.<sup>40</sup>

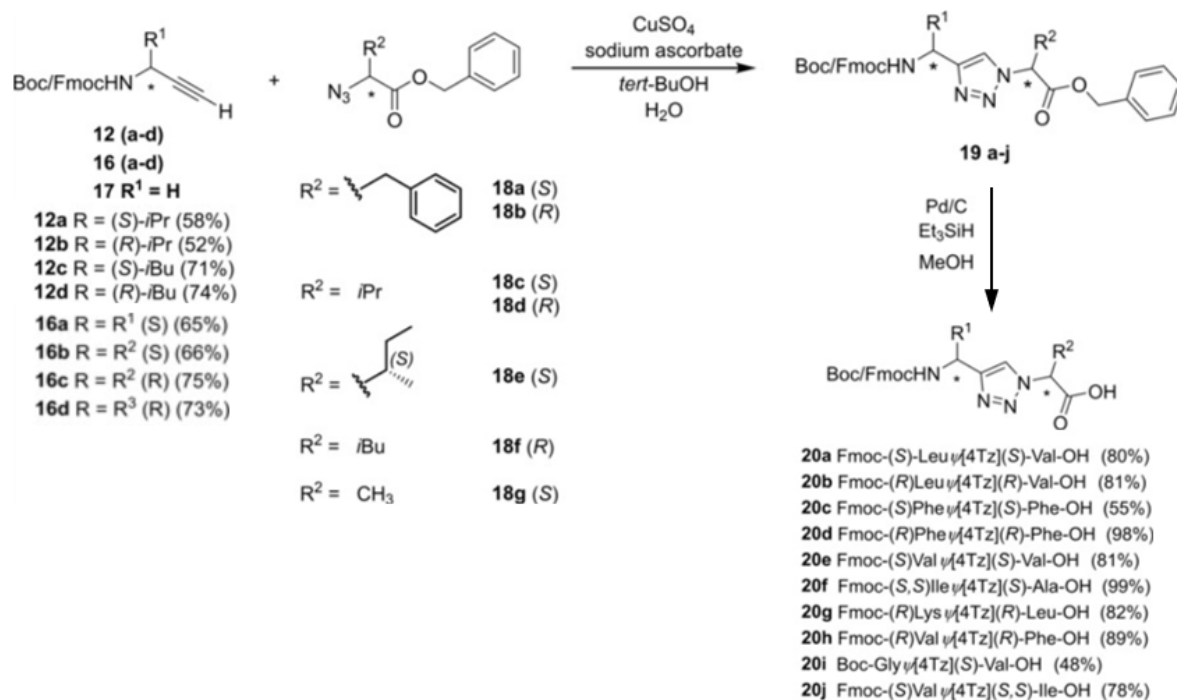
Parmi une librairie de peptoides à glycines N-substituées, un en particulier est capable de se fixer sélectivement sur Aβ<sub>1-42</sub> (**IAM1**, figure 58), en plus d'être plus efficace que la substance de référence, le scyllo-inositol. Aussi, un dimère de ce peptoid (IAM1)<sub>2</sub> a une encore meilleure affinité pour Aβ<sub>1-42</sub> et protège les neurones de l'hippocampe *in vitro* de la toxicité d'Aβ. À partir d'une librairie de peptide à base d'acides γ-aminés, un peptide (**HW-155-1**, figure 58) a montré qu'à un ratio équimolaire, il inhibait totalement la toxicité induite par Aβ<sub>1-42</sub> chez des cellules de neuroblastome N2a et empêché leur mort cellulaire.<sup>199</sup> Enfin, des peptides N-méthylés existent aussi, à commencer par des peptides présentant une alternance entre alanine N-méthylé et alanine naturelle qui ont été testés *in silico*. Parmi eux, un térapeptide, **Ac-A-(NMe-A)-A-(NHMe-A)**, était capable d'interagir avec la séquence CHC d'Aβ. Un autre type de peptide N-méthylés a aussi remplacé une partie de ses liaisons peptidiques par un scaffold **bis(thiourea)hydrazide** (figure 58). L'intérêt principal du groupement thiourée, tient dans les liaisons hydrogène fortes qu'il peut former facilement avec Aβ, tandis que la N-méthylation empêche la fixation d'un autre monomère ou protofibrille, afin de stopper l'agrégation.

#### 3.4.2.4 Acides aminés fluorés

Un tripeptide avec un résidu Aib (acide aminoisobutyrique) a été synthétisé, en parallèle d'une version trifluorée (résidu (R)-α-trifluorométhylalanine) de ce même tripeptide.



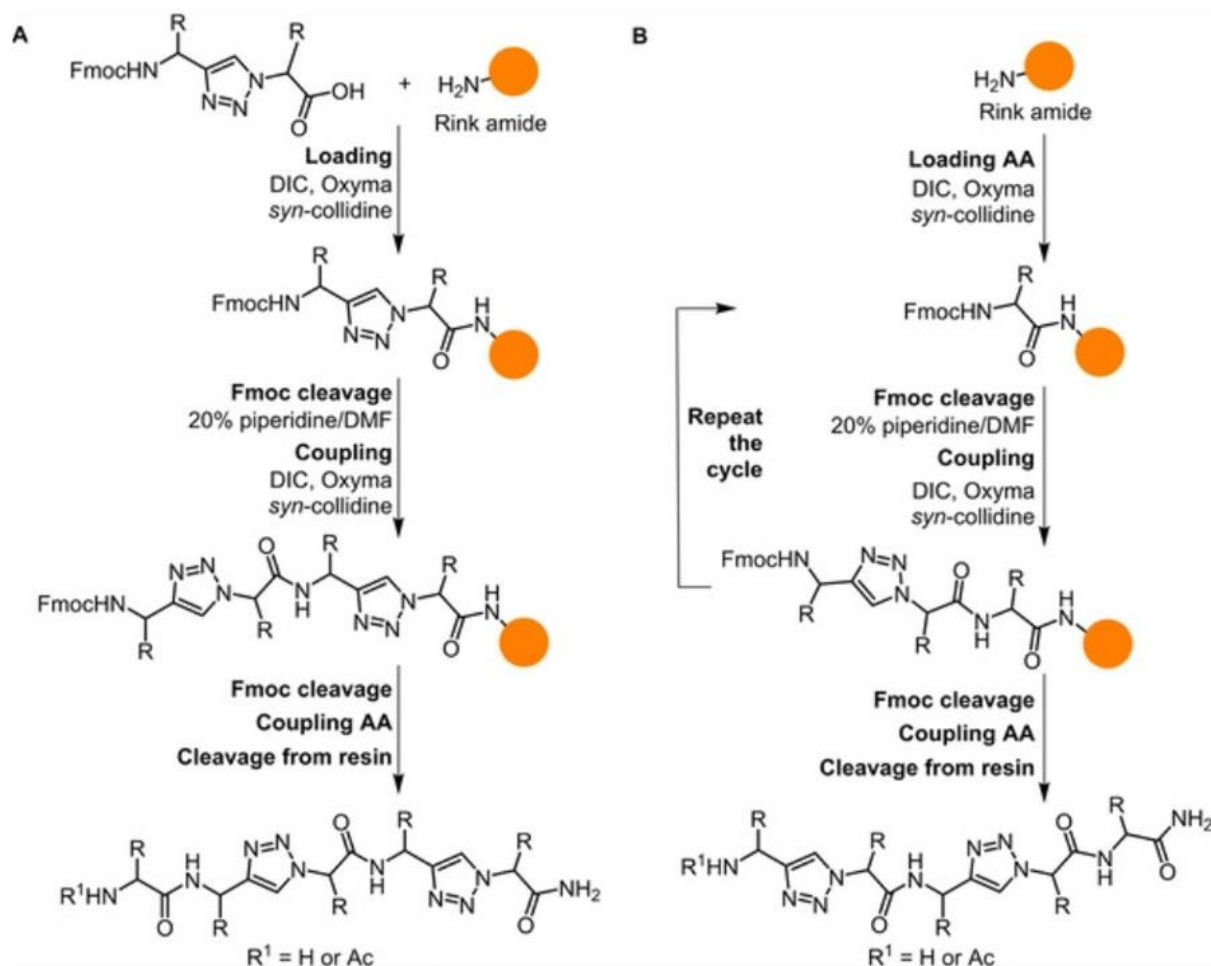
**34** a montré *in vitro* une inhibition d'Aβ<sub>1-42</sub> de l'ordre du μM et avec à un ratio **34**/Aβ 0,1:1, contrairement à **33**, qui n'en montre qu'une très faible. Cela montrerait l'importance de la position des groupements triazoles dans la chaîne peptidique, afin de garantir l'inhibition.



**Figure 61** Réaction de CuAAC.<sup>201</sup>

Les triazolamères ont été synthétisés à partir de différentes unités moléculaires. C'est en faisant réagir une propargylamine, préparée en avance, avec un azide par CuAAC (Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, ou cycloaddition azide-alcyne catalysée au cuivre en français) que l'on obtient un mime de dipeptide (deux aa relié par un triazole), qui sera ensuite couplé en phase solide avec lui-même et avec un acide aminé.

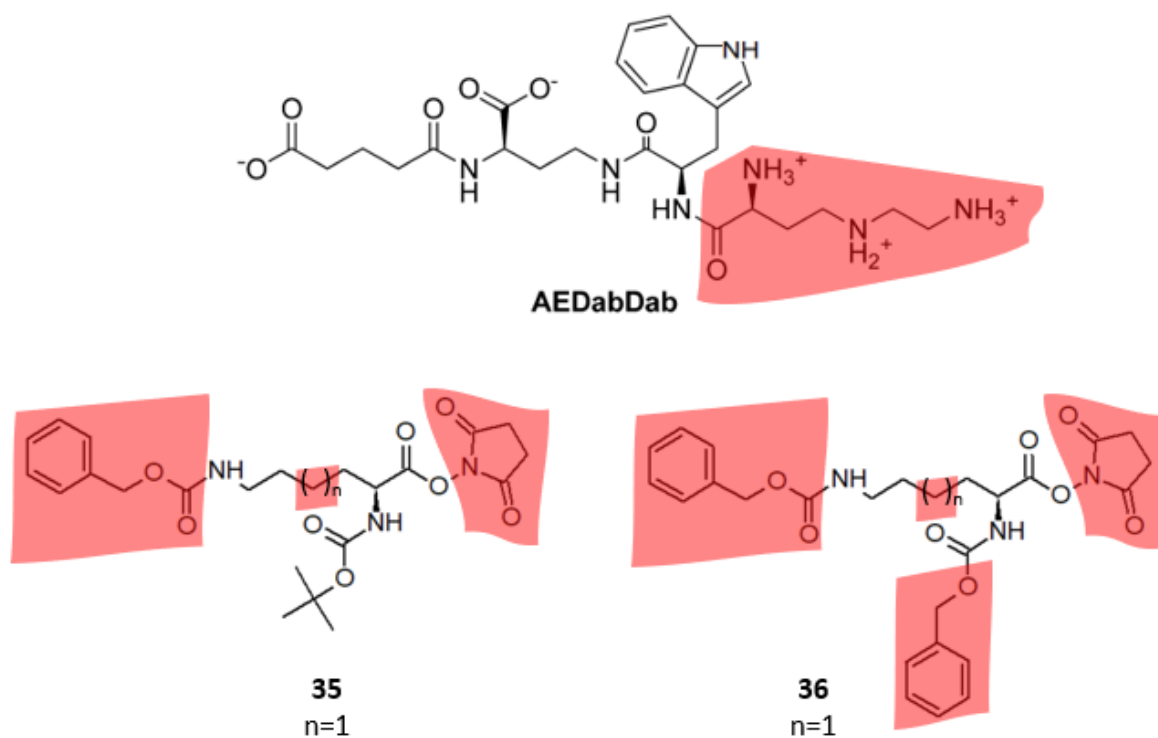
La réaction de cycloaddition s'effectue en présence de sulfate de cuivre pentahydraté, et d'ascorbate de sodium, dans un mélange tert-butanol/eau, afin d'obtenir des mimes de dipeptides, qui seront utilisés pour le couplage (figure 61). Les rendements sont assez variables, entre 40% et 90%. Le groupement carboxylique est ensuite hydrolysé, en présence de triéthylsilane dans le méthanol, afin d'être libre pour le couplage à l'étape suivante. De plus, la réaction de cycloaddition a l'avantage de respecter le principe d'économie d'atome de la chimie verte.



**Figure 62** Couplage sur support solide pour former les triazolamères **33** et **34**.<sup>201</sup>

La méthode pour obtenir **33** et **34** va différer par l'ordre de couplage des composés de base. Les conditions de couplage restent les mêmes qu'importe l'ordre, avec une résine Rink libérée de son Fmoc pour le support solide, du DIC, de l'oxyma (une oxime de cyanoacétate d'éthyle), et une collidine (un dérivé triméthylque de la pyridine) dans le DCM et DMF. La méthode A (figure 62) permet d'obtenir le composé **33** et consiste à coupler le dipeptide avec la résine, puis à coupler un deuxième dipeptide, avant de finir par coupler une glycine. Le composé **34** s'obtient par la méthode B, et cette fois, c'est d'abord l'acide aminé qui est couplé sur la résine. Enfin, les groupements Boc sur les amines terminales de **33** et **34** sont clivés en milieu acide afin d'obtenir des amines libres. Les rendements après purification vont de modérés à plutôt bons.

### 3.4.2.6 Autres modifications



**Figure 63** Peptidomimétiques non dérivés d'A $\beta_{1-42}$  à divers degrés de modifications.<sup>40</sup>

Seront cités ici, les autres composés qui ne correspondent pas aux catégories précédentes, notamment car ils sont le résultat de modifications plus spécifiques.

Un peptide possédant un acide triaminé (**AEDabDab**, figure 63) a été développé pour servir de ligand pour stabiliser la séquence centrale, en hélice  $\alpha$ , d'A $\beta_{1-42}$ . La dynamique moléculaire a montré que l'ajout d'un acide triaminé a permis d'apporter une charge en plus à ce ligand, afin d'améliorer son affinité pour les résidus chargés négativement d'A $\beta$  et de stabiliser une conformation en hélice  $\alpha$ .<sup>202</sup>

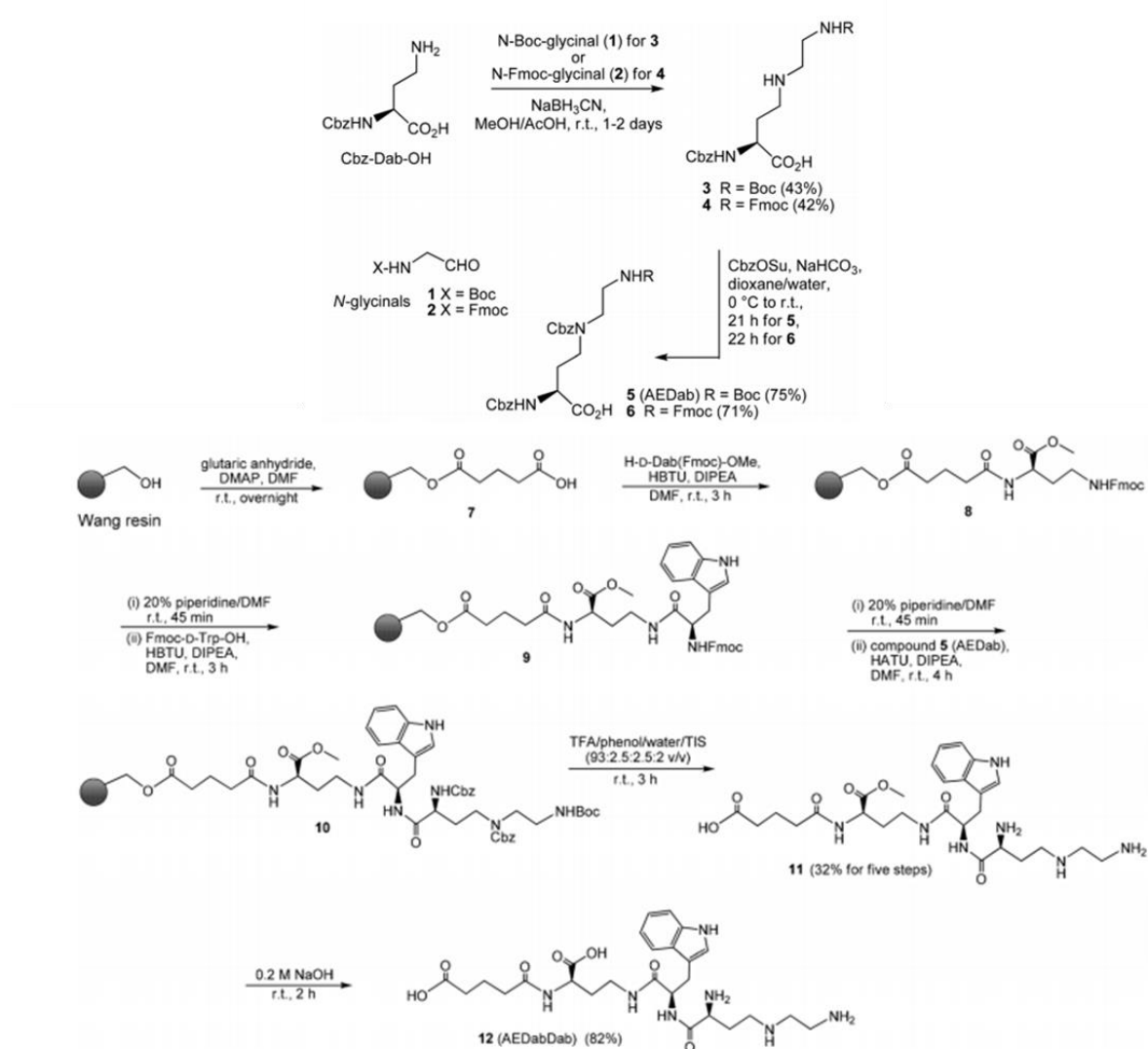


Figure 64 Synthèse de AEDabDab.<sup>202</sup>

La synthèse de **AEDabDab** est une synthèse en deux parties (figure 64), une en solution et l'autre sur support.<sup>202</sup> La première partie est la synthèse du groupement AEDab, l'acide triaminé triplement protégé. On part de l'acide diaminobutyrique protégé sur l'amine en  $\alpha$  par un Cbz, qui subit une amination réductrice par le glycinal en présence de cyanoborohydrure de sodium pour donner l'acide triaminé après protection de l'amine en position  $\gamma$  par N-(benzyloxycarbonyloxy)succinimide en milieu basique. La deuxième partie de la synthèse est plus proche d'une synthèse peptidique. Pour démarrer, un groupement acide glutarique a été greffé à une résine Wang en présence de 4-diméthylaminopyridine. Ensuite fut ajouté un résidu lysine Fmoc par couplage en présence d'HBTU et DIPEA dans le DMF. La protection de l'amine radicale est importante, au risque d'observer une attaque nucléophile intramoléculaire avec l'ester méthylique. Le couplage continu dans les mêmes conditions par un tryptophane Fmoc, sur l'amine en position  $\gamma$ . C'est à ce moment qu'est greffé le

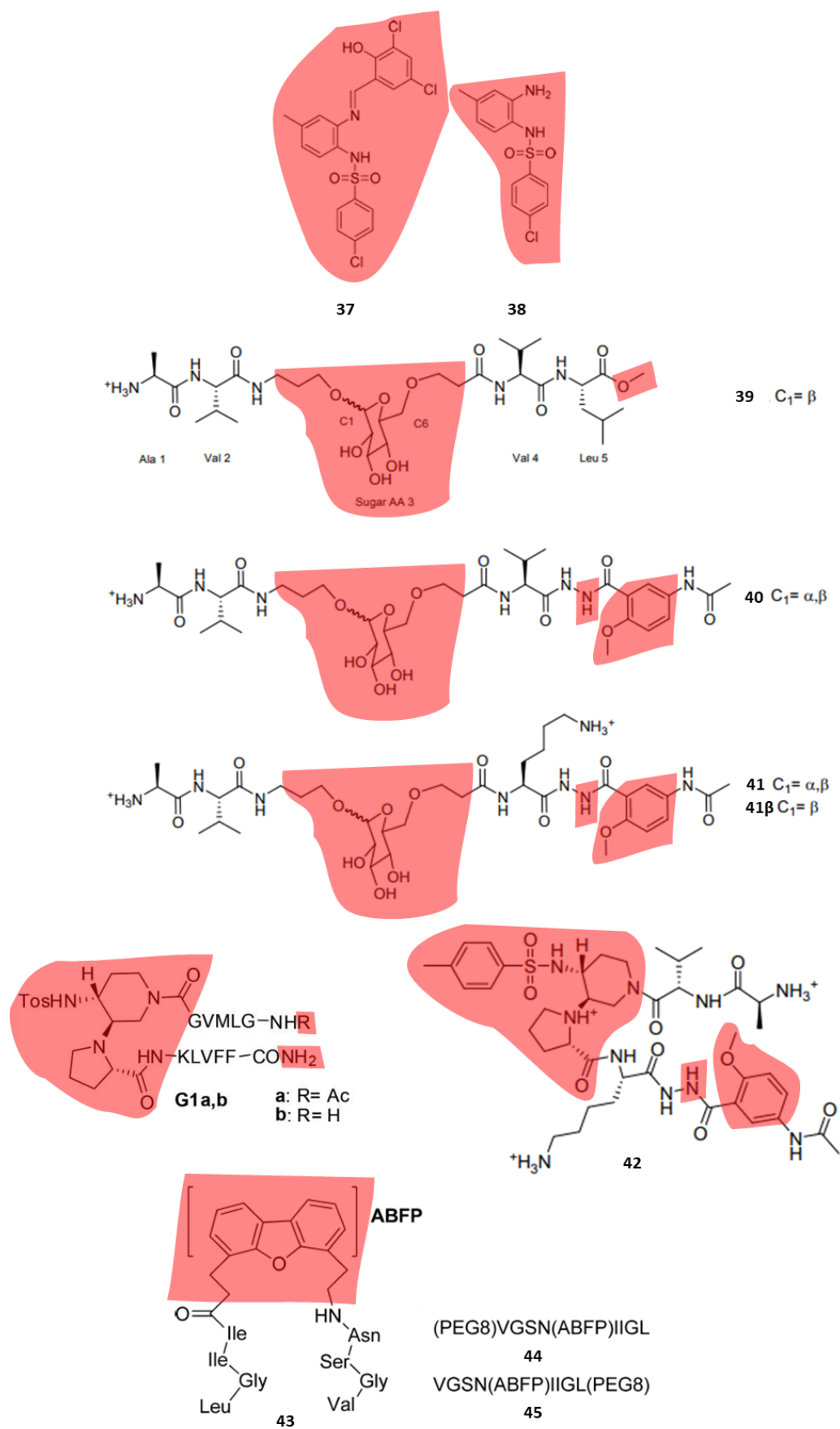
groupement AEDab par couplage, mais cette fois en présence de HATU et DIPEA. Les deux dernières étapes sont la déprotection de l'acide triaminé par l'acide trifluoroacétique, puis le clivage de la résine Wang, en milieu basique.

Des lysines modifiées ont été modélisées, au moyen de la MD et de docking, avec différents groupements C-ter, N-ter et N rad, et une longueur de chaîne radicale différente. Il en résulte que deux d'entre elles (**35** et **36**, figure 63), ont montré un important effet modulateur de l'agrégation d'A $\beta$ .<sup>203</sup> Le mécanisme d'action proposé après simulations informatiques, s'articule autour de la perturbation du coude que prend A $\beta$  lors de l'agrégation. Cela est possible en empêchant un pont salin de se former dans la zone du coude, et en perturbant les interactions hydrophobes en amont d'A $\beta$  au niveau du brin  $\beta$ 1.

### 3.4.3 Mimes de $\beta$ -hairpin

Cette catégorie regroupe tous les composés qui partagent les mêmes caractéristiques que la structure super-secondaire qu'est l'épingle à cheveu  $\beta$  ou  $\beta$ -hairpin. Pour rappel, un  $\beta$ -hairpin est constitué de deux brins  $\beta$  antiparallèles reliés par un coude, et qui se stabilise par liaisons hydrogène et interactions hydrophobes.

L'objectif derrière le développement de ses structures est de mimer les monomères d'A $\beta$  lorsqu'ils prennent une structure en  $\beta$ -hairpin lors de la nucléation, puis d'empêcher la fixation de monomères ou protofibrilles supplémentaires. Ainsi, un premier brin peptidomimétique ou non se fixera avec A $\beta$  tandis que l'autre empêche la fixation d'autres entités.



**Figure 65** Mimes de  $\beta$ -hairpin.<sup>40,201,204</sup>

Le développement de ses substances a commencé vers le début des années 2010, surtout lorsque les modélisations d'A $\beta$  lors de son agrégation indiquaient que celui-ci adoptait une structure en  $\beta$ -hairpin. Les  $\beta$ -hairpins peuvent être cycliques comme pour **PP-Leu** (figure 57), ou acycliques comme ceux décrits ci-dessous.

Deux ligands ont été développés à partir du dipeptide Norleucine-D-Proline (Nle<sub>35</sub>-D-Pro<sub>37</sub>), au moyen d'une approche ligand-based. En effet, lorsque ce dipeptide est inclus au sein d'A $\beta$ , celui-ci devient plus prompt à former et à stabiliser des  $\beta$ -hairpins au sein de trimères, grâce à la formation d'un coude qui ne serait pas retrouvé dans les fibrilles d'A $\beta$ .<sup>205,206</sup> Les deux ligands (**37**, et **38**, figure 65) possèdent une structure dérivée de ce dipeptide, et que l'on pourrait classer dans la classe D des peptidomimétiques. Ils ont été obtenus par scoring de molécules mimant un coude  $\beta$ . Le composé **37** a donné une IC<sub>50</sub> de l'ordre du  $\mu$ M.

À partir du simple coude, le principe s'est étendu au développement de  $\beta$ -hairpin en trois parties principalement, un brin fixateur d'A $\beta$ , un coude, et un brin disrupteur de l'agrégation.

Un premier exemple est celui de glycopeptides (**39** à **41**, figure 65), constitué d'un coude glucidique hydrophile et de deux bras peptidiques hydrophobes. L'introduction sur le bras fixateur d'un groupement peptidomimétique 5-amin-2-méthoxybenzhydrazide (**40** et **41**, figure 65) a pour but d'augmenter la résistance protéolytique tout en montrant une capacité d'inhibition de la dimérisation d'une protéase du VIH.<sup>207</sup> Le résidu valine fut remplacé par une lysine pour établir une liaison électrostatique avec A $\beta$ . Les glycopeptidomimétiques **40** et **41** ont montré une action inhibitrice à des ratios faibles (1:1 et 0,1:1). Le composé fut davantage modifié en remplaçant le coude par un groupement pipéridine-pyrrolidine (**G1a,b**, figure 65) et en écourtant le bras disrupteur (**42**, figure 65).<sup>208</sup> Plusieurs éléments de relations structure-activité sont énoncés, avec l'importance d'une moins grande longueur de la chaîne peptidique (deux résidus au lieu de trois) ainsi que la présence indispensable du groupement tosylé sur l'amine de la pipéridine du coude, le tout en réduisant le caractère peptidique du composé sans que cela ne réduise l'activité inhibitrice. Aussi, chacun des éléments séparés ne montre qu'une modeste activité.

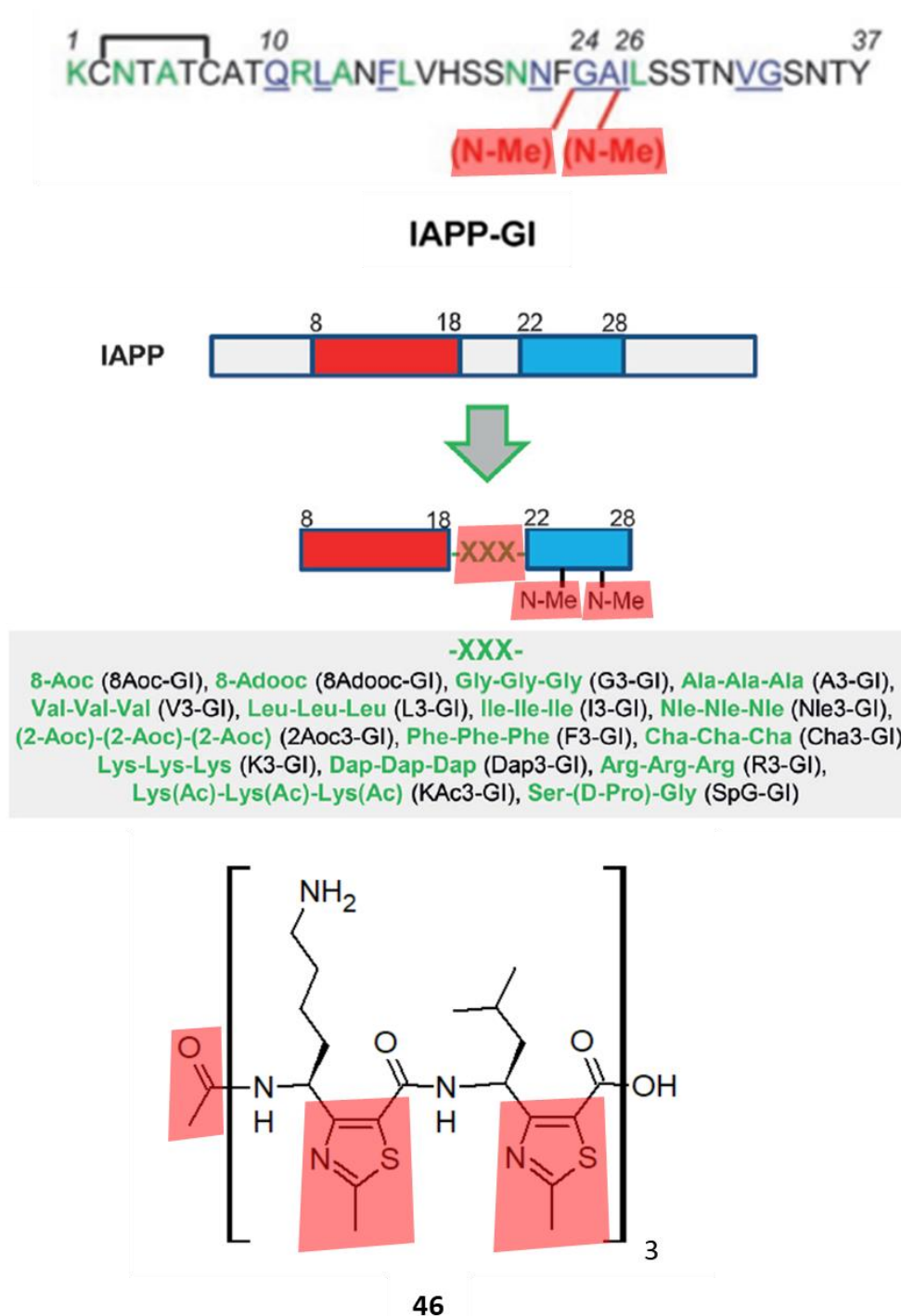
Un autre exemple de  $\beta$ -hairpin est celui d'un composé constitué de deux bras peptidiques classiques mais avec un coude long qui remplace les résidus 28-30 du coude 27-31 d'A $\beta$  par un groupement isostère acide 4-(aminoéthyl)-6-dibenzofuranopropionique (**43**, figure 65), qui forme une pince. La mauvaise solubilité du composé, a été compensée par la PEGylation des bras (**44** et **45**, figure 65). Ces nouveaux composés ont montré une meilleure inhibition que la séquence KLVFFA, mais moins bonne que D-KLVFFA.

Enfin, on peut aussi citer l'**AP90** (dont la séquence est Ac-RGEmNISwMNEYSGWtMnLkMGR-NH<sub>2</sub>), un  $\beta$ -hairpin constitué de 23 résidus de configuration D et L en alternance. Le composé prend une conformation de feuillet  $\alpha$ , qui diffère de sa version  $\beta$  par l'orientation des groupements carbonyles et amines au sein des liaisons peptidiques. Cette conformation due à l'alternance de résidus D et L, lui confère des propriétés inhibitrices de l'agrégation.

#### 3.4.1 Dérivés de IAPP (*Islet Amyloid PolyPeptide*)

En raison de la proximité qui existe entre les différentes protéines amyloïdes, et en particulier entre celles impliquées dans la MA et le diabète de type II, des stratégies ont été mises en place pour mettre à profit la séquence de IAPP. En plus d'offrir une voie de recherche différente, cela permettrait d'investiguer davantage le lien que ces deux peptides amyloïdes peuvent avoir entre eux, et par extension les similitudes entre les deux pathologies.

Fut d'abord proposé un composé reprenant la séquence de IAPP (**IAPP-GI**, figure 66), à la différence que deux de ses résidus étaient N-méthylés du même côté de la chaîne peptidique. La logique derrière ces méthylation était d'empêcher la formation de liaison hydrogène à partir de l'azote des fonctions amides de la chaîne peptidique.<sup>209</sup> De cette manière, tandis qu'un côté du peptide se fixe à A $\beta$ , l'autre empêche l'élongation au moyen de ses N-méthyles. L'analyse par RMN de l'agrégation d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> a montré que **IAPP-GI** agissait en redirigeant l'agrégation vers des formes « off-pathway » moins toxiques.



**Figure 66** Peptidomimétiques dérivés des IAPP, et non d'Aβ.<sup>40,210,211</sup>

Ensuite, un autre dérivé de IAPP fut développé, un mime « cross-amyloïde », pour empêcher l'agrégation de IAPP, Aβ<sub>1-40</sub> et Aβ<sub>1-42</sub>. À la différence de **IAPP-GI**, celui-ci ne comporte que deux parties de la séquence (8-18 et 22-28) de IAPP, avec deux résidus N-méthylés comme précédemment.<sup>210</sup> Ces deux séquences sont reliées entre elle par un linker de nature peptidique ou non. Aussi, si ces deux séquences sont importantes pour la fixation à Aβ,

il semblerait que le linker soit indispensable pour qu'elles inhibent l'agrégation d'A $\beta$ . La N-méthylation sert le même but que pour **IAPP-GI**. La plupart des tests furent menés sur A $\beta$ <sub>1-40</sub>, mais le peptide contenant le linker à base de résidus arginine a montré (**R3-GI**, figure 66) des résultats *ex vivo* intéressant sur l'amélioration de la LTP.

Plus récemment, un  $\gamma$ -peptide foldamère a été développé pour inhiber l'agrégation de IAPP et d'A $\beta$  (**46**, figure 66).<sup>211</sup> Ce foldamère est composé de une à trois unités d'acide 4-amino(méthyl)-1,3-thiazole-5-carboxylique qui peuvent adopter une structure hélicoïdale. Le rôle de ses foldamères est de stabiliser la conformation de IAPP et d'A $\beta$  en des espèces peu promptes à l'agrégation. Un de ces foldamères a montré une capacité d'inhibition d'A $\beta$  intéressante à un ration 1:1, et l'inhibe très fortement à 10:1 en plus d'inhiber fortement l'agrégation d'IAPP à partir de ce ratio aussi. Cette préférence pour IAPP est probablement due à l'affinité des résidus Lys pour les résidus anioniques d'A $\beta$  (E<sub>22</sub>, D<sub>23</sub> et A<sub>42</sub>).

## **Conclusion**

La maladie d'Alzheimer est une maladie complexe, mais la connaissance que nous en avons est toujours plus grandissante, et les efforts pour y apporter une réponse thérapeutique le sont tout autant.

Tout d'abord, nous avons pu voir que la MA se manifeste par de troubles cognitifs, principalement de la mémoire. Ces troubles trouvent leur origine dans un processus physiologique dérégulé par des facteurs de risques, génétiques entre autres, qui amènent le peptide A $\beta$ , à prendre des conformations susceptibles de s'agréger et de former des espèces d'abord solubles et toxiques, puis insolubles et peu toxiques. C'est l'hypothèse la plus étudiée ces 30 dernières années, l'hypothèse amyloïde. Cette agrégation est possible grâce aux propriétés de certaines structures secondaires des protéines, les feuillets  $\beta$ . C'est à cause de l'adoption de conformations en feuillets  $\beta$  que ces agrégats sont produits et il est difficile de les décrire précisément au niveau atomique, tellement elles changent au cours du processus. Ces espèces très toxiques, sont composées d'oligomères d'une version du peptide A $\beta$  mal clivée, A $\beta$ <sub>1-42</sub>, et elles sont capables d'altérer très fortement le fonctionnement des synapses, surtout celles impliquées dans le processus de mémorisation par potentialisation à long terme. Elles agissent à plusieurs niveaux des synapses. La fixation aux membranes entraîne la formation de pores notamment qui modifient l'équilibre électrochimique des synapses, par fuite d'ions calcium. Les oligomères se fixant aux récepteurs nicotiniques ou glutamatergiques peuvent mobiliser des voies de transduction qui ont pour effet de diminuer l'activité synaptique. Et enfin, les dommages aux organites des neurones entravent davantage leur fonctionnement en amenant jusqu'à l'apoptose de la cellule. N'oublions pas l'action oxydante des ROS et la mobilisation du système immunitaire par la microglie, responsable de la neuroinflammation. Le peptide A $\beta$  s'accompagne d'un autre peptide bien connu d'autres pathologies neurodégénératives, la protéine Tau. Là où A $\beta$  se manifeste par des dépôts insolubles extracellulaires, Tau forme des fibrilles après avoir été phosphorylée par des kinases, dont l'activité est perturbée par les oligomères d'A $\beta$ . Aussi, le métabolisme des lipides et en particulier de cholestérol intervient, par la présence d'apolipoprotéine ApoE4 qui est un facteur de risque, d'origine génétique. Ainsi, on observe dans cette maladie multifactorielle une accumulation de mécanismes physiopathologiques interdépendants, qui

parfois se recoupent avec d'autres pathologies tout aussi bien connues (Parkinson, le diabète, d'autres démences, ...), ce qui peut rendre l'identification de la MA parfois compliquée.

Avec 50 millions de patients atteints en 2017 dans le monde et 900 000 rien qu'en France, la MA est la première cause mondiale de démences, ce qui constitue un coût humain d'abord et financier ensuite non négligeable. Cette maladie se manifeste par une symptomatologie tardive au regard des mécanismes physiopathologiques puisqu'il faut attendre que les patients découvrent une gêne pour en parler. Mais à ce stade, l'hippocampe et l'amygdale sont déjà touchés. Les patients en phase avancée de la maladie finissent par décéder par dénutrition, déshydratation, ou des infections qui se déclarent à cause de la dépendance qui s'est installée. Mais alors que la MA provoque de nombreux décès, il n'existe à ce jour que quatre médicaments jouant un rôle très anecdotique pour traiter les formes légères à modérées de la MA. C'est d'ailleurs ce qui a motivé la HAS à dérembourser ces médicaments au vu du faible service médical rendu. Ces substances ont un effet sur les voies de transmission cholinergique (donépézil, rivastigmine et galantamine) ou glutamatergique (mémantine), qui cherchent à favoriser l'action de ces neurotransmetteurs, acétylcholine et glutamate, acteurs de la potentialisation à long terme. Face à l'absence de traitements médicamenteux réellement efficaces, il existe tout de même des traitements non médicamenteux qui se basent sur des thérapies cognitives, comportementales ou encore psychologiques, afin d'améliorer la cognition ou de ralentir l'apparition des troubles. S'il est vrai que peu de médicaments sont sur le marché pour traiter spécifiquement la MA, la recherche est très prolifique en matière de nouveaux traitements expérimentaux. Ainsi, de très nombreuses voies de recherche sont étudiées, que ce soit contre le peptide A $\beta$ , la protéine Tau et leurs effets ou encore l'ApoE4 ou les ROS. Des essais cliniques de phase III sont en cours pour de nombreux traitements, mais encore aucun n'a montré de résultats amenant à une autorisation de mise sur le marché pérenne. Si l'immunothérapie a une grande importance dans la recherche, les petites molécules ne sont pas en reste.

Il existe une catégorie de petites molécules décrite depuis au moins 20 ans, qui a montré de très nombreux intérêts en termes de drug design, les peptidomimétiques, à rapprocher des peptides thérapeutiques. L'objectif est d'optimiser les propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques des peptides au moyen de modifications chimiques qu'apportent la chimie médicinale notamment. La différence principale qu'ils ont avec

d'autres petites molécules plus traditionnelles est leur similarité avec les protéines/peptides, ce qui les rends plus « drugables ». Et c'est pour cela que ces peptidomimétiques sont classés selon leur ressemblance avec les peptides naturels. La chimie médicinale s'appuie sur des règles et méthodes afin de développer plus efficacement ces molécules. Les règles de Lipinski, la chimie verte ou encore la chimie du fluor pour ne citer que ces trois-là, peuvent aiguiller sans contrainte le développement de peptidomimétiques. Ces peptidomimétiques sont une catégorie de molécules dérivées des peptides, afin d'en exploiter leur affinité pour le vivant tout en se détachant des inconvénients qui peuvent les empêcher d'être de bons candidats médicaments. Tous les peptidomimétiques ne sont pas identiques et sont classés dans quatre catégories qui se distinguent selon leur degré de ressemblance avec les peptides, dont ils peuvent directement s'inspirer ou non. Les modifications ainsi apportées pour former ces peptidomimétiques sont nombreuses, avec par exemple les peptoïdes, foldamères, D-peptides, peptides rétro-inversos, ainsi que d'autres. Afin d'évaluer l'efficacité de ces peptidomimétiques dans l'inhibition de l'agrégation d'A $\beta$ <sub>1-42</sub>, des techniques existent et continuent d'être développées. Ainsi, on peut croiser fréquemment des essais à la thioflavine T, du dichroïsme circulaire ou de l'électrophorèse capillaire, quantifiant l'inhibition recherchée et permettant de comparer les molécules proposées, au regard des limites de ces techniques. Les molécules proposées en tant qu'inhibiteurs de l'agrégation d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> en particulier peuvent se classer selon qu'elles sont développées à partir de la séquence d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> (comme les séquences CHC ou C-terminale) ou sans lien avec A $\beta$ <sub>1-42</sub>. J'ai en plus proposé de classer ces molécules selon qu'elles sont des peptides naturels conjugués à des groupements de natures différentes, ou qu'elles sont des peptides dont la structure du squelette ou des chaînes radicales a été modifiées à divers degrés et endroits, cela à des fins de lisibilité et de confort. Il est intéressant d'exposer l'origine du design de ces molécules, la mesure de leur activité et les méthodes de synthèse utilisées, afin d'obtenir une image plus précise de l'intérêt que posent ces molécules dans le cadre de la recherche biomédicale.

Ainsi, malgré qu'il existe quelques composés qui ont pu se distinguer, il est encore trop tôt pour émettre un avis définitif. En effet, la recherche sur les peptidomimétiques a certes débuté il y a 20 ans, mais des innovations sont toujours présentées de nos jours et ne peuvent définitivement pas enterrer cette recherche. Clairement, la recherche sur les peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation d'A $\beta$ <sub>1-42</sub> a de l'avenir, et si elle venait à échouer dans le cadre de la maladie d'Alzheimer, elles pourraient très bien être réinvesties

dans la recherche de traitements pour les autres amyloïdoses, comme le diabète de type II, la sclérose latérale amyotrophique ou encore la maladie de Parkinson. En revanche, il ne faut pas négliger les autres hypothèses étiologiques de la MA, comme la protéine Tau, et la recherche est aussi exhaustive dans ce domaine. Dans un autre registre, le mode de vie et l'origine familiale (biologique et socio-économique) doivent être considérées comme partie intégrante de la prévention et du traitement de cette maladie. Peut-être à l'avenir verrons-nous des campagnes de prévention de la MA au travers de régimes alimentaires conseillés ou d'exercices cognitifs. Peut-être que les progrès de l'épigénétique aboutiront à une toute nouvelle voie de recherche de traitements.

Pour conclure cette thèse, il est nécessaire de rappeler que la maladie d'Alzheimer ne cesse pas d'être un enjeu de santé publique mondial, et que malgré de petites avancées, comme avec la commercialisation de l'aducanumab aux États-Unis (Aduhelm®), on ne guérit toujours pas de cette pathologie.

## **Annexes**

### **Annexe 1 Code international des acides aminés**

<b>NOM ENTIER</b>	<b>ABREVIATION PARTIELLE</b>	<b>LETTRE</b>
<b>GLYCINE</b>	Gly	G
<b>ALANINE</b>	Ala	P
<b>VALINE</b>	Val	A
<b>LEUCINE</b>	Leu	V
<b>ISOLEUCINE</b>	Ile	L
<b>PROLINE</b>	Pro	I
<b>METHIONINE</b>	Met	M
<b>CYSTEINE</b>	Cys	C
<b>PHENYLALANINE</b>	Phe	F
<b>TYROSINE</b>	Tyr	Y
<b>TRYPTOPHANE</b>	Trp	W
<b>HISTIDINE</b>	His	H
<b>LYSINE</b>	Lys	K
<b>ARGININE</b>	Arg	R
<b>GLUTAMINE</b>	Gln	Q
<b>ASPARAGINE</b>	Asp	N
<b>ACIDE GLUTAMIQUE</b>	Glu	E
<b>ACIDE ASPARTIQUE</b>	Asp	D
<b>SERINE</b>	Ser	S
<b>THREONINE</b>	Thr	T

## Annexe 2 : Mini mental state examination MMSE version consensuelle du GRECO

Nom du patient :		Prénom du patient :	
Date de naissance du patient :	Sexe : <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> F	Date du test :	
Nom et status de l'accompagnant :			

**ORIENTATION / 10**

*Je vais vous poser quelques questions pour apprécier comment fonctionne votre mémoire. Les unes sont très simples, les autres un peu moins. Vous devez répondre du mieux que vous pouvez. Quelle est la date complète d'aujourd'hui ?*

Si la réponse est incorrecte ou incomplète, posez les questions restées sans réponse, dans l'ordre suivant :

1. En quelle année sommes-nous ? ☐
2. En quelle saison ? ☐
3. En quel mois ? ☐
4. Quel jour du mois ? ☐
5. Quel jour de la semaine ? ☐

*Je vais vous poser maintenant quelques questions sur l'endroit où nous trouvons.*

6. Quel est le nom de l'hôpital où nous sommes ? ☐
7. Dans quelle ville se trouve-t-il ? ☐
8. Quel est le nom du département dans lequel est située cette ville ? ☐
9. Dans quelle province ou région est située ce département ? ☐
10. À quel étage sommes-nous ? ☐

☐ sur 10

**APPRENTISSAGE / 3**

*Je vais vous dire trois mots ; je voudrais que vous me les répétiez et que vous essayiez de les retenir car je vous les redemanderai tout à l'heure.*

11. Cigare		Citron		Fauteuil	<input type="checkbox"/>
12. Fleur	ou	Clé	ou	Tulipe	<input type="checkbox"/>
13. Porte		Ballon		Canard	<input type="checkbox"/>

*Répéter les 3 mots*

☐ sur 3

**ATTENTION ET CALCUL / 5**

*Voulez-vous compter à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois ?*

14.  $100 - 7 = 93$     15.  $93 - 7 = 86$     16.  $86 - 7 = 79$     17.  $79 - 7 = 72$     18.  $72 - 7 = 65$     ☐ sur 5

Pour tous les sujets, même pour ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander :  
*Voulez-vous épeler le mot MONDE à l'envers ?*

**RAPPEL / 3**

*Pouvez-vous me dire quels étaient les 3 mots que je vous ai demandé de répéter et de retenir tout à l'heure ?*

19. Cigare		Citron		Fauteuil	<input type="checkbox"/>
20. Fleur	ou	Clé	ou	Tulipe	<input type="checkbox"/>
21. Porte		Ballon		Canard	<input type="checkbox"/>

*Répéter les 3 mots.*

☐ sur 3

**LANGAGE / 8**

Montrer un crayon. 22. Quel est le nom de cet objet ? ☐

Montrer votre montre. 23. Quel est le nom de cet objet ? ☐

24. Écoutez bien et répétez après moi : "PAS DE MAIS, DE SI, NI DE ET" ☐

Poser une feuille de papier sur le bureau, la montrer au sujet en lui disant : Écoutez bien et faites ce que je vais vous dire :

25. Prenez cette feuille de papier avec votre main droite, ☐
26. pliez-la en deux, ☐
27. et jetez-la par terre. ☐

Tendre au sujet une feuille de papier sur laquelle est écrit en gros caractères : "FERMEZ LES YEUX" et dire au sujet :

28. "Faites ce qui est écrit" ☐

Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo, en disant :

29. "Voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière." ☐

☐ sur 8

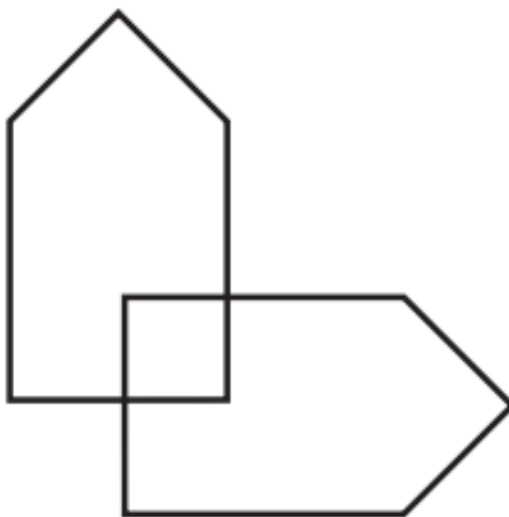
**PRAXIES CONSTRUCTIVES / 1**

Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander :

30. "Voulez-vous recopier ce dessin ?" ☐ sur 1

**SCORE TOTAL** ☐ **sur 30**

**FERMEZ LES YEUX**



## CONSIGNES DE PASSATION ET DE COTATION DU MMSE

Ces consignes de passation et de cotation ont été élaborées de manière consensuelle en 1998 par le GRECO (Groupe de Recherche et d'Évaluation des fonctions Cognitives).  
Il est essentiel d'examiner le sujet dans le calme et de lui donner un temps suffisant pour les réponses. Il ne faut pas hésiter à renforcer positivement les bonnes réponses et à minimiser les erreurs.

### ORIENTATION

(Questions 1 à 10)

#### Orientation dans le temps

Pour ces items, seules les réponses exactes sont prises en compte. Cependant, lors de changements de saison ou de mois, permettre au sujet de corriger une réponse erronée en lui demandant : "Êtes-vous sûr ?". Si le sujet donne 2 réponses (lundi ou mardi), lui demander de choisir et ne tenir compte que de la réponse définitive.

Cotation : chaque réponse juste vaut un point.

#### Orientation dans l'espace

Pour tous ces items, n'accepter que la réponse exacte.

Chaque réponse juste vaut un point. Accorder un délai maximum de 10 secondes.

### APPRENTISSAGE

(Questions 11 à 13)

Donner les 3 mots groupés, 1 par seconde, face au malade, en articulant bien. Accorder 20 secondes pour la réponse.

Compter 1 point par mot répété correctement au premier essai.

Si le sujet ne répète pas les 3 mots au premier essai, les redonner jusqu'à ce qu'ils soient répétés correctement dans la limite de 6 essais.

En effet, l'épreuve de rappel ne peut être analysée que si les 3 mots ont été enregistrés.

### ATTENTION ET CALCUL

(Questions 14 à 18)

Il est permis d'aider le patient en lui présentant la première soustraction.

"100 - 7 combien cela fait-il ?" et ensuite : "Continuez."

On arrête après 5 soustractions et on compte 1 point par soustraction exacte c'est-à-dire lorsque le pas de 7 est respecté quelle que soit la réponse précédente ; ex : 100, 92, 85 le point n'est pas accordé pour la première soustraction mais il l'est pour la seconde. Si le sujet demande, en cours de tâche, "combien faut-il retirer ?" il n'est pas admis de répéter la consigne ("continuez comme avant"). S'il paraît, néanmoins, indispensable de redonner la consigne, il faut repartir de la consigne initiale ("comptez à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois"). Lorsque le sujet ne peut ou ne veut effectuer les cinq soustractions, il est nécessaire, pour maintenir le principe d'une tâche interférente, de lui demander d'épeler le mot MONDE à l'envers ("Pouvez-vous épeler le mot MONDE à l'envers en commençant par la dernière lettre ?") (toutefois, lorsque le patient a des difficultés manifestes dans le compte à rebours, il est préférable de lui demander d'épeler le mot MONDE à l'endroit avant de lui demander de l'épeler à l'envers pour le remettre en confiance). Dans cette épreuve, le nombre de lettres placées successivement dans un ordre correct est compté (exemple : EDMON = 2).

Le GRECO recommande de systématiquement faire passer cette épreuve, même si le compte à rebours est correct.

Dans tous les cas, le résultat n'est pas pris en compte pour le score total.

### RAPPEL

(Questions 19 à 21)

Accorder 10 secondes pour répondre. Compter 1 point par mot correctement restitué.

### LANGAGE

(Questions 22 à 29)

### PRAXIES

(Question 30)

Il faut montrer un crayon et non un stylo ou un stylo à bille. Aucune réponse autre que crayon n'est admise (1 point).

Le sujet ne doit pas prendre les objets en main.

#### Répétition

La phrase doit être prononcée lentement, à haute voix, face au malade. Si le patient dit ne pas avoir entendu, ne pas répéter la phrase (si l'examineur a un doute, il peut être admis de vérifier en répétant la phrase à la fin du test).

Ne compter 1 point que si la répétition est absolument correcte.

#### Compréhension orale

Compter 1 point par item correctement exécuté.

Si le sujet s'arrête et demande ce qu'il doit faire, il ne faut pas répéter la consigne, mais dire "faites ce que je vous ai dit de faire".

#### Compréhension du langage écrit

Compter 1 point si l'ordre est exécuté.

Le point n'est accordé que si le sujet ferme les yeux. Il n'est pas accordé s'il se contente de lire la phrase.

#### Dessin et langage écrit

Dessin : compter 1 point si tous les angles sont présents et si les figures se coupent sur 2 côtés différents.

On peut autoriser plusieurs essais et accorder un temps d'une minute.

Phrase : donner 1 point si la phrase comprend au minimum un sujet et un verbe, sans tenir compte des erreurs d'orthographe ou de syntaxe.

### **Annexe 3 : Les douze principes de la chimie verte donnés par l'UNESCO**

1. Prévention : Mieux vaut éviter de produire des déchets que d'avoir ensuite à les traiter ou s'en débarrasser.
2. Économie d'atomes : Mise en œuvre de méthodes de synthèse qui incorporent dans le produit final tous les matériaux entrant dans le processus.
3. Conception de méthodes de synthèse moins dangereuses : Dans la mesure du possible, les méthodes de synthèse doivent utiliser et produire des substances peu ou pas toxiques pour l'homme et l'environnement.
4. Conception de produits chimiques plus sûrs : Mise au point de produits chimiques atteignant les propriétés recherchées tout en étant le moins toxiques possible.
5. Solvants et auxiliaires moins polluants : Renoncer à utiliser des auxiliaires de synthèse (solvants, agents de séparation, etc.) ou choisir des auxiliaires inoffensifs lorsqu'ils sont nécessaires.
6. Recherche du rendement énergétique : La dépense énergétique nécessaire aux réactions chimiques doit être examinée sous l'angle de son incidence sur l'environnement et l'économie, et être réduite au minimum. Dans la mesure du possible, les opérations de synthèse doivent s'effectuer dans les conditions de température et de pression ambiantes.
7. Utilisation de ressources renouvelables : Utiliser une ressource naturelle ou une matière première renouvelable plutôt que des produits fossiles, dans la mesure où la technique et l'économie le permettent.
8. Réduction du nombre de dérivés : Éviter, si possible, la multiplication inutile des dérivés en minimisant l'utilisation de radicaux bloquants (protecteurs/déprotecteurs ou de modification temporaire des processus physiques ou chimiques) car ils demandent un surplus d'agents réactifs et peuvent produire des déchets.

9. Catalyse : L'utilisation d'agents catalytiques (aussi sélectifs que possible) est préférable à celle de procédés stœchiométriques.
10. Conception de produits en vue de leur dégradation : Les produits chimiques doivent être conçus de telle sorte qu'en fin d'utilisation ils se décomposent en déchets inoffensifs biodégradables.
11. Observation en temps réel en vue de prévenir la pollution : Les méthodes d'observation doivent être perfectionnées afin de permettre la surveillance et le contrôle en temps réel des opérations en cours et leur suivi avant toute formation de substances dangereuses.
12. Une chimie fondamentalement plus fiable : Les substances et leur état physique entrant dans un processus chimique doivent être choisis de façon à prévenir les accidents tels qu'émanations dangereuses, explosions et incendies.

#### **Annexe 4 : Les huit règles de Christ de la chimie verte (traduites depuis l'anglais)**

1. Améliorer les procédés chimiques avec l'aide de nouvelles voies de synthèses ; dans la production d'amines aromatiques, la réduction par le fer est remplacée par une réduction catalysée par l'hydrogène.
2. Déplacer l'équilibre. L'utilisation de conditions de réaction plus favorables peut déplacer l'équilibre de sorte que les réactifs A ou B soient consommés en totalité. Cela peut être atteint par l'utilisation en excès du second réactif, par la récupération du produit en cours de réaction, ou par le recours à des températures ou pressions plus favorables.
3. Augmenter la sélectivité. Une méthode très efficace pour réduire la quantité de résidus et l'augmentation du rendement permet d'améliorer la sélectivité des réactions chimiques. En voici des exemples : l'amélioration de la sélectivité des catalyseurs, par l'utilisation de catalyseurs qui baissent le taux d'apparition de réactions secondaires non désirées ; le maintien de l'activité catalytique maximum, en évitant les poisons de contact ; l'optimisation des conditions de réactions, par des différences d'utilisation entre la cinétique de la réaction principale et la cinétique des réactions secondaires ; des profils de températures et temps de résidence plus favorables ; des réacteurs plus adaptés ; le recyclage des sous-produits (si la réaction est réversible).
4. Développer de nouveaux catalyseurs ; la production de polypropylène sans produire d'eau résiduelle par l'utilisation de catalyseurs organométalliques.
5. Optimisation des procédés.
6. Changement de milieu réactionnel. Si l'eau est remplacée par un solvant organique en synthèse, la contamination des eaux résiduelles peut être drastiquement réduite. Cependant, la manipulation de solvants respectueux de l'environnement implique non seulement de récupérer le solvant depuis le milieu réactionnel, mais permet aussi de prévenir les pertes dans l'atmosphère pendant le transport. Le stockage, la production

et le développement. Cela est permis par l'adsorption du solvant depuis les émanations gazeuses.

7. Utiliser des matériaux bruts de plus grande pureté.
8. Remplacer ou éliminer les intermédiaires qui ont un effet néfaste sur l'environnement (par exemple, les hydrocarbures chlorés).

## **Bibliographie :**

- (1) *Les gains d'espérance de vie se concentrent désormais aux âges élevés - Insee Focus - 157.*  
<https://www.insee.fr/fr/statistiques/4160025> (accessed 2021-03-04).
- (2) Hippus, H.; Neundörfer, G. The Discovery of Alzheimer's Disease. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2003**, 5 (1), 101–108.
- (3) Berchtold, N. C.; Cotman, C. W. Evolution in the Conceptualization of Dementia and Alzheimer's Disease: Greco-Roman Period to the 1960s. *Neurobiol. Aging* **1998**, 19 (3), 173–189. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(98\)00052-9](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(98)00052-9).
- (4) Purves, D.; Augustine, G. J.; Fitzpatrick, D.; Hall, W. C.; Lamantia, A.-S.; White, L. E. *Neurosciences*, 5<sup>e</sup> édition.; De boeck supérieur, 2012.
- (5) Delattre, J.; Durand, G.; Jardillier, J.-C. *Biochimie Pathologique Aspects Moléculaires et Cellulaires*; Flammarion, 2003.
- (6) Stevens, A.; Lowe, J.; Young, B. *Anatomie pathologique*; De Boeck Supérieur, 2004.
- (7) Ross, C. A.; Poirier, M. A. Protein Aggregation and Neurodegenerative Disease. *Nat. Med.* **2004**, 10 (7), S10–S17. <https://doi.org/10.1038/nm1066>.
- (8) Gillmore, J. D.; Hawkins, P. N. Pathophysiology and Treatment of Systemic Amyloidosis. *Nat. Rev. Nephrol.* **2013**, 9 (10), 574–586. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2013.171>.
- (9) Eisenberg, D.; Jucker, M. The Amyloid State of Proteins in Human Diseases. *Cell* **2012**, 148 (6), 1188–1203. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.022>.
- (10) Govaerts, L.; Schoenen, J.; Bouhy, D. [Pathogenesis of Alzheimer's disease: molecular and cellular mechanisms]. *Rev. Med. Liege* **2007**, 62 (4), 209–216.
- (11) Moussard, C. *Biochimie structurale et métabolique*; De Boeck Supérieur, 2006.
- (12) Koshland, D. E. Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis\*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1958**, 44 (2), 98–104.
- (13) Ramachandran, G. N.; Ramakrishnan, C.; Sasisekharan, V. Stereochemistry of Polypeptide Chain Configurations. *J. Mol. Biol.* **1963**, 7, 95–99. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(63\)80023-6](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(63)80023-6).
- (14) Pauling, L.; Corey, R. B. Two Rippled-Sheet Configurations of Polypeptide Chains, and a Note about the Pleated Sheets. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1953**, 39 (4), 253–256.
- (15) Pauling, L.; Corey, R. B.; Branson, H. R. The Structure of Proteins: Two Hydrogen-Bonded Helical Configurations of the Polypeptide Chain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1951**, 37 (4), 205–211. <https://doi.org/10.1073/pnas.37.4.205>.

- (16) Hutchinson, E. G.; Thornton, J. M. A Revised Set of Potentials for  $\beta$ -Turn Formation in Proteins. *Protein Sci.* **1994**, 3 (12), 2207–2216. <https://doi.org/10.1002/pro.5560031206>.
- (17) Tonali, N. Mimes Synthétiques de Feuilletés Bêta: Conception, Synthèse et Évaluation de Leur Capacité à Moduler l'agrégation Du Peptide Bêta-Amyloïde 1-42., Université Paris-Saclay, Châtenay-Malabry, Faculté de pharmacie Université Paris-Sud, 2016.
- (18) Dyer, R. B.; Maness, S. J.; Peterson, E. S.; Franzen, S.; Fesinmeyer, R. M.; Andersen, N. H. The Mechanism of Beta-Hairpin Formation. *Biochemistry* **2004**, 43 (36), 11560–11566. <https://doi.org/10.1021/bi049177m>.
- (19) Sibanda, B. L.; Blundell, T. L.; Thornton, J. M. Conformation of Beta-Hairpins in Protein Structures. A Systematic Classification with Applications to Modelling by Homology, Electron Density Fitting and Protein Engineering. *J. Mol. Biol.* **1989**, 206 (4), 759–777. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(89\)90583-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(89)90583-4).
- (20) Morales, P.; Jiménez, M. A. Design and Structural Characterisation of Monomeric Water-Soluble  $\alpha$ -Helix and  $\beta$ -Hairpin Peptides: State-of-the-Art. *Arch. Biochem. Biophys.* **2019**, 661, 149–167. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.11.014>.
- (21) Singleton, A. The Law of Mass Action Applied to Neurodegenerative Disease: A Hypothesis Concerning the Etiology and Pathogenesis of Complex Diseases. *Hum. Mol. Genet.* **2004**, 13 (90001), 123R – 126. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh093>.
- (22) Eisele, Y. S.; Monteiro, C.; Fearn, C.; Encalada, S. E.; Wiseman, R. L.; Powers, E. T.; Kelly, J. W. Targeting Protein Aggregation for the Treatment of Degenerative Diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2015**, 14 (11), 759–780. <https://doi.org/10.1038/nrd4593>.
- (23) Kosik, K. S.; Joachim, C. L.; Selkoe, D. J. Microtubule-Associated Protein Tau (Tau) Is a Major Antigenic Component of Paired Helical Filaments in Alzheimer Disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1986**, 83 (11), 4044–4048.
- (24) Wolfe, M. S. Tau Mutations in Neurodegenerative Diseases. *J. Biol. Chem.* **2009**, 284 (10), 6021–6025. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800013200>.
- (25) Waeytens, J.; Van Hemelryck, V.; Deniset-Besseau, A.; Ruyschaert, J.-M.; Dazzi, A.; Raussens, V. Characterization by Nano-Infrared Spectroscopy of Individual Aggregated Species of Amyloid Proteins. *Molecules* **2020**, 25 (12). <https://doi.org/10.3390/molecules25122899>.
- (26) Derakhshankhah, H.; Sajadimajd, S.; Jafari, S.; Izadi, Z.; Sarvari, S.; Sharifi, M.; Falahati, M.; Moakedi, F.; Muganda, W. C. A.; Müller, M.; Raoufi, M.; Presley, J. F. Novel Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease: Implications from Cell-Based Therapy and Nanotherapy.

- Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* **2020**, *24*, 102149.  
<https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102149>.
- (27) Scholz, T.; Mandelkow, E. Transport and Diffusion of Tau Protein in Neurons. *Cell. Mol. Life Sci.* **2014**, *71* (16), 3139–3150. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1610-7>.
- (28) Nisbet, R. M.; Polanco, J.-C.; Ittner, L. M.; Götz, J. Tau Aggregation and Its Interplay with Amyloid- $\beta$ . *Acta Neuropathol. (Berl.)* **2015**, *129* (2), 207–220. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1371-2>.
- (29) Tiwari, S.; Atluri, V.; Kaushik, A.; Yndart, A.; Nair, M. Alzheimer's Disease: Pathogenesis, Diagnostics, and Therapeutics. *Int. J. Nanomedicine* **2019**, *14*, 5541–5554.  
<https://doi.org/10.2147/IJN.S200490>.
- (30) Zempel, H.; Mandelkow, E. Lost after Translation: Missorting of Tau Protein and Consequences for Alzheimer Disease. *Trends Neurosci.* **2014**, *37* (12), 721–732.  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.08.004>.
- (31) Seidler, P. M.; Boyer, D. R.; Rodriguez, J. A.; Sawaya, M. R.; Cascio, D.; Murray, K.; Gonen, T.; Eisenberg, D. S. Structure-Based Inhibitors of Tau Aggregation. *Nat. Chem.* **2018**, *10* (2), 170–176. <https://doi.org/10.1038/nchem.2889>.
- (32) Mamun, A. A.; Uddin, Md. S.; Mathew, B.; Ashraf, G. M. Toxic Tau: Structural Origins of Tau Aggregation in Alzheimer's Disease. *Neural Regen. Res.* **2020**, *15* (8), 1417–1420.  
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.274329>.
- (33) Thomas-Anterion, C.; Sellal, F. L'encéphalopathie chronique traumatique (ECT) : une vision plus large de l'ancienne « démence pugilistique ». *Prat. Neurol. - FMC* **2016**, *7* (3), 184–188.  
<https://doi.org/10.1016/j.praneu.2016.07.001>.
- (34) DeKosky, S. T.; Ikonomic, M. D.; Gandy, S. Traumatic Brain Injury — Football, Warfare, and Long-Term Effects. *N. Engl. J. Med.* **2010**, *363* (14), 1293–1296.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMp1007051>.
- (35) Cline, E. N.; Bicca, M. A.; Viola, K. L.; Klein, W. L. The Amyloid- $\beta$  Oligomer Hypothesis: Beginning of the Third Decade. *J. Alzheimers Dis.* **2018**, *64* (s1), S567–S610.  
<https://doi.org/10.3233/JAD-179941>.
- (36) Coburger, I.; Dahms, S. O.; Roeser, D.; Gührs, K.-H.; Hortschansky, P.; Than, M. E. Analysis of the Overall Structure of the Multi-Domain Amyloid Precursor Protein (APP). *PLOS ONE* **2013**, *8* (12), e81926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081926>.

- (37) Ludewig, S.; Korte, M. Novel Insights into the Physiological Function of the APP (Gene) Family and Its Proteolytic Fragments in Synaptic Plasticity. *Front. Mol. Neurosci.* **2017**, *9*. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00161>.
- (38) Tyan, S.-H.; Shih, A. Y.-J.; Walsh, J. J.; Maruyama, H.; Sarsoza, F.; Ku, L.; Eggert, S.; Hof, P. R.; Koo, E. H.; Dickstein, D. L. Amyloid Precursor Protein (APP) Regulates Synaptic Structure and Function. *Mol. Cell. Neurosci.* **2012**, *51* (1), 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2012.07.009>.
- (39) Cheignon, C.; Tomas, M.; Bonnefont-Rousselot, D.; Faller, P.; Hureau, C.; Collin, F. Oxidative Stress and the Amyloid Beta Peptide in Alzheimer's Disease. *Redox Biol.* **2018**, *14*, 450–464. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.10.014>.
- (40) Goyal, D.; Shuaib, S.; Mann, S.; Goyal, B. Rationally Designed Peptides and Peptidomimetics as Inhibitors of Amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) Aggregation: Potential Therapeutics of Alzheimer's Disease. *ACS Comb. Sci.* **2017**, *19* (2), 55–80. <https://doi.org/10.1021/acscombsci.6b00116>.
- (41) Zhang, X.; Fu, Z.; Meng, L.; He, M.; Zhang, Z. The Early Events That Initiate  $\beta$ -Amyloid Aggregation in Alzheimer's Disease. *Front. Aging Neurosci.* **2018**, *10*. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00359>.
- (42) Thal, D. R.; Walter, J.; Saido, T. C.; Fändrich, M. Neuropathology and Biochemistry of A $\beta$  and Its Aggregates in Alzheimer's Disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **2015**, *129* (2), 167–182. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1375-y>.
- (43) Kim, W.; Hecht, M. Sequence Determinants of Enhanced Amyloidogenicity of Alzheimer A42 Peptide Relative to A40. *J. Biol. Chem.* **2005**, 35069–35076.
- (44) Tarasoff-Conway, J. M.; Carare, R. O.; Osorio, R. S.; Glodzik, L.; Butler, T.; Fieremans, E.; Axel, L.; Rusinek, H.; Nicholson, C.; Zlokovic, B. V.; Frangione, B.; Blennow, K.; Ménard, J.; Zetterberg, H.; Wisniewski, T.; de Leon, M. J. Clearance Systems in the Brain-Implications for Alzheimer Disease. *Nat. Rev. Neurol.* **2015**, *11* (8), 457–470. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.119>.
- (45) Cai, Z.; Liu, N.; Wang, C.; Qin, B.; Zhou, Y.; Xiao, M.; Chang, L.; Yan, L.-J.; Zhao, B. Role of RAGE in Alzheimer's Disease. *Cell. Mol. Neurobiol.* **2016**, *36* (4), 483–495. <https://doi.org/10.1007/s10571-015-0233-3>.
- (46) Cohen, S. I. A.; Cukalevski, R.; Michaels, T. C. T.; Šarić, A.; Törnquist, M.; Vendruscolo, M.; Dobson, C. M.; Buell, A. K.; Knowles, T. P. J.; Linse, S. Distinct Thermodynamic Signatures of Oligomer Generation in the Aggregation of the Amyloid- $\beta$  Peptide. *Nat. Chem.* **2018**, *10* (5), 523–531. <https://doi.org/10.1038/s41557-018-0023-x>.

- (47) Lee, S. J. C.; Nam, E.; Lee, H. J.; Savelieff, M. G.; Lim, M. H. Towards an Understanding of Amyloid- $\beta$  Oligomers: Characterization, Toxicity Mechanisms, and Inhibitors. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46* (2), 310–323. <https://doi.org/10.1039/C6CS00731G>.
- (48) Srivastava, A. K.; Pittman, J. M.; Zerweck, J.; Venkata, B. S.; Moore, P. C.; Sachleben, J. R.; Meredith, S. C.  $\beta$ -Amyloid Aggregation and Heterogeneous Nucleation. *Protein Sci.* **2019**, *28* (9), 1567–1581. <https://doi.org/10.1002/pro.3674>.
- (49) Michaels, T. C. T.; Šarić, A.; Curk, S.; Bernfur, K.; Arosio, P.; Meisl, G.; Dear, A. J.; Cohen, S. I. A.; Dobson, C. M.; Vendruscolo, M.; Linse, S.; Knowles, T. P. J. Dynamics of Oligomer Populations Formed during the Aggregation of Alzheimer's A $\beta$ 42 Peptide. *Nat. Chem.* **2020**, *12* (5), 445–451. <https://doi.org/10.1038/s41557-020-0452-1>.
- (50) Gurry, T.; Stultz, C. M. Mechanism of Amyloid- $\beta$  Fibril Elongation. *Biochemistry* **2014**, *53* (44), 6981–6991. <https://doi.org/10.1021/bi500695g>.
- (51) Rodriguez, R. A.; Chen, L. Y.; Plascencia-Villa, G.; Perry, G. Thermodynamics of Amyloid- $\beta$  Fibril Elongation: Atomistic Details of the Transition State. *ACS Chem. Neurosci.* **2017**. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00409>.
- (52) Rijal Upadhaya, A.; Kosterin, I.; Kumar, S.; von Arnim, C. A. F.; Yamaguchi, H.; Fändrich, M.; Walter, J.; Thal, D. R. Biochemical Stages of Amyloid- $\beta$  Peptide Aggregation and Accumulation in the Human Brain and Their Association with Symptomatic and Pathologically Preclinical Alzheimer's Disease. *Brain* **2014**, *137* (3), 887–903. <https://doi.org/10.1093/brain/awt362>.
- (53) Colvin, M. T.; Silvers, R.; Ni, Q. Z.; Can, T. V.; Sergeyev, I.; Rosay, M.; Donovan, K. J.; Michael, B.; Wall, J.; Linse, S.; Griffin, R. G. Atomic Resolution Structure of Monomorphic A $\beta$ 42 Amyloid Fibrils. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (30), 9663–9674. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b05129>.
- (54) Xiao, Y.; Ma, B.; McElheny, D.; Parthasarathy, S.; Long, F.; Hoshi, M.; Nussinov, R.; Ishii, Y. A $\beta$ (1–42) Fibril Structure Illuminates Self-Recognition and Replication of Amyloid in Alzheimer's. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2015**, *22* (6), 499–505. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2991>.
- (55) Wälti, M. A.; Ravotti, F.; Arai, H.; Glabe, C. G.; Wall, J. S.; Böckmann, A.; Güntert, P.; Meier, B. H.; Riek, R. Atomic-Resolution Structure of a Disease-Relevant A $\beta$ (1–42) Amyloid Fibril. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, *113* (34), E4976–E4984. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600749113>.

- (56) Shuaib, S.; Saini, R. K.; Goyal, D.; Goyal, B. Impact of K16A and K28A Mutation on the Structure and Dynamics of Amyloid-B42 Peptide in Alzheimer's Disease: Key Insights from Molecular Dynamics Simulations. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2020**, *38* (3), 708–721. <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1586587>.
- (57) Bernstein, S. L.; Dupuis, N. F.; Lazo, N. D.; Wyttenbach, T.; Condrón, M. M.; Bitan, G.; Teplow, D. B.; Shea, J.-E.; Ruotolo, B. T.; Robinson, C. V.; Bowers, M. T. Amyloid- $\beta$  Protein Oligomerization and the Importance of Tetramers and Dodecamers in the Aetiology of Alzheimer's Disease. *Nat. Chem.* **2009**, *1* (4), 326–331. <https://doi.org/10.1038/nchem.247>.
- (58) Fu, Z.; Aucoin, D.; Davis, J.; Van Nostrand, W. E.; Smith, S. O. Mechanism of Nucleated Conformational Conversion of A $\beta$ 42. *Biochemistry* **2015**, *54* (27), 4197–4207. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00467>.
- (59) Kreutzer, A. G.; Nowick, J. S. Elucidating the Structures of Amyloid Oligomers with Macrocyclic  $\beta$ -Hairpin Peptides: Insights into Alzheimer's Disease and Other Amyloid Diseases. *Acc. Chem. Res.* **2018**, *51* (3), 706–718. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00554>.
- (60) Ahmed, M.; Davis, J.; Aucoin, D.; Sato, T.; Ahuja, S.; Aimoto, S.; Elliott, J. I.; Van Nostrand, W. E.; Smith, S. O. Structural Conversion of Neurotoxic Amyloid-Beta(1-42) Oligomers to Fibrils. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2010**, *17* (5), 561–567. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1799>.
- (61) Tay, W. M.; Huang, D.; Rosenberry, T. L.; Paravastu, A. K. The Alzheimer's Amyloid- $\beta$ (1–42) Peptide Forms Off-Pathway Oligomers and Fibrils That Are Distinguished Structurally by Intermolecular Organization. *J. Mol. Biol.* **2013**, *425* (14), 2494–2508. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.04.003>.
- (62) Huang, D.; Zimmerman, M. I.; Martin, P. K.; Nix, A. J.; Rosenberry, T. L.; Paravastu, A. K. Antiparallel  $\beta$ -Sheet Structure within the C-Terminal Region of 42-Residue Alzheimer's  $\beta$ -Amyloid Peptides When They Form 150 KDa Oligomers. *J. Mol. Biol.* **2015**, *427* (13), 2319–2328. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.04.004>.
- (63) Okumura, H.; Itoh, S. G. Structural and Fluctuational Difference between Two Ends of A $\beta$  Amyloid Fibril: MD Simulations Predict Only One End Has Open Conformations. *Sci. Rep.* **2016**, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep38422>.
- (64) Zhang, R.; Hu, X.; Khant, H.; Ludtke, S. J.; Chiu, W.; Schmid, M. F.; Frieden, C.; Lee, J.-M. Interprotofilament Interactions between Alzheimer's A $\beta$ 1–42 Peptides in Amyloid Fibrils Revealed by CryoEM. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106* (12), 4653–4658. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901085106>.

- (65) Kollmer, M.; Close, W.; Funk, L.; Rasmussen, J.; Bsoul, A.; Schierhorn, A.; Schmidt, M.; Sigurdson, C. J.; Jucker, M.; Fändrich, M. Cryo-EM Structure and Polymorphism of A $\beta$  Amyloid Fibrils Purified from Alzheimer's Brain Tissue. *Nat. Commun.* **2019**, *10*.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-12683-8>.
- (66) Fändrich, M.; Schmidt, M.; Grigorieff, N. Recent Progress in Understanding Alzheimer's  $\beta$ -Amyloid Structures. *Trends Biochem. Sci.* **2011**, *36* (6), 338–345.  
<https://doi.org/10.1016/j.tibs.2011.02.002>.
- (67) Kurisaki, I.; Tanaka, S. ATP Converts A $\beta$ 42 Oligomer into Off-Pathway Species by Making Contact with Its Backbone Atoms Using Hydrophobic Adenosine. *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123* (46), 9922–9933. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b07984>.
- (68) Chimon, S.; Shaibat, M. A.; Jones, C. R.; Calero, D. C.; Aizezi, B.; Ishii, Y. Evidence of Fibril-like  $\beta$ -Sheet Structures in a Neurotoxic Amyloid Intermediate of Alzheimer's  $\beta$ -Amyloid. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2007**, *14* (12), 1157–1164. <https://doi.org/10.1038/nsmb1345>.
- (69) Winner, B.; Jappelli, R.; Maji, S. K.; Desplats, P. A.; Boyer, L.; Aigner, S.; Hetzer, C.; Loher, T.; Vilar, M.; Campioni, S.; Tzitzilonis, C.; Soragni, A.; Jessberger, S.; Mira, H.; Consiglio, A.; Pham, E.; Masliah, E.; Gage, F. H.; Riek, R. In Vivo Demonstration That Alpha-Synuclein Oligomers Are Toxic. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108* (10), 4194–4199.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1100976108>.
- (70) Sengupta, U.; Nilson, A. N.; Kaye, R. The Role of Amyloid- $\beta$  Oligomers in Toxicity, Propagation, and Immunotherapy. *EBioMedicine* **2016**, *6*, 42–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.03.035>.
- (71) Smith, L. M.; Strittmatter, S. M. Binding Sites for Amyloid- $\beta$  Oligomers and Synaptic Toxicity. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2017**, *7* (5), a024075.  
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024075>.
- (72) Landry, Y.; Gies, J.-P.; Sick, É.; Niederhoffer, N. *Pharmacologie Des Cibles à La Thérapeutique*, 4<sup>e</sup> édition.; Dunod, 2019.
- (73) Townsend, M.; Shankar, G. M.; Mehta, T.; Walsh, D. M.; Selkoe, D. J. Effects of Secreted Oligomers of Amyloid Beta-Protein on Hippocampal Synaptic Plasticity: A Potent Role for Trimers. *J. Physiol.* **2006**, *572* (Pt 2), 477–492. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.103754>.
- (74) Hardingham, G. E.; Fukunaga, Y.; Bading, H. Extrasynaptic NMDARs Oppose Synaptic NMDARs by Triggering CREB Shut-off and Cell Death Pathways. *Nat. Neurosci.* **2002**, *5* (5), 405–414. <https://doi.org/10.1038/nn835>.

- (75) Guo, J. L.; Lee, V. M. Y. Cell-to-Cell Transmission of Pathogenic Proteins in Neurodegenerative Diseases. *Nat. Med.* **2014**, *20* (2), 130–138. <https://doi.org/10.1038/nm.3457>.
- (76) *Maladies à prions / Maladie de Creutzfeldt-Jakob*. Inserm - La science pour la santé. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/maladies-prions-maladie-creutzfeldt-jakob> (accessed 2021-04-06).
- (77) Delacourte, A.; David, J. P.; Sergeant, N.; Buée, L.; Wattez, A.; Vermersch, P.; Ghzali, F.; Fallet-Bianco, C.; Pasquier, F.; Lebert, F.; Petit, H.; Menza, C. D. The Biochemical Pathway of Neurofibrillary Degeneration in Aging and Alzheimer's Disease. *Neurology* **1999**, *52* (6), 1158–1158. <https://doi.org/10.1212/WNL.52.6.1158>.
- (78) Jouanne, M.; Rault, S.; Voisin-Chiret, A.-S. Tau Protein Aggregation in Alzheimer's Disease: An Attractive Target for the Development of Novel Therapeutic Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *139*, 153–167. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.070>.
- (79) Thal, D. R.; Rüb, U.; Orantes, M.; Braak, H. Phases of A Beta-Deposition in the Human Brain and Its Relevance for the Development of AD. *Neurology* **2002**, *58* (12), 1791–1800. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.12.1791>.
- (80) Tsartsalis, S.; Xekardaki, A.; Hof, P. R.; Kövari, E.; Bouras, C. Early Alzheimer-Type Lesions in Cognitively Normal Subjects. *Neurobiol. Aging* **2018**, *62*, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.10.002>.
- (81) Chen, S.; Song, Z.; Zhang, A. Small-Molecule Immuno-Oncology Therapy: Advances, Challenges and New Directions. *Curr. Top. Med. Chem.* **2019**, *19* (3), 180–185. <https://doi.org/10.2174/1568026619666190308131805>.
- (82) Baglietto-Vargas, D.; Shi, J.; Yaeger, D. M.; Ager, R.; LaFerla, F. M. Diabetes and Alzheimer's Disease Crosstalk. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2016**, *64*, 272–287. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.03.005>.
- (83) Nguyen, T. T.; Ta, Q. T. H.; Nguyen, T. K. O.; Nguyen, T. T. D.; Van Giau, V. Type 3 Diabetes and Its Role Implications in Alzheimer's Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21* (9). <https://doi.org/10.3390/ijms21093165>.
- (84) Salas, I. H.; De Strooper, B. Diabetes and Alzheimer's Disease: A Link Not as Simple as It Seems. *Neurochem. Res.* **2019**, *44* (6), 1271–1278. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2690-9>.
- (85) Shinohara, M.; Sato, N. Bidirectional Interactions between Diabetes and Alzheimer's Disease. *Neurochem. Int.* **2017**, *108*, 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.04.020>.

- (86) Benedictis, C. A. D.; Vilella, A.; Grabrucker, A. M. The Role of Trace Metals in Alzheimer's Disease. *Exon Publ.* **2019**, 85–106. <https://doi.org/10.15586/alzheimersdisease.2019.ch6>.
- (87) Cicero, C. E.; Mostile, G.; Vasta, R.; Rapisarda, V.; Signorelli, S. S.; Ferrante, M.; Zappia, M.; Nicoletti, A. Metals and Neurodegenerative Diseases. A Systematic Review. *Environ. Res.* **2017**, *159*, 82–94. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.07.048>.
- (88) Riedel, B. C.; Thompson, P. M.; Brinton, R. D. Age, APOE and Sex: Triad of Risk of Alzheimer's Disease. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2016**, *160*, 134–147. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.03.012>.
- (89) Zhang, S.; Zhang, M.; Cai, F.; Song, W. Biological Function of Presenilin and Its Role in AD Pathogenesis. *Transl. Neurodegener.* **2013**, *2* (1), 15. <https://doi.org/10.1186/2047-9158-2-15>.
- (90) Safieh, M.; Korczyn, A. D.; Michaelson, D. M. ApoE4: An Emerging Therapeutic Target for Alzheimer's Disease. *BMC Med.* **2019**, *17* (1), 64. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1299-4>.
- (91) Belloy, M. E.; Napolioni, V.; Greicius, M. D. A Quarter Century of APOE and Alzheimer's Disease: Progress to Date and the Path Forward. *Neuron* **2019**, *101* (5), 820–838. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.056>.
- (92) Tran, T. T. T.; Corsini, S.; Kellingray, L.; Hegarty, C.; Gall, G. L.; Narbad, A.; Müller, M.; Tejera, N.; O'Toole, P. W.; Minihane, A.-M.; Vauzour, D. APOE Genotype Influences the Gut Microbiome Structure and Function in Humans and Mice: Relevance for Alzheimer's Disease Pathophysiology. *FASEB J.* **2019**, *33* (7), 8221–8231. <https://doi.org/10.1096/fj.201900071R>.
- (93) Hu, X.; Wang, T.; Jin, F. Alzheimer's Disease and Gut Microbiota. *Sci. China Life Sci.* **2016**, *59* (10), 1006–1023. <https://doi.org/10.1007/s11427-016-5083-9>.
- (94) Ferreira, D.; Nordberg, A.; Westman, E. Biological Subtypes of Alzheimer Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neurology* **2020**, *94* (10), 436–448. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000009058>.
- (95) *Epigénétique*. Inserm - La science pour la santé. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/epigenetique> (accessed 2021-06-22).
- (96) Tecalco-Cruz, A. C.; Ramírez-Jarquín, J. O.; Alvarez-Sánchez, M. E.; Zepeda-Cervantes, J. Epigenetic Basis of Alzheimer Disease. *World J. Biol. Chem.* **2020**, *11* (2), 62–75. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v11.i2.62>.
- (97) *WHO Dementia*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.
- (98) *Mortality Risk of COVID-19 - Statistics and Research*. Our World in Data. <https://ourworldindata.org/mortality-risk-covid> (accessed 2021-03-04).

- (99) Bianchetti, A.; Rozzini, R.; Guerini, F.; Boffelli, S.; Ranieri, P.; Minelli, G.; Bianchetti, L.; Trabucchi, M. Clinical Presentation of COVID19 in Dementia Patients. *J. Nutr. Health Aging* **2020**, *24* (6), 560–562. <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1389-1>.
- (100) *Inserm Alzheimer (maladie d')*. Inserm - La science pour la santé. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/alzheimer-maladie>.
- (101) Ankri, J. Maladie d'Alzheimer : l'enjeu des données épidémiologiques. 2.
- (102) *Les symptômes de la maladie d'Alzheimer*. VIDAL. <https://www.vidal.fr/> (accessed 2021-03-16).
- (103) Haute autorité de santé. *Maladie d'Alzheimer et Maladies Apparentées : Diagnostic et Prise En Charge*; 2011.
- (104) Haute autorité de santé. *Guide Parcours de Soins Des Patients Présentant Un Trouble Neurocognitif Associé à La Maladie d'Alzheimer Ou à Une Maladie Apparentée*; 2018.
- (105) Diagnostic de la maladie d'Alzheimer. *Fondation pour la Recherche sur Alzheimer*.
- (106) Francis, P.; Palmer, A.; Snape, M.; Wilcock, G. The Cholinergic Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Review of Progress. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66* (2), 137–147.
- (107) Tan, C.-C.; Yu, J.-T.; Wang, H.-F.; Tan, M.-S.; Meng, X.-F.; Wang, C.; Jiang, T.; Zhu, X.-C.; Tan, L. Efficacy and Safety of Donepezil, Galantamine, Rivastigmine, and Memantine for the Treatment of Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Alzheimers Dis. JAD* **2014**, *41* (2), 615–631. <https://doi.org/10.3233/JAD-132690>.
- (108) Birks, J. S.; Grimley Evans, J. Rivastigmine for Alzheimer's Disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2015**, No. 4, CD001191. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001191.pub3>.
- (109) Birks, J. S.; Harvey, R. J. Donepezil for Dementia Due to Alzheimer's Disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2018**, *2018* (6). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001190.pub3>.
- (110) Matsunaga, S.; Kishi, T.; Nomura, I.; Sakuma, K.; Okuya, M.; Ikuta, T.; Iwata, N. The Efficacy and Safety of Memantine for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Expert Opin. Drug Saf.* **2018**, *17* (10), 1053–1061. <https://doi.org/10.1080/14740338.2018.1524870>.
- (111) Cacabelos, R.; Takeda, M.; Winblad, B. The Glutamatergic System and Neurodegeneration in Dementia: Preventive Strategies in Alzheimer's Disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **1999**, *14* (1), 3–47. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1166\(199901\)14:1<3::AID-GPS897>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1166(199901)14:1<3::AID-GPS897>3.0.CO;2-7).
- (112) Fondation Médéric Alzheimer. *Des Dispositifs de Prise En Charge et d'accompagnement de La Maladie d'alzheimer*, 2013.

- (113) Huang, Y.; Mucke, L. Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Cell* **2012**, *148* (6), 1204–1222. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.040>.
- (114) Huang, L.-K.; Chao, S.-P.; Hu, C.-J. Clinical Trials of New Drugs for Alzheimer Disease. *J. Biomed. Sci.* **2020**, *27*. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0609-7>.
- (115) *Elenbecestat* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/elenbecestat> (accessed 2021-05-26).
- (116) Godyń, J.; Jończyk, J.; Panek, D.; Malawska, B. Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease in Clinical Trials. *Pharmacol. Rep.* **2016**, *68* (1), 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.07.006>.
- (117) *Amilomotide* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/amilomotide> (accessed 2021-05-26).
- (118) Goure, W. F.; Krafft, G. A.; Jerecic, J.; Hefti, F. Targeting the Proper Amyloid-Beta Neuronal Toxins: A Path Forward for Alzheimer's Disease Immunotherapeutics. *Alzheimers Res. Ther.* **2014**, *6* (4), 42. <https://doi.org/10.1186/alzrt272>.
- (119) Krafft, G.; Hefti, F.; Goure, W.; Jerecic, J.; Iverson, K.; Walicke, P. ACU-193: A Candidate Therapeutic Antibody That Selectively Targets Soluble Beta-Amyloid Oligomers. *Alzheimers Dement.* **2013**, *9*, P326. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.04.166>.
- (120) Research, C. for D. E. and. FDA's Decision to Approve New Treatment for Alzheimer's Disease. *FDA* **2021**.
- (121) Giorgetti, S.; Greco, C.; Tortora, P.; Aprile, F. A. Targeting Amyloid Aggregation: An Overview of Strategies and Mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19* (9), 2677. <https://doi.org/10.3390/ijms19092677>.
- (122) Bruneton, J. *Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales*, 5ème édition.; Lavoisier Tec et Doc.
- (123) *Epigallocatechin Gallate (EGCG)* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/epigallocatechin-gallate-egcg> (accessed 2021-05-31).
- (124) *Resveratrol* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/resveratrol> (accessed 2021-05-31).
- (125) *Curcumin* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/curcumin> (accessed 2021-05-31).
- (126) *Alzheimer : Le GV-971 améliore les fonctions cognitives dans un essai de phase 3*. Caducee.net. <https://www.caducee.net/actualite-medicale/14097/alzheimer-le-gv-971-ameliore-les-fonctions-cognitives-dans-un-essai-de-phase-3.html> (accessed 2021-05-31).

- (127) *ALZ-801* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/alz-801> (accessed 2021-06-03).
- (128) *PRI-002* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/pri-002> (accessed 2021-06-03).
- (129) Leithold, L. H. E.; Jiang, N.; Post, J.; Ziehm, T.; Schartmann, E.; Kutzsche, J.; Shah, N. J.; Breikreutz, J.; Langen, K.-J.; Willuweit, A.; Willbold, D. Pharmacokinetic Properties of a Novel D-Peptide Developed to Be Therapeutically Active Against Toxic  $\beta$ -Amyloid Oligomers. *Pharm. Res.* **2016**, *33* (2), 328–336. <https://doi.org/10.1007/s11095-015-1791-2>.
- (130) *AMX0035* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/amx0035> (accessed 2022-05-30).
- (131) *Acide cromoglicique : substance active à effet thérapeutique*. VIDAL. <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/acide-cromoglicique-4377.html> (accessed 2021-05-25).
- (132) *Azeliragon* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/azeliragon> (accessed 2021-05-26).
- (133) *Elayta* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/elayta> (accessed 2021-05-26).
- (134) *Nilvadipine* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/nilvadipine> (accessed 2021-05-26).
- (135) *Metformin* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/metformin> (accessed 2021-05-28).
- (136) *Liraglutide* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/liraglutide> (accessed 2021-05-28).
- (137) *Pioglitazone : substance active à effet thérapeutique*. VIDAL. <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/pioglitazone-21855.html> (accessed 2021-05-31).
- (138) *Pioglitazone* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/pioglitazone> (accessed 2021-05-31).
- (139) Nygaard, H. B. Targeting Fyn Kinase in Alzheimer's Disease. *Biol. Psychiatry* **2018**, *83* (4), 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.06.004>.
- (140) *Masitinib* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/masitinib> (accessed 2021-05-31).
- (141) Congdon, E. E.; Sigurdsson, E. M. Tau-Targeting Therapies for Alzheimer Disease. *Nat. Rev. Neurol.* **2018**, *14* (7), 399–415. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0013-z>.

- (142) *Epothilone D* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/epothilone-d> (accessed 2021-05-26).
- (143) PhD, L. F. LMTX - Alzheimer's News Today.
- (144) *Alpha-Tocopherol* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/alpha-tocopherol> (accessed 2021-05-31).
- (145) Browne, D.; McGuinness, B.; Woodside, J. V.; McKay, G. J. Vitamin E and Alzheimer's Disease: What Do We Know so Far? *Clin. Interv. Aging* **2019**, *14*, 1303–1317. <https://doi.org/10.2147/CIA.S186760>.
- (146) *Lumateperone* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/lumateperone> (accessed 2021-05-31).
- (147) *Pimavanserin* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/pimavanserin> (accessed 2021-05-31).
- (148) *Encenicline* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/encenicline> (accessed 2021-05-31).
- (149) *Aripiprazole : substance active à effet thérapeutique*. VIDAL. <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/aripiprazole-22622.html> (accessed 2021-05-31).
- (150) *Aripiprazole* / *ALZFORUM*. <https://www.alzforum.org/therapeutics/aripiprazole> (accessed 2021-05-31).
- (151) Puzzo, D.; Gulisano, W.; Palmeri, A.; Arancio, O. Rodent Models for Alzheimer's Disease Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2015**, *10* (7), 703–711. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1041913>.
- (152) Esquerda-Canals, G.; Montoliu-Gaya, L.; Güell-Bosch, J.; Villegas, S. Mouse Models of Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* **2017**, *57* (4), 1171–1183. <https://doi.org/10.3233/JAD-170045>.
- (153) Götz, J.; Ittner, L. M. Animal Models of Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia. *Nat. Rev. Neurosci.* **2008**, *9* (7), 532–544. <https://doi.org/10.1038/nrn2420>.
- (154) Van Dam, D.; De Deyn, P. P. Non Human Primate Models for Alzheimer's Disease-Related Research and Drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2017**, *12* (2), 187–200. <https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1271320>.
- (155) Wiatrak, B.; Kubis-Kubiak, A.; Piwowar, A.; Barg, E. PC12 Cell Line: Cell Types, Coating of Culture Vessels, Differentiation and Other Culture Conditions. *Cells* **2020**, *9* (4), 958. <https://doi.org/10.3390/cells9040958>.

- (156) Kovalevich, J.; Langford, D. Considerations for the Use of SH-SY5Y Neuroblastoma Cells in Neurobiology. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* **2013**, 1078, 9–21.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-62703-640-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-640-5_2).
- (157) Tcw, J. Human iPSC Application in Alzheimer's Disease and Tau-Related Neurodegenerative Diseases. *Neurosci. Lett.* **2019**, 699, 31–40.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.01.043>.
- (158) Strodel, B. Amyloid Aggregation Simulations: Challenges, Advances and Perspectives. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2021**, 67, 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.10.019>.
- (159) Wang, Q.; Liang, G.; Zhang, M.; Zhao, J.; Patel, K.; Yu, X.; Zhao, C.; Ding, B.; Zhang, G.; Zhou, F.; Zheng, J. De Novo Design of Self-Assembled Hexapeptides as  $\beta$ -Amyloid (A $\beta$ ) Peptide Inhibitors. *ACS Chem. Neurosci.* **2014**, 5 (10), 972–981.  
<https://doi.org/10.1021/cn500165s>.
- (160) Nguyen, T. T.; Nguyen, T. T. D.; Nguyen, T. K. O.; Vo, T. K.; Vo, V. G. Advances in Developing Therapeutic Strategies for Alzheimer's Disease. *Biomed. Pharmacother.* **2021**, 139, 111623. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111623>.
- (161) Lipinski, C. A. Lead- and Drug-like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discov. Today Technol.* **2004**, 1 (4), 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>.
- (162) Pardridge, W. M. Drug Targeting to the Brain. *Pharm. Res.* **2007**, 24 (9), 1733–1744.  
<https://doi.org/10.1007/s11095-007-9324-2>.
- (163) Walters, W. P. Going Further than Lipinski's Rule in Drug Design. *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, 7 (2), 99–107. <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.648612>.
- (164) Lenoir, D.; Schramm, K.-W.; Lalah, J. O. Green Chemistry: Some Important Forerunners and Current Issues. *Sustain. Chem. Pharm.* **2020**, 18, 100313.  
<https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100313>.
- (165) *Introduction a la chimie verte*. Parlons sciences. <https://parlonssciences.ca/ressources-pedagogiques/les-stim-en-contexte/introduction-a-la-chimie-verte> (accessed 2021-06-08).
- (166) *Les douze principes de la chimie verte / Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture*. <http://www.unesco.org/new/fr/natural-sciences/science-technology/basic-sciences/chemistry/green-chemistry-for-life/twelve-principles-of-green-chemistry/> (accessed 2021-06-08).
- (167) Hagmann, W. K. The Many Roles for Fluorine in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2008**, 51 (15), 4359–4369. <https://doi.org/10.1021/jm800219f>.

- (168) Swallow, S. Fluorine in Medicinal Chemistry. *Prog. Med. Chem.* **2015**, *54*, 65–133. <https://doi.org/10.1016/bs.pmch.2014.11.001>.
- (169) Barnes-Seeman, D.; Beck, J.; Springer, C. Fluorinated Compounds in Medicinal Chemistry: Recent Applications, Synthetic Advances and Matched-Pair Analyses. *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, *14* (7), 855–864. <https://doi.org/10.2174/1568026614666140202204242>.
- (170) Bonnet-Delpon, D. [Fluorine, an essential element for medicinal chemistry]. *Ann. Pharm. Fr.* **2008**, *66* (1), 56–59. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2007.12.001>.
- (171) Inoue, M.; Sumii, Y.; Shibata, N. Contribution of Organofluorine Compounds to Pharmaceuticals. *ACS Omega* **2020**, *5* (19), 10633–10640. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00830>.
- (172) Lau, J. L.; Dunn, M. K. Therapeutic Peptides: Historical Perspectives, Current Development Trends, and Future Directions. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (10), 2700–2707. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.052>.
- (173) Soto, C.; Estrada, L. Amyloid Inhibitors and Beta-Sheet Breakers. *Subcell. Biochem.* **2005**, *38*, 351–364. [https://doi.org/10.1007/0-387-23226-5\\_18](https://doi.org/10.1007/0-387-23226-5_18).
- (174) Pallitto, M. M.; Ghanta, J.; Heinzelman, P.; Kiessling, L. L.; Murphy, R. M. Recognition Sequence Design for Peptidyl Modulators of Beta-Amyloid Aggregation and Toxicity. *Biochemistry* **1999**, *38* (12), 3570–3578. <https://doi.org/10.1021/bi982119e>.
- (175) Pelay-Gimeno, M.; Glas, A.; Koch, O.; Grossmann, T. N. Structure-Based Design of Inhibitors of Protein–Protein Interactions: Mimicking Peptide Binding Epitopes. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2015**, *54* (31), 8896–8927. <https://doi.org/10.1002/anie.201412070>.
- (176) Szekely, T.; Caumes, C.; Roy, O.; Faure, S.; TAILLEFUMIER, C.  $\alpha$ -Peptoïdes et composés apparentés : synthèse et contrôle de la conformation. *Comptes Rendus Chim.* **2013**, *16* (4), 318–330. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2012.11.015>.
- (177) Laursen, J. S.; Engel-Andreasen, J.; Olsen, C. A.  $\beta$ -Peptoid Foldamers at Last. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48* (10), 2696–2704. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.5b00257>.
- (178) Lipinski, C. A. Chapter 27. Bioisosterism in Drug Design. In *Annual Reports in Medicinal Chemistry*; Bailey, D. M., Ed.; Academic Press, 1986; Vol. 21, pp 283–291. [https://doi.org/10.1016/S0065-7743\(08\)61137-9](https://doi.org/10.1016/S0065-7743(08)61137-9).
- (179) Rai, J. Peptide and Protein Mimetics by Retro and Retroinverso Analogs. *Chem. Biol. Drug Des.* **2019**, *93* (5), 724–736. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13472>.
- (180) Patani, G. A.; LaVoie, E. J. Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design. *Chem. Rev.* **1996**, *96* (8), 3147–3176. <https://doi.org/10.1021/cr950066q>.

- (181) Marshall, G. R.; Ballante, F. Limiting Assumptions in the Design of Peptidomimetics. *Drug Dev. Res.* **2017**, 78 (6), 245–267. <https://doi.org/10.1002/ddr.21406>.
- (182) Jamart, B.; Bodiguel, J.; Brosse, N. *Les Cours de Paul Arnaud Chimie Organique*, 19ème édition.; Dunod.
- (183) Amblard, M.; Fehrentz, J.-A.; Martinez, J.; Subra, G. Methods and Protocols of Modern Solid Phase Peptide Synthesis. *Mol. Biotechnol.* **2006**, 33 (3), 239–254. <https://doi.org/10.1385/MB:33:3:239>.
- (184) Benseny-Cases, N.; Klementieva, O.; Cladera, J. In Vitro Oligomerization and Fibrillogenesis of Amyloid-Beta Peptides. *Subcell. Biochem.* **2012**, 65, 53–74. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5416-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5416-4_3).
- (185) Pignataro, M. F.; Herrera, M. G.; Dodero, V. I. Evaluation of Peptide/Protein Self-Assembly and Aggregation by Spectroscopic Methods. *Mol. Basel Switz.* **2020**, 25 (20). <https://doi.org/10.3390/molecules25204854>.
- (186) Picou, R. A.; Kheterpal, I.; Wellman, A. D.; Minnamreddy, M.; Ku, G.; Gilman, S. D. Analysis of A $\beta$  (1-40) and A $\beta$  (1-42) Monomer and Fibrils by Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* **2011**, 879 (9–10), 627–632. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.01.030>.
- (187) Gras, S. L.; Waddington, L. J.; Goldie, K. N. Transmission Electron Microscopy of Amyloid Fibrils. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* **2011**, 752, 197–214. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-223-0\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-223-0_13).
- (188) Autiero, I.; Langella, E.; Saviano, M. Insights into the Mechanism of Interaction between Trehalose-Conjugated Beta-Sheet Breaker Peptides and A $\beta$ (1–42) Fibrils by Molecular Dynamics Simulations. *Mol. Biosyst.* **2013**, 9 (11), 2835–2841. <https://doi.org/10.1039/C3MB70235A>.
- (189) Chafekar, S. M.; Malda, H.; Merks, M.; Meijer, E. W.; Viertl, D.; Lashuel, H. A.; Baas, F.; Scheper, W. Branched KLVFF Tetramers Strongly Potentiate Inhibition of Beta-Amyloid Aggregation. *Chembiochem Eur. J. Chem. Biol.* **2007**, 8 (15), 1857–1864. <https://doi.org/10.1002/cbic.200700338>.
- (190) Agouridas, V.; Mahdi, O. E.; Diemer, V.; Cargoët, M.; Monbaliu, J.-C. M.; Melnyk, O. Native Chemical Ligation and Extended Methods: Mechanisms, Catalysis, Scope, and Limitations. *Chem. Rev.* **2019**. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00712>.
- (191) Taylor, M.; Moore, S.; Mayes, J.; Parkin, E.; Beeg, M.; Canovi, M.; Gobbi, M.; Mann, D. M. A.; Allsop, D. Development of a Proteolytically Stable Retro-Inverso Peptide Inhibitor of

- Beta-Amyloid Oligomerization as a Potential Novel Treatment for Alzheimer's Disease. *Biochemistry* **2010**, 49 (15), 3261–3272. <https://doi.org/10.1021/bi100144m>.
- (192) Parthasarathy, V.; McClean, P. L.; Hölscher, C.; Taylor, M.; Tinker, C.; Jones, G.; Kolosov, O.; Salvati, E.; Gregori, M.; Masserini, M.; Allsop, D. A Novel Retro-Inverso Peptide Inhibitor Reduces Amyloid Deposition, Oxidation and Inflammation and Stimulates Neurogenesis in the APPswe/PS1ΔE9 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PloS One* **2013**, 8 (1), e54769. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054769>.
- (193) Xiong, N.; Dong, X.-Y.; Zheng, J.; Liu, F.-F.; Sun, Y. Design of LVFFARK and LVFFARK-Functionalized Nanoparticles for Inhibiting Amyloid  $\beta$ -Protein Fibrillation and Cytotoxicity. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, 7 (10), 5650–5662. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b00915>.
- (194) *Essais cliniques sur La maladie d'Alzheimer: PPI-1019 (APAN) - Registre des essais cliniques - ICH GCP*. <https://ichgcp.net/fr/clinical-trials-registry/NCT00100282> (accessed 2021-06-15).
- (195) Rangachari, V.; Davey, Z. S.; Healy, B.; Moore, B. D.; Sonoda, L. K.; Cusack, B.; Maharvi, G. M.; Fauq, A. H.; Rosenberry, T. L. Rationally Designed Dehydroalanine ( $\Delta$ Ala)-Containing Peptides Inhibit Amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) Peptide Aggregation. *Biopolymers* **2009**, 91 (6), 456–465. <https://doi.org/10.1002/bip.21151>.
- (196) Hochdörffer, K.; März-Berberich, J.; Nagel-Steger, L.; Eppe, M.; Meyer-Zaika, W.; Horn, A. H. C.; Sticht, H.; Sinha, S.; Bitan, G.; Schrader, T. Rational Design of  $\beta$ -Sheet Ligands against  $A\beta$ 42-Induced Toxicity. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133 (12), 4348–4358. <https://doi.org/10.1021/ja107675n>.
- (197) Frydman-Marom, A.; Rechter, M.; Shefler, I.; Bram, Y.; Shalev, D. E.; Gazit, E. Cognitive-Performance Recovery of Alzheimer's Disease Model Mice by Modulation of Early Soluble Amyloid Assembly. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2009**, 48 (11), 1981–1986. <https://doi.org/10.1002/anie.200802123>.
- (198) Richman, M.; Wilk, S.; Chemerovski, M.; Wärmländer, S. K. T. S.; Wahlström, A.; Gräslund, A.; Rahimipour, S. In Vitro and Mechanistic Studies of an Antiamyloidogenic Self-Assembled Cyclic d,l- $\alpha$ -Peptide Architecture. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135 (9), 3474–3484. <https://doi.org/10.1021/ja310064v>.
- (199) Wu, H.; Li, Y.; Bai, G.; Niu, Y.; Qiao, Q.; Tipton, J. D.; Cao, C.; Cai, J.  $\gamma$ -AApeptide-Based Small-Molecule Ligands That Inhibit  $A\beta$  Aggregation. *Chem. Commun.* **2014**, 50 (40), 5206–5208. <https://doi.org/10.1039/C3CC46685J>.

- (200) Botz, A.; Gasparik, V.; Devillers, E.; Hoffmann, A. R. F.; Caillon, L.; Chelain, E.; Lequin, O.; Brigaud, T.; Khemtemourian, L. (R)- $\alpha$ -Trifluoromethylalanine Containing Short Peptide in the Inhibition of Amyloid Peptide Fibrillation. *Biopolymers* **2015**, *104* (5), 601–610. <https://doi.org/10.1002/bip.22670>.
- (201) Tonali, N.; Hericks, L.; Schröder, D. C.; Kracker, O.; Krzemieniecki, R.; Kaffy, J.; Joncour, V. L.; Laakkonen, P.; Marion, A.; Onger, S.; Dodero, V. I.; Sewald, N. Peptidotriazolamers Inhibit A $\beta$ (1–42) Oligomerization and Cross a Blood-Brain-Barrier Model. *ChemPlusChem* **2021**, *86* (6), 840–851. <https://doi.org/10.1002/cplu.202000814>.
- (202) Honcharenko, D.; Bose, P. P.; Maity, J.; Kurudenkandy, F. R.; Juneja, A.; Flöistrup, E.; Biverstål, H.; Johansson, J.; Nilsson, L.; Fisahn, A.; Strömberg, R. Synthesis and Evaluation of Antineurotoxicity Properties of an Amyloid- $\beta$  Peptide Targeting Ligand Containing a Triamino Acid. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12* (34), 6684–6693. <https://doi.org/10.1039/C4OB00959B>.
- (203) Ee, B. G.; Sa, A.; E, H.; K, B.; Im, K.; L, M.; Cm, D.; Mf, M.; Am, R.; Rd, E. New Mimetic Peptides Inhibitors of A $\beta$  Aggregation. Molecular Guidance for Rational Drug Design. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *95*, 136–152. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.03.042>.
- (204) Pellegrino, S.; Tonali, N.; Erba, E.; Kaffy, J.; Taverna, M.; Contini, A.; Taylor, M.; Allsop, D.; Gelmi, M. L.; Onger, S.  $\beta$ -Hairpin Mimics Containing a Piperidine–Pyrrolidine Scaffold Modulate the  $\beta$ -Amyloid Aggregation Process Preserving the Monomer Species †Electronic Supplementary Information (ESI) Available: Computational Methods and Additional Figures and Tables. NMR Additional Data. Description of Synthetic Procedures and Characterization of Compounds. Experimental Procedure for Fluorescence-Detected ThT Binding Assay; Representative Curves of ThT Fluorescence Assays. Experimental Procedure for TEM Studies, CE, and Cellular Evaluation. See DOI: 10.1039/C6sc03176e Click Here for Additional Data File. *Chem. Sci.* **2017**, *8* (2), 1295–1302. <https://doi.org/10.1039/c6sc03176e>.
- (205) Rajadas, J.; Liu, C. W.; Novick, P.; Kelley, N. W.; Inayathullah, M.; LeMieux, M. C.; Pande, V. S. Rationally Designed Turn Promoting Mutation in the Amyloid- $\beta$  Peptide Sequence Stabilizes Oligomers in Solution. *PLOS ONE* **2011**, *6* (7), e21776. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021776>.
- (206) Pa, N.; Dh, L.; Km, B.; A, E.-C.; Ia, G.; G, B.; Vs, P. Design of  $\beta$ -Amyloid Aggregation Inhibitors from a Predicted Structural Motif. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (7), 3002–3010. <https://doi.org/10.1021/jm201332p>.

- (207) J, K.; D, B.; Ji, S.; I, C.; N, T.; Kf, F.; Y, I.; Ar, H.; L, K.; B, C.; M, T.; D, A.; M, T.; O, L.; S, O. Designed Glycopeptidomimetics Disrupt Protein-Protein Interactions Mediating Amyloid  $\beta$ -Peptide Aggregation and Restore Neuroblastoma Cell Viability. *J. Med. Chem.* **2016**, 59 (5), 2025–2040. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01629>.
- (208) Tonali, N.; Kaffy, J.; Soulier, J.-L.; Gelmi, M. L.; Erba, E.; Taverna, M.; van Heijenoort, C.; Ha-Duong, T.; Ongerì, S. Structure-Activity Relationships of  $\beta$ -Hairpin Mimics as Modulators of Amyloid  $\beta$ -Peptide Aggregation. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 154, 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.018>.
- (209) Rezaei-Ghaleh, N.; Andreetto, E.; Yan, L.-M.; Kapurniotu, A.; Zweckstetter, M. Interaction between Amyloid Beta Peptide and an Aggregation Blocker Peptide Mimicking Islet Amyloid Polypeptide. *PLOS ONE* **2011**, 6 (5), e20289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020289>.
- (210) Andreetto, E.; Malideli, E.; Yan, L.-M.; Kracklauer, M.; Farbiarz, K.; Tatarek-Nossol, M.; Rammes, G.; Prade, E.; Neumüller, T.; Caporale, A.; Spanopoulou, A.; Bakou, M.; Reif, B.; Kapurniotu, A. A Hot-Segment-Based Approach for the Design of Cross-Amyloid Interaction Surface Mimics as Inhibitors of Amyloid Self-Assembly. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2015**, 54 (44), 13095–13100. <https://doi.org/10.1002/anie.201504973>.
- (211) Kaffy, J.; Berardet, C.; Mathieu, L.; Legrand, B.; Taverna, M.; Halgand, F.; Van Der Rest, G.; Maillard, L. T.; Ongerì, S. Helical  $\gamma$ -Peptide Foldamers as Dual Inhibitors of Amyloid- $\beta$  Peptide and Islet Amyloid Polypeptide Oligomerization and Fibrillization. *Chem. Weinb. Bergstr. Ger.* **2020**, 26 (64), 14612–14622. <https://doi.org/10.1002/chem.202001716>.

---

**Nom - Prénoms : AUFFRET Gaëtan Jacques François****Titre de la thèse : La maladie d'Alzheimer, une pathologie complexe.  
Développement de peptidomimétiques inhibiteurs de l'agrégation du  
peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub>.**

---

**Résumé de la thèse :**

Avec ces 50 millions de personnes atteintes en 2017 et le vieillissement des populations, la maladie d'Alzheimer (MA) est devenue un enjeu de santé publique. Cette maladie se caractérise par une atteinte de l'hippocampe et de l'amygdale principalement, par des plaques séniles (SP) et enchevêtrements neurofibrillaires (NFT). La MA se manifeste par une diminution des fonctions cognitives, et surtout la perte de mémoire. Malgré la difficulté à identifier les raisons de ce déclin cognitif, les recherches ont permis d'identifier des espèces responsables, dont le peptide amyloïde (A $\beta$ ) et la protéine Tau. A $\beta$ <sub>1-42</sub> en particulier serait responsable des perturbations neuronales au niveau cellulaire. Il est capable de s'agréger en des espèces plus volumineuses au comportement plus ou moins toxiques.

Afin de répondre à cet impératif de santé, une catégorie de molécules pourrait empêcher l'agrégation du peptide A $\beta$ <sub>1-42</sub>, les peptidomimétiques. Ce sont des molécules plus ou moins semblables à des peptides, dont l'objectif est de se fixer sur A $\beta$ <sub>1-42</sub>, pour empêcher l'agrégation d'autres peptides. Entre bonne « drugability » et diversités structurales, ces molécules ont-elles de l'avenir, malgré la concurrence de l'immunothérapie et qu'aucune n'a encore passé les phases cliniques ?

---

**MOTS CLÉS : ALZHEIMER, PEPTIDE AMYLOÏDE A $\beta$ <sub>1-42</sub>, PEPTIDOMIMÉTIQUES,  
CHIMIE MÉDICINALE, SYNTHÈSE PEPTIDIQUE ET ORGANIQUE**

---

**JURY****PRÉSIDENT : Dr Catherine ROULLIER, MCU (HDR), Faculté de pharmacie,  
Université de Nantes****ASSESEURS : Pr Muriel DUFLOS, PU, Faculté de pharmacie, Université de  
Nantes****Dr TONALI Nicolo, MCU, Faculté de pharmacie, Université  
Paris-Saclay**

---

**Adresse de l'auteur : UFR Pharmacie, Université de Nantes, 9 Rue Bias, 44000**